



005054964

*На правах рукописи*

Луковенков Александр Васильевич

**УСТОЙЧИВОСТЬ СТАЦИОНАРНЫХ СОСТОЯНИЙ  
В КИНЕТИКЕ МНОГОСТАДИЙНЫХ ХИМИЧЕСКИХ  
И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

02.00.04 – физическая химия

**15 НОЯ 2012**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Москва – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Научный руководитель:** член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор Варфоломеев Сергей Дмитриевич

**Официальные оппоненты:** доктор химических наук, профессор Разумовский Станислав Дмитриевич

доктор физико-математических наук, профессор Ризниченко Галина Юрьевна

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики имени Н.Н. Семенова Российской академии наук

Защита диссертации состоится 14 ноября 2012 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 002.039.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу: 119334, город Москва, улица Косыгина, дом 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической физики имени Н.Н. Семенова Российской академии наук.

Автореферат разослан "1" октября 2012 года.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета Д  
002.039.01,  
химических наук кандидат



Мазалецкая Лидия Ивановна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

### Актуальность работы.

В настоящее время анализ кинетических закономерностей химических реакций является распространенной практикой при исследовании процессов не только в неживых системах, но и в сложных биологических системах. Стремительный прогресс вычислительных средств позволяет получать численные и аналитические решения систем химических уравнений с большим числом неизвестных, представлять их в графической форме и анализировать на основе полученных графиков поведение изучаемых систем.

Хотя в работах по химической кинетике встречается анализ случаев, когда малые колебания начальных условий приводят к серьезным изменениям в скорости протекания реакции, вопрос об устойчивости стационарных состояний (например, стационарных концентраций реагентов) полученных при решении кинетических уравнений, моделирующих определенные химические, биохимические или биологические процессы, до сих пор остается недостаточно изученным. Между тем, подобное исследование представляется весьма актуальным.

При анализе математических моделей химических реакций важным является получение критериев устойчивости стационарной скорости выхода целевого продукта. Процессы, где скорость выхода продукта сильно зависит от начальных условий, а равно и процессы, где она независимо от начальных условий на 2-3 порядка ниже допустимой, неприменимы на практике и должны отсеиваться на этапе анализа.

При рассмотрении живых систем устойчивость концентрационных параметров позволяет дифференцировать различные состояния системы: физиологически нормальное состояние, патологическое состояние (болезнь, дисфункция клетки, органа, ткани), гибель (смерть клетки, органа, организма, и т. п.). Нередко при решении кинетических уравнений, описывающих биохимический процесс, обнаруживается несколько стационарных состояний, каждое из которых имеет физиологическую трактовку (например, одно состояние нормальное, а остальные – патологические, характеризующиеся избытком или, наоборот, недостатком концентраций каких-либо агентов в сравнении с нормальными значениями). В таком случае анализ устойчивости мог бы способствовать пониманию механизмов образования различных состояний, условий перехода из одного состояния в другое и возврата в исходное состояние. Применение методов теории устойчивости к анализу процессов лечения различных заболеваний могло бы способствовать корректировке известных методик лечения с целью повышения их эффективности. Все эти перспективы

свидетельствуют об актуальности темы исследования и высокой ожидаемой значимости его результатов, а развитый аппарат современной математической теории устойчивости позволяет обеспечить достоверность выводов.

### **Предмет и объекты исследования.**

Предметом настоящего исследования служит анализ устойчивости решений кинетических уравнений, описывающих химические реакции в различных системах. Под устойчивостью в работе понимается устойчивость в смысле Ляпунова, т. е. способность системы сколь угодно слабо реагировать на достаточно малые изменения начальных условий. Основное внимание уделяется исследованию устойчивости стационарных состояний, как наиболее часто встречающихся в живой природе и производственных процессах.

Объекты настоящего исследования разнородны. Это цепные разветвленные и вырожденно-разветвленные реакции, автокаталитические реакции, многостадийные полиферментные реакции (как разветвленные, так и неразветвленные). Анализируются общие закономерности и конкретные ферментативные процессы в живых системах, например, метаболизм креатина, холина и N-ацетиласпартата в норме и при черепно-мозговой травме; процессы изменения кислотности крови человека при инфузионной терапии диабетического кетоацидоза. Наряду с химическими и биохимическими рассматриваются и популяционные процессы. Столь широкий набор объектов обусловлен большой общностью используемого подхода и стремлением продемонстрировать значимость его применения к решению различных задач.

### **Цель и задачи работы.**

Целью работы является исследование решений кинетических уравнений, описывающих химические реакции в различных системах, на предмет устойчивости, анализ с точки зрения теории устойчивости стационарных состояний, возникающих как в широко известных, химических и биохимических процессах, так и в процессах, которые только недавно стали предметом научных исследований.

Достижение цели работы представляется как последовательное решение ряда задач. Во-первых, необходимо рассмотреть общие принципы теории устойчивости, дать определения понятий и формулировки (а в некоторых случаях – и доказательства) утверждений, используемых в дальнейшем исследовании. Во-вторых, следует изучить устойчивость стационарных состояний в наиболее распространенных схемах процессов, таких, как цепные и автокаталитические реакции, многостадийные полиферментные цепи, выявить часто

встречающиеся ситуации (паттерны) и использовать их как основу для анализа более сложных систем. В-третьих, важным представляется анализ конкретных процессов, в которых устойчивость или неустойчивость образующихся состояний является ключевым фактором для понимания сущности процесса.

### **Научная новизна работы.**

В работе изложены основы теории устойчивости многостадийных полиферментных цепей, как разветвленных, так и неразветвленных. Установлено влияние взаимодействия между цепями и ингибиторов на стационарные состояния в полиферментных метаболических цепях. Дана классификация видов неустойчивости в полиферментных цепях.

Сформулирована и доказана теорема, позволяющая легко исследовать на устойчивость системы, описываемые одним автономным дифференциальным уравнением с аналитической правой частью.

При исследовании жидкофазного окисления углеводов показано, что стабилизация цепи квадратичным обрывом приводит к приемлемым значениям стационарной выхода продукта (0,17 моль/(л·с)), в то время как стабилизация линейным обрывом приводит к установлению на три порядка меньшей скорости выхода целевого продукта.

С позиций теории устойчивости рассмотрен ряд конкретных биохимических процессов. Предложена и верифицирована метаболическая схема, связывающая креатин, холин и N-ацетиласпартат в нейронах коры головного мозга человека. Впервые представлена качественная математическая модель восстановления рН при лечении диабетического кетоацидоза инфузионным методом.

### **Практическая значимость.**

Представленный в диссертации подход к анализу устойчивости стационарных состояний в химических и биохимических процессах, алгоритмы и методы, в том числе, предложенные автором работы могут найти применение в химико-кинетических исследованиях.

В работе обоснована важность устранения возможности линейного обрыва цепи в процессах жидкофазного окисления углеводов. Таковым является обрыв в результате взаимодействия с веществами-ингибиторами или вследствие возникновения на одной из стадий цепного процесса продуктов со сниженной активностью (например, радикалов с длинной ненасыщенной углеводородной цепью, в которой происходит перераспределение электронной плотности).

Предложенная в диссертации метаболическая схема процессов в коре головного мозга открывает возможность терапии черепно-мозговой травмы путем активации нейронального цикла Кребса.

В работе даются практические рекомендации по совершенствованию методики лечения диабетического кетоацидоза инфузионным методом. Показано, что при определенных начальных значениях рН крови больного лечение становится неэффективным, а также демонстрируются возможные пути повышения эффективности метода инфузионной терапии в данном случае.

#### **Личный вклад автора.**

В ходе исследования автором лично производилась математическая и статистическая обработка экспериментальных данных и сведений, полученных из специальной литературы, построение математических моделей процессов, исследование устойчивости стационарных состояний в математических моделях (как обнаруженных в литературе, так и предложенных самим автором), оформление результатов работы в виде пригодных к публикации текстов, рисунков и таблиц.

Автором самостоятельно сформулирована и доказана теорема об устойчивости стационарных состояний для случая автономного дифференциального уравнения с аналитической правой частью. Методика решения задач с использованием данной теоремы представлена в виде алгоритма.

#### **Апробация работы.**

Результаты работы трижды представлялись на научных конференциях: дважды в виде устного доклада на X и XI Ежегодных международных молодежных конференциях “ИБХФ РАН – вузы: Биохимическая физика” (Москва, 2010 и 2011 годы), один раз на научной сессии НИЯУ МИФИ (2010 год).

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Метод исследования на устойчивость стационарных состояний для систем, описываемых одним обыкновенным автономным дифференциальным уравнением, правая часть которого – аналитическая функция.
2. Результаты изучения влияния линейного и квадратичного обрыва на процессы жидкофазного окисления углеводов.
3. Схема метаболизма креатина, холина и N-ацетиласпартата в коре головного мозга.

4. Качественная модель восстановления рН крови при лечении диабетического кетоацидоза инфузионным методом.

#### **Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, 4 из которых – в ведущих рецензируемых научных журналах: Журнале физической химии (2 публикации), Докладах Академии наук, журнале “Биохимия”. Список основных публикаций по теме работы приводится в конце автореферата.

#### **Структура и объем диссертации.**

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и списка использованной литературы. Текст диссертации изложен на 135 страницах, включает в себя 25 рисунков и 8 таблиц. Список литературы включает 103 наименования.

#### **Благодарности.**

Автор выражает глубокую благодарность Наталии Александровне Семеновой за участие в обсуждении работы и ценные замечания по ее совершенствованию, а также Алексею Владимировичу и Елене Ефимовне Петрайкиным за предоставленные данные о восстановлении рН у детей, больных диабетическим кетоацидозом, и помощь интерпретации полученных результатов.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.**

**Во введении** обоснована актуальность исследования, описаны основные области, в которых применение идей и методов теории устойчивости может дать значительный прогресс.

**Первая глава** содержит обзор развития теории устойчивости и ее приложений к решению физико-химических, биохимических, биомедицинских и популяционных проблем. До настоящего времени основные результаты, базирующиеся на применении идей теории устойчивости, были получены в области механики, в рамках которой теория развивалась изначально. Первые результаты такого рода относятся еще к эпохе Архимеда, первые строгие доказательства – к XVIII – началу XIX веков (Эйлер, Лагранж), современная же теория сформировалась после работ Пуанкаре и, особенно, А.М. Ляпунова (конец XIX – начало XX века). Первым применением теории в физической химии, вероятно, стала теория устойчивости коллоидных систем Дерягина-Ландау-Фервея-Овербека (30-40-е годы XX века). Примерно в то же время в связи с успехами химической кинетики и появлением

кинетики биологической (в том числе популяционной динамики) возникает широкий круг задач, постановка которых предполагает решение задачи Коши для определенных систем обыкновенных дифференциальных уравнений с заданными начальными условиями. Для анализа полученных решений вполне оправданно применение методов теории устойчивости, но нередко при решении химических или биологических задач исследование на устойчивость оказывается неполным или вовсе не проводится.

**Вторая глава** является методической частью работы и содержит изложение важнейших понятий теории устойчивости. Формулируются понятия неустойчивого, устойчивого и асимптотически устойчивого (в смысле Ляпунова) решений, определяются вспомогательные понятия, нужные для формулировки теорем (понятия знакоопределенных и знакопостоянных функций, понятие производной в силу уравнения). В главе также формулируется ряд основных теорем (с доказательствами или ссылками на источники, содержащие полные доказательства). Это теоремы Ляпунова и Четаева, теорема об устойчивости по первому приближению, а также предложенная автором диссертации теорема об устойчивости стационарных решений одного автономного дифференциального уравнения с аналитической правой частью.

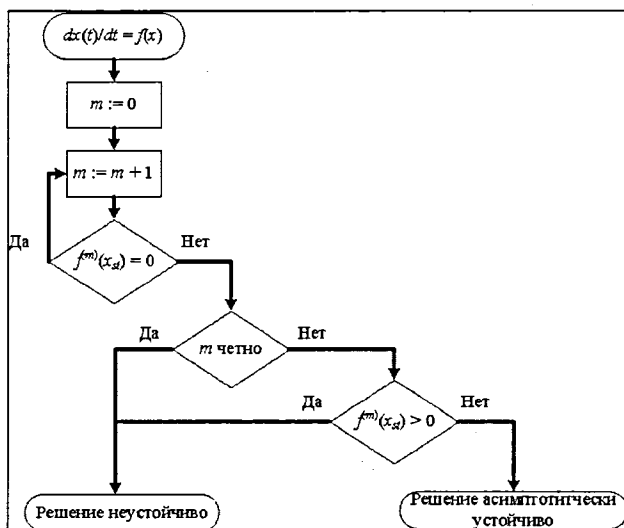


Рис. 1. Блок-схема алгоритма исследования на устойчивость стационарного состояния  $x = x_*$  для одного автономного дифференциального уравнения с аналитической правой частью.



Для исследования на устойчивость стационарного состояния  $x = x_{st}$  уравнения  $dx/dt = f(x)$  согласно теореме нужно найти первую (по порядку) из кратных производных по  $x$  функции  $f$ , которая отлична от 0 в точке  $x = x_{st}$ . Если она имеет четный порядок или нечетный порядок и положительный знак, решение  $x = x_{st}$  неустойчиво. Если порядок производной нечетен, а знак в точке  $x = x_{st}$  отрицателен, решение асимптотически устойчиво. Для большей наглядности и облегчения восприятия алгоритм исследования на устойчивость с использованием данной теоремы представлен также в виде блок-схемы (см. Рис. 1).

Указанная теорема является важным методическим результатом, широко используемым в работе: с ее помощью, например, анализируются на устойчивость решения уравнений, описывающих автокаталитические реакции или процесс восстановления кислотности крови при инфузионной терапии диабетического кетоацидоза.

**В третьей главе** рассматриваются приложения теории устойчивости к исследованию химических процессов.

Первый параграф главы содержит исследование простейших случаев возникновения устойчивости и неустойчивости в химических процессах. Здесь же показано, что неустойчивость возникает в случае, если в системе имеется положительная обратная связь и концентрация  $S$  субстрата  $S$  настолько превышает его расход, что им можно пренебречь ( $S = const$ ).

Во втором параграфе анализируется устойчивость цепных автокаталитических реакций. Описываемые процессы считаются протекающими по уравнениям ( $k > 0$  – константа скорости реакции,  $A_0$  – начальная концентрация субстрата  $A$ ,  $P$  – концентрация продукта  $P$ , причем  $P(0) = 0$ ):

$$\frac{dA}{dt} = -kAP = -kA(A_0 - A + \delta),$$

$$\frac{dA}{dt} = -kA^2P = -kA^2(A_0 - A + \delta)$$

или

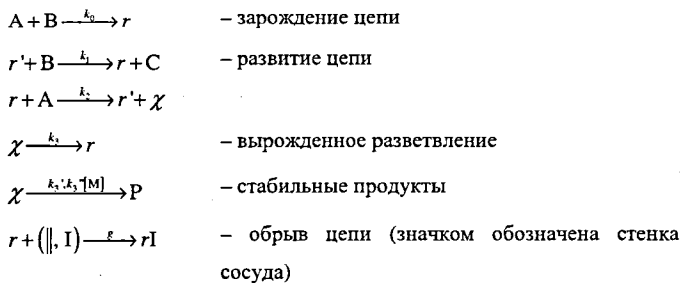
$$\frac{dA}{dt} = -kAP^2 = -kA(A_0 - A + \delta)^2,$$

где  $\delta$  – малое количество продукта реакции (так называемая затравка), вводимое в реакционный сосуд для запуска процесса. В этом случае удается показать, что стационарное состояние с  $A_{st1} = A_0 + \delta$  неустойчиво в смысле Ляпунова во всех случаях, стационарное же состояние  $A_{st2} = 0$  асимптотически устойчиво в случае первого и третьего уравнений и

устойчиво “сверху” (т. е. при положительных отклонениях по концентрации, т. к. отрицательные концентрации невозможны) в случае второго уравнения.

В данном параграфе также указаны особенности применения теоремы об устойчивости стационарных состояний для одного автономного дифференциального уравнения с аналитической правой частью к случаю нулевого стационарного состояния, вызванные тем, что отрицательные концентрации реагентов невозможны.

В третьем параграфе анализируется влияние длины цепи на устойчивость цепных вырожденно-разветвленных реакций.



Система кинетических уравнений

$$\begin{cases} \frac{dr}{dt} = \omega_0 - gr + k_3\chi \\ \frac{d\chi}{dt} = ar - k\chi \end{cases}$$

описывает зависимость от времени концентрации свободных радикалов  $r$  и промежуточного продукта  $\chi$  в ходе реакции. Здесь  $a = k_2[A]$  и  $k = k_3 + k'_3 + k''_3M$  ( $M$  – молекула-перехватчик продукта  $\chi$ ). Для указанной системы стационарное состояние записывается в виде

$$\begin{cases} r_{st} = \frac{k\omega_0}{gk - ak_3} \\ \chi_{st} = \frac{a\omega_0}{gk - ak_3} \end{cases}$$

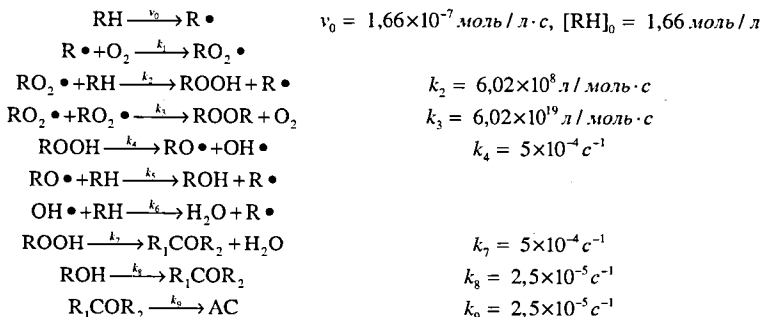
а условием его устойчивости является

$$1 + \frac{k_3' + k_3''M}{k_3} \geq \nu,$$

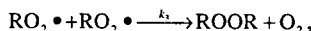
где  $\nu = a/g$  – длина цепи. Это означает, что в достаточно длинных цепях устойчивые стационарные концентрации промежуточных продуктов наблюдаются только тогда, когда суммарная скорость реакций вывода продукта  $\chi$ , связанных с образованием из  $\chi$  стабильных

веществ, не участвующих в цепной реакции, значительно превышает скорость вырожденного разветвления цепи.

Последний параграф третьей главы посвящен исследованию кинетической схемы жидкофазного окисления углеводородов. Изучаются как классическая схема Н.М. Эмануэля, описывающая начальную стадию окисления ( $[RH] = const$ ) при  $[O_2] = const$  и идеальном перемешивании реакционной смеси



так и ее видоизменение, в котором за установление стационарного состояния отвечает не квадратичный обрыв



а линейный обрыв с константой скорости  $k'_3$ , например, линейный обрыв по причине низкой активности образующегося перекисного радикала или обрыв вследствие взаимодействия его с каким-либо ингибирующим агентом. В случае квадратичного обрыва анализ устойчивости по первому приближению показывает, что при квадратичном обрыве процесс всегда имеет асимптотически устойчивое стационарное состояние

$$\left\{ \begin{array}{l}
 \eta_{st} = \frac{1 + \sqrt{1 + 4o_1}}{2o_1} \\
 \xi_{st} = \frac{1 + \sqrt{1 + 4o_1}}{2o_1} \\
 \lambda_{st} = \frac{1 + \sqrt{1 + 4o_1}}{2o_1 o_2} \\
 \chi_{st} = \frac{1 + \sqrt{1 + 4o_1}}{o_1 o_3}
 \end{array} \right. ,$$

где  $k = k_4 + k_7$ , а также введены безразмерные показатели  $o_1 = v_0 k_3 (k / (2k_2 k_4 [RH]_0))^2$ ,  $o_2 = k_8 / k$ ,  $o_3 = k_9 / k$ ,  $o_4 = k^2 / (2k_2 k_4 [RH]_0)$ ,  $\xi = 2k_2 k_4 [RH]_0 [RO_2 \bullet] / (v_0 k)$ ,  $\eta = 2k_4 [ROOH] / v_0$ ,  $\lambda = 2k [ROH] / v_0$ ,  $\chi =$

$2k_4k[R_1COR_2]/(k_7v_0)$ ,  $\omega = 2k_4k^2[AC]/(k_9k_7v_0)$ . При линейном обрыве цепи в отсутствие квадратичного обрыва устойчивое решение возникает только при

$$k'_3 > \frac{2k_2k_4[RH]_0}{k}$$

Разумеется, при наличии квадратичного обрыва, который совсем исключить нельзя, стабилизация процесса все равно произойдет, даже при нарушении указанного условия. Однако, процесс, при котором стационарное состояние определяется линейным обрывом, дает на три порядка меньшую стационарную скорость выход целевого продукта (кислоты). Расчеты показывают, что при подстановке приведенных выше значений констант скоростей, концентрации углеводорода и скорости зарождения радикалов в систему уравнений со стабилизацией линейным обрывом стационарная скорость образования кислоты составит 0,17 моль/(л·с), а при стабилизации линейным обрывом (при константе скорости линейного обрыва  $k'_3 = 10^4 \text{ с}^{-1}$ ) – около  $0,18 \cdot 10^{-3}$  моль/(л·с). Развитие реакции при различных режимах обрыва цепи показано на Рис. 2.

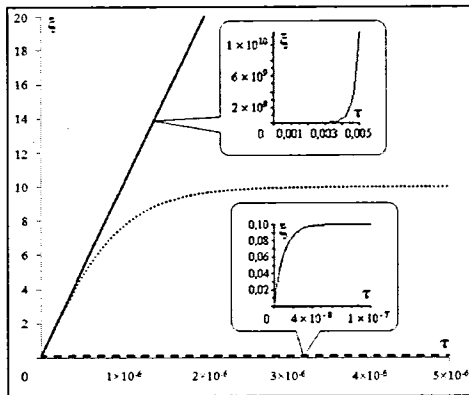
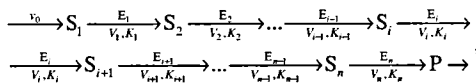


Рис. 2. Графики изменения во времени скорости выхода продукта  $\xi$  в неустойчивом режиме с линейным обрывом (сплошная линия), устойчивом режиме с квадратичным обрывом (пунктирная линия) и устойчивом режиме с линейным обрывом (штриховая линия).

**В четвертой главе** рассматривается устойчивость полиферментных метаболических цепей вида



где  $v_0$  – скорость поступления начального субстрата  $S_1$  в систему,  $S_i$  – промежуточный субстрат на  $i$ -й стадии цепи,  $E_i$  – соответствующий фермент,  $S_i$  и  $E_i$  – концентрации субстрата

и фермента, соответственно,  $V_i = k_{cat}E_{0i}$  – максимальная скорость реакции на  $i$ -й стадии цепи (по уравнению Михаэлиса-Ментен, где  $k_{cat}$  – каталитическая константа  $i$ -й стадии цепи,  $E_{0i}$  – начальная концентрация фермента на этой стадии), а  $K_i$  – константа Михаэлиса для соответствующей стадии цепи. Через  $P$  обозначен конечный продукт полиферментной цепи ( $P$  – его концентрация), каждая стрелка на схеме означает превращение по закону Михаэлиса-Ментен. Система уравнений

$$\begin{cases} \frac{dS_1}{dt} = v_0 - \frac{V_1}{K_1} S_1 \\ \dots \\ \frac{dS_n}{dt} = -\frac{dP}{dt} = \frac{V_{n-1}}{K_{n-1}} S_{n-1} - \frac{V_n}{K_n} S_n \end{cases}$$

представляет собой линеаризацию модельной системы при  $V_i \gg v_0$ ,  $i = 2..n$ , что позволяет в данном случае исследовать систему на устойчивость по первому приближению и получить асимптотически устойчивое стационарное решение  $S_i = v_0 k_i / V_i$ .

Исследуется также влияние притока (синтеза, активации) и оттока (инактивации) фермента на стационарные состояния в полиферментной цепи и их устойчивость. Показано, что система полиферментных превращений с учетом процессов биосинтеза ферментов является устойчивой при выполнении следующих требований:

1.  $V_i > v_0$ ,  $i = 1..n$ . Максимальная скорость действия любого фермента в цепи должна превышать скорость ввода первого субстрата или стационарную скорость процесса. В случае  $V_i \approx v_0$ ,  $S_i \rightarrow \infty$  хотя бы для одного какого-либо метаболита, система теряет метаболическую устойчивость (метаболический хаос). Поведение системы определяется отношением двух скоростей – максимальной скорости действия каждого фермента в цепи  $V_i$  и стационарной скорости действия в цепи  $v_0$ . С учетом процессов биосинтеза ферментов вида  $dE_i/dt = V_{ei} + (k_{ei} - \alpha_i)E_i$  система устойчива в режиме, когда скоростной показатель

$$\Phi_i = \frac{k_{cat} V_{ei}}{(\alpha_i - k_{ei})} > v_0.$$

Это накладывает определенные ограничения на кинетические характеристики синтеза: скорость конститутивного (фермент-независимого) синтеза фермента  $E_i$ , равную  $V_{ei}$ , константу скорости фермент-зависимого синтеза  $k_{ei}$  и константу скорости инактивации (распада) фермента  $\alpha_i$ . Устойчивость также зависит от каталитической константы действия фермента  $k_{cat}$ .

2. Скорость диссипации (инактивации) любого фермента цепи должна быть выше скорости фермент-зависимого синтеза фермента:  $\alpha_i > k_{ei}$ . При  $\alpha_i < k_{ei}$  должен наблюдаться неограниченный рост концентрации данного фермента.
3. Из условия  $\Phi_i > v_0$  следует, что скорость конститутивного (постоянного) синтеза любого фермента цепи должна быть выше некоторого предела, зависящего от скорости катализа и стационарной скорости действия метаболической цепи  $v_0$ :

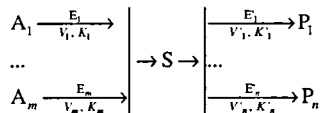
$$V_{ei} > \frac{v_0 (\alpha_i - k_{ei})}{k_{cat}}$$

Во втором параграфе четвертой главы исследуется влияние ингибиторов и лекарственных препаратов на полиферментные системы. Показано, что при прямом ингибировании фермента и ингибировании его конститутивного синтеза система теряет устойчивость в режиме ( $K_{in}$  – константа ингибирования,  $\Phi_i$  – скоростной модуль, введенный выше,  $I$  – концентрация ингибитора)

$$I \geq I_{cr} = \frac{K_{in}}{\frac{\Phi_i}{v_0} - 1}$$

При ингибировании автокаталитического синтеза фермента условием устойчивости будет  $I > I_{cr} = K_{in}(\alpha_i/k_{ei} - 1)$ . Если же ингибитор снижает не скорость синтеза фермента, а скорость его распада, инактивации, то условие  $I > I_{cr} = K_{in}(\alpha_i/k_{ei} - 1)$  будет, напротив, условием неустойчивости.

В третьем параграфе главы рассматриваются разветвленные и взаимодействующие цепи. Наиболее важным результатом, касающимся разветвленных цепных реакций, является то, что система уравнений, описывающая процессы в узле разветвленной метаболической цепи вида



при условии  $\sum_{i=1}^n V_i > v_0$  ( $v_0$  – скорость подачи субстрата или взвешенная с учетом стехиометрии сумма скоростей подачи субстратов в случае нескольких субстратов) может быть линеаризована так же, как и неразветвленная цепь, а наблюдаемое в данном случае стационарное состояние будет асимптотически устойчивым.

Четвертый параграф третьей главы содержит исследование влияния устойчивости на физиологическое состояние организма. Наиболее важными в данном параграфе являются выделение неустойчивых состояний как физиологически аномальных, а также вывод об особой роли протона как наиболее важного и распространенного неконкурентного ингибитора большинства каталитических процессов в организме. Выдвигается предположение, что интенсивное протонирование большого числа ферментов может быть одним из этапов коллапса, в первую очередь, центральной нервной системы, что в итоге приводит к гибели организма. Далее этот вывод получает подтверждение при рассмотрении методики лечения диабетического кетоацидоза.

**Пятая глава** целиком посвящена применению теории устойчивости к исследованию биохимических процессов в коре головного мозга. Основанием для данного исследования послужили результаты, обнаруженные группой исследователей во главе с Н.А. Семеновой при наблюдении ЯМР-спектров коры головного мозга человека в нормальном состоянии и после тяжелой черепно-мозговой травмы (исследовались неповрежденные участки лобно-теменной коры). В результате исследования выяснилось, что имеются статистически значимые корреляции между концентрациями Cr (креатин + фосфокреатин), Cho (холин + фосфохолин) и NAA (N-ацетиласпартат) (см. Табл. 1), а также статистически значимые увеличение средних по выборке концентраций Cr (до 10%, от концентрации в норме) Cho (до 30%), и снижение концентрации NAA на 13%.

	$R_{NAA-Cr}$	$R_{NAA-Cho}$	$R_{Cr-Cho}$
<b>Норма</b>	0,650	0,640	0,610
<b>Травма</b>	0,818	0,534	0,660

Табл. 1. Статистически значимые (уровень значимости  $p < 0,05$ ) коэффициенты корреляции между концентрациями метаболитов.

Наличие значимой корреляции между концентрациями Cr, Cho и нейронального маркера NAA при отсутствии корреляций с глиальным маркером mI является признаком того, что Cr, Cho и NAA включены в единую полиферментную цепь в нейронах. Полученные в диссертации выводы об устойчивости полиферментных цепей позволяют утверждать, что стационарное состояние, в котором находятся пациенты, асимптоматически устойчиво. Поэтому различия в начальных условиях, на основе которых устанавливается стационарное состояние у каждого из пациентов, не могут привести к значительному разбросу итоговых значений концентраций по выборке. Следовательно, можно рассматривать линии регрессии для зависимостей Cr(NAA), Cr(Cho) и Cho(NAA) и анализировать их коэффициенты (в

случае значительного разброса итоговых стационарных значений концентраций рассмотрение линий регрессии не имело бы смысла).

Предположение о том, что кинетика каждой реакции в полиферментной цепи описывается уравнением Михаэлиса-Ментен, приводит к выводу, что линейная зависимость будет наблюдаться между обратными концентрациями агентов: из уравнения

$$\frac{V_i S_i}{K_i + S_i} = \frac{V_j S_j}{K_j + S_j},$$

выражающего равенство скоростей образования агентов в стационарном состоянии для устойчивой неразветвленной полиферментной цепи, можно, введя обозначения  $a_{ij} = V_j K_i / (V_i K_j)$  и  $b_{ij} = (V_j - V_i) / (V_i K_j)$ , получить зависимость между обратными концентрациями метаболитов:

$$S_j^{-1} = a_{ij} S_i^{-1} + b_{ij}.$$

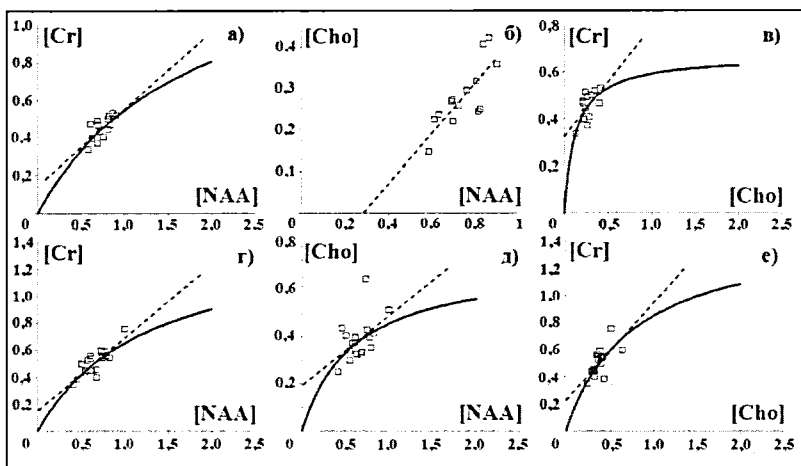


Рис. 3. Взаимозависимости концентраций метаболитов: а)-в) – норма, г)-е) – травма.

В работе показано, что сходная зависимость при определенных условиях будет наблюдаться и в разветвленной полиферментной цепи, а потому представляется возможным построение графиков соответствующих зависимостей, полученных по итогам линейной регрессии для экспериментальных данных (см. Рис. 3).



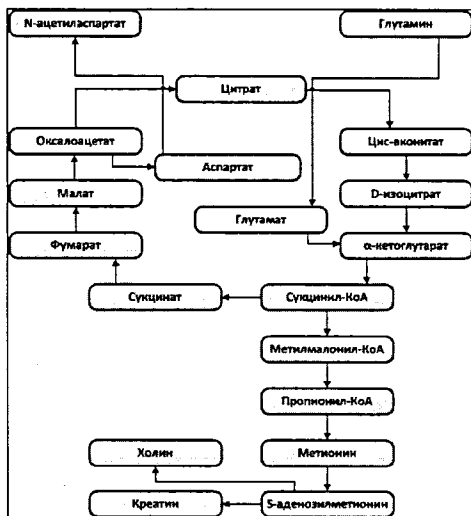


Рис. 4. Предполагаемая схема метаболизма в коре головного мозга, включающая NAA, Cr и Cho.

На графиках Рис. 3 а), в), г)-е) экспериментальные точки отстоят далеко от областей, где наблюдается насыщение. Это означает, что в полиферментной цепи, связывающей изучаемые метаболиты, лимитирующая стадия отсутствует. В схеме на Рис. 4, впервые предложенной нами на основании ряда литературных данных, доказывающих возможность осуществления отдельных ее частей в нейронах, лимитирующая стадия (цитратсинтазная реакция в цикле Кребса) может быть обойдена через так называемый малат-аспартатный шаттл, включающий в себя реакцию переаминирования аспартат +  $\alpha$ -кетоглутарат = оксалоацетат + глутамат.

Из биохимической схемы также можно легко получить подтверждение изменениям в средних по выборке значениях стационарных концентраций. Активный синтез фосфолипидов и их предшественника фосфохолина, наблюдаемый в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР *in vivo* неповрежденной лобно-теменной коры, приводит к повышению концентрации холинсодержащих соединений.

Параллельно с Cho, по-видимому, растет и концентрация Cr, так как у них общий предшественник. В свою очередь, путь, связанный с синтезом NAA, тормозится, стационарная концентрация NAA снижается.

**Шестая глава** посвящена исследованию кинетики восстановления pH у детей, больных диабетическим кетоацидозом. Это одно из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета и главная причина высокой детской смертности при сахарном диабете I

типа, потому разработка эффективных методов лечения кетоацидоза представляет собой весьма актуальную задачу.

В работе рассмотрена авторская методика лечения диабетического кетоацидоза, предложенная группой медиков из Морозовской детской клинической больницы во главе с Е. Е. Петрайкиной. Суть метода заключается в интенсивной инфузионной терапии больного немедленно после поступления в стационар. Основным инфузионным раствором служил 5% раствор глюкозы, содержащий 3 – 5 мэкв/(кг·сут) КСl. Терапия непрерывно проводилась до нормализации состояния больного (8 – 48 часов). В процессе лечения велся постоянный (каждые 2 – 3 часа) контроль рН крови пациента.

При построении модели процесса лечения и ее верификации использовались данные наблюдений за состоянием 70 детей с сахарным диабетом I типа. Анализ показал, что кривые восстановления рН у больных разделяются на 2 группы: имеющие точку перегиба и не имеющие таковой. При этом кривые с перегибом в основном соответствовали  $pH_0 < 7$ , а кривые без перегиба –  $pH_0 > 7$  (см. Табл. 2). Кроме того, на всех графиках, где имелся перегиб, он соответствовал  $pH \approx 7$  (см. Рис. 5). Это позволило предположить, что все кривые являются вариациями единственной кривой, сдвигаемой во времени в зависимости от начального значения рН крови больного. Совмещение точек перегиба нескольких кривых путем сдвига их по оси времени привело к хорошему совпадению кривых (см. Рис. 6), что подтвердило сделанное предположение.

Начальное значение рН	Без перегиба	С перегибом	Общий итог
Очень низкое ( $pH_0 < 7$ )	2	15	17
Низкое ( $7 \leq pH_0 < 7,14$ )	18	3	21
Ниже нормы ( $pH_0 \geq 7,14$ )	31	1	32
<b>Общий итог</b>	<b>51</b>	<b>19</b>	<b>70</b>

Табл. 2. Зависимость вида графика от начального значения рН.

При построении модели использовалось предположение о том, что протонный баланс в организме является результатом взаимодействия протон-производящей системы (т. е. набора ферментов, производящих протон и выбрасывающих его в кровь), для которой рН-зависимость скорости реакции выражается уравнением

$$v^+([\text{H}^+]) = \frac{A}{1 + \left(\frac{[\text{H}^+]}{k_{ac}}\right)^{n_{ac}} + \left(\frac{k_{al}}{[\text{H}^+]}\right)^{n_{al}}},$$

или, с учетом ионного произведения воды,

$$v^+([\text{OH}^-]) = \frac{A}{1 + \left(\frac{1}{10^{14} k_{ac} [\text{OH}^-]}\right)^{n_{ac}} + (10^{14} k_{al} [\text{OH}^-])^{n_{al}}},$$

и притока  $\text{OH}^-$ -ионов путем инфузии, скорость которого в простейшем варианте пропорциональна разности концентраций  $\text{OH}^-$ -ионов в растворе  $[\text{OH}^-]_0$  и крови пациента  $[\text{OH}^-]$ :

$$v^-([\text{OH}^-]) = \kappa([\text{OH}^-]_0 - [\text{OH}^-]).$$

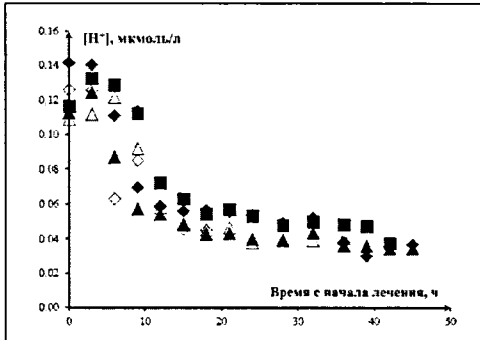


Рис. 5. Типичные кривые восстановления концентрации  $[\text{H}^+]$ , имеющие точки перегиба. Разные маркеры соответствуют разным больным.

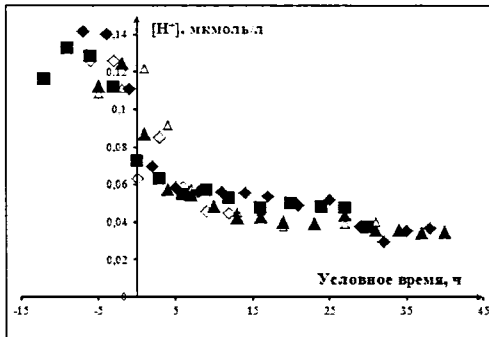


Рис. 6. Наложение кривых восстановления концентрации  $[\text{H}^+]$  путем сдвига, совмещающего точки перегиба. Разные маркеры соответствуют разным больным. Вид маркера для конкретного больного такой же, как на Рис. 5.

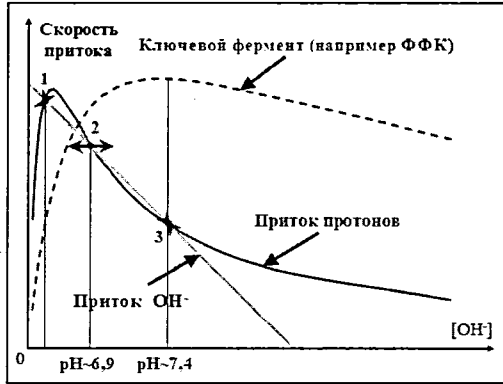


Рис. 7. Пояснения к модели. Показаны кривые притока протонов и  $OH^-$ -анионов, стационарные состояния 1, 2 и 3, возникающие при пересечении кривых, а также  $pH$ -зависимость активности важного фермента, который может быть «выключен» в точках 1 и 2.

В результате наложения указанных графиков друг на друга может образоваться несколько (1 – 3) точек пересечения. По-видимому, при лечении обычно реализуется вариант с тремя точками пересечения (см. Рис. 7). Он позволяет (в отличие от вариантов с одной точкой пересечения) объяснить наличие кривых с перегибом. Он также не требует (в отличие от вариантов с двумя точками пересечения) наложения связующего ограничения на параметры  $k$  и  $[OH^-]$ , нужного для обеспечения касания кривой и прямой, т. к. две точки пересечения возможны только если кривая и прямая касаются. Кроме того, как будет показано ниже, каждое из стационарных состояний в варианте с тремя точками пересечения имеет ясный физиологический смысл.

В работе показано, что из трех указанных точек точки 1 и 3 соответствуют асимптотически устойчивым стационарным состояниям, а точка 2 – неустойчивому. С физиологической точки зрения точка 1 соответствует устойчивому патологическому (коматозному) состоянию, в котором  $pH$  крови пациента сильно меньше нормы, активность ферментов, производящих кислоту, повышена, а активность ряда других важных ферментов, например, фосфофруктокиназы (ключевого фермента гликолиза), понижена. Точка 3 соответствует физиологической норме. Состояние 2 играет роль «точки невозврата» – если терапия началась у больного при начальном  $pH$  меньшем, чем в точке 2, его спасти не удастся, т. к. устойчивым стационарным состоянием, в котором установится  $pH$  в этом случае, является состояние 1, а не 3. Если  $pH$  крови пациента при поступлении в стационар имеет значение между таковыми в состояниях 2 и 3, то лечение по указанной методике становится эффективным. Для повышения эффективности лечения при значительно

сниженном начальном значении рН можно порекомендовать добавление более сильных оснований в инфузионный раствор, что приведет к подъему прямой, отвечающей за приток  $[\text{OH}^-]$ , и, соответственно, к сдвигу точки 2 влево. Соответственно, пациенты, чья начальная степень закисления находится между новым и старым положениями точки 2, могут быть спасены. Хотя в медицинской практике есть случаи применения инфузионной терапии с использованием более основных растворов, такие методики нужно применять с осторожностью, поскольку возможные последствия ввода сильных оснований в организм пока слабо изучены.

Основной причиной нарушения энергетического метаболизма в мозге даже при небольшом изменении рН внутренней среды организма, как известно, является снижение активности фосфофруктокиназы – критически важного фермента гликолиза. Резкое падение активности фосфофруктокиназы при рН ниже 7,2, как следует из литературных данных, приводит к значительному замедлению гликолиза (падение рН на 1 соответствует снижению скорости на 7 порядков). Тем самым перекрывается основной канал, снабжающий энергией мозг, итогом чего является нарушение сознания (сопор, кома). Поэтому поддержание высокой концентрации глюкозы в крови является необходимым на этапе восстановления рН, поскольку оно частично компенсирует низкую активность фосфофруктокиназы и предотвращает прекращение энергетического метаболизма в мозге.

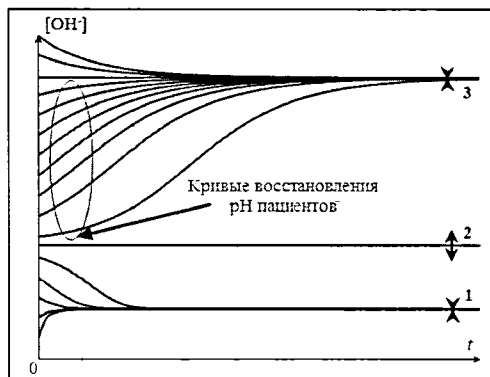


Рис. 8. Качественная картина изменения концентрации ионов  $\text{OH}^-$  во времени согласно модели при разных  $[\text{OH}^-]$ .  
Интегральные кривые для состояний 1, 2 и 3 с Рис. 7 помечены соответствующей цифрой.

Для дальнейшей верификации модели был проведен анализ формы кривых изменения рН, которые будут наблюдаться в случае, если процессы в системе описываются предлагаемой кинетической моделью (см. Рис. 8). Как видно из рисунка, форма интегральных кривых,

полученных для начальных значений рН, лежащих на отрезке между точками 2 и 3, отвечает виду действительных экспериментальных кривых. Кроме того, из рисунка видно, что при достаточно высоких начальных значениях рН кривые восстановления рН не имеют перегиба, а при более низких – имеют. Таким образом, предложенная качественная модель лечения диабетического кетоацидоза инфузионным методом позволяет выявить образующиеся при инфузионной терапии стационарные состояния, исследовать их устойчивость и объяснить на этой основе ряд явлений, сопровождающих реальный лечебный процесс, а также предложить пути повышения эффективности лечения.

### ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ.

1. В работе представлен и обоснован алгоритм решения задачи об устойчивости стационарных состояний автономного дифференциального уравнения с аналитической правой частью.
2. Показано, что стационарные концентрации промежуточных реагентов в многостадийной полиферментной цепи являются асимптотически устойчивыми при условии, что скорость поступления исходного субстрата меньше максимальной скорости процесса на каждой из стадий ферментативной цепи. Получены условия устойчивости стационарных концентраций промежуточных метаболитов для цепей, находящихся под влиянием различных факторов (взаимодействие цепей, синтез и распад фермента, действие ингибиторов), выявлен физиологический смысл образующихся стационарных состояний. Отмечено особое значение протона как наиболее частого необратимого неконкурентного ингибитора биохимических процессов.
3. Получены условия устойчивости стационарной концентрации продукта (кислоты) в модели жидкофазного окисления углеводов с линейным и квадратичным обрывом цепи. Показано, что стационарная скорость выхода продукта в режиме с квадратичным обрывом на три порядка больше, чем в случае, когда стационарное состояние устанавливается за счет линейного обрыва цепи. Показано, что результаты расчета условий устойчивости стационарных состояний по теории А. М. Ляпунова соответствуют результатам расчетов критических параметров химической системы по известным методикам расчета критических параметров.
4. Предложена и верифицирована схема метаболизма в нейронах коры головного мозга, полученная в результате анализа корреляций между концентрациями ряда ключевых

метаболитов (Cr, Cho, NAA) и исследования устойчивых стационарных состояний, образующихся в полиферментной цепи, включающей указанные метаболиты.

5. Построена качественная модель процесса восстановления pH при лечении диабетического кетоацидоза инфузионным методом, хорошо описывающая реальные клинические эффекты. В модели выявлены устойчивые и неустойчивые стационарные состояния, показан их физиологический смысл, предложены пути повышения эффективности метода инфузионной терапии при лечении диабетического кетоацидоза.

**Основные результаты исследования изложены в следующих печатных работах:**

1. *Варфоломеев С.Д., Луковенков А.В.* Устойчивость в химических и биологических системах. Многостадийные полиферментные реакции. // Журнал физической химии. 2010. Т. 84. № 8. С. 1448–1457.
2. *Варфоломеев С.Д., Луковенков А.В.* Цепные и автокаталитические реакции. Кинетика окисления углеводов. // Журнал физической химии. 2011. Т. 85. № 4. С. 618–624.
3. *Семенова Н.А., Ахадов Т.А., Варфоломеев С.Д., Луковенков А.В.* Магнитно-резонансная спектроскопия коры головного мозга человека. Взаимозависимости концентраций ряда ключевых метаболитов. // Доклады Академии наук. 2011. Т. 436. № 8. С. 839–842.
4. *Семенова Н.А., Луковенков А.В., Ахадов Т.А., Сидорин С.С., Варфоломеев С.Д.* Нарушения метаболизма и взаимосвязь метаболических процессов в лобно-теменной коре мозга при тяжелой черепно-мозговой травме. Исследование методом локальной  $^1\text{H}$  магнитно-резонансной спектроскопии. // Биохимия. 2012. Т. 77. Вып. 4. С. 495-502.

**Результаты работы доложены на следующих научных конференциях:**

1. *Семенова Н.А., Луковенков А.В.* Ядерный магнитный резонанс в прижизненных исследованиях метаболизма мозга. Метаболические маркеры патологических состояний центральной нервной системы. // Научная сессия НИЯУ МИФИ-2010. Москва. 25–31 января 2010 г.
2. *Луковенков А.В., Семенова Н.А., Варфоломеев С.Д., Ахадов Т.А.* Анализ зависимостей между концентрациями ряда ключевых метаболитов в коре головного мозга человека. // X Международная молодежная конференция “ИБХФ РАН – вузы: Биохимическая физика”. Москва. 8–10 ноября 2010 г.

3. Луковенков А.В., Ахадов Т.А., Варфоломеев С.Д., Петряйкин А.В., Петряйкина Е.Е., Семенова Н.А. Устойчивость в химических и биологических системах. // XI Международная молодежная конференция “ИБХФ РАН – вузы: Биохимическая физика”. Москва, 9–11 ноября 2011 г.



Подписано в печать 15.09.2012г.

Усл.п.л. – 1.5  
Заказ № 10516  
Тираж: 100экз.

Копицентр «Чертеж.ру»  
ИНН 7701723201  
107023, г.Москва, ул.Б.Семеновская 11, стр.12  
(495) 542-7389  
[www.chertez.ru](http://www.chertez.ru)