

Modelado y Análisis Estocástico de Sistemas Biológicos

Gabriel Domingo Vilallonga

Departamento de Informática-Facultad de Ciencias Físico Matemáticas y Naturales

Universidad Nacional de San Luis

gvilallo@unsl.edu.ar



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS Y NATURALES

Modelado y Análisis Estocástico de Sistemas Biológicos

Tesis

Para optar por el grado de Doctor en Ingeniería Informática

Autor

Gabriel Domingo Vilallonga

Director: Dr. Sérgio Vale Aguiar Campos (Universidade Federal de Minas Gerais)

Co-Director: Dr. Daniel Riesco (Universidad Nacional de San Luis)

San Luis - Argentina

-2020-

*Para Marita, mi compañera de vida,
por su apoyo incondicional.*

Para mis amores Juan, Pilar y Seba.

*Para mi mamá Mirta y para mi hermano Martín,
por haber estado desde el comienzo.*

Haciendo camino al andar.

Este viaje comenzó en 1987 cuando llegué a San Luis a estudiar. Años más tarde llegó mi título de Licenciado orientado por Daniel. A esta altura ya tenía diploma de papá de Juan. En 2004 pude defender mi maestría, ya con Pilar en la familia. En 2013 comenzó la aventura doctorado. Comencé a viajar a Belo Horizonte para trabajar con sistemas biológicos! Ya en ese momento estaba Seba en la panza de Marita. En 2014 viajé una vez más, 2015 dos veces, en 2016 otra vez, y otra en 2018. En cada viaje un paso mas cerca de la meta. Me duele la cuenta de siete meses de ausencia en la familia, especialmente en los dos años y medio de Sebastián, fue mucho. En 2018 aparecieron los resultados, papers aceptados, informe de tesis, y preparación de la defensa. Analizando el recorrido el balance es bueno. La media da bueno. Las ausencias a la familia bajan el promedio. Mi formación ha sido invaluable. Conocer otros ámbitos de estudio, formas de investigación que tienden a la excelencia han marcado mucho la forma de ver mi trabajo. El apoyo de mis compañeros de trabajo ha sido fundamental, especialmente el de Daniel. El área de metodología todo un equipo. Arístides ha sido un apoyo especial en la fase final. Eternamente agradecido a sus aportes y a las charlas gastadas en salvar al mundo. En Brasil, agradecimiento a Sérgio y sus aportes. En Sao Joao del Rey deslumbrado por la forma de trabajo, Antônio-Carlos y su excelencia, Antonio Marcio y su talento, Kelison un amigo querido que compartió su forma de ver los sistemas biológicos de una manera atrapante. Grande experiencia en ese mundo desconocido y fascinante de la neurociencia. Luego de mirar por la cerradura los trabajos en sus laboratorios he llegado a la conclusión de que es increíble que uno tome aspirina y que el dolor de cabeza desaparezca.

El camino sigue, el recorrido del doctorado parece haber terminado, quedan las experiencias, los afectos. Agradecido de haberlo vivido.

Resumen

En este trabajo de doctorado se presenta una metodología de modelado y análisis de sistemas biológicos desde una perspectiva estocástica. Se estudió la aplicabilidad de Model Checking Estadístico, como lo implementa la herramienta UPPAAL-SMC, al comportamiento dinámico de estos tipos de sistemas, expresados por medio de reacciones químicas. La metodología abarca desde la traducción del sistema de reacciones y la formulación de experimentos, orientados a la corroboración de hipótesis, al formalismo que maneja UPPAAL-SMC, los AH. Este proceso evita incurrir en los gastos, económicos y temporales, de la realización de experimentos de laboratorios. También permite escalar los modelos para una reproducción fehaciente de sus dinámicas.

El estudio de sistemas biológicos es una tarea muy importante y a su vez difícil en lo que respecta a su real comprensión. Si estos sistemas revisten importancia crucial, como por ejemplo el sistema nervioso con algún tipo de enfermedad, como la epilepsia, el desafío de desarrollo de terapias es aún mayor. Estos sistemas se estudian, principalmente, por medio de la realización de experimentos de laboratorio, los cuales son, generalmente, caros y consumen tiempo. Por estas razones es que se formulan modelos matemáticos y se simulan para su estudio, las cuales, en su mayoría, conlleva un tiempo considerable el ajuste de los modelos, debido a la cantidad de variables que deben manejar.

La aplicación de la metodología ha demostrado efectividad en el modelado, exploración, y escalado del modelo a otros más completos ajustados a la dinámica mostrada en laboratorios. Se ha corroborado una efectiva integración del sistema de reacciones, que describe la dinámica, con los experimentos que se formulan para su estudio. Usando la información reportada por el model checker, múltiples corridas del sistema que sustentan las inferencias estadísticas, y gráficos de estas, ha permitido realizar ajustes rápidos del sistema estudiado, en lo que respecta a hipotéticos nuevos estados, reacciones, y tasas de las mismas.

Por medio de la metodología se ha modelado e investigado canales simples inducidos por la *PTX*. Los subestados y tasas de reacciones, extraídas de la literatura, fueron representadas matemáticamente. Usando análisis probabilístico y simulando múltiples canales

simples, basados en su semántica estocástica, el modelo fue validado y la dinámica de los canales simples fue comparada con los datos experimentales. A partir de esta comparación se dedujo el funcionamiento de $PTX - Na^+/K^+ - ATPase$ como un complejo diprotomérico, por lo que fue necesario la inclusión de nuevos subestados redefiniendo casi por completo su modelo.

El arribo a esa conclusión fue un camino que comenzó con el desarrollo de un modelo estocástico base con capacidad de reproducción whole-cell (Rodrigues, Almeida, y Infantosi, 2008). A este modelo se le agregaron nuevos estados y reacciones asociadas a la dinámica de canales aislados, con el desafío de dar con la cinética enzimática. Este proceso se realizó observando trabajos que mostraban resultados de laboratorio como los reportados en (Artigas y Gadsby, 2003b). El modelo extendido que se desarrolló es parametrizable en el número de bombas, una sola bomba permite analizar el sistema de canal aislado, mientras que el cambio del valor de este parámetro a un número sensiblemente mayor reproduce la configuración whole-cell. Con los valores de tasas ajustados para canales aislados y reproduciendo correctamente el comportamiento, al cambiar el parámetro para representar una configuración whole-cell este modelo reportó inconsistencias. En el análisis de este desfase se detectó que en los diferentes experimentos donde se analizó el comportamiento, contenían concentraciones muy diferentes de PTX . Esto puede ser explicado por la presencia de dos sitios diferentes de ligadura de la toxina, uno con alta afinidad, el cual es ocupado incluso en concentraciones bajas de PTX , y está asociado a la apertura del canal simple. El restante con baja afinidad, el cual se liga solo para concentraciones altas de la toxina, cuando la probabilidad de apertura de los canales inducidos se incrementa. Estas razones dieron lugar a la formulación del modelo diprotomérico.

Del análisis del sistema se ha concluido que la interacción proteína-proteína, efecto cooperativo, del diprotómero incrementa la afinidad de la bomba con la PTX , pudiendo de esta manera incrementar los efectos tóxicos, incluso en dosis muy bajas. Además, las simulaciones sugieren que el Na^+ puede modular la apertura y el cierre de los canales aislados, reduciendo la actividad, como se ha observado en los registros de corrientes de canales simples.

Este es el resultado biológico requeridas por los orientadores del trabajo al inicio del mismo, (Vilallonga, de Almeida, Ribeiro, Campos, y Rodrigues, 2018), como corolario del establecimiento de una metodología de análisis estocástico de Sistemas Biológicos, basada en un método formal como lo es model checking estadístico, (Vilallonga, Riesco, Almeida, Rodrigues, y Campos, 2020). Con esto se ha cumplido con la premisa de tener un resultado biológico por medio de nuestra metodología.