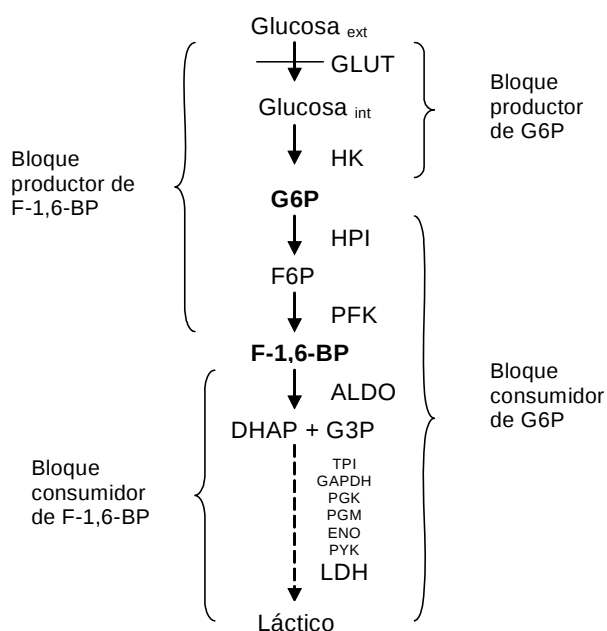


RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Al emplear el análisis de elasticidades se considera un intermediario que une dos bloques de enzimas, el primer bloque es aquel que genera a este intermediario (bloque productor, P) y el segundo bloque es aquel que consume al intermediario (bloque consumidor, C). Así para la G6P definimos como P al transportador de glucosa (GLUT) y a la HK, en tanto que C considera desde la hexosa fosfato isomerasa (HPI) hasta la lactato deshidrogenasa (LDH). En cambio para F-1,6-BP, P es GLUT + HK + HPI + PFK, quedando el resto de las enzimas definidas como C.



El coeficiente de elasticidad (ϵ) de una enzima o bloque de enzimas por un metabolito es la pendiente de la curva que se genera al graficar la velocidad de la enzima contra la concentración del metabolito, considerando la concentración del metabolito que se encuentra en el estado metabólico de interés. En el estado estacionario, la velocidad de cada enzima participante es igual a la velocidad de la vía metabólica (formación de lactato para glucólisis).

Para poder determinar el coeficiente de elasticidad del C hacia G6P (ϵ_{G6P}^C) se tiene que graficar la variación en la concentración de la G6P vs la velocidad de glucólisis al variar la glucosa. En cambio, para determinar el coeficiente de elasticidad del P hacia G6P (ϵ_{G6P}^P) se grafica la concentración de la G6P vs la velocidad de glucólisis al variar el oxalato (un inhibidor de la LDH), siempre considerando la velocidad y la concentración de G6P en 5 mM de glucosa como el 100% (concentración fisiológica, punto

de interés) (Fig. 1). Como el valor del coeficiente de elasticidad depende de las unidades de medición, los valores se normalizan, con lo cual se elimina el problema de las unidades, porque se obtienen valores adimensionales. Otra forma de lograr esto es calcular el logaritmo (ln) del flujo y de la concentración del metabolito. Una vez hecho esto, se calcula la pendiente (ϵ) al punto de interés de cada curva a partir de una regresión lineal, obteniéndose el ϵ_{G6P}^C que es positivo, porque varió su sustrato reflejándose en un incremento en la velocidad de glucólisis y el ϵ_{G6P}^P que es negativo, porque hay acumulación de su producto y provoca una disminución de la velocidad de glucólisis (Fig. 1). Para calcular los coeficientes de elasticidad con respecto a F-1,6-BP se procede de la misma manera, pero ahora graficando la concentración de F-1,6-BP. Sin embargo al emplear un ajuste no lineal se tiene que determinar la pendiente de la tangente al punto de interés que es el 100% (Fig. 2). Cabe señalar que es común hacer un ajuste no lineal porque la cinética de las enzimas es hiperbólico o sigmoidal y no lineal.

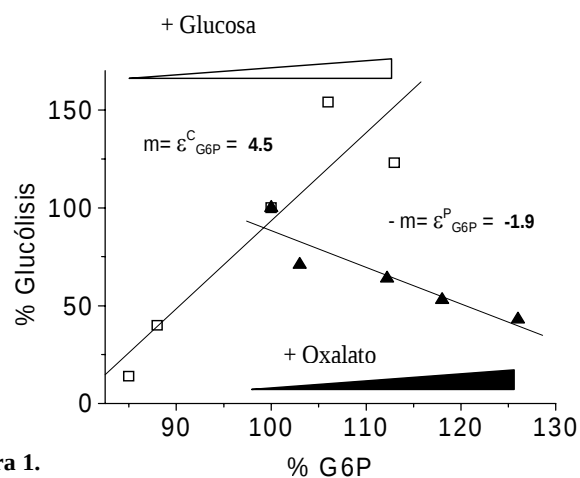


Figura 1.

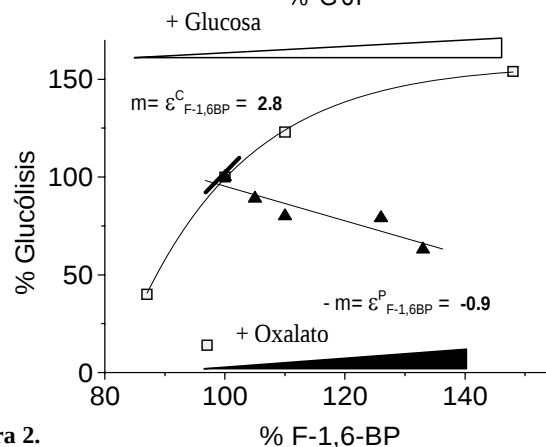


Figura 2.

Una vez que se obtienen los coeficientes de elasticidad se usan dos ecuaciones (2).

Teorema de la conectividad

En una vía metabólica compuesta por dos bloques de enzimas P y C, que responden con cambios en la velocidad a la variación en la concentración de un intermediario en común (m), el teorema de conectividad indica que la suma de los productos del C^J el ϵ^C_m de cada enzima es igual a 0: $\sum C_{Ei} \epsilon^{Ei}_m = 0$

Ecuación 1

$$P \longrightarrow m \longrightarrow C$$
$$C^J_P \epsilon^P_m + C^J_C \epsilon^C_m = 0$$

J = flujo
P = Bloque que produce el metabolito
C = Bloque que consume el metabolito
m = metabolito (G6P o F-1,6-BP)

Teorema de la sumación

Si todas las enzimas de una vía ejercen control sobre el flujo de esta, entonces la suma de los coeficientes de control de cada una será igual a 1.

Ecuación 2

$$C^J_P + C^J_C = 1$$

La ecuación 2 se sustituye en la ecuación 1 quedando:

Ecuación 3

$$C^J_P = \frac{1}{\frac{\epsilon^C_m + 1}{\epsilon^P_m}}$$

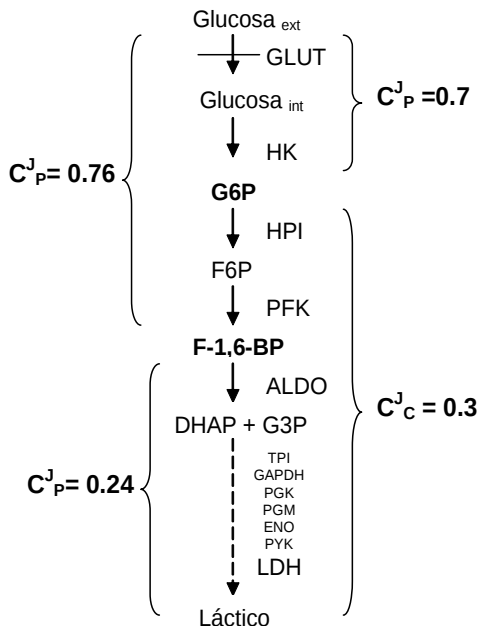
TABLA 3

Coeficientes de control		
Intermediario	C^J_C	C^J_P
G6P	0.3	0.7
F-1,6-BP	0.24	0.76

Con la ecuación 3 se calcula el coeficiente de control del bloque consumidor (C^J_C) de G6P o F-1,6-BP dependiendo de los coeficientes de elasticidad que se empleen. Finalmente con la ecuación 2 se calcula el coeficiente de control del bloque productor (C^J_P) (Tabla 3).

Por lo tanto, el bloque de enzimas que ejerce mayor control es el del GLUT y la HK con 0.7. En tanto que el control que ejerce el bloque de la HPI y la PFK es de 0.06. Como la HPI es una enzima muy rápida no ejerce ningún control y por lo tanto la PFK sería la que ejercería ese control y estaría disminuido con respecto al eritrocito en donde es de 0.3. Al contrario de la PFK, la HK no deja de controlar y al parecer puede tener el mismo control que ejerce en el eritrocito.

Finalmente cabe indicar que en este análisis no se contemplaron algunas vías metabólicas que drenan o generan G6P como la vía de las pentosas fosfato y la síntesis-degradación de glucógeno, las cuales se deberían incluir para evaluar de manera más rigurosa la distribución del control de flujo de la glucólisis en células tumorales.



Del bloque P de G6P sabemos que:
 $C^J_P = C^J_{GLUT} + C^J_{HK} = 0.7$

Y del P de F-1,6-BP sabemos que:

$$C^J_P = C^J_{GLUT} + C^J_{HK} + C^J_{HPI} + C^J_{PFK} = 0.76$$

Así que podemos deducir el control que ejerce la HPI + PFK al restar el control que ejerce el P de G6P al control que ejerce el P de F-1,6-BP.

$$0.76 - 0.7 = 0.06 = C^J_{HPI} + C^J_{PFK}$$