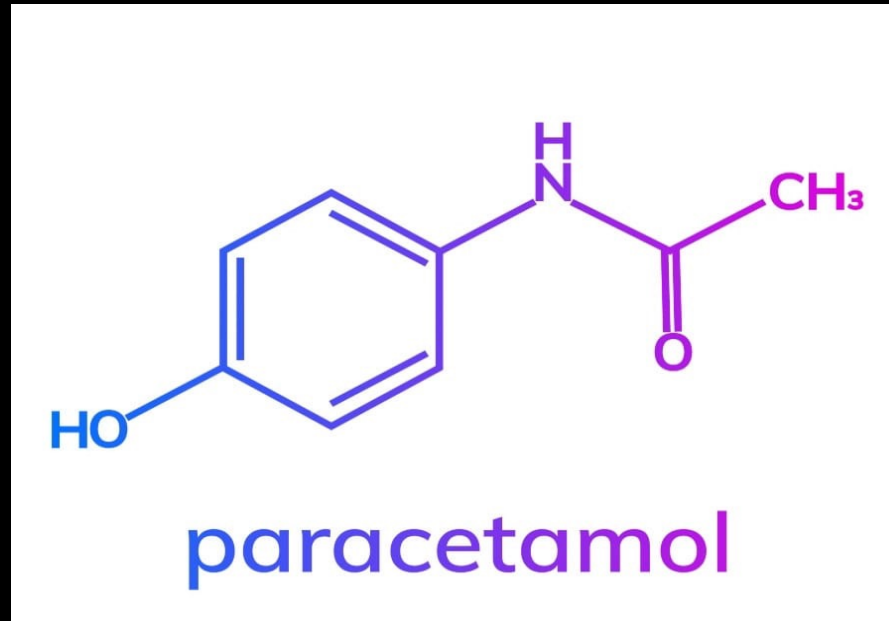


SYSTEM BIOLOGY

Il metabolismo del Paracetamolo

REPOSITORY GITHUB:

https://github.com/enriusco/Acetaminophen_Metabolism_Deterministic_Simulation



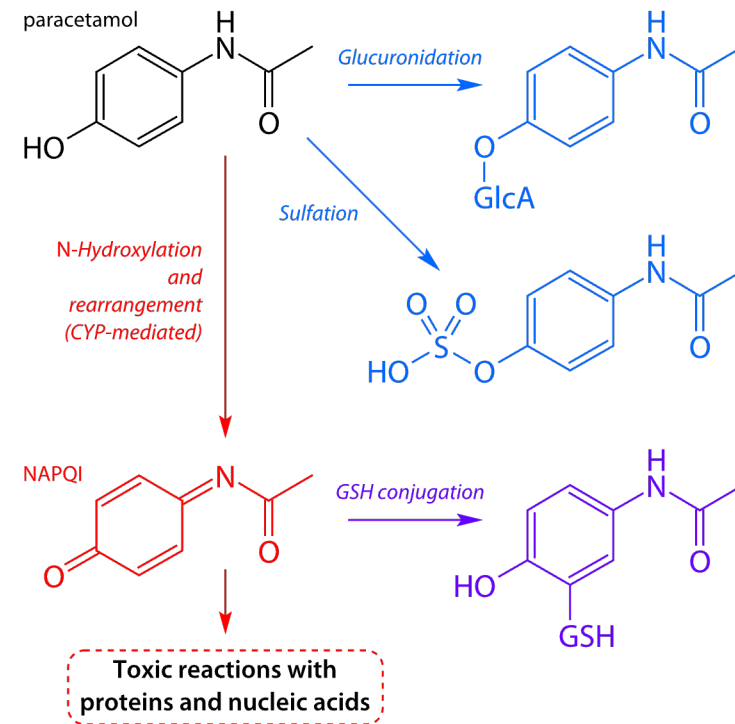
A.A. 2021/2022 – Bioinformatica

The biochemistry of acetaminophen hepatotoxicity and rescue: a mathematical model

Rotem Ben-Shachar¹, Yifei Chen², Shishi Luo³, Catherine Hartman³, Michael Reed^{3*} and H Frederik Nijhout^{4*}

Obiettivo

È stato valutato l'andamento del quantitativo di paracetamolo nei diversi distretti (intestino, fegato, plasma, tessuti) dell'organismo mediante un modello deterministico.



MOLECOLE COINVOLTE

		Descrizione
APAP	Acetaminophen	Acetaminofene è uno degli antidolorifici più utilizzati
PAPS	3'-Phosphoadenosine-5'-Phosphosulfate	Derivato dell'adenosina monofosfato fosforilata in posizione 3' che presenta gruppo solfato impegnato in un legame solfo-fosfo-anidridico con il gruppo fosfato in posizione 5'
APAP-S	APAP-sulfonate	Solfonato è un sale di un acido solfonico
APAP-G	APAP-glucoronidate	Glucoronide è una qualsiasi sostanza che si ottiene dal legame di una molecola con acido glucuronico attraverso legame glicosidico
NAPQI	N-acetyl-p-benzoquinone imine	Sottoprodotto tossico che si forma durante il metabolismo del paracetamolo
GSH	Glutathione	Antiossidante prodotto naturalmente dal fegato che ha un'azione epatoprotettiva
NAPQI-GSH	NAPQI conjugated with glutathione	NAPQI coniugato con il glutathione
NAPQI-COV	Covalent binding of NAPQI	Legame covalente del NAPQI

ENZIMI COINVOLTI

		Descrizione
SULT	Sulfotransferase	Serie di enzimi appartenente alla famiglia transferasi che catalizzano la transizione del gruppo solfo da una molecola donatrice a una molecola recettrice, normalmente una alcoli o una ammina
UGT	Glucoronosyltransferase	Indica una famiglia di enzimi che attaccano un ampio raggio di substrati, tra cui fenoli, alcoli, ammine ed acidi grassi.
CYP	Cytochrome P-450 oxidase	Superfamiglia enzimatica di emoproteine presente in tutti i domini dei viventi, appartenente alla sottoclasse enzimatica delle ossidasi a funzione mista
GST	Glutathione S-transferase	Famiglia di isoenzimi metabolici eucariotici e procariotici di fase II noti per la loro capacità di catalizzare la coniugazione della forma ridotta di glutathione a substrati xenobiotici ai fini della disintossicazione

METABOLISMO PARACETAMOLO

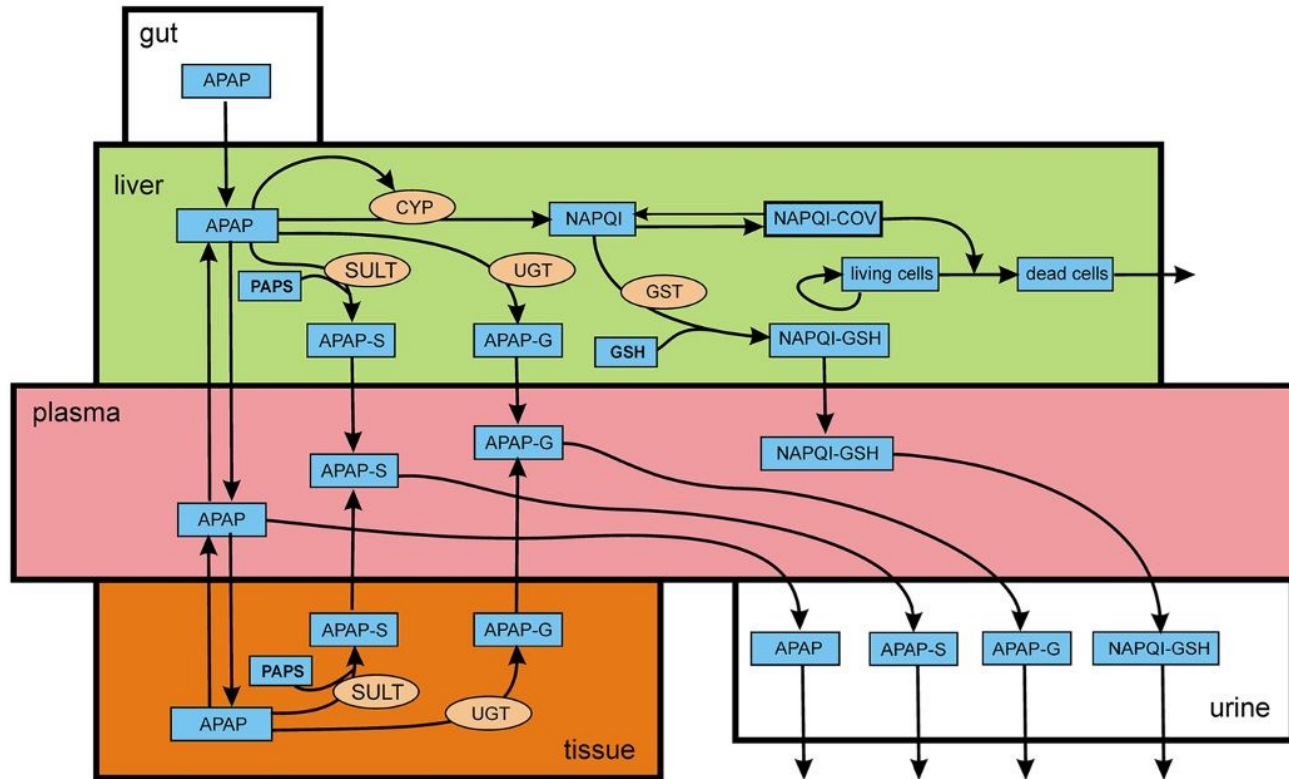


Figure 1 Acetaminophen metabolism. Blue boxes indicate substrates: APAP, acetaminophen; APAP-S, APAP-sulfonate; APAP-G, APAP-glucuronide; NAPQI, N-acetyl-p-benzoquinone imine; NAPQI-COV, covalent binding of NAPQI; NAPQI-GSH, NAPQI conjugated with glutathione; PAPS, 3'-Phosphoadenosine-5'-phosphosulfate; GSH, glutathione. The light orange ovals indicate the enzymes that catalyze reactions: SULT, sulfotransferase; UGT, glucuronosyltransferase; CYP, cytochrome P-450 oxidase; GST, glutathione S-transferase.

Variabile	Descrizione
gAPAP	Paracetamolo nell'intestino
lAPAP	Paracetamolo nel fegato
pAPAP	Paracetamolo nel plasma
tAPAP	Paracetamolo nei tessuti

```

Kind> Det
Rules>
gAPAP -> lAPAP; 4
lAPAP + CYP -> lNAPQI; 0.99
lNAPQI -> lNAPQI_COV; 1000.0
lNAPQI_COV -> lNAPQI; 0.2500
lNAPQI + lGSH + GST -> lNAPQI_GSH; 72000
lAPAP + UGT -> lAPAP_G; 19110
lAPAP + lPAPS + SULT -> lAPAP_S; 1785
lAPAP -> pAPAP; 0.2025
pAPAP -> lAPAP; 0.0225
lAPAP_S -> pAPAP_S; 0.2400
lAPAP_G -> pAPAP_G; 0.3024
lNAPQI_GSH -> pNAPQI_GSH; 0.3000
pAPAP -> uAPAP ; 0.0600
pAPAP_S -> uAPAP_S; 4.0000
pAPAP_G -> uAPAP_G; 3.8000
pNAPQI_GSH -> uNAPQI_GSH; 0.4000
pAPAP -> tAPAP; 0.3900
tAPAP -> pAPAP; 0.7800
tAPAP + tPAPS + SULT -> tAPAP_S; 357
tAPAP_S -> pAPAP_S; 0.0913
tAPAP + UGT -> tAPAP_G; 3822
tAPAP_G -> pAPAP_G; 0.5171
uAPAP -> urine; 1.5400
uAPAP_S -> urine; 1.5400
uAPAP_G -> urine; 1.5400
uNAPQI_GSH -> urine; 1.5400
<Rules

X0>
gAPAP = 1200
<X0

```

REGOLE DECISIONALI

Ad ogni reazione viene associata la relativa costante k

Per le reazioni che coinvolgono gli enzimi *CYP*, *SULT*, *UGT*, *GST* è stata utilizzata la velocità massima di reazione (V_{max})

Per l'enzima *CYP* la sua velocità è data da:

$$V_{CYP} = (V_{CYP1A2}(lapap) + V_{CYP2E1}(lapap) + V_{CYP3A4}(lapap)) \left(1 + \frac{p \cdot (lapap)^n}{d^n + (lapap)^n} \right)$$

La velocità V_{CYP3A4} domina sulle altre velocità coinvolte, quindi viene considerata solo questa parte come costante di reazione.

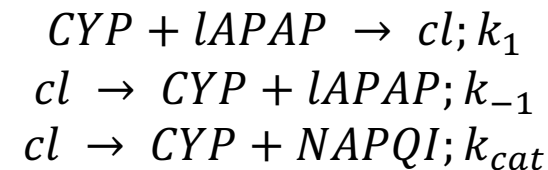
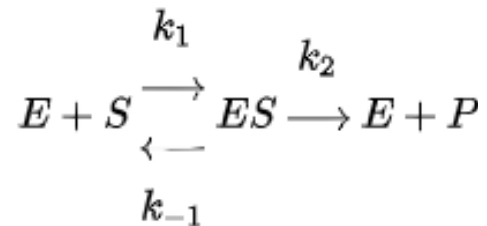
Per l'enzima *UGT* la sua velocità è data dalla somma delle componenti: $V_{UGT1} + V_{UGT2} + V_{UGT3} + V_{UGT4}$

MICHEALIS MENTEN

Le velocità di reazione possono variare da 0 alla velocità massima (V_{max}).
Nelle *rewriting rules* è stato utilizzato si è utilizzato V_{max} per semplicità.

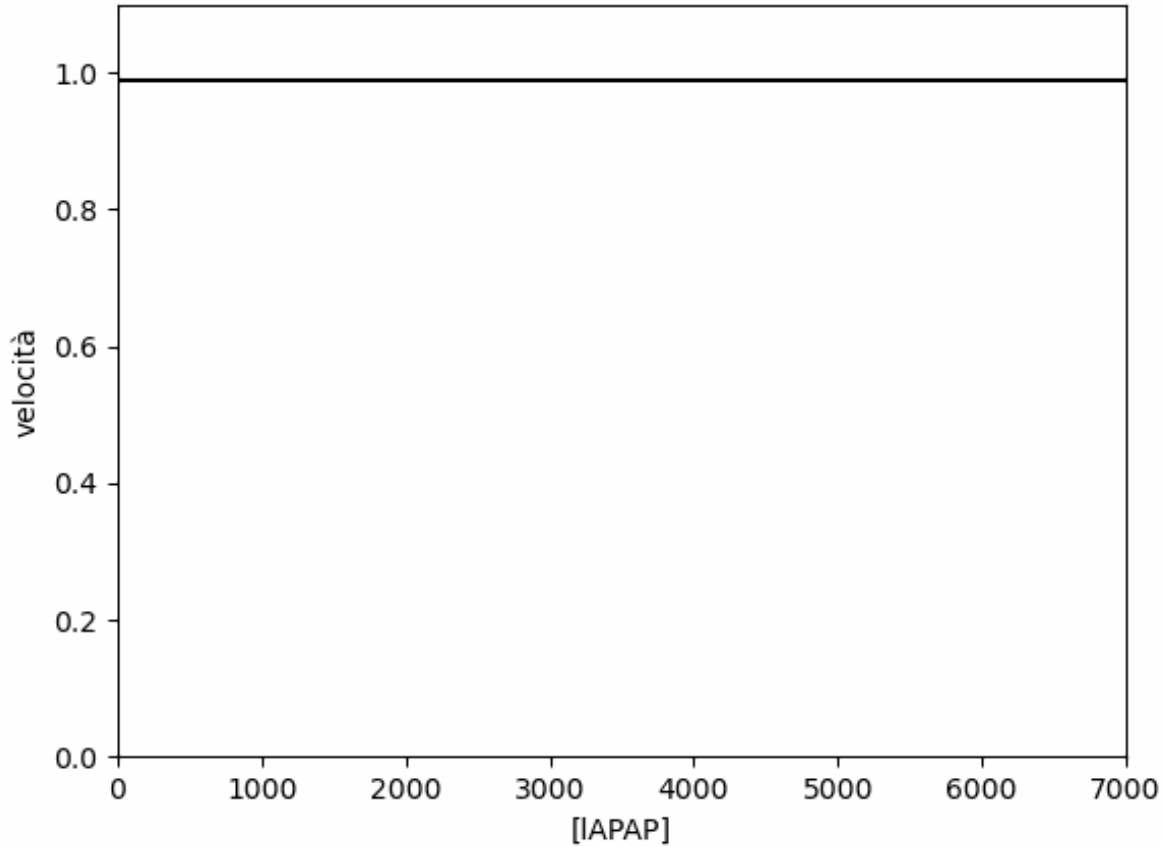
Queste velocità potrebbero essere riscritte secondo la cinetica di Michealis Menten (1913) che descrive l'andamento della velocità di reazione catalizzata da enzimi, al variare della concentrazione del substrato e dell'enzima.

Ad esempio per l'enzima citocromo p-450 ossidasi:



E: enzima S: substrato P: prodotto

Andamento della velocità secondo M.M.



La velocità relativa all'enzima *citocromo p450 ossidasi (CYP)* secondo la dinamica di Michealis-Menten tende alla sua velocità massima, in questo caso pari a 0.99. Per questo motivo nelle regole decisionali è stata considerata solo la velocità massima.

$$V = \frac{V_{max}[IAPAP]}{K_M + [IAPAP]}$$

```
lista = []
for irex, frow in df3.iterrows():
    riga = frow.tolist()
    IAPAP = riga[0]
    V_CYP = (0.99*IAPAP)/(276+IAPAP)
    lista.append([IAPAP, V_CYP])
```

Il metodo `.iterrows()` genera un oggetto iteratore del DataFrame, consentendo di iterarne ogni riga. Ogni iterazione produce un oggetto indice e un oggetto riga (oggetto Pandas Series).

MODELLO DETERMINISTICO

I modelli deterministici sono i più semplici, in cui le variabili input assumono valori fissi non tenendo conto dell'effetto del caso.

Essi prevedono la conoscenza degli stati del sistema fino al tempo t permettendone la previsione univoca al tempo $t + \Delta t$.

I sistemi di equazioni differenziali possono essere utilizzati ogni qual volta sia possibile una relazione funzionale tra una funzione e la sua derivata.

Data la variazione del sistema nel tempo, le equazioni differenziali (ODE) ricostruiscono il suo comportamento, mediante la risoluzione del problema di Cauchy:

$$\begin{cases} \frac{dy(t)}{dt} = f(y(t), t) \\ y(t = 0) = y_0 \end{cases} \Rightarrow y(t) = ?$$

Modifiche al codice

Codice per ottenere il grafico delle sole concentrazioni di paracetamolo. Sono state selezionate le sole variabili di interesse dal dizionario *dictAlphabet* che contiene le 26 variabili delle *rewriting rules*.

```
plt.xlabel('tempo (h)', fontsize=22)
plt.ylabel('concentrazione (mg)', fontsize=22)
for spec in dictAlphabet:
    lista = [dictAlphabet['lAPAP'], dictAlphabet['gAPAP'], dictAlphabet['pAPAP'], dictAlphabet['tAPAP']]
    plt.plot(time, y[:, lista] * Vol * 6.022e23, '-', label=spec)

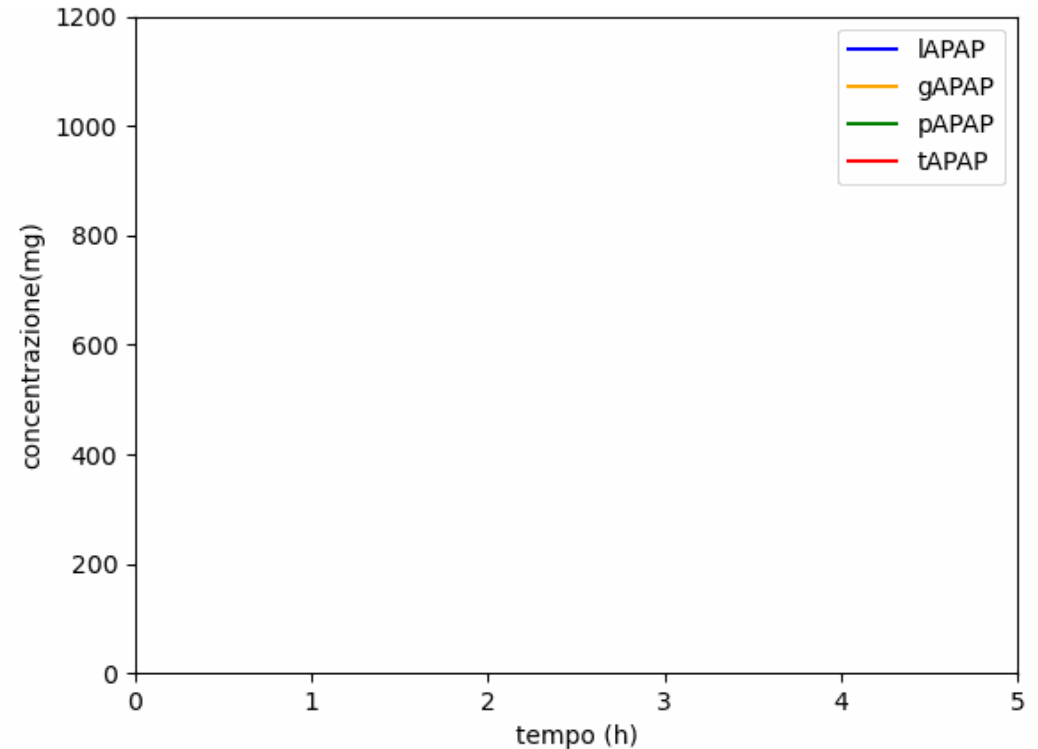
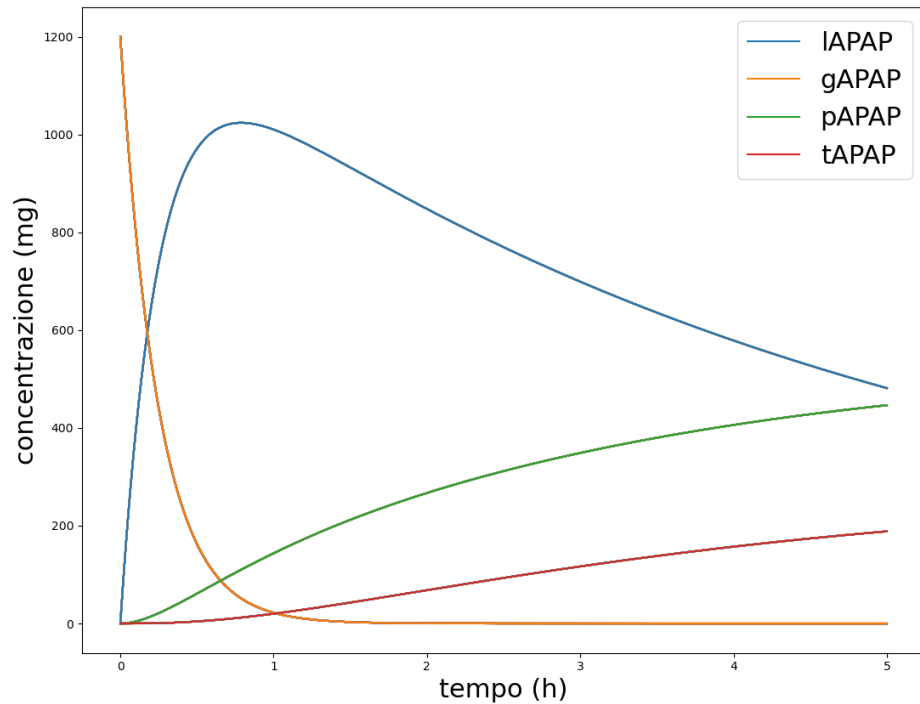
plt.legend(['lAPAP', 'gAPAP', 'pAPAP', 'tAPAP'], fontsize=22)
fileName = fileModelName + 'ODEpy.png'
plt.savefig(fileName, format='png')
plt.show()
```

Codice per salvare in formato *.csv* i valori di paracetamolo nei distretti in funzione del tempo.

```
import pandas as pd
df=pd.DataFrame(list(zip(time,
y[:, dictAlphabet['lAPAP']] * Vol * 6.022e23,
y[:, dictAlphabet['gAPAP']] * Vol * 6.022e23,
y[:, dictAlphabet['pAPAP']] * Vol * 6.022e23,
y[:, dictAlphabet['tAPAP']] * Vol * 6.022e23)),
columns=['time', 'lAPAP', 'gAPAP', 'pAPAP', 'tAPAP'])
df.to_csv("example.csv", index=False)
```

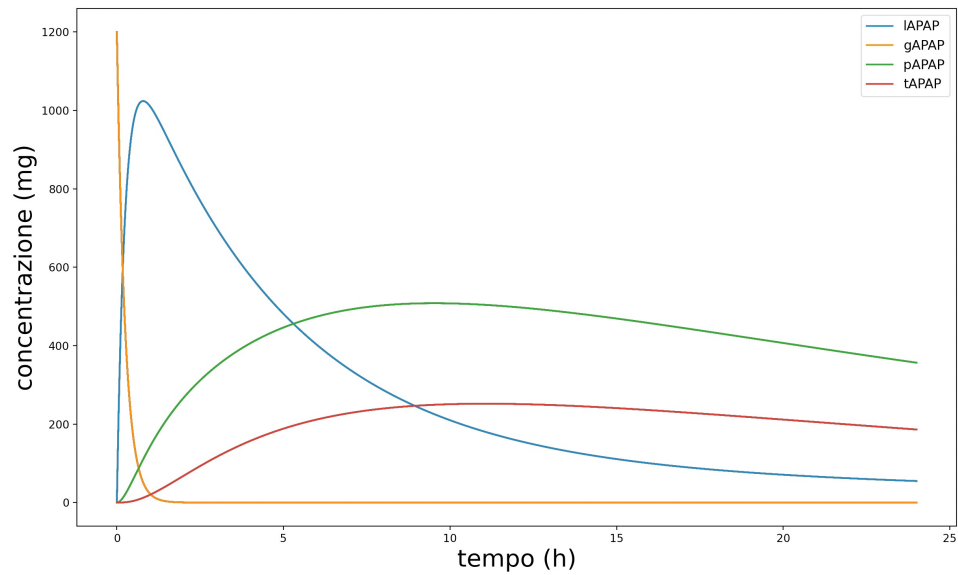
RISULTATI

- In linea con le aspettative la concentrazione di paracetamolo nell'intestino inizia a diminuire subito dopo l'assunzione.
- Dopo circa un'ora il fegato raggiunge la massima concentrazione di paracetamolo ed inizia a metabolizzarlo.
- Le concentrazioni di tAPAP e pAPAP aumentano con pendenze differenti al diminuire di [IAPAP]

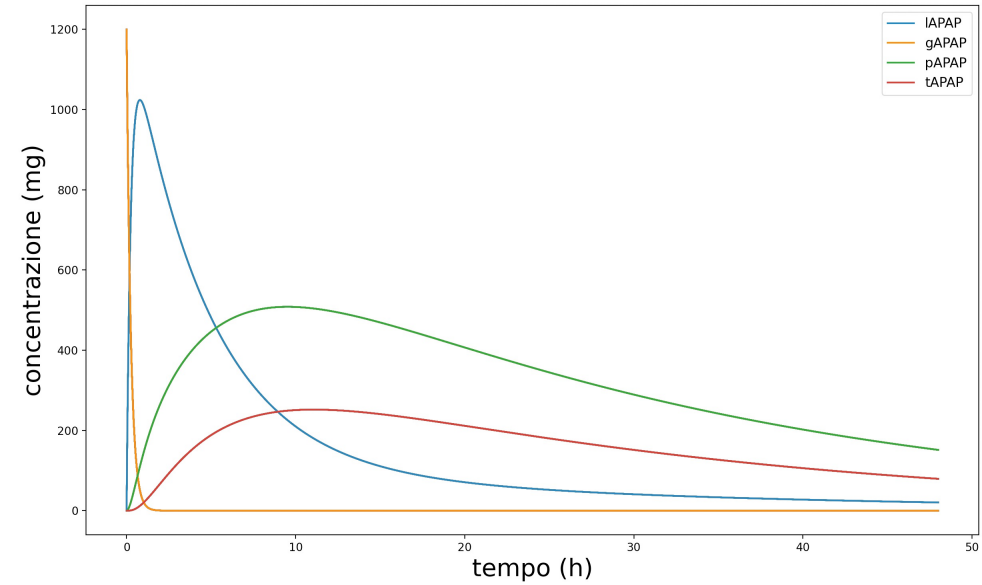


RISULTATI: concentrazioni in funzione del tempo

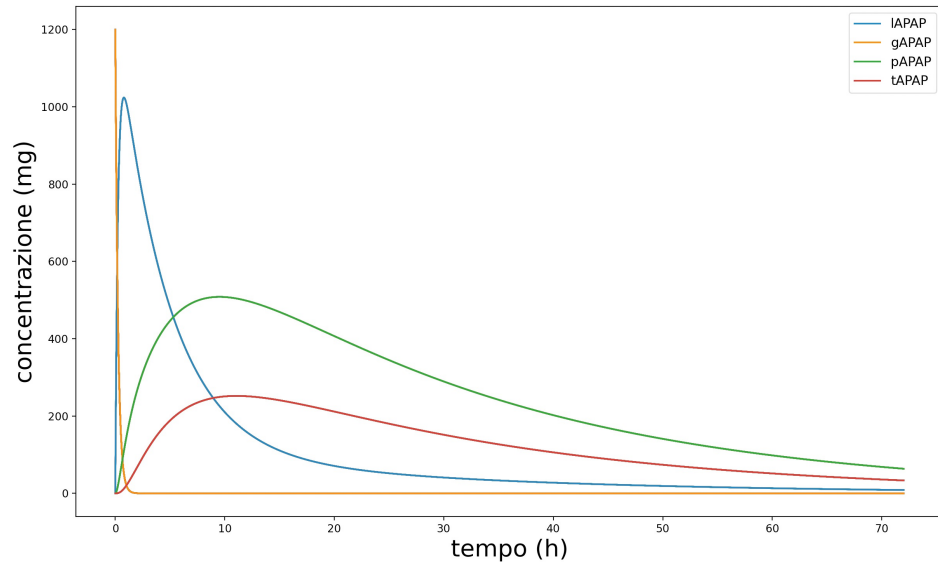
24 ore



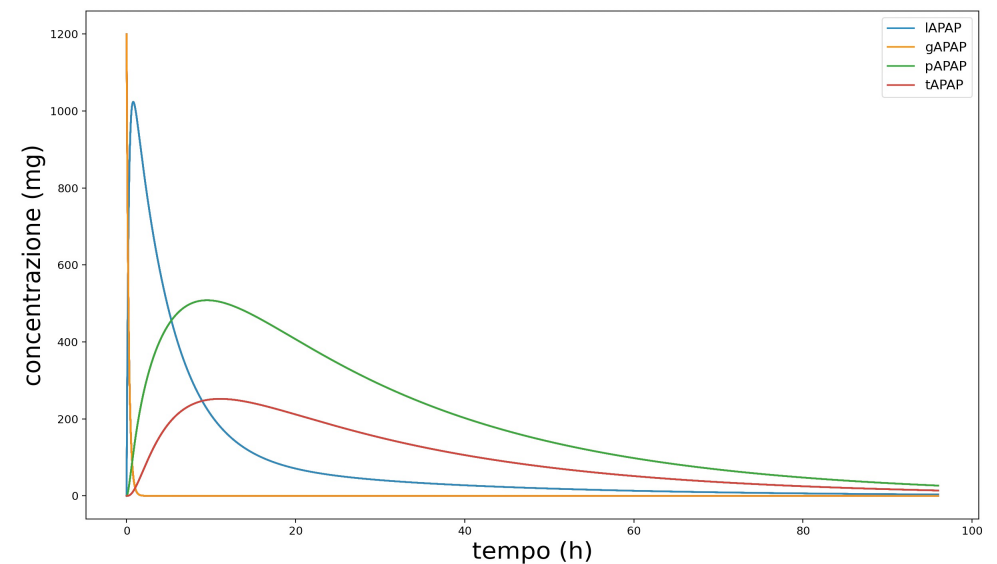
48 ore



72 ore



96 ore



Codice Matplotlib

```
1 import matplotlib
2 import matplotlib.pyplot as plt
3 from matplotlib.animation import PillowWriter
4
5 def caricafile(fname):
6     apri = open(fname, 'r')
7     leggi = apri.readlines()[1:]
8     lista = []
9     for line in leggi:
10         line = line.strip('\r\n').split(',')
11         time = float(line[0])
12         lAPAP = float(line[1])
13         gAPAP = float(line[2])
14         pAPAP = float(line[3])
15         tAPAP = float(line[4])
16
17         lista.append([time, lAPAP, gAPAP, pAPAP, tAPAP])
18
19     return lista
20
21 liste = caricafile('example.csv')
22 liste = liste[1:10000:50]
23
24 fig = plt.figure()
25 l, = plt.plot([], [], 'b-')
26 l2, = plt.plot([], [], 'orange')
27 l3, = plt.plot([], [], 'g-')
28 l4, = plt.plot([], [], 'r-')
29 p1, = plt.plot([], [], 'k')
30 p2, = plt.plot([], [], 'm')
31 p3, = plt.plot([], [], 'm')
32 p4, = plt.plot([], [], 'm')
33
34 plt.xlabel('tempo (h)')
35 plt.ylabel('concentrazione(mg)')
36 plt.title('Concentrazione di paracetamolo')
37 plt.legend(["lAPAP", "gAPAP", "pAPAP", "tAPAP"])
38 plt.xlim(0, 5)
39 plt.ylim(0, 1200)
40
```

```
41 xlist = []
42 xlist2 = []
43 xlist3 = []
44 xlist4 = []
45 ylist = []
46 ylist2 = []
47 ylist3 = []
48 ylist4 = []
49
50 metadata = dict(title='Movie', artist='codinglikemad')
51 writer = PillowWriter(fps=15, metadata=metadata)
52
53 i=0
54 with writer.saving(fig, "APAP.gif", 100):
55     while i < len(liste)-1:
56
57         xlist.append(liste[i][0]) #time
58         xlist2.append(liste[i][0]) #time
59         xlist3.append(liste[i][0]) #time
60         xlist4.append(liste[i][0]) #time
61         ylist.append(liste[i][1]) #lAPAP
62         ylist2.append(liste[i][2]) #gAPAP
63         ylist3.append(liste[i][3]) #pAPAP
64         ylist4.append(liste[i][4]) #tAPAP
65         l.set_data(xlist,ylist)
66         l2.set_data(xlist2,ylist2)
67         l3.set_data(xlist3,ylist3)
68         l4.set_data(xlist4,ylist4)
69         p1.set_data(liste[i][0],liste[i][1])
70         p2.set_data(liste[i][0],liste[i][2])
71         p3.set_data(liste[i][0],liste[i][3])
72         p4.set_data(liste[i][0],liste[i][4])
73
74     writer.grab_frame()
75     i+=1
76
```



CRITICITÀ RISCONTRATE

- Comprensione dell'articolo
- Ricavare dalla letteratura le velocità di reazioni composte (più complesse)
- Applicazione delle dinamiche Michealis Menten
- Attuazione grafico con la libreria Matplotlib