

tirpale, kompiuterinis tyrimas*

Pranas Katauskis, Justina Dzimidaitė

Vilniaus universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas
Naugarduko 24, LT-03225 Vilnius
E. paštas: pranas.katauskis@mif.vu.lt, justedzzz@gmail.com

Santrauka. Nagrinėjamas netiesinis matematinis modelis, aprašantis toksino, antikūno ir ląstelės receptorių sąveiką, kai ląstelę supa gerai išmaišytas toksino ir antikūno mišinys. Keičiant modelio parametrus, skaitiniais metodais tiriamas antikūno panaudojimo efektyvumas, apsaugant ląstelę nuo toksino.

Raktiniai žodžiai: toksinas, antikūnas, receptorius, ląstelės apsauga.

Įvadas

Toksinai siejami su įvairiomis užkrečiamomis ligomis, organizmų funkcijų sutrikimais. Dažniausiai toksinas yra baltyminės kilmės medžiaga, kurios šaltiniai gali būti augalai, gyvūnai ar mikroorganizmai. Toksino tipų yra labai daug, didžioji jų dalis nėra išsamiai ištirta ir nežinomas tikslus jų poveikis žmogaus ar gyvūno organizmui. Toksinai gali veikti ant ląstelės paviršiaus, pažeisti ląstelės membraną arba prisijungti prie ląstelės receptorių. Jie taip pat gali prasiskverbti pro ląstelės membraną ir išderinti ląsteles vidaus procesus arba pažeisti branduolį [1]. Kovoti su toksinais padeda antikūnai. Jie nukenksmina į organizmą patekusį svetimkūną, jo išskiriamus nuodus ar svetimus baltymus. Antikūnų gamyba – dalis organizmo imuninio atsako. Eksperimentinių tyrimu metu kuriami antikūnai, nukreipti tik prieš specifinius antigenus arba nukenksminantys kelių tipų toksinus [2, 3, 4]. Matematiniai modeliai leidžia ištirti kaip įvairiose situacijose keičiasi nagrinėjamą procesą aprašančios funkcijos [5]. Šio darbo tikslas – naudojant ląstelės receptorių, toksino, antikūno sąveikos matematinį modelį gerai išmaišyto tirpalo atveju [5], skaitiškai įvertinti antikūno pradinės koncentracijos bei toksino ir antikūno tiesioginės reakcijos greičio konstantos įtaką ląstelės apsaugos parametrai ir kitoms modelio funkcijoms.

1 Matematinis modelis

Modeliuojama situacija, kai rutulio formos ląstelė yra antikūno ir toksino tirpale, kuris užpildo sritį tarp ląstelės ir išorinio paviršiaus. Antikūnui nukenksminant toksiną, susidaro antikūno–toksino junginys. Dalis šių junginių vėl skyla į antikūną bei toksiną. Antikūnas ir toksino–antikūno junginys lieka tirpale ir prie ląstelės receptorių nesijungia. Toksinas gali prisijungti prie ląstelės receptorių ir patekti į ląstelės vidų,

* Pirmasis autorius paremtas Lietuvos mokslo tarybos (projekto Nr. MIP-052/2012).

kita dalis toksino, sudariusio jungtis su receptoriais, palieka ląstelės receptorius ir grįžta atgal į toksino, antikūno, toksino–antikūno tirpalą.

Šiame darbe naudojami tokie pagrindiniai žymenys:

ρ – sferinis spindulys, $S_c = \{\rho: \rho = \rho_c\}$ – sferinės ląstelės paviršius,

$S_e = \{\rho: \rho = \rho_e\}$ – išorinės sferos, ribojančios sritį Ω paviršius,

$\Omega = \{\rho: \rho \in (\rho_c, \rho_e)\}$ – sritis, kurioje vyksta toksino, antikūno ir toksino–antikūno junginio reakcijos,

θ – ląstelės receptorių, prie kurių prisijungęs toksinas, dalis,

$1 - \theta$ – laisvų ląstelės receptorių dalis, r_0 – ląstelės receptorių koncentracija ląstelės paviršiuje,

$r_0\theta$ – ląstelės receptorių, prie kurių prisijungęs toksinas, koncentracija,

$r_0(1 - \theta)$ – laisvų ląstelės receptorių, koncentracija,

u_T, u_A , and u_C – toksino, antikūno ir toksino–antikūno junginio koncentracijos,

u_T^0, u_A^0 – pradinės toksino ir antikūno koncentracijos,

k_1, k_{-1} – toksino ir antikūno tiesioginės ir grįžtamosios reakcijų greičių konstantos,

k_2 and k_{-2} – toksino prisijungimo prie receptoriaus ir toksino atsiskyrimo nuo receptoriaus greičių konstantos,

k_3 – toksino skverbimosi į ląstelės vidų greičio konstanta,

k_4 – ląstelės paviršiaus S_c ir srities Ω tūrio santykis,

$\psi(t)$ – ląstelės apsaugos funkcija.

Kai medžiagų judėjimas tirpale vyksta dėl skirtingos medžiagų koncentracijos įvairiuose srities taškuose, tai toksino, antikūno, toksino–antikūno junginio koncentracijos ir funkcija priklauso nuo laiko ir vietos koordinatčių. Tokiu atveju, medžiagų judėjimas, jų sąveika yra aprašoma netiesinių dalinių išvestinių diferencialinių lygčių sistema [5]. Laikant, kad toksino, antikūno ir toksino–antikūno junginio tirpalas yra gerai išmaišytas ir visos jame esančios medžiagos yra vienodai pasiskirsčiusios nagrinėjamoje srityje, medžiagų judėjimas, jų sąveika yra aprašoma netiesinių paprastųjų diferencialinių lygčių sistema.

Šiame darbe naudojamas [5] straipsnyje pasiūlytas matematinis modelis. Kai tirpale yra toksiną neutralizuojančio antikūno, vykstančius procesus aprašo lygčių sistema:

$$\begin{cases} \frac{du_T}{dt} = -k_1 u_T u_A + k_{-1} u_C - k_4 r_0 (k_2 (1 - \theta) u_T - k_{-2} \theta), & t > 0, \\ u_T|_{t=0} = u_T^0, \end{cases} \quad (1)$$

$$\begin{cases} \frac{d\theta}{dt} = k_2 (1 - \theta) u_T - k_{-2} \theta - k_3 \theta, & t > 0, \\ \theta|_{t=0} = 0, \end{cases} \quad (2)$$

$$\begin{cases} \frac{du_A}{dt} = -k_1 u_T u_A + k_{-1} u_C, & t > 0, \\ u_A|_{t=0} = u_A^0, \end{cases} \quad (3)$$

$$\begin{cases} \frac{du_C}{dt} = k_1 u_T u_A - k_{-1} u_C, & t > 0, \\ u_C|_{t=0} = 0. \end{cases} \quad (4)$$

(1), (3), (4) lygtys aprašo toksino, antikūno ir jų junginio koncentracijų kitimą laiko atžvilgiu, o (2) lygtis – toksiną prisijungusių ląstelės receptorių skaičiaus kitimą.

Jei toksiną nukenksminančio antikūno tirpale nėra, tai nesusidaro toksino–antikūno junginiai. Tokiu atveju vykstantys procesai aprašomi, sprendžiant (2) kartu su paprastesne toksino koncentracijos lygtimi:

$$\begin{cases} \frac{du_T}{dt} = -k_4 r_0 (k_2(1 - \theta)u_T - k_{-2}\theta), & t > 0, \\ u_T|_{t=0} = u_T^0. \end{cases} \quad (5)$$

Tuo atveju, kai ląstelė ir sritis Ω yra rutulio formos, $k_4 = 3\rho_c^2/(\rho_c^3 - \rho_e^3)$.

Antikūno panaudojimo efektyvumas vertinamas lyginant toksino užimtų receptorių skaičių, kai tirpale yra antikūnas ($u_A^0 > 0$), su užimtų receptorių skaičiumi, kai antikūno nėra ($u_A^0 = 0$):

$$\psi(t) = \frac{\theta|_{u_A^0 > 0}}{\theta|_{u_A^0 = 0}}. \quad (6)$$

Skaitiklis gaunamas išsprendus uždavinį (1)–(4), o vardiklis – uždavinį (5), (2). Ląstelės apsaugos funkcija gali įgyti reikšmes nuo 0 iki 1. Kuo mažesnės funkcijos $\psi(t)$ reikšmės, tuo efektyviau veikia antikūnas ir geresnė ląstelės apsauga nuo toksino.

Lygtys užrašytos, tariant, kad nėra antikūno, toksino ir jų junginio įtekėjimo ir ištekėjimo per paviršius S_e . Kadangi antikūnas ir toksino–antikūno junginys nepatenka į ląstelę, tai pradinis antikūno kiekis turi būti lygus laisvo antikūno ir antikūno, sureagavusio su toksinu, kiekių sumai:

$$u_C + u_A = u_A^0. \quad (7)$$

Naudojant charakteringas laiko, ilgio ir koncentracijos konstantas τ_* , l , u_* , atitinkamai, uždavinį galima užrašyti bedimense forma. Atlikus kintamųjų keitimą

$$\begin{aligned} \rho &= l\bar{\rho}, & t &= \tau_*\bar{t}, & r_0 &= lu_*\bar{r}_0, & u_T &= u_*\bar{u}_T, & u_A &= u_*\bar{u}_A, \\ u_C &= u_*\bar{u}_C, & u_T^0 &= u_*\bar{u}_T^0, & u_A^0 &= u_*\bar{u}_A^0, & \bar{k}_1 &= \tau_*u_*k_1, \\ \bar{k}_2 &= \tau_*u_*k_2, & \bar{k}_{-1} &= \tau_*k_{-1}, & \bar{k}_{-2} &= \tau_*k_{-2}, & \bar{k}_3 &= \tau_*k_3, \end{aligned}$$

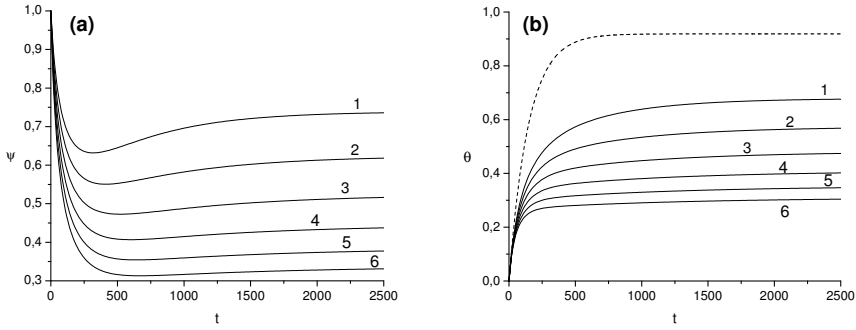
gaunamas tas pats uždavinys (1)–(4), užrašytas bedimensiais kintamaisiais. Žemiau tekste visi kintamieji yra bedimensiai.

2 Skaitinis tyrimas

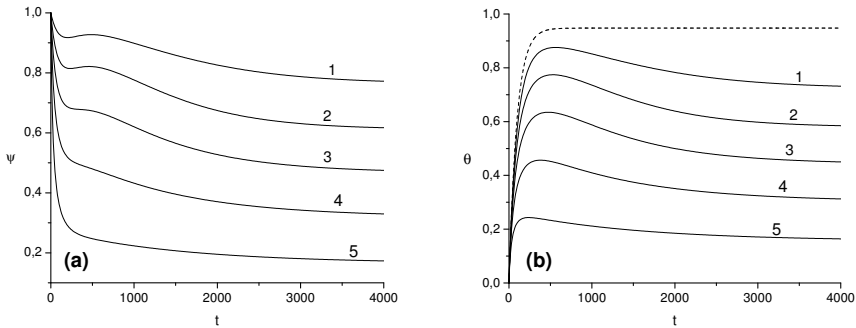
Netiesiniai uždaviniai (1)–(4) ir (5), (2) sprendžiami Rungės–Kuto metodu, laiko intervalą padengus tolygiu tinklu su žingsniu τ . Lokalinė vieno žingsnio paklaida proporcinga τ^5 . Skaičiavimai atlikti su tokiais pagrindinėmis bedimensių konstantų reikšmėmis [5, 6]:

$$\begin{cases} \bar{k}_1 = 1.3 \cdot 10^{-2}, & k_{-1} = 1.4 \cdot 10^{-4}, & k_2 = 1.25 \cdot 10^{-2}, \\ k_{-2} = 5.2 \cdot 10^{-4}, & k_3 = 3.3 \cdot 10^{-5}, \\ r_0 = 2.115 \cdot 10^{-3}, & \rho_c = 10^{-1}, & \rho_e = 1, \\ u_A^0 = 1, & u_T^0 = 0.5. \end{cases} \quad (8)$$

Jei kuri nors konstanta keičiama, tai jos reikšmės nurodytos tekste arba paveikslų užrašuose.

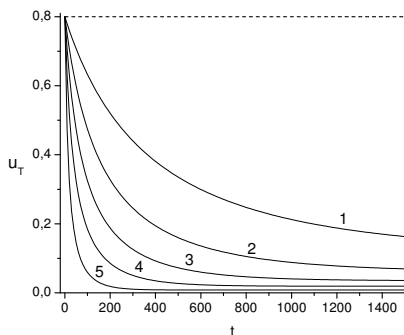


1 pav. Ląstelės apsaugos funkcijos ψ (a) ir receptorių, prie kurių prisijungęs toksinas, dalies θ (b) priklausomybė nuo pradinės antikūno koncentracijos u_A^0 : 0,5 (1); 0,6 (2); 0,7 (3); 0,8 (4); 0,9 (5); 1 (6), kai $k_1 = 2,6 \cdot 10^{-2}$ ir $k_{-1} = 5,6 \cdot 10^{-4}$. — $u_A^0 > 0$, - - - $u_A^0 = 0$.
Kitos parametrų reikšmės kaip (8) formulėje.



2 pav. Ląstelės apsaugos funkcijos ψ (a) ir receptorių, prie kurių prisijungęs toksinas, dalies θ (b) priklausomybė nuo toksino ir antikūno tiesioginės reakcijos greičio konstantos k_1 : 0,0026 (1); 0,0065 (2); 0,013 (3); 0,026 (4); 0,065 (5), kai $u_T^0 = 0,8$. — $u_A^0 > 0$, - - - $u_A^0 = 0$.
Kitos parametrų reikšmės kaip (8) formulėje.

Pradinės antikūno koncentracijos u_A^0 įtaką funkcijoms $\psi(t)$, $\theta(t)$, matome 1 pav., kai $k_{-1} = 5,6 \cdot 10^{-4}$ ir $k_1 = 2,6 \cdot 10^{-2}$. Rezultatai lyginami, kai pradinė antikūno koncentracija mažėja nuo 1 iki 0,5. 1(a) pav. matome, kad kuo didesnė pradinė antikūno koncentracija, tuo mažesnės funkcijos ψ reikšmės, t. y. mažiau toksino patenka į ląstelę. Tai galima paaiškinti tuo, kad esant aukštesnei antikūno koncentracijai, didesnis kiekis toksino sudaro toksino–antikūno junginį, todėl mažiau toksino lieka laisvo ir prisijungusio prie ląstelės receptorių (1(b) pav.). Kai antikūno daug, $u_A^0 = 1$, užimtų receptorių skaičius gana greitai nusistovi prie $\approx 0,3$, o laisvo toksino praktiškai nebelieka. Kai pradinės antikūno ir toksino koncentracijos yra vienodos $u_A^0 = u_T^0 = 0,5$, tai ląstelės receptorių, prisijungusių toksiną, dalis $\approx 0,65$, o laisvo toksino $u_T \approx 0,1$. Funkcija ψ yra nemonotoninė laiko funkcija: laikui bėgant mažėja, pasiekia minimumą ir didėdama artėja prie asimptotinės reikšmės. Todėl yra neilgas laiko intervalas apie tašką, kuriame ψ įgyja minimumą, kai antikūno veikimas efektyviausias. Kai kiti uždavinio parametrai vienodi, didėjant skirtumui tarp pradinių toksino ir antikūno koncentracijų, gerėja ląstelės apsauga nuo toksino, į ląstelę patenka mažai toksino. Kaip keičiasi toksino užimtų receptorių dalis, kai antikūno nėra, rodo 1(b) pav. punktyrinė linija.



3 pav. Toksino ir antikūno tiesioginės reakcijos greičio konstantos k_1 įtaka toksino koncentracijai. Parametro k_1 ir kitų parametrų reikšmės kaip 2 pav.

Kokią įtaką funkcijoms $\psi(t)$, $\theta(t)$, $u_T(t)$ turi konstantos k_1 dydis matome 2 ir 3 pav. Skaičiuota, kai pradinė toksino koncentracija: $u_T^0 = 0,8$, o konstantos k_1 reikšmės imtos 2 ir 5 kartus mažesnės arba didesnės už bazinę reikšmę $k_1 = 0,013$. Didėjant k_1 , ląstelės apsaugos funkcijos ψ reikšmės monotoniškai mažėja – daugiau toksino neutralizuoja antikūnas (3 pav.), mažiau toksino nusėda ant receptorių (2(b) pav.). Funkcija θ yra monotoniškai mažėjanti parametro k_1 funkcija, bet nemonotoninė laiko kintamojo funkcija. Proceso pradžioje toksino užimtų receptorių skaičius auga, pasiekia maksimumą ir mažėdamas beveik vienodu tempu artėja prie stacionarios reikšmės. Funkcijos ψ elgesys, laikui bėgant, taip pat priklauso nuo toksino ir antikūno reakcijos greičio konstantos. Kai konstanta k_1 maža, tai $\psi(t)$ nemonotoninė laiko funkcija: mažėja, pasiekia minimumą, nežymiai didėja, įgyja maksimumą ir mažėdama iš lėto nusistovi (2(a) pav., kreivės 1–4). Kai konstanta k_1 didelė – funkcija $\psi(t)$ yra monotoniškai mažėjanti laiko funkcija (2(a) pav., 5 kreivė).

3 Išvados

Taikant toksino ir antikūno sąveikos matematinį modelį gerai išmaišyto tirpalo atveju gauti tokie rezultatai:

1. Kai parametrų reikšmės artimos nurodytoms (8), tai ląstelės apsaugos funkcija yra nemonotoninė laiko ir monotoniškai mažėjanti pradinės antikūno koncentracijos funkcija.
2. Fiksuotam parametrų rinkiniui, yra reikšmė \tilde{k}_1 , kad ląstelės apsaugos funkcija yra nemonotoninė, kai $k_1 < \tilde{k}_1$, ir monotoniinė, kai $k_1 > \tilde{k}_1$, laiko funkcija.

Literatūra

- [1] J.E. Alouf and M.R. Popoff. *The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins*. Elsevier, third edition, 2006.
- [2] I. Kučinskaitė-Kodžė. *Naujų monokloninių antikūnų prieš virusų antigenus kūrimas, charakterizavimas ir taikymas*. Technika, Vilnius, 2011.
- [3] A. Razai, C. Garcia-Rodriguez, J. Lou and et al. Molecular evolution of antibody affinity for sensitive detection of botulinum neurotoxin type A. *J. Mol. Biol.*, **351**:158–169, 2005.

- [4] R.B. Reisler and L.A. Smith. The need for continued development of ricin countermeasures. *Adv. Prev. Medic.*, **2012**, 2012. Doi:10.1155/2012/149737.
- [5] V. Skakauskas, P. Katauskis and A. Skvortsov. A reaction-diffusion model of the receptor-toxin-antibody interaction. *Theor. Biol. Medic. Modell.*, **8**(32), 2011.
- [6] G.A. Truskey, F. Yuan and D.F. Katz. *Transp. Phen. Biol. Syst.* Prentice Hall, 2009.

SUMMARY

Computational study of a toxin neutralization by antibody in the well-mixed solution*P. Katauskis, J. Dzimidaitė*

A mathematical model describing the interaction of toxin, antibody and cell receptors when cell is placed in the well-mixed solution of toxin, antibody and toxin-antibody complex is studied. The protective properties of an antibody against toxin are investigated numerically choosing the model parameters.

Keywords: toxin, antibody, receptor, cell protection.