

Modelo basado en agentes de la vía MAPK con NetLogo

Edgar Manzanarez-Ozuna, Dora-Luz Flores, Claudia M. Gómez-Gutiérrez, Alberto Abaroa, Carlos Castro y Rubén Castañeda-Martínez

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

Resumen. — En este artículo se presenta un modelo de la vía de transducción de las proteínas quinasas activadas por mitógenos, cuyos componentes y dinámicas corresponden a las reacciones bioquímicas que tienen lugar después de la activación de la proteína Ras. El modelo se diseñó mediante el enfoque basado en agentes, en el cual las partes individuales se diseñan con detalle y a través de las interacciones surgen comportamientos emergentes. El programa fue desarrollado utilizando la herramienta NetLogo. Los resultados obtenidos permiten validar que el modelo representa las reacciones acopladas de la vía de transducción.

Palabras clave— Vía MAPK, modelo basado en agentes, NetLogo.

I. INTRODUCCIÓN

Las vías de transducción de señales (STPs) tienen un papel importante en el desarrollo celular, ya que son la principal vía de comunicación de las células con su entorno.

Todas estas vías están altamente organizadas y siguen un curso similar en términos generales, que puede ser visto como un circuito molecular [1]. Estos circuitos moleculares detectan y amplifican las señales externas que determinan las respuestas celulares tales como la proliferación, la diferenciación, la migración, el desarrollo, o apoptosis. Las vías de transducción son secuencias de reacciones acopladas que pueden llamarse cascadas.

La vía MAPK/ERK es una de las rutas de señalización más representativas, es muy compleja e incluye muchos componentes químicos [2]. Esta vía es iniciada por una molécula de señalización ambiental llamada factor de crecimiento que se une a un receptor de membrana en la superficie celular, y termina cuando el ADN en el núcleo expresa una proteína de la promoción de la división celular.

En el conjunto de reacciones en la STPs, a las proteínas se les somete a proceso de regulación, que las activa o fosforila y que también las desactiva o desfosforila. Cuando alguna de estas proteínas es mutada, esta permanece activa o fosforilada. Esto puede originar crecimiento celular incontrolado, lo cual es asociado con muchas formas de cáncer [3].

Por otro lado, los modelos basados en agentes (MBA), están formados por un conjunto de componentes con reglas de comportamiento local, autonomía y auto-dirigidos que

interaccionan entre sí y pueden aprender de su ambiente y dinámicamente cambiar su comportamiento en respuesta a sus experiencias, generando a partir de estas interacciones, comportamientos complejos emergentes [4].

En este trabajo se desarrolló un modelo basado en agentes para simular la parte intracelular de la cascada de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) cuyos componentes y dinámicas corresponden a las reacciones bioquímicas que tienen lugar después de la activación de la proteína Ras, iniciada por el factor de crecimiento epitelial (EGF).

En el modelo propuesto se definieron agentes individuales que representan a cada una de las moléculas que integran la cascada MAPK, cuya interacción está dada por la atracción y el reconocimiento de las moléculas y sus funciones que implican el desarrollo de reacciones bioquímicas específicas entre estas. De igual forma, se definió la concentración de cada especie molecular.

El modelo se desarrolló en el entorno de modelado para sistemas multi-agentes NetLogo, bajo el paradigma de simulación *in virtuo*, el cual permite modificar las condiciones de simulación en tiempo de ejecución.

Los resultados obtenidos permiten determinar que el paradigma basado en agentes y la implementación en NetLogo, es una herramienta viable en la simulación de vías de señalización biológicas.

II. METODOLOGÍA

En esta sección, se presentan aspectos fundamentales en el desarrollo del modelo. Se presenta el modelo de la vía MAPK sobre el cual se fundamentó este trabajo. Se presenta el entorno de desarrollo y simulación. Por último se define el paradigma de simulación.

A. Modelo de la vía MAPK

El modelo matemático de la vía MAPK sobre el cual se basó la simulación está en [5]. En el cual es posible calcular el cambio en la concentración de 94 componentes en relación al tiempo, después de la estimulación del receptor de crecimiento epitelial (EGFR). En este modelo, los eventos simulados están dados a partir de que la proteína Ras es activ

sucede, lo que conlleva a cambios en las concentraciones de los agentes.

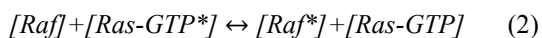
3. Cada uno de los agentes continúa su movimiento browniano.

En el conjunto de eventos en la cascada de señalización entre las especies moleculares al interior del entorno, es posible observar reacciones bioquímicas de primer y segundo orden, con procesos de asociación mediante agregación de grupos fosfatos (activar y fosforilar), y disociación a través de la eliminación de grupos fosfatos (desactivar y desfosforilar). Donde cada uno de los reactantes o compuestos activados son marcados por un “*”, y los compuestos fosforilados se les agrega una “P”. Las reacciones que ocurren son las que a continuación se muestran:

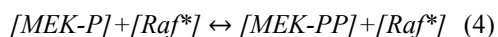
La molécula GTP se une a la molécula Ras para activarla y generar el complejo Ras-GTP, cuando la reacción ocurre, la molécula GTP es integrada al compuesto (1).



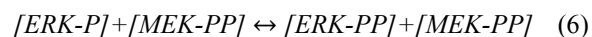
El complejo Ras-GTP activa a la molécula Raf, cuando la reacción ocurre, el complejo Ras-GTP se disocia y pierde reactividad (2).



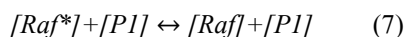
La molécula Raf activada, fosforila a la proteína MEK hasta en dos lugares, generando las especies moleculares MEK-P y MEK-PP, fosforilada y doblemente fosforilada, respectivamente. Manteniéndose la Raf activada (3) y (4).



La proteína MEK-PP, fosforila la molécula ERK, en uno o dos lugares, generando las especies moleculares ERK-P y ERK-PP (5) y (6).



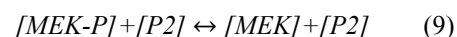
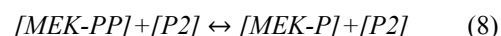
La fosfatasa 1 (P’asa 1) desactiva la Raf, mediante la eliminación de grupos fosfatos (7).



La fosfatasa 2 (P’asa2) elimina hasta dos grupos fosfatos de la MEK-PP, generando las especies moleculares MEK-P y MEK, fosforilada y no fosforilada respectivamente (8) y (9).

Tabla 1. Concentracion inicial por especie molecular

Especies moleculares	Schoeberl [5] (moléculas/célula)	Modelo propuesto (moléculas/célula)
GTP	6.63 x 10 ⁴	6.63 x 10 ¹
Ras	1.14 x 10 ⁷	1.14 x 10 ⁴
Raf	4.0 x 10 ⁴	4.0 x 10 ¹
MEK	2.20 x 10 ⁷	2.20 x 10 ⁴
ERK	2.10 x 10 ⁷	2.10 x 10 ⁴
P’asa	4.0 x 10 ⁴	4.0 x 10 ¹
P’asa 2	4.0 x 10 ⁴	4.0 x 10 ¹
P’asa 3	1.0 x 10 ⁷	1.0 x 10 ⁴



La fosfatasa 3 (P’asa3) elimina hasta dos grupos fosfatos de la ERK-PP, generando las especies moleculares ERK-P y ERK, fosforilada y no fosforilada respectivamente (10) y (11).



La concentración inicial por cada una de las especies moleculares y los parámetros cinéticos de las reacciones bioquímicas presentes en este modelo, fue tomada de la información suplementaria de [5], disponible en [8] que se muestra en la Tabla 1.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En la simulación del modelo propuesto, se definieron las concentraciones de las especies moleculares proporcionales a las aplicadas en [5]. El programa desarrollado cuenta con funcionalidades que permiten escalar en un factor común a todas las concentraciones de las especies moleculares. Las simulaciones de corrieron en lapsos de 20 minutos, en el cual cada paso discreto (*tick*) se consideró como un segundo.

Bajo los supuestos, de que la velocidad de la reacciones es afectada por los gradientes de concentración de reactivos y productos, y la posibilidad de que estas reacciones sucedan en el mismo tiempo, se corrieron simulaciones con concentraciones distintas pero proporcionales como se observa en la Fig. 2, la línea azul representa un 25% de concentración, la línea naranja un 50%, la línea gris un 75% y la línea amarilla representa el 100% de la concentración.

Los resultados demuestran que los gradientes de concentración impactan en la velocidad y cantidad de reacciones dado que en las corridas con proporciones 25%,

50% y 75% se obtuvieron que a mayor concentración mayor número y velocidad de reacción.

En el caso de proporción de 100%, el resultado permite sugerir que se ha llegado al umbral de saturación de la molécula ERK-PP o que el nivel entre precursores (MEK-PP) e inhibidores (P'asa 3) se encuentra en balance. Esto resultados también permiten sugerir comportamientos no lineales dependientes de las condiciones iniciales.

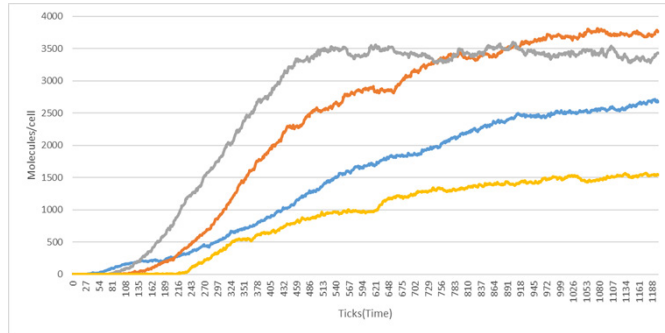


Figura 2. Concentración de proteínas ERK-PP proporcionales escaladas en 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) en condiciones normales.

De igual forma, en la cascada MAPK, se tienen elementos precursores e inhibidores, que compiten en el proceso de catalizar las reacciones bioquímicas. Bajo el supuesto que las concentraciones aplicadas en [5] y el escalamiento aplicado en este modelo, son tales, que permiten el desarrollo de homeostasis, y que algún cambio en la relación proporcional de los precursores e inhibidores llevará a estados no homeostáticos.

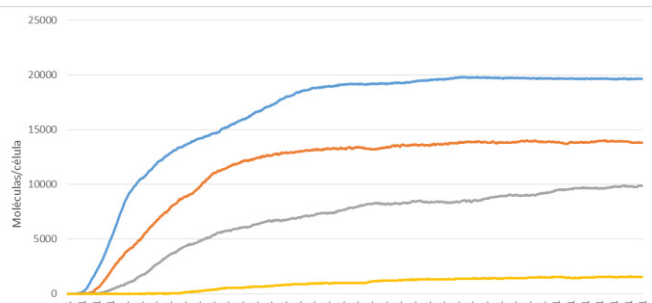


Figura 4. Concentración de proteínas ERK-PP, disminución de inhibidores a 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) en condiciones normales.

En la Fig. 3, se muestran los resultados de las corridas de simulaciones reduciendo la proporcionalidad de los inhibidores en 50% en relación a las concentraciones iniciales, y concentraciones distintas, pero proporcionales de todas las moléculas participantes en el modelo, la línea azul representa un 25% de concentración, la línea naranja un 50%, la línea gris un 75% y la línea amarilla representa el 100% de la concentración.

Los resultados demuestran que a menor proporción de inhibidores, las quinasas ERK-PP permanecen fosforiladas y su concentración se incrementa. Así como también, cuando la proporción de inhibidores se incrementa y tiende hacia los valores de estados homeostáticos, se observa disminución de la concentración de las quinasas ERK-PP como reacción al proceso de regulación. De igual forma, sugieren comportamiento no lineal dependiente de condiciones iniciales.

En las Figs. 4, 5 y 6 se muestran los resultados de la corrida de simulaciones reduciendo la proporcionalidad de los inhibidores a 25%, 50% y 75 respectivamente, en relación a las concentraciones iniciales, y concentraciones distintas, pero proporcionales de todas las moléculas participantes en el modelo 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla).

Los resultados demuestran que las quinasas ERK-PP permanecen fosforiladas y su concentración se incrementa, como consecuencia de la falta de regulación de las proteínas ERK-PP, originada por la baja concentración de las fosfatasas en todos los casos independiente de las concentraciones proporcionalidad mente escalada.

También se observa que el comportamiento deja de ser lineal cuando el porcentaje de inhibidores tienda a cien por ciento, esto de acuerdo a la teoría de la complejidad basada en interacciones.

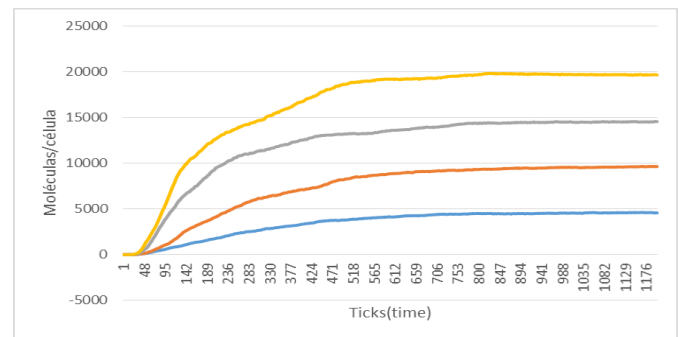


Figura 3. Concentración de proteínas ERK-PP proporcionales escaladas en 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) con reducción de inhibidores a 25%.

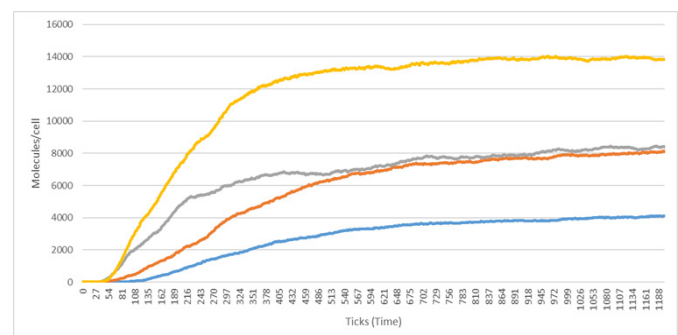


Figura 5. Concentración de proteínas ERK-PP proporcionales escaladas en 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) con reducción de inhibidores a 50%.

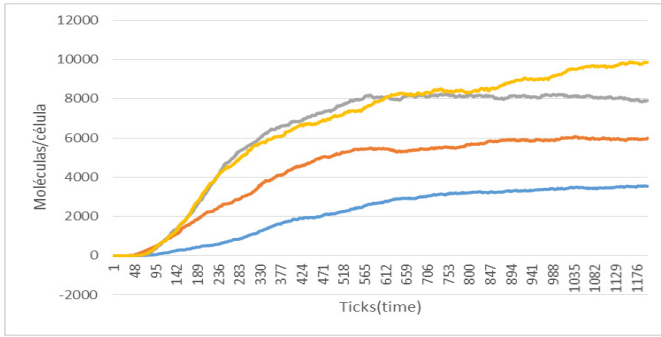


Figura 6. Concentración de proteínas ERK-PP proporcionales escaladas en 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) con reducción de inhibidores a 75%.

Otra posible fuente de generación de estados celulares inconsistentes, es la mutación de alguna de las quinasas de la cascada MAPK. En particular, cuando la molécula Ras es mutada, esta permanece activa de forma infinita, lo cual lleva a la iniciación de la cascada MAPK sin procesos de regulación. La implementación del modelo se realizó bajo el paradigma *in virtuo*, el cual establece la capacidad de modificar parámetros y/o condiciones en tiempo de simulación. Se corrieron simulaciones bajo el escenario de la Ras mutada desde el inicio y concentraciones distintas, pero proporcionales de todas las moléculas participantes en el modelo, la línea azul representa un 25% de concentración, la línea naranja un 50%, la línea gris un 75% y la línea amarilla representa el 100% de la concentración., tal como lo muestra la Fig. 7. Los resultados muestran proliferación mayor de las proteínas ERK-PP en relación a la concentración escalada.

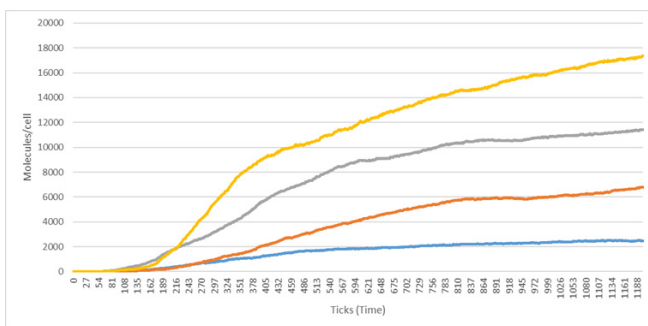


Figura 7. Concentración de proteínas ERK-PP proporcionales escaladas en 25% (línea azul), 50% (línea naranja), 75% (línea gris) y 100% (línea amarilla) con las moléculas Ras mutadas.

Tal como lo establece la reacción uno del modelo, la molécula GTP se une a la molécula Ras para activarla y se integra al compuesto. Lo cual implica que solo se podrán activar tantas Ras como moléculas GTP existan. Se corrieron simulaciones con inicio y termino de mutación de la Ras de forma arbitraria, tal como se muestra en las Fig. 7. Los resultados comprueban que la falta de regulación, lleva a la proliferación de moléculas ERK-PP.

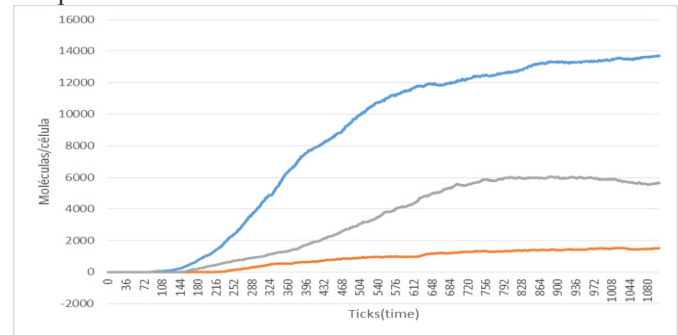


Figura 7. Concentración de proteínas ERK-PP sin mutación (línea naranja), Ras mutada con inicio en el segundo 69 y termino en el segundo 400 (línea gris), y mutación de la Ras desde el inicio y termino en el segundo 600 (línea azul).

Y que entre más rápida sea la mutación y la duración de éstas, entonces habrá mayor proliferación de la proteínas ERK-PP.

En la Fig. 8, se muestra la relación entre las Ras Mutada y la Raf Activada, y el periodo de latencia posterior a la eliminación de la mutación de la Ras.

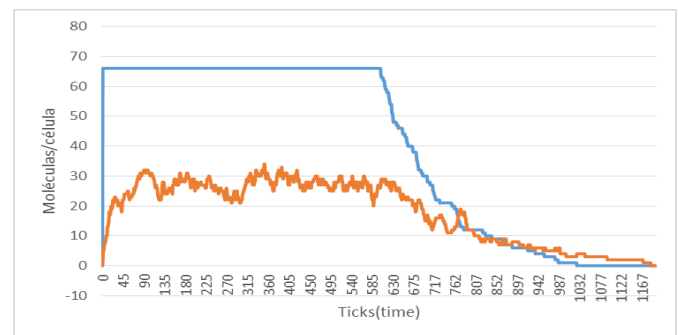


Figura 8. Concentración de Ras mutada (línea azul) y Raf Activada (línea naranja), de la simulación con mutación desde el inicio y término de mutación en el segundo 600.

En la Fig. 9, se identifican los estados de homeostasis y los estados no homeostáticos. Confirmando las dinámicas de las reacciones, el incremento de la concentración de la molécula ERK-PP debido a la falla en la regulación generado por la disminución de las fosfatasa, así como también, el incremento en la concentración de la molécula ERK-PP debido a la activación infinita de la molécula Ras.

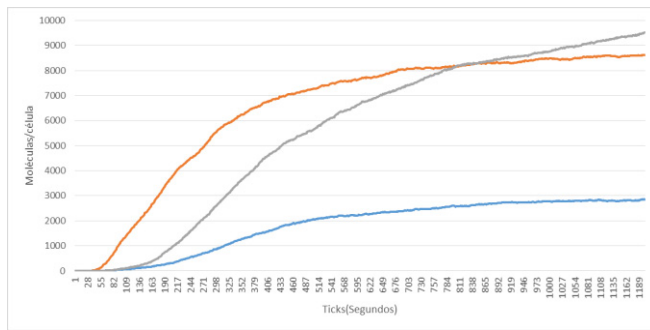


Figura 9. Concentraciones promedio de proteínas ERK-PP obtenidas con condiciones iniciales proporcionales escaladas en 25%, 50%, 75% y 100%, en condiciones normales (línea azul), disminución de los fosfatasa en 50% (línea naranja) y la molécula Ras mutada (línea gris).

V. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

Se presenta un modelo y simulación de la vía MAPK, usando el modelado basado en agentes, desarrollado en el entorno de modelado NetLogo.

Dados los, resultados y análisis de los mismos, es posible concluir que este modelo, es apropiado para representar los comportamientos no lineales de las proteínas que integran la cascada MAPK. De igual forma, es apropiado para representar el impacto de la falta de regulación originada por la reducción de inhibidores de reacciones, y las proteínas Ras mutadas. Así como también, se comprueba que el modelo es apropiado para la simulación *In virtuo*.

Como trabajo futuro, se considera la integración de los receptores de factor de crecimiento epitelial al modelo y las reacciones conducentes hasta la activación de Ras-GTP, y la integración de los procesos una vez que se traslocan la proteínas ERK-PP del citoplasma al núcleo, generando la respuesta celular.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, "Biochemistry". New York: W.H. Freeman, 2002.
- [2] R. J. Orton, O. E. Sturm, V. Vyshemirsky, M. Calder, D. R. Gilbert, and W. Kolch, "Computational modelling of the receptortyrosine-kinase-activated MAPK pathway." *The Biochemical journal*, vol. 392, no. Pt 2, pp. 249–61, Dec. 2005.
- [3] B. Vogelstein and K. W. Kinzler, "Cancer genes and the pathways they control." *Nature medicine*, vol. 10, no. 8, pp. 789–99, Aug. 2004.
- [4] C. M. Macal and M. J. North, "Agent-based modeling and simulation," *Proceedings of the 2009 Winter Simulation Conference (WSC)*, pp. 86–98, Dec. 2009.

- [5] B. Schoeberl, C. Eichler-Jonsson, E. D. Gilles, and G. Müller, "Computational modeling of the dynamics of the MAP kinase cascade activated by surface and internalized EGF receptors." *Nature biotechnology*, vol. 20, no. 4, pp. 370–375, 2002.
- [6] Wilensky, U. NetLogo. <http://ccl.northwestern.edu/netlogo/>. Center for Connected Learning and Computer-Based Modeling, Northwestern University, Evanston, IL. 1999.
- [7] J. Tisseau, "In vivo, in vitro, in silico, in virtuo. The virtuoscope," pp. 1–17, 2008.
- [8] "Supplementary information: Computational modeling of the dynamics of the MAP kinase cascade activated by surface and internalized EGF receptors: *Nature Biotechnology*." [Online]. Disponible en: http://www.nature.com/nbt/journal/v20/n4/supinfo/nbt0402370_S1.html.