

# **USO DE HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS PARA LA RECOPILOCIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS DE INTERÉS EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS**

## **Módulo 6 Formulación de Modelos Matemáticos de Fenómenos Biológicos**

**Alfredo Rigalli  
Maela Lupo  
María Eugenia Chulibert  
Mercedes Lombarte  
Patricia Lupión**

**Centro Universitario de Estudios Medioambientales  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad Nacional de Rosario**

**2020**



**USO DE HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS PARA LA  
RECOPIACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS DE  
INTERÉS EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**MODULO 6**

**Formulación de Modelos Matemáticos de Fenómenos Biológicos**

**Alfredo Rigalli  
Maela Lupo  
María Eugenia Chulibert  
Mercedes Lombarte  
Patricia Lupión**

**Centro Universitario de Estudios Medioambientales  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad Nacional de Rosario**

**2020**



Uso de herramientas informáticas para la recopilación, análisis e interpretación de datos de interés en las ciencias biomédicas : módulo 6 : formulación de modelos matemáticos de fenómenos biológicos / Alfredo Rigalli ... [et al.]. - 1a edición para el alumno - Rosario : Alfredo Rigalli, 2020.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: online

ISBN 978-987-86-3474-6

1. Matemática Aplicada. 2. Matemática Estadística. I. Rigalli, Alfredo  
CDD 510

**ISBN 978-987-86-3474-6**

## **AUTORES**

Chulibert, María Eugenia: Licenciada en nutrición. Estudiante del doctorado en Ciencias Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario. Becaria doctoral del CONICET.

Lombarte, Mercedes: Licenciada en biotecnología y Doctora en Ciencias Biomédicas. Investigadora del Laboratorio de Biología Ósea y del Centro Universitario de Estudios Medioambientales y docente de la cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario.

Lupión, Patricia: Licenciada en biotecnología. Estudiante del doctorado en Ciencias Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario. Becaria doctoral del CONICET.

Lupo, Maela: Licenciada en biotecnología y Doctora en Ciencias Biomédicas. Investigadora del Laboratorio de Biología Ósea y del Centro Universitario de Estudios Medioambientales y docente de la cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario.

Rigalli, Alfredo: Bioquímico y Doctor en bioquímica. Investigadora del Laboratorio de Biología Ósea y del Centro Universitario de Estudios Medioambientales y docente de la cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario. Investigador independiente del Consejo de Investigaciones de la UNR y del CONICET

# Tabla de Contenidos

1. Clase 1.....	1
1.1. Instalar R.....	1
1.2. Aclaraciones general.....	3
1.3. Arrancar R.....	4
1.4. Salir del programa.....	5
1.5. Obtener información de la versión de R que utilizamos.....	6
1.6. Conocer bibliotecas cargadas.....	6
1.7. Conocer el directorio de trabajo.....	6
1.8. Ver los comando previos.....	6
1.9. Ver el espacio de trabajo.....	6
1.10. Introducir datos en R.....	7
1.11. Visualizar espacio de trabajo.....	13
1.12. Borrar el objeto.....	13
2. Clase 2.....	15
2.1. Definición y gráfica de funciones.....	15
2.2. Ecuaciones de primer orden con una incógnita.....	23
3. Clase 3.....	29
3.1. Ecuaciones de segundo grado con una incógnita.....	29
3.2. La función logaritmo.....	39
4. Clase 4.....	42
4.1. Ecuaciones exponenciales.....	42
4.2. Argumentos de plot().....	45
4.3. Funciones.....	46
4.4. Graficando nuestros datos.....	55
5. Clase 5.....	59
5.1. Gráficas de funciones.....	59
5.2. Ajuste de curvas a datos experimentales.....	73
5.3. Vida media de una función exponencial.....	78
6. Clase 6.....	84
6.1. Funciones.....	84
6.2. Composición de funciones.....	85
6.3. Derivada de una función.....	87
7. Clase 7.....	91
7.1. Derivación Logarítmica.....	91
7.2. Ejercicios de derivación logarítmica.....	92
7.3. Aplicaciones de derivadas al estudio de funciones.....	92
7.4. Ejercicios de estudios de funciones.....	100
8. Clase 8.....	103
8.1. Integrales indefinidas.....	103
8.2. Integración por sustitución.....	105
8.3. Integración por partes.....	107
8.4. Integral definida.....	108
8.5. Área bajo la curva de una función.....	109
8.6. Integrales impropias.....	110
8.7. Gráfica de funciones y áreas.....	111
9. Clase 9.....	115

9.1. Ecuaciones diferenciales.....	115
10. Clase 10.....	127
10.1. Aplicaciones de ecuaciones diferenciales.....	127
10.2. Transformadas de Laplace.....	142
11. Clase 11.....	147
11.1. Ecuaciones diferenciales en $\mathbb{R}$ .....	147
12. Clase 12.....	162
12.1. Paradigmas de la modelización matemática.....	162
13. Clase 13.....	173
13.1. Paradigmas de la modelización matemática.....	173
14. Clase 14.....	189
14.1. Medida de constantes totales y parciales.....	189
15. Clase 15.....	211
15.1. Gradientes de concentración.....	211
16. Clase 16.....	232
16.1. Infusión continua.....	232
17. Clase 17.....	251
17.1. Estudios de absorción en órganos aislados.....	251
18. Clase 18.....	263
18.1. Modelo de intestino aislado.....	263
19. Clase 19.....	288
20. Clase 20.....	317
20.1. Modelo matemático a partir de una dosis endovenosa.....	318
21. Clase 21.....	335
21.1. Resolución de sistemas de ecuaciones diferenciales.....	335
22. Clase 22.....	370
22.1. Resolución de sistemas de ecuaciones diferenciales.....	370

## 1. Clase 1

La modelización matemática de fenómenos biológicos podríamos definirla como el desarrollo de ecuaciones matemáticas que permitan explicar, simular y anticipar fenómenos biológicos. Las ciencias biológicas son aquellas que estudian estructuras y procesos relacionados a organismos vivos y que, a diferencia de otros sistemas materiales están formados mayoritariamente por unos pocos elementos químicos: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre. El resto de los elementos representan un muy bajo porcentaje en peso, sin embargo no ocurre lo mismo con su necesidad y función.

Parecería que hallar una ecuación que modelice un fenómeno biológico podría ser sencilla en virtud del reducido número de elementos. Sin embargo, la gran variedad de moléculas que se pueden construir con esos elementos es muy variada y diferentes aun entre individuos de una misma especie. Esta es en gran parte la razón por la cual los modelos biológicos siguen siendo una dificultad. El desarrollo de un modelo que puede explicar muy bien un fenómeno en un individuo puede no serlo en otro individuo con características genéticas ligeramente diferentes. No debemos olvidar que la estructura de estas moléculas está determinada por la información genética de cada individuo que solo es igual entre dos individuos cuando estos son gemelos.

Esta materia fundamentará el desarrollo en modelos planteados y desarrollados en el libro "Formulación de modelos matemáticos de fenómenos biológicos" y se tratará en lo posible de realizar los desarrollos y cálculos utilizando el programa R<sup>1</sup>.

R es un entorno de computación que funciona en cualquier sistema operativo y permite almacenar y analizar datos, así como realizar programación de rutinas necesarias. Este curso se relaciona con otros cursos dictados por que tratan el uso general de R. En este curso nos centraremos en los aspectos matemáticos del mismo.

Esta primer clase tratará sobre instalación y manejo básico de R

### 1.1. Instalar R

R es un software libre que puede ser descargado desde la siguiente dirección

<https://cran.r-project.org/>

allí encontrará la página

---

1. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.



CRAN  
 Mirrors  
 What's new?  
 Task Views  
 Search

About R  
 R Homepage  
 The R Journal

Software  
 R Sources  
 R Binaries  
 Packages  
 Other

Documentation  
 Manuals  
 FAQs  
 Contributed

The Comprehensive R Archive Network

**Download and Install R**

Precompiled binary distributions of the base system and contributed packages. **Windows and Mac** users most likely want one of these versions of R:

- [Download R for Linux](#)
- [Download R for \(Mac\) OS X](#)
- [Download R for Windows](#)

R is part of many Linux distributions, you should check with your Linux package management system in addition to the link above.

Source code for all Platforms

Windows and Mac users most likely want to download the precompiled binaries listed in the upper box, not the source code. The sources have to be compiled before you can use them. If you do not know what this means, you probably do not want to do it!

- The latest release (2018-03-15, Someone to Lean On) [R:3.4.4.tar.gz](#), read [what's new](#) in the latest version.
- Sources of [R alpha and beta releases](#) (daily snapshots, created only in time periods before a planned release).
- Daily snapshots of current patched and development versions are [available here](#). Please read about [new features and bug fixes](#) before filing corresponding feature requests or bug reports.
- Source code of older versions of R is [available here](#).
- Contributed extension [packages](#)

Questions About R

- If you have questions about R like how to download and install the software, or what the license terms are, please read our [answers to frequently asked questions](#) before you send an email.

En la parte superior del recuadro verá la posibilidad de descargarlo para Linux, Mac o Windows. Haga click allí y siga las instrucciones.

Una vez que lo haya logrado instalar, recomendamos seguir y ejecutar los comandos planteados en esta clase, con el fin de familiarizarse con el entorno.

### 1.1.1. Instalación en linux

#### 1.1.1.1. Desde consola

puede hacerlo desde la consola. Para ello abra la consola y escriba los siguientes códigos, habiendo accedido a la misma como usuario root. Primero actualice los paquetes de su distribución

```
sudo apt-get update
```

luego intale R con la siguiente línea.

```
sudo apt-get install r-base
```

#### 1.1.1.2. Desde el software center

En la distribución ubuntu puede hallar la interfaz R-commander. No la utilizaremos en este curso, pero es compatible con el mismo. En este curso trabajaremos desde la consola que es similar a la interfaz utilizada en windows.

#### 1.1.1.3. Desde Synaptic Package Manager

Busque el paquete r-base-core, selecciónelo e instálelo.

### 1.1.2. Instalación desde windows.

Al momento de instalar R en una computadora que posea como sistema operativo a Windows es necesario en primera medida bajar el programa con la ayuda de cualquier navegador instalado en la misma. En mi caso el que utilizo habitualmente es chrome, desde el buscador preferido (google en este caso) colocando R o bien "the R project" nos encontrará el sitio donde encontraremos el software. Si observamos encontramos entre las opciones que nos remite a "R para Windows", que nos lleva directamente a los links deseados o bien podemos ingresar a la pagina "the R project" donde encontraremos una breve descripción de que es R, noticias sobre el mismo e incluidas allí las últimas versiones de R que se encuentran aptas para su instalación y uso.

Clickeando en algún link de las versiones de R (R se actualiza periódicamente y la última

versión generada no siempre es recomendable ya que pueden no tener todos los paquetes de información complementaria actualizados), se genera un archivo ".exe" que se deberá ejecutar para instalar R en Windows siguiendo las instrucciones del archivo. En el escritorio se instalará un acceso directo al programa mediante el cual se ingresa al hacer un doble clic.

Una vez en la interfaz de R se pueden ejecutar los comandos necesarios para nuestro análisis. Pero para ejecutarlos necesitamos datos, tablas, documentos de texto entre otros que deben estar en el mismo espacio que el R en el cual trabajemos. Éstos pueden encontrarse en carpetas de distintas particiones de almacenamiento de nuestra computadora y no en el escritorio donde se encuentra el acceso directo de R. Uno está tentado a copiar esos archivos al escritorio, (no siendo lo más aconsejable pero si posible), pero lo más adecuado, una vez abierto R es "Cambiar el directorio de trabajo" (indicarle a R la ubicación donde se encuentran los archivos de trabajo en la máquina). Para eso es necesario realizar los siguientes pasos: ir a Archivo>cambiar dir: se abrirá la ventana "buscar carpeta", los pasos sucesivos aquí pueden variar según cada computadora: a modo de ejemplo buscaré un archivo que se encuentra en "mis documentos" por el cual debo realizar los siguientes pasos: en "buscar carpeta" > disco local C > usuarios > cx(nombre del equipo) > mis documentos > "nombre de la carpeta donde están los datos a analizar". Estos pasos se deben hacer cada vez que se quiera realizar un análisis nuevo teniendo datos de distinta naturaleza en otras carpetas. Se recomienda realizar estos pasos ya que R genera un archivo denominado .Rdata o R Workspace que almacenará los objetos generados durante el análisis de datos, pudiendo recuperarlos si fuera necesario dentro de la misma carpeta en uso y no mezclar análisis de distintas experiencias realizadas durante el tiempo. Además es necesario realizar la carga del denominado ".Rhistory o archivo histórico" y el "área de trabajo" que dan la posibilidad de rescatar los comandos y objetos de análisis previos, de ser la primera vez que usa R estos pasos no deben realizarse.

Pasos a seguir:

luego de cargado el directorio dirigirse a Archivo> cargar histórico> se abrirá una ventana "Corregir historico de..." > seleccionar de la lista la carpeta donde realizó el último análisis ".Rhistory"> Abrir.

No deberá notar ninguna diferencia en la interfaz de R. Con respecto a la forma de cargar el área de trabajo se debe seguir los siguientes pasos

Archivo> cargar área de trabajo> se abrirá una ventana "seleccionar image para cargar"> seleccionar de la lista la carpeta donde realizó el análisis que deseamos, encontraremos una R estéticamente similar a la que se encuentra en el escritorio> Abrir. En el interfaz se visualizará la dirección del cual cargamos el "Rdata".

En éste momento podremos comenzar con el análisis de datos que se desee.

## 1.2. Aclaraciones general

En texto encontrará las explicaciones

Cuando mostremos un comando o rutina utilizada en R, aparecerá luego del caracter ">" una orden, por ejemplo. Además la línea la hallará coloreada como se muestra a continuación

```
> t.test(a)
```

al dar enter, ejecutará la línea de comando

Usted puede copiar la línea (sin el >), pegarla en la línea de comando de R y oprimir enter, de esta manera se ejecutará.

Si en una línea de comando aparece el caracter #, esto hace que lo que sigue sea un comentario y aunque lo pegue en la línea de comando, no se ejecutará. Por ejemplo

```
> citation()    # este comando da información cómo citar R en un trabajo
```

se ejecutará la orden citation(), pero no "este comando da informacion cómo citar R en un trabajo"

### **1.3. Arrancar R**

Si trabaja en linux

Abrir una terminal o consola

moverse al directorio que se desea trabajar, con comando cd

tipear

```
> R
```

mostrará una bienvenida

```

alfredo@alfredo-System-Product-Name: ~
File Edit View Search Terminal Help
alfredo@alfredo-System-Product-Name:~$ R

R version 3.2.3 (2015-12-10) -- "Wooden Christmas-Tree"
Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing
Platform: i686-pc-linux-gnu (32-bit)

R is free software and comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY.
You are welcome to redistribute it under certain conditions.
Type 'license()' or 'licence()' for distribution details.

  Natural language support but running in an English locale

R is a collaborative project with many contributors.
Type 'contributors()' for more information and
'citation()' on how to cite R or R packages in publications.

Type 'demo()' for some demos, 'help()' for on-line help, or
'help.start()' for an HTML browser interface to help.
Type 'q()' to quit R.

[Previously saved workspace restored]
> █

```

Como podemos leer allí ya tenemos las primeras instrucciones

Al final aparece

[Previously saved workspace restored]

¿qué significa?

Que como arrancamos R en un directorio determinado, allí ya había datos nuestros y R ha cargado los mismos

al final puede observar

> █

Esa es la línea de comandos. Allí puede escribir o pegar comandos.

Si deseamos citar el entorno en un trabajo, tipeamos

> citation ()           # aparecerá lo de abajo o actualizado, para citar el R

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

## 1.4. Salir del programa

Para terminar una sesión de trabajo, tipeamos en la línea de comando

```
> q()
```

aparecerá

```
> Save workspace image? [y/n/c]:
```

si oprimimos y, se guardarán los objetos creados. Si oprimimos n, no se salvará nada del trabajo realizado y con c, cancelamos y volvemos al espacio de trabajo.

## 1.5. Obtener información de la versión de R que utilizamos

```
> sessionInfo()
```

```
R version 2.14.0 (2011-10-31)
```

## 1.6. Conocer bibliotecas cargadas

R es un entorno que necesita bibliotecas para ejecutar sus acciones. A fines prácticos y de manera de optimizar su funcionamiento, R solo carga algunas bibliotecas básicas y luego el usuario debe cargar las bibliotecas que desea. ¿Como saber qué bibliotecas están cargadas?. Para ello ejecutar algunas de las dos órdenes siguientes

```
>library()           #da los paquetes instalados y los path. se sale con 'q'
```

```
>search()           #da las paquetes actualmente cargados
```

## 1.7. Conocer el directorio de trabajo

Si deseamos conocer en que directorio de nuestro disco se halla nuestro espacio de trabajo ejecutamos la orden

```
> getwd()           #mostrará el directorio o workspace
```

```
[1] "/home/alfredo/alf/cursos/R/modulo1"
```

## 1.8. Ver los comando previos

R va almacenando todos los comandos que ejecutamos, para verlos

```
> history()        #muestra los últimos 25 comandos usados. se sale luego con 'q'
```

```
> history(max.show=Inf) #muestra todos los comando . se sale luego con 'q'
```

## 1.9. Ver el espacio de trabajo

El espacio de trabajo es un sitio de nuestra computadora donde están los datos que estamos trabajando. Estos datos se almacenan en objetos, los cuales pueden ser de diferente tipo

como veremos inmediatamente más adelante. Para ver qué hay en el espacio de trabajo ejecute

```
>ls()
```

puede obtener la misma información con

```
>objects()
```

Básicamente en el espacio de trabajo tendremos objetos que almacenan datos o análisis de los datos y funciones. Si bien iremos desarrollando a lo largo de las clases un mayor conocimiento de los mismos, para almacenar un dato en un objeto, por ejemplo llamado 'tratamiento' escribimos el siguiente código

```
> tratamiento = aca irá lo que se desea almacenar.....
```

o bien con el mismo resultado podemos escribir

```
> tratamiento <- .....
```

si deseamos ver el contenido del objeto, escribimos el nombre del objeto

```
> tratamiento
```

R nos mostrará su contenido

Si deseamos ejecutar una función, por ejemplo que se llamara 'circunferencia', escribiremos

```
> circunferencia(..... argumentos)
```

que entre paréntesis llevará datos conocidos como argumentos

Iremos viendo esto en sus aplicaciones

## 1.10. Introducir datos en R

Los datos y los resultados se almacenan en R en lo que llamamos objetos. Dentro de los objetos para almacenar datos, los más comunes son

vectores

data.frame

matrices

### 1.10.1. Vectores

Es un conjunto de varios datos. Por ejemplo supongamos que tuviera la glucemia de 4 ratas, podría guardarlas creando en un vector.

#### 1.10.1.1. Vectores con elementos numéricos

Crear un vector con elementos numéricos

Supongamos que tenemos una serie de datos de tiempo: 1 segundo, 2 s, 3 s, 4s, 5 s y deseamos guardarlos en un solo objeto que llamaremos a. Para ello ejecutamos el siguiente comando

```
> a<-c(1,2,3,4,5)
```

si deseo ver el contenido de objeto a escribiré

```
> a
```

y R me mostrará sus elementos

```
[1] 1 2 3 4 5
```

a será el nombre con que se identifica el objeto y el mismo tendrá 5 números. Podemos pedir un detalle de este objeto con

```
> summary(a)
```

Min.	1st Qu.	Median	Mean	3rd Qu.	Max.
1	2	3	3	4	5

Nos ha mostrado el mínimo, máximo, 1er y 3er cuartilo, la media y la mediana. También podemos desear ver que tipo de datos tiene el objeto, si es numérico o string (cadena de caracteres)

```
> mode(a)
```

```
[1] "numeric"
```

podemos también pasar los datos a otro objeto, por ejemplo que llamamos b. Para ello utilizaremos el siguiente comando

```
> assign("b",a)
```

o también podemos crear un objeto b con los mismos datos que a con el comando

```
> b<-a
```

que es equivalente a

```
> b=a
```

como podemos ver ahora b también tiene la misma información

```
> b
```

```
[1] 1 2 3 4 5
```

### 1.10.1.2. Vectores con elementos string (secuencia de caracteres)

Un string es una cadena de caracteres, por ejemplo: casa, b, aaa, etc. Si se desea crear el objeto c con elementos string: por ejemplo las letras con la que identifique cinco ratas de mis experimentos. En este caso los elementos del vector pueden ir entre ", entre ' . En

cualquiera de los casos se tomará cada elemento como un caracter.

```
> c<-c("x","y","z","u","v")
```

En R el uso de " es equivalente a '

por lo que la creación del vector c, también podría haberse escrito

```
> c<-c('x','y','z','u','v')
```

y puedo ver sus propiedades con los comandos, si lo deseara

```
> summary(c)
```

```
Length Class Mode
     5   character character
```

que nos muestra la cantidad de caracteres (Length) del vector y el tipo de elementos, en este caso character

Una forma de conocer que tipo de elementos tiene el objeto c, es con la función mode()

```
> mode(c)
```

```
"character"
```

### 1.10.1.3. *Algunas funciones y operaciones con vectores*

Estas funciones también aplicable a otros objetos. Las funciones de R son palabras seguidas de argumentos entre paréntesis. Por ejemplo

mean(c). En este caso se está calculando la media de un objeto c. En adelante cuando mencionemos una función en general daremos el nombre de la función seguida de paréntesis, por ejemplo: mean(). Por esa notación usted sabrá que estamos hablando de una función, es decir de un cálculo o procedimiento que se ejecuta sobre un argumento. Veamos algunas funciones comunes y muy útiles aplicadas al vector a creado anteriormente, cuyos elementos son: 1,2,3,4,5.

```
max()
```

Esta función buscar el elemento más grande del vector

```
max(a)
```

```
>max(a)
```

```
[1] 5
```

```
min()
```

Halla el elemento más chico del vector

```
min(a)
```

```
> min(a)
```

```
[1] 1
```

```
range()
```

Halla el máximo y mínimo, o sea el rango

```
> range(a)
```

```
[1] 1 -5
```

```
length()
```

Función que calcula el número de elementos del objeto

```
> length(a)
```

```
[1] 5
```

```
sum()
```

Función que calcula la suma de los elementos del objeto

```
> sum(a)
```

```
[1] 15
```

```
prod()
```

Calcula el producto de los elementos del objeto

```
> prod(a)
```

```
[1] 120
```

Usted puede ir comprobando algunos de estos resultados. Por ejemplo `prod(a)`, equivale a hacer la multiplicación:  $5*4*3*2*1 = 120$

```
mean()
```

Calcula la media

```
> mean(a)
```

```
[1] 3
```

```
median()
```

Calcula la mediana

```
> median(a)
```

```
[1] 3
```

```
sd()
```

Calcula el desvío estándar de los elementos del vector

```
> sd(a)
```

```
[1] 1.581139
```

```
var()
```



El contenido del vector **a** es:

```
> a
```

```
[1] 1 2 3 4 5
```

definimos **d** de tal manera que d tendrá los elementos de a, pero divididos por 10

```
> d<-a/10
```

comprobamos que nuestra intención se cumplió

```
> d
```

```
[1] 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5
```

veamos entonces algunas funciones útiles.

ceiling()

Toma cada valor y regresa el primer entero no menor que el número

```
> ceiling(d)
```

```
[1] 1 1 1 1 1
```

floor()

Toma los valores y retorna el mayor entero posible, pero no mayor que el valor original

```
> floor(d)
```

```
[1] 0 0 0 0 0
```

trunc()

Retorna el entero de haber truncado el valor en la coma.

```
> trunc(d)
```

```
[1] 0 0 0 0 0
```

round()

Redondea en el numero de dígitos que se desea.

```
> round(d,digits=0)
```

```
[1] 0 0 0 0 0
```

```
> round(d,digits=1)
```

```
[1] 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5
```

#### 1.10.1.6. *Generador números aleatorios*

runif()

la función `runif(x,w,z)`, tiene tres argumentos: `x`, `y`, `z` y genera `x` números aleatorios comprendidos entre `w` y `z`. Veamos un ejemplo

```
> runif(10,0,1)
```

Genera 10 números aleatorios entre 0 y 1

```
[1] 0.8304301 0.3168486 0.9059344 0.5761408 0.4335628 0.9095313 0.1411549
[8] 0.1893361 0.8885673 0.4636167
```

Se puede combinar con otras funciones para obtener números enteros.

```
trunc()
```

La función `trunc()` elimina los valores decimales

```
> trunc(runif(10,0,1)*10)
```

En este caso la función `trunc`, trunca los 10 números aleatorios generados entre 0 y 1, que previamente fueron multiplicados por 10.

```
[1] 2 1 5 4 9 0 9 9 2 0
```

```
> floor(runif(10,0,1000))
```

```
[1] 293 541 693 357 337 860 953 405 810 948 Alcanza a entender que hizo R?
```

### 1.11. Visualizar espacio de trabajo

Si deseamos ver los objetos que se hallan en el espacio de trabajo

```
> ls()
```

Muestra los objetos en el espacio de trabajo ordenados alfabéticamente

```
> objects()
```

Muestra los objetos del espacio de trabajo. Equivalente a `ls()`

```
> objects(sorted=T or F)
```

Muestra objetos del espacio de trabajo ordenados o no alfabéticamente

### 1.12. Borrar el objeto

```
> rm(a),
```

Elimina el elemento `a`

```
> remove(a)
```

Elimina el elemento `a`

```
> rm(list=ls())
```

Borra todos los objetos

Si por error borramos algo, al salir del espacio de trabajo nos pedirá si queremos salvar los cambios y en dicho caso será conveniente colocar "n"

## 2. Clase 2

En las clases sucesivas desarrollaremos temas básicos de la matemática que serán de utilidad a lo largo del desarrollo del curso.

### 2.1. Definición y gráfica de funciones

#### 2.1.1. Funciones de una variable independiente

Una función es una relación matemática entre variables. Esta relación puede involucrar más de una variable y en general dentro de estas variables llamamos a algunas variables dependientes y a otras variables independientes. La forma de identificar a las funciones es con una letra minúscula y la variable independiente entre paréntesis, esa denotación sería:  $f(x)=y$ , donde  $y$  es la variable dependiente y  $x$  la independiente.

Veamos algunos ejemplos de funciones y analicemos brevemente su significado

$$y = 2 * x$$

*Ecuación 2.1.*

la Ecuación 2.1 muestra una sencilla función. En esta podemos ver números (2), letras ( $x$ ,  $y$ ) y operadores (\*). Esta función indica que el valor que tome  $y$  será igual al valor que tome  $x$ , pero multiplicado por 2.

Por ejemplo: si  $x=2$ ,  $y$  tomará el valor 4.

Una función tiene un dominio, es decir un conjunto de valores posibles y aceptables para  $x$ . Cuando la función no incluye las operaciones: cociente, raíz cuadrada o de índice par ni logaritmos, en general el dominio son los números reales, es decir todos los números positivos, fraccionarios, negativos, etc. En el caso indicado anteriormente, el dominio son los número reales.

Pasemos a un segundo ejemplo

$$y = \frac{2}{x}$$

*Ecuación 2.2.*

En la Ecuación 2.1 nuevamente  $y$  es la variable dependiente mientras que  $x$  es la independiente. Esta asignación de los términos dependiente e independiente es arbitraria. Esta ecuación nos indica que si  $x=1$ ,  $y$  será igual a 2. Si  $x=10$ ,  $y$  tomará el valor 0.2. Si analizamos el dominio, tenemos que tener en cuenta la simple ley planteada anteriormente y vemos que tiene cociente, por lo que no serán posiblemente todos los reales.

Analicemos qué dominio tiene la Ecuación 2.2. El cociente no puede calcularse cuando el

denominador es igual a cero, por ello planteamos que el denominador debe ser distinto de cero

$$x \neq 0$$

Esta es la restricción a nuestro dominio. Es decir la variable independiente  $x$  podrá tomar cualquier valor real siempre y cuando no sea cero.

Intentemos analizar esto utilizando R

primero introduciremos la función.

Para ello debemos darle un nombre a la función, el que será la variable dependiente, en este caso utilizaremos  $y$  para evitar confusiones.

Como variable independiente tomaremos  $x$  y la utilizaremos con el mismo símbolo en R.

Podría ocurrir que por la presencia de otras variables ya definidas necesite asignarle otro nombre.

El código para introducir una función es siempre el mismo, adaptándolo a cada función, en este caso es

```
> y=function(x){2/x}
```

si deseamos controlar si la función fue bien introducida ejecutamos el siguiente comando y veremos la función introducida

```
> y
```

```
function(x){2/x}
```

Entonces para definir una función a la izquierda colocamos el nombre de la función, que a los fines prácticos conviene utilizar el mismo símbolo que tenemos en la función escrita, en este caso "y". A la derecha y separado por el signo = o ->, hallaremos siempre la palabra "function" seguida entre paréntesis del símbolo que utilizamos para la variable independiente, en nuestro caso  $x$ . A continuación entre {}, tendremos la expresión de nuestra función, que corresponde al término de la derecha de la Ecuación 2.2, en este caso.

Si deseamos conocer qué valor tomará  $y$  para un valor particular de  $x$ , por ejemplo 3

```
> y(3)
```

inmediatamente R nos mostrará el resultado

```
[1] 0.6666667
```

no tendremos restricciones con los números que podamos utilizar

```
> y(-14500)
```

```
[1] -0.000137931
```

Si no es nuestra intención conocer el valor sino guardarlo en un objeto para su posterior uso, por ejemplo llamamos al objeto "yde3

```
> yde3<-y(3)
```

R no nos mostró nada, pero quedó el resultado almacenado en un objeto llamado yde3. Puede verificar que el mismo está en nuestro espacio de trabajo con la función. Para ver los objetos de nuestro espacio de trabajo ejecutamos la función ls()

```
> ls()
```

```
[1] "ejercicio1a" "y"      "yde3"
```

si ahora queremos ver qué valor nos dio nuestro cálculo, llamamos el elemento yde3

```
> yde3
```

```
[1] 0.6666667
```

Si deseáramos calcular el valor de  $y$ , pero para varios valores de  $x$ , podemos hacerlo de dos maneras en principio.

Supongamos que los valores de  $x$  son: 3, 4 y 5.

podemos aplicar

```
> y(3)
```

```
[1] 0.6666667
```

```
> y(4)
```

```
[1] 0.5
```

```
> y(5)
```

```
[1] 0.4
```

pero también podríamos crear un vector con los valores de  $x$ . Para ello

```
> valoresdex<-c(3,4,5)
```

luego a la variable independiente ( $x$ ) de la función  $y$ , le damos el valor del vector creado

```
> y(valoresdex)
```

y como podemos ver nos calcula los tres valores simultáneamente

```
[1] 0.6666667 0.5000000 0.4000000
```

Por lo que vimos anteriormente, la función definida por la Ecuación 2.2 no está definida en  $x=0$ , ya que  $x$  está como divisor y la división por 0 no es posible. ¿Qué ocurre si intentamos ver esto con R?

```
> y(0)
```

```
[1] Inf
```

R no nos da un mensaje de error, pero nos muestra Inf. Esto nos está indicando que el cálculo no es posible y en realidad R, está resolviendo el problema con un límite, tema que

veremos más adelante. Anticipando el tema, podríamos decir que en  $x=0$  la función no puede calcularse y no es posible obtener un número, pero que si nos fuéramos acercando a 0, la función  $y$  iría tomando valores muy grandes. Inf, hace mención a infinito.

### 2.1.2. Funciones de dos o más variables independientes

Una función puede tener también más de una variable independiente, por ejemplo la función  $f(x,z,w) = yyy$  que se muestra a continuación

$$yyy = 2 * x + 4 * z - w$$

*Ecuación 2.3.*

$yyy$  es la variable dependiente, mientras que  $x, z, w$  son las variables independientes. Como dijimos, la asignación es arbitraria, aunque por lo común la que se halla sola, a la izquierda es la variable dependiente. Introduzcamos esta función en R. Definimos de la misma manera que para una variable independiente

```
> yyy=function(x,z,w){2*x+4*z-w}
```

vemos la función

```
> yyy
```

```
function(x,z,w){2*x+4*z-w}
```

comprobamos que está en nuestro espacio de trabajo

```
> ls()
```

```
[1] "ejercicio1a" "valoresdex" "valoresdex1" "y"      "yde3"
```

```
[6] "yyy"
```

calculamos ahora que valor tomaría  $yyy$  si  $x=1$ ,  $z=2$  y  $w=3$

```
> yyy(1,2,3)
```

```
[1] 7
```

Resumiendo entonces la forma general de introducir una función en R es

```
nombrefunción<-function(variable independiente){expresión matemática de la función}
```

Veremos ahora como utilizar funciones definidas con datos de algunos de nuestros experimentos. Supongamos que tenemos datos en una planilla de cálculo. Para ello utilizaremos la planilla de cálculo `tablamm2.ods/xls`. Como regla general, cada planilla tendrá siempre el nombre "tablamm" seguida del número de la clase. Si dentro de la planilla hubiera por ejemplo 3 tablas cada una llevará el nombre `tablamm21`, `tablamm22`, `tablamm23`, etc. Por ejemplo en esta clase la planilla se llama `tablamm2.ods/xls` que tiene la hoja `tablamm21`. Usted recibirá la planilla en formato `.ods` y `xls`.

### 2.1.3. Introducir datos en R desde una planilla de cálculo

Introduzca la hoja tablammm21 de la planilla tablammm2.ods/xls. El código que utilizamos es

```
tablammm21<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec="," ,sep="\t",encoding="latin1")
```

Este código es útil para introducir datos desde el portapapeles.

Para hacerlo escriba el código mencionado en R. Puede copiarlo con <control + c> y pegarlo en R con <control + shift + v> o con un botón paste, según la versión de R que utilice.

Luego copie al portapapeles la tabla incluyendo el encabezamiento de cada columna

Diríjase a R y oprima enter

```
> tablammm21<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec="," ,sep="\t",encoding="latin1")
```

puede comprobar si la tabla está en R

```
> tablammm21
  medicion condicion
1    2.0    o
2    2.1    o
3    2.2    o
4    2.3    o
5    2.4    o
6    2.5    o
7    2.6    o
8    2.7    o
9    2.8    o
10   2.0    b
11   2.1    b
12   2.2    b
13   2.0    b
14   2.1    b
15   2.0    b
16   1.9    b
17   2.0    b
```

podrá ver en su espacio de trabajo que la tablammm21 está entre sus objetos

```
> ls()
```

```
[1] "ejercicio1a" "tablammm21" "valoresdex" "valoresdex1" "y"
```

```
[6] "yde3" "yyy"
```

El objeto tablammm21 es un data.frame. Los data.frame son básicamente tablas que pueden contener columnas con elementos de diferente tipo. Son equivalentes a las planillas de cálculo, aunque veremos su versatilidad a lo largo del curso. Cabe aclarar que la tabla no puede contener espacios vacíos, si los hubiera deben ser reemplazados por las letras NA.

Como podemos ver en la tabla hay una columna medición que tiene valores numéricos. Podemos ver si lo deseamos esa sola columna. Para lograrlo se escribe el nombre del data.frame separado por el signo \$ del nombre de la columna

```
> tablamm21$medicion
```

```
[1] 2.0 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 2.6 2.7 2.8 2.0 2.1 2.2 2.0 2.1 2.0 1.9 2.0
```

retomemos la función y

```
> y
```

```
function(x){2/x}
```

si ejecutáramos el comando

```
> y(tablamm21$medicion)
```

Lo que hicimos fue darle a los valores de  $x$ , los valores de la columna medición de la tablamm21. Así, obtendremos el valor de  $y$  para cada valor de la columna medición.

```
[1] 1.0000000 0.9523810 0.9090909 0.8695652 0.8333333 0.8000000 0.7692308
```

```
[8] 0.7407407 0.7142857 1.0000000 0.9523810 0.9090909 1.0000000 0.9523810
```

```
[15] 1.0000000 1.0526316 1.0000000
```

Podríamos graficar los valores de la columna medición de la tablamm21 y los valores de  $y$  obtenidos. Para ello utilizaremos la función `plot()`. En esta función se indica separado por coma la variable independiente y la dependiente. La forma general es

```
plot(variable independiente, variable dependiente)
```

En nuestro caso la variable independiente es la columna medición de la tablamm21 y la variable dependiente los valores que nos arroja nuestra función  $y$ .

```
> plot(tablamm21$medicion,y(tablamm21$medicion))
```

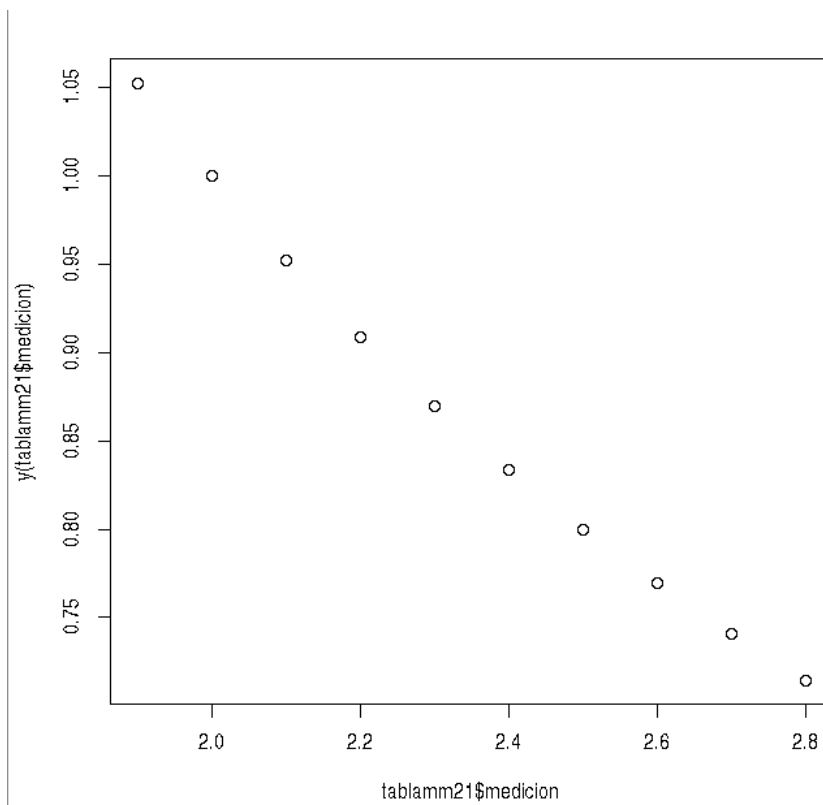


Figura 2.1

también podríamos graficar nuestra función sin especificar valores

```
> plot(y)
```

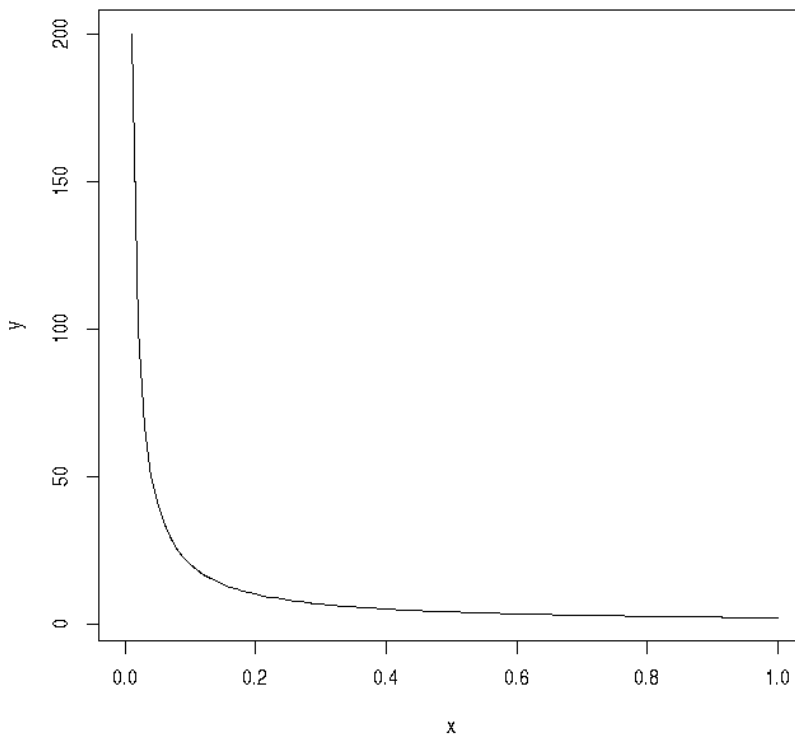


Figura 2.2

Cuando aplicamos `plot(y)`, R toma la decisión de solo mostrar la gráfica para valores de  $x$  en el intervalo  $[0,1]$ . Pero podemos modificarlo.

Grafiquemos  $y$  en el intervalo  $[-10,10]$

```
> plot(y,-10,10)
```

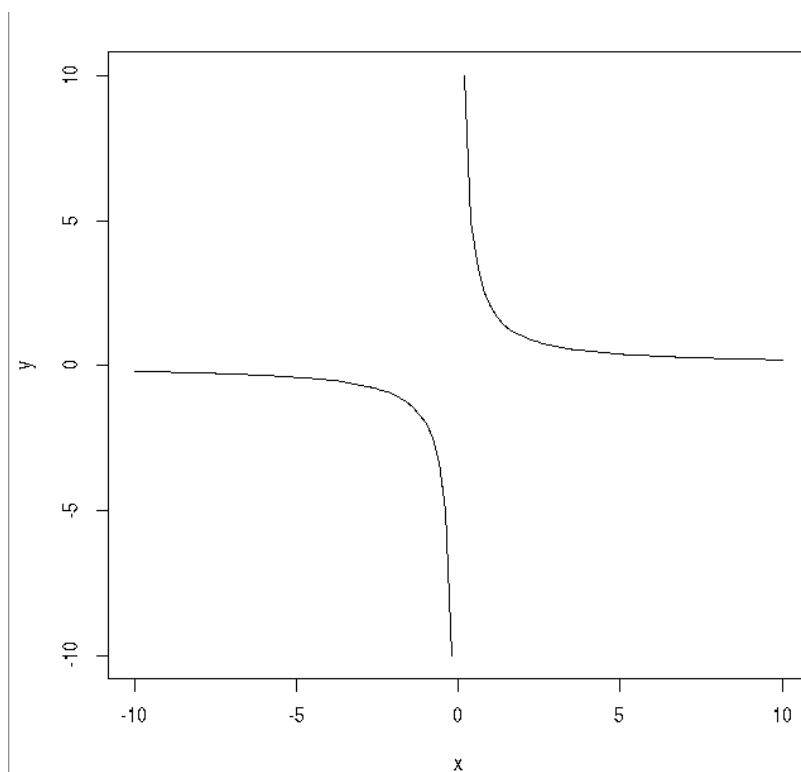


Figura 2.3

utilizaremos estos conceptos en el futuro.

## 2.2. Ecuaciones de primer orden con una incógnita

Las ecuaciones de primer orden son igualdades donde existe una sola variable a que llamamos habitualmente incógnita y la misma se halla elevada a un exponente 1. La resolución puede hacerse manualmente o bien con el uso de software. Si bien la resolución manual puede ser en este caso más sencilla, recomendamos el uso de software de manera de ir sumando herramientas.

### 2.2.1. Resolución algebraica

Resolveremos la siguiente ecuación, es decir intentaremos hallar el valor de  $x$  que hace que la igualdad se cumpla. En primer lugar realizaremos la resolución utilizando reglas tradicionales

$$\frac{7x - 2x}{7} = [(4x - 2) + 8x]4$$

resolvemos la resta del numerador de la izquierda y eliminamos el paréntesis en el miembro de la derecha

$$\frac{5x}{7} = [4x - 2 + 8x]4$$

pasamos el 7 multiplicando a la derecha

$$5x = [4x - 2 + 8x]28$$

sumamos los términos con x en el paréntesis de la derecha

$$5x = [12x - 2]28$$

multiplicamos ambos miembros del paréntesis por 28. Es decir distribuimos 28 con respecto a los dos sumandos del paréntesis

$$5x = 336x - 56$$

agrupamos términos con x

$$56 = 336x - 5x$$

sumamos términos con x

$$56 = 331x$$

despejamos x, así el resultado obtenido para x es

$$x = \frac{56}{331}$$

que podemos resolver con calculadora y es aproximadamente

0.16918429

Veamos ahora la resolución del mismo problema con R

### 2.2.2. Resolución con la función uniroot()

Deseamos conocer que valor de x satisface la ecuación

$$\frac{7x - 2x}{7} = [(4x - 2) + 8x]4$$

para ello igualamos a cero la expresión, pasando todos los términos hacia la izquierda

$$\frac{7x - 2x}{7} - [(4x - 2) + 8x]4 = 0$$

igualamos la expresión a  $y$ , es decir que hemos construido a partir de nuestra ecuación una función donde la incógnita ha pasado a ser la variable independiente.

$$\frac{7x - 2x}{7} - [(4x - 2) + 8x]4 = y$$

hemos escrito una función, la que escribiremos en R como hemos visto en ítems anteriores. No utilizaremos  $y$  para darle el nombre. De hacerlo estaríamos sobreescribiendo sobre otra función que anteriormente llamamos  $y$ . Una buena forma para no cometer errores será darle a  $y$  el nombre `funcionmm21`, 2 por la clase y 1 por ser la primer función desde ahora en adelante.

```
> funcionmm21<-function(x){(7*x-2*x)/7-((4*x-2)+8*x)*4}
```

Resolver nuestra ecuación es obtener el valor de  $x$  que hace que  $y=0$ . Para lograr este objetivo utilizaremos la función `uniroot()`. En `uniroot()` se especifica el nombre de la función, separado por comas el intervalo en que se hallaría la solución. En nuestro caso estimaremos que se hallará entre -10 y 10. Más adelante veremos como estimar este intervalo

Si el valor de  $x$  que satisface nuestra ecuación no estuviera en el intervalo (-10,10) daría un mensaje de error. Veamos la resolución que arroja R.

```
> uniroot(funcionmm21,c(-10,10))
```

```
$root
```

```
[1] 0.1691843
```

`$root`: es la solución. Puede comprobar que es el mismo valor que el hallado manualmente, aunque existe alguna diferencia en los últimos decimales.

Luego da otros parámetros que no son de utilidad por el momento

```
$f.root
```

```
[1] 1.938727e-14
```

```
$iter
```

```
[1] 2
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 6.103516e-05
```

Antes de continuar veamos algunos detalles.

Hemos definido una función

$$\frac{7x - 2x}{7} - [(4x - 2) + 8x]4 = y$$

la que escribimos en R, y le dimos el nombre funcionmm21.

Si ejecutáramos el comando

```
> funcionmm21(3)
```

hallaríamos el valor de y de la expresión anterior, cuando x toma el valor 3

```
[1] -133.8571
```

A modo de comprobación, si le diéramos a nuestra variable x el valor hallado para la solución, nos debería dar un valor muy cercano a 0.

```
> funcionmm21(0.1691843)
```

```
[1] -4.714286e-07
```

realmente es muy pequeño, pero por que no es cero? Esto se debe a que el valor 0.1691843, es un número con infinitos decimales.

Para quienes no están familiarizados con número exponenciales,

$-4.714286e-07 = -0,0000004714286$

e-07, indica 7 ceros antes del primer número, en este caso el 4, incluyendo el punto decimal

Si utilizáramos el número racional obtenido en la resolución a través de reglas algebraicas, el resultado debería ser mucho más cercano a 0

```
> funcionmm21(56/331)
```

```
[1] -7.632783e-16
```

### 2.2.3. Resolución con `optim()`

La función `optim()` la utilizaremos más adelante para otras aplicaciones y será bueno comenzar a comprender su funcionamiento. La función `optim()` busca valores o parámetros de una expresión matemática que minimiza el valor de una función que llamaremos costo. Cuando `optim()` logra hacer mínima la función costo, ha hallado el valor de la incógnita.

Utilizaremos `optim()` para resolver nuestra ecuación, que ya hemos resuelto por dos métodos diferentes

Definimos primero la función costo que llamaremos `costomm21`. Cuando la escriba en R realice un enter en cada línea. Escriba en R las líneas siguientes y no se preocupe si no comprende totalmente el código utilizado, con el tiempo irá comprendiendo

```
> costomm21<-function(a){
c=funcionmm21(a)*funcionmm21(a)
Sys.sleep(1)
print(c)
}
```

No será fácil ahora comprender todos los puntos de la función `costomm21`, pero intentaremos.

`costomm21` es una función

`a` es la variable independiente

la función `costomm21` genera una variable `c` que es el producto de la función `funcionmm21` consigo misma, con el valor de la variable independiente `a`. Es decir que `costomm21` toma la función `funcionmm21` que tenía variable independiente `x` y le asigna a dicha variable el valor `a`.

`Sys.sleep(1)` hace una pausa de 1 segundo entre cada cálculo de la variable `c`.

`print(c)` nos irá mostrando en la pantalla el valor que toma `c` al ser utilizada esta función por `optim()`.

ahora aplicamos `optim()`, cuyo resultado lo asignamos a un objeto que llamaremos `optimmm21`, por la función utilizada y el número de clase y ejercicio. La sistematización en el nombre de objetos es una de las claves del éxito en R. Por supuesto hay otros puntos claves para lograr el éxito.

```
> optimmm21<-optim(c(a=0.5),fn=costomm21,method="Brent",lower=-10,upper=10,control=list(trace=1))
```

[1] 14310.48

[1] 10738.44

[1] 58372.63

[1] 1.311963e-29

[1] 1.253726e-13

[1] 1.253726e-13

[1] 1.311963e-29

luego para ver el valor de nuestra solución

> optimmm21\$par

[1] 0.1691843

Como podemos ver resaltado, es el mismo resultado hallado por los dos métodos anteriores.  
Ejercicios

A continuación se presentan varios ejercicios en los que se debe hallar el o los valores de  $x$  que verifican las siguientes ecuaciones:

$$a- \frac{7x - 2x}{7} = [(4x - 2) + 8x]4$$

$$b- 5 = \frac{2x + 7}{3}$$

$$c- 4x + 3 = \frac{16x \cdot 2 - 8}{5}$$

$$d- \frac{x - 5(-3x)}{-3} = -(-2x) + 23$$

$$e- \frac{(x - 2)4}{x} = \frac{3}{2}$$

$$f- \frac{2x - 5}{4x - 2} = -1$$

$$g- \frac{5(-2x) + 3x - 2(x - 1)}{3x - 2(-1 + 3x)} = 4$$

### 3. Clase 3

#### 3.1. Ecuaciones de segundo grado con una incógnita

Las ecuaciones de segundo grado o de orden 2 o cuadráticas son igualdades donde existe una sola variable a que llamamos habitualmente incógnita y la misma se halla elevada a un exponente 2. La resolución puede hacerse manualmente o bien con el uso de software. Si bien la resolución manual puede ser en este caso más sencilla, recomendamos el uso de software de manera de ir sumando herramientas.

##### 3.1.1. Resolución algebraica

Resolveremos la siguiente ecuación

$$x^2 - 4x + 4 = 0$$

Resolver la ecuación implica hallar el valor de  $x$  que hace que la igualdad se cumpla.

Las ecuaciones cuadráticas se resuelven con una fórmula matemática, vulgarmente conocida como "resolvente de la ecuación cuadrática"

Una ecuación cuadrática podemos escribirla de forma general como

$$a * x^2 + b * x + c = 0$$

donde  $a$ ,  $b$  y  $c$  son los parámetros de la ecuación. En este caso serán números reales.

la resolvente en su forma general se puede escribir

$$x = \frac{(-b \pm \sqrt{(b^2 - 4 * a * c)})}{(2 * a)}$$

para nuestro caso  $a=1$ ,  $b=-4$  y  $c=4$ . Reemplazamos estos valores en la resolvente y operamos hasta obtener un valor

$$x = \frac{(4 \pm \sqrt{(4^2 - 4 * 1 * 4)})}{(2 * 1)} = \frac{(4 \pm \sqrt{(0)})}{2} = 2$$

las ecuaciones de segundo grado con una incógnita pueden tener dos resultados distintos. En este caso es uno solo ya que la raíz cuadrada dio cero.

Verifiquemos si el resultado hallado es correcto, reemplazando el valor hallado en la ecuación original

$$x^2 - 4 * x + 4 = 0$$

$$2^2 - 4 * 2 + 4 = 0$$

que se cumple por lo tanto  $x=2$  es la solución de nuestra ecuación. También se dice que 2 es la raíz de esta ecuación, expresión que tiene el mismo significado.

Que  $x = 2$  sea la solución de nuestra ecuación implica que si la ecuación fuera una función

$$x^2 - 4 * x + 4 = y$$

esto implicaría que  $y$  sería cero cuando  $x$  toma el valor 2.

Veamos ahora la resolución del mismo problema con R.

### 3.1.2. Resolución con uniroot()

En este ejercicio deseamos conocer qué valor de  $x$  satisface la ecuación

$$x^2 - 4 * x + 4 = 0$$

igualamos a cero si no lo estuviera. Igualamos la expresión a  $y$ , es decir que hemos construido a partir de nuestra ecuación una función donde la incógnita ha pasado a ser la variable independiente.

$$x^2 - 4 * x + 4 = y$$

hemos escrito una función, la que escribiremos en R. Llamaremos `funcionmm31` a nuestra función. No utilizaremos `y` para darle el nombre. De hacerlo estaríamos sobreescribiendo sobre otra función anterior. Una buena forma para no cometer errores será darle a `y` el nombre `funcionmm31`, 3 por la clase y 1 por ser la primer función de esta clase

```
> funcionmm31<-function(x){(x^2-4*x+4)}
```

utilizamos la función `uniroot()`.

```
> uniroot(funcionmm31,c(-10,10))
```

```
Error in uniroot(funcionmm31, c(-10, 10)) :
```

```
f() values at end points not of opposite sign
```

Nos da un mensaje de error. Es que `uniroot()` trabaja cuando el valor de la función en ambos extremos del intervalo sean de signo contrario.

En nuestro caso, si calculamos el valor de la función para los extremos fijados

```
> funcionmm31(-10)
```

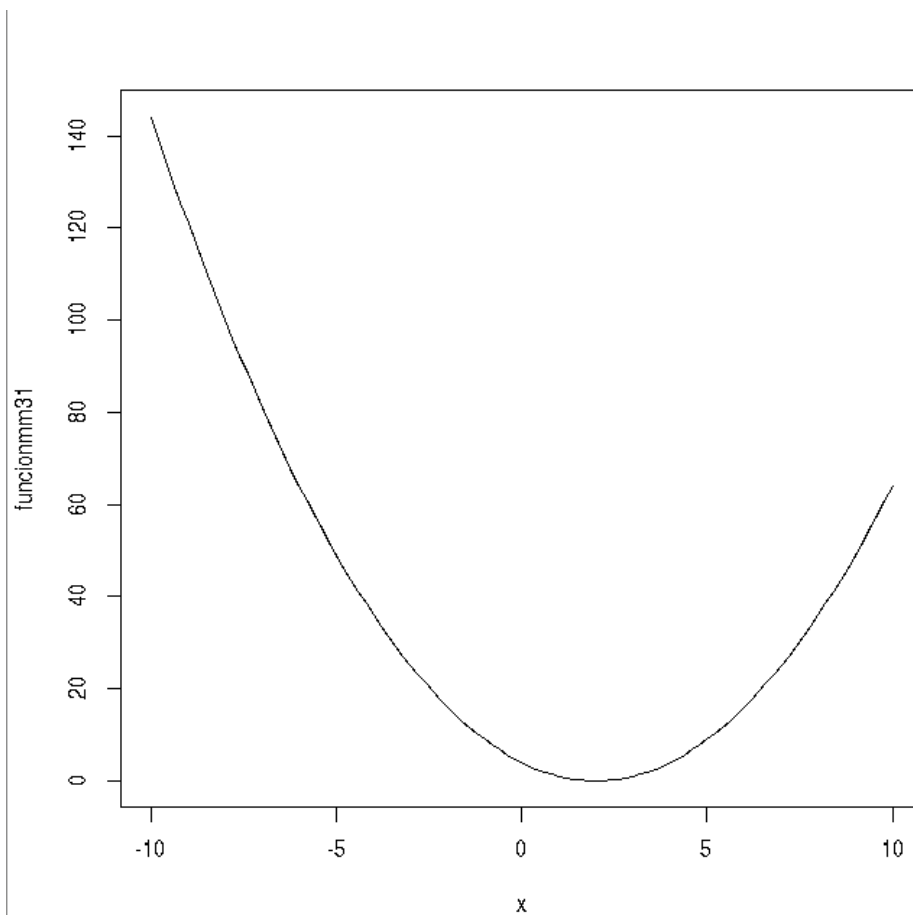
```
[1] 144
```

```
> funcionmm31(10)
```

```
[1] 64
```

vemos que son positivos ambos. Entonces será una limitante de `uniroot()`. Como vimos antes es importante ver el formato de la función, por lo cual lo graficaremos.

```
> plot(funcionmm31,-10,10)
```



vemos que la función siempre es positiva y solo toma el valor cero cuando  $x$  toma el valor 2, que fue la solución hallada manualmente.

Veremos de buscar soluciones a esta situación, pero para ello nos conviene utilizar la función `optim()`

### 3.1.3. Resolución con `optim()`

Definimos primero la función costo que llamaremos `costomm31`. Cuando la escriba en R realice un enter en cada línea.

```
> costomm31<-function(a){
+ c=funcionmm31(a)*funcionmm31(a)
+ Sys.sleep(1)
+ print(c)}
```

```
+ }
```

a es la variable independiente de la función costo. La función `costomm31` genera una variable c que es el producto de la `funcionmm31` consigo misma, con el valor de la variable independiente a.

`Sys.sleep()` y `print ()` ya lo hemos analizado en la clase anterior.

Aplicamos `optim()`, para ello escribimos o copiamos a R la línea de comando siguiente y damos enter. Al ejecutarse `optim()` deberán aparecerle en su pantalla los valores que se indican debajo

```
> optimmm31<-optim(c(a=0.5),fn=costomm31,method="Brent",lower=-10,upper=10,control=list(trace=1))
```

```
[1] 361.5903
```

```
[1] 0.01692338
```

```
[1] 115.5514
```

```
[1] 0.07193092
```

```
[1] 0.03323503
```

```
[1] 0.006703873
```

```
[1] 4.912801
```

```
[1] 0.003039532
```

```
[1] 0.001362624
```

```
[1] 0.04097824
```

```
[1] 0.0005904004
```

```
[1] 0.0002625273
```

```
[1] 7.540517e-05
```

```
[1] 2.540501e-09
```

```
[1] 4.81547e-08
```

```
[1] 1.973804e-10
```

```
[1] 1.78282e-12
```

```
[1] 4.816738e-13
```

```
[1] 3.594678e-16
```

```
[1] 2.710087e-16
```

```
[1] 3.949711e-22
```

```
[1] 4.628862e-22
```

```
[1] 6.389773e-29
```

```
[1] 6.389773e-29
```

```
[1] 0
```

```
[1] 7.888609e-31
```

```
[1] 1.774937e-30
```

```
[1] 0
```

Veamos ahora el valor de la variable a que hace cero la funcionmm31

```
> optimmm31$par
```

```
[1] 2
```

vemos que el valor hallado es 2, coincidente con la resolución manual. Sin duda es el uso de una función costo junto con optim() parece tener menos limitaciones

Veamos un segundo caso

$$x^2 - 4 = 0$$

si resolvemos manualmente utilizando la fórmula resolvente nos dará dos valores: 2 y -2.

Veamos la resolución con uniroot(). Planteamos la función

```
> funcionmm32<-function(x){x^2-4}
```

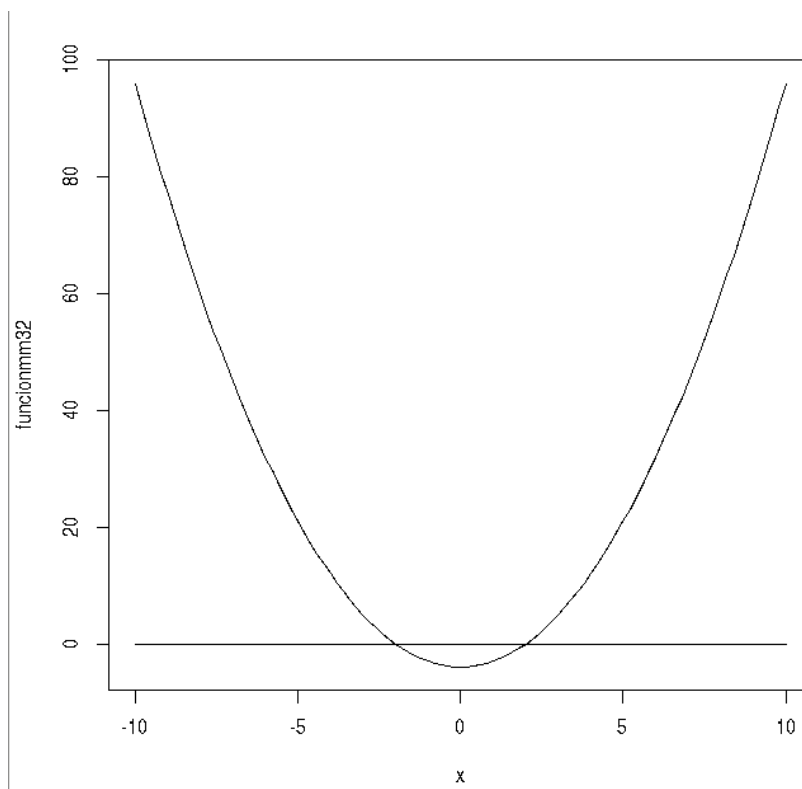
vemos su gráfica, que para ver mejor si la ecuación tiene solución trazaremos una línea horizontal a la altura del cero. Si esta línea corta a la gráfica es porque tiene solución

```
> plot(funcionmm32,-10,10)
```

Con el código anterior veremos una gráfica que no nos permitirá decidir si la función corta al eje x. Para visualizar esta línea, aplicaremos el código para trazar la línea usa la función segments(), en el que se dan cuatro números, que en orden son x del origen del segmento, y del origen del segmento, x del final del segmento, y del final del segmento. Nosotros queremos un segmento que se extienda desde el punto (-10,0) hasta el punto (10,0)

```
> segments(-10,0,10,0)
```

la gráfica obtenida es



que nos garantiza que tiene dos resultados. Como podemos ver la función corta al segmento en un valor que está entre -10 y 0 y también lo corta entre 0 y 10. Para aplicar `uniroot()` necesito un intervalo donde la gráfica tenga signo contrario en los extremos. Aplicamos entonces `uniroot()` para la `funcionmm32` con los intervalos `[-10,0]` y `[0, 10]`, en forma independiente en búsqueda de ambas soluciones. Por supuesto podrían ser otros intervalos siempre y cuando la función en los extremos tenga signo diferente. En primer lugar buscamos la raíz en el intervalo `[-10,0]`

```
> uniroot(funcionmm32,c(-10,0))
```

```
$root
```

```
[1] -1.99998
```

```
$f.root
```

```
[1] -7.957257e-05
```

```
$iter
```

```
[1] 9
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 6.103516e-05
```

Ahora buscamos la segunda solución de la ecuación en el intervalo [0,10]

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10))
```

```
$root
```

```
[1] 1.99998
```

```
$f.root
```

```
[1] -7.957257e-05
```

```
$iter
```

```
[1] 9
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 6.103516e-05
```

Como ya hemos visto

\$root, nos indica el valor de la variable  $x$  que satisface la ecuación. Es decir la solución al problema. En este caso el valor fue: 1.99998

\$f.root nos da el valor que obtendríamos si el valor \$root hallado lo reemplazáramos en la ecuación, que obviamente debe ser un valor muy cercano a cero, como lo comprobamos acá.

vemos que los dos resultados hallados son -1,99998 y 1,99998.

Veamos un nuevo parámetro de la función uniroot(). Nos referimos al parámetro tol, que indicará la exactitud en el cálculo, cuanto más pequeño sea el valor de tol, mas preciso será el cálculo. Uno podría pensar que poner un valor de tol muy pequeño estaría bien siempre, pero puede ocurrir que requiera gran cantidad de ciclos de cálculo y requiera mucho tiempo de cálculo o el número de iteraciones supere el máximo de 1000 que es valor por defecto. Veamos el cálculo con tres tolerancias. Sabemos por el calculo manual, que es exacto que el valor es 2 para una de las soluciones. Probaremos tol=0.1, tol=0.01 y 0.001. En base a lo expuesto a valores de tolerancia menor deberíamos obtener valores cada vez más cercanos a -2 o 2.

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.1)
```

```
$root
```

```
[1] 1.985069
```

```
$f.root
```

```
[1] -0.05950281
```

```
$iter
```

```
[1] 7
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 0.05
```

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.01)
```

```
$root
```

```
[1] 1.997712
```

```
$f.root
```

```
[1] -0.009145423
```

```
$iter
```

```
[1] 8
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 0.005
```

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.001)
```

```
$root
```

```
[1] 1.99998
```

```
$f.root
```

```
[1] -7.957257e-05
```

```
$iter
```

```
[1] 9
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 5e-04
```

vemos que hemos obtenido en cada caso valores de la solución más cercano al valor 2 al hacer más pequeña la tol, sin embargo si observa los resultados verá que requirió 7, 8 y 9 iteraciones para hallar la solución. Se reitera que en un problema sencillo como el planteado no es problema el número de iteraciones, pero en problemas más complejos podría ser una limitante para la resolución o bien para el tiempo disponible para hacerlo.

En este caso si fijamos tol en el valor 0.0001, obtendríamos

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.0001)
```

```
$root
```

```
[1] 2
```

```
$f.root
```

```
[1] 7.882743e-10
```

```
$iter
```

```
[1] 10
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 5e-06
```

Como podemos ver nos dio el valor exacto, especialmente por la sencillez de la ecuación utilizada que permite una solución en cortos tiempos de calculo.

Fijaremos ahora el número de iteraciones realizados por uniroot() para obtener la solución, cosa que haremos con una tolerancia tol=0.001. En este caso fijamos como máximo 8 iteraciones. Cuando haya alcanzado ese número o antes si ya alcanzó la exactitud fijada por tol, obtendremos el resultado

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.001,maxiter=8)
```

```
$root
```

```
[1] 2.00048
```

```
$f.root
```

```
[1] 0.001920658
```

```
$iter
```

```
[1] 8
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 5e-04
```

Warning message:

```
In uniroot(funcionmm32, c(0, 10), tol = 0.001, maxiter = 8) :
```

```
  _NOT_ converged in 8 iterations
```

Como podemos ver de la salida hallamos un resultado cercano a 2, pero R nos avisa con un "warning message" que no se ha alcanzado la tolerancia pedida con 8 iteraciones.

Probemos con maxiter=10

```
> uniroot(funcionmm32,c(0,10),tol=0.001,maxiter=10)
```

```
$root
```

```
[1] 1.99998
```

```
$f.root
```

```
[1] -7.957257e-05
```

```
$iter
```

```
[1] 9
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 5e-04
```

no nos apareció ningún warning message ya que en 9 iteraciones ya se había alcanzado la tolerancia pedida.

## 3.2. La función logaritmo

Recordemos definición y las propiedades de logaritmo que serán de utilidad en transformaciones que puedan realizarse en un futuro.

El logaritmo de un número  $a$  en una base  $b$ , es igual a otro número  $c$ , tal que  $b$  elevado al número  $c$ , da por resultado  $a$ . Como podemos observar en la siguiente ecuación:

$$\log_b a = c \rightarrow b^c = a$$

Veamos un ejemplo

$$\log_2 8$$

Se lee logaritmo del número 8 en la base 2. Esto debe dar un número, tal que 2 elevado a este número debe dar 8. Por lo tanto el resultado debe ser 3

$$\log_2 8 = 3$$

ya que

$$2^3 = 8$$

La base puede ser cualquier número real positivo, aunque utilizaremos 10, 2 y el número  $e$ , como las más habituales.

### 3.2.1. Propiedades de la función logaritmo

Propiedad 1: el logaritmo de un producto es igual a la suma de los logaritmos

$$\log(a * b) = \log a + \log b$$

Propiedad 2: el logaritmo de un cociente es igual a la resta de los logaritmos

$$\log\left(\frac{a}{b}\right) = \log a - \log b$$

Propiedad 3: el logaritmo de una potencia es igual al exponente multiplicado por el logaritmo de la base

$$\log(a^b) = b * \log a$$

recordemos que una raíz puede expresarse como potencia, por lo tanto no necesitamos una regla para logaritmo de raíces. Por ejemplo la raíz cuadrada de un número  $a$  puede expresarse como el número  $a$  elevado al valor  $1/2$

$$\sqrt{a} = a^{(1/2)}$$

Propiedad 4: el logaritmo de una suma o una resta sigue siendo lo mismo.

$$\log(a + b) = \log(a + b)$$

En otras palabras el log no es distributivo con respecto a suma o resta.

realizamos un ejercicio de aplicación de logaritmo. En el ejemplo siguiente tenemos el logaritmo de un producto entre  $a^x$  y  $(10+b)$

$$\log a^x(10+b)$$

El resultado de aplicar las propiedades estudiadas es

$$x \cdot \log a + \log(10+b)$$

### 3.2.2. Cálculos de logaritmo con R

Veamos como calcular con R si deseamos obtener el resultado del logaritmo de 1000 en base 10, que escribimos

```
log10(1000)
```

en R se escribe

```
> log(1000,10)
```

```
[1] 3
```

Se utiliza la función `log()`, indicando primero el número al que le quiero sacar el logaritmo, separado por una coma se coloca el valor de la base.

también podríamos utilizar el código equivalente, expresando el valor de la base a continuación de la función `log` y dentro del paréntesis el número al que le queremos hallar el logaritmo

```
> log10(1000)
```

```
[1] 3
```

en el caso que la base sea el número  $e$ , este número se expresará como `exp(1)`

```
> log(10,exp(1))
```

```
[1] 2.302585
```

Ejercicios

A continuación se presentan varios ejercicios en los que se debe hallar el o los valores de  $x$  que verifican las siguientes ecuaciones:

1) Ecuaciones de 2º grado con una incógnita (cuadráticas)

Hallar el o los valores de  $x$  que verifican las siguientes ecuaciones:

a-  $-2x^2 = 4x + 1$

b-  $x^2 - 1 = 0$

c-  $x^2 - 2x = 0$

2) aplicar propiedades del logaritmo

a-  $\log_{10} \frac{100^3 \sqrt{1000}}{10}$

b-  $\ln \frac{e^4 \sqrt{e} 2e}{e + e^3}$

3) resolver los siguientes logaritmos

a-  $\log_{10} 5$

b-  $\log_2 23$

c-  $\log_6 8$

## 4. Clase 4

### 4.1. Ecuaciones exponenciales

Las ecuaciones exponenciales son igualdades donde existe una variable a que llamamos habitualmente incógnita y la misma se halla como exponente. La resolución puede hacerse manualmente o bien con el uso de software. Si bien la resolución manual puede ser en este caso más sencilla, recomendamos el uso de software de manera de ir sumando herramientas.

#### 4.1.1. Resolución algebraica

Resolveremos la ecuación siguiente. Es decir intentaremos hallar el valor de  $x$  que hace que la igualdad se cumpla.

$$2000 = 200 + e^{3x}$$

despejamos  $x$

$$1800 = e^{3x}$$

aplicamos logaritmo en base  $e$  a ambos miembros

$$\log(1800, \exp(1)) = \log(e^{3x}, \exp(1))$$

calculamos el logaritmo de la izquierda con R y aplicamos propiedad del logaritmo de una potencia a la derecha.

```
> log(1800,exp(1))
```

```
[1] 7.495542
```

$$7.495542 = 3 \cdot x \cdot \log(e)$$

el logaritmo de la base es 1 por definición de logaritmo

$$7.495542 = 3 \cdot x$$

entonces

$$x = 7.495542 / 3 = 2.498514$$

este valor de  $x$  es la solución de nuestra ecuación, es decir es el valor que reemplazado en la ecuación original, cumple con la igualdad

Veamos ahora la resolución del mismo problema con R

#### 4.1.2. Gráfica de una función exponencial

Para graficar una función exponencial, como siempre debemos introducir primeramente la función.

Si trabajamos con la ecuación

$$2000 = 200 + e^{3x}$$

podemos transformar la ecuación en función

$$y = -1800 + \exp(3x)$$

creamos la función

```
> funcionmm41<-function(x){-1800+exp(3*x)}
```

graficamos la función

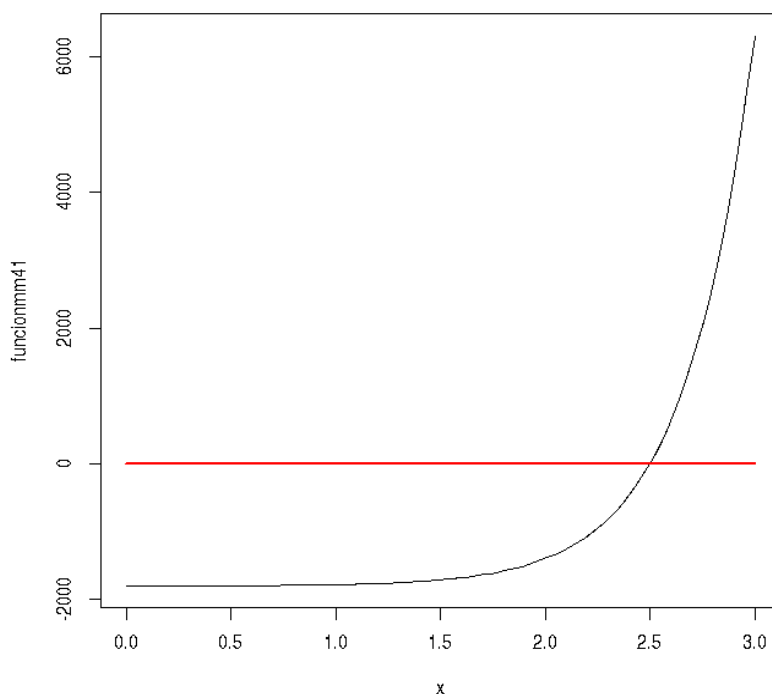
```
> plot(funcionmm41)
```

y acotamos el eje x a valores de la función a un intervalo que contenga números positivos y negativos

```
> plot(funcionmm41,0,3)
```

para asegurarnos que en la gráfica vemos la solución colocamos un segmento en  $y=0$

```
> segments(0,0,3,0,lwd=2,col="red")
```



como podemos ver el segmento se corta con la función, lo que nos indica que en un intervalo  $[2,3]$ , está la solución de nuestro problema.

### 4.1.3. Resolución con optim()

Definimos primero la función costo que llamaremos `costomm41`. Cuando la escriba en R realice un enter en cada línea.

```
> costomm41<-function(a){
+ c=funcionmm41(a)*funcionmm41(a)
+ Sys.sleep(1)
+ print(c)
+ }
```

`a` es la variable independiente de la función costo. La función `costomm41` genera una variable `c` que es el producto de la `funcionmm41` consigo misma, con el valor de la variable independiente `a`.

`Sys.sleep()` y `print ()` ya lo hemos analizado en la clase anterior.

Aplicamos `optim()`

```
> optimmm41<-
optim(c(a=2.5),fn=costomm41,method="Brent",lower=2,upper=3,control=list(trace=1))
[1] 282077.5
[1] 602611.4
[1] 962168.4
[1] 44591.38
[1] 14017.94
[1] 32113.37
[1] 91.85125
[1] 34.61014
[1] 0.3153693
[1] 0.000178352
[1] 8.836106e-07
[1] 3.734882e-12
[1] 5.104689e-08
[1] 5.28084e-08
[1] 3.734882e-12
```

buscamos el valor del la variable `a`, que reduce al mínimo el valor del función `costomm41`

```
> optimmm41$par
[1] 2.498514
```

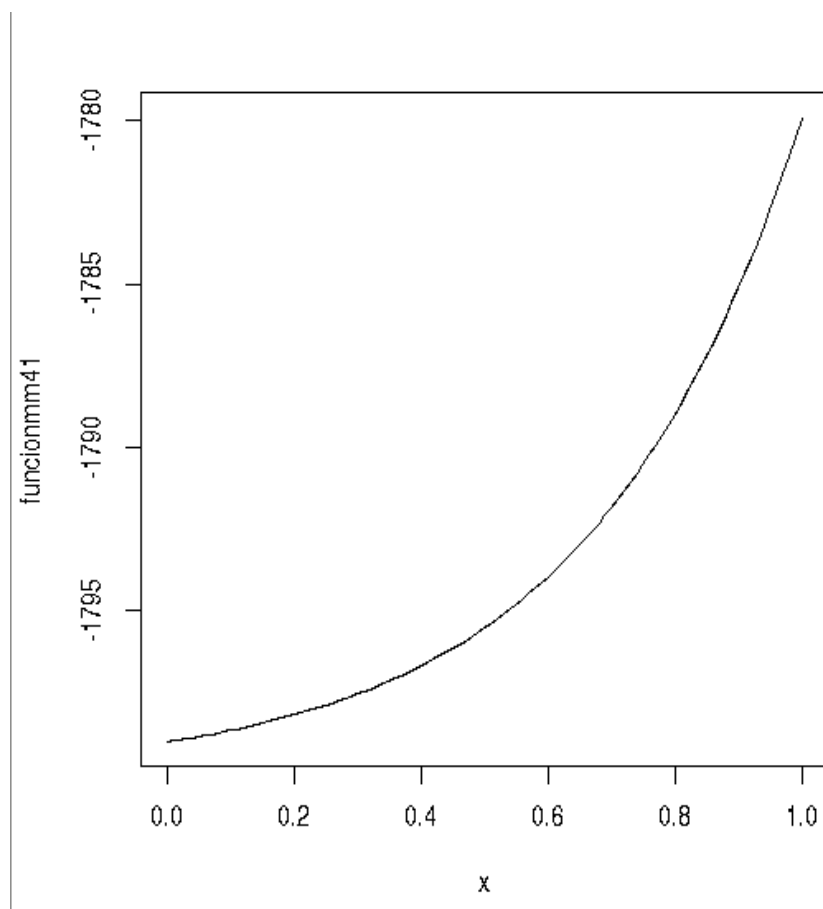
obtuvimos el mismo valor que con la resolución manual. Es obvio que en este caso sigue siendo más fácil el recurso manual, pero la inversión en entender el manejo de `optim()` será retribuido en el futuro.

## 4.2. Argumentos de plot()

Los argumentos de plot, permitirán además de embellecer la función  $y$ , permitir mejores visualizaciones.

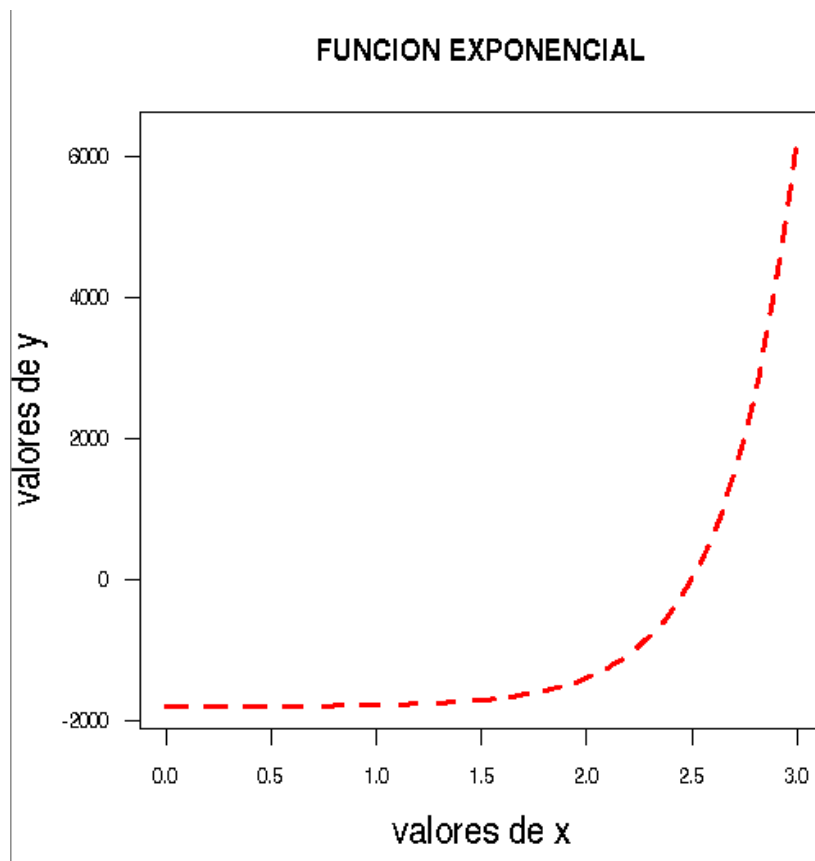
Realizamos plot() de la función funcionmm41

```
> plot(funcionmm41)
```



compare los resultados obtenidos con siguiente código, que solo cambia algunos aspectos estéticos de la gráfica anterior.

```
> plot(funcionmm41,main="FUNCION EXPONENCIAL",las=1,
col="red",lty=2,lwd=3,xlab="valores de x", ylab="valores de
y",cex.axis=0.8,cex.lab=1.5,xlim=c(0,3))
```



para comprender el efecto de cada argumento, cambie o borre uno de ellos y observe el cambio que ocasiona en la gráfica.

### 4.3. Funciones

Una función es una relación entre variables. Las funciones más sencillas tienen dos variables a las que llamamos variable dependiente e independiente

Para que una relación entre variables sea una función, a cada valor de la variable independiente le debe corresponder un único valor de la variable dependiente.

Comenzaremos con funciones de una variable y dentro de estas veremos algunas formas útiles que utilizaremos en modelización de fenómenos biológicos.

Básicamente nos ocuparemos de los siguientes tipos

- 1- función lineal
- 2- función polinómica
- 3- función exponencial
- 4- función logarítmica
- 5- función homográfica

Si bien existen una infinidad de tipos de funciones, estas formas básicas nos serán de gran ayuda.

Veamos los formatos básicos de las expresiones matemáticas y de sus gráfica.

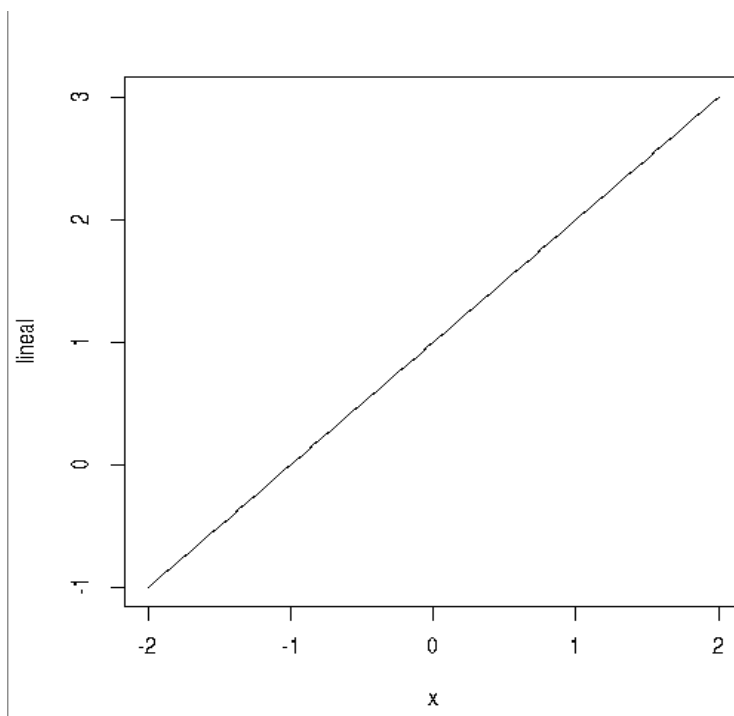
Utilizaremos  $y$  para referirnos a la variable dependiente mientras que  $x$  la utilizaremos para representar la variable independiente. Aunque el nombre dependiente o independiente es arbitrario, la variable independiente es aquella que varía y esa variación se ve reflejada en la variable dependiente. En ciencias biomédicas nos inclinamos a pensar como independiente a aquella variable que fijamos los operadores o bien no podemos controlar, por ejemplo una dosis de un fármaco, el tiempo de tratamiento, los días de vida de un animal de experimentación, etc. Interpretamos a una variable como dependiente cuando es el resultado de una medición, por ejemplo el peso corporal, la presión arterial, etc. Es más, es habitual que la variable dependiente sea inclusive una consecuencia de la independiente, tal es el caso si tomamos a la dependiente como la presión arterial y la independiente a la dosis de una droga hipertensiva.

#### 4.3.1. Función lineal

La función lineal tiene siempre el formato

$$y = m * x + h$$

como definimos  $x$  e  $y$  son las variables independiente y dependiente, respectivamente. Por otra parte  $m$  y  $h$  son los parámetros, donde  $m$  es la pendiente de la función lineal y  $h$  la ordenada al origen. Según el valor de estos parámetros, será el formato de la gráfica. La forma general de la función lineal es una recta, que luego estudiaremos en más detalle.



La gráfica anterior se obtuvo de aplicar el siguiente código:

```
> lineal<-function(x){1+1*x}
> plot(lineal,-2,2)
```

por ejemplo son funciones lineales

$$y=3*x$$

$$y-5 =2*x$$

$$y/x=5$$

Aunque algunas no lo parezcan su reordenamiento nos conduce al formato general de la función

$$y=3*x + 0$$

$$y=2*x +5$$

$$y=5 *x + 0$$

#### 4.3.2. Función polinómica

Esta función presenta una sumatoria de términos donde la variable independiente se halla elevada a una potencia determinada

El formato general es

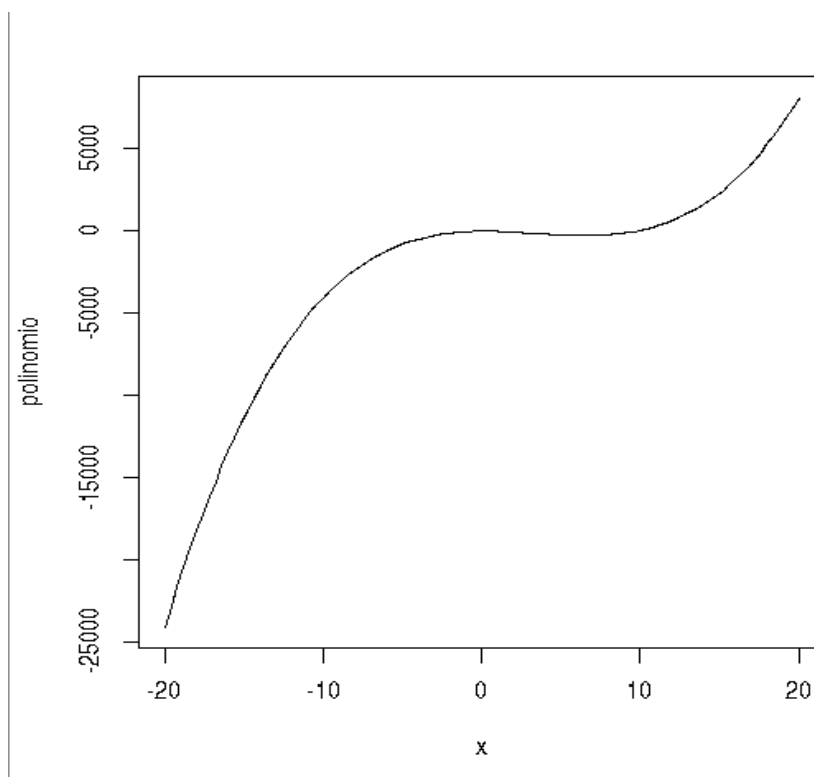
$$y = a_1 * x^n + a_2 * x^{n-1} + a_3 * x^{n-2} + \dots$$

Siendo  $n$  la mayor potencia de  $x$ . Consideramos a  $n$  el valor del grado del polinomio, por ejemplo

$$y = 2 * x^2 + 3x + 3$$

En este caso tenemos un polinomio de segundo grado o cuadrático (porque  $n=2$ ), pero podríamos tener de cualquier orden. Si  $n=1$  entonces el polinomio sería de grado uno, o sea ecuación lineal.

La gráfica siguiente muestra la representación de un polinomio de grado 3



La gráfica anterior se obtuvo de aplicar el código

```
> polinomio<-function(x){2*x^3 -20*x^2+5*x-2}
> plot(polinomio,-20,20)
```

### 4.3.3. Función exponencial

En esta función la variable independiente se encuentra como exponente. Aunque ya la tratamos al principio de esta clase la desarrollaremos brevemente con fines de ordenamiento de los conocimientos. El formato general de la función puede ser variable. Los formatos más comunes de las expresiones matemáticas que enfrentaremos en problemas sencillos de la biología son

$$y = a * e^{(k*x)} + b$$

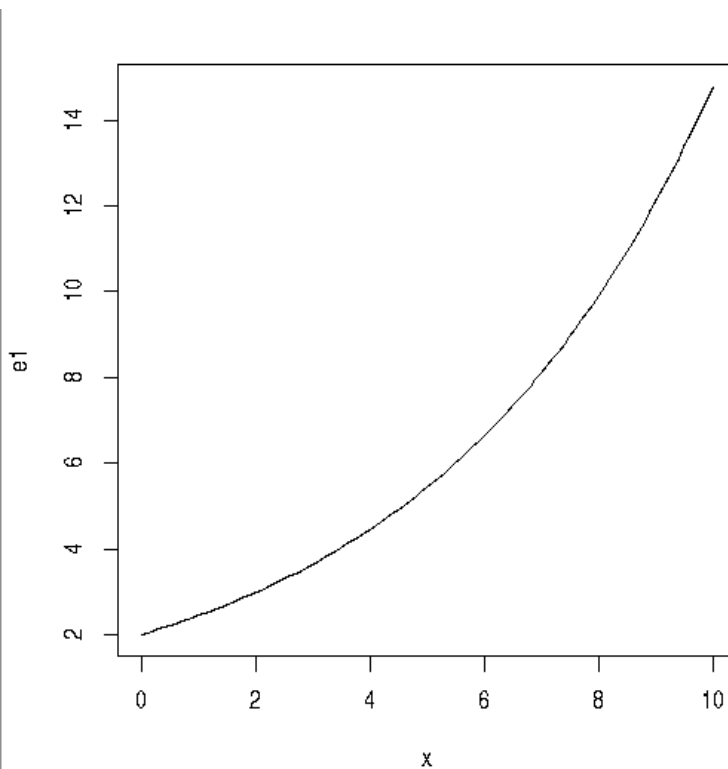
$$y = a * e^{(-k*x)} + b$$

$$y = a * (1 - e^{(-k*x)}) + b$$

Como podemos ver siempre la variable independiente ( $x$ ) está como exponente de un número. Es habitual que la base de la potencia sea el número  $e$ .

Para cada una de las ecuaciones mostradas tendremos gráficas características que mostramos a continuación a modo de introducción

$$y = a * e^{(k*x)} + b$$



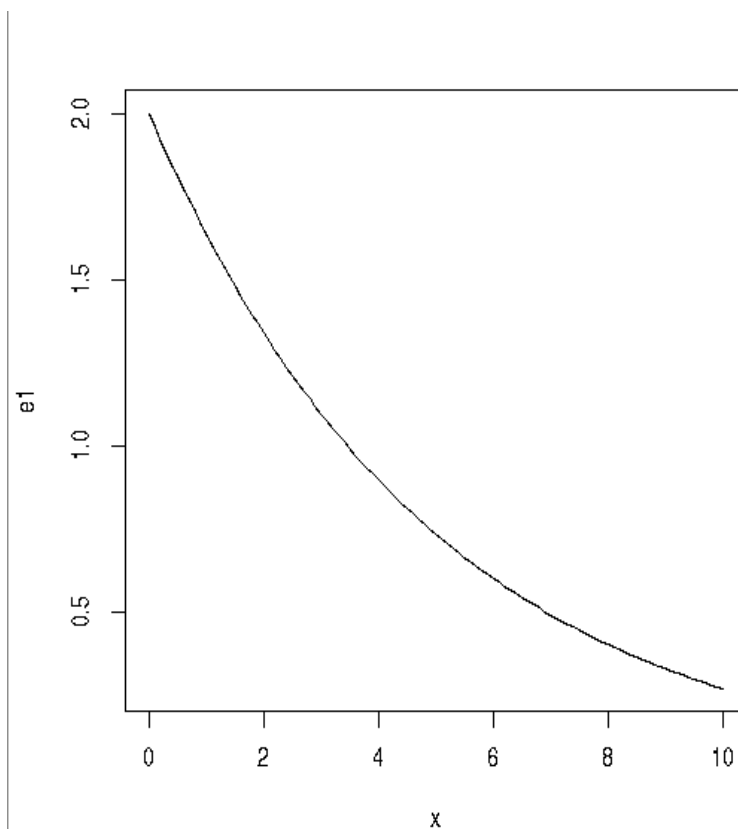
La gráfica anterior se obtuvo de aplicar el código

```
> e1<-function(x){2*exp(0.2*x)}  
> plot(e1,0,10)
```

Esta función sirve para describir procesos en los cuales la variable dependiente se incrementa al aumentar los valores de la variable independiente. El crecimiento de bacterias es un caso al que sería aplicable.

Otra forma general común de la función exponencial es

$$y = a * e^{(-k*x)} + b$$



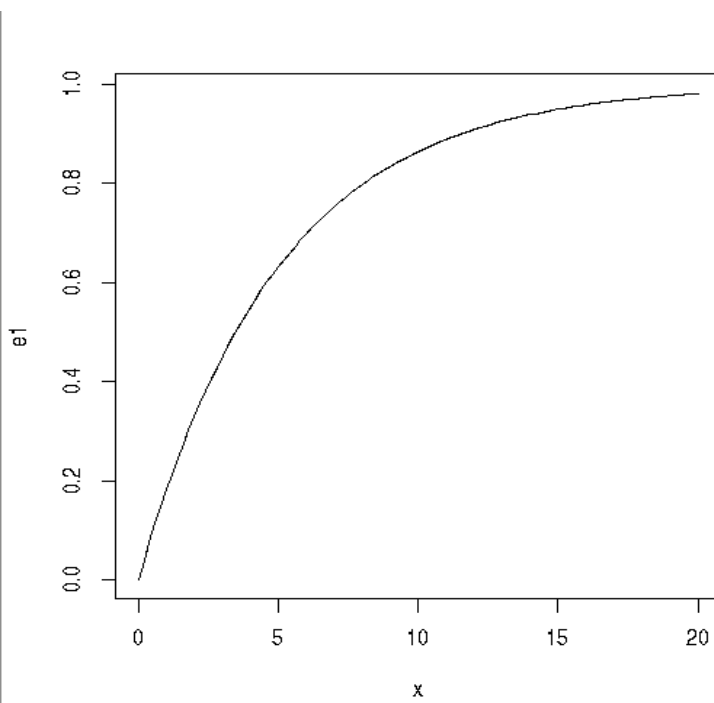
la gráfica anterior se obtuvo de aplicar el siguiente código

```
> e1<-function(x){2*exp(-0.2*x)}  
> plot(e1,0,10)
```

Esta función es aplicable a procesos en que la variable dependiente decrece a medida que cambia la independiente. Tal es el caso del decaimiento de la concentración de una droga en sangre luego de su administración.

Otro formato común de la función exponencial

$$y = a * (1 - e^{(-k*x)}) + b$$



la gráfica anterior se obtuvo de aplicar los siguientes códigos

```
> e1<-function(x){1-exp(-0.2*x)}
> plot(e1,0,20)
```

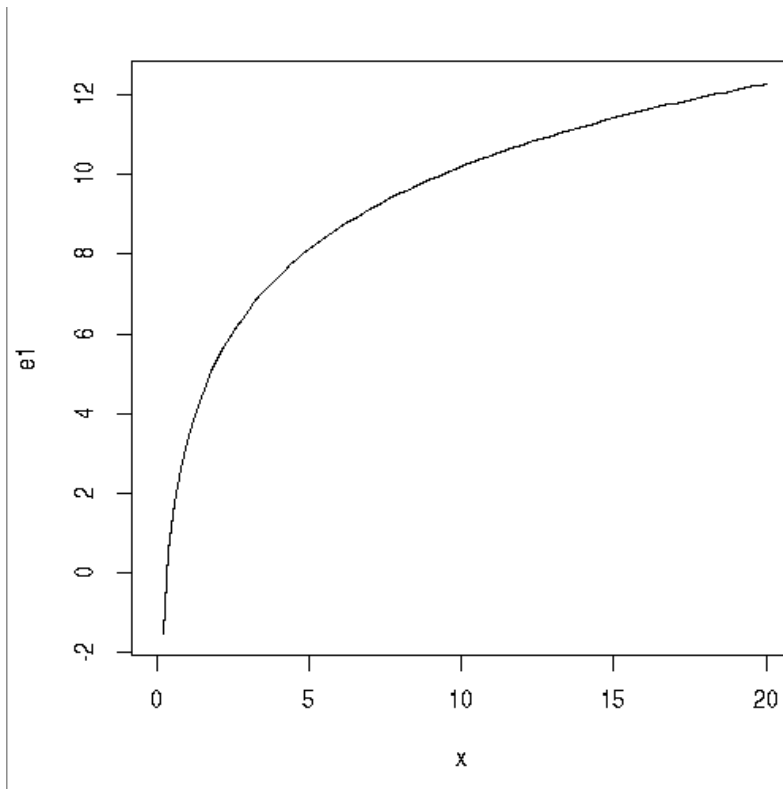
Este tipo de función es aplicable a casos en que el valor de la variable dependiente tiende a una cota o asíntota superior. Tal es el caso de la variación de la concentración sanguínea de una droga durante una infusión continua de la misma.

#### 4.3.4. Función logarítmica

En este tipo de función la variable independiente está afectada por un logaritmo, en la base que resulte necesario o conveniente. El formato general más común es

$$y = a * \log(k * x)$$

Sus gráficas pueden ser variadas de acuerdo a los valores de sus parámetros, pero siempre son curvas.



la gráfica anterior se obtuvo de aplicar el siguiente código

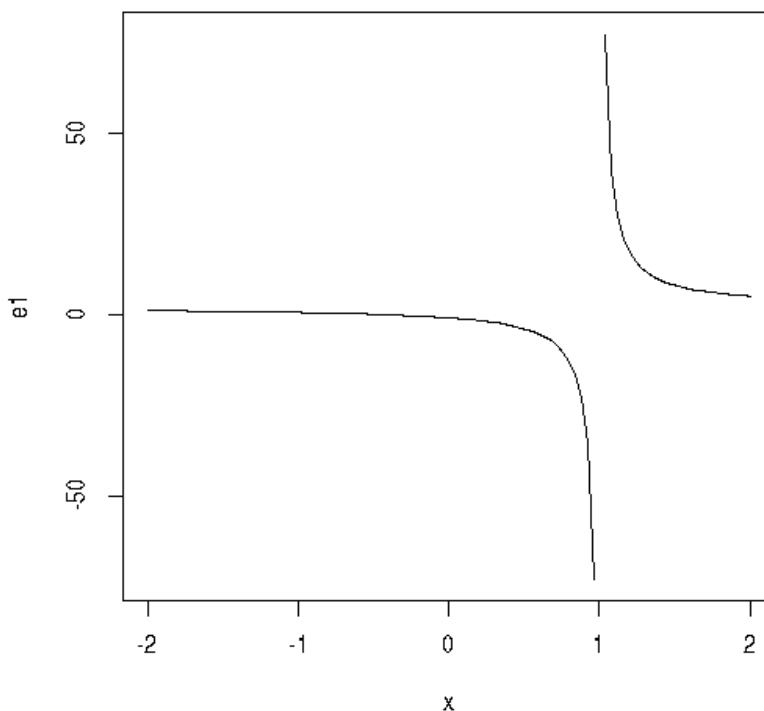
```
> e1<-function(x){3*log(3*x)}
> plot(e1,0,20)
```

#### 4.3.5. Función homográfica

La función homográfica tiene la siguiente forma general

$$y = \frac{(a*x+b)}{(c*x+d)}$$

En general su formato es



gráfica que fue obtenida con el siguiente código

```
> e1<-function(x){(2*x+1)/(x-1)}
> plot(e1,-2,2)
```

Este tipo de gráfica es muy útil en algunos procesos como cuando se estudia la velocidad de una reacción química catalizada por una enzima.

#### 4.4. Graficando nuestros datos

Veremos a continuación cómo podemos graficar nuestros datos. Por supuesto que los datos pueden ser muy variados incluyendo variables cuantitativas y cualitativas, en cantidades que pueden ir de 1 a cientos. Comenzaremos graficando datos que tengan dos variable.

En el ejemplo siguiente tenemos valores de calcemia medidos a diferentes tiempos [0,60 minutos] en tres ratas (a, b, c) luego de la administración intraperitoneal de una droga:

tiempo (minutos)	calcemia (mg/dl)		
	a	b	c
0	10	9.8	10.3

15	7	7.2	6.8
30	8	8.5	8
45	9	8.9	8.8
60	10	10.1	10.6

Intentaremos graficar estos valores. Para ello utilizemos los datos que se hallan en la hoja `tablamm41` de la planilla de cálculo `tablamm4.ods/xls`

Introducimos los datos de la planilla en el espacio de trabajo. Para ello marcamos los datos en la `tablamm41` y escribimos el siguiente código

```
> tablamm41<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding="latin1")
```

damos enter. Así deberían haber ingresado los datos, para comprobar escribimos:

```
> tablamm41
  minutos a   b   c
1     0 10 9.8 10.3
2    15  7 7.2  6.8
3    30  8 8.5  8.0
4    45  9 8.9  8.8
5    60 10 10.1 10.6
```

Graficamos primero los datos de la rata 'a' y fijamos los límites del eje vertical. En este caso tomamos el intervalo [6,11] de manera que todos los valores queden incluidos en la gráfica. Con el argumento `pch` fijamos el tipo de punto y con el argumento `col`, su color. Además nombramos los ejes colocándole los títulos respectivos.

```
plot(tablamm41$minutos,tablamm41$a,ylim=c(6,11),pch=19,col="black",xlab="minutos",
ylab="calcemia,mg/dl")
```

Luego colocamos los puntos correspondientes a las ratas 'b' y 'c'

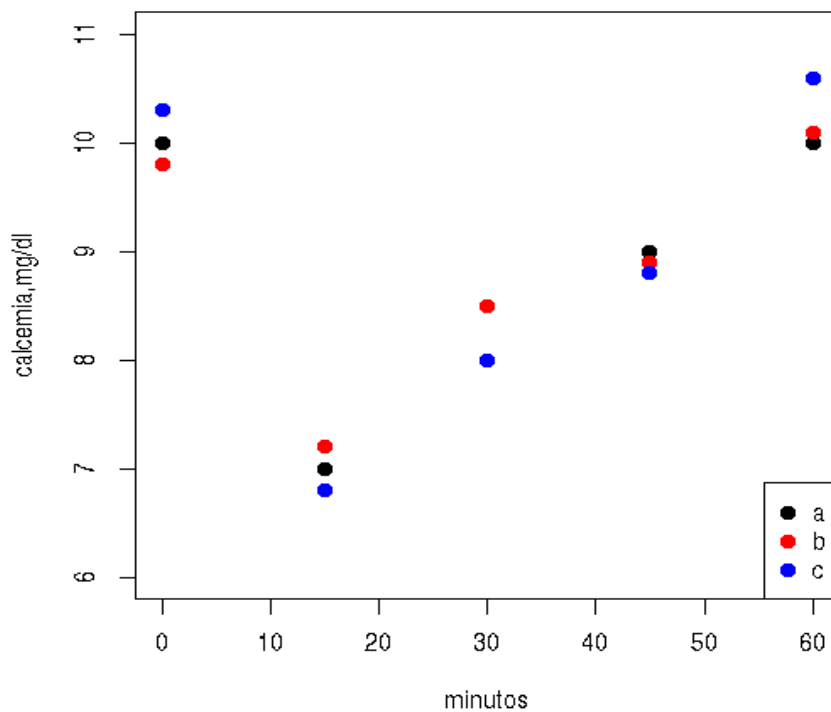
```
> points(tablamm41$minutos,tablamm41$b,pch=19,col="red")
```

```
> points(tablamm41$minutos,tablamm41$c,pch=19,col="blue")
```

y una leyenda para que sepamos cada color a que representa

```
> legend("bottomright",legend=c('a','b','c'),pch=c(19,19,19),col=c('black','red','blue'))
```

el resultado es la gráfica siguiente.



Veamos otro ejemplo. En la tabla siguiente disponemos de datos de criadero del número de crías de hembras durante los meses de noviembre a mayo.

mes	número de crías
noviembre	200
diciembre	250
enero	280
febrero	300
marzo	270
abril	200
mayo	150

Intentaremos graficar dichos datos,

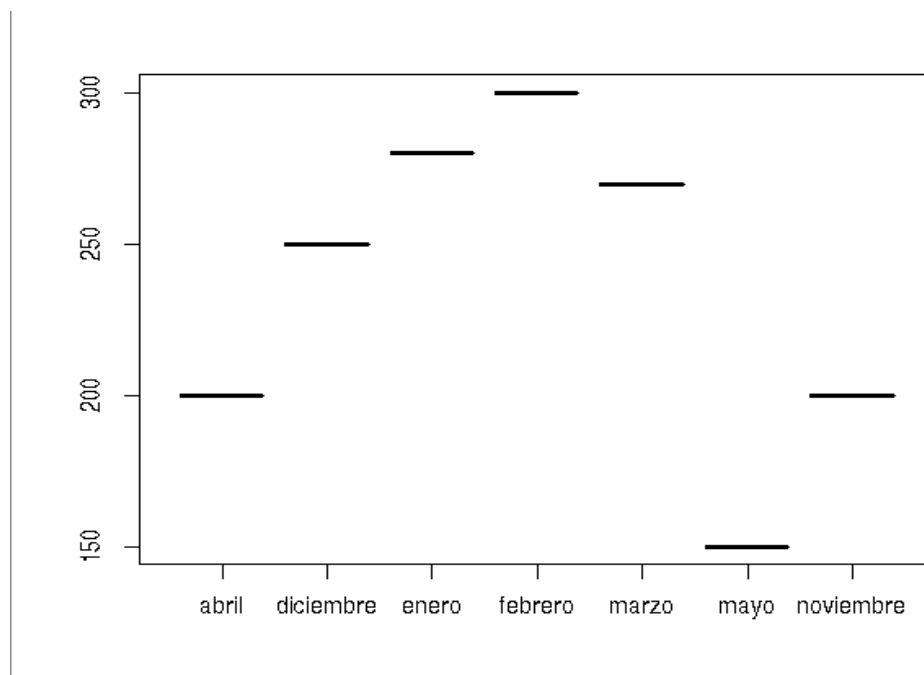
para ello introducimos los datos en nuestro espacio de trabajo. Para ello utilizaremos los

datos de la tabla que se hallan en la hoja tablam42 de la planilla de cálculo tablam4.xls/ods. Primero copiamos la tabla al portapeles. Luego escribimos el siguiente código y daremos enter:

```
> tablam42<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding="latin1")
> tablam42
```

	mes	numerocrías
1	noviembre	200
2	diciembre	250
3	enero	280
4	febrero	300
5	marzo	270
6	abril	200
7	mayo	150

```
> plot(tablam42$mes,tablam42$numerocrías)
```



Obtenemos una gráfica, por cierto rara, pero que nos muestra que el número de crías aumento hasta el mes de febrero y luego decreció.

## 5. Clase 5

### 5.1. Gráficas de funciones

#### 5.1.1. Función lineal

Como ya hemos desarrollado, una función lineal tiene la forma general:

$$y = m * x + h$$

*Ecuación 5.1.*

donde  $m$  es la pendiente y  $h$  la ordenada al origen, y su gráfica es una línea recta.

Interpretación de la pendiente:

a- si  $m > 0$  la función es creciente

b- si  $m < 0$ , la función es decreciente

c- si  $m = 0$  la función es constante, es decir los valores de  $y$  son independientes de la variable independiente.

Interpretación de la ordenada al origen

a- si  $h > 0$  la recta cortará al eje vertical en el valor  $h$  positivo, lo que equivale a decir que pasará por el punto  $(0, h)$ .

b- si  $h < 0$ , la recta cortará al eje vertical en un valor negativo, igual a  $h$ .

c- si  $h = 0$ , la recta pasa por el origen de coordenadas  $(0, 0)$ . Cuando una relación entre dos variables tiene  $h = 0$  se dice que la relación entre las dos variables es directamente proporcional, es decir a incrementos de la variable  $x$  se obtienen incrementos proporcionales de la variable  $y$ .

Veamos algunos ejemplos

$$y = 3 * x + 2$$

*Ecuación 5.2.*

introducimos la función en R

```
> funcionmm51<-function(x){3*x+2}
```

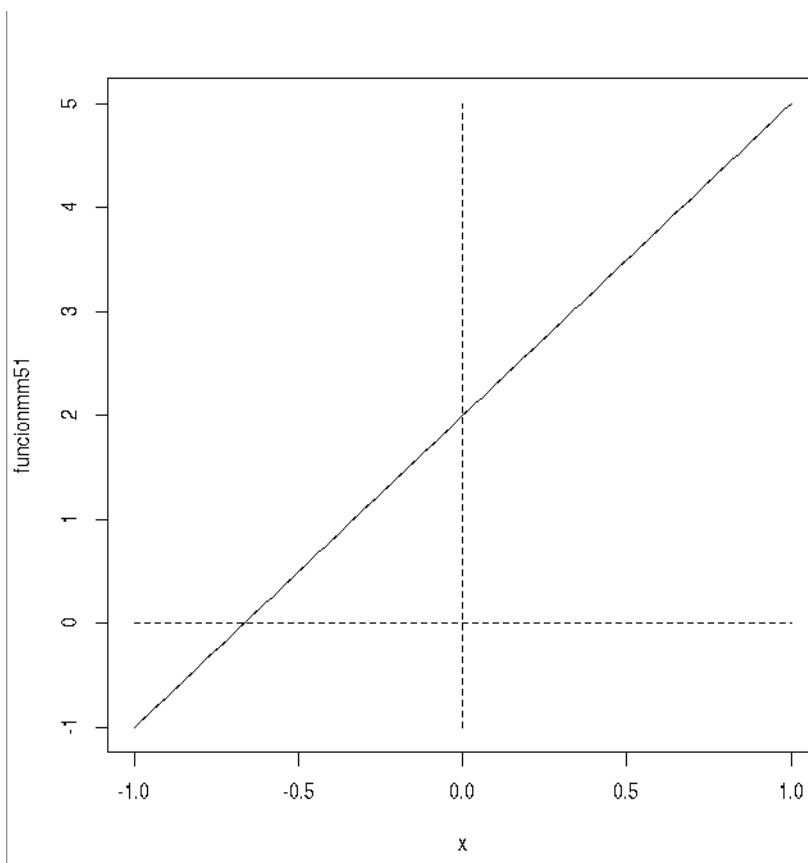
graficamos la función en un intervalo  $[-1, 1]$

```
> plot(funcionmm51,-1,1)
```

le colocamos los ejes

```
> segments(-1,0,1,0,lty=2)
```

```
> segments(0,-1,0,5,lty=2)
```



como podemos verificar la recta es creciente ( $m=3$ ) y corta al eje  $y$  en el valor 2 ( $h=2$ )

Introduzcamos y grafiquemos la función de otro ejemplo

$$y = 2 * x - 1$$

*Ecuación 5.3.*

introducimos la función

```
> funcionmm52<-function(x){2*x-1}
```

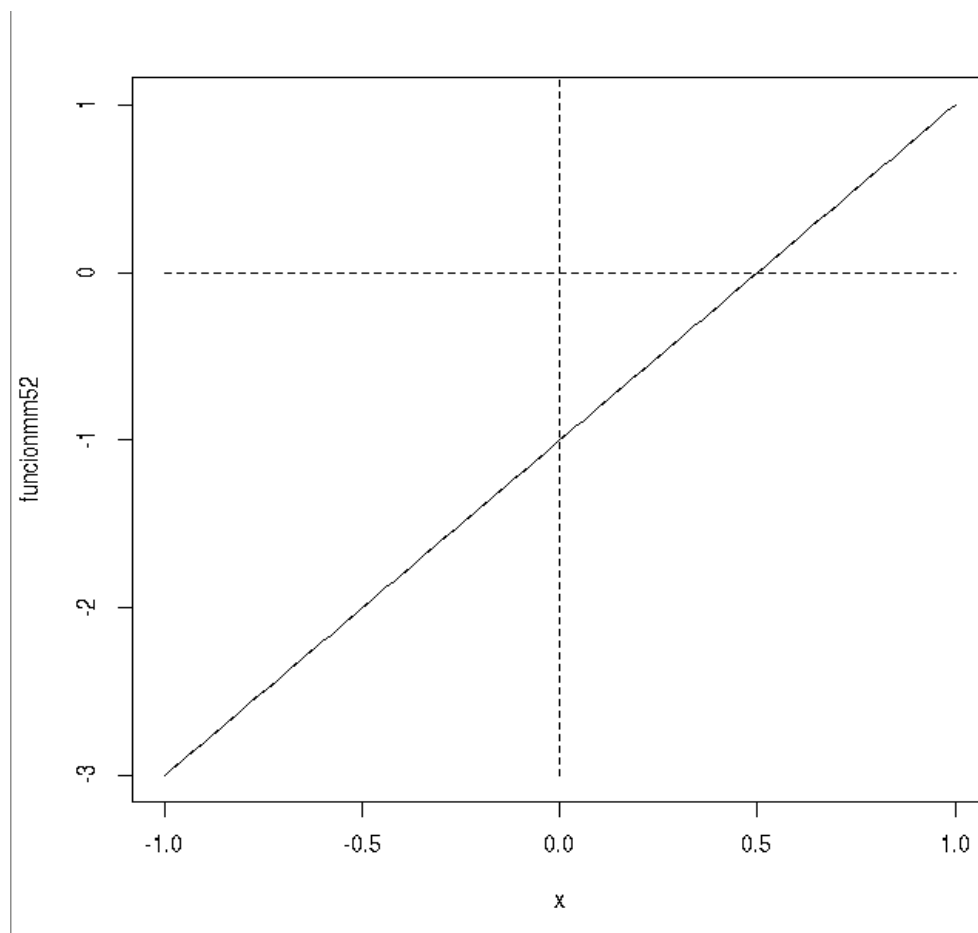
la graficamos en intervalo  $[-1,1]$

```
> plot(funcionmm52,-1,1)
```

colocamos los ejes

```
> segments(-1,0,1,0,lty=2)
```

```
> segments(0,-3,0,13,lty=2)
```



como  $m=2$ , la función es creciente. Por otra parte, corta al eje  $y$  en el valor  $-1$ , esto es coincidente con que su ordenada al origen es  $-1$  ( $h=-1$ ).

### 5.1.2. Graficar dos funciones en un mismo gráfico

Para graficar dos funciones en un mismo gráfico tenemos varios recursos. En este caso utilizaremos el siguiente mecanismo.

1- graficamos una de las funciones

2- introducimos la otra función con las funciones lines() y spline()

Veamos el desarrollo para las dos funciones creadas

funcionmm51 y funcionmm52

primero graficamos una de las funciones en un intervalo de interés, en este caso [-1,1]

```
> plot(funcionmm51,-1,1)
```

colocamos los ejes con la función segments()

```
> segments(-1,0,1,0,lty=2)
```

```
> segments(0,-1,0,6,lty=2)
```

creamos un vector de datos que va desde -1 a 1 a saltos de 0.1. Para esto utilizamos la función seq() que permite crear este tipo de datos

```
> xfit<-seq(-1,1,0.1)
```

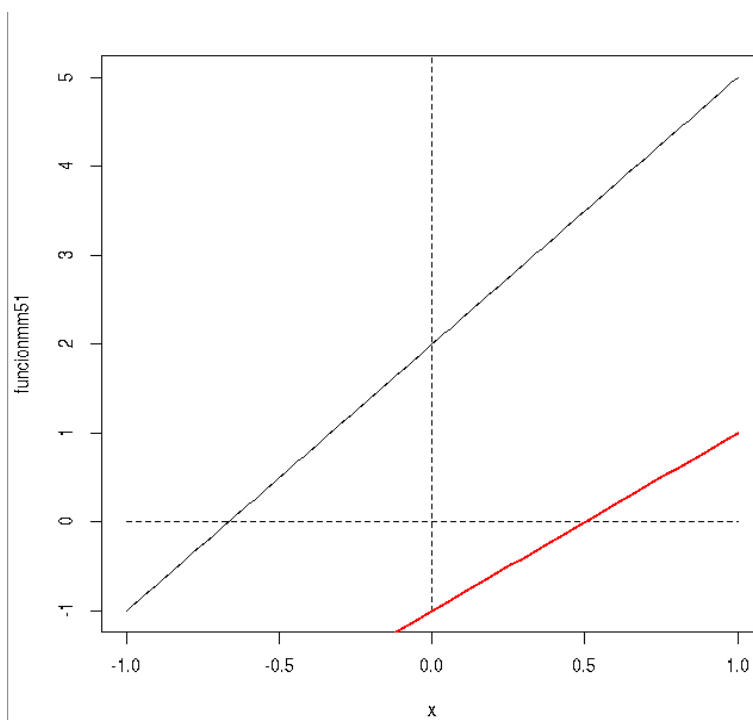
creamos otro vector utilizando la función funcionmm52 con los datos del vector xfit. Es decir hallamos valores de la funcionmm52 para los valores del vector xfit. Así tendremos pares de puntos ( $x,y$ ) que representan la funcionmm52

```
> yfit<-funcionmm52(xfit)
```

con las funciones lines() y spline() graficamos estos pares de datos en grosor 2 y color rojo

```
> lines(spline(xfit,yfit),lwd=2,col='red')
```

el resultado que obtenemos es



La funcionmm51 (en negro) tiene mayor inclinación que la funcionmm51 (en rojo). Esto está determinado por los valores de las pendientes: 3 y 2, respectivamente. Además una corta al eje vertical en el valor +2 y la otra en -1, como lo indican sus ordenadas al origen.

Grafiquemos ahora una función con pendiente negativa

$$y = -5x + 1$$

*Ecuación 5.4.*

La introducimos en R

```
> funcionmm53<-function(x){-5*x+1}
```

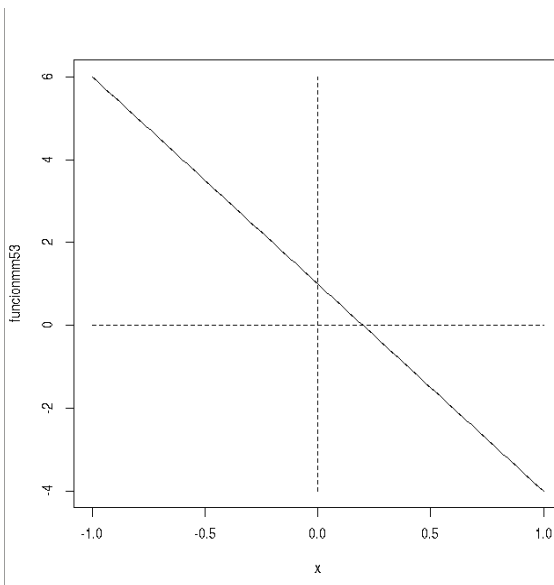
graficamos. El intervalo [-1,1] es arbitrario aunque adecuado y conveniente para ver lo que deseamos

```
> plot(funcionmm53,-1,1)
```

colocamos los ejes x e y para mejor visualización. Los límites de los segments() lo elegimos mirando a que valores ha llegado la gráfica obtenida recientemente con plot()

```
> segments(-1,0,1,0,lty=2)
```

```
> segments(0,-4,0,6,lty=2)
```



Se ve con claridad nuevamente el significado de la ordenada al origen y la pendiente.

### 5.1.3. Función homográfica

Ya hemos definido la función homográfica con su forma general

$$y = \frac{a \cdot x + b}{c \cdot x + d}$$

esta función no está definida para el valor de  $x$  que hace  $c \cdot x + d = 0$ , ya que en ese valor el divisor toma el valor cero y no se halla definido en los reales (dominio en el cual se definen las funciones).

Esta función tiene dos asíntotas, es decir valores en los que la función no va a existir. Una asíntota vertical (paralela al eje  $y$ ) que se halla en el valor de  $x$  para el cual el denominador toma el valor 0. Ese valor de  $x$  surge de resolver

$$c \cdot x + d = 0$$

de donde resulta

$$x = -\frac{d}{c}$$

Además tiene una asíntota horizontal (paralela al eje  $x$ ) en el valor

$$y = \frac{a}{c}$$

Donde no existe en el codominio ese valor de  $y$ , o sea  $y$  nunca va a tomar ese valor de función.

Veamos algunos formatos de funciones homográficas.

Ejemplo 1

$$y = \frac{2 \cdot x}{2 \cdot x + 4}$$

según hemos visto esta función tendría las asíntotas en los valores

$$x = -\frac{4}{2} = -2, \text{ que es la asíntota vertical, es decir una recta vertical que se halla en } x = -2$$

$$y = \frac{2}{2} = 1, \text{ que es la asíntota horizontal, es decir una recta horizontal que corta al eje } y \text{ en}$$

el valor 1.

La gráfica de la función no podrá cortar estas rectas. A continuación desarrollamos como graficar esta función y sus asíntotas, que por supuesto usa los mismos recursos que desarrollamos para la función lineal

Definimos en nuestro espacio de trabajo a la función

```
> funcionmm54 <- function(x){(2*x)/(2*x+4)}
```

la graficamos fijando un intervalo  $[-5,5]$ , pensando un poco en sus asíntotas. Como la asíntota vertical se halla en  $x = -2$ , con el intervalo mencionado la veremos.

```
> plot(funcionmm54,-5,5)
```

colocamos los ejes con línea continua

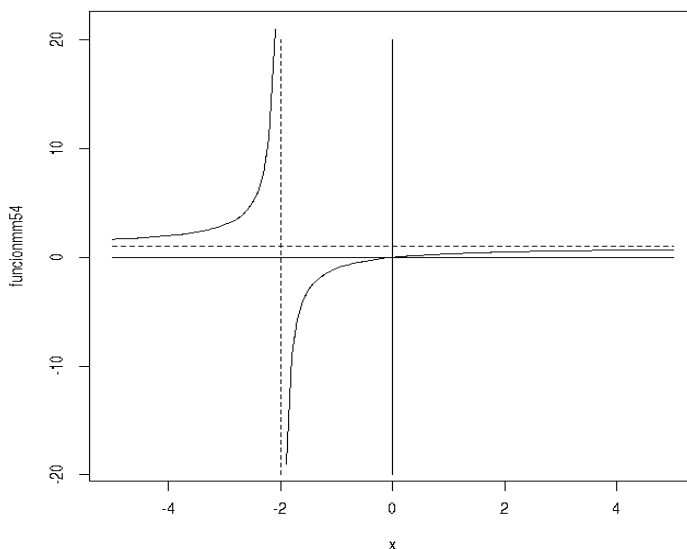
```
> segments(0,-20,0,20,lty=1)
```

```
> segments(-5,0,5,0,lty=1)
```

y las asíntotas con línea de puntos

```
> segments(-2,-20,-2,20,lty=2)
```

```
> segments(-5,1,5,1,lty=2)
```



Esta función es de mucha utilidad en biología ya que representa desde  $x=0$  en adelante un proceso acotado a un valor. Volvamos a graficar en el intervalo  $[0,5]$ , acotando también la gráfica de ejes y asíntotas

```
> plot(funcionmm54,0,5,ylim=c(0,1))
```

fijamos el límite de  $y$  hasta el valor 1, para que podamos ver la asíntota horizontal que está en  $y=1$ .

Graficamos el eje  $x$

```
> segments(-5,0,5,0,lty=1)
```

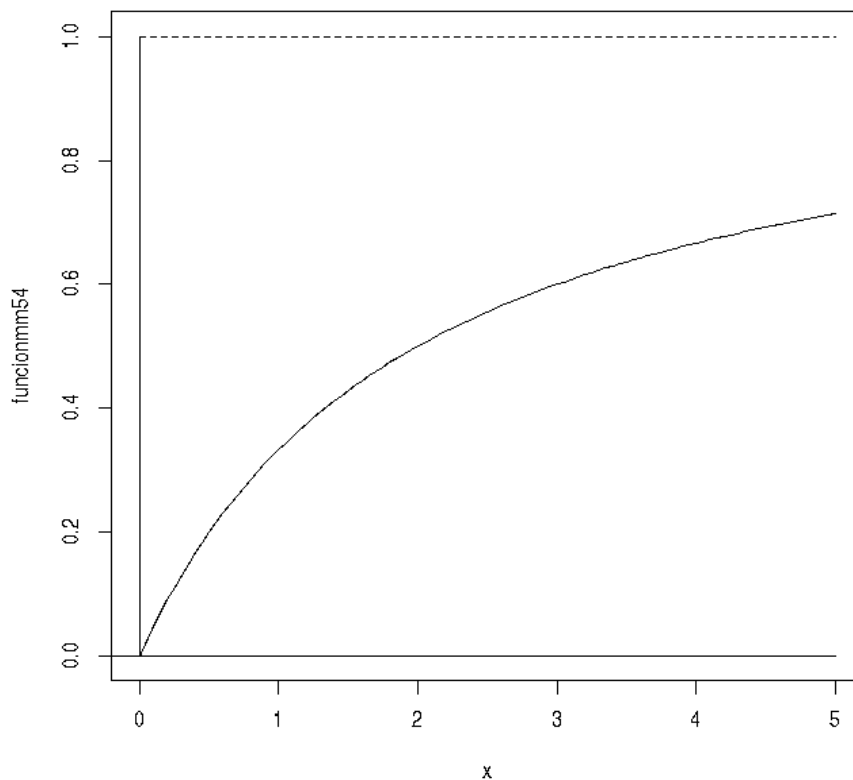
el eje  $y$

```
> segments(0,0,0,1,lty=1)
```

la asíntota horizontal

```
> segments(0,1,5,1,lty=2)
```

no graficamos la vertical ya que nos queda a la izquierda de nuestro intervalo de interés



Como vemos se acota a un valor, que no se ve claramente en la gráfica, pero que es el valor de la asíntota horizontal. Esta función será de interés a la hora de modelizar fenómenos que llegan a un valor máximo por saturación de un proceso, por ejemplo la velocidad de una reacción enzimática al aumentar el sustrato, el flujo de un mecanismo de transporte mediado, etc.

#### 5.1.4. Función polinómica

Las funciones polinómicas son útiles cuando se necesita ajustar una función a una serie de puntos, dado que en general aumentando el grado del polinomio, se logran mejores ajustes. El grado del polinomio será el mayor exponente al que se halla afectado la variable independiente. El dominio de estas funciones son todos los números reales por los que no tendrá la función ningún tipo de asíntota o restricción numérica, al menos desde el punto de vista matemático.

El polinomio siguiente corresponde a uno de grado 2, debido a que el máximo exponente al que está elevado la variable  $x$  es 2. Grafiquemos esta función polinómica de grado 2 o cuadrática

$$y = -4x^2 + 2x - 1$$

la definimos en nuestro espacio de trabajo

```
> funcionmm55<-function(x){-4*x^2 +2*x-1}
```

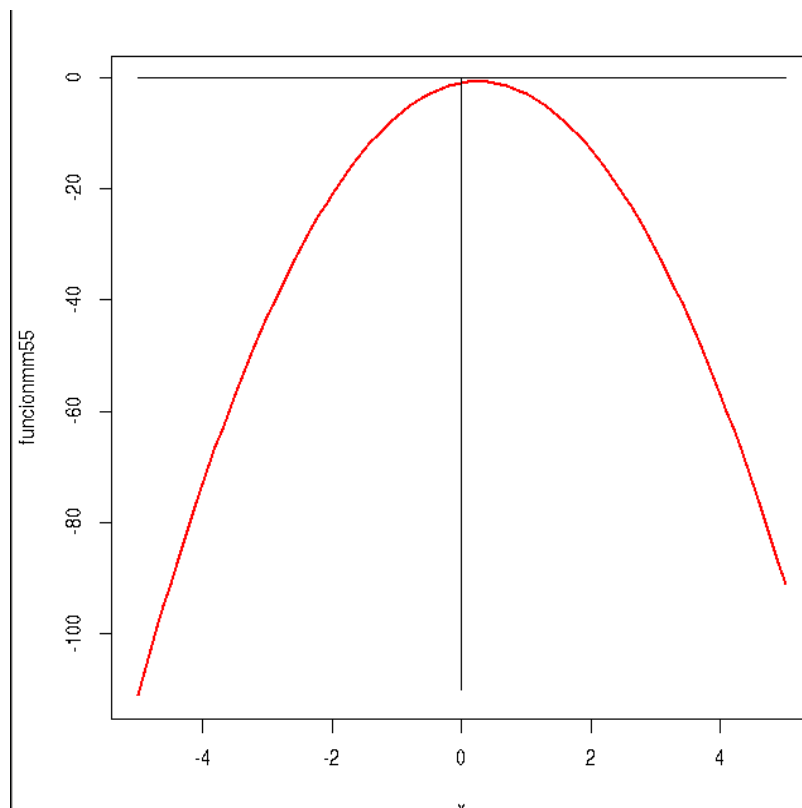
graficamos esta función en un intervalo adecuado. Muchas veces tendrá que hacer unas pruebas para hallar el mejor intervalo de visualización, además le ponemos color para mejor visualización y un mayor grosor de línea

```
> plot(funcionmm55,-5,5,col='red',lwd=2)
```

en base a los límites que nos quedó el gráfico, definimos los ejes, en línea continua

```
> segments(-5,0,5,0,lty=1)
```

```
> segments(0,0,0,-110,lty=1)
```



Grafiquemos a continuación un polinomio de grado 5

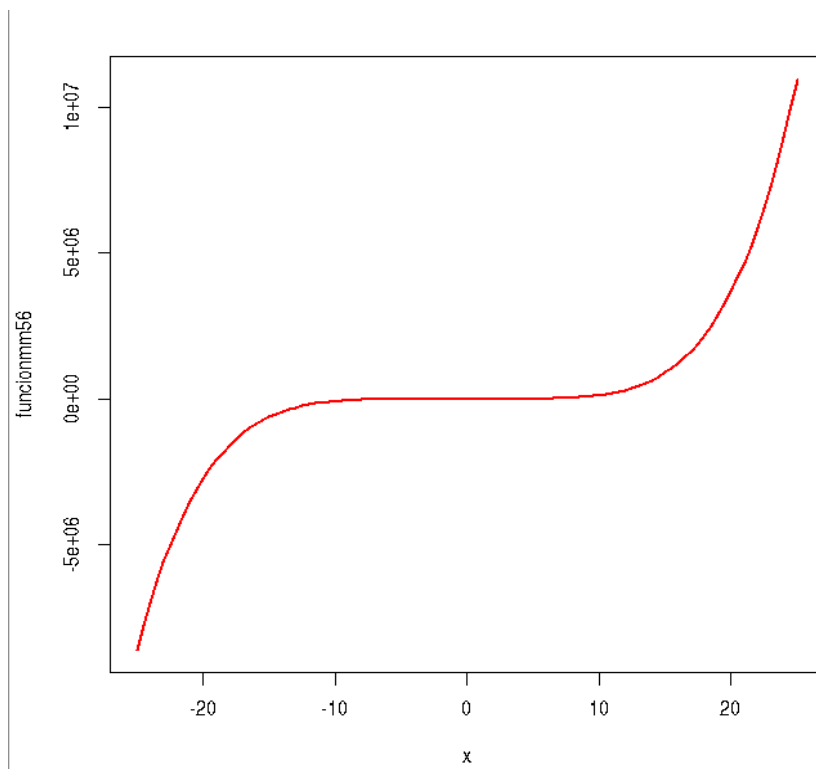
$$y = x^5 + 3x^4 - 4x^2 + 2x - 7$$

la definimos

```
> funcionmm56<-function(x){x ^5 + 3*x^4-4*x^2 +2*x-7}
```

graficamos en un intervalo adecuado.

```
> plot(funcionmm56,-25,25,col='red',lwd=2)
```



Por las diferentes curvaturas que puede tener, reviste cierta utilidad.

### 5.1.5. Función exponencial creciente

La función exponencial es la función más utilizada y que se adapta a la modelización de numerosos procesos biológicos, cuya fundamentación veremos más adelante. Las funciones monoexponenciales, crecientes o decrecientes, así como las multiexponenciales son de muchísima utilidad en la modelización matemática de procesos biológicos. Veremos una de cada una para familiarizarnos con su formato

En primer lugar veremos la función exponencial creciente no acotada.

En estas funciones el exponente tiene signo positivo

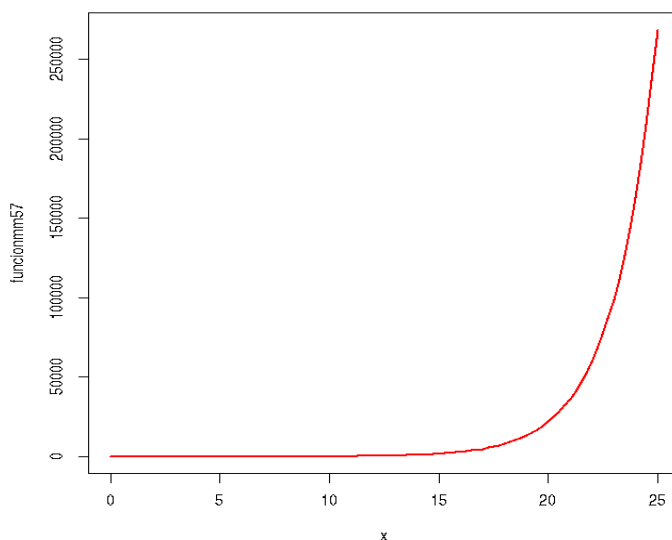
$$y=2+e^{(0.5*x)}$$

la introducimos la función en R

```
> funcionmm57<-function(x){2 + exp(0.5*x)}
```

la graficamos

```
> plot(funcionmm57,0,25,col='red',lwd=2)
```



es ideal para graficar procesos que sufren crecimientos no lineales, como ser la multiplicación de microorganismos en un medio de cultivo.

#### 5.1.6. Exponencial decreciente.

En estas funciones el exponente tiene signo negativo y las gráficas se acotan al valor del término independiente

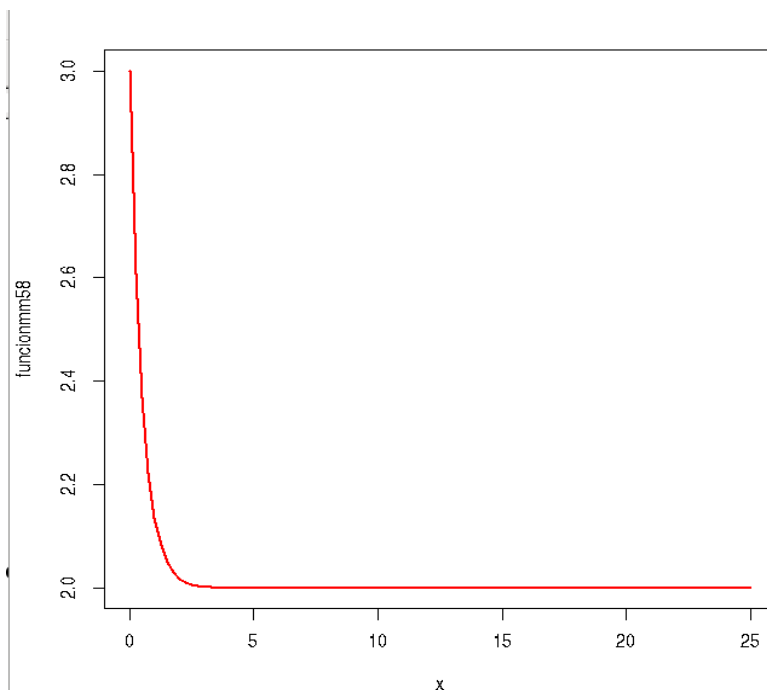
$$y=2+e^{(-2*x)}$$

la introducimos en R

```
> funcionmm58<-function(x){2 + exp(-2*x)}
```

y graficamos para un intervalo positivo

```
> plot(funcionmm58,0,25,col='red',lwd=2)
```



acotaremos más el eje x, al intervalo  $[0,5]$ , de manera de ver con más detalle a la función y a su vez ajustamos el eje y

```
> plot(funcionmm58,0,5,col='red',lwd=2,ylim=c(0,4))
```

colocamos el eje x

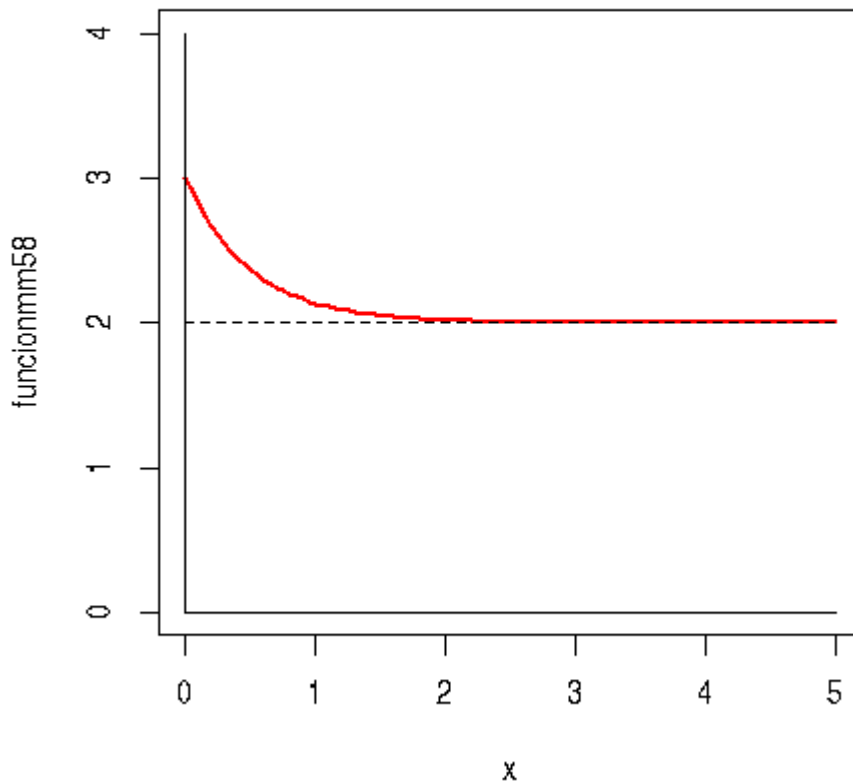
```
> segments(0,0,5,0)
```

colocamos el eje y

```
> segments(0,0,0,4)
```

y colocamos la asíntota horizontal de la función que corresponde al valor del término independiente

```
> segments(0,2,5,2,lty=2)
```



Esta función es de mucha utilidad en procesos que se extinguen de manera no lineal y tienden a un valor determinado de la variable dependiente, que en este caso sería el término independiente de la función. Son funciones muy adecuadas para representar por ejemplo la desaparición de un fármaco del torrente circulatorio

#### 5.1.7. Exponencial acotada superiormente

En estas funciones el exponente tiene signo negativo y se acotan al valor del término independiente , pero de manera superior

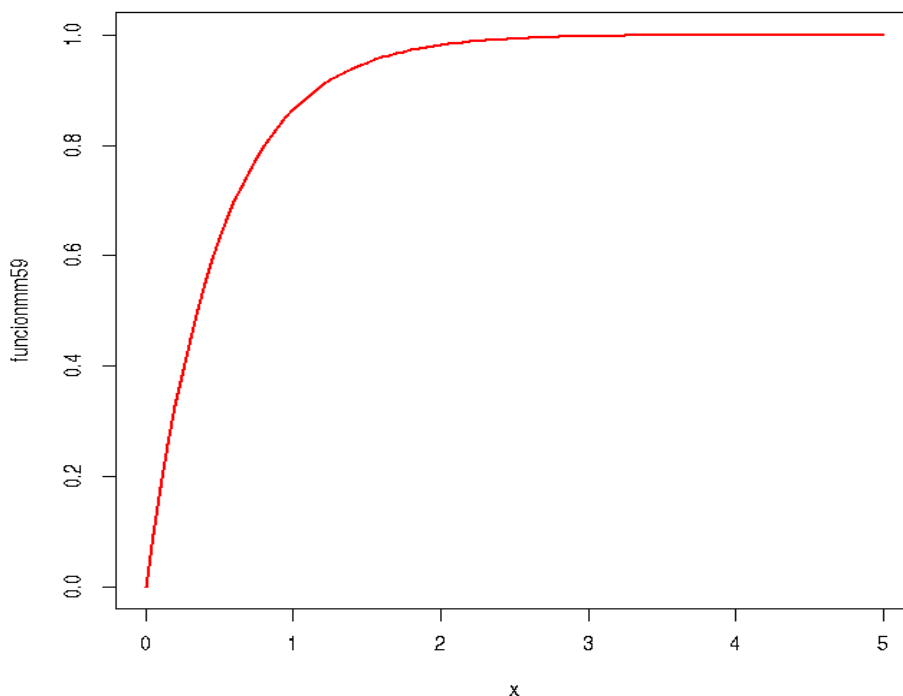
$$y=2*(1-e^{(-2*x)})$$

la introducimos en R

```
> funcionmm59<-function(x){1- exp(-2*x)}
```

y la graficamos para  $x > 0$

```
> plot(funcionmm59,0,5,lwd=2,col='red')
```



Esta función es muy útil para modelizar y simular procesos en que la variable se acota superficialmente, sin superar un dado valor. Es adecuada por ejemplo para representar el valor de un fármaco en sangre durante una infusión continua o el crecimiento de microorganismos en que el medio se torna limitante para su desarrollo.

## 5.2. Ajuste de curvas a datos experimentales

Un primer trabajo con los datos experimentales es intentar buscar una función que los ajuste, ya que esta información será valiosa en más de una situación. Conociendo los formatos de las diferentes funciones podemos pensar en cual será la función que pueda ajustarlos.

Veamos algunos ejemplos

Introduzca en su espacio de trabajo la tablamm51 de la planilla de cálculo tablamm5.ods/xls

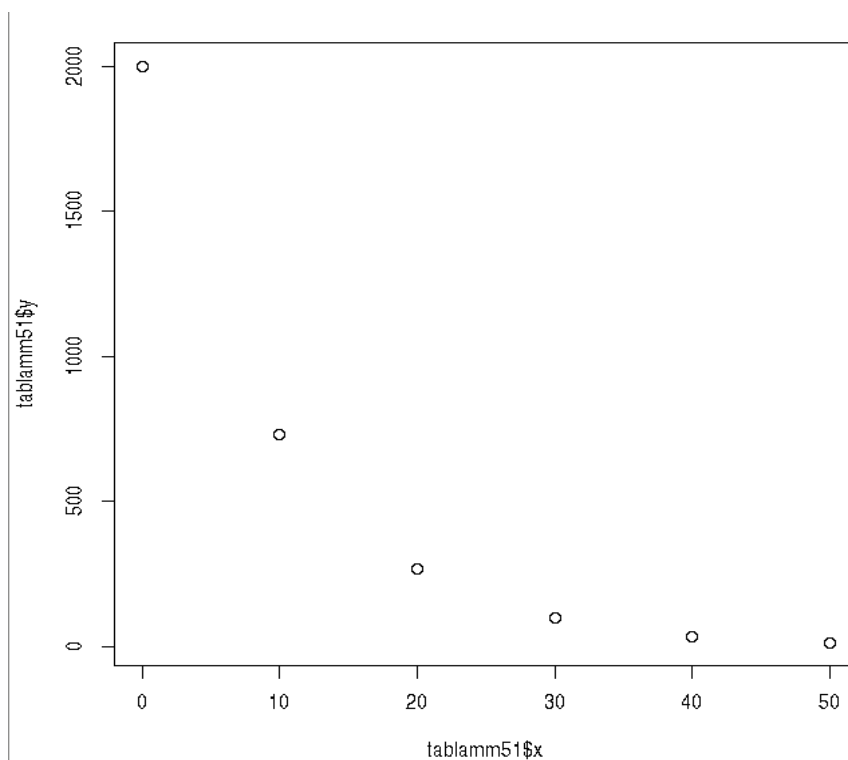
```
> tablamm51<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

comprobamos que el ingreso de los datos se haya realizado correctamente

```
> tablamm51
```

```
  x  y
1  0 2000
2 10  730
3 20  270
4 30   99
5 40   36
6 50   13
graficamos los datos para ver el formato
```

```
> plot(tablamm51$x,tablamm51$y)
```



claramente podemos observar un comportamiento curvo que nos podría hacer pensar en una ecuación exponencial, pero también podríamos utilizar partes de funciones homográficas o polinómicas. También nos indica la gráfica que una función lineal no será la mejor opción para el ajuste. Nos inclinaremos por una función exponencial decreciente, la que suponemos tiene el siguiente formato

$$y = a * \exp(-b * x)$$

Ecuación 5.5.

donde **a** y **b** serían los parámetros de la función.

R nos provee diferentes herramientas para obtener el valor de los parámetros de manera que la función se ajuste a los datos. Veremos algunas de las opciones más sencillas ahora y a lo largo del curso. Existe más de una opción y en algunos casos la aplicación de la función no nos llevará a la solución de nuestro problema y por lo tanto deberemos intentar con otras de las funciones disponibles. Puede hallar situaciones en que el intento de ajuste no pueda ser realizada con herramientas disponibles y deberá desarrollar una para lograrlo.

### 5.2.1. Ajuste con nls()

La función `nls()` de R permite obtener los parámetros de una función utilizando datos experimentales. Con dichos parámetros reconstruiremos una función que ajustará a los valores.

El formato general de `nls()` es

```
> objeto<-nls(función,data=tabladedatos,start=list(valores iniciales parámetros),trace=T)
```

Cuando se haga el ajuste, los valores de los parámetros y otros detalles del ajuste quedarán almacenados en el 'objeto', al que usted podrá darle el nombre que desee, respetando las restricciones que R nos impone. Veamos los argumentos de la función `nls()`

función: es la función que queremos utilizar como ajuste

tabladedatos: es el `data.frame` donde guardamos los datos a ser ajustado

start: son los valores iniciales de los parámetros. Son valores que asignamos a los parámetros para comenzar el ajuste. Es deseable tener valores iniciales próximos a los valores reales en lo posible, ya sea estimados por algún mecanismo, de otros autores, etc. Muchas veces carecemos de ellos y resolveremos el problema simplemente por prueba y error.

Veamos entonces el ajuste con `nls()` utilizando la Ecuación 5.5. El resultado lo guardaremos en el objeto llamado `ajuste`.

```
> ajuste<-nls(y~a*exp(-b*x),data=tablamm51,star=c(a=2000,b=0.1),trace=TRUE)
```

```
34.569 : 2e+03 1e-01
```

```
9.135748 : 1999.6205066 0.1005011
```

```
9.134887 : 1999.6249031 0.1005043
```

```
9.134887 : 1999.6249232 0.1005043
```

Observamos que al oprimir enter, R generó una tabla con números. La tabla nos muestra en: primer columna, el error en el ajuste. Como podemos ver partimos con un error de varios miles y se reduce muchísimo llegando a un valor cercano a 9. R lo que hace es a partir de

los valores iniciales de los parámetros "probar" diferentes valores, hasta hallar aquellos que hacen ese error mínimo

segunda columna el valor del parámetro  $a$ . En la última fila de la columna 2 hallamos el valor de este parámetro, que en este caso toma el valor 1999.6249232. Por razones prácticas asumiremos que toma el valor 2000

La tercer columna nos muestra el valor del parámetro  $b$  en cada iteración o prueba que realiza R en búsqueda del mejor valor. En la última fila de esta columna hallamos el valor del parámetro, que en este caso es 0,1005043.

Si pedimos un resumen del objeto, que llamamos ajuste, nos dará mucha información sobre el ajuste realizado.

```
> summary(ajuste)
```

Formula:  $y \sim a * \exp(-b * x)$

Parameters:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
a	2.000e+03	1.498e+00	1335.2	1.89e-12 ***
b	1.005e-01	1.665e-04	603.6	4.52e-11 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.511 on 4 degrees of freedom

Number of iterations to convergence: 3

Achieved convergence tolerance: 3.551e-08

La tabla nos muestra varias cosas. En primer lugar la función utilizada para el ajuste. Luego una tabla 'Parameters:' donde tenemos los valores de  $a$  y  $b$ . En la primer columna está el valor en la última Pr(>|t|) el error de tipo I. Como en los dos casos es menor que 0.05 podemos considerar que los valores hallados de  $a$  y  $b$  discrepan significativamente de cero.

### 5.2.2. Análisis de la elección de valores iniciales

Hemos tomado como valores iniciales  $a=2000$  y  $b=0.1$ . ¿En qué nos basamos?

En la ecuación que utilizaremos

$$y = a * \exp(-b * x)$$

si  $x=0$ , la ecuación quedaría

$$y = a * \exp(-b * 0) = a$$

según la tablamm51, cuando  $x=0$ ,  $y=2000$ , por lo tanto  $a=2000$ , valor que tomaremos como valor inicial. Como pudimos ver del ajuste, la función nls() asigno al parámetro un valor muy cercano al valor inicial. Es importante reconocer que no siempre tendremos tanta suerte o inteligencia al elegir el valor inicial.

Con respecto al parámetro **b** utilizamos como valor inicial 0.1 ya que aproximadamente para  $x=10$ ,  $y$  toma la mitad del valor, aplicando la ecuación de vida media de una exponencial (se explica en las siguientes páginas):

$$x_{1/2} = \frac{\log 2}{b}$$

$$b = \frac{\log 2}{x_{1/2}} = \frac{\log 2}{10} = 0.069$$

que aproximamos con 0,1.

Con los parámetros hallados grafiquemos la función y los puntos para evaluar el ajuste.

Introducimos la función

```
> funcionmm510<-function(x){a*exp(-b*x)}
```

Asignamos a los parámetros **a** y **b** los valores hallados del ajuste

```
> a<-2000
```

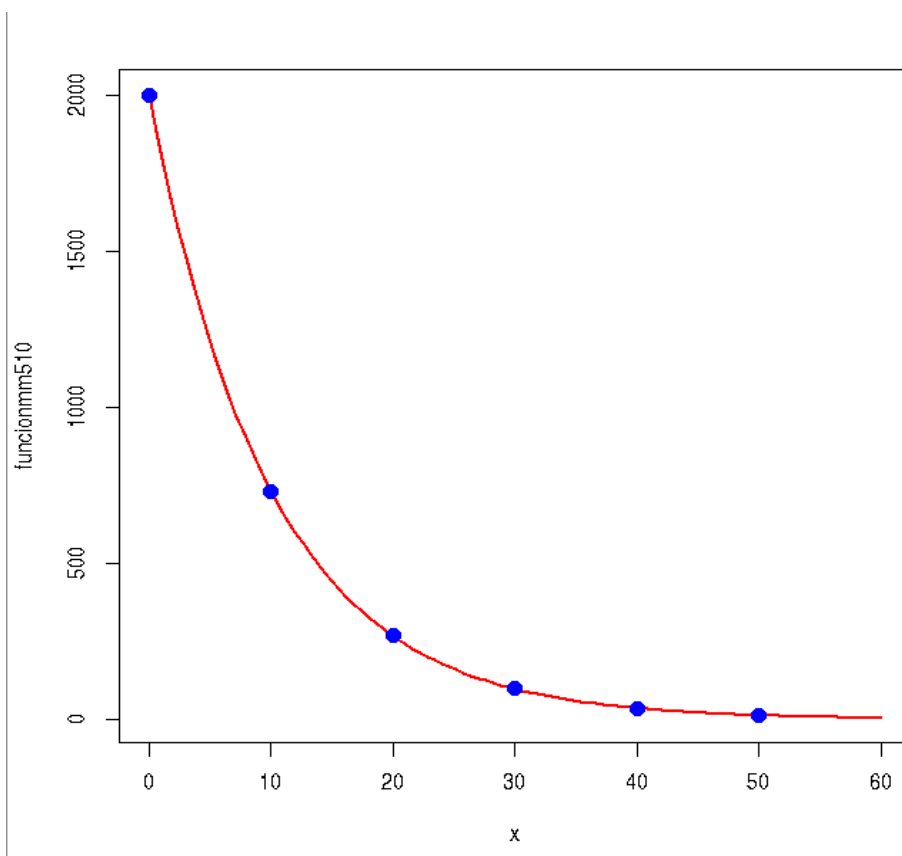
```
> b<-0.1005
```

graficamos la funcionmm510, para el rango de valores de  $x$  de la tablam51

```
> plot(funcionmm510,0,60,lwd=2,col='red')
```

agregamos los puntos de la tablam51

```
> points(tablam51$x,tablam51$y,pch=19,col='blue',cex=1.5)
```



visualmente comprobamos un muy buen ajuste de los datos con la función elegida y los parámetros hallados. Esto está indicando que la función elegida es un buen modelo de los datos experimentales. Nuestros datos experimentales tienen ahora una función y ésta podrá ser utilizada para procesos de simulación, por ejemplo.

### 5.3. Vida media de una función exponencial.

Se entiende por vida media al valor de la variable independiente para el cual la variable dependiente toma la mitad del valor inicial o del valor máximo que alcanzaría.

En una ecuación exponencial como la del ejemplo, el valor inicial de  $y$  será  $a$  para  $x=0$ . Cuando el valor sea  $a/2$ ,  $x$  tomará un valor que llamamos  $x_{1/2}$ . Reemplazamos en la ecuación dichos valores, resultará

$$\frac{a}{2} = a * \exp(-b * x_{1/2})$$

despejando  $x_{1/2}$ .

$$\frac{1}{2} = \exp(-b * x_{1/2})$$

aplicamos log a ambos miembros

$$\log 1 - \log 2 = (-b * x_{1/2}) * \log e$$

$$\log 1 = 0$$

$$\log e = 1$$

$$-\log 2 = -b * x_{1/2}$$

$$x_{1/2} = \frac{\log 2}{b}$$

**Ejercicios**

1) Dada la ecuación, graficar las siguientes funciones lineales

a-  $y=2x$

b-  $y=2x+3$

c-  $y=2x-5$

d-  $y=-x+1$

2) Graficar las siguientes funciones homográficas

a-  $y=\frac{2x}{2x+4}$

b-  $y=\frac{1}{x+3}$

3) Graficar las siguientes funciones potenciales

a-  $y=x^2-2x$

b-  $v=0.3 \cdot [A]^2$

4) Graficar las siguientes funciones exponenciales

a-  $y=2^x$

b-  $y=5e^x$

c-  $y=ke^{-2x}$

d-  $y=25(1-e^{-2x})$

e-  $y=2 \cdot e^{2x}$

f-  $y = -3 \cdot e^{2x}$

g-  $y = 4 \cdot e^{-x}$

h-  $y = 2 \cdot \left(1 - e^{\frac{-x}{2}}\right)$

5) Graficar en un mismo sistema de ejes

a-  $y_1 = e^{-x}$     y     $y_2 = e^{-2x}$

b-  $y_1 = 10(1 - e^{-x})$     y     $y_2 = 10(1 - e^{-5x})$

6) Verificar que los datos que se muestran en la tabla 12 se pueden ajustar con una función lineal del tipo  $y = m \cdot x + h$ . Obtener la función que los ajusta.

x	y
1	1
3	7,1
5	12,8
7	18,4

13) Verificar que los datos de la tabla 13 se pueden ajustar por una función lineal del tipo  $y = m \cdot x + h$  y por una exponencial del tipo  $y = A \cdot e^{k \cdot x}$ . Elegir el mejor ajuste y obtener la función que los ajusta

tabla 13	
x	y
0	4
2	2,2
4	1,2
6	0,6

14) Verificar que si los datos de la tabla 14 se pueden ajustar por una función lineal ( $y = m \cdot x + h$ ), una exponencial ( $y = A \cdot e^{-k \cdot x}$ ) o una homográfica ( $y = a/x$ ). Elegir el mejor ajuste y obtener la función que los ajusta

tabla 14	
x	y
1	5
3	1,5
5	1
7	0,7
10	0,5

15) Verificar si los siguientes datos de la tabla 15 se ajustan a una función lineal del tipo  $y = mx + h$ , una función homográfica del tipo  $y = ax/cx+d$  o por una función exponencial acotada del tipo  $y = A \cdot (1 - e^{-k \cdot x})$

Tabla 15	
x	y
1	6
4	14
8	16
12	17
16	19



## 6. Clase 6

### 6.1. Funciones

En clases anteriores hemos desarrollado varias funciones que numeramos a continuación:

1- función lineal, cuya ecuación se muestra a continuación

$$y = m * x + h$$

*Ecuación 6.1.*

donde **m** es la pendiente y **h** la ordenada al origen y su gráfica una línea recta. Su dominio o valores que puede tomar la variable **x** son todos los números reales. Decimos entonces que la función lineal es continua en el conjunto de los números reales

2- Función homográfica

forma general

$$y = \frac{a * x + b}{c * x + d}$$

que posee una asíntota vertical en el valor de la abscisa igual a  $x = -\frac{d}{c}$

y una asíntota horizontal en el valor de la ordenada,  $y = \frac{a}{c}$

Su dominio son todos los números reales, menos es valor de la asíntota vertical. Decimos entonces que la función homográfica es discontinua en el valor que toma la asíntota vertical.

3- Función polinómica

A continuación se muestra un ejemplo de una polinómica de grado 2 o cuadrática.

$$y = -4 * x^2 + 2 * x - 1$$

Para las funciones polinómicas el dominio de la función son todos los números reales, por ende es continua en el conjunto de los números reales.

4- Funciones exponenciales

Hemos visto funciones de diferentes características, siendo las más comunes o útiles en los modelos aplicados a la biología las siguiente

Exponencial creciente, como por ejemplo

$$y = 2 + e^{(0.5 * x)}$$

Exponencial decreciente. A continuación mostramos un ejemplo

$$y = 2 + e^{(-2 * x)}$$

Exponenciales acotada superiormente, como la que se muestra a continuación

$$y = 2 * (1 - e^{(-2 * x)})$$

El dominio de estas funciones son los número reales.

## 6.2. Composición de funciones

Supongamos que tenemos una variable dependiente que llamamos  $y$ , la que sigue la siguiente función de  $x$ , para mejor entendimiento expresamos  $y=f(x)$

$$y = 2 + x$$

por otra parte, otra variable dependiente que llamamos  $z$ , es función de la variable  $y$ , que en este caso actúa como una variable independiente según la siguiente función, que expresamos como  $z=g(y)$

$$z = y^2 + 3$$

Como  $y$  tiene su propia ley que la vincula con  $x$ , podemos reemplazar la función  $f(x)$  dentro de la función  $g(y)$ , quedando expresada una nueva función que llamamos función compuesta y podemos representar como  $g(f(x))$ :

$$f(g(x)) = z = (2 + x)^2 + 3$$

En tal caso  $z$  ahora queda como función de  $x$ .

Decimos que  $z$  es una función compuesta o una función de función.

### 6.2.1. Descomposición de una función compuesta en funciones elementales

Supongamos que tenemos la siguiente función

$$z = e^{((2 * x + 2)^2 + 3)} + 1$$

Para la descomposición podemos seguir los pasos de la Figura 6.1. Podemos pensar que  $z$  está compuesta por varias funciones. En primer lugar consideramos que

$$2 * x + 2 = y$$

con lo que la función  $z$  se transforma en

$$z = e^{(y^2+3)} + 1$$

luego pensamos que

$$y^2 + 3 = w$$

por lo que nos queda una función que podemos expresar como

$$z = e^w + 1$$

$$z = e^{((2 * x + 2)^2 + 3)} + 1$$

$$y = 2 * x + 2$$

$$z = e^{(y^2+3)} + 1$$

$$w = y^2 + 3$$

$$z = e^w + 1$$

Figura 6.1

La composición de funciones en R es una tarea sencilla. Definamos dos funciones

```
> funcionmm61 <- function(x){3*x+2}
> funcionmm62 <- function(x){3*exp(-x)}
```

si ejecutamos la siguiente línea

```
> funcionmm61(funcionmm62(1))
```

```
[1] 5.310915
```

el valor que obtuvimos equivale a calcular primero el valor que toma la funcionmm62 en el valor de  $x=1$ , como vemos a continuación

```
> funcionmm62(1)
```

```
[1] 1.103638
```

luego reemplazar ese valor en la funcionmm61

```
> funcionmm61(1.103638)
```

```
[1] 5.310914
```

con el código ejecutado anteriormente

```
> funcionmm61(funcionmm62(1))
```

hemos realizado la composición de las dos funciones

### 6.3. Derivada de una función

La derivada de una función  $f(x)$  es otra función que nos muestra la velocidad de variación de la variable dependiente de  $f(x)$  en función la variable independiente.

La derivada de una función se puede hallar utilizando reglas de derivación y se denota con un símbolo prima al final de la ley. Así, a la función derivada de  $y$  la llamamos  $y'$ . La tabla siguiente muestra las reglas más sencillas y quizás nos alcancen para resolver nuestros problemas. En la columna de la izquierda se muestra la función y a la derecha su derivada,  $y'$ .

función: $y=f(x)$	derivada de la función: $f'(x)=y'$
$y=k$	$y'=0$
$y=x^n$	$y'=n*x^{n-1}$
$y=\ln(x)$	$y'=1/x$
$y=e^x$	$y'=e^x$
$y=g*h$ $g=g(x)$ $h=h(x)$	$y'=g'*h+g*h'$
$y=g/h$ $g=g(x)$ $h=h(x)$	$y'=(g'*h-g*h')/h^2$
$y=k*h$ $k=cte$ $h=h(x)$	$y'=k*h'$
$y=g + h$ $g=g(x)$ $h=h(x)$	$y'=g' + h'$
$y=g(h)$ $g=g(x)$ $h=h(x)$	$y'=g'*h'$
$y= \text{sen}(x)$	$y'= \cos x$

### 6.3.1. Derivadas con R

R nos permite obtener la función derivada de una dada función.

supongamos que tenemos la función

$$y = x^2 + 3 * x$$

la derivada la obtenemos con la función D(), en la cual especificamos la expresión a derivar y entre comillas cual es la variable independiente

D(expression(x^2+3\*x),"x")

2 \* x + 3

veamos otro ejemplo

$$y = \log(x^2) + 3 * \text{sen}(\log x)$$

> D(expression(log(x^2)+3\*sin(log(x))),"x")

2 \* x/x^2 + 3 \* (cos(log(x)) \* (1/x))

### 6.3.2. Derivadas sucesivas

En ciertas circunstancias requerimos lo que llamamos derivadas sucesivas. Las derivadas sucesivas resultan de aplicar las reglas de derivación a la derivada obtenida en el paso previo. A modo de ejemplo y para comprender su aplicación, supongamos que tenemos una función que nos da la distancia recorrida (x) por un móvil en función del tiempo (t)

$$x = 10 + 5 * t^2$$

Si hallamos su derivada primera obtendremos

$$x' = 5 * 2 * t$$

La función x' hallada representa la velocidad del móvil en función del tiempo

Si a la expresión x' la derivamos nuevamente hallaremos la derivada segunda (x'')

$$x'' = 10$$

este valor representa la aceleración del móvil, es decir la rapidez con que cambia la velocidad. Por ende la derivada primera nos dará siempre la velocidad de cambio de la función con respecto a la variable independiente y su derivada segunda la aceleración. Cabe aclarar acá que si la variable independiente no es el tiempo, el concepto de aceleración no es tan fácil de interpretar como en la velocidad y aceleración de un móvil.

### 6.3.3. Derivadas de función compuesta

Plantemos una función compuesta

$$y = e^{(x^2)}$$

Esta función es la composición de dos funciones

$$y = e^{(z)} \quad \text{y} \quad z = x^2$$

Para obtener una derivada de función compuestas decimos que derivamos desde la función más externa a la más interna. Para obtener la derivada de la función  $y$ , derivaremos la función de la izquierda y al resultado lo multiplicaremos por la derivada de la función de la derecha. Así, primero derivamos  $e$  elevado a la  $x^2$ , considerando a  $x^2$  como si fuera una variable  $z$ . Luego derivamos  $x^2$ , cuyo resultado es  $2 \cdot x$ . El resultado de la derivación de la función compuesta es

$$y' = e^{(x^2)} * 2 * x$$

Ejercicios

1) Hallar  $y'$  de las siguientes funciones.

a-  $y = 2x$

b-  $y = 3 \cdot x^3$

c-  $y = 80 \cdot e^x$

d-  $y = \ln x + x^4$

e-  $y = x^2 \ln x$

f-  $y = \frac{x}{e^x}$

g-  $y = e^{2x}$

$$h- y = \ln(3 + x^3)$$

Respuestas

$$a- y' = 2$$

$$b- y' = 9 \cdot x^2$$

$$c- y' = 80 \cdot e^x$$

$$d- y' = \frac{1}{x} + 4x^3$$

$$e- y' = 2x \ln x + x$$

$$f- y' = \frac{e^x - xe^x}{e^{2x}}$$

$$g- y' = 2e^{2x}$$

$$h- y' = \frac{3x^2}{3+x^3}$$

## 7. Clase 7

En la clase 6 se desarrolló una metodología para obtener la derivada primera o las derivadas sucesivas de una función basada en la aplicación de reglas de derivación establecidas en la tabla siguiente

y	y'
y=k	y'=0
y=x <sup>n</sup>	y'=n*x <sup>n-1</sup>
y=ln(x)	y'=1/x
y=e <sup>x</sup>	y'=e <sup>x</sup>
y=g*h g=g(x) h=h(x)	y'=g'*h+g*h'
y=g/h g=g(x) h=h(x)	y'=(g'*h-g*h')/h <sup>2</sup>
y=k*h k=cte h=h(x)	y'=k*h'
y=g + h g=g(x) h=h(x)	y'=g' + h'
y=g(h) g=g(x) h=h(x)	y'=g'*h'
y= sen(x)	y'= cos x

Sin embargo estas reglas no permiten derivar una función en la cual la variable independiente se halla como exponente, salvo el caso de la función  $e^{f(x)}$ . Para los demás casos que la variable independiente forma parte del exponente se aplica la derivación logarítmica.

### 7.1. Derivación Logarítmica

Tomemos la siguiente función

$$y = a^{(3 \cdot \ln x)}$$

*Ecuación 7.1.*

no disponemos de regla de derivación en la tabla de derivadas. Entonces aplicaremos la derivación logarítmica. En primer lugar se aplica logaritmo a ambos miembros de la igualdad, teniendo en cuenta que a la derecha tenemos una potencia y el logaritmo de una potencia es igual al exponente, multiplicado por el logaritmo de la base, que en este caso es  $a$ .

$$\log y = (3 \cdot \ln x) \cdot \log a$$

*Ecuación 7.2.*

luego derivamos ambos miembros de la igualdad. A la izquierda tenemos un logaritmo de una función. Derivamos primero el logaritmo y luego la función que expresaremos como  $y'$ .

A la derecha tenemos dos constantes: 3 y  $\log a$ , por lo tanto la derivada serán las constantes por la derivada de la expresión  $\ln x$ . Obtenemos así:

$$\frac{1}{y} * y' = \left(3 * \frac{1}{x}\right) * \log a$$

Ecuación 7.3.

a continuación despejamos  $y'$ , que es la derivada de nuestra función

$$y' = y * \left[\left(3 * \frac{1}{x}\right) * \log a\right]$$

Ecuación 7.4.

y finalmente reemplazamos  $y$  por su expresión según la Ecuación 7.1

$$y' = \left(a^{(3 * \ln x)}\right) * \left[\left(3 * \frac{1}{x}\right) * \log a\right]$$

Ecuación 7.5.

## 7.2. Ejercicios de derivación logarítmica

Controle sus respuestas con las sugeridas al pie de la página.

2-  $y = x^x$

3-  $y = (2 \cdot x)^x$

4-  $y = (1 + e^x)^x$

## 7.3. Aplicaciones de derivadas al estudio de funciones

Básicamente, una función puede tener algunos características clásicas que describimos a continuación:

Mínimos (mab) y máximos absolutos (Mab): son los mínimos y máximos valores de la variable dependiente en el intervalo que estamos trabajando. En un dado intervalo solo habrá un máximo y un mínimo absoluto.

Crecimiento: una función tiene crecimiento si cuando aumenta el valor de la variable independiente, también lo hace el valor de la variable dependiente.

Decrecimiento: una función decrece en un dado intervalo si cuando aumenta el valor de la

2.  $y' = x^x (\ln x + 1)$

3.  $y' = (2 \cdot x)^x [\ln(2x) + 1]$

4.  $y' = (1 + e^x)^x \left[ \ln(1 + e^x) + \frac{x e^x}{1 + e^x} \right]$

variable independiente, desciende el valor de la variable dependiente.

Mínimo (mr) y máximo relativos (Mr): son los valores mínimos y máximos que se producen en el entorno de un punto y no necesariamente deben coincidir con los mínimos y máximo absolutos. En un intervalo podrá haber más de un mínimo y/o máximo relativo, pudiendo no haber ninguno de ellos. También podríamos decir que un mínimo relativo es un punto tal que para valores menores de la variable independiente la función decrece y para valores mayores la función crece. Contrariamente un máximo relativo es un punto tal que para valores menores de la variable independiente la función crece y para valores mayores la función decrece.

Concavidad: una función es cóncava en un dado intervalo pensando a la línea como parte de una circunferencia, el centro de la misma se ubicara por encima de la función.

Convexa: una función es convexa si interpretamos a la línea que representa a la función como parte de una circunferencia y el centro se ubica debajo de la función.

Punto de inflexión (PI): es un punto en que la función cambia su concavidad, de ser cóncava a convexa o viceversa.

En las figuras siguientes vemos estas características.

La Figura 7.1 muestra una función que en el intervalo analizado tiene un Mab aproximadamente en el punto (10,100), un mab en (0,0), no tiene mr, Mr ni PI, crece y es cóncava en todo el intervalo.

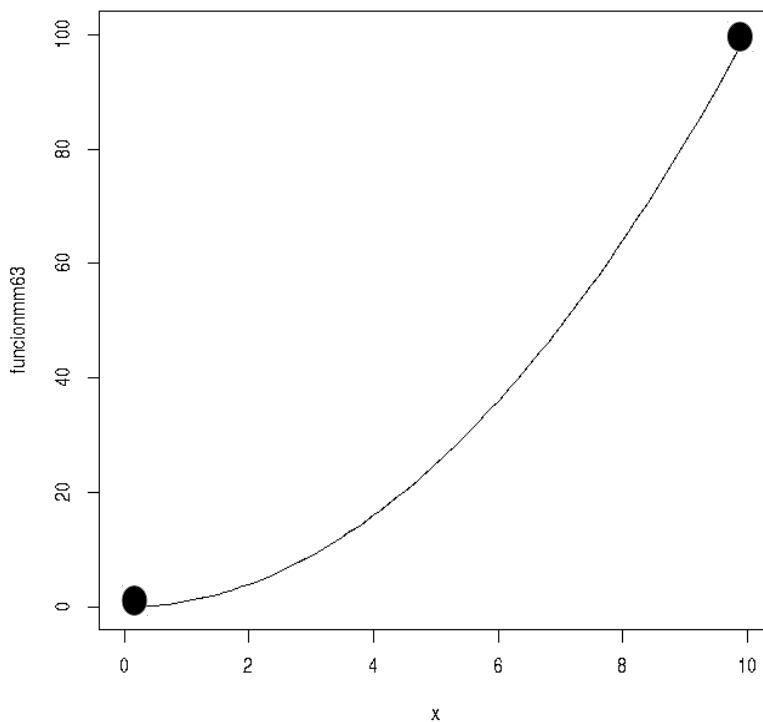


Figura 7.1

La Figura 7.2 muestra una función que tiene un mr aproximadamente en (1,-1), decrece desde el valor -2 aproximadamente hasta el valor 1 de la variable independiente y a partir de 1 comienza a crecer. Además es siempre cóncava en el entorno analizado.

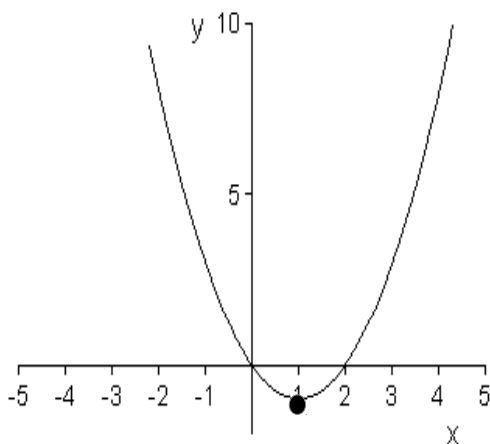


Figura 7.2

Cuando deseamos obtener un modelo matemático de un fenómeno intentamos ajustar una función a los valores de nuestras variables y que la misma tenga algún significado biológico. Como punto de partida debemos conocer cual es el dominio de nuestras variables independientes y dependientes y luego conocer el formato de la función que utilizaremos como ajuste. El formato puede ser observado con herramientas provistas por R, sin embargo la información que tendremos con R es una visión del intervalo que le hemos colocado a la función `plot()`.

Veamos un ejemplo. Definimos una función

```
> funcionmm71<-function(x){x^5-10*x^4+x^3-25*x^2+x+1}
```

y realizamos tres gráficas de la misma con diferentes intervalos

```
> plot(funcionmm71,-1,1)
```

```
> plot(funcionmm71,-10,10)
```

```
> plot(funcionmm71,-100,100)
```

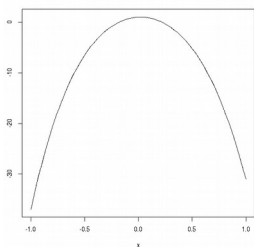


Figura 7.3

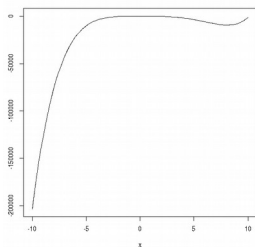


Figura 7.4

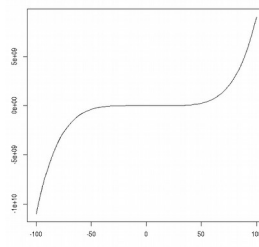


Figura 7.5

Si bien las Figura 7.3, Figura 7.4 y Figura 7.5 son las gráficas de la misma función, en la Figura 7.3 vemos claramente que tiene un Mr y tiene una zona de crecimiento y luego decrecimiento. En la Figura 7.4 se desdibujan estos accidentes, pareciendo tener un mr entre el 5 y el 10. En la Figura 7.5 solo parece ser creciente con algunos cambios en la concavidad de la misma

La derivada de una función es de utilidad para reconocer características especiales de una función y a su vez será de mucha utilidad a la hora de establecer modelos y buscar parámetros. Las funciones derivadas se relacionan con ciertas características que se resumen a continuación

- 1- una función  $y$  tiene un Mr (máximo relativo) en un dado valor  $x_0$  cuando  $y'(x_0)=0$  y en dicho punto su derivada segunda es menor que cero:  $y''(x_0)<0$
- 2- una función  $y$  tiene un mr (mínimo relativo) en un dado valor  $x_0$  cuando  $y'(x_0)=0$  y en dicho punto su derivada segunda es mayor que cero:  $y''(x_0)>0$
- 3- una función  $y$  crece en un dado intervalo de su dominio si  $y'>0$
- 4- una función  $y$  decrece en un dado intervalo de su dominio si  $y'<0$
- 5- una función  $y$  es cóncava en un dado intervalo de su dominio si  $y''>0$
- 6- una función  $y$  es convexa en un dado intervalo de su dominio si  $y''<0$
- 7- una función  $y$  tiene un punto de inflexión en un punto si  $y''=0$

### 7.3.1. Extremos relativos de una función

Llamamos extremos relativos a los Mr y mr. Vemos la función

$$y = x^3 - 3 * x$$

Ecuación 7.6

Si deseamos hallar Mr y mr, hallaremos sus derivadas  $y'$  e  $y''$ .

$$y' = 3 * x^2 - 3$$

*Ecuación 7.7*

$$y'' = 6 * x$$

*Ecuación 7.8*

para hallar Mr y mr, igualamos la derivada primera a cero y obtenemos el o los valores de x que satisfacen la igualdad. Podemos hacer este cálculo algebraicamente o bien en casos de complejidad con las funciones uniroot() u optim()

$$0 = 3 * x^2 - 3$$

*Ecuación 7.9*

de donde obtenemos que  $x=1$  y  $x=-1$  son los valores que satisfacen la igualdad de la Ecuación 7.9.

Analizamos primero  $x=1$ . Para ello reemplazamos el valor en la derivada segunda

$$y''(1) = 6 * 1 = 6$$

*Ecuación 7.10*

como  $y''(1)$  es positivo, nos indica que hay un mínimo relativo en el  $x=1$ . Para conocer el valor de la variable dependiente donde se ubica el mr, reemplazamos  $x=1$  en la función original

$$y = 1^3 - 3 * 1 = -2$$

*Ecuación 7.11*

por lo tanto el mr se halla en el punto (1,-2)

Ahora verificamos que ocurre con el valor  $x=-1$ . En primer lugar lo reemplazamos en la derivada segunda para verificar si es un mr o Mr.

$$y''(-1) = 6 * (-1) = -6$$

*Ecuación 7.12*

como el cálculo nos dio un valor negativo concluimos que en  $x=-1$  hay un Mr. Ahora reemplazamos el valor -1 en la función para ver su ubicación

$$y(-1) = (-1)^3 - 3 * (-1) = 2$$

*Ecuación 7.13*

por lo que el Mr se encuentra en el punto (-1,2)

### 7.3.2. Intervalos de crecimiento y decrecimiento de una función

Como se expuso anteriormente, una función  $y$  crece en el intervalo de la variable independiente en que  $y'>0$ . Contrariamente, en el intervalo de la variable independiente en que  $y'<0$ , la función decrece. Continuando con la función, utilizamos su derivada primera, la que hacemos mayor que cero para hallar crecimiento

$$3 * x^2 - 3 > 0$$

*Ecuación 7.14*

podemos escribirla siguiendo algunas reglas de factorización de expresiones

$$3 * (x - 1) * (x + 1) > 0$$

*Ecuación 7.15*

De analizar la desigualdad, al ser la izquierda un producto es claro que el valor será positivo si  $(x-1)>0$  y  $(x+1)>0$ , simultáneamente o bien si simultáneamente se cumple que  $(x-1)<0$  y  $(x+1)<0$ . De analizar estas dos situaciones resulta que la Ecuación 7.15 se cumplirá si  $x>1$  y  $x<-1$ . Por lo tanto la función crece para dichos intervalos.

Si analizamos el decrecimiento, deberíamos plantear que

$$3 * (x - 1) * (x + 1) < 0$$

*Ecuación 7.16*

Esta desigualdad valdría para valores de  $x$  que cumplan  $(x-1)>0$  y  $(x+1)<0$  simultáneamente o bien si simultáneamente se cumple que  $(x-1)<0$  y  $(x+1)>0$ . Del análisis de esta situación surge que la función decrece para valores de  $x$  que cumplen la condición  $-1 < x < 1$

### 7.3.3. concavidad y convexidad de una función

La convexidad la analizamos planteando que la derivada segunda sea negativa

$$6 * x < 0$$

*Ecuación 7.17*

esta desigualdad se cumple para  $x<0$ , que nos indica que la función será convexa si  $x<0$ .

Contrariamente la concavidad la buscamos planteando positiva la derivada segunda

$$6 * x > 0$$

*Ecuación 7.18*

de donde obtenemos que la función es cóncava para  $x > 0$ .

### 7.3.4. puntos de inflexión de una función

Los puntos de inflexión los buscamos igualando a cero la derivada segunda

$$6 * x = 0$$

*Ecuación 7.19*

de donde surge que existe un punto de inflexión en  $x=0$ .

#### Conclusiones:

la función representada en la Ecuación 7.20

$$y = x^3 - 3 * x$$

*Ecuación 7.20*

tiene

mr: (1,-2)

Mr: (-1,2)

crece  $x > 1$  y  $x < -1$

decrece  $-1 < x < 1$

cóncava:  $x > 0$

convexa:  $x < 0$

tiene PI: (0,0)

Analicemos coherencia de resultados.

En un entorno de un mr, la función debe decrecer para valores de la variable independiente menores y crecer para valores mayores al valor de la variable independiente donde se halla el mr. Nuestro mr está en  $x=1$ . Crece para  $x > 1$  y decrece para  $x < 1$ .

En un entorno de un Mr, la función debe crecer para valores de la variable independiente menores y decrecer para valores mayores al valor de la variable independiente donde se halla Mr. El Mr está en  $x=-1$ . La función crece para  $x < -1$  y decrece para  $x > -1$ .

La función debe cambiar de concavidad en un punto de inflexión. El punto de inflexión está en  $x=0$ . La función es convexa para  $x < 0$  y cóncava para  $x > 0$ , cambiando justamente la curvatura en el valor de  $x$  que corresponde el PI.

#### 7.4. Ejercicios de estudios de funciones

<sup>5</sup> Hallar máximos y mínimos relativos de

$$y = A(1 - e^{-kx})$$

<sup>6</sup> Hallar máximos y mínimos relativos de

$$y = x^2 + 3x + 2$$

<sup>7</sup> Hallar máximos y mínimos relativos de

$$y = \frac{2}{3}x^3 - \frac{3}{2}x^2 + x$$

<sup>8</sup> Hallar intervalos de crecimiento y decrecimiento

$$y = e^{-3x} - e^{-4x}$$

<sup>9</sup> Hallar intervalos de crecimiento y decrecimiento

$$y = 5x - 1$$

<sup>10</sup> Hallar intervalos de crecimiento y decrecimiento

$$y = x - e^x$$

<sup>11</sup> Hallar intervalos de crecimiento y decrecimiento

$$y = x^2 + 2x + 5$$

---

5. No tiene extremos relativos.

6. mínimo relativo en el punto  $(-3/2; -1/4)$

7. mínimo relativo en el punto  $(1; 1/6)$ , máximo relativo en el punto  $(1/2; 5/24)$

8. crece para  $x < \ln(4/3)$ , decrece para  $x > \ln(4/3)$

9. crece para toda  $x$

10. crece para  $x < 0$ , decrece para  $x > 0$

11. crece para  $x > -1$ , decrece para  $x < -1$

<sup>12</sup>Hallar intervalos de crecimiento y decrecimiento

$$y = x - e^{-x}$$

<sup>13</sup>Hallar intervalos donde la siguientes función es convexa

$$y = e^x$$

<sup>14</sup>Hallar intervalos donde la siguientes función es convexa

$$y = 2x - 3$$

<sup>15</sup>Hallar intervalos donde la siguientes función es convexa

$$y = -x^2 + 1$$

<sup>16</sup>Hallar intervalos donde la siguientes función es convexa

$$y = -5x^3 + 4$$

<sup>17</sup>Hallar si existen puntos de inflexión de

$$y = 4x$$

<sup>18</sup>Hallar si existen puntos de inflexión de

$$y = 2x^2 + 1$$

<sup>19</sup>Hallar si existen puntos de inflexión de

---

12. crece para toda x.

13. nunca es convexa

14. nunca es convexa

15. convexa para todo valor de x

16. convexa para  $x > 0$

17. no presenta punto de inflexión.

18. no presenta punto de inflexión.

19. punto de inflexión en (0, B)

$$y = x^3 + B$$

<sup>20</sup>Hallar si existen puntos de inflexión de

$$y = \frac{4x}{x+2}$$

<sup>21</sup>Dada la función  $y = e^x - x$

a- Hallar si existen sus máximos y mínimos relativos.

b- Hallar intervalo en que la función es cóncava.

---

20. no presenta punto de inflexión.

21. a- La función tiene un mínimo relativo en (0; 1). b- La función es cóncava para todo x del dominio.

## 8. Clase 8

### 8.1. Integrales indefinidas

La integral de una función  $f(x)$  es otra función  $F(x)$  a la que llamamos primitiva, tal que si derivamos  $F(x)$  obtenemos la función  $f(x)$ , en símbolos  $F'(x) = f(x)$ . La integral de una función se representa de la siguiente manera

$$\int f(x) * dx = F(x) + k$$

Ecuación 8.1.

$dx$  se denomina diferencial de  $x$  e indica cual es la variable independiente que tomamos para la integración. Por ejemplo

$$\int x^2 * w * dx$$

Ecuación 8.2.

nos indica que la variable independiente es  $x$ , mientras que  $w$  es una constante de la función. En cambio si la integral fuera

$$\int x^2 * w * dw$$

Ecuación 8.3.

la variable independiente sería  $w$  mientras que  $x$  sería una constante para este caso.

Podemos interpretar a la integral como la operación inversa de la derivada. Para obtener la integral de una función aplicamos como en el caso de las derivadas una serie de reglas que vemos en la tabla siguiente, a las que llamamos integrales inmediatas. A la izquierda tenemos la integral de una función y en la columna de la derecha vemos a su primitiva.

	$f(x)$	$F(x)$
1	$\int dx$	$x + C$
2	$\int x^a dx$	$\frac{x^{a+1}}{a+1} + C$

3	$\int e^x dx$	$e^x + C$
4	$\int \frac{dx}{x}$	$\ln x + C$
5	$\int (h+g) * dx$ donde h y g son funciones de x	$\int h * dx + \int g * dx$
6	$\int k * f(x) * dx$ donde k es una constante y f una función de x	$k * \int f(x) * dx$

Figura 8.1.

Realicemos una integral sencilla para comprender la metodología.

$$\int (3 * x^2 + e^x) * dx$$

vemos que es una suma de funciones, por lo que aplicamos la regla 5 de la tabla, descomponiendo la integral en dos integrales.

$$\int 3 * x^2 * dx + \int e^x * dx$$

en la primer integral tenemos una función cuadrática multiplicada por la constante 3. Podemos sacar la constante fuera de la integral aplicando la regla 6 de la tabla.

$$3 * \int x^2 * dx + \int e^x * dx$$

ahora nos han quedado dos integrales inmediatas, aquellas cuya solución se encuentra tabulada, que resolvemos reemplazando cada una por el resultado de la derecha.

$$\frac{3 * x^3}{3} + e^x + C$$

que resulta

$$x^3 + e^x + C$$

Podemos comprobar la resolución de la integral, si derivamos la función hallada respecto

de la variable  $x$ , obtendremos

$$3x^2 + e^x$$

que es la función que integramos.

Ejercicios

Resuelva las siguientes integrales inmediatas (respuestas al pie de la página)

1) Resolver las siguientes integrales

$$22. \int (2x^4 - 3x + 5 - e^x) dx$$

$$23. \int (e^x + 4) dx$$

## 8.2. Integración por sustitución

En algunas situaciones no es posible hallar la integral de una función por simple aplicación de las integrales inmediatas y se requiere una sustitución de variables, para poder resolver la integral en otra variable y luego volver a la variable original. Veamos un ejemplo

$$\int 2e^{3x} dx$$

sacamos la constante fuera de la integral, como nos indica la regla 6 de la tabla

$$2 \int e^{3x} dx$$

Ecuación 8.4

pero nos queda una integral que aunque similar a  $e^x$ , es más compleja. Entonces encaramos una sustitución por otra variable  $t$ . El término  $3x$  lo igualamos a una variable  $t$

$$3x = t$$

Ecuación 8.5

derivamos el término de la izquierda respecto de la variable  $x$  y el de la derecha respecto de la variable  $t$ . Para indicar respecto a qué variable derivamos ambos miembros, acompañamos la derivada por el factor  $dx$  y  $dt$ , respectivamente.

$$22. \frac{2}{5}x^5 - \frac{3}{2}x^2 + 5x - e^x + C$$

$$23. e^x + 4x + C$$

$$3 * 1 * dx = 1 * dt$$

reordenamos y despejamos  $dx$

$$dx = \frac{dt}{3}$$

*Ecuación 8.6*

reemplazamos en la Ecuación 8.4 las ecuaciones Ecuación 8.5 y Ecuación 8.6, resultando

$$2 * \int e^t * \frac{dt}{3}$$

reordenando

$$\frac{2}{3} * \int e^t * dt$$

que ahora podemos resolver utilizando la tabla de integrales inmediatas, pero nuestra variable independiente es la variable  $t$

$$\frac{2}{3} * e^t + C$$

*Ecuación 8.7*

volvemos a la variable  $x$ , reemplazando en la Ecuación 8.7 la Ecuación 8.5, resultando

$$\frac{2}{3} * e^{3*x} + C$$

Ejercicio

Resuelva la siguiente integral aplicando sustitución (respuesta al pie de la página)

$$^{24} \int (2x+1)^3 dx$$

---

24.  $\frac{1}{8}(2x+1)^4 + C$

$$^{25} \int x(3x^2 + e) dx$$

### 8.3. Integración por partes

En algunas circunstancias la integración inmediata o por sustitución no es apropiada y la integración por partes permite alcanzar la solución al problema

Este método se basa en que una integral de una forma dada puede descomponerse, como muestra la siguiente ecuación. No veremos el origen de esta expresión.

$$\int u * dv = u * v - \int v * du$$

*Ecuación 8.8*

Entonces si tenemos una integral

$$\int x * e^x * dx$$

descomponemos nuestra integral en dos partes: **u** y **dv**. Como regla general es conveniente tomar como **u** a una parte de la ecuación que además de no contener al **dx**, se simplifique su expresión luego de derivar (veremos esto durante el ejemplo). Como **dv** tomamos lo que queda de la expresión incluyendo el **dx**. Procedemos entonces con la integral propuesta tomando las partes

$$x = u$$

Derivamos el término de la izquierda con respecto a **x** y el de la derecha con respecto a **u**, resultando

$$dx = du$$

la otra parte resulta

$$e^x * dx = dv$$

integramos ambos miembros, a la izquierda respecto a **x** y la derecha respecto de **v**

$$\int e^x * dx = \int dv$$

ambas son integrales inmediatas, por lo que el resultado hallado es

$$e^x = v$$

reemplazamos ahora **u**, **v**, **dv** y **du** en el término de la derecha de la Ecuación 8.8 resulta

---


$$25. \quad \frac{3}{4}x^4 - \frac{e}{2}x^2 + C$$

$$x * e^x - \int e^x * dx$$

ahora nos ha quedado una integral inmediata que resolvemos y obtenemos el resultado de la integral original.

$$x * e^x - e^x + C$$

Ejercicios

Resolver las siguientes integrales utilizando integración por partes

$$26- \int x \ln x dx$$

$$27- \int 5 * x * e^x * dx$$

#### 8.4. Integral definida

La integral definida da como resultado un número y resulta de reemplazar los extremos de integración en la integral de la función, restando al valor del extremo superior el del extremo inferior de la integral. Veamos un ejemplo

Tenemos la integral definida expresada como

$$\int_0^2 x * dx$$

para resolverla, en primer lugar lo que hacemos es resolver la integral indefinida utilizando los métodos descritos anteriormente.

$$\int x * dx = \frac{x^2}{2}$$

luego aplicamos la regla de Barrow, que consiste en valorizar el valor de la primitiva hallada en el extremo superior y restarle el valor de la primitiva en el extremo inferior de integración

---


$$26. \quad \frac{x^2}{2} \ln x - \frac{x^2}{4} + C$$

$$27. \quad 5 * (x * e^x - e^x) + C$$

$$\int_0^2 x * dx = \frac{x^2}{2} = \frac{2^2}{2} - \frac{0^2}{2} = 2$$

el resultado de nuestra integral definida es 2.

### 8.5. Área bajo la curva de una función

La integral entre otras aplicaciones es útil para calcular el área bajo la curva de una función. Supongamos que tenemos una función

$$y = x + 1$$

cuya gráfica es

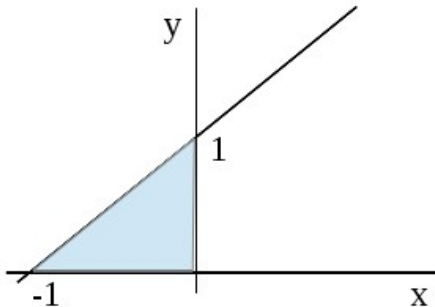


Figura 8.2

y deseamos conocer el valor del área coloreada. Para cumplir con el objetivo planteamos una integral definida de la función en el intervalo  $[-1,0]$ , que es el intervalo de la variable independiente entre los que queremos hallar el área

$$\int_{-1}^0 x + 1 * dx$$

luego resolvemos la integral definida como explicamos anteriormente

$$\int_{-1}^0 x - 1 * dx = \frac{x^2}{2} - x = \left[ \frac{0^2}{2} - 0 \right] - \left[ \frac{(-1)^2}{2} + 1 \right] = 1/2$$

el resultado del área es 1/2.

Podemos calcular el área bajo la curva también utilizando R. Para lograrlo en primer lugar introducimos la función

```
> f<-function(x){x+1}
```

luego realizamos el proceso de integración utilizando la función integrate()

```
> integrate(f,-1,0)
```

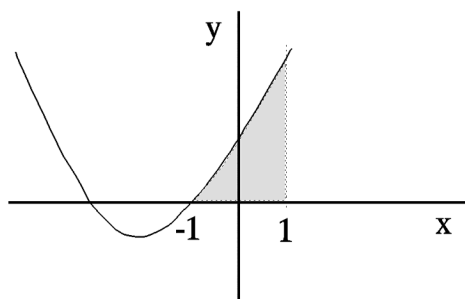
0.5 with absolute error < 5.6e-15

que podemos comprobar que obtuvimos el mismo resultado.

Ejercicios

<sup>28</sup> .Hallar el valor del área comprendida entre la función  $y = 2x$ , el eje  $x$  y los valores de  $x$ :  $x_0 = 0$  y  $x_1 = 3$ .

<sup>29</sup> . Hallar el el área sombreada en la siguiente figura bajo la función  $y = x^2 + 3x + 2$



## 8.6. Integrales impropias

Son aquellas donde un extremo de integración es  $+\infty$  o  $-\infty$  o un punto en el cual la función no está definida, por ejemplo en el valor de la variable independiente que coincida con una asíntota vertical.

Supongamos que tenemos la función

$$y = 2 * e^x$$

y deseamos resolver la integral

---

28. 9

29. 14/3

$$\int_0^{\infty} 2 * e^x * dx$$

en R definimos la función

```
> g<-function(x){2*exp(-x)}
```

y aplicamos integración indicando el extremo con Inf o -Inf, según corresponda

```
> integrate(g,0,Inf)
```

```
2 with absolute error < 0.00011
```

El valor de la integral es 2 y decimos que en este caso converge en un dado valor.

En cambio en algunos casos, las integrales impropias no dan un valor finito. Veamos un ejemplo con la siguiente función que introducimos en nuestro espacio de trabajo

```
> h<-function(x){2*exp(x)}
```

realizamos la integral entre los extremos 0 y  $+\infty$

```
> integrate(h,0,Inf)
```

```
Error in integrate(g, 0, Inf) : non-finite function value
```

No ha hallado un valor finito de la integral

## 8.7. Gráfica de funciones y áreas

Como un recurso estético veremos como marcar un área bajo una curva utilizando recursos de R.

Supongamos que deseamos resaltar el área bajo la curva de la función h, entre los extremos 0 y 2.

Ya hemos definido la función que repetimos

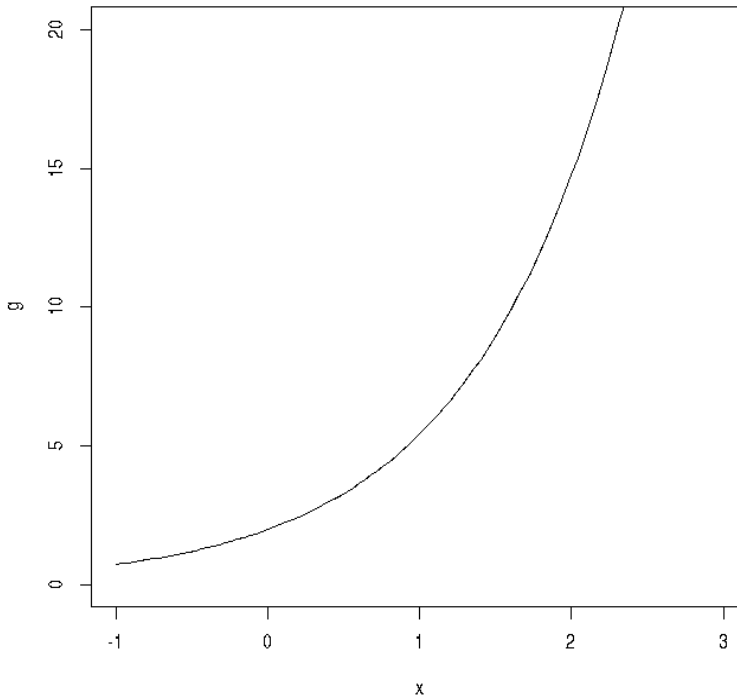
```
> h<-function(x){2*exp(x)}
```

luego graficamos la función en un rango deseado de ambas variables. Como deseamos resaltar el área entre los valores de x pertenecientes al intervalo [0,2]

realizamos la gráfica con los siguientes argumentos: los límites de la variable x los fijamos en el intervalo [-1,3], dado que engloba nuestro intervalo de interés y permitirá ver adecuadamente el área de interés. También ajustamos los límites de la variable y, de manera que la función quede contenida en el recuadro de la gráfica

```
> plot(g,-1,3,ylim=c(0,20))
```

hallamos



luego demarcamos el área con la función `polygon()`. Esta función incluye dos vectores que indican la sucesión de puntos de un polígono de la cantidad de lados deseado. Nuestro polígono irá recorriendo la línea de la función desde el valor 0 hasta el valor 2 y luego agregará dos puntos en el valor (2,0) y (0,0) para cerrar el polígono, al que le daremos color rojo.

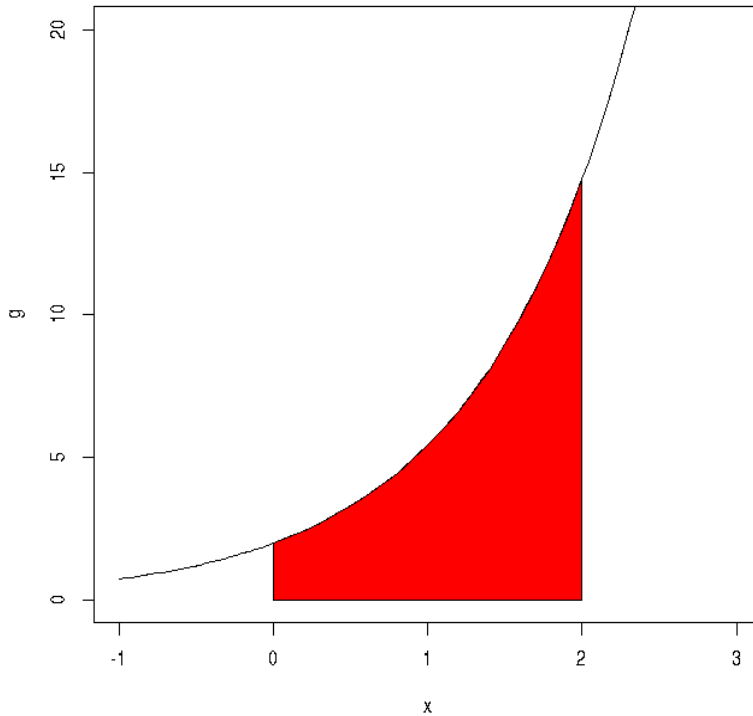
definimos un vector con los valores de x indicados

```
> x=c(seq(0,2,0.1))
```

y ahora definimos el polígono indicando los puntos.

```
> polygon(x=c(x,2,0),y=c(g(x),0,0),col='red')
```

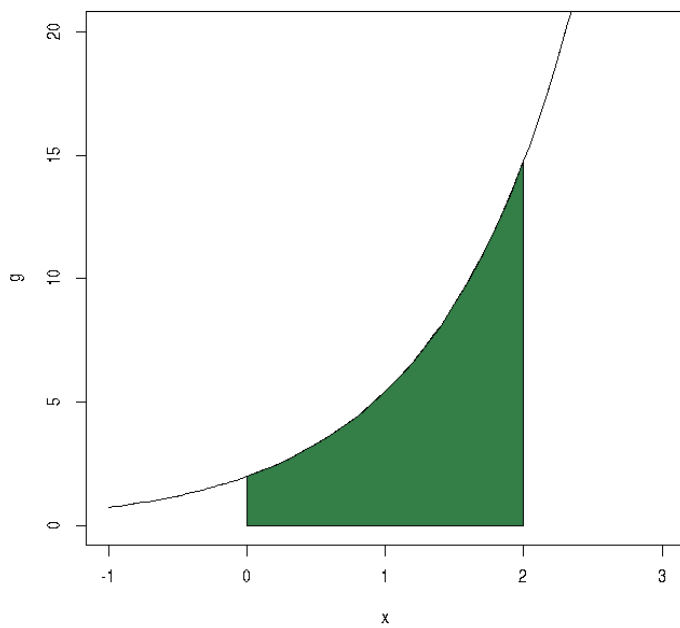
con lo que obtenemos



Podemos cambiar el color del area, modificando el color utilizado en el argumento col. O bien utilizando el argumento `rgb(a,b,c)`, donde a, b y c son número entre 0 y 1. Si a, b y c toman simultaneamente el valor 0, el área será negra. Si a, b y c toman el valor 1, el área será blanca. Si ellos toman valores donde cada uno es un cociente entre un número del intervalo [0,255] y 255, podrá lograr cualquier color, por ejemplo

```
> polygon(x=c(x,2,0),y=c(g(x),0,0),col=rgb(50/250,125/250,70/250))
```

obtendrá



## 9. Clase 9

### 9.1. Ecuaciones diferenciales

Las ecuaciones diferenciales son igualdades matemáticas que contiene como incógnita a una o más funciones y sus derivadas. La solución de una ecuación diferencial es la función o funciones que forman parte de ella. Las ecuaciones diferenciales son herramientas de mucha utilidad en la modelización matemática, especialmente en aquellos caso que tenemos variables que cambian su valor a lo largo del tiempo. No es el objetivo de este curso adquirir habilidades en la resolución de ecuaciones diferenciales sino interpretar su uso y conocer los mecanismos para llegar a la solución. La resolución de ecuaciones diferenciales suele ser un problema que en más de una oportunidad requiera del apoyo de un experto en el tema. Veremos por lo tanto casos sencillos tendientes a presentar el problema y encarar su planteo y resolución

#### 9.1.1. Resolución de ecuaciones diferenciales sin valores iniciales

Llamamos ecuación diferencial sin valores iniciales a aquellos casos en que tenemos una ecuación en que aparece una función y su derivada, pero la variable independiente y la función o su derivada no tiene asignado ningún valor.

En la ecuación siguiente tenemos un ejemplo sencillo de ecuación diferencial

$$y' = k * x$$

*Ecuación 9.1*

vemos que en la ecuación aparece la derivada primera de una función y la variable independiente  $x$ . La ecuación diferencial la podemos escribir

$$\frac{dy}{dx} = k * x$$

dado que la derivada queda representada por la recta tangente a la curva en un punto dado, es decir es la velocidad de cambio de la función  $y$  con respecto a la variación de  $x$ .

En este caso estamos en el caso más sencillo de resolución de ecuaciones diferenciales, que corresponde al mecanismo conocido como variables separables. Por lo tanto agrupamos  $y$  a la izquierda y  $x$  a la derecha

$$dy = k * x * dx$$

luego aplicamos integración a ambos miembros

$$\int dy = \int k * x * dx$$

resolvemos ambas integrales utilizando la tabla de primitivas

$$y = \frac{k * x^2}{2} + C$$

*Ecuación 9.2*

que es la familia de soluciones a nuestro problema. En la Ecuación 9.2 notará que al final aparece el sumando C. Este sumando representa una constante que tomará valores precisos cuando se le asignen a la función y la variable independiente lo que llamaremos valores iniciales, que será el tema siguiente.

Hemos hallado la ecuación de la función  $y$ , expresada en  $x$ . Podemos verificar si dicha solución es adecuada para nuestra ecuación diferencial. Si lo es, cuando reemplacemos los valores en la ecuación diferencial (Ecuación 9.1) debe satisfacerse la igualdad. Para lograr esto en primer lugar derivamos la Ecuación 9.2, ya que necesitamos  $y'$ .

$$y' = \frac{k}{2} * 2 * x + 0$$

que reordenando resulta

$$y' = k * x$$

que corresponde exactamente a la Ecuación 9.1. Lo que nos está indicando que la Ecuación 9.2, es la solución de nuestra ecuación diferencial. Puede resultarle extraño y ridículo el planteo realizado, pero comprenderá mejor el tema al ver sus aplicaciones. Por el momento nos concentraremos en su resolución sin priorizar su aplicación o interpretación.

Ejercicios

1) Ecuaciones diferenciales. Hallar  $y$ .

<sup>30</sup>-  $y' = 2$

<sup>31</sup>-  $xy' = a$

<sup>32</sup>-  $xy' = ay$

30.  $y = 2x + C$

31.  $y = a \ln x + C$

32.  $y = C \cdot x^a$

$$33- \quad bx^2 \frac{dy}{dx} = a(y+1)$$

$$34- \quad \frac{dy}{dx} = -k + ky$$

$$35- \quad y' e^x = 1$$

$$36- \quad \frac{dy}{dx} = A - kx$$

### 9.1.2. Resolución de ecuaciones diferenciales con valores iniciales

En el caso anterior resolvimos la ecuación diferencial, hallando una expresión matemática para nuestra función  $y$ , sin embargo en la expresión han quedado constantes sin un valor asignado, como es el caso de  $k$  y  $C$ , por lo cual hallamos una familia de soluciones. Cuando se conocen pares de valores de la función y la variable independiente, estos son llamados "valores iniciales" y pueden ser utilizados para hallar el valor de las constantes o "parámetros de la ecuación diferencial" y así obtener una única solución. Veamos un ejemplo.

Tenemos la ecuación diferencial

$$y' = A * y$$

*Ecuación 9.3*

procedemos a su resolución como hemos visto en el ítem anterior

$$\frac{dy}{dx} = A * y$$

---


$$33. \quad y = C \cdot e^{-\frac{a}{b} \cdot \frac{1}{x}} - 1$$

$$34. \quad y = C \cdot e^{kx} + 1$$

$$35. \quad y = e^{-x} + C$$

$$36. \quad y = Ax - \frac{kx^2}{2} + C$$

separamos las variables

$$\frac{dy}{y} = A * dx$$

aplicamos integración a ambos miembros y resolvemos

$$\int \frac{dy}{y} = \int A * dx$$

$$\ln y = A * \int dx$$

$$\ln y = A * x + C$$

aplicando propiedades de logaritmo reescribimos

$$y = e^{(A * x + C)}$$

*Ecuación 9.4*

Supongamos que conocemos que las condiciones iniciales, es decir valores reales de nuestro sistema son

condición 1:  $y=2$  cuando  $x=0$

condición 2:  $y=e$  cuando  $x=1$

reemplazamos la condición 1 en la Ecuación 9.4

$$\ln 2 = A * 0 + C$$

que resolviendo nos permite hallar el valor de C

$$\ln 2 = C$$

ahora aplicamos a la Ecuación 9.4 la condición 2

$$\ln e = A * 1 + \ln 2$$

resolvemos obteniendo el valor de la constante A

$$\ln \frac{e}{2} = A$$

reemplazamos en la Ecuación 9.4 los valores de C y A obtenidos, hallamos

$$y = e^{(\ln(\frac{e}{2}) * x + \ln 2)}$$

que sería la solución particular de nuestra ecuación diferencial, ajustada a los "valores iniciales" planteados. Es decir que esta ecuación ajusta una situación experimental en particular en la que se cumplen las condiciones iniciales 1 y 2.

Ejercicios

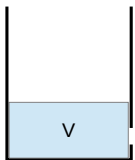
37.  $\frac{dy}{dx} = -ky + b$  , sabiendo que  $y = y_0$  cuando  $x = 0$

### 9.1.3. Planteo de la ecuación diferencial a partir de un problema

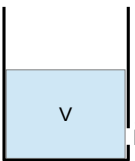
Sin duda que plantear la ecuación diferencial en un proceso biológico es el problema más complejo de la modelización y corresponde a empalmar el problema real que estamos estudiando con la matemática. No siempre será una ecuación diferencial la herramienta adecuada, pero si lo que tenemos en nuestro problema es una variación de una variable a lo largo del tiempo, sin duda será muy probable que sea la herramienta a utilizar.

Veamos un ejemplo sencillo, y luego iremos dando herramientas para resolver situaciones más complejas.

Supongamos que tenemos un recipiente con líquido que tiene en su parte inferior un orificio por el cual se vacía. Hemos observado que la variación del volumen ( $V$ ) del recipiente en función del tiempo es directamente proporcional al volumen que tiene el recipiente.



El problema nos indica que la velocidad a la que varía el volumen en función del tiempo es directamente proporcional al volumen que tiene el recipiente. La Figura 9.1 nos muestra esquemáticamente la situación. Conociendo que una relación directamente proporcional es una función lineal con ordenada al origen igual a 0, podemos plantear esto como



$$\frac{dV}{dt} = k * V$$



Donde  $dV/dt$  es la velocidad de cambio en el volumen y  $k$  es una constante de proporcionalidad. Tenemos además condiciones iniciales. Sabemos que comenzamos el proceso con el volumen máximo del recipiente. Es decir que a  $t=0$   $V=V_{max}$  el cual vale 20 litros.

Figura 9.1

$$k) \cdot e^{-k \cdot t}$$

Además conocemos que si dejamos escurrir líquido desde el **V<sub>max</sub>** durante 5 minutos, en el recipiente hallaremos 10 litros.

Estas son las dos condiciones iniciales que resumimos

condición 1:  $t=0$ ,  $V=20$  litros

condición 2:  $t=5$  minutos,  $V=10$  litros

En primer lugar resolvemos la ecuación diferencial aplicando los conceptos básicos utilizados anteriormente en esta clase

Separamos las variables

$$\frac{dV}{V} = k * dt$$

Aplicamos integración

$$\int \frac{dV}{V} = k * \int dt$$

obtenemos las primitivas

$$\ln V = k * t + c$$

reordenamos para tener una función de  $V$  en  $t$ .

$$V = e^{(k * t + c)}$$

*Ecuación 9.5*

reemplazamos la condición inicial 1 para comenzar a obtener nuestros parámetros:  $k$  y  $c$

$$20 = e^{(k * 0 + c)} = e^c$$

aplicamos logaritmo a ambos miembros para hallar  $c$

$$\ln 20 = c * \ln e = c$$

Reemplazamos  $c$  en la Ecuación 9.5

$$V = e^{(k * t + \ln 20)}$$

podemos reordenar

$$V = e^{(k*t)} * e^{(\ln 20)}$$

obteniendo la misma ecuación con mejor forma

$$V = 20 * e^{(k*t)}$$

*Ecuación 9.6*

Ahora reemplazamos la condición inicial 2 en la Ecuación 9.6

$$10 = 20 * e^{(k*5)}$$

trabajando algebraicamente obtenemos que

$$\frac{-\ln 2}{5} = k$$

y como consecuencia nuestra función que resulta de reemplazar este valor hallado en la Ecuación 9.6, es

$$V = 20 * e^{(-\ln \frac{2}{5} * t)}$$

Podemos llevar a R esta función y graficarla. Primero creamos la función

```
> funcionmm91<-function(t){20*exp(-log(2)/5*t)}
```

y luego graficamos con algunos argumentos para mejor presentación

```
> plot(funcionmm91,0,30,ylab="volumen, litros",xlab="tiempo, min",las=1,cex.axis=1.5,lwd=2,col=2)
```

La gráfica obtenida la vemos en la Figura 9.2

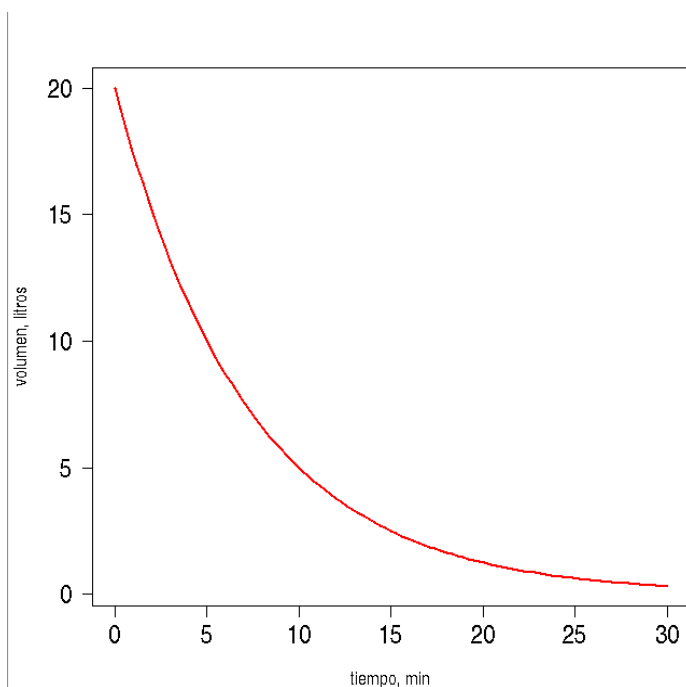


Figura 9.2

Esta gráfica nos está mostrando como varía el volumen de nuestro recipiente que a  $t=0$  tenía un volumen de 20 litros y lo dejamos vaciar a través de un orificio. Es decir que hallamos una ecuación que representa lo que estábamos observando en el recipiente y además lo podemos observar en una gráfica. Hemos obtenido un sencillo modelo matemático de una situación experimental.

### Ejercicios

<sup>38</sup>. La velocidad a la que disminuye la concentración de una sustancia A en un compartimiento es directamente proporcional a la concentración de la sustancia en dicho compartimiento. Plantear una ecuación diferencial que exprese dicho proceso y la función que ajusta la concentración de la sustancia A en función del tiempo.

<sup>39</sup>. La velocidad a la que aumenta el número de individuos (n) de una población bacteriana es directamente proporcional a la cantidad de bacterias en un dado tiempo. Plantear la ecuación diferencial y hallar la ley para la cantidad de individuos de la población en

---


$$38. \quad \frac{d[A]}{dt} = -k \cdot [A] \quad ; \quad [A] = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

función del tiempo sabiendo que al inicio de la observación ( $t = 0$ ) la población tiene  $10^6$  bacterias.

<sup>40</sup> La velocidad a la que se decrece la concentración de un reactivo A es directamente proporcional a su concentración elevada al cuadrado. Plantear la ecuación diferencial y hallar la ley de la concentración de la sustancia en función del tiempo, sabiendo que a  $t = 0$  la concentración de A es 0,5 M.

#### 9.1.4. Planteo de ecuaciones diferenciales con más de un proceso

Es habitual que enfrentemos variaciones de una variable pero sean más de uno los procesos involucrados. Veamos un ejemplo orientador al respecto. Supongamos que tenemos un compartimiento donde existe una sustancia A. La cantidad de esta sustancia en el compartimiento es afectada por cuatro procesos que numeramos de 1 a 4, Figura 9.3.

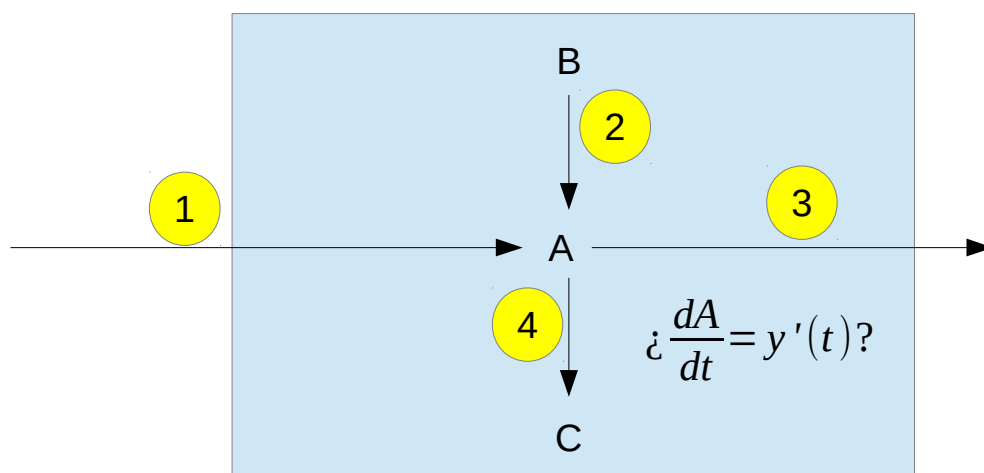


Figura 9.3

Algunos procesos contribuyen a elevar la cantidad de A en el compartimiento, por lo tanto ese proceso conduciría a que la derivada sea positiva, ya que si una función crece su derivada primera es positiva. Entre estos procesos tenemos el 1 y el 2. Contrariamente los procesos 3 y 4 tiende a descender el valor de A en el compartimiento, es decir su

$$39. \quad \frac{dn}{dt} = k \cdot n \quad ; \quad n = 10^6 \cdot e^{k \cdot t}$$

$$40. \quad \frac{d[A]}{dt} = -k \cdot [C]^2 \quad ; \quad \frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + k \cdot t$$

comportamiento sería decreciente y la derivada primera sería negativa.

A modo de ejemplo y sin interesarnos por ahora el origen podemos decir que los procesos tienen la siguiente característica

1: el ingreso de **A** es constante a lo largo del tiempo, es decir es independiente de la concentración que tiene **A** en el compartimiento u otro factor que no sea el tiempo.

2: la formación de **A** a partir de **B** es directamente proporcional a la concentración de **B** elevado al cuadrado.

3: la salida de **A** del compartimiento es directamente proporcional a la concentración de **A** en el compartimiento en estudio.

4: la salida de **A** por esta vía es independiente de la cantidad de **A** en el compartimiento.

Si pensáramos solo la variación de **A** en función del proceso 1, como el ingreso de **A** es constante, la cantidad de **A** aumentaría y su derivada debe ser positiva. Podemos escribir este término como

$$\frac{dA}{dt} = +k_1$$

el signo más se colocó para resaltar que  $dA/dt$  es positivo.  $k_1$  es una constante de proporcionalidad y por convención y conveniencia pensaremos que siempre ellas son positivas. Si procedemos de la misma manera con el proceso 2, escribiríamos

$$\frac{dA}{dt} = +k_2 * B^2$$

tiene otra constante de proporcionalidad y la derivada es directamente proporcional a **B** al cuadrado. Ya veremos de donde salen estos exponentes, que vamos anticipando llamaremos órdenes del proceso.

El proceso 3 que implica una salida de **A** del compartimiento hará decrecer la concentración y por lo tanto la derivada de **A** respecto del tiempo será negativa. Podemos escribir el proceso que es directamente proporcional a la concentración de **A** como

$$\frac{dA}{dt} = -k_3 * A$$

Como las constante las consideramos positivas, para que la derivada que se halla en el término de la izquierda sea negativa, debemos incorporar un signo menos, ya que **A** es una cantidad que es necesariamente mayor que cero.

Modelizamos el proceso 4, que es independiente de **A**, es decir la salida es constante, pero igualmente influye sobre **A** haciendo disminuir su valor. Así

$$\frac{dA}{dt} = -k_4$$

Dado que los cuatro procesos ocurren simultáneamente podemos escribir la velocidad de cambio de **A** en función del tiempo como

$$\frac{dA}{dt} = k_1 + k_2 * B^2 - k_3 * A - k_4$$

Que sería la ecuación diferencial que expresa la variación de **A** en el compartimiento en cuestión.

Si la vía 1 correspondiera a una ingreso en un solo momento (en bolo). Esa vía desaparecería ya que el ingreso produciría un cambio brusco y a partir de allí la sustancia **A** variaría como consecuencia de los procesos 2-3. En tal caso la ecuación resultaría

$$\frac{dA}{dt} = k_2 * B^2 - k_3 * A - k_4$$

Si además de estos, por ejemplo bloqueáramos totalmente el proceso de salida de **A** del compartimiento por la vía 3, la ecuación resultante sería

$$\frac{dA}{dt} = k_2 * B^2 - k_4$$

Si bloqueáramos ahora la salida por vía 4, la ecuación se reduciría a

$$\frac{dA}{dt} = k_2 * B^2$$

solo nos quedaría la formación a partir de **B** y, mientras exista **B** aumentará la concentración de **A**. Las estrategias planteadas se utilizarían de forma práctica o biológica para poder resolver dicha ecuación.

## Ejercicios

<sup>41</sup>. Se desea obtener una ecuación para la concentración de una sustancia C en función del tiempo que cumple con las siguientes condiciones

a- Se inyecta una cantidad fija de C.

b- La sustancia C no se produce a partir de otra sustancia.

c- La sustancia C no tiene unión a ninguna estructura ni molécula del compartimiento.

d- La sustancia C se metaboliza irreversiblemente dando como producto otra sustancia D de manera directamente proporcional a C

e- La sustancia C se excreta por una única vía, de manera independiente de la concentración de C.

<sup>42</sup>. Se desea obtener una ecuación para la concentración de una sustancia C en función del tiempo que cumple con las siguientes condiciones

a- Se inyecta una cantidad fija de C.

b- La sustancia C no se produce a partir de otra sustancia.

c- La sustancia C no tiene unión a ninguna estructura ni molécula del compartimiento.

d- La sustancia C se metaboliza irreversiblemente dando como producto otra sustancia D.

e- La sustancia C se excreta por una única vía de manera independiente de C

f- Existe la presencia de un inhibidor de la reacción de metabolización de C a D

---

41.  $\frac{dC}{dt} = k_1 * C - k_2$

42.  $\frac{dC}{dt} = -k_2$

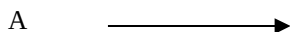
## 10. Clase 10

### 10.1. Aplicaciones de ecuaciones diferenciales

Las ecuaciones diferenciales son herramientas de la matemática de gran utilidad en diversas ramas de la modelización matemática, en especial de aquellos procesos cinéticos que presentan variaciones de los valores de variables a lo largo del tiempo. Un estudio cinético involucra por ejemplo hallar ecuaciones que representen los valores de las variables de un proceso teniendo al tiempo como variable independiente. En estos procesos se involucran mecanismos de absorción, excreción y metabolización, entre otros. Estos procesos se analizan desde el punto de vista de su velocidad y el valor de esta variable es influenciado habitualmente por otras variables. El peso de las segundas variables sobre las velocidades del proceso se conocen como órdenes de reacción.

#### 10.1.1. Ordenes de reacción y parámetro

El orden de un proceso es un número que indica el grado de participación de una variable en la velocidad de un proceso. La velocidad de un proceso en el que se consume o forma una sustancia A, puede o no depender de la concentración de esta sustancia. A continuación se desarrollarán las ecuaciones y el cálculo de los órdenes de reacción para situaciones en que la velocidad depende solamente de la concentración de la sustancia A. Si el compuesto A se transforma en otra sustancia, este proceso se puede representar por la siguiente reacción



1- Orden cero:

La ley de acción de masas para la velocidad directa de reacción queda expresada por la ecuación

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^n$$

donde  $dA/dt$  representa la velocidad de cambio de la cantidad de A en función del tiempo, k es un parámetro y  $n$  es el orden del proceso

Si el orden del proceso es cero, la ecuación anterior resulta

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^0 = -k$$

despejando y aplicando integral

$$\int dA = -k * \int dt$$

resolviendo esta ecuación diferencial obtenemos

$$A = -k * t + C$$

Si a  $t=0$ ,  $A=A_0$ , resulta

$$A_0 = -k * 0 + C$$

de donde

$$C = A_0$$

y por ende

$$A = A_0 - k * t$$

que es la ley que relaciona la concentración de A en un dado tiempo, con su concentración a tiempo cero ( $A_0$ ), la constante de velocidad ( $k$ ) y el tiempo. Esta ecuación indica que si un proceso es de orden cero, la concentración de la sustancia A variará linealmente con el tiempo.

En la Tabla 1 se muestran una serie de valores de concentración para la sustancia A a lo largo del tiempo. Evidentemente A se está transformando en otra sustancia y por lo tanto descende su concentración. Si el orden del proceso respecto de A fuera cero se deberían ajustar los datos de A y t con una recta, dado que como se observa en la ecuación obtenida anteriormente para orden cero, es una función lineal.

t	A
0.0	85.0
5.0	76.0
10.0	64.0
15.0	60.0
20.0	56.0
25.0	50.0
30.0	45.0
35.0	40.0
40.0	33.0

Tabla 1

introduzcamos los datos de la tabla que puede hallar en la tablamm101 de la planilla de cálculo tablamm-10.ods/xls.

```
> tablamm101<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

comprobamos el ingreso de los datos

```
> tablamm101
```

```
  t A
1 0 85
2 5 76
3 10 64
4 15 60
5 20 56
6 25 50
7 30 45
8 35 40
9 40 33
```

realizamos el ajuste lineal utilizando la función `lm()` y lo asignamos a un objeto

```
> lmtablamm101<-lm(A~t,data=tablamm101)
```

pedimos un resumen del análisis con `lm()`

```
> summary(lmtablamm101)
```

que obtenemos

Call:

```
lm(formula = A ~ t, data = tablamm101)
```

Residuals:

```
    Min     1Q  Median     3Q     Max
```

-4.6889 -0.5556 0.5778 1.2444 4.1778

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	80.82222	1.67450	48.27	4.29e-10 ***
t	-1.21333	0.07034	-17.25	5.41e-07 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 2.724 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.977, Adjusted R-squared: 0.9737

F-statistic: 297.5 on 1 and 7 DF, p-value: 5.408e-07

por el valor de R-squared= 0.977 y el p-value, el modelo lineal es adecuado para ajustar A en función de  $t$ . Por esta razón podemos aceptar que la desaparición de A en función del tiempo es un proceso de orden cero

Para verificarlo visualmente, podemos construir la función con los parámetros arrojados por `lm()`

```
> funcionmm101<-function(t){-1.21333*t+80.82222}
```

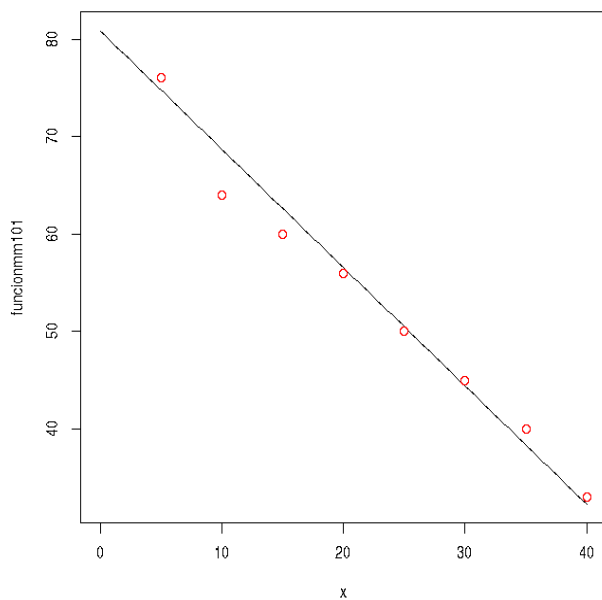
luego graficamos la función

```
> plot(funcionmm101,0,40)
```

y colocamos los puntos de nuestra tabla

```
> points(tablamm101$t,tablamm101$A,col='red')
```

obtenemos así la gráfica



Por lo tanto podemos decir que nuestros datos siguen una cinética de orden cero, pudiendo escribir la ecuación diferencial como

$$\frac{dA}{dt} = -1.21333 * A^0$$

$$\frac{dA}{dt} = -1.21333$$

Si al aplicar el modelo lineal R-squared no fuera cercano a 1 o a -1 y el valor de p-value fuera mayor a 0.05, no sería 0 el orden del proceso.

2- Orden uno:

La ley de acción de masas para la velocidad directa de reacción, como vimos anteriormente queda expresada por la ecuación general

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^p$$

si el orden del proceso es uno, resulta

$$\frac{dA}{dt} = -k * A$$

resolviendo esta ecuación diferencial

$$\frac{dA}{A} = -k * dt$$

$$\int \frac{dA}{A} = -k * \int dt$$

obtenemos

$$\ln A = -k * t + C$$

si a  $t=0$ ,  $A=A_0$ , resulta

$$\ln A_0 = -k * 0 + C = C$$

por lo tanto

$$C = \ln A_0$$

entonces

$$\ln A = \ln A_0 - k * t$$

expresando la función anterior como  $A$  en función de  $t$

$$A = A_0 * e^{-k * t}$$

Esta ley relaciona el logaritmo de  $A$  en un dado tiempo, ( $\ln A$ ), con el logaritmo de su concentración a tiempo cero ( $\ln A_0$ ), la constante de velocidad y el tiempo. Esta ecuación indica que si un proceso es de orden uno, el logaritmo de la concentración de la sustancia  $A$  variará linealmente con el tiempo o bien que la concentración de  $A$  descenderá como una función exponencial del tiempo.

En la Tabla 2 se muestra una serie de valores de concentración y sus logaritmos para la sustancia  $A$  a lo largo del tiempo.

t	A
0.0	85.0
5.0	60.0
10.0	42.5
15.0	25.0
20.0	21.25
25.0	13.0
30.0	10.75
35.0	7.0
40.0	5.35

*Tabla 2*

Verificaremos primero si dichos datos se ajustan a un orden cero, para esto planteemos un modelo lineal donde relacionamos A con T

introducimos la `tablamm102` en R

```
> tablamm102<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

verificamos el ingreso de los datos

```
> tablamm102
```

```
  t  A
1 0 85.00
2 5 60.00
3 10 42.50
4 15 25.00
5 20 21.25
6 25 13.00
7 30 10.75
8 35  7.00
9 40  5.35
```

aplicamos un modelo de lineal de A en función de t, es decir para investigar si el orden es cero.

```
> lmtablamm102<-lm(A~t,data=tablamm102)
```

pedimos un resumen del `lm()`

```
> summary(lmtablamm102)
```

Call:

```
lm(formula = A ~ t, data = tablamm102)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-14.2017	-7.7650	-0.7967	4.6717	18.1433

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	66.8567	6.8928	9.700	2.62e-05 ***
t	-1.8437	0.2896	-6.367	0.000379 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 11.21 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8528, Adjusted R-squared: 0.8317

F-statistic: 40.54 on 1 and 7 DF, p-value: 0.0003789

El valor de R-squared es 0.8528. Aunque no muy elevado, como el p-value es menor de 0.05, podríamos asumir que los datos siguen una función lineal, por lo que podríamos asumir que el orden es cero y el parámetro k toma el valor -1.8437.

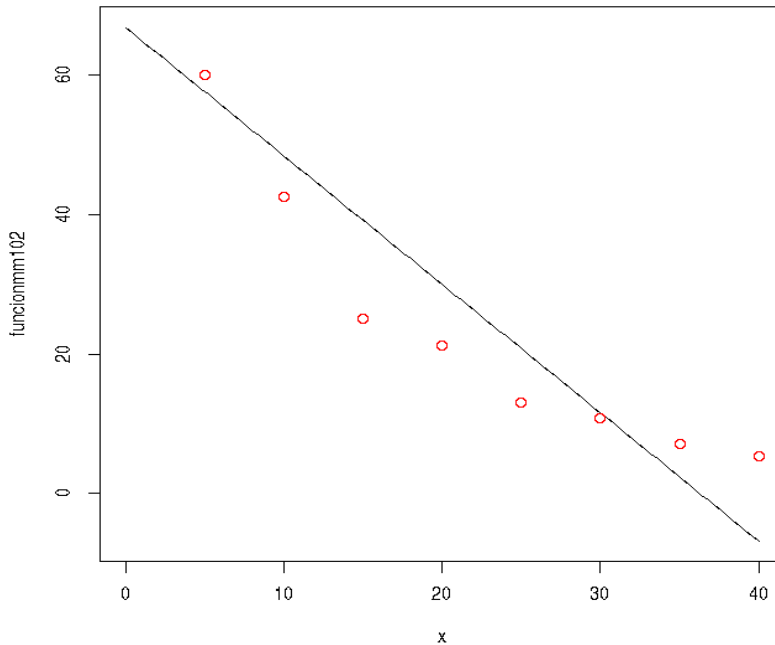
analizamos el problema graficamente. Construimos la función

```
> funcionmm102<-function(t){66.8567-1.8437*t}
```

y graficamos la función y los puntos experimentales.

```
> plot(funcionmm102,0,40)
```

```
> points(tablamm102$t,tablamm102$A,col='red')
```



vemos un ajuste de la recta a los datos experimentales, aunque éste no muy bueno, existiendo rachas de valores a un lado y al otro de la recta. Esto nos está indicando que el orden cero, quizás no es le mejor orden del proceso respecto de A

Probamos por lo tanto el ajuste  $\log A$  vs  $t$ , que nos podría indicar que el orden 1 es una mejor elección.

```
> lmtablammm102<-lm(log(A)~t,data=tablammm102)
> summary(lmtablammm102)
```

Call:

```
lm(formula = log(A) ~ t, data = tablammm102)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.14348	-0.02240	0.03497	0.04251	0.05808

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.407887	0.048482	90.92	5.13e-12 ***
t	-0.069702	0.002037	-34.22	4.71e-09 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

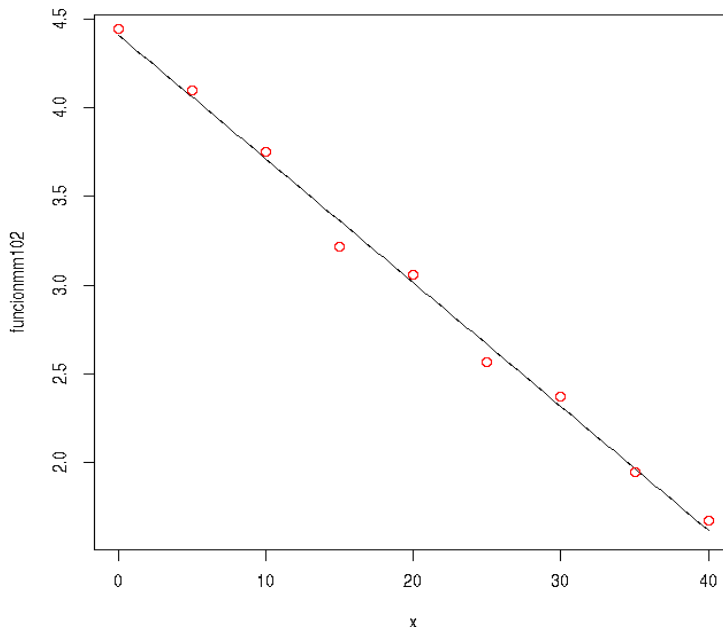
Residual standard error: 0.07888 on 7 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9941, Adjusted R-squared: 0.9932  
 F-statistic: 1171 on 1 and 7 DF, p-value: 4.714e-09

El ajuste de  $\log A$  vs  $t$  es mejor que el de  $A$  vs  $t$ , nos inclinamos entonces por un orden 1. En base a los parámetros la ecuación resulta

$$\ln A = 4.407887 - 0.069702 * t$$

si quisiéramos verificar lo hallado en forma gráfica, construimos nuestra función

```
> funcionmm102<-function(t){4.407887-0.069702*t}
> plot(funcionmm102,0,40)
> points(tablamm102$t,log(tablamm102$A),col='red')
```



vemos que el ajuste es mejor, no existiendo rachas de valores a ambos lados de la recta, tan marcados como ocurría con el ajuste con orden cero.

3- Orden dos:

Cuando el orden de reacción es 2, la ley de acción de masas para la velocidad directa de reacción queda expresada por la ecuación

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^2$$

de la resolución de esta ecuación diferencial obtenemos

$$\frac{dA}{A^2} = -k * dt$$

integramos

$$\int \frac{dA}{A^2} = -k * \int dt$$

$$\int A^{-2} * dA = -k * \int dt$$

$$\frac{A^{-1}}{-1} = -k * t$$

$$\frac{-1}{A} = -k * t + C$$

condiciones iniciales

$$t=0, A = A_0$$

$$\frac{-1}{A_0} = -k * 0 + C = C$$

$$\frac{-1}{A} = \frac{-1}{A_0} - k * t$$

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} + k * t$$

Esta ley relaciona la recíproca de A en un dado tiempo, (1/A), con la recíproca de su concentración a tiempo cero (1/A<sub>0</sub>), la constante de velocidad y el tiempo. Esta ecuación indica que si un proceso es de orden dos, la recíproca de la concentración de la sustancia A variará linealmente con el tiempo.

Por lo tanto si al graficar la recíproca de la concentración de la sustancia A en función del tiempo, la regresión lineal es estadísticamente significativa, el orden del proceso será 2 y la constante de velocidad será la pendiente de la curva.

#### 4- Órdenes superiores

De manera similar a lo planteado para órdenes cero, uno y dos, se puede plantear para un orden genérico  $n$ . En este caso la ecuación diferencial es

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^n$$

$$\frac{dA}{A^n} = -k * dt$$

$$A^{-n} * dA = -k * dt$$

integramos

$$\int A^{-n} * dA = -k * \int dt$$

resolvemos

$$\frac{A^{-n+1}}{-n+1} = -k * t + C$$

reordenamos

$$\frac{1}{A^{n-1} * (-n+1)} = -k * t + C$$

con condiciones iniciales

$$t=0, A=A_0$$

$$\frac{1}{A_0^{n-1} * (-n+1)} = -k * 0 + C = C$$

cuya resolución conduce a la siguiente ecuación

$$\frac{1}{A^{n-1} * (-n+1)} = -k * t + \frac{1}{A_0^{n-1} * (-n+1)}$$

reordenamos

$$\frac{1}{A^{n-1}} = -k(-n+1) \cdot t + \frac{1}{A_0^{n-1}}$$

que finalmente queda como ecuación general para orden n

$$\frac{1}{A^{n-1}} = \frac{1}{A_0^{n-1}} + k(n-1) \cdot t$$

Esta ecuación puede ser utilizada para investigar cualquier orden. Si el proceso tuviera orden 4, la regresión lineal entre la función  $1/[A]^3$  y el tiempo debe ser significativa y la pendiente de esa recta será igual a  $3k$ .

### 10.1.2. Resumen del procedimiento para hallar el orden

Una vez obtenidos los datos de concentración para cada tiempo se analizan las siguientes regresiones lineales.

- ◆ concentración vs. tiempo
- ◆ ln de concentración vs tiempo
- ◆ 1/concentración vs tiempo
- ◆ 1/concentración<sup>n-1</sup> vs tiempo

Aquella regresión que mejor ajuste los datos indicará el orden del proceso, de acuerdo al siguiente cuadro:

Mejor ajuste de los datos	orden	ecuación de concentración
concentración vs. tiempo	cero	$[A] = [A_0] - k \cdot t$
ln concentración vs tiempo	uno	$\ln[A] = \ln[A_0] - k \cdot t$
1/concentración vs. tiempo	dos	$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A_0]} + k \cdot t$
1/concentración <sup>n-1</sup> vs tiempo	n	$\frac{1}{[A]^{n-1}} = \frac{1}{[A_0]^{n-1}} + (n-1) \cdot k \cdot t$

La pendiente de la recta de regresión permite obtener la constante de velocidad del proceso analizado. Con este valor es posible calcular el tiempo de vida media del compuesto analizado, es decir el tiempo que tarda la sustancia en disminuir su concentración a la mitad del valor inicial.

Las expresiones de los tiempos de vida media se deducen a partir de las ecuaciones de la tabla anterior, valorizando  $t = t_{1/2}$  y  $[A] = [A_0]/2$ . En la tabla siguiente se muestran las expresiones finales para los  $t_{1/2}$  para los diferentes órdenes

orden	$t_{1/2}$
cero	$\frac{[A_0]}{2 \cdot k}$
uno	$\frac{\ln 2}{k}$
dos	$\frac{1}{[A_0] \cdot k}$
n	$\frac{2^{n-1} - 1}{[A_0]^{n-1} \cdot (n - 1) \cdot k}$

#### 10.1.2.1. Un ejemplo sobre órdenes de proceso

Podemos plantear una ecuación diferencial conociendo que la velocidad a la que cambia la concentración de una sustancia A en el tiempo en un compartimiento depende de diversos términos:

- 1- Ingreso: independiente de la concentración de A. Indica que el orden es cero respecto A
- 2- Formación a partir de otra sustancia B, en forma directamente proporcional al cuadrado de la sustancia B. Indica que el orden del proceso respecto de B es 2.
- 3- Salida de A del compartimiento de manera directamente proporcional a la sustancia A, indicando orden 1.
- 4- Transformación en una sustancia C de manera independiente de A y C. El orden del proceso respecto de A y C es cero.

Podemos representar los items anteriores en el siguiente gráfico

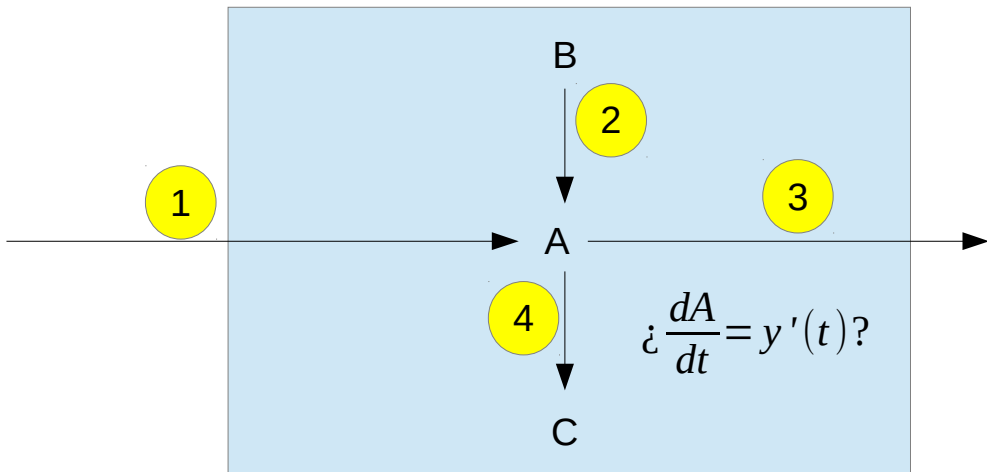


Figura 10.1. Planteo de un problema de cambio de la concentración de A en un compartimiento.

La variación de A respecto del tiempo queda expresado en la ecuación diferencial

$$\frac{dA}{dt} = k_1 * A^0 + k_2 * B^2 - k_3 * A - k_4$$

Podemos decir que el orden del proceso 1 es cero,

el del proceso 2 es 2

el del procesos 3 es 1

el del proceso 4 es cero.

¿Como se estiman o calculan en la práctica esos órdenes?. Una buena noticia es que en la biología lo más común es el orden 1, especialmente en aquellos procesos que no han sufrido algún tipo de saturación, como podría ocurrir con un transportador o una enzima. En cambio son de orden cero en el caso que sufran saturación. Es raro hallar procesos con ordenes diferentes a 1 y 0, y en el caso de existir, muchas veces se pueden aproximar a los ordenes mencionados que permiten una mejor explicación del fenómeno.

Ejercicios

respuestas al pie de la página

<sup>43</sup> . La tabla 4 muestra la disminución de la concentración de una sustancia por descomposición a lo largo de un experimento. Considerando que la descomposición es la única vía de desaparición. Calcular el orden del proceso.

tabla 4	
x	y
0	705
10	398
20	101

<sup>44</sup>. La tabla 5 muestra la disminución de la concentración de una sustancia en un compartimiento por una única vía de excreción. Calcular el orden del proceso de excreción.

tabla 5	
x	y
0	700
10	346
20	177

<sup>45</sup>. La tabla 6 muestra la variación de la concentración de un reactivo en un reactor. Calcular el orden del proceso de desaparición de la sustancia.

tabla 5	
x	y
0	0,489
10	0,255
20	0,169

## 10.2. Transformadas de Laplace

Las transformadas de Laplace son un recurso para la resolución de ecuaciones diferenciales

---

43. cero

44. uno

45. dos

que resulta muy adecuado para algunos problemas que tendremos en el futuro. Se trata de transformar la ecuación diferencial en una ecuación algebraica, resolver ésta y luego realizar la antitransformada para obtener la función, solución de la ecuación diferencial. Para ello utilizaremos una tabla de transformadas útiles para los casos que se nos presentarán. En la primera columna se da la función y en segunda su transformada.

	función	transformada de Laplace
1	1	$1/s$
2	k	$k/s$
3	Q	$\bar{q}$
4	$\frac{dQ}{dt}$	$s\bar{Q} - Q_0$
5	$e^{-at}$	$\frac{1}{s+a}$
6	$A \cdot e^{-at}$	$\frac{A}{s+a}$
7	$A \cdot t \cdot e^{-at}$	$\frac{A}{(s+a)^2}$
8	K · Q	$k \cdot \bar{Q}$
9	t	$\frac{1}{s^2}$
10	$\frac{A}{a} (1 - e^{-a \cdot t})$	$\frac{A}{s(s+a)}$
11	$\frac{A}{b-a} (e^{-a \cdot t} - e^{-b \cdot t})$	$\frac{A}{(s+a)(s+b)}$
12	$\frac{(B - Aa)e^{-a \cdot t} - (B - Ab)e^{-b \cdot t}}{b - a}$	$\frac{As + B}{(s+a)(s+b)}$
13	$\frac{A}{a} t - \frac{A}{s^2} (1 - e^{-a \cdot t})$	$\frac{A}{s^2 \cdot (s+a)}$

14	$A \left[ \frac{1}{a \cdot b} + \frac{1}{a(a-b)} e^{-a \cdot t} - \frac{1}{b(a-b)} e^{-b \cdot t} \right]$	$\frac{A}{s \cdot (s+a) \cdot (s+b)}$
----	--	---------------------------------------

Veremos la aplicación con un ejemplo sencillo. Supongamos la siguiente ecuación diferencial que obviamente podríamos resolver con la metodología ya aprendida.

$$\frac{dA}{dt} = -3 * A$$

*Ecuación 10.1*

utilizando la transformada 4 y 8 que mostramos a continuación y fueron extraídas de la tabla anterior

$$4. \quad \frac{dQ}{dt} \dots\dots\dots s \bar{Q} - Q_0$$

$$8. \quad K \cdot Q \dots\dots\dots K \cdot \bar{Q}$$

la metodología consiste en reemplazar las estructuras de la ecuación por estructuras de la columna de la derecha buscando las estructuras a reemplazar en la columna de la izquierda.

Vemos que el término de la izquierda de la ecuación se asemeja a la expresión de la línea 4. En este caso reemplazamos (con los cambios adecuados) por la expresión de la derecha de la misma línea. Lo mismo hacemos con el término de la derecha. A con un guión superior lo llamamos transformada de la función

$$s * \bar{A} - A_0 = -3 * \bar{A}$$

reordenamos, agrupando la transformada de A a la izquierda

$$s * \bar{A} + 3 * \bar{A} = A_0$$

obtenemos factor común transformada de A

$$\bar{A} * (s+3) = A_0$$

despejamos transformada de A

$$\bar{A} = \frac{A_0}{(s+3)}$$

Cuando logramos despejar la transformada de A, aplicamos la antitransformada, es decir comparando cada parte de la ecuación, con la columna de la derecha reemplazamos por la expresión de la izquierda. Para este caso centramos la atención en las filas 3 y 6

3. Q.....  $\bar{Q}$

6.  $A \cdot e^{-a t}$  .....  $\frac{A}{s+a}$

reemplazando

$$A = A_0 * e^{(-3*t)}$$

*Ecuación*

10.2

que es la solución a nuestro problema. Si realmente es así derivando y reemplazando en la ecuación original debería satisfacerse la igualdad

$$\frac{dA}{dt} = A_0 * e^{(-3*t)} * (-3)$$

*Ecuación 10.3*

reemplazamos la Ecuación 10.3 y Ecuación 10.2 en la ecuación original (Ecuación 10.1),

$$\frac{dA}{dt} = -3 * A$$

resultando

$$A_0 * e^{(-3*t)} * (-3) = -3 * (A_0 * e^{(-3*t)})$$

que satisface la igualdad. Por lo tanto hemos hallado la solución a la ecuación diferencial sin necesidad de resolver una integral, cosa que ha realizado la transformada.

Volveremos sobre el tema en clases posteriores, haciendo uso de esta herramienta.

## 11. Clase 11

### 11.1. Ecuaciones diferenciales en R

A continuación veremos una introducción de como resolver algunos aspectos de ecuaciones diferenciales utilizando R. En primer lugar veremos planteos de ecuaciones diferenciales y la gráfica de sus funciones, suponiendo que conocemos los valores de los parámetros.

#### 11.1.1. Gráfica de una ecuación diferencial con una variable

Disponemos de un contenedor en que infundimos a velocidad constante fluoruro ( $k_i = 5 \text{ mg/min}$ ) y del mismo contenedor se va eliminando el fluoruro por un proceso que es dependiente de concentración con una constante de eliminación  $k_e = 0.1 \text{ min}^{-1}$ .

El siguiente modelo muestra una representación esquemática del problema que enfrentamos

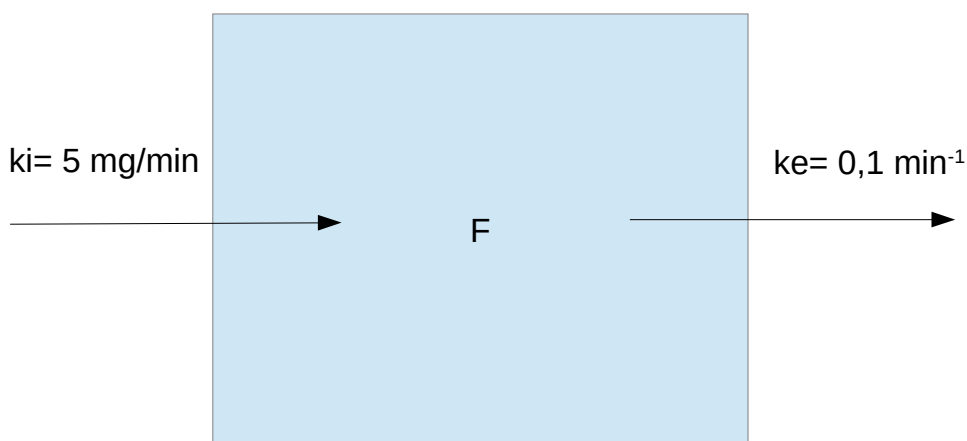


Figura 11.1

Planteamos la ecuación diferencial suponiendo que el orden del proceso de ingreso gobernado por  $k_i$  es cero, debido a que en el planteo se considera la velocidad de infusión constante. Por otra parte suponemos que el orden es uno para el proceso de egreso cuyo parámetro es  $k_e$

$$\frac{dF}{dt} = k_i - k_e * F$$

Ecuación 11.1.

introducción de la ecuación en R, creando una función. Esta función utilizará valores iniciales que se hallan en el vector inicial1 y valores de parámetros que se hallan en el vector parametros1 que definiremos más adelante

```
> funcionmm111<-function(t,inicial1,parametros1){
with(as.list(c(inicial1,parametros1)),{
dF<-ki-ke*F
list(c(dF))
})
}
```

funcionmm111: nombre de la ecuación diferencial

t: tiempo

inicial1: nombre del vector con los valores iniciales de las variables. En este caso partimos con el recipiente sin fluoruro por lo tanto definimos e inicializamos el vector inicial1

```
>inicial1<-c(F=0)
```

parametros1: vector con los valores de los parámetros de la ecuación.

```
>parametros1<-c(ki=5,ke=0.1)
```

definimos con la función seq() un intervalo de tiempo para obtener la gráfica, supongamos 0-100 min, en intervalos de 0.01 min

```
> tiempo1<-seq(0,100,0.01)
```

generamos los valores de la variable F en función de t, para ello utilizamos la función ode() de la biblioteca deSolve. Si no tiene la biblioteca mencionada en su espacio de trabajo instálela y luego cárguela para llevar adelante el trabajo

```
> library(deSolve)
```

La función ode() tiene como argumento el vector con los valores iniciales, el tiempo que utilizaremos para la gráfica, la función definida y los parámetros, asignados a los argumentos y, times, func y parms, respectivamente. El resultado de la función ode() lo almacenamos en el objeto out1

```
> out1<-ode(y=inicial1,times=tiempo1,func=funcionmm111,parms=parametros1)
```

la función ode() genera una matriz de valores de F en función de t, que pueden ser graficados fácilmente.

Comprobamos que los datos en out1 son una matriz

```
> is.matrix(out1)
```

```
[1] TRUE
```

Si bien podríamos trabajar con la matriz out1, para mejor manejo conviene llevar la información del objeto out1, al formato de data.frame, con el siguiente código

```
> out1<-as.data.frame(out1)
```

comprobamos que out1 ahora es data.frame

```
> is.data.frame(out1)
```

```
[1] TRUE
```

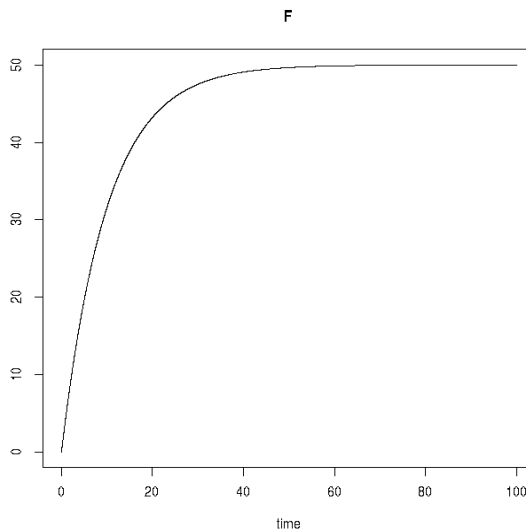
observamos el formato del data.frame

```
> head(out1)
```

```
  time      F
1 0.00 0.00000000
2 0.01 0.04997501
3 0.02 0.09990007
4 0.03 0.14977524
5 0.04 0.19960054
6 0.05 0.24937605
```

podemos graficar los valores de F en función del tiempo. Recuerde que para seleccionar una columna de un data.frame debe colocar el nombre del data frame y separado por el signo \$, el nombre de la columna.

```
> plot(out1$time,out1$F,ty="l")
```



Los parámetros de la ecuación que tenemos almacenados en el objeto parametros1 son

```
> parametros1
```

```
ki ke
```

```
5.0 0.1
```

So decidimos modificarlos por ejemplo cambiando el valor de ke, resulta

```
> parametros1<-c(ki=5,ke=0.2)
```

si queremos la gráfica de F deberíamos nuevamente ejecutar ode()

```
> out1<-ode(y=inicial1,times=tiempo1,func=funcionmm111,parms=parametros1)
```

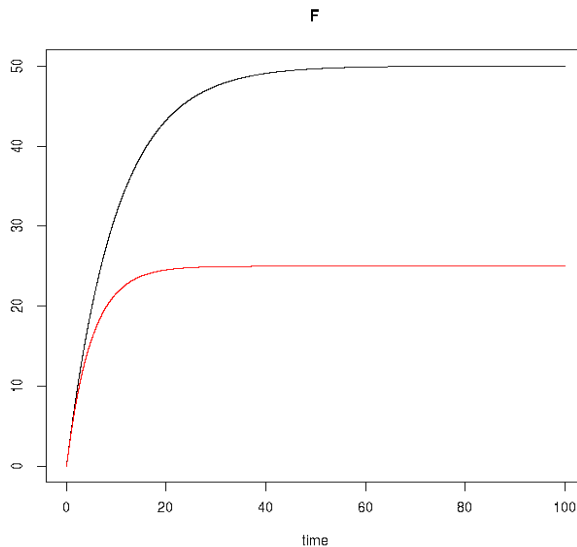
```
>out1<-as.data.frame(out1)
```

```
> head(out1)
```

```
time      F
1 0.00 0.00000000
2 0.01 0.04995005
3 0.02 0.09980030
4 0.03 0.14955095
5 0.04 0.19920217
6 0.05 0.24875420
```

podemos graficar ahora los nuevos valores sobre la gráfica anterior utilizando las funciones lines() y spline()

```
> lines(spline(out1$time,out1$F),col="red")
```



### 11.1.2. Gráfica de una ecuación diferencial con dos variables

Supongamos un sistema de dos compartimientos.

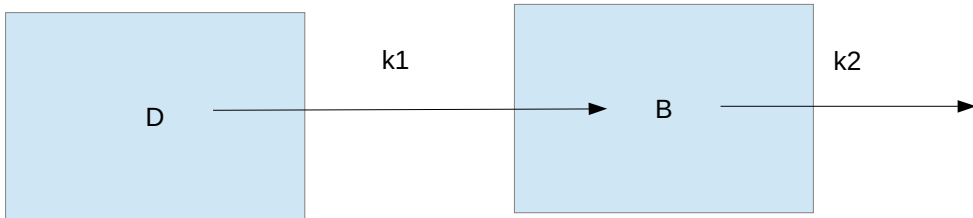


Figura 11.2

El compartimiento de la izquierda tiene una sustancia D en una concentración inicial  $D_0=100$  y la sustancia D pasa al compartimiento de la derecha en función de la concentración en su compartimiento. La constante de velocidad de este proceso la llamamos  $k_1$ . Supongamos que inicialmente en el compartimiento de la izquierda tenemos una concentración tal que  $D_0=100$ . La concentración de la sustancia en el compartimiento de la derecha la llamaremos, a fines de evitar confusiones: B, inicialmente tiene  $B_0=0$ . La salida de la sustancia B del compartimiento de la derecha es proporcional a su concentración y su constante de velocidad la llamamos  $k_2$ .

Así podemos plantear una ecuación diferencial para cada compartimiento

$$\frac{dD}{dt} = -k_1 * D$$

Ecuación 11.2.

$$\frac{dB}{dt} = k_1 * D - k_2 * B$$

Ecuación 11.3.

creamos una función con las dos ecuaciones diferenciales. Esta función utilizará los valores iniciales de D y B y además los valores de los parámetros  $k_1$  y  $k_2$

```
> funcionmm112<-function(t,inicial2,parametros2){
with(as.list(c(inicial2,parametros2)),{
dD=-k1*D
dB=k1*D-k2*B
```

```
list(c(dD,dB))
})
}
```

Aclaración: al definir las derivadas y como en cualquier uso de R, para asignar valores a un objeto podemos utilizar `<-` o `=`. Se recomienda el signo `=`, para evitar equivocaciones de signos introducidas por el guión del símbolo `<-`.

definimos el vector inicial2, con los valores iniciales

```
> inicial2<-c(D=100,B=0)
```

definimos el vector con los parámetros, que asignamos en este momento arbitrariamente

```
> parametros2<-c(k1=0.7,k2=0.1)
```

definimos el intervalo de tiempo durante el cual simularemos el proceso

```
> tiempo2<-seq(0,70,0.01)
```

simulamos la situación planteada asignándola a un objeto out2

```
out2<-ode(y=inicial2,times=tiempo2,func=funcionmm112,parms=parametros2)
```

el objeto out2 es una matriz, la pasamos a data.frame

```
> out2<-as.data.frame(out2)
```

y miramos las primeras tres líneas del data.frame para asegurarnos de su formato

```
> head(out2,3)
```

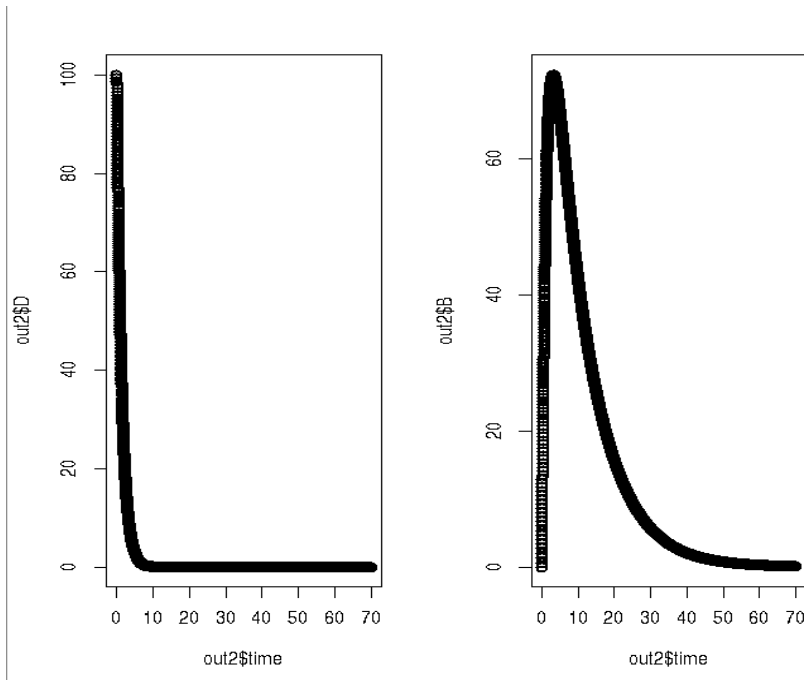
```
time    D    B
1 0.00 100.00000 0.0000000
2 0.01  99.30244 0.6972068
3 0.02  98.60975 1.3888536
```

Podemos graficar el comportamiento de D y B, en una matriz de gráficos

```
> layout(matrix(1:2,1,2))
```

```
> plot(out2$time,out2$D, lwd=2)
```

```
> plot(out2$time,out2$B, lwd=2)
```



Si deseamos graficar los datos en dos gráficos simultáneos y con diferentes valores de parámetros podemos calcular con nuevos valores de parámetros. Para este análisis cambiamos arbitrariamente  $k_1$  de 0.7 a 0.4

```
> parametros2<-c(k1=0.4,k2=0.1)
```

generamos otro objeto out2p

```
> out2p<-ode(y=inicial2,times=tiempo2,func=funcionmm112,parms=parametros2)
```

pasamos a data.frame

```
> out2p<-as.data.frame(out2p)
```

observamos

```
> head(out2p)
```

time	D	B
1 0.00	100.00000	0.0000000
2 0.01	99.60080	0.3990018
3 0.02	99.20319	0.7960120
4 0.03	98.80717	1.1910386
5 0.04	98.41273	1.5840900
6 0.05	98.01987	1.9751749

ahora graficamos los valores con los primeros parámetros en negro y con los segundos en

rojo

primero creamos una matriz de gráficos que aloje los dos gráficos deseados

```
> layout(matrix(1:2,1,2))
```

graficamos los valores de D con ambos valores de parámetros

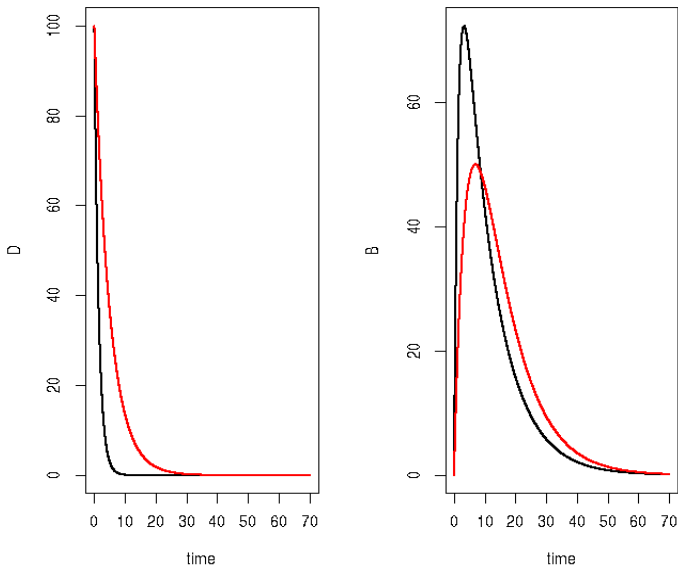
```
> plot(out2$time,out2$D,ty="l")
```

```
> lines(spline(out2p$time,out2p$D),col="red")
```

en el otro gráfico colocamos los valores de B con ambos valores de parámetros

```
> plot(out2$time,out2$B,ty="l")
```

```
> lines(spline(out2p$time,out2p$B),col="red")
```



### 11.1.3. Gráfica de una ecuación diferencial con tres variables

Ejemplo de un modelo de tres compartimientos, en los cuales se halla una sustancia que se intercambia con los otros compartimientos. Llamamos A a la concentración en uno de ellos, B y C a la concentración en los otros.

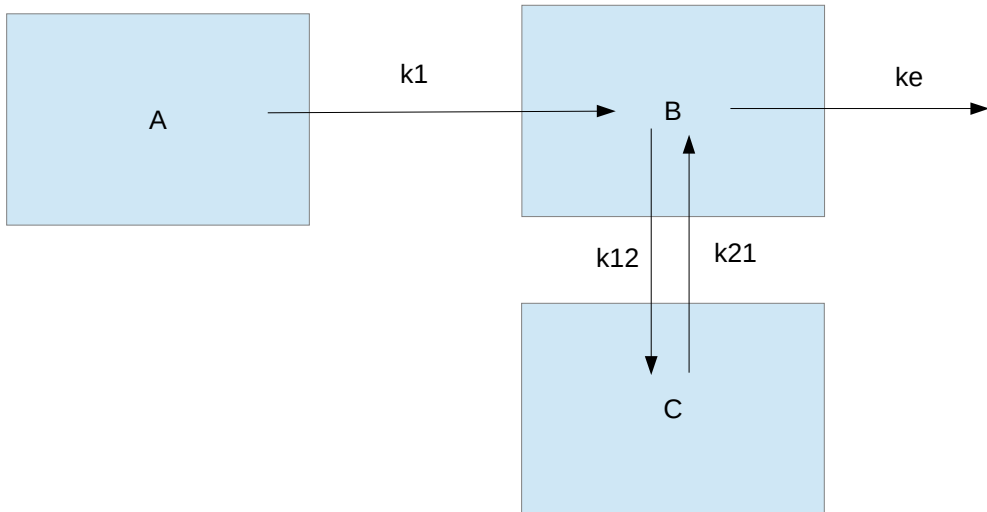


Figura 11.3

El modelo tiene 4 flujos que determinan las concentraciones A, B y C. A continuación escribimos las ecuaciones diferenciales que representan la variación de A, B y C en función de los parámetros y las concentraciones A, B y C. En todos los casos consideramos que los órdenes de cada concentración es 1.

$$\frac{dA}{dt} = -k1 * A$$

$$\frac{dB}{dt} = k1 * A + k21 * C - ke * B - k12 * B$$

$$\frac{dC}{dt} = k12 * B - k21 * C$$

Ecuación 11.4.

planteemos la ecuación diferencial para realizar primero una simulación con valores iniciales

```
> funcionmm113<-function(t,inicial3,parametros3){
with(as.list(c(parametros3,inicial3)),{
dA=-k1*A
dB=k1*A+k21*C-ke*B-k12*B
```

```
dC=k12*B-k21*C
list(c(dA,dB,dC))
})
}
```

asignamos valores iniciales a los parámetros

```
> k1<-1
> k12<-10
> k21<-0.5
> ke<-4
```

y creamos un vector parámetros

```
> parametros3<-c(k1=k1,k12=k12,k21=k21,ke=ke)
```

Como notará la forma de definir los parámetros fue diferente a la utilizada anteriormente, sin embargo es equivalente. La ventaja de definirlo de esta manera es que si deseamos cambiar el vector parametros3 en uno de sus valores solo debemos cambiar ese parámetro utilizando las expresiones que usamos para definirlos.

Definimos las condiciones iniciales que suponemos es con A en una valor 100 y las concentraciones B y C iguales a 0.

```
> inicial3<-c(A=100,B=0,C=0)
```

definimos el vector de tiempo de simulación

```
> tiempo3<-seq(0,50,0.1)
```

resolvemos la ecuación diferencial con la función ode()

```
> out3<-ode(y=inicial3,times=tiempo3,func=funcionmm113,parms=parametros3)
```

transformamos como siempre los valores a data.frame

```
> out3<-as.data.frame(out3)
```

Nos fijamos los rangos para A, B y C de manera de realizar el gráfico

Para el tiempo

```
> range(out3$time)
```

```
[1] 0 50
```

para A

```
> range(out3$A)
```

```
[1] 1.92875e-20 1.00000e+02
```

aproximadamente 0-100

```
> range(out3$B)
```

```
[1] 0.000000 6.040281
```

aproximadamente: 0 - 6

```
> range(out3$C)
```

```
[1] 0.00000 50.59895
```

aproximadamente 0 – 50

Para que A, B y C puedan aparecer en un mismo gráfico, tomamos el rango de A que es el mayor

Realizamos un gráfico vacío, para ello solo colocamos el punto (0,0) y le asignamos el argumento `ty='n'`, que impide que el punto se grafique

```
> plot(0,0,xlim=c(0,50),ylim=c(0,100),ty="n")
```

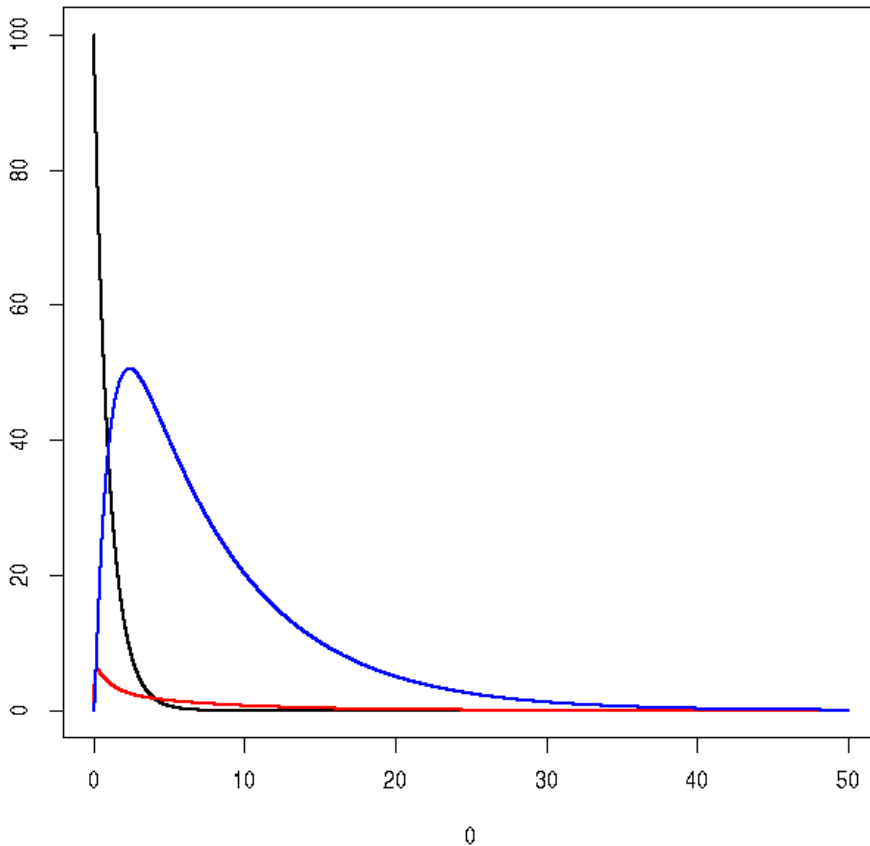
luego trazamos las líneas con los datos del `data.frame`

```
> lines(spline(out3$time,out3$A),col="black",lwd=2)
```

```
> lines(spline(out3$time,out3$B),col="red",lwd=2)
```

```
> lines(spline(out3$time,out3$C),col="blue",lwd=2)
```

```
> legend('topright',legend=c('A','B','C'),pch=c('_','_','_'),col=c('black','red','blue'),cex=1.5)
```



Graficaremos ahora para dos situaciones de parámetros.

Aunque los valores ya fueron asignados, repetimos el proceso para mayor entendimiento asignamos los valores a los parámetros para la situación 1

```
> k1<-1
> k12<-10
> k21<-0.5
> ke<-4
```

asignamos dichos valores a un vector con los parámetros para la situación 1

```
> parametros3<-c(k1=k1,k12=k12,k21=k21,ke=ke)
```

aplicamos la función ode()

```
> out3<-ode(y=inicial3,times=tiempo3,func=funcionmm113,parms=parametros3)
```

transformamos en data.frame el objeto out3

```
> out3<-as.data.frame(out3)
```

comprobamos los datos

```
> head(out3,2)
```

```
  time    A    B    C
1  0.0 100.00000 0.000000 0.000000
2  0.1  90.48374  5.105128  3.134088
```

Cambiamos ahora el valor del parámetro k1, manteniendo los otros constantes

```
> k1<-0.5
```

asignamos nuevamente los valores al vector parametros3

```
> parametros3<-c(k1=k1,k12=k12,k21=k21,ke=ke)
```

Creamos otro objeto para poder graficar los datos obtenidos con el nuevo valor de k1:

```
> out3p<-ode(y=inicial3,times=tiempo3,func=funcionmm113,parms=parametros3)
```

transformamos en data.frame

```
> out3p<-as.data.frame(out3p)
```

chequeamos valores

```
> head(out3p,2)
```

```
  time    A    B    C
1  0.0 100.00000 0.000000 0.000000
2  0.1  95.12294  2.630915  1.595917
```

Así tenemos dos objetos out3 y out3p, la diferencia entre ellos es que es diferente el valor del parámetro k1

Graficamos los valores de ambos objetos que contienen valores de A , B y C. Para ello definimos una matriz de tres graficos

```
> layout(matrix(1:3,1,3))
```

graficamos A del objeto out3

```
> plot(out3$time,out3$A,ty="l",main="A")
```

y A del objeto out3p en color rojo, en el mismo gráfico

```
> lines(spline(out3p$time,out3p$A),col="red")
```

en el segundo gráfico mostramos los valores de B del objeto out3

```
> plot(out3$time,out3$B,ty="l",main="B")
```

y en rojo los valores de B de out3p

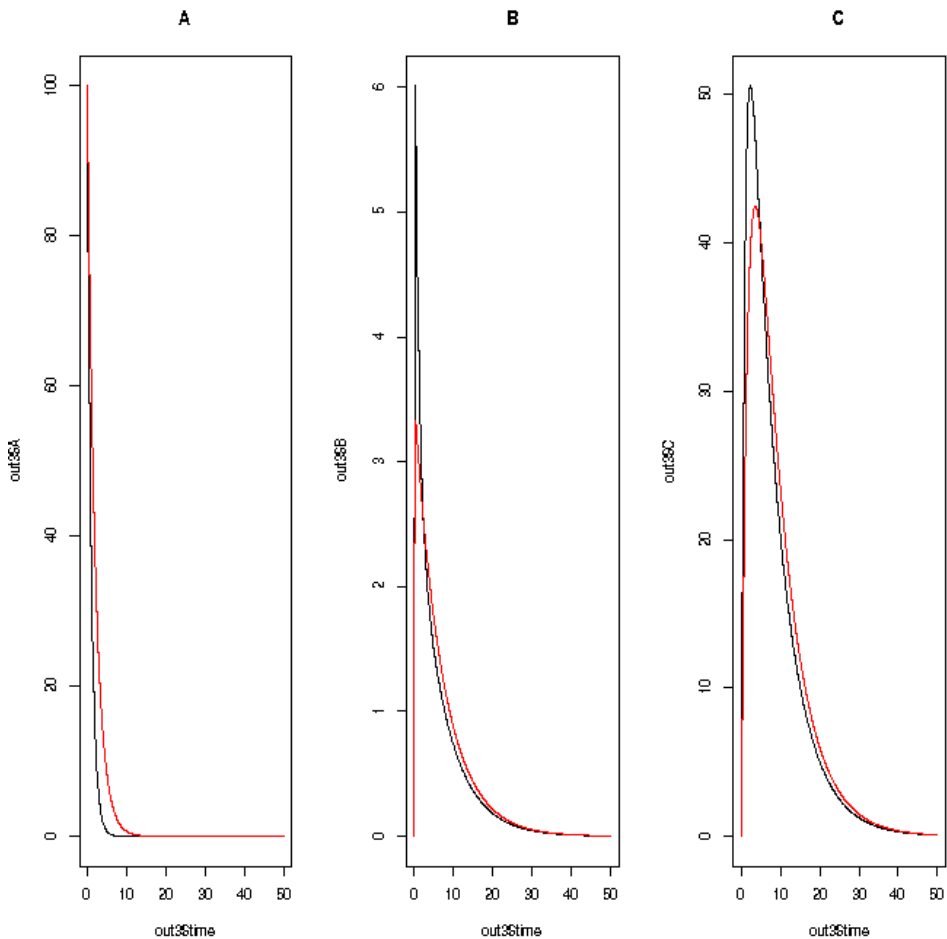
```
> lines(spline(out3p$time,out3p$B),col="red")
```

por último los valores de C de out3 en el tercer gráfico

```
> plot(out3$time,out3$C,ty="l",main="C")
```

y en rojo en el mismo gráfico los valores de C del objeto out3

```
> lines(spline(out3p$time,out3p$C),col="red")
```





## 12. Clase 12

### 12.1. Paradigmas de la modelización matemática

En esta clase se desarrollarán algunos modelos matemáticos clásicos, de amplia vigencia en la investigación biológica. Como se observará, estos modelos gozan de una gran simplicidad en lo que se refiere a los recursos matemáticos utilizados. Sin embargo su utilización es muy amplia debido a que permiten realizar una rápida interpretación de un fenómeno biológico o la obtención de información a partir de un experimento. A partir de estos modelos básicos se han desarrollado otros de mayor complejidad, pero cuyas aplicaciones son más específicas, permitiendo utilizarlos en situaciones no previstas en el modelo inicial. Existen muchos modelos que gozan de las mismas cualidades. La elección de estos para su discusión, se debe a que han sido utilizados en nuestro laboratorio, y se transmitirá la experiencia personal.

#### 12.1.1. Modelo de fijación de un ligando a una macromolécula

*Cálculo del número de sitios de fijación de un ligando a una macromolécula*

Uno de los problemas comunes en la química biológica es investigar la interacción entre macromoléculas, como las proteínas, y pequeños ligandos (cationes, aniones, ácidos grasos, etc.) Existen diferentes maneras a través de las cuales se puede reconocer o sospechar la fijación de una sustancia a otra.

Por ejemplo, la falta de una sustancia en orina, luego de administrarla a un animal de experimentación, puede ser un indicio aunque no una prueba confirmatoria de la unión a una macromolécula. Una sustancia puede no aparecer en orina por diferentes razones además de la fijación. Puede no filtrar a nivel glomerular o puede filtrar libremente pero ser reabsorbida en un 100% a nivel tubular. Otra razón es que sea metabolizada totalmente a un compuesto diferente al original.

Otro indicador de ligamiento es el valor del volumen de distribución (Vd) de la sustancia. Este valor es hallado al realizar un estudio farmacocinético de la droga. Si bien este valor puede sugerir ligamiento, no necesariamente la sustancia tiene que estar uniéndose a una macromolécula.

La prueba final de que una sustancia se liga a otra se logra a través de pruebas *in vitro*. Para este tipo de comprobaciones se pueden utilizar variadas técnicas como ser la ultrafiltración, diálisis, electroforesis y cromatografía sobre tamiz molecular. Estas experiencias deben ser realizadas con las dos sustancias involucradas en la unión, en un alto grado de pureza.

Uno de los modelos más sencillos y más difundidos para un primer estudio de la fijación entre pequeñas moléculas y macromoléculas fue desarrollado por Scatchard a mediados del siglo XX, que por su simplicidad mantiene actualmente amplia vigencia.

Supongamos una macromolécula con  $n$  sitios de fijación para un ligando dado, al que llamamos: **L**, Figura 12.1.

Figura 12.1

En adelante se utilizará el término ligando cuando se hace referencia a la pequeña molécula que se fija a la macromolécula. Como se esquematiza en la Figura 12.1, el ligando puede estar fijado a un sitio de la macromolécula o libre en la solución. Por otra parte la macromolécula puede tener más de un sitio de fijación. Además estos sitios pueden ser iguales entre sí o diferentes. Para el desarrollo se utilizarán las siguientes abreviaturas:

**m**: concentración de la macromolécula

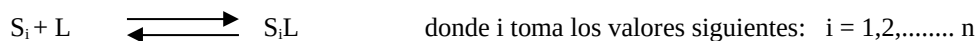
**l**: concentración total del ligando (es la suma del ligando unido a los sitios de la macromolécula y el ligando que se halla libre en la solución).

**c**: concentración del ligando libre.

**b**: concentración del ligando fijado a los sitios de la macromolécula.

**r**: número de moles de ligando por mol de macromolécula.

El razonamiento que se hará para un sitio es similar para los **n** sitios que tiene la macromolécula. Se considera una molécula del ligando (L) que se fija a uno de los sitios ( $S_i$ ) de la macromolécula. Si esta fijación es reversible y se asume que cumple con la ley de acción de masas, es posible escribir la ecuación de fijación como un equilibrio.



En una reacción química se pueden escribir leyes para la velocidad de reacción directa e inversa<sup>46</sup>, de la siguiente manera

---

46. En general para una reacción del tipo  $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$

$$v_d = k_{+1} * [S_i] * [L]$$

$$v_i = k_{-1} * [SiL]$$

En base a estas leyes se puede escribir una expresión para la constante de equilibrio<sup>47</sup> del proceso de fijación que tendrá la expresión

$$k_i = \frac{S_i L}{S_i * L}$$

donde el término  $S_i L$  es la concentración de sitios  $i$  de la macromolécula que se hallan ocupados por el ligando, al que también se puede llamar  $b_i$

En el denominador se encuentra  $S_i$ , que es la concentración de sitios  $i$  vacíos en la macromolécula. Como  $b_i$  es la concentración de sitios  $i$  unidos al ligando y  $m$  es la concentración de la macromolécula, es posible escribir

$$S_i = m - b_i$$

En el denominador también se halla  $L$ , que representa al ligando libre al que se indica con  $c$ . Reemplazando la constante con estos nuevos símbolos resulta

$$k_i = \frac{b_i}{(m - b_i) * c}$$

dividimos a la derecha numerador y denominador por  $m$

la velocidad directa de la reacción se puede escribir  $v_d = k_{+1} * [A]^a * [B]^b$

y la velocidad inversa de la reacción  $v_i = k_{-1} * [C]^c * [D]^d$

47. . Al llegar una reacción al equilibrio,  $v_d = v_i$ , por lo tanto

$$k_{+1} * [A]^a * [B]^b = k_{-1} * [C]^c * [D]^d$$

reordenando se obtiene la expresión para la constante de equilibrio

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[C]^c * [D]^d}{[A]^a * [B]^b} = K$$

Por lo tanto la constante de equilibrio de una reacción se puede escribir como el producto de las concentraciones de los productos elevados a sus coeficientes estequiométricos, dividido por el producto de las concentraciones de los reactivos elevados a sus coeficientes estequiométricos.

$$k_i = \frac{(b_i/m)}{(1-b_i/m)*c}$$

reordenando la expresión

$$k_i = \frac{r_i}{(1-r_i)*c}$$

reordenando esta expresión, se obtiene

$$k_i - k_i * r_i = \frac{r_i}{c}$$

reagrupando

$$k_i = k_i * r_i + \frac{r_i}{c}$$

La expresión anterior se puede escribir como

$$k_i * c = k_i * r_i * c + r_i$$

si sacamos factor común en el miembro de la derecha

$$k_i * c = r_i * (k_i * c + 1)$$

y despejamos  $r_i$ , obtenemos

$$r_i = \frac{k_i * c}{(k_i * c + 1)}$$

$r_i$  representa el número de moles de ligando fijado por mol de macromolécula en el sitio  $i$ . Por lo tanto el número total de moles de ligando ligado en los  $n$  sitios, expresado por mol de macromolécula será la sumatoria de los moles fijos en cada uno de los  $n$  sitios, esto se puede obtener sumando los valores  $r_i$ , para todos los sitios. Esto queda expresado

$$r = \sum_{i=1}^n r_i = \sum_{i=1}^n \frac{k_i * c}{(k_i * c + 1)}$$

Si se considera que los  $n$  sitios son equivalentes en afinidad,  $k_i$  tendrá un único valor que podemos llamar  $k$  y la expresión anterior se puede escribir:

$$r = \sum_{i=1}^n \frac{k * c}{(k * c + 1)}$$

que equivale a sumar  $n$  veces el término de la sumatoria

$$r = \frac{n * k * c}{(k * c + 1)}$$

reordenando

$$r * k * c + r = n * k * c$$

al dividir miembro a miembro por **c**

$$r * k + \frac{r}{c} = n * k$$

se obtiene una de las expresiones finales de este modelo

$$\frac{r}{c} = k * n - k * r$$

Esta expresión corresponde a una recta, donde  $r/c$  es la variable dependiente,  $r$  la variable independiente,  $k * n$  la ordenada al origen y  $k$  la pendiente de la recta. La expresión contiene dos datos del proceso de fijación que nos propusimos conocer: el número de sitios de unión:  $n$  y la afinidad, medida por su constante:  $k$

Si tomamos  $r/c = 0$ , la expresión anterior resulta

$$0 = k * n - k * r$$

despejando y simplificando, se obtiene

$$r = n$$

es decir que  $r = n$  cuando  $r/c = 0$ , esto equivale a decir que la intersección de la gráfica con el eje horizontal permite conocer el valor del número de sitios de fijación ( $n$ ).

En la Figura 12.2 se grafica la recta que se obtiene, el valor de  $k$  se obtiene a partir de la pendiente de la recta y  $n$  a partir de la abscisa al origen. También puede obtenerse  $n$  a partir del valor de la ordenada al origen conociendo previamente  $k$ .

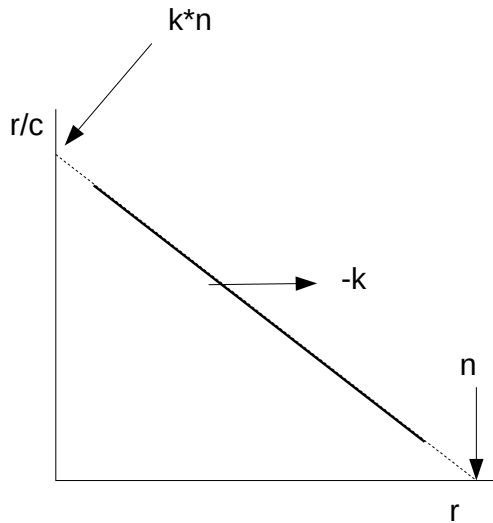


Figura 12.2

A partir de la fórmula obtenida anteriormente

$$r = \frac{n * k * c}{(k * c + 1)}$$

se puede obtener la siguiente expresión

$$\frac{1}{r} = \frac{k * c}{n * k * c} + \frac{1}{n * k * c}$$

reordenando obtenemos

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{n} + \frac{1}{n * k} * \frac{1}{c}$$

que también es la ecuación de una recta donde  $\frac{1}{r}$  es la variable dependiente,  $\frac{1}{c}$  la variable independiente,  $\frac{1}{n}$  la ordenada al origen y  $\frac{1}{n * k}$  la pendiente de la recta.

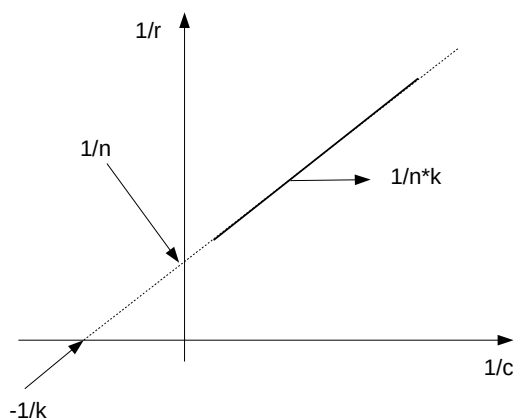


Figura 12.3.

Graficando los valores experimentales en base a estas variables (Figura 12.3), se pueden obtener los valores de **n** y **k** a partir de la ordenada al origen y la pendiente.

La intersección de la extrapolación de la recta con los ejes coordenados permite obtener **n** o **k**.

#### *Cálculo de la constante de afinidad y número de sitios de fijación del Calcio a la fosfatasa alcalina intestinal de la rata*

Se aplicará este modelo al estudio de la fijación entre el calcio y la fosfatasa alcalina intestinal. En este análisis se calcularán el número de sitios de fijación y la constante de afinidad entre el ligando y la proteína. Para cumplir con este objetivo se prepararon soluciones con igual contenido molar de fosfatasa alcalina intestinal purificada de rata. A las soluciones se les agregó  $\text{CaCl}_2$  de manera de fijar la concentración total del ligando ( $\text{Ca}^{+}$ ) en valores preestablecidos. La solución de  $\text{CaCl}_2$  fue suplementada con trazas de  $\text{Ca}^{45}$  (isótopo radioactivo emisor beta, que se utiliza para determinar la concentración de calcio). Las soluciones se incubaron a temperatura ambiente para permitir que el proceso de fijación alcance el equilibrio. Luego se ultrafiltraron las soluciones a través de membranas que permiten el paso de partículas de peso molecular menor a 30 KDa. De esta manera en el ultrafiltrado que se obtiene, sólo existe calcio sin ligar con la misma concentración que tiene el calcio libre junto con la fosfatasa alcalina. Midiendo el calcio en el ultrafiltrado se conoce el valor de concentración de calcio libre (**c**). Como la cantidad total del ligando (**l**) agregado es conocida, se puede sacar por diferencia la cantidad fijada (**b**). La cantidad de moles por litro de proteína (**m**) también es conocida, por lo tanto se puede calcular la variable **r** (**b/m**) y **r/c**, necesarias para realizar el gráfico **r/c** vs **r**. En la tabla siguiente muestra los valores obtenidos

Fijación de calcio a fosfatasa alcalina de rata		
r	r/c M <sup>-1</sup>	n
4.0	96840±15967	3
3.3	74200±14004	3
1.2	88285±18006	3
0.6	92040±12000	3
0.3	224701±25005	3

y en la Figura 12.4 se muestra la representación de los mismos y los valores obtenidos del ajuste lineal con la función correspondiente.

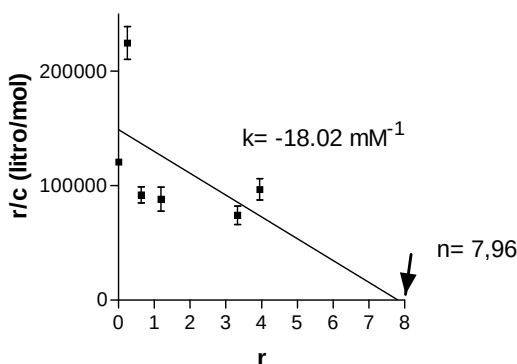


Figura 12.4

Como se puede observar en la Figura 12.4, los valores experimentales fueron ajustados por una recta con significado estadístico ( $r = 0.512$   $p < 0.05$ ). El ajuste de los datos por una recta, indica que la fijación del calcio a la fosfatasa alcalina es compatible con un modelo de 8 sitios independientes y equivalentes en afinidad ( $K = 18 \text{ mM}^{-1}$ ). Es importante destacar que si los datos no fueran ajustados por una recta, no indicaría un fracaso del experimento, sino que estaría indicando que el proceso de fijación no es compatible con el mencionado modelo. Se deberían en tal caso analizar los datos con otros modelos, por ejemplo modelos que presentan cooperatividad positiva o negativa entre sitios, modelos de dos sitios de diferente afinidad, etc.

Veamos un ejemplo resuelto con R

Introduzca la tablamm121 de la planilla de cálculo tablamm12.ods/xls, luego de haber

calculado b, r y r/c como se describe en el vídeo

```
> tablammm121<-read.table("clipboard",header=TRUE,sep='\t',dec=',',encoding='latin1')
```

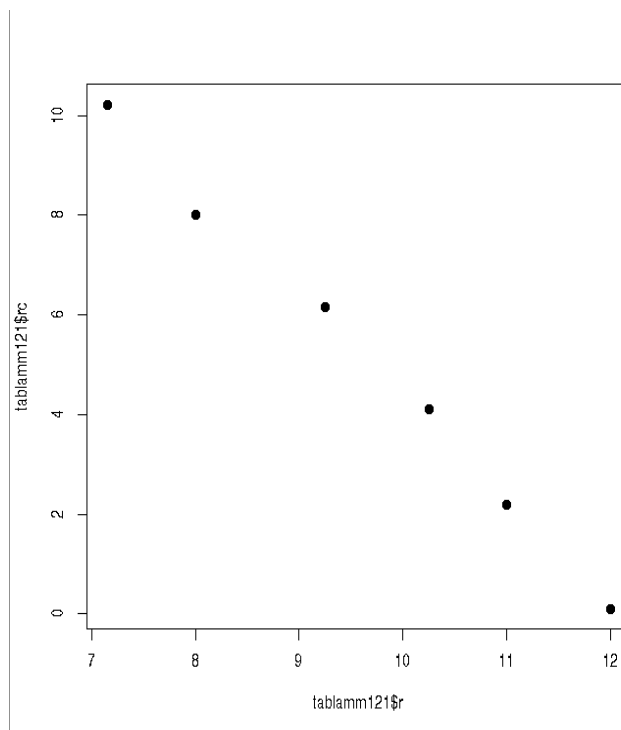
verifiquemos que los datos ingresaron

```
> tablammm121
```

```
  m l  c  b  r   rc
1 2 15 0.7 14.3 7.15 10.214286
2 2 17 1.0 16.0 8.00 8.000000
3 2 20 1.5 18.5 9.25 6.166667
4 2 23 2.5 20.5 10.25 4.100000
5 2 27 5.0 22.0 11.00 2.200000
6 2 144 120.0 24.0 12.00 0.100000
```

graficamos los datos

```
> plot(tablammm121$r,tablammm121$rc,pch=19)
```



realizamos la regresión lineal entre  $r/c$  y  $r$ , aplicando la función `lm()` y asignamos su

resultado al objeto lmtablam121

```
> lmtablam121<-lm(rc~r,data=tablam121)
```

pedimos un summary para observar los parámetros

```
> summary(lmtablam121)
```

Call:

```
lm(formula = rc ~ r, data = tablam121)
```

Residuals:

```
    1    2    3    4    5    6
0.07971 -0.40424 0.30705 0.27608 -0.09715 -0.16145
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	24.68981	0.72874	33.88	4.53e-06 ***
r	-2.03570	0.07472	-27.25	1.08e-05 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.3065 on 4 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9946, Adjusted R-squared: 0.9933

F-statistic: 742.3 on 1 and 4 DF, p-value: 1.079e-05

Vemos que el ajuste con un modelo lineal es bueno, así lo indica el valor R-squared=0,9946 y el p-value: 1.079e-05.

Si el ajuste no fuera aceptable una de las posibilidades es que algunos de los supuestos sobre los que se fundamenta el modelo no sean correctos y por ende no es adecuado el modelo.

pero como en este caso sí es aceptable, podemos calcular los parámetros: **k** y **n**

La pendiente de la recta es la constante de afinidad, por lo tanto en este caso

$$k = 2.03570 \pm 0.07472$$

como la ordenada al origen de esta función, como lo indica el desarrollo es igual a **k\*n**, resulta que

$$k*n = 24.68981$$

de donde

$$n = 24.68981/k$$

$$n = 24.68981/2.03570$$

$$n = 12$$

Así caracterizamos en base a un modelo la fijación de un ligando a una macromolécula,

determinando que bajo los supuestos aceptados, esta macromolécula tiene 12 sitios de unión al ligando, todos con afinidad representada por su constante de valor : 2.03570.

### 12.1.2. Ejercicio

Utilizado la tablamm122 que da los valores de ligando libre y total, además de la concentración de macromolécula:

<sup>48</sup>- indique si el modelo desarrollado en la clase es adecuado para el estudio de fijación del ligando a la macromolécula.

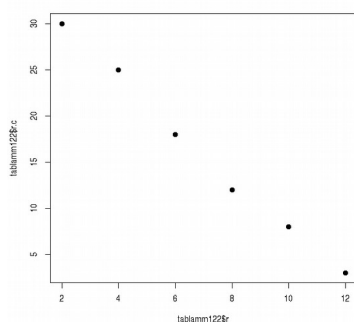
<sup>49</sup>- calcule el número de sitios de fijación y su constante de afinidad

<sup>50</sup>c- grafique  $r/c$  vs  $r$  y la recta obtenida con el modelo

---

48. el modelo es adecuado R-squared= 0.9936, p-value= 1.521e-0,5.

49.  $k= 2.7429$ ,  $knta$   $n= 13$



50.

## 13. Clase 13

### 13.1. Paradigmas de la modelización matemática

#### 13.1.1. Cinética enzimática

##### 13.1.1.1. Desarrollo del modelo básico de Michaelis Menten

Las enzimas son catalizadores<sup>51</sup> biológicos. No existe prácticamente proceso químico en los organismos vivos que ocurra en ausencia de una o más enzimas. Estas moléculas, de naturaleza proteica, hacen posible las reacciones químicas en el ambiente compatible con la vida.

Conocer la velocidad de la reacción y los factores que sobre ella influyen es valioso al trabajar experimentalmente con enzimas. L. Michaelis y M.L. Menten desarrollaron en 1913 un modelo matemático para una reacción catalizada por una enzima. Este modelo, el más sencillo planteado, es aplicable a una reacción con un sustrato<sup>52</sup> y supone reversibilidad de los procesos químicos involucrados. Este modelo luego fue ampliado y aplicado a otras situaciones. Por su validez aún hoy, más de un siglo después de su planteo merece una mención especial como paradigma de la modelización matemática.

Supongamos una reacción en la que un sustrato S, se transforma en un producto P. En presencia de la enzima coexisten diferentes procesos que podemos representar por la siguiente reacción

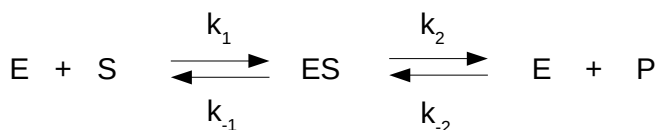


Figura 13.1

donde

E: concentración de enzima libre

ES: concentración de complejo enzima-sustrato

S: concentración de sustrato

$k_1$  : constante de velocidad de la reacción de formación del complejo enzima sustrato a partir de la E y el S libre

$k_{-1}$  : constante de velocidad de la reacción de descomposición del complejo ES en E y S.

$k_2$  : constante de velocidad de formación de producto a partir del complejo ES.

---

51. un catalizador es una sustancia que interviene en las reacciones químicas aumentando la velocidad de las reacciones, recuperándose inalterada al finalizar el proceso.

52. se entiende por sustrato un reactivo de la reacción. Es la sustancia que se ubica en el sitio activo de la enzima y es transformada a producto.

$k_2$  : constante de velocidad de formación del complejo ES a partir de los productos.

Supuestos del modelo:

1- durante todo el tiempo se supone que existe presente una gran concentración de sustrato, siendo el S mucho mayor que ES.

$$ES \ll S \quad (1)$$

Por lo tanto el modelo es aplicable a situaciones en las que se mide la velocidad inicial de la reacción, es decir un momento en que no se ha consumido prácticamente nada de S.

2- La concentración del sustrato es muy superior a la concentración de la enzima para todo tiempo

$$S \gg E \quad (2)$$

3- Las reacciones descritas son reversibles

4- La velocidad de la reacción, esto es la rapidez con que se forman los productos es proporcional a la concentración del complejo enzima sustrato. Para que la formación de ES a partir de P sea despreciable se debe trabajar a tiempos cercanos a cero, esto es trabajar con velocidades iniciales ( $v_0$ ).

Bajo este último supuesto la velocidad inicial de la reacción catalizada por enzima se puede escribir

$$v_0 = k_2 * ES^0_{ES}$$

Si se supone que el orden del proceso es 1, la ecuación resultará

$$v_0 = k_2 * ES \quad (3)$$

Si bien el planteo de la ecuación para la velocidad es sencillo, es obvio que se tendrán dificultades en conocer la constante  $k_2$  y la concentración del complejo ES. Si se inicia la reacción a partir de S y se cumplen las suposiciones (1) y (2), la formación del complejo ES a partir de los productos es despreciable cuando  $t \rightarrow 0$  ya que P es aproximadamente igual a cero. La velocidad de cambio del ES queda dada por la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dES}{dt} = k_1 * E * S - k_2 * ES - k_{-1} * ES$$

Representamos con ET a la cantidad total de enzima, ya sea que se halle libre (E) o unida al

sustrato (ES), por lo tanto

$$ET = E + ES$$

entonces

$$E = ET - ES$$

utilizando esta igualdad se puede escribir la expresión anterior como

$$\frac{dES}{dt} = k_1 * (ET - ES) * S - k_2 * ES - k_{-1} * ES$$

en el estado estacionario<sup>53</sup> se cumple que

$$\frac{dES}{dt} = 0$$

por lo tanto

$$0 = k_1 * (ET - ES) * S - k_2 * ES - k_{-1} * ES$$

reordenando y operando sobre la ecuación anterior

$$k_1 * (ET - ES) * S = k_2 * ES + k_{-1} * ES$$

$$k_1 * (ET - ES) * S = ES * (k_2 + k_{-1})$$

$$\frac{(ET - ES) * S}{ES} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = KM$$

La constante KM se denomina constante de Michaelis-Menten. Como se puede observar es el cociente entre la suma de las dos constante involucradas en la degradación del complejo ES y la constante de velocidad de la reacción de formación del complejo ES, en las condiciones impuestas para el modelo. Por lo tanto un valor elevado de KM indica que el complejo tiene tendencia a degradarse, dicho de otra manera la afinidad de la enzima y el sustrato es pequeña.

Reordenando la ecuación anterior

$$(ET - ES) * S = KM * ES$$

$$ET * S - ES * S = KM * ES$$

---

53. en el estado estacionario, la concentración de ES permanecerá constante ya que se degradará para formar P a la misma velocidad que se forma a partir de la E y el S.

$$ET * S = KM * ES + S * ES$$

obtenemos factor común a la derecha

$$ET * S = ES * (KM + S)$$

Reordenando, se obtiene una expresión para la concentración del complejo ES,

$$\frac{ET * S}{(KM + S)} = ES$$

reemplazando el miembro de la izquierda de la ecuación anterior en el valor de ES de la ecuación (3), se obtiene la ley de velocidad

$$v_o = \frac{k_2 * ET * S}{(KM + S)}$$

Si toda la enzima estuviera formando el complejo ES, se tendría la velocidad máxima, por lo tanto el producto  $k_2 * ET = V_{max}$ . Reemplazando esta igualdad en la última expresión resulta

$$v_o = \frac{V_{max} * S}{KM + S}$$

La ecuación anterior es una de las formas más conocidas de la ecuación de Michaelis-Menten. Esta ecuación corresponde a una función homográfica aunque carece del término independiente del numerador y responde gráficamente a una hipérbola con un valor asintótico horizontal a  $V_{max}$  cuando la concentración de S tiende a infinito.

Como se deduce de la ecuación los parámetros  $V_{max}$  y  $KM$  tienen un significado biológico.

$V_{max} = k_2 * ET$ , por lo que el valor de  $V_{max}$  es una medida de la concentración total de la enzima.

Por su parte  $KM$  es una medida de la afinidad enzima sustrato. Ambos parámetros pueden obtenerse a partir de los datos de velocidad ( $v$ ) y concentración de sustrato (S), realizando un ajuste lineal.

$$v_o = \frac{V_{max} * S}{KM + S}$$

de la ecuación anterior se deduce que  $KM$  es una concentración de sustrato, ya que en el denominador se halla sumado a S. ¿Cuál es su significado?. Nos planteamos que  $S = KM$  y reemplazamos en la ecuación

$$v_o = \frac{V_{max} * KM}{KM + KM} = \frac{V_{max} * KM}{2KM} = \frac{V_{max}}{2}$$

es decir que el KM es la concentración de sustrato con la cual la velocidad de la reacción es igual a la mitad de la  $V_{max}$ .

Veamos un cálculo de parámetros para un ejemplo. Introduzcamos los valores de la `tablamm131` de la planilla de cálculo `tablamm13.ods/xls`

```
> tablamm131<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec="," ,sep="\t",encoding="latin1")
```

verificamos que los datos estén correctamente introducidos

```
> tablamm131
```

```
  S  v
1 0 0.0
2 25 10.0
3 50 13.0
4 100 15.0
5 150 16.0
6 200 16.5
```

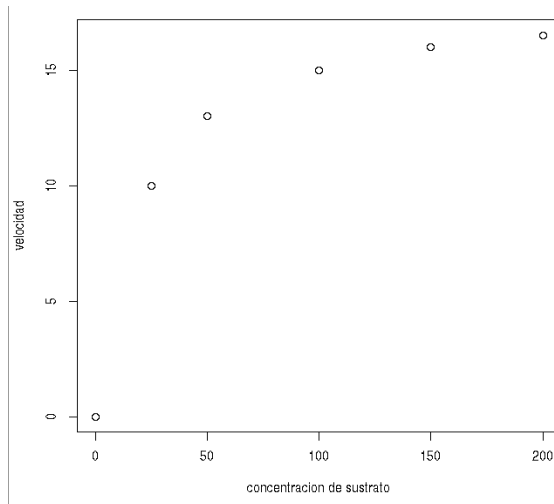
verificamos que estén en formato numérico

```
> summary(tablamm131)
```

```
      S           v
Min. : 0.00   Min. : 0.00
1st Qu.: 31.25 1st Qu.:10.75
Median : 75.00 Median :14.00
Mean   : 87.50 Mean   :11.75
3rd Qu.:137.50 3rd Qu.:15.75
Max.   :200.00 Max.   :16.50
```

graficamos los datos para poder observarlos

```
> plot(tablamm131$S,tablamm131$v,ylab="velocidad",xlab="concentracion de sustrato")
```



Podemos aproximar visualmente que los datos siguen un comportamiento hiperbólico clásico de estos casos. Planteemos una función de ajuste siguiendo el modelo de Michaelis Menten

```
> funcionmm131<-function(s){vmax*s/(km+s)}
```

En base a la `tablamm131` podemos aproximar valores a los parámetros  $KM$  y  $V_{max}$ . El proceso de optimización que realizaremos para obtener los valores de los parámetros mencionados requiere de valores iniciales de ambos parámetros. Estos valores si son cercanos a los valores que finalmente obtendremos es mejor para facilitar el proceso. En caso que no podamos estimarlos, utilizaremos valores que consideremos puedan ser buenos para el inicio, aunque en estas situaciones puede ocurrir que el proceso no se pueda llevar adelante por estar estos valores muy alejados de los valores de los parámetros. Por la tabla los valores de velocidad ( $v$ ) van acotándose superiormente, que podríamos considerar cercano a 17 (Este valor es solo una aproximación del parámetro para tener un valor inicial. Bien podría ser otro valor). Se lo asignamos a la variable `vmax`

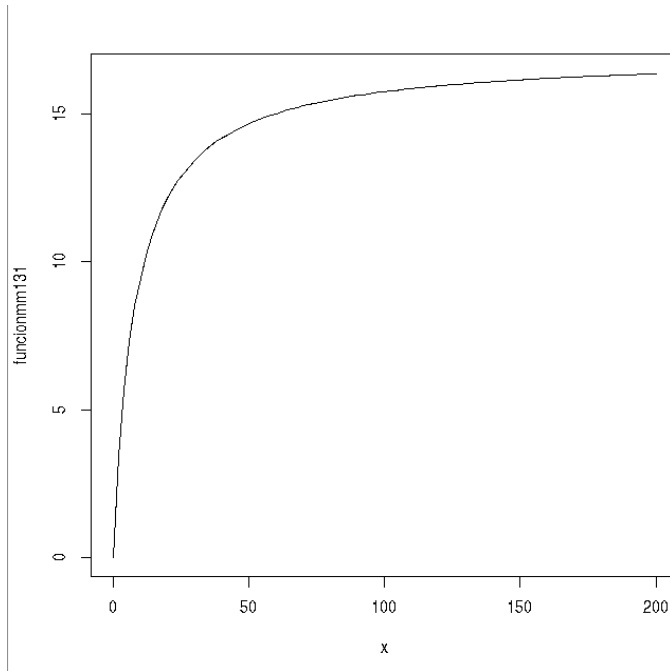
```
> vmax<-17
```

para `km`, pensando en su definición que es un valor de concentración de sustrato con el que tengo la mitad de la  $V_{max}$ . Observando la `tablamm131`, podríamos estimar que una velocidad mitad de la máxima, es decir 8.5 podría estar alrededor de  $S=20$ , valor que le asignamos

```
> km<-20
```

graficamos la función en el intervalo de nuestra tabla, para ver que la misma tenga el formato adecuado

```
> plot(funcionmm131,0,200)
```



comprobado esto, realizamos el ajuste con la funcionmm131 a los datos de la tablammm131. Con alguno de los mecanismos conocidos, utilizaremos la función nls()

```
>
ajustemm131<-nls(v~vmax*S/(km+S),data=tablammm131,star=c(vmax=17,km=8),trace=TR
UE)
```

```
11.61877 : 17 8
0.4528467 : 17.78773 17.04907
0.01800112 : 18.11955 20.02248
0.01657353 : 18.14091 20.21401
0.01657351 : 18.14096 20.21453
```

pedimos un resumen del análisis

```
> summary(ajustemm131)
```

Formula:  $v \sim v_{\max} * S / (km + S)$

Parameters:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
vmax	18.14096	0.07108	255.2	1.41e-09 ***

```
km      20.21453  0.37230      54.3      6.89e-07 ***
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
Residual standard error: 0.06437 on 4 degrees of freedom
```

```
Number of iterations to convergence: 4
```

```
Achieved convergence tolerance: 6.741e-07
```

Resaltado en color amarillo observamos los valores hallados para los parámetros luego del proceso de optimización. Podemos ahora graficar la función con estos parámetros y nuestros resultados experimentales.

Asignamos los valores hallados a los parámetros de la funcionmm131

```
> km<-20.21453
```

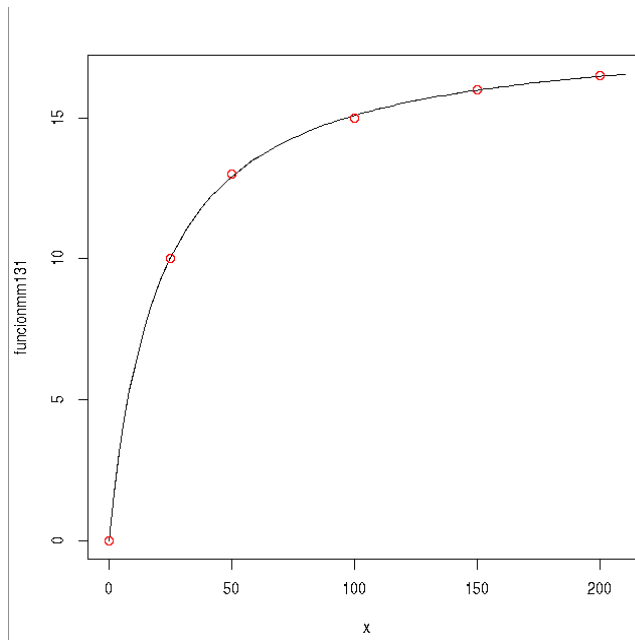
```
> vmax<-18.14096
```

Veremos a continuación si la función planteada, con los parámetros hallados por el proceso de optimización genera una gráfica que ajusta los valores de la tablammm131. Para ello graficamos la función para un intervalo acorde a los datos de la tablammm131

```
> plot(funcionmm131,0,210)
```

Luego colocamos los puntos de la tablammm131

```
> points(tablammm131$,tablammm131$v,col="red")
```



La gráfica nos muestra el buen ajuste de la función con los parámetros hallados en el proceso de optimización.

### 13.1.1.2. Rectificación de Lineweaver-Burk

Experimentalmente, en la mayoría de los casos es dificultoso llegar a valores de concentración como para que la reacción alcance el valor de la  $V_{max}$ . Por lo tanto puede ser dificultoso estimar en base a los datos cual podría ser el valor inicial de este parámetro. Por lo tanto se trabaja con rectificaciones de esta función que permiten conocer los parámetros  $V_{max}$  y  $KM$  aun cuando la enzima no se ha saturado por el sustrato. Partiendo de la ecuación de Michaelis-Menten

$$v_o = \frac{V_{max} * S}{KM + S}$$

invertimos ambos miembros de la igualdad, obteniendo

$$\frac{1}{v_o} = \frac{KM}{V_{max} * S} + \frac{S}{V_{max} * S}$$

simplificando y reordenando obtenemos

$$\frac{1}{v_o} = \frac{KM}{V_{max}} * \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

Aunque a primera vista puede no parecerlo, la ecuación anterior puede ser la función de una recta. Si tomamos a  $1/v_0$  como la variable dependiente y  $1/S$  como la variable independiente, esta ecuación representa una recta con pendiente  $KM/V_{max}$  y ordenada al origen  $1/V_{max}$ .

Podemos resolver nuevamente el problema de hallar los parámetros, utilizando los datos ya introducidos de la `tablamm131`, agregamos dos columnas que contengan  $1/v$  y  $1/S$ , a las que llamaremos inversa de  $v$ : `invv=1/v` e inversa  $S$ : `invS =1/S`

Utilizamos para esto la función `cbind()` que permite fácilmente agregar columnas a una `data.frame`. Entonces a la `tablamm131`, le agregamos las columnas `invv` e `invS`, que surgen de dividir 1 por  $v$  y  $S$ , respectivamente

```
> tablamm131<-cbind(tablamm131,invv=1/tablamm131$v,invS=1/tablamm131$S)
```

Controlamos que la tabla esté correcta

```
> tablamm131
```

	S	v	invv	invS
1	0	0.0	Inf	Inf
2	25	10.0	0.10000000	0.04000000
3	50	13.0	0.07692308	0.02000000
4	100	15.0	0.06666667	0.01000000
5	150	16.0	0.06250000	0.00666667
6	200	16.5	0.06060606	0.00500000

la primer fila, como involucró divisiones por 0, nos dio como resultado: Inf, valores que eliminaremos del análisis.

Realizamos directamente un modelo lineal, ya que aplicaremos una función lineal, tomando como variable dependiente a `invv` e independiente a `invS`

```
> lmtablamm131<-lm(inv~invS,data=tablamm131[c(2:6),])
```

pedimos un `summary()` del objeto hallado, donde tendremos los valores de los parámetros

```
> summary(lmtablamm131)
```

Call:

```
lm(formula = inv ~ invS, data = tablamm131[c(2:6), ])
```

Residuals:

	2	3	4	5	6
	1.644e-04	-5.212e-04	4.181e-04	-1.668e-05	-4.467e-05

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.055053	0.000287	191.85	3.12e-07 ***
invS	1.119567	0.013776	81.27	4.11e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0003982 on 3 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9995, Adjusted R-squared: 0.9994  
 F-statistic: 6605 on 1 and 3 DF, p-value: 4.106e-06

Debemos recordar que la ordenada al origen es  $1/V_{max}$ , por ende  $V_{max}$  ser  $1/$ ordenada al origen. Así entonces asignamos el valor al parámetro en cuestión

```
> vmax<-1/0.055053
```

cuyo valor comprobamos

```
> vmax
```

```
[1] 18.16431
```

por otra parte la pendiente de la función lineal como vimos es  $KM/V_{max}$ , de donde hallamos que  $KM = \text{pendiente}/V_{max}$ . Hallamos entonces el valor  $KM$  con los valores de nuestro ajuste.

```
> km=1.119567*vmax
```

verificamos el valor hallado

```
> km
```

```
[1] 20.33617
```

los valores de  $KM$  y  $V_{max}$  hallados vemos que son próximos a los obtenidos con el ajuste  $nls()$  a partir de los datos de  $v$  vs  $S$ .

### 13.1.1.3. Rectificación de Eadie-Hofstee

La rectificación de Eadie-Hofstee, es otra rectificación utilizada para hallar los valores de  $KM$  y  $V_{max}$ . Esta ecuación se obtiene partiendo de la ecuación de Michaelis Menten

$$v_o = \frac{V_{max} * S}{KM + S}$$

reordenando la ecuación

$$v_o * KM + v_o * S = V_{max} * S$$

dividimos ambos miembros por  $S$

$$\frac{v_0}{S} * KM + v_0 = V_{max}$$

se obtiene una expresión donde v es una función lineal de v/[S]

$$v_0 = V_{max} - KM * \frac{v_0}{S}$$

Si deseáramos obtener los parámetros con esta ecuación deberíamos tener valores de  $v_0$  como variable dependiente y de  $v_0/S$  para la independiente. Podemos agregar a nuestro data.frame la variable  $v_0/S$  utilizando nuevamente la función `cbind()`. Llamaremos a la variable  $v_0/S$ : vos

```
> tablamm131<-cbind(tablamm131,vos=tablamm131$v/tablamm131$S)
```

```
> tablamm131
```

	S	v	invv	invS	vos
1	0	.0	Inf	Inf	NaN
2	25	10.0	0.10000000	0.04000000	0.4000000
3	50	13.0	0.07692308	0.02000000	0.2600000
4	100	15.0	0.06666667	0.01000000	0.1500000
5	150	16.0	0.06250000	0.00666667	0.1066667
6	200	16.5	0.06060606	0.00500000	0.0825000

nuevamente observamos que en la fila 1 tenemos valores que no podemos incluir en el análisis. Realizamos entonces el modelo lineal con los valores de la tabla utilizando las columnas v como variable dependiente y vos como independiente. Es interesante resaltar que a diferencia de la situación cuando utilizamos la función `nls()` para optimizar los parámetros, en que requeríamos valores iniciales de KM y  $V_{max}$ . Al aplicar `lm()` no los necesitamos.

```
> lmtablamm131<-lm(v~vos,data=tablamm131[c(2:6),])
```

pedimos un `summary()` del análisis

```
> summary(lmtablamm131)
```

Call:

```
lm(formula = v ~ vos, data = tablamm131[c(2:6), ])
```

Residuals:

	2	3	4	5	6
	-0.04419	0.11911	-0.10973	0.01224	0.02257

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	18.1491	0.0867	209.33	2.40e-07 ***
vos	-20.2622	0.3743	-54.13	1.39e-05 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.09805 on 3 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.999, Adjusted R-squared: 0.9986  
 F-statistic: 2930 on 1 and 3 DF, p-value: 1.388e-05

Recordamos que en esta rectificación la ordenada al origen =  $V_{max}$  y la pendiente =  $-KM$ . De la tabla anterior entonces obtenemos que

$$V_{max} = 18.1491$$

$$-KM = -20.2622$$

es decir

$$KM = 20.2622$$

Concentremos los valores de  $KM$  y  $V_{max}$  obtenidos con cada metodología en la Tabla 3

<i>Tabla 3. Valores de los parámetros obtenidos por diferentes metodologías de ajuste</i>			
	con función nls()	rectificación Lineweaver Burk	rectificación Eadie-Hofstee
KM	20.21453	20.33617	20.2622
$V_{max}$	18.14096	18.16431	18.1491

Como observamos en la tabla, los valores hallados por las tres metodologías son parecidos. Estará en la disponibilidad de datos elegir uno o el otro. Los valores de p-value y R-squared nos indicarán cual produce el mejor ajuste.

#### 13.1.1.4. Cálculo de los parámetros enzimáticos

La determinación de los parámetros enzimáticos,  $KM$  y  $V_{max}$ , entre otras bondades ofrecen la posibilidad de distinguir qué tipo de inhibición ejerce una sustancia sobre una enzima. La comparación del valor de  $KM$  y  $V_{max}$  sin y con la presencia del supuesto inhibidor nos estará indicando el mecanismo utilizado por la sustancia para interferir en la acción de la enzima. Las formas más comunes de inhibición se dan en la Tabla 4, en la que mostramos como se modifica el valor de  $KM$  y  $V_{max}$  respecto del valor de los mismo parámetros en ausencia de la sustancia.

<i>Tabla 4. Tipos de inhibición enzimática</i>		
tipo de inhibición	KM	Vmax
competitivo	aumenta	no cambia
no competitiva	no cambia	disminuye
anticompetitiva	disminuye	disminuye

Esta tabla informa sobre la modificación del valor de cada uno de los parámetros, respecto de la reacción realizada en ausencia del inhibidor.

La determinación de los parámetros, se realiza a través del ajuste de los valores de velocidad obtenidos con diferentes concentraciones de sustrato, con la función de Michaelis Menten o las rectificaciones obtenidas a partir de ellas, como se desarrolló anteriormente.

#### 13.1.1.5. *Aplicación*

La fosfatasa alcalina es una enzima de la mucosa intestinal que hidroliza los enlaces éster fosfórico de diferentes sustratos. Esta enzima hidroliza el monofluorofosfato de sodio [<sup>54</sup>] y se ha demostrado que en presencia de calcio la actividad de la fosfatasa alcalina disminuye. En la Tabla 5 se muestran los valores de velocidad enzimática de la reacción catalizada por la fosfatasa alcalina intestinal, para diferentes concentraciones del sustrato p-nitrofenilfosfato (pNFF) en presencia y ausencia de calcio (supuesto inhibidor).

---

54. Fernley, H.N., Walker, P.G. Studies on alkaline phosphatase. Inhibition by phosphate derivatives and the substrate specificity. *Biochem. J.* 104, 1011. 1967.

*Tabla 5: medidas de actividad de la enzima fosfatasa alcalina. mmol/min.L. media±SD (n)*

[pNFF] mM	[Ca <sup>++</sup> ]= 0 mM	[Ca <sup>++</sup> ]=50mM
0.500	0.29±0.05 (3)	0.13±0.08 (3)
0.600	0.26±0.01 (2)	0.21±0.04 (2)
0.900	0.49±0.08 (2)	0.22±0.10 (2)
1.000	0.55±0.13 (3)	0.30±0.08 (3)
2.000	0.63±0.001 (2)	0.58±0.12 (2)
4.000	1.10±0.11 (2)	1.03±0.16 (2)
5.000	0.81±0.07 (3)	0.84±0.39 (3)
10.000	1.23±0.22 (3)	0.85±0.61 (3)
15.000	1.40±0.03 (3)	0.57±0.32 (3)
20.000	1.81±0.10 (2)	0.81±0.45 (2)
25.000	1.97±.45 (3)	1.28±0.41 (3)

La Figura 13.2 muestra la gráfica de los valores de la Tabla 5. En la Tabla 6 se muestran los valores de  $K_M$  y  $V_{max}$ , obtenidos para esta enzima en presencia y ausencia de calcio, utilizando el modelo de Michaelis Menten.

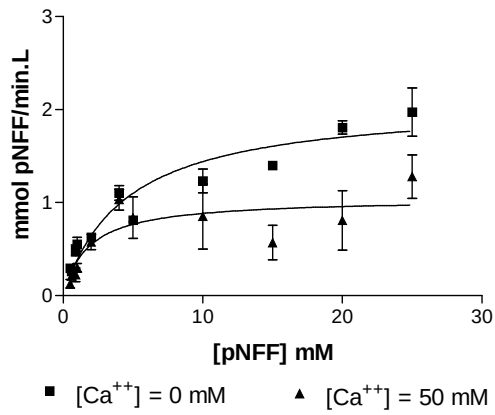


Figura 13.2

Los resultados hallados indican que el calcio produciría una inhibición de tipo anticompensiva

*Tabla 6: efecto del calcio sobre los parámetros de la fosfatasa alcalina*

parámetro	$[Ca^{++}] = 0 \text{ mM}$	$[Ca^{++}] = 50 \text{ mM}$
Vmax	0.009805	0.004915
KM	5.038	2.010

Puede comprobar a modo de ejercicio los valores de los parámetros hallados, utilizando los conceptos vertidos en esta clase.

## 14. Clase 14

### 14.1. Medida de constantes totales y parciales

Cuando una sustancia A es eliminada de un compartimiento, la velocidad de desaparición de ésta se puede expresar por la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dA}{dt} = -k_d * A^{\rho}$$

donde  $k_d$  es la constante de depuración, A la concentración o cantidad de la sustancia en estudio y  $\rho$  es el orden del proceso. La depuración puede ser por un proceso o bien por una sumatoria de procesos. En la Figura 14.1 vemos un proceso de eliminación que cuenta con 4 componentes caracterizados por las constantes  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  y  $k_4$

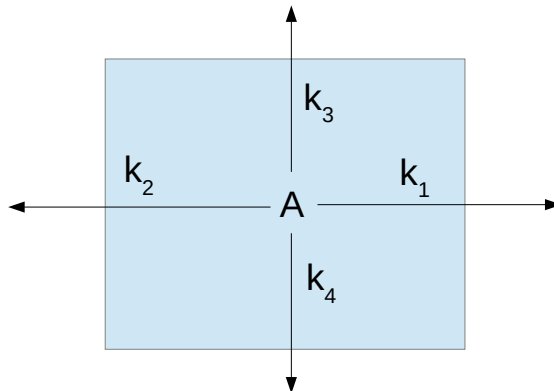


Figura 14.1. Eliminación de A por múltiples vías

En este caso la variación de la concentración de la sustancia A se puede expresar como una sumatoria de cada uno de los procesos, donde cada término será el producto de la concentración de A elevada a su orden de reacción multiplicado por una constante de velocidad

$$\frac{dA}{dt} = -k_1 * A^{\rho_1} - k_2 * A^{\rho_2} - k_3 * A^{\rho_3} - \dots - k_n * A^{\rho_n}$$

Si los procesos involucrados dependen de la concentración de A, afectados por el mismo orden, la expresión se puede escribir

$$\frac{dA}{dt} = -k_1 * A^{\rho} - k_2 * A^{\rho} - k_3 * A^{\rho} - \dots - k_n * A^{\rho} = \sum_{i=1}^n -k_i * A^{\rho} = \left( \sum_{i=1}^n -k_i \right) A^{\rho}$$

donde

$$k_d = k_1 + k_2 + k_3 + \dots + k_n$$

por lo tanto la constante global de depuración  $k_d$  es una sumatoria de las constantes de depuración parcial de los diferentes órganos o procesos metabólicos involucrados.

En algunas circunstancias puede ser necesario determinar en qué porcentaje participa un órgano en particular en el proceso de depuración.

Para conocer cada una de las constantes parciales se pueden anular los otros procesos dejando solo uno en funcionamiento, en este caso la constante que mediremos será la que representa al único proceso en funciones. Si en estas circunstancias medimos la concentración de  $A$  en función del tiempo y luego analizamos diferentes regresiones lineales podremos conocer la constante del proceso y el orden del mismo.

Supongamos que en primer lugar contamos con los recursos experimentales que nos permiten anular los procesos gobernados por  $k_1$ ,  $k_3$  y  $k_4$ , Figura 14.2. La variación en  $A$  solo se deberá al proceso cuya constante es  $k_2$ . Si la concentración de  $A$  se ajusta con una función lineal del tiempo, el orden del proceso será cero y la constante de velocidad será la pendiente de la recta. Si el logaritmo de la concentración es una función lineal del tiempo, el proceso será de orden 1 y la constante de velocidad es la pendiente de la recta. En el caso que  $1/A$  se ajusta con una función lineal del tiempo, el orden es 2 y la constante, como en los otros casos es la pendiente de la recta. Por supuesto que si ninguno de los ajustes se pudiera realizar estaría indicando otro orden para el proceso en estudio, pero, como sabemos a nivel biológico prácticamente el 100% de estos casos se corresponden con órdenes 0 o 1.

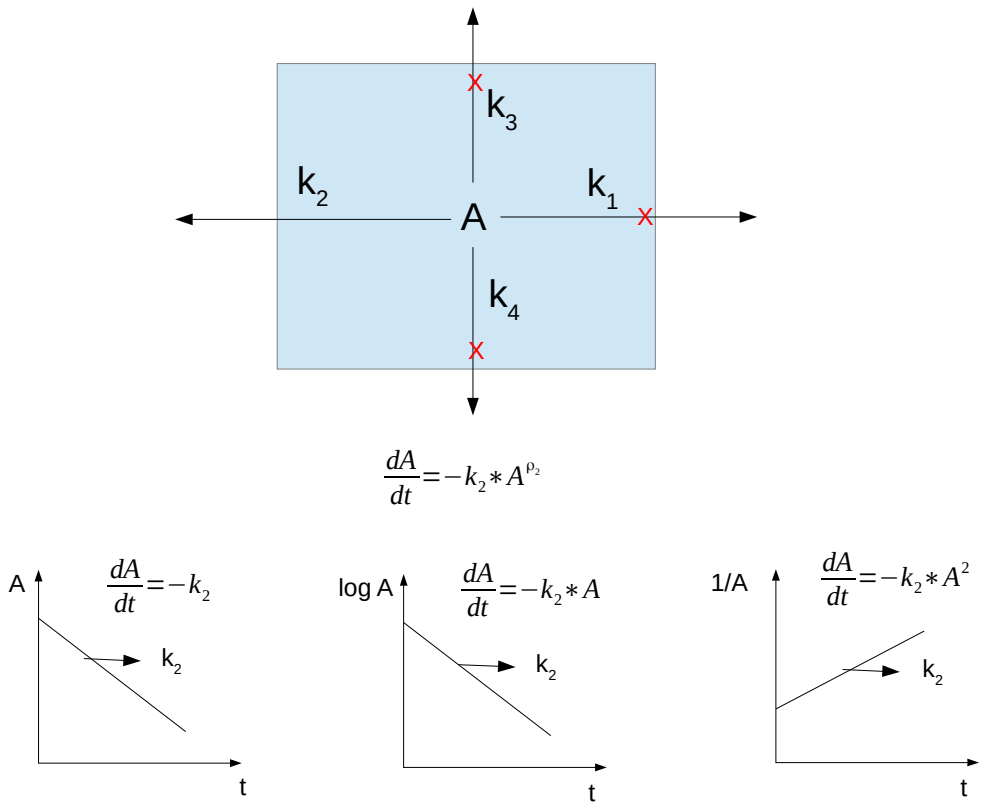


Figura 14.2. Cálculo de orden y constante del proceso 2.

Supongamos que a través del mecanismo anterior logramos conocer el orden y la constante del proceso 2, hallando por ejemplo que: orden del proceso 2= 1,  $k_2= 0.01 \text{ min}^{-1}$ .

Podemos ahora anular los procesos 1, 2 y 4 y dejar que  $A$  dependa solamente del proceso 3. Repetiríamos nuevamente un experimento en que medimos  $A$  a lo largo del tiempo solo con el proceso 3 y evaluaríamos las regresiones lineales mencionadas:  $A$ ,  $\log A$  y  $1/A$  vs el tiempo, Figura 14.3.

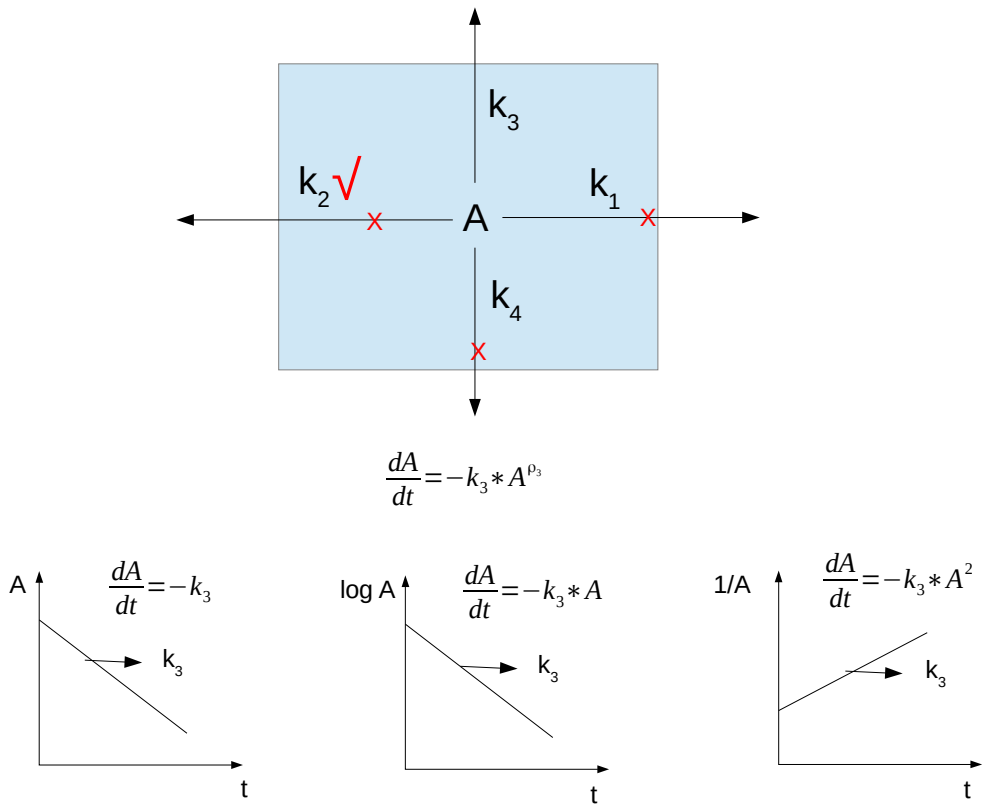


Figura 14.3. Estudios de los parámetros del proceso 3.

Supongamos que nuevamente hallamos que la mejor correlación la hallamos para  $\log A$  vs tiempo, que nos indica orden del proceso  $p_3 = 1$  y hallamos un valor  $k_3 = 0.02 \text{ min}^{-1}$ .

Ya conociendo  $k_2$  y  $k_3$  podemos bloquear  $k_4$  y averiguar  $k_1$ , midiendo la variación de  $A$  en función del tiempo, analizando las correlaciones ya explicadas, Figura 14.4.

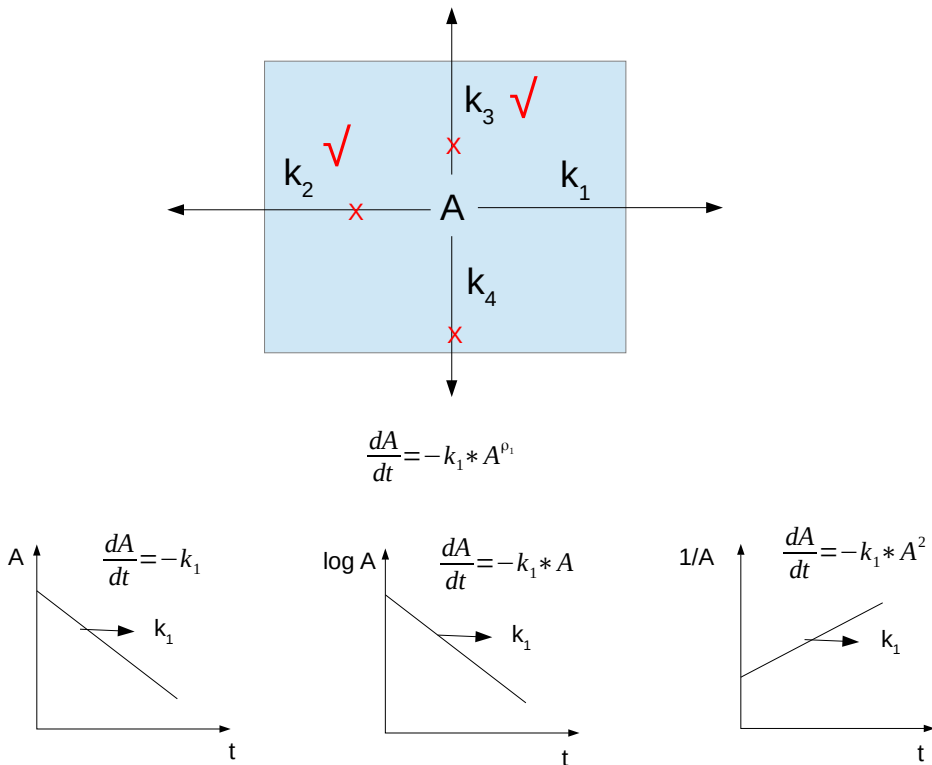


Figura 14.4. Búsqueda de orden y constante del proceso  $k_1$ .

Al igual que los casos anteriores supongamos que el orden del proceso 1 fue igual a 1 y  $k_1 = 0.07 \text{ min}^{-1}$ .

Como ya conocemos  $k_1$ ,  $k_2$  y  $k_3$  y si suponemos que el orden de  $k_4$  es también 1, coincidiendo con los órdenes de los procesos 1, 2 y 3, entonces podríamos calcular  $k_4$  sin necesidad de realizar un experimentos en que anulemos algún proceso, hallando la constante global.

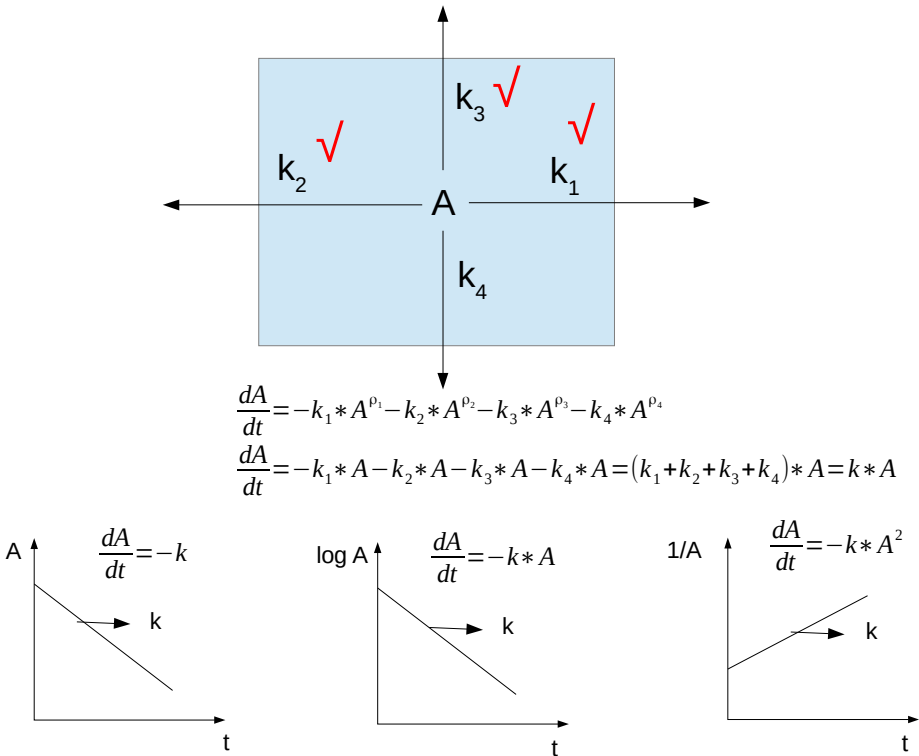


Figura 14.5. búsqueda de orden y constante de proceso global

Analizaremos la regresión de **A** vs tiempo y sus transformaciones **log A** y **1/A**, para hallar el valor de la constante y orden. Supongamos que nuevamente hallamos orden 1 y su constante: 0.12 min<sup>-1</sup>. Entonces sabiendo que

$$k = k_1 + k_2 + k_3 + k_4$$

hallamos **k4**

$$k_4 = k - k_1 - k_2 - k_3$$

$$k_4 = 0.12 - 0.07 - 0.01 - 0.02 = 0.02 \text{ min}^{-1}$$

En base a estos datos podemos estimar qué porcentaje de la desaparición de la sustancia se debe a cada proceso.

proceso 1: **k1** = 0.07 min<sup>-1</sup>. Hallamos qué porcentaje es **k1** respecto de **k** y este valor es la participación del proceso 1 en la depuración total. En este caso: 0.07\*100/0.12= 58,3% de la desaparición total podemos asignarlas al proceso 1. De la misma manera

proceso 2: 8.3%

proceso 3: 16.7%

proceso 4: 16.7%

Estos conocimientos toman aun más interés cuando tenemos alguna patología o sustancia que puede afectar la desaparición de la sustancia **A**. Supongamos que utilizamos un fármaco que al analizar la desaparición de **A** en función del tiempo hallamos que **k** pasa a tomar el valor  $0.11 \text{ min}^{-1}$ , siendo este valor significativamente diferente del valor anterior:  $0.12 \text{ min}^{-1}$

Entonces deducimos fácilmente que de no haberse alterado el sistema, es decir permanecer funcionando los procesos 1, 2, 3, 4, la droga en cuestión afecta a uno o algunos de ellos. Repetimos el experimento y si hallamos los valores

$k_1 = 0.07$

$k_2 = 0.01$

$k_3 = 0.02$

comprobamos que 1, 2 y 3 no han sido afectados. Podríamos anticipar que la droga afecta el proceso 4, siendo ahora su constante  $k_4 = 0.01$ , habiendo decrecido su participación en el proceso de eliminación de **A** a la mitad del valor inicial. Por supuesto, que lo adecuado sería tratar de medir  $k_4$  anulando los procesos 1, 2 y 3.

#### 14.1.1. Resolución con R

Hagamos un ejemplo en que una sustancia se depura de un compartimiento y conocemos que hay tres procesos participantes que llamamos 1, 2 y 3. Los datos se hallan en la hoja `tablamm141` de la planilla `tablamm14.ods/xls`. En estos experimentos medimos la concentración de la sustancia en presencia de los tres procesos (columna **k**), solo en presencia de 1 (columna **k1**) y en presencia del proceso 2 únicamente (columna **k2**).

Introduzca los valores de la `tablamm141`

```
> tablamm141<-read.table("clipboard",header=TRUE,dec=".",sep="\t",encoding="latin1")
```

realizamos la auditoria para comprobar el formato de datos

```
> summary(tablamm141)
```

t	k1	k2	k
Min. : 0.0	Min. : 53.00	Min. : 76.00	Min. : 13.00
1st Qu.: 22.5	1st Qu.: 62.25	1st Qu.: 81.75	1st Qu.: 31.75
Median : 45.0	Median : 72.50	Median : 88.00	Median : 51.50
Mean : 45.0	Mean : 74.30	Mean : 87.70	Mean : 53.50
3rd Qu.: 67.5	3rd Qu.: 85.50	3rd Qu.: 93.25	3rd Qu.: 74.25
Max. : 90.0	Max. : 100.00	Max. : 100.00	Max. : 100.00

vemos que se han introducido correctamente las columnas como variables cuantitativas.

#### 14.1.1.1. Análisis de orden y cálculo de constante global

En primer lugar realizaremos las tres regresiones lineales para el proceso total, utilizando las columnas  $k$  y  $t$

regresión  $A$  vs  $t$

```
> lmtablam141korden0<-lm(k~t,data=tablam141)
```

regresión  $\log A$  vs  $t$

```
> lmtablam141korden1<-lm(log(k)~t,data=tablam141)
```

regresión  $1/A$  vs  $t$

```
> lmtablam141korden2<-lm(1/k~t,data=tablam141)
```

ahora vemos los detalles de cada análisis, resaltando en amarillo el valor de R-squared, ya que el ajuste con mayor valor nos permitirá elegir el orden del proceso y seleccionar la constante que también se halla resaltada en amarillo en la columna Estimate fila  $t$  de la tabla Coefficients

para orden cero

```
> summary(lmtablam141korden0)
```

Call:

```
lm(formula = k ~ t, data = tablam141)
```

Residuals:

```
Min 1Q Median 3Q Max
-9.421 -7.364 -2.482 4.614 16.098
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	83.9023	5.4883	15.288	3.33e-07 ***
t	-0.9423	0.1028	-9.166	1.62e-05 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 9.338 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9131, Adjusted R-squared: 0.9022

F-statistic: 84.02 on 1 and 8 DF, p-value: 1.62e-05

para orden 1

```
> summary(lmtablam141korden1)
```

Call:

```
lm(formula = log(k) ~ t, data = tablamm141)
```

```
Residuals:
```

```
   Min       1Q   Median       3Q      Max
-2.563e-12 -8.311e-13  1.559e-13  9.280e-13  2.774e-12
```

```
Coefficients:
```

```
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 4.605e+00 9.649e-13 4.773e+12 <2e-16 ***
t           -2.500e-02 1.807e-14 -1.383e+12 <2e-16 ***
---

```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
Residual standard error: 1.642e-12 on 8 degrees of freedom
```

```
Multiple R-squared:  1, Adjusted R-squared:  1
```

```
F-statistic: 1.913e+24 on 1 and 8 DF, p-value: < 2.2e-16
```

```
para orden 2
```

```
> summary(lmtablamm141korden2)
```

```
Call:
```

```
lm(formula = 1/k ~ t, data = tablamm141)
```

```
Residuals:
```

```
   Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.008938 -0.006986 -0.002355  0.004378  0.015273
```

```
Coefficients:
```

```
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -8.614e-04 5.207e-03 -0.165  0.873
t           8.941e-04 9.754e-05  9.166 1.62e-05 ***
---

```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
Residual standard error: 0.008859 on 8 degrees of freedom
```

```
Multiple R-squared:  0.9131, Adjusted R-squared:  0.9022
```

```
F-statistic: 84.02 on 1 and 8 DF, p-value: 1.62e-05
```

Resumimos los datos de la pendiente de la recta y el R-squared

```
orden 0  k= -0.9423    R-squared: 0.9131
```

```
orden 1  k= -2.500e-02 R-squared: 1
```

```
orden 2  k= 8.941e-04  R-squared: 0.9131
```

Del la comparación de los datos anteriores, aceptamos que la desaparición de la sustancia

en presencia de todos los procesos es de orden 1 y su  $k=0.025$ , ya que para ese caso el R-squared tomó el valor más alto. Cabe destacar que el signo de la constante es negativo porque hablamos de desaparición o eliminación.

#### 14.1.1.2. Análisis del orden y cálculo de la constante $k_1$

Debemos repetir ahora el mismo procedimiento para la columna  $k_1$  de la tabla, que nos muestra los valores de concentración de la sustancia en función del tiempo cuando los procesos  $k_2$  y  $k_3$  se hallan inhibidos. En primer lugar realizamos las regresiones lineales

```
> lmtablammm141k1orden0<-lm(k1~t,data=tablammm141)
> lmtablammm141k1orden1<-lm(log(k1)~t,data=tablammm141)
> lmtablammm141k1orden2<-lm(1/k1~t,data=tablammm141)
```

luego pedimos los análisis, resaltando en amarillo R-squared y la pendiente.

```
> summary(lmtablammm141k1orden0)
```

Call:

```
lm(formula = k1 ~ t, data = tablammm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.8909	-0.9364	-0.3000	0.7682	2.3818

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	97.61818	0.90275	108.13	5.98e-14 ***
t	-0.51818	0.01691	-30.64	1.40e-09 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.536 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9916, Adjusted R-squared: 0.9905

F-statistic: 939 on 1 and 8 DF, p-value: 1.397e-09

```
> summary(lmtablammm141k1orden1)
```

Call:

```
lm(formula = log(k1) ~ t, data = tablammm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.0054595	-0.0012276	-0.0000672	0.0012747	0.0073046

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.604e+00	2.223e-03	2070.8	< 2e-16 ***
t	-7.030e-03	4.165e-05	-168.8	1.7e-15 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.003783 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9997, Adjusted R-squared: 0.9997

F-statistic: 2.849e+04 on 1 and 8 DF, p-value: 1.698e-15

```
> summary(lm(tablamm141k1orden2)
```

Call:

```
lm(formula = 1/k1 ~ t, data = tablamm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-3.309e-04	-2.029e-04	-7.299e-05	1.435e-04	4.543e-04

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	9.620e-03	1.656e-04	58.08	8.57e-12 ***
t	9.771e-05	3.102e-06	31.49	1.12e-09 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0002818 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.992, Adjusted R-squared: 0.991

F-statistic: 991.9 on 1 and 8 DF, p-value: 1.124e-09

Resumimos los datos anteriores

orden 0 k1= -0.51818 R-squared: 0.9916

orden 1 k1= -7.030e-03 R-squared: 0.9997

orden 2 k1= 9.771e-05 R-squared: 0.992

En este caso también elegimos como orden 1 y el valor de  $k_1=0.00703$

### 14.1.1.3. Análisis de orden y cálculo de la constante $k_2$

repetimos el análisis para la eliminación de la sustancia con el proceso 2 (columna  $k_2$ )

```
> lmtablammm141k2orden0<-lm(k2~t,data=tablammm141)
> lmtablammm141k2orden1<-lm(log(k2)~t,data=tablammm141)
> lmtablammm141k2orden2<-lm(1/k2~t,data=tablammm141)
```

```
> summary(lmtablammm141k2orden0)
```

Call:

```
lm(formula = k2 ~ t, data = tablammm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.67273	-0.26061	0.00303	0.25909	0.62424

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	99.618182	0.246407	404.28	< 2e-16 ***
t	-0.264848	0.004616	-57.38	9.45e-12 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.4192 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9976, Adjusted R-squared: 0.9973

F-statistic: 3293 on 1 and 8 DF, p-value: 9.447e-12

```
> summary(lmtablammm141k2orden1)
```

Call:

```
lm(formula = log(k2) ~ t, data = tablammm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.007295	-0.002871	-0.001474	0.002541	0.010940

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.607e+00	3.381e-03	1362.36	< 2e-16 ***
t	-3.032e-03	6.334e-05	-47.87	4.01e-11 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.005753 on 8 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9965, Adjusted R-squared: 0.9961  
 F-statistic: 2292 on 1 and 8 DF, p-value: 4.01e-11

```
> summary(lm(tablamm141k2orden2))
```

Call:

```
lm(formula = 1/k2 ~ t, data = tablamm141)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.697e-04	-6.336e-05	2.157e-05	6.990e-05	1.104e-04

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	9.920e-03	5.799e-05	171.08	1.52e-15 ***
t	3.487e-05	1.086e-06	32.11	9.64e-10 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 9.866e-05 on 8 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9923, Adjusted R-squared: 0.9913  
 F-statistic: 1031 on 1 and 8 DF, p-value: 9.644e-10

Resumen de los datos del análisis de  $k_2$

orden 0  $k_2 = -0.264848$  R-squared: 0.9976

orden 1  $k_2 = -3.032e-03$  R-squared: 0.9965

orden 2  $k_2 = 3.487e-05$  R-squared: 0.9923

Dados los buenos ajustes de los tres casos, nos daría prácticamente lo mismo elegir cualquier orden, aunque es ligeramente mejor el correspondiente a orden 0. A fines prácticos nos es conveniente el orden 1 y su  $k_2 = 0.003032$

Resumiendo los datos

$k = 0.025$

$k_1 = 0.00703$

$$k_2 = 0.003032$$

$$\text{calculamos } k_3 = 0.025 - 0.00703 - 0.003032 = 0.014668$$

Que respecto del total, el proceso 3 representa el 58,7 %. Valor que surge del siguiente cálculo

$$\% = 0.014668 * 100 / 0.025$$

#### 14.1.2. Aplicación a datos reales

En la práctica suelen ser más complicados los recursos experimentales para aislar los diferentes procesos que la matemática a aplicar en el caso en cuestión. En general la inhibición de diferentes procesos involucrados en la depuración de una sustancia puede realizarse a través del uso de inhibidores enzimáticos o bien recursos quirúrgicos, cuando el estudio es en animales. A continuación discutiremos un caso real donde se aplicó esta metodología. En este caso se analizará la metabolización del complejo  $\alpha_2$ macroglobulina-monofluorofosfato (A2MMFP).

Breve introducción del problema biológico: el monofluorofosfato de sodio (MFP), es una droga utilizada en el tratamiento de la osteoporosis [<sup>i,ii</sup>]. El MFP se absorbe a nivel gástrico [<sup>iii</sup>] y se liga a la  $\alpha_2$ -macroglobulina (A2M) plasmática formando el complejo A2MMFP [<sup>iv</sup>]. Este complejo es captado *in vitro* por cortes de hígado y hueso principalmente por el receptor sensible al ácido [5']-poli-inosínico [<sup>v</sup>].

En el trabajo que se detalla a continuación se muestra un método para determinar la participación del hígado sobre la depuración total del complejo mencionado, como así también los problemas experimentales y sus soluciones.

Estos experimentos fueron llevados a cabo en ratas. En estos animales se inyectó el complejo purificado. El complejo se obtiene mezclando A2M con MFP *in vitro*. Luego de la incubación se purifica utilizando una columna de tamiz molecular (Sephadex® G100). Esta técnica produce una solución diluida lo suficientemente pura del complejo para ser inyectada al animal de experimentación.

##### 14.1.2.1. Determinación de la constante de depuración total ( $k_d$ )

El complejo A2MMFP fue purificado por la técnica anteriormente detallada y se inyectó a ratas anestesiadas por medio de un catéter colocado en la arteria femoral. Por el mismo catéter se obtuvieron muestras de sangre a los tiempos detallados en la Tabla 7. En las distintas muestras plasmáticas se determinó la concentración del complejo, obteniéndose los resultados que se muestran en la Tabla 7.

*Tabla 7: concentraciones de complejo A2MMFP en plasma de ratas luego de una inyección i.v del mismo*

tiempo minutos	A2MMFP $\mu$ M	n
0	93 $\pm$ 8	4
15	14 $\pm$ 10	4
30	4 $\pm$ 3	4
45	0.5 $\pm$ 0.2	4
60	0.2 $\pm$ 0.1	4
75	0.1 $\pm$ 0.1	4

Sin los desvíos estándar, puede hallar los datos en tablam142 de la planilla de cálculo tablam14.ods/xls, introdúzcalos en su espacio de trabajo

```
> tablam142<-read.table('clipboard',header=TRUE, dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

controlamos el ingreso

```
> tablam142
```

```
  t A2MMFP
1 0 93.0
2 15 14.0
3 30 4.0
4 45 0.5
5 60 0.2
6 75 0.1
```

Realizamos las regresiones lineales: A2MMFP vs. tiempo, logaritmo de A2MMFP vs. tiempo y 1/A2MMFP vs tiempo.

```
> lmtablam142A2MMFP<-lm(A2MMFP~t,data=tablam142)
```

```
> lmtablam142logA2MMFP<-lm(log(A2MMFP)~t,data=tablam142)
```

```
> lmtablam142invA2MMFP<-lm(1/A2MMFP~t,data=tablam142)
```

para evitar excesiva cantidad de información, a continuación solo se muestran los valores de k, R-squared y p-value de cada summary() de los objetos

```
> summary(lmtablam142A2MMFP)
```

```
k= -0.9703
```

Multiple R-squared: 0.5469, p-value: 0.09293

```
> summary(lm(tablamm142logA2MMFP))
```

k= -0.093335

Multiple R-squared: 0.9745, p-value: 0.0002463

```
> summary(lm(tablamm142invA2MMFP))
```

k= 0.12663

Multiple R-squared: 0.7992, p-value: 0.01626

Se observa que el mejor ajuste se logra con la rectificación logarítmica, lo que indica que el decaimiento de la concentración del complejo es proporcional a la concentración del mismo. Por esta razón podemos plantear la siguiente ecuación diferencial para la variación de la concentración del complejo A2MMFP

$$\frac{dA2MMFP}{dt} = -k_d * A2MMFP$$

Por lo tanto los datos se ajustan con una función exponencial decreciente. Resolviendo la ecuación diferencial se obtiene la ley que describe el comportamiento de A2MMFP en función del tiempo

$$A2MMFP = A2MMFP_0 * e^{-k_d * t}$$

Del análisis de la misma se puede obtener el valor de la constante de depuración  $k_d = 0.093335 \text{ min}^{-1}$  y un  $t_{1/2} = 7.4$  minutos. En este proceso participan diferentes tejidos, entre ellos el óseo y el hepático.

#### 14.1.2.2. Medida de la constante de depuración hepática

Para determinar en qué porcentaje influye el hígado sobre el proceso de depuración se practicó una hepatectomía funcional, en que se trabaja con el animal bajo anestesia general. El objetivo que se persigue con los experimentos de hígado aislado *in situ* es determinar el porcentaje del metabolismo que le corresponde al hígado con respecto al animal intacto. El porcentaje en que el hígado participa saldrá por diferencia entre la constante de depuración total ( $k_d$ ) y la que se obtenga cuando el animal está con la circulación hepática anulada. Se inyecta por vía endovenosa una cantidad fija de complejo A2MMFP. Se obtienen por el mismo catéter muestras de sangre en las que se determina la concentración del complejo [vi]. Pasado un tiempo se ligan la arteria hepática y la vena porta anulando la circulación del hígado. Durante el resto del experimento el animal permanece vivo pero sin participar la circulación hepática y por lo tanto tampoco participa el hígado en el proceso de depuración.

Durante este período la variación de la concentración plasmática se debe a la participación de todos los tejidos, menos el hígado.

Para el experimento se procedió de la siguiente manera: se purificó el complejo A2MMFP por la técnica descrita más arriba.

El complejo se inyectó por un catéter insertado en la arteria femoral. Por el mismo catéter se extrajo sangre para determinar la concentración del complejo A2MMFP a los tiempos indicados en la Tabla 8.

<i>Tabla 8. concentraciones de complejo A2MMFP en plasma de ratas luego de una inyección i.v del mismo</i>	
tiempo (minutos)	A2MMFP, $\mu\text{M}$
0	1.3
5	6
10	4.5
15	1
20	1.2
25	0.9
30	1.5

Durante los primeros 15 minutos de experimento se mantuvo al animal anestesiado y se realizó un lazo en el tronco celíaco, que tiene como rama a la arteria hepática. También se practicó un lazo con un hilo en la vena porta. Ambos procesos se realizaron luego de una laparotomía abdominal. A los 15 minutos se ajustaron los lazos y se mantuvo al animal en este estado por los 15 minutos restantes. El experimento duró 30 minutos.

Del análisis de los resultados surge que a partir de los 15 minutos no existe decaimiento de la concentración del complejo. Sin embargo observando el valor basal al tiempo  $t = 0$ , la concentración del complejo A2MMFP =  $1,3 \mu\text{M}$ , se puede deducir que a los 15 minutos, cuando se ligan los vasos, aislando la circulación del hígado, ya todo el complejo ha sido metabolizado y la concentración del complejo A2MMFP, ha alcanzado su valor basal.

Sin considerar el valor basal, los datos indicarían que el hígado es el principal órgano de depuración, ya que luego de anular su circulación cesa el decaimiento plasmático de la concentración del complejo. Sin embargo esta conclusión es errónea. De este error surge la importancia de conocer un valor basal del metabolito cuya variación plasmática se estudia en el experimento.

Solución al problema: Conociendo que el máximo en la concentración plasmática del complejo A2MMFP se produce a los 60 minutos, se administraron 80  $\mu\text{mol}$  de MFP por sonda gástrica de manera que el complejo se forme *in vivo*, obteniéndose en este caso concentraciones 50 veces mayor que el alcanzado en el experimento anterior. Con este diseño se obtiene un rango de variación de la concentración del complejo mayor que en experimento anterior, disminuyendo el error en la determinación y permitiendo tener más tiempo para la realización del experimento. A partir de los 70 minutos se obtienen muestras de sangre a los tiempos indicados en la Tabla 9.

<i>Tabla 9: concentraciones del complejo A2MMFP en plasma de ratas luego de una dosis oral de MFP</i>	
tiempo (minutos)	A2MMFP, $\mu\text{M}$
70	437 $\pm$ 243
75	373 $\pm$ 218
80	221 $\pm$ 129
85	221 $\pm$ 98
90	164 $\pm$ 29

En estas muestras se determina la concentración del complejo A2MMFP. A los 80 minutos se anula la circulación sanguínea del hígado, obteniéndose los datos que se muestran en la Tabla 9 y la figura 3.1.

Puede hallar los datos de la Tabla 9 sin sus desvíos estándar en la hoja tablamm143 de la planilla de cálculo tablamm14.ods/xls.

Introduzcamos dichos valores en el espacio de trabajo

```
> tablamm143<-read.table('clipboard',header=TRUE, dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

comprobamos el contenido de la tabla

```
> tablamm143
  t  A2MMFP
1 70  437
2 75  373
3 80  221
4 85  221
5 90  164
```

El ligamiento del tronco celíaco y la vena porta se realizó en este experimento a los 80 min. Hallamos a continuación las dos constantes de depuración. utilizando modelos lineales. Debemos entonces recordar que el experimento tiene dos intervalos de tiempo:

70-80 min: con circulación completa

80-90 min: circulación sin hígado

seleccionamos solo los valores del intervalo 70-80 min, para ello tomamos  $t < 81$

```
>lmtablam143conhigado<-
lm(log(A2MMFP[tablam143$t<81])~t[tablam143$t<81],data=tablam143)
```

vemos el contenido del objeto

```
>summary(lmtablam143conhigado)
```

Call:

```
lm(formula = log(A2MMFP[tablam143$t < 81]) ~ t[tablam143$t <
  81], data = tablam143)
```

Residuals:

```
    1    2    3
-0.06084 0.12169 -0.06084
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	10.91317	1.58310	6.894	0.0917 .
t[tablam143\$t < 81]	<b>-0.06818</b>	0.02108	-3.235	0.1909

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.149 on 1 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9128, Adjusted R-squared: 0.8255

F-statistic: 10.46 on 1 and 1 DF, p-value: 0.1909

realizamos ahora el modelo lineal para las valores de 80 min en adelante, para ello utilizamos la selección fijando  $t > 79$

```
>
                                                                    lmtablam143sinhigado<-
lm(log(A2MMFP[tablam143$t>79])~t[tablam143$t>79],data=tablam143)
> summary(lmtablam143sinhigado)
```

Call:

```
lm(formula = log(A2MMFP[tablam143$t > 79]) ~ t[tablam143$t >
  79], data = tablam143)
```

Residuals:

	1	2	3
	-0.04972	0.09943	-0.04972

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	7.83425	1.46557	5.346	0.118
t[tablamm143t > 79]	-0.02983	0.01722	-1.732	0.333

Residual standard error: 0.1218 on 1 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.75, Adjusted R-squared: 0.5

F-statistic: 3 on 1 and 1 DF, p-value: 0.3333

Con los datos de 70 a 80 minutos se determina la constante de depuración total  $k_d = 0.06818 \text{ min}^{-1}$  y con los datos de 80 minutos a 90 minutos se determina la constante de depuración sin la presencia del hígado  $k_o = 0.02983 \text{ min}^{-1}$ .

Por lo tanto la constante de depuración hepática será:  $kh = 0.06818 - 0.02986 = 0.03832 \text{ min}^{-1}$

Con estos datos podemos determinar el porcentaje en que el hígado participa en el proceso

% participación hepática =  $0.03832 * 100 / 0.06818 = 56\%$

#### 14.1.2.3. Medida de la constante de depuración sérica

Conocida la constante hepática se procedió a analizar si parte de la metabolización por otros tejidos y sistemas tiene un componente plasmático, es decir si el complejo se metaboliza en la sangre. Para determinar la constante de hidrólisis en plasma se procedió a extraer sangre de ratas, centrifugarla para separar los glóbulos obteniéndose plasma el que fue incubado a  $37^\circ \text{ C}$ . Las ratas habían recibido, 60 minutos antes de la extracción, una dosis de  $80 \mu\text{mol}$  de MFP por sonda gástrica, de esta manera, al extraer la sangre la concentración sanguínea del complejo es elevada [vii]. Al separar el plasma del organismo el único proceso que actúa sobre la concentración del complejo es la acción de factores plasmáticos. En estas condiciones se determinó la concentración del complejo  $\alpha_2\text{MMFP}$ , Tabla 10.

*Tabla 10: concentraciones del complejo A2MMFP en plasma de ratas incubado a 37° C*

tiempo (minutos)	A2MMFP, $\mu\text{M}$
60	14.1
120	12.8
180	10.4

Introduzca los datos de la `tablamm144` para realizar el análisis

```
> tablamm144<-read.table('clipboard',header=TRUE, dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

compruebe el ingreso de los datos

```
> tablamm144
```

```
  t  A2MMFP
1 60  14.1
2 120  12.8
3 180  10.4
```

Realizamos las regresiones lineales entre la concentración de A2MMFP y el tiempo

```
> lmtablamm144A2MMFP<-lm(A2MMFP~t,data=tablamm144)
```

```
> lmtablamm144logA2MMFP<-lm(log(A2MMFP)~t,data=tablamm144)
```

```
> lmtablamm144invA2MMFP<-lm(1/A2MMFP~t,data=tablamm144)
```

A continuación pediremos `summary()` de cada objeto con los datos de la regresión y solo mostraremos el valor de  $k$ ,  $R$ -squared y  $p$ -value

En primer lugar para el análisis de orden 0

```
> summary(lmtablamm144A2MMFP)
```

```
k= -0.030833
```

```
R-squared: 0.9714, p-value: 0.1082
```

para orden 1

```
> summary(lmtablamm144logA2MMFP)
```

```
k= -0.0025364
```

```
R-squared: 0.9576, p-value: 0.132
```

para orden 2

```
> summary(lm(tablamm144invA2MMFP)
```

k= 2.103e-04

R-squared: 0.9422, p-value: 0.1546

Al realizar las regresiones A2MMFP vs tiempo,  $\ln$  A2MMFP vs tiempo y  $1/A2MMFP$  vs tiempo, nos encontramos con una escasa diferencia entre los ajustes de las funciones a los datos y por la escasa cantidad de valores experimentales ninguna regresión ajusta significativamente a los datos. Nos inclinamos por aceptar que el orden es 1 y su  $k=0.0025364$

Teniendo en cuenta el valor de la constante global:  $k_d = 0.093335$

La metabolización plasmática del complejo en plasma solo da cuenta del 2,7% del proceso, que surge del cálculo

$\% = 0.0025364 * 100 / 0.093335$

## 15. Clase 15

### 15.1. Gradientes de concentración

En ciertos trabajos de laboratorio es común la utilización de gradientes de concentración. Se entiende que en un proceso existe un gradiente de concentración cuando se produce una variación gradual de una propiedad, en este caso la concentración, cuya variación puede extenderse a lo largo de un dado tiempo o distancia. Se pueden crear por ejemplo un gradiente de sacarosa en un tubo de centrífuga, un gradiente de poliacrilamida en un gel para electroforesis, etc. El desarrollo que se muestra a continuación corresponde a una solución que fluye a través de una columna cromatográfica y en la cual se crea un gradiente de concentración de una de las sustancias. En esta solución hay una o más sustancias cuyas concentraciones van cambiando en el transcurso del tiempo. Existe la necesidad de crear un gradiente de concentración en los procesos de purificación de proteínas, por ejemplo cuando se utilizan columnas de intercambio iónico. En estos casos se trabaja con una columna (tubo de vidrio) que contiene una sustancia de relleno (por ej. dietilaminoetil celulosa: DEAE celulosa) que tiene cargas fijas, en el caso de la DEAE celulosa las cargas son positivas. Al pasar proteínas a través de ella, las que tengan cargas negativas serán retenidas en la columna por interacciones electrostáticas con las cargas fijas en la resina de relleno. Existirán proteínas que no serán retenidas y serán eluidas de la columna antes de iniciar el gradiente, Figura 15.2.

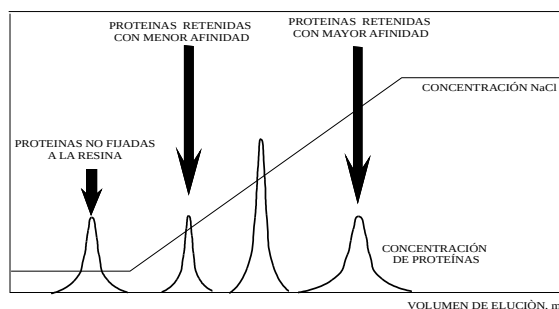


Figura 15.1. Elución de proteínas en cromatografía con gradiente de cloruro de sodio

Esto ocurre a una dada concentración de anión cloruro ( $\text{Cl}^-$ ). Una vez que las proteínas están retenidas sobre las cargas del relleno de la columna, se inicia un gradiente de concentración para el anión cloruro (el fluido que pasa por la columna irá aumentando la concentración de  $\text{Cl}^-$ ) que irá despegando a las proteínas de acuerdo a la fuerza de su unión electrostática. De esta manera se pueden separar proteínas aun cuando el peso molecular sea similar.

Existen diferentes alternativas para generar un gradiente. Estas alternativas pueden ser simples en instrumental pero costosas en tiempo o complejas en instrumental y valiosas por el escaso tiempo insumido. A continuación se describen diferentes alternativas, algunas de las cuales no requieren conocimientos matemáticos y no implican ningún tipo de modelo.

### 15.1.1. Gradiente manual sin ecuación

Esta alternativa no tiene un desarrollo matemático, pero es útil para clarificar el proceso de creación de un gradiente. Para esta técnica se preparan soluciones de concentraciones crecientes, que se irán eluyendo por la columna a diferentes tiempos. De esta manera se obtendrá una variación escalonada de la concentración de la sustancia.

En el primer caso detallado en la Figura 15.2 se prepararon tres soluciones de 0, 0.15 y 0.3 M. En el intervalo de 0 a 15 minutos se utiliza la solución 0 M, a los 15 minutos se cambia por la solución 0.15 M y a los 30 minutos se coloca la 0.3 M.

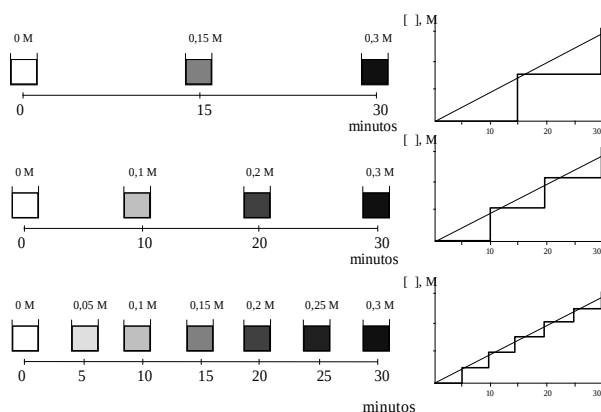


Figura 15.2. Tres alternativas para crear un gradiente de concentración discreto. En línea recta de puntos se muestra el gradiente esperado y en línea continua escalonada el cambio de concentración logrado.

En el segundo y tercer caso de la Figura 15.2 el número de soluciones utilizadas es mayor permitiendo una variación de la concentración con menos diferencias entre ellas.

En cualquiera de estos casos de la Figura 15.2, se observa que la concentración real de la sustancia (—) se aproximará más al gradiente esperado (-----) cuanto mayor sea el número de soluciones preparadas. Si bien en los tres gradientes mostrados, la concentración de la sustancia sufrió las variaciones deseadas, se puede observar que en el último caso el ajuste a la concentración esperada es mejor. Técnicamente, puede no ser necesario un ajuste tan marcado. Por ejemplo si tenemos sólo dos sustancias fijas en una columna, una de ellas se eluye con una concentración 0.02 M de cloruro y la otra con 0.3 M, sería suficiente un gradiente con tres escalones: una solución con  $[Cl^-]$  menor a 0.02 M (en este caso ambas permanecerían en la columna); la segunda solución de concentración entre 0.02 y 0.3 M (en este paso se eluiría una de las sustancias). Cuando terminara de salir la primera sustancia, se debería cambiar a otra solución de  $[Cl^-]$  mayor a 0.3 M, con lo que se lograría despegar la segunda. En el caso que la molaridad del  $Cl^-$  al que se despegan las proteínas es muy próxima, la cantidad de soluciones puede ser muy grande o inclusive puede llegar a ser imposible la aplicación de este método.

Si bien este método no presenta posibilidad de fallas si las soluciones están bien

preparadas, requiere mucho trabajo de cálculo y de preparación de soluciones.

### 15.1.2. Gradiente manual con ecuación

Otra posibilidad es lograr un gradiente con sólo dos soluciones. En este caso es necesario una modelización sencilla del proceso. Una de las soluciones está contenida en un recipiente de donde se obtienen las soluciones con el gradiente (solución A) y otra se va agregando en alícuotas fijadas de antemano (solución B).

Para simplificar la comprensión se realizará el desarrollo con valores numéricos. Se dispone de un recipiente de 100 ml con una solución 0 M de un dado soluto y el flujo de salida del recipiente es de 1 ml/min (Figura 15.3.a). A partir del tiempo 0, al transcurrir el primer minuto, habrá salido del recipiente 1 ml de solución 0 M (Figura 15.3.b).

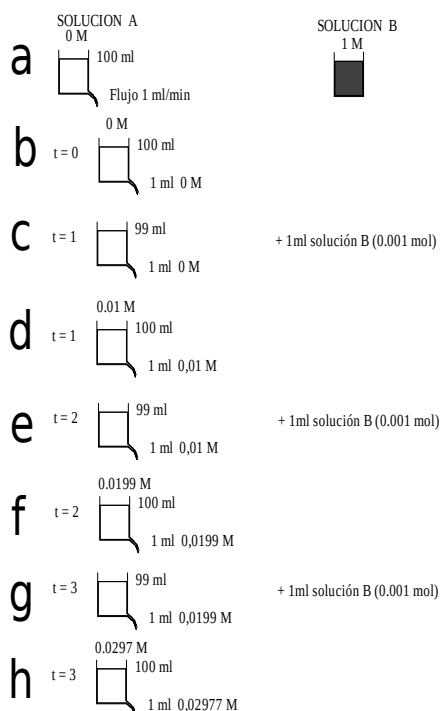


Figura 15.3. Creación de gradiente manual con dos soluciones

Al tiempo  $t = 1$  min, el recipiente tendrá 99 ml (Figura 15.3.c) ; si en este momento se agrega 1 ml de solución B de concentración 1 M, la solución A pasará a tener una concentración 0.01 M y durante 1 minuto fluirá 1 ml de solución 0.01 M (Figura 15.3.d). A  $t = 2$  min el recipiente nuevamente tendrá 99 ml, si en este momento se agrega nuevamente

1 ml de solución B (1 M) Figura 15.3.e, la solución A volverá a tener 100 ml pero su concentración será 0.0199 M. Durante 1 minuto fluirá solución A con concentración 0.0199 M. A  $t = 3$  min el volumen volverá a ser 99 ml y habrá fluido solución de la concentración antes mencionada. En este momento se agrega nuevamente 1 ml de solución B determinando que la solución A tenga ahora una concentración de 0.0297 M. Analizando un tiempo en particular ( $t$ ) se puede deducir que la cantidad de moles que hay en la solución A es

$$C_t = \left( \frac{99 * C_{t-1}}{1000} + 0.001 \right) * \frac{1000}{100}$$

El primer término en el interior del paréntesis es la cantidad de moles existentes en el recipiente A al finalizar el período anterior ( $t - 1$ ), el segundo término es la cantidad de moles agregados con la alícuota de la solución B (1 ml de solución 1 M = 0.001 M).

Simplificando la expresión se obtiene

$$C_t = 0.99 * C_{t-1} + 0.01$$

*Ecuación 15.1*

Si construimos una planilla de cálculo con estos datos estratificando el tiempo cada 1 minuto, colocando la ecuación en una planilla de cálculo obtenemos la tabla siguiente

	A	B	C	D
1	t	C	$B2*0.99+0,01$	
2	0	0		
3	1	0,01		
4	2	0,0199		
5	3	0,029701		
6	4	0,03940399		
7	5	0,04900995		
8	6	0,05851985		
9	7	0,06793465		
10	8	0,07725531		
11	9	0,08648275		
12	10	0,09561792		
13	11	0,10466175		
14	12	0,11361513		
15	13	0,12247898		
16	14	0,13125419		
17	15	0,13994165		
18	16	0,14854223		

*Figura 15.4. Tabla de valores generados con la Ecuación 15.1*

Llevamos estos datos a R, para ello introducimos en nuestro espacio de trabajo la

tablaR151 de la planilla de cálculo tablaR15.ods/xls.

```
> tablam151<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

y graficamos los valores

```
> plot(tablam151$t,tablam151$C,ty='s',xlab='min',ylab='concentración, M')
```

obteniendo la Figura 15.5

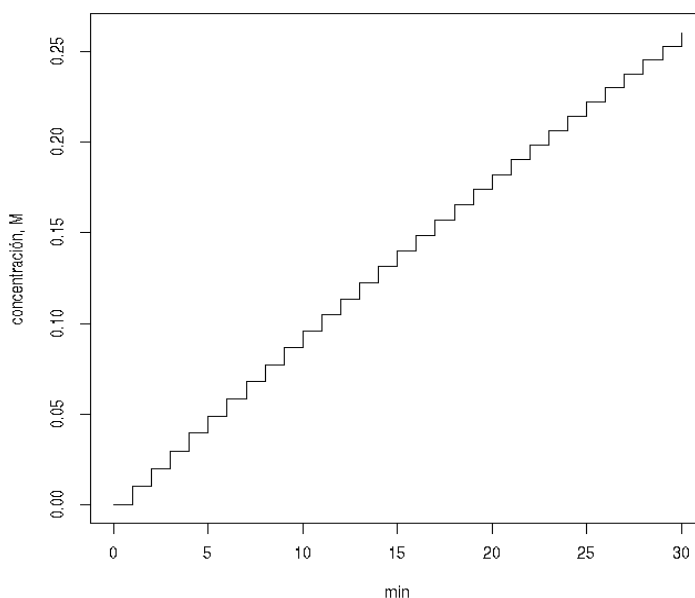


Figura 15.5. Gradiente de concentración creado

Se obtiene un gradiente de concentración cuya inclinación dependerá de la concentración utilizada en la solución agregada. El tamaño de los escalones dependerá del intervalo de tiempo adoptado. Con el ejemplo anterior llevaría aproximadamente 30 minutos llegar de 0 M a 0.3 M (Figura 15.5).

Si se utiliza la misma solución B, pero agregando 5 ml cada 5 minutos, la ecuación resultaría

$$C_t = 0.95 * C_{t-1} + 0.05$$

Ecuación 15.2

de la misma manera resultaría si cada 10 minutos agregáramos 10 ml

$$C_t = 0.9 * C_{t-1} + 0.1$$

Ecuación 15.3

Podemos introducir en la planilla de cálculo las tres ecuaciones obtenidas y luego importarlas a R. Para ello introduzcamos los datos generados con la Ecuación 15.2, que corresponden a la `tablamm152` y los datos generados con la Ecuación 15.3, que corresponden a la `tablamm153`

```
> tablamm152<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

```
> tablamm153<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

graficaremos los tres gradientes realizados con agregados de la misma solución cada 1, 5 y 10 minutos. Primero graficaremos el de 1 minuto, que significa `y='s'`, que significa escalera

```
> plot(tablamm151$t,tablamm151$s)
```

luego agregamos en el mismo gráfico los de 5 minutos

```
> points(tablamm152$t,tablamm152$s)
```

y los de la `tablamm153`, e

```
> points(tablamm153$t,tablamm153$s)
```

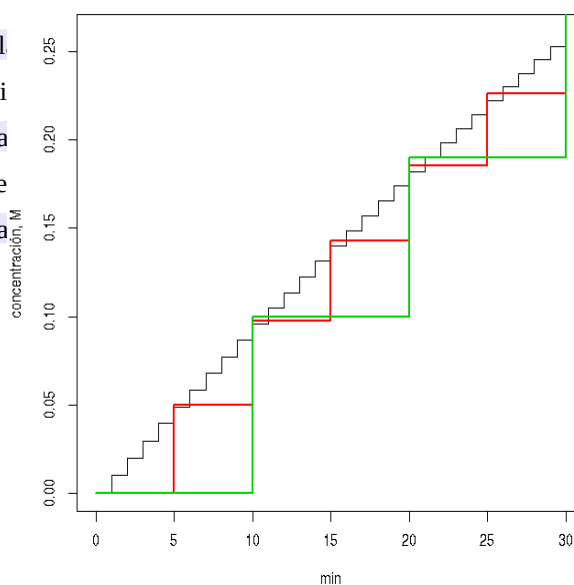


Figura 15.6. Gradientes creados en tres condiciones diferentes de tiempo de agregado.

Observando los resultados obtenidos con las tres ecuaciones, se puede deducir que el escalón entre dos concentraciones consecutivas es menor cuanto menor es el intervalo de tiempo entre los agregados (Figura 15.6). También deducimos que el primer factor de las tres ecuaciones: 0.99, 0.95 y 0.9 podemos expresarlo como  $(1 - \text{volumen agregado}/100)$  y el sumando del término de la derecha: 0.01, 0.05 y 0.1 es  $(\text{volumen agregado}/100)$ , entonces llamamos a este término  $x$  y lo utilizaremos para generalizar la ecuación de creación de gradiente, la que expresamos de la siguiente manera

$$C_t = (1-x) * C_{t-1} + x$$

*Ecuación 15.4*

donde

$$x = \frac{\text{volumen agregado de solución B}}{100}$$

*Ecuación 15.5*

#### 15.1.2.1. Obtención de una ecuación general

Es posible obtener una ecuación general. Supongamos un recipiente A con una concentración inicial  $C_o$  y un volumen  $V$ , contiene una masa "m" de soluto. De este recipiente fluye un volumen  $V'$  en un dado período de tiempo  $\Delta t$ . A este recipiente se le agrega en el mismo período de tiempo un volumen  $V'$  de otra solución B, de concentración  $C$ , la masa agregada al recipiente A, será la que se obtiene por el siguiente cálculo

$$\begin{array}{l} 1000 \text{ ml} \rightarrow C \\ V' \rightarrow m = \frac{C * V'}{1000} \end{array}$$

Al cabo del período  $\Delta t$ , la masa de soluto en el recipiente A será  $m_1'$ , la que resulta del siguiente cálculo. Obtenemos primero la masa que queda al final del primer intervalo de tiempo

$$\begin{array}{l} 1000 \text{ ml} \rightarrow C_o \\ V - V' \rightarrow m_1' = \frac{C_o * (V - V')}{1000} \end{array}$$

por lo tanto la nueva masa será la suma de lo que quedó en el recipiente:  $m_1'$ , más el agregado: m

$$m_1 = m + m_1'$$

si reemplazamos los valores obtenidos en función de concentraciones y volúmenes, resulta

$$m_1 = \frac{C_o(V - V')}{1000} + \frac{C \cdot V'}{1000}$$

esta masa  $m_1$  estará contenida en un volumen  $V$ , ya que el volumen que fluyó y se agregó es el mismo. Por lo tanto su nueva concentración  $C_1$  será:

$$V \quad ml \rightarrow \frac{C_o \cdot (V - V')}{1000} + \frac{C \cdot V'}{1000}$$

$$1000 \quad ml \rightarrow C_1 = \left[ \frac{C_o \cdot (V - V')}{1000} + \frac{C \cdot V'}{1000} \right] \cdot \frac{1000}{V}$$

reordenando la expresión se obtiene, para la concentración en el primer agregado

$$C_1 = \frac{C_o \cdot (V - V')}{V} + \frac{C \cdot V'}{V}$$

o bien

$$C_1 = C_o + \frac{C \cdot V'}{V} - \frac{C_o \cdot V'}{V}$$

reordenando

$$C_1 = C_o + \frac{V'}{V} \cdot (C - C_o)$$

generalizando para el agregado  $n$ , la concentración en el recipiente será  $C_n$

$$C_n = C_{n-1} + \frac{V'}{V} \cdot (C - C_{n-1})$$

El escalón del gradiente estará dado por la razón  $V'/V$ . Como ésta puede hacerse prácticamente tan pequeña como se desee, el escalón también podrá modificarse a discreción. El único inconveniente es que si se disminuye  $V'$ , es más seguido el tiempo en que se deben realizar los agregados, requiriendo más control y participación del operador. Sin embargo este modelo tiene la gran ventaja de su simplicidad en lo que se refiere al equipamiento.

### **15.1.3. Creación de gradiente con válvulas controladas por ordenador**

Las electroválvulas o válvulas solenoides son válvulas que se pueden abrir o cerrar utilizando controladores electrónicos. En la actualidad se pueden adquirir o diseñar y construir los controladores con cierta facilidad, así como obtener las válvulas. Dos soluciones de diferentes concentraciones se conectan una a cada válvula y el ordenador controla el tiempo que cada entrada permanece abierta de acuerdo a la concentración que se desea obtener. Un sistema de mezcla ("mixer") se intercala entre las válvulas y la salida del catéter que lleva la solución con el gradiente (Figura 15.7). Por ejemplo si se desea un gradiente desde 0 M a 0.3 M, se puede conectar al sistema una solución 0 M y una 0.3 M. Programando el sistema, al principio, el ordenador mantendrá abierta continuamente la entrada a la solución 0 M, en este período la solución que se obtiene es 0 M. Luego se comenzará a abrir por un período de tiempo la vía que conecta a la solución 0.3 M y se cerrará la correspondiente a la solución 0 M. Este período de tiempo se irá incrementando de manera que la solución que sale será de una concentración creciente, hasta que al final del proceso se llegará a una solución 0.3 M.

*Figura 15.7. Creador de gradiente con controlador*

### **15.1.4. Creador de gradiente continuo**

Podemos utilizar un sistema creador de gradiente, como el que se muestra en la Figura 15.8.

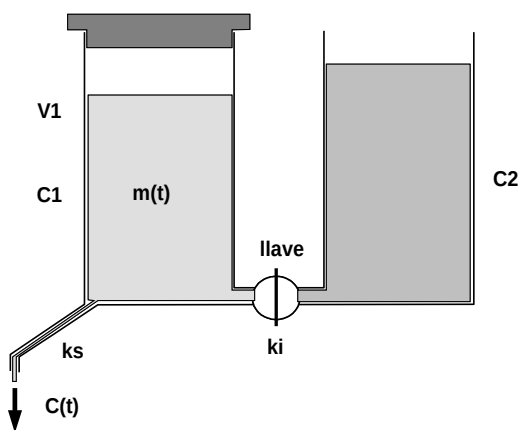


Figura 15.8. Dispositivo para creación de gradientes continuos.

Este sistema consta de dos compartimientos conectados por una llave. El mismo se puede utilizar en diferentes configuraciones.

Configuración 1: El compartimiento de la izquierda se mantiene cerrado herméticamente, razón por la cual mantendrá su volumen ( $V_1$ ) constante. La concentración inicial es  $C_1$ , que corresponde a la concentración inicial del gradiente. El flujo que se obtiene por la salida del compartimiento de la izquierda ( $k_s$ ) será idéntico al que entre desde el compartimiento de la derecha ( $k_i$ ). El compartimiento de la derecha se mantiene en equilibrio con la atmósfera y contiene una solución cuya concentración inicial es  $C_2$ . La concentración  $C_2$  puede ser mayor o menor que  $C_1$ , de manera que al producirse la mezcla la concentración  $C_1$  comenzará a variar, saliendo del recipiente una solución con una concentración  $C(t)$ . El modelo que se describe a continuación provee de una ecuación que relaciona esta  $C(t)$  con los valores iniciales y de desarrollo del gradiente, en función del tiempo.

En el recipiente de la izquierda existe una masa de sustancia disuelta que al comenzar a fluir solución ( $k_s$ ) y entrar solución desde la derecha ( $k_i$ ) comenzará a variar, por lo tanto la masa es una función del tiempo,  $m = m(t)$ .

La variación de  $m$  en función del tiempo viene dada por la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dm}{dt} = k_i * C_2 - k_s * C$$

El primer sumando del término de la derecha indica que el incremento de la masa del recipiente de la izquierda será proporcional a la concentración que tenga el recipiente de la izquierda:  $C_2$ . Por otro lado, el segundo término que se halla restando, indica que dicho término da cuenta de una disminución de la sustancia en el compartimiento. La cantidad de sustancia que se va del compartimiento de la izquierda es proporcional a la concentración del mismo compartimiento. Si dividimos ambos miembros por el volumen  $V_1$ , resulta

$$\frac{1}{V_1} * \frac{dm}{dt} = \frac{k_i * C_2}{V_1} - \frac{k_s * C}{V_1}$$

como  $dm/V_1 = dC$ , resulta

$$\frac{dC}{dt} = \frac{k_i * C_2}{V_1} - \frac{k_s * C}{V_1}$$

Dado que el compartimiento de la izquierda se halla cerrado, mantendrá el volumen aun cuando de él fluye la solución hacia el exterior, por dicha razón, lo que ingresa al compartimiento de la izquierda desde el de la derecha es el mismo volumen. Por lo tanto  $k_i = k_s$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{k_i * C_2}{V_1} - \frac{k_i * C}{V_1} = \frac{k_i}{V_1} * (C_2 - C)$$

Integrando esta expresión entre  $C_1$  y  $C$ , para el intervalo de tiempo  $(0, t)$  resulta

$$\int_{C_1}^C \frac{dC}{(C_2 - C)} = \frac{k_i}{V_1} \int_0^t dt$$

sustituyendo  $C_2 - C = z$

resulta  $-dz = dz$

o bien  $dC = -dz$

$$-\int_{C_2 - C_1}^{C_2 - C} \frac{dz}{z} = \frac{k_i}{V_1} * t$$

se obtiene

$$-\log z \Big|_{C_2 - C_1}^{C_2 - C} = \frac{k_i}{V_1} * t$$

$$-\log(C_2 - C) + \log(C_2 - C_1) = \frac{k_i}{V_1} * t$$

$$\log \frac{(C_2 - C_1)}{(C_2 - C)} = \frac{k_i}{V_1} * t$$

$$\frac{(C_2 - C_1)}{(C_2 - C)} = e^{\frac{k_i * t}{V_1}}$$

$$\frac{(C_2 - C_1)}{e^{\frac{k_i * t}{V_1}}} = (C_2 - C)$$

$$(C_2 - C_1) * e^{-\frac{k_i * t}{V_1}} = (C_2 - C)$$

Obtenemos así la función que nos da la concentración (C) que obtenemos a la salida del dispositivo creador de gradiente en función del tiempo con los parámetros  $k_i$ ,  $V_1$ ,  $C_1$  y  $C_2$ .

$$C = C_2 - (C_2 - C_1) * e^{-\frac{k_i * t}{V_1}}$$

*Ecuación 15.6*

Realizamos una aplicación de esta ecuación en R

para ello creamos una función Ct, que representa a la Ecuación 15.6

```
> Ct <- function(t){C2-(C2-C1)*exp(-k*t/V1)}
```

podemos graficarla asignando valores a los parámetros

```
> C1<-0
```

```
> V1<-200
```

```
C2<-0.8
```

```
> plot(Ct,0,10,xlab='min',ylab='C, mol/l',lwd=2,las=1)
```

Obtenemos la gráfica del gradiente, Figura 15.9

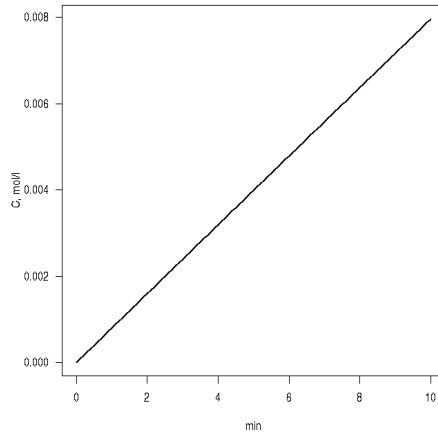


Figura 15.9

podemos modificar por ejemplo el flujo, al doble de su valor inicial

```
> k<-0.4
```

generamos un data.frame con los datos de concentración obtenidos con el nuevo valor de  $k$ . La primer columna será  $t$  (tiempo) en un intervalo de 0-10 en incrementos de 0.1. Y la columna  $C$  tendrá las concentraciones obtenidas con la función  $Ct$ , para el intervalo de 0-10 en incrementos de 0,1.

```
> gradiente<-data.frame(t=seq(0,10,0.1),C=Ct(seq(0,10,0.1)))
```

lo graficamos sobre la gráfica anterior, viendo en negro el primer gradiente y en rojo el segundo.

```
> points(gradiente$t,gradiente$C,ty='l',col=2,lwd=2)
```

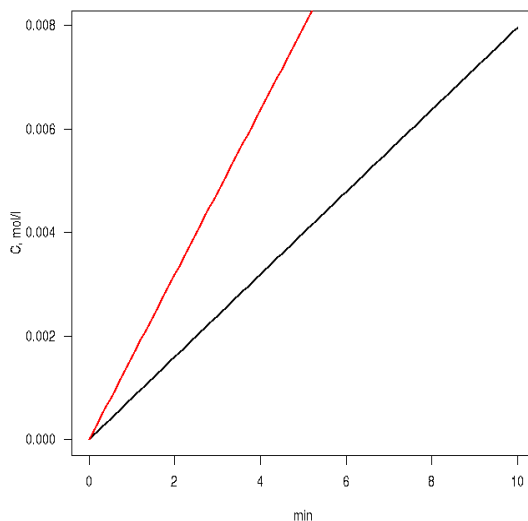


Figura 15.10

Teniendo ya resuelta la ecuación podemos programar un gradiente a discreción. Supongamos que deseamos un gradiente que pase de 0.1 M a 0.3 M en 30 minutos con un flujo 1.3 ml/min. El volumen  $V_1$  lo fijaremos en 50 ml. En la ecuación

$$C = C_2 - (C_2 - C_1) * e^{-\frac{k_1 * t}{V_1}}$$

solo nos queda como incógnita  $C_2$ . Para hallar el valor de  $C_2$ , igualamos a cero la ecuación

$$0 = C_2 - (C_2 - C_1) * e^{-\frac{k_1 * t}{V_1}} - C$$

planteamos una nueva función que llamaremos funcionC, con el objetivo de hallar  $C_2$

```
> funcionC<-function(C2){C2-(C2-C1)*exp(-k*t/V1)-C}
```

fijamos los parámetros conocidos

```
> C1<-0.1
```

```
> C<-0.3
```

```
> k<-1.3
```

```
> V1<-50
```

```
> t<-30
```

con la función `uniroot()` hallamos el valor de la incógnita, en nuestro caso C2. El uso de `uniroot()` fue explicado en la clase mm2.

```
> uniroot(funcionC,c(-10,10))
```

```
$root
```

```
[1] 0.4692803
```

```
$f.root
```

```
[1] -1.110223e-16
```

```
$iter
```

```
[1] 2
```

```
$init.it
```

```
[1] NA
```

```
$estim.prec
```

```
[1] 6.103516e-05
```

`$root`, nos da el valor de C2 para que el gradiente se pueda desarrollar de la manera deseada: Para pasar de 0.1 a 0.3 M en 30 min con un flujo de 1.3 ml/min teniendo un volumen de compartimiento  $V1 = 50$  ml tenemos que utilizar en el compartimiento 2 una concentración de 0.46 M.

Grafiquemos entonces nuestro gradiente con la función `Ct` y los valores hallados

recordamos el formato de la función `Ct`

```
> Ct
```

```
function(t){C2-(C2-C1)*exp(-k*t/V1)}
```

Asignamos entonces los parámetros, incluido ahora el valor de C2 hallado en el paso anterior

```
> C2<-0.46
```

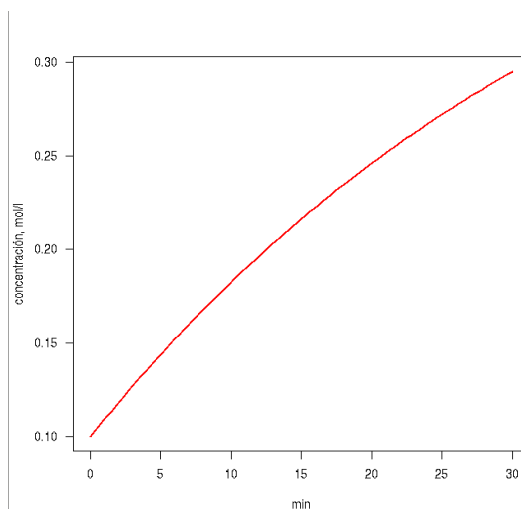
```
> C1<-0.1
```

```
> k<-1.3
```

```
> V1<-50
```

graficamos el gradiente

```
> plot(Ct,0,30,lwd=2,col=2,las=1,xlab='min',ylab='concentración, mol/l')
```



*Figura 15.11*

Como podemos observar logramos un gradiente de 0.1 a 0.3 en los 30 minutos con las condiciones deseadas. El gradiente no es completamente lineal y podrá modificarse con otras modalidades de uso del creador de gradiente.

### 15.1.5. Simuladores de gradiente

Podemos realizar un simulador en tiempo real o ficticio. Para esto utilizaremos scripts, es decir un conjunto de instrucciones que mostrarán los cambios en la concentración en tiempo acelerado o real. Para probar el efecto de los simuladores copie las sentencias siguientes comprendidas entre dos signos #inicio y #fin y péguelas en R, luego de enter y se ejecutarán todas las órdenes. No es parte de este curso la construcción de scripts, pero puede consultar los vídeos en youtube con el nombre R5 # (donde # indica número de 1-9)

Simulador 1

El script siguiente muestra el gradiente con las condiciones especificadas

```
#inicio
#función del gradiente
Ct<-function(t){C2-(C2-C1)*exp(-k*t/V1)}
# condiciones
C1<-0
V1<-200
k<-0.2
C2<-0.8
duración del gradiente =30 min
i=0
plot(0,0,ty='n',xlim=c(0,30),ylim=c(0,0.35),xlab='min',ylab='conc, mol/l')
for(i in 0:30){
points(i,Ct(i))
Sys.sleep(1)
writeLines(paste('concentración= ',Ct(i)))
i=i+1
}
# fin
```

debería haber obtenido la siguiente gráfica

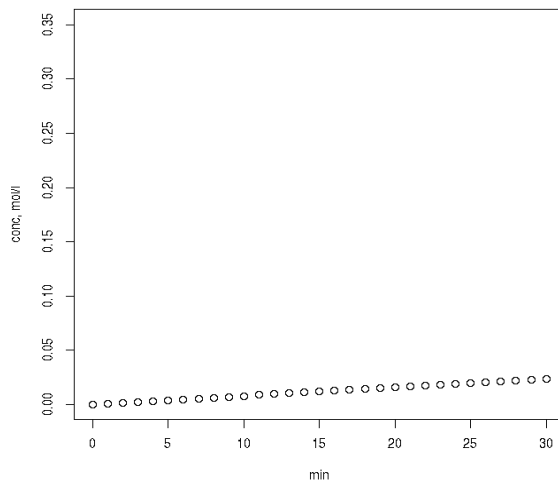


Figura 15.12

## Simulador 2

El script siguiente muestra el gradiente con las condiciones especificadas y varía la C2 de 0.2 a 0.8, de manera más acelerada. El gradiente con cada concentración será mostrado en diferente color

```
#inicio
#función del gradiente
Ct<-function(t){C2-(C2-C1)*exp(-k*t/V1)}
# condiciones
C1<-0
V1<-100
k<-0.2
C2<-0.2
#duración del gradiente =30 min
i=0
```

```

plot(0,0,ty='n',xlim=c(0,30),ylim=c(0,0.1),xlab='min',ylab='conc, mol/l')
for(j in 1 :4){
for(i in 0:30){
points(i,Ct(i),col=j)
Sys.sleep(0.2)
writeLines(paste('concentración= ',Ct(i)))
i=i+1
}
C2<-C2+0.2
}
# fin

```

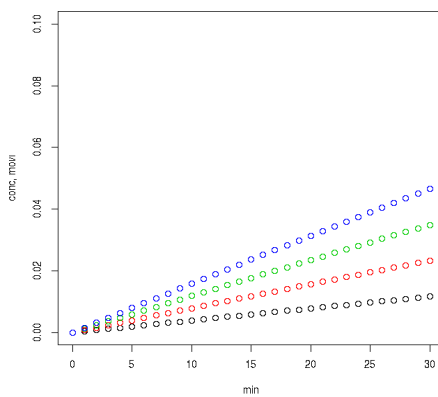
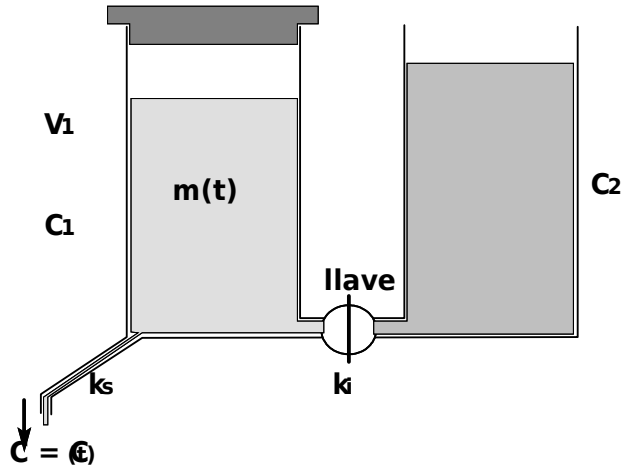


Figura 15.13

### 15.1.6. Ejercicios

<sup>55)</sup> Se dispone de un creador de gradiente como se muestra en la figura



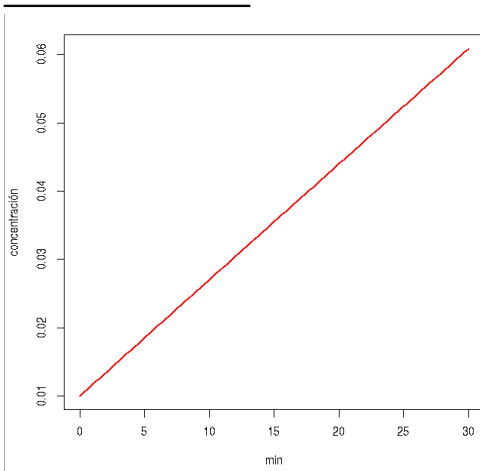
$$C_2 = 3 \text{ eq/L}$$

$$C_1 = 0.01 \text{ eq/L}$$

$$k_i = 0.16 \text{ ml/min}$$

$$V_1 = 280 \text{ ml}$$

Graficar el gradiente de concentración que se obtiene en la salida del dispositivo, para los primeros 30 min.



56) Con el mismo dispositivo del ejercicio anterior hallar qué valor debe tener  $C_2$  para alcanzar una concentración de 0.3 eq/L en 60 minutos.

$$C_1 = 0.01 \text{ eq/L}$$

$$k_i = 0.1 \text{ ml/min}$$

$$V_1 = 280 \text{ ml}$$

¿Es posible preparar la solución de concentración  $C_2$ ?

---

56. 13,68 eq/l

alcanzar la concentración dependerá de la solubilidad de la sustancia. En caso que nos se pueda alcanzar dicha concentración, podría disminuirse  $V_1$ .

## 16. Clase 16

### 16.1. Infusión continua

La infusión continua es una práctica habitual para la administración de drogas en pacientes o en animales de experimentación. Se emplea cuando se desea inyectar una cantidad conocida de una droga en un compartimiento durante un período de tiempo o cuando se desea mantener constante la concentración de una sustancia en un compartimiento. *In vivo*, esta técnica se realiza por cateterismo de una arteria o una vena, a través de la cual se inyecta una solución de concentración conocida a un flujo conocido. El objetivo es alcanzar una concentración determinada que permita mantener este valor con fines de tratamiento o bien medir la constante de velocidad de depuración ( $k_e$ ) de la sustancia.



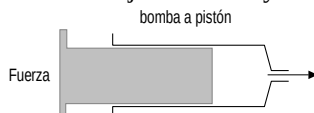
Figura 16.1

Si bien la infusión continua de una sustancia puede realizarse en cualquier compartimiento, es común su utilización cuando se desea mantener constante la concentración de una droga en sangre. En esta práctica se infunde la sustancia, proceso que tiene una constante de velocidad ( $k_i$ ). Esta infusión mantiene en la sangre una concentración constante de la sustancia A, Figura 16.1. Por otro lado, de la sangre la sustancia A es removida, por uno o más procesos. Aunque sean más de uno los procesos, si son del mismo orden se pueden considerar como un único proceso cuya constante de velocidad de eliminación llamaremos  $k_e$ .

Para realizar la infusión se puede proceder de dos maneras diferentes

- Canalizando vena o arteria y utilizando una bomba de infusión de tipo peristáltica o a pistón<sup>57</sup>.

57. Las bombas de infusión, son dispositivos que presentan una jeringa y un mecanismo automático al que se le puede regular la velocidad de empuje del émbolo de la jeringa, de esta manera se puede obtener un flujo constante y conocido.



Las bombas peristálticas, sin jeringa, realizan el empuje por compresión de un catéter

- colocando una minibomba osmótica por ejemplo en la cavidad peritoneal del animal<sup>58</sup>

### 16.1.1. Desarrollo del modelo

La variación de la cantidad de la sustancia A en sangre estará dada por la siguiente ecuación diferencial, independientemente de cual sea el método elegido para realizar la infusión:

$$\frac{dA}{dt} = k_i - k_e * A$$

Ecuación 16.1

En esta ecuación se está teniendo en cuenta que la velocidad de infusión es independiente de la cantidad presente en sangre, por lo tanto el proceso de infusión tiene orden cero, en cambio la eliminación de la sustancia es mayor cuanto mayor es la cantidad de la misma en sangre, por lo que el proceso de eliminación es de orden 1.

Podemos resolver la ecuación, que en este caso lo haremos aplicando las transformadas de Laplace (ver apéndice 3)

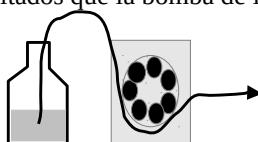
$$s \bar{A} - A_0 = \frac{k_i}{s} - k_e * \bar{A}$$

Si la sustancia A no existe en la sangre, la concentración inicial de A será cero, por lo tanto se puede suponer que  $A_0 \approx 0$ . Reordenando la expresión anterior se obtiene

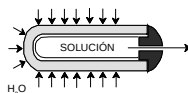
$$\bar{A} * (s + k_e) = \frac{k_i}{s}$$

---

produciendo los mismos resultados que la bomba de infusión.



58. Las minibombas osmóticas son dispositivos que contienen una cavidad en la que se coloca la solución a infundir y ésta está relacionada con el compartimiento a infundir por un pequeño orificio. La cavidad está rodeada por una capa de una sustancia que se expande al estar en contacto con agua. Esta sustancia tiene la capa exterior permeable al agua y rígida, mientras que la capa interior es impermeable y flexible. De esta manera al expandirse, comprime el compartimiento que contiene la solución y fuerza el líquido a salir hacia el exterior.



despejando la transformada de A

$$\bar{A} = \frac{k_i}{s * (s + k_e)}$$

aplicando antitransformada

$$A = \frac{k_i}{k_e} * (1 - e^{-k_e * t})$$

Si dividimos ambos miembros por el volumen de distribución (Vd) de la sustancia, se obtiene el valor de su concentración

$$C = \frac{k_i}{k_e * V_d} * (1 - e^{-k_e * t})$$

Esta es la ecuación a la que se ajustan los valores de la concentración de la sustancia A a lo largo del tiempo. La misma queda representada por una gráfica como se muestra en la Figura 16.2

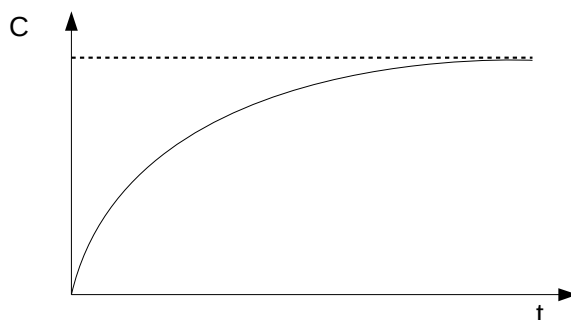


Figura 16.2

### 16.1.2. Concentración máxima de la infusión

A partir de esta ley se pueden obtener otras expresiones de amplia utilidad. Si en la expresión anterior se calcula el límite cuando el tiempo tiene a infinito ( $t \rightarrow \infty$ )

$$\lim_{t \rightarrow \infty} C = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{k_i}{k_e * V_d} * (1 - e^{-k_e * t}) = C_{\infty}$$

se obtiene el valor de la concentración de A a tiempo infinito ( $C_{\infty}$ ), es decir el valor al cual tiende la concentración si la infusión se prolonga un tiempo muy largo. Cuando el tiempo tiende a infinito el término entre paréntesis en la expresión anterior tenderá al valor 1, por

lo tanto la concentración de A para tiempo infinito es

$$C_{\% \infty} = \frac{k_i}{k_e * V_d}$$

Si los valores de  $k_i$ ,  $k_e$  y  $V_d$  son conocidos, se podrá saber a qué concentración máxima,  $C_{\infty}$ , se llegará. Esta expresión también es útil para elegir un valor de  $k_i$  para alcanzar una  $C_{\infty}$  determinada.

Si el objetivo es hallar las variables farmacocinéticas ( $k_e$  y  $V_d$ ), se infundirá la sustancia hasta obtener la concentración constante,  $C_{\infty}$ . A partir de este momento se suspende la infusión y de la curva de decaimiento de la concentración de la sustancia se halla el valor de  $k_e$ . Conociendo  $k_e$ ,  $k_i$  y  $C_{\infty}$ , se puede hallar el volumen de distribución de la sustancia.

### 16.1.3. Vida media de infusión

El modelo permite obtener el tiempo necesario para alcanzar un porcentaje de  $C_{\infty}$ . Por ejemplo si se desea saber cuánto tiempo se demorará en alcanzar la mitad del valor máximo, esto es  $C_{\infty}/2$ , como se conoce que

$$C_{\% \infty} = \frac{k_i}{k_e * V_d}$$

y

$$C = \frac{k_i}{k_e * V_d} * (1 - e^{-k_e * t})$$

reemplazando ambos valores en la expresión obtenida anteriormente, resulta

$$\frac{C_{\% \infty}}{2} = C_{\% \infty} * (1 - e^{-k_e * t_{1/2}})$$

reordenando y simplificando  $C_{\infty}$

$$\frac{1}{2} = 1 - e^{-k_e * t_{1/2}}$$

$$e^{-k_e * t_{1/2}} = \frac{1}{2}$$

aplicando las propiedades del logaritmo de potencia y cociente obtenemos

$$-k_e * t_{1/2} * \ln e = \ln 1 - \ln 2$$

resolviendo algebraicamente resulta

$$-k_e * t_{1/2} = -\ln 2$$

$$-\ln 2 = -k_e t_{1/2}$$

despejando  $t_{1/2}$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$

Como se puede observar en la ecuación anterior, el tiempo para alcanzar una fracción (en este caso 50%) del valor máximo de la concentración es independiente de la  $k_1$  e inversamente proporcional a  $k_e$ . Siguiendo una deducción similar se pueden obtener los tiempos necesarios que se debe infundir para alcanzar un determinado porcentaje del valor máximo de concentración ( $x$ ). Por lo tanto se obtiene la siguiente ecuación general para un  $x\%$  del valor máximo de concentración

$$t_x = \frac{\ln 100 - \ln(100 - x)}{k_e}$$

#### 16.1.4. Utilización de la derivada para el cálculo de parámetros

Existe otra metodología para obtener los parámetros farmacocinéticos, especialmente útil cuando el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ( $C_\infty$ ) es muy largo. En este caso se utiliza la derivada de la función. Si se obtiene la deriva primera de la función representada por la siguiente expresión

$$C = \frac{k_i}{k_e * V_d} * (1 - e^{-k_e * t})$$

se obtiene

$$C' = \frac{k_i}{k_e * V_d} * (0 - e^{-k_e * t}) * (-k_e)$$

reordenando resulta

$$C' = \frac{k_i}{k_e * V_d} * k_e * e^{-k_e * t}$$

simplificando y pasando el término exponencial al denominador, se obtiene

$$C' = \frac{k_i}{V_d * e^{k_e * t}}$$

A tiempo cero, la función derivada toma el valor

$$C'(0) = \frac{k_i}{V_d}$$

Como indica la ecuación anterior, la derivada a tiempo cero es el cociente entre la constante de infusión y el volumen de distribución de la sustancia. La ecuación guarda una lógica pensando que la ecuación se dedujo bajo el supuesto que  $C(0)=0$ , a mayor velocidad de infusión y menor volumen de distribución, mayor va a ser el cambio en la concentración, es decir mayor va a ser su derivada.

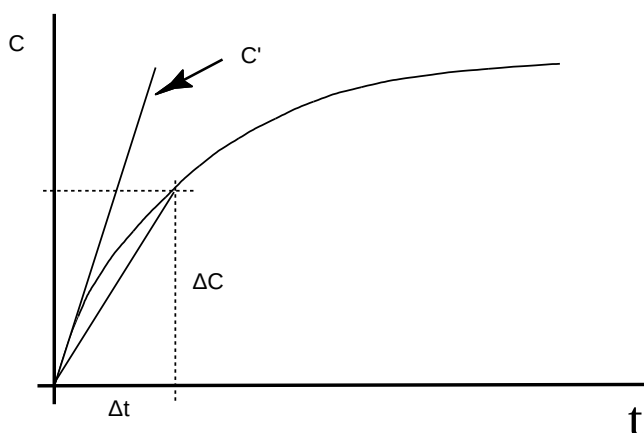


Figura 16.3

La derivada a tiempo cero a su vez es la pendiente de la recta tangente a la función en el punto en cuestión ( $t=0$ ) y como se ve en la Figura 16.3, ésta es parecida a la pendiente de la recta secante calculada como el cociente entre  $\Delta C$  y  $\Delta t$ , al que llamamos cociente incremental entre la concentración de la sustancia y el tiempo.

$$\frac{\Delta C}{\Delta t}(0) = \frac{k_i}{V_d}$$

Ecuación 16.2

El valor obtenido del cociente incremental<sup>59</sup> será tanto más próximo al valor de la derivada, cuanto más pequeño sea el valor de  $\Delta t$ . En este momento es importante resaltar que la amplitud del  $\Delta t$  puede estar restringida por diferentes motivos. Por ejemplo se debe tener un  $\Delta t$  de dimensión suficiente como para que la técnica utilizada para medir  $C$  detecte diferencias significativas entre los valores, de manera que el  $\Delta C$  sea un valor confiable y no una mera representación del error experimental de la determinación, y lo suficientemente pequeño para obtener una buena estimación de la derivada, ya que como se observa en la figura 5.2 cuanto mayor sea el  $\Delta t$ , peor será la estimación que se obtendrá de la derivada.

Veamos algunas aplicaciones que podríamos tener de esta expresión. Uno de los inconvenientes que se puede presentar en una infusión continua es alcanzar el valor  $C_\infty$  cuando  $k_e$  tiene un valor pequeño. Esto se deduce de la expresión de  $t_{1/2}$  en la cual observamos que dicho tiempo es inversamente proporcional al valor de  $k_e$ . Podemos hallar una solución experimental que nos permita llegar en menos tiempo al valor de  $C_\infty$ . Observando la siguiente expresión

59. es la pendiente de la recta  $s$  en la figura 5.2

$$C'(0) = \frac{k_i}{V_d}$$

se deduce que la derivada a tiempo cero es directamente proporcional a  $k_i$ . En base a esto se puede modificar la infusión para alcanzar el plateau con un menor tiempo de infusión. Para ello al inicio se infunde a una velocidad mayor, de manera que  $k_i$  sea mayor que la que se utilizará en el resto de la infusión. Como se puede ver en la Figura 16.4, la línea continua muestra la evolución que seguiría la concentración de A con la constante  $k_i$ , mientras que la línea de puntos muestra la evolución con una  $k_i$  mayor. Como lo muestran las flechas las tasas de infusión tienen una relación inversa con el tiempo necesario para alcanzar  $C_\infty$ .

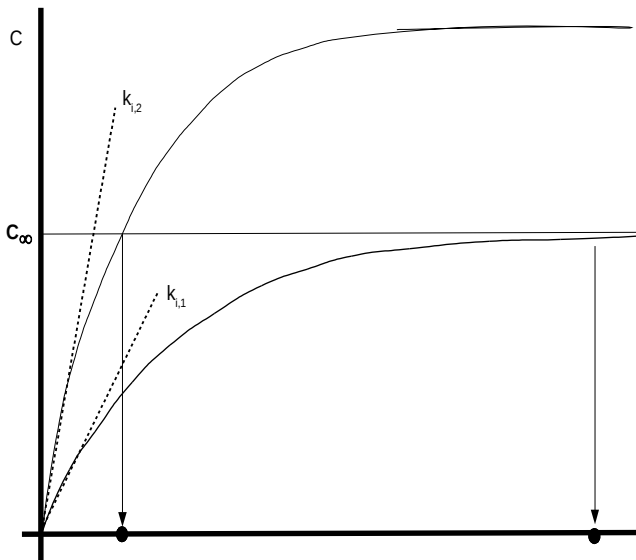


Figura 16.4

Si se infunde hasta un dado tiempo a velocidad  $k_{i,2}$  y en el momento de alcanzar la concentración límite se cambia a  $k_{i,1}$ , se obtendrá un comportamiento como el mostrado en rojo en la Figura 16.5.

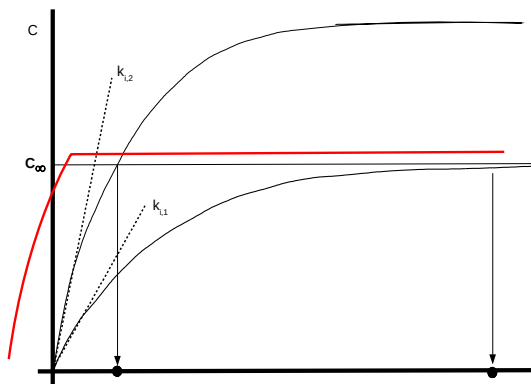


Figura 16.5

Otra manera de solucionar el problema es inyectando una dosis única inicial,  $D_0$ , de tal manera que se cumpla que

$$\frac{D_0}{V_d} \simeq C_\infty$$

y simultáneamente infundir a velocidad  $k_i$ . De esta manera se alcanzaría el valor del plateau al inicio del experimento y luego la infusión continua lo mantiene, Figura 16.6. Se debe observar que con ambas metodologías se necesita tener una noción del proceso. En el primer caso se debería conocer cuándo se ha alcanzado la concentración constante y cambiar la velocidad de infusión al valor previsto. En el segundo caso se debería tener una estimación del volumen de distribución.

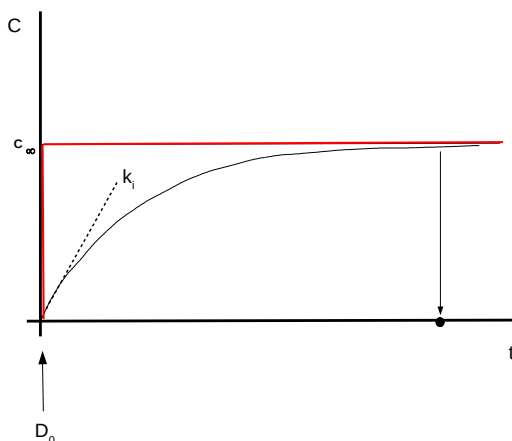


Figura 16.6

Al aplicar estas metodologías la constante  $k_i$  es un valor conocido. Para el caso de las

bombas peristálticas y de infusión, este valor se puede conocer con precisión, apelando a los valores de velocidad de movimiento de las bombas de infusión y los grosores de los catéteres o jeringas utilizadas. Además es posible recolectar el líquido en tubos y con la ayuda de una balanza conocer exactamente el volumen emitido por la bomba de infusión. Para el caso de las minibombas osmóticas, es más dificultoso conocer el valor, ya que las mismas no se comportan homogéneamente y los volúmenes que las bombas emiten son muy pequeños. Además para que la bomba presente un flujo debe estar en contacto con una solución. De todas maneras  $k_i$  es un valor que se puede comprobar previo a la infusión. Para cumplir con este último objetivo, se coloca una minibomba osmótica en un recipiente con una solución de características fisicoquímicas (pH, fuerza iónica, temperatura y tipos de solutos) similares al medio en el cual se encontrará durante el experimento. Luego se mide la concentración de la sustancia A a lo largo del tiempo en el recipiente. Conociendo el volumen del recipiente se puede calcular con exactitud el flujo del dispositivo.

### 16.1.5. Calibración de minibomba osmótica

Para conocer el flujo de una minibomba osmótica, ésta se puede colocar en un recipiente de volumen conocido y medir la concentración a lo largo del tiempo, Figura 16.7. La pendiente de la recta que puede ajustarse a tiempos cercanos al inicio es una medida de  $k_i$ . Las minibombas tienden a agotarse por ello la concentración tiende a un plateau que es una medida de su capacidad de carga de la sustancia.

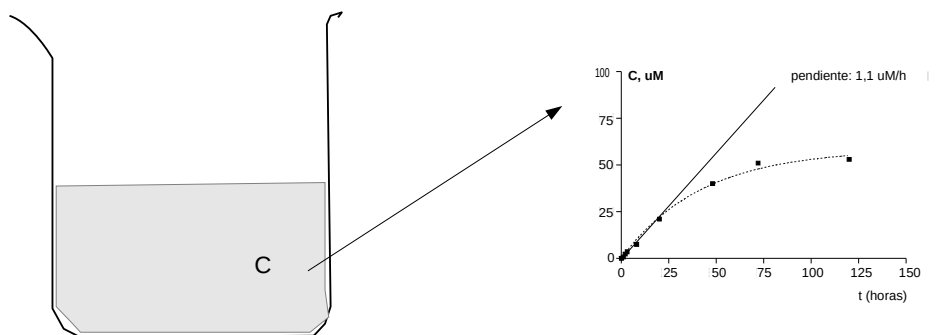


Figura 16.7

La línea de puntos muestra la variación real de la concentración de la sustancia A en el recipiente, mientras que la línea continua corresponde a la recta que ajusta los valores con un comportamiento lineal cuya pendiente es a modo de ejemplo de 1.1  $\mu\text{M}/\text{hora}$ . Si el recipiente en que se colocó la minibomba tiene un volumen de 1 litro, esto indica que cada hora se vuelcan al recipiente 1.1  $\mu\text{mol}$  de la sustancia. Este es el flujo de la bomba, el que proporciona un valor de  $k_i = 1.1 \mu\text{mol}/\text{hora}$ .

### 16.1.6. Aplicaciones y cálculos

#### 16.1.6.1. Calibración minibomba osmótica

Introduzca en su espacio de trabajo los valores de la tablamm161 de la planilla de cálculo tablamm16.ods/xls. En esta tabla hallamos valores de concentración de un recipiente de 100 ml en que colocamos una bomba osmótica con una solución conteniendo glucosa.

```
> tablam161<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

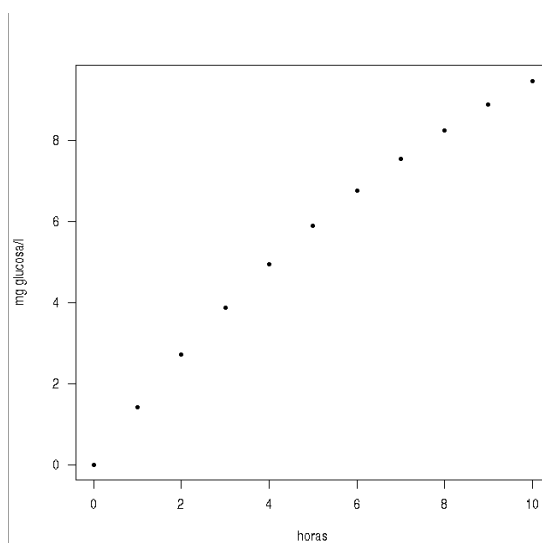
vemos nuestros datos

```
> tablam161
```

```
  t  C
1 0 0.00
2 1 1.43
3 2 2.72
4 3 3.89
5 4 4.95
6 5 5.90
7 6 6.77
8 7 7.55
9 8 8.26
10 9 8.90
11 10 9.48
```

los graficamos

```
> plot(tablam161$t,tablam161$C,xlab='horas',ylab='mg glucosa/l',las=1,pch=20)
```



*Figura 16.8*

podemos comprobar por la gráfica que la bomba funciona casi linealmente en el tiempo analizado, sin embargo, va existiendo una curvatura que se acentúa a partir de las 5 h. Será decisión del investigador elegir el tiempo en que considera que la bomba funciona adecuadamente. Para este ejemplo tomaremos 5 h y calcularemos con esos datos la constante de infusión.

En primer lugar realizamos una regresión lineal, con ordenada al origen 0, ya que el

recipiente originalmente no contenía glucosa. Introduciremos una serie de recursos de R para el manejo eficiente de tablas de datos. En primer lugar para hallar la pendiente de la recta aplicamos la función `lm()` que corresponde a un modelo lineal. En este modelo expresamos la concentración (C) en función ( $\sim$ ) del tiempo (t). Como verá en la expresión a continuación de t colocamos '-1'. Este código indica a R que deseamos que la regresión pase por el origen de coordenadas y por lo tanto cuando nos de el resultado no nos mostrará la ordenada al origen ya que ésta será cero.

```
> lmtablam161<-lm(C~t-1,subset(tablam161,t<6))
```

vemos un detalle del modelo lineal

```
> summary(lmtablam161)
```

Call:

```
lm(formula = C ~ t - 1, data = subset(tablam161, t < 6))
```

Residuals:

1	2	3	4	5	6
7.967e-16	1.965e-01	2.531e-01	1.896e-01	1.618e-02	-2.673e-01

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
t	1.23345	0.02766	44.6	1.07e-07 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2051 on 5 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9975, Adjusted R-squared: 0.997

F-statistic: 1989 on 1 and 5 DF, p-value: 1.07e-07

Los valores resaltados en amarillo nos indican

1.23345: valor de la pendiente de nuestra gráfica es decir cuantos mg/l cambia por hora la concentración

1.07e-07 \*\*\*: nos indica que esta variación discrepa de cero, es decir no es un mero error experimental o presunción gráfica.

R-squared: 0.9975, nos indica un buen ajuste del modelo lineal a los puntos elegidos.

p-value: 1.07e-07, al ser mucho menor que el nivel de significación que elegimos, que habitualmente es 0.05, nos garantiza una buena elección de la recta como modelo.

Calculamos ahora la  $k_i$ , a la que queremos en mg/min. Para ello debemos recordar que la pendiente está por hora, por lo cual el valor deberá ser dividido por 60. Además el valor de la pendiente está por litro y nuestra bomba fue colocada en un recipiente de 100 ml, 10 veces menor que el litro por lo que deberemos dividir por 10 también el resultados hallando así  $k_i$  en mg/min

```
> ki<-1.23345/(60*10)
```

```
> ki
```

```
[1] 0.00205575
```

### 16.1.6.2. *Calculo de parámetros*

En la Tabla 11 se muestran los valores obtenidos en una infusión continua con un  $k_i = 0.017 \mu\text{mol}/\text{min}$  ( $1 \mu\text{mol}/\text{hora}$ ).

t	C
0	0,1
60	0,3
120	2,8
180	5,1
240	5,2
300	5,2
310	5,0
320	2,1
330	0,3
340	0,1

Tabla 11

Estos mismos valores se visualizan en la Figura 16.9. De 0 a 300 minutos se infunde a velocidad constante. En este período está presente la infusión y la excreción. A los 300 minutos se suspende la infusión.

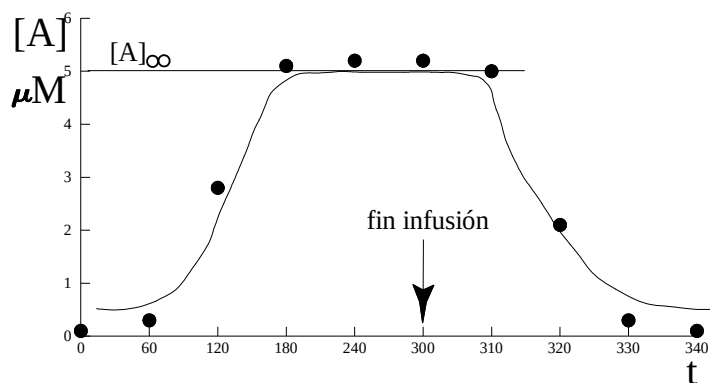


Figura 16.9

Introducimos los datos de la tablamm162 en R

```
> tablamm162<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

los visualizamos

```
> tablamm162
```

```
  t C
1  0 0.1
2  60 0.3
3  120 2.8
4  180 5.1
5  240 5.2
6  300 5.2
7  310 5.0
8  320 2.1
9  330 0.3
10 340 0.1
```

De la Tabla 11 se puede obtener el valor  $C_{\infty}$ , en este caso podemos estimar que dicho valor es igual a 5.2  $\mu\text{M}$ .

Al transcurrir 300 minutos se finaliza la infusión, por lo que podemos suponer que a partir

de los 310 min la ecuación que ajusta los datos solo contiene el parámetro  $k_e$  y su expresión será

$$C = C_0 * e^{-k_e * t}$$

Ecuación 16.3.

o bien

$$\log C = \log C_0 - k_e * t$$

Ecuación 16.4.

Si aplicamos un modelo lineal para  $t > 300$  minutos se obtiene  $k_e$ .

```
> lmtablam162<-lm(log(C)~t,subset(tablam162,t>300))
```

vemos el resultado

```
> summary(lmtablam162)
```

Call:

```
lm(formula = log(C) ~ t, data = subset(tablam162, t > 300))
```

Residuals:

```
 7    8    9   10
-0.15406 0.34663 -0.23108 0.03851
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	44.1776	4.5848	9.636	0.0106 *
t	-0.1368	0.0141	-9.704	0.0105 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.3153 on 2 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9792, Adjusted R-squared: 0.9688

F-statistic: 94.18 on 1 and 2 DF, p-value: 0.01045

Vemos que la pendiente de la recta toma el valor:  $-0.1368 \text{ min}^{-1}$ , que es significativamente diferente de cero como lo indica el valor 0.0105 del  $\text{Pr}(>t)$  y que el ajuste lineal elegido que es bueno, como lo indica el R-squared y su p-value. Así obtenemos uno de los parámetros de la farmacocinética de la droga, es decir su constante de eliminación:  $k_e = 0.1368 \text{ min}^{-1}$ .

Por otro lado el buen ajuste nos está indicando que la elección de orden 1 para el proceso de excreción fue acertado, ya que cuando el orden es 1 el ajuste del logaritmo de la concentración con una recta, debería ser el mejor ajuste. Si el orden del proceso de eliminación no fuera 1, como hemos asumido al elegir este modelo, el  $\ln()$  planteado como lo hicimos nos debería haber dado  $p\text{-value} > 0.05$ .

Conociendo los valores de  $k_e = 0.1368 \text{ min}^{-1}$ ,  $k_i = 0.017 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$  y  $C_\infty = 5.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{litro}^{-1}$ , aplicando la expresión

$$C_{\% \infty} = \frac{k_i}{k_e * V_d}$$

nos permitirá obtener el valor de  $V_d$

$$V_d = \frac{k_i}{k_e * C_\infty} = \frac{0.017 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}}{0.1368 \text{ min}^{-1} * 5.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{litro}^{-1}} = 0.023 \text{ litros}$$

Si en cambio se utiliza la derivada de la función a tiempo cero para obtener el valor del volumen de distribución, empleando la ecuación deducida anteriormente

$$\frac{\Delta C}{\Delta t}(0) = \frac{k_i}{V_d}$$

Ecuación 16.5

$$C'_{(0)} = \frac{k_i}{V_d} = \frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{0.3 - 0.1}{60 - 0} = 0.00333 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

despejando  $V_d$

$$V_d = \frac{k_i}{0.00333 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}} = \frac{0.017 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}}{0.00333 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}} = 5.1 \text{ litros}$$

Como se puede observar, el valor del volumen de distribución obtenido usando ambas metodologías es notablemente diferente. La razón principal radica en que al utilizar el

cociente incremental como una aproximación de la derivada a tiempo cero, y el intervalo de tiempo empleado es 60 minutos, el cociente incremental no es una buena aproximación de la derivada para este intervalo de tiempo. Los cálculos anteriores indican que la disposición de una ecuación no implica que la misma pueda ser utilizada indiscriminadamente y sin criterio.

### 16.1.7. Ejercicios

<sup>60)</sup> La ecuación siguiente expresa la concentración de una sustancia B en función del tiempo durante una infusión

$$[B] = \frac{k_i}{k_e \cdot V_d} (1 - e^{-k_e t})$$

donde:

$k_i$  : velocidad de infusión

$k_e$ : velocidad de excreción

$V_d$ : volumen de distribución

a- Calcular  $V_d$  conociendo que  $k_i = 5 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $k_e = 0.01 \text{ min}^{-1}$  y  $C = [B]_{\text{plateau}} = 10 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

b- Calcular  $V_d$  conociendo que  $k_i = 5 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $k_e = 0.01 \text{ min}^{-1}$  y  $[B] = 0$  cuando  $t = 0$  y  $[B] = 0.3 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  cuando  $t = 2 \text{ min}$ .

c- Calcular la velocidad de infusión ( $k_i$ ), si se desea alcanzar una  $[B]_{\text{máxima}} = 15 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , sabiendo que  $k_e = 0.01 \text{ min}^{-1}$  y el  $V_d = 0.3 \text{ L}$ .

<sup>61)</sup> Se realizó una infusión continua utilizando una minibomba osmótica cuyo flujo medido in vitro fue  $1 \text{ } \mu\text{l/hora}$ . La solución de llenado de la bomba osmótica es  $1 \text{ mol/L}$ .

60. a- 50 litros

b- 33,3 litros

c-  $0,045 \text{ } \mu\text{mol/min}$

61. a- se obtiene de la tabla:  $6.1 \text{ } \mu\text{mol/L}$

b-  $0.14 \text{ } \mu\text{mol/min}$

c-  $0017 \text{ } \mu\text{mol/min}$

d- cálculo  $V_a$  por  $C$  infinito =  $0.0204 \text{ L}$ . Cálculo por derivada a tiempo cero:  $0.0378 \text{ L}$ . Sería más confiable el primero ya que se utiliza el valor del plateau que se repitió durante varios minutos, mientras que la derivada se calcula una vez y con un intervalo de 10 minutos.

Se implantó la bomba durante 300 minutos. Luego se retiró y se estudió al animal durante los siguientes 40 minutos. Los valores de concentración plasmática de la sustancia investigada en función del tiempo fueron:

t (minutos)	[sustancia] $\mu\text{mol/L}$
0	0
10	4.5
20	5.7
30	5.9
60	6.1
120	6.1
180	6.1
240	6.1
300	6.1
310	5.0
320	2.1
330	0.3
340	0.1

Calcular (puede hallar los datos en la tablamm163):

a- Concentración a tiempo infinito de la infusión o valor máximo o plateau:  $C_{\infty}$ .

b- La constante de excreción de la sustancia.

c- la constante de infusión

d- El volumen de distribución (calcularlo utilizando valor de la derivada a  $t = 0$  y concentración hallada a  $t = \infty$ ). ¿Cuál considera más confiable?

<sup>62)</sup> Se programó un experimento de infusión continua de una sustancia A, en la rata, utilizando una minibomba osmótica. Con el objetivo de evaluar el funcionamiento de la bomba se llenó la misma con una solución de concentración 0,5 M de la sustancia A. La minibomba se colocó en un recipiente con 100 ml de solución fisiológica con una concentración inicial de  $A = 0$ . Se determinó la concentración de A en la solución durante 600 minutos obteniéndose los siguientes resultados

t (minutos)	[A] mol.L <sup>-1</sup>	t (minutos)	[A] mol.L <sup>-1</sup>
0	0	360	0.006
120	0.002	480	0.008
240	0.004	600	0.01

Luego se implantó la bomba en la cavidad peritoneal de un animal. La bomba se llenó con solución 0,5 M. Se determinó en sangre la concentración de A durante 350 minutos. A los 300 minutos se retiró la bomba

t (minutos)	[A] mol.L <sup>-1</sup>	t (minutos)	[A] mol.L <sup>-1</sup>
0	0	310	0.01
60	0.34	320	0.008
120	0.45	330	0.0068
180	0.49	340	0.0055
240	0.49	350	0.0046
300	0.49		

- a- Determinar el orden del proceso de infusión y de excreción.
- b- Plantear la ecuación diferencial que expresa la variación de la concentración de la sustancia A en plasma en función del tiempo y hallar la función de ajuste.
- c- Hallar el valor de las constantes de excreción e infusión.

## 17. Clase 17

### 17.1. Estudios de absorción en órganos aislados

En este capítulo se describirán experimentos y se desarrollarán modelos aplicados a estudios de absorción y metabolismo de sustancias en órganos aislados *in situ*. La expresión "órgano aislado *in situ*" se refiere a un órgano que se encuentra en el animal, preservando total o parcialmente sus funciones, manteniendo la inervación e irrigación sanguínea, en lo posible. A través de ciertas manipulaciones, químicas y quirúrgicas, se logran controlar algunos de los procesos que en él ocurren. Durante la realización del experimento el animal de experimentación permanece vivo, bajo los efectos de algún anestésico. Los modelos que se presentarán a continuación han sido desarrollados para el estudio de los procesos de absorción del monofluorofosfato (MFP) y fluoruro de sodio (NaF) en estómago e intestino. Se discutirán a continuación los experimentos y la interpretación de los datos que permitieron desarrollar los modelos definitivos. Por supuesto que no son modelos solo aplicable a estas situaciones y sustancias, sino que sirven ellas de ejemplo para estudiar los modelos.

#### 17.1.1. Modelo de estómago aislado

A continuación se estudiará el proceso de absorción gástrica de una o más drogas. En particular serán analizados los procesos de absorción e hidrólisis del MFP. Si el MFP ingresa al estómago a través de la ingesta por vía oral, podemos asignarle al proceso una constante de velocidad  $k_1$ , Figura 17.1. De la misma manera, el fluoruro que acompaña habitualmente al MFP ingresará al estómago con una constante de velocidad  $k_7$ . Al llegar al estómago, el MFP puede absorberse a través de la mucosa gástrica con una constante  $k_2$  o metabolizarse a fluoruro (F), proceso al que le podemos asignar una constante de velocidad:  $k_3$ . A su vez el MFP podría absorberse ( $k_4$ ) a través de la mucosa y pasar al torrente circulatorio. Por último el MFP y el F podrían pasar al duodeno, asignándole a cada proceso una constante de velocidad:  $k_5$  y  $k_6$ , respectivamente. Algunos de estos procesos son ya conocidos, otros son el motivo de la investigación.

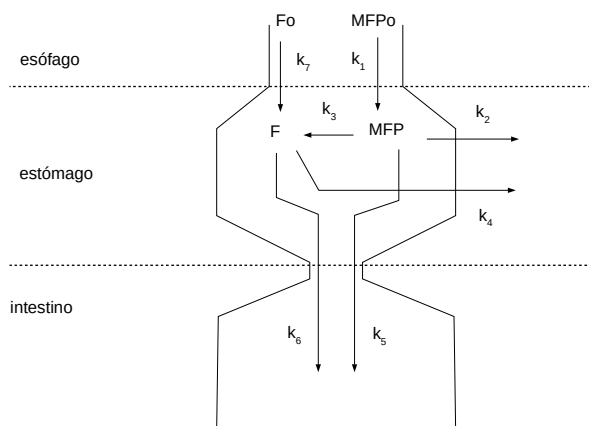


Figura 17.1

Si se desea conocer el metabolismo en la luz del estómago es conveniente restringir las variables intervinientes. Los siguientes recursos son aplicables con el objetivo de lograr dicha simplificación.

- ◆ Bloqueo del pasaje de las sustancias al duodeno mediante ligadura en el píloro. Con esta ligadura se logra que  $k_5$  y  $k_6$  sean cero. El estómago se aísla del resto del tubo digestivo, pero mantiene su irrigación e inervación. Este modelo se denomina estómago aislado *in situ*. La ligadura del píloro implica una laparotomía abdominal, por lo que es imprescindible una anestesia total del animal utilizado.
- ◆ Administración de una dosis única a un dado tiempo, utilizando una sonda gástrica. Con esta maniobra, se logra que no exista un proceso continuo de aporte de la sustancia al estómago desde el esófago por lo tanto  $k_1$  y  $k_7$  son cero.

A la hora de plantear el problema, por supuesto son importantes los conocimientos previos. Al inicio de estos estudios se conocía que

- ◆ El MFP se hidroliza y da como productos fluoruro ( $F^-$ ) y fosfato ( $P^-$ ). Si bien este proceso está descrito en intestino no existía información sobre su existencia en estómago, en el momento de desarrollar el modelo.
- ◆ El fluoruro se absorbe a nivel gástrico, proceso que es favorecido por la formación de ácido fluorhídrico (HF). Este fenómeno es dependiente del pH, dado que este ácido es débil, su formación está favorecida por el bajo pH que presenta la luz del estómago.

En base a las observaciones anteriores y las restricciones impuestas, se pueden despreciar las constantes  $k_1$ ,  $k_5$ ,  $k_6$  y  $k_7$ . Sin embargo la posibilidad de absorción de MFP intacto y su metabolización a  $F^-$ , no pueden ser descartadas. Por otro lado la absorción de  $F^-$ , es un hecho ya comprobado.

Se realizó un experimento de estómago aislado *in situ* y se midió la concentración de MFP y  $F^-$  en la Tabla 12

tiempo (min)	[MFP] $\mu\text{M}$	[ $F^-$ ] $\mu\text{M}$
0	$52 \pm 5$	$12.6 \pm 2$
15	$48 \pm 4$	$13 \pm 5$
30	$37 \pm 7$	$10 \pm 2$
45	$30 \pm 4$	$9 \pm 1$
60	$26 \pm 6$	$8 \pm 2$
75	$24 \pm 1$	$8 \pm 1$
90	$23 \pm 2$	$7 \pm 1$

Tabla 12: concentraciones (media $\pm$ SD) de MFP y  $F^-$  en la luz del estómago luego de colocar 2 ml de MFP 60 mM

Como se puede observar tanto el MFP como el  $F^-$  disminuyen a lo largo del tiempo. La disminución de la concentración de MFP determina que no se puedan descartar los procesos cuyas constantes son  $k_2$  y  $k_3$ . En base a estas observaciones se estableció un modelo preliminar para someter al estudio. El mismo está representado en la Figura 17.2, donde la dosis  $F_0$  y  $MFP_0$  se coloca a través de sonda orogástrica en la luz del estómago

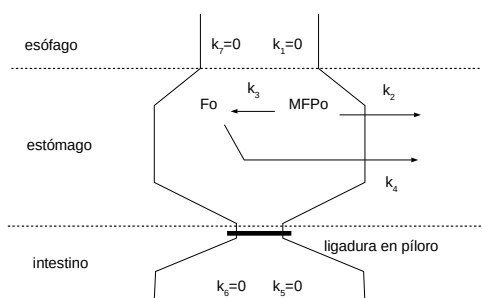


Figura 17.2

Con el objetivo de determinar la existencia del proceso cuya constante es  $k_3$  se administraron 2 ml de MFP 80 mM a ratas cuyo estómago se había aislado *in situ*. Los

animales se ayunaron previamente durante 24 horas para evitar la presencia de alimentos en la luz gástrica. A los 2 minutos de la administración se retiró el contenido del interior del estómago y se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 385 minutos. Con esta maniobra se logra mezclar la solución de MFP con algún posible factor de la luz gástrica (si existe) que pudiera metabolizar el MFP a  $\text{F}^{-}$ , para luego estudiarlo *in vitro*. Se debe notar que al incubar el contenido gástrico *in vitro*, las constantes  $k_2$  y  $k_4$  se desprecian, ya que *in vitro*, el MFP y el  $\text{F}^{-}$ , como tales, no podrían salir del sistema, Figura 17.3.

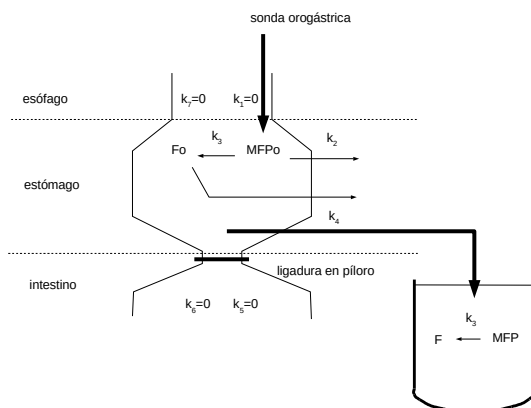


Figura 17.3

En estas condiciones se determinó la concentración de  $\text{F}^{-}$  en función del tiempo en el buffer de incubación. La hipótesis que se maneja es la siguiente: si en el estómago el proceso de transformación de MFP a  $\text{F}^{-}$  tiene lugar, la concentración de  $\text{F}^{-}$  *in vitro* debe aumentar. Los datos que se obtuvieron del proceso son los que se muestran en la Tabla 13.

tiempo (min)	[F] uM
0	5.4 ± 0.4
20	5.6 ± 0.6
70	5.4 ± 0.1
130	5.4 ± 0.5
385	5.1 ± 0.4

*Tabla 13: [F<sup>-</sup>] en el contenido gástrico incubado in vitro (n=3)*

Los datos de la Tabla 13, se hallan en la planilla de cálculo `tablamm17.ods/xls`, hoja `tablamm171`. Introducimos los datos en nuestro espacio de trabajo para hacer el análisis

```
> tablamm171<-read.table('clipboard',header=T,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

auditamos nuestros datos

```
> tablamm171
```

```
  t F sd
1  0 5.4 0.4
2 20 5.6 0.6
3 70 5.4 0.1
4 130 5.4 0.5
5 385 5.2 0.4
```

Analizando los datos de esta tabla mediante regresión lineal, en búsqueda de elementos que nos permitan determinar si existe o no cambio en la concentración de F. Para ello utilizamos la función `lm()` que nos permite realizar una regresión lineal de F en función del tiempo

```
> lmtablamm171<-lm(F~t,data=tablamm171)
```

pedimos un resumen del modelo lineal y nos centramos en el valor de la pendiente (t), resaltada en amarillo

```
> summary(lmtablamm171)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablamm171)
```

Residuals:

```
 1      2      3      4      5
```

-0.090856 0.124162 -0.038295 0.006758 -0.001769

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	5.4908558	0.0542531	101.208	2.13e-06 ***
t	-0.0007509	0.0002939	-2.555	0.0836 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.09163 on 3 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.6852, Adjusted R-squared: 0.5802  
 F-statistic: 6.529 on 1 and 3 DF, p-value: 0.08356

se puede ver que la pendiente de la recta que ajusta a los valores de F en función del tiempo no discrepa de cero ( $-0.0007509 \pm 0.0002939$   $\mu\text{mol/litro.min}$ ,  $p > 0,05$ ), por lo que se puede establecer que el proceso de transformación de MFP a F<sup>-</sup> es despreciable, pudiendo considerar que el valor de  $k_3 = 0$ .

A esta conclusión también podemos llegar calculando el intervalo de confianza para la pendiente del modelo. Para ello utilizamos la función `confint()`.

```
> confint(lmtablamm171,level=0.95)
```

	2.5 %	97.5 %
(Intercept)	5.318198305	5.6635132768
t	-0.001686073	0.0001843241

La línea t de la tabla anterior tiene el intervalo de confianza para la pendiente con un nivel de confianza de 0,05. Como podemos ver el intervalo de confianza incluye al valor cero, lo que nos da más evidencia aun que la pendiente de la recta es cero, indicando que la concentración no cambia a lo largo del tiempo.

Con los resultados del experimento anterior se puede suponer que la presencia de algún factor soluble en la luz gástrica es despreciable, pero no se puede descartar la presencia de una enzima de membrana que produjera dicha metabolización o algún factor que fuera secretado a la luz no inmediatamente (dentro de los 2 minutos de preincubación *in situ*). Este último problema sería solucionable si se preincubaran a diferentes tiempos y luego se incubaran las soluciones *in vitro* repitiendo el experimento anterior.

En base a los experimentos detallados anteriormente y con las limitaciones impuestas, el modelo para estómago aislado *in situ* luego de una dosis única de MFP queda representado por la Figura 17.4

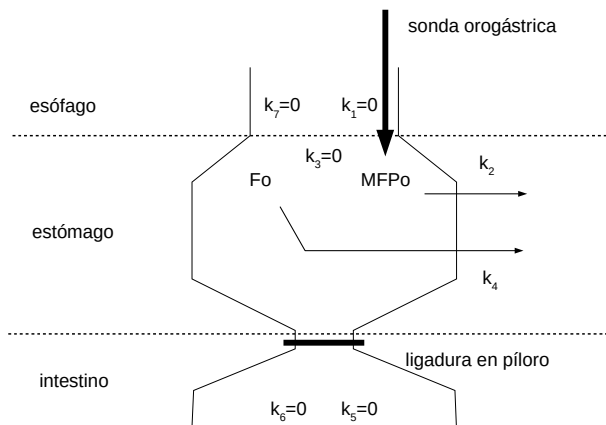


Figura 17.4

En base a los datos de la Tabla 12, que nos muestra que tanto el F como el MFP decrecen en su concentración a lo largo del tiempo, se puede concluir que el MFP y F desaparecen de la luz gástrica por absorción a través de la mucosa gástrica o bien por unión a la membrana. Para dilucidar si se trata de unión a la membrana o absorción se midió flúor en sangre por microdestilación isotérmica ( $\mu$ DI) después de 15 minutos de haber llenado el estómago aislado *in situ* con las soluciones que se detallan en Tabla 14.

solución de llenado	[F] determinado por $\mu$ DI, $\mu$ M
MFP 0 mM, NaF 0 mM	$1.6 \pm 0.5$
NaF 80 mM	$79.0 \pm 14$
NaF 80 mM + $Al^{+++}$ 80 mM	$1.8 \pm 1.0$
MFP 80 mM, NaF 5 mM	$5.8 \pm 1.1$
MFP 80 mM, NaF 5 mM + $Al^{+++}$ 5 mM	$3.9 \pm 0.8$

Tabla 14. [F] determinada por  $\mu$ DI en plasma luego de 15 minutos de llenar el estómago con 2 ml de las soluciones de la primer columna ( $n=4$ , media $\pm$ SD)

Cuando en la luz del estómago se colocó una solución de MFP 0 mM y NaF 0 mM, en el plasma se determinó una concentración de flúor de  $1,6 \pm 0,5 \mu$ M. Esta sería la concentración basal en un animal no expuesto a una dosis de compuestos con flúor. Cuando el estómago se llenó con una solución de NaF 80 mM a los 15 minutos en el plasma la concentración de F alcanzó el valor de  $79 \mu$ M, lo que está confirmando la absorción de fluoruro a nivel gástrico. Esto indica que el decrecimiento de la concentración de fluoruro a nivel gástrico,

se debe en parte a un proceso de absorción. Sin embargo la presencia de absorción no asegura la falta de un proceso de unión a alguna estructura. Cuando se utilizó la misma concentración de fluoruro de sodio, pero simultáneamente con concentraciones equimolares de aluminio, que forma un complejo no absorbible entre ambos elementos, concentraciones plasmáticas compatibles con esta inhibición fueron detectadas en plasma 15 minutos después de colocar la solución en la luz gástrica ( $1,8 \pm 1.0 \mu\text{M}$ ). Cuando se colocó una solución de MFP 80 mM que está acompañada por NaF 5 mM la concentración plasmática asciende a  $5.8 \pm 1.1 \mu\text{M}$ . En este caso no podemos afirmar que el aumento de la concentración plasmática sea por absorción del MFP. Sin embargo si la solución además tiene aluminio: MFP 80 mM, NaF 5 mM +  $\text{Al}^{+++}$  5 mM, la fluoremia es  $3.9 \pm 0.8 \mu\text{M}$ . Este último dato indica que aun cuando el F no se absorbe por la unión a aluminio, el MFP se absorbe y no forma complejo con el  $\text{Al}^{+++}$ .

En base a las observaciones realizadas hasta este momento se podría afirmar que la disminución de la concentración de MFP en la luz intestinal se debe a absorción a través de la mucosa gástrica y no por hidrólisis a fluoruro. Obviamente no se puede descartar que la unión a estructuras tisulares no existe, pero al menos se puede afirmar que ese no es el único proceso que determina la disminución de la concentración de MFP en el estómago.

### 17.1.2. Desarrollo del modelo matemático

Deducción de una ecuación para modelizar el proceso. Si bien este proceso es sencillo, utilizaremos herramientas matemáticas para llegar a la ecuación, utilizando una metodología que nos permitirá luego resolver casos más complejos. La ecuación diferencial que representaría el proceso de desaparición de MFP a nivel gástrico quedaría representada de la siguiente manera

$$\frac{dMFP}{dt} = -k_2 * MFP^p$$

En base a los datos de MFP de la Tabla 12, deduciremos el orden más adecuado para nuestro modelo. Utilizaremos los valores de las medias, los cuales puede hallar en la tablamm172 de la planilla de cálculo tablamm17.ods/xls. Introducimos los datos en nuestro espacio de trabajo

```
> tablamm172<-read.table('clipboard',header=T,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

controlamos los datos introducidos

```
> tablamm172
```

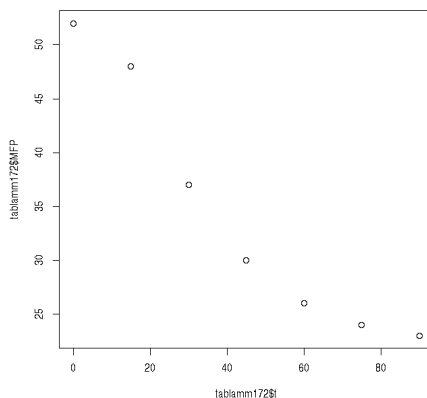
t	MFP	SD	F	SD	
1	0	52	5	12.6	2
2	15	48	4	13.0	5
3	30	37	7	10.0	2
4	45	30	4	9.0	1
5	60	26	6	8.0	2

```
6 75 24 1 8.0 1
```

```
7 90 23 2 7.0 1
```

graficamos los datos de MFP en función del tiempo

```
> plot(tablamm172$t,tablamm172$MFP)
```



La gráfica no parece que pueda ser bien ajustada por una función lineal, indicando un orden 0. Por lo tanto en primer lugar probamos la regresión lineal del  $\log(\text{MFP})$  vs  $t$  para evaluar un posible orden 1

```
> lmtablamm172MFP<-lm(log(MFP)~t,data=tablamm172)
```

observamos el resultado. Vemos resaltado el valor del coeficiente de correlación: 0.9523 y el valor de  $k_2$  para este ajuste: 0.0099675

```
> summary(lmtablamm172MFP)
```

Call:

```
lm(formula = log(MFP) ~ t, data = tablamm172)
```

Residuals:

```
1 2 3 4 5 6 7
0.016104 0.085574 -0.025196 -0.085403 -0.078991 -0.009521 0.097433
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.9351397	0.0539407	72.953	9.17e-09 ***
t	-0.0099675	0.0009974	-9.994	0.000171 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.07916 on 5 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9523, Adjusted R-squared: 0.9428  
 F-statistic: 99.88 on 1 and 5 DF, p-value: 0.0001715

ahora probamos la regresión entre MFP y t, evaluando el orden=0. De esta manera podremos verificar nuestra presunción

```
> lmtablam172MFP<-lm(MFP~t,data=tablam172)
```

vemos el resultado y remarcamos el coeficiente de correlación: 0,9178 y un valor de k2= -0.34762, resaltado en el análisis que vemos a continuación

```
> summary(lmtablam172MFP)
```

Call:

```
lm(formula = MFP ~ t, data = tablam172)
```

Residuals:

```
 1    2    3    4    5    6    7
2.0714 3.2857 -2.5000 -4.2857 -3.0714 0.1429 4.3571
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	49.92857	2.51546	19.849	6e-06 ***
t	-0.34762	0.04651	-7.474	0.000677 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 3.692 on 5 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9178, Adjusted R-squared: 0.9014  
 F-statistic: 55.86 on 1 and 5 DF, p-value: 0.0006771

El mayor coeficiente de correlación para la regresión lineal entre el log(MFP) comparado con la regresión lineal entre MFP y t, nos inclina por elegir un orden = 1, con un valor de k2= 0.0099675 . De esta manera, aceptando como orden el valor 1, la ecuación se simplifica a

$$\frac{dMFP}{dt} = -k_2 * MFP$$

Esta última ecuación diferencial es posible de resolver utilizando el método a variables separables por lo tanto de sencilla resolución. Podemos hacerlo también aplicando transformadas de Laplace, se obtiene:

$$s * \overline{MFP} - MFP_0 = -k_2 * \overline{MFP}$$

reagrupando

$$\overline{MFP} * (s + k_2) = MFP_o$$

despejando la transformada de MFP

$$\overline{MFP} = \frac{MFP_o}{(s + k_2)}$$

y aplicando la antitransformada se obtiene la función para la cantidad de MFP en la luz gástrica en función del tiempo

$$MFP = MFP_o * e^{-k_2 * t}$$

dividiendo ambos miembros por el volumen de la luz gástrica

$$\frac{MFP}{V} = \frac{MFP_o}{V} * e^{-k_2 * t}$$

obtenemos la ecuación para la concentración, que supone un orden 1 del proceso de absorción

$$C = C_o * e^{-k_2 * t}$$

### 17.1.3. Ejercicio

<sup>63)</sup> Se está evaluando la metabolización y absorción de una droga A en la luz del estómago.

- 
63. a) La droga A desaparece de la luz gástrica con orden 1. El mejor ajuste se logró con el  $\log(A)$  vs  $t$  y su constante de absorción fue:  $-0.0100610 \text{ min}^{-1}$ . Siendo este valor significativamente diferente de cero, conclusión fundada en el valor de  $p$ :  $1.917e-13$ . Los ordenes cero y dos si bien también fueron significativos, tuvieron valores de  $R$ -squared menores que el logrado con el logaritmo:  $0.9903$ ,  $p$ -value:  $1.917e-13$ .
- b) La droga no sufre metabolización, al menos en el experimento de incubación. Avalan el resultado los valores de las constantes de decaimiento halladas para orden 0, 1 y 2, respectivamente:  $k(\text{orden } 0) = -0.01429$ ,  $p = 0.878$ ,  $k(\text{orden } 1) = -0.0002153$ ,  $p = 0.869$  y  $k(\text{orden } 2) = 3.229e-06$ ,  $p = 0.861$ .
- c) La comparación de los valores de A de la solución 1 con la solución 2, no da diferencias significativas, aplicando  $t$  de Student. Para ello se utilizó la función  $t.test()$  de R con el siguiente código:  
`t.test(tablamm175$A[tablamm175$solucionLlenado==1],tablamm175$A[tablamm175$solucionLlenado==2])`. El valor de  $p$ -value= $0,3685$  indica que no hay diferencias entre la concentración sanguínea si el estómago está lleno con una solución sin A o con

La droga se colocó en la luz del estómago, aislando el mismo del flujo gastrointestinal, por una ligadura a la altura del píloro. Se extrajeron muestras del contenido gástrico a los tiempos indicados en la tablamm173 de la planilla de cálculo tablamm173.ods/xls y se midió la concentración de la sustancia A. El experimento se realizó por duplicado.

En otro experimento se colocó una solución de la misma concentración y luego de 2 minutos se extrajo para su incubación durante 30 minutos en un tubo a 37°C. Los resultados de la incubación se muestran en la tablamm174.

Por otra parte se determinó la concentración en sangre de la sustancia A realizando un experimento de estómago aislado en que se utilizaron dos soluciones de llenado del estómago: solución 1: sin agregado de la droga A y solución 2: con la droga A en la concentración de 75 ppm, similar a la utilizada en los experimentos anteriores. Se realizaron mediciones a los 20, 30 y 40 minutos. Los resultados se muestran en la tablamm175.

a- Indicar si la droga A desaparece de la luz gástrica y de hacerlo con que orden es compatible el proceso

b- Indicar si la droga A sufre metabolización en la luz del estómago.

c- Indicar si la droga se absorbe o se fija a alguna estructura del órgano.

## 18. Clase 18

### 18.1. Modelo de intestino aislado

Para estudios de absorción o digestión intestinal de una sustancia se puede utilizar el modelo de intestino aislado *in situ*. Este modelo es similar al realizado con el estómago aislado de la rata y se analizarán experimentos, desarrollando un modelo para el estudio de la absorción de MFP.

Luego de una dosis oral de MFP, al intestino llega una fracción de MFP y de F, provenientes del estómago. En el intestino existen las posibilidades de metabolización, excreción y absorción de las sustancias, procesos cuyas constantes de velocidad son  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ ,  $k_5$ ,  $k_6$ ,  $k_7$ , Figura 18.1.

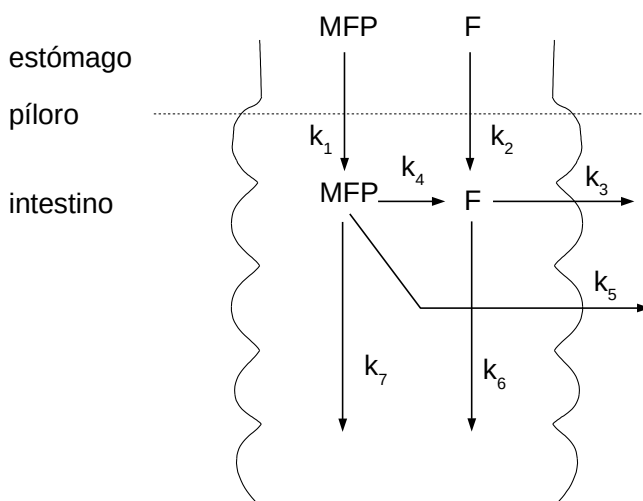


Figura 18.1

Con el propósito de simplificar el estudio y circunscribir el mismo al intestino, se aísla el intestino *in situ*. Para cumplir con este objetivo, se practican dos ligaduras, una en el píloro y otra aproximadamente 4 cm más adelante. En una de las dos ligaduras se coloca un catéter, por el cual se introducirán las soluciones y se extraerán las muestras. Utilizando este recurso se logra independizar el estudio del pasaje del estómago al intestino y de la eliminación de ambas sustancias por materia fecal. De esta manera  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_6$  y  $k_7$  se consideran iguales a cero. Con la operatoria mencionada el sistema en estudio queda reducido a lo representado por la Figura 18.2.

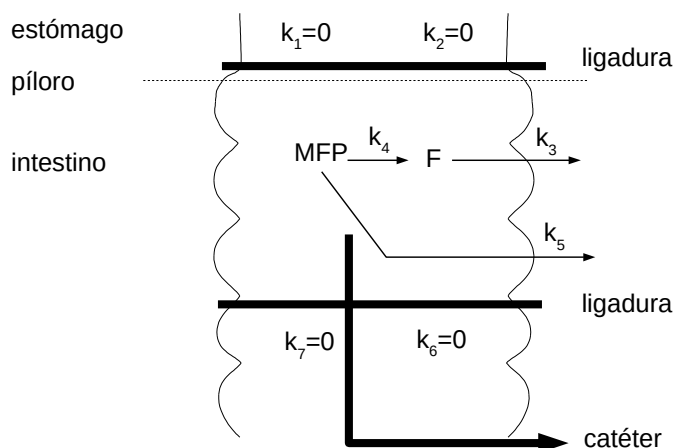


Figura 18.2

En este modelo se representará con  $k$  (constante total de desaparición) a la suma de las constantes de hidrólisis del MFP a F ( $k_4$ ) y constante de absorción del MFP ( $k_5$ ). La constante  $k$  es la constante de velocidad del proceso de desaparición del MFP de la luz intestinal, sin discriminar los procesos de hidrólisis y absorción

$$k = k_4 + k_5$$

Se realizó un experimento con fines exploratorios. Los resultados de éste serán posteriormente utilizados para obtener las constantes de velocidad. En este experimento se colocaron por el catéter 2 ml de una solución de MFP 80 mM. Se debe recordar que aún en los casos de contar con drogas de gran pureza, siempre estará presente el fluoruro. Durante 90 minutos se extrajeron muestras de 100  $\mu$ l. En estas soluciones, utilizando las técnicas descriptas anteriormente, se determinaron las concentraciones de fluoruro y MFP. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 15.

t, min	MFP, mM	F, mM
0	64,5±13	4,2±2
15	40,9±18	25,8±9
30	15,4±13	39,7 ±4,7
45	9,5±1	44,6±8,5
60	3,1±0,5	39,0±12,5
75	0	26,9±12,1
90	0	19,9 ± 9,8

Tabla 15. Concentraciones de MFP y F- en la luz intestinal luego de llenarlo con MFP 80 mM

De la observación de los valores obtenidos, se puede deducir que no existen procesos que puedan ser despreciados. La disminución de la concentración de MFP, está indicando que  $k_1$  no puede ser considerada cero. Los valores de la concentración de F<sup>-</sup> correspondientes a los tiempos comprendidos en el intervalo 0 - 45 minutos, indican que  $k_4$  es diferente de cero. Esta afirmación se basa en la observación de un incremento en la concentración del anión fluoruro. A priori es imposible deducir si  $k_5$  será o no diferente de cero. Por otra parte el decaimiento de la concentración del fluoruro en tiempos superiores a los 45 minutos está indicando que el ion desaparece de la luz intestinal, muy probablemente por absorción a través de la mucosa.

Utilizando los valores de MFP de la Tabla 15, se puede hacer un primer análisis. Utilizando las medias de MFP de la Tabla 15, podemos analizar el orden del proceso a través del análisis de las regresiones de MFP,  $\log(\text{MFP})$  y  $1/\text{MFP}$  en función del tiempo. Estos datos se hallan en la tablamm181 de la planilla de cálculo tablamm18.ods/xls, que introducimos a nuestro espacio de trabajo.

```
> tablamm181<-read.table('clipboard',header=T,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

comprobamos el ingreso correcto

```
> tablamm181
```

```
  t MFP SD   F SD
1 0 64.5 13.0 4.2 2.0
2 15 40.9 18.0 25.8 9.0
3 30 15.4 13.0 39.7 4.7
4 45 9.5 1.0 44.6 8.5
5 60 3.1 0.5 39.0 12.5
6 75 0.0 0.0 26.9 12.1
7 90 0.0 0.0 19.9 9.8
```

podemos comprobar los formatos numéricos

```
> summary(tablamm181)
```

```
  t      MFP      SD      F      SD.1
```

Min. :0.0	Min. :0.00	Min. :0.00	Min. :4.20	Min. :2.000
1st Qu.:22.5	1st Qu.:1.55	1st Qu.:0.25	1st Qu.:22.85	1st Qu.:6.600
Median :45.0	Median :9.50	Median :1.00	Median :26.90	Median :9.000
Mean :45.0	Mean :19.06	Mean :6.50	Mean :28.59	Mean :8.371
3rd Qu.:67.5	3rd Qu.:28.15	3rd Qu.:13.00	3rd Qu.:39.35	3rd Qu.:10.950
Max. :90.0	Max. :64.50	Max. :18.00	Max. :44.60	Max. :12.500

realizamos las regresiones lineales para evaluar el orden del proceso de desaparición de MFP, comenzando con la regresión entre concentración y tiempo en búsqueda de comprobar si es de orden 0. Incluimos en la regresión solo los valores hasta el tiempo 60 min (líneas 1 a 5) dado que en los tiempos posteriores la concentración fue indetectable

```
> lmtablam181<-lm(MFP~t,tablam181[c(1:5),])
> summary(lmtablam181)
```

Call:

```
lm(formula = MFP ~ t, data = tablam181[c(1:5), ])
```

Residuals:

```
    1    2    3    4    5
6.98 -1.20 -11.28 -1.76  7.26
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	57.5200	6.8294	8.422	0.00351 **
t	-1.0280	0.1859	-5.531	0.01165 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 8.817 on 3 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9107, Adjusted R-squared: 0.8809

F-statistic: 30.59 on 1 and 3 DF, p-value: 0.01165

ahora ajustamos los datos para investigar un posible orden 1

```
> lmtablam181<-lm(log(MFP)~t,tablam181[c(1:5),])
> summary(lmtablam181)
```

Call:

```
lm(formula = log(MFP) ~ t, data = tablam181[c(1:5), ])
```

Residuals:

```
    1    2    3    4    5
-0.1384 0.1591 -0.0646 0.2054 -0.1615
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.305044	0.152902	28.16	9.84e-05 ***
t	-0.050202	0.004161	-12.06	0.00123 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1974 on 3 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9798, Adjusted R-squared: 0.9731

F-statistic: 145.5 on 1 and 3 DF, p-value: 0.001226

y por último investigamos un posible orden 2, para el ajuste

```
> lmtablam181<-lm(1/MFP~t,tablam181[c(1:5),])
```

```
> summary(lmtablam181)
```

Call:

```
lm(formula = 1/MFP ~ t, data = tablam181[c(1:5), ])
```

Residuals:

1	2	3	4	5
0.04795	-0.01260	-0.04161	-0.07078	0.07704

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-0.032447	0.055018	-0.590	0.5968
t	0.004633	0.001497	3.094	0.0535 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.07103 on 3 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.7614, Adjusted R-squared: 0.6819

F-statistic: 9.574 on 1 and 3 DF, p-value: 0.05354

Resumen los análisis anteriores

orden 0 k= -1.0280 R-squared: 0.9107

orden 1 k= -0.050202 R-squared: 0.9798

orden 2 k= 0.004633 R-squared: 0.7614

Podemos ver que el mejor ajuste se halló para orden 1, tomamos entonces para valor de k= 0,050202

Si el orden es 1 podríamos plantear una ecuación diferencial para la desaparición de MFP de la siguiente manera

$$\frac{dMFP}{dt} = -k * MFP$$

que es igual en su forma a la planteada para estómago aislado y cuya resolución (que omitiremos por ser igual) nos da la siguiente solución

$$C = C_o * e^{-k*t}$$

A continuación se analizarán los datos de la concentración de fluoruro. De la observación de los valores de MFP de la Tabla 15, se puede deducir que más allá de los 60 minutos, el proceso de hidrólisis es despreciable, evidenciado por valores de MFP que no discrepan de 0. La ausencia casi total de MFP en la luz intestinal y el franco decaimiento de la concentración de fluoruro son las pruebas de esa afirmación. Por lo tanto para tiempos mayores a 60 minutos se puede afirmar que sólo estaría presente el proceso cuya constante de velocidad es  $k_3$ .

Realizamos los análisis de las regresiones de la concentración de fluoruro para los tiempos indicados suponiendo orden 0, 1 y 2, como hemos realizado anteriormente

Para el caso de orden 0, que analizamos con la regresión lineal F vs t, obtenemos

```
> lmtablam181<-lm(F~t,tablam181[c(5:7),])
> summary(lmtablam181)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablam181[c(5:7), ])
```

Residuals:

```
 5    6    7
0.85 -1.70 0.85
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	76.35000	7.45872	10.236	0.0620 .
t	<b>-0.63667</b>	0.09815	-6.487	0.0974 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 2.082 on 1 degrees of freedom

Multiple R-squared: **0.9768**, Adjusted R-squared: 0.9536

F-statistic: 42.08 on 1 and 1 DF, p-value: 0.09738

para orden 1, es decir el análisis de la regresión  $\log(F)$  vs  $t$ , hallamos

```
> lm(tablamm181<-lm(log(F)~t,tablamm181[c(5:7),])
> summary(lm(tablamm181)
```

Call:

```
lm(formula = log(F) ~ t, data = tablamm181[c(5:7), ])
```

Residuals:

```
    5    6    7
0.01167 -0.02334 0.01167
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.997574	0.102417	48.80	0.0130 *
t	-0.022428	0.001348	-16.64	0.0382 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.02859 on 1 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9964, Adjusted R-squared: 0.9928  
 F-statistic: 276.9 on 1 and 1 DF, p-value: 0.03821

para orden 2, analizamos la regresión  $1/F$  vs  $t$

```
> lm(tablamm181<-lm(1/F~t,tablamm181[c(5:7),])
> summary(lm(tablamm181)
```

Call:

```
lm(formula = 1/F ~ t, data = tablamm181[c(5:7), ])
```

Residuals:

```
    5    6    7
0.0002571 -0.0005143 0.0002571
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-2.384e-02	2.256e-03	-10.56	0.0601 .
t	8.203e-04	2.969e-05	27.63	0.0230 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0006299 on 1 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9987, Adjusted R-squared: 0.9974

F-statistic: 763.3 on 1 and 1 DF, p-value: 0.02303

Resumiendo los datos de las regresiones tenemos

orden 0  $k_3$ : -0.63667 R-squared: 0.9768

orden 1  $k_3$ : -0.022428 R-squared: 0.9964

orden 2  $k_3$ : 8.203e-04 R-squared: 0.9987

Vemos que el mejor ajuste corresponde a orden 2, sin embargo siendo tan pequeña la diferencia con el orden 1 y siendo que el análisis está siendo realizado con un número reducido de datos como para afirmar con un alto grado de confianza qué orden tiene el proceso, se sugiere utilizar el orden 1 que es más explicable y entendible para un proceso de absorción de F, apoyado en parte que las experimentaciones anteriores indicarían que el proceso es una difusión simple, proporcional a la concentración. Con estos datos entonces aceptamos que  $k_3$  tiene un valor de  $-0.022428 \pm 0.001348 \text{ min}^{-1}$ .

En base a estas observaciones se puede afirmar que la concentración de fluoruro en la luz del intestino es un proceso de primer orden ajustado por la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dF}{dt} = -k_3 * F$$

cuya resolución daría una función exponencial con el siguiente formato

$$C = C_o * e^{-k_3 * t}$$

donde C es la concentración de F a un dado tiempo y  $C_o$  la concentración inicial colocada en la luz intestinal.

Con el fin de verificar este valor de la constante  $k_3$  se realizó un experimento en que se llenó el intestino *in situ* con una solución de F 80 mM, en ausencia de MFP, permitiendo observar solo el proceso de absorción de F, por un tiempo más prolongado, los datos se muestran en la Tabla 16

tiempo, min	F mM	n
0	75 ± 4	3
15	72 ± 7	3
30	61 ± 6	3
45	49 ± 5	3
60	40 ± 4	3
75	31 ± 6	3
90	23 ± 4	3
105	19 ± 5	3
120	19 ± 1	3

Tabla 16: concentración de F en la luz intestinal luego de llenar la luz con NaF 80 mM

El modelo queda representado en la Figura 18.3

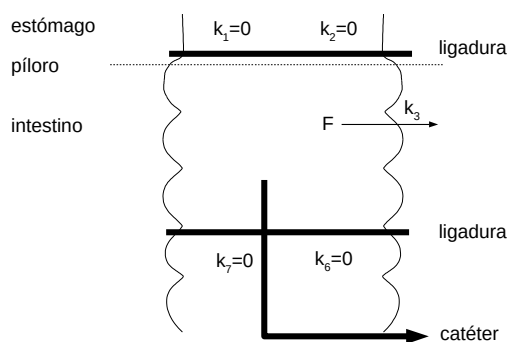


Figura 18.3

Introducimos los datos de la tablamm182 de la planilla de cálculo tablamm18.xls/ods

```
> tablamm182<-read.table('clipboard',header=T,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
> tablamm182
```

```
  t  F
1 0 75
2 15 72
3 30 61
4 45 49
5 60 40
6 75 31
7 90 23
8 105 19
9 120 19
```

Realizamos las regresiones lineales de  $F$  vs  $t$ ,  $\log(F)$  vs  $y$   $1/F$  vs  $t$ ,

```
> lm(tablamm182<-lm(F~t,tablamm182)
```

```
> summary(lm(tablamm182)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablamm182)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-4.3222	-3.2222	-0.3722	1.8778	7.5778

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	75.02222	2.72315	27.55	2.13e-08 ***
t	-0.53000	0.03813	-13.90	2.36e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 4.431 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.965, Adjusted R-squared: 0.96

F-statistic: 193.2 on 1 and 7 DF, p-value: 2.359e-06

```
> lm(tablamm182<-lm(log(F)~t,tablamm182)
```

```
> summary(lm(tablamm182)
```

Call:

```
lm(formula = log(F) ~ t, data = tablamm182)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.11391	-0.09892	0.04356	0.05530	0.09937

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.4313966	0.0555824	79.73	1.29e-11 ***
t	-0.0132194	0.0007783	-16.98	6.01e-07 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.09043 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9763, Adjusted R-squared: 0.9729

F-statistic: 288.5 on 1 and 7 DF, p-value: 6.011e-07

```
> lm(tablamm182 ~ 1/F ~ t, data = tablamm182)
```

```
> summary(lm(tablamm182))
```

Call:

```
lm(formula = 1/F ~ t, data = tablamm182)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.0050026	-0.0034019	-0.0000004	0.0021610	0.0059601

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	7.373e-03	2.652e-03	2.781	0.0273 *
t	3.772e-04	3.713e-05	10.157	1.93e-05 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.004314 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9365, Adjusted R-squared: 0.9274

F-statistic: 103.2 on 1 and 7 DF, p-value: 1.93e-05

Resumimos solo mostrando los valores de k y R-squared

orden 0 k3: -0.53000 R-squared: 0.965

orden 1 k3: -0.0132194 R-squared: 0.9763

orden 2 k3: 3.772e-04 R-squared: 0.9365

vemos que el ajuste es mejor con orden 1, por lo que nos inclinamos por él y además comprobamos que el valor de k3 hallado no es muy diferente del hallado en presencia del MFP.

Con el fin de investigar el proceso de hidrólisis del MFP en la luz intestinal, se llenó el intestino con una solución de MFP 80 mM, Figura 18.4.

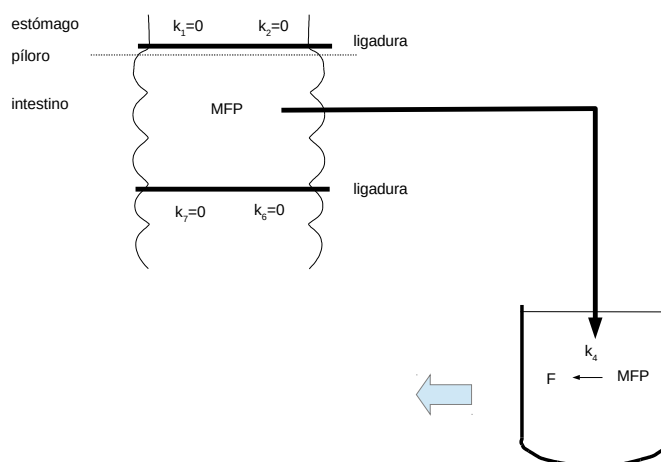


Figura 18.4

Luego de 5 minutos se extrajo el contenido y se lo incubó *in vitro* a 37° C durante 90 minutos. De esta manera se pudo estudiar el proceso de hidrólisis anulando el proceso de absorción intestinal. A intervalos de 15 minutos se extrajeron alícuotas del incubado y se determinó la concentración de fluoruro y monofluorfosfato de sodio. Los valores obtenidos se muestran en la Error: Reference source not found.

Tiempo	[F <sup>-</sup> ], mM	[MFP] mM
0	6 ± 3	74 ± 5
15	10 ± 9	63 ± 16
30	21 ± 4	58 ± 9
45	29 ± 10	45 ± 5
60	39 ± 4	39 ± 4
75	41 ± 15	30 ± 6
90	65 ± 1	20 ± 4

Tabla 17. Incubación de contenido de intestino

Estos resultados indican que el MFP se hidroliza a  $F^-$  en la luz intestinal. Una disminución de la concentración de MFP y aumento de  $F^-$  solo es compatible en este sistema *in vitro*, si existe un proceso de hidrólisis y el mismo es llevado a cabo de manera espontánea por un factor soluble.

El MFP es un sustrato de la fosfatasa alcalina. Para comprobar que el proceso de hidrólisis es llevado a cabo por dicha enzima, se realizó un experimento similar al descrito pero en presencia de L-fenilalanina (FAL, inhibidor específico de la fosfatasa alcalina intestinal). Se llenó el intestino con solución de MFP 80 mM en un grupo de animales en presencia de FAL 14 mM y en el grupo control en ausencia del aminoácido. A los 5 minutos se extrajo la

solución y se incubó a 37 ° C. A los tiempos indicados en la Tabla 18 se extrajeron alícuotas y se determinó la concentración de MFP remanente. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 18.

tiempo, min	[FAL]=0	[FAL]=14mM
0	99	97
1	97	97
2	94	96
5	85	96
10	71	93
15	56	89
20	50	85
25	43	82
30	30	77
45	22	72

Tabla 18. Concentración de MFP (mM) en asa intestinal aislada

Los datos de este experimento, sin sus SD se hallan en la tablamm183 de la planilla de cálculo tablamm18.ods/xls.

Introducimos los datos en nuestro espacio de trabajo

```
> tablamm183<-read.table('clipboard',header=T,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

```
> tablamm183
```

```
  t fal0 fal14
1 0 99 97
2 1 97 97
3 2 94 96
4 5 85 96
5 10 71 93
6 15 56 89
7 20 50 85
8 25 43 82
9 30 30 77
10 45 22 72
```

Analizamos el orden 0 en primer lugar

```
> lmtablamm183<-lm(fal0~t,tablamm183)
```

```
> summary(lmtablamm183)
```

Call:

```
lm(formula = fal0 ~ t, data = tablamm183)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-9.261	-5.335	-1.261	5.268	12.858

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	93.3206	3.5004	26.66	4.22e-09 ***
t	-1.8706	0.1687	-11.09	3.91e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 7.477 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9389, Adjusted R-squared: 0.9313

F-statistic: 122.9 on 1 and 8 DF, p-value: 3.907e-06

ahora orden 1

```
> lmtablam183<-lm(log(fal0)~t,tablam183)
```

```
> summary(lmtablam183)
```

Call:

```
lm(formula = log(fal0) ~ t, data = tablam183)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.143034	0.000092	0.015171	0.018839	0.074052

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.598713	0.029153	157.75	2.92e-15 ***
t	-0.035149	0.001405	-25.02	6.97e-09 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.06227 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9874, Adjusted R-squared: 0.9858

F-statistic: 625.8 on 1 and 8 DF, p-value: 6.975e-09

y finalmente orden 2

```
> lmtablam183<-lm(1/(fal0)~t,tablam183)
```

```
> summary(lmtablam183)
```

Call:

```
lm(formula = 1/(fal0) ~ t, data = tablam183)
```

Residuals:

	Min	1Q	Median	3Q	Max
	-0.0039058	-0.0015703	0.0006232	0.0020815	0.0028666

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	7.879e-03	1.213e-03	6.493	0.000189 ***
t	7.713e-04	5.848e-05	13.190	1.04e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.002592 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.956, Adjusted R-squared: 0.9505

F-statistic: 174 on 1 and 8 DF, p-value: 1.04e-06

Si analizamos todos los valores para los tres ordenes investigados

orden 0: k4: -1.8706 R-squared: 0.9389

orden 1, k4: -0.035149 R-squared: 0.9874

orden 2, k4: 7.713e-04 R-squared: 0.956

vemos que el mejor ajuste es con orden 1. Por ello seguimos con este orden y a continuación comparamos los valores de k4 en ausencia y en presencia del inhibidor de fosfatasa alcalina, fenilalanina.

A fines de claridad repetimos el análisis para orden 1, sin el agregado del inhibidor

```
> lmtablammm183fal0<-lm(log(fal0)~t,tablammm183)
```

```
> summary(lmtablammm183fal0)
```

Call:

```
lm(formula = log(fal0) ~ t, data = tablammm183)
```

Residuals:

	Min	1Q	Median	3Q	Max
	-0.143034	0.000092	0.015171	0.018839	0.074052

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.598713	0.029153	157.75	2.92e-15 ***
t	-0.035149	0.001405	-25.02	6.97e-09 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.06227 on 8 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9874, Adjusted R-squared: 0.9858  
 F-statistic: 625.8 on 1 and 8 DF, p-value: 6.975e-09

Ahora realizamos el análisis para orden 1, con el agregado de fenilalanina

```
> lmtablam183<-lm(log(fal14)~t,tablam183)
> summary(lmtablam183)
```

Call:  
 lm(formula = log(fal14) ~ t, data = tablam183)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.0283119	-0.0065842	-0.0009026	0.0110119	0.0178940

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.586000	0.006909	663.74	< 2e-16 ***
t	-0.007129	0.000333	-21.41	2.38e-08 ***

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.01476 on 8 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9828, Adjusted R-squared: 0.9807  
 F-statistic: 458.4 on 1 and 8 DF, p-value: 2.384e-08

comparamos los valores de las constantes sin y con Fenilalanina

FAL=0 orden 1, k4= -0.035149 R-squared: 0.9874

FAL=14 orden 1, k4= -0.007129 R-squared: 0.9828

Vemos una reducción de aproximadamente 5 veces lo que en gran medida nos indica que el proceso analizado está catalizado por la enzima en cuestión. Para asegurar si son diferentes o no podemos calcular los intervalos de confianza de los parámetros de cada regresión. En primer lugar para ausencia del inhibidor

```
> confint(lmtablam183fal0)
                2.5 %    97.5 %
(Intercept) 4.53148687 4.66593889
t           -0.03838944 -0.03190935
y para presencia del inhibidor
> confint(lmtablam183fal14)
```

	2.5 %	97.5 %
(Intercept)	4.570066499	4.601932623
t	-0.007897322	-0.006361493

¿Qué nos dicen los intervalos de confianza y como pueden ayudarnos?. Vemos que ambas tablas nos dan un intervalo de confianza del 95%. Por ejemplo para la primer tabla nos indica que tenemos una probabilidad del 95% que la ordenada al origen o intersección esté dentro del intervalo 4.53148687 - 4.66593889. De la misma manera se interpretan las pendientes que se hallan indicadas en la fila t.

Como ambos intervalos de confianza no se superponen, podemos concluir que las pendientes de la recta son diferentes.

Los datos hacen ilusionar al investigador, pensando en la posibilidad de inhibir el proceso gobernado por  $k_4$  y de esta manera poder observar el proceso de absorción de MFP intacto cuya constante es  $k_5$ , Figura 18.5. Si la inhibición pudiera llevarse a cabo, el decaimiento de la concentración de MFP daría el valor de  $k_5$  y la respuesta a la pregunta si el MFP se absorbe o no en el intestino.

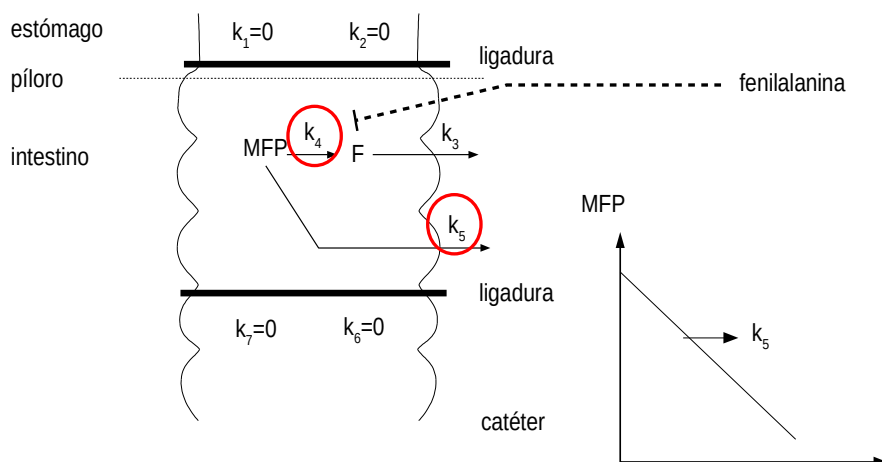


Figura 18.5

Aún con concentraciones muy elevadas de fenilalanina no se logró una inhibición completa de la hidrólisis. Esto puede deberse a que existe en intestino una fracción de la fosfatasa alcalina insensible a la inhibición por fenilalanina [viii]. La imposibilidad de producir una inhibición completa no permite utilizar al aminoácido para inhibir la hidrólisis *in vivo* y medir de esta manera el proceso de absorción de MFP intacto cuya constante de velocidad llamamos  $k_5$ . Por lo tanto si bien es posible afirmar que el proceso de hidrólisis de MFP a  $F^-$  existe, es imposible con estos datos verificar la presencia o ausencia del proceso de absorción de MFP intacto.

Por lo tanto, en base a las evidencias obtenidas con los experimentos descritos se aceptó

como modelo el planteado en Figura 18.6.

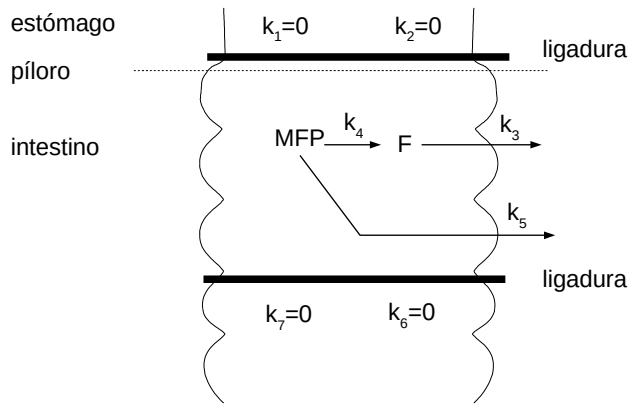


Figura 18.6

Las constantes  $k_3$  y  $k_4$  han sido verificadas mientras que el proceso cuya constante es  $k_5$  no ha sido aún comprobado. Definimos una constante global

$$k = k_4 + k_5$$

y planteamos para la desaparición del MFP la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dMFP}{dt} = -k * MFP$$

aplicando Transformadas de Laplace

$$s * \overline{MFP} - MFP_o = -k * \overline{MFP}$$

$$\overline{MFP} * (s+k) = MFP_o$$

$$\overline{MFP} = \frac{MFP_o}{(s+k)}$$

Ecuación 18.1

aplicando antitransformadas, llegamos a la expresión que ajusta la desaparición del MFP de la luz intestinal

$$MFP = MFP_o * e^{-k*t}$$

dividiendo por volumen del compartimiento en estudio resulta:

$$C = C_o * e^{-k*t}$$

que corresponde a la ley que ajusta la concentración de MFP en el intestino en función del tiempo.

Para la cantidad de fluoruro en la luz del intestino podemos plantear la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dF}{dt} = k_4 * MFP - k_3 * F$$

aplicando las Transformadas de Laplace correspondiente a cada miembro de la ecuación anterior, obtenemos:

$$s * \bar{F} - F_o = k_4 * \overline{MFP} - k_3 * \bar{F}$$

suponemos que  $F_o = 0$  (si el MFP tiene un grado de hidrólisis pequeño esta aproximación es correcta), entonces la ecuación anterior resulta

$$s * \bar{F} = k_4 * \overline{MFP} - k_3 * \bar{F}$$

reemplazando la transformada de la cantidad de MFP en el intestino (Ecuación 18.1), resulta

$$s * \bar{F} = k_4 * \left( \frac{MFP_o}{s+k} \right) - k_3 * \bar{F}$$

reordenando

$$(s+k_3) * \bar{F} = k_4 * \left( \frac{MFP_o}{s+k} \right)$$

reordenando nuevamente

$$\bar{F} = \frac{k_4 * MFP_o}{(s+k)(s+k_3)}$$

aplicando las antitransformadas para ambos miembros de la expresión anterior obtenemos:

$$F = \frac{k_4 * MFP_0}{k_3 - k} * (e^{-k*t} - e^{-k_3*t})$$

dividiendo ambos miembros por el volumen resulta:

$$C_F = \frac{k_4 * C_{MFP_0}}{k_3 - k} * (e^{-k*t} - e^{-k_3*t})$$

se obtiene la ley que ajusta la concentración de **F** en la luz del asa intestinal aislada. Se le debe sumar  $[F_0]$  si el **MFP** tiene un porcentaje de hidrólisis importante. Si se analiza esta expresión para  $t > 45$  minutos, se puede suponer que la desaparición del MFP fue total y por lo tanto el término  $e^{-kt} = 0$ . Por lo tanto la expresión queda reducida a

$$C_F = \frac{-k_4 * C_{MFP_0}}{k_3 - k} * e^{-k_3*t}$$

Si aplicamos log a ambos miembros obtenemos una recta, cuya pendiente es  $-k_3$ . Como se puede observar esto fundamenta el modo en que se obtuvo la constante  $k_3$  anteriormente.

El problema que se planteó a esta altura del análisis fue hallar el valor de  $k_4$ . Dado que los valores de  $k_3$  y  $k$  han sido obtenidos de las correlaciones entre  $\log(C_F)$  y  $\log(C_{MFP})$  y el tiempo, se puede calcular el valor de  $k_4$  utilizando dichos valores, la ecuación para la concentración de **F** y los valores experimentales de la Tabla 15.

Calculo de  $k_4$  *in vivo*.

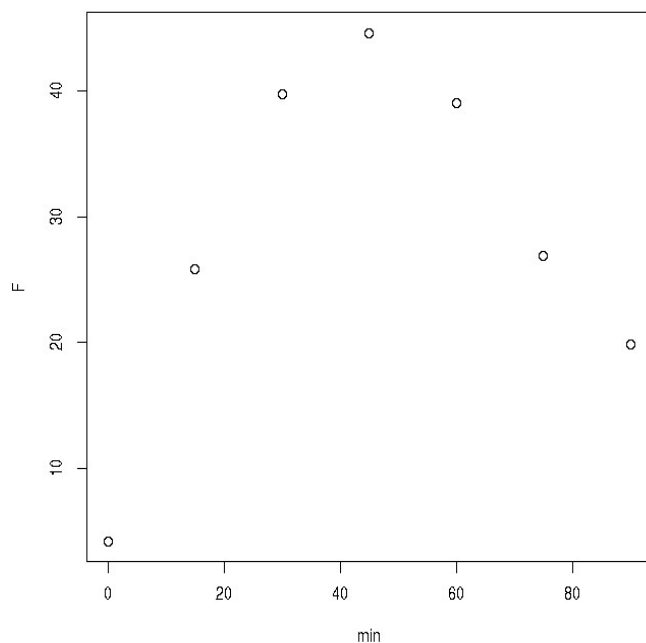
Utilizamos los datos de `tablamm181`, que contiene los datos de **F** en función del tiempo.

```
> tablamm181
```

t	MFP	SD	F	SD.1
1 0	64.5	13.0	4.2	2.0
2 15	40.9	18.0	25.8	9.0
3 30	15.4	13.0	39.7	4.7
4 45	9.5	1.0	44.6	8.5
5 60	3.1	0.5	39.0	12.5
6 75	0.0	0.0	26.9	12.1
7 90	0.0	0.0	19.9	9.8

Graficamos los datos de **F** en función del tiempo

```
> plot(tablamm181$t,tablamm181$F,ylab='F',xlab='min')
```



realizamos el ajuste de los datos de F en función del tiempo utilizando la función nls() de R y la ecuación obtenida para la concentración de F, que repetimos a continuación

$$C_F = \frac{k_4 * C_{MFP_0}}{k_3 - k} * (e^{-k*t} - e^{-k_3*t})$$

Asignamos a  $C_{MFP_0}$  el valor 64.5, que es el valor inicial de la concentración de MFP a  $t=0$  en la tabla mm181.

```
> CMFP0<-64.5
```

Luego debemos darle valores iniciales a los parámetros de la ecuación:  $k_4$ ,  $k_3$  y  $k$ , para que nls() pueda buscar los valores de dichos parámetros, que mejor ajusten a nuestros datos experimentales.

A  $k_3$ , podemos asignarle el valor hallado anteriormente,  $k_3$ : 0.022428. Si bien el valor es hallado con signo negativo, su valor lo utilizamos positivo, como todas las constantes de velocidad.

```
> k3<- 0.022428
```

A  $k$ , que es la constante global podemos asignarle el valor hallado anteriormente,  $k = -0.050202$ . Que también utilizamos con signo positivo.

```
> k<-0.050202
```

$k_4$ , será una de las constante que estimaremos a partir de nuestros datos, pero necesitamos darle un valor inicial para el proceso de calculo. Utilizaremos para  $k_4$  como valor inicial el valor hallado en los experimentos *in vitro*.  $k_4$ : 0.035149. Este valor es coherente teniendo en cuenta que  $k_4 + k_5$  deben dar igual a  $k$ , por ende  $k_4$  debe ser menor que  $k$ .

```
> k4<-0.035149
```

Con estos valores iniciales de las constantes y los datos de la `tablamm181`, hallaremos el valor de  $k_4$  que se ajuste a los datos experimentales. La función `nls()` utilizará los valores de `CMFPo` y `k3` como parámetros y buscará el mejor valor para  $k_4$  y  $k$ .

```
> ajustemm181<-nls(F~(k4*CMFPo)/(k3-k)*(exp(-k*t)-exp(-k3*t)),data=tablamm181,star=c(k4=k4, k=k),trace=TRUE)
```

```
1617.814 : 0.035149 0.050202
200.6297 : 0.03674799 0.02709035
96.50169 : 0.04724678 0.03372790
93.16566 : 0.04667854 0.03225514
93.126 : 0.04693960 0.03253377
93.1251 : 0.04689620 0.03249085
93.12508 : 0.04690307 0.03249761
93.12508 : 0.04690199 0.03249655
93.12508 : 0.04690216 0.03249672
```

Cada línea obtenida corresponde a un ciclo de cálculo y aproximación. En la primer columna se muestra el error, en la segunda el valor de  $k_4$  y en la tercera el valor de  $k$  obtenida por el proceso de optimización. Veamos los resultados utilizando `summary()`

```
> summary(ajustemm181)
```

Formula:  $F \sim (k_4 * CMFPo)/(k_3 - k) * (exp(-k * t) - exp(-k_3 * t))$

Parameters:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
$k_4$	0.046902	0.006262	7.49	0.000671 ***
$k$	0.032497	0.005681	5.72	0.002283 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 4.316 on 5 degrees of freedom

Number of iterations to convergence: 8

Achieved convergence tolerance: 2.106e-06

El `summary()` nos muestra nuevamente los valores de las constantes  $k_4$  y  $k$  con sus errores estándar

Verificamos si el ajuste de los datos con la función es bueno, para ello definimos la función CF en base a la ecuación de representa la concentración de F en el intestino

```
> CF<-function(t){(k4*CMFPo)/(k3-k)*(exp(-k*t)-exp(-k3*t))}
```

asignamos los valores de las constantes halladas

```
> k4<-0.046902
```

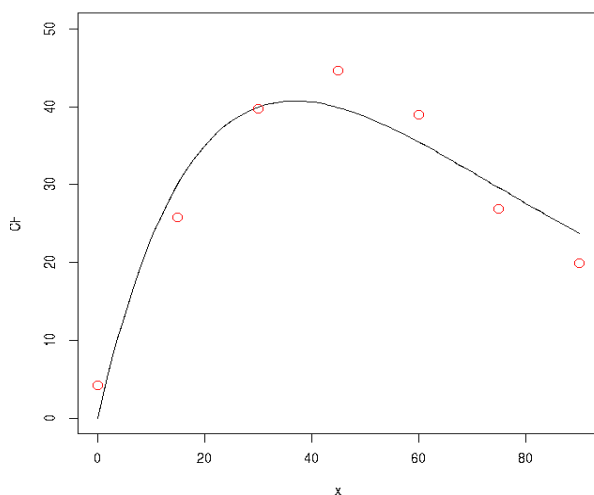
```
> k<-0.032497
```

graficamos la función con los valores de los parámetros introducidos

```
> plot(CF,0,90,ylim=c(0,50))
```

colocamos los puntos experimentales

```
> points(tablamm181$t,tablamm181$F,cex=1.5,col='red')
```



La gráfica nos muestra un buen ajuste de la función con los parámetros hallados, a los datos experimentales.

Con los datos de los parámetros hallados podemos ahora hallar  $k_5$

Como

$$k = k_4 + k_5$$

entonces

$$k_5 = k - k_4$$

$$k_5 = 0.03249662 - 0.04690206 = -0.01440544$$

Obtenemos así un valor negativo para  $k_5$ . Este valor negativo, nos estaría indicando más que absorción de la sustancia, la presencia de un proceso de secreción, en función como fue diseñado el modelo. Por ende podemos considerar que  $k_5$  es cero y el MFP no se absorbe en el intestino sin sufrir hidrólisis.

Llegaríamos a la misma conclusión y cálculos si en lugar de utilizar la función

$$C_F = \frac{k_4 * C_{MFPo}}{k_3 - k} * (e^{-k*t} - e^{-k_3*t})$$

expresaremos la función reemplazando  $k$  por su sumatoria

$$k = k_4 + k_5$$

ya que queremos hallar el valor de  $k_5$ .

$$C_F = \frac{k_4 * C_{MFPo}}{k_3 - k_4 - k_5} * (e^{-(k_4+k_5)*t} - e^{-k_3*t})$$

los parámetros a estimar ahora serían  $k_4$  y  $k_5$  manteniendo constantes  $C_{MFPo}$  y  $k_3$  a  $k_5$  que es desconocida le asignamos el valor 0

```
> k5<-0
```

$k_4$  le asignamos el valor obtenido in vitro

```
> k4<-0.035149
```

```
> CMFPo<-64.5
```

```
> k3<- 0.022428
```

Realizamos el ajuste para obtener  $k_4$  y  $k_5$

```
> ajustemm181<-nls(F~(k4*CMFPo)/(k3-k4-k5)*(exp(-(k4+k5)*t)-exp(-k3*t)),data=tablamm181,star=c(k4=k4, k5=k5),trace=TRUE)
```

```
673.3268 : 0.035149 0.000000
```

```
100.9706 : 0.04635215 -0.01566833
```

```
93.15342 : 0.04713235 -0.01445072
```

```
93.12565 : 0.04687204 -0.01440468
```

```
93.12509 : 0.0469068 -0.0144055
```

93.12508 : 0.04690140 -0.01440543

93.12508 : 0.04690225 -0.01440544

93.12508 : 0.04690212 -0.01440544

Que podemos ver son los mismos valores hallados a través de los valores de  $k_4$  y  $k$

## 19. Clase 19

### 19.1.1. FARMACOCINÉTICA DEL FLUORURO DE SODIO (NaF)

El fluoruro de sodio es una sustancia que se encuentra en la naturaleza y es utilizada desde hace décadas para el tratamiento de las caries y de la osteoporosis [64]. Esta aplicación surgió de observaciones acerca de la incidencia de osteoporosis en zonas con agua de consumo con alto contenido de fluoruro comparadas con otras sin fluoruro [65]. Este beneficio se debe a que el fluoruro ( $F^-$ ) reemplaza al oxhidrilo en el cristal de hidroxiapatita ósea, formando flúorapatita que tiene mayor cristalinidad [66], además de un efecto estimulador de las células formadoras de tejido óseo. El metabolismo del fluoruro ha sido muy estudiado tanto en seres humanos como en animales de laboratorio y una revisión extensa de este se encuentra disponible en la actualidad [67, 68]. La única forma posible de administración de fluoruro de sodio para actuar a nivel sistémico es a través de una dosis oral. En la Figura 19.1 se esquematiza el metabolismo del  $F^-$ , luego de una dosis oral ( $D_o$ ).

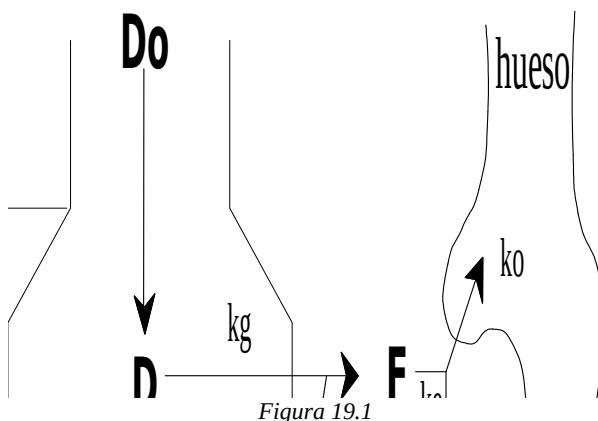


Figura 19.1

Luego de administrar la dosis  $D_o$ , en el tubo digestivo existe una cantidad de fluoruro:  $D$

64. Bernstein, D.S., Cohen, D. J. Use of sodium fluoride in the treatment of osteoporosis. Clin. Endoc. 27:197-210. 1967.
65. Bernstein, D.S., Sadowsky, J. Prevalence of Osteoporosis in High and Low Fluoride Areas in North Dakota. Am. Med. Assoc (JAMA) 193: 499-504. 1966.
66. Baud, C.A., Bang, S. Fluoride and bone mineral substance. Fluoride in medicine. H. Huber. Bern. 1970.
67. Whitford, G.M. Monographs in Oral Science. Vol 13. The Metabolism and toxicity of Fluoride. Ed. Howard M. Myers. Karger. San Francisco Calif. 1989.
68. Review of water fluoridation and fluoride intake from discretionary fluoride supplements. Review for NHMRC (National Health and Medical Research Council. Melbourne 1999

que irá decreciendo a medida que progresa el proceso de absorción. Este proceso es influenciado por el pH de los compartimientos. Esta influencia se debe a que el  $F^-$  es una base conjugada fuerte, que puede generar HF ( $pK_{a_{HF}} = 3,45$ ) que es más lipofílico y puede atravesar las membranas con más facilidad que el  $F^-$ . El fluoruro se absorbe a nivel gástrico, proceso cuya constante de velocidad será representada como  $k_g$ . El fluoruro que no es absorbido a nivel gástrico, se absorbe a nivel intestinal, cuya constante de velocidad es  $k_i$ . Ambos procesos contribuyen a la absorción gastrointestinal cuya constante de velocidad es  $k_a$ . Si el orden de los procesos es el mismo podemos sumar ambas constantes

$$k_a = k_g + k_i$$

Luego de la absorción aparece una cantidad de fluoruro en plasma (F) y demás fluidos del organismo, depositándose mayoritariamente en el tejido óseo y excretándose en gran medida por orina. Su concentración plasmática será resultado de la sumatoria e intensidad de estos procesos determinando que el espacio de distribución del  $F^-$ , no coincida con su volumen de distribución ( $V_d$ )<sup>69</sup> calculado a través del modelo farmacocinético que desarrollaremos.

El  $F^-$  se encuentra en el plasma sin ligarse a componentes del mismo. El  $F^-$  es depurado del plasma, proceso caracterizado por una constante de velocidad:  $k_e$ . Este proceso es llevado a cabo principalmente por el tejido óseo y los riñones. El  $F^-$  puede ser incorporado al tejido óseo por dos mecanismos: incorporación al hueso en formación y reemplazando al oxhidrilo del cristal de hidroxiapatita existente en ese tejido. En ambos casos la constante de velocidad del fenómeno se denominará  $k_u$ . A nivel glomerular, el  $F^-$  filtra libremente por ser un soluto de bajo peso molecular y no encontrarse ligado a las proteínas. Este proceso tiene una constante de velocidad,  $k_o$ . Por lo tanto se puede decir que

$$k_e = k_u + k_o$$

---

69. El volumen de distribución de una sustancia es un valor teórico que surge del cálculo

$$[sustancia] = \frac{\text{cantidad de droga en un espacio}}{V_d}$$

Si de la cantidad de sustancia una parte se fija en membranas, su concentración en la solución será baja y como consecuencia el  $V_d$  elevado.

En el caso en que la sustancia no se fije a ninguna estructura el  $V_d$  será igual al volumen del espacio de distribución\*, mientras que si la sustancia presenta fijación el  $V_d$  aumentará.

\* el espacio de distribución es el compartimiento líquido en que se distribuye la sustancia. Como los volúmenes de los compartimientos líquidos pueden ser estimados, el cálculo del  $V_d$  puede dar idea de cuáles compartimientos alcanza la sustancia y si se liga o no a estructura.

si los procesos gobernados por  $k_u$  y  $k_o$  son del mismo orden. Una vez que el  $F^-$  filtró a nivel renal, puede ser reabsorbido, proceso que es dependiente del pH. Esta dependencia de la acidez se debe a que el HF es un ácido débil con características más hidrofóbicas que el  $F^-$ . Del balance entre el  $F^-$  filtrado y reabsorbido surgirá la masa de  $F^-$  en orina (U).

A continuación se analizarán los procesos mencionados, obteniéndose el orden de los mismos y sus constantes de velocidad en la rata.

#### 19.1.1.1. Absorción gástrica de fluoruro

Con el objetivo de comprobar el orden del proceso de absorción gástrico se realizó un experimento de estómago aislado *in situ*. Si bien este tipo de estudios fueron desarrollados en clases anteriores, en esta situación lo incluiremos para ver el desarrollo completo del modelo farmacocinético. En este experimento se llenó el estómago de 6 ratas, con una solución de NaF ( $58 \pm 13$ )  $\mu\text{M}$ . Se realizaron dos ligaduras, una a la altura del cardias y otra en el píloro. En este último se colocó un catéter para obtener muestras a los tiempos indicados en la Tabla 19.

Tiempo, minutos	[F <sup>-</sup> ] $\mu\text{M}$	n
0	$58 \pm 13$	6
15	$52 \pm 3$	6
30	$42 \pm 7$	6
45	$37 \pm 8$	6
60	$34 \pm 10$	6
75	$31 \pm 10$	6
90	$26 \pm 1$	6

Tabla 19. Concentraciones de NaF en luz gástrica de ratas con estómago aislado

Estos datos puede hallarlos en la hoja tablam19-1 de la planilla de cálculo tablam19.ods/xls. En ella tendrá solo los valores de tiempo y concentración de fluoruro para realizar las regresiones lineales. Por supuesto el análisis correcto sería realizar las regresiones con los valores individuales de los 6 experimentos. Por razones de simplificación utilizaremos las medias en esta situación.

Introducimos en primer lugar los datos en nuestro espacio de trabajo

```
> tablam191<-read.table('clipboard',header=T,sep='\t',dec=',',encoding='latin1')
```

comprobamos el ingreso de los mismos

```
> tablam191
```

```
  t F
1 0 58
```

2 15 52  
 3 30 42  
 4 45 37  
 5 60 34  
 6 75 31  
 7 90 26

y vemos si su formato es numérico

```
> summary(tablamm191)
```

t	F
Min. :0.0	Min. :26.0
1st Qu.:22.5	1st Qu.:32.5
Median :45.0	Median :37.0
Mean :45.0	Mean :40.0
3rd Qu.:67.5	3rd Qu.:47.0
Max. :90.0	Max. :58.0

Realizamos entonces las regresiones de los datos experimentales (concentración vs tiempo,  $\log(\text{concentración})$  vs tiempo y  $1/\text{concentración}$  vs tiempo.

Probamos el ajuste con orden cero

```
> lmtablamm191<-lm(F~t,data=tablamm191)
```

```
> summary(lmtablamm191)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablamm191)
```

Residuals:

1	2	3	4	5	6	7
2.3571	1.5714	-3.2143	-3.0000	-0.7857	1.4286	1.6429

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	55.64286	1.74292	31.93	5.66e-07 ***
t	-0.34762	0.03223	-10.79	0.000119 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 2.558 on 5 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9588, Adjusted R-squared: 0.9506

F-statistic: 116.4 on 1 and 5 DF, p-value: 0.0001188

probamos ajuste con orden 1, utilizando el log de la concentración

```
> lm(tablamm191~log(F)~t,data=tablamm191)
> summary(lm(tablamm191))
```

Call:

```
lm(formula = log(F) ~ t, data = tablamm191)
```

Residuals:

```
    1    2    3    4    5    6    7
0.014962 0.036222 -0.046892 -0.043185 0.002717 0.040803 -0.004628
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.0454807	0.0260240	155.45	2.09e-10 ***
t	-0.0086973	0.0004812	-18.07	9.52e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.03819 on 5 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9849, Adjusted R-squared: 0.9819  
 F-statistic: 326.7 on 1 and 5 DF, p-value: 9.524e-06

ahora probamos el orden 2 con la inversa de la concentración

```
> lm(tablamm191~(1/F)~t,data=tablamm191)
> summary(lm(tablamm191))
```

Call:

```
lm(formula = (1/F) ~ t, data = tablamm191)
```

Residuals:

```
    1    2    3    4    5    6    7
0.0006768 -0.0007380 0.0004366 0.0002499 -0.0007696 -0.0013275 0.0014718
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.656e-02	7.324e-04	22.62	3.14e-06 ***
t	2.269e-04	1.354e-05	16.76	1.38e-05 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.001075 on 5 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9825, Adjusted R-squared: 0.979  
 F-statistic: 280.9 on 1 and 5 DF, p-value: 1.382e-05

Si bien todos los ajustes están indicando buenos modelos para explicar la variación, si nos basamos en los valores de R-squared

orden 0: R-squared: 0.9588

orden 1: R-squared: 0.9849

orden 2: R-squared: 0.9825

Nos inclinaremos por la elección de un proceso de absorción de orden 1.

En base a este análisis se puede plantear la siguiente ecuación diferencial, que expresa la variación de la cantidad de fluoruro (D) en la luz gástrica, que es igual a lo planteado en órganos aislados *in situ*.

$$\frac{dD}{dt} = -k_g * D$$

aplicando transformadas de Laplace

$$s * \bar{D} - D_o = -k_g * \bar{D}$$

reagrupando y reordenando la expresión anterior tenemos

$$\bar{D} * (s + k_g) = D_o$$

y despejando, se obtiene

$$\bar{D} = \frac{D_o}{(s + k_g)}$$

cuya antitransformada es

$$D = D_o * e^{-k_g * t}$$

dividiendo ambos miembros por el volumen de la solución

$$\frac{D}{V} = \frac{D_o}{V} * e^{-k_g * t}$$

se obtiene la función que describe la concentración de F en la luz gástrica a lo largo del tiempo

$$C = C_0 * e^{-k_g * t}$$

Utilizaremos algunas de estas ecuaciones en el desarrollo del modelo completo que haremos más adelante.

#### 19.1.1.2. Absorción intestinal de fluoruro

Para averiguar el orden del proceso de absorción intestinal se realizó un experimento utilizando el modelo de intestino aislado *in situ*. En este experimento se llenaron aproximadamente 4 cm de intestino delgado con una solución de NaF ( $74.8 \pm 4.8$ )  $\mu\text{M}$ . El experimento se realizó con 6 ratas, que recibieron el mismo tratamiento. Durante el experimento los animales se mantuvieron anestesiados con uretano. Se realizaron dos ligaduras del intestino delgado, uno en el píloro y otra ligadura distal, en la que se colocó un catéter para introducir la solución. Por este mismo catéter se obtuvieron las muestras a los tiempos indicados en la Tabla 20.

tiempo, minutos	[F <sup>-</sup> ] $\mu\text{M}$	n
0	$74,8 \pm 4,8$	6
15	$64,2 \pm 16,8$	6
30	$58,0 \pm 8,5$	6
45	$47,9 \pm 5,4$	6
60	$39,2 \pm 3,9$	6
75	$29,9 \pm 6,2$	6
90	$22,2 \pm 4,0$	6
105	$19,7 \pm 6,5$	6
120	$18,0 \pm 8,5$	6

Tabla 20. Concentraciones de NaF en luz del duodeno de ratas con intestino aislado *in situ*

Con los datos anteriores realizamos las regresiones correspondientes para analizar los ordenes previa introducción de los datos de la tablamm192 de la planilla de cálculo tablamm19.ods/xls

```
> tablamm192<-read.table('clipboard',header=T,sep='\t',dec=',',encoding='latin1')
```

auditamos el proceso de ingreso controlando los valores

```
> tablamm192
```

```
  t  F
1 0 74.8
2 15 64.2
3 30 58.0
```

```

4 45 47.9
5 60 39.2
6 75 29.9
7 90 22.2
8 105 19.7
9 120 18.0

```

```
> summary(tablamm192)
```

```

      t      F
Min. : 0   Min. :18.00
1st Qu.: 30 1st Qu.:22.20
Median : 60 Median :39.20
Mean   : 60 Mean   :41.54
3rd Qu.: 90 3rd Qu.:58.00
Max.   :120 Max.   :74.80

```

Realizamos las regresiones para investigar el orden 0, 1 y 2

```

> lmtablamm192orden0<-lm(F~t,tablamm192)
> lmtablamm192orden1<-lm(log(F)~t,tablamm192)
> lmtablamm192orden2<-lm(1/F~t,tablamm192)

```

y vemos el detalle de cada análisis

```
> summary(lmtablamm192orden0)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablamm192)
```

Residuals:

```

      Min       1Q   Median       3Q      Max
-4.3344 -2.3444  0.1406  1.4456  6.4756

```

Coefficients:

```

              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 71.56444    2.29624   31.17 9.04e-09 ***
t           -0.50033    0.03215  -15.56 1.09e-06 ***

```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 3.736 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9719, Adjusted R-squared: 0.9679

F-statistic: 242.1 on 1 and 7 DF, p-value: 1.094e-06

```
> summary(lm(tablamm192orden1))
```

Call:

```
lm(formula = log(F) ~ t, data = tablamm192)
```

Residuals:

```
   Min      1Q  Median      3Q      Max
-0.11700 -0.04258 -0.01313  0.06379  0.07033
```

Coefficients:

```
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  4.3804817  0.0452418   96.82  3.3e-12 ***
t            -0.0129266  0.0006335  -20.41  1.7e-07 ***
```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.07361 on 7 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.9835, Adjusted R-squared: 0.9811  
F-statistic: 416.3 on 1 and 7 DF, p-value: 1.703e-07

y para orden 2

```
> summary(lm(tablamm192orden2))
```

Call:

```
lm(formula = 1/F ~ t, data = tablamm192)
```

Residuals:

```
   Min      1Q  Median      3Q      Max
-0.005310 -0.003083  0.001880  0.002809  0.005381
```

Coefficients:

```
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  7.988e-03  2.461e-03   3.245  0.0141 *
t            3.805e-04  3.447e-05  11.041  1.11e-05 ***
```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.004005 on 7 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.9457, Adjusted R-squared: 0.9379  
F-statistic: 121.9 on 1 and 7 DF, p-value: 1.11e-05

comparando los R-squared de los tres ajustes

orden 0: R-squared: 0.9719

orden 1: R-squared: 0.9835

orden 2: R-squared: 0.9457

Obtenemos un mejor ajuste con el modelo de orden 1, entonces en base a esto podemos desarrollar nuestro modelo para intestino aislado.

$$\frac{dD}{dt} = -k_i * D$$

aplicando transformadas de Laplace

$$s * \bar{D} - D_o = -k_i * \bar{D}$$

reagrupando y reordenando la expresión anterior tenemos

$$\bar{D} * (s + k_i) = D_o$$

y despejando, se obtiene

$$\bar{D} = \frac{D_o}{(s + k_i)}$$

cuya antitransformada es

$$D = D_o * e^{-k_i * t}$$

dividiendo ambos miembros por el volumen de la solución

$$\frac{D}{V} = \frac{D_o}{V} * e^{-k_i * t}$$

se obtiene

$$C = C_o * e^{-k_i * t}$$

Que es la función que describe la concentración de F en el intestino aislado en función del tiempo.

### 19.1.1.3. Concentración plasmática de fluoruro

Para obtener una ley que describa el comportamiento de la concentración plasmática del

fluoruro luego de una dosis oral, se simplificará el esquema de la figura 7.1, utilizando en este punto el esquema de la Figura 19.2. En este caso se considerará la entrada desde el aparato digestivo como una única vía, cuya constante es  $k_a$ .

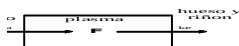


Figura 19.2

La eliminación de fluoruro del compartimiento plasmático se considerará como un único proceso, cuya constante de velocidad es  $k_e$ .

Si a priori se acepta que los órdenes de los procesos de excreción y absorción son iguales a uno, la variación de la cantidad plasmática de fluoruro, queda descrita por la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dF}{dt} = k_a * D - k_e * F$$

El ingreso es proporcional a  $D$ , es decir la cantidad de  $F$  en la luz del tubo digestivo y la salida de  $F$  del plasma es proporcional a  $F$ .

Aplicando transformadas de Laplace a la expresión anterior tenemos

$$\bar{F} - F_0 = k_a * \bar{D} - k_e * \bar{F}$$

En el tratamiento de esta expresión se considerará que la cantidad de fluoruro en plasma a tiempo cero es despreciable ( $F_0 = 0$ ). Afirmación que es correcta si el individuo al que se aplica el estudio no tuvo ingesta previa de fluoruro. En este caso esto es avalado por el valor de  $[F]$  a tiempo 0 de la Tabla 21

tiempo, min	[F] $\mu$ M	n
0	$2 \pm 0.6$	5
7.5	$60 \pm 11$	3
15	$81 \pm 17$	2
30	$110 \pm 56$	2
45	$119 \pm 56$	2
60	$105 \pm 25$	2
75	$80 \pm 24$	2
90	$50 \pm 18$	2
120	$21 \pm 13$	2
180	$18 \pm 6$	2
360	$2 \pm 1$	2

Tabla 21. concentraciones de NaF en plasma en ratas luego de una dosis oral de NaF.

Si se desprecia  $F_0$  por la razón expuesta más arriba y se reemplaza la transformada de la cantidad de fluoruro en el aparato digestivo ( $\bar{F}$ ), se obtiene

$$s * \bar{F} = \frac{k_a * D_o}{s + k_a} - k_e * \bar{F}$$

que reordenando, resulta

$$\bar{F} * (s + k_e) = \frac{k_a * D_o}{s + k_a}$$

despejando la transformada de la cantidad de fluoruro

70. Variación de la cantidad de fluoruro en tubo gastrointestinal

$$\frac{dD}{dt} = -k_a * D$$

$$D - s * D_o = -k_a * \bar{D}$$

$$\bar{D} * (s + k_a) = D_o$$

$$\bar{D} = \frac{D_o}{s + k_a}$$

$$\bar{F} = \frac{k_a * D_o}{(s+k_a) * (s+k_e)}$$

aplicando la antitransformada de la expresión anterior, se obtiene la función que ajusta la cantidad de fluoruro en plasma

$$F = \frac{k_a * D_o}{k_e - k_a} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

dividiendo por el volumen de distribución del fluoruro:  $V_d$ , se obtiene

$$\frac{F}{V_d} = \frac{k_a * D_o}{V_d * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

como la cantidad de fluoruro (F) dividido por el volumen de distribución ( $V_d$ ) es la concentración de fluoruro en plasma [F], la expresión resulta

$$C = \frac{k_a * D_o}{V_d * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

Es importante tener en cuenta que la expresión anterior se obtuvo bajo ciertas suposiciones, algunas de las cuales fueron ya mencionadas y posteriormente se demostrarán experimentalmente ( $F_o = 0$  y órdenes de los procesos iguales a 1). Además se ha considerado que la absorción de fluoruro a nivel gastrointestinal es completa, es decir que el 100% del F administrado, se absorbe y pasa a la sangre. Esta última consideración determina que en la expresión la cantidad inicial de fluoruro es  $D_o$ , que es la dosis total administrada. Esta suposición es correcta dado que se ha comprobado experimentalmente que luego de una dosis oral de fluoruro la excreción por materia fecal es despreciable. Si la concentración basal de fluoruro en plasma no pudiera ser considerada igual a cero, la ecuación resultaría:

$$C = \frac{k_a * D_o}{V_d * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t}) + C_o$$

es decir que simplemente a la expresión hallada se le suma el valor basal que tiene el fluoruro al momento de comenzar el estudio,  $C_o$ .

#### 19.1.1.4. Comprobación de los supuestos

*Absorción total del Fluoruro a nivel gastrointestinal:* Este planteo tiene en cuenta que la absorción sea aproximadamente 100%. Para verificar esta suposición se realizó un experimento en el que se administró a ratas una dosis diaria de 80  $\mu$ moles de NaF por sonda gástrica. Se recolectó material fecal y se determinó la excreción de F en heces. Se pudo

determinar que en estas condiciones la excreción de F no discrepaba de cero. Es importante tener en cuenta que esta suposición podría no cumplirse si la dosis fuera administrada simultáneamente con cationes como  $\text{Fe}^{+++}$ ,  $\text{Co}^{+++}$ ,  $\text{Al}^{+++}$  con los cuales el  $\text{F}^-$  forma compuestos de poca absorción, provocando un aumento de la pérdida de fluoruro por materia fecal.

*Orden del proceso de excreción:* Con el fin de obtener los órdenes de los procesos de excreción y absorción, se realizó un experimento con animales intactos. Se administró a ratas adultas ayunadas durante 24 hs, una dosis de NaF de 80  $\mu\text{mol}$  por sonda gástrica. Antes de la administración de la dosis y a los tiempos indicados en la Tabla 21, se extrajo sangre y se determinó la concentración de F en plasma, cuyos valores se pueden ver en la Figura 19.3. Como se puede observar en dicha tabla la fluoremia alcanza un máximo a los 45 minutos de administrada la dosis. A partir de este momento existe un decrecimiento de la concentración para alcanzar valores que no discrepan de los basales al cabo de 6 hs.

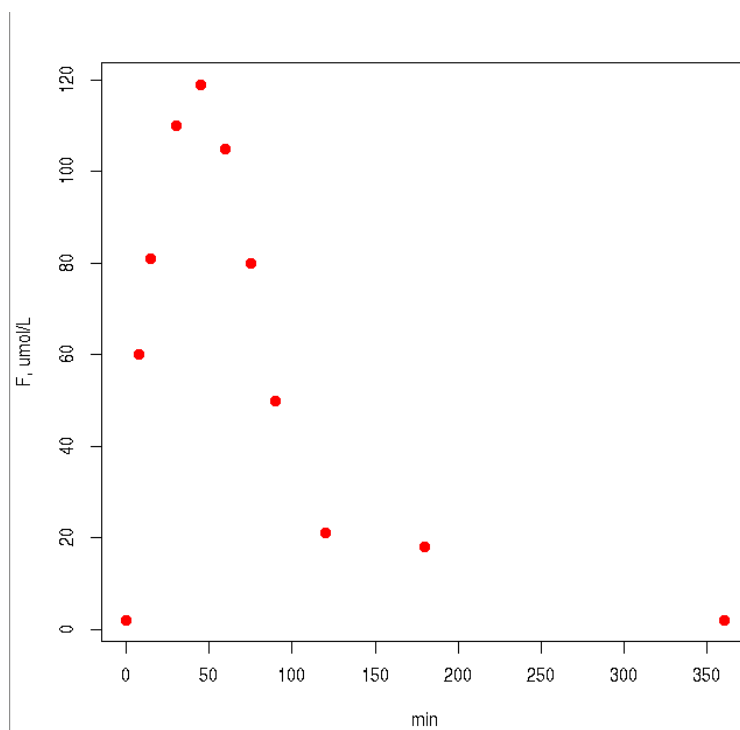


Figura 19.3

### Evaluación del orden del proceso de eliminación

A partir del máximo en la concentración plasmática, se puede considerar que la excreción es el proceso dominante, considerarse la absorción despreciable y se puede entonces plantear la ecuación diferencial como

$$\frac{dF}{dt} = -k_e * F$$

En esta ecuación hemos supuesto que el orden es 1, situación que verificaremos a continuación. Para ello introduciremos los valores de la tablamm193 de la planilla de cálculo tablamm19.ods/xls en nuestro espacio de trabajo. La tabla solo contiene los valores de tiempo y concentración de fluoruro. Por simplicidad y para comprender el mecanismo utilizaremos los valores medios de las concentraciones para cada tiempo.

```
> tablamm193<-read.table('clipboard',header=T,sep='\t',dec=',',encoding='latin1')
> tablamm193
```

	t	F
1	0.0	2
2	7.5	60
3	15.0	81
4	30.0	110
5	45.0	119
6	60.0	105
7	75.0	80
8	90.0	50
9	120.0	21
10	180.0	18
11	360.0	2

realizamos las comprobaciones necesarias

```
> summary(tablamm193)
```

t	F
Min. : 0.00	Min. : 2.00
1st Qu.: 22.50	1st Qu.: 19.50
Median : 60.00	Median : 60.00
Mean : 89.32	Mean : 58.91
3rd Qu.:105.00	3rd Qu.: 93.00
Max. :360.00	Max. :119.00

Ajustaremos ahora regresiones lineales con la función `lm()` para los valores de `t` superiores al valor del máximo. Para asegurarnos que el proceso de absorción sea despreciable tomaremos desde los 75 minutos en adelante, es decir solo consideraremos de la `tablamm193` las filas 7 a 11.

Realizamos la regresión para verificar orden 0, es decir `F` vs `t`

```
> lmtablamm193orden0<-lm(F~t,tablamm193[c(7:11),])
```

ahora para orden 1

```
> lmtablamm193orden1<-lm(log(F)~t,tablamm193[c(7:11),])
```

y orden 2

```
> lmtablamm193orden2<-lm(1/F~t,tablamm193[c(7:11),])
```

Pedimos ahora los informes de cada regresión y elegimos el mejor orden según el valor de R-squared del ajuste

```
> summary(lmtablamm193orden0)
```

Call:

```
lm(formula = F ~ t, data = tablamm193[c(7:11), ])
```

Residuals:

```
      7      8      9      10     11
27.0750  0.1958 -22.5625 -13.0792  8.3708
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	68.52917	18.65911	3.673	0.0349 *
t	-0.20806	0.09569	-2.174	0.1180

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 22.24 on 3 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.6118, Adjusted R-squared: 0.4824

F-statistic: 4.728 on 1 and 3 DF, p-value: 0.118

el resumen del análisis para orden 1

```
> summary(lmtablamm193orden1)
```

Call:

```
lm(formula = log(F) ~ t, data = tablamm193[c(7:11), ])
```

Residuals:

```
      7      8      9      10     11
0.32049 0.03001 -0.47845 0.08547 0.04248
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	4.959127	0.283181	17.512	0.000406 ***
t	-0.011968	0.001452	-8.241	0.003741 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.3375 on 3 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9577, Adjusted R-squared: 0.9436

F-statistic: 67.92 on 1 and 3 DF, p-value: 0.003741

y finalmente el ajuste de orden 2

```
> summary(lmtablamm193orden2)
```

```
Call:
lm(formula = 1/F ~ t, data = tablamm193[c(7:11), ])
Residuals:
    7     8     9    10    11 
0.041308 0.022817 -0.001545 -0.097570 0.034990
Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -0.158760  0.055183  -2.877  0.06369 .
t             0.001733  0.000283   6.123  0.00876 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
Residual standard error: 0.06576 on 3 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9259,    Adjusted R-squared:  0.9012
F-statistic: 37.49 on 1 and 3 DF, p-value: 0.008758
```

de comparar los R-squared de los tres modelos ajustados

orden 0, R-squared: 0.6118

orden 1, R-squared: 0.9577

orden 2, R-squared: 0.9259

nos quedamos con el orden 1, verificando así el supuesto realizado al desarrollar el modelo, es decir que la desaparición de F del plasma es de orden 1. Al elegir este orden, tenemos entonces el valor de  $k_e$  que es la pendiente de la regresión lineal del modelo  $\text{lm}()$  para el  $\log(F)$  vs  $t$ ,  $k_e = -0.011968 \pm 0.001452 \text{ min}^{-1}$ , que es un valor significativamente diferente de cero como podemos observar en el `summary()` de dicho modelo.

### Evaluación del orden del proceso de absorción

Como expresamos anteriormente, a tiempos superiores al máximo en la concentración plasmática se puede considerar que el término de absorción no existe, pudiendo escribir la ecuación de la concentración plasmática, sin el término exponencial que representa al proceso de absorción con constante de velocidad  $k_a$ .

$$C = -\frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_e * t}$$

Ecuación 19.1

que representaría la concentración plasmática cuando solo hay eliminación.

Contrariamente en tiempos anteriores al máximo plasmático, ambos procesos están presentes, siendo válida la expresión completa

$$C = \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

*Ecuación 19.2*

que representa cuando existen los dos procesos: absorción y eliminación.

Por lo tanto si restamos a la Ecuación 19.1, la Ecuación 19.2, obtenemos una expresión que nos proporciona lo que conocemos como la concentración residual en el aparato digestivo

$$C = \left[ -\frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_e * t} \right] - \left[ \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t}) \right]$$

*Ecuación 19.3*

reordenando y eliminando términos

$$C = -\frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_e * t} - \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_a * t} + \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_e * t}$$

*Ecuación 19.4*

$$C = \frac{-k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_a * t}$$

*Ecuación 19.5*

Para verificar el orden del proceso de absorción aplicaremos un método conocido como método de los residuales, que desarrollaremos a continuación

Lo que realizaremos es:

con la expresión que representa solo eliminación

$$C = -\frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * e^{-k_e * t}$$

*Ecuación 19.6*

y que simplificamos reemplazando por A el primer término de la ecuación

$$C = A * e^{-k_e * t}$$

Ecuación 19.7

y ajustaremos los valores de C para t mayores o iguales a 75 min con la función nls() en nuestros datos

```
> tablamm193
```

```
  t F
1  0.0 2
2  7.5 60
3 15.0 81
4 30.0 110
5 45.0 119
6 60.0 105
7 75.0 80
8 90.0 50
9 120.0 21
10 180.0 18
11 360.0 2
```

realizamos el ajuste con nls() tomando como valores iniciales de los parámetros A=400 y ke=0.01.

```
> ajustenls<-nls(F~A*exp(-ke*t),tablamm193[c(7:11),],star=c(A=400,ke=0.01),trace=TRUE)
```

```
36845.44 : 4e+02 1e-02
1441.596 : 219.00383539 0.01228635
289.0069 : 262.50177459 0.01713092
230.9028 : 358.98466938 0.02156433
197.9809 : 446.55777831 0.02381729
191.5666 : 484.73998735 0.02455458
191.3584 : 495.36695544 0.02478092
191.3467 : 498.39181715 0.02485182
191.3456 : 499.31457146 0.02487394
191.3455 : 499.59999683 0.02488082
191.3455 : 499.68851438 0.02488296
191.3455 : 499.71597684 0.02488362
191.3455 : 499.72449982 0.02488383
```

La aplicación de nls() va ajustando la función a los valores experimentales, aproximando los valores de los parámetros A y ke, de manera de hacer mínimo el error, que figura en la primer columna de la tabla anterior. Cuando este valor ya no se puede disminuir más, finaliza el proceso y los valores optimizados de A y ke están resaltados en amarillo en la última línea de la tabla anterior

graficamos los datos de la tablamm193

```
> plot(tablamm193$t,tablamm193$F,ylab='F,
umol/l',xlab='minutos',pch=19,col=2,ylim=c(0,500))
```

creamos un vector con tiempos en intervalo [0,360], que es la duración de nuestro experimento

```
> tfit<-seq(0,360,1)
```

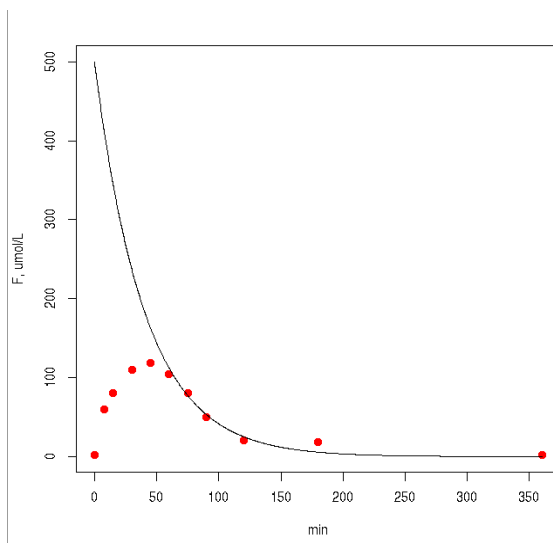
con ese vector de tiempo y los parámetros A y ke obtenidos, construimos un vector con valores teóricos de concentración plasmática de f, como si solo existiera excreción

```
> ffit<-499.72449982*exp(-0.02488383*tfit)
```

y graficamos sobre los puntos la línea creada con los datos de los vectores tfit y ffit.

```
> lines(spline(tfit,ffit),lwd=2)
```

que nos da la siguiente gráfica



Ahora comenzaremos el trabajo para hallar las concentraciones residuales de F en el aparato digestivo. Para ellos creamos una tabla que solo tenga los valores de F de las primeras cuatro líneas, en que predomina el proceso de absorción

```
> tablaresidual<-tablamm193[c(1:4),]
```

verificamos

```
> tablaresidual
```

```
  t  F
1 0.0 2
```

```
2 7.5 60
3 15.0 81
4 30.0 110
```

creamos una función `Fresidual`, con los valores de los parámetros, que sería la ecuación que es representada por la línea en el gráfica anterior

```
> Fresidual<-function(t){499.72449982*exp(-0.02488383*t)}
```

agregamos a la `tablaresidual` los valores de `F` obtenidos con la `Fresidual`, a los que llamamos `FE` y el agregado de la columna lo hacemos con la función `cbind()` que permite adosar columnas a una tabla

```
> tablaresidual<-cbind(tablaresidual,FE=Fresidual(tablaresidual$t))
```

```
> tablaresidual
```

	t	F	FE
1	0.0	2	499.7245
2	7.5	60	414.6473
3	15.0	81	344.0543
4	30.0	110	236.8772

finalmente agregamos otra columna que tendrá la resta entre `FE` y `F` para hallar la concentración residual que llamamos `FR`, la que estaría representando la concentración de `F` en el aparato digestivo a cada tiempo analizado

```
> tablaresidual<-cbind(tablaresidual,FR=tablaresidual$FE-tablaresidual$F)
```

comprobamos el correcto cálculo

```
> tablaresidual
```

	t	F	FE	FR
1	0.0	2	499.7245	497.7245
2	7.5	60	414.6473	354.6473
3	15.0	81	344.0543	263.0543
4	30.0	110	236.8772	126.8772

ahora realizamos los ajustes para comprobar orden de desaparición de `FR`

```
> lmresidualordencero<-lm(FR~t,tablaresidual)
```

```
> lmresidualordenuno<-lm(log(FR)~t,tablaresidual)
```

```
> lmresidualordendos<-lm(1/FR~t,tablaresidual)
```

y vemos los `summary` de cada objeto, focalizando en el valor `R-squared`

```
> summary(lmresidualordencero)
```

Call:

```
lm(formula = FR ~ t, data = tablaresidual)
```

Residuals:

```

  1  2  3  4
30.00 -23.28 -25.07 18.36

```

Coefficients:

```

              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 467.729    26.873    17.405 0.00328 **
t            -11.974     1.564    -7.657 0.01663 *

```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 34.69 on 2 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.967, Adjusted R-squared: 0.9505

F-statistic: 58.63 on 1 and 2 DF, p-value: 0.01663

```
> summary(lmresidualordenuno)
```

Call:

```
lm(formula = log(FR) ~ t, data = tablaresidual)
```

Residuals:

```

  1  2  3  4
-0.010259 -0.008543 0.033332 -0.014530

```

Coefficients:

```

              Estimate Std. Error  t value Pr(>|t|)
(Intercept) 6.220306    0.021216  293.19 1.16e-05 ***
t            -0.045419    0.001235  -36.79 0.000738 ***

```

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.02739 on 2 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9985, Adjusted R-squared: 0.9978

F-statistic: 1353 on 1 and 2 DF, p-value: 0.0007381

```
> summary(lmresidualordendos)
```

Call:

```
lm(formula = 1/FR ~ t, data = tablaresidual)
```

Residuals:

```

  1  2  3  4
0.0004918 -0.0001894 -0.0006994 0.0003971

```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.517e-03	5.267e-04	2.881	0.1023
t	1.989e-04	3.065e-05	6.490	0.0229 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0006799 on 2 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0.9547, Adjusted R-squared: 0.932  
 F-statistic: 42.12 on 1 and 2 DF, p-value: 0.02293

Si analizamos los valores de la constante y R-squared para cada ajuste tenemos

orden 0:  $-11.974 \pm 1.564$  R-squared: 0.967

orden 1:  $-0.045419 \pm 0.001235$  R-squared: 0.9985

orden 2:  $1.989e-04 \pm 3.065e-05$  R-squared: 0.9547

comprobamos que el mejor ajuste para el proceso de absorción es uno, supuesto que habíamos establecido a la hora de desarrollar el modelo.

### Resumen del análisis farmacocinético

Se verificaron los supuestos planteados al inicio del planteo

- 1- Absorción completa
- 2- Orden 1 para proceso de absorción
- 3- Orden 1 para proceso de excreción

Se hallaron las constantes de los procesos de absorción y excreción

ka:  $-0.045419 \pm 0.001235 \text{ min}^{-1}$

ke:  $-0.011968 \pm 0.001452 \text{ min}^{-1}$

#### 19.1.1.5. Cálculo del volumen de distribución

El modelo planteado permitió hallar la ecuación que describe la absorción de la droga administrada por vía oral

$$C = \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

Esta ecuación puede ser escrita

$$C = A * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

siendo A

$$A = \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)}$$

Donde figura el volumen de distribución que aun no conocemos. Como el resto de los parámetros ya ha sido obtenido (ka y ke) o es conocido (Do), podemos hallar el valor de A utilizando la función nls(), los datos de la tablamm193 y los valores de las constantes indicadas más arriba, que debemos ingresar al espacio de trabajo

```
> ka= 0.045419
```

```
> ke=0.011968
```

realizamos el ajuste asignando a A un valor inicial de 400, bien podría haber sido otro. Puede ocurrir que con este valor el proceso no converja a un valor, en tal caso pruebe otro

```
> ajusteA<-nls(F~A*(exp(-ka*t)-exp(-ke*t)),tablamm193,star=c(A=400),trace=TRUE)
```

```
415241.9 : 400
```

```
2333.02 : -229.1881
```

el valor resaltado en amarillo es el valor de A que nls() halló con la función obtenida y los valores de ka y ke

reemplazamos dicho valor en la expresión de A

$$\frac{0,045419 * 80}{(0,011968 - 0,045419) * V_d} = -229,1281$$

despejando Vd

$$\frac{0,045419 * 80}{(0,011968 - 0,045419) * (-229,1281)} = V_d$$

obtenemos un valor para Vd

Vd= 0.47 L

Este valor indica que el fluoruro no se distribuye uniformemente, dado que el volumen

hallado es mayor que el volumen de la rata utilizada<sup>71</sup>.

#### 19.1.1.6. Resumen final de los parámetros y modelo

**ka:**  $-0.045419 \pm 0.001235 \text{ min}^{-1}$

**ke:**  $-0.011968 \pm 0.001452 \text{ min}^{-1}$

**Vd=** 0,47 L

Ecuación del modelo

$$C = \frac{k_a * D_o}{Vd * (k_e - k_a)} * (e^{-k_a * t} - e^{-k_e * t})$$

#### 19.1.1.7. Posibilidades

Qué se puede hacer de acá en adelante prácticamente es ilimitado y será cuestión de esperar a ver la necesidad, pero se plantean algunas.

1- Gráfica y ajuste:

En primer lugar presentar una gráfica con los valores experimentales y la curva de ajuste con los parámetros

Se deben introducir los valores de los parámetros, si no lo hemos hecho con anterioridad

```
> ka= 0.045419
```

```
> ke=0.011968
```

```
> Do=80
```

```
> Vd=0.47
```

crear la función

```
> F<-function(t){ka*Do/(Vd*(ke-ka))*(exp(-ka*t)-exp(-ke*t))}
```

graficar la función

```
> plot(F,0,500,ylim=c(0,150))
```

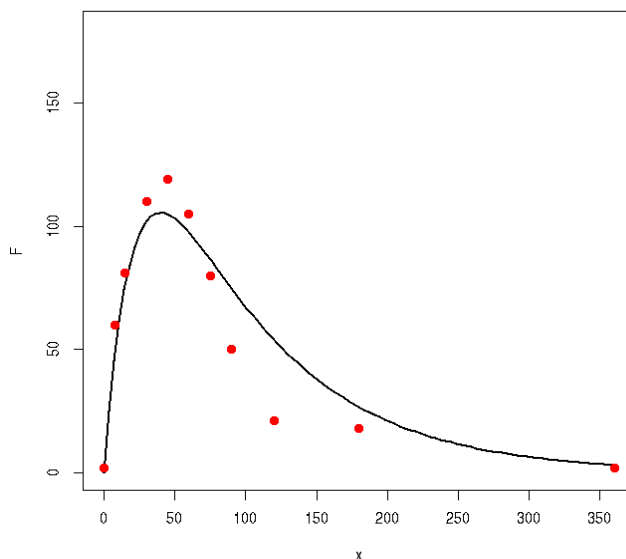
colocar los puntos experimentales

```
> points(tablamm193$t,tablamm193$F,pch=19,cex=1.4,col=2)
```

---

71. Para una rata de 200 g, como las utilizadas en estos experimentos, se puede suponer que el volumen total del animal es 200 ml, suponiendo una densidad promedio de 1 g/ml.

obteniéndose la siguiente gráfica



que nos muestra los valores experimentales y el ajuste de nuestro modelo

## 2- Simulaciones.

Podemos simular cambios que ocurrirán en la concentración plasmática ante modificaciones de valores de los parámetros. Esto es de extremo valor, en primer lugar porque conocemos el significado fisiológico de cada parámetro y además seguramente conocemos la ventana terapéutica de la droga. De esta manera ante cambios en procesos fisiológicos podremos anticipar cambios en la farmacocinética de la droga y por ende en su farmacodinamia.

### Ejemplo 1.

Con los valores experimentales hallamos los valores de los parámetros para una dosis de 80  $\mu\text{mol}$ . Estos valores posiblemente estén en su espacio de trabajo, pero introduciremos todo nuevamente para evitar confusiones

la dosis, parámetro D de nuestro modelo es 80

> D<-80

la constante de absorción obtenida con los datos experimentales fue

> ka<-0.045419

la ke obtenida fue

```
> ke<-0.011968
```

y el volumen de distribución hallado en base a la experimentación

```
> Vd<-0.47
```

introducimos la función del modelo

```
> F<-function(t){ka*Do/(Vd*(ke-ka))*(exp(-ka*t)-exp(-ke*t))}
```

graficamos los datos experimentales (en puntos rojos) para tener una idea donde se ubican los valores de concentración plasmática hallados en el experimento, fijando un rango del eje vertical más amplio que el rango de valores, especulando que la simulación puede escapar del rango experimental, Figura 19.4.

```
> plot(tablamm193$t,tablamm193$F,pch=19,col=2,ylim=c(0,250))
```

creamos un vector de tiempo del largo del experimento

```
> tfit<-seq(0,360,1)
```

y un vector con valores de concentración para el tiempo fijado, con la función que ajusta la concentración

```
> ffit<-F(tfit)
```

graficamos la línea (continua negra) que muestra los datos de nuestro modelo que, como la función F utilizará los valores calculados, deberá ajustarse a los puntos experimentales. Comparar puntos rojos (experimentales) con línea negra

```
> lines(spline(tfit,ffit),lwd=2,col=1)
```

Ahora simularemos una constante de absorción que sea el doble del valor calculado.

```
> ka<-2*ka
```

recalculamos ffit, con este valor de ka

```
> ffit<-F(tfit)
```

y graficamos una nueva línea (continua roja) que estaría simulando qué valores de concentración tendríamos con una absorción con un parámetro de valor doble.

```
> lines(spline(tfit,ffit),lwd=2,col=2)
```

elevamos el valor de ka nuevamente al doble, es decir cuatro veces mayor que al inicio

```
> ka<-2*ka
```

debemos reconstruir ffit, ya que un parámetro se modificó

```
> ffit<-F(tfit)
```

y graficamos estos valores simulados en azul

```
> lines(spline(tfit,ffit),lwd=2,col=4)
```

Claramente vemos que un aumento del proceso de absorción manteniendo los otros procesos constantes producen un aumento del máximo de concentración plasmática y el tiempo a que se produce el mismo se anticipa, no cambiando los valores de concentración a tiempos superiores a 150 min.

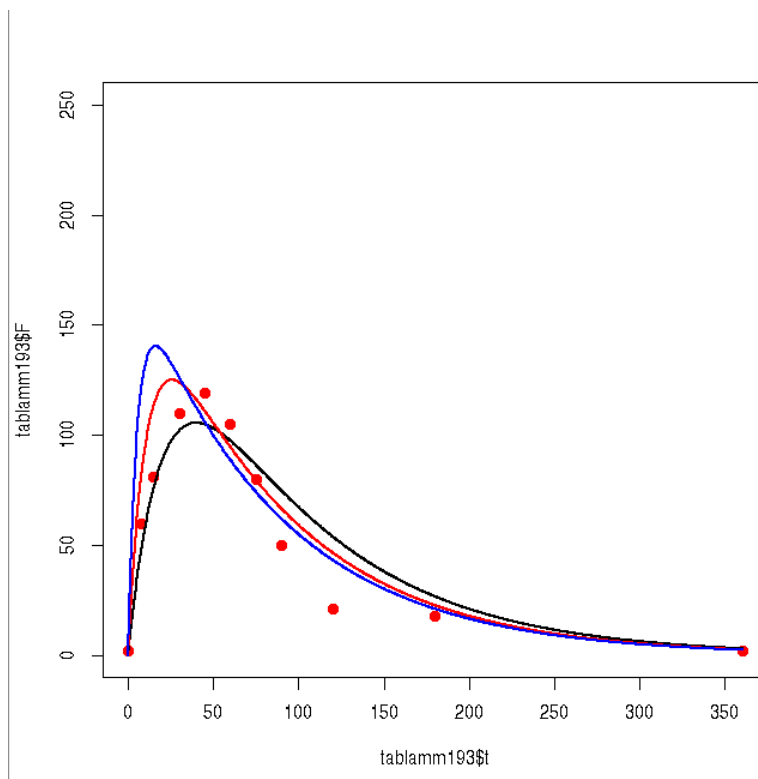


Figura 19.4

De esta manera se puede realizar simulaciones modificando otros parámetros, o varios a la vez. Por supuesto siempre los valores y curvas halladas serán en base a nuestro modelo y más cercana será la simulación si los supuestos se pudieron verificar y los ajustes a cada situación tuvieron elevado R-squared.

#### 19.1.1.8. Excreción urinaria de Fluoruro después de una dosis oral

La cantidad de fluoruro en orina (U), depende de la concentración plasmática de fluoruro (F). La velocidad de cambio de U es proporcional a la cantidad de F en plasma. El fluoruro filtra libremente a nivel de los glomérulos renales, por tener bajo peso molecular y no estar ligado a proteínas del plasma. Por lo tanto la derivada de U respecto de t queda expresada como:

$$\frac{dU}{dt} = k_u * F$$

aplicando transformadas de Laplace a la expresión anterior, se obtiene

$$s * \bar{U} - U_o = k_u * \bar{F}$$

Si el animal no recibió previamente fluoruro, a  $t = 0$  la cantidad de fluoruro en orina es despreciable, por lo que podemos considerar que  $U_o = 0$ . Con esta última suposición y reemplazando la transformada de la cantidad de F en plasma, hallada al desarrollar la ecuación de fluoremia

$$\bar{F} = \frac{k_a * D_o}{(s + k_a) * (s + k_e)}$$

se obtiene

$$s * \bar{U} = \frac{k_u * k_a * D_o}{(s + k_a) * (s + k_e)}$$

despejando la transformada de la excreción urinaria

$$\bar{U} = \frac{k_u * k_a * D_o}{s * (s + k_a) * (s + k_e)}$$

y aplicando la antitransformada a esta expresión, se obtiene

$$U = k_u * k_a * D_o * \left[ \frac{1}{k_a * k_e} + \frac{1}{k_a * (k_a - k_e)} * e^{-k_a * t} - \frac{1}{k_e * (k_a - k_e)} * e^{-k_e * t} \right]$$

que da la cantidad de fluoruro en orina en función del tiempo luego de una dosis oral de fluoruro de sodio.

Si dispusiéramos de valores de excreción urinaria de fluoruro a lo largo del tiempo, como todos los parámetros de la función U son conocidos, excepto  $k_u$ , aplicando la función nls() de ajuste no lineal nos permitiría hallar dicho valor. Con el valor de  $k_u$  luego podríamos hallar  $k_o$  que es la constante de captación de F por el hueso dado que

$$k_e = k_o + k_u.$$

Veremos esto en clases venideras.

## 20. Clase 20

En este capítulo adaptaremos un modelo matemático desarrollado para la farmacocinética a medidas de interés en el diagnóstico médico. En este caso utilizaremos la farmacocinética del anión fluoruro (F) para medida del proceso de remodelado óseo. Se mostrará en este capítulo el desarrollo y la obtención de datos, omitiendo otras comprobación que se desarrollaron para validar el mismo.

A modo de introducción podemos decir que el tejido óseo es un tipo especializado de tejido conectivo que, como todos los tejidos tiene una constante renovación. Este proceso se denomina remodelado óseo y está compuesto por dos fases: una fase de remoción del tejido óseo existente conocida como resorción ósea y una fase de rellenado de la zona removida, el que se conoce como formación ósea. Ambos procesos están vinculados y llevados a cabo por células del tejido óseo bajo la acción de hormonas y factores locales del sistema autócrino y parácrino. En condiciones normales la resorción y formación ósea están acopladas. Cuando el tejido óseo sufre algún daño, se produce la resorción del sector, para eliminar el hueso dañado y luego se produce la formación rellenando nuevamente el espacio con hueso nuevo. En este caso hay una coincidencia espacial y un desfase temporal. Contrariamente en algunas situaciones puede ocurrir resorción en un sector como consecuencia que las células detectan que no es necesario un hueso tan fuerte para cumplir su función, mientras que otras células producen formación fortificando los sectores más solicitados del hueso. Esto es común durante el crecimiento o ante la aplicación de fuerzas sobre el esqueleto.

Las patologías ósea normalmente se acompañan de cambios en el remodelado óseo y el conocimiento de la magnitud de este cambio es un dato importante para evaluar el tipo de tratamiento a aplicar y su duración. De la misma manera, el seguimiento en el tiempo del valor de los procesos de formación y resorción ósea nos indicará sobre el éxito del tratamiento y el progreso o retroceso de la patología.

Existen diferentes métodos para medir el remodelado óseo, siendo el método de elección la medición en sangre y/o orina de sustancia vinculadas a los procesos de formación y resorción. Se conocen a estas sustancia como marcadores de remodelación y se requieren al menos dos marcadores, uno de formación y otro de resorción. El uso de isótopos radiactivos como el calcio que tiene afinidad por el tejido óseo es también adecuado. Estos dos métodos dan medidas globales del esqueleto, sin poder evaluar que ocurre de manera local en un hueso. Otro método es obtener una biopsia y se puede inferir sobre el remodelado en base al estudio histológico del hueso obtenido. Esta técnica nos permite evaluar un sitio puntual, pero es inapropiada para estudios sistémicos.

El fluoruro es un ion con afinidad por el tejido óseo y por su inclusión en el cristal de hidroxiapatita, su captación aumentará en casos que aumente la formación ósea y por otra parte aumentará la salida de fluoruro del hueso si hay un aumento en la resorción ósea. Este principio permite que el fluoruro sea utilizado como un marcador del remodelado. A continuación se plantea un modelo matemático que permite su utilidad en este campo. Para este desarrollo nos basaremos en el desarrollo de la farmacocinética del fluoruro presentada

en la clase anterior.

## 20.1. Modelo matemático a partir de una dosis endovenosa

### 20.1.1. Definición de etapas del estudio

El modelo matemático que se desarrolla a continuación tiene como principal finalidad permitir la medida del ingreso y egreso de F del hueso en la rata a partir de un dato de fluoremia y de datos de excreción urinaria de F. Para poder lograrlo se deben realizar mediciones antes y después de administrar una dosis endovenosa de NaF.

#### 20.1.1.1. Desarrollo antes de la administración de la dosis.

El F, como hemos visto, puede ingresar por vía oral, siendo la vía más común. En ausencia de ingesta habrá circulación de F entre el plasma, hueso y riñón, fundamentalmente. A fines prácticos de simplificar el desarrollo, los restantes tejidos pueden ser desestimados en el proceso. El intercambio de F entre los órganos mencionados queda representado en la Figura 20.1.

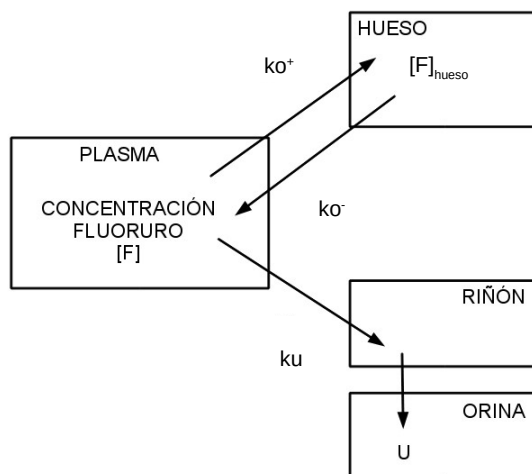


Figura 20.1. Distribución y eliminación plasmática de F luego de una dosis endovenosa.  $F_o$ : velocidad de incorporación de F al hueso,  $R_o$ : velocidad de salida de F del hueso,  $V_u$ : velocidad de excreción urinaria de F. U cantidad de F en orina.

Donde:

[F]: concentración plasmática de fluoruro.

[F]hueso: concentración ósea de fluoruro.

$k_o^+$ : constante de velocidad de ingreso de F al hueso

$k_o^-$ : constante de velocidad de salida de F del hueso

$k_o$ : constante de velocidad de excreción urinaria de F

U: cantidad de  $\mu\text{mol}$  de F excretado en orina.

Si llamamos  $F_p$  a la cantidad de fluoruro en plasma y  $F_o$  a la cantidad de fluoruro en hueso. La variación de la cantidad de F en plasma podemos expresarla con la siguiente ecuación diferencial

$$\frac{dF_p}{dt} = k_o^- * [F]_{\text{hueso}} - k_o^+ * [F] - k_u * [F]$$

*Ecuación 20.1*

Supuesto del modelo: los procesos involucrados son considerados de orden 1 respecto de las concentraciones involucradas. Esta decisión está tomada en base al estudio farmacocinético del F realizada anteriormente a este capítulo.

Podemos llamar  $F_o$  al proceso de ingreso de F al hueso, que queda representado por la siguiente ecuación

$$F_o = k_o^+ * [F]$$

*Ecuación  
20.2*

Por otra parte llamamos  $R_o$  a la salida de F del hueso, quedando representada por la ecuación

$$R_o = k_o^- * [F]_{\text{hueso}}$$

*Ecuación 20.3*

y finalmente llamamos  $V_u$  a la velocidad de excreción urinaria, que se supuso directamente proporcional a la concentración plasmática basal de flúor y a una constante de velocidad de depuración urinaria,  $k_u$ .

$$V_u = k_u * [F]$$

*Ecuación 20.4*

Así la Ecuación 20.1 queda escrita

$$\frac{dF_p}{dt} = R_o - F_o - k_u * [F]$$

*Ecuación 20.5*

Antes de administrar la dosis de F y en ausencia de otra fuente de F, la cantidad de fluoruro plasmático ( $F_p$ ) permanece constante dependiendo exclusivamente de los valores de  $R_o$ ,  $F_o$  y  $V_u$ . En esta situación la variación del fluoruro plasmático se halla en estado estacionario, siendo el valor constante y por ende la derivada primera de  $F_p$  respecto del tiempo es cero:

$$0 = R_o - F_o - k_u * [F]$$

*Ecuación 20.6*

Llamamos  $V_o$  a la velocidad neta de salida de F al hueso

$$V_o = R_o - F_o$$

*Ecuación 20.7*

reemplazando Ecuación 20.4 y Error: Reference source not found Ecuación 20.7 en la Ecuación 20.6, se obtiene:

$$0 = V_o - k_u * [F]$$

*Ecuación 20.8*

De la cual resulta

$$V_o = k_u * [F]$$

*Ecuación*

*20.9*

Por su parte la velocidad de excreción urinaria de F es proporcional a la concentración plasmática de fluoruro y a la constante de velocidad de excreción urinaria de F.

$$\frac{dU}{dt} = k_u * [F]$$

*Ecuación 20.10*

Reordenando,

$$dU = k_u * [F] * dt$$

*Ecuación 20.11*

resolviendo la ecuación diferencial entre  $t=0$  y un tiempo  $t$

$$\int_0^U dU = ku * [F] * \int_0^t t * dt$$

Se obtiene la excreción urinaria de F en un dado intervalo de tiempo, t.

$$U = ku * [F] * t$$

*Ecuación 20.12*

Como ku y [F] son constantes y pueden unificarse como una sola constante, que llamamos kb.

$$kb = ku * [F]$$

*Ecuación 20.13*

reemplazando en la Ecuación 20.12 resulta

$$U = kb * t$$

*Ecuación 20.14*

Siendo kb la excreción urinaria basal de F, que corresponde a la pendiente de la regresión lineal entre la excreción urinaria de F (U) y el tiempo. Relacionando la Ecuación 20.9 y Ecuación 20.13, se obtienen:

$$Vo = kb$$

*Ecuación 20.15*

o

$$Ro - Fo = kb$$

*Ecuación 20.16*

y

$$ku = \frac{kb}{[F]_b}$$

*Ecuación 20.17*

De lo expuesto anteriormente se puede concluir que es posible obtener los

valores de  $k_u$  y  $V_o$  a través de la pendiente de la recta de  $U$  en función del tiempo y de la concentración plasmática de flúor antes de inyectar una dosis de  $F$ .

20.1.1.2. *Desarrollo luego de administrar una dosis endovenosa*

Luego de la dosis endovenosa de  $F$ : la variación de la cantidad de fluoruro en plasma viene dada por la Ecuación 20.18, que en esta situación no se puede igualar a cero, ya que  $F_p$  cambia a lo largo del tiempo

$$\frac{dF_p}{dt} = k_o^- * [F]_{hueso} - k_o^+ * [F] - k_u * [F]$$

Ecuación 20.18

Supuesto del modelo: En la Ecuación 20.16,  $R_o$  se puede considerar despreciable, porque luego de una dosis de  $F$  se asume que la concentración plasmática de flúor es muy superior al valor basal, y por lo tanto el proceso de incorporación de  $F$  al hueso sería mayor que el proceso de liberación de  $F$  del hueso, resultando

$$\frac{dF_p}{dt} = -k_o^+ * [F] - k_u * [F]$$

Ecuación 20.19

Trabajando matemáticamente,

$$\frac{dF_p}{dt} = -(k_o^+ + k_u) * [F]$$

Ecuación 20.20

Y siendo la constante  $k_e$  representada por la siguiente ecuación.

$$k_e = k_o^+ + k_u$$

Ecuación 20.21

Reemplazando la Ecuación 20.21 en la Ecuación 20.20 se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{dF_p}{dt} = -k_e * [F]$$

Expresando la concentración en función de la cantidad y el volumen, donde  $V_d$  es el volumen de distribución de  $F$ :

$$\frac{dF_p}{dt} = -ke * \frac{F_p}{V_d}$$

Ecuación 20.22

Reordenando:

$$\frac{dF_p}{F_p} = \frac{-ke}{V_d} * dt$$

Ecuación 20.23

Integrando entre 0 y t:

$$\int_{D_0}^{F_p} \frac{dF_p}{F_p} = - \frac{ke}{V_d} \int dt$$

Ecuación 20.24

Se obtiene: la siguiente ecuación. Aclaración a  $t = 0$ ,  $F_p$  tomaría el valor  $D_0$ , que es la dosis inyectada.

$$\log \frac{F_p}{D_0} = \frac{-ke}{V_d} * t$$

Ecuación 20.25

que eliminando el log resulta

$$\frac{F_p}{D_0} = e^{\frac{-ke}{V_d} * t}$$

Ecuación 20.26

Dividiendo a ambos miembros por el  $V_d$  y reordenando se obtiene:

$$[F] = \frac{D_0}{V_d} * e^{\frac{-ke}{V_d} * t}$$

Ecuación 20.27

Que es la ecuación que representa la concentración de F en plasma a lo largo del tiempo luego de administrar una dosis oral de fluoruro.

A partir de la variación urinaria de F respecto al tiempo, expresada en la Ecuación 20.10 y replanteada a continuación:

$$\frac{dU}{dt} = ku * [F]$$

Ecuación

20.28

reemplazando la Ecuación 20.27 en la Ecuación 20.28 se obtiene:

$$\frac{dU}{dt} = \frac{ku * Do}{Vd} * e^{-\frac{ke}{Vd} * t}$$

Ecuación 20.29

Reordenando e integrando:

$$\int_0^U dU = \frac{ku * Do}{Vd} * \int_0^t e^{-\frac{ke}{Vd} * t} * dt$$

Ecuación 20.30

Resolviendo la integral y sumando la excreción basal en el tiempo (kb.t):

$$U = \frac{ku * Do}{ke} \left( 1 - e^{-ke * \frac{t}{Vd}} \right) + kb * t$$

Ecuación 20.31

Se obtiene la variación de la cantidad de fluoruro eliminado por orina a lo largo del tiempo luego de administrar una dosis intravenosa Do. Si se calcula la derivada primera de la excreción urinaria de F, representada por la Ecuación 20.31 se obtiene:

$$U' = \frac{kuDo}{ke} \left( 0 - e^{-ke \frac{t}{Vd}} \left( -\frac{ke}{Vd} \right) \right) + kb$$

Ecuación 20.32

Reordenando:

$$U' = \frac{kuDo}{Vd} e^{-ke \frac{t}{Vd}} + kb$$

Ecuación 20.33

La expresión de U' para t=0 resulta:

$$U'_{(0)} = \frac{kuDo}{Vd} + kb$$

Ecuación 20.34

Dado que  $k_u$ ,  $D_o$  y  $k_b$  son valores conocidos y calculados anteriormente, y  $U'$  es fácilmente aproximable a través de la excreción de  $F$  en orina a tiempos inmediatos después de la dosis, dividido por el tiempo en que se recolectó la muestra de orina, se puede obtener el valor de  $V_d$ .

Finalmente con los valores de los datos  $D_o$  y  $F_b$  y los parámetros  $k_u$ ,  $k_b$  y  $V_d$  podemos calcular  $k_e$ , haciendo un ajuste no lineal de los datos de  $U$  en función del tiempo luego de administrar la dosis utilizando la ecuación

$$U = \frac{k_u * D_o}{k_e} \left( 1 - e^{-k_e * \frac{t}{V_d}} \right) + k_b * t$$

*Ecuación 20.35*

Así con el desarrollo y las ecuaciones podemos conocer todas las constantes y parámetros del modelo, que aplicaremos al cálculo de  $R_o$  y  $F_o$ , que son las velocidades de salida e incorporación de fluoruro del hueso y son proporcionales a los procesos de resorción y formación ósea.

Con el valor de  $k_e$  y  $k_u$  obtenemos  $k_o^+$

$$k_o^+ = k_e + k_u$$

con  $k_o^+$  y  $F_b$ , aplicando la Ecuación 20.2, obtenemos  $F_o$

$$F_o = k_o^+ * F_b$$

con la Ecuación 20.16, el valor de  $k_b$  y  $F_o$ , calculamos  $R$

$$R_o = k_b + F_o$$

*Ecuación 20.36*

### 20.1.1.3. Procedimiento de cálculo de $R_o$ y $F_o$ :

La Error: Reference source not found muestra un esquema de la metodología para la obtención de los valores de  $F_o$  y  $R_o$ .

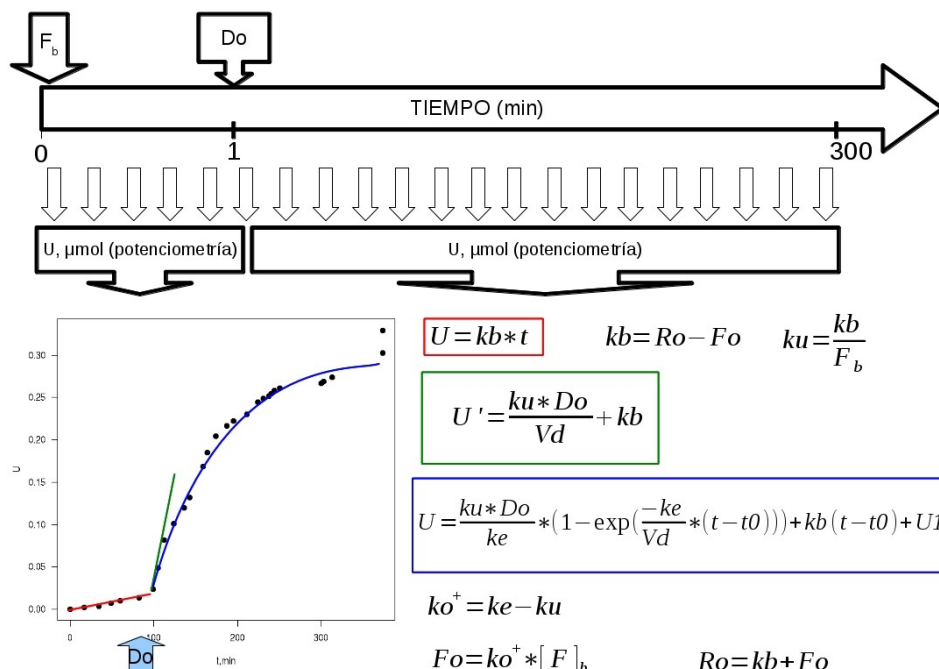


Figura 20.2. Descripción esquemática de la metodología para la medición de  $R_o$  y  $F_o$ . Donde el símbolo \* representa el producto. Ver explicación en el texto.

El procedimiento consta de los siguientes pasos:

- 1- Al inicio del experimento, antes de la administración de una dosis endovenosa de F ( $Do$ ), se obtiene una muestra de sangre para la medición de la concentración de flúor basal ( $[F]_b$ ).
- 2- Luego de anestesiar el animal y realizar el cateterismo uretral se recolecta orina durante 1 h y en la misma se mide la excreción urinaria de F ( $U$ ). La  $U$  se ajusta por una función lineal del tiempo, cuya pendiente es el parámetro  $kb$ .
- 3- Con el valor del parámetro  $kb$  y  $[F]_b$  se obtiene el valor de la constante de velocidad de excreción urinaria ( $ku$ ) utilizando la Ecuación 20.17. A su vez, el parámetro  $kb$  es igual a la diferencia entre  $R_o$  y  $F_o$ , que llamamos  $Vo$ .
- 4- Inmediatamente luego de este período se administra una dosis endovenosa de F ( $Do$ ) y se continua recolectando orina a intervalos de 10-15 min durante 4 h. En las muestras recolectadas se mide la concentración de F y se calcula la  $U$ .
- 5- Utilizando los primeros valores de  $U$  luego de la administración de  $Do$  se calcula la velocidad de cambio de  $U$  ( $U'$ ) y a partir de este valor, junto con  $ku$ ,  $kb$  y  $Do$  se obtiene  $Vd$  utilizando la Ecuación 20.34.
- 6- El valor de  $ke$  se obtiene realizando un ajuste de los datos de  $U$  luego de administrar  $Do$ ,

utilizando la Ecuación 20.31 y los valores de  $D_0$ ,  $k_u$ ,  $k_b$  y  $V_d$  obtenidos previamente.

7- Se calcula  $k_{o+}$  utilizando la Ecuación 20.21 con los valores de  $k_e$  y  $k_u$  obtenidos.

8- Utilizando la Ecuación 20.2 y los valores de  $k_{o+}$  y  $[F]_b$ , se obtiene  $F_0$ .

9- Se calcula  $R_0$  con la Ecuación 20.16 y los valores de  $k_b$  y  $F_0$ .

#### 20.1.1.4. Cálculos del remodelado óseo con R

En primer lugar introducimos la `tablamm201` de la planilla de cálculo `tablamm20.ods/xls`, conteniendo los valores de fluoruria. Los datos están expresados en  $\mu\text{moles}$  de F acumulados hasta un dado tiempo. Estos valores surgieron de la medición de la concentración de fluoruro en muestras de orinas obtenidas en una rata con cateterismo uretral. La medición de estas concentraciones se realizó por una técnica potenciométrica utilizando un electrodo de ion específico y excede a los límites de este curso.

```
>tablamm201<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec=',',sep='\t',encoding='latin1')
```

comprobamos el ingreso de los datos

```
> tablamm201
```

t	U
1	0 0.000000000
2	17 0.002347548
3	34 0.003658308
4	49 0.007424558
5	60 0.010246128
6	82 0.013338403
7	99 0.023825705
8	105 0.048720900
9	112 0.081996725
10	124 0.101191619
11	136 0.119435800
12	143 0.131751329
13	159 0.168766423
14	164 0.184806482
15	174 0.204174451
16	187 0.216569240
17	195 0.222030576
18	211 0.230416198
19	224 0.244523116
20	231 0.248636486
21	237 0.251756145
22	240 0.254620523
23	244 0.257990618
24	250 0.260775484
25	300 0.266869340

```
26 303 0.269174358
```

```
27 313 0.273843120
```

```
28 373 0.302530024
```

```
29 373 0.329350898
```

```
> summary(tablamm201)
```

```

      t          U
Min. : 0.0  Min. :0.00000
1st Qu.:105.0 1st Qu.:0.04872
Median :174.0 Median :0.20417
Mean  :177.2 Mean  :0.16313
3rd Qu.:240.0 3rd Qu.:0.25462
Max.  :373.0 Max.  :0.32935 Fb

```

Como figura en la tablamm202 de la planilla de cálculo, para este animal se midió la fluoremia basal que introduciremos en nuestro espacio de trabajo

```
> Fb<- 305
```

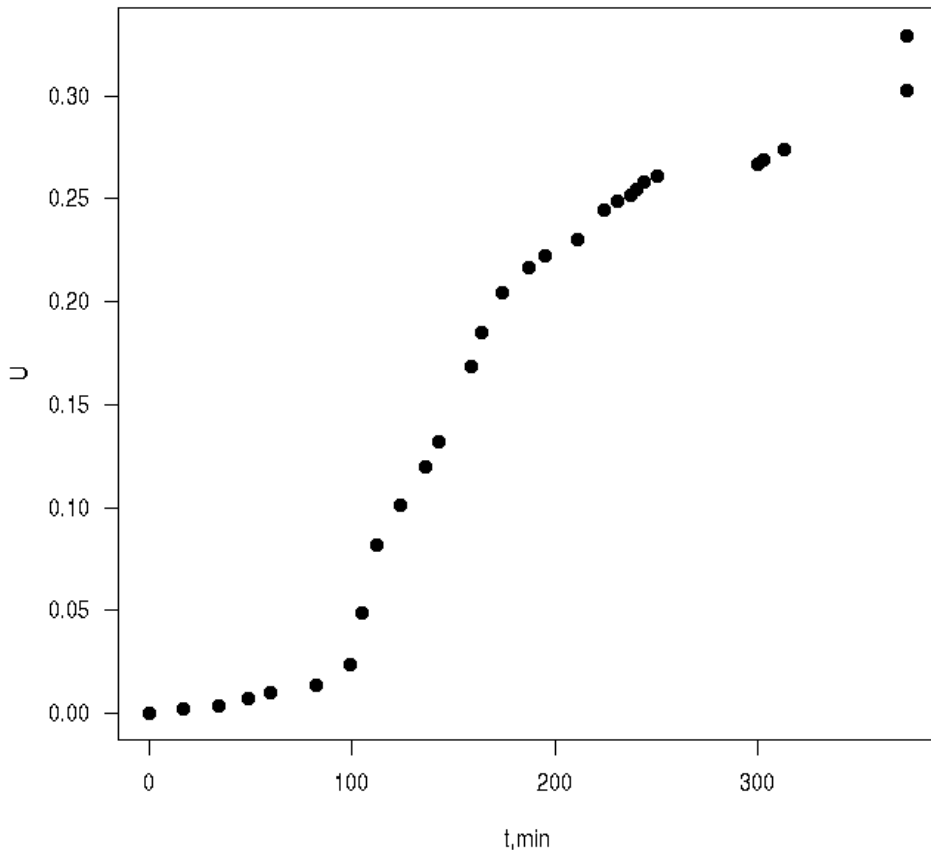
la dosis de fluoruro inyectada por vía intravenosa, expresada en micromoles

```
> Do<-2.58
```

y el tiempo al cual se realizó dicha inyección, expresado en minutos

```
> t0<-82
```

En primer lugar graficaremos los datos de U vs t, para observar si los mismos tienen alguna anomalía. Los datos de U deben crecer de manera monótona en función del tiempo y nunca deberían decrecer. Algún comportamiento de este tipo estaría indicando un error en la introducción de los datos.



Cálculo de kb, ku y Vo

Para ello ajustamos una función lineal a los valores de U vs t, para  $t \leq 82$  minutos, utilizando la función `lm()` y forzando su paso por el origen, para lo cual agregamos el operador `-1`. Debemos recordar, teniendo en cuenta el desarrollo, que la pendiente de la recta de U vs t, antes de inyectar la dosis de F corresponde al parámetro kb

```
> lmbasal<-lm(U~t-1,data=tablamm201[c(1:6),])
```

```
> summary(lmbasal)
```

Call:

```
lm(formula = U ~ t - 1, data = tablamm201[c(1:6),])
```

Residuals:

```
1      2      3      4      5      6
-5.171e-18 -3.358e-04 -1.708e-03 -3.097e-04 7.757e-04 3.954e-04
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
t	1.578e-04	7.405e-06	21.32	4.21e-06 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0008815 on 5 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9891, Adjusted R-squared: 0.9869

F-statistic: 454.4 on 1 and 5 DF, p-value: 4.213e-06

El valor de  $k_b$  corresponde a la pendiente de la función lineal ajustada, que introducimos en nuestro espacio

```
kb<-lmbasal$coefficient[1]
```

Recordamos que

$$k_u = \frac{k_b}{[F]_b}$$

*Ecuación 20.37*

por lo tanto el valor de  $k_u$  lo obtenemos con los valores hallados

```
> ku<-lmbasal$coefficient[1]/Fb
```

```
> ku
```

```

      t
5.175124e-07
```

Podemos resumir hasta acá los datos y parámetros hallados

Fb: 305 umol/L

t0= 82 min

Do= 2,58 umol

$k_b$ = 0.0001578413

$k_u$ = 0.0000005175124

Podemos graficar la función U utilizando nuestro parámetros y los datos experimentales definimos la función

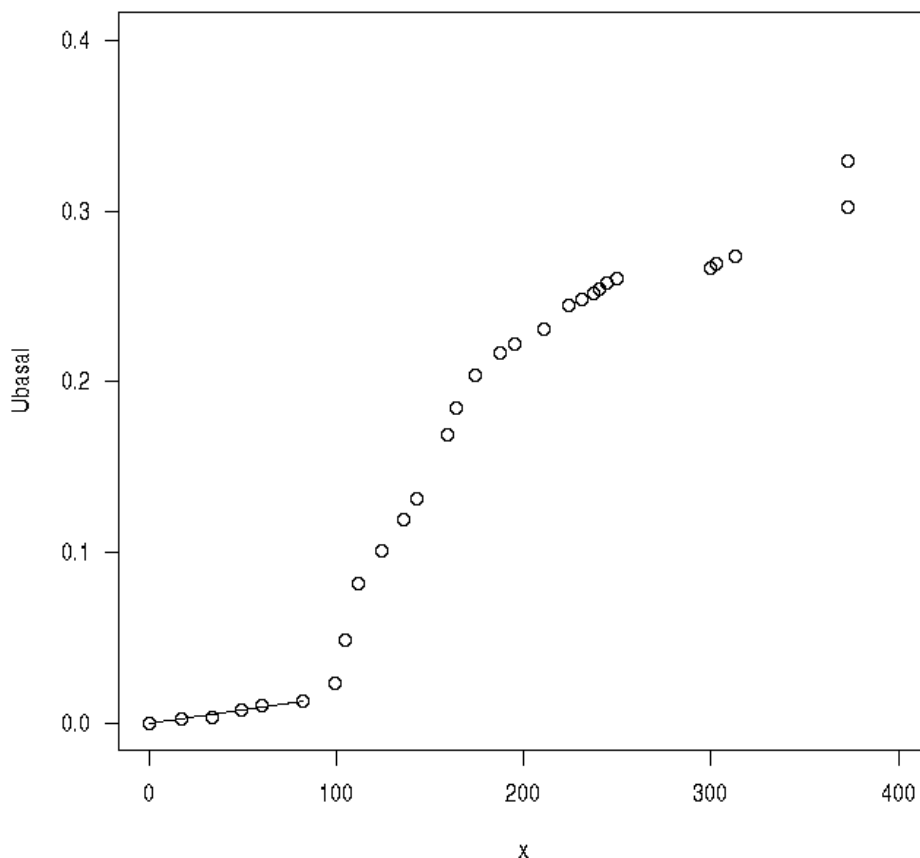
```
> Ubasal<-function(t){ku*Fb*t}
```

graficamos la misma

```
> plot(Ubasal,0,82,las=1,xlim=c(0,400),ylim=c(0,0.4))
```

y los puntos que solo serán mostrados hasta 82 min

```
> points(tablamm201$t,tablamm201$U)
```



La gráfica al igual que el valor de R-squared nos está mostrando un buen ajuste de los datos con el modelo plantado, antes de administrar la dosis  $D_0$ .

Cálculo de  $k_e$  y  $V_d$ .

Como se desarrolló anteriormente, la derivada de  $U$  a tiempo cero viene expresada por la siguiente función

$$U'_{(0)} = \frac{k_u D_0}{V_d} + k_b$$

Ecuación 20.38

La derivada primera de  $U$  en función del tiempo la podemos estimar por la pendiente de la recta que ajusta  $U$  vs  $t$ , a tiempos cercanos al momento de la inyección. Tomaremos el

intervalo de tiempo [82,105]min, que corresponde a las líneas 9:11 de la tablamm201

```
> lmdosis<-lm(U~t,data=tablamm201[c(6:8),])
```

```
> summary(lmdosis)
```

Call:

```
lm(formula = U ~ t, data = tablamm201[c(6:8), ])
```

Residuals:

```
      6      7      8
0.002531 -0.009703 0.007172
```

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-0.0987938	0.0700262	-1.411	0.393
t	0.0013366	0.0007307	1.829	0.319

Residual standard error: 0.01233 on 1 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.7699, Adjusted R-squared: 0.5398

F-statistic: 3.346 on 1 and 1 DF, p-value: 0.3185

La pendiente de esta recta es  $U'_{(t=0)} = 0,0013366$   
de la Ecuación 20.38 podemos obtener  $V_d$

$$V_d = \frac{ku * D_o}{U'_{(0)} - kb}$$

Ecuación 20.39

calculamos en R

```
> Vd<-ku*Do/(lmdosis$coefficient[2]-lmbasal$coefficient[1])
```

```
> Vd
```

```
      t
0.001132706
```

agregamos esta valor a la serie de datos y parámetros que venimos juntando

Fb: 305 umol/L

t0= 82 min

Do= 2,58 umol

kb= 0.0001578413

ku= 0.0000005175124

Vd= 0,001132709 L

Cálculo de ke

Para calcular  $k_e$  utilizamos la ecuación

$$U = \frac{k_u * D_o}{k_e} \left(1 - e^{-k_e * \frac{t}{V_d}}\right) + k_b * t$$

Ecuación 20.40

que modificaremos para que pueda ser utilizado directamente con los datos de la tablamm201

$$U = \frac{k_u * D_o}{k_e} * \left(1 - e^{\frac{-k_e}{V_d} * (t - t_0)}\right) + k_b * (t - t_0) + U_1$$

Ecuación 20.41

donde  $t_0$  es el tiempo en que se realiza la inyección y  $U_1$  la cantidad de fluoruro excretado hasta el momento de la inyección. El resto de los parámetros son conocidos y ya hemos introducidos esos valores. Asignaremos un valor inicial a  $k_e$ , el que sabemos al menos que tiene que ser mayor que  $k_u$ . Por lo que le asignaremos el valor 0,000001

Realizamos entonces un ajuste no lineal con la función `nls()`

```
> nlstablamm201<-nls(U~ku*Do/ke*(1-exp(-ke/Vd*(t-t0)))+kb*(t-t0)+U1,tablamm201[c(6:29),],start=c(ke=0.000001),trace=TRUE)
```

```
0.04610722 : 1e-06
```

```
0.0460768 : 9.213029e-07
```

```
0.0460766 : 9.275402e-07
```

```
0.0460766 : 9.270824e-07
```

```
0.0460766 : 9.271162e-07
```

Como podemos ver el ajuste ha convergido a un número, reduciendo al mínimo el error.

Pedimos un `summary()` del ajuste

```
> summary(nlstablamm201)
```

```
Formula: U ~ ku * Do/ke * (1 - exp(-ke/Vd * (t - t0))) + kb * (t - t0) + U1
```

Parameters:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
$k_e$	9.271e-07	6.078e-07	1.525	0.141

Residual standard error: 0.04476 on 23 degrees of freedom

Number of iterations to convergence: 4

Achieved convergence tolerance: 8.519e-07

Asignamos el valor al parámetro  $k_e$

```
> ke<-9.27e-07
```

Con el valor de  $k_e$  y  $k_u$  calculamos  $k_o^+$  utilizando la ecuación ya planteado

$$k_e = k_o^+ + k_u$$

*Ecuación 20.42*

Llamaremos en R a  $k_o^+$ , komas, para poder introducirla. Así obtenemos que

```
> komas=ke-ku
```

```
> komas
```

```

      t
4.094876e-07
```

Podemos ahora calcular el valor de  $F_o$  utilizando la Ecuación 20.2

```
> Fo=komas*Fb
```

```
> Fo
```

```

      t
0.0001248937
```

y aplicando la Ecuación 20.16, calculamos  $R_o$

```
> Ro=kb+Fo
```

```
> Ro
```

```

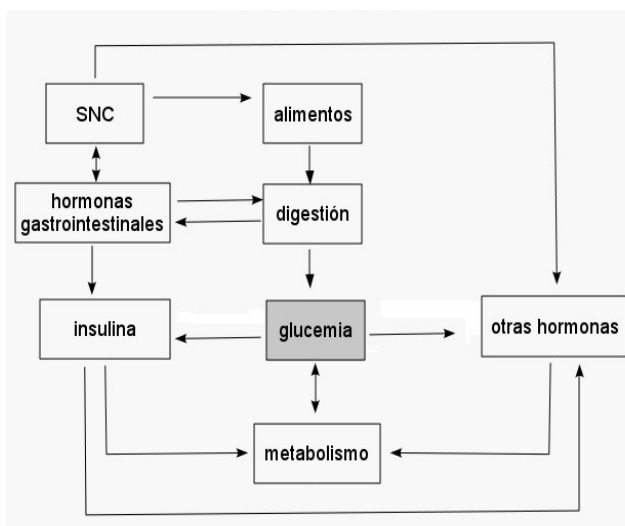
      t
0.000282735
```

## 21. Clase 21

### 21.1. Resolución de sistemas de ecuaciones diferenciales

Los sistemas de ecuaciones diferenciales son útiles para enfrentar problemas de las ciencias biomédicas donde tenemos muchas variables cuyos valores se modifican a lo largo del tiempo y se encuentran relacionados entre sí. En esta clase, para discutir el tema desarrollaremos un sistema para el estudio de la homeostasis de la glucosa, por lo cual haremos una breve descripción del proceso biológico.

La homeostasis de la glucosa es un complejo mecanismo que involucra factores endocrinos, autocrinos, paracrinos, nerviosos y metabólicos. La Figura 1 esquematiza algunos de los factores en juego en la homeostasis de la glucosa. El resultado de este proceso homeostático es la constancia de la glucemia o su variación dentro de límites muy estrechos, aun en estados de ingesta o privación de alimentos. En individuos sanos la glucemia se mantiene en un estrecho rango de variación que varía entre un máximo después de una comida y un mínimo después de realizar ejercicio físico o un período de ayuno. Numerosas hormonas participan en este control (insulina, glucagón, adrenalina, cortisol, hormona de crecimiento, incretinas).



En respuesta a un aumento de la glucemia se produce secreción de insulina en una primer fase a los pocos minutos de la ingesta de glucosa y una segunda fase, que es mas duradera. Este proceso depende tanto de la insulina almacenada como de la síntesis de insulina y se prolonga tanto tiempo como dure la hiperglucemia. La glucosa en plasma proviene de los alimentos o es el resultado de la degradación del glucógeno en hígado o de la producción

hepática o renal por gluconeogénesis. En los seres humanos, la glucosa plasmática puede ser removida debido a distintos procesos metabólicos: puede almacenarse inmediatamente en forma de glucógeno, degradarse en la glucólisis hasta piruvato o utilizarse en la vía de las pentosas.

Cuando la producción de insulina se ve disminuida o falla la respuesta de los tejidos a ésta, se generan entidades clínicas bien caracterizadas como son la diabetes mellitus tipo 1 (DMTI) y tipo 2 (DMTII). El tratamiento de la DMTI requiere habitualmente la administración de insulina, esta acción puede hacerse a través de inyecciones únicas o bien mediante la utilización de bombas de infusión. Estos dispositivos se programan de acuerdo a las actividades e ingesta de alimentos del paciente, obteniéndose buenos resultados. La implementación de un páncreas artificial constituye así una importante mejora en la terapéutica. Este dispositivo combina bombas de infusión de insulina, sensores subcutáneos continuos de glucosa y algoritmos de control que enlazan ambos mecanismos para que funcionen en forma simultánea y conjunta, con el objetivo de mantener la glucemia dentro del rango de valores normales. El desarrollo de esta tecnología requiere de la intervención de procesos de modelización matemática, que caractericen al sistema de una manera cuantitativa; y medidas de variables biológicas involucradas en el sistema homeostático. Un modelo matemático permite el diseño de controladores que sincronizan la información del sensor de glucosa y la bomba de infusión de insulina. Existen modelos matemáticos del sistema glucorregulatorio con finalidades diversas; por ejemplo: educacionales, para estimar la sensibilidad a la insulina, para el desarrollo de nuevos fármacos, entre otros. Si bien numerosas hormonas participan en el control de la glucemia, desde la práctica clínica frente a un cuadro de hiperglucemia se centra la atención en la insulina. Esto justifica el desarrollo de modelos del sistema glucosa-insulina pensados como un feedback con un controlador (el páncreas) y múltiples efectores (músculo, hígado, tejido adiposo) donde las variables de interés son la glucemia y la insulinemia. Bajo esta simplificación del sistema se han postulados numerosos modelos que podemos clasificar en 3 tipos: modelos de secreción de insulina, modelos del sistema glucosa insulina a corto plazo y modelos de diabetes a [72] largo plazo.

Dentro de los modelos de secreción de insulina encontramos modelos complejos que intentan representar el proceso desde un punto de vista subcelular modelando el tráfico vesicular dentro de las células beta y la respuesta de estas células a la glucosa (Bertuzzi [73], Pedersen [74], Pedersen y Sherman [75]); y otros que persiguen reproducir la oscilación

---

72. Palumbo P, Ditlevsen S, Bertuzzi A, De Gaetano A, Mathematical modeling of the glucose–insulin system: A review, *Mathematical Biosciences* 244: 69–81. 2013.

73. Bertuzzi A, Salinari S, Mingrone G, Insulin granule trafficking in b-cells: mathematical model of glucose-induced insulin secretion, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E396. 2007.

74. Pedersen MG, Corradin S, Toffolo GM, Cobelli C, A subcellular model of glucose-stimulated pancreatic insulin secretion, *Phil Trans R Soc A* 366: 3525. 2008.

75. Pedersen MG, Sherman A, Newcomer insulin secretory granules as a highly calcium-sensitive pool, *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 7432. 2009.

observada en los niveles de insulina plasmática (Sturis [76], Palumbo [77]). Este tipo de modelos aunque permiten una detallada descripción del proceso de secreción de insulina presentan alto número de parámetros de difícil estimación y se basan en variables de aun más difícil medición. Dentro de los modelos a largo plazo encontramos los modelos de Winter [78], Topp [79] y De Gaetano [80]. Estos modelos aunque de amplia utilidad, debido a que permitirían predecir progreso y evolución de la enfermedad, cuentan con pocos datos experimentales debido a dificultades económicas y éticas que impiden llevar a cabo experimentos a largo plazo; por lo cual, se basan principalmente en simulaciones y datos poblacionales. Los modelos a corto plazo representan la dinámica glucosa-insulina frente a una perturbación externa como: una inyección de glucosa exógena, una ingesta oral de glucosa o continuas de infusión de glucosa e insulina. Los modelos a corto plazo se basan principalmente en balances de masas donde se representa al sistema homeostático como compartimentos interconectados donde los materiales fluyen de uno a otro. Estos modelos permiten modelar la interacción glucosa-insulina por lo cual este tipo de modelos cobra relevancia en el desarrollo de mecanismos de control exógeno de la glucemia. Existen diferentes modelos matemáticos de este tipo. El modelo de Sorensen [81] pertenece a la clase de modelos compartimentales. Divide el organismo en compartimentos: el sistema nervioso central, el compartimiento de mezcla rápida representado por el espacio sanguíneo, la periferia (incluye el músculo esquelético y tejido adiposo), el intestino, el hígado y los riñones. El modelo fue desarrollado originalmente para representar a un sujeto sano, utilizando 22 ecuaciones diferenciales no lineales de las cuales 3 ecuaciones sirven para describir la secreción endógena de insulina. Los valores de los parámetros se derivan de la literatura y por lo tanto, solo representan un sujeto nominal promedio, con lo cual el modelo no puede representar la variabilidad intra e inter-paciente. El modelo de Fabietti [82]

76. Sturis J, Pugh WL, Tang J, Ostrega DM, Polonsky JS, Polonsky KS, Alterations in pulsatile insulin secretion in the Zucker diabetic fatty rat, *Am J Physiol* 267: E250.1994.
77. Palumbo P, De Gaetano A, An islet population model for the endocrine pancreas, *J Math Biol* 61 (2): 171. 2010.
78. de Winter W, DeJongh J, Post T, Ploeger B, Urquhart R, Moules I, Eckland D, Danhof M, A mechanism-based disease progression model for comparison of long-term effects of pioglitazone, metformin and gliclazide on disease processes underlying Type 2 Diabetes Mellitus, *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33: 313. 2006
79. Topp B, Promislow K, deVries G, Miura RM, Finegood DT, A model of betacell mass, insulin, and glucose kinetics: pathways to diabetes, *J Theor Biol* 206: 605. 2000.
80. De Gaetano A, Hardy T, Beck B, Abu-Raddad E, Palumbo P, Bue-Valleskey J, Prksen N, Mathematical models of diabetes progression, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295 (6): E1462. 2008.
81. Sorensen JT. A physiologic model of glucose metabolism in man and its use to design and assess improved insulin therapies for diabetes. PhD thesis. Massachusetts Institute of Technology. 1985.
82. Fabietti PG, Canonico V, Federici MO, Benedetti MM, Sarti E, Control oriented model of insulin and glucose dynamics in type 1 diabetics, *Med Biol Eng Comput* 44: 69-78. 2006.

es un modelo de la dinámica de la glucosa-insulina específicamente concebido para facilitar el diseño y evaluación de algoritmos de control en lazo cerrado. El modelo se basa en una versión modificada del modelo mínimo de Bergman [83]. La secreción de insulina endógena ha sido sustituida por la infusión exógena de insulina por vía subcutánea y la cinética de la glucosa está representada por dos compartimentos. Las otras entradas externas del modelo, tales como las comidas y la administración de glucosa, se han representado conjuntamente con un submodelo de absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal. Cuatro de los 14 parámetros del modelo se estiman a partir de datos clínicos. Los parámetros restantes se obtienen a partir del ajuste del modelo con datos publicados en la literatura. El modelo de Hovorka [84] se compone de 9 ecuaciones diferenciales ordinarias y 15 parámetros libres. La variabilidad inter-paciente es representada por una población de 18 sujetos virtuales con DMTI. Los parámetros del modelo se obtuvieron a partir de estudios clínicos en pacientes con DMTI o de distribuciones de probabilidad poblacionales. La variabilidad intra-paciente se llevó a cabo mediante la superposición de oscilaciones sinusoidales en un subconjunto de parámetros del modelo. El Simulador Uva [85] fue obtenido a partir de una base de datos de 204 sujetos sanos que participaron en un protocolo con trazadores de glucosa marcada isotópicamente. La utilización de dichos trazadores permitió medir los distintos flujos de glucosa e insulina después de la ingesta de una comida mixta. Posteriormente, el modelo se adaptó a la población diabética a partir de datos de la literatura. En total el modelo tiene 13 ecuaciones diferenciales ordinarias y 26 parámetros libres.

La principal desventaja de estos modelos radica en el gran número de parámetros y los complejos estudios metabólicos que se deben realizar para conocerlos, que obliga a trabajar con valores promedios de muchos de ellos. Esto impide representar adecuadamente la variabilidad inter e intra-paciente y reduce la validez de los resultados obtenidos y con ello la aplicabilidad a los modelos. Además, la mayoría de ellos han sido desarrollados para humanos y los intentos de obtener todos los parámetros para ratas han sido infructuosos [86]. Por otro lado, no se hallaron metodologías que permitan estudiar in vivo de manera mini-invasiva los flujos de insulina y glucosa.

En este capítulo se desarrollará un modelo matemático para el estudio de la homeostasis glucosa-insulina, la estimación y optimización de sus parámetros y algunos experimentos

---

83. Bergman RN. The minimal model of glucose regulation: a biography, *Adv Exp Med Biol* 537:1-19. 2003.

84. Hovorka R, Canonico V, Chassin LJ, Haueter U, Massi-Benedetti M, Federici MO, Pieber TR, Schaller HC, Schaupp L, Vering T, Wilinska ME, Nonlinear model predictive control of glucose concentration in subjects with type 1 diabetes, *Physiol Meas* 25 (4): 905-20. 2004.

85. Kovatchev BP, Breton M, Dalla Man C, Cobelli C, In Silico Preclinical Trials: A Proof of Concept in Closed-Loop Control of Type 1 Diabetes, *J Diabetes Sci Technol* 3: 44-55. 2009.

86. Campetelli G, Lupo M, Fina BL, Zumoffen D, Basualdo M, Rigalli A, Computational model for studying the analogies between endocrine systems of humans and rats with diabetes mellitus, Experimental and simulated results. Symposium on Computer Applications in Biotechnology. Leuven, Belgica.

de validación del modelo.

### 21.1.1. Descripción del modelo

El modelo que se describirá a continuación se fundamenta en que la glucemia es mantenida dentro de un rango normal gracias a la participación de la insulina y la acción de órganos en forma dependiente de insulina (hígado, tejido adiposo, y músculo) e independiente de la acción de esta hormona (sistema nervioso), ver Figura 21.2. En el planteo del sistema no se han considerado otras hormonas o procesos, además de los mencionados, con el objetivo de alcanzar un equilibrio entre la representatividad y la aplicabilidad del modelo. En la Figura 21.2 se muestra un esquema representativo del modelo biológico y los procesos considerados en el planteo del modelo matemático.

El modelo propuesto (Ecuación 21.1) está constituido por 3 ecuaciones diferenciales. La primera de ellas representa la velocidad de cambio de la insulina plasmática. En este caso se consideró el aporte pancreático de insulina y su desaparición del plasma debido a su acción en los tejidos blanco. La segunda ecuación diferencial, plantea la variación de la concentración de glucosa plasmática considerando como factores perturbadores a la ingesta de glucosa a través de la dieta, el consumo de glucosa por parte de los tejidos en forma dependiente e independiente de insulina

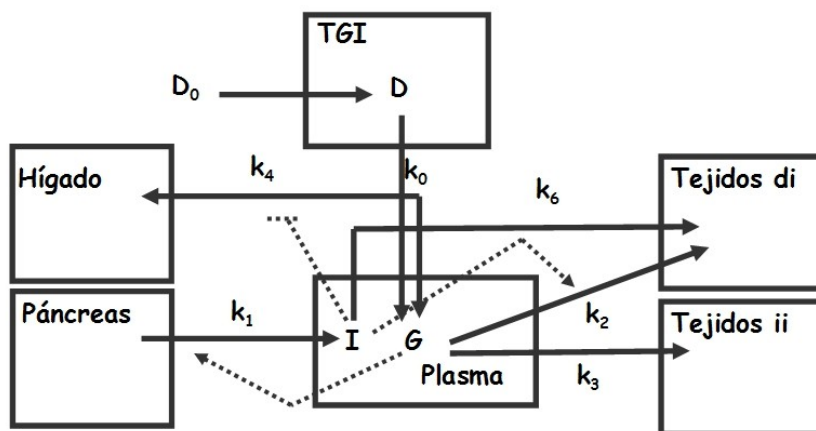


Figura 21.2. Sistema glucosa-insulina. Las líneas continuas representan flujo de glucosa o insulina y las líneas de puntos efecto estimulador (punta de flecha) o inhibitorio (punta roma).  $G$ : concentración de glucosa plasmática (mg/dl),  $I$ : concentración de insulina plasmática (pmol/l),  $D_0$ : cantidad de glucosa ingerida a través de la dieta (mg),  $k_0$ : constante de incorporación de glucosa en plasma desde el tracto gastrointestinal ( $dl^{-1} \text{ min}^{-1}$ ),  $k_1$ : constante de velocidad de producción de insulina pancreática (pmol.dl/mg.min),  $k_2$ : constante de velocidad de consumo de glucosa en los tejidos dependiente de insulina (mg.l/dl.min.pmol),  $k_3$ : constante de velocidad de consumo de glucosa en los tejidos independiente de insulina (mg/min.dl),  $k_4$ : constante de toma (para glucogenogénesis) o liberación de glucosa (por glucogenolisis y/o gluconeogénesis) por el hígado (mg.l/dl.min.pmol),  $k_6$ : constante de depuración de insulina plasmática ( $\text{min}^{-1}$ ). Las unidades de cada parámetro surgen del análisis de las dimensiones en función de las ecuaciones diferenciales planteadas a continuación.

y el manejo hepático de este monosacárido. La tercer ecuación diferencial representa la variación de la cantidad de glucosa en el aparato digestivo, siendo la única fuente de variación incluida el proceso de absorción de la glucosa [<sup>87</sup>].

87. Lombarte M, Lupo M, Campetelli G, Basualdo M, Rigalli A. Mathematical model of glucose-insulin homeostasis in healthy rats. *Math Biosci* 2013; 13: 181-188. 2013.

$$\frac{dI}{dt} = k_1 * G - k_6 * I$$

$$\frac{dG}{dt} = -k_4 * (I - I_{pi}) - k_3 - k_2 * I + k_0 * D$$

$$\frac{dD}{dt} = -k_a * D$$

*Ecuación 21.1*

En el sistema  $k_a$ ,  $k_0$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  y  $k_6$  representan constante de velocidad de procesos involucrados en cambios de la concentración plasmática de glucosa (G) o de insulina (I). G e I son funciones dependientes del tiempo cuyas derivadas ( $dI/dt$  y  $dG/dt$ ) representan la variación de la glucemia e insulinemia en el tiempo y D la cantidad de glucosa en el tracto gastrointestinal, que es también es una función del tiempo.  $I_{pi}$  es un parámetro del modelo relacionado con el funcionamiento hepático respecto del metabolismo glucídico. Los términos con signo negativo corresponden a procesos que producen una disminución en la concentración de glucosa en plasma o intestino y de insulina plasmática; y los términos con signo positivo a aquellos procesos que aumentan la concentración plasmática de las sustancias en estudio.

En la ecuación que representa la variación de la concentración de insulina plasmática, el término  $k_1 * G$  representa la secreción pancreática de insulina, la cual está regulada por la cantidad de glucosa en plasma, y el término  $-k_6 * I$  refleja la desaparición del plasma de la insulina debido a su acción en los tejidos blanco. En la ecuación que representa la variación de la concentración de glucosa plasmática, el término  $-k_4 * (I - I_{pi})$  representa el consumo o producción hepático de la glucosa, siendo un término positivo cuando la insulina es baja (menor que  $I_{pi}$ ) indicando el aporte de glucosa al plasma debido a la glucogenolisis y gluconeogénesis. Contrariamente, este término es negativo cuando la concentración de insulina es mayor que  $I_{pi}$ , indicando el ingreso de glucosa al hígado para glucogenogénesis y/o glucólisis. El parámetro  $I_{pi}$  es un valor de insulina plasmática en el cual el hígado cambia su comportamiento de productor a consumidor de glucosa y viceversa. El término  $-k_3$  representa el consumo de glucosa independiente de insulina,  $-k_2 * I$  el consumo de glucosa en tejidos en forma dependiente de insulina y  $k_0 * D$  la glucosa incorporada a partir del sistema digestivo.

Los parámetros ( $k_1$  a  $k_6$ , e  $I_{pi}$ ) del sistema son valores que representan el comportamiento intrínseco de cada uno de los factores que influyen sobre la homeostasis del sistema glucosa-insulina. Dichos valores serán influenciados por factores que afecten a cada uno de los procesos del sistema homeostático, por lo tanto conocer dichos valores es de capital importancia. A continuación se muestran los procedimientos matemáticos para la estimación de los parámetros y luego la estimación de los parámetros en ratas normales.

### 21.1.2. Estimación de parámetros en ratas sanas

El proceso de estimación se realiza con los datos de glucemia e insulinemia de cada animal. A modo de ejemplo veremos el proceso sobre una de las ratas Sprague Dawley utilizadas en el trabajo. Se emplearon en total 11 hembras sanas adultas de peso corporal  $346.6 \pm 20.4$  g. Cada animal recibe al inicio del experimento una dosis oral de glucosa,  $D_0$ .

Utilizaremos los valores de insulinemia y glucemia halladas durante 6h de medición. Para ello introduzca en su espacio de trabajo la tablamm211 de la planilla de cálculo tablamm21.xls/ods

```
> tablamm211<-read.table('clipboard',header=TRUE,dec='.',sep='\t',encoding='latin1')
> tablamm211
```

```
  t  G  I
1  0 105.2 71.33
2  5 126.8 111.03
3 10 141.8 132.30
4 15 157.3 152.01
5 30 271.0 261.79
6 60 244.6 156.65
7 90 200.0 119.20
8 120 148.2 97.91
9 180 129.8 82.66
10 240 120.0 80.10
11 300 103.2 72.00
12 360 94.9 53.69
```

```
> summary(tablamm211)
```

```
      t           G           I
Min. : 0.00   Min. :94.9   Min. : 53.69
1st Qu.: 13.75 1st Qu.:116.3 1st Qu.: 78.08
Median : 75.00 Median :135.8 Median :104.47
Mean   :117.50 Mean   :153.6 Mean   :115.89
3rd Qu.:195.00 3rd Qu.:168.0 3rd Qu.:137.23
Max.   :360.00 Max.   :271.0 Max.   :261.79
```

Graficamos los valores para los valores de glucemia e insulinemia luego de la PTGO en el animal en estudio. Realizaremos ambos gráficos a través de un sistema de gráficos múltiples. R nos permite modificar algunos parámetros gráficos para poder hacerlo. Para ello cambiaremos el parámetro mfrow, el que tomará el valor c(1,2). El primer numero indica las filas y el segundo la cantidad de columnas, es decir que haremos los dos gráficos en una línea con dos columnas.

```
> par(mfrow=c(1,2))
```

graficamos los valores de G

```
> plot(tablamm211$t,tablamm211$G,xlab='tiempo,min',ylab='glucemia,
```

```
mg/dl',pch=19,las=1)
```

y los de I

```
> plot(tablamm211$t,tablamm211$I,xlab='tiempo,min',ylab='insulinemia,
pmol/l',pch=19,las=1)
```

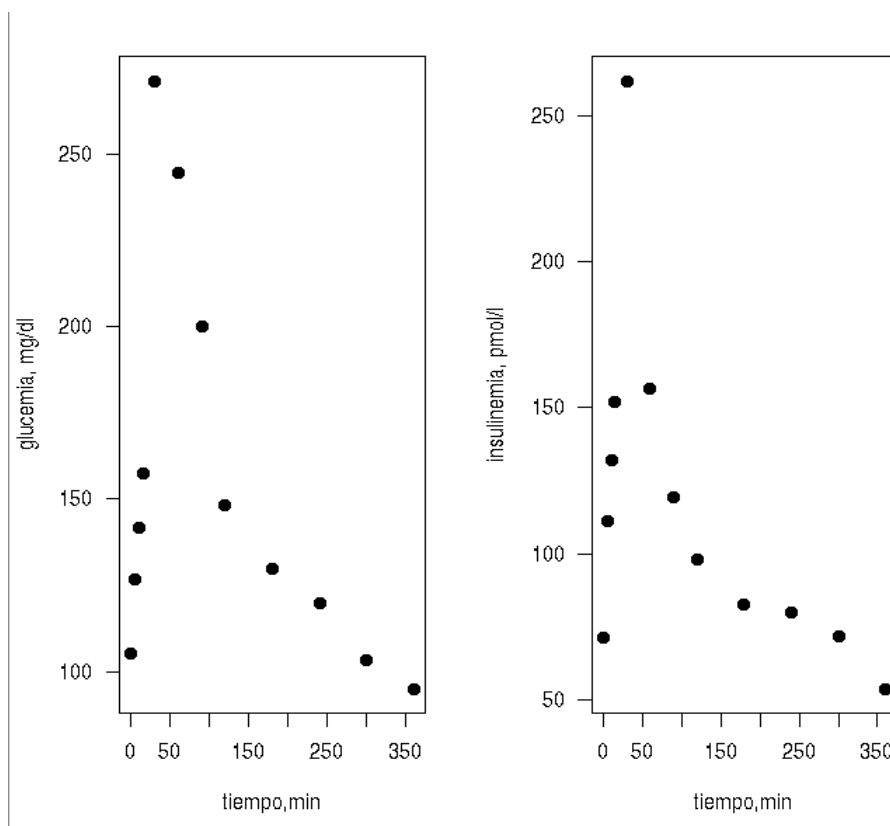


Figura 21.3. A la izquierda curva de glucemia y a la derecha de insulinemia obtenida luego de la PTGO.

Para la estimación de parámetros se utilizaron una serie de aproximaciones y supuestos que permiten ajustar distintas funciones en distintas regiones de la curva de glucemia e insulinemia en función del tiempo. Con este fin se emplearon herramientas convencionales del análisis matemático.

Antes de comenzar la estimación de los parámetros y desarrollar el mecanismo para hacerlo introduciremos algunos datos de la tablamm211

Introducimos el valor del tiempo al cual se produce el máximo de la glucemia en la `tablamm211`, al que llamamos `tMg`

```
tMg<-30
```

introducimos el valor máximo de glucosa de la `tablamm211`, correspondiente al tiempo `tMg`, al que llamamos `GMg`

```
GMg<-271
```

Introducimos el tiempo para el menor valor de glucemia de la `tablamm211`, al que llamamos `tmg`

```
tmg<-360
```

introducimos el valor de la dosis oral en mg, `Do`

```
Do<-1500
```

introducimos el valor del tiempo al que se produce el máximo en la insulinemia al que llamamos `tMi`

```
tMi<-30
```

Introducimos el valor del máximo valor de insulinemia, al que llamamos `IMi`

```
IMi<-261.79
```

Introducimos la glucemia y la insulinemia en ayuno, que corresponde a la primer fila de la `tablamm211`

```
Ga<-tablamm211[1,2]
```

```
Ia<-tablamm211[1,3]
```

### 21.1.3. Estimación de $k_a$

En la Figura 21.4 se representa nuevamente el modelo indicando la parte del mismo que se analizará y utilizará para estimar el valor de  $k_a$ .

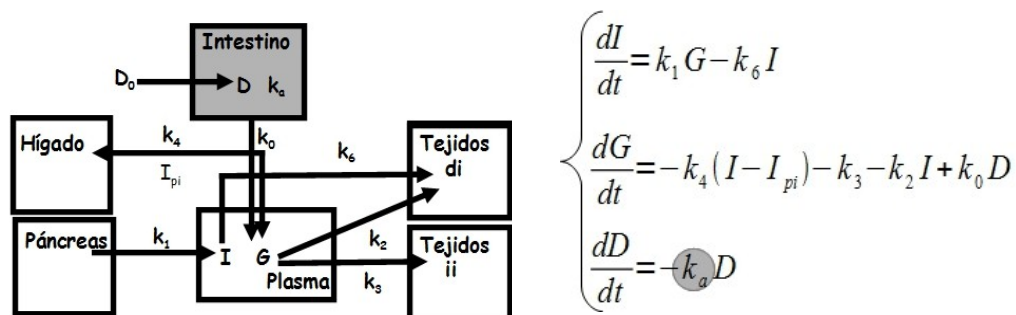


Figura 21.4. Se muestra resaltado en gris el compartimiento investigado a la izquierda y la derecha el parámetro cuyo proceso de estimación se describe a continuación.

El parámetro  $k_a$  puede ser estimado aplicando el método de los residuales. Este método fue explicado en detalle en el capítulo 19 y en éste se realizará su aplicación. Dicho método consiste en considerar que luego del máximo de glucemia los procesos que incorporan glucosa al plasma a partir del TGI son despreciables respecto a los que la consumen. En esa situación la variación de la glucemia en función del tiempo se puede representar con

$$\frac{dG}{dt} = -k_e G$$

La constante  $k_e$  estaría representando la eliminación de glucosa por tejidos dependientes e independientes, cuyas constantes de velocidad son  $k_2$ ,  $k_3$  y  $k_4$ . En esta ecuación estamos suponiendo que el orden del proceso de eliminación de  $G$  es de primer orden respecto de dicha concentración. Esta ecuación diferencial se puede resolver obteniéndose

$$G = G_0 e^{-k_e t}$$

$G_0$  es el valor de glucemia a tiempo cero si solo existiera eliminación. Este valor es teórico ya que a tiempo cero existirá tanto absorción como eliminación. Si ajustamos esta función a los datos de glucemia para tiempos mayor al máximo de glucosa, podemos obtener el valor  $k_e$ .

Calculo con R

Trabajando con la tablamm211, comprobamos que el máximo de la glucemia se produce a  $t=30$  min y consideraremos los datos para  $t>30$ , que corresponde a la variable introducida  $tMg$ . Por simplicidad separamos estos datos en un subset, creando la tabla1

```
tabla1<-data.frame(subset(tablamm211,t>=tMg,select=c(t,G)))
```

comprobamos los valores en tabla1

```
> tabla1
  t  G
5 30 271.0
6 60 244.6
7 90 200.0
8 120 148.2
9 180 129.8
10 240 86.3
11 300 103.2
12 360 94.9
```

Debemos darle al proceso de ajuste valores iniciales a nuestros parámetros:  $G_o$  y  $k_e$ .  $G_a$  tomaremos el valor 400, que surge de observar los datos. Si a 30 min tenemos 271 para el valor de G, podemos utilizar como valor inicial 400. Bien podría ser otro, siempre y cuando sea mayor que 271. Para  $k_e$  haremos un sencillo cálculo. Como el decrecimiento de la concentración de G es de orden 1, el tiempo de vida media para estos procesos es

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$

De la observacion de la tabla1 surge que aproximadamente en 90 min la concentración baja a la mitad (30 min – 271 / 120 min – 148.2). Reemplazando 90 min en la ecuación nos arroja una  $k_e$  de 0.0077 min<sup>-1</sup>

```
> fit1<-nls(G~Go*exp(-ke*t),tabla1,star=c(Go=400,ke=0.0077),trace=TRUE)
```

```
15377.05 : 4.0e+02      7.7e-03
2739.849 : 2.746490e+02 3.589289e-03
2477.559 : 2.882623e+02 3.784507e-03
2476.974 : 288.93969602 0.00380135
2476.969 : 2.889915e+02 3.803113e-03
2476.969 : 2.889969e+02 3.803297e-03
2476.969 : 2.889974e+02 3.803316e-03
```

La primer columna nos da el error. La segunda nos da el valor de  $G_o$  estimado por este proceso cuyo valor es redondeando y eliminando expresión exponencial:  $G_o=288$ . Por otra parte, la tercer columna nos da los valores de  $k_e$ . El último valor es el valor estimado por el proceso de ajuste

$k_e= 0,0038$ .

Ahora construimos un objeto que llamamos tabla2 que contendrá los valores de la glucemia para  $t < tMg$

```
> tabla2<-data.frame(subset(tablamm211,t<tMg,select=c(t,G)))
```

```
> tabla2
  t  G
1 0 105.2
2 5 126.8
3 10 141.8
4 15 157.3
```

Con los parámetros  $G_0 = 288$  y  $k_e = 0.0038$ , obtenemos los valores para  $G$  en el intervalo  $t$   $[0-15]$  y lo agregamos a la tabla2, a lo que llamamos  $Gr$

```
> tabla2<-cbind(tabla2,Gr=Go*exp(-ke*tabla2$t))
> tabla2
  t    G    Gr
1 0 105.2 288.0000
2 5 126.8 282.5797
3 10 141.8 277.2613
4 15 157.3 272.0431
```

obtenemos por diferencia entre  $Gr$  y  $G$ , la glucosa en aparato digestivo

```
> tabla2<-cbind(tabla2,Ga=tabla2$Gr-tabla2$G)
> tabla2
  t    G    Gr    Ga
1 0 105.2 288.0000 182.8000
2 5 126.8 282.5797 155.7797
3 10 141.8 277.2613 135.4613
4 15 157.3 272.0431 114.7431
```

finalmente hallamos la regresión lineal de  $G_a$  en función de  $t$ , cuya pendiente sera el valor estimado de  $k_a$

```
> fit2<-lm(log(Ga)~t,data=tabla2)
> fit2$coef
```

```
(Intercept)      t
5.20758137 -0.03073695
```

asignamos así a  $k_a$  el valor hallado

```
> ka<-fit2$coefficients[2]
> ka
```

```
      t
-0.03073695
```

Graficaremos el desarrollo anterior. Creamos una función de ajuste de la glucemia solo en

presencia de mecanismos de excreción, cuyos parámetros son obtenidos con el ajuste fit1, llamamos a esta función Gexcrecion. Recuerde que fit1 se realizó con los logaritmos de los valores de G, por lo que para la función, que será exponencial, el coefficient[1] debe ser modificado

```
> Gexcrecion<-function(t){coef(fit1)[1]*exp(-coef(fit1)[2]*t)}
```

definimos una función para la glucosa residual, a la que llamamos Gresidual, cuyo parámetros son los correspondientes al ajuste fit2. Recuerde que fit2 se realizó con los logaritmos de los valores de G, por lo que para la función, que será exponencial, el coefficient[1] debe ser modificado

```
> Gresidual<-function(t){exp(fit2$coefficients[1])*exp(fit2$coefficients[2]*t)}
```

realizamos un gráfico vacío para colocar luego los elementos gráficos correspondientes

```
> plot(0,0,ty='n',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400),ylab='glucosa, mg/dl',xlab='tiempo, min')
```

colocamos los valores experimentales de G, de la tablamm211

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$G,pch=19)
```

creamos un vector de tiempo para graficar los datos de G solo en presencia de excreción, al que llamamos

```
> texcrecion<-seq(0,360,1)
```

generamos un vector con los valores de G solo en presencia de excreción, con la función Gexcrecion, al que llamamos gexcrecion

```
> gexcrecion<-Gexcrecion(texcrecion)
```

graficamos en formato de línea los datos de ajuste de G con la función Gexcrecion

```
> lines(spline(texcrecion,gexcrecion))
```

Colocamos los puntos correspondientes a la glucemia residual (Gr) de la tabla2, que surgieron de restar para cada tiempo los valores de gexcreción menos los valor de G

```
> points(tabla2$t,tabla2$Gr,pch=0)
```

generamos un vector de tiempo (al que llamamos tresidual) con los tiempos para graficar la función de ajuste Gresidual, a los valores de Gr

```
> tresidual<-seq(0,30,1)
```

generamos un vector con valores calculados de la glucosa residual (gresidual) con la función Gresidual

```
> gresidual<-Gresidual(tresidual)
```

graficamos la línea generada con la función Gresidual, en línea de puntos

```
> lines(spline(tresidual,gresidual),lty=2)
```

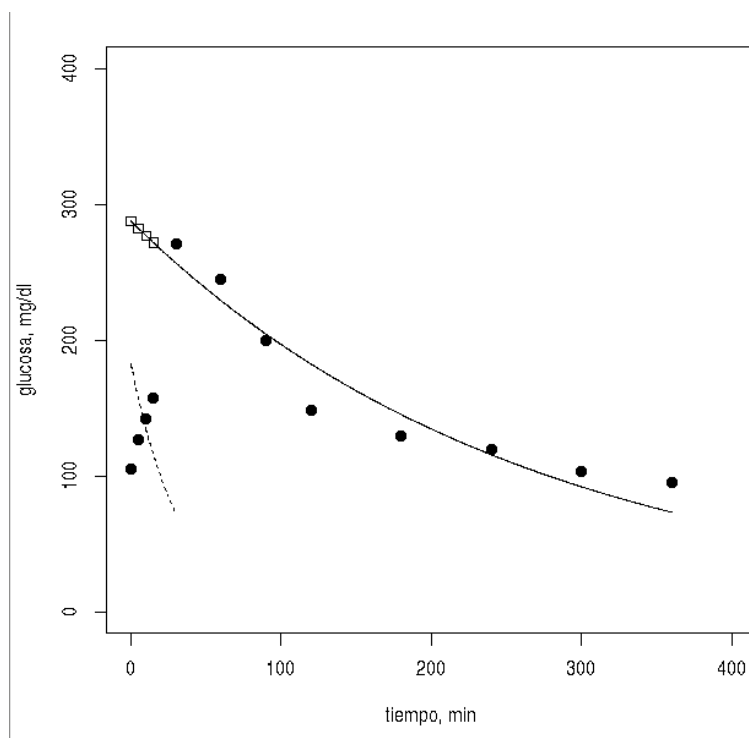


Figura 21.5. Los puntos negros representan los valores experimentales. La línea curva continua la función de ajuste de los valores de glucosa considerando solo el proceso de excreción. Los cuadrados representan los valores de glucosa residual y la línea de puntos el ajuste de dichos valores con la función obtenida para la glucosa residual.

#### 21.1.3.1.

#### 21.1.4. Estimación de $k_0$

En un animal en ayuno que ingiere una dada cantidad de glucosa ( $D_0$ ), durante un breve periodo de tiempo posterior a la ingesta de glucosa, los procesos que remueven glucosa del plasma pueden considerarse despreciables respecto al ingreso de glucosa al plasma. Por esta razón se pueden considerar despreciables los términos que incluyen a  $k_2$ ,  $k_3$  y  $k_4$ .

Este supuesto es sustentado por el notable incremento en la concentración de glucosa plasmática que se produce luego de la ingestión de dicha sustancia. De acuerdo a esta simplificación, la ecuación que representa la variación de glucosa plasmática en el intervalo de tiempo mencionado

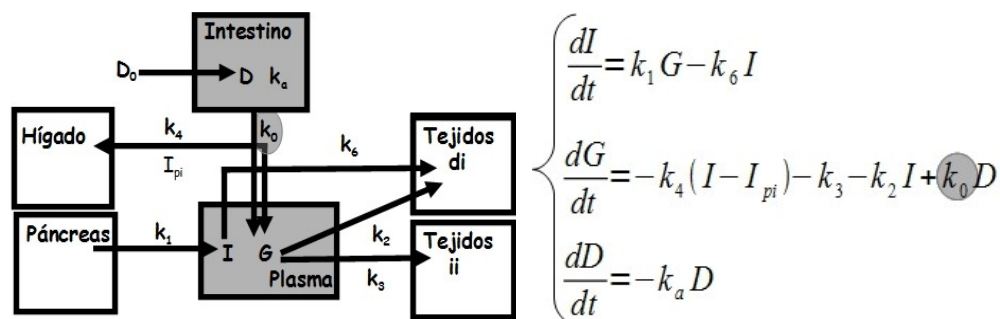


Figura 21.1.3.1.1. Se muestra resaltado en gris los compartimentos involucrados y el parámetro cuyo proceso de estimación se describe a continuación.

$$\frac{dG}{dt} = k_0 D - k_2 I - k_3 - k_4 (I - I_{pi})$$

se reduce a

$$\frac{dG}{dt} = k_0 D$$

Reemplazando D por la función que representa el contenido de glucosa en el sistema digestivo

$$D = D_0 e^{-k_a t}$$

resulta

$$\frac{dG}{dt} = k_0 D_0 e^{-k_a t}$$

La resolución de esta ecuación diferencial permite obtener una ecuación que representa la concentración de glucosa plasmática en función del tiempo para tiempos cercanos a la administración de glucosa

$$G = G_a + \frac{k_0 D_0}{k_a} (1 - e^{-k_a t})$$

Empleando esta ecuación para ajustar los valores de glucemia medidos entre 0 y 15min luego de la administración de glucosa se obtiene  $k_0$ , ya que:  $k_a$  es un valor obtenido como se indicó anteriormente por el método de los residuales.  $G_a$  la glucemia de ayuno (medida al comienzo del experimento,  $t=0$ ) y  $D_0$  es la cantidad de glucosa administrada por vía oral, que también es un valor conocido.

Cálculo de  $k_0$  con R

Ya tenemos introducidos los valores:  $D_0$ ,  $k_a$  y  $G_a$ , cosa que comprobamos

```
> Do
```

```
[1] 1500
```

```
> ka
```

```
X
```

```
0.03073695
```

```
> Ga
```

```
[1] 105.2
```

creamos para simplicidad una tabla con los valores experimentales de tiempo y G a partir de la `tablamm211`, a la que llamamos `tabla3`

```
tabla3<-data.frame(subset(tablamm211,t<=15,select=c(t,G)))
```

realizamos un ajuste no lineal de los datos de G en función t de la `tabla3`. Para ello utilizamos la función `nls()` y como parámetros de la función colocamos a `k0`. Los valores `Ga`, `Do` y `ka` son constantes de la función ya que sus valores son fijos y conocidos para el animal en estudio. Asignamos a `k0` un valor inicial en de 0.01 en el argumento `start`.

```
> ajustek0<-nls(G~Ga+((k0*Do)/ka)*(1-exp(-ka*t)),data=tabla3,start=list(k0=0.01),trace=T)
```

```
27285.42 : 0.01
```

```
2.792235 : 0.002892315
```

asignamos el valor del parámetro hallado a `k0`

```
> k0<-coef(ajustek0)
```

podemos graficar la función de ajuste con este valor de `k0`

generamos un vector de tiempo hasta 15 minutos que llamaremos `tabsorcion`

```
> tabsorcion<-seq(0,15,0.1)
```

creamos la función de ajuste para el período de solo absorción, que utilizamos para el ajuste

```
> Gabsorcion<-function(t){Ga+((k0*Do)/ka)*(1-exp(-ka*t))}
```

generamos un vector (al que llamamos `gabsorcion`) con los valores de G para el intervalo de tiempo `[0,15]` utilizando `Gabsorcion`

```
> gabsorcion<-Gabsorcion(tabsorcion)
```

creamos una gráfica para representar valores experimentales

```
> plot(0,0,ty='n',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400),ylab='glucosa, mg/dl',xlab='tiempo, min')
```

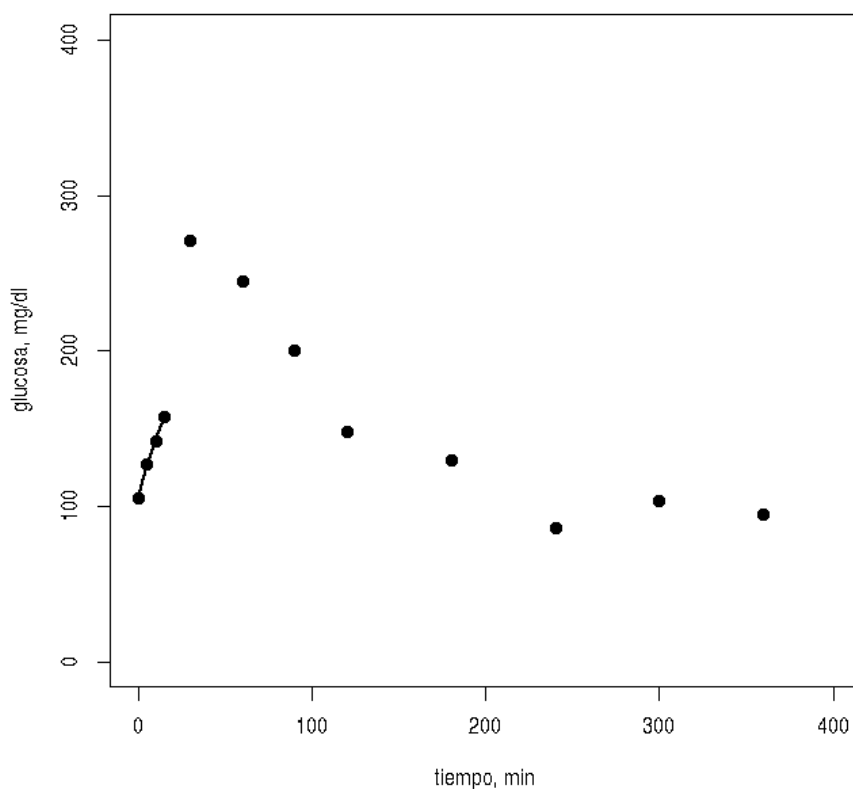
colocamos los valores experimentales

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$G,pch=19)
```

colocamos la línea de ajuste para los valores experimentales en el tiempo de predominio de la absorción

```
> lines(spline(tabsorcion,gabsorcion),lty=1,lwd=2)
```

obtenemos la siguiente gráfica



*Figura 21.1.3.1.2. Los puntos representan los valores experimentales de glucosa y la línea la función de ajuste con la ecuación desarrollada suponiendo a tiempos cercanos a 0 un dominio del proceso de absorción por sobre los de eliminación de glucosa del plasma.*

### 21.1.5. Estimación de $k_1$

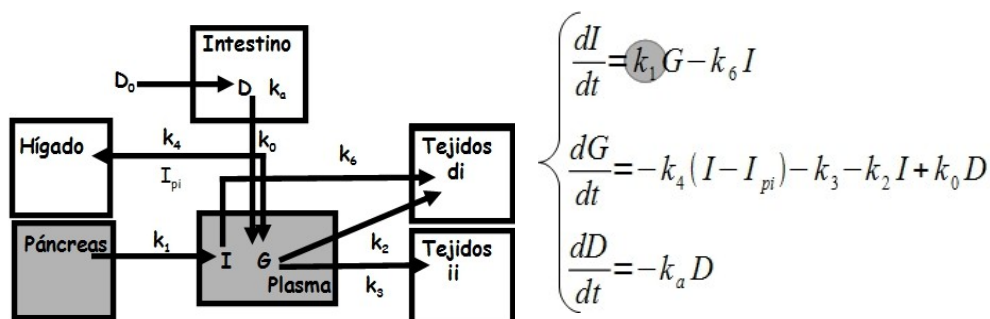


Figura 21.1.3.1.3. Modelo desarrollado para la rata sana. Se muestra resaltado en gris el parámetro cuyo proceso de estimación se describe a continuación.

Cuando se administra una cantidad de glucosa ( $D_0$ ) se estimula la secreción de insulina, fenómeno que queda reflejado por un rápido aumento en la concentración plasmática de dicha hormona. Considerando este aumento en la concentración de insulina a tiempos próximos a la administración de glucosa mucho mayor que la desaparición de la insulina del plasma, se formula el supuesto que el proceso de depuración de insulina es despreciable respecto a la secreción. Este supuesto es avalado por el rápido incremento que sufre la insulinemia luego de una dosis de glucosa. Por lo tanto, la ecuación

$$\frac{dI}{dt} = k_1 G - k_6 I$$

se puede simplificar de manera que se obtiene

$$\frac{dI}{dt} = k_1 G$$

Como se expuso anteriormente, la ecuación

$$G = G_a + \frac{k_0 D_0}{k_a} (1 - e^{-k_a t})$$

representa la variación de la concentración de glucosa en un intervalo de tiempo igual al considerado en la simplificación de la ecuación de la variación de la concentración de insulina. Por lo cual el valor de  $G$  puede ser reemplazada en la ecuación de  $dI/dt$

$$\frac{dI}{dt} = k_1 * \left[ G_a + \frac{k_0 D_0}{k_a} (1 - e^{-k_a t}) \right]$$

y resolviendo esta ecuación se obtiene una ecuación que da el valor de la insulinemia en función del tiempo, para tiempos cercanos a la administración de glucosa durante una PTGO.

$$I = I_a + k_1 G_a t + \frac{k_1 k_0 D_0}{k_a} t + \frac{k_1 k_0 D_0}{k_a^2} (e^{-k_a t} - 1)$$

que podemos escribir

$$I = I_a + \left(G_a + \frac{k_0 * D_0}{k_a}\right) * k_1 * t + \frac{k_1 * k_0 * D_0}{k_a^2} * (e^{-k_a t} - 1)$$

Ajustando esta función a los valores de insulinemia obtenidos a tiempos cercanos al momento de la administración de glucosa (0, 5, 10 y 15min) se puede obtener  $k_1$ .

Resolución con R

En primer lugar creamos una tabla con los valores de I para los tiempos indicados. Se debe tener en cuenta que los tiempos elegidos pueden variar de un individuo a otro, dependiendo del tiempo en que se produzca el máximo de insulina.

```
> tabla4<-data.frame(subset(tablamm211,t<=15,select=c(t,I)))
```

```
> tabla4
```

```
  t  I
1 0 71.33
2 5 111.03
3 10 132.30
4 15 152.01
```

luego realizamos el ajuste no lineal de los valores I en función t con la ecuación descripta. Donde  $I_a$  es la insulinemia de ayuno,  $k_0$  y  $k_a$  son los valores estimados anteriormente,  $D_0$  la dosis de glucosa y  $G_a$  la glucemia de ayuno

```
> ajustek1<-nls(I~Ia+(((k0*Do)/ka)+Ga)*k1*t+((k0*Do*k1)/ka^2)*(exp(-ka*t)-1),data=tabla4,start=list(k1=0.01),trace=T)
```

```
7185.158 : 0.01
```

```
293.3256 : 0.04421316
```

```
> k1<-0.04421316
```

creamos un gráfico de insulinemia vacío

```
> plot(0,0,ty='n',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400),ylab='insulina,pmol/l',xlab='tiempo, min',las=1)
```

colocamos los puntos experimentales de la insulinemia

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$I,pch=1,cex=1)
```

creamos una función para la secreción de insulina con la ecuación ajustada a las condiciones

```
> Isecrecion<-function(t){Ia+(((k0*D0)/ka)+Ga)*k1*t+((k0*D0*k1)/ka^2)*(exp(-ka*t)-1)}
```

creamos un vector con tiempos para el ajuste, al que llamamos tsecrecionI

```
> tsecrecionI<-seq(0,15,0.1)
```

con la función Isecrecion y los valores de tiempo de tsecrecion hallamos los valores de insulina calculados en base a la ecuación ajustada para tiempos anteriores al máximo

```
> isecreccion<-Isecrecion(tsecrecionI)
```

graficamos la línea estimada por la función, de donde se obtuvo el valor de k1

```
> lines(spline(tsecrecionI,isecreccion),lty=1,lwd=2)
```

La figura siguiente representa gráficamente el ajuste realizado y el sector de la curva de insulinemia utilizada en la estimación de k1.

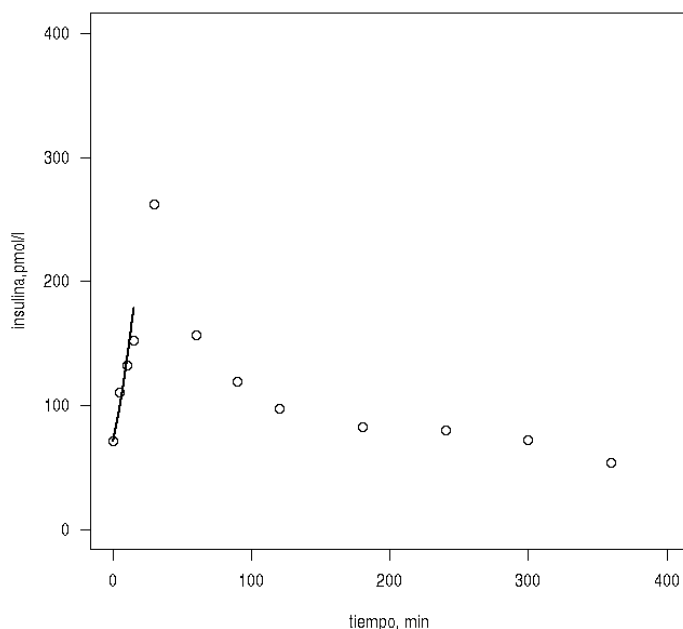


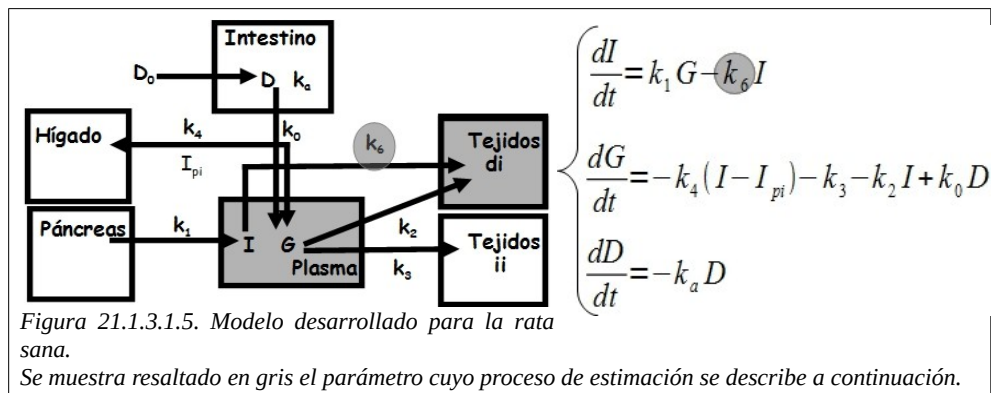
Figura 21.1.3.1.4. Los círculos representan los valores experimentales de insulina y la línea continua el ajuste realizado a los puntos de insulina de 0-15 min del cual se estimó el valor de k1.

### 21.1.6. Estimación de $k_6$

Luego de alcanzado el valor máximo en la insulinemia (IMI) los datos de insulinemia pueden ser ajustados con una función de decaimiento mono-exponencial.

$$I = I_a + (I_{MI} - I_a) e^{-k_6(t - t_{MI})}$$

Ecuación 21.1.3.1.1



donde  $I_a$  es la insulinemia de ayuno (que es el valor medido a tiempo 0)  $t_{MI}$  (tiempo en el que se alcanza  $IMI$ ) e  $IMI$  el valor máximo de la Insulina que se obtiene de realizar un ajuste con un polinomio de grado 2 en la zona del máximo de insulina. Para estos cálculos auxiliares ver Determinación de  $IMI$  y  $GMG$

De este modo, ajustando la ecuación mencionada a los valores de insulinemia desde el máximo de insulina en adelante se puede obtener el valor de  $k_6$ .

Creamos un subset de datos que contenga los valores de insulina para  $t$  mayor al máximo de insulina y menor o igual al mínimo de glucosa sanguínea.

```
> tabla6<-data.frame(subset(tablamm211,t>=tMi & t<=tmg,select=c(t,I)))
```

```
> tabla6
```

t	I
5	30 261.79
6	60 156.65
7	90 119.20
8	120 97.91
9	180 82.66
10	240 80.10
11	300 72.00
12	360 53.69

ahora realizamos el ajuste o lineal con la función `nls()` de manera de averiguar el único parámetro desconocido que es  $k_6$

```
> ajustek6<-nls(I~Ia+(IMI-Ia)*exp(-k6*(t-tMi)),data=tabla6,start=list(k6=0.0002),trace=T)
```

```
187299.4 : 2e-04
44562.34 : 0.00450159
10338.58 : 0.01019762
1755.137 : 0.01720376
```

```
550.8745 : 0.02215969
491.9828 : 0.02366263
491.1872 : 0.02385286
491.1819 : 0.02386858
491.1818 : 0.02386979
491.1818 : 0.02386989
```

el último valor es el valor estimado de  $k_6$ , que incorporamos a nuestro espacio de trabajo

```
> k6<-coef(ajustek6)
```

```
> k6
```

```
    k6
```

```
0.02386989
```

Vamos a graficar este análisis. En primer lugar definimos una función exponencial que describirá el decaimiento de la concentración de insulina luego del máximo, que llamamos `Ieliminacion`.

```
> Ieliminacion<-funcion(t){Ia+(IMi-Ia)*exp(-k6*(t-tMi))}
```

en base a los datos de la `tabla6`

```
> tabla6
```

```
  t  I
5 30 261.79
6 60 156.65
7 90 119.20
8 120 97.91
9 180 82.66
10 240 80.10
11 300 72.00
12 360 53.69
```

definimos un vector `teliminacionI` que contiene valores de tiempo de la tabla

```
> teliminacionI<-seq(30,360,0.1)
```

utilizando la función `Ieliminacion` y el vector `teliminacionI`, calculamos los valores de Insulina ajustados por la función `Ieliminacion`

```
> Ieliminacion<-Ieliminacion(teliminacionI)
```

armamos un gráfico vacío

```
>
```

```
plot(0,0,ty='n',las=1,ylab='insulina,pmol/l',xlab='tiempo,min',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400))
```

para colocar los valores de insulina de la `tablamm211`

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$I,cex=1.5,pch=1)
```

y la línea de ajuste de los valores con la función `Ieliminacion`

```
> lines(spline(teliminacionI,ieliminacion))
```

obtenemos así la siguiente grafica.

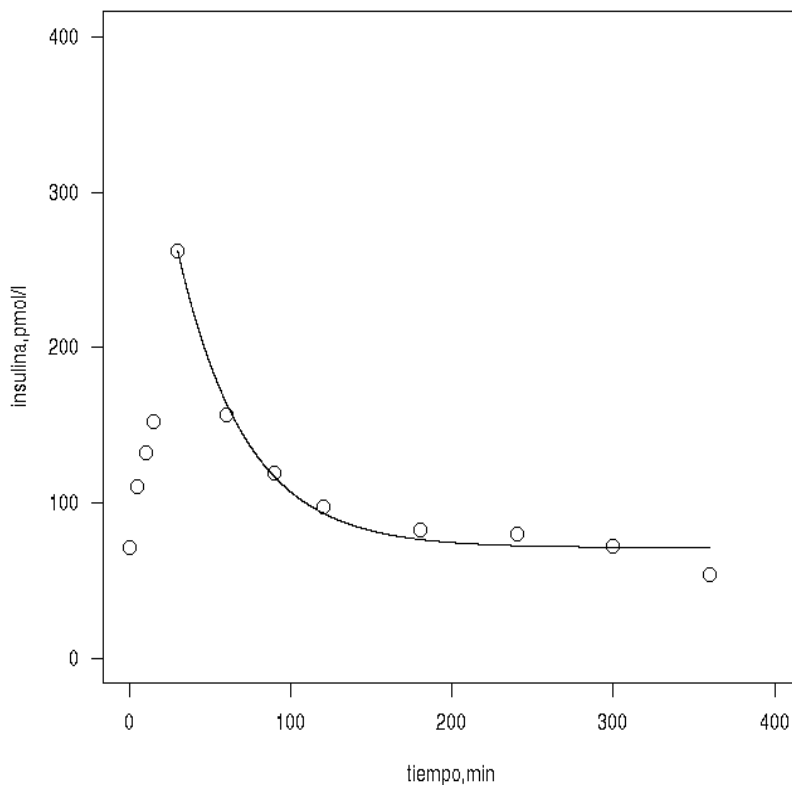
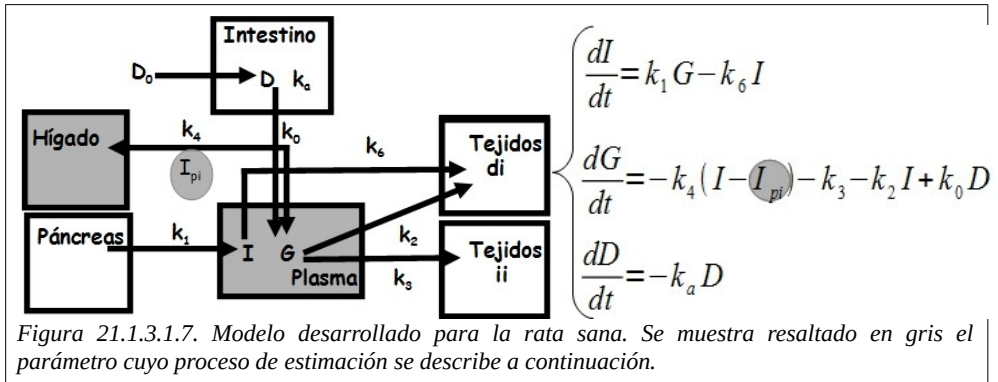


Figura 21.1.3.1.6. Estimación de  $k_6$ . Los círculos representa los valores experimentales de insulina en el animal en estudio luego de una PTG. La línea continúa la gráfica de ajuste lograda con la función desarrollada a tal fin.

### 21.1.7. Estimación de $I_{pi}$

Analizaremos la etapa mostrada en la Figura 21.1.3.1.7



Luego de que la glucemia alcanza su valor máximo (GMG) la concentración plasmática de glucosa (G) decrece hasta alcanzar nuevamente valores de ayuno. La observación de numerosas curvas de glucemia en función del tiempo, permite postular que dicho comportamiento puede representarse empleando una función sigmoidea del tipo:

$$G = G_a + \frac{G_{MG} - G_a}{1 + e^{\frac{(t - t_{pi})}{B}}}$$

Ecuación 21.1.3.1.2

Donde B es una constante propia de cada animal,  $t_{pi}$  es el tiempo en que el hígado cambia su comportamiento de consumir a producir glucosa, tiempo al cual la gráfica de G muestra un punto de inflexión.  $G_a$  es el valor basal de glucosa medido al comienzo del experimento.  $G_{MG}$  es la concentración de glucosa máxima luego de una sobrecarga de glucosa.

Empleando la Ecuación 21.1.3.1.2 para ajustar a los datos de glucemia desde su valor máximo se puede obtener  $t_{pi}$ , que es el tiempo al cual se produce el punto de inflexión en la gráfica de glucemia en función del tiempo.

El valor de insulinemia en este tiempo es una estimación del parámetro denominado  $I_{pi}$  y se puede obtener valorizando la ecuación

$$I = I_a + (I_{MI} - I_a) e^{-k_6(t - t_{MI})}$$

en el tiempo  $t_{pi}$

$$I_{pi} = I_a + (I_{MI} - I_a) e^{-k_6(t_{pi} - t_{MI})}$$

Ecuación 21.1.3.1.3

Creamos primero una tabla, llamada tabla5 con los valores de glucosa a tiempos mayores al cual se alcanzó el máximo en dicha variable

```
> tabla5<-data.frame(subset(tablamm211,t>=tMg,select=c(t,G)))
```

```
> tabla5
```

```
  t    G
5 30 271.0
6 60 244.6
7 90 200.0
8 120 148.2
9 180 129.8
10 240 86.3
11 300 103.2
12 360 94.9
```

realizamos un ajuste no lineal de los datos utilizando la ecuación sigmoidea plantada anteriormente. Ciertas constantes como  $G_a$  y  $GM_g$ , ya fueron asignadas. Los parámetros  $t_{pi}$  y  $B$  serán estimados con la función `nls()` asignando valores iniciales para el cálculo, los cuales podrán ser datos promedio de los mismos hallados en experimentos anteriores o valores tentativos.

Chequeamos que los mismos estén con sus valores correspondientes a la `tablamm211`

```
> tablamm211
```

```
  t  G  I
1  0 105.2 71.33
2  5 126.8 111.03
3 10 141.8 132.30
4 15 157.3 152.01
5 30 271.0 261.79
6 60 244.6 156.65
7 90 200.0 119.20
8 120 148.2 97.91
9 180 129.8 82.66
10 240 120.0 80.10
11 300 103.2 72.00
12 360 94.9 53.69
```

```
> Ga
```

```
[1] 105.2
```

```
> GMg
```

```
[1] 271
```

y graficamos los datos de  $G$  en función del tiempo para obtener un valor de inicio para  $t_{pi}$ , que obviamente estará entre 30 y 360 min

```
> plot(tablamm211$t,tablamm211$G)
```

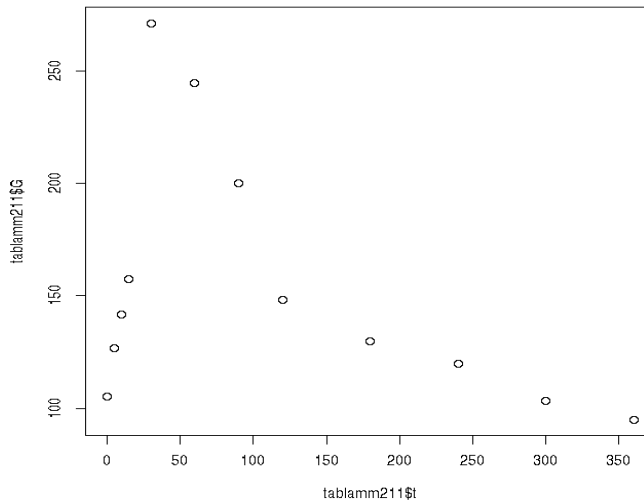


Figura 21.1.3.1.8

Observamos que en decaimiento del valor de  $G$  luego del máximo podríamos inferir un punto de inflexión entre los 100 y 200 min. Así tomamos como tiempo inicial para  $t_{pi}=120$  min. Para  $B$  probamos con un valor inicial de  $B=10$  y realizamos el ajuste no lineal con `nls()` a los datos de la tabla5

```
>
ajustetpi<-nls(G~Ga+(GMg-Ga)/(1+exp((t-tpi)/B)),data=tabla5,start=list(tpi=120,
B=10),trace=T)
```

```
7168.005 : 120 10
1527.514 : 110.54820 36.74877
898.4397 : 99.74158 28.90696
809.0953 : 98.97620 24.98114
800.9177 : 98.20600 24.13367
800.1501 : 98.05300 23.83534
800.0797 : 97.99776 23.75021
800.0732 : 97.98184 23.72411
800.0726 : 97.97695 23.71626
800.0726 : 97.97548 23.71389
800.0726 : 97.97504 23.71317
800.0726 : 97.97490 23.71296
```

la primer columna indica el error, la segunda el parámetro  $t_{pi}$  y la segunda columna el parámetro  $B$ . Asignamos los valores estimados de éstos a las variables  $t_{pi}$  y  $B$

```
> tpi<-coef(ajustetpi)[1]
```

```
> B<-coef(ajustetpi)[2]
```

comprobamos el ingreso de los mismos

```
> B
```

```
B
```

```
23.71296
```

```
> tpi
```

```
tpi
```

```
97.9749
```

Ahora calculamos Ipi, utilizando la Ecuación 21.1.3.1.3 que describe la desaparición de insulina luego de su máximo, utilizando varias constantes y parámetros ya estimados.

$$I = I_a + (I_{MI} - I_a) e^{-k_6(t-t_M)}$$

```
> Ipi<-Ia+(IMi-Ia)*exp(-k6*(tpi-tMi))
```

```
> Ipi
```

```
k6
```

```
108.9257
```

Graficamos a continuación el proceso, como haremos dos gráficas crearemos un espacio para ambas

```
> par(mfrow=c(1,2))
```

en la primer gráfica que creamos en blanco mostramos los valores de la glucemia para la rata en estudio

```
> plot(0,0,ty='n',ylab='glucemia, mg/dl',xlab='tiempo, min',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400),las=1)
```

y colocamos los puntos correspondientes

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$G)
```

creamos la función para ajuste de los datos de glucemia luego del máximo según la ecuación

$$G = G_a + \frac{G_{MG} - G_a}{1 + e^{\frac{(t-t_M)}{B}}}$$

a la que llamamos Gipi, ya que ajustará los valores de glucemia para valores de glucemia que utilizaremos para calcular luego el parámetro Ipi.

```
> Gipi<-function(t){Ga+(GMg-Ga)/(1+exp((t-tpi)/B))}
```

creamos un vector de tiempo para el rango de glucemia en que realizamos el ajuste, que va

desde el valor de tiempo en el que se produce el máximo de la glucemia, hasta 400.

```
> tgipti<-seq(tMg,400,0.1)
```

calculamos los valores de glucemia para dicho rango

```
> gipti<-Gipti(tgipti)
```

graficamos la función de ajuste

```
> lines(spline(tgipti,gipti))
```

colocamos el punto de inflexión de la glucemia

```
points(tpi,Gipti(tpi),pch=19,cex=1.5)
```

creamos para el espacio de la derecha un gráfico de insulina vacío

```
> plot(0,0,ty='n',ylab='insulina,pmol/l',xlab='tiempo,
min',xlim=c(0,400),ylim=c(0,400),las=1)
```

colocamos los puntos de insulinemia

```
> points(tablamm211$t,tablamm211$I)
```

colocamos la función de ajuste correspondiente a la ecuación

$$I = I_a + (I_{MI} - I_a) * e^{-k_6(t-t_{MI})}$$

para ello definimos la función que llamamos Iipti

```
Iipti<-function(t){Ia+(IMi-Ia)*exp(-k6*(t-tMi)) }
```

donde Ia, IMi, tMi y k6 ya fueron estimados y sus valores introducidos al espacio de trabajo, cosa que comprobamos

```
> Ia
```

```
[1] 71.33
```

```
> IMi
```

```
[1] 261.79
```

```
> k6
```

```
    k6
```

```
0.02386989
```

```
> tMi
```

```
[1] 30
```

creamos un vector de tiempos para graficar el ajuste con dicha función

```
> tIipti<-seq(tMi,400,0.1)
```

creamos un vector con los valores de insulina para dicho intervalo utilizando la función  $I_{ipi}$ , al que llamamos  $iIpi$

```
> iIpi<-Iipi(tIipi)
```

representamos la línea de ajuste

```
> lines(spline(tIipi,iIpi))
```

colocamos el valor de  $I_{ipi}$  en la gráfica

```
> points(tpi,Iipi(tpi),pch=19,cex=1.5)
```

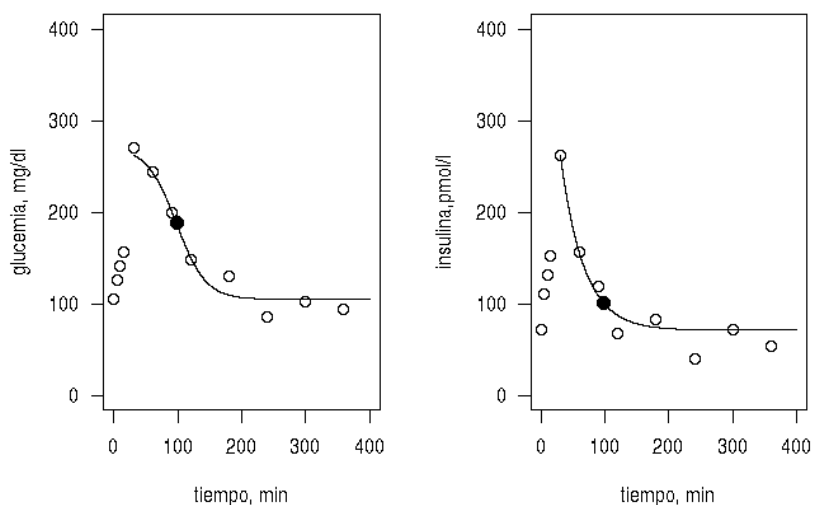
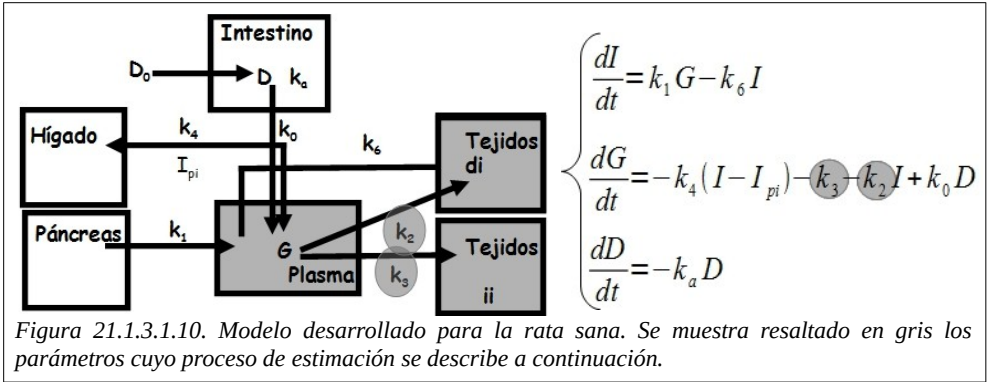


Figura 21.1.3.1.9. Izquierda: círculos representan la glucemia, la línea continua el ajuste de los datos con la función accesoria y el círculo negro representa el punto de inflexión de la glucemia. A la derecha se representa la insulinemia en círculos. La línea continua representa el ajuste realizado con la función accesoria y el círculo negro, representa el valor de insulina en que se produce el cambio de consumo-producción de insulina ( $I_{ipi}$ ).

### 21.1.8. Estimación de $k_2$ y $k_3$

La estimación de  $k_2$  y  $k_3$  se hacen simultáneamente y se muestran los procesos involucrados en la Figura 21.1.3.1.10



En el tiempo  $t_{pi}$ , la glucemia tendrá el  $G_{pi}$ , la insulinemia el valor  $I_{pi}$  y la cantidad de glucosa en el tracto gastrointestinal se puede suponer despreciable, por lo tanto consideraremos a  $D=0$ . Entonces, reemplazando el valor de insulinemia por el valor de  $I_{pi}$  en la ecuación de  $dG/dt$

resulta la ecuación

$$\frac{dG}{dt}(t_{pi}) = -k_4 (I_{pi} - I_{pi}) - k_3 - k_2 I_{pi}$$

que luego de operar resulta

$$\frac{dG}{dt}(t_{pi}) = -k_3 - k_2 I_{pi}$$

Como la glucemia en función del tiempo luego de producido el máximo de glucosa plasmática se puede aproximar por la

$$G = G_a + \frac{G_{MG} - G_a}{1 + e^{\left(\frac{t-t_{pi}}{B}\right)}}$$

derivando esta ecuación se obtiene

$$\frac{dG}{dt} = \frac{(G_a - G_{MG}) e^{\frac{(t-t_{pi})}{B}}}{B \left(1 + e^{\frac{(t-t_{pi})}{B}}\right)^2}$$

Valorizando  $dG/dt$  a dos tiempos ( $t_1$  y  $t_2$ ) cercanos al  $t_{pi}$ , obteniendo  $dG/dt(t_1)$  y  $dG/dt(t_2)$ . Con los valores de insulinemia calculados a  $t_1$  y  $t_2$ , calculados con la ecuación

$$I = I_a + (I_{Mi} - I_a) e^{-k_6(t-t_{Mi})}$$

se obtiene un sistema de ecuaciones lineales de cuya solución se obtienen los valores para  $k_2$  y  $k_3$

$$\frac{dG}{dt}(t_1) = -k_3 - k_2 I_1$$

Ecuación 21.1.3.1.4

$$\frac{dG}{dt}(t_2) = -k_3 - k_2 I_2 .$$

Ecuación 21.1.3.1.5

Estimaciones de  $k_3$  y  $k_2$  con R

En primer lugar creamos una variable  $dG1$  que tendrá el valor de la derivada de  $G$  a tiempo anterior a  $t_{pi}$ . Arbitrariamente y apoyado por la experiencia tomamos un valor  $-10$ , para la diferencia entre  $t$  y  $t_{pi}$

$$> dG1 <- ((Ga - GMg) * \exp((-10)/B)) / (B * (1 + \exp(-10/B))^2)$$

Para tiempo posterior a  $t_{pi}$  tomamos 5 minutos

$$> dG2 <- ((Ga - GMg) * \exp((5)/B)) / (B * (1 + \exp(5/B))^2)$$

hallamos  $I_1$  para los 10 minutos anteriores

$$> I1 <- -Ia + (IMi - Ia) * \exp(-k6 * (t_{pi} - 10 - t_{Mi}))$$

e  $I_2$  para los 5 minutos posteriores

$$> I2 <- -Ia + (IMi - Ia) * \exp(-k6 * (t_{pi} + 5 - t_{Mi}))$$

con estos valores calculamos  $k_2$  y  $k_3$

En primer lugar restamos miembro a miembro las Ecuación 21.1.3.1.4 y Ecuación 21.1.3.1.5

de lo cual obtenemos

$$dG1 - dG2 = k_2 * (I2 - I1)$$

despejamos  $k_2$  y calculamos

$$> k2 <- (dG1 - dG2) / (I2 - I1)$$

$$> k2$$

B

-0.003911028

reemplazamos luego este valor en Ecuación 21.1.3.1.4

$$> k_3 < -dG - k_2 \cdot I$$

y así obtenemos el valor de  $k_3$

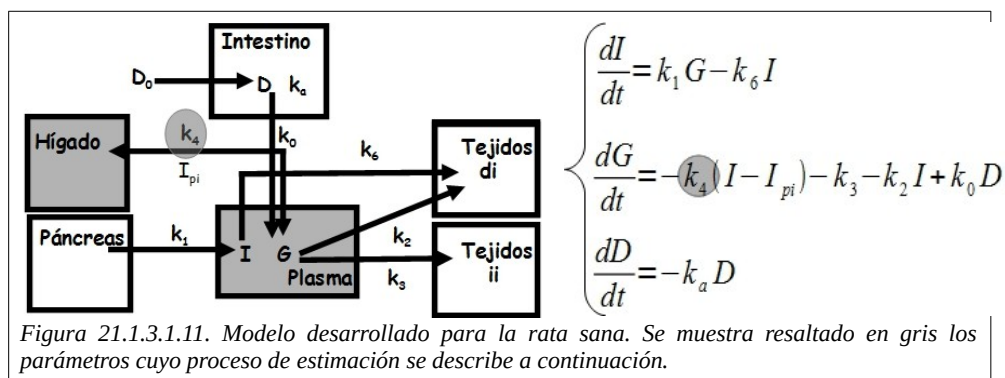
$$> k_3$$

B

2.138173

### 21.1.9. Estimación de $k_4$

Veremos ahora la estimación del parámetro  $k_4$ . En base al esquema siguiente



Podemos suponer que en ayuno la glucemia puede ser considerada constante, por lo cual la  $dG/dt=0$  y  $D=0$ . El consumo de glucosa dependiente de insulina ( $k_2 I$ ) se puede suponer despreciable, y por lo tanto la ecuación siguiente

$$\frac{dG}{dt} = k_0 D - k_2 I - k_3 - k_4 (I - I_{pi})$$

se puede reescribir:

$$-k_4 (I_a - I_{pi}) - k_3 = 0$$

Como  $k_3$  ya fue estimada  $I_a$  e  $I_{pi}$  son variables o parámetros ya conocidos se puede estimar el valor de  $k_4$  a partir de la siguiente ecuación

$$k_3 = -k_4 (I_a - I_{pi})$$

$$k_4 = \frac{-k_3}{(I_a - I_{pi})}$$

Ecuación  
21.1.3.1.6

Estimación con R

```
> k4<-k3/(Ipi-Ia)
```

```
> k4
```

```
      B
```

```
0.05687286
```

Acá hemos finalizado la estimación de los parámetros del modelo, que resumimos a continuación para la rata en estudio.

```
> ka
```

```
[1] 0.03073695
```

```
> ke
```

```
[1] 0.0038
```

```
> k0
```

```
      k0
```

```
0.002892315
```

```
> k1
```

```
[1] 0.04421316
```

```
> k2
```

```
      B
```

```
-0.003911028
```

```
> k3
```

```
      B
```

```
2.138173
```

```
> k4
```

```
      B
```

```
0.05687286
```

```
> k6
```

k6

0.02386989

> Ipi

k6

108.9257

> Vd

X

10.19626

> Ga

[1] 105.2

> Ia

[1] 71.33

> Do

[1] 1500

## 22. Clase 22

### 22.1. Resolución de sistemas de ecuaciones diferenciales

En la clase anterior se desarrolló un modelo biológico y matemático para el estudio de la homeostasis de la glucosa en la rata. Se desarrollaron los mecanismos para estimación de los parámetros y se obtuvieron los valores de ellos para datos experimentales provenientes de una rata.

En primer lugar recordaremos el modelo biológico planteado en la clase anterior para la homeostasis de la glucosa en ratas normales

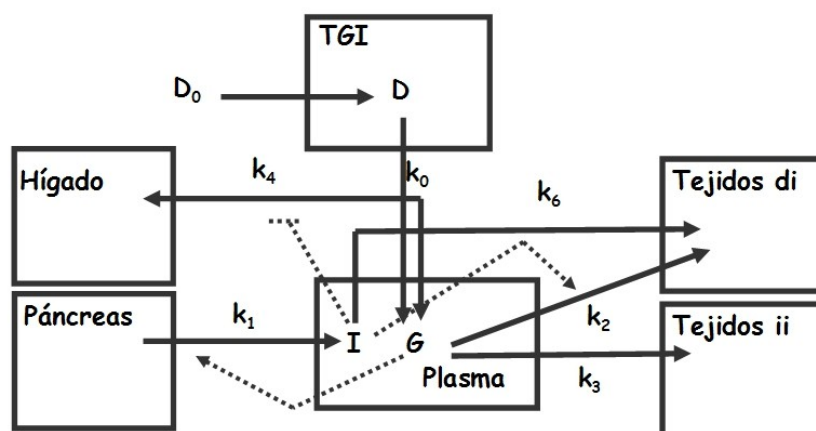


Figura 22.1. Sistema glucosa-insulina. Las líneas continuas representan flujo de glucosa o insulina y las líneas de puntos efecto estimulador (punta de flecha) o inhibitorio (punta roma).  $G$ : concentración de glucosa plasmática (mg/dl),  $I$ : concentración de insulina plasmática (pmol/l),  $D_0$ : cantidad de glucosa ingerida a través de la dieta (mg),  $k_0$ : constante de incorporación de glucosa en plasma desde el tracto gastrointestinal ( $dl^{-1} min^{-1}$ ),  $k_1$ : constante de velocidad de producción de insulina pancreática (pmol.dl/mg.min),  $k_2$ : constante de velocidad de consumo de glucosa en los tejidos dependiente de insulina (mg.l/dl.min.pmol),  $k_3$ : constante de velocidad de consumo de glucosa en los tejidos independiente de insulina (mg/min.dl),  $k_4$ : constante de toma (para glucogenogénesis) o liberación de glucosa (por glucogenolisis y/o gluconeogénesis) por el hígado (mg.l/dl.min.pmol),  $k_6$ : constante de depuración de insulina plasmática ( $min^{-1}$ ). Las unidades de cada parámetro surgen del análisis de las dimensiones en función de las ecuaciones diferenciales planteadas a continuación.

$$\frac{dI}{dt} = k_1 * G - k_6 * I$$

$$\frac{dG}{dt} = -(k_2 + k_4) * I + k_4 * I_{pi} - k_3 + k_0 * D$$

$$\frac{dD}{dt} = -k_a * D$$

*Ecuación 1*

Este modelo puede ser representados por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales. Para este modelo se desarrollaron ecuaciones accesorias o se realizaron simplificaciones de manera de poder obtener una valor estimado de cada parámetro.

En el proceso de estimación, realizado en la clase anterior se utilizaron los datos de la tablamm211, que introducimos en esta clase con el nombre tablamm221 y que hallaremos en la tablamm221.ods/xls

```
> tablamm221<-read.table('clipboard',header=TRUE, sep='\t',dec=',', encoding='latin1')
> tablamm221
```

time	G	I
1	0	105.2 71.33
2	5	126.8 111.03
3	10	141.8 132.30
4	15	157.3 152.01
5	30	271.0 261.79
6	60	244.6 156.65
7	90	200.0 119.20
8	120	148.2 97.91
9	180	129.8 82.66
10	240	120.0 80.10
11	300	103.2 72.00
12	360	94.9 53.69

A continuación se listan las constantes y parámetros estimados para una rata en particular, en la clase anterior con los datos mencionados.

```
> ka
```

```
[1] 0.03073695
```

```
> ke
```

```
[1] 0.0038
```

```
> k0
```

```
      k0
0.002892315
```

```
> k1  
[1] 0.04421316
```

```
> k2  
      B  
0.003911028
```

```
> k3  
      B  
2.138173
```

```
> k4  
      B  
0.05687286
```

```
> k6  
      k6  
0.02386989
```

```
> Ipi  
      k6  
108.9257
```

```
> Vd  
      X  
10.19626
```

```
> Ga  
[1] 105.2
```

```
> Ia  
[1] 71.33
```

```
> Do  
[1] 1500
```

Con estos valores enfrentaremos el proceso de optimización de los mismos que consiste en hallar valores más representativos y ajustados de los parámetros a todos los valores del experimento. Debemos recordar que durante el proceso de estimación obtenemos un valor del parámetro que se cumple para un intervalo de tiempo en particular y el objetivo es hallar un valor para todo el experimento.

Si ha cambiado de espacio de trabajo reingrese los parámetros y demás datos hallados,

```
> ka=0.03073695
> ke= 0.0038
> k0=0.002892315
> k1= 0.04421316
> k2= 0.003911028
> k3= 2.138173
> k4= 0.05687286
> k6= 0.02386989
> Ipi=108.9257
> Vd= 10.19626
> Ga= 105.2
> Ia= 71.33
> Do= 1500
```

### 22.1.1. Optimización de los parámetros

En primer lugar definimos una función que llamaremos homeostasis y que corresponde a nuestro sistema de ecuaciones diferenciales

```
>homeostasis<-function(parametros,times=seq(0,400,by=0.5)){
derivs<-function(s,valoresayuna,parametros){
with(as.list(c(valoresayuna,parametros)),{
dI=-k6*I+k1*G
dG=-(k2+k4)*I+k0*D-k3+k4*Ipi
dD=-ka*D
return(list(c(dI,dG,dD)) )
})
}
valoresayuna<-c(I=Ia,G=Ga,D=Do)
return(ode(y=valoresayuna,times=times,func=derivs,parms=parametros))
}
```

Esta función tiene como variables a 'parametros' y 'times'.

Crearemos un vector con los valores de los parámetros estimados

```
> parametrosestimados<-list(k0=k0,k1=k1,k2=k2,k3=k3,k4=k4,k6=k6,Ipi=Ipi,ka=ka)
```

asignamos estos datos al objeto 'parametros', que utiliza la función homeostasis() recién definida

```
>parametros<-parametrosestimados
```

cargamos la biblioteca FME, necesaria para trabajar con sistemas de ecuaciones diferenciales

```
> library(FME)
```

Si no la tiene en su computadora, descárguela como cualquier otro paquete de algún repositorio de R.

En primer lugar calcularemos utilizando los valores de los parámetros estimados los valores de I, G y D, utilizando la función 'homeostasis'. Almacenaremos los datos en el objeto salida

```
> salida<-homeostasis(parametros)
```

vemos el contenido de las primeras filas del objeto salida

```
> head(salida)
```

	time	I	G	D
[1,]	0	71.33000	105.2000	1500.000
[2,]	1	74.33035	109.1028	1454.596
[3,]	2	77.42371	112.6911	1410.566
[4,]	3	80.59386	115.9635	1367.869
[5,]	4	83.82526	118.9196	1326.465
[6,]	5	87.10266	121.5599	1286.314

graficamos utilizando la función matplot(), útil en esta situación, los valores de I, G y D calculados por el modelo que se hallan en el objeto salida y además graficaremos los valores experimentales de G e I que hallamos en la tablamm221

```
> matplot(salida[,c(2:4)],type="l",lty=1,lwd=2,col=c("black","blue","red"),
xlab="time,min",xlim=c(0,400))
```

```
> legend('topright',c('I','G','D'),pch=19,col=c('black','blue','red'))
```

```
> points(tablamm221$time,tablamm221$G,pch=20,col='blue')
```

```
> points(tablamm221$time,tablamm221$I,pch=20,col='black')
```

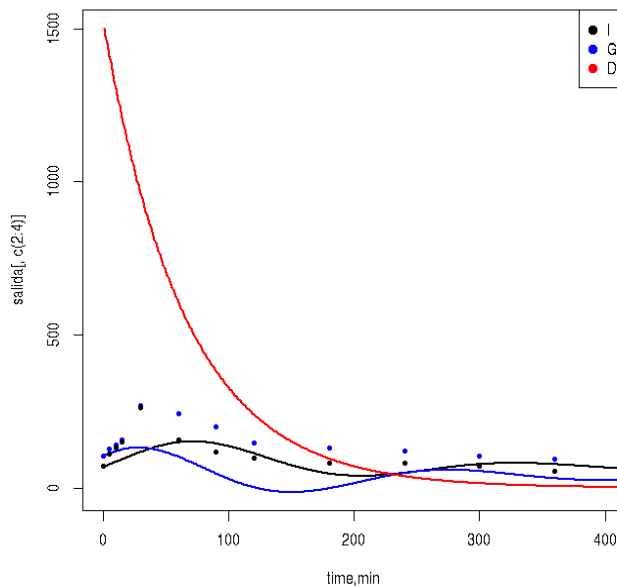


Figura 22.2

Como podemos ver en el gráfico, las líneas roja, azul y negra representan los valores de D, G e I utilizando el modelo con los valores de los parámetros estimados. Los puntos azules y negros representan los valores medidos de G e I. Se puede observar un ajuste razonable de los valores de I, pero no tanto de G. Con el proceso de optimización de los parámetros esto podrá mejorar.

Comenzaremos a optimizar los parámetros, es decir buscar valores que permitan ajustar mejor los valores de G e I por la función homeostasis.

En primer lugar definimos una función 'objetivo' que se utilizará en el proceso de optimización y corresponde a una función que utiliza la función `modCost()` cuyo fin es minimizar las diferencias entre los valores reales y los valores estimados del modelo.

```
> objetivo<-function(x,parset=names(x)){
  parametros[parset]<-x
  tout<-seq(0,360,by=0.5)
  out<-homeostasis(parametros,tout)
  return(modCost(obs=tablamm221,model=out))
}
```

### 22.1.2. Optimización de dos parámetros: k0 y k1

Dado que el proceso de optimización de varios parámetros como ocurre en este caso y con relativamente pocos datos, como es esta situación, puede ser dificultosa. Se realizará en primer lugar el proceso de optimización de solo dos de ellos, dejando los otros con los valores estimados

A modo de ejemplo optimizaremos solo los parámetros k0 y k1 y utilizaremos para esto la función modFit() de la biblioteca FME, que asigna al objeto Fit el resultado del proceso. La función modFit() sabe cuales son los parámetros a optimizar, ya que en el argumento p de la función se indican los valores estimados de los mismos. Además colocamos una restricción en la optimización que es que los parámetros puedan tener como mínimo valor cero, es decir que no sean negativos. Esto queda indicado en el argumento lower. En este argumento tiene que existir tantos números como parámetros estamos optimizando. En caso que el argumento lower se omita, el proceso de optimización no tendrá límites mínimos y podrán así existir valores de parámetros que sean negativos. Aunque en este caso no lo utilizaremos, se puede incluir el argumento upper, que fija valores máximos de los parámetros. Estos argumentos se fijan en función de conocimientos biológicos o propios del sistema. Por ejemplo la variable Ipi, que es el valor de la concentración de insulina en un dado tiempo del proceso estudiado, no puede tener valores mayores que el máximo alcanzado por la insulina ni menores que el mínimo. De la misma manera se pueden tomar límites para los parámetros, lo que deberá estar adecuadamente fundamentado.

```
> print(system.time(Fit<-
modFit(p=c(k0=0.002892315,k1=0.04421316),f=objetivo,lower=c(0.0,0.0))))
user system elapsed
4.568 0.012 4.665
```

vemos el contenido del objeto Fit, donde hallamos los valores optimizados de k0 y k1. Además se muestran en la salida de summary() otros datos que no tendremos en cuenta por el momento.

```
> summary(Fit)
Parameters:
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
k0  0.005929  0.001087  5.456 1.76e-05 ***
k1  0.013369  0.001386  9.646 2.32e-09 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Residual standard error: 48.05 on 22 degrees of freedom

Parameter correlation:

```
      k0  k1
k0 1.0000 0.2643
k1 0.2643 1.0000
```

Podemos graficar nuevamente nuestros datos y el modelo, pero incluyendo ahora los valores optimizados de  $k_0$  y  $k_1$ .

Para ello en primer lugar creamos dos objetos que tengan los valores optimizados de los parámetros

```
> k0optim<-Fit$par[1]
> k1optim<-Fit$par[2]
```

y creamos un vector con los parámetros optimizados, dejando los valores estimados para aquellos que no hemos optimizados

```
> parametrosoptimizados<-
list(k0=k0optim,k1=k1optim,k2=0,0003911028,k3=2.138173,k4=0.05687286,k6=0.023869
89,Ipi=108.9257,ka=0.03073695)
```

asignamos al objeto `parametros`, los valores de `parametrosoptimizados`

```
> parametros<-parametrosoptimizados
```

y ejecutamos nuevamente la función `homeostasis` para obtener los valores de nuestro modelo, datos que almacenamos en el objeto `salidaoptimizada`

```
> salidaoptimizada<-homeostasis(parametros)
```

graficamos entonces los valores del modelo que hallamos en `salidaoptimizada` y que vemos a continuación

```
> head(salidaoptimizada)
```

	time	I	G	D
[1,]	0.0	71.33000	105.2000	1500.000
[2,]	0.5	71.19748	109.6147	1477.123
[3,]	1.0	71.09565	113.9654	1454.595
[4,]	1.5	71.02378	118.2523	1432.412
[5,]	2.0	70.98103	122.4756	1410.566
[6,]	2.5	70.96663	126.6354	1389.053

Utilizamos las mismas funciones gráficas mostrada antes de la optimización

```
> matplot(salidaoptimizada[,c(2:4)],type="l",lty=1,lwd=2,col=c("black","blue","red"),
xlab="time,min",xlim=c(0,400))
> legend('topright',c('I','G','D'),pch=19,col=c('black','blue','red'))
> points(tablamm221$time,tablamm221$G,pch=20,col='blue')
> points(tablamm221$time,tablamm221$I,pch=20,col='black')
```

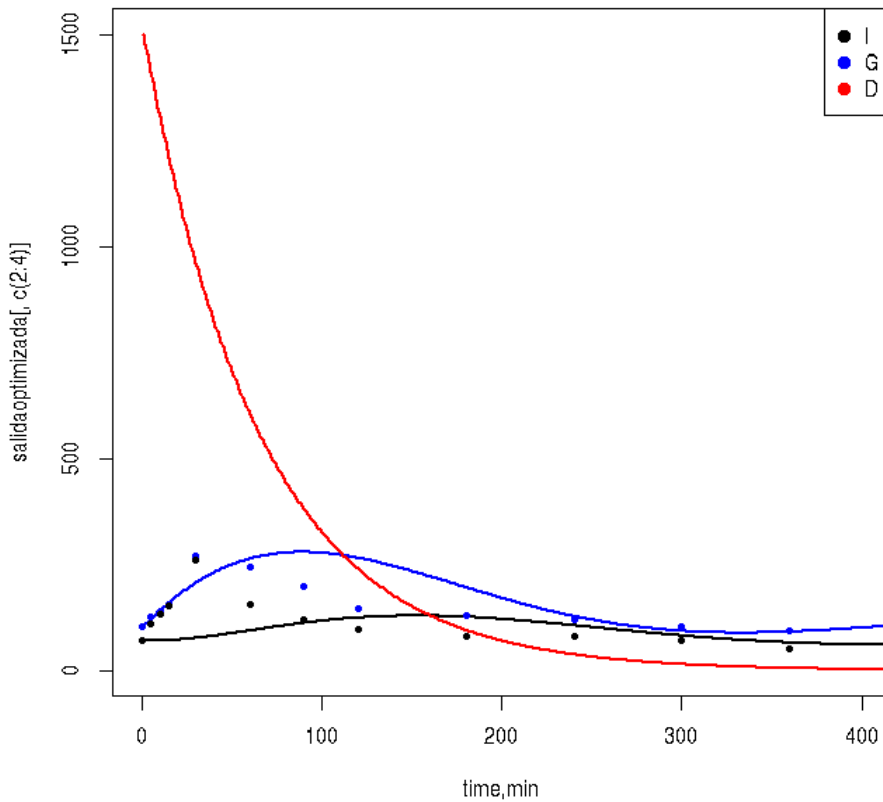


Figura 22.3

Podemos comprobar el mejor ajuste del modelo si comparamos la Figura 22.3 con la Figura 22.2.

### 22.1.3. Optimización de $k_0$ , $k_1$ , $k_3$ , $k_2$ , $k_6$

Utilizamos nuevamente la función `modFit` y damos a los parámetros los valores estimados y los optimizados de  $k_0$  y  $k_1$

```
> print(system.time(Fit<-
modFit(p=c(k0=0.005928959,k1=0.01336924,k2=0.003911028,k3=2.138173,k6=0.023869
89),f=objetivo,lower=c(0,0,0,0,0))))
```

```
user system elapsed
```

```
5.484 0.000 5.494
```

```
> summary(Fit)
```

Parameters:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
k0	8.668e-03	2.489e-03	3.483	0.00249 **
k1	5.229e+01	1.695e+01	3.085	0.00609 **
k2	3.043e-25	2.094e-02	0.000	1.00000
k3	1.461e+00	1.974e+00	0.740	0.46819
k6	7.441e+01	2.542e+01	2.927	0.00864 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 33.66 on 19 degrees of freedom

Parameter correlation:

	k0	k1	k2	k3	k6
k0	1.0000	0.6717	0.6675	-0.5450	0.7077
k1	0.6717	1.0000	0.1801	-0.1374	0.9548
k2	0.6675	0.1801	1.0000	-0.9496	0.2752
k3	-0.5450	-0.1374	-0.9496	1.0000	-0.1749
k6	0.7077	0.9548	0.2752	-0.1749	1.0000

Podemos graficar nuevamente nuestros datos y el modelo, pero incluyendo ahora los valores optimizados de k0, k1, k2, k3 y k6.

Para ello en primer lugar creamos dos objetos que tengan los valores optimizados de los parámetros

```
> k0optim<-Fit$par[1]
> k1optim<-Fit$par[2]
> k2optim<-Fit$par[3]
> k3optim<-Fit$par[4]
> k6optim<-Fit$par[5]
```

y creamos un vector con los parámetros optimizados, dejando los valores estimados para aquellos que no hemos optimizados

```
> parametrosoptimizados<-
list(k0=k0optim,k1=k1optim,k2=k2optim,k3=k3optim,k4=0.05687286,k6=k6optim,Ipi=10
8.9257,ka=0.03073695)
```

asignamos al objeto parametros, los valores de parametrosoptimizados

```
> parametros<-parametrosoptimizados
```

y ejecutamos nuevamente la función homeostasis para obtener los valores de nuestro modelo, datos que almacenamos en el objeto salidaoptimizada

```
> salidaoptimizada<-homeostasis(parametros)
```

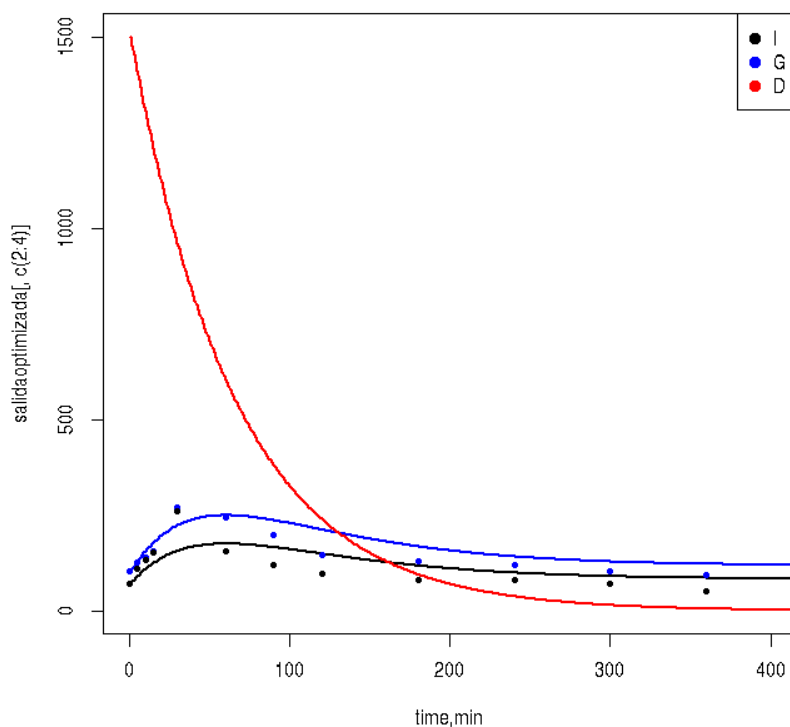
graficamos entonces los valores del modelo que hallamos en salidaoptimizada y que vemos a continuación

```
> head(salidaoptimizada)
```

	time	I	G	D
[1,]	0.0	71.33000	105.2000	1500.000
[2,]	0.5	78.48602	111.8544	1477.123
[3,]	1.0	83.00451	118.2777	1454.596
[4,]	1.5	87.36605	124.4779	1432.412
[5,]	2.0	91.57480	130.4608	1410.566
[6,]	2.5	95.63479	136.2322	1389.054

Utilizamos las mismas funciones gráficas mostrada antes de la optimización

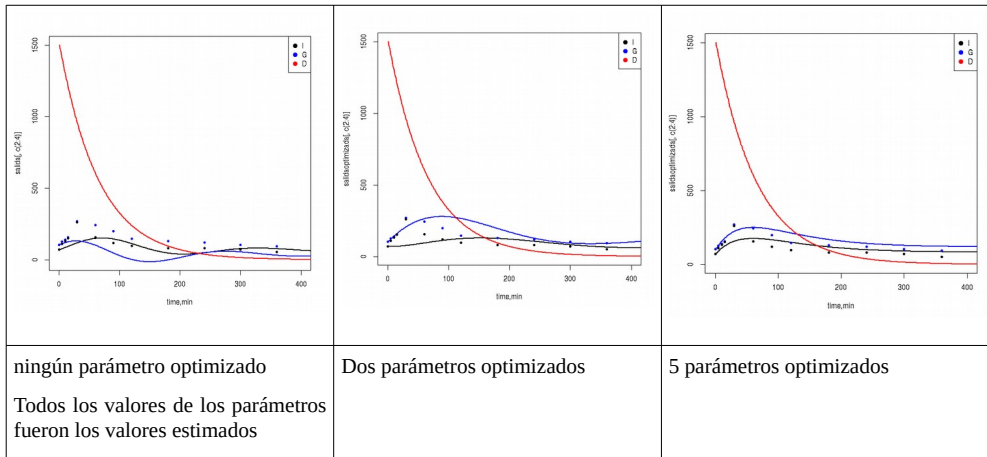
```
> matplot(salidaoptimizada[,c(2:4)],type="l",lty=1,lwd=2,col=c("black","blue","red"),  
xlab="time,min",xlim=c(0,400))  
> legend('topright',c('I','G','D'),pch=19,col=c('black','blue','red'))  
> points(tablamm221$time,tablamm221$G,pch=20,col='blue')  
> points(tablamm221$time,tablamm221$I,pch=20,col='black')
```



Podemos comprobar que con 5 parámetros optimizados hemos mejorado mucho el ajuste de los datos experimentales por nuestro modelo.

En este caso en particular, siendo un problema común en las ciencias biológicas, el número de datos es reducido para un número tan elevado de parámetros y por ende, intentar optimizar todos los parámetros da error con las herramientas incorporadas. El aumento del número de datos sería una gran solución, así como dejar algunos parámetros sin optimizar.

A continuación y a modo de resumen se muestran la progresión de los ajustes al aumentar el número de parámetros optimizados



- i Ericsson, Y. Monofluorophosphate physiology: general considerations. *Caries Res.* 17 (Suppl 1) 46-55. 1983
- ii Delmas, P.D., Dupuis, J., Duboeuf, F., Chapuy, M.C., Meunier, P.J. Treatment of Vertebral osteoporosis with disodium monofluorophosphate: Comparison with Sodium Fluoride. *J. Bone and mineral Res.* 5:S143-S147. 1990
- iii Rigalli, A., Cabrerizo, M., Beinlich, A., Puche, R.C. Gastric and intestinal absorption of monofluorophosphate and fluoride in the rat. *Arzneimittel Forschung. Drug Research* 44(I), 651-655. 1994.
- iv Rigalli, A., Esteban, L., Pera, L., Puche, R.C. Binding of monofluorophosphate to  $\alpha_2$ -macroglobulin and C3. *Calcified Tissue International* 60(I) 86-89. 1997.
- v Esteban, L., Rigalli, A., Puche, R.C. Metabolism of the complex monofluorophosphate- $\alpha_2$ -macroglobulin in the rat. *Medicina (Buenos Aires)* 59:151-156. 1999
- vi Alfredo Rigalli, Rosa Alloatti, and Rodolfo C. Puche. Measurement of Total and Diffusible Serum Fluoride. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 13:151-157 (1999)
- vii Rigalli, A., Ballina, J.C., Beinlich, A., Alloatti, R., Puche, R.C. Pharmacokinetics differences between sodium fluoride and sodium monofluorophosphate and comparative bone mass increasing activity of both compounds, in the rat. *Arzneimittel Forschung. Drug Research.* 44(I), 762-766. 1994.
- viii Birge, S.J., Avioli, R.C. Intestinal Phosphate transport and alkaline phosphate activity in the chick. *Am.J.Physiol.* 240: E384-E390. 1981