

# Matematičko modeliranje kinetike reakcija

---

Vinković, Benjamin

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:765009>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO–MATEMATIČKI FAKULTET**  
**MATEMATIČKI ODSJEK**

Benjamin Vinković

**MATEMATIČKO MODELIRANJE**  
**KINETIKE REAKCIJA**

Diplomski rad

Voditelj rada:  
doc.dr.sc. Marko Radulović

Zagreb, veljača 2023.

Ovaj diplomski rad obranjen je dana \_\_\_\_\_ pred ispitnim povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_, predsjednik
2. \_\_\_\_\_, član
3. \_\_\_\_\_, član

Povjerenstvo je rad ocijenilo ocjenom \_\_\_\_\_.

Potpisi članova povjerenstva:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

*Roditeljima, što su me istrpili*

# Sadržaj

<b>Sadržaj</b>	<b>iv</b>
<b>Uvod</b>	<b>1</b>
<b>1 Sustavi diferencijalnih jednažbi</b>	<b>2</b>
1.1 Diferencijalne jednažbe i sustavi diferencijalnih jednažbi . . . . .	2
1.2 Teorija stabilnosti . . . . .	4
1.3 Metoda asimptotskog sparivanja . . . . .	7
<b>2 Modeli nekih enzimskih kinetika reakcija</b>	<b>9</b>
2.1 Zakon o djelovanju masa . . . . .	9
2.2 Michaelis-Mentenova kinetika . . . . .	10
2.3 Adimenzionalizacija . . . . .	15
2.4 Analiza Michaelis-Mentenovog kvazi stabilnog stanja metodom asimptotskog sparivanja . . . . .	19
2.5 Modeliranje kooperativnih reakcija i poopćenje MM jednažbe . . . . .	25
2.6 Kinetika inhibiciskih supstrata . . . . .	29
<b>3 Analiza stabilnosti reakcija s povratnom spregom</b>	<b>40</b>
3.1 Stabilnost nekih sustava . . . . .	41
3.2 Primjeri bifurkacije sustava . . . . .	45
<b>Bibliografija</b>	<b>48</b>

# Uvod

U današnje vrijeme biomedicina je područje od izuzetnog interesa ne samo za stručnjake, nego i za generalnu populaciju, a ona se uvelike oslanja na spoznaje iz molekularne biologije i biokemije. U ovom radu fokusiramo se na kinetiku reakcija s matematičkog gledišta jer smatramo da takvo razmatranje može pomoći bolje razumjeti i opisati te pojave. Kinetika u ovom kontekstu označava promjenu koncentracije molekula koje sudjeluju u tim reakcijama. Želimo naći modele kojima bismo opisali određene tipove reakcija te ih ujedno i analizirati. Analizu ćemo napraviti na dva načina, prvo pokušavajući naći dobra rješenja za modele, a potom i analizirajući stabilnost nekih modela.

Za početak opišimo ove pojave s biološkog aspekta. U našim tijelima velika većina reakcija odvija se pod utjecajem enzima - proteina koji kataliziraju reakcije. Proteini su već godinama jedan od glavnih fokusa u izučavanju bioloških procesa. To nije nimalo iznenađujuće s obzirom koliko su bitni u izgradnji živih organizama i njihovom funkcioniranju. Proteini su generalno građeni od (jednog ili više) peptida - niza povezanih aminokiselina kodiranih u genomu. Odrediti te nizove aminokiselina nije nužno teško, no ono što je bitnije za funkciju proteina je njihova prostorna konfiguracija koju je veoma teško odrediti. Prostorna konfiguracija ne ovisi samo o nizu aminokiselina, nego i o brojnim drugim uvjetima poput temperature i pH vrijednosti te je iznimno podložna promjenama. Skoro svi proteini svoju funkciju obavljaju upravo promjenom svoje prostorne konfiguracije. Enzimi i neki drugi proteini to rade tako što se na neka njihova područja mogu vezati specifične molekule, a ta područja nazivamo aktivnim mjestima. Prilikom vezanja te molekule na protein, dolazi do promjene prostorne konfiguracije proteina čime protein obavlja svoju funkciju, ili u slučaju enzima omogućuje odvijanje reakcije vezane molekule.

U ovom radu u prvom poglavlju ćemo prvo navesti definicije i rezultate koji su nam bitni prilikom analiziranja modela. U drugom poglavlju proučavamo neke primjere enzimskih reakcija i pronalazimo funkcije kojima možemo dobro opisati kinetiku koncentracije molekula koje su dio reakcija. Konačno, u trećem poglavlju se bavimo sa stabilnošću rješenja modela u ovisnosti o parametrima modela.

Rad je pisan prema James D. Murray, *Mathematical Biology I: An Introduction*, Springer-Verlag, 2005. [4]

# Poglavlje 1

## Sustavi diferencijalnih jednađžbi

U ovom poglavlju cilj nam je uvesti definicije te spomenuti neke osnovne rezultate vezane uz diferencijalne jednađžbe koji su nam važni u kasnijim poglavljima za raspravu o modelima kinetike reakcije. Prvo ćemo definirati što su to obične diferencijalne jednađžbe, sustavi diferencijalnih jednađžbi te njihove podtipove koji se javljaju u ovom radu. Uz to ćemo definirati što smatramo rješenjima običnih i sustava diferencijalnih jednađžbi te teoreme o egzistenciji i jedinstvenosti rješenja. Nakon toga ćemo posvetiti pozornost teoriji stabilnosti rješenja sustava te posebno kritičnim točkama sustava. U zadnjoj sekciji ćemo objasniti metodu kojom možemo dobiti dobra aproksimativna rješenja za određen tip sustava - metodu asimptotskog sparivanja.

### 1.1 Diferencijalne jednađžbe i sustavi diferencijalnih jednađžbi

Diferencijalne jednađžbe su, neformalno govoreći, jednađžbe u kojima se javlja neka funkcija kao nepoznanica i neke od njenih derivacija te odnos među njima. Radi jednostavnosti, u nastavku govorimo samo o realnim funkcijama iako one mogu biti i kompleksne ili vektorske. Red diferencijalne jednađžbe jednak je redu najviše derivacije tražene funkcije. Rješenje diferencijalne jednađžbe bi bila funkcija koja zadovoljava zadani odnos. Ipak, za rješenje općenito želimo funkciju koja zadovoljava neke minimalne uvjete poput neprekidnosti. Započnimo s definicijom najjednostavnijih diferencijalnih jednađžbi.

**Definicija 1.1.1.** *Jednađžbu oblika  $y' = f(x, y)$  nazivamo običnom diferencijalnom jednađžbom (ODJ) pri čemu je  $f$  funkcija  $f : \Omega \subseteq \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ , dok je  $\Omega$  je otvoren skup.*

*Rješenjem ODJ smatramo funkciju koja zadovoljava tu jednađžbu te dodatno vrijedi  $y \in C^1(I)$  i graf  $\{(x, y(x)) \in \mathbb{R}^2 : x \in I\}$  je u domeni funkcije  $f$ .*

*ODJ uz (početni) uvjet  $y(x_0) = y_0$  nazivamo inicijalni problem ili Cauchyjeva zadaća.*

Ovaj zapis za diferencijalne jednadžbe nazivamo *normalni zapis*. Drugi način na koji možemo zapisati diferencijalnu jednadžbu je u obliku  $f(x, y, y') = 0$  te očigledno uvijek možemo normalni zapis prevesti u ovaj oblik. Postojanje rješenja inicijalnog problema iz Definicije 1.1.1 nam uz neprekidnost funkcije  $f$  daje Peanov teorem, dok jedinstveno rješenje postoji uz uvjet da je funkcija  $f$  dodatno i Lipschitz-neprekidna po drugoj varijabli prema Picardovom teoremu. Definiciju Lipschitz-neprekidnosti po drugoj varijabli te iskaze i dokaze Peanovog i Picardovog teorema možemo naći u [8].

Kao što u algebri imamo sustave jednadžbi, analogno postoje i sustavi diferencijalnih jednadžbi gdje imamo više različitih nepoznatih funkcija. Općeniti izgled za sustav diferencijalnih jednadžbi nam je dan na sljedeći način:

$$\begin{aligned} F_1(y_1, y_1', \dots, y_1^{(v_1)}, y_2, y_2', \dots, y_2^{(v_2)}, \dots, y_n, y_n', \dots, y_n^{(v_n)}) &= 0 \\ F_2(y_1, y_1', \dots, y_1^{(v_1)}, y_2, y_2', \dots, y_2^{(v_2)}, \dots, y_n, y_n', \dots, y_n^{(v_n)}) &= 0 \\ &\vdots \\ F_n(y_1, y_1', \dots, y_1^{(v_1)}, y_2, y_2', \dots, y_2^{(v_2)}, \dots, y_n, y_n', \dots, y_n^{(v_n)}) &= 0 \end{aligned} \quad (1.1)$$

Rješenje sustava bi bio skup realnih funkcija  $y_i$  koji zadovoljava sve gornje jednadžbe. Pri tome postavljamo iste uvjete na rješenja kao i prije, tj. da su to neprekidne funkcije i u domeni funkcija  $F_i$ . Rješenje sustava na isti način možemo zapisati u obliku vektora  $\mathbf{y} = (y_1, \dots, y_n)$ . Općeniti zapis za sustav nije praktičan, te preferiramo normalni zapis diferencijalnih jednadžbi, u kojem se s desne strane jednakosti ne javljaju derivacije najvišeg reda, kada je to moguće. Na primjer, jedna jednadžba sustava bi bila oblika:

$$y_i^{(v_i)} = f_i(x, y_1, \dots, y_i^{(v_i)}, \dots, y_n, \dots, y_n^{(v_i-1)}).$$

Uz niz supstitucija  $\Phi_{i, v_i} = y_i^{(v_i-1)}$  možemo doći do skraćenog vektorskog zapisa  $\mathbf{y}' = \mathbf{f}(x, \mathbf{y})$  gdje se u  $\mathbf{f}(x, \mathbf{y})$  javljaju samo funkcije  $y_i$ , tj. sustav je zapisan kao sustav gdje imamo samo prve derivacije funkcija  $y_i$ .

**Definicija 1.1.2.** Sustav diferencijalnih jednadžbi je *sustav oblika*

$$\mathbf{y}' = \mathbf{f}(x, \mathbf{y})$$

gdje je  $\mathbf{y} = (y_1, \dots, y_n)$  vektorska funkcija realnih funkcija  $y_i : I_i \subseteq \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ , dok je  $\mathbf{f}$  vektorska funkcija čiji su elementi  $f_i : \Omega \subseteq \mathbb{R}^{m+1} \rightarrow \mathbb{R}$ . Pri tome je uz oznake iz (1.1)

$$m = \sum_{i=1}^n v_i$$

na otvorenom skupu  $\Omega$ . Također, možemo imati zadano  $\mathbf{y}(\mathbf{x}_0) = \mathbf{y}_0$  čime promatramo pripadne inicijalne probleme.



Kao i kod ODJ imamo analogne teoreme koji nam govore o postojanju rješenja sustava. Peanov teorem za sustave nam kaže da uz neprekidnost funkcije  $\mathbf{f}$  na zatvorenom pravokutniku oko točke  $(\mathbf{x}_0, \mathbf{y}_0)$  postoji barem jedna neprekidno diferencijabilna funkcija koja zadovoljava sustav i početne uvjete, dok Picardov teorem za sustave analogno kao i ranije kaže da uz dodatnu pretpostavku Lipschitz-neprekidnosti po svim  $y$  varijablama postoji jedinstvena funkcija  $\mathbf{y}$  koja zadovoljava sustav i početne uvjete. Iskazi i dokazi navedenih teorema se mogu naći u [6].

U nastavku definiramo dva posebna tipa sustava diferencijalnih jednadžbi.

**Definicija 1.1.3.** *Neka je  $I \subseteq \mathbb{R}$ . Sustav dan u obliku:*

$$\begin{aligned} y_1' &= a_{11}(x)y_1 + \dots + a_{1n}(x)y_n + b_1(x) \\ &\vdots \\ y_n' &= a_{n1}(x)y_1 + \dots + a_{nn}(x)y_n + b_n(x) \end{aligned} \tag{1.2}$$

pri čemu su  $a_{ij}, b_i : I \rightarrow \mathbb{R}$ ,  $i, j = 1, \dots, n$  zadane neprekidne funkcije nazivamo sustavom linearnih diferencijalnih jednadžbi. Ako još imamo početni uvjet  $\mathbf{y}(x_0) = \mathbf{y}_0$ , ponovno dobivamo Cauchyjevu zadaću za sustav. [6]

Za ovakve sustave možemo definirati  $f_i = a_{i1}(x)y_1 + \dots + a_{in}(x)y_n + b_i(x)$  te  $\mathbf{f} = (f_1, \dots, f_n)$  koja je Lipschitz-neprekidna po svim varijablama  $y$ . Tada znamo da inicijalni problem za sustav u Definiciji 1.1.3 ima jedinstveno rješenje. Dokaz možemo pronaći u [6].

**Definicija 1.1.4.** *Podvrstu sustava diferencijalnih jednadžbi iz Definicije 1.1.2 oblika  $\mathbf{y}' = \mathbf{f}(\mathbf{y})$  zovemo autonomni sustavi. [6]*

Ponekad nelinearne sustave analiziramo tako da ih 'lineariziramo' tj. napišemo u linearnom obliku. Postupak je analogan zamjeni neke diferencijabilne funkcije s njenim Taylorovim polinomom prvog stupnja.

**Definicija 1.1.5.** *Kažemo da sustav jednadžbi  $\mathbf{y}' = \mathbf{f}(x, \mathbf{y})$  lineariziramo ako ga zamijenimo linearnim sustavom  $\mathbf{y}' = \mathbf{A}\mathbf{y}$ , pri čemu je  $\mathbf{A} \in \mathbf{M}_n$  dobivena kao Jakobijeva matrica funkcije  $\mathbf{f}(x, \mathbf{y})$ .*

## 1.2 Teorija stabilnosti

Sustavi diferencijalnih jednadžbi primjenjuju se kao modeli za brojne prirodne pojave, najčešće promatrajući neku pojavu kroz vrijeme. Iz tog razloga se prirodno postavlja pitanje kakav utjecaj ima nepreciznost pri mjerenju početnih uvjeta i kako će protečeno vrijeme utjecati na oblik rješenja sustava. Ta se ideja matematički formalizira sa stabilnošću rješenja sustava diferencijalne jednadžbe za početni problem.

**Definicija 1.2.1.** Za sustav

$$\mathbf{y}' = \mathbf{f}(x, \mathbf{y})$$

$$\mathbf{y}'(\mathbf{x}_0) = \mathbf{y}_0$$

kažemo da je njegovo rješenje  $\mathbf{u} : \mathbb{R}^+ \rightarrow \mathbb{R}^n$

- a) stabilno ako za svaki  $\varepsilon > 0$  postoji  $\delta > 0$  tako da za svako rješenje sustava  $\mathbf{v}$  koje u početnom trenutku zadovoljava

$$\|\mathbf{u}(0) - \mathbf{v}(0)\| < \delta$$

vrijedi  $\|\mathbf{u}(x) - \mathbf{v}(x)\| < \varepsilon$

- b) asimptotski stabilno ako je stabilno i postoji  $\delta > 0$  tako da za svako rješenje  $\mathbf{u}$  sustava vrijedi

$$\|\mathbf{u}(0) - \mathbf{v}(0)\| < \delta \quad \Rightarrow \quad \lim_{x \rightarrow +\infty} \|\mathbf{u}(x) - \mathbf{v}(x)\| = 0.$$

Intuitivno govoreći, gornja definicija nam kaže da, ako je neko rješenje sustava stabilno, onda sva rješenja koja su blizu moraju ostati blizu i kasnije.

Stabilnost rješenja sustava općenito nije lagano odrediti. Međutim, za posebne sustave koje smo definirali ipak imamo neke teoreme koji govore o stabilnosti njihovih rješenja. Za homogene linearne sustave s konstantnim koeficijentima navodimo teorem u nastavku.

**Teorem 1.2.2.** Neka je  $\mathbf{A} \in \mathbf{M}_n(\mathbb{R})$  i  $\sigma(\mathbf{A})$  njen spektar. Tada je rješenje linearnog autonomnog sustava  $\mathbf{y}' = \mathbf{A}\mathbf{y}$

- a) stabilno ako i samo ako  $(\forall \lambda \in \sigma(\mathbf{A}))$

$$\operatorname{Re} \lambda \leq 0 \quad \& \quad \operatorname{Re} \lambda = 0 \Rightarrow a_\lambda = g_\lambda,$$

pri čemu su  $a_\lambda$  algebarska, a  $g_\lambda$  geometrijska kratnost svojstvene vrijednosti  $\lambda$ .

- b) asimptotski stabilno ako i samo ako

$$(\forall \lambda \in \sigma(\mathbf{A})) \quad \operatorname{Re} \lambda < 0.$$

Dokaz gornjeg teorema možemo pronaći u [8].

Za autonomne sustave je također u nekim slučajevima moguće odrediti stabilnost rješenja, a često se to radi pomoću faznih dijagrama koje ćemo definirati uskoro. Stoga ćemo sada tome posvetiti pažnju. Definicije i iskaze teorema preuzimamo iz [5] i [6] te se tamo ujedno mogu naći i dokazi tih teorema.

**Definicija 1.2.3.** Neka je  $\mathbf{y}$  rješenje autonomnog sustava s neproširivim intervalom egzistencije  $\langle x, \omega \rangle$ . Skup  $\{\mathbf{y}(x) : x \in \langle x, \omega \rangle\}$  zovemo orbitala sustava.

Fazni dijagram čini skup svih orbitala. Poseban tip orbitale su slike konstatnog rješenja – takve se orbitale sastoje od samo jedne točke.

**Definicija 1.2.4.** Kritične točke *autonomnog sustava* su točke  $\mathbf{y}_0 \in \mathbb{R}^n$  za koje vrijedi  $f(\mathbf{y}_0) = 0$ .

Kritična točka zapisana kao  $\mathbf{y}_0$  je rješenje inicijalnog problema za  $\mathbf{y} = \mathbf{f}(\mathbf{y})$  ukoliko vrijedi  $\mathbf{y}(\mathbf{x}_0) = \mathbf{y}_0$ . Stoga možemo promatrati ponašanje istog inicijalnog problema uz različit početni uvjet  $\mathbf{y}(\mathbf{x}_0) = \mathbf{z}_0$  koji je blizak kritičnoj vrijednosti za  $x \geq 0$ . Tako dolazimo do definicije analogne onoj za stabilnost rješenja.

**Definicija 1.2.5.** *Neka je zadan sustav  $\mathbf{y} = \mathbf{f}(\mathbf{y})$  i neka je  $\mathbf{y}_0$  njegova kritična točka te  $\phi(\cdot, \mathbf{y}_0)$  rješenje tog inicijalnog problema. Kažemo da je kritična točka*

- a) stabilna kritična točka (na intervalu  $[0, +\infty)$ ) ako za svaki  $\varepsilon > 0$  postoji  $\delta > 0$  takav da za svaki  $\mathbf{y} \in \mathbb{R}^n$  za koji je  $\|\mathbf{y} - \mathbf{y}_0\| < \delta$  i svaki  $x \in [0, +\infty)$  vrijedi  $\|\phi(x, \mathbf{y}) - \mathbf{y}_0\| < \varepsilon$
- b) nestabilna ako nije stabilna
- c) (lokalno) asimptotički stabilna ako je stabilna i postoji  $a > 0$  takav da za  $\|\mathbf{y} - \mathbf{y}_0\| < a$  vrijedi  $\phi(x, \mathbf{y}) \rightarrow \mathbf{y}_0$  kad  $x \rightarrow \infty$
- d) globalno asimptotički stabilna ako je stabilna i za svaki  $\mathbf{y} \in \mathbb{R}^n$  vrijedi  $\phi(x, \mathbf{y}) \rightarrow \mathbf{y}_0$  kad  $x \rightarrow \infty$

U planarnim sustavima, tj. sustavima drugog reda kojima je fazni dijagram u ravni, za kritične točke postoji klasifikacija na osnovi topologije orbitala oko nje. Neki od mogućih tipova su čvorovi, sedla i centar. Tip i stabilnost kritične točke planarnih sustava obično određujemo preko svojstvenih vrijednosti lineariziranog sustava. To nam omogućuje Hartmann-Grobmanov teorem (Teorem 3.3 u [5]) koji nam govori da oko kritične točke autonomnog sustava drugog reda postoji homeomorfizam koji preslikava orbitale oko kritične točke u orbitale lineariziranog sustava.

**Teorem 1.2.6.** *Neka je  $E \subseteq \mathbb{R}^2$  otvoren skup koji sadrži ishodište te neka je  $f \in C^1(\mathbb{R}^2)^2$  takva da je  $f(0) = 0$ . Neka matrica  $A = Df(0)$  nema svojstvenih vrijednosti s realnim dijelom nula. Tada postoji homeomorfizam  $H$  s nekog otvorenog skupa  $U \subseteq \mathbb{R}^2$  koji sadrži ishodište u otvoren skup  $V \subseteq \mathbb{R}^2$  koji također sadrži ishodište, takav da za svaki  $x_0 \in U$  postoji otvoren interval  $I(x_0) \subseteq \mathbb{R}$  oko nule za koji je*

$$H(\phi_t(x_0)) = e^{At}H(x_0), \quad t \in I(x_0)$$

Nadalje, Teoremi 4.1 i 4.2 iz [5] nam govore o očuvanju svojstava kritičnih točaka pri linearizaciji.

**Teorem 1.2.7.** *Neka je  $E \subseteq \mathbb{R}^2$  otvoren skup koji sadrži ishodište. Neka je  $f \in C^1(E)^2$ ,  $A = Df(0)$ , te neka je ishodište hiperbolička kritična točka sustava  $x' = f(x)$ . Tada je ishodište sedlo sustava  $x' = f(x)$  u topološkom smislu ako i samo ako je topološko sedlo lineariziranog sustava  $x' = Ax$ .*

**Teorem 1.2.8.** *Neka je  $E \subseteq \mathbb{R}^2$  otvoren skup koji sadrži ishodište. Neka je  $f \in C^2(E)^2$ ,  $A = Df(0)$ , te neka je ishodište hiperbolička kritična točka sustava  $x' = f(x)$ . Tada je ishodište stabilan (nestabilan) čvor sustava  $x' = f(x)$  ako i samo ako je stabilan (nestabilan) čvor sustava  $x' = Ax$ . Također, ishodište je stabilan (nestabilan) fokus sustava  $x' = f(x)$  ako i samo ako je stabilan (nestabilan) fokus sustava  $x' = Ax$ .*

### 1.3 Metoda asimptotskog sparivanja

Za brojne sustave diferencijalnih jednadžbi ne možemo odrediti egzaktne rješenja te stoga tražimo aproksimativna rješenja. Ukoliko taj sustav ujedno ovisi i o nekom malenom parametru  $\varepsilon$ , aproksimacije možemo tražiti općenitijom metodom traženja aproksimacijskog rješenja za probleme koji ovise o  $\varepsilon$ . Uglavnom razlikujemo dva tipa problema koji ovise o malom parametru  $\varepsilon$  - ona kod kojih se rješenja ne razlikuju puno pri malim izmjenama parametra  $\varepsilon$  i ona kod kojih promjena u parametru  $\varepsilon$  ima značajan utjecaj na rješenje.

**Definicija 1.3.1.** *Kažemo da je funkcija  $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$  reda veličine  $g$  za  $g : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$  ako za  $\varepsilon \rightarrow 0$  postoji okolina oko ishodišta i konstanta  $A$  tako da za svaki  $\varepsilon$  u tom susjedstvu vrijedi  $|f| < A|g|$ . Drugim riječima, vrijedi  $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} f/g = A$ .*

*Za funkciju  $f$  pišemo  $f = o(g)$  ako za  $\varepsilon \rightarrow 0$   $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} f/g = 0$ .*

Definicije su izmijenjene u odnosu na uobičajne definicije s obzirom da nas ovdje zanima maleni parametar  $\varepsilon$  u okolini 0.

**Definicija 1.3.2.** *Niz neprekidnih funkcija  $v_n$  na istoj domeni  $v_0, \dots, v_n$  nazivamo asimptotski niz ili asimptotska skala ukoliko za svaki  $n \in \mathbb{N}$  vrijedi*

$$v_{n+1}(\varepsilon) = o(v_n(\varepsilon)) \quad \varepsilon \rightarrow 0.$$

Pomoću asimptotskog niza definiramo sljedeći tip aproksimacije:

**Definicija 1.3.3.** *Neka je  $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$  neprekidna funkcija s malenim parametrom  $\varepsilon$ :  $f(x, \varepsilon)$ . Sumu*

$$F_N(x, \varepsilon) = v_0(\varepsilon)a_0(x) + v_1(\varepsilon)a_1(x) + \dots + v_N(\varepsilon)a_N(x)$$

*nazivamo asimptotska aproksimacijska ili Poincaré-ova asimptotska aproksimacija ukoliko vrijedi jedan od sljedeća dva uvjeta:*

$$\begin{aligned} f(x) - F_N &= O(a_n(\varepsilon)) & \varepsilon \rightarrow 0 \\ f(x) - F_N &= o(a_n(\varepsilon)) & \varepsilon \rightarrow 0. \end{aligned}$$

Probleme koji ovise o malenom parametru  $\varepsilon$  s obzirom na asimptotsku aproksimaciju dijelimo na regularne i singularne probleme. Definicije u nastavku su preuzete iz [3].

**Definicija 1.3.4.** *Neka je  $E_\varepsilon = 0$  problem koji ovisi o malom parametru  $\varepsilon$  i želimo ga riješiti pomoću asimptotske aproksimacije  $F_N(x, \varepsilon)$  iz Definicije 1.3.3. Kažemo da je perturbacija izazvana parametrom  $\varepsilon$  regularna kada je aproksimacija  $F_N(x, \varepsilon)$  uniformno valjana na svojoj domeni definicije.*

*Za problem kažemo da je regularan kada se može dobiti postavljanjem parametra  $\varepsilon$  na 0, odnosno vrijedi*

$$\text{rješenje}_{\varepsilon \rightarrow 0} [E_\varepsilon] = \text{rješenje} [E_\varepsilon]_{\varepsilon \rightarrow 0}.$$

*Problem je singularan ukoliko vrijedi:*

$$\text{rješenje}_{\varepsilon \rightarrow 0} [E_\varepsilon] \neq \text{rješenje} [E_\varepsilon]_{\varepsilon \rightarrow 0}.$$

Metoda asimptotskog sparivanja je naziv za postupak kojim određujemo koeficijente  $a_i$  iz Definicije 1.3.3 za singularne probleme te tako nalazimo aproksimativno rješenje za zadani problem. Koeficijenti se određuju induktivno, što često radimo upravo uvrštavanjem  $F_N$  s neodređenim koeficijentima  $a_i$  umjesto funkcije koju aproksimiramo.

Prvi korak u postupku je tražiti rješenje postavljanjem  $\varepsilon = 0$  kao da je problem regularan. Time dobivamo takozvano *vanjsko rješenje*. Primjerice, kod diferencijalnih jednadžbi na taj način dobijemo rješenje koje ne zadovoljava svoje početne uvjete. Nakon što smo odredili vanjsko rješenje radimo reskaliranje kako bismo odredili ponašanje rješenja u okolini nule. To se obično radi uvođenjem dodatnog parametra  $\delta$  i supstitucijom  $x = \delta \bar{x}$ . Parametar  $\delta$  biramo tako da ostane što veći broj izraza u jednadžbi. Kod sustava diferencijalnih jednadžbi to možemo postići i drugačijom parametrizacijom. Nakon što dobijemo rješenja za unutarnje rješenje slijedi korak po kojem se metoda naziva, a to je asimptotsko sparivanje unutarnjeg i vanjskog rješenja. Prema asimptotskom sparivanju moramo zadovoljiti sljedeću jednakost limesa:

$$\lim_{x \rightarrow 0} a_i(x) = \lim_{x \rightarrow \infty} \bar{a}_i(x),$$

odnosno limes vanjskog rješenja kad varijabla ide u područje singularnog rješenja i limes unutarnjeg rješenja kad varijabla ide u područje vanjskog rješenja. Pri tome pod područjem rješenja mislimo na one vrijednosti za koje je to dobra aproksimacija. To radimo za svaki par koeficijenata  $a_i(x)$  koji smo odredili.

Na taj način smo dobili dva rješenja za dva područja domene funkcije što nije poželjno. Rješenje za sve vrijednosti  $x$  iz domene i bilo koju danu vrijednost parametra  $\varepsilon$  nazivamo kompozitno rješenje ili uniformno validno rješenje, a dobivamo ga kao sumu unutarnjeg i vanjskog rješenja od kojega oduzmemo zajednički limes:

$$a_i^{komp} = a_i^{unut} + a_i^{vanj} - \lim_{x \rightarrow 0} a_i^{vanj}(x).$$

## Poglavlje 2

# Modeli nekih enzimskih kinetika reakcija

### 2.1 Zakon o djelovanju masa

Zakon o djelovanju masa zasluŹuje kratki spomen u ovoj uvodnoj sekciji. To je zakon iz kemije te kao takav nije dio teorije sustava diferencijalnih jednaŹbi, no on nam je u ovom radu od iznimne vaŹnosti jer nam kao jedan od temeljnih zakona kinetike reakcije omogućuje postaviti sustav diferencijalnih jednaŹbi za kemijsku reakciju, odnosno niz kemijskih reakcija. Mi ćemo se fokusirati isključivo na kinetički aspekt zakona o djelovanju masa pa ćemo samo i njega navesti, a glasi da je brzina reakcije proporcionalna koncentracijama reaktanata.

Za kemijsku jednaŹbu u općenitom obliku



su  $k_1$  i  $k_2$  pozitivne konstante koje nazivamo konstante brzine, a koncentracije reaktanata i produkata obilježavamo nazivom spoja u uglatim zagradama. Stehiometrijski brojevi  $m$ ,  $n$ ,  $p$ ,  $q$  obilježavaju broj molekula spoja koji sudjeluje u reakciji. Ova kemijska jednaŹba govori da  $m$  molekula reaktanta  $A$  reagira s  $n$  molekula reaktanta  $B$  čime nastaje  $p$  molekula produkta  $C$  i  $q$  molekula produkta  $D$  i obrnuto zbog strelica u oba smjera. Promjena koncentracije produkta  $C$  u (2.1) s vremenom je dana diferencijalnom jednaŹbom

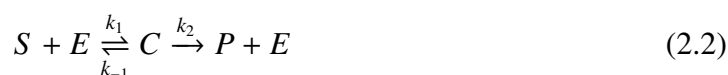
$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[A]^m[B]^n - k_2[C]^p[D]^q.$$

S obzirom da molekula  $C$  nastaje iz molekuli  $A$  i  $B$  u diferencijalnoj jednaŹbi je pozitivan predznak uz konstantu brzine i koncentracije  $A$  i  $B$  dok je uz drugi izraz negativan predznak.

## 2.2 Michaelis-Mentenova kinetika

S obzirom da želimo izraditi model za enzimsku reakciju i u konačnici dobiti funkcije koje opisuju te reakcije, počnimo od jednostavne predodžbe toga što se događa u samoj reakciji. Supstrat  $S$  koji se nalazi u okolini dolazi do enzima  $E$  koji ima aktivno mjesto na koje se supstrat može vezati. Ukoliko dođe do vezanja enzima i supstrata nastaje kompleks enzim-supstrat  $C$ . Taj kompleks se potom može ili raspasti i vratiti u početne reaktante ili pretvoriti supstrat u produkt  $P$  uz oslobađanje molekule enzima. Radi ilustracije pogledajmo na stvarnom pojednostavljenom primjeru prijenosa glukoze preko stanične membrane gdje se javlja takav slijed događaja (primjer je preuzet iz [1]).

Naime, s obzirom da je glukoza molekula topljiva u vodi ona ne može direktno proći kroz lipofilnu membranu stanične membrane nego se mora prenijeti. U membrani stanice se nalaze proteinski receptori koji na sebe mogu vezati molekulu glukoze za svoj vanstanični dio. Nakon što se molekula glukoze vezala, receptor ju prenosi kroz membranu do unutrašnjosti stanice nakon čega se molekula glukoze oslobađa i pušta u citoplazmu. Molekula glukoze se iz citoplazme ne može vratiti u vanstaničnu tekućinu, ali može se dogoditi da nakon vezanja molekule glukoze na receptor u vanstaničnoj tekućini ne dođe do prijenosa u citoplazmu nego se kompleks vezanog receptora i glukoze raspadne te glukoza ostane u vanstaničnoj tekućini. Taj mehanizam su prvi predložili Michaelis i Menten te na taj način dolazimo do Michaelis-Mentenove jednadžbe. Ovaj mehanizam možemo sažeto zapisati u obliku kemijske reakcije na sljedeći način:



Dvostruke strelice označavaju da je reakcija reverzibilna, dok jednostruka strelica označava da se ta reakcija odvija samo u jednom smjeru. U promatranom mehanizmu to označava da se produkt  $P$  ne može opet vezati na enzim i stvoriti kompleks.  $k_1$ ,  $k_{-1}$  i  $k_2$  su pozitivne konstante koje nazivamo konstante brzine reakcije i to su konstante proporcionalnosti u zakonu djelovanja masa. Preciznije, kemijska jednadžba (2.2) nam govori da se jedna molekula  $S$  veže s jednom molekulom  $E$  čime nastaje molekula  $C$ , koja onda potom može stvoriti jednu molekulu produkta  $P$  i jednu molekulu  $E$ . Radi kraćeg zapisa koncentracije reaktanata zapisujemo na sljedeći način:

$$s = [S], \quad e = [E], \quad c = [C], \quad p = [P]. \quad (2.3)$$

Sada možemo primijeniti zakon o djelovanju masa kako bismo dobili jednadžbe za svaki reaktant i u konačnici dobivamo sljedeći sustav diferencijalnih jednadžbi reakcija:

$$\begin{aligned}
\frac{ds}{dt} &= -k_1 es + k_{-1}c \\
\frac{de}{dt} &= -k_1 es + (k_{-1} + k_2)c \\
\frac{dc}{dt} &= k_1 es - (k_{-1} + k_2)c \\
\frac{dp}{dt} &= k_2c.
\end{aligned}
\tag{2.4}$$

Kako bi u potpunosti formulirali problem, jednadžbama (2.3) pridružujemo početne uvjete s početka procesa pretvorbe  $S$  u  $P$ :

$$s(0) = s_0, \quad e(0) = e_0, \quad c(0) = 0, \quad p(0) = 0. \tag{2.5}$$

U biologiji je dobro poznato da se enzimi (kao katalizatori) ne troše u reakcijama u kojima sudjeluju nego samo potpomažu, pa možemo uzeti da je ukupna koncentracija slobodnog i kompleksiranog enzima konstanta, tj. da vrijedi jednakost:

$$e(t) + c(t) = e_0.$$

To isto se vidi i iz samog sustava diferencijalnih jednadžbi zbrajanjem druge i treće jednadžbe iz (2.4). Na taj način dobivamo sljedeću relaciju:

$$\frac{de}{dt} + \frac{dc}{dt} = 0 \Rightarrow e(t) + c(t) = e_0. \tag{2.6}$$

Sada koristeći relaciju (2.6) možemo sustav (2.4) zapisati na sljedeći način:

$$\begin{aligned}
\frac{ds}{dt} &= -k_1 s(e_0 - c) + k_{-1}c & \Rightarrow & \frac{ds}{dt} = -k_1 e_0 s + k_1 s c + k_{-1}c \\
\frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s + (k_1 s + k_{-1})c \\
\frac{dc}{dt} &= k_1 s(e_0 - c) - k_{-1}c - k_2c & \Rightarrow & \frac{dc}{dt} = k_1 e_0 s - (k_1 s + k_{-1} + k_2)c
\end{aligned}$$

S obzirom da koncentracije  $s$  i  $c$  ne ovise o koncentraciji  $p$ , zadnju jednadžbu iz sustava (2.4) možemo ostaviti po strani dok ne odredimo  $c$  te potom možemo jednostavno izračunati  $p$ . Tako dolazimo do sustava sa samo dvije diferencijalne jednadžbe:

$$\begin{aligned}
\frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s + (k_1 s + k_{-1})c \\
\frac{dc}{dt} &= k_1 e_0 s - (k_1 s + k_{-1} + k_2)c
\end{aligned}
\tag{2.7}$$



s početnim uvjetima

$$s(0) = s_0, \quad c(0) = 0. \quad (2.8)$$

Kada govorimo o enzimima i njihovim supstratima, najčešće imamo situaciju gdje su molekule supstrata male, primjerice glukoza, i njihove koncentracije su daleko veće od koncentracije enzima. S obzirom na tu disproporciju u koncentracijama često se pretpostavlja da su sva aktivna mjesta na molekulama enzima zauzeta i da na neki način enzim radi stalnom maksimalnom brzinom. Tu pretpostavku nazivamo hipoteza kvazi stabilnog stanja i ona nam omogućava da dodatno pojednostavimo naš sustav diferencijalnih jednadžbi.

Dakle, hipoteza kvazi stabilnog stanja nam dopušta da napišemo sljedeću jednakost:

$$\frac{dc}{dt} = 0.$$

Na ovaj način, iz jednadžbe (2.7)<sub>2</sub> dobivamo:

$$\begin{aligned} 0 &= k_1 e_0 s - (k_1 s + k_{-1} + k_2) c &\Rightarrow c &= \frac{k_1 e_0 s}{k_1 s + k_{-1} + k_2} \\ c &= \frac{e_0 s}{s + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}} &\Rightarrow c(t) &= \frac{e_0 s(t)}{s(t) + K_m} &(2.9) \\ \frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s + \frac{(k_1 s + k_{-1}) \cdot k_1 e_0 s}{k_1 s + k_{-1} + k_2} &\Rightarrow \frac{ds}{dt} &= \frac{-k_1 k_2 e_0 s}{k_1 s + k_{-1} + k_2}. \end{aligned}$$

Konačno uz izraz

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad (2.10)$$

iz prethodnih jednadžbi (2.9) dobivamo:

$$c(t) = \frac{e_0 s(t)}{s(t) + K_m} \quad \frac{ds}{dt} = -\frac{k_2 e_0 s}{s + K_m}. \quad (2.11)$$

$K_m$  se naziva Michaelisova konstanta i u biomedicini se koristi kao mjera za afinitet supstrata za aktivno mjesto enzima. Diferencijalnu jednadžbu iz (2.11) možemo riješiti koristeći metodu separacije varijabli. Dakle, imamo:

$$\begin{aligned} \frac{(s + K_m) ds}{s} &= -k_2 e_0 dt \\ \int \left(1 + \frac{K_m}{s}\right) ds &= -k_2 e_0 \int dt \\ s(t) + K_m \ln s(t) &= -k_2 e_0 t + A \\ A = s(0) + K_m \ln s(0) &= s_0 + K_m \ln s_0 \end{aligned}$$

te konačno dobivamo rješenje diferencijalne jednačbe (2.11) u sljedećem obliku:

$$s(t) + K_m \ln s(t) = -k_2 e_0 t + s_0 + K_m \ln s_0. \quad (2.12)$$

Rješenje (2.12) se može supstituirati u izraz za  $c$  iz (2.11) kako bismo dobili konačnu funkciju za  $c$ . Međutim, lako se vidi da taj izraz neće zadovoljavati početni uvjet  $c(0) = 0$  jer će brojnik biti pozitivan broj.

Nije iznenađujuće da pretpostavka kvazi stabilnog stanja ne dovodi do potpunog rješenja, s obzirom da njome mijenjamo samu prirodu problema iz sustava s dvije diferencijalne jednačbe u sustav gdje je uparena diferencijalna jednačba s algebarskom, ali nam je bitno znati koliko je dobra ta aproksimacija. Pretpostavka kvazi stabilnog stanja nam govori da se reakcija stvaranja kompleksa odvije iznimno brzo, čim supstrat i enzim dođu u doticaj. Taj pogled na tok odvijanja reakcije nas navodi na to da pretpostavka kvazi stabilnog stanja možda daje dobre rezultate u nekom vremenskom periodu koji nije kratak.

S obzirom da se u biomedicinskoj literaturi koristi upravo Michaelis-Mentenova jednačba, očito je da se eksperimentalni rezultati u mjerljivom vremenu slažu s tom pretpostavkom. Unatoč tome, potrebno je pokušati naći bolje matematičko rješenje i ispitati što se točno gubi pri toj pretpostavci. Ovakva opažanja nas navode na to da postoje dvije vremenske skale koje treba promatrati u ovom sustavu. Jedna bi bila početna brza skala, blizu  $t = 0$ , dok je druga duža vremenska skala tokom koje se odvija kataliza i pretvorba supstrata uz konstante koncentracije supstra-enzim kompleksa. Čak i ovakva jednostavna razmatranja nam nameću pitanja - koliko bi brza ili kratka bila ta brza vremenska skala, pod kojim uvjetima i parametrima nam je ta aproksimacija dobra te što sa situacijama kada omjer koncentracija supstrata i enzima nije velik tj. enzima nema puno više od supstrata. Kako bismo mogli nastaviti s daljnjim matematičkim razmatranjima ovog sustava, morati ćemo ga adimenzionalizirati kako bismo se odmaknuli od mjernih jedinica te ujedno i donekle apstrahirati sam problem.

U dosad raspravljanoj Michaelis-Mentenovom modelu, kao jednu od pretpostavki smo imali da vrijedi  $\varepsilon = e_0/s_0 \ll 1$ , no kao što smo rekli to ne mora uvijek biti tako. To se može napraviti tako da se primjerice uvede drugačija adimenzionalizacija.

Drugi problem je problem s dvije vremenske skale pa ćemo pokušati napraviti neke ocjene za njih koje bi nam kasnije mogle pomoći.

Za brzu vremensku skalu smo rekli da se u njoj stvara kompleks supstrat-enzim, dok se u dugoj vremenskoj skali supstrat pretvara u produkt i njegova se koncentracija značajno mijenja. Fokusirajmo se prvo na brzu prolaznu skalu. U njoj se koncentracija  $c(t)$  brzo mijenja dok se  $s(t)$  ne mijenja značajno. S obzirom da se  $s(t)$  ne mijenja značajno aproksimirat ćemo tu funkciju konstantnom funkcijom početne vrijednosti, tj.  $s(t) = s_0$ . Ako sada u diferencijalnoj jednačbi za  $c$  iz (2.7) izlučimo  $k_1$  iz zgrade te uvrstimo aproksimaciju za  $s(t)$ , dobivamo:

$$\frac{dc}{dt} = k_1 e_0 s_0 - k_1 (s_0 + K_m) c \quad (2.13)$$

Dobili smo linearnu diferencijalnu jednadžbu prvog reda, koju rješavamo na sljedeći način:

$$\int \frac{dc}{k_1 c (s_0 + K_m)} = - \int dt$$

$$\frac{1}{k_1 (s_0 + K_m)} \ln c(t) = -t + A$$

$$c(t) = A e^{-tk_1(s_0+K_m)}$$

za homogeno rješenje, dok za partikularno rješenje imamo:

$$A'(t) e^{-tk_1(s_0+K_m)} = k_1 e_0 s_0$$

$$\int A'(t) dt = \int (k_1 e_0 s_0 e^{tk_1(s_0+K_m)}) dt$$

$$A(t) = \frac{k_1 e_0 s_0}{k_1 (s_0 + K_m)} e^{tk_1(s_0+K_m)} + B$$

pa je konačno rješenje

$$c(t) = \frac{k_1 e_0 s_0}{k_1 (s_0 + K_m)} + B e^{-tk_1(s_0+K_m)}.$$

Iz ovog rješenja se za vremensku skalu može uzeti:

$$t_c = \frac{1}{k_1 (s_0 + K_m)}. \quad (2.14)$$

Dugu vremensku skalu ćemo odrediti prema promjeni  $s(t)$  i to tako da promatramo slučaj u kojemu se sav supstrat potroši tokom reakcije uz najveću moguću brzinu promjene  $s(t)$ . Dakle, za promjenu  $s(t)$  uzimamo  $s_0$  dok maksimalnu brzinu promjene možemo aproksimirati pomoću izraza iz jednadžbe (2.11) ( $s$  obzirom da u tom izrazu imamo pretpostavku maksimalnog rada enzima) tako da postavimo  $s(t) = s_0$ . Dakle, imamo:

$$t_s = \frac{s_0}{\left| \frac{ds}{dt} \right|_{max}} = \frac{s_0 + K_m}{k_2 e_0}. \quad (2.15)$$

Prema našim dosadašnjim pretpostavkama i pretpostavci kvazi stabilnog stanja slijedi da je brzo prolazno vrijeme puno manje od dugog vremena (odnosno  $t_c \ll t_s$ ), pa koristeći prethodna dva izraza (2.14) i (2.15) dobivamo:

$$\frac{1}{k_1 (s_0 + K_m)} \ll \frac{s_0 + K_m}{k_2 e_0}$$

$$\frac{k_2 e_0}{k_1 (s_0 + K_m)^2} \ll 1. \quad (2.16)$$

U daljnjim razmatranjima želimo naći modele i rješenja koja zadovoljavaju početne uvjete iz (2.8) i biti što više u skladu s pretpostavkom kvazi stabilnog stanja. Stoga bi gubitak substrata tokom početnog brzog prolaznog perioda trebao biti malen u usporedbi s početnom vrijednošću  $s_0$  tj.  $|\Delta s/s_0| \ll 1$ . Kako bismo dobili što restriktivnije uvjete na parametre, u navedenoj nejednakosti ćemo uzeti što veći mogući  $\Delta s$ . Iz (2.7) uzimamo vrijednost  $k_1 e_0 s_0$  dok za vrijeme uzimamo cijelo trajanje brze prolazne faze  $t_c$ . Time dobivamo sljedeće:

$$\begin{aligned} \left| \frac{\Delta s}{s_0} \right| &= \frac{k_1 e_0 s_0 t_c}{s_0} = \frac{e_0}{s_0 + K_m} \\ \varepsilon &= \frac{e_0}{s_0 + K_m} \ll 1 \end{aligned} \quad (2.17)$$

Uvjet (2.17) je restriktivniji od uvjeta iz (2.16) jer se potonji može raspisati kao

$$\frac{e_0}{s_0 + K_m} \cdot \frac{1}{1 + (k_{-1}/k_2) + (s_0 k_1/k_2)} \ll 1 \quad (2.18)$$

pa je stoga (2.17) uvjet koji dopušta pretpostavku kvazi stabilnog stanja. Iz te nejednakosti vidimo da omjer  $e_0/s_0$  može biti reda veličine  $O(1)$  ukoliko je Michaelisova konstanta  $K_m$  dovoljno velika, što je nekada slučaj u stvarnosti.

### 2.3 Adimenzionalizacija

Kako bismo mogli što bolje analizirati modele, jedan od prvih bitnih koraka je upravo da ga parametriziramo i učinimo adimenzionalnim. Time pojednostavljujemo model te se rješavamo mjernih jedinica iz njega, što olakšava analizu s obzirom da na taj način imamo jasniji dojam kada je neka vrijednost mala i odnos među njima. Ono što će nam ovdje biti korisno je da raznim parametrizacijama dobivamo adimenzionalne sustave koji ističu pojedina svojstva modela. Možda bi bilo prirodno više pričati o adimenzionalizaciji prije nego što smo uopće počeli s modelom, ali ovako imamo nešto konkretno na čemu ju možemo napraviti.

Kao što se obično radi kod adimenzionalizacije, prvo ćemo uvesti nove funkcije kojima ćemo kasnije odrediti konstante proporcionalnosti ovisno o tome koji dio želimo više naglasiti, tj. pojednostaviti.

Napravit ćemo nekoliko adimenzionalizacija sustava (2.7):

$$\begin{aligned} u(\tau) &= \frac{s(t)}{s^*}, & v(\tau) &= \frac{c(t)}{c^*}, & \tau &= \frac{t}{t^*} \\ s(t) &= u(\tau) \cdot u^*, & c(t) &= v(\tau) \cdot v^*, & t &= \tau \times t^* \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\frac{s^*}{t^*} \frac{du}{d\tau} &= -k_1 e_0 s^* u(\tau) + (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1}) c^* v(\tau) \\ \frac{c^*}{t^*} \frac{dv}{d\tau} &= k_1 e_0 s^* u(\tau) - (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1} + k_2) c^* v(\tau) \\ \frac{du}{d\tau} &= -k_1 e_0 t^* u(\tau) + \frac{c^* t^*}{s^*} (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1}) v(\tau) \\ \frac{dv}{d\tau} &= \frac{k_1 e_0 s^* t^*}{c^*} u(\tau) - (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1} + k_2) t^* v(\tau)\end{aligned}$$

Sada za prvu parametrizaciju možemo postaviti  $t^* = 1/(k_1 e_0)$  kako bismo izgubili parametre u prvim izrazima diferencijalnih jednadžbi te  $s^* = s_0$  i  $c^* = e_0$  kako bismo ih skalirali čime dobijemo:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= -u(\tau) + \left( u(\tau) + \frac{k_1 + k_{-1}}{k_1 s_0} \right) v(\tau) \\ \frac{dv}{d\tau} &= \frac{s_0}{e_0} u(\tau) - \left( \frac{s_0}{e_0} u(\tau) + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 e_0} \right) v(\tau).\end{aligned}$$

Gornji sustav možemo dodatno pojednostaviti postavljanjem  $\varepsilon = e_0/s_0$  i  $K = (k_{-1} + k_2)/(k_1 s_0)$  te  $\lambda = k_2/(k_1 s_0)$ , čime konačno dobijemo prvi adimenzionalni oblik modela:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= -u + (u + K - \lambda) v, \quad u(0) = 1 \\ \varepsilon \frac{dv}{d\tau} &= u - (u + K) v, \quad v(0) = 0\end{aligned}\tag{2.19}$$

uz gore navedene parametre dane sa:

$$\begin{aligned}\tau &= k_1 e_0 t, & u(\tau) &= \frac{s(t)}{s_0}, & v(\tau) &= \frac{c(t)}{e_0} \\ \lambda &= \frac{k_2}{k_1 s_0}, & K &= \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 s_0} = \frac{K_m}{s_0}, & \varepsilon &= \frac{e_0}{s_0}\end{aligned}$$

Ova parametrizacija nam pokazuje da kada je parametar  $\varepsilon \ll 1$  dobivamo upravo izraze kao i kod pretpostavke kvazi stabilnog stanja. Dakle, tu vidimo interpretaciju da do kvazi stabilnog stanja možemo doći ako pretpostavimo da je omjer koncentracija enzima i supstrata iznimno malen.

U nastavku slijedi druga parametrizacija, gdje se fokusiramo na brzo prolazno vrijeme i gdje koristimo restriktivni izraz za  $\varepsilon$  iz (2.17). Naravno, počinjemo na isti način kao i prije te nastavljamo od sljedećeg sustava diferencijalnih jednadžbi:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= -k_1 e_0 t^* u(\tau) + \frac{c^* t^*}{s^*} (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1}) v(\tau) \\ \frac{dv}{d\tau} &= \frac{k_1 e_0 s^* t^*}{c^*} u(\tau) - (k_1 s^* u(\tau) + k_{-1} + k_2) t^* v(\tau)\end{aligned}$$

Sada ponovno stavljamo  $s^* = s_0$  kako bismo imali početni uvjet  $u(0) = 1$  te trebamo skalirati vrijeme na brzo prolazno vrijeme. Iz tog razloga je za  $t^*$  dobar izbor  $t_c$  iz (2.14). Na taj način dobivamo:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= \frac{-k_1 e_0}{k_1 (s_0 + K_m)} u(\tau) + \frac{c^*}{k_1 s_0 (s_0 + K_m)} (k_1 s_0 u(\tau) + k_{-1}) v(\tau) \\ \frac{dv}{d\tau} &= \frac{k_1 e_0 s_0}{k_1 (s_0 + K_m) c^*} u(\tau) - \frac{k_1 s_0 u(\tau) + k_{-1} + k_2}{k_1 (s_0 + K_m)} v(\tau)\end{aligned}$$

S obzirom da se u brzom vremenu  $u(\tau)$  jako malo mjenja, izlučiti ćemo  $\varepsilon$  iz prvog izraza, dok ćemo  $c^*$  iskoristiti kako bismo se riješili konstanti uz  $u(\tau)$ , pa je  $c^* = \varepsilon \cdot s_0$ . Dakle, imamo:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= \varepsilon \left[ u + \frac{\varepsilon s_0}{e_0} uv + \frac{\varepsilon k_{-1}}{k_1 e_0} v \right] \\ \frac{dv}{d\tau} &= u - \frac{\varepsilon s_0}{e_0} uv - \frac{\varepsilon (k_{-1} + k_2)}{k_1 e_0} v\end{aligned}$$

Izraze uz  $u$  i  $v$  treba dodatno pojednostavniti te ih zapisati u obliku nekih adimenzionalnih konstanti. Nadalje, treba imati na umu da nam je izraz za  $K_m$  isti kao što je i u izrazu za  $\varepsilon$  iz (2.17). Imamo:

$$\frac{\varepsilon s_0}{e_0} = \frac{s_0}{s_0 + K_m} = \left( 1 + \frac{K_m}{s_0} \right)^{-1} = \frac{\sigma}{\sigma + 1}$$

Uz  $\sigma = K_m/s_0$  dobivamo:

$$\begin{aligned}\frac{\varepsilon k_{-1}}{k_1 e_0} &= \frac{k_2 k_{-1} s_0}{k_1 k_2 (s_0 + K_m) s_0} = \frac{1}{\sigma + 1} \frac{k_{-1} k_2 \frac{s_0}{K_m}}{k_2 k_1 s_0} = \frac{1}{\sigma} \frac{k_{-1}}{k_2} \frac{k_2}{k_1 K_m} \\ &= \frac{1}{\sigma} \frac{k_{-1}}{k_2} \frac{k_2}{k_{-1} + k_2} = \frac{\rho}{(\sigma + 1)(1 + \rho)}\end{aligned}$$

te uz  $\rho = k_{-1}/k_2$  imamo:

$$\frac{\varepsilon (k_{-1} + k_2)}{k_1 e_0} = \frac{s_0 K_m}{s_0 (s_0 + K_m)} = \frac{1}{\sigma + 1}$$

Na taj način konačno dobivamo adimenzionalni oblik sustava za brzo prolazno vrijeme u sljedećem obliku:

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= \varepsilon \left[ -u \frac{\sigma}{\sigma + 1} uv + \frac{\rho}{(\sigma + 1)(\rho + 1)} v \right] \\ \frac{dv}{d\tau} &= u - \frac{\sigma}{\sigma + 1} uv - \frac{1}{\sigma + 1} v \\ u(0) &= 1, \quad v(0) = 0,\end{aligned}\tag{2.20}$$

uz parametrizaciju:

$$u(\tau) = \frac{s(t)}{s_0}, \quad v(\tau) = \frac{(s_0 + K_m)c(t)}{e_0 s_0}, \quad \tau = k_1(s_0 + K_m)t$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad \rho = \frac{k_{-1}}{k_2}, \quad \sigma = \frac{s_0}{K_m}, \quad \varepsilon = \frac{e_0}{s_0 + K_m}.$$

Napokon, napraviti ćemo adimenzionalizaciju za dugo vrijeme koja je u skladu s prethodnom adimenzionalizacijom za brzo prolazno vrijeme tako što odaberemo drugačiji parametar samo za vrijeme. Nastavljamo u skladu s Murrayjevom izrazom iz poglavlja 6. str. 180 [4]. Budući da se radi o adimenzionalizaciji za dugo vrijeme, kao izraz za  $t^*$  ima smisla postaviti izraz  $t_s$  iz (2.15). Stavljamo  $t^* = t_s \cdot p$ , gdje smo dodali još jedan parametar  $p$  koji bismo mogli iskoristiti za pojednostavljivanje konačnog izraza. Sada imamo:

$$\frac{du}{d\tau} = -k_1 e_0 t^* u + \frac{c^* t^*}{s^*} (k_1 s^* u + k_{-1}) v$$

$$\frac{dv}{d\tau} = \frac{k_1 e_0 s^* t^*}{c^*} u - (k_1 s^* u + k_{-1} + k_2) t^* v$$

$$\frac{du}{d\tau} = -k_1 e_0 t_s p u + \frac{\frac{s_0 e_0}{s_0 + K_m} t_s p}{s_0} (k_1 s_0 u + k_{-1}) v$$

$$\frac{dv}{d\tau} = \frac{k_1 e_0 s_0 t_s (s_0 + K_m) p}{e_0 s_0} u - t_s p (k_1 s_0 u + k_{-1} + k_2) v$$

Pojednostavljujemo izraze uz  $u$  i  $v$  u skladu s konstantama iz prošle adimenzionalizacije te dobivamo:

$$\frac{k_1 e_0 (s_0 + K_m)}{k_2 e_0} p = \frac{k_1 K_m (\sigma + 1)}{k_2} p = \frac{k_{-1} + k_2}{k_2} p (\sigma + 1)$$

$$= (\rho + 1) p (\sigma + 1)$$

$$\frac{e_0 (s_0 + K_m) p}{(s_0 + K_m) k_2 e_0} k_1 s_0 = \frac{k_1 s_0}{k_2} p = \sigma (\rho + 1) p$$

$$\frac{k_{-1}}{k_2} p = \rho p$$

$$\frac{k_1 (s_0 + K_m) (s_0 + K_m)}{k_2 e_0} p = \varepsilon^{-1} \frac{k_1 (s_0 + K_m)}{k_2} p$$

$$= \varepsilon^{-1} (\sigma + 1) (\rho + 1) p$$

$$\frac{k_1 s_0 (s_0 + K_m)}{k_2 e_0} p = \varepsilon^{-1} \frac{k_1 s_0}{k_2} p = \varepsilon^{-1} \sigma (\rho + 1) p$$

$$\frac{(k_{-1} + k_2) (s_0 + K_m)}{k_2 e_0} p = \varepsilon^{-1} \frac{k_{-1} + k_2}{k_2} p$$

$$= \varepsilon^{-1} (\rho + 1) p$$

Sada ako postavimo  $p = 1/(\rho + 1)$  dobivamo adimenzionalni oblik za dugo vrijeme uz:

$$\begin{aligned}\tau &= \frac{(\rho + 1)k_2e_0}{s_0 + K_m} = \varepsilon(\rho + 1)k_2t \\ \frac{du}{d\tau} &= -(\sigma + 1)u + \sigma uv + \frac{\rho}{\rho + 1}v \\ \varepsilon \frac{dv}{d\tau} &= (\sigma + 1)u - \sigma uv - v.\end{aligned}\tag{2.21}$$

Iako su svi sustavi diferencijalnih jednadžbi (2.19), (2.20) i (2.21) isti sustav kao i (2.7), mali parametar  $\varepsilon$  se javio na različitim mjestima u različitim adimenzionalnim oblicima.

## 2.4 Analiza Michaelis-Mentenovog kvazi stabilnog stanja metodom asimptotskog sparivanja

U našoj daljnjoj analizi se fokusiramo na sustav dan sa (2.19). Analizu započinjemo promatrajući same diferencijalne jednadžbe koje dobijemo modelirajući reakcije iz (2.2). Iz kemijskih reakcija možemo zaključiti da će reakcija završiti tako da se sav supstrat  $S$  pretvori u produkt  $P$ , a enzim u svoj slobodni oblik. Drugim riječima, vidimo da će konačno stabilno stanje biti za  $u = 0$  i  $v = 0$ . Iz početnih uvjeta vidimo da je na početku reakcije, tj. kada je  $\tau$  blizu  $\tau = 0$ ,  $du/d\tau < 0$  zbog  $v(0) = 0$ , dok je  $dv/d\tau > 0$  jer vrijedi  $u(0) = 0$ . Dakle, koncentracija od  $u$  se smanjuje dok se koncentracija  $v$  povećava. Koncentracija od  $v$  se povećava dok  $v$  ne dođe do vrijednosti  $v = u/(u + K)$ , gdje je  $dv/d\tau = 0$ . U tom trenutku ostaje  $du/d\tau < 0$  jer  $du/d\tau = -\lambda v$ . Dalje se  $u$  nastavlja smanjivati, a ujedno se i  $v$  smanjuje zbog toga dok konačno oboje ne dosegnu nulu, pa zaključujemo da je  $v$  dosegnuo maksimum u  $v = u/(u + K)$ . Dakle,  $u$  se monotono smanjuje tokom cijelog trajanja reakcije dok  $v$  prvo raste pa potom pada. Što se koncentracije slobodnog enzima tiče (dimenzionalna veličina  $e$ ), ona se prvo smanjuje pa potom raste do početne koncentracije  $e_0$ .

Iako smo mogli kvalitativno odrediti kako se reakcija odvija iz diferencijalnih jednadžbi sustava, želimo i kvantitativno što je moguće preciznije odrediti rješenja sustava za kojega ne možemo dobiti rješenja u jednostavnom zatvorenom obliku. Iz tog razloga u nastavku koristimo postupke iz metode asimptotskog sparivanja za singularne probleme. Poticaj za korištenje ove metode je to što imamo mali faktor, u ovom slučaju  $\varepsilon$  kojeg kad postavimo na  $\varepsilon = 0$ , sustav se reducira na jednu diferencijalnu i jednu algebarsku jednadžbu odnosno singularni problem.

Za početak napišimo asimptotsku aproksimaciju za  $u$  i  $v$  u obliku Taylorovog reda:

$$u(\tau; \varepsilon) = \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n, \quad v(\tau, \varepsilon) = \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n v_n.\tag{2.22}$$



Rješenje tražimo tako da uvrstimo gornje izraze u (2.19) te izjednačavamo izraze uz potencije  $\varepsilon$ , čime dobivamo niz diferencijalnih jednadžbi za  $u_n(\tau)$  i  $v_n(\tau)$ . Time smo pretpostavili da su  $u(\tau; \varepsilon)$  i  $v(\tau; \varepsilon)$  analitičke funkcije od  $\varepsilon$  kada  $\varepsilon \rightarrow 0$ . Dakle, imamo:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left( \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n \right) &= - \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n + \left( \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n + K - \lambda \right) \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n v_n \\ \frac{d}{dt} \left( \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n v_n \right) &= \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n - \left( \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n u_n + K \right) \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n v_n \end{aligned}$$

Prvo ćemo tražiti unutarnje rješenje s obzirom da za njega vrijede početni uvjeti, a potom ćemo naći vanjsko i onda ga upariti s unutarnjim izjednačavajući im limese. Izjednačavanjem koeficijenata uz  $\varepsilon^0$  dobili bismo jednadžbe reda  $O(1)$

$$\begin{aligned} \frac{du_0}{d\tau} &= -u_0 + (u_0 + K - \lambda)v_0, & u_0(0) &= 1 \\ \frac{dv_0}{d\tau} &= u_0 - (u_0 + K)v_0, & v_0(0) &= 0 \end{aligned} \quad (2.23)$$

Taj sustav nam ne odgovara za traženje unutarnjeg rješenja - vidimo da dobijemo isti sustav kao i kod pretpostavke kvazi stabilnog stanja. Kako bismo mogli promatrati unutarnje rješenje treba nam ili adimenzionalan oblik koji je pogodan za to ili moramo transformirati vremensku skalu kako ne bismo izgubili drugu diferencijalnu jednadžbu. Budući da analizu radimo na (2.19), to ćemo ovdje učiniti transformacijom vremenske skale pomoću izraza  $\sigma = \tau/\varepsilon$ . Na taj način se fokusiramo na vrijednosti kada je  $\tau$  malen, odnosno "uvećavamo" okolinu oko  $\tau = 0$  jer kada imamo fiksnu malu domenu oko  $\tau$  ćemo dijeljenjem s  $\varepsilon$  kada  $\varepsilon \rightarrow 0$  dobiti vrijednosti domene u kojoj se nalazi  $\sigma$  takve da je  $\sigma \gg 1$ . U nastavku transformiramo sustav (2.19) uvodeći:

$$\sigma = \frac{\tau}{\varepsilon}, \quad u(\tau, \varepsilon) = U(\sigma, \varepsilon), \quad v(\tau, \varepsilon) = V(\sigma, \varepsilon). \quad (2.24)$$

Sada dobivamo transformirani sustav:

$$\begin{aligned} \frac{dU}{d\sigma} &= \varepsilon [-U + (U + K - \lambda)V], & U(0) &= 1 \\ \frac{dV}{d\sigma} &= U - (U + K)V, & V(0) &= 0. \end{aligned} \quad (2.25)$$

Analogno kao i u (2.22) zapišemo  $U$  i  $V$  u obliku Taylorovih redova, uvrstimo u gornji sustav jednadžbi te izjednačimo koeficijente uz  $\varepsilon$ . Za red veličina  $O(1)$  dobijemo sustav:

$$\begin{aligned} \frac{dU_0}{d\sigma} &= 0, & U_0(0) &= 1 \\ \frac{dV_0}{d\sigma} &= U_0 - (U_0 + K)V_0, & V_0(0) &= 0. \end{aligned} \quad (2.26)$$

Sada dobivamo sustav s dvije diferencijalne jednačbe čime imamo sustav istog reda kao i polazni sustav (2.25). Sustav se jednostavno rješava:

$$\begin{aligned}U_0(0) &= 1 \quad \& \quad U_0 = C \\ \Rightarrow U_0(\sigma) &= 1\end{aligned}$$

te sada dobivamo:

$$\frac{dV_0}{d\sigma} = 1 - (1 + K) V_0$$

Dobili smo linearnu diferencijalnu jednačbu prvog reda, koju dalje rješavamo na standardan način. Homogeni dio rješavamo na sljedeći način:

$$\begin{aligned}\frac{dV_0}{d\sigma} &= -(1 + K) V_0 \\ \int \frac{dV_0}{V_0} &= \int -(1 + K) \sigma \\ \ln V_0 &= -(1 + K) \sigma + C \\ V_0 &= A e^{-(1+K)\sigma}\end{aligned}$$

dok partikularni dio računamo u nastavku:

$$\begin{aligned}V' &= -(1 + K)A(\sigma) e^{-(1+K)\sigma} + A'(\sigma) e^{-(1+K)\sigma} \\ V' &= -(1 + K)A(\sigma) e^{-(1+K)\sigma} + 1 \\ A'(\sigma) e^{-(1+K)\sigma} &= 1 \\ A'(\sigma) &= e^{(1+K)\sigma} / \int \\ A(\sigma) &= \frac{1}{(1 + K)} e^{(1+K)\sigma} + C \\ V_0(\sigma) &= \left( \frac{1}{(1 + K)} e^{(1+K)\sigma} + C \right) e^{-(1+K)\sigma} \\ &= \frac{1}{1 + K} + B e^{-(1+K)\sigma} \\ V_0(0) = 0 &= \frac{1}{1 + K} + B e^0 \\ B &= \frac{1}{1 + K}\end{aligned}$$

$$V_0(\sigma) = \frac{1}{1+K} \left(1 - e^{-(1+K)\sigma}\right). \quad (2.27)$$

Na taj način konačno dobivamo unutarnje rješenje za  $u$  i  $v$ . Ono vrijedi za  $0 < \tau \ll 1$ , no ne za sve  $\tau$  jer bi to značilo da je  $dV/d\sigma = \varepsilon dV/dt$  reda veličine  $O(1)$  za sve  $\tau$ , što znamo da ne vrijedi iz eksperimentalnih podataka i činjenice da Michaelis-Mentenova jednačba dobro aproksimira velik broj reakcija. Sada nastavljamo s traženjem vanjskog rješenja iz (2.23) i usklađivanjem oba rješenja. Za vanjsko rješenje reda  $O(1)$  dobivamo izraz sličan (2.12) kao i kod pretpostavke kvazi stabilnog stanja:

$$\begin{aligned} v_0 &= \frac{u_0}{u_0 + K} \\ \frac{du_0}{d\tau} &= -u_0 + (u_0 + K - \lambda) \frac{u_0}{u_0 + K} \\ \frac{du_0}{d\tau} &= -\frac{\lambda u_0}{u_0 + K} \\ u_0(\tau) + K \ln u_0(\tau) &= C - \lambda\tau \end{aligned}$$

te konačno imamo:

$$u_0(\tau) + K \ln u_0(\tau) = C - \lambda\tau, \quad v_0(\tau) = \frac{u_0(\tau)}{u_0(\tau) + K}. \quad (2.28)$$

Sada kad imamo rješenja za kratko i dugo vrijeme, trebamo ih uskladiti tako da su pri prijelazu vremena jednaki. Stoga kada promatramo u limesu  $\varepsilon \rightarrow 0$  za fiksni  $0 < \tau \ll 1$  imamo da  $\sigma \rightarrow \infty$  te se za  $\tau \rightarrow 0$  unutarnja rješenja trebaju poklapati u limesu sa vanjskima. Drugim riječima, imamo:

$$\lim_{\sigma \rightarrow \infty} [U_0(\sigma), V_0(\sigma)] = \lim_{\tau \rightarrow 0} [u_0(\tau), v_0(\tau)] = \left[1, \frac{1}{1+K}\right].$$

Iz limesa dalje računamo

$$\begin{aligned} \lim_{\tau \rightarrow 0} v_0 &= \frac{1}{1+K} \\ v_0 &= \frac{u_0(0)}{u_0(0) + K} = \frac{1}{1+K} \\ u_0(0) &= 1 \\ u_0(0) + K \ln u_0(0) &= C - \lambda \cdot 0 \\ 1 + K \cdot 0 = C &\Rightarrow C = 1. \end{aligned}$$

Tako se dobiju rješenja za red veličine  $O(1)$  koja su asimptotski uniformno valjana. Pri tome rješenje (2.28) uz gornju vrijednost za konstantu vrijedi za vremena  $\tau \gg 0$  dok

rješenje (2.27) vrijedi za vremena  $0 < \tau \ll 1$ . Konačno (kompozitno) rješenje reda  $O(1)$  za cijelu domenu je dano na sljedeći način:

$$u_0^{komp} = U_0(\tau) + u_0(\tau) - 1 = u_0(\tau)v_0^{komp} = \frac{u_0(\tau)}{u_0(\tau) + K} - e^{-\frac{1+K}{\varepsilon}\tau} \quad (2.29)$$

Može se izračunati i konačno rješenje za cijeli sustav (2.4), ali se izrazi za koncentracije slobodnog enzima  $e$  i produkta  $p$  moraju prvo napisati u adimenzionalnom obliku. Iz tog razloga uvodimo:

$$z(\tau) = \frac{p(t)}{s_0}, \quad w(\tau) = \frac{e(t)}{e_0}$$

te dobivamo izraze:

$$w(\tau) = 1 - v(\tau) = 1 - \frac{u_0(\tau)}{u_0(\tau) + K}, \quad z(\tau) = \lambda \int v(\tau) d\tau$$

Moglo bi se nastaviti tražiti rješenja i za više redove veličine  $\varepsilon$ . Za  $O(\varepsilon)$  se dobije sljedeći niz jednadžbi za unutarnje rješenje (uz supstitucije  $\sigma$  za  $\tau$  kao i prije):

$$\begin{aligned} \frac{dU_1}{d\sigma} &= -U_0 + (V_0 + K - \lambda)V_0 \\ \frac{dV_1}{d\sigma} &= U_1 - U_1V_0 - (V_0 + K)V_1. \end{aligned}$$

Unutarnja rješenja moraju zadovoljavati početne uvjete pa je potrebno raspisati početne uvjete za  $U_n$  i  $V_n$  za  $n > 1$ . Za vanjsko rješenje imamo niz jednadžbi:

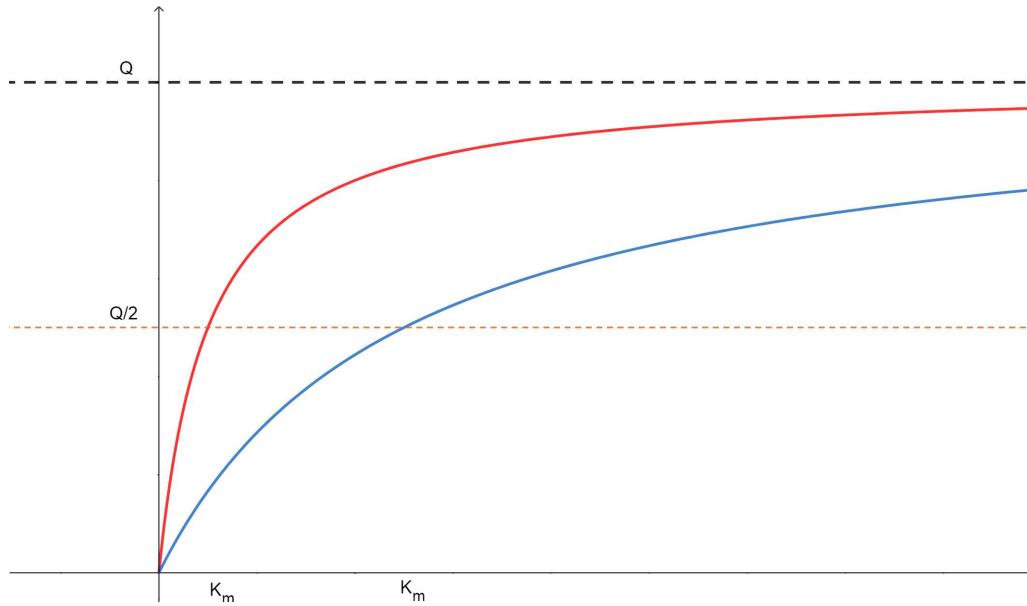
$$\begin{aligned} \frac{du_1}{d\tau} &= -u_1 + u_1v_0 + (u_0 + K + \lambda)v_1 \\ \frac{dv_1}{d\tau} &= u_1 - u_1v_0 - (u_0 + K)v_1. \end{aligned}$$

Početne uvjete za  $n \geq 0$  određujemo iz:

$$\begin{aligned} 1 &= \sum_{n=0}^{\infty} \sigma^n U_n \\ 0 &= \sum_{n=0}^{\infty} \sigma^n V_n \end{aligned}$$

pa budući da gledamo samo nenegativne vrijednosti dobivamo izraze za  $U_n$  i  $V_n$

$$\begin{aligned} U_0 = 1 &\Rightarrow U_n = 0, \quad n > 0 \\ V_n &= 0, \quad n \geq 0. \end{aligned}$$



Slika 2.1: Graf za Michaelis-Mentenovu brzinu reakcije  $R_0 = Qs_0/(s_0 + K_m)$ . Crvena krivulja ima manju Michaelis-Mentenovu konstantu  $K_m$  od plave i određuje se sa sjecišta polovice maksimalne brzine  $Q$  i krivulje brzine reakcije.

Ove diferencijalne jednadžbe se mogu riješiti koristeći prethodno izračunate vrijednosti za  $O(1)$  jer opet dobijemo linearne diferencijalne jednadžbe prvog reda. Rješenja bi naravno bila daleko složenija od onih za  $O(1)$ . Kao što je već prije rečeno, s obzirom da se u eksperimentalnim uvjetima uglavnom uočavaju samo vanjska rješenja za vrijeme reda veličine  $O(1)$  te je  $O(\varepsilon)$  zanemarivo malen, kombinacija unutarnjeg i vanjskog rješenja za  $O(1)$  je dovoljno dobra, odnosno ono što možemo uzeti kao konačno rješenje.

Kada se u biologiji proučavaju neke enzimске reakcije ovog tipa, uglavnom se želi saznati kojom se brzinom odvija reakcija, odnosno kakav je utjecaj enzima na reakciju. Eksperimentalno se mjere koncentracije supstrata u vremenskim intervalima tako da su rezultati takvih pokusa u području rješenja dugog vremena jer se rijetko mogu mjeriti koncentracije u vremenu reda veličine  $\varepsilon$ . Dakle, promatramo:

$$r_0 = \left[ \frac{du_0(\tau)}{d\tau} \right]_{\tau=0} = \lambda \frac{u_0(0)}{u_0(0) + K_m} = \frac{\lambda}{1 + K}.$$

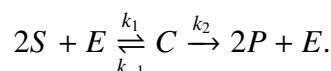
To možemo vratiti u dimenzionalni oblik te za  $O(1)$  dobivamo brzinu reakcije:

$$R_0 = \frac{k_2 e_0 s_0}{s_0 + K_m} = \frac{Q s_0}{s_0 + K_m}, \quad Q = [R_0]_{max} = k_2 e_0.$$

Graf jednadžbe skiciran je na Slici 2.1 te je ono što se obično promatra i podrazumjeva pod Michaelis-Mentenovom tijekom reakcije. Vidimo da ukoliko je  $s \ll K_m$ , brzina reakcije će biti približno linearna po  $s$ . Druga veličina kojom opisujemo enzime je upravo Michaelisova konstanta koju možemo iščitati iz grafa ovisnosti brzine o koncentraciji supstrata. Iako Michaelisova konstanta ne opisuje sve brzine reakcija u sustavu nego samo njihov odnos, uglavnom je to ono što je od biološke važnosti.

## 2.5 Modeliranje kooperativnih reakcija

Do sada smo proučavali reakcije u kojima enzim na sebe veže jednu molekulu reaktanta koja potom može prijeći u (drugačiju) molekulu supstrata. Iako možda donekle nerealan model na prvu, možemo zamisliti reakciju u kojoj enzim na sebe veže dvije ili više molekula umjesto samo jedne te one dalje prijeđu u molekule produkta. Ovo početno razmatranje je više ilustrativno jer s kemijske strane taj model je nerealan zato što zahtijeva da dođe do sudara tri molekule što je jako malo vjerojatno. Kasnije ćemo raspraviti neke realnije modele koji uključuju više reakcija jer postoje brojni primjeri u biologiji reakcija u kojima ne sudjeluje samo jedna molekula supstrata i enzima. Započnimo sustavno, prvo kemijskom reakcijom:



Izabrana je reakcija s dvije molekule supstrata, iako će se kasnije pokazati da ne bi bilo razlike da smo napisali bilo koji prirodan broj  $n$ . Sljedeći korak je napisati sustav diferencijalnih jednadžbi koristeći zakon o djelovanju masa koji opisuju reakcije. Koristiti ćemo iste oznake kao i u prethodnoj sekciji za koncentracije sudionika reakcije, te dobivamo sustav:

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 e s^2 + k_{-1} c \\ \frac{de}{dt} &= -k_1 e s^2 + (k_{-1} + k_2) c \\ \frac{dc}{dt} &= k_1 e s^2 - (k_{-1} + k_2) c \\ \frac{dp}{dt} &= k_2 c. \end{aligned}$$

Kao i prije, zadnju jednadžbu ćemo zanemariti te sustav pojednostaviti koristeći konstantnost sveukupne količine enzima tj. relaciju  $e + r = e_0$ . Na taj način dobivamo sustav:

$$\begin{aligned}\frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s^2 + (k_1 s^2 + k_{-1})c \\ \frac{dc}{dt} &= k_1 e_0 s^2 - (k_1 s^2 + k_{-1} + k_2)c.\end{aligned}$$

Uz pretpostavku kvazi stabilnog stanja imamo  $dc/dt = 0$  odnosno

$$c = \frac{k_1 e_0 s^2}{k_1 s^2 + k_{-1} + k_2}$$

što uvrstimo u izraz za  $ds/dt$

$$\begin{aligned}\frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s^2 + \frac{k_1 e_0 s^2 (k_{-1} + k_2)}{k_1 s^2 + k_{-1} + k_2} \\ \frac{ds}{dt} &= \frac{k_1 k_2 e_0 s^2}{k_1 s^2 + k_{-1} + k_2}\end{aligned}$$

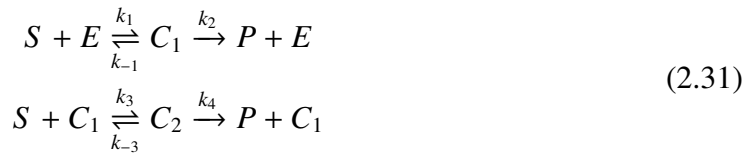
čime dobijemo

$$\frac{ds}{dt} = \frac{k_2 e_0 s^2}{s^2 + K_m}. \quad (2.30)$$

Vidimo da dobijemo veoma sličan izraz za brzinu reakcije kao i u prošloj sekciji. Kada se skicira ova brzina reakcije u ovisnosti o koncentraciji, dobije se sigmoidalna krivulja budući da je pri malim koncentracijama supstrata brzina reakcije približno proporcionalna kvadratu koncentracije supstrata. U daljnjim razmatranjima kooperativnog fenomena i usporedbama s klasičnom Michaelis-Mentenovom kinetikom usredotočit ćemo se na brzinu reakcije kao vrijednost koja je od najvećeg biološkog značaja.

Kao što je rečeno, iako gornji sustav reakcija nije realan, postoje brojni enzimi i slučajevi gdje se više molekula istovremeno veže za enzim. U biološkim sustavima to se postiže tako da se prvo jedna molekula supstrata veže za aktivno mjesto enzima, prilikom čega se prostorna konfiguracija enzima promijeni tako da se drugo aktivno mjesto učini slobodnim. Drugim riječima, vezanje jedne molekule za aktivno mjesto povećava afinitet drugog aktivnog mjesta na enzimu, a tu pojavu nazivamo alosterija, tj. alosterički efekt. Jedan konkretan primjer tog fenomena je u transportnoj molekuli hemoglobin, koja ima četiri aktivna mjesta i veže četiri molekule kisika za sebe. Nakon što se prva molekula kisika veže za jednu od molekula globina, afinitet na ostala tri mjesta se povećava i druge tri molekule kisika se puno lakše vežu. Također, vezanje za aktivno mjesto ne uzrokuje uvijek povećanje afiniteta aktivnog mjesta za supstratom i ovisno o tome na koji način se afinitet mijenja, molekule koje se vežu za aktivno mjesto nazivamo inhibitorima ili aktivatorima.

Sada, kada znamo primjer na koji način se više molekula veže za enzim, možemo napraviti jedan jednostavan model koji će opisivati reakciju u kojoj se dvije molekule supstrata vežu za enzim i prevode u produkt. Dakle, prvo se kao i u prijašnjoj sekciji, jedna molekula  $S$  veže na enzim  $E$ , tvoreći kompleks  $C_1$  koji može ili dovršiti reakciju, prevodeći supstrat u molekulu produkta  $P$  i enzima  $E$ , ili se raspadne na polazne reaktante. Međutim, kompleks  $C_1$  ima još jedno aktivno mjesto pa se može u drugoj reakciji spojiti s drugom molekulom supstrata  $S$  te ju prevesti u molekulu produkta  $P$ , ili se raspasti na izvorne  $C_1$  i  $P$ . Krenimo s kemijskim reakcijama koje bi opisale taj model



pri čemu su kao i u svim dosadašnjim razmatranjima  $k$ -ovi pozitivne konstante brzine reakcije. Po zakon o djelovanju masa zapisujemo diferencijalne jednadžbe koristeći mala slova za oznake koncentracija, što nam daje sustav s početnim uvjetima

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 se + (k_{-1} - k_3 s)c_1 + k_{-3} c_2 & s(0) &= s_0 \\ \frac{dc_1}{dt} &= k_1 se - (k_{-1} + k_2 + k_3 s)c_1 + (k_{-3} + k_4)c_2 & c_1(0) &= 0 \\ \frac{dc_2}{dt} &= k_3 se - (k_{-3} + k_4)c_2 & c_2(0) &= 0 \\ \frac{de}{dt} &= -k_1 se + (k_{-1} + k_2)c_1 & e(0) &= e_0 \\ \frac{dp}{dt} &= k_2 c_1 + k_4 c_2 & p(0) &= 0. \end{aligned} \quad (2.32)$$

Ovaj model ima slične karakteristike kao i Michaelis-Mentenov model, zadnja jednadžba za  $p$  ima samo izraze za  $c_1$  i  $c_2$  te se lako izračuna nakon što se oni odrede, a očuvanje koncentracija enzima dobivamo zbrajanjem diferencijalnih jednadžbi za  $e$ ,  $c_1$  i  $c_2$  tj.

$$\frac{de}{dt} + \frac{dc_1}{dt} + \frac{dc_2}{dt} = 0 \Rightarrow e + c_1 + c_2 = 0$$

što kad iskoristimo na sustavu jednadžbi (2.32) dobijemo pojednostavljeni sustav s istim početnim uvjetima dan u sljedećem obliku

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 e_0 s + (k_{-1} + k_1 s - k_3 s)c_1 + (k_1 s + k_{-3})c_2 \\ \frac{dc_1}{dt} &= k_1 e_0 s - (k_{-1} + k_2 + k_1 s + k_3 s)c_1 + (k_{-3} + k_4 - k_1 s)c_2 \\ \frac{dc_2}{dt} &= k_3 s c_1 - (k_{-3} + k_4)c_2. \end{aligned} \quad (2.33)$$



Sljedeći korak je adimensionalizacija za koju ćemo koristiti parametrizaciju iz [4, Sekcija 6.5, str. 200]

$$\begin{aligned} \tau &= k_1 e_0 t, & u &= \frac{s}{s_0}, & v_1 &= \frac{c_1}{e_0}, & v_2 &= \frac{c_2}{e_0} \\ a_1 &= \frac{k_{-1}}{k_1 s_0}, & a_2 &= \frac{k_2}{k_1 s_0}, & a_3 &= \frac{k_3}{k_1}, & a_4 &= \frac{k_{-3}}{k_1 s_0} \\ & & a_5 &= \frac{k_4}{k_1 s_0}, & \varepsilon &= \frac{e_0}{s_0} \end{aligned}$$

čime dobijemo adimensionalni sustav

$$\begin{aligned} \frac{du}{d\tau} &= -u + (u - a_3 u + a_1)v_1 + (u + a_4)v_2 \\ \varepsilon \frac{dv_1}{d\tau} &= u - (u + a_3 u + a_1 + a_2)v_1 + (a_4 + a_5 - u)v_2 \\ \varepsilon \frac{dv_2}{d\tau} &= a_3 u v_1 - (a_4 + a_5)v_2 \end{aligned} \quad (2.34)$$

uz početne uvjete

$$u(0) = 1, \quad v_1(0) = v_2(0) = 0.$$

Sustav je problem singularne pertubacije i mogao bi se rješavati metodom asimptotskog sparivanja, no s obzirom na uvodnu raspravu s višemolekularnim reakcijama fokusiramo se uglavnom na traženje vanjskog rješenja reda  $O(1)$  koje se može eksperimentalno mjeriti. Zato što tražimo samo rješenja za  $O(1)$  nema potrebe raspisivati sve redove i uvrštavati nizove funkcija s obzirom da je to ekvivalentno s time da samo postavimo  $\varepsilon = 0$  u (2.34) i tako druge dvije jednadžbe iz (2.34) postaju algebarske te ih možemo izraziti u ovisnosti o  $u$

$$\begin{aligned} 0 &= a_3 u v_1 - (a_4 + a_5)v_2 \\ v_2 &= \frac{a_3 u v_1}{a_4 + a_5} \\ 0 &= u - (u + a_3 u + a_1 + a_2)v_1 + (a_4 + a_5 - u)v_2 \\ 0 &= u - (u + a_3 u + a_1 + a_2)v_1 + (a_4 + a_5 - u) \cdot \frac{a_3 u v_1}{a_4 + a_5} \\ u &= v_1 \left( u + a_3 u + a_1 + a_2 - a_3 u + \frac{a_3 u^2}{a_4 + a_5} \right) \\ v_1 &= \frac{u}{u + a_1 + a_2 + a_3 u^2 (a_3 + a_5)^{-1}} \end{aligned}$$

To dvoje možemo uvrstiti u prvu jednadžbu (2.34) te dobijemo pojednostavljeni oblik

$$\frac{du}{d\tau} = -u \frac{a_3 a_5 u + a_2 (a_4 + a_5)}{a_3 u^2 + (a_4 + a_5)(a_1 + a_2 + u)} < 0$$

što bi se dalje moglo riješiti jednostavnom primjenom separacije varijabli, iako će sam konačni izraz i račun biti komplicirani. U nastavku se usredotočujemo na brzinu reakcije, kako bismo mogli dovršiti usporedbu između standardnog Michaelis-Mentenovog modela i kooperativnog fenomena. Prvo se vratimo u dimenzionalni oblik za brzinu reakcije, čime dobivamo

$$\begin{aligned} R_0(s) &= \frac{ds}{dt} = -s \frac{\frac{k_2}{k_1 s_0} + \frac{k_3 k_4 s}{k_1 k_1 s_0 s_0} \left( \frac{k_1 s_0}{k_4 + k_{-3}} \right)}{s_0 \frac{k_{-1}}{k_1 s_0} + \frac{k_2}{k_1 s_0} + \frac{s}{s_0} + \frac{k_3 \dots^2}{k_1 s_0 \cdot s_0^2} \frac{k_1 s_0}{k_4 + k_{-3}}} \\ &= \frac{-s}{s_0} \frac{k_2 (k_{-3} + k_4) + k_3 k_4 s}{(k_{-1} + k_2) (k_{-3} + k_4) + k_1 (k_{-3} + k_4) s + k_1 k_3 s^2} \\ &= \frac{-s}{s_0} \frac{k_2 K'_m + k_4 s}{K'_m (k_{-1} + k_2 + s) + k_1 s^2} \\ &= -\frac{s}{k_1 s_0} \frac{k_2 K'_m + k_4 s}{K_m K'_m + K'_m s + s^2} \end{aligned}$$

pri čemu su  $K_m = (k_{-1} + k_2) / k_1$  i  $K'_m = (k_{-3} + k_4) / k_3$ , analogoni Michaelis-Mentenovoj konstanti  $K_m$  iz prethodne sekcije. Možemo sada odrediti uvjete pod kojim će ovaj izraz postati približno jednak (2.30). Ukoliko je  $k_2 = 0$ , dio koji linearno ovisi o  $s$  će nestati, a da bismo mogli zanemariti izraz  $K'_m s$  u nazivniku trebamo imati

$$K'_m s \ll K_m K'_m \quad \text{i} \quad K'_m s \ll s^2$$

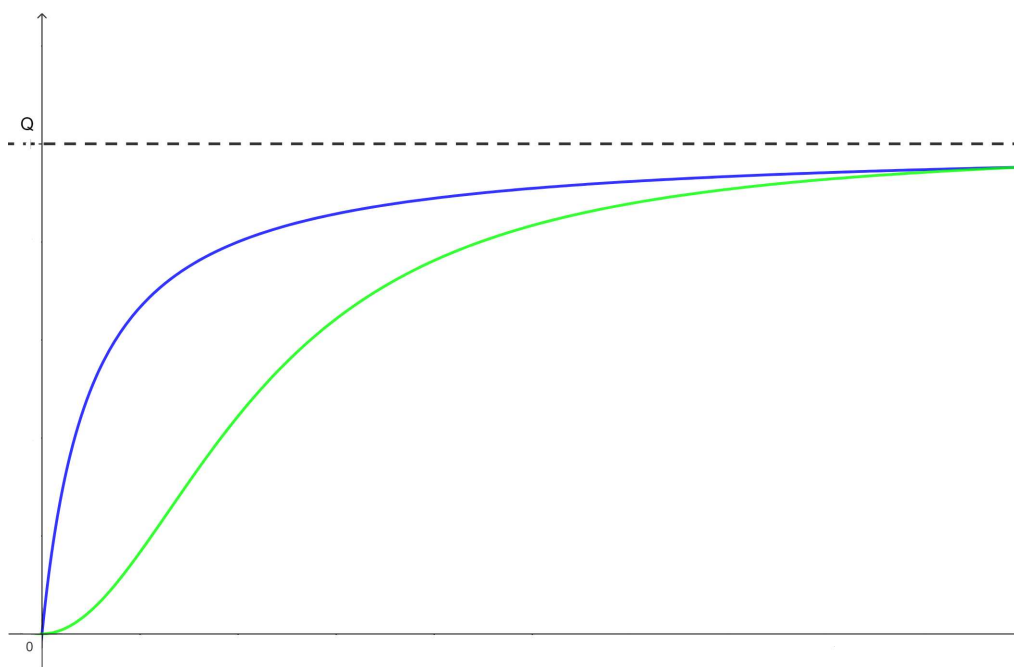
pa kad pokratimo vrijednosti u nejednakostima dobivamo

$$K'_m \ll s \ll K_m \Rightarrow \frac{k_1}{k_2 + k_{-1}} \ll \frac{k_3}{k_4 + k_{-3}}$$

što nas dovodi do zaključka da ukoliko se reakcija vezanja druge molekule supstrata na nastali kompleks supstrat-enzim odvija puno brže model će se ponašati skoro jednako početnom pojednostavljenom modelu gdje se enzim odmah veže s dvije molekule supstrata. Primjer takvog ponašanja i krivulja se javlja upravo za već opisani primjer s hemoglobinom, dok je vezanje kisika za jedino aktivno mjesto mioglobina opisano standardnim Michaelis-Mentenovim modelom.

## 2.6 Kinetika inhibicijskih supstrata

U prošloj sekciji o kooperativnom efektu spomenuto je da se ovisno o tome na koji način supstrat mijenja afinitet aktivnog mjesta može biti aktivator ili inhibitor. Ako gledamo na taj način, u prošloj sekciji razmatrali smo slučaj aktivatora. Međutim, slučaj gdje supstrat djeluje inhibicijski je izuzetno važan. Većina lijekova koji se u današnje vrijeme primjenjuje nastoji promijeniti djelovanje nekog proteina u našem tijelu, a ogroman broj njih



Slika 2.2: Graf ovisnosti brzine reakcije za kooperativni mehanizam o  $s_0$  (zelena) i usporedba s običnom Michaelis-Mentenovom brzinom (plava) kad je  $k_2 = 0$ . Jasno se uočava infleksija kod kooperativnog mehanizama.

nastoji upravo inhibirati djelovanje nekog proteina u tijelu. Jedan od boljih primjera bi mogli biti upravo nestereoidni protuupalni lijekovi poput acetilsalicilne kiseline ili ibuprofena – oni se vežu za COX-1 i COX-2 enzime koji sudjeluju u proizvodnji prostaglandina, molekula čije je jedno od brojnih učinaka u tijelu pojačati kaskadu reakcija kojima se javlja upala, čime se pojačava osjećaj boli. Drugi primjer koji pokazuje koliko je mehanizam inhibicije bitan je u liječenju hipertenzije gdje su jedni od najčešće korištenih lijekova baš ACE-inhibitori. Inhibitori se vežu na angiotenzin konvertirajući enzim (ACE) u bubrezima čime se sprječava stvaranje molekule angiotenzina II koja uzrokuje konstrikciju krvnih žila i posljedično povisuje krvni tlak. Ovdje ćemo zato opisati i modelirati jedan mogući sustav inhibicijskog mehanizma.



Ovim kemijskim jednadžbama opisujemo sljedeći niz događaja. Supstrat  $S$  se veže na enzim  $E$  čime se tvori enzim supstrat kompleks kojega zapisujemo s  $X$ . Taj početni kompleks se može ili raspasti na početne reaktante  $S$  i  $E$  ili može promijeniti konfiguraciju u oblik  $Y$ . Nakon što dođe u oblik  $Y$ , kompleks nastavlja reakciju ireverzibilno tako da stvori produkt  $P$  i vrati se u originalni oblik  $E$  ili prijeđe u neaktivni (inhibirani) oblik enzima  $E_i$ . Zbog toga se supstrat  $S$  još naziva i suicidalnim supstratom jer se veže na aktivno mjesto poput običnog supstrata, ali enzim ga može pretvoriti u inhibitor čime se enzim ireverzibilno inaktivira tj. počini "samoubojstvo". Suicidni supstrati imaju i stvarnu primjenu kao jedna od opcija u liječenju depresije, epilepsije i nekih drugih problema. Iz samog sustava jednadžbi možemo zamisliti moguće scenarije gdje se sav enzim inhibira ili se sav supstrat potroši prije kompletne inhibicije te su oba realni ishodi reakcije. U nastavku predstavljamo analizu provedenu u [4], gdje  $e_0/s_0$  može biti reda veličine  $O(1)$ , što ima smisla ako zamislimo slučaj gdje se u prosjeku enzim inaktivira za svakih  $k \in \mathbb{R}$  molekula supstrata  $S$ . Ipak, imamo mali faktor  $\varepsilon$  jer kao što smo u već nekim adimensionalizacijama vidjeli uz  $\varepsilon = e_0/(s_0 + K_m)$ .

Počnimo s izradom i analizom matematičkog modela raspisivanjem sustava diferencijalnih jednadžbi prema zakonu o djelovanju masa. Na taj način dobivamo:

$$\begin{aligned}
 \frac{dS}{dt} &= -k_1[E][S] + k_{-1}[X], & S(0) &= s_0 \\
 \frac{dE}{dt} &= -k_1[E][S] + k_{-1}[X] - k_3[Y], & E(0) &= e_0 \\
 \frac{dX}{dt} &= k_1[E][S] - k_{-1}[X] - k_2[X], & X(0) &= 0 \\
 \frac{dY}{dt} &= k_2[X] - k_3[Y] - k_4[Y], & Y(0) &= 0 \\
 \frac{dE_i}{dt} &= k_4[Y], & E_i(0) &= 0 \\
 \frac{dP}{dt} &= k_3[Y], & P(0) &= 0.
 \end{aligned} \tag{2.36}$$

Kao i u prijašnjim sustavima,  $P$  nije vezan te se može jednostavno izračunati integracijom na kraju nakon što se odredi  $[Y]$ . Nadalje, sustav se može pojednostaviti ako iskoristimo očuvanje enzima što dobijemo tako da zbrojimo jednadžbe za razne oblike enzima:

$$\frac{d[E + [X] + [Y] + [E_i]]}{dt} = 0 \Rightarrow [E + [X] + [Y] + [E_i] = e_0. \tag{2.37}$$

Uvrstimo (2.37) u (2.36) te dobivamo pojednostavljeni sustav

$$\begin{aligned}
 \frac{dS}{dt} &= -k_1(e_0 - [x] - [Y] - [E_i])[S] + k_{-1}[X] \\
 \frac{dX}{dt} &= k_1(e_0 - [X] - [Y] - [E_i])[S] - (k_{-1} + k_2)[X] \\
 \frac{dY}{dt} &= k_2[X] - (k_3 + k_4)[Y] \\
 \frac{dE_i}{dt} &= k_4[Y].
 \end{aligned} \tag{2.38}$$

Adimenzionalizaciju ćemo provesti prema [4, sekcija 6.4, str. 190]. tj. stavimo

$$\begin{aligned}
 [S] &= s_0 s, & [X] &= \frac{e_0 s_0}{s_0 + K_m} x = \varepsilon s_0 x, \\
 [Y] &= e_0 y, & [E_i] &= e_0 e, \\
 K_m &= \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, & \varepsilon &= \frac{e_0}{s_0 + K_m}.
 \end{aligned} \tag{2.39}$$

Za brzu prolaznu vremensku skalu stavljamo

$$\tau = t/t_c = k_1(s_0 + K_m)t, \tag{2.40}$$

dok za dugu vremensku skalu postavljamo

$$T = (1 + \rho)t/t_s = \varepsilon(k_{-1} + k_2)(1 + \rho)t, \quad \rho = \frac{k_{-1}}{k_2}. \tag{2.41}$$

Koristeći parametrizaciju (2.39) uz  $\tau$  za vremensku skalu, dobijemo adimenzionalizaciju za brzo prolazno vrijeme

$$\begin{aligned}
 \frac{ds}{d\tau} &= \varepsilon \left[ -s + \frac{\sigma}{\sigma + 1} sx + sy + se \frac{\rho}{(1 + \rho)(1 + \sigma)} x \right] \\
 \frac{dx}{d\tau} &= s - \frac{\sigma}{1 + \sigma} sx - sy - se - \frac{1}{1 + \sigma} x \\
 \frac{dy}{d\tau} &= \frac{\sigma}{(1 + \sigma)^2 (1 + \rho)} x - \frac{\psi}{1 + \rho} y \\
 \frac{de}{d\tau} &= \frac{\phi}{1 + \sigma} y
 \end{aligned} \tag{2.42}$$

dok za  $T$  imamo sljedeću adimenzionalizaciju za dugo vrijeme

$$\begin{aligned}\frac{ds}{dT} &= -s[(1 + \sigma) - \sigma x - (1 + \sigma)y - (1 + \sigma)e] + \frac{\rho}{1 + \rho}x \\ \varepsilon \frac{dx}{dT} &= s[(1 + \sigma) - \sigma x - (1 + \sigma)y - (1 + \sigma)e] - x \\ \varepsilon \frac{dy}{dT} &= \frac{\sigma}{(1 + \sigma)(1 + \rho)}x - \psi y \\ \varepsilon \frac{de}{dT} &= \phi y\end{aligned}\tag{2.43}$$

uz konstante

$$\sigma = \frac{s_0}{K_m}, \quad \psi = \frac{k_3 + k_4}{k_{-1} + k_2}, \quad \phi = \frac{k_4}{k_{-1} + k_2}\tag{2.44}$$

i početne uvjete

$$s(0) = 1, \quad x(0) = 0, \quad y(0) = 0, \quad e(0) = 0.\tag{2.45}$$

Sustav opet analiziramo metodom asimptotskog sparivanja. Krenimo s unutarnjim odnosno singularnim rješenjem. Dakle, prvo napišemo sve varijable  $s$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $e$  u obliku Taylorovog reda

$$s(\tau) = \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon^n s_n, \dots\tag{2.46}$$

uvrstimo te redove u (2.42), izjednačimo izraze uz iste potencije  $\varepsilon$  i tražimo rješenja počevši od  $O(1)$ . Počinjemo od jednostavnijih jednadžbi. Na taj način vidimo da iz prve jednadžbe (2.42) uz početni uvjet (2.45) dobijemo

$$\frac{ds_0}{d\tau} = 0 \quad \Rightarrow \quad s_0 = 1.$$

Sada za treću jednadžbu iz (2.42) zbog relacije

$$\varepsilon = \frac{e_0}{s_0(1 + K_m/s_0)} = \frac{e_0}{s_0} \frac{\sigma}{1 + \sigma}$$

vidimo da je  $\sigma = O(\varepsilon)$ , pa dobivamo

$$\begin{aligned}\frac{dy_0}{d\tau} &= -\frac{\psi}{1 + \sigma}y_0 \\ \ln y_0 &= -\frac{\psi}{1 + \sigma}\tau + A \\ y_0 &= 0\end{aligned}$$

zbog početnog uvjeta  $y(0) = 0$ . Sada lako rješavamo jednadžbu koju dobijemo iz zadnje jednadžbe (2.42)

$$\frac{de_0}{d\tau} = \frac{\phi}{1+\sigma}y_0 = 0 \quad \Rightarrow \quad e_0 = 0.$$

Kada uvrstimo sve dobivene varijable reda  $O(1)$  u preostalu jednadžbu (2.42) dobivamo

$$\begin{aligned} \frac{dx_0}{d\tau} &= s_0 - s_0y_0 - s_0e_0 - \frac{s_0}{1+\sigma}x_0 - \frac{\sigma s_0}{1+\sigma}x_0 \\ \frac{dx_0}{d\tau} &= 1 - x_0 \left( \frac{1}{1+\sigma} + \frac{\sigma}{1+\sigma} \right) \\ \frac{dx_0}{d\tau} &= 1 - x_0 \\ -\ln(1-x_0) &= C + \tau \quad \Rightarrow \quad 1 - x_0 = C \cdot e^{-\tau} \\ x_0(0) = 0 &= 1 - Ce^0 \quad \Rightarrow \quad C = 1. \end{aligned}$$

Vidimo da su rješenja  $O(1)$  većinom trivijalna pa ćemo odrediti i rješenja  $O(\varepsilon)$  kako bismo dobili netrivialna unutarnja rješenja. Prije toga ćemo na kratko obratiti pozornost na činjenicu da je  $\sigma = O(\varepsilon)$ , a to ćemo malo formalnije zapisati kao

$$\sigma = p \cdot \varepsilon \tag{2.47}$$

pri čemu je  $p$  konstanta proporcionalnosti. Počnimo s jednostavnijim jednadžbama reda  $O(\varepsilon)$  pazeći na (2.47) uz to da ćemo razlomke sa  $\sigma + 1$  u nazivniku zamijeniti Taylorovim redom

$$\frac{1}{(1+\sigma)} = 1 - \sigma + O(\sigma^2) \quad \text{i} \quad \frac{1}{(1+\sigma)^2} = 1 - 2\sigma + O(\sigma^2).$$

Dobivamo

$$\begin{aligned} \frac{ds_1}{d\tau} &= -s_0 + s_0y_0 + s_0e_0 + \frac{\rho}{\rho+1}x_0 = -1 + \frac{\rho}{\rho+1}(1 - e^{-\tau}) \\ s_1 &= -\frac{\tau}{\rho+1} + \frac{\rho}{\rho+1}e^{-\tau} + A \quad \Rightarrow \quad A = -\frac{\rho}{\rho+1} \\ s_1 &= -\frac{\tau}{\rho+1} + \frac{\rho}{\rho+1}(e^{-\tau} - 1) \end{aligned} \tag{2.48}$$

Nastavimo s ostalim varijablama

$$\frac{dy_1}{d\tau} = \frac{p}{1+\rho}x_0 - \frac{\psi}{1+\rho}y_1$$

što je linearna diferencijalna jednadžba prvog reda. Prvo rješavamo homogeni dio

$$\frac{dy_1}{y_1} = -\frac{\psi}{1+\rho}d\tau \Rightarrow y_1 = Ce^{-\psi\tau}$$

pa partikularni

$$C'(t) e^{-\psi t} = \frac{P}{1+\rho} (1 - e^{-t}) \quad \Rightarrow \quad C(t) = \frac{P}{1+\rho} \left[ \frac{e^{\psi t}}{\psi} - \frac{e^{(\psi-1)t}}{\psi-1} \right] + D.$$

Iz početnog uvjeta imamo

$$y_1(0) = 0 = \frac{P}{1+\rho} \left( \frac{1}{\psi} - \frac{1}{\psi-1} \right) + D \quad \Rightarrow \quad D = \frac{P}{1+\rho} \left( \frac{1}{\psi-1} - \frac{1}{\psi} \right)$$

te je konačni izraz za  $y_1$  dan u sljedećem obliku

$$y_1 = \frac{P}{1+\rho} \left[ \frac{1 - e^{-t}}{\psi} + \frac{e^{-\psi t} - e^{-t}}{\psi-1} \right]. \quad (2.49)$$

Dalje možemo odrediti  $e_1$  iz (2.42) integracijom uz Taylorov red  $1/(1+\sigma) = 1 - \sigma + O(\varepsilon^2)$

$$\begin{aligned} \frac{de_1}{d\tau} &= \frac{\phi}{1+\sigma} y_1 = \frac{\phi P}{1+\rho} \left[ \frac{1 - e^{-t}}{\psi} + \frac{e^{-\psi t} - e^{-t}}{\psi-1} \right] \\ e_1 &= \frac{\phi P}{1+\rho} \left[ \frac{\tau}{\psi} + \frac{e^{-\psi t}}{\psi^2} + \frac{e^{-t}}{\psi-1} - \frac{e^{-\psi t}}{\psi(\psi-1)} + A \right] \\ e_1(0) = 0 &= A + \frac{1}{\psi^2} + \frac{1}{\psi-1} - \frac{1}{\psi(\psi-1)} \\ \Rightarrow A &= \frac{1}{\psi^2(\psi-1)} - \frac{1}{\psi-1} \\ e_1 &= \frac{\phi P}{1+\rho} \left[ \frac{\tau}{\psi} + \frac{1 - e^{-\psi t}}{\psi^2(\psi-1)} + \frac{e^{-t} - 1}{\psi-1} \right]. \end{aligned} \quad (2.50)$$

Ovdje smo pretpostavili da je  $\psi = O(1)$ , no da je  $\psi = O(\varepsilon)$  netrivialno rješenje za  $e$  se skoro ne bi promijenilo. Naime, onda bismo imali  $\psi = \varepsilon \cdot q$  i novi izraz za  $e_1$

$$e_1 = \frac{pq}{1+\sigma} y_0 = 0 \quad \Rightarrow \quad e_1 = 0,$$

a zato što je  $y_0 = 0$  i početni uvjet  $e_1 = 0$ , vidimo da bi jedina razlika između tog  $e_2$  i našeg  $e_1$  bila u koeficijentu  $q$ . Što se tiče  $x_1$ , budući da smo izračunali izraze za sve ostale varijable reda  $O(\varepsilon)$  dobijemo linearnu diferencijalnu jednadžbu prvog reda (trivijalna rješenja su već uvrštena)

$$\frac{dx_1}{d\tau} = s_1 - px_0 - y_1 - e_1 + x_0 - x_1$$

što je jednostavno za riješiti.



Nakon što smo konačno odredili unutarnja rješenja koja zadovoljavaju početne uvjete, trebamo riješiti sustav za vanjska rješenja. Postupak je isti, ali sada radimo s (2.43). Za  $x_0$  i  $y_0$  imamo

$$0 = -\psi y_0 \quad \Rightarrow \quad y_0 = 0$$

uz pretpostavku da je  $\psi = O(1)$  te

$$0 = s_0(1 - y_0 - e_0) - x_0 = s_0 - s_0 e_0 - x_0 \quad \Rightarrow \quad x_0 = s_0(1 - e_0). \quad (2.51)$$

Nailazimo na mali problem prilikom raspisivanja jednadžbi raznih redova veličine jer za koeficijente  $\psi$  i  $\phi$  ne možemo znati na prvu ruku kojeg su reda veličine. Budući da iz eksperimenata znamo da za ovaj sustav imamo dva moguća krajnja slučaja, u jednom se potroši sav enzim dok se u drugom potroši sav supstrat. S obzirom da iz izraza znamo  $\phi < \psi$  raspisati ćemo slučajeve za  $\psi = O(1)$  uz  $\phi = O(1)$  odnosno  $\phi = O(\varepsilon)$ . Fokusiramo se na ove dvije konstante jer su njihovi izrazi upravo vezani uz brzine reakcija za stvaranje produkta odnosno inhibiranog enzima. Ipak, prije nego krenemo po slučajevima, možemo odrediti još jednu jednadžbu iz trenutnih redova veličina

$$\frac{dy_0}{dT} = 0 = \frac{p}{1 + \rho} x_0 - \psi y_1 \quad \Rightarrow \quad y_1 = \frac{p}{\psi(1 + \rho)} x_0 \quad (2.52)$$

**Prvi slučaj** -  $\psi = O(1)$ ,  $\phi = O(1)$

Koristeći (2.51) i  $y_0 = 0$  dobivamo jednadžbu za  $s_0$  iz (2.43)

$$\frac{ds_0}{dT} = -s_0(1 - y_0 - e_0) + \frac{\rho}{\rho + 1} x_0 = -s_0(1 - e_0) + \frac{\rho}{\rho + 1} s_0(1 - e_0) = \frac{-1}{\rho + 1} s_0(1 - e_0) \quad (2.53)$$

dok izjednačavanjem za  $O(\varepsilon)$  za  $e$  iz (2.43) uz (2.52) i (2.51) dobivamo

$$\frac{de_0}{dT} = \psi y_1 = \frac{\phi p}{\psi(1 + \rho)} s_0(1 - e_0). \quad (2.54)$$

Sada vidimo da (2.53) i (2.54) ovise jednako o istim varijablama, ali uz različite koeficijente, pa ćemo ta dva izraza podijeliti čime dobivamo jednostavnu diferencijalnu jednadžbu

$$\frac{ds_0}{de_0} = -\frac{\psi}{\phi p} \quad \Rightarrow \quad \phi p ds_0 = \psi de_0$$

$$e_0(T) = \frac{\phi p}{\psi} (B - s_0(T)) \quad (2.55)$$

pri čemu je  $B$  konstanta integracije dok izraz u razlomku možemo sažeti u novu konstantu  $\beta = \psi/(\phi p)$  radi kasnije jednostavnosti zapisa. Konstanta integracije se određuje izjednačavanjem u limesu s unutarnjim rješenjem. Dakle, kada  $T \rightarrow 0$  izraz za  $s_n(T)$

se mora poklapati sa  $s_n(\tau)$  za  $\tau \rightarrow \infty$ . Isto vrijedi i za ostale varijable, pa određujemo vrijednosti u limesu za

$$\begin{aligned}\lim_{\tau \rightarrow \infty} s_0(\tau) &= \lim 1 = 1, & \lim_{\tau \rightarrow \infty} x_0(\tau) &= \lim 1 - e^{-\tau} = 1 \\ \lim_{\tau \rightarrow \infty} y_0(\tau) &= \lim 0 = 0, & \lim_{\tau \rightarrow \infty} e_0(\tau) &= \lim 0 = 0\end{aligned}$$

stoga imamo

$$\lim_{T \rightarrow 0} e_0(T) = \lim_{T \rightarrow 0} \frac{1}{\beta} (B - s_0) = 0 \quad \Rightarrow \quad B - s_0(0) = 0.$$

Dakle, imamo  $B = 1$ . To i (2.55) možemo uvrstiti u (2.53) kako bismo izračunali točan izraz za  $s_0$

$$\begin{aligned}\frac{ds_0}{dT} &= \frac{-1}{\rho + 1} s_0 \left[ 1 - \frac{1}{\beta} (1 - s_0) \right] = -\frac{1}{\beta(\rho + 1)} s_0 (\beta - 1 + s_0) \\ \frac{ds_0}{s_0 (\beta - 1 + s_0)} &= -\frac{dT}{\beta(\rho + 1)}\end{aligned}$$

Lijevi izraz rastavimo na zbroj razlomaka

$$\begin{aligned}\frac{1}{\beta - 1} \ln(s_0) - \frac{1}{\beta - 1} \ln(\beta - 1 + s_0) &= \frac{-T}{\beta(\rho + 1)} + C \\ \ln\left(\frac{\beta - 1 + s_0}{s_0}\right) &= \frac{(\beta - 1)T}{\beta(\rho + 1)} + C \\ \frac{\beta - 1}{s_0} &= C e^{\frac{\beta - 1}{\beta(\rho + 1)} T} - 1 \\ s_0 &= \frac{\beta - 1}{1 - C e^{-\frac{\beta - 1}{\beta(\rho + 1)} T}}\end{aligned}$$

Sada određujemo konstantu pomoću limesa

$$\lim_{T \rightarrow 0} \left( \frac{1 - \beta}{1 - C e^{-\frac{1 - \beta}{\beta(\rho + 1)} T}} \right) = 1 \quad \Rightarrow \quad C = \beta$$

čime dobijemo konačni izraz za  $s_0$

$$s_0 = \frac{1 - \beta}{1 - \beta e^{-\frac{\beta - 1}{\beta(\rho + 1)} T}}. \quad (2.56)$$

**Drugi slučaj** -  $\psi = O(1)$ ,  $\phi = O(\varepsilon)$

Sada zbog pretpostavke da je  $\phi = O(\varepsilon)$  iz zadnje jednačbe od (2.43) dobivamo

$$\frac{de_0}{dT} = qy_0 \quad \Rightarrow \quad e_0 = 0$$

uz to da je  $q$  koeficijent proporcionalnosti  $\phi = q\varepsilon$  iz  $y_0 = 0$  i početnog uvjeta  $e_0 = 0$ . Sada nam se izrazi za  $s_0$  i  $x_0$  pojednostavljaju jer oni ostaju isti kao u prošlom slučaju iz razloga što se u njihovim diferencijalnim jednadžbama ne pojavljuje  $\phi$  tako da imamo

$$\frac{ds_0}{dT} = -\frac{s_0}{1+\rho}, \quad \Rightarrow \quad s_0 = Ce^{-\frac{T}{1+\rho}}.$$

Iz početnog uvjeta za  $s_0(0) = 1$  dobivamo

$$s_0 = e^{-\frac{T}{1+\rho}} \quad x_0 = s_0 \quad \text{i} \quad y_1 = \frac{P}{\psi(1+\rho)}s_0. \quad (2.57)$$

Sada odredimo  $e_1$  tako da imamo netrivialna rješenja za sve varijable

$$\begin{aligned} \frac{de_1}{dt} = qy_1 &\Rightarrow e_1 = A - \frac{pq}{\psi}e^{-\frac{T}{1+\rho}} \Rightarrow A = \frac{pq}{\psi} \\ e_1 = \frac{pq - pqe^{-\frac{T}{1+\rho}}}{\psi} &= \frac{1 - e^{-\frac{T}{1+\rho}}}{\beta}. \end{aligned} \quad (2.58)$$

Rješenja za brzu i dugu vremensku skalu mogu se iskoristiti kako bismo dobili kompozitno rješenje koje vrijedi za cijelo vrijeme prema metodi asimptotskog sparivanja. Na primjer, ukupno rješenje za  $s_0$  u drugom slučaju bismo dobili tako da zbrojimo  $s(\tau) = 1$ ,  $s(T) = e^{-T/(1+\rho)}$  te oduzmemo 1, što je limes u kojem se rješenja poklapaju te budući da izražavamo za cijelo vrijeme, parametrizirano vrijeme vraćamo u dimenzionalno

$$s_0^s = 1 + e^{-T/(1+\rho)} - 1 = e^{-t/t_s}.$$

Na taj način dobivamo dva konačna rješenja za svaki slučaj valjana za svo vrijeme

Prvi slučaj:

$$\begin{aligned} s_0^k(t) &= \frac{1 - \beta}{1 - \beta e^{t(1-1/\beta)t_s}}, & e_0^k(t) &= \frac{1 - s_0^k}{\beta} \\ x_0^k(t) &= s_0(1 - e_0) - e^{-t/t_c}, & y_0^k &= 0 \\ \varepsilon y_1^k(t) &= \frac{\sigma}{\psi(1+\rho)} \left( \frac{e^{-\psi t/t_c} - \psi e^{-t/t_c}}{\psi - 1} + s_0^k(1 - e_0^k) \right) \end{aligned} \quad (2.59)$$

Drugi slučaj:

$$\begin{aligned} s_0^s(t) &= e^{-t/t_s}, & e_0^s(t) &= 0, & \varepsilon e_1^s(t) &= \frac{1 - s_0(t)}{\beta} \\ x_0^s(t) &= s_0^s(t) - e^{-t/t_c}, & y_0^s(t) &= 0, \\ \varepsilon y_1^s(t) &= \frac{\sigma}{\psi(1+\rho)} \left( \frac{e^{-\psi t/t_c} - \psi e^{-t/t_c}}{\psi - 1} + s_0^s \right) \end{aligned} \quad (2.60)$$

Kada pogledamo složena rješenja za oba slučaja, vidimo da u drugom slučaju imamo  $s_0 \rightarrow 0$ , što nam kaže da se u tom slučaju sav supstrat potroši. U prvom slučaju vidimo da ćemo ovisno o  $\beta$  dobiti da  $e \rightarrow 1$  ili  $s \rightarrow 0$  odnosno da će se ili sav supstrat potrošiti ili sav enzim inaktivirati. Naime, ukoliko vrijedi  $\beta < 1$  eksponencijalna funkcija u nazivniku od  $s_0$  će težiti u  $1 - \beta$  jer će eksponent biti negativan, a tada  $e_0$  teži u 1. Dakle dio supstrata se potroši dok se sav enzim ne inaktivira. Za slučaj kada je  $\beta > 1$  imamo  $s \rightarrow 0$  jer eksponencijalna funkcija u nazivniku ima pozitivan predznak. No za  $\beta > 1$  vidimo da izraz za  $s_0$  u prvom slučaju u limesu teži izrazu za  $s_0$  u drugom slučaju. Time dolazimo do zaključka da je upravo parametar  $\beta$  taj po kojem se ta dva slučaja razlikuju. Ukoliko je  $\beta < 1$  vrijedi prvi slučaj, dok za  $\beta > 1$  vrijedi drugi slučaj. Za  $\beta = 1$  vidimo da se dobije  $s_0 = 0$  i  $e_0 = 1$  odnosno potroše se sav supstrat i sav enzim se inaktivira.

Na slici iz [4, sekcija 6.4, str. 196] (prema rezultatima Burke-a) vidi se usporedba numeričkog rješenja sustava (2.38) sa složenim rješenjima koja su dobivena analizom singularne perturbacije za drugi slučaj. Na toj slici su prikazane usporedbe rješenja za  $s$  i  $e$  uz to da budući se numerička analiza obavila na dimenzionalnom sustavu, adimenzionalne vrijednosti su bile pomnožene svojim faktorom skaliranja. Na slici iz [4, sekcija 6.4, str 197] je prikazana usporedba numeričkih i analitičkih rješenja za koncentracije  $X$  i  $Y$ .

Rezultati pokazani na tim slikama nam govore da su analitička rješenja dobivena metodom asimptotskog sparivanja dobra aproksimacija kinetike suicidalnih inhibitora.

## Poglavlje 3

# Analiza stabilnosti reakcija s povratnom spregom

U ovom poglavlju bavimo se kvalitativnom analizom reakcija u kojima se javlja neki oblik povratne sprege. Povratna sprega je dosta česta pojava u biokemijskim sistemima. Povratnom spregom, u biokemijskom smislu, smatramo pojavu kada neki produkt reakcije utječe na odvijanje nekih drugih koraka reakcije što posljedično utječe na samo nastajanje produkta. Primjerice, prilikom zgrušavanja krvi enzim trombin aktivira faktor VIII koji sudjeluje u reakcijama koje vode do stvaranja i aktiviranja trombina. Taj slučaj, kad utjecaj produkta na druge reakcije dovodi do njegovog povećanog stvaranja nazivamo pozitivnom povratnom spregom. Negativnom povratnom spregom smatramo slučaj kad neki produkt uzrokuje smanjeni nastanak samog sebe. Slikoviti primjer iz fiziologije je regulacija koncentracije nekih hormona (npr. štitnjače) gdje povišena koncentracija nekog hormona inhibira enzim koji ga stvara i time ujedno i svoju koncentraciju. Ovdje govorimo o aktivatorima i inhibitorima, ali za razliku od slučajeva iz prethodnih poglavlja gdje su aktivatori i inhibitori utjecali na enzim, ovdje promatramo izravni utjecaj na brzinu reakcija. Ako imamo općeniti sustav

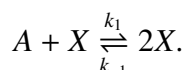
$$\frac{du}{dt} = f(u, v) \quad \frac{dv}{dt} = g(u, v)$$

kažemo da je  $u$  aktivator od  $v$  ukoliko je  $\partial g / \partial u > 0$ , a za  $v$  da je inhibitor od  $u$  ako je  $\partial f / \partial v < 0$  i obrnuto. Analizirat ćemo sustave s povratnim spregama preko stabilnosti kritičnih točki. Posebno nam je zanimljivo analizirati i proučiti primjere gdje stabilnost kritične točke ovisi o nekom parametru koji može varirati. Primjerice, ako je pri određenim vrijednostima parametra kritična točka stabilna, a pri drugim nestabilna, možemo dobiti sklopku u biokemijskom sustavu. Općenito je jako teško saznati točan tok reakcije u biokemijskim sustavima i za brojne reakcije se ne zna, ali možemo saznati kvantitativne promjene kako variranje koncentracije reaktanta ili nekih drugih uvjeta reakcije utječu na

tok reakcije. S obzirom da smo do sada vidjeli kako iz niza reakcija dobiti diferencijalne sustave, možemo raditi sustave diferencijalnih jednadžbi direktno s poznatim svojstvima.

### 3.1 Stabilnost nekih sustava

Jedan jednostavan oblik povratne sprege je autokataliza gdje je sama molekula uključena u svoju proizvodnju. Teorijski primjer bi bila reakcija



Možemo pogledati slučaj kad se koncentracija  $A$  održava na konstantnoj razini. U biokemijskim sustavima tako nešto nije neuobičajeno, na primjer tijelo nastoji održavati koncentracije kisika i glukoze u krvi konstantnima. Diferencijalna jednadžba koja opisuje promjenu koncentracije molekule  $X$  je

$$\frac{dx}{dt} = k_1ax - k_{-1}x^2.$$

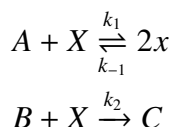
Pri tome smo kao i prije koncentracije reaktanata zapisivali malim slovima. Kritične točke u tom slučaju su

$$k_1ax - k_{-1}x^2 = 0 \Rightarrow x(k_1a - k_{-1}x) = 0$$

$$x_0 = 0 \quad \text{i} \quad x_1 = \frac{k_1a}{k_{-1}}$$

i preko derivacije  $f'(x) = k_1a - 2k_{-1}x$  vidimo da je kritična točka  $x_0$  nestabilna jer  $f'(0) = k_1a > 0$ , a  $x_1$  stabilna jer je  $f'(x_1) = -k_{-1}a < 0$ .

Prošli primjer reakcije možemo modificirati dodavanjem još jedne reakcije i time dobiti mehanizam s bifurkacijom. Dakle, sustav kemijskih jednadžbi neka je



pri čemu, neka se koncentracija od  $B$  kao i od  $A$  održava na konstantnoj razini. Time je reakcija opisana jednadžbom

$$\frac{dx}{dt} = k_1ax - k_{-1}x^2 - k_2bx = (k_1a - k_2b)x - k_{-1}x^2 = f(x). \quad (3.1)$$

$$f(x) = x(k_1a - k_2b - k_{-1}x) = 0 \Rightarrow x_0 = 0 \quad \text{i} \quad x_1 = \frac{k_1a - k_2b}{k_{-1}}$$

$$f'(x) = k_1a - k_2b - 2k_{-1}x \Rightarrow f'(x_0) = k_1a - k_2b, \quad f'(x_1) = k_2b - k_1a$$

Dakle, dobivamo dvije kritične točke, pa odredimo njihovu stabilnost. Vidimo iz izraza za  $f'(x)$  da će  $x_0$  biti stabilna ( $f'(x_0) < 0$ ) ukoliko je  $k_1a < k_2b$ , dok je  $x_1 < 0$  pa ju ne promatramo, ali je ujedno i nestabilna. Ukoliko je  $k_1a > k_2b$ , kritična točka  $x_0$  će biti nestabilna, dok će kritična točka  $x_1$  biti stabilna. U biti vidimo da stabilnost obje kritične točke ovisi o parametru  $k_1a - k_2b$  te da se stabilnost kritičnih točaka mijenja u  $k_1a - k_2b = 0$ . Kažemo da je došlo do bifurkacije.

Sada možemo proučiti model u koji se stavlja mehanizam povratne sprege. Pretpostavimo da imamo sustav s dvije molekule  $u$  i  $v$  čije koncentracije promatramo, a da smo ostale spojeve koji sudjeluju u reakciji mogli reducirati iz nekih spoznaja o reakciji. U tom modelu molekula  $u$  treba aktivirati stvaranje molekule  $v$ . Objе molekule se razgrađuju linearno proporcionalno svojim koncentracijama. Konačno, molekula  $v$  treba djelovati tako da (nelinearno) smanjuje stvaranje molekule  $u$  čime ujedno indirektno smanjuje i svoje stvaranje, drugim riječima da ima učinak negativne povratne sprege. Jedan sustav diferencijalnih jednadžbi koji sadrži sva svojstva je

$$\begin{aligned}\frac{du}{d\tau} &= \frac{a}{b+v} - cu = f(u, v) \\ \frac{dv}{d\tau} &= du - ev = g(u, v)\end{aligned}\tag{3.2}$$

gdje su  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  i  $e$  pozitivne konstante. Negativna povratna sprega je sadržana u izrazu  $a/(b+v)$ , linearna razgradnja u  $-cu$  i  $-ev$ , a aktivacijsko djelovanje od  $u$  u izrazu  $du$ . Možemo pretpostaviti da je to adimenzionalni oblik. Kritične točke određujemo kao uređeni par za  $f(u, v) = g(u, v) = 0$

$$\begin{aligned}du - ev = 0 &\Rightarrow v_0 = \frac{du_0}{e} \\ \frac{a}{b+v} - cu = 0 &\Rightarrow \frac{ae}{be + du_0} - cu_0 = 0 \\ ae - cu_0(be + du_0) &= 0 \\ u_0^2 + \frac{be}{d}u_0 - \frac{ae}{cd} &= 0.\end{aligned}$$

Budući da promatramo samo kritične točke s pozitivnim vrijednostima iz kvadratne jednadžbe za  $u_0$  ćemo uzeti samo pozitivno rješenje

$$u_0^1 = \frac{-\frac{be}{d} + \sqrt{\left(\frac{be}{d}\right)^2 + 4\frac{ae}{cd}}}{2}, \quad \left| \sqrt{\left(\frac{be}{d}\right)^2 + 4\frac{ae}{cd}} \right| > \frac{be}{d}.$$

Za tu kritičnu točku stabilnost određujemo preko svojstvenih vrijednosti lineariziranog Jakobijana u kritičnoj točki. Računamo

$$\begin{aligned} \begin{vmatrix} \frac{\partial f}{\partial u} - \lambda & \frac{\partial f}{\partial v} \\ \frac{\partial g}{\partial u} & \frac{\partial g}{\partial v} - \lambda \end{vmatrix}_{(u_0, v_0)} &= \begin{vmatrix} -c - \lambda & -\frac{a}{(b+v_0)^2} \\ d & -e - \lambda \end{vmatrix} = 0 \\ \lambda^2 + (c + e)\lambda + \left( ce + \frac{ad}{(b + v_0)^2} \right) &= 0 \\ \sqrt{\left| (c + e)^2 - 4 \frac{4ad}{(b + v_0)^2} \right|} < c + e &\Rightarrow \operatorname{Re} \lambda < 0. \end{aligned}$$

Dakle, budući da je svim svojstvenim vrijednostima realni dio manji od nula zaključujemo da imamo stabilnu kritičnu točku.

Sljedeći sustav je baziran na reakciji kisika i ureje uz enzim urikaza kojeg je predložio Thomas u [7]. Adimenzionalni oblik je

$$\begin{aligned} \frac{du}{dt} &= a - u - \rho R(u, v) = f(u, v) \\ \frac{dv}{dt} &= \alpha(b - v) - \rho R(u, v) = g(u, v) \\ R(u, v) &= \frac{uv}{1 + u + ku^2} \end{aligned} \quad (3.3)$$

pri čemu  $v$  predstavlja koncentraciju kisika, a  $u$  ureje, dok su  $a$ ,  $b$ ,  $\alpha$ ,  $\rho$  i  $K$  pozitivne konstante. Oba reaktanta dolaze u sustav konstantnim brzinama  $a$  i  $\alpha b$  te se linearno proporcionalno razgrađuju svojim koncentracijama. Izraz  $R(u, v)$  ostvaruje efekt inhibicije supstrata. Za fiksnu vrijednost  $v$  i male vrijednosti  $u$ ,  $R(u, v) \approx uv$  raste približno proporcionalno  $u$  dok je za velike vrijednosti od  $u$  približno jednak  $v/Ku$ , odnosno smanjuje se s  $u$ .

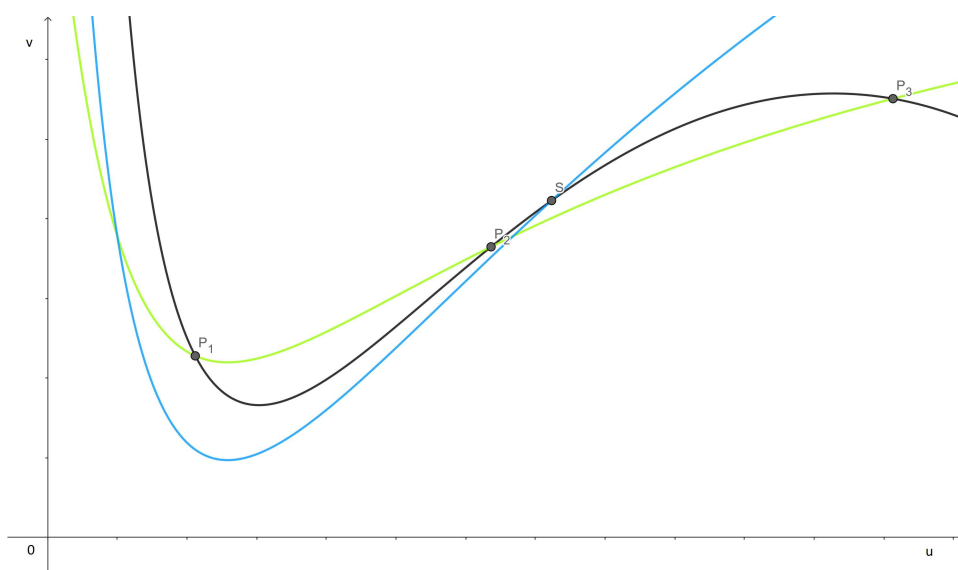
Stabilnost kritičnih točki ćemo sada odraditi malo drugačijom analizom tako što ćemo nacrtati funkcije  $f(u, v) = 0$  i  $g(u, v) = 0$  u faznoj ravnini od  $u$  i  $v$ . Kritične točke u faznoj ravnini su u biti one točke u kojima se  $f$  i  $g$  sijeku. Neka je  $A$  Jakobijan sustava (3.3)

$$A = \begin{bmatrix} f_u & f_v \\ g_u & g_v \end{bmatrix},$$

kojeg promatramo u kritičnoj točki, odredimo uvjete na elemente matrice  $A$  za stabilnu kritičnu točku

$$\begin{aligned} |A - \lambda I| &= (f_u - \lambda)(g_v - \lambda) - f_v g_u \\ &= \lambda^2 - (f_u + g_v)\lambda + (f_u g_v - f_v g_u) \\ \lambda_{1,2} &= \frac{\operatorname{tr} A \pm \sqrt{(\operatorname{tr} A)^2 - 4 \det A}}{2}. \end{aligned}$$





Slika 3.1: Shematski prikaz krivulja  $f$  i  $g$  u faznoj ravnini iz (3.3). Ovisno o parametrima imamo bifurkaciju sustava u sustav s tri kritične točke za zelenu krivulju  $g$  i jednom za  $g$  nacrtanu plavnom bojom. Predznak funkcija  $f$  i  $g$  je napisan iznad i ispod krivulja u odgovarajućoj boji.

Dakle, trag treba biti negativan, a determinanta pozitivna, što je možda očito ako znamo da svojstvene vrijednosti trebaju biti negativne, ali ovako zapisani uvjeti bi nam omogućili detaljniju analizu ako bi nas zanimale druge vrste kritičnih točki kojima se mi nismo bavili. Pomoću slike fazne ravnine 3.1 možemo odrediti predznake traga i determinante tako što odredimo kojeg su predznaka elementi  $A$  u kritičnoj točki, te iz usporedbe nagiba krivulja  $f$  i  $g$ .

Pogledajmo kritičnu točku  $S$  sa Slike 3.1 gdje se sjeku  $f = 0$  i  $g = 0$  nacrtan punom linijom. Neka je  $S = (u_s, v_s)$ . Kako bismo odredili predznak od, primjerice,  $f_u$ , pogledajmo okolinu točke  $S$  za fiksiran  $v_s$ . Kad je  $u < u_s$  vidimo da je  $f < 0$ , dok kad se pomaknemo desno od  $S$  za  $u > u_s$  je  $f_u > 0$ . Iz toga možemo zaključiti da je  $f_u > 0$ . Analogno određujemo i predznake svih ostalih parcijalnih derivacija. Za  $f_v$  vidimo da je  $f > 0$  kada je  $v < v_s$  te  $f < 0$  za  $v > v_s$ , pa je  $f_v < 0$ . Na isti način isčitavamo da su  $g_u > 0$  i  $g_v < 0$ . Nadalje, vidimo da je gradijent  $dv/du$  po krivulji  $g = 0$  veći od gradijenta po krivulji  $f = 0$  što možemo raspisati na sljedeći način:

$$\left. \frac{dv}{du} \right|_{g=0} = -\frac{g_u}{g_v} > -\frac{f_u}{f_v} > 0 \quad \Rightarrow \quad f_u g_v > f_v g_u \quad \Rightarrow \quad \det A = f_u g_v - f_v g_u > 0.$$

Dakle, kritična točka će biti stabilna ukoliko je  $f_u < g_v$ , a u suprotnom nestabilna. Proučimo sada i drugu mogućnost za zeleni  $g = 0$  sa Slike 3.1 gdje imamo tri kritične točke  $P_1$ ,  $P_2$

i  $P_3$ . Pogledajmo prvo kritičnu točku  $P_1$ , u njenoj okolini isčitavamo iz fazne ravnine da su svi elementi matrice  $A$  negativni, iz čega slijedi da je trag sigurno negativan. Gledajući gradijent  $dv/du$  u točki  $P_1$  vidimo da  $f = 0$  brže pada od  $g = 0$ . Dakle, imamo nejednakost

$$-\frac{f_u}{f_v} < -\frac{g_u}{g_v} \Rightarrow \det A > 0$$

stoga je kritična točka  $P_1$  stabilna. Za kritičnu točku  $P_3$  možemo isčitati da je

$$A = \begin{bmatrix} - & - \\ + & - \end{bmatrix}$$

te je kritična točka stabilna. Konačno gledamo kritičnu točku  $P_2$ . Njena matrica  $A$  je očito istog oblika kao i za kritičnu točku  $S$ , međutim sada  $f = 0$  brže raste od  $g = 0$  te imamo nejednakosti

$$-\frac{f_u}{f_v} > -\frac{g_u}{g_v} \Rightarrow f_u g_v < f_v g_u \Rightarrow \det A < 0$$

iz čega zaključujemo da je kritična točka  $P_2$  nestabilna.

Sa slike iz ovog primjera vidimo da stabilnost kritičnih točaka sustava može biti bitno drugačija ovisno o parametrima sustava. Intuitivno je jasno da postoje rasponi vrijednosti za koje imamo slučaj s jednom kritičnom točkom, dok za neke druge sustav ima tri kritične točke. Međutim moguće je da i neka druga svojstva ovise o parametrima tipa je li neki reaktant aktivator ili inhibitor. Dakle, očekujemo da postoje brojne mogućnosti za javljanja raznih bifurkacija kritičnih točki sustava pa nam je određivanje vrijednosti parametara za koje se to događa dosta bitno.

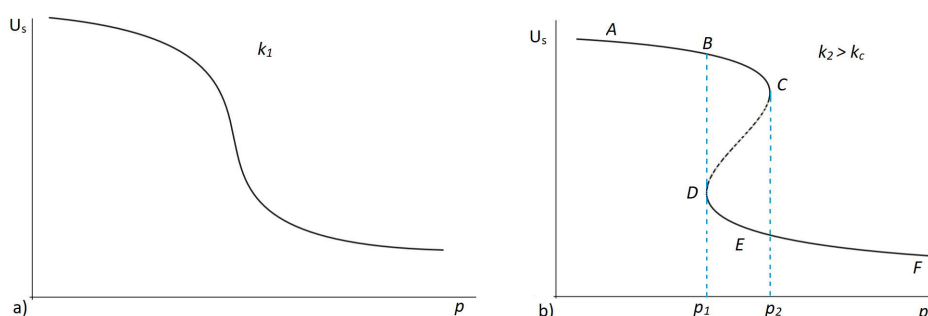
## 3.2 Primjeri bifurkacije sustava

U ovom odjeljku nam je cilj prikazati primjere koji ilustriraju kako se vrijednosti kritičnih točaka mogu ponašati ovisno o nekom parametru sustava te navesti neke reakcije u kojima su takva ponašanja pronađena.

Zamislimo da imamo dva parametra –  $k$  i  $p$ . Promatrati ćemo kako izgleda graf vrijednosti kritične točke  $u_s$  u ovisnosti o parametru  $p$ . Ovisno o vrijednosti parametra  $k$ , sustav može imati najviše jednu ili tri kritične točke. Na slikama 3.2 i 3.3 imamo primjere takvih grafova. Takvu situaciju možemo dobiti za sustav (3.3). Dovoljno je promatrati samo  $u$  komponentu kritične točke jer se odredi iz kubnog polinoma, a komponenta  $v_s$  se odredi iz vrijednosti  $u_s$ .

$$f(u, v) = 0 \Rightarrow v = \frac{ab(1 + u + Ku^2)}{\rho u + \alpha(1 + u + Ku^2)} \Rightarrow \text{uvrstimo u } g(u, v) = 0$$

$$\alpha Ku^3 + (\alpha - \alpha aK)u^2 + (\alpha + \alpha \rho b - \rho a + \alpha a)u - \alpha a = 0.$$

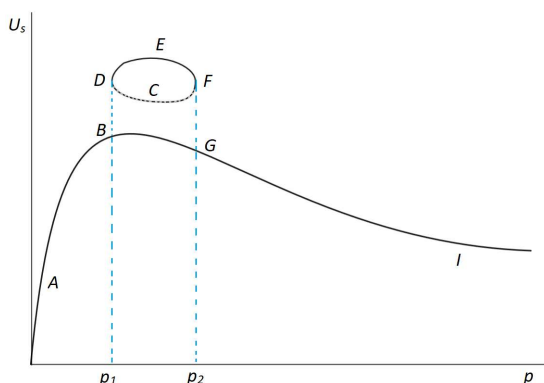


Slika 3.2: a) Za fiksnu vrijednost  $k_1$  sustav može imati najviše jednu pozitivnu kritičnu točku, što je uobičajni slučaj za sustave. b) Nakon što je parametar  $k$  prošao kroz neku bifurkacijsku vrijednost, na intervalu  $p_1 < p < p_2$  imamo tri kritične točke.

Ukoliko je izraz uz  $u$  negativnog predznaka, možemo imati samo jedno pozitivno rješenje zbog Descarteovog pravila o predznacima. To se vidi na slici a) od 3.2. Općenito to može biti bilo koji parametar sustava  $k$ . U sustavu (3.3) ulogu parametra  $p$  može igrati primjerice  $K$ . Na slici b) od 3.2 vidimo slučaj kada je parametar  $k$  veći od neke granične vrijednosti. U tom slučaju imamo raspon vrijednosti  $p_1 < p < p_2$  za parametar  $p$  u kojem dolazi do bifurkacije i imamo tri kritične točke. Pretpostavimo da su kritične točke određene gornjom granom krivulje  $ABC$  do točke u  $p_2$  označene s  $C$  i donjom grani  $DEF$  od točke u  $p_1$  označene s  $D$  stabilne (vođeni slikom 3.1 s tri kritične točke), a kritična točka na grani  $CD$  nestabilna. U tom slučaju može doći do velikog skoka u stabilnom stanju u kojem se sustav nalazi. Zamislimo da parametar  $p$  ovisi o nekim dodatnim uvjetima i prvo je  $p < p_1$  te se postepeno povećava i da je sustav stabilan u kritičnoj točki. Vrijednost kritične točke u kojoj se sustav nalazi se kreće po gornjoj grani  $ABC$  krivulje sa slike 3.2 pod b) do točke  $C$ . Nakon što vrijednost  $p$  postane  $p > p_2$ , a vrijednost kritične točke u kojoj se sustav nalazi će naglo skočiti na donju granu  $DEF$ . Ukoliko se potom  $p$  počne smanjivati, imamo analognu situaciju gdje kritična točka naglo skače s donje na gornju granu. Time možemo imati ciklus gdje dolazi do velikih skokova u vrijednosti kritičnih točki u kojima se sustav nalazi.

Naravno, moguće je dobiti i kompliciranije grafove bifurkacija, čime možemo dobiti neke zanimljive slike, primjerice gdje imamo dva raspona parametra za koje imamo više kritičnih točki. Tako često nastaju grafovi nalik gljivama, a primjer se može naći u [4, Sekcija 6.7 str. 210]. Tu bismo imali dva intervala,  $p_1 < p < p_2$  i  $p_3 < p < p_4$  gdje za svaki od njih imamo istu situaciju kakvu smo već opisali gdje sustav ima tri rješenja.

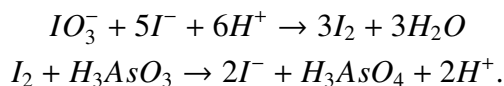
Druga mogućnost bi bila takozvana izola sa slike 3.3, gdje imamo krivulju kritične točke koja je stalno stabilna i odvojene zatvorene krivulje koja ima stabilni i nestabilni dio. U tom slučaju kada je rješenje koje leži na donjoj grani stabilno za sve vrijednosti



Slika 3.3: Primjer izole. Na dijelu krivulje  $DEF$  se nalazi nestabilna kritična točka dok je na dijelu  $DEF$  stabilna kritična točka.

parametra  $p$  i ne dolazi do velikih skokova. Ipak, može doći do skoka na gornju zatvorenu krivulju  $CDEF$  ukoliko dođe do nekog dodatnog poremećaja u sustavu. U tom slučaju sustav ostaje na grani  $DEF$  za  $p_1 < p < p_2$  ukoliko ga poremećaj dovede do te grane.

Izola i gljive su po svom obliku zanimljive i iako se na prvu možda čini kao ponašanje koje se ne može dogoditi u reakciji možemo ih dobiti u reakciji jodata i arsenitne kiseline u reaktoru spremnika s kontinuiranim mješanjem (eng. CSTR - continuous stirred tank reactor).



Matematički i eksperimentalno je njihovo postojanje dokazano u [2] što se vidi na slikama koje prikazuju eksperimentalno utvrđene vrijednosti kritičnih točaka jodida (vizualizacije se mogu naći i u [4, str. 214])

Uzimajući u obzir iznimnu kompleksnost živih bića i biokemijskih procesa te reakcija koje se odvijaju u njima veoma je izgledno da reakcije s takvim ponašanjima odvijaju i u nama svakodnevno.

# Bibliografija

- [1] L. Edelstein-Keshet, *Mathematical models in biology*, SIAM, 1988.
- [2] N. Ganapathisubramanian i K. Showalter, *Bistability, mushrooms and isolas*, J. Chem. Phys. **80** (1984), br. 4177.
- [3] P. Y. Lagree, *Multiscale Hydrodynamic Phenomena: Matched Asymptotic Expansions*, <http://www.lmm.jussieu.fr/%7Elagree/COURS/M2MHP/MAE.pdf>, (studenti 2022.).
- [4] J. D. Murray, *Mathematical Biology I: An Introduction*, Springer-Verlag, New York, 2004.
- [5] M. Starčević, *Dinamički sustavi*, Matematički odsjek, PMF Zagreb, 2017.
- [6] M. Starčević, *Sustavi diferencijalnih jednadžbi*, Matematički odsjek, PMF Zagreb, 2019.
- [7] D. Thomas, *Artificial enzyme membranes, transport, memory, and oscillatory phenomena*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1975.
- [8] Z. Tutek i M. Vrdoljak, *Obične diferencijalne jednadžbe*, Matematički odsjek, PMF Zagreb, 2022.

# Sažetak

U ovom diplomskom radu smo se bavili enzimskim reakcijama i njihovim modelima. Pokazali smo kako napraviti model iz enzimske reakcije i ujedno ga analizirati. U prvom poglavlju smo definirali sustave diferencijalnih jednažbi, prezentirali uvod i najosnovnije pojmove vezane uz teoriju stabilnosti rješenja sustava diferencijalnih jednažbi te definirali i opisali metodu asimptotskog sparivanja. U drugom poglavlju smo se bavili načinom kako izraditi matematički model neke enzimske reakcije, čime dobijemo sustav diferencijalnih jednažbi te obavili analizu samog tog modela. Analizu smo prvo proveli na najjednostavnijem modelu enzimske reakcije - Michaelis-Mentenovoj kinetici. Kvantitativnu analizu smo napravili metodom asimptotskog sparivanja čime smo dodatno pojasnili primjenu te metode. Potom smo analizirali i dva modela za drugačije tipove reakcija, model kinetike kooperativnih i inhibicijskih reakcija. Pokazalo se da je metoda asimptotskog sparivanja dobra aproksimativna metoda za traženje rješenja sustava diferencijalnih jednažbi za modele kinetike reakcija. U zadnjem poglavlju smo se kratko osvrnuli na stabilnost rješenja sustava, tj. kritične točke i moguća ponašanja kritičnih točki.

# Summary

In this work we deal with enzyme reactions and models of said reactions. We show how to make a model out of the reaction and also how to perform the mathematical analysis. In Chapter 1, we defined basic mathematical definitions and terms necessary for the work in further chapters. We define systems of differential equations, define the necessary terms of stability theory and describe method of matched asymptotic expansions. Chapter 2 introduces how to make a model of a reaction which gives us a system of differential equations and how to analyse that model. We first perform an analysis of the easiest model of enzyme reactions - Michaelis-Menten kinetics. Quantitative analysis was performed using method of matched asymptotic expansions which furthered our understanding of the method. After that, we analyse two more complex reactions and their models, cooperative and inhibition model. We show that the method of matched asymptotic expansions is a good approximated method for finding solutions to systems of differential equations. In the last Chapter, we briefly turn our attention to stability of solutions to systems of differential equations, that is steady states.

# Životopis

Rođen sam dana 15.06.1993. u Slavonskom Brodu, gdje sam završio osnovnu školu Antuna Mihanovića i matematičku gimnaziju Matija Mesić. Nakon završetka srednje škole 2011. godine upisao sam Farmaceutsko-biokemijski fakultet, farmaceutski smjer na Sveučilištu u Zagrebu. Nakon stjecanja zvanja magistra farmacije, zapošljam se u Zdravstvenoj ustanovi ljekarne Vinković kao magistar farmacije. 2017. godine upisujem preddiplomski sveučilišni studij Matematike, znanstveni smjer kojega završavam 2020. godine. Iste godine upisujem diplomski sveučilišni studij Računarsko i matematika. 2021. godine počinjem držati seminare iz kolegija Probability and statistics na Zagrebačkoj školi ekonomije i menadžmenta, a od 2023. godine počinjem raditi kao programer u Vestigu.