



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

Facultad de Quimica

Simulación de la Glucólisis



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

T E S I S

Que para Obtener el Título de:

INGENIERO QUIMICO

PRESENTA

Manuel Díaz Barriga Silva



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Pág.
Capítulo 1.- INTRODUCCIÓN.	1
Capítulo 2.- GLUCÓLISIS.	4
Objeto de Estudio de la Bioquímica	4
La Glucólisis	5
Historia de la investigación de la Glucólisis	6
Nomenclatura y conformación de los monosacáridos	7
Estructuras fundamentales y reacciones generales en glucólisis	10
Etapas de la glucólisis	12
Formación de fructosa-1,6-difosfato a partir de glucosa	12
Formación de gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxi-acetona por desdoblamiento e isomerización.	15
Conservación de energía: La fosforilación acoplada a la oxidación de gliceraldehído-3-fosfato	16
Formación de ATP a partir de 1,3-DPG	17
Formación de piruvato y generación de un segundo ATP	18
Rendimiento de energía en la conversión de glucosa en piruvato	19
Capítulo 3.- CINÉTICA QUÍMICA Y PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DE LA GLUCÓLISIS.	22
Conceptos de Cinética Química en sistemas biológicos	22
Rapidez de reacción	23

Orden de una reacción	24
Constante de rapidez	26
Cinética Enzimática	27
Efecto de la concentración	28
Reacciones de un sustrato	28
Reacciones de dos sustratos	32
Inhibición	32
Efecto de la concentración del ión hidronio	34
Efecto de la temperatura	36
Funciones Termodinámicas en Bioquímica	39
Energía interna	39
Entropía	40
Energía Libre	41
Cambio de energía libre estándar de una reacción y su relación con la constante de equilibrio	43
Cálculo de cambio de energía libre para reacciones en cadena	45
La función del ATP como portador universal de energía libre en sistemas biológicos	46
La función del NADH como agente de transferencia de electrones en la oxidación de moléculas combustibles	48
Cálculo del cambio de energía libre para sistemas de reacción óxido-reducción (REDOX)	49
Capítulo 4.- MÉTODOS NUMÉRICOS.	53
Concepto de Modelo Matemático	53
¿Qué son los métodos numéricos?	54
Ecuaciones diferenciales ordinarias de orden n	57

Solución de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden	58
Método de Euler	61
Métodos de Runge-Kutta	64
Sistemas de ecuaciones diferenciales de primer orden	66
Capítulo 5.- MODELO MATEMATICO.	70
Métodos de simulación en Bioquímica	70
Modelo de acción de masas de la glucólisis	72
Nomenclatura de los compuestos químicos y enzimas del modelo	73
Reacciones químicas del modelo de la glucólisis	74
Expresiones de rapidez	80
Cambios de concentración	83
Datos de constantes de rapidez y concentraciones iniciales	84
Diagrama de flujo para el método de Euler	86
Diagrama de flujo para el método de Runge-Kutta de 4o.orden	89
Capítulo 6.- ANALISIS DE RESULTADOS	94
Ejecución del programa	94
Variación de la concentración contra el tiempo	95
Apéndice	98
Bibliografía	109

CAPITULO 1

I N T R O D U C C I O N

El uso de la computadora como instrumento de investigación es actualmente indispensable y cada día aumenta su campo de acción captando nuevos adeptos.

Un ejemplo de ellos son los bioquímicos, quienes tradicionalmente han usado técnicas analíticas en las que la materia viva se divide para estudiar las reacciones químicas como sistemas aislados. Este procedimiento ha originado una amplia serie de datos relativos a la cinética de reacciones individuales catalizadas por enzimas. A través de los años, estas investigaciones han llevado a concebir los modelos que describen la relación funcional de los componentes del sistema. Ejemplos de ellos son la glucólisis, el ciclo de Krebs y el ciclo del ácido cítrico.

Sin embargo, los métodos sintéticos, en los cuales las enzimas y otros componentes de la célula se recombinan para conformar sistemas metabólicos, no han tenido mucho éxito. Es aquí donde la simulación por computadora ofrece un método para lograr un mejor entendimiento de la interacción dinámica de los componentes en un sistema multienzimático específico.

La simulación ayuda a los bioquímicos a interpretar los resultados

obtenidos en experimentos previos y planear los futuros. También da un método para determinar la importancia relativa de diferentes factores en relación con el comportamiento del sistema. Los sistemas multienzimáticos casi nunca presentan linealidad, por lo que no es posible intuir su forma de proceder. En estos casos, la simulación aporta una herramienta muy importante para la comprensión de las complejas interacciones que se presentan.

El profesional de la Química debe saber manejar y aplicar los conceptos de computación para poder desenvolverse ampliamente en su medio. Resultaría muy difícil que el especialista en computación elabore e interprete los resultados de una simulación de procesos químicos; esa es función del estudioso de la Química.

Los primeros trabajos de simulación de Glucólisis fueron llevados a cabo por Chance y sus colaboradores en la Universidad de Pennsylvania en el año de 1960. Su modelo era resuelto por el método de Euler para la solución de ecuaciones diferenciales simultáneas. En tiempos más recientes, Spain en su libro BASIC Microcomputer Models in Biology, recopila toda la información relativa a la simulación de la Glucólisis, además de otros sistemas multienzimáticos.

La presente obra pretende superar el método numérico de Chance aplicando el método de Runge-Kutta de 4o. orden. Se cree que con este método y con la avanzada tecnología en microcomputadoras que hoy en día existe, se logren resultados mucho más rápidos que con el método de Chance. Además, la simulación permitirá tener una mejor comprensión de los fenómenos que ocurren dentro de la Glucólisis.

Se inicia esta misión con el estudio de la Glucólisis, sentando las bases de la Bioquímica que rigen este proceso elemental de los organismos vivos. Dado que las reacciones químicas involucradas en la Glucólisis (como cualquier otro tipo de reacción), dependen de la Cinética Química y las leyes de la Termodinámica, se dedica una parte especial a su estudio. ¿Qué es la rapidez de una reacción?, ¿qué es inhibición?, ¿qué es la catálisis enzimática?, ¿cómo funcionan las reacciones de óxido-reducción?, son algunas de las preguntas que se responden en este capítulo. La Termodinámica, como ciencia fundamental de la Bioquímica, explica cómo es posible que la Glucólisis ocurra por sí sola.

Para hacer el programa de computación que lleve a cabo la simulación de la Glucólisis, se usarán los métodos numéricos y el lenguaje de programación BASIC. Se da un breve repaso de lo que son los métodos numéricos para resolver las ecuaciones diferenciales que se proponen en el modelo matemático. También se explica detalladamente la anatomía del programa de computadora, para que cualquier persona que esté interesada en elaborar su propio programa o perfeccionarlo, pueda hacerlo.

Por último, se analizarán los resultados obtenidos de la ejecución del programa y se comprobará si el modelo es más ágil y eficiente que el propuesto por Chance. Se discutirá además qué tan bien describe la realidad la Simulación de la Glucólisis.

LA GLUCÓLISIS.

Un patrón casi universal en sistemas biológicos para la generación de energía metabólica, es la Glucólisis.

Glucólisis es la secuencia de reacciones que convierte glucosa en piruvato con la consecuente producción de ATP.

En organismos aeróbicos, la Glucólisis es el proceso que precede al ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte del electrón, que juntas recopilan la mayor parte de la energía contenida en la glucosa. En condiciones aeróbicas, el piruvato entra a la mitocondria, donde se oxida completamente a bióxido de carbono y agua. Si el suministro de oxígeno es insuficiente, como en un músculo contrayéndose activamente, el piruvato se convierte en lactato. En algunos organismos anaeróbicos, como la levadura, el piruvato se transforma en etanol. La fermentación, es un proceso generador de ATP, donde compuestos orgánicos actúan tanto como donadores como receptores de electrones; ésta puede ocurrir en ausencia de oxígeno y fué descubierta por Pasteur.

La ruta glucolítica, ha constituido el primer sistema enzimático que ha sido aclarado; llamó la atención de algunos de los bioquímicos más importantes de la primera mitad del siglo XX. La experiencia adquirida en el estudio de la Glucólisis, ofreció una nueva visión y abrió nuevos caminos para el estudio de la enzimología y metabolismo intermediario.

Se inicia esta misión con el estudio de la Glucólisis, sentando las bases de la Bioquímica que rigen este proceso elemental de los organismos vivos. Dado que las reacciones químicas involucradas en la Glucólisis (como cualquier otro tipo de reacción), dependen de la Cinética Química y las leyes de la Termodinámica, se dedica una parte especial a su estudio. ¿Qué es la rapidez de una reacción?, ¿qué es inhibición?, ¿qué es la catálisis enzimática?, ¿cómo funcionan las reacciones de óxido-reducción?, son algunas de las preguntas que se responden en este capítulo. La Termodinámica, como ciencia fundamental de la Bioquímica, explica cómo es posible que la Glucólisis ocurra por sí sola.

Para hacer el programa de computación que lleve a cabo la simulación de la Glucólisis, se usarán los métodos numéricos y el lenguaje de programación BASIC. Se da un breve repaso de lo que son los métodos numéricos para resolver las ecuaciones diferenciales que se proponen en el modelo matemático. También se explica detalladamente la anatomía del programa de computadora, para que cualquier persona que esté interesada en elaborar su propio programa o perfeccionarlo, pueda hacerlo.

Por último, se analizarán los resultados obtenidos de la ejecución del programa y se comprobará si el modelo es más ágil y eficiente que el propuesto por Chance. Se discutirá además qué tan bien describe la realidad la Simulación de la Glucólisis.

CAPITULO 2.

G L U C O L I S I S

OBJETO DE ESTUDIO DE LA BIOQUIMICA.

Bioquímica es el estudio de las bases moleculares de la vida. Entre las razones que la hacen hoy en día muy interesante, se pueden señalar:

- 10.- Se entienden los fundamentos químicos de algunos procesos centrales. Ej: Estructura del DNA, elucidación del código genético y la ruta central del metabolismo.
- 20.- Existen patrones moleculares comunes y principios que rigen las diversas formas de vida. Ej: E. coli y humanos.
- 30.- Está teniendo una creciente influencia en la medicina. Ej: Ensayos de actividad enzimática, son importantes en diagnósticos clínicos; provee las bases para un diseño racional de drogas; se han elucidado los mecanismos moleculares de las enfermedades.
- 40.- Ha permitido a los investigadores atacar algunos de los problemas más desafiantes y fundamentales de la Biología y la Medicina.

LA GLUCÓLISIS.

Un patrón casi universal en sistemas biológicos para la generación de energía metabólica, es la Glucólisis.

Glucólisis es la secuencia de reacciones que convierte glucosa en piruvato con la consecuente producción de ATP.

En organismos aeróbicos, la Glucólisis es el proceso que precede al ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte del electrón, que juntas recopilan la mayor parte de la energía contenida en la glucosa. En condiciones aeróbicas, el piruvato entra a la mitocondria, donde se oxida completamente a bióxido de carbono y agua. Si el suministro de oxígeno es insuficiente, como en un músculo contrayéndose activamente, el piruvato se convierte en lactato. En algunos organismos anaeróbicos, como la levadura, el piruvato se transforma en etanol. La fermentación, es un proceso generador de ATP, donde compuestos orgánicos actúan tanto como donadores como receptores de electrones; ésta puede ocurrir en ausencia de oxígeno y fué descubierta por Pasteur.

La ruta glucolítica, ha constituido el primer sistema enzimático que ha sido aclarado; llamó la atención de algunos de los bioquímicos más importantes de la primera mitad del siglo XX. La experiencia adquirida en el estudio de la Glucólisis, ofreció una nueva visión y abrió nuevos caminos para el estudio de la enzimología y metabolismo intermediario.

HISTORIA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA GLUCOLISIS.

Un descubrimiento clave fué hecho por Hans y Edward Buchner en 1897 accidentalmente. Ellos querían fabricar extractos sin células de levadura para un posible uso terapéutico; decidieron preservarlo usando sacarosa y observaron que ésta, era rápidamente fermentada en alcohol por el jugo de levadura. Este fué un descubrimiento sumamente significativo pues demostraron, por primera vez, que la fermentación puede ocurrir fuera de las células vivientes. Hasta ese día se creía que la fermentación estaba estrictamente ligada a células vivas, idea confirmada por Pasteur en 1860; el descubrimiento de los Buchner vino a refutar este dogma vitalístico y dió paso a la moderna Bioquímica. El metabolismo se convirtió entonces en química.

La siguiente contribución notable fué hecha por Harden y Young en 1905. Ellos añadieron jugo de levadura a una solución de glucosa y hallaron que la fermentación empezaba casi inmediatamente, pero el ritmo de fermentación decrecía notablemente a menos que le añadieran fosfato inorgánico, mismo que desaparecía en el transcurso de la fermentación, por lo que infirieron que el fosfato inorgánico se incorporaba a un fosfato de azúcar. Estos investigadores, aislaron la fructosa 1,6-difosfato (que es un difosfato de hexosa). También encontraron que existen dos tipos de sustancias necesarias para la fermentación, a las que llamaron la zimasa y la cozimasa; la primera, inestable al calor (50 °C) pero no dializable, y la segunda, estable al calor pero dializable.

Actualmente se sabe que la "zimasa" consiste en un grupo de

enzimas, mientras que la "cozimas" está formada de iones metálicos, trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ATP) y coenzimas tales como el dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD+).

Varios años después, estudios hechos con extractos de músculos mostraron que muchas de las reacciones de fermentación láctica fueron las mismas que las que se presentan en la fermentación alcohólica, con lo cual se llegó a un descubrimiento fascinante debido a que revela una remarcada unidad en bioquímica.

El patrón completo de la Glucólisis fué elucidado para el año de 1940, gracias a las contribuciones de Gustav Embden, Otto Meyerhof, Carl Neuberg, Jacob Parnas, Otto Warburg, Gerty Cori y Carl Cori. La Glucólisis también se conoce como el ciclo de Embden-Meyerhof.

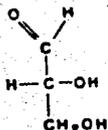
NOMENCLATURA Y CONFORMACIÓN DE LOS MONOSACÁRIDOS

Antes de entrar al estudio de las reacciones de la Glucólisis, es conveniente hablar de la estructura y nomenclatura de los monosacáridos, que son los compuestos más sencillos de los carbohidratos. Los monosacáridos son aldehidos y cetonas que tienen dos o más grupos hidroxilo, y se clasifican según el número de átomos de carbonos en su cadena. Su fórmula empírica es $(CH_2O)_n$. Los más simples de ellos, donde $n=3$, son el gliceraldehido y la dihidroxiacetona, que se les designa con el nombre genérico triosas. Al gliceraldehido se le llama aldosa porque contiene un grupo

aldehído, mientras que la dihidroxiacetona es una cetosa ya que contiene un grupo cetona.

Cuando un carbohidrato tiene un carbono asimétrico, puede presentar dos estereoisómeros. Tal es el caso del gliceraldehído.

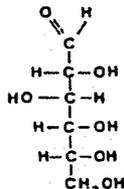
Los azúcares con 4,5,6 y 7 átomos de carbono son llamados tetrosas, pentosas, hexosas y heptosas, respectivamente. Dos hexosas comunes son la D-glucosa y la D-fructosa. El prefijo D significa que la configuración absoluta del carbono asimétrico más lejano del grupo aldehído o cetona, llamado carbono-5, es el mismo que en el D-gliceraldehído. La glucosa es una aldosa y la fructosa una cetosa.



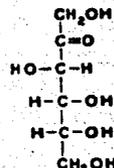
GLICERALDEHIDO



DIHIDROXIACETONA



D-GLUCOSA

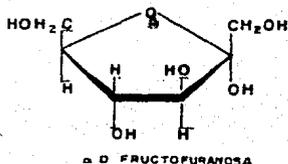
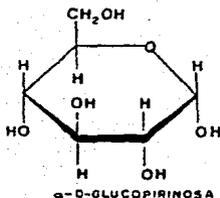


D-FRUCTOSA

Las formas más comunes de fructosa y glucosa en solución son estructuras de cadena abierta. Estas formas de cadena abierta pueden hacerse cíclicas para formar anillos. En general, un aldehído puede reaccionar con un alcohol para formar un hemiacetal. El aldehído C-1 de la glucosa en la forma de cadena abierta reacciona con el grupo hidroxilo de C-5 para formar un hemiacetal intramolecular. El anillo del azúcar de seis carbonos resultante se llama piranosa debido a su similitud con el pirano.

De la misma manera, una cetona puede reaccionar con un alcohol para

formar un hemiacetal intramolecular y recibe el nombre de furanosa debido a su parecido con el furano.



Las fórmulas estructurales respectivas se presentan en proyecciones de Haworth, donde los átomos de carbono en el anillo no se muestran explícitamente. El plano cercano del anillo es perpendicular al plano del papel, con la línea ancha del anillo próxima al lector.

Se crea un centro asimétrico adicional cuando la glucosa se hace cíclica. El C-1, átomo de carbono carbonílico en la forma abierta, se hace un centro asimétrico en la forma anular. Por lo tanto, se pueden formar dos estructuras anulares: la alfa-D-glucopiranososa y la beta-D-glucopiranososa. La designación alfa, significa que el grupo hidroxilo unido a C-1, está debajo del plano del anillo; beta significa que está encima del mismo. Al carbono C-1 se le llama átomo de carbono anomérico y, por lo tanto, a las formas alfa y beta se les dice anómeros.

Se aplica la misma nomenclatura a la forma anular de la fructosa, excepto que alfa y beta se refieren al grupo hidroxilo de C-2, que es el átomo de carbono anomérico en cetosas.

La alfa-D-glucopiranososa, beta-D-glucopiranososa y la glucosa en forma

de cadena abierta se interconvierten rápidamente, al igual que la furanosa y las formas de cadena abierta de la fructosa. La designación de glucosa y fructosa se referirá a la mezcla en equilibrio entre las formas de cadena abierta y anulares de estos azúcares.

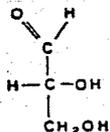
ESTRUCTURAS FUNDAMENTALES Y REACCIONES GENERALES EN GLUCÓLISIS

Antes de entrar al estudio de la secuencia de eventos que ocurren durante el proceso metabólico de glucólisis, es conveniente conocer la estructura de los reactivos y los tipos de reacción química que ocurren.

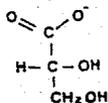
Los intermediarios en glucólisis, tienen 6 o 3 átomos de carbono. Los compuestos de 6 carbonos son derivados de la glucosa y fructosa; los compuestos formados por 3 carbonos son derivados de la dihidroxiacetona, gliceraldehído, glicerato y piruvato.



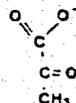
DIHIDROXIACETONA



GLICERALDEHIDO



GLICERATO



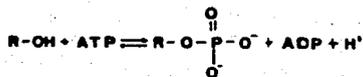
PIRUVATO

Todos los intermediarios en la glucólisis entre la glucosa y el piruvato son fosforilados. Los grupos fosforilo pueden estar, en estos compuestos, unidos con un éster o con un anhídrido.

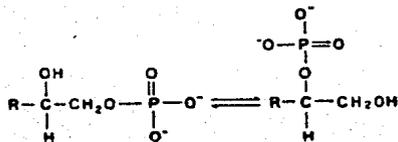
A continuación se presentan algunos tipos importantes de reacciones

que se efectúan durante la glucólisis.

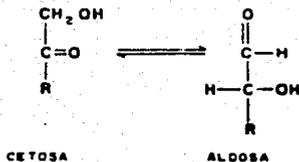
a) **Transferencia de un fosforilo:** Un grupo fosforilo se transfiere del ATP a un intermediario glucolítico o viceversa.



b) **Traslado de un fosforilo:** Un grupo fosforilo es trasladado dentro de una molécula de un oxígeno a otro.

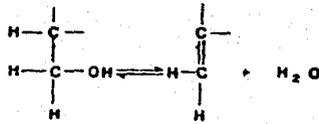


c) **Isomerización:** Ocurre cuando una cetosa se convierte en una aldosa, o viceversa.

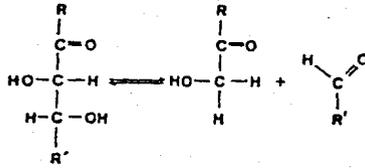


d) **Deshidratación:** Se elimina una molécula de agua.

DESHIDRATACION



e) Desdoblamiento aldólico. Una unión carbono-carbono se rompe; es lo contrario de una condensación aldólica.



ETAPAS DE LA GLUCÓLISIS.

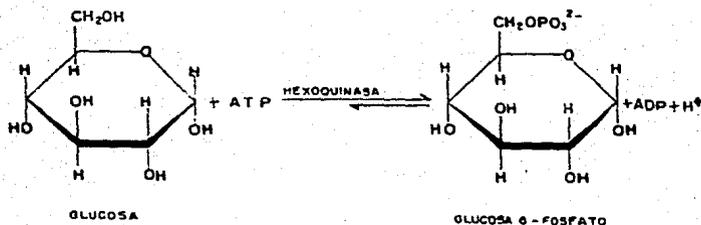
A continuación se verán las etapas que se llevan a cabo en la ruta de la glucólisis. Las reacciones de esta ruta se efectúan en el citosol de la célula.

FORMACION DE FRUCTOSA-1,6-DIFOSFATO A PARTIR DE GLUCOSA.

La primera etapa, que es convertir la glucosa en fructosa-1,6-difosfato, consiste de tres pasos: una fosforilación, una isomerización y una segunda fosforilación. En estos pasos iniciales de la glucólisis se pretende formar un compuesto que pueda desdoblarse fácilmente en unidades fosforiladas de tres átomos de carbono. Subsecuentemente, la

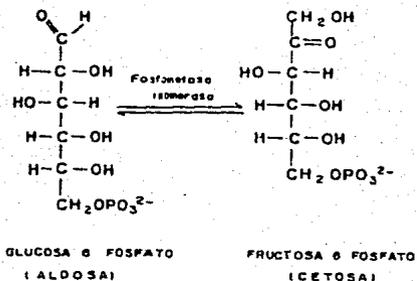
energía se extrae de las unidades de tres carbonos.

Una vez dentro de las células, el único destino que tiene la glucosa es fosforilarse con ATP para formar glucosa-6-fosfato. La transferencia del grupo fosforilo del ATP al grupo hidroxilo en C-6 de la glucosa, es catalizada por la hexoquinasa.

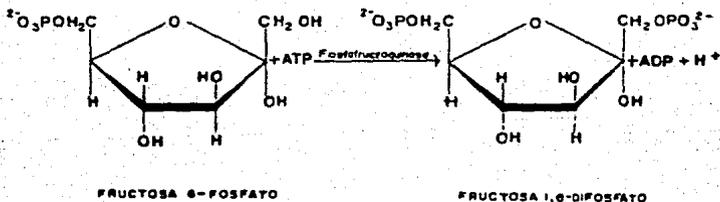


Una enzima que transfiere un grupo fosforilo del ATP a un aceptor se llama quinasa. La hexoquinasa es, por lo tanto, una enzima que transfiere un grupo fosforilo a una variedad de azúcar de 6 carbonos (hexosas). La hexoquinasa, al igual que todas las quinastas, requiere ión Mg^{+2} (u otro ión metálico divalente como el Mn^{+2}) para funcionar. El ión del metal divalente forma un complejo con el ATP.

El siguiente paso en glucólisis es la isomerización de la glucosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato. El anillo piranosa de 6 miembros de la glucosa-6-fosfato se convierte en un anillo furanosa de 5 miembros de la fructosa-6-fosfato. Esta isomerización es en realidad una conversión de una aldosa en una cetosa. Las representaciones de cadena abierta de dichos azúcares muestra la esencia de esta reacción.



Continúa una reacción de fosforilación donde se adiciona un segundo fosfato a la fructosa-6-fosfato mediante el ATP para dar fructosa-1,6-difosfato.

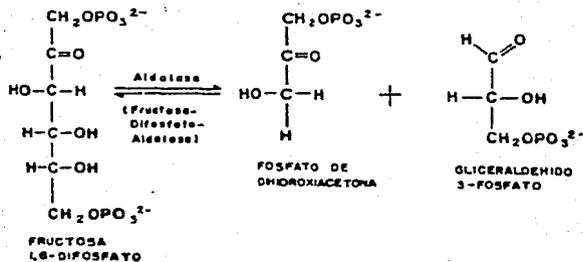


Esta reacción se cataliza con la fosfofructoquinasa, que es una enzima alostérica. La marcha de la glucólisis depende de manera crítica del nivel de actividad de esta enzima. Se dice que es alostérica porque depende de la concentración de ATP y de otros metabolitos; cuando hay exceso de ATP, se inhibe su acción enzimática; pero es estimulada por el ADP o el AMP.

FORMACION DE GLICERALDEHIDO-3-FOSFATO Y FOSFATO DE DIHIDROXIACETONA POR DESDOBLAMIENTO E ISOMERIZACION.

La segunda etapa de la glucólisis consiste de cuatro pasos, iniciando con la división de la fructosa-1,6-difosfato en dos productos: gliceraldehido-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona.

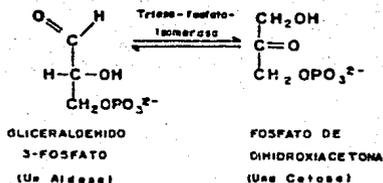
Los pasos restantes de la glucólisis involucran unidades de 3 carbonos en vez de 6 carbonos.



Esta reacción es catalizada por la enzima aldolasa, que deriva su nombre de la naturaleza de la reacción en sentido inverso, que es una condensación aldólica.

El gliceraldehido-3-fosfato está en la ruta directa de la glucólisis, pero el fosfato de dihidroxiacetona no lo está. Sin embargo, el fosfato de dihidroxiacetona puede convertirse fácilmente en gliceraldehido-3-fosfato. Estos dos compuestos son isómeros; el fosfato de dihidroxiacetona es una cetosa, mientras que el gliceraldehido-3-fosfato es una aldosa. La isomerización de estos dos fosfatos de triosa es catalizada por la triosa-fosfato-isomerasa. Esta reacción

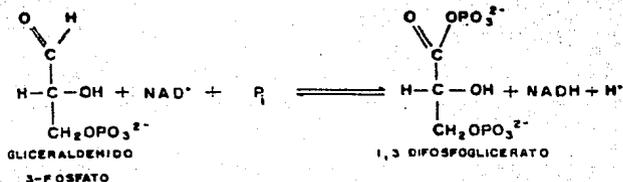
es reversible y muy rápida. En el equilibrio, el 96% de los fosfatos de triosa es el fosfato de dihidroxiacetona. No obstante, la reacción procede sin dificultad del fosfato de dihidroxiacetona al gliceraldehido-3-fosfato debido a la eficiente remoción de este producto.



Al final, se forman dos moléculas de gliceraldehido-3-fosfato a partir de una molécula de fructosa-1,6-difosfato gracias a la acción consecutiva de la aldolasa y la triosa-fosfato-isomerasa.

CONSERVACIÓN DE ENERGÍA: LA FOSFORILACIÓN ACOPLADA A LA OXIDACIÓN DE GLICERALDEHIDO-3-FOSFATO.

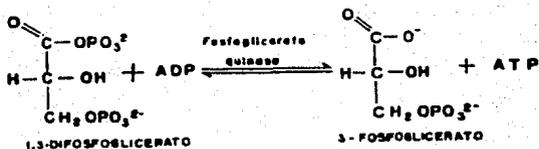
En los siguientes pasos de la glucólisis es donde se extrae la energía contenida en el gliceraldehido-3-fosfato. La reacción inicial en esta secuencia, es la conversión de gliceraldehido-3-fosfato en 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG), una reacción catalizada por la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa.



En esta reacción de óxido-reducción se genera un compuesto fosfatado de alta energía. El grupo aldehído en C-1 se convierte en un fosfato de acilo, que es un anhídrido combinado de ácido fosfórico y ácido carboxílico. La energía para la formación de este anhídrido, que tiene un alto potencial de transferencia del grupo fosfato, proviene de la oxidación del grupo aldehído. Nótese que el C-1 en 1,3-DPG está al nivel de oxidación de ácido carboxílico. La formación de 1,3-DPG es un ejemplo de fosforilación a nivel sustrato.

FORMACION DE ATP A PARTIR DE 1,3-DPG.

En el siguiente paso de la glucólisis, el alto potencial de transferencia de fosforilo del 1,3-DPG, es usado para generar ATP. Es, en efecto, la primera reacción de generación de ATP en glucólisis. La fosfoglicerato quinasa cataliza la transferencia del grupo fosforilo del fosfato de acilo del 1,3-DPG al ADP. Los productos de reacción son ATP y 3-fosfoglicerato.



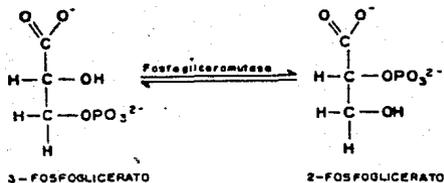
Por lo tanto, los resultados netos de las reacciones catalizadas por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y la fosfoglicerato quinasa son:

- 1.- Gliceraldehído-3-fosfato, un aldehído, ha sido oxidado a 3-fosfoglicerato, un ácido carboxílico.
- 2.- NAD⁺ ha sido reducido a NADH.
- 3.- ATP se ha formado del fosfato inorgánico (Pi) y ADP.

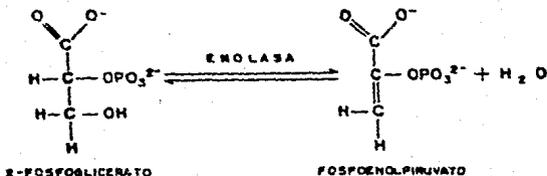
FORMACION DE PIRUVATO Y GENERACION DE UN SEGUNDO ATP.

A continuación se explicará la última etapa de la glucólisis, consistente en tres pasos, por medio de los cuales el 3-fosfoglicerato se convierte en piruvato y una segunda molécula de ATP es formada.

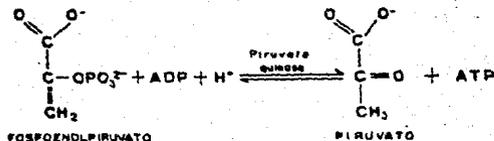
La primera de estas reacciones es un rearrreglo intramolecular. La posición del grupo fosforilo cambia en la conversión de 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato, una reacción catalizada por fosfogliceromutasa. En general, una mutasa es una enzima que cataliza el traslado intramolecular de un grupo químico, como es el caso del grupo fosforilo.



En la segunda reacción, se forma un enol mediante la deshidratación del 2-fosfoglicerato. La enolasa cataliza la formación de fosfoenolpiruvato. Esta reacción de deshidratación aumenta sensiblemente el potencial de transferencia del grupo fosforilo. Un fosfato de enol tiene un potencial de transferencia de grupo fosforilo alto, mientras que el éster de fosfato de un alcohol ordinario, lo tiene bajo.

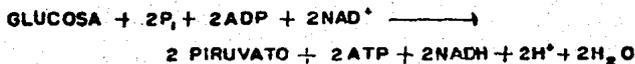


La última reacción es la formación de piruvato, con la consecuente generación de un ATP. La transferencia de un grupo fosforilo, del fosfoenolpiruvato al ADP, es catalizada por la piruvato quinasa. Esta reacción de fosforilación es no-oxidativa, a diferencia de la que es catalizada por gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.



RENDIMIENTO DE ENERGÍA EN LA CONVERSIÓN DE GLUCOSA EN PIRUVATO.

La reacción neta en la transformación de glucosa en piruvato es la siguiente:



Por lo tanto, en la conversión de glucosa en piruvato, son generadas dos moléculas de ATP.

Mediante el siguiente cuadro de reacciones, en las que interviene el ATP, ya sea consumido o formado, se puede apreciar más claramente este fenómeno:

REACCION	CAMBIO DE ATP POR GLUCOSA
Glucosa \longrightarrow glucosa 6-fosfato	-1
Fructosa 6-Fosfato \longrightarrow Fructosa 1,6-Difosfato	-1
2 1,3-Difosfoglicerato \longrightarrow 2 3-Fosfoglicerato	+2
2 Fosfoglicerato \longrightarrow 2 Piruvato	+2
TOTAL	+2

El agente receptor de electrones en la oxidación de gliceraldehído-3-fosfato es NAD^+ , el cual debe ser regenerado para que la glucólisis prosiga. En organismos aeróbicos, el NADH formado en la glucólisis, transfiere sus electrones al oxígeno, a través de la cadena de transporte de electrones, lo que a su vez regenera NAD^+ . Bajo condiciones anaeróbicas, el NAD^+ se regenera por reducción de piruvato a lactato. En algunos microorganismos, el NAD^+ normalmente se regenera por la síntesis de lactato o etanol a partir de piruvato; estos dos procesos se conocen como fermentación.

La glucólisis tiene dos funciones principales: degrada la glucosa para generar ATP y provee elementos de construcción para la síntesis de componentes celulares. La rapidez de conversión de glucosa en

piruvato se regula para satisfacer estas dos necesidades fundamentales de la célula.

Las reacciones de la glucólisis son fácilmente reversibles bajo condiciones fisiológicas normales, excepto aquellas que son catalizadas por la hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvato quinasa. La fosfofructoquinasa, que es el elemento de control más importante en glucólisis, se inhibe con la presencia de altos niveles de ATP y citrato, y se activa con el AMP. De esta forma, esta enzima es activada cuando aumenta la necesidad, ya sea de energía o de elementos de construcción. La hexoquinasa se inhibe con la presencia de glucosa-6-fosfato, que se acumula cuando la fosfofructoquinasa está inactiva. La piruvato quinasa, el otro punto de control, se inhibe alostéricamente por el ATP, y así, la conversión de fosfoenolpiruvato en piruvato se bloquea cuando existe una alta concentración de ATP en la célula.

CAPITULO 3

CINÉTICA QUÍMICA Y PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DE LA GLUCÓLISIS

Como ya se sabe, la glucólisis es un proceso consistente en una serie de reacciones químicas en cadena, cuya finalidad es descomponer la molécula de glucosa en lactato y obtener energía en forma de ATP. Dentro de la glucólisis existen varios tipos de reacciones, como las catalizadas con enzimas, las no catalíticas, reacciones de óxido-reducción, reacciones reversibles, irreversibles, etc. Con el objeto de desarrollar un modelo matemático que logre describir con bastante exactitud el fenómeno de glucólisis, es preciso conocer a fondo la naturaleza fisicoquímica de estas reacciones.

La primera parte del capítulo describe los fundamentos de cinética química, haciendo especial énfasis en cinética enzimática y en reacciones de óxido-reducción. La segunda parte explica las leyes termodinámicas que rigen la glucólisis.

CONCEPTOS DE CINÉTICA QUÍMICA EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.

El funcionamiento de un organismo vivo depende seriamente de la rapidez relativa con que ocurren muchas reacciones que se efectúan y

estas reacciones, a su vez, dependen de la complejidad de los mecanismos de los procesos bioquímicos.

La Cinética Química es, entonces, la rama de la Fisicoquímica que se encarga del estudio de la rapidez de los procesos químicos. A continuación, se presentan los principios fundamentales de esta materia.

Rapidez de Reacción.

La rapidez de una reacción química usualmente se expresa como la rapidez de cambio de concentración de un reactivo o producto.

Para la reacción hipotética:



se pueden obtener las variaciones, con respecto al tiempo, de las concentraciones de reactivo (A) y de producto (B).

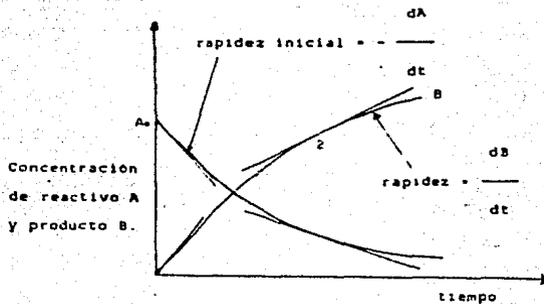


Fig. 3.1: Gráfica de concentración de A y B en función de tiempo.

Para cualquier tiempo t , se puede dibujar la línea tangente a la curva 1 para la desaparición de A; la pendiente de esta tangente es la rapidez con que desaparece A en ese tiempo. Como un caso particular, se puede dibujar la tangente al tiempo $t=0$, que corresponde al inicio del experimento cinético; con la pendiente de esta tangente es posible obtener la rapidez inicial. De la misma manera, utilizando la curva 2 y trazando tangentes a la curva, se obtiene la rapidez de formación de B a cualquier tiempo.

En ambos casos, la rapidez tiene unidades de concentración sobre tiempo, y comunmente se expresa como mol/dm^{-3} seg.

Orden de una Reacción.

La rapidez de una reacción, v , frecuentemente se relaciona con la concentración de los compuestos A y B mediante una ecuación del tipo

$$v = k [A]^a [B]^b \quad (1)$$

donde a y b son constantes. Se dice entonces que la reacción es de orden " a " con respecto a A y " b " con respecto a B. El orden total de la reacción, n , es la suma de los órdenes mencionados a y b :

$$n = a + b \quad (2)$$

Es importante destacar que el orden de una reacción es una cantidad puramente experimental.

Un caso muy sencillo es cuando la rapidez es proporcional a la concentración de un reactivo elevada a la primera potencia:

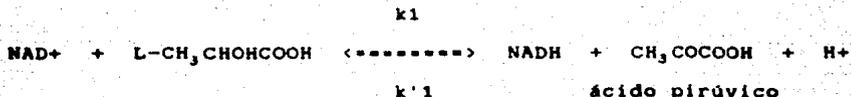
$$v = k [A] \quad (3)$$

Tal reacción se conoce como de primer orden. Un ejemplo de este tipo de reacción es la conversión de oxalosuccinato en alfa-cetoglutarato:



La rapidez de esta reacción es proporcional a la concentración de oxalosuccinato elevado a la primera potencia.

Hay muchos ejemplos de reacciones de segundo orden en sistemas biológicos. La reacción catalizada enzimáticamente entre el dinucleótido de nicotinamida adenina oxidado, NAD+, con el ácido L-láctico se puede escribir como sigue:



Bajo ciertas condiciones, la ecuación de rapidez es

$$v_1 = k_1 [NAD^+] [L-CH_3CHOHCOOH] \quad (4)$$

La reacción es de primer orden con respecto al NAD^+ y de primer orden con respecto al ácido láctico, con lo que el orden total es dos. La reacción en sentido inverso es también de segundo orden bajo ciertas condiciones. De esta manera, la rapidez de formación de ácido láctico a partir de ácido pirúvico, a pH constante, es:

$$v'1 = k'1 [\text{NADH}] [\text{CH}_3\text{COCO}^-\text{OH}] \quad (5)$$

La rapidez de una reacción será proporcional al producto de dos concentraciones, [A] y [B], si la reacción involucra únicamente colisiones entre moléculas A y B.

Constante de rapidez.

La constante k que aparece en la ecuación de rapidez (1), se conoce como constante de rapidez, coeficiente de rapidez o rapidez específica.

Las unidades de la constante de rapidez varían con respecto al orden de la reacción. Para una reacción de primer orden, por ejemplo,

$$v = k [A], \quad (6)$$

si v está dada en $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$ (M s^{-1}), y [A] en mol dm^{-3} (M), la constante de rapidez k estará en s^{-1} .

Para una reacción de segundo orden, cuya expresión de rapidez sea

$$v = k [A]^2 \quad \text{ó} \quad k [A] [B] \quad (7)$$

las unidades de k serán

$$\frac{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}{(\text{mol dm}^{-3})^2} = \text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1} \quad (\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1})$$

Es posible determinar las unidades de constante de rapidez correspondientes a otros órdenes de reacción fácilmente.

CINÉTICA ENZIMÁTICA.

Las enzimas son los catalizadores biológicos. Su acción se asemeja a la acción catalítica de ácidos y bases, pero es sensiblemente más complicada. Los detalles de algunos mecanismos de la acción enzimática están siendo estudiados actualmente, y otros más están por estudiarse aún.

Una característica de las enzimas, distinta de los ácidos y bases, es que éstas tienen un alto grado de especificidad catalítica. Algunas enzimas actúan sobre un sustrato solamente, dichas enzimas se dice que muestran especificidad absoluta. Un grado menor de especificidad es el que presentan las enzimas proteolíticas, que catalizan la

hidrólisis de la cadena peptídica, con base en que ciertos grupos químicos están presentes en la vecindad de la cadena. Esto se conoce como especificidad de grupo. Muchas enzimas exhiben la especificidad estereoquímica, que consiste en catalizar las reacciones de una forma estereoquímica y no de otra.

Escencialmente, las enzimas son todas las proteínas, pero deben estar asociadas con sustancias no proteicas, llamadas coenzimas, que son indispensables para la acción enzimática.

A continuación se presentan brevemente los efectos cinéticos de la concentración, pH y temperatura en reacciones enzimáticas.

Efecto de la Concentración.

Reacciones de un sustrato.

Considérese una reacción catalizada por una enzima donde existe un sustrato sencillo. Un ejemplo es la hidrólisis de un éster. La dependencia de la rapidez de reacción, con respecto a la concentración de sustrato, en tales casos, es usualmente como lo muestra la siguiente figura:

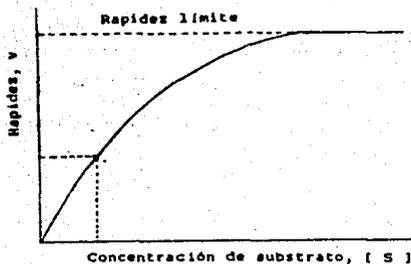
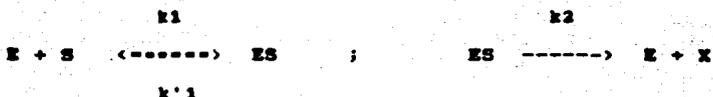


Fig. 3.3: Variación de la rapidez con la concentración de sustrato para una reacción catalizada por enzimas.

La rapidez varía linealmente con la concentración de sustrato a bajas concentraciones (cinética de primer orden), y se hace independiente de la concentración de sustrato a altas concentraciones (cinética de orden cero).

Este tipo de comportamiento inicialmente fué explicado en 1913 por la química Leonor Michaelis y su asistente Mary L. Menten en términos del siguiente mecanismo:



donde E es la enzima, S el sustrato, X el producto y ES un complejo de adición. Michaelis y Menten llegaron a esta ecuación de rapidez asumiendo que existe un equilibrio entre E+S y ES, además de que la reacción subsecuente no afecta la concentración de ES. Sin embargo, esta suposición no se puede justificar en general, por lo que es mejor hacer un tratamiento considerando régimen permanente, como el hecho en 1925 por el fisiólogo George E. Briggs y el genetista John Burdon Sanderson Haldane. A régimen permanente, la rapidez del cambio de concentración de ES es igual a la rapidez de formación, menos la rapidez neta de desaparición:

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = k_1 [\text{E}] [\text{S}] - k'1 [\text{ES}] - k_2 [\text{ES}] = 0 \quad (8)$$

En estudios de reacciones enzimáticas, la concentración molar de

substrato es comúnmente mucho mayor que la de la enzima, de tal manera que poco substrato está destinado a la enzima. La concentración total de enzima, $[E]_0$, es igual a la concentración de enzima libre, $[E]$, mas la concentración de complejo, $[ES]$:

$$[E]_0 = [E] + [ES] \quad (9)$$

Substituyendo $[E]$ en la ecuación (8), da

$$k_1 ([E]_0 - [ES]) [S] - (k'1 + k_2) [ES] = 0 \quad (10)$$

y despejando $[ES]$,

$$[ES] = \frac{k_1 [E]_0 [S]}{k'1 + k_2 + k_1 [S]} \quad (11)$$

La ecuación de rapidez, por lo tanto es:

$$v = k_2 [ES] = \frac{k_1 k_2 [E]_0 [S]}{k'1 + k_2 + k_1 [S]} \quad (12)$$

$$= \frac{k_2 [E]_0 [S]}{(k'1 + k_2)/k_1 + [S]} \quad (13)$$

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_m + [S]} \quad (14)$$

En esta ecuación, K_m es igual a $(k_{-1}+k_2)/k_1$ y se le conoce como constante de Michaelis.

Cuando $[S]$ es suficientemente pequeña, puede ser eliminado del denominador, con lo cual, la rapidez queda

$$v = \frac{k_2}{K_m} [E]_0 [S] \quad (15)$$

y la cinética se hace de primer orden con respecto a la concentración de sustrato. Por otra parte, si $[S] \gg K_m$, entonces

$$v = k_2 [E]_0 \quad (16)$$

y la cinética de reacción será de orden cero. La enzima se encuentra entonces saturada de sustrato, con lo que un incremento adicional de $[S]$ carece de efecto en la rapidez.

Muchas reacciones se rigen por la ley de Michaelis-Menten, y un número considerable de constantes de Michaelis han sido determinadas. Sin embargo, es importante destacar que esta ley empírica no establece que sea un mecanismo simple, dado que mecanismos más complicados pueden mostrar el mismo comportamiento.

Reacciones de dos sustratos.

Existen reacciones enzimáticas en las que intervienen dos sustratos. Un caso particular de este tipo de reacción, se da en reacciones catalizadas por enzimas, cuyas coenzimas están asociadas. Por ejemplo, cuando la enzima lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de lactato en piruvato, uno de los dos átomos de hidrógeno se transfiere como H⁻ a la coenzima dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD⁺), mientras que el otro va a la solución como H⁺. La reacción global es



Este es un caso típico de reacción de dos sustratos.

Para este tipo de reacciones, las ecuaciones a régimen permanente toman una forma más complicada que para las reacciones de un sustrato. Sin embargo, haciendo suposiciones adecuadas, es posible obtener ecuaciones de rapidez fáciles de manejar y con ello poder determinar constantes de Michaelis para este tipo de reacciones, a partir de datos experimentales utilizando métodos gráficos.

INHIBICIÓN.

La rapidez de reacciones catalizadas con enzimas se ve afectada frecuentemente por la presencia de sustancias que se conocen, en general, como moderadores. Cuando se disminuye la rapidez, la

substancia se conoce como inhibidor, y cuando se incrementa, se trata de un activador. En esta sección, se enfocará la atención al efecto que causan los inhibidores, designados con el símbolo I.

Existen inhibidores enzimáticos de varios tipos. Por ejemplo, los inhibidores reversibles e irreversibles. En algunos casos, el inhibidor reacciona tan fuertemente con el centro activo de la enzima, que el proceso no puede invertirse fácilmente.

Por otra parte, los inhibidores reversibles son aquellos que trabajan de tal manera que la inhibición se reduce si se retira el inhibidor del sistema, con lo cual se obtiene una reacción reversible simple con la enzima,



Para el manejo de resultados experimentales, es conveniente definir una cantidad conocida como grado de inhibición, i , que relaciona la rapidez de la reacción sin inhibición, V_0 , con la de la reacción inhibida, V . Se define como la disminución en rapidez, $V_0 - V$, dividida entre la rapidez de la reacción desinhibida:

$$i = \frac{V_0 - V}{V} \quad (17)$$

Resulta conveniente clasificar los inhibidores de acuerdo a su comportamiento en relación con la concentración de sustrato:

1.- El inhibidor actúa de tal manera que el grado de inhibición no

muestra alteración causada por la concentración de sustrato. En este caso se tiene una inhibición puramente no competitiva.

2.- El grado de inhibición originado por una cantidad dada de inhibidor, disminuye cuando se incrementa la concentración de sustrato, en cuyo caso se dice que presenta un comportamiento competitivo. Esto sugiere que el sustrato y el inhibidor compiten por ocupar un lugar en la enzima, de tal manera que el incremento en sustrato desplaza al inhibidor. No obstante, con frecuencia el mecanismo es mucho más complejo que esto.

3.- Algunas veces, el grado de inhibición se incrementa a medida que la concentración de sustrato aumenta. En este caso, se presenta un comportamiento anticompeticitivo.

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DEL IÓN HIDRONIO.

El pH de la solución tiene un marcado efecto en la rapidez de la mayoría de las reacciones enzimáticas. En casi todos los casos, la rapidez de las reacciones enzimáticas, pasa por un máximo a medida que el pH varía, como se puede apreciar en la figura.

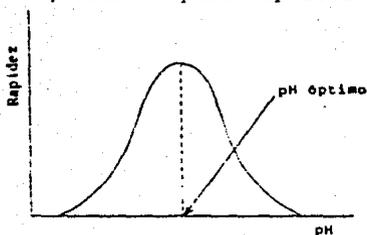
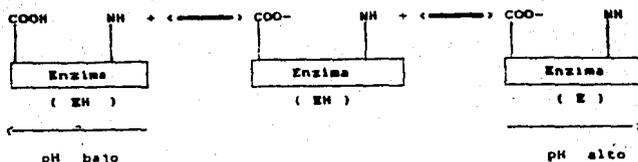


Fig. 3.3: Gráfica de rapidez de una reacción catalizada por enzima en función del pH.

El pH correspondiente a la máxima rapidez, se conoce como pH óptimo. El pH óptimo se atribuye algunas veces como una característica propia de una enzima; aunque varía algo con la naturaleza del sustrato y la concentración del mismo.

Se aprecian dos tipos diferentes de comportamiento cuando se varía el pH: un efecto reversible y uno irreversible. Si la solución se aleja mucho, ya sea al lado ácido o al alcalino, la enzima pierde su actividad irreversiblemente. Esta pérdida de actividad no puede ser recuperada regresando a la región de pH óptimo. Este tipo de comportamiento se debe a un cambio irreversible en la conformación de la proteína, involucrando el rompimiento de ligaduras de hidrógeno e hidrofóbicas que juegan un papel importante en la conservación de la estructura terciaria de la proteína. Estos cambios de conformación destruyen el centro activo de la enzima mediante el cambio de las posiciones relativas de los grupos que forman el centro activo.

Los cambios reversibles de pH ocurren cuando el pH no se aleja mucho de la zona de pH óptimo, de esta manera, no se presentan efectos permanentes. Michaelis y sus colaboradores fueron quienes explicaron primero este comportamiento en base a las formas de ionización de grupos funcionales en la proteína. Es necesario postular, al menos, dos grupos ionizados que desempeñan una función importante en el centro activo. Si estos grupos son $-NH^+$ y $-COOH$, las ionizaciones en el centro activo se representarían como sigue:



El comportamiento del pH puede explicarse postulando que la forma intermedia (zwitterion), es enzimáticamente activa, pero las especies a la izquierda y a la derecha son inactivas. La concentración de la forma intermedia pasa a través de un máximo a medida que el pH varía y, en consecuencia, la rapidez pasa a través de un máximo.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA.

A partir de estudios de la influencia de la temperatura, con la rapidez de reacción, se ha obtenido información valiosa acerca de mecanismos de reacción. Se debe considerar el hecho de que las enzimas evolucionan, por sí solas, a un proceso de desactivación que tiene una alta energía de activación, así como un alto factor de frecuencia.

A temperaturas de 35°C o mayores (dependiendo de qué enzima se trate), la enzima evoluciona a una desactivación muy rápida durante el curso de un experimento cinético y en consecuencia, se observa una disminución en la rapidez de reacción. Como resultado de ello, la rapidez de las reacciones catalizadas por enzimas pasan frecuentemente a través de un máximo a medida que la temperatura es aumentada. Este comportamiento se ilustra en la figura, como sigue:

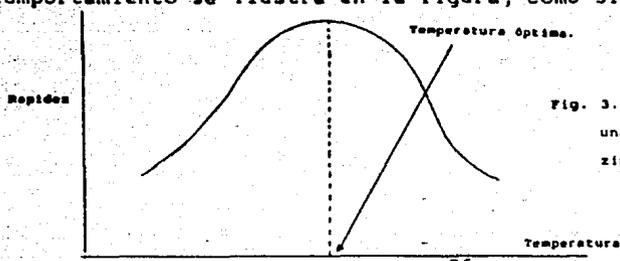


Fig. 3.4: Variación de la rapidez de una reacción catalizada por enzima con la temperatura.

La temperatura a la cual se observa un máximo en la rapidez es conocida como temperatura óptima. Este valor depende de las condiciones del experimento.

Trabajando a temperaturas suficientemente bajas (a las cuales no ocurre inactivación apreciable) o haciendo corrección por inactivación, es posible determinar el efecto de la temperatura en la reacción catalizada por enzima. En el análisis de los resultados se debe tomar en cuenta el hecho de que la ley de rapidez debe ser, por ejemplo,

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_m + S} \quad (18)$$

y no se espera una dependencia simple de la rapidez con la temperatura. Sin embargo, a concentraciones suficientemente altas de sustrato,

$$v = k_2 [E]_0 \quad (19)$$

así que, dado que se espera que k_2 varíe con la temperatura de acuerdo a la Ley de Arrhenius, la misma dependencia de temperatura se encontrará para v , en base a que trabajamos a concentración constante de enzima. Bajo estas condiciones, una gráfica de $\log v$ contra $1/T$ mostrará una línea recta. Este es el caso para muchos sistemas enzimáticos.

A concentraciones suficientemente bajas de sustrato, la rapidez de la ecuación es

$$v = (k_2 / K_m) [E]_0 [S] \quad (20)$$

Sabiendo que $K_m = (k'1 + k_2) / k_1$,

$$v = (k_1 k_2 / (k'1 + k_2)) [E]_0 [S] \quad (21)$$

En general, no es de esperarse una dependencia simple de la rapidez de reacción con la temperatura a bajas concentraciones de sustrato. En el caso especial en que k_2 es mucho mayor que $k'1$, la ecuación 21 se vuelve

$$v = k_1 [E]_0 [S] \quad (22)$$

Si se grafica $\log v$ contra $1/T$ se obtendrá una línea recta, donde la energía de activación calculada a partir de su pendiente, corresponderá a k_1 . Esto es válido para la reacción entre la enzima y el sustrato, con la formación del complejo enzima-sustrato. Por otra parte, si $k'1$ es mucho mayor que k_2 , la ecuación de rapidez se hace

$$v = (k_1 k_2 / k'1) [E]_0 [S] \quad (23)$$

Cada una de las constantes de rapidez k_1 , k_2 y $k'1$ será de la forma de la Ley de Arrhenius, $Ae(-E/RT)$. La energía de activación obtenida de la gráfica ahora será igual a $E_1 + E_2 - E'1$, que son las energías de activación correspondientes a las tres reacciones elementales.

FUNCIONES TERMODINÁMICAS EN BIOQUÍMICA

Los procesos que llevan a cabo las células, como son las funciones vitales, son posibles gracias a reacciones químicas altamente integradas. Estas reacciones químicas, colectivamente, se conocen como metabolismo. Con el objeto de entender el metabolismo, es indispensable revisar algunas relaciones termodinámicas, mismas que se verán a continuación.

ENERGÍA INTERNA.

En Termodinámica, un sistema es el objeto de estudio contenido en una región definida y a todo lo que existe en el resto del universo se le llama alrededores.

La primera ley de la Termodinámica establece que la energía total de un sistema y sus alrededores es constante. En otras palabras, la energía se conserva. La expresión matemática de la primera ley es:

$$\Delta U = U_b - U_a = Q + W \quad (24)$$

donde U_a es la energía de un sistema al inicio del proceso y U_b al final del mismo; Q es el calor absorbido o desprendido por el sistema y W es el trabajo ejercido por o sobre el sistema. Cabe aclarar que si el trabajo es realizado por el sistema, éste será de signo negativo.

Una característica importante de la ecuación (24), es que el cambio de energía de un sistema depende sólo de los estados inicial y final, mas no de la trayectoria de la transformación.

La primera ley de la Termodinámica no puede ser usada para predecir si una reacción será espontánea o no. Muchas reacciones ocurren espontáneamente con un ΔU negativo, pero otras también son espontáneas teniendo ΔU positivo; en estos casos, el sistema absorbe calor de los alrededores, de tal manera que la suma de las energías del sistema y de los alrededores permanece constante.

ENTROPÍA.

Resulta evidente que se necesita una función diferente de la energía interna para poder saber la espontaneidad de un proceso. Una función que cumple con este requisito es la entropía (S), que es una medida del grado de desorden de un sistema. La entropía de un sistema aumenta, si el ΔS es positivo, cuando cambia a un estado más desordenado.

La segunda ley de la Termodinámica establece que un proceso puede ocurrir espontáneamente sólo si la suma de entropías del sistema y sus alrededores aumenta.

$$(\Delta S \text{ sistema} + \Delta S \text{ alrededores}) > 0 \quad (25)$$

para un proceso espontáneo

Es importante destacar que un sistema puede disminuir su entropía durante un proceso espontáneo, con la condición que la entropía de los

alrededores aumente, para que su suma sea un valor positivo. Por ejemplo, la formación de una estructura biológica altamente ordenada resulta termodinámicamente factible debido a que su decremento de entropía es menor que el aumento de entropía que sufren sus alrededores.

ENERGÍA LIBRE.

Una dificultad para usar la entropía como criterio para saber si un proceso bioquímico será espontáneo o no, es que los cambios de entropía de reacciones químicas no son fáciles de medir. Más aún, el criterio de espontaneidad dado en la ecuación (25) requiere que ambos cambios de entropía, el del sistema en estudio y el de sus alrededores, sean conocidos. Estas dificultades se eliminan usando una función termodinámica diferente llamada energía libre, que se denota por el símbolo G. En 1878, Josiah Willard Gibbs creó la función energía libre combinando la primera y la segunda ley de la Termodinámica. La ecuación básica es

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (26)$$

donde ΔG es el cambio de energía libre del sistema que sufre una transformación a presión y temperatura constante; ΔH es el cambio de entalpía de este sistema y; ΔS es su cambio de entropía. Nótese que las propiedades de los alrededores no se necesitan en esta ecuación.

El cambio de entalpía está dado por

$$\Delta H = \Delta U + P \Delta V \quad (27)$$

El cambio en volumen, ΔV , es pequeño para casi todas las reacciones bioquímicas y de esta manera, ΔH es prácticamente igual a ΔU . Entonces,

$$\Delta G = \Delta U - T \Delta S \quad (28)$$

Por lo tanto, el ΔG de una reacción depende del cambio de energía interna y del cambio de entropía del sistema.

El cambio de energía libre (ΔG) de una reacción es un criterio valioso para saber si ocurrirá espontáneamente.

- 1.- Una reacción puede ocurrir espontáneamente sólo si ΔG es negativo.
- 2.- Un sistema está en equilibrio y no puede ocurrir un cambio neto si ΔG tiene un valor de cero.
- 3.- Una reacción no puede ocurrir espontáneamente si ΔG es positivo. Se requiere suministrar energía libre para llevar a cabo tal reacción.

Es necesario enfatizar dos ideas adicionales. Primero, el ΔG de una reacción depende sólo de la energía libre de los productos (el estado final) menos la de los reactivos (el estado inicial). El ΔG de una reacción es independiente del camino que siga la transformación. El mecanismo de una reacción no tiene efecto en el ΔG . Por ejemplo, el ΔG para la oxidación de glucosa a CO_2 y agua es el mismo si ocurre por combustión in vitro o mediante una serie de reacciones catalizadas por enzimas en una célula. Segundo, el ΔG no provee información de la rapidez de una reacción. Un ΔG negativo indica que una reacción puede

ocurrir espontáneamente, pero no significa que puede ocurrir rápidamente.

CAMBIO DE ENERGÍA LIBRE ESTÁNDAR DE UNA REACCIÓN Y SU RELACIÓN CON LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO.

Considérese la reacción $A + B \rightleftharpoons C + D$,
 el ΔG de esta reacción está dado por

$$\Delta G = \Delta G' + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (29)$$

donde $\Delta G'$ es el cambio de energía libre estándar, R es la constante universal de los gases, T es la temperatura absoluta, [A], [B], [C] y [D] son las concentraciones molares (más rigurosamente, las actividades) de los reactantes.

$\Delta G'$ es el cambio de energía libre para esta reacción bajo condiciones estándar, es decir, cuando cada uno de los reactantes A, B, C, y D están presentes a concentración 1 M. De esta manera, el ΔG de una reacción depende de la naturaleza de los reactantes (expresada en el término $\Delta G'$ de la ecuación (29)) y de sus concentraciones (expresada en el término logarítmico de dicha ecuación).

Se ha adoptado una convención para simplificar los cálculos de energía libre en reacciones bioquímicas. Se define el estado estándar a un pH de 7 y, el símbolo que se usa, es $\Delta G''$. La unidad de energía que se usa es la kilocaloría.

La relación entre la energía libre estándar y la constante de equilibrio de una reacción se puede derivar fácilmente. En el equilibrio, $\Delta G = 0$. La ecuación (29) se hace

$$0 = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (30)$$

y así

$$\Delta G^{\circ} = - RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (31)$$

La constante de equilibrio bajo condiciones estándar, K'_{eq} , se define como

$$K'_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (32)$$

Por último, substituyendo (32) en (31),

$$\Delta G^{\circ} = - RT \ln K'_{eq} \quad (33)$$

Como ejemplo, calcúlese el ΔG° y ΔG para la isomerización de dihidroxiacetona fosfato a gliceraldehído 3-fosfato. Esta reacción, como ya se ha visto, ocurre en la glucólisis. En el equilibrio, la relación de gliceraldehído 3-fosfato a dihidroxiacetona fosfato es 0.0475 a 25 °C (298 K) y a pH 7. Por lo tanto, $K'_{eq} = 0.0475$. El cambio de energía libre estándar para esta reacción se calcula de la ecuación (33):

$$\begin{aligned}\Delta G'' &= - 1.98 \text{ E-3 Kcal/mol} \cdot \text{K} \cdot 298 \cdot \text{K} \cdot \ln (0.0475) \\ &= + 1.8 \text{ Kcal/mol}\end{aligned}$$

Ahora, calcúlese ΔG para esta reacción cuando la concentración inicial de dihidroxiacetona fosfato es 2 E-4 M y la de gliceraldehído 3-fosfato es 3 E-6 M . Substituyendo estos valores en la ecuación (29), se tiene

$$\begin{aligned}\Delta G &= 1.8 \text{ Kcal/mol} + RT \ln (3 \text{ E-6 M}) / (2 \text{ E-4 M}) \\ &= 1.8 \text{ Kcal/mol} - 2.5 \text{ Kcal/mol} \\ &= -0.7 \text{ Kcal/mol}\end{aligned}$$

Este valor negativo para el ΔG indica que la isomerización de dihidroxiacetona fosfato a gliceraldehído 3-fosfato puede ocurrir espontáneamente a las concentraciones dadas anteriormente para estas especies. Nótese que el ΔG para esta reacción es negativa a pesar que $\Delta G''$ es positiva. Es importante destacar que ya sea el ΔG mayor, menor o igual que el $\Delta G''$, éste depende de la concentración de los reactantes. El criterio de espontaneidad para una reacción lo da ΔG y no $\Delta G''$.

CÁLCULO DE CAMBIO DE ENERGÍA LIBRE PARA REACCIONES EN CADENA.

Un hecho termodinámico importante es que el cambio de energía libre total de una serie de reacciones es igual a la suma de los cambios de energía libre de los pasos individuales. Tómese como ejemplo, la siguiente serie de reacciones:



$$\Delta G^{\circ} = + 5 \text{ Kcal/mol}$$



$$\Delta G^{\circ} = - 8 \text{ Kcal/mol}$$



$$\Delta G^{\circ} = - 3 \text{ Kcal/mol}$$

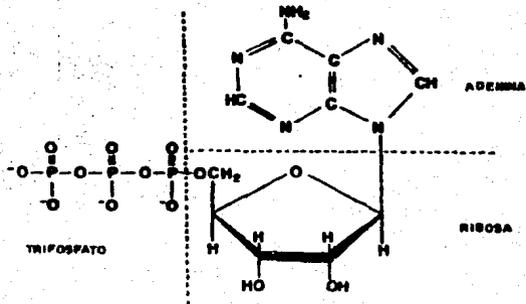
Bajo condiciones estándar, A no puede convertirse a B y C espontáneamente dado que ΔG es positivo. Sin embargo, la conversión de B en D bajo condiciones estándar es termodinámicamente posible. En base a que los cambios de energía libre son aditivos, la conversión de A en C y D tiene un ΔG° de -3 Kcal/mol, que significa que puede ocurrir espontáneamente bajo condiciones estándar. Por lo tanto, una reacción termodinámicamente desfavorable puede ser conducida por una termodinámicamente favorable. Estas reacciones están acopladas por B, que es el intermediario común. Existen muchos otros ejemplos de energía acoplada en el metabolismo.

LA FUNCIÓN DEL ATP COMO PORTADOR UNIVERSAL DE ENERGÍA LIBRE EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.

Los seres vivos requieren de un suministro continuo de energía libre para tres propósitos principales: La ejecución de trabajo mecánico en la contracción muscular y otros movimientos celulares; el transporte activo de iones y moléculas y; la síntesis de macromoléculas y otras biomoléculas de precursores sencillos. Esta especie que lleva la energía libre es el trifosfato de adenosina (ATP).

El ATP es un nucleótido consistente de una unidad adenina, una

ribosa y un trifosfato, como se muestra en la figura.



La forma activa del ATP es generalmente un complejo de ATP con Mg^{++} y Mn^{++} . El ATP es una molécula rica en energía porque su unidad trifosfato contiene dos enlaces fosfoanhidrido. Una gran cantidad de energía libre se libera cuando el ATP se hidroliza a difosfato de adenosina (ADP) y ortofosfato (P_i) o cuando el ATP se hidroliza a monofosfato de adenosina (AMP) y pirofosfato (pP_i). El $\Delta G'$ para estas reacciones depende de la fuerza iónica del medio y de las concentraciones de Mg^{++} y Ca^{++} . Su valor es de -7.3 Kcal/mol para fines prácticos. Bajo condiciones celulares típicas, el ΔG real para estas hidrólisis es aproximadamente -12 Kcal/mol.

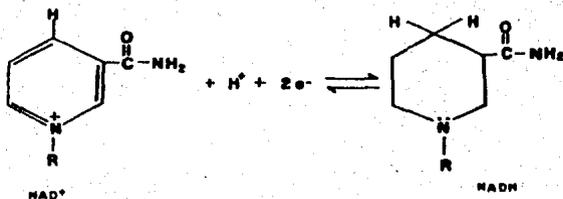
La energía libre generada en la hidrólisis de un enlace anhídrido del ATP, se usa para llevar a cabo reacciones que requieren suministro de energía libre, tal como la contracción muscular. A su vez, el ATP se forma a partir del ADP y P_i cuando se oxidan las moléculas combustibles o cuando se hace la fotosíntesis. El ATP continuamente se está consumiendo y regenerando del ADP. Este ciclo del ATP-ADP es el modo fundamental de intercambio de energía en sistemas biológicos.

LA FUNCIÓN DEL NADH COMO AGENTE DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES EN LA OXIDACIÓN DE MOLECULAS COMBUSTIBLES.

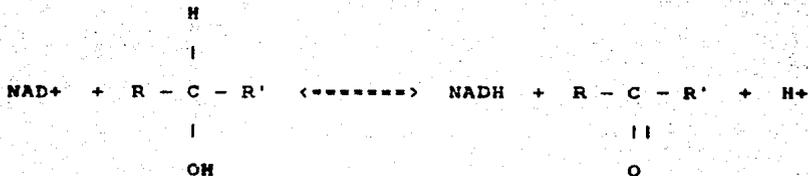
Los seres vivos que no efectúan la fotosíntesis, obtienen energía libre de la oxidación de moléculas de combustible, tales como glucosa y ácidos grasos. En organismos aeróbicos, el aceptor de electrones final es el oxígeno. Sin embargo, los electrones no se transfieren directamente de las moléculas de combustible y sus productos de descomposición a oxígeno, sino que estos substratos transfieren electrones a transportadores especiales, los cuales pueden ser nucleótidos de piridina o flavina. Las formas reducidas de estos transportadores, transfieren entonces su alto potencial de electrones al oxígeno, por medio de una cadena transportadora de electrones localizada en la membrana interna de la mitocondria. El ATP se forma a partir del ADP y P_i , como resultado de este flujo de electrones. Este proceso, llamado fosforilación oxidativa, es la mayor fuente de ATP en organismos aeróbicos.

Alternativamente, los electrones de alto potencial adquiridos de la oxidación de moléculas combustibles, pueden utilizarse en la biosíntesis que requiera poder reductor junto con ATP.

El dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD^+), es el principal aceptor de electrones en la oxidación de moléculas de glucosa y ácidos grasos. La parte reactiva del NAD^+ es su anillo de nicotinamida. En la oxidación de un substrato, al anillo de nicotinamida del NAD^+ acepta un ión hidronio y dos electrones, que son equivalentes a un ión hidruro. La forma reducida de este transportador es el NADH.



El NAD⁺ es aceptor de electrones en muchas reacciones del tipo



En esta deshidrogenación, un átomo de hidrógeno del sustrato se transfiere directamente al NAD⁺, mientras que el otro aparece en el disolvente. Ambos electrones perdidos por el sustrato se transfieren al anillo de nicotinamida.

CALCULO DEL CAMBIO DE ENERGIA LIBRE PARA SISTEMAS DE REACCION
OXIDO-REDUCCION (REDOX).

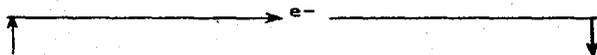
Una vez estudiada la importancia que tiene el NAD⁺ dentro de la glucólisis, toca el turno destacar que esta especie química interviene en reacciones de óxido-reducción o REDOX. En este tipo de reacciones, se efectúa la interconversión de formas oxidadas y reducidas, involucrando la participación de iones hidronio, así como la

transferencia de electrones. Dicha transferencia de electrones siempre ocurre en una dirección; de la forma oxidada, que dona electrones, a la forma reducida, que los recibe.

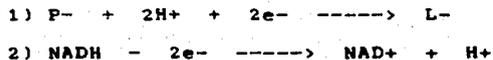
Considérese como ejemplo la siguiente reacción REDOX que se presenta en la parte final de la glucólisis:



Con el fin de determinar el cambio de energía libre así como la constante de equilibrio para esta reacción, se analizará desde el punto de vista de la Electroquímica. Para poder estudiar este sistema en una celda electroquímica, se construiría de la siguiente manera:



donde P⁻ y L⁻ son los iones piruvato y lactato respectivamente. La parte izquierda de la celda representa el ánodo, que es la semicelda donde se efectúa la oxidación o pérdida de electrones, mientras que la parte derecha es el cátodo, y en él se lleva a cabo la reducción o ganancia de electrones. Las dos medias reacciones que se presentan en este sistema son:



Las ecuaciones respectivas para el cálculo de la FEM son:

$$1) E = E' + \frac{RT}{2F} \ln \frac{[P-][H+]}{[L-]} \quad (34)$$

$$2) E = E' + \frac{RT}{2F} \ln \frac{[NAD+][H+]}{[NADH]} \quad (35)$$

A partir de tablas, se obtienen los valores de potenciales estándar de electrodo a pH 7 para las dos reacciones, con lo que se puede calcular el potencial estándar de la celda a pH 7,

$$1) E' = -0.185 \text{ V}$$

$$2) E' = -0.320 \text{ V}$$

sabiendo que

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}} \quad (36)$$

$$E_{\text{c}} = -0.185 \text{ V} - (-0.320 \text{ V}) = 0.135 \text{ V}$$

Con base en este dato, es posible calcular el cambio de energía libre de Gibbs estándar para esta reacción mediante la ecuación

$$\Delta G' = -nFE' \quad (37)$$

sabiendo que $n=2$, se tiene

$$\Delta G' = -2 * 96,500 * 0.135 \text{ J}$$

$$= -26,055 \text{ J}$$

$$= -6.23 \text{ Kcal}$$

la constante de equilibrio a pH 7, $K = \frac{[L-] [NAD^+]}{[P-] [NADH]}$

se puede calcular como

$$K_{eq}' = e^{-\Delta G' / RT} \quad (38)$$

y substituyendo el ΔG calculado, se obtiene el resultado:

$$K_{eq}' = 3.76 \text{ E4}$$

CAPITULO 1

MÉTODOS NUMÉRICOS

Antes de definir y explicar lo que son los métodos numéricos, conviene presentar brevemente lo que son los modelos matemáticos, ya que éstos son los que originan la necesidad de desarrollar métodos numéricos que sean capaces de resolverlos.

CONCEPTO DE MODELO MATEMÁTICO.

Las representaciones matemáticas de los fenómenos naturales son lo que se conoce como Modelos Matemáticos, y se caracterizan por mostrar los efectos de los factores que son significativos para el investigador.

Un modelo matemático siempre contiene menor información que el proceso que pretende representar. Por ello, para elaborar el modelo, el investigador debe seleccionar cuáles características del proceso son de mayor relevancia y capaces de ser representadas. El hecho de que el modelo maneje menos información y de manera diferente que el proceso real, permite al analista la fácil comprensión del fenómeno en estudio.

Para elegir un modelo, se debe sopesar la complejidad del modelo con el grado de dificultad de su solución.

Es preciso, para ello, considerar tres factores fundamentales, que

son los siguientes:

- a) El "orden" del modelo, o sea, el número de funciones independientes requeridas para describir el proceso.
- b) El número de parámetros involucrados en el modelo.
- c) El número de variables independientes incluidas en el modelo.

Dado que los modelos, son aproximados, éstos deben mejorarse con la verificación experimental, pero nunca podrán verificarse exactamente por el alto costo y dificultad de la experimentación.

¿QUE SON LOS METODOS NUMERICOS?

Una vez que se ha formulado el problema y se ha hecho el análisis matemático, se procede a la construcción de un algoritmo adecuado de solución. Este algoritmo de solución capaz de resolver el modelo matemático propuesto es lo que se llama Método Numérico.

El método numérico solo se emplea cuando las variables dependientes cambian con respecto al tiempo.

Para facilitar el cálculo que dé la solución a los problemas propuestos por medio de métodos numéricos de una manera confiable y rápida, es imprescindible que esos métodos sean ejecutados en una computadora. Es por esta razón que los métodos numéricos siempre están enfocados hacia su manejo por medio de la informática.

Los modelos matemáticos de procesos físicos o naturales contienen inevitablemente algunos errores inherentes. Estos errores, son el

resultado del entendimiento incompleto del fenómeno natural, la naturaleza aleatoria de muchos procesos e incertidumbres en las mediciones experimentales. Este es el motivo por el cual es indispensable aproximar. Con frecuencia, un modelo incluye sólo las características más pertinentes del proceso físico y los efectos de segundo nivel son considerados deliberadamente como detalles superfluos.

Aunque se pudiera desarrollar un modelo matemático libre de errores, en general, no se puede resolver exactamente en una computadora digital. Una computadora puede manejar sólo un número limitado de operaciones aritméticas sencillas (adición, sustracción, multiplicación y división) con números racionales finitos. Operaciones matemáticas más complejas, tales como diferenciación, integración y evaluación de series infinitas, no pueden ser ejecutadas directamente por computadora. Todas estas computadoras tienen memorias finitas y registros computacionales; sólo una serie discreta de números reales racionales pueden ser generados, manipulados y almacenados. Por lo tanto, es imposible representar cantidades infinitesimalmente pequeñas o infinitamente grandes.

Los métodos numéricos, son por lo tanto, algoritmos que utilizan sólo operaciones aritméticas y ciertas operaciones lógicas tales como comparación algebraica.

El error introducido al aproximar la solución de un problema matemático por un método numérico es usualmente conocido como Error de Truncación del método.

Cuando un método numérico está corriendo o siendo ejecutado en una

computadora, después de la transcripción a la forma de un programa de computadora, se introduce otra clase de error, conocido como Error de Redondeo. Estos errores son causados por el redondeo de resultados de operaciones aritméticas individuales, debido a que sólo un número finito de dígitos pueden ser retenidos después de cada operación, y difieren de computadora a computadora, aun cuando se esté usando el mismo método numérico.

El comportamiento de muchos procesos físicos, especialmente aquellos sistemas que presentan cambios que dependen del tiempo, pueden ser descritos por ecuaciones diferenciales ordinarias. Es por ello que los métodos de solución para este tipo de ecuaciones son de gran importancia para los ingenieros y científicos.

A pesar de que muchas ecuaciones diferenciales importantes pueden ser resueltas por técnicas analíticas bien conocidas, un gran número de ecuaciones diferenciales que tienen significado físicamente, no se pueden resolver. Afortunadamente, las soluciones de tales ecuaciones pueden ser generadas numéricamente, sin dificultad.

Dado que el fenómeno de la glucólisis consiste en una serie de reacciones químicas que presentan cambios de concentración en función del tiempo, es posible describir matemáticamente este proceso de conversión de la glucosa mediante ecuaciones diferenciales. Es por ello, que se enfocará hacia el estudio de métodos numéricos aplicados a la solución de ecuaciones diferenciales ordinarias.

ECUACIONES DIFERENCIALES ORDINARIAS DE ORDEN N.

Considérese la solución de ecuaciones diferenciales ordinarias de orden n de la forma

$$F\left(x, y, \frac{dy}{dx}, \frac{d^2y}{dx^2}, \frac{d^3y}{dx^3}, \dots, \frac{d^ny}{dx^n}\right) = 0$$

Una ecuación de este tipo se conoce como ecuación de orden n debido a que la derivada más alta es de orden n, y ordinaria porque sólo aparecen derivadas totales; no aparecen derivadas parciales, es decir, sólo hay una variable independiente, x.

Una función $y(x)$ que satisface esta ecuación, implica que es al menos, diferenciable n veces, se dice que es una solución de la ecuación. Para obtener una solución única es necesario proporcionar información adicional, tal como valores de $y(x)$ y/o sus derivadas para algunos valores específicos de x. Para una ecuación de orden n, normalmente son suficientes n condiciones dadas para determinar una solución única $y(x)$. Si todas las n condiciones se especifican al mismo valor de x (x_0 por ejemplo), entonces el problema se designa como problema con valores iniciales. Cuando más de un valor de x está involucrado, el problema se conoce como problema con valores a la frontera.

Una ecuación diferencial ordinaria de orden n se puede escribir como un sistema de n ecuaciones de primer orden definiendo n-1 variables nuevas.

En vista de que ecuaciones de segundo o mayor orden se pueden manejar como ecuaciones de primer orden, mediante una reformulación, el objeto de estudio será la solución numérica de ecuaciones de primer orden.

SOLUCIÓN DE ECUACIONES DIFERENCIALES ORDINARIAS DE PRIMER ORDEN.

Una ecuación de primer orden es, por definición, de la forma

$$\frac{dy}{dx} = f(x, y)$$

Se va a buscar una solución $y(x)$ que satisfaga esta ecuación así como una condición específica inicial. En general, es imposible determinar $y(x)$ en forma analítica: en vez de eso, el intervalo en la variable independiente x donde se desea conocer una solución, $[a, b]$, se divide en subintervalos o etapas. El valor de la solución verdadera $y(x)$ se aproxima a $n+1$ valores espaciados de x (x_0, x_1, \dots, x_n), de tal manera que el tamaño del segmento o etapa h , queda determinado por:

$$h = (b-a) / n$$

$$y \quad x_i = x_0 + ih, \quad \text{donde } i = 0, 1, 2, \dots, n$$

De estas manera, la solución está dada en forma tabular para los $n+1$ valores discretos de x solamente.

Llámesese a los valores verdaderos de $y(x)$ como $y(x_i)$ y a los

valores calculados mediante aproximación, como Y_i para los mismos puntos, así que

$$Y_i = y(X_i)$$

La verdadera derivada, dy/dx en los puntos base será aproximada por $f(X_i, Y_i)$, abreviada como f_i , tal que

$$f_i = f(X_i, Y_i) = f(X_i, y(X_i))$$

Cuando se han efectuado los cambios numéricos con exactitud, es decir, sin error de redondeo, la diferencia entre el valor calculado Y_i y el valor verdadero $y(X_i)$, es el error originado por utilizar intervalos o etapas discretas en vez de intervalos diferenciales. Tal error se denomina Error de Truncación (\mathcal{E}_i) y se define como:

$$\mathcal{E}_i = Y_i - y(X_i)$$

El error de truncación encontrado al integrar una ecuación diferencial a lo largo de una etapa, se conoce como error de truncación local. El error de truncación se determina únicamente, por el procedimiento numérico de solución particular seleccionado, esto es, por la naturaleza de la aproximación presente en el método. Este tipo de error es independiente de las características de la computadora que se utilice.

Por otra parte, existen errores de diferente tipo que tienen que ver con el equipo de computación con que se opere. Las computadoras

tienen la memoria finita, y en consecuencia una cantidad finita de dígitos para cada número (usualmente de 7 a 12 dígitos significativos). Por lo tanto, cualquier número racional o algún número con más dígitos significativos de los que se pueden retener, que estén presentes en una secuencia de cálculo, se han de aproximar mediante valores redondeados. El error involucrado se conoce como error de redondeo y está determinado por las características computacionales de la máquina que realiza los cálculos.

Los procedimientos numéricos para resolver ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden se pueden clasificar a grandes rasgos en dos grupos, los llamados de un paso (etapa) y los métodos multietapas.

Los métodos de una etapa permiten el cálculo de Y_{i+1} dada la ecuación diferencial e información de X_i solamente, esto es, un valor Y_i . Los métodos multietapas requieren, además, valores de Y_j y/o f_i a otros valores X_j fuera del intervalo de integración bajo consideración $[X_i, X_{i+1}]$.

Una desventaja de los métodos multietapas, es que se requiere mayor información para iniciar el procedimiento que está normalmente disponible directamente. Usualmente está dada una condición inicial $y(X_0)$, y los subsecuentes valores $y(X_1)$, $y(X_2)$, etc. son desconocidos. Para iniciarlo, se requiere de algún otro método, como el de una etapa. Otra dificultad que presenta este tipo de método, es que no se puede cambiar el tamaño de la etapa h sin alterar el cálculo, mientras que en métodos de una etapa sí es posible hacerlo. Los métodos

multietapas requieren, sin embargo, menos computación que los métodos de una etapa para producir resultados de comparable exactitud.

Dado que el objetivo principal es desarrollar un programa de computadora que simule el proceso de glucólisis con exactitud y rapidez, el trabajo se enfocará especialmente a métodos numéricos de una etapa, ya que éstas cumplen con tales requerimientos. De los datos experimentales con que se cuenta, son los de concentraciones iniciales, o lo que es lo mismo, a tiempo $t=0$. Con estos datos, se puede iniciar cualquier método de una etapa pero no de multietapas; si se deseara utilizar éste segundo método, se tendría que iniciar el cálculo con un método de una etapa, lo cual implicaría hacer el modelo matemático más complejo y por consiguiente, sería menos ágil su respuesta.

Es así, que se buscará rapidez y exactitud en la respuesta de la simulación, optimizando el manejo de los métodos de una etapa.

MÉTODO DE EULER.

Se empezará describiendo el método numérico llamado "Método de Euler", por ser el más sencillo de todos y más fácil de analizar. Sin embargo, por la sencillez del método, tiene la limitación de dar poca exactitud, lo que muchas veces impide su uso en la mayoría de las aplicaciones prácticas.

Considérese una función como la que se presenta en la figura:

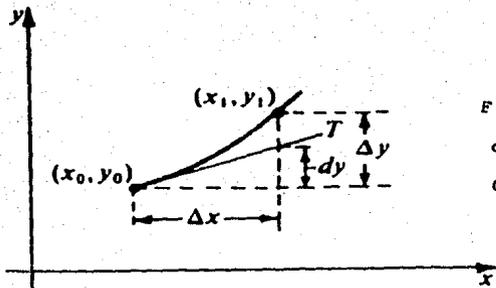


Fig. 4.1: Esquema de la función $dy/dx = f(x,y)$ para los puntos 0 y 1.

Al hacer el traslado del punto inicial (x_0, y_0) al punto nuevo (x_1, y_1) , se inducen cambios en las coordenadas que se denotan como ΔX y ΔY donde:

$$\Delta X = x_1 - x_0$$

$$\Delta Y = y_1 - y_0$$

De la misma manera, se puede escribir:

$$x_1 = x_0 + \Delta X$$

$$y_1 = y_0 + \Delta Y$$

Entonces, se puede aproximar y_1 sabiendo ΔY . Evidentemente, primero se considera x_1 y luego se puede conocer ΔX con exactitud. El método de Euler sirve para aproximar ΔY mediante la diferencial dy , donde

$$dy = (dy/dx) dx = f(x,y) dx \approx f(x,y) \Delta X$$

Claro que para que esta aproximación sea razonablemente exacta, ΔX debe ser bastante pequeña.

Si se conoce la función $y' = dy/dx = f(x,y)$

sabiendo que $y(x_0) = y_0$

y un valor específico de x como x_1 por ejemplo, entonces y_1 se puede calcular con el método de Euler como:

$$Y_1 = Y_0 + f(X_0, Y_0) \Delta X, \quad \text{donde} \quad \Delta X = (X_1 - X_0)$$

Una vez calculado el dato Y_1 , se puede usar el punto (X_1, Y_1) para aproximar Y_2 para un valor dado de X_2 , en cuyo caso,

$$Y_2 = Y_1 + f(X_1, Y_1) \Delta X, \quad \text{donde} \quad \Delta X = (X_2 - X_1).$$

Estas operaciones se pueden repetir para obtener puntos adicionales. Comúnmente, este proceso es efectuado en un intervalo específico con un espaciamiento prescrito entre la coordenada x . Normalmente se trabaja con un espaciamiento uniforme al que se conoce como intervalo o etapa y se denota como h . Si se desean obtener n puntos además del punto inicial, entonces h se calcula como

$$h = (b - X_0) / n$$

donde b es el valor extremo en las abscisas.

La secuencia de puntos $\{(X_i, Y_i)\}$ (desde $i=0$ hasta n), ubicados en una gráfica, generan una curva muy aproximada a la curva de la función real.

El método de Euler se puede resumir en las siguientes fórmulas para las coordenadas de los puntos (X_i, Y_i) :

$$\begin{aligned} \text{a)} \quad X_i &= X_{i-1} + h, & i &= 1, 2, 3, \dots, n \\ \text{b)} \quad Y_i &= Y_{i-1} + f(X_{i-1}, Y_{i-1}) h, & i &= 1, 2, 3, \dots, n \end{aligned}$$

La solución de la ecuación diferencial es la secuencia de puntos $\{(X_i, Y_i)\}$ (desde $i=0$ hasta n). Esta solución comúnmente se presenta en

forma tabular, pero también se puede representar geoméricamente mediante una gráfica, como se muestra en la figura:

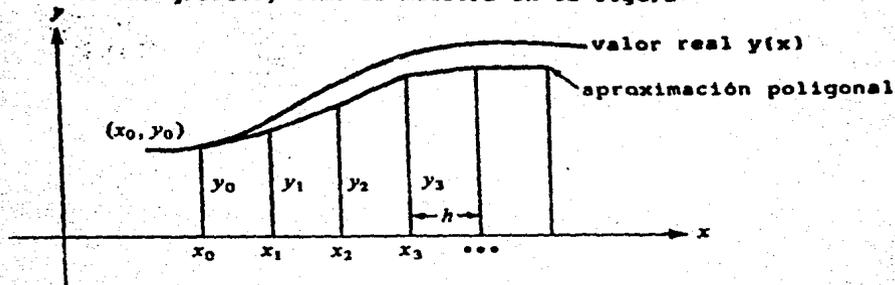


Fig. 4.2: Gráfica de la función real comparada con la aproximación poligonal

MÉTODOS DE RUNGE - KUTTA.

Otro método, que junto con el de Euler es precursor de los métodos de Runge-Kutta, es el método de series de Taylor. No se tratará a fondo este tema, pero se explicará brevemente en qué consiste.

Las series de Taylor pueden usarse para generar representaciones de series de soluciones de ecuaciones diferenciales. En algunos casos, es posible generar series completas, pero en otros no. Las series de Taylor pueden usarse, de otra manera, para obtener una aproximación del valor de la solución de una ecuación diferencial dada. El método de Euler se puede pensar como una aproximación de la serie de Taylor que retiene sólo los dos primeros términos de esta serie.

En general, si la serie de Taylor es aproximada por:

$$y(x_1) = y(x_0) + y'(x_0)h + \frac{y''(x_0)h^2}{2!} + \dots + \frac{y^{(n)}(x_0)h^n}{n!},$$

se dice entonces que tal expresión es una aproximación de Taylor de orden 1. Dicho en otros términos, el método de Euler es una aproximación de Taylor de orden 1.

Conociendo los resultados que arrojan los cálculos de la serie de Taylor, se sabe que la exactitud de la aproximación aumenta con el número de términos retenidos. Por otra parte, la descripción de términos de orden más alto, se hace más y más complicada, y los cálculos respectivos más profusos.

La idea fundamental de los métodos de Runge-Kutta es mantener el orden de una aproximación de Taylor (en el sentido del error involucrado), mientras que se elimina la necesidad de calcular las diversas derivadas parciales de f que están presentes.

La alternativa propuestas por estos métodos consiste en evaluar la función f a ciertos puntos seleccionados, en vez de evaluar las derivadas parciales específicas. A continuación, se presentan las fórmulas de los métodos Runge-Kutta de 3o. y 4o. orden.

La aproximación de Runge-Kutta de orden 3 está definida por la siguiente serie de fórmulas:

$$K_1 = h f(X_i, Y_i) \quad (1)$$

$$K_2 = h f\left(X_i + \frac{1}{2}h, Y_i + \frac{1}{2}K_1\right) \quad (2)$$

$$K_3 = h f(X_i + h, Y_i + 2*K_2 - K_1) \quad (3)$$

$$Y_{i+1} = Y_i + \frac{1}{6} (K_1 + 4*K_2 + K_3) \quad (4)$$

El método consiste en obtener Y_1 de la secuencia de fórmulas (1) a la (4) partiendo de $i=0$. Con este valor de Y_1 y con X_1 , se obtiene Y_2 de la secuencia de fórmulas dada, haciendo $i=1$. Este proceso se repite hasta tener el número deseado de puntos.

La aproximación de Runge-Kutta de orden 4 se especifica mediante las siguientes ecuaciones:

$$L_1 = h f(X_i, Y_i) \quad (5)$$

$$L_2 = h f(X_i + \frac{1}{2}h, Y_i + \frac{1}{2}L_1) \quad (6)$$

$$L_3 = h f(X_i + \frac{1}{2}h, Y_i + \frac{1}{2}L_2) \quad (7)$$

$$L_4 = h f(X_i + h, Y_i + L_3) \quad (8)$$

$$Y_{i+1} = Y_i + \frac{1}{6} (L_1 + 2L_2 + 2L_3 + L_4) \quad (9)$$

Para obtener los valores de $Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_n$, se emplean estas expresiones exactamente de la misma manera que como se emplean en el método de Runge-Kutta de orden 3.

SISTEMAS DE ECUACIONES DIFERENCIALES DE PRIMER ORDEN.

Los métodos descritos con anterioridad, se han referido a sistemas con dos funciones desconocidas, pero dichos métodos también se aplican

para resolver sistemas con cualquier número de funciones desconocidas, como se verá a continuación.

Considerando el problema con valores iniciales

$$\begin{aligned} X' &= F_1(t, x, y) \\ Y' &= F_2(t, x, y) \end{aligned} \quad (10)$$

$$\text{donde } x(t_0) = X_0, \quad y(t_0) = Y_0 \quad (11)$$

En este sistema, x y y son las funciones desconocidas y t es la variable independiente.

Mediante un método numérico del problema con valores iniciales en el intervalo $t_0 \leq t \leq b$, se obtiene una serie de puntos $((t_i, X_i, Y_i))$ (desde $i=0$ hasta n), donde $t_n = b$ y X_i, Y_i son aproximaciones a la solución del sistema de ecuaciones diferenciales (10) cuando $t = t_i$. Se asume que Δt_i es la misma para todas las i ; por lo que

$$\Delta t_i = h = (b - t_0) / n$$

Para el problema con valores iniciales (10) y (11), las fórmulas de Euler se expresan como sigue:

$$X_i = X_{i-1} + F_1(t_{i-1}, X_{i-1}, Y_{i-1}) h, \quad i=1,2,3,\dots,n \quad (12)$$

$$Y_i = Y_{i-1} + F_2(t_{i-1}, X_{i-1}, Y_{i-1}) h, \quad i=1,2,3,\dots,n \quad (13)$$

Para los métodos Runge-Kutta, la generalización para sistemas de

ecuaciones diferenciales es de manera directa. Así, por ejemplo, la aproximación de Runge-Kutta de 3er. orden deberá ser como sigue:

$$\beta_1 = h F_1 (t_i, X_i, Y_i)$$

$$\beta_1 = h F_2 (t_i, X_i, Y_i)$$

$$\beta_2 = h F_1 (t_i + \frac{1}{2}h, X_i + \frac{1}{2}\beta_1, Y_i + \frac{1}{2}\beta_1)$$

$$\beta_2 = h F_2 (t_i + \frac{1}{2}h, X_i + \frac{1}{2}\beta_1, Y_i + \frac{1}{2}\beta_1)$$

$$\beta_3 = h F_1 (t_i + h, X_i + 2*\beta_2 - \beta_1, Y_i + 2*\beta_2 - \beta_1)$$

$$\beta_3 = h F_2 (t_i + h, X_i + 2*\beta_2 - \beta_1, Y_i + 2*\beta_2 - \beta_1)$$

$$X_{i+1} = X_i + \frac{1}{6} (\beta_1 + 4*\beta_2 + \beta_3)$$

$$Y_{i+1} = Y_i + \frac{1}{6} (\beta_1 + 4*\beta_2 + \beta_3)$$

De la misma manera, es posible desarrollar el método de Runge-Kutta de 4o. orden para el sistema de ecuaciones ya planteado. Dicho método se describe a continuación.

$$f_1 = h F_1 (t_i, X_i, Y_i)$$

$$g_1 = h F_2 (t_i, X_i, Y_i)$$

$$f_2 = h F_1 (t_1 + \frac{1}{2}h, X_1 + \frac{1}{2}f_1, Y_1 + \frac{1}{2}\psi_1)$$

$$\psi_2 = h F_2 (t_1 + \frac{1}{2}h, X_1 + \frac{1}{2}f_1, Y_1 + \frac{1}{2}\psi_1)$$

$$f_3 = h F_1 (t_1 + \frac{1}{2}h, X_1 + \frac{1}{2}f_2, Y_1 + \frac{1}{2}\psi_2)$$

$$\psi_3 = h F_2 (t_1 + \frac{1}{2}h, X_1 + \frac{1}{2}f_2, Y_1 + \frac{1}{2}\psi_2)$$

$$f_4 = h F_1 (t_1 + h, X_1 + f_3, Y_1 + \psi_3)$$

$$\psi_4 = h F_2 (t_1 + h, X_1 + f_3, Y_1 + \psi_3)$$

$$X_{i+1} = X_i + \frac{1}{6} (f_1 + 2*f_2 + 2*f_3 + f_4)$$

$$Y_{i+1} = Y_i + \frac{1}{6} (\psi_1 + 2*\psi_2 + 2*\psi_3 + \psi_4)$$

CAPÍTULO 5.

MODELO MATEMÁTICO

En el presente capítulo se explicará cómo se desarrolló el modelo matemático que simula el proceso de la Glucólisis anaeróbica en los seres vivos. También, se describirá la solución de dicho modelo mediante los métodos numéricos utilizados, así como los diagramas de flujo de los programas que los resuelven numéricamente. Los métodos numéricos que se utilizaron fueron el método de Euler y el método de Runge-Kutta de 4o. orden; ambos para la solución de ecuaciones diferenciales simultáneas de primer orden.

Como ya se vió en el capítulo anterior, un modelo matemático es aquél que representa un fenómeno natural en forma matemática y tiene la propiedad de mostrar al investigador los efectos que produce cada uno de los elementos que integran al sistema en estudio. De esta manera, si el investigador desea saber cómo afecta la concentración de glucosa en la formación de ácido láctico, por ejemplo, lo podrá hacer mediante el modelo matemático de la Glucólisis.

MÉTODOS DE SIMULACIÓN EN BIOQUÍMICA.

Los sistemas de estudio en Bioquímica, tales como el ciclo de

Krebs, el ciclo del ácido cítrico y la Glucólisis, se conocen también como sistemas multienzimáticos.

Existen dos métodos principales que se utilizan para simular sistemas multienzimáticos. Uno de ellos, que se usó para muchos de los primeros trabajos en Bioquímica, es el método directo de acción de masas. En este método se considera que las enzimas reaccionan con los sustratos para formar complejos, que a su vez, se descomponen para dar productos. Este método se puede considerar como un modelo extendido o múltiple de Chance-Cleland, quienes fueron los precursores en simulaciones bioquímicas y además, fueron los primeros en desarrollar una simulación de la Glucólisis, en la Universidad de Pennsylvania. La ventaja que tiene este método es que se puede usar en casi todo tipo de reacciones enzimáticas, involucrando uno o más sustratos y puede ser usado para reacciones reversibles así como para reacciones irreversibles.

El segundo método involucra el uso de expresiones de rapidez basadas en derivaciones a régimen permanente. Así, las ecuaciones que se utilizan, tienen una forma similar a la ecuación de Michaelis-Menten. Debido a que incluye unas cuantas operaciones matemáticas, el método es mucho más rápido. El problema con esta técnica, es que es difícil obtener expresiones de rapidez válidas para ciertas reacciones de dos y tres sustratos. Aquellas reacciones que están disponibles, frecuentemente no muestran completa reversibilidad, lo cual es una característica muy deseable, partiendo de la base de la teoría de las enzimas.

MODELO DE ACCIÓN DE MASAS DE LA GLUCOLISIS.

La mayoría de los primeros modelos de sistemas multienzimáticos, emplearon el método directo de resolver cada ecuación, basado en la Ley de Acción de Masas. Se incluyeron las enzimas como reactivos químicos en el sistema. Uno de estos modelos fué desarrollado por Chance en 1960. Este modelo, desarrollado y ejecutado por la computadora UNIVAC I, era capaz de aceptar hasta 49 componentes químicos, cada uno de los cuales interviene en una o más reacciones de primero, segundo o tercer orden; reversibles o irreversibles. El modelo se usó para investigar el control del metabolismo de la glucosa y su relación con el oxígeno, concentración de ATP y otros factores. No obstante la técnica empleada, relativamente cruda, el modelo hizo posible el estudio cinético de sistemas multienzimáticos, de tal manera que los resultados fueron comparables con la dinámica de células intactas.

Se desarrolló el modelo de acción de masas porque ofrece mucha exactitud en los resultados y además, debido a que se cuenta con amplia información de concentraciones de compuestos químicos y enzimas, así como de constantes de rapidez para cada reacción presente en el modelo de la Glucólisis.

El modelo que aquí se presenta, se basa en el modelo simplificado de Chance y en el modelo que presenta Spain en su capítulo "Dinámica de Sistemas Multienzimáticos" (de su obra BASIC Microcomputer Models in Biology), pero con algunas modificaciones, para lograr que el modelo se apegue más al mecanismo de reacción de la glucólisis. El

modelo se ha simplificado lo suficiente para poder ser elaborado en lenguaje de programación BASIC y ejecutado en microcomputadora en un tiempo razonable.

NONENCLATURA DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS Y ENZIMAS DEL MODELO.

Antes de presentar las reacciones químicas usadas en el modelo, se indicarán las abreviaturas de los diferentes compuestos químicos y enzimas que participan en el modelo. Algunas de las abreviaturas son de uso estándar (como el ATP, NADH, etc.), mientras que otras no lo son, pero ayudan al fácil reconocimiento de los reactivos.

He aquí la lista de abreviaturas:

GLU	- Glucosa
HEXQ	- Hexoquinasa
CHEXQ	- Complejo-hexoquinasa
HEX6F	- Hexosa-6-fosfato
FOSFQ	- Fosfofructoquinasa
CFOSFQ	- Complejo fosfofructoquinasa con hexosa-6-fosfato
FRU16P	- Fructosa 1,6-difosfato
GLI3P	- Gliceraldehido 3-fosfato
DHXAP	- Dihidroxiacetona fosfato
ATP	- Trifosfato de adenosina
ADP	- Difosfato de adenosina
NADH	- Dinucleótido de nicotinamida adenina reducido
NAD	- Dinucleótido de nicotinamida adenina

- AGLIF - Alfa-glicerofosfato
- G3FDH - Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
- CG3FDH - Complejo de gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa con NAD
- DFGLI - 1,3 difosfoglicerato
- CAG3F - Complejo acilo de gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
- CHFOF - Compuesto monofosforilado
- FI - Fosfato inorgánico
- PIR - Piruvato
- LAC - Lactato

Estas abreviaturas sirven a la vez como nombres de variables que la microcomputadora reconoce como legales y únicas dentro de su memoria.

REACCIONES QUÍMICAS DEL MODELO DE LA GLUCÓLISIS.

No todas las reacciones que ocurren realmente en la Glucólisis forman parte del modelo matemático, debido a la simplificación hecha al mismo. A continuación, se enlistan las reacciones que constituyen el modelo.

R1



R2



R3



R4

4. CPOSFQ + ATP -----> FRU16F + ADP + FOSFQ

R5

5. FRU16F -----> GLI3F + DHXAF

R6

6. DHXAF + NADH -----> AGLIF + NAD

R7

7. AGLIF + NAD -----> DHXAF + NADH

R8

8. DHXAF -----> GLI3F

R9

9. GLI3F -----> DHXAF

R10

10. GLI3F + G3FDESH -----> CG3FDESH

R11

11. CG3FDESH + NAD -----> CAG3F + NADH

R12

12. CAG3F + FI -----> DFGLI + G3FDESH

R13

13. DFGLI + ADP -----> CMFOSF + ATP

R14

14. CMFOSF + ADP -----> PIR + ATP

R15

15. PIR + NADH -----> LAC + NAD

R16

16. LAC + NAD -----> PIR + NADH

17. ATP -----> ADP + Pi

Esta serie de reacciones en cadena que simulan la glucólisis, se apegan lo más posible, al mecanismo de reacción real. Cuando no ocurre así, es que se trata de una simplificación del modelo. En seguida se explica cada una de las reacciones.

Reacción 1.- La glucosa reacciona con la hexoquinasa para dar un complejo de hexoquinasa con glucosa, lo que hace posible el ataque posterior del ATP. Se trata de una reacción prácticamente irreversible.

Reacción 2.- El complejo formado, reacciona con el ATP para formar la glucosa 6-fosfato y ADP, liberando la enzima hexoquinasa. La glucosa 6-fosfato forma la fructosa 6-fosfato mediante la fosfoglucosa isomerasa; esta es una reacción reversible y se considera suficientemente rápida como para no tomarla en cuenta dentro del modelo. Por esta razón, se menciona a la hexosa 6-fosfato como el producto de la reacción, pues equivale a la glucosa 6-fosfato y a la fructosa 6-fosfato.

Reacción 3.- La enzima fosfofructoquinasa ataca a la fructosa 6-fosfato (en el modelo, hexosa 6-fosfato) para formar el complejo de fructosa 6-fosfato con fosfofructoquinasa. Esta enzima tetramérica es el elemento de control más importante en la glucólisis, pues controla

una reacción irreversible, sin la cual no puede seguir adelante la glucólisis. La fosfofructoquinasa es inhibida por el ATP y estimulada por el AMP, de tal manera, que cuando hay exceso de energía en la célula, se inhibe la glucólisis y, cuando la carga de energía es baja, se estimula el proceso. Cuando está inhibida la fosfofructoquinasa, se tiene un incremento de fructosa 6-fosfato y, con ello, un incremento de glucosa 6-fosfato pues ambos compuestos están en equilibrio; de esta manera, también se inhibe la acción de la hexoquinasa.

Reacción 4.- El complejo de fructosa 6-fosfato con fosfofructoquinasa es atacado por el ATP para formar la fructosa 1,6-difosfato, el ADP y liberar a la fosfofructoquinasa. Esta también es una reacción irreversible.

Reacción 5.- La fructosa 1,6-difosfato se descompone para formar el gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato. En realidad, esta reacción está catalizada por la aldolasa, pero se asume que esta enzima funciona bien por debajo de la velocidad máxima de reacción y no se le considera, teniendo así, una reacción simple de primer orden.

Reacción 6.- La dihidroxiacetona reacciona con el NADH para originar el alfa-glicerofosfato y el NAD. Es una reacción reversible.

Reacción 7.- Esta reacción es la misma que la Reacción 6 pero de sentido contrario, es decir, se forma dihidroxiacetona y NADH a partir de alfa-glicerofosfato y NAD.

Reacción 8.- La dihidroxiacetona se transforma en gliceraldehido 3-fosfato. Esta es una reacción reversible y está catalizada por la enzima triosa triosa fosfato isomerasa, pero al igual que en la Reacción 5, ésta se considera de primer orden pues la enzima es tan eficaz que no implica obstáculo para la reacción que cataliza.

Reacción 9.- El gliceraldehido 3-fosfato pasa a ser dihidroxiacetona. Esta es la reacción inversa a la anterior y se hace la misma consideración con respecto a la enzima.

Reacción 10.- En esta reacción catalizada por la enzima gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa, actúa como sustrato el gliceraldehido 3-fosfato. La enzima presenta en el sitio activo un grupo sulfhidrilo que actúa como nucleófilo. El sustrato reacciona con la forma ionizada de este grupo sulfhidrilo para formar un hemitioacetal.

Reacción 11.- El complejo enzima-sustrato formado en la reacción anterior, transfiere un ión hidronio al NAD⁺ que está fuertemente unido a la enzima. Los productos de esta reacción son la coenzima reducida NADH y un tioéster. Este tioéster es un intermediario rico en energía, y corresponde al complejo de acilo del gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa. Por otra parte, el NADH se disocia de la enzima y el NAD⁺ nuevamente se une al sitio activo, con lo cual, no puede haber reversibilidad en la reacción.

Reacción 12.- El fosfato inorgánico, o también conocido como

ortofosfato, ataca al intermediario de acilo para formar el 1,3-difosfoglicerato, que es un fosfato rico en energía. Al mismo tiempo, se libera la enzima, quedando en su estado original. Un aspecto crucial de la formación del 1,3-difosfoglicerato a partir del gliceraldehído 3-fosfato, es que una reacción termodinámicamente desfavorable, como es la formación de un fosfato de acilo a partir de un carboxilato, es posible gracias a una reacción termodinámicamente favorable, como es la oxidación de un aldehído. Estas dos reacciones se encadenan por el intermediario tioéster, que conserva mucha de la energía libre generada por la reacción de oxidación.

Reacción 13.- Aquí ocurre la formación de la primera molécula de ATP a partir del 1,3-difosfoglicerato y una molécula de ADP. Al perder un fosfato, el 1,3 difosfoglicerato se transforma en 3 fosfoglicerato con ayuda de la enzima fosfoglicerato quinasa; a su vez, el 3-fosfoglicerato se transforma en 2-fosfoglicerato, catalizado por la fosfogliceromutasa; y éste último se convierte en fosfoenolpiruvato, siendo la enolasa el catalizador de esta reacción. Dentro del modelo, se considera que estas reacciones se catalizan tan eficientemente y son tan rápidas, que se manejan como una sola reacción. Por este motivo, el producto llamado compuesto monofosforilado representa a los tres compuestos que contienen un grupo fosforilo, que son el 3-fosfoglicerato, el 2 fosfoglicerato y el fosfoenolpiruvato. Por otra parte, no es significativo considerar la reversibilidad de estas reacciones y simplifica mucho el modelo.

Reacción 14.- El compuesto monofosforilado (fosfoenolpiruvato en la glucólisis) cede el grupo fosforilo al ADP para formar piruvato y la segunda molécula de ATP. Esta reacción se cataliza por la enzima piruvato quinasa, pero es tan eficiente, que no se considera como reactivo en el modelo y la reacción se maneja como de segundo orden. Esta reacción es irreversible.

Reacción 15.- En esta reacción se efectúa la reducción del piruvato por el NADH para formar el lactato. La reacción está catalizada por el lactato deshidrogenasa. Es una reacción reversible.

Reacción 16.- Esta es la reacción inversa a la anterior, donde se reduce el NAD y se oxida el lactato. En estas dos reacciones, se simplifica el modelo no tomando en cuenta la acción del lactato deshidrogenasa.

Reacción 17.- El ATP se descompone en ADP y fosfato inorgánico. Esta reacción resume los efectos de la utilización del ATP dentro de la glucólisis.

Esta serie de simplificaciones hechas en el modelo matemático, reducen el número de cálculos en aproximadamente un tercio.

EXPRESIONES DE RAPIDEZ.

Dentro del modelo de acción de masas, intervienen las ecuaciones de

rapidez o también llamadas ecuaciones de flujo, las cuales son función de la constante de rapidez, de las concentraciones de cada uno de los reactivos y de la diferencial de tiempo. Estas expresiones son correspondientes a cada reacción química del modelo.

Estas expresiones de rapidez tienen la finalidad de calcular el grado de avance de cada reacción, es decir, qué tanto ha disminuido la concentración de un compuesto químico, si es un reactivo; o qué tanto ha aumentado la concentración de otro compuesto, si se trata de un producto, en un tiempo determinado.

A continuación se indican las expresiones de rapidez.

$$R1 = Q1 * GLU * HEXQ * DT$$

$$R2 = Q2 * CHEXQ * ATP * DT$$

$$R3 = Q3 * HEX6F * FOSFQ * DT$$

$$R4 = Q4 * CFOSFQ * ATP * DT$$

$$R5 = Q5 * FRU16F * DT$$

$$R6 = Q6 * DHXAF * NADH * DT$$

$$R7 = Q7 * AGLIF * NAD * DT$$

$$R8 = Q8 * DHXAF * DT$$

$$R9 = Q9 * GLI3F * DT$$

$$R10 = Q10 * GLI3F * G3FDESH * DT$$

$$R11 = Q11 * CG3FDESH * MAD * DT$$

$$R12 = Q12 * CAG3F * FI * DT$$

$$R13 = Q13 * DFGLI * ADP * DT$$

$$R14 = Q14 * CMFOSF * ADP * DT$$

$$R15 = Q15 * PIR * NADH * DT$$

$$R16 = Q16 * LAC * NAD * DT$$

$$R17 = Q17 * ATP * DT$$

Aquí, R_i es el valor de la rapidez y Q_i es la constante de rapidez para cada reacción química del modelo. El diferencial de tiempo de avance de la reacción es DT y los reactivos químicos se manejan conforme a la nomenclatura antes indicada.

Las unidades para cada variable son:

$$R_i = [\mu\text{mol/litro}]$$

$$Q_i = [\mu\text{mol} * \mu\text{seg}] \quad , \text{ si es reacción de segundo orden.}$$

$$Q_i = [\mu\text{seg}] \quad , \text{ si es reacción de primer orden.}$$

Concentraciones, ej.: GLU = [μ mol/litro]

DT = [μ seg]

CAMBIO EN LA CONCENTRACION.

Como se habia mencionado, las R_i sirven para saber qué tanto se ha producido o utilizado un reactivo en la glucólisis. Para saber cuál es el cambio de concentración de cada compuesto químico a un tiempo dado, se utilizan las ecuaciones de cambio de concentración. Hay una ecuación para cada compuesto del modelo y se calcula sumando el valor o valores de la rapidez de la reacción donde interviene como producto, menos el valor o valores de la rapidez de la reacción en donde es un reactivo.

Los cambios de concentración, C_i , se calculan para cada compuesto como sigue:

GLU:	$C_1 = - R_1$
HEXQ:	$C_2 = - R_1 + R_2$
CHEXQ:	$C_3 = + R_1 - R_2$
HEX6P:	$C_4 = + R_2 - R_3$
FOSFQ:	$C_5 = - R_3 + R_4$
CFOSFQ:	$C_6 = + R_3 - R_4$
FRU16P:	$C_7 = + R_4 - R_5$
GLI3P:	$C_8 = + R_5 + R_8 - R_9 - R_{10}$
DHXAP:	$C_9 = + R_5 - R_6 + R_7 - R_8 + R_9$
ATP:	$C_{10} = - R_2 - R_4 + R_{13} + R_{14} - R_{17}$
ADP:	$C_{11} = + R_2 + R_4 - R_{13} - R_{14} + R_{17}$

MADH:	C12 =	- R6 + R7 + R11 - R15 + R16
MAD	C13 =	+ R6 - R7 - R11 + R15 - R16
AGLIF:	C14 =	+ R6 - R7
G3FDESH:	C15 =	- R10 + R12
CG3FDESH:	C16 =	+ R10 - R11
DFGLI:	C17 =	+ R12 - R13
CAG3F:	C18 =	+ R11 - R12
CNFOSE:	C19 =	+ R13 - R14
FI:	C20 =	- R12 + R17
PIR:	C21 =	+ R14 - R15 + R16
LAC:	C22 =	+ R15 - R16

Los valores de C_i tienen unidades de [μ mol/ litro] y para saber cuál es la concentración total de cada compuesto a un tiempo dado t_i , se suman al valor de la concentración calculado al tiempo t_{i-1} . De esta manera, para saber, por ejemplo, la concentración de la glucosa al tiempo t_i , se calcula

$$GLU(t_i) = GLU(t_{i-1}) + C_1$$

DATOS DE CONSTANTES DE RAPIDEZ Y CONCENTRACIONES INICIALES.

Los valores numéricos para las constantes de rapidez de cada reacción y para las concentraciones iniciales de los componentes químicos del modelo, fueron tomados de J. D. Spain en su obra "BASIC Microcomputer Models in Biology".

Dichos valores se presentan en las unidades antes mencionadas.

Q1 = 0.0003
Q2 = 0.0001
Q3 = 0.0004
Q4 = 0.0004
Q5 = 0.1
Q6 = 0.00002
Q7 = 0.0000008
Q8 = 0.1
Q9 = 0.1

Q10 = 0.00006
Q11 = 0.00006
Q12 = 0.000004
Q13 = 0.0001
Q14 = 0.00005
Q15 = 0.000005
Q16 = 0.0000001
Q17 = 0.01

GLU = 3000
HEXQ = 10
CHEXQ = 10
HEX6F = 30
FOSFQ = 10
CFOSFQ = 10
FRU16F = 10
GL13F = 362
DHXAF = 334
NADH = 33
NAD = 143

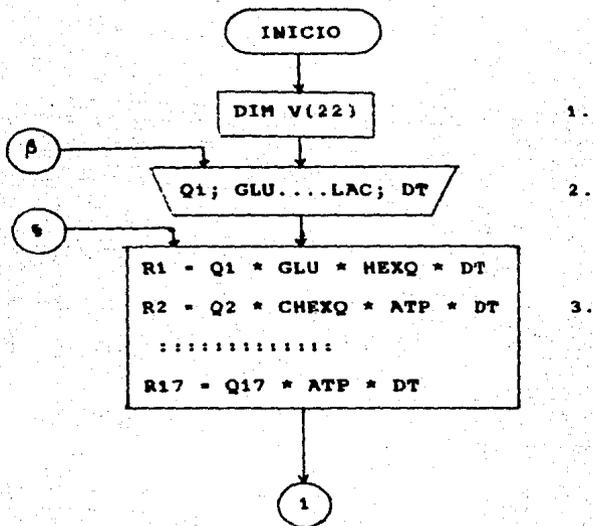
ATP = 1000
ADP = 500
AGLIF = 3188
G3FDESH = 50
CG3FDESH = 50
DFGLI = 580
CAG3F = 50
CMFOSF = 660
FI = 100
PIR = 540
LAC = 2300

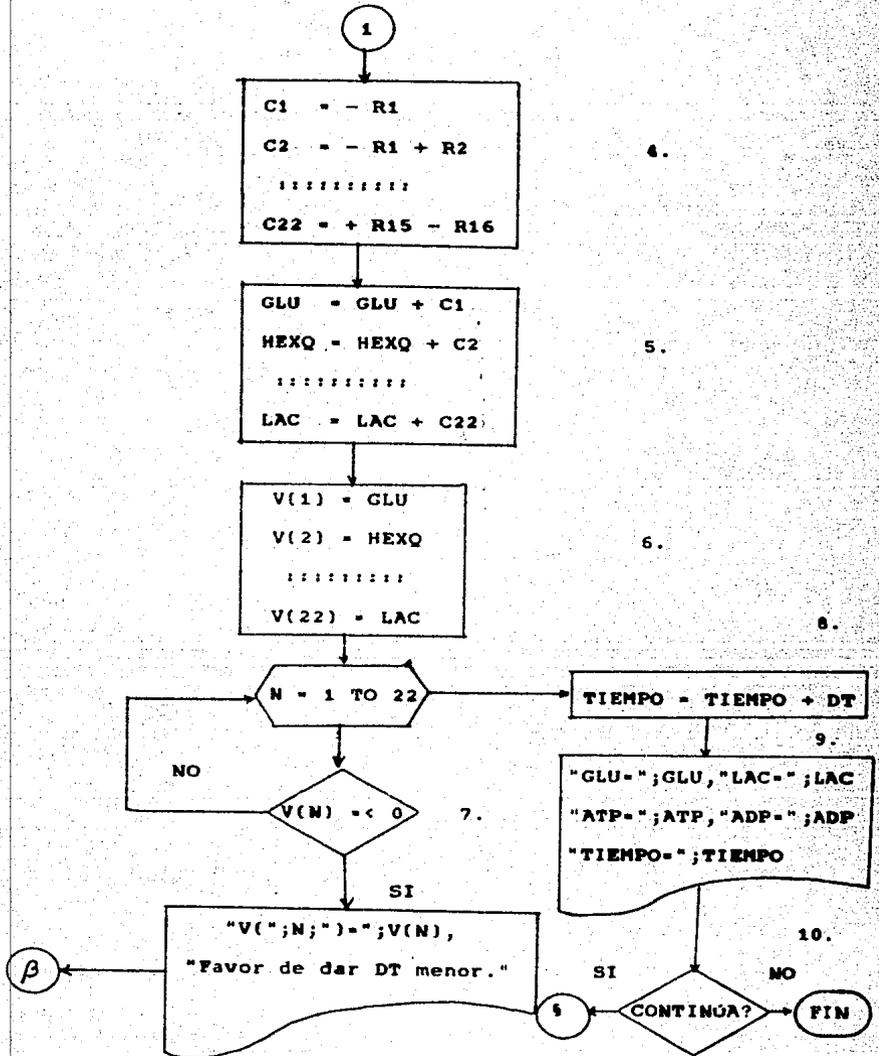
Expresado en términos matemáticos, el modelo de la Glucólisis es un sistema de 17 ecuaciones diferenciales ordinarias simultáneas de primer orden, con 23 variables; 22 variables de concentraciones y una variable de tiempo, que es la variable independiente. En la presente

obra, se desarrollaron dos métodos numéricos distintos para resolver el mismo sistema de ecuaciones; el método de Euler y el método de Runge-Kutta de 4o. orden. En seguida, se presentan los diagramas de flujo de ambos métodos.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL MÉTODO DE EULER.

A continuación se presenta el diagrama de flujo del programa que resuelve el modelo de la glucólisis por el método de Euler. La nomenclatura utilizada en el diagrama, corresponde al lenguaje BASIC, que es el lenguaje que se empleó para ejecutar el programa.





Pasos del programa:

1. Dimensionamiento de variable V.
2. Entrada de datos iniciales y DT.
3. Cálculo de valores de rapidez para cada reacción.
4. Cálculo de cambio o diferencial de concentración para cada compuesto.
5. Cálculo de nuevas concentraciones de cada compuesto.
6. Asignación de valores numéricos de concentraciones a la variable V(N).
7. Función de validación que detecta si existe algún compuesto cuyo valor sea 0 o negativo; en tal caso, hay inestabilidad y vuelve a iniciar el programa con un valor menor para DT.
8. Cálculo del tiempo efectivo o acumulado de reacción.
9. Impresión de resultados.
10. Decisión de proseguir o terminar el cálculo.

Variables empleadas:

Qi - Constantes de rapidez.

DT - Diferencial de tiempo.

Ri - Rapidez de cada reacción.

Ci - Cambio de concentración de cada compuesto.

V(N) - Valor numérico de cada concentración.

N - Número entero, contador para cada compuesto.

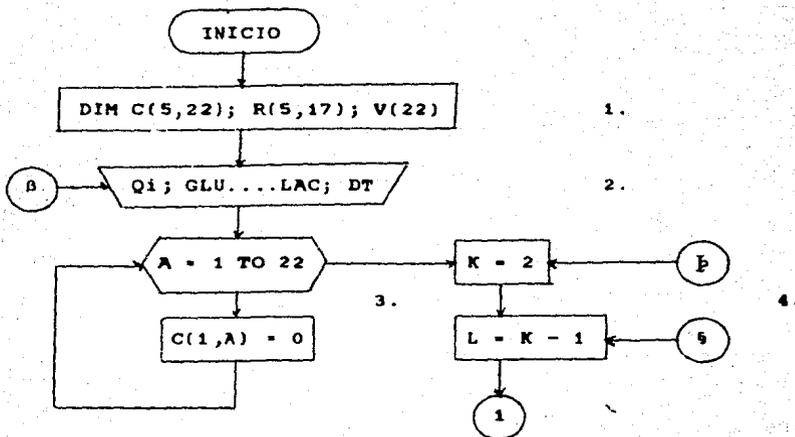
TIEMPO - Tiempo real o acumulado.

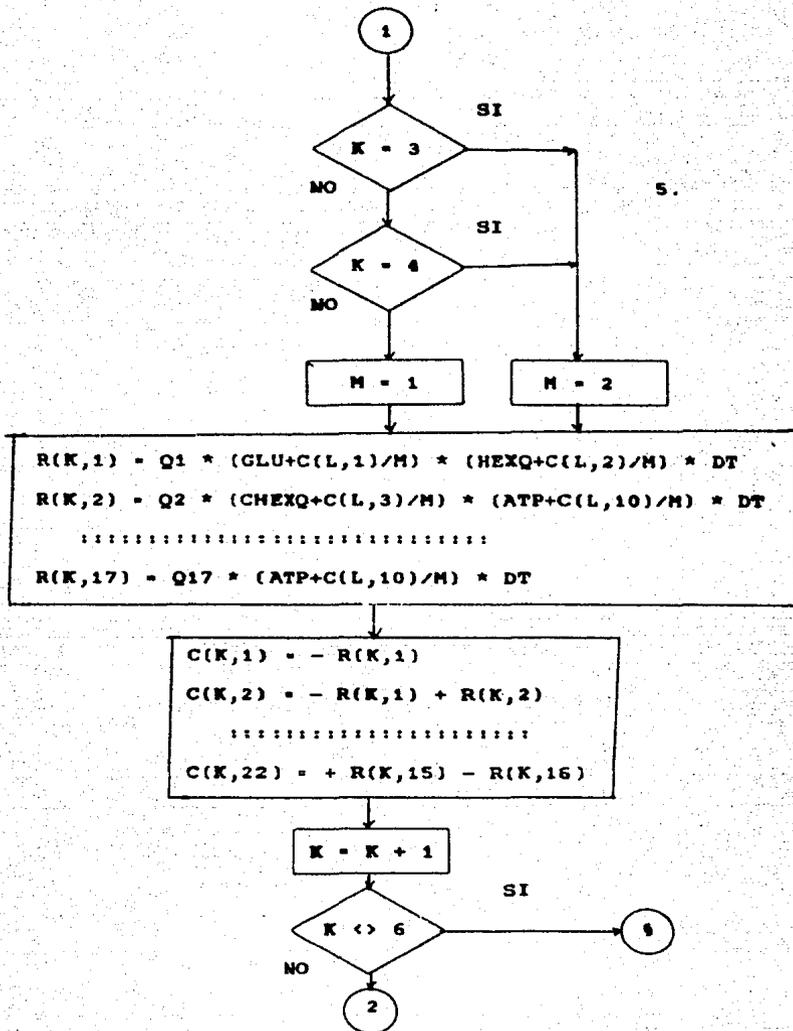
Cabe destacar, que en el punto 6 del diagrama, existe una función

de validación que tiene como objeto saber si en algún momento dado existe inestabilidad en el modelo. Esa inestabilidad se manifiesta con valores de 0 o menores para la concentración de alguno de los reactantes y se presenta cuando se ha utilizado un valor grande de DT. De esta manera, no es posible agilizar el programa dándole valores mayores de DT, pero el diseño del programa permite encontrar la diferencial de tiempo óptimo con la cual haya estabilidad y a la vez, rapidez en el cálculo.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL MÉTODO DE RUNGE-KUTTA DE 4o. ORDEN.

Ahora, se mostrará el diagrama de flujo del programa que resuelve el modelo de la Glucólisis por el método Runge-Kutta de 4o. orden. Aquí también se utilizó el lenguaje BASIC para ejecutar el programa.





2

```

GLU = GLU + (C(2,1) + 2*C(3,1) + 2*C(4,1) + C(5,1))/6
HEXQ = HEXQ + (C(2,2) + 2*C(3,2) + 2*C(4,2) + C(5,2))/6
.....
LAC = LAC + (C(2,22) + 2*C(3,22) + 2*C(4,22) + C(5,22))/6

```

10.

```

V(1) = GLU
V(2) = HEXQ
.....
V(22) = LAC

```

11.

13.

```

N = 1 TO 22
TIEMPO = TIEMPO + DT

```

14.

```

NO
V(N) <= 0

```

12.

```

"GLU=";GLU,"LAC=";LAC
"ATP=";ATP,"ADP=";ADP
"TIEMPO=";TIEMPO

```

SI

15.

```

"V(";M;")=";V(N),
"Favor de dar DT menor."

```

```

CONTINUA?
SI

```

NO

B

FIN

Pasos del programa:

1. Dimensionamiento de variables C, R y V.
2. Entrada de datos iniciales.
3. Asignación de valores de 0 a los vectores C(1,1)....C(1,22).
4. Asignación de valores numéricos para variables auxiliares K y L.
5. Decisión de dar valor de 1 o 2 a la variable auxiliar M.
6. Cálculo de valores de rapidez para cada reacción en función de Q_i , concentraciones de reactivos y de diferenciales de concentración de dichos reactivos del cálculo anterior. Por ello, es indispensable que el vector C(1,1)....C(1,22) tenga valores de 0, pues se requiere que en el primer cálculo de R_i , no intervenga el valor de C_i . Por otra parte, el valor de M varía de 1 a 2 pues se requiere que las C_i estén divididas entre 2 para los cálculos 2o. y 3o. y permanezcan intactas para los cálculos 1o. y 4o., según lo indica el método Runge-Kutta de 4o. orden.
7. Cálculo de los diferenciales de concentración para cada compuesto en función del valor de R_i recién calculado.
8. Incremento en el valor de K para el siguiente cálculo.
9. Función que permite hacer cuatro cálculos consecutivos de las R_i y las C_i para obtener así, las cuatro constantes de Runge-Kutta y con ellas, los nuevos valores de concentración de los compuestos.
10. Cálculo de la nueva concentración de compuestos a partir de la concentración anterior y de las cuatro constantes de Runge-Kutta calculadas para cada uno de ellos.
11. Asignación de valores numéricos de concentraciones a la variable V(N).

12. Función de validación que detecta si existe algún compuesto cuyo valor sea menor o igual a 0; si así fuera, vuelve a iniciar el programa con un valor menor para DT.
13. Cálculo del tiempo efectivo o acumulado de reacción.
14. Impresión de resultados.
15. Decisión de proseguir o terminar el cálculo.

Variables empleadas:

Q1 = Constantes de rapidez.

DT = Diferencial de tiempo.

R(i,j) = Rapidez de la j-ésima reacción para el i-ésimo cálculo, donde $i=(1...5)$; $j=(1...17)$.

C(i,k) = Cambio de concentración del k-ésimo compuesto para el i-ésimo cálculo, donde $i=(1...5)$; $k=(1...22)$.

V(N) = Valor numérico de cada concentración.

A = Variable auxiliar en el paso 3.

K = Variable que indica el número del cálculo que se está efectuando dentro del método Runge-Kutta de 4o. orden.

L = Variable auxiliar cuyo valor es siempre inferior a K en 1.

M = Variable auxiliar para el cálculo de la rapidez de reacción.

N = Número entero, contador para cada compuesto.

TIEMPO = Tiempo real o acumulado.

Nota: Las variables R(1,1)...R(1,17) y TIEMPO, tienen como valor inicial 0. Esta es una característica propia del sistema BASIC utilizado. En otros sistemas, se deberá especificar previamente.

CAPITULO 6.

ANALISIS DE RESULTADOS

El programa del modelo matemático de la Glucólisis se desarrolló en lenguaje BASIC utilizando una computadora personal HP-150. Los resultados obtenidos se explican en el presente capítulo.

EJECUCION DEL PROGRAMA.

Se hicieron corridas con los dos métodos numéricos propuestos y se observó que el método de Runge-Kutta de 4o. orden presenta estabilidad a diferenciales de tiempo (DT) de $2.5 \text{ E-}6$ seg, mientras que el método de Euler es estable cuando DT vale $1 \text{ E-}6$ seg.

Dadas las características del método Runge-Kutta de 4o. orden, es posible obtener resultados más exactos, usando mayor diferencial de tiempo para la integración, con lo que pone en desventaja al método de Euler. Sin embargo, para el caso particular de la Glucólisis, los resultados obtenidos con ambos métodos son semejantes y a pesar de que la integración se hace a intervalos más grandes en el método de Runge-Kutta, el tiempo de ejecución de éste programa es casi cuatro veces mayor que el tiempo que tarda el programa del método de Euler. De esta manera, es preferible efectuar corridas con el método de Euler pues se obtiene exactitud y rapidez.

VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CONTRA EL TIEMPO.

Con los datos obtenidos de la ejecución del programa se hicieron gráficas por medio de la hoja de cálculo LOTUS 1-2-3, usando también la computadora personal HP-150. Para cada corrida se hicieron tres gráficas: a) Concentración de glucosa y lactato VS tiempo;

b) Concentración de ATP, ADP y FI VS tiempo; y

c) Concentración de NADH y NAD VS tiempo.

Se hicieron varias corridas variando la concentración inicial de glucosa así como las concentraciones iniciales de ATP y ADP con el fin de estudiar el comportamiento de la glucólisis.

El patrón glucolítico está repleto de ciclos de retroalimentación, es decir, muchos de los productos de reacción se utilizan como reactivos en otras reacciones. En este tipo de sistemas, la concentración de un intermediario dado, aumenta y disminuye muchas veces, antes de alcanzar el equilibrio. A este tipo de sistema se le conoce como sistema químicamente oscilatorio. En base a esto, es de esperarse que la glucólisis presente evidencias experimentales de un comportamiento oscilatorio.

Al estudiar las gráficas obtenidas, se puede apreciar que efectivamente se observa un comportamiento oscilatorio. El ATP comienza a aumentar al principio de la reacción y poco después disminuye; posteriormente aumenta y disminuye nuevamente hasta tender al equilibrio, en disminución continua. Es interesante hacer notar que el ADP oscila 180° fuera de fase con respecto al ATP, es decir, que

mientras el ATP aumenta, el ADP disminuye. Lo mismo ocurre con el NADH y NAD, donde se aprecia una respuesta oscilatoria y defasamiento de 180° de un compuesto con respecto al otro.

La evidencia del comportamiento oscilatorio de la glucólisis fue dado en 1964 por Chance y sus colaboradores. Su experimento consistió en una suspensión aeróbica de células de levadura expuesta a un suministro de glucosa. Después de una breve espera, se eliminó el suministro de aire y el sistema cambió a metabolismo anaeróbico. La concentración relativa de NADH se pudo rastrear fácilmente dada su fluorescencia característica. También se tomaron muestras a diferentes tiempos y se analizó la concentración de ATP, ADP y trazas de AMP. El experimento fue publicado por A. Betz y B. Chance, Arch. Biochem. Biophys. 109, 585 (1964). Las gráficas obtenidas son las siguientes:

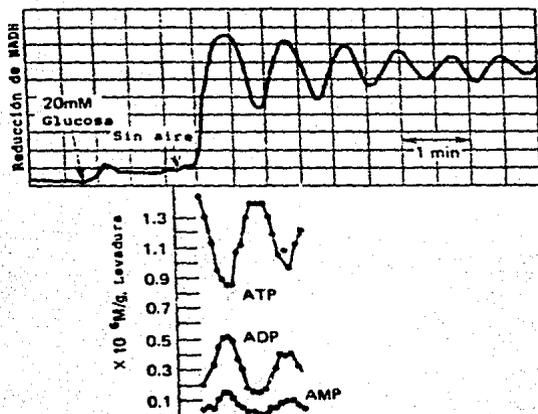


Fig. 6.1: Gráfica de reducción de NADH y concentración de ATP, ADP, AMP en función del tiempo para células aisladas de levadura.

Comparando estas gráficas experimentales con los resultados obtenidos de la simulación electrónica, se observa que la Simulación de la Glucólisis se apega a la realidad notablemente.

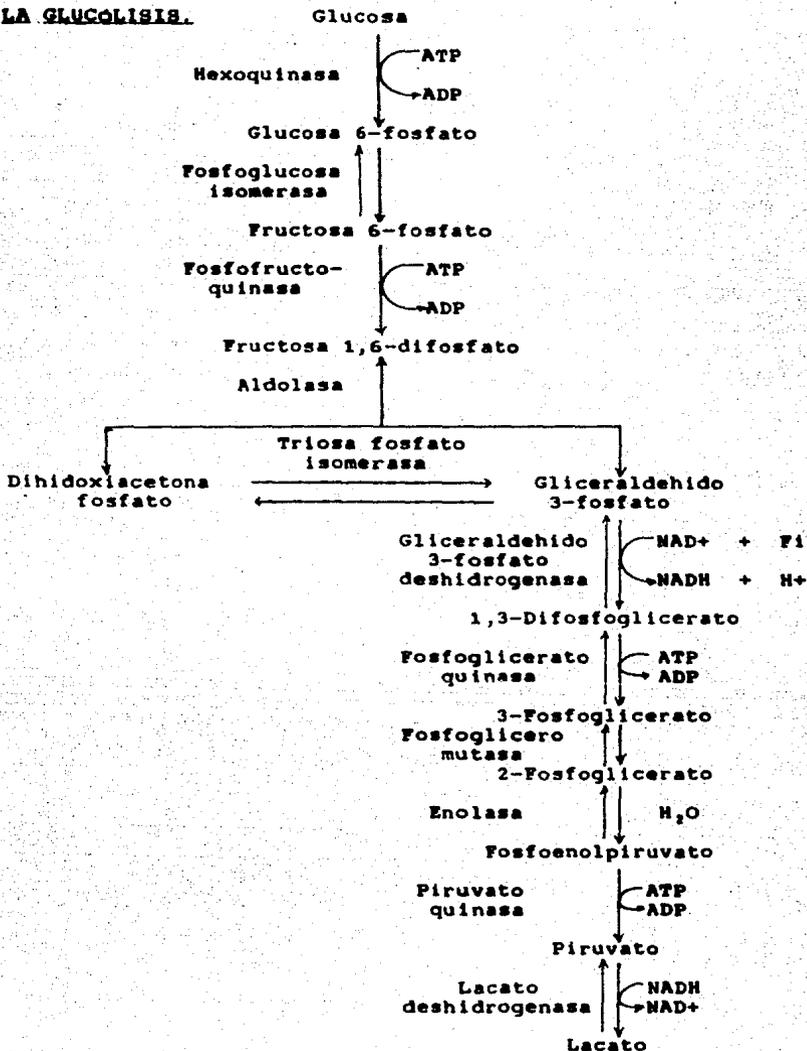
Para futuros estudios de la Glucólisis (o de otro sistema bioquímico de interés) es indispensable el uso de la simulación, dado que es una herramienta confiable y que viene a substituir totalmente a los métodos sintéticos en Bioquímica, que hasta la fecha no han tenido mucho éxito.

Con la simulación expuesta en la presente obra, es posible realizar estudios bioquímicos de la glucólisis que permitan al investigador ahorrar largas horas de experimentación en el laboratorio, puesto que se obtienen datos concretos del comportamiento de la glucólisis anaeróbica con respecto a la concentración de las diferentes enzimas y substratos que intervienen en ella.

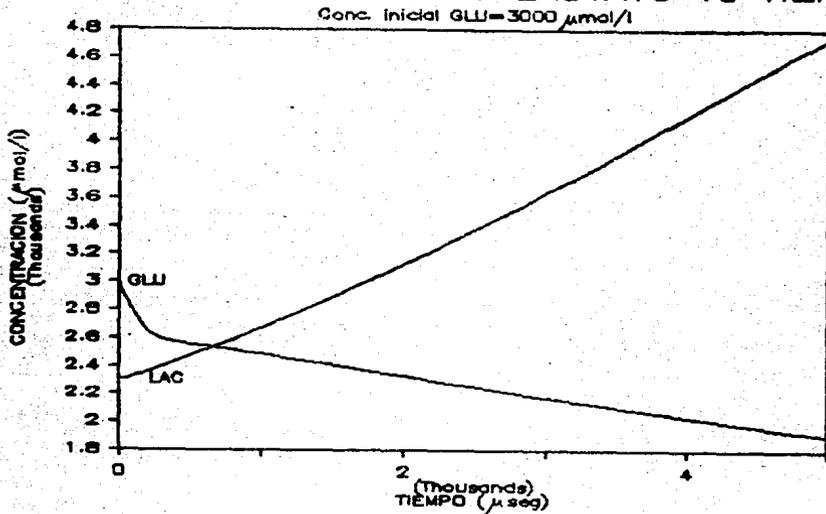
Dentro de la Bioingeniería, que es la rama de la Ingeniería aplicada a la Bioquímica, existen infinidad de sistemas por estudiar que serían de gran utilidad a la humanidad. Está en manos del profesional de la Química, que domine los métodos ingenieriles y de informática, aportar su esfuerzo en favor de la Ciencia.

A P E N D I C E

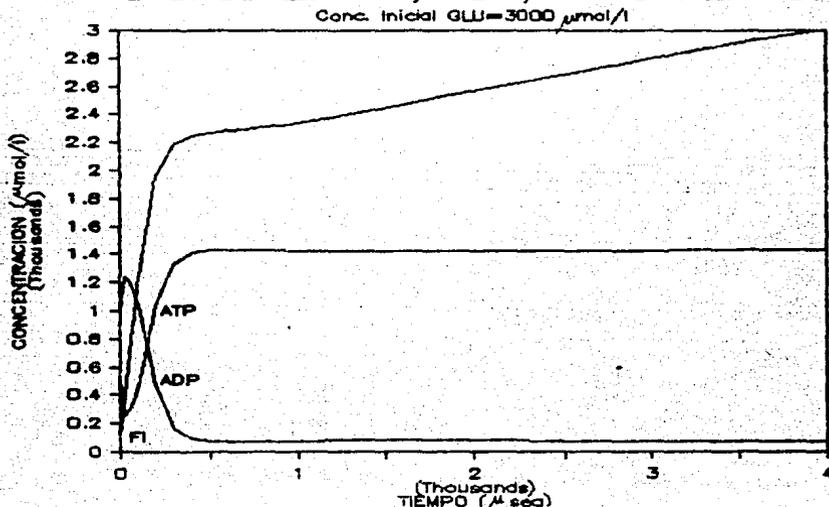
RUETA DE LA GLUCOLISIS.



Grafica 1. GLUCOSA Y LACTATO VS TIEMPO

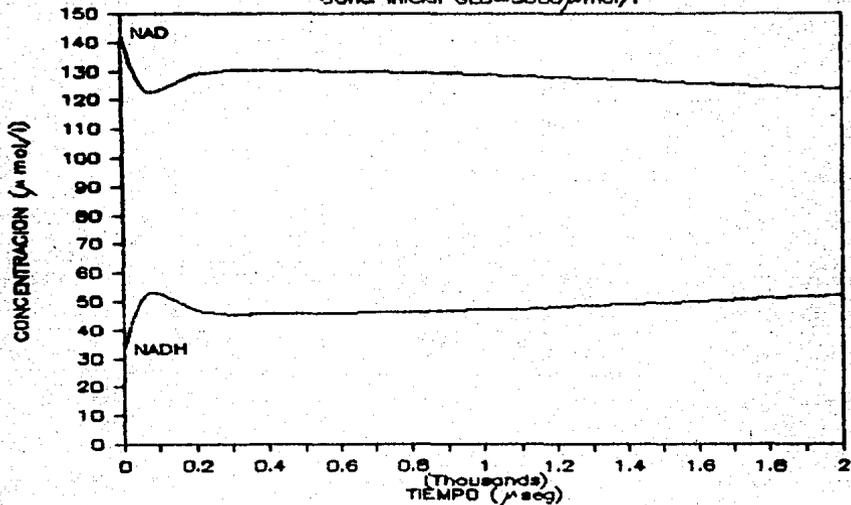


Grafica 2. ATP, ADP, FI VS TIEMPO.



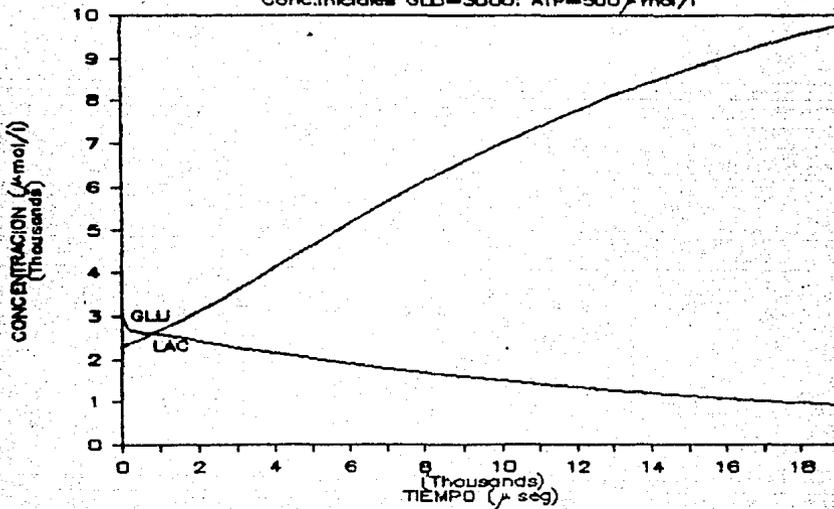
Grafica 3. NADH Y NAD Vs TIEMPO.

Conc. inicial GLU=3000 μ mol/l



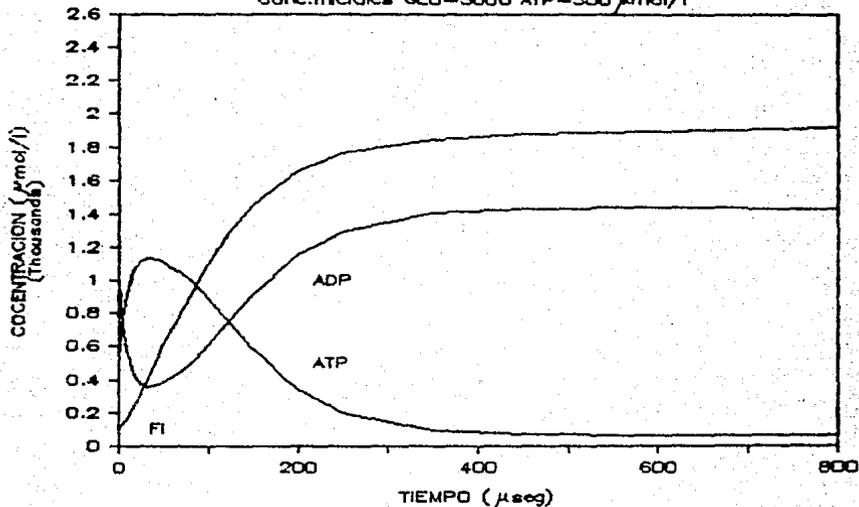
Grafica 4. GLUCOSA Y LACTATO Vs TIEMPO

Conc. iniciales GLU=3000; ATP=500 μ mol/l



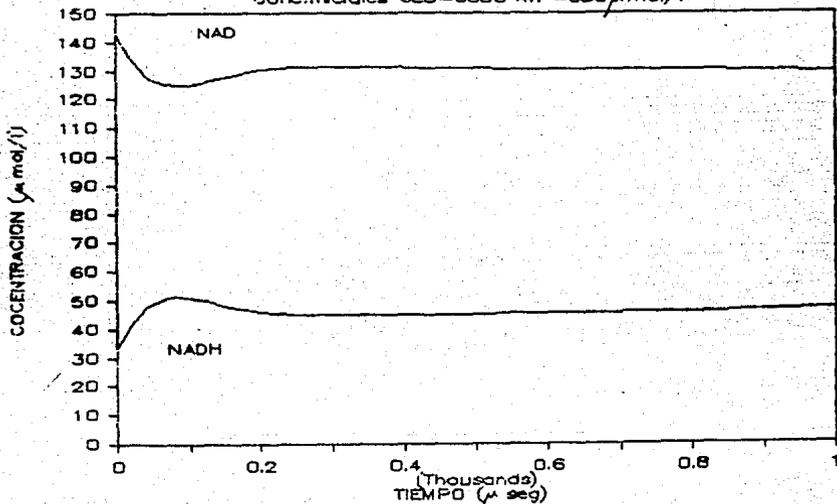
Grafica 5. ATP, ADP y FI Vs TIEMPO

Conc. iniciales: GLU=3000 ATP=500 $\mu\text{mol/l}$



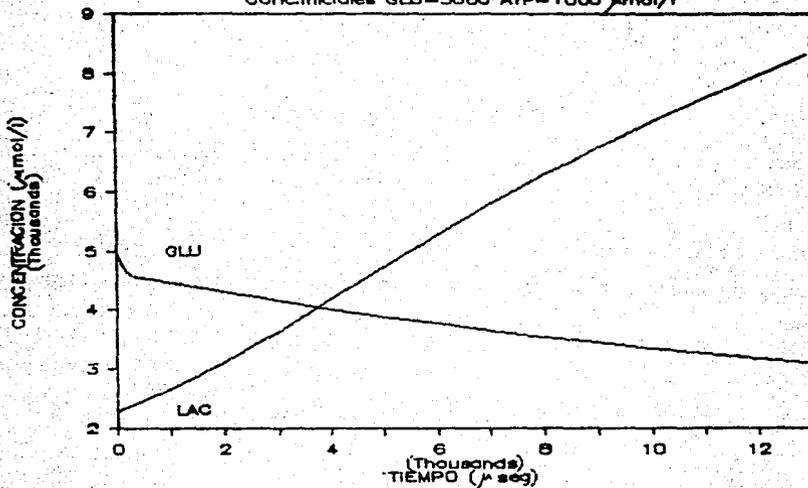
Grafica 6. NADH Y NAD Vs TIEMPO

Conc. iniciales: GLU=3000 ATP=500 $\mu\text{mol/l}$



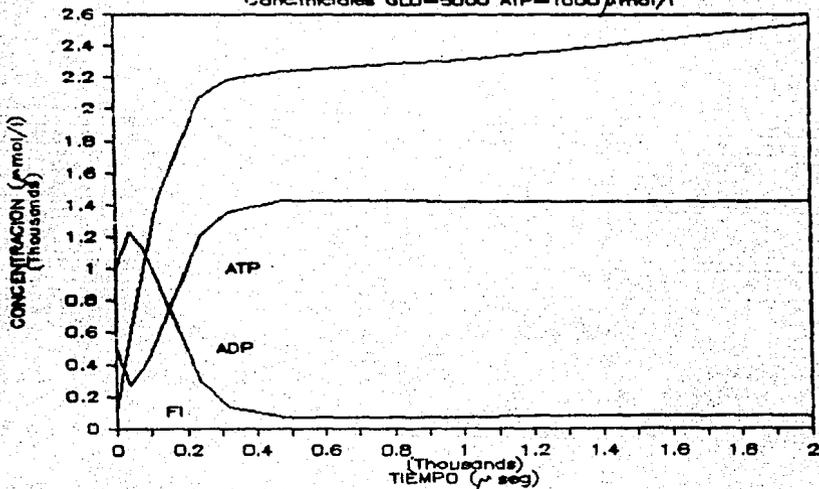
Grafica 7. GLUCOSA Y LACTATO Vs TIEMPO

Conc. Iniciales: GLU=5000 ATP=1000 $\mu\text{mol/l}$



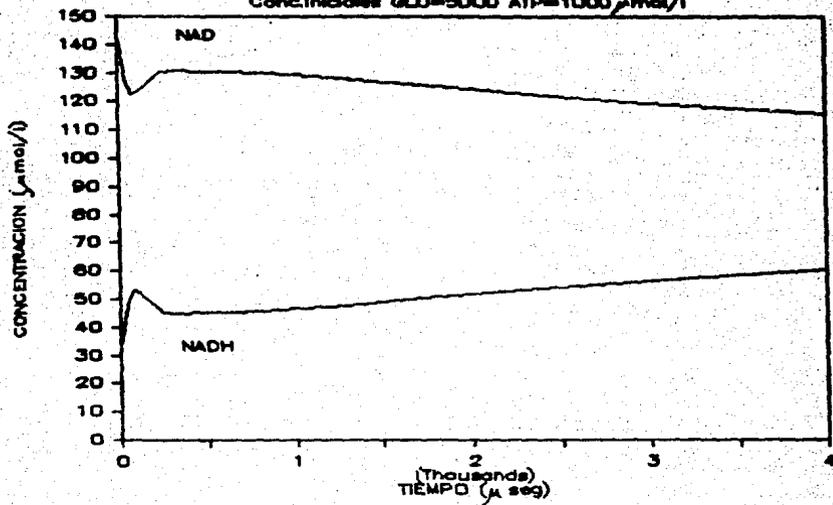
Grafica 8. ATP, ADP Y FI Vs TIEMPO.

Conc. Iniciales: GLU=5000 ATP=1000 $\mu\text{mol/l}$



Grafica 9. NADH Y. NAD Vs. TIEMPO.

Conc.iniciates GLU=5000 ATP=1000 $\mu\text{mol/l}$



BIBLIOGRAFIA

Bailey, James E. and Ollis David F.
Biochemical Engineering Fundamentals.
New York: McGraw-Hill, Inc., 1977.

Betz a. and Chance B.
Arch. Biochem. Biophys. 109, 585 (1964).

Burton, Donald J. y Joseph I. Routh.
Química Orgánica y Bioquímica.
México: Nueva Editorial Interamericana, S.A.de C.V. Inc., 1977.

Carnahan, Brice.
Applied Numerical Methods.
New York: John Willey & Sons, Inc., 1969.

Castellan, Gilbert W.
Fisicoquímica.
México: Fondo Educativo Interamericano, S.A., 1976.

Finizio M. & Ladas G.
An Introduction to Differential Equations with Difference Equations,
and Partial Differential Equations.
Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1982.

Karlson, P.

Manual de Bioquímica, para Médicos, Naturalistas y Farmacéuticos.
La Habana: Editorial Pueblo y Educación, 1962.

Laidler, Keith J.

Physical Chemistry with Biological Applications.

Hemb Park, California: The Benjamin Cummings Publishing Company,
Inc., 1978.

Laidler, Keith J.

Cinética de Reacciones, Vols. I y II.

Madrid: Editorial Alhambra, S.A., 1979.

Lehninger, Albert L.

Bioquímica.

Barcelona: Ediciones Omega, S.A., 1982.

Naron, Samuel H. y Lando, Jerome B.

Fisicoquímica Fundamental.

México: Editorial Limusa, S.A., 1978.

Marshall Alan G.

Biophysical Chemistry, Principles, Techniques, and Applications.

New York: John Wiley & Sons, Inc., 1978.

Morrison, Robert T. and Boyd, Robert W.
Organic Chemistry. Third Edition.
Boston: Allyn and Bacon, Inc., 1973.

Spain, James D.
BASIC Microcomputer Models in Biology.
Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company, 1982.

Stryer, Lubert.
Biochemistry. Second Edition.
San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1981.