

ESTIMATIVA DE PARÂMETROS NO MODELO DE MICHAELIS-MENTEN POR REGRESSÃO NÃO LINEAR VIA EQUAÇÕES ADJUNTAS E LEVENBERG - MARQUARDT: UMA ABORDAGEM COM DADOS SINTÉTICOS

GABRIEL AREZE DOS SANTOS¹; REJANE GIACOMELLI TAVARES²;
CLÁUDIO ZEN PETERSEN³; RUTH DA SILVA BRUM⁴

¹*Universidade Federal de Pelotas – arezegabriel@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – tavares.rejane@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – claudio.petersen@ufpel.edu.br*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – ruthdasilvabrum@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A cinética enzimática descrita por Michaelis e Menten em 1913 constitui um dos pilares fundamentais da bioquímica e da biotecnologia modernas (CORNISH-BOWDEN, 2015). Este modelo estabelece a relação entre a velocidade de reações catalisadas por enzimas e a concentração do substrato, fornecendo parâmetros essenciais para a quantificação da atividade enzimática e para aplicações em engenharia metabólica. Embora o trabalho de Michaelis e Menten tenha consolidado a teoria, suas bases foram lançadas por estudos prévios de Victor Henri, que identificou o papel crucial da saturação enzimática (NICOLÁS; CARMONA, 2015).

O modelo de Michaelis-Menten é definido por dois parâmetros principais: a constante de Michaelis (K_m) , que indica a afinidade da enzima pelo substrato, e a velocidade máxima da reação (V_{max}) , que expressa a capacidade catalítica máxima do sistema. A determinação confiável desses parâmetros é indispensável para a caracterização de enzimas e para a compreensão de processos metabólicos complexos. Tradicionalmente, tais parâmetros podem ser estimados por métodos gráficos lineares; no entanto, esses apresentam limitações em termos de precisão e suscetibilidade a erros experimentais. Nesse contexto, a regressão não linear se destaca como a abordagem mais robusta para o ajuste de dados experimentais, proporcionando estimativas mais consistentes e acuradas (DUGGLEBY, 1985; CARVALHO et al., 2010).

Neste trabalho propõe-se o uso de equações adjuntas para o cálculo da jacobiana dos resíduos, integrando essa abordagem ao algoritmo de Levenberg-Marquardt na execução da regressão não linear. Para validação, serão utilizados dados sintéticos a fim de avaliar a eficiência do método na estimativa dos parâmetros do modelo.

2. METODOLOGIA

Seja o modelo de Michaelis-Menten dado pela equação diferencial (CHEN et al., 2010):

$$\frac{dS(t)}{dt} = \frac{-V_{max}S(t)}{K_m + S(t)}, \quad \text{com } S(0) = S_0, \quad (1)$$

onde $S(t)$ é a concentração de substrato em um tempo t , K_m é a constante de Michaelis-Menten e V_{max} é a velocidade máxima de reação. Podemos realizar o ajuste por mínimos quadrados da solução da eq. diferencial (1)

utilizando uma série de N medidas experimentais (t_k, S_k^{data}) com $k=1,2,\dots,N$, minimizando a função $C(\theta)$:

$$C(\theta) = \sum_{k=1}^N (S(t_k; \theta) - S_k^{\text{data}})^2 = \sum_{k=1}^N r_k(\theta)^2, \quad (2)$$

sendo $\theta = [K_m \ V_{\max}]^T$ os parâmetros de interesse, e $r_k(\theta)$ o k -ésimo resíduo do ajuste. Para a minimização da equação (2), é necessário calcular a jacobiana dos resíduos em relação aos parâmetros definidos em (1). Neste estudo, esse cálculo é conduzido por meio do uso de equações adjuntas, denotadas por λ . Segundo o método proposto por NANDI & SINGH (2017), a jacobiana é obtida a partir da resolução de equações diferenciais adjuntas, integradas no tempo. Esse procedimento permite determinar diretamente as sensibilidades do modelo em relação aos parâmetros de interesse, avaliadas em cada resíduo da regressão não linear. Dessa forma, a aplicação dessa técnica ao modelo (1) resulta na seguinte forma matricial para a jacobiana:

$$\mathbf{J} = \begin{bmatrix} \int_0^{t_1} \left(\frac{\partial f}{\partial V_{\max}} \lambda_1(t) \right) dt & \int_0^{t_1} \left(\frac{\partial f}{\partial K_m} \lambda_1(t) \right) dt \\ \int_0^{t_2} \left(\frac{\partial f}{\partial V_{\max}} \lambda_2(t) \right) dt & \int_0^{t_2} \left(\frac{\partial f}{\partial K_m} \lambda_2(t) \right) dt \\ \vdots & \vdots \\ \int_0^{t_k} \left(\frac{\partial f}{\partial V_{\max}} \lambda_k(t) \right) dt & \int_0^{t_k} \left(\frac{\partial f}{\partial K_m} \lambda_k(t) \right) dt \end{bmatrix}, \quad (3)$$

com:

$$\begin{aligned} \dot{\lambda}_k(t) + \frac{V_{\max} K_m}{(K_m + S(t))^2} \lambda_k(t) &= 0, & \frac{\partial f}{\partial V_{\max}} &= -\frac{S(t)}{K_m + S(t)}, \\ \frac{\partial f}{\partial K_m} &= \frac{V_{\max} S(t)}{(K_m + S(t))^2}, & e \quad \lambda_k(t_k) &= -1. \end{aligned} \quad (4)$$

De posse de (3) pode-se seguir com o ajuste por meio do algoritmo de Levenberg-Marquardt, que consiste na iteração da fórmula:

$$\Delta \theta = (\mathbf{J}^T \mathbf{J} + \mu \mathbf{I})^{-1} \mathbf{J}^T \mathbf{r} \quad (5)$$

onde \mathbf{J} é a matriz jacobiana dos resíduos, \mathbf{J}^T é sua transposta, \mathbf{I} é a matriz identidade, \mathbf{r} é o vetor de resíduos $r_k = S(t_k; \theta) - S_k^{\text{data}}$, e μ é o fator de amortecimento, calculado iterativamente durante o ajuste conforme descrito por NOCEDAL & WRIGHT(2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliação do método, geraram-se 10000 experimentos sintéticos com medições simulando amostragem dos dados em triplicata. Cada ponto experimental S_k^{data} obedece a $S_k^{\text{data}} = S(t_k) + \epsilon_k$, com $\epsilon_k \sim \mathcal{N}(0; 0,4)$, com $S(t)$ sendo a solução de (1) sob condições iniciais $S(0) = 10$, parâmetros geratrizes $K_m^* = 2$, $V_{\max}^* = 1.5$, e tempos de amostragem dados por $t_k = 1 + k \cdot \Delta t_{\text{amost}}$ ($\Delta t_{\text{amost}} = 2$; $k = 1, \dots, 7$). A integração numérica empregou o método de Euler explícito com passo $\Delta t = 0,01$. Todas as regressões utilizaram

a estimativa inicial $\theta_0 = [K_m = 3, V_{max} = 3]^T$. A distribuição dos parâmetros inferidos foi plotada da Figura 2, acompanhada dos parâmetros utilizados para a geração dos dados sintéticos.

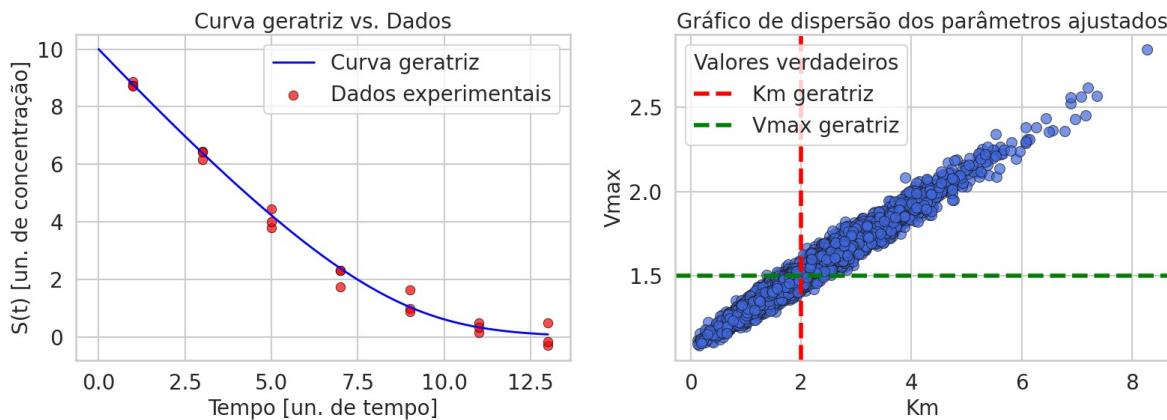


Figura 1: Comparação entre um conjunto de dados experimentais e a curva geratriz (esquerda) e dispersão dos parâmetros ajustados em relação aos valores geratrizes de K_m e V_{max} (direita). Fonte: Do autor.

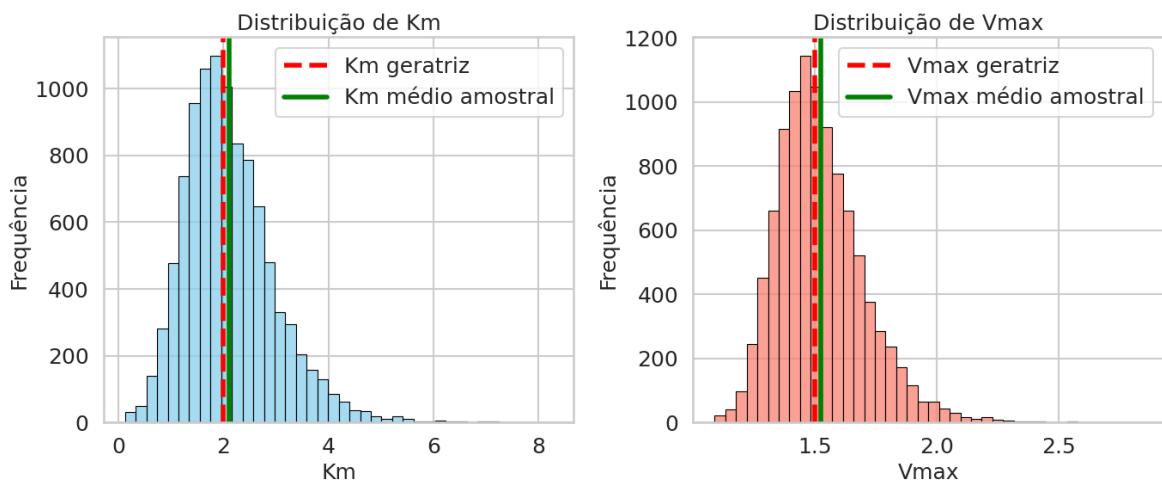


Figura 2: Distribuições amostrais de K_m e V_{max} obtidas a partir dos ajustes do modelo. As linhas verticais indicam os valores geratrizes (tracejada vermelha) e as médias amostrais (verde). Fonte: Do autor.

Tabela 1: Médias e desvios padrão das distribuições de K_m e V_{max} . Fonte: Do autor.

	K_m	V_{max}
Valor geratriz	2	1,5
Média amostral	2,1116	1,5231
Desvio padrão amostral	0,8575	0,1798

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que as distribuições dos parâmetros estimados apresentam médias amostrais próximas aos valores utilizados na geração dos dados, confirmando a viabilidade do procedimento de regressão não linear na determinação de K_m e V_{max} . O gráfico de dispersão da Figura 1 evidencia uma forte colinearidade entre os parâmetros, ressaltando a complexidade inerente à identificação em modelos não lineares. A partir da Tabela 1 e da Figura 2, nota-se que o desvio padrão amostral de K_m apresenta valores mais elevados, evidenciando a maior complexidade na sua estimativa deste parâmetro em específico.

A utilização das equações adjuntas revelou-se eficiente no cálculo da jacobiana dos resíduos, mesmo na ausência de uma solução explícita para (1). De forma complementar, a implementação do algoritmo de Levenberg-Marquardt permitiu a minimização de (2), demonstrando a eficácia do procedimento de caracterização dos parâmetros.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORNISH-BOWDEN, Athel. One hundred years of Michaelis–Menten kinetics. **Perspectives in Science**, v. 4, p. 3-9, 2015.
- NICOLÁS, J. M. L.; CARMONA, F. G. Los cuatro mosqueteros de la cinética enzimática. **Eubacteria**, Murcia, n.34, p.20-25, 2015.
- DUGGLEBY, R. G. Regression analysis of Michaelis-Menten kinetics. **Biochemical Journal**, London, v.230, n.3, p.859-861, 1985.
- CARVALHO, N. M. F.; PIRES, B. M.; ANTUNES, O. A. C.; FARIA, R. B. Uso de equações lineares na determinação dos parâmetros de Michaelis-Menten. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n.7, p.1611-1615, 2010.
- CHEN, W. W.; NIEPEL, M.; SORGER, P. K. Classic and contemporary approaches to modeling biochemical reactions. **Genes & Development**, Cold Spring Harbor, v. 24, n. 17, p. 1861-1875, 2010.
- NANDI, S.; SINGH, T. Adjoint based Hessians for optimization problems in system identification. In: **Proceedings of the IEEE Conference on Control Technology and Applications**. Piscataway: IEEE, 2017. p. 626-631.
- NOCEDAL, J.; WRIGHT, S. Capítulo 10. In: NOCEDAL, J.; WRIGHT, S. **Numerical Optimization**. 2. ed. New York: Springer, 2006. cap. 10, p. 245-269.