

Glucocorticoid receptor dynamica

L T Stein & M van de Streek

2023-05-14

1 Introduction

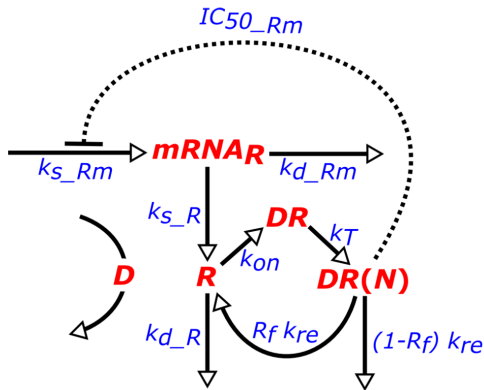
Introduction of the research and introduction research questions

1.1 Goal

- Describe Goal (not the educational goal but the research goal)
- Describe how you reach the goal (e.g. make model and figures, use different setting)
- formulate hypothesis

1.2 Theory

Afbeelding van biologisch model



Afbeelding 1: *Biologisch model van Glucocorticoid receptor dynamica*

In afbeelding 1 is het biologische model van glucocorticoid dynamica te zien. Hierbij zijn veel constanten betrokken, die invloed uitoefenen op de hoeveelheid van het eindproduct. Deze worden verder op in dit hoofdstuk beschreven. “Glucocorticoids reverse this effect, resulting in rapid degradation of mRNA and reduced inflammatory protein secretion” [2] (Bergmann *et al.*, 2004).

Het artikel beschrijft dat glucocorticoiden (drug) zorgt voor degradatie, ofwel vermindering van mRNA, wat resulteert in ontbrekende eiwitten betrokken bij ontstekingsreacties. Het biologisch model werkt deze constantering uit door naast de formule dat verandering in mRNA berekent over tijd, ook drie andere formules geeft die helpen bij het argumenteren wat er daadwerkelijk gebeurt met de receptoren die worden aangemaakt, het MPL-complex en vervolgens wat er dan gebeurt wanneer het MPL-complex in de celkern bevindt. In hoofdstuk Resultaten, is goed te zien hoe alle formules van elkaar afhangen.

In het biologische model wordt de samenhang van vier vergelijkingen getoond, waar Drug (D) reageert met receptor (R) tot een Glucocorticoidereceptorcomplex (DR), waar D dus glucocorticoide is.

De formule waar in dit onderzoek interesse op ligt berekent de verandering in hoeveelheid mRNA dat getranscribeerd wordt tot receptoren afhankelijk van de verandering in tijd. Hieronder is de ‘formule 1’ te zien.

$$\frac{dmRNA_R}{dt} = ks_{Rm} \cdot (1 - \frac{DR(N)}{IC50_{Rm} + DR(N)}) - k_{d_{Rm}} \cdot mRNA_R$$

De volgende ‘formule 2’ bepaald hoe de verandering in hoeveelheid receptoren afhankelijk is van tijd.

$$\frac{dR}{dt} = ks_{Rm} \cdot mRNA_R + Rf_{re} \cdot DR(N) - k_{on} \cdot D \cdot R - k_{d_R} \cdot R$$

Verder wordt er gekeken naar hoe de verandering in glucocorticoide (D) dat reageert met het aantal receptoren (R) afhankelijk is van de verandering in tijd. Hieronder ‘formule 3’

$$\frac{dDR}{dt} = k_{on} \cdot D \cdot R - k_T \cdot DR$$

Als laatste ‘formule 4’ wordt de verandering in hoeveelheid D en R berekend dat met elkaar reageert in de nucleus gezet tegen verandering in tijd.

$$\frac{dDR(N)}{dt} = k_T \cdot DR - k_{re} \cdot DR(N)$$

In de bovenstaande formules komen veertien variabelen voor. Wanneer er een kleine ‘d’ voor een variabele staat, dan betekent het verschil of de verandering in zijn waarde, bijvoorbeeld dDR(N) zegt de verandering in hoeveelheid MPL-complex binnen de nucleus.

Alle variabelen waar ‘k’ voor staat zoals ks_Rm, kd_Rm, k_re, k_T, k_on en k_d_R zijn constantes. Hier in formule 1 zijn ks_Rm, kd_Rm de snelheidsconstanten voor aanmaak en afbraak van mRNA dat codeert voor receptoren (mRNA.R). Aan de linker kant van de minus wordt nieuwe mRNA aangemaakt door het tempo van aanmaak ks_Rm maal de procentuele aanmaak van het MPL-complex binnen de nucleus (‘DR(N)’) dat afhankelijk is van de helft van de concentratie mRNA (IC50_Rm) Rechts van de minus wordt mRNA afgebroken, door de tempo van afbraak keer de hoeveelheid receptor mRNA te doen. Deze regel van aanmaak links en afbraak rechts geldt voor iedere formule, alleen de context verschilt.

Vervolgens zijn in de tweede formule op receptor niveau de snelheidsconstanten ‘k_s_r’ en ‘k_d_r’ voor aanmaak van receptoren en afbraak van receptoren. In deze formule is de hoeveelheid mRNA (mRNA.R) afhankelijk van de keersom met k_s_r. Tijdens het proces worden ook receptoren hergebruikt in de vorm van R_f. De hoeveelheid DR(N) is hier afhankelijk van en de som met de vorige keersom tussen k_s_r en mRNA.R bepaalt de aanmaak van aantal receptoren.

Daartegenover wordt de afbraak van receptoren bepaalt door de keersom van hoeveelheid D en R dat afhankelijk is van de snelheid dat een MPL-receptor complex gemaakt wordt (' k_{on} ') minus de hoeveelheid receptoren (R) dat afhankelijk is van k_{d_r} .

In formule 3 zijn k_{on} en ' k_T ' ook snelheidsconstanten. De keersom tussen k_{on} , hoeveelheid D en R zoals in formule 2 hierboven bepaalt nu de aanmaak per tijdeenheid van het MPL-receptor complex. Aan de rechterkant van de minus (de) geeft k_T het tempo aan dat het MPL-receptor complex verplaatst richting de nucleus, wat invloed heeft op de afbraak van het MPL-complex (DR). Deze verplaatsing richting de celkern wordt door beschreven in het artikel als: "Upon ligand binding, GR are activated and released from chaperone proteins (heat shock protein-90 and others) and rapidly translocate to the nucleus where they exerts their molecular effects." [2] (Bergmann *et al.*, 2004).

In formule 4 is wederom constante k_T , maar nu van invloed bij aanmaak van het MPL-complex. Tevens is bij de afbraak van het MPL-complex in de nucleus constante ' k_{re} ' van invloed. K_{re} geeft het tempo aan dat een MPL-receptor vanuit de nucleus naar het cytosol terug wordt getransporteerd.

2 Methods

2.1 The software model

- Describe the software tools used, as well as the libraries
- Describe the software implementation (note: code below is an example)

```
library(deSolve)
# code
```

2.2 Model configuration

Onderstaand worden vier vectoren opgesteld “Categorie”, “Waarden”, “Eenheden” en “Tijd_in_s”. Deze vectoren worden doorgegeven aan een dataframe die vervolgens met de functie *pander* uit de library *pander* (versie 0.6.5, [3]) als een mooi tabel wordt getekend.

```
# Pakket inladen voor mooiere tabel
library(pander)

# Drie categorieën aan soorten input waarden
Categorie <- c(rep("Initiële waarden", 4),
               rep("Konstantes", 7), rep("Parameters", 3))

# Waarden uit bovenstaande categorieën verkregen van experiment
# Omdat DR een reactie is tussen D en R gaan de waarden keer elkaar
Waarden<- c("mRNAr"=4.74, "DR_N"=0, "R"=267, "DR"=0, "ks_Rm"=2.90,
            "kd_Rm"= 0.612, "k_re"=0.57, "k_T"=0.63, "k_on"= 0.00329, "k_d_R"=0.0572,
            "k_s_r"=3.22, "IC50_Rm"=26.2, "RF"=0.49, "D"=53.4)

# Eenheden in een vector verwerkt. Met functie 'rep()' kan een iterable X
# keer herhaald worden.
Eenheden <- c("fmol / g liver", rep("fmol/mg protein", 3),
              rep("fmol/g liver/h", 2), rep("1 / h", 2),
              "L/nmol/h", rep("1 / h", 2), "fmol/mg protein",
              "", "nmol/L")

# Tijd van t = 48 uur dit geldt voor het hele experiment, dus alle 14 waarden.
# Deze tijdsequentie van twee dagen bevat genoeg tijdseenheden om het # verloop van de formules te laten
Tijd_in_h <- c(rep(48, 14))

# Dataframe waar vector namen in de header komen, waarde namen als rijnamen # en de daadwerkelijke waarden
model.conf <- data.frame(Waarden, Categorie, Eenheden, Tijd_in_h)

# Tekenen van tabel
pander(model.conf)
```

	Waarden	Categorie	Eenheden	Tijd_in_h
mRNAr	4.74	Initiële waarden	fmol / g liver	48
DR_N	0	Initiële waarden	fmol/mg protein	48
R	267	Initiële waarden	fmol/mg protein	48
DR	0	Initiële waarden	fmol/mg protein	48
ks_Rm	2.9	Konstantes	fmol/g liver/h	48

	Waarden	Categorie	Eenheden	Tijd_in_h
kd_Rm	0.612	Konstantes	fmol/g liver/h	48
k_re	0.57	Konstantes	1 / h	48
k_T	0.63	Konstantes	1 / h	48
k_on	0.00329	Konstantes	L/nmol/h	48
k_d_R	0.0572	Konstantes	1 / h	48
k_s_r	3.22	Konstantes	1 / h	48
IC50_Rm	26.2	Parameters	fmol/mg protein	48
RF	0.49	Parameters		48
D	53.4	Parameters	nmol/L	48

Tabel 1: *Variabelen betrokken bij opzetten experiment opgedeeld in zeven konstantes, drie parameters en vier initiële waarden.*

In Tabel 1 zijn aan de variabelen verschillende eenheden toegekend. Met fmol / g liver wordt bedoelt $f = 10^{-15}$, dus 10^{-15} mol per gram (g) lever bestaat het uit. Dit geldt hetzelfde maar dan in de context van eiwitten bij de eenheid van fmol/mg protein, waar nu 10^{-15} mol bestaat per *milli* = 10^{-3} gram eiwit.

Vervolgens geeft de eenheid nmol/L aan dat er $n = 10^{-9}$ mol van die stof is per liter (L). De overige eenheden zeggen iets over aantal stof dat aangemaakt of afgebroken wordt per tijdseenheid. Dus fmol/g liver/h is 10^{-15} mol per gram lever per uur (h=hour), L/nmol/h geeft dus aan dat een liter vloeistof per 10^{-3} mol per uur wordt gebruikt en de eenheid 1 / h vertelt dat er één stof X per uur bijkomt of weggaat. Bijvoorbeeld één DR (MPL-receptor complex) wordt per uur aangemaakt.

Variabele D moet omgerekend worden van ng/ml naar nmol/L. Door de volgende formule toe te passen met begin waarde 20 ng/ ml.

$$20 \text{ ng/ml} * 1000 \text{ ml/L} * 1 \text{ mol / molgewicht g} = 53.4 \text{ nmol/L}$$

3 Results

Introduction of results, how does it answer your research questions.

```
#plot(out)  
#code to generate figures with title, subscripts, legenda etc
```

- Describe what can be seen in such way that it leads to an answer to your research questions
- Give your figures a number and a descriptive title.
- Provide correct axis labels (unit and quantity), legend and caption.
- Always refer to and discuss your figures and tables in the text - they never stand alone.

4 Discussion and Conclusion

4.1 Discussion

Uit de resultaten is te zien, dat naarmate DR toeneemt en dus MPL-complexen gevormd worden, zal de concentratie mRNA dat codeert voor receptoren afnemen en dus ook het aantal vrije receptoren. Naarmate van stijging tot ongeveer $x \sim 40$ fmol per eiwit MPL-complexen in de celkern (geactiveerde MPL), zal de hoeveelheid functionerend medicijnen vervolgens afnemen totdat het constant blijft bij $x \sim 20$ fmol per eiwit geactiveerde MPL-complexen. Er wordt dus een middenweg gevonden waar het systeem stabiel in blijft, dit geldt in ieder grafiek bij $t \sim 24-30$.

Bij de helft van D dat reageert met R, bereikt er een evenwicht. Op basis van deze waarneming kan er worden geconcludeerd dat de hypothese: “De verwachting zal zijn dat het aantal glucocorticosteroiden niet te hoog zal zijn, want dit zal direct resulteren in veel bijwerkingen. Het aantal zal dus eerder rond het midden liggen, d.w.z een middenweg tussen geen effect en veel bijwerkingen.”, inderdaad klopt. Want d.w.z van een middenweg zal het systeem niet ontregeld raken.

De uiteindelijke gevonden resultaten waren erg logisch, maar wel verrassend. Het feit dat de grafieken aantonen dat de formules van glucocorticoiden dynamica zo erg afhankelijk zijn van elkaar, was van te voren niet verwacht. Omdat in dit onderzoek geen grafiek of tabel wordt getoond van de exacte verloop van radicaal verschillende D hoeveelheden als startwaarde, zou dit de resultaten en conclusie kunnen beïnvloeden. Er wordt nu één scenario getest dat overeenkomt met de hypothese, maar meerdere scenario's kunnen dit perspectief en de aanname van uitkomsten verbreden en nuanceren.

Verder wordt er met dit onderzoek niet aangetoond hoe een te hoge D reacties beïnvloedt die leiden tot bijwerken in de patiënt. Dit sluit sterk aan op dit onderzoek en zou daarom een goed vervolg onderzoek kunnen worden.

4.2 General conclusion and perspective

In dit onderzoek was het de bedoeling om uit te vinden of er bij een balans in D dat reageert met R er een evenwicht ontspint en dus geen bijwerkingen ontstaan als gevolg van ontregelde processen. Er wordt geconcludeerd dat bij een middenweg van hoeveelheid glucocorticoiden inderdaad direct andere processen worden gestabiliseerd. Echter wordt niet duidelijk op welk punt, bij welke te hoge D(n) in de patiënt er bijwerkingen kunnen ontstaan. Omdat dit sterk aansluit aan de hypothese, zou het daarom een goed vervolg onderzoek zijn.

References

- [1] Soetaert, K., Petzoldt, T., and Woodrow Setzer, R.: *Solving differential equations in R: package deSolve*, J. Stat. Softw., 33, 1-25, 2010.
- [2] Bergmann MW, Staples KJ, Smith SJ, Barnes PJ, Newton R (2004)., Am J Respir Cell Mol Biol 30: 555–563.: *Glucocorticoids effects in degradation of mRNA*
- [3] Daróczi G, Tsegelskyi R (2022).: *pander: An R 'Pandoc' Writer*. R package version 0.6.5, <<https://CRAN.R-project.org/package=pander>>.