

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ИНГИБИРОВАНИЯ ИОНАМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

*Атаджанов И.Б.*

*ФГБОУ ВО Майкопский государственный технологический университет,  
385000, г. Майкоп, ул. Первомайская, д.191*

*e-mail: atadzanov.ilyas@yandex.ru*

*поступила в редакцию 4 июня 2018 года*

### Аннотация

Рассматриваются особенности прогностического моделирования активности ферментов в условиях токсического воздействия ингибиторов – ионов тяжелых металлов (на примере ионов  $Pb^{2+}$ ). Исходя из современных представлений о пространственном и конформационном строении ферментов – объектов моделирования предпринимается попытка сопоставления кинетических характеристик ферментативной реакции при введении в систему ионов – ингибиторов с имеющимися данными. Принимается во внимание классическая модель по Михаэлису-Ментен. Предлагается прикладное применение дифференциального уравнения Ферхюльста к анализу кинетических характеристик каталитических реакций в условиях ингибирования ионами тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** ферменты, гиперболические ферменты, аллостерические ферменты, ингибиторы, моделирование в химии, применение математического анализа в химии, дифференциальное уравнение Ферхюльста.

**Введение.** Хроническая интоксикация свинцом и его соединениями является одной из ведущих причин смертности населения в связи с неблагоприятной окружающей средой. Патогенез при отравлении свинцом и его соединениями демонстрирует клиническую картину резорбтивного воздействия отравляющих веществ. Преимущественному поражению подвергаются нервная, иммунная системы, система кроветворения и опорно-двигательный аппарат [1].

По имеющимся данным свинец на клеточном уровне способен выступать в роли ингибитора ферментных систем, в частности ингибировать активность порфириноген-синтазы (5-аминолевулинатдегидрогеназы) (4.2.1.24) – фермента, содержащего в качестве протетической группы ион  $Zn^{2+}$ , способный обратимо заменяться ионом  $Pb^{2+}$  [2, 3].

Анализ литературы показал, что количественного описания энзимопатий тяжелых металлов в отношении аллостерических ферментов нет. В настоящей статье предпринимается попытка вывести кинетические зависимости активности аллостерических ферментов в условиях ингибирования тяжелыми металлами.

По данным рентгеноструктурного анализа установлено, что 5-аминолевулинатдегидрогеназа (ALAD) состоит из 8 симметричных субъединиц, конформационно связанных тремя цистеиновыми мостиками с ионом  $Zn^{2+}$  (Рис. 1а) [4].

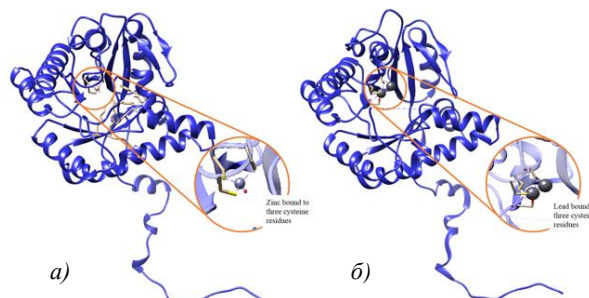
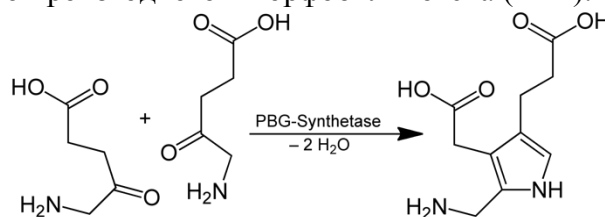


Рисунок 1. – Пространственная модель ALAD.  
Показаны конформационные связи с цинком (а) и со свинцом (б).

**Основная часть.** В условиях патологии ALAD связана с двумя ионами  $Pb^{2+}$  (Рис. 1б), так, что одна связь каждого из ионов  $Pb^{2+}$  является ковалентной, а другая – координационной.

ALAD катализирует реакцию асимметричной конденсации 2 молекул 5-аминолевулината с образованием пиррольного производного – порфобилиногена (ПБГ):



За один элементарный цикл катализа происходит образование 1 молекулы ПБГ. Реакция характеризуется некоторой константой скорости реакции  $k_i$  и в определенной степени согласуется с теорией Михаэлиса – Ментен:

$$v_{-1} = k_{-1} \cdot [E][S] \quad (1)$$

$$v_0 = k_0 \cdot [E][S] \quad (2)$$

где  $v_{-1}$ ;  $v_0$  – скорости прямой ингибированной и обратной реакций соответственно;

$k_{-1}$ ;  $k_0$  – константы скорости прямой ингибированной и обратной реакций соответственно;

$[E]$ ;  $[S]$ ;  $[P]$  – равновесные концентрации фермента, субстрата и продукта реакции соответственно.

Примем константу диссоциации фермент-субстратного комплекса ( $K_s$ ) как следующее соотношение:

$$K_m = \frac{k_0 + k_{+1}}{k_{-1}} \quad (3)$$

где  $k_{+1}$  – скорость прямой реакции.

Это соотношение называется константой Михаэлиса. Принимая  $[E]=const$ , а значения  $k_i \propto v_i$ , вводим полученные зависимости в сводное уравнение Михаэлиса – Ментен:

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} \cdot S}{K_m + [S]} \quad (4)$$

Предполагая, что между концентрациями  $[S]$  и  $[Pb^{2+}]$  существует обратная зависимость, т.е.

$$[Pb^{2+}] = [S]^{-1}, \quad (5)$$

и выполняя элементарные алгебраические преобразования уравнения (4) получаем:

$$V_{max} = [Pb^{2+}] \cdot (K_m + [S]) \quad (6)$$

Графическая интерпретация уравнения Михаэлиса – Ментен (Рис. 2) для системы с насыщением ингибитором представлена на Рис. 3. Ось абсцисс – логарифмическая, слева направо убывание концентрации  $[Pb^{2+}]$ . Убывание скорости прямой каталитической реакции в зависимости от насыщения системы ингибитором происходит с гиперболической зависимостью.

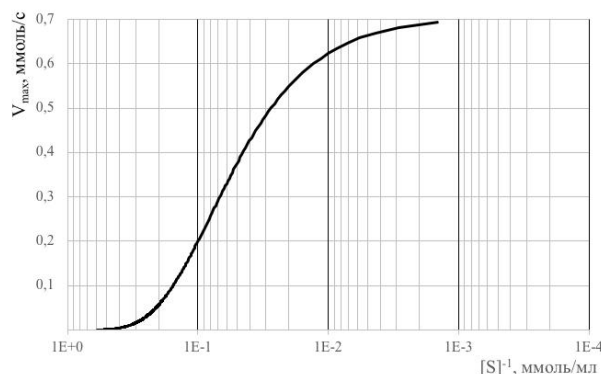


Рисунок 2. – Кривая уравнения Михаэлиса-Ментен для уравнения (6).

В случае описания количественной модели взаимодействия фермента с ингибитором делается важное допущение о полной стехиометричности фермент-субстратного комплекса с ионом  $Pb^{2+}$ , что не является фактическим описанием реально протекающего процесса.

В действительности же, аллостерический центр ALAD, связанный с ионом  $Zn^{2+}$ , является только лишь определяющим возможность протекания прямой реакции, но ингибирование его ионом  $Pb^{2+}$  не выступает лимитирующим фактором биохимического превращения 5-аминолевулината в ПБГ.

С учетом неполной стехиометричности вышеназванных реакций предположим, что кинетика описанной биохимической реакции подчиняется иной, отличной от гиперболической, зависимости.

Введем коэффициенты химической кинетики в дифференциальное уравнение Ферхюльста:

$$\frac{d[P] \cdot v_0}{dv} = v_0 P \cdot \frac{(1 - [P])}{V_{max}} \quad (7)$$

выполним следующую замену:

$$P = \frac{1}{z} \quad (8)$$

$$\frac{dP}{dv} = -\frac{1}{z^2} \cdot \frac{dz}{dv} \quad (9)$$

Подставим в тождество (7)

$$-\frac{1}{z^2} \cdot \frac{dz}{dv} - \frac{1}{z} = -\frac{1}{z^2 \cdot V_{max}} \quad (10)$$

$$\frac{dz}{dv} + z = -\frac{1}{V_{max}} \quad (11)$$

Очевидное частное решение (11)

$$z = \frac{1}{V_{max}} \quad (12)$$

Тогда  $z = u + \frac{1}{V_{max}}$ ,  $u$  – неизвестная функция

$$\frac{dz}{dv} = \frac{du}{dv}. \text{ Подставим в (11):}$$

$$\frac{du}{dv} + u + \frac{1}{V_{max}} = \frac{1}{V_{max}} \quad (13)$$

$$\frac{du}{dv} + u = 0 \Rightarrow u = c \cdot e^{-v} \quad (14)$$

$$z = ce^{-v} + \frac{1}{V_{max}} \Rightarrow P = \frac{1}{ce^{-v} + \frac{1}{V_{max}}} \quad (15)$$

$$P = \frac{V_{max} \cdot e^v}{e^v + C \cdot V_{max}} \quad (16)$$

Выражение (16) является общим решением дифференциального уравнения.

Исходя из зависимости (5) и выражая (16) через  $V_{max}$ , получаем:

$$V_{max} = \frac{P \cdot e^v}{e^v - PC} = P - \frac{e^v}{C} = \frac{1}{P} - \frac{e^v}{C}, \quad (17)$$

Предполагаем, что  $C$  – константа, характеризующая термодинамические параметры равновесной системы. Поскольку биологические системы функционируют в узком диапазоне термодинамических параметров ( $T$ ,  $p$ ,  $V$ ) коэффициентом  $C$  можно пренебречь. Тогда

$$V_{max} = \frac{1}{P} - e^v, \quad (18)$$

В конкретном рассматриваемом примере для инактивации одной макромолекулы ALAD (4.2.1.24) требуется заместить от 1 до 8 ионов  $Zn^{2+}$  на ионы  $Pb^{2+}$ . В таком случае выражение (18) принимает вид:

$$V_{max} = \frac{1}{nP} - e^v, \quad 1 \leq n \leq 8 \quad (19)$$

Изобразим графически зависимости (6) и (19), найденные при одинаковых концентрациях  $P$  (Рис. 3):

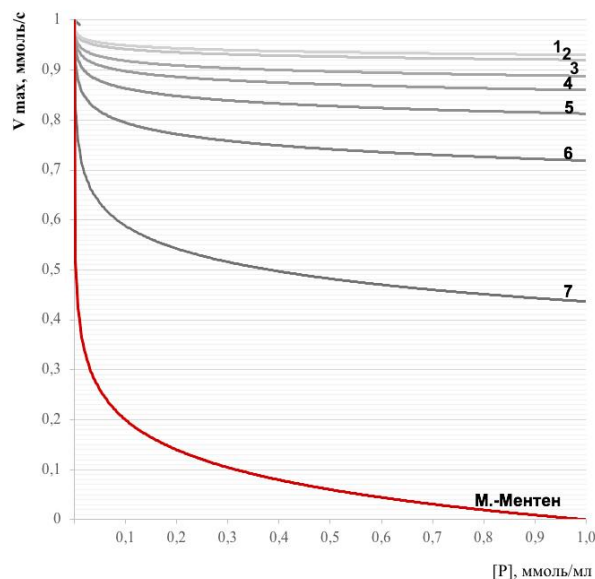


Рисунок 3. – Активность фермента в условиях ингибирования аллостерических центров. Цифрами обозначено количество аллостерических центров, связанных с ионом ингибитора. Приводится сравнение с кривой Михаэлиса-Ментен.

**Заключение.** Кривая Михаэлиса-Ментен обладает рядом серьезных недостатков. Например, она не учитывает частичного ингибирования аллостерических центров макромолекулы фермента. Применяя дифференциальный метод анализа системы и допуская нормальное распределение ионов ингибитора, можно с высокой долей вероятности определять концентрации вредного вещества, вызывающие патологические состояния в организме, и на этом основании проводить экологическую политику в отношении допустимых концентраций выбросов загрязняющих веществ в окружающую среду.

**Благодарности.** Автор выражает благодарность доценту Л.Н. Мамадалиевой за научное консультирование по критическим вопросам настоящей работы.

#### Список литературы

- 1) Новикова М.А. и др. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека (сообщение 1) // Сиб. мед. журн. 2013. Т.2. С.13-16.
- 2) Стародумов В.Л. Калинина Н.Г., Горбунов В.А. Состояние мембран эритроцитов как индикатор воздействия свинца окружающей среды // Вестник ИвГМА. 2013. Т.4. С.16-19.
- 3) Briggs C., Grant D., Machin S.J. Comparison of the automated reticulocyte counts and immature reticulocyte fraction measurements obtained with the ABX pentra 120 retic blood analyzer and the sysmex XE-2100 automated hematology analyzer // Lab. Hematol. 2001. V.7. P.75-80.
- 4) Интернет-ресурс: ALAD aminolevulinate dehydratase [Homo sapiens (human)] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/210> (Дата обращения: 02.06.2018).