

UN ALGORITMO INTERACTIVO PARA GRAFICAR LA ECUACION DE MICHAELIS - MENTEN

Trujillo Arriaga Héctor Miguel

Area de Ingeniería Biomédica, Departamento de Ingeniería Eléctrica
 Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa ; México, D.F.

RESUMEN

Se presenta un algoritmo interactivo para la graficación de la ecuación de Michaelis - Menten, la cual es muy usada en estudios de Dinámica Enzimática. Se propone también la introducción de otros parámetros diferentes a los comúnmente usados (V_m , K_m), pero complementarios, que proporcionan mayor información.

En los estudios de Dinámica Enzimática, una de las técnicas más usadas, es la determinación de las velocidades de reacción que presenta una determinada sustancia en presencia de un sustrato. La relación que se presenta entre estas variables, se describe mediante la ecuación de Michaelis - Menten (1), y a partir de esta, se obtiene una gráfica de velocidad de reacción .vs. concentración de sustrato. (Fig. 1).

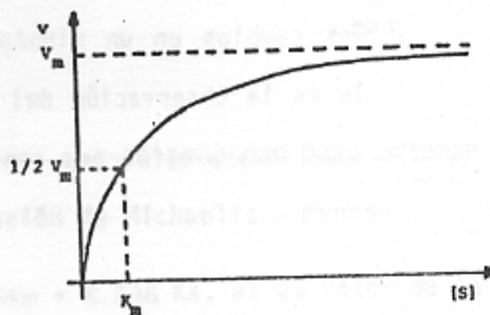


Fig. 1. Gráfica velocidad de reacción .vs. concentración de sustrato obtenida en base a la ecuación de Michaelis - Menten:

$$v = V_m[S]/(K_m+[S])$$

Conversión de señal analógica a digital.

Esta etapa tiene la función de que a partir de la señal obtenida debidamente amplificada y depurada se generen pulsos de duración bien definida. Esto crea la condición que la frecuencia de los pulsos producidos será la frecuencia de las pulsaciones. Sólo cambiará la separación entre los pulsos generados y no así el ancho que deberá permanecer fijo.

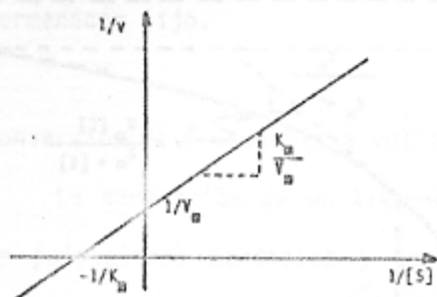
Conversión de frecuencia a voltaje.

La generación de un tren de pulsos cuya frecuencia es la frecuencia de pulsaciones cardíacas y ancho de pulso fijo constituye la base para la obtención de un nivel de voltaje proporcional a la frecuencia del tren de pulsos aplicados a un integrador.

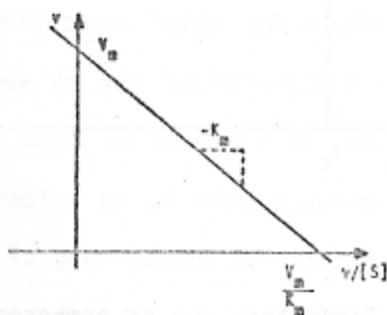
Utilizando este principio se logra establecer una vigilancia continua de las variaciones que pudiera tener el pulso cardíaco. Esto muchas veces se requiere si tomamos como ejemplo el pulso en niños donde los cambios en un minuto pueden ser grandes y frecuentes. Otro ejemplo lo es la observación del tiempo de recuperación en atletas que han sido sometidos a esfuerzos.

Experimentalmente, se obtienen diferentes mediciones de la velocidad de reacción para diferentes concentraciones del sustrato, obteniéndose una serie de parejas de puntos que se grafican de diferentes maneras -- equivalentes (2), a partir de las cuales se pueden calcular los parámetros de la ecuación de Michaelis - Menten; La velocidad máxima de reacción (V_m), y el valor de la concentración de sustrato para la que se -- obtiene la mitad de la velocidad máxima (teórica) de reacción (K_m).

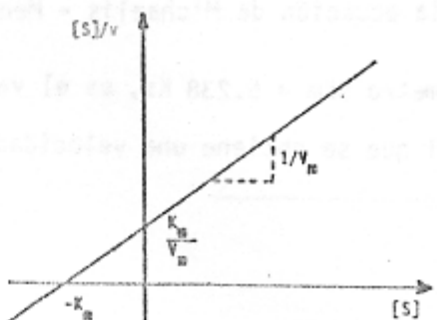
Las diferentes formas (representaciones) de las que se obtiene esta información, se presentan en la Fig. 2.



PARAMETROS DE LA REPRESENTACION DE LINEWEAVER - BURK
 ORDENADA DE ORIGEN = $1/V_m$
 PENDIENTE = K_m/V_m
 ASCISA DE ORIGEN = $-1/K_m$



PARAMETROS DE LA REPRESENTACION DE EADIE - HOFSTEE
 ORDENADA DE ORIGEN = V_m
 PENDIENTE = $-K_m$
 ASCISA DE ORIGEN = V_m/K_m



PARAMETROS DE LA REPRESENTACION DE WOLF
 ORDENADA DE ORIGEN = K_m/V_m
 PENDIENTE = $1/V_m$
 ASCISA DE ORIGEN = $-K_m$

Fig. 2. Diferentes representaciones de las que se obtienen los parámetros de la ecuación de Michaelis - Menten

En este trabajo, además de la presentación de un programa interactivo de graficación de la ecuación de Michaelis - Menten, se propone la obtención de otros parámetros teóricos alternativos que ayudan a tener una mejor idea de la forma de esta curva. (Fig. 3.)

El parámetro K_s , denominado en este trabajo como constante de concentración, se propone como el valor de la concentración de sustrato al que corresponde el 63.2% de la velocidad máxima de reacción.

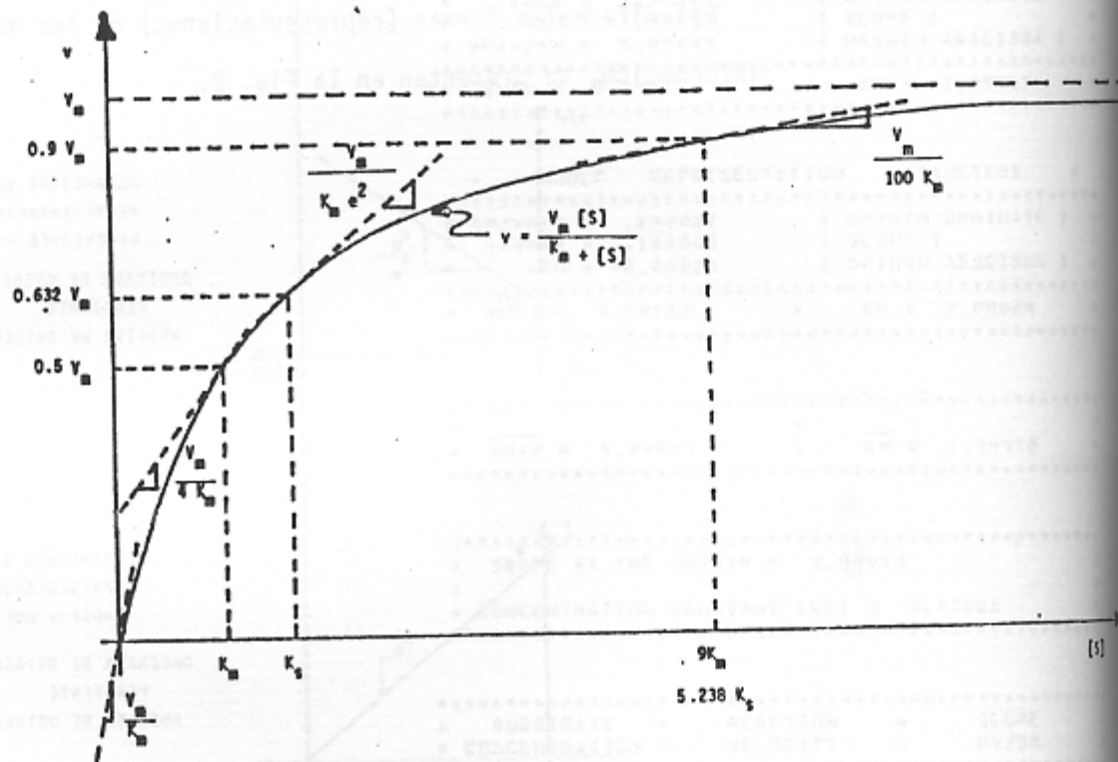


Fig. 3. Parámetros que se proponen para mejorar la interpretación de la ecuación de Michaelis - Menten

El parámetro $9K_m = 5.238 K_s$, es el valor de la concentración de sustrato al que se obtiene una velocidad del 90% de la velocidad máxima.

Por otra parte, es posible obtener las pendientes en diferentes puntos de interés en función de los parámetros obtenidos de V_m y K_m , que se pueden interpretar como la tasa de cambio en la velocidad de reacción a diferentes concentraciones del sustrato.

El programa presenta un menú que permite realizar varias acciones (Fig. 7.). Este programa está codificado en BASIC para la computadora HP-3000-III del centro de cómputo de la U.A.M. - I.

En las Figs. 4 a 7, se presentan algunos de los resultados obtenidos con este programa.

```

*****
* ENZYMATIC KINETICS *
*****

NUMBER OF CONCENTRATION - VELOCITY DATA PAIRS?

INPUT THE 4 DATA PAIRS

PAIR # 1
S( 1 ) = 72
V( 1 ) = 75

PAIR # 2
S( 2 ) = 73
V( 2 ) = 76

PAIR # 3
S( 3 ) = 74.67
V( 3 ) = 77

PAIR # 4
S( 4 ) = 75
V( 4 ) = 78
    
```

Fig. 4. Inicio de la ejecución del programa para un conjunto de datos velocidad - concentración

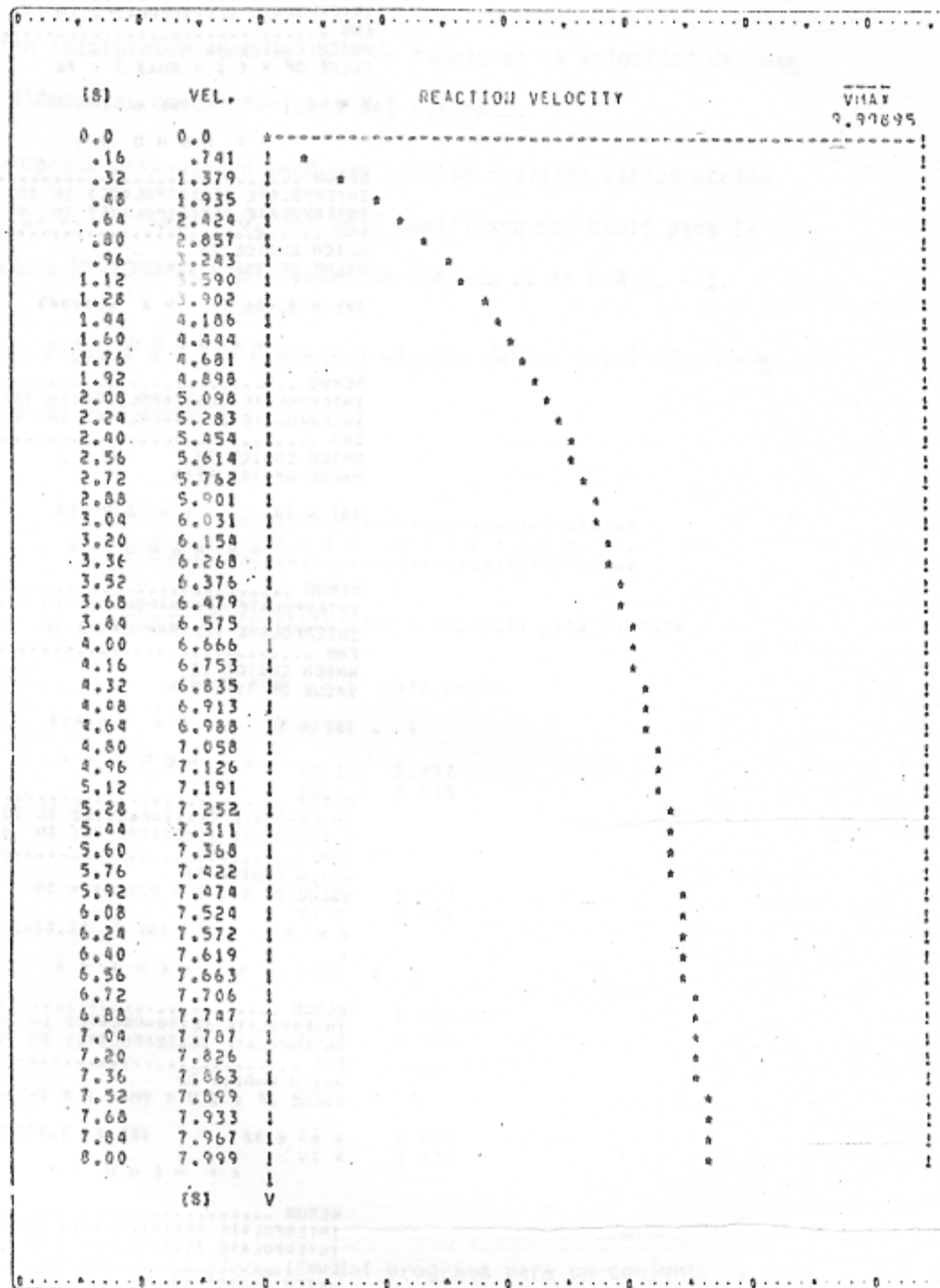


Fig. 6. Gráfica obtenida para los datos de la Fig. 4.

```

      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?2
VALUE OF V ( V < VMAX ) = ?2
V = 2      (S) = .499996
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?3
VALUE OF (S) = ?3.436
(S) = 3.436      V = 6.32049
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?3
VALUE OF (S) = ?318
(S) = 18      V = 8.99918
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?3
VALUE OF (S) = ?350
(S) = 50      V = 9.61443
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?2
VALUE OF V ( V < VMAX ) = ?2
V = 9      (S) = 18.0165
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?2
VALUE OF V ( V < VMAX ) = ?2.32
V = 6.32      (S) = 3.43528
      * * M E N U * *
RERUN ..... 1
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN (S) .... 2
INTERPOLATE (EXTRAPOLATE) IN V .... 3
END ..... 4
WHICH CHOICE ?4

```

Fig. 7. Ejemplo de las opciones que ofrece el programa a través del menú.

```

* * * * * RESULTS * * * * *
* LINWEAVER - BURK REPRESENTATION PARAMETERS *
* 1/VHAX = .100017 ( ORIGIN ORDINATE ) *
* KM/VHAX = .199969 ( SLOPE ) *
* -1/KM = -.500161 ( ORIGIN ABSCISSA ) *
* VHAX = 9.99832 * KM = 1.99936 *
*
* EADIE - HOFSTEE REPRESENTATION PARAMETERS *
* VHAX = 9.99871 ( ORIGIN ORDINATE ) *
* -KM = -1.99957 ( SLOPE ) *
* VHAX/KM = 5.00044 ( ORIGIN ABSCISSA ) *
* VHAX = 9.99871 * KM = 1.99957 *
*
* WOOLF REPRESENTATION PARAMETERS *
* KM/VHAX = .200027 ( ORIGIN ORDINATE ) *
* 1/VHAX = .100002 ( SLOPE ) *
* -KM = -2.00024 ( ORIGIN ABSCISSA ) *
* VHAX = 9.99982 * KM = 2.00024 *
*
* VHAX = 9.99895 * KM = 1.99972 *
*
* SLOPE AT THE ORIGIN = 5.00018 *
* CONCENTRATION CONSTANT (KS) = 3.43608 *
*
* SUBSTRATE * REACTION * SLOPE *
* CONCENTRATION * VELOCITY * DV/DS *
* S = KM * 8.99946 * 1.25004 *
* S = KS * 6.52054 * .6767 *
* S = 5.238*KS * 8.99909 * 4.99981E-02 *
* S = 9*KM * 8.99906 * 5.00018E-02 *

```

Fig. 5. Resultados numéricos obtenidos con los datos de la