

## Моделирование реакции «фермент–субстрат» в ткани

Игорь Селезов<sup>1</sup>, Владимир Берсенев<sup>2</sup>, Лариса Морозова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> д. ф.-м. н., профессор, Институт гидромеханики НАН Украины, ул. Желябова, 8/4, Киев, 03680, e-mail: selezov@uninet.kiev.ua

<sup>2</sup> к. м. н., Институт проблем боли, ул. Лысенко, 1, Киев, 01034, e-mail: pain@doctorbersenev.org

<sup>3</sup> Институт гидромеханики НАН Украины, ул. Желябова, 8/4, Киев, 03680

*Исследуется задача о взаимодействии вводимого в ткань препарата (фермента) с его структурой (субстратом). При решении задачи не вводится ограничение на малость величины фермента, которое принималось ранее [1]. Построены аналитические решения соответствующей задачи Коши методом степенных рядов и численные решения методом Рунге-Кутты-Фельберга. Представлены аналитические и численные результаты, характеризующие изменение концентрации субстрата и фермент-субстратного комплекса с увеличением времени.*

**Ключевые слова:** фермент, субстрат, ткань, математическое моделирование.

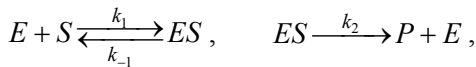
**Введение.** При введении (инъекции) в ткань медицинского препарата имеет место локальное взаимодействие введенного препарата с тканью, что описывается физико-химической реакцией. Это имеет непосредственное отношение к лечению пораженных участков ткани, когда лекарственный препарат доставляется в окрестность такого участка, что реализуется, например, в рефлексометамерной терапии позвоночника [1]. Очевидно, что различные препараты по-разному взаимодействуют с тканью, и эффективность лечения зависит существенно как от вида препарата, так и от его дозы. Взаимодействие препарата с тканью протекает в процессе физико-химической реакции, которая может быть представлена в виде математической модели. В данном сообщении представлен приближенный теоретический анализ этого явления [2-4].

Модель взаимодействия «фермент-субстрат» была предложена в работе [5], а в математическом описании представлена в 1967 г. Модель основана на предположении, что свободный фермент и субстрат сначала образуют в ходе обратимой реакции фермент-субстратный комплекс, который в свою очередь распадается, образуя вновь свободный фермент и продукт [6-8]. Rashevsky [9, 10] отмечает возможность периодичности явлений концентрации в реакции двух или более веществ, что обычно не учитывают.

В дальнейшем Segel и Slemrod (1989) [11] проводили математический анализ биохимической реакции, когда фермент (с концентрацией  $E$ ) реагирует обратимо с другим веществом (с концентрацией  $S$ ) и таким образом формирует фермент-субстратный комплекс (с концентрацией  $C$ ). Рассматривается задача в случае малой концентрации фермента, что приводит к исследованию сингулярно

вырожденной системы [8]. Соответствующим масштабированием вводятся два малых параметра и проводится анализ. Kosmidis et al. [12] изучали влияние сегрегации на кинетику реакции фермента на основе микроскопической фармакокинетической модели и применение к анализу метода Монте-Карло. Представленные там исследования объясняют возможные сценарии реакций в беспорядочных средах. В работе [12] в рамках модели Михаэлиса-Ментона рассмотрен процесс биосинтеза натурального каучука и предложена математическая модель, описывающая процесс системой дифференциальных уравнений. Изучены квазистационарные состояния, в которых скорости промежуточных реакций в цепи не меняются во времени, и установлена сходимость к этим состояниям.

Рассмотрим механизм отдельной необратимой реакции. Фермент  $E$  и субстрат  $S$  образуют фермент-субстратный комплекс  $ES$ , который затем частично распадается на продукт  $P$  и фермент  $E$ , а частично распадается обратно на субстрат  $S$  и фермент  $E$ . Схематически это выглядит следующим образом



или



Здесь  $k_1$  — константа скорости, с которой субстрат и фермент образуют субстрат-ферментный комплекс,  $k_{-1}$  — константа скорости, с которой субстрат-ферментный комплекс распадается обратно на субстрат и фермент,  $k_2$  — константа скорости, с которой комплекс распадается на продукт и фермент.

Дифференциальные уравнения для скоростей изменения концентраций, описывающие реакцию (1), запишем в следующем виде:  
скорость роста фермент-субстратного комплекса

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - [ES](k_{-1} + k_2), \quad (2)$$

скорость образования продукта реакции

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES],$$

скорость изменения концентрации субстрата

$$\frac{d[S]}{dt} = k_{-1}[ES] - k_1[S]([E]_0 - [ES]), \quad (3)$$

где  $t$  — время.

Первым ключевым предположением в этом выводе является предположение о квазистационарности состояния, т. е. о том, что концентрация субстрат-ферментного комплекса  $[ES]$  изменяется гораздо медленнее, чем концентрация продукта  $[P]$  и субстрата  $[S]$ . Это позволяет устремить скорость изменения  $[ES]$  к нулю, т. е.

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0.$$

Вторым ключевым предположением является то, что в течение всего времени реакции суммарное количество фермента в виде свободного фермента  $[E]$  и фермента в фермент-субстратном комплексе  $[ES]$  не меняется и равно концентрации фермента в начальный момент времени  $[E]_0$ , т. е.

$$[E]_0 = [E] + [ES] \equiv const. \quad (4)$$

Следовательно, начальная скорость реакции определяется из следующего уравнения

$$\frac{d[P]}{dt} = V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{K_M + [S]},$$

где  $V_{\max}$  — максимальная скорость реакции,  $K_M$  — константа Михаэлиса для фермента

$$V_{\max} = k_2[E]_0, \quad K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}.$$

В дальнейшем соответствующие концентрации субстрата  $[S]$ , фермента  $[E]$ , фермент-субстратного комплекса  $[ES]$  и продукта  $[P]$  обозначим как  $s$ ,  $e$ ,  $c$  и  $p$ , соответственно. Рассматриваемая реакция описывается системой двух нелинейных обыкновенных дифференциальных уравнений

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s + (k_1 s + k_{-1}) c, \\ \frac{dc}{dt} &= k_1 e_0 s - (k_1 s + k_{-1} + k_2) c. \end{aligned}$$

В данной работе построены и анализируются решения задачи о реакции «фермент-субстрат» в рамках модели Михаэлиса-Ментона в более общем случае, когда на начальную концентрацию фермента нет никаких ограничений.

Первое обобщение представлено построением и анализом приближенного аналитического решения соответствующей задачи Коши в виде разложения по степеням временной координаты  $t$ , справедливого для малых времен взаимодействия, но условие на малость фермента  $x(t)$  не налагается. Удерживается больше членов в разложениях, чем ранее [14-16].

Второе обобщение представлено численным решением этой задачи методом Рунге-Кутта-Фельберга, справедливым для больших времен и немалых величин  $x(t)$ , т. е. для сильных взаимодействий, когда величины фермента  $x(t)$  и фермент-субстратного комплекса  $y(t)$  одного порядка,  $x \sim y$ . Результаты представлены в безразмерной форме и могут применяться для оценок взаимодействия в случае любых реальных препаратов.

## 1. Математическая постановка задачи и решение

Математическая модель может быть представлена в виде задачи Коши для системы обыкновенных дифференциальных уравнений относительно двух функций  $x(t)$  и  $y(t)$

$$\frac{dx}{dt} = -x + (x + \mu - \lambda)y, \quad (5)$$

$$\varepsilon \frac{dy}{dt} = x - (x + \mu)y \quad (6)$$

при начальных условиях

$$x(0) = 1, \quad y(0) = 0. \quad (7)$$

Уравнения (5)-(7) представлены в безразмерном виде в соответствии с формулами

$$t^* = k_1 e_0 t, \quad \lambda = k_2 / k_1 s_0, \quad \mu = (k_{-1} + k_2) / k_1 s_0,$$

$$x(t) = \frac{s(t)}{s_0}, \quad y(t) = \frac{c(t)}{e_0}, \quad \varepsilon = \frac{e_0}{s_0},$$

где  $s_0$ ,  $e_0$  и  $c_0$  — начальные концентрации субстрата, фермента и ферментно-субстратного комплекса;  $k_1$  и  $k_{-1}$  — скорости прямой и обратной реакций;  $k_2$  — скорость вторичной реакции. Звездочка в безразмерном времени  $t^*$  всюду опущена.

Необходимо отметить, что система уравнений (5), (6) сильно связанная и сильно нелинейная и построение аналитических решений задачи Коши (5)-(7) проблематично.

Обычно, когда медицинский препарат вводится на достаточном удалении от зоны лечения, его концентрация в этой зоне величина очень малая. Следовательно, параметр  $\varepsilon$ , характеризующий начальную концентрацию фермента, от которой начинается реакция, величина очень малая,  $\varepsilon \ll 1$ . В этом случае задача (5)-(7) относится к сингулярно вырожденной, поскольку имеется малый параметр  $\varepsilon$  при производной.

В случае малой концентрации фермента,  $\varepsilon \ll 1$ , приближенное решение сингулярно вырожденной задачи (5)-(7) может быть получено методом сращиваемых асимптотических разложений [8].

В случае нейрометамерной рефлексотерапии, когда медицинский препарат (фермент) доставляется в ближайшую окрестность области лечения, величина  $\varepsilon$  не малая, и тогда сингулярное вырождение не имеет места. Это приводит к необходимости рассмотрения задачи (5)-(7) при произвольных величинах  $\varepsilon$ , что существенно усложняет анализ, требующий построения решений сильно нелинейной связанной системы дифференциальных уравнений (5), (6).

Здесь построим аналитические решения разложением искомых функций по временной координате  $t$ . При этом мы не накладываем никаких ограничений на величину фермента  $\varepsilon$ .

Разложения искомых функций  $x(t)$  и  $y(t)$  с учетом начальных условий (7) представляем в виде рядов

$$x(t) = 1 + a_1 t + a_2 t^2 + \dots, \quad y(t) = 0 + b_1 t + b_2 t^2 + \dots \quad (8)$$

Эти ряды при малых  $t$  будут сходящимися. После подстановки рядов (8) в уравнения (5), (6) получаем систему уравнений, содержащую члены с возрастающими степенями

$t$ . Приравнявая коэффициенты при одинаковых степенях  $t$ , получаем выражения для коэффициентов  $a_k$  и  $b_k$ . Удерживая в разложениях (8) три члена, получаем

$$a_1 = -1, \quad a_2 = \frac{1}{2} + \frac{(1 + \mu - \lambda)}{2\varepsilon}, \quad b_1 = \frac{1}{\varepsilon}, \quad b_2 = -\frac{1}{2\varepsilon} - \frac{(1 + \mu)}{2\varepsilon^2}.$$

В результате для функций  $x(t)$ ,  $y(t)$  имеем

$$x(t) \cong 1 - t + \frac{1}{2} \left[ 1 + \frac{1}{\varepsilon} (1 + \mu - \lambda) \right] t^2, \quad (9)$$

$$y(t) \cong 0 + \frac{1}{\varepsilon} t - \frac{1}{2\varepsilon} \left[ 1 + \frac{1}{\varepsilon} (1 + \mu) \right] t^2. \quad (10)$$

На основе разложений (8) были проведены расчеты с удержанием большего числа членов, чем в формулах (9) и (10) ( $k = 3, 5$  и  $9$ ).

Приведем выражения для коэффициентов  $a_3, a_4, a_5$  и  $b_3, b_4, b_5$ . Обозначим  $\mu + 1 = d$ ,  $\mu + 1 - \lambda = f$ . Тогда коэффициенты запишем в следующем виде

$$a_1 = -1; \quad b_1 = \frac{1}{\varepsilon}; \quad a_2 = \frac{1}{2} + \frac{f}{2\varepsilon}; \quad b_2 = -\frac{1}{2\varepsilon} - \frac{d}{2\varepsilon^2};$$

$$a_3 = -\frac{1}{6} - \frac{f+1}{3\varepsilon} - \frac{fd}{6\varepsilon^2}; \quad b_3 = \frac{1}{6\varepsilon} + \frac{d+f+2}{6\varepsilon^2} + \frac{d^2}{6\varepsilon^3};$$

$$a_4 = \frac{1}{24} + \frac{8+3f}{24\varepsilon} + \frac{f^2 + (5+2d)f + 3d}{24\varepsilon^2} + \frac{fd^2}{24\varepsilon^3};$$

$$b_4 = -\frac{1}{24\varepsilon} - \frac{2f+d+8}{24\varepsilon^2} - \frac{(3+2d)f+d(d+5)}{24\varepsilon^3} - \frac{d^3}{24\varepsilon^4};$$

$$a_5 = -\frac{1}{120} - \frac{22+4f}{120\varepsilon} - \frac{3f^2 + (31+3d)f + 13d + 16}{120\varepsilon^2} -$$

$$-\frac{3f^2 + 4d^2 + df(2f+2d+15)}{120\varepsilon^3} - \frac{fd^3}{120\varepsilon^4};$$

$$b_5 = \frac{1}{120\varepsilon} + \frac{3f+d+22}{120\varepsilon^2} + \frac{f^2 + (23+4d)f + d(d+21)+16}{120\varepsilon^3} +$$

$$+\frac{d^2(d+9)+df(3d+13)}{120\varepsilon^4} + \frac{d^4}{120\varepsilon^5}.$$

## 2. Анализ результатов

На рис. 1 представлены результаты расчетов, полученные численным методом Рунге-Кутты-Фельберга и методом степенных рядов. Из сравнения видно, что до некоторого значения времени приближение рядами дает приемлемые результаты и характеризует тенденцию распространения препарата.

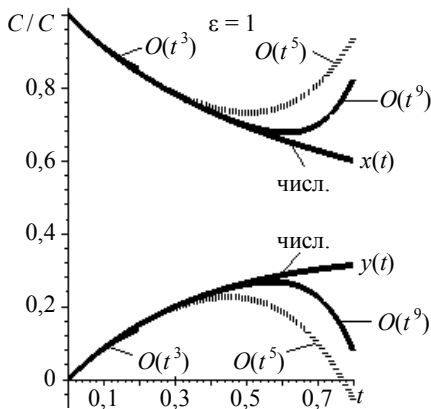


Рис. 1. Сравнение результатов, полученных численным методом Рунге-Кутты-Фельберга и методом степенных рядов

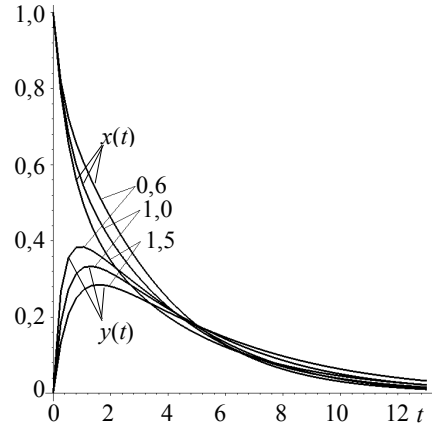


Рис. 2. Изменение концентрации субстрата  $x(t)$  и фермент-субстратного комплекса  $y(t)$  при  $\mu = 1,0$  и  $\lambda = 0,5$  для различных значений  $\varepsilon = 0,6; 1,0; 1,5$

Из представленных на рис. 2 графиков видно, что чем меньше значение  $\varepsilon$ , тем быстрее достигается максимум концентрации фермент-субстратного комплекса. Значения максимума увеличиваются с уменьшением  $\varepsilon$ . С уменьшением  $\varepsilon$  точка пересечения графиков функций  $x(t)$  и  $y(t)$  смещается вправо. Концентрация субстрат-ферментного комплекса изменяется гораздо медленнее, чем концентрация субстрата.

Для  $\varepsilon \ll 1$  с определенного времени концентрации фермент-субстратного комплекса и субстрата совпадают. Для  $\varepsilon > 1$  концентрация субстрата быстрее стремится к нулю, чем концентрация фермент-субстратного комплекса.

**Выводы.** Как видно, при увеличении начальной концентрации фермента  $\varepsilon$  концентрация фермент-субстратного комплекса  $y(t)$  нарастает медленнее, и соответствующий максимум достигается позже, т. е. время образования комплекса  $y(t)$  (продолжительность реакции) возрастает (рис. 2).

Отметим также, что с уменьшением  $\varepsilon$ , т. е. при сингулярном вырождении, точность полученных решений падает. Даже при  $\varepsilon = 0,2$  аппроксимация формулами (8) до членов порядка  $t^2$  слабая.

## Литература

- [1] Берсенева, В. А. Метамерия / В. А. Берсенева. — Киев: СМП «Аверс», 2003. — 264 с.
- [2] Селезов, И. Т. Математическое моделирование распространения лекарственных препаратов от инъекции / И. Т. Селезов, В. А. Берсенева // Материалы 11 междунар. научно-практической конференции «Прикладные задачи математики и механики». — Севастополь, 16-21 сентября 2002, Изд-во СевНТУ. — С. 267-271.
- [3] Селезов, И. Т. Теоретический анализ реакции фермент-субстрат / И. Т. Селезов, В. А. Берсенева // Материалы 13-ой междунар. научной конференции. «Прикладные задачи математики и механики». — Севастополь, 12-16 сентября 2005 г., Изд-во СевНТУ. — С. 143-146.
- [4] Селезов, И. Т. Нейрометамерия. Математическое моделирование и физиологические аспекты / И. Т. Селезов, В. А. Берсенева. — Киев: СМП «Аверс», 2009. — 136 с.
- [5] Michaelis, L. The kinetics of invertase activity / L. Michaelis, M. L. Menten // Biochemisches Zeitschrift. — 1913. — Vol. 49. — P. 333-369.

- [6] *Cornish-Bowden, A. Principles of enzyme kinetics / A. Cornish-Bowden. — Butterworths, London, 1976. — 206 p.; то же: Корниш-Боуден, Э. Основы ферментативной кинетики / Э. Корниш-Боуден. — Москва: Мир, 1979. — 280 с.*
- [7] *Heineken, F. G. On the mathematical status of the pseudo-steady state hypothesis of biochemical kinetics / F. G. Heineken, H. M. Tsuchiya, K. Aris. — Math. Biosci., 1967. — Vol. 1. — P. 95-113.*
- [8] *Murray, J. D. Lectures on nonlinear-differential-equations models in biology / J. D. Murray. — Clarendon Press. Oxford, 1977. — 370 p.; то же: Мэрри, Дж. Нелинейные дифференциальные уравнения в биологии. Лекции о моделях / Дж. Мэрри. — Москва: Мир, 1983. — 398 с.*
- [9] *Rashevsky, N. Some medical aspects of mathematical biology / N. Rashevsky. — Illinois, USA: Springfield, 1964; то же: Рашевски, Н. Некоторые медицинские аспекты математической биологии / Н. Рашевски. — Москва: Мир, 1966. — 310 с.*
- [10] *Rashevsky, N. Mathematical biophysics. Physico-mathematical foundations of biology / N. Rashevsky. — Dover Publications, Inc. New York, 1960.*
- [11] *Segel, L. A. The quasi-steady-state assumption: a case study in perturbation / L. A. Segel, M. Slemrod // SIAM Review. — 1989. — Vol. 31, No 3. — P. 446-477.*
- [12] *Michaelis-Menten kinetics under spatially constrained conditions: application to mibefradil pharmacokinetics / K. Kosmidis, V. Karalis, P. Argyrakis, P. Macheras // Biophysical J. — 2004. — Vol. 87. — P. 1498-1506.*
- [13] *Математическое моделирование биохимических реакций на примере биосинтеза каучука / А. А. Васин, А. К. Гапоненко, А. Е. Теплов, А. Н. Маркеев // Математическая биология и биоинформатика. — 2006. — Т. 1, № 1. — С. 41-57.*
- [14] *Selezov, I. Medicine spreading in tissue from metameric injections / I. Selezov, V. Bersenev // Book of Abstracts, 5th Euromech Fluid Mechanics Conf., France, Toulouse, 24-28 August 2003. — P. 262.*
- [15] *Selezov, I. Some mathematical models of reflex-metameric therapy / I. Selezov, V. Bersenev // Proc. 5th World Congress of Biomechanics. July 29-4 August 2006, Germany, Munich, ed. D. Liepsch. — Medimond, 2006. — P. 485-489.*
- [16] *Selezov, I. Modeling of spreading of strong ferment-substrat interactions in tissue / I. Selezov, V. Bersenev, L. Morozova // Abstracts, Int. Conference on Dynamical System Modeling and Stability Investigation, Ukraine, Kiev, 27-29 May 2009. — P. 114.*

## **Modeling of «ferment–substrate» reaction in a tissue**

Igor Selezov, Vladimir Bersenev, Larisa Morozova

*The problem of interaction of medicine (ferment) inserted into a tissue with a tissue structure (substrate) is investigated. The limitations on smallness of the inserted ferment are not introduced unlike previous investigations [1]. Analytical solutions of corresponding Cauchy problem obtained by the power series method and numerical solutions by the Runge-Kutta-Felberg method are constructed. The analytic and numerical results that characterise the change of the substrate concentration and ferment-substrate complex with increasing time are presented.*

## **Модельовання реакції «фермент–субстрат» у тканині**

Igor Selezov, Володимир Берсенев, Лариса Морозова

*Досліджується задача про взаємодію препарату (ферменту), що постачається тканині, з його структурою (субстратом). Під час розв'язування задачі не введено обмеження на малість величини ферменту, що приймалось раніше [1]. При цьому на відміну від попередніх досліджень знято обмеження на малість підведеного ферменту. Побудовані аналітичні розв'язки відповідної задачі Коші методом степеневих рядів і числові розв'язки з використанням методу Рунге-Кутта-Фельберга. Наведені аналітичні та чисельні результати, що характеризують зміну концентрації субстрату та фермент-субстратного комплексу зі зростанням часу.*

Отримано 27.08.10