



Aplikácia celulárnych automatov v biológii

Simulácia priebehu HIV infekcie

Lukáš Slouka xslouk02@stud.fit.vutbr.cz

Miroslav Cibulka xcibul10@stud.fit.vutbr.cz

1. Úvod

V októbri 2001 bol publikovaný článok „*Dynamics of HIV Infection: A Cellular Automata Approach*“^[1], ktorý sa zaoberal priebehom HIV^[2] infekcie. Rita Maria Zorzenon a Sérgio Coutinho navrhli celulárny automat (sl. 316), ktorý simuloval správanie HIV infikovaných buniek. Model bral do úvahy reakcie imunitného systému na patogény, vysokú úroveň rýchlosti mutácie HIV vírusu a priestorové rozloženie buniek. Automat reprodukoval výsledky, ktoré boli viditeľné aj v praxi.

Cieľom tejto práce nie je len zreprodukovať a overiť výsledky pôvodnej publikácie, ale taktiež navrhnúť novú sadu experimentov. Počas takmer 15 rokov od publikácie pôvodného článku sa technológia značne vyvinula, čo nám umožňuje previesť experimenty v oveľa väčšej mierke.

2. Rozbor témy a použitých metód/technológií

HIV (human immunodeficiency virus), ktorý spôsobuje AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) je predmetom biologických výskumov už desiatky rokov. Napriek obrovskej snahe a značným pokrokom v tejto oblasti ešte stále nie je úplne pochopený mechanizmus, ktorým HIV spôsobuje AIDS.

HIV vírus preukazuje správanie podobné všetkým vírusom. V prvej fáze sa vírus rapídne šíri z dôvodu nevyvinutej reakcie imunitného systému. Táto fáza trvá 2-6 týždňov. Po primárnej infekcii nasleduje prudký pokles spôsobený reakciou imunitného systému. HIV však na rozdiel od iných vírusov nie je nikdy úplne eliminovaný a nízka koncentrácia je prítomná v systéme po dlhšiu dobu (až 10 rokov). Počas tejto doby vírus degraduje imunitný systém, čo nakoniec zredukuje hladinu T lymfocytov pod úroveň 30% a spôsobí AIDS.

2.1 Metodológia

Modelom (sl. 7) reálneho systému bude zjednodušený systém buniek, ich stavov a interakcií. Tejto koncepcii najlepšie odpovedá celulárny automat, ktorý podporuje simuláciu na základe stavov a interakcií priamo previazaných prvkov systému (buniek). Implementačným jazykom bude jazyk C++, ktorý poskytuje vysokú kontrolu optimalizácie kódu, čo môže v prípade simulácií rozšíriť spektrum potenciálnych experimentov, prípadne presnosť ich výsledkov.

2.2 Zdroje

- <https://en.wikipedia.org/wiki/HIV>
- Jiřina Barůňková, Václav Hořejší : Základy Imunologie, ISBN 978-80-7387-280-9, strany 260,261
- Bjarne Stroustrup: A Tour of C++, ISBN 978-03-2195-831-0

3. Konceptcia – modelárske témy

Implementovaný celulárny automat bude zhodný s celulárnym automatom v článku.

Automat používa 8-okolie (*moorovo okolie*). Konfigurácia je definovaná 4 hodnotami:

- P_{HIV} : Podiel HIV nakazených buniek po iniciácii systému (prvotná nákaza)
- $P_{REPLACE}$: Pravdepodobnosť odstránenia mŕtvej bunky zo systému a jej nahradenia zdravou bunkou
- P_{INFECT} : Pravdepodobnosť infekcie novovzniknutej bunky vírusom HIV
- T : Doba (počet diskretných časových okamihov) kým prejde bunka do finálneho štádia infekcie

Každá bunka sa bude v každom diskretnom časovom okamihu nachádzať v jednom zo 4 stavov:

- Stav **A**: Zdravá bunka
- Stav **B**: Bunka infikovaná HIV vírusom, schopná šírenia infekcie
- Stav **C**: Bunka v poslednom štádiu infekcie HIV pred elimináciou imunitným systémom
- Stav **D**: Mŕtva bunka

Pravidlá zmien stavov buniek sú potom definované nasledovne:

- 1 Bunka v stave **A** prechádza do stavu **B** ak sa v jej okolí nachádza aspoň jedna bunka typu **B** (napodobenie šírenia HIV infekcie kontaktom predtým, než si imunitný systém vybuduje špecifickú reakciu)
- 2 Bunka v stave **A** prechádza do stavu **B** ak sa v jej okolí nachádzajú aspoň 2 bunky typu **C** (reprezentuje fakt, že aj bunky vo finálnom štádiu infekcie môžu kontaminovať zdravé bunky, pokiaľ je prekročená určitá hranica ich koncentrácie)
- 3 Bunka v stave **B** prechádza po T časových okamihoch do stavu **C** (reprezentuje fakt, že imunitný systém po určitej dobe vyvinie imunitnú reakciu, ktorá znižuje schopnosť nakazených buniek šíriť infekciu)
- 4 Bunka v stave **C** prechádza do stavu **D** (pravidlo modeluje reakciu imunitného systému, ktorý eventuálne infikovanú bunku zničí, pričom predpokladáme, že každá nakazená bunka nesie unikátnu mutáciu vírusu)
- 5 Bunka v stave **D** je s pravdepodobnosťou $P_{REPLACE}$ nahradená novou bunkou. Tá je s pravdepodobnosťou P_{INFECT} v stave **B**, inak je v stave **A** (naznačenie schopnosti imunitného systému zotaviť sa z imunosupresie spôsobenej nákazou a zároveň simuluje vznik novonakazených buniek z inej časti imunitného systému alebo aktiváciou latentných buniek)

3.1 Stavový diagram bunky

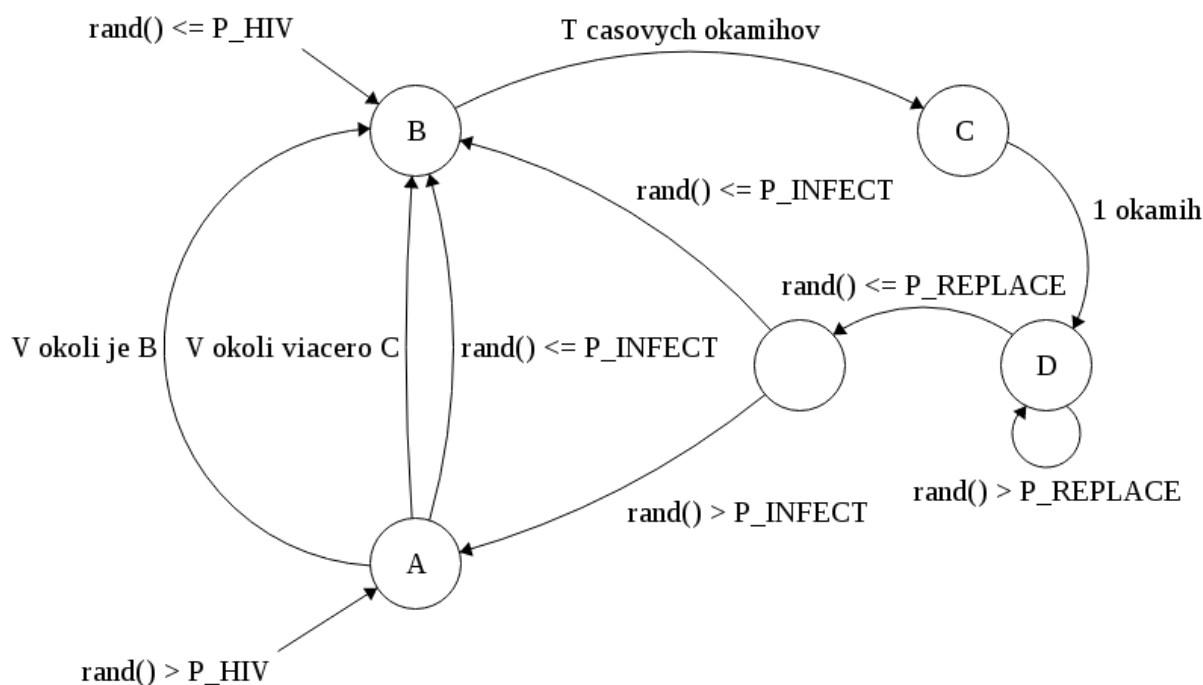


Figure01

Stavový diagram (Figure01) znázorňuje stavy buniek a jednotlivé prechody medzi nimi tak ako je to popísané v predchádzajúcej kapitole. V grafe si môžeme všimnúť iniciáciu do stavov A alebo B podľa náhodne vygenerovaného čísla v rozmedzí (0,1) a jeho porovnaní s úrovňou nákazy po štarte systému. Graf obsahuje niekoľko podobných prechodov. Stav v centre grafu je len prechodný stav, ktorý nereprezentuje žiadny z reálnych stavov buniek a v žiadnom diskretnom časovom okamihu sa v ňom žiadna z buniek nebude nachádzať.

4. Konceptia – implementačné témy

Architektúra programu úzko súvisí s definíciou celulárnych automatov. Základnou štruktúrou programu je bunka (*cell*). Každá bunka je schopná uchovávať stav, na základe ktorého ovplyvňuje okolité bunky podľa predom definovaných pravidiel. Bunky sú usporiadané do mapy vo vnútri štruktúry celulárneho automatu a pri inicializácii nadobúdajú závislosti na základe typu okolia (*von neumannovo*, *moorovo*...). Bunky sú so samotným automatom vo vzťahu podľa návrhového vzoru *observer*. Celulárny automat periodicky v diskretných časových okamihoch vyvoláva vo všetkých bunkách kvázi paralelnú reakciu. Tá

pozostáva z 2 častí: uloženie stavov všetkých buniek spadajúcich do jej okolia a zmena vlastného stavu na základe takto uloženej informácie. Toto chovanie zaručuje korektné vykonávanie činnosti celulórneho automatu tak, ako to vyplýva z jeho definície.

Automat je navyše schopný serializovať stav všetkých buniek a reprezentovať ho vo vizuálnej podobe. Výsledkom činnosti programu je súbor obrázkov reprezentujúcich stavy automatu a štatistické údaje.

5. Architektúra simulačného modelu/simulátoru

Program poskytuje súbor základných rozhraní pre potrebné triedy každého celulórneho automatu. Každé z rozhraní sa nachádza v osobitnom hlavičkovom súbore. Programátor môže tieto templatové rozhrania využiť na vytvorenie ľubovoľného 2D celulórneho automatu. Parametrizácia procesu simulácie je vykonávaná pomocou *definov* počas prekladu, nie pomocou argumentov spustiteľného súboru.

5.1 Stavy buniek (*state.hh*)

Stav bunky je reprezentovaný jednou hodnotou ľubovoľného typu. Každý stav môže obsahovať ľubovoľnú množinu parametrov ľubovoľných hodnôt. Nakoľko každý stav bunky môže prejavovať odlišné chovanie, programátor musí implementovať správanie stavu v každej fáze reakcie na podnet automatu explicitne.

Operátor << poskytuje priestor pre implementáciu chovania pri interakcii s každým okolitým stavom bunky osobitne na základe jeho hodnoty. To môže obsahovať napríklad pridanie do poľa hodnôt okolitých stavov.

Metóda *renew()* je volaná v druhej fáze *notify* a teda predpokladá implementáciu zmeny stavu na základe pravidiel popísaných v kapitole 3.

Okrem týchto kľúčových metód interface obsahuje metódy *setValue* a *getValue*.

5.2 Bunky (*cell.hh*)

Bunky automatu dedia od triedy *Cell* pričom definujú maximálny počet okolitých buniek, dátový typ stavov buniek a dátový typ hodnôt stavov buniek. Constructor bunky môže obsahovať inicializáciu stavu bunky daného typu, v prípade neimplementovaného constructoru, bude stav bunky defaultný vzhľadom na typ bunky.

Programátor je povinný definovať metódu *getValue*, ktorá vracia hodnotu bunky (môže byť zhodná s hodnotou stavu, pričom bunka sama o sebe nenesie hodnotu).

Všetky ostatné metódy vyplývajúce z návrhového vzoru observer sú vstavané.

5.3 Celulárny automat (*cellular_automata.hh*)

Celulárny automat dedí od triedy *CellularAutomata2D* pričom definuje výšku, šírku, typ stavov buniek a typ buniek. V constructore automatu je potrebné nastaviť susednosti buniek

podľa vlastného uváženia. Bunky sa nachádzajú v poli *map* zdedenom z rodičovskej triedy. Susednosti sa nastavujú pomocou funkcie buniek *setNeighbour(neighbour index, cell)*.

6. Podstata simulačných experimentov a ich priebeh

Podstatou simulačných experimentov, je overiť a zreprodukovat' výsledky pôvodnej publikácie, navrhnúť vlastné experimenty pre rôzne prípady chovania HIV vírusu, vyhodnotiť tieto výsledky a vyvodiť závery. Cieľom je lepšie pochopiť chovanie vírusu a vizualizovať výsledky.

6.1 Návrh experimentov

Prvým experimentom bude experiment vykonaný v publikácii. Simulovaný bude priebeh priemernej nákazy vírusom HIV. Výsledok tejto simulácie potvrdí alebo vyvráti tvrdenia pôvodnej simulácie a zároveň určí referenčné hodnoty, podľa ktorých sa budú hodnotiť výsledky ďalších simulácií.

V ďalších experimentoch, bude simulovaný priebeh nákazy veľmi agresívnou a naopak veľmi pasívnou mutáciou vírusu HIV. Porovnanie týchto hodnôt by malo odhaliť závislosť trvania infekcie kým dospeje do fatálneho štádia od agresivity vírusu.

Výsledky experimentov by mali odrážať reálny prebeh:

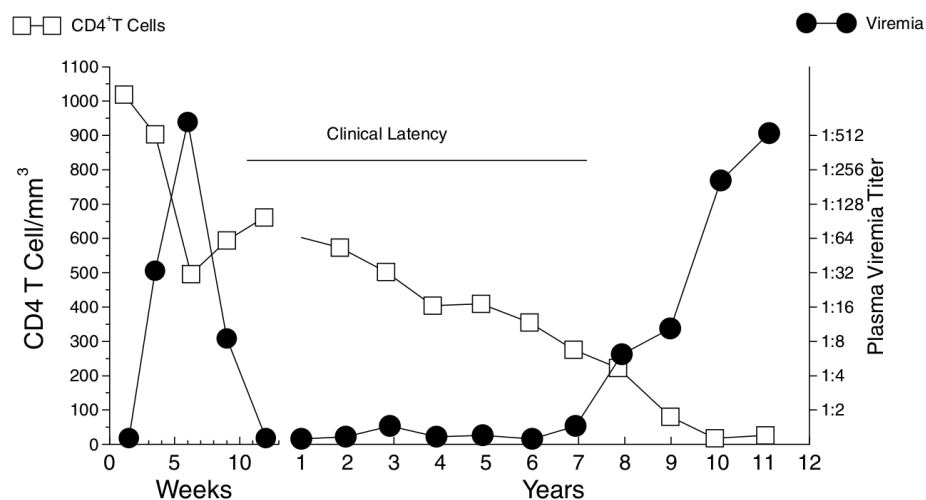


Figure02 – čierne kruhy = infikované bunky, biele štvorce = T lymfocyty

Referenčným riešením je výsledný graf publikácie:

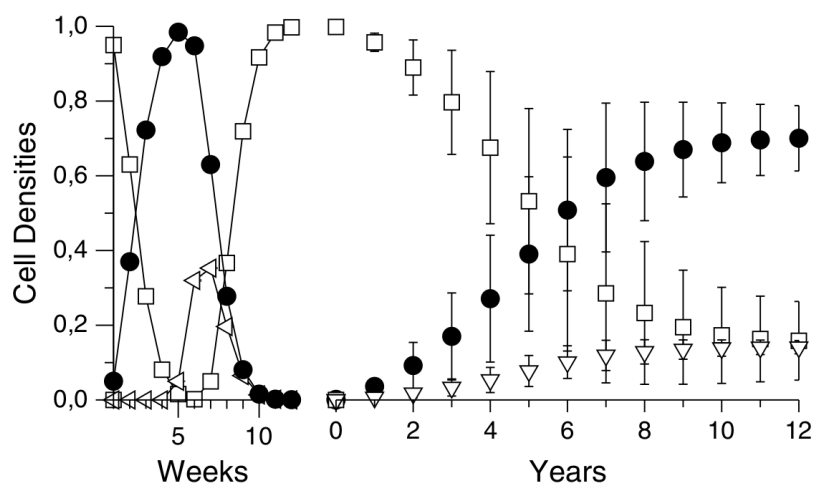


Figure03 - čierne bodky = infikované bunky
 štvorce = zdravé bunky
 trojuholníky = mŕtve bunky

6.2 Dokumentácia experimentov

Experiment 1 - priemerná infekcia

Vstupy: $P_{HIV} = 0.05$, $P_{INFECT} = 0.00001$, $P_{REPLACE} = 0.99$, $T = 4$ týždne, veľkosť mapy = 512x512 buniek, trvanie simulácie = 500 týždňov

Výstupy: Na grafoch (Figure04) môžeme vidieť prvotný priebeh vírusu HIV tak ako je to aj v realite a síce prudký nárast infikovaných buniek v priebehu prvých 4-5 týždňov a následnú imunitnú reakciu, ktorá takmer úplne vyčistí systém. Následne sa však v priebehu ďalších 250 týždňov (~5 rokov) úplne infikuje celý systém. Tento priebeh zodpovedá očakávaným výsledkom

Experiment 3 - pasívna infekcia

Vstupy: $P_{HIV} = 0.05$, $P_{INFECT} = 0.000005$, $P_{REPLACE} = 0.99$, $T = 2$ týždne, veľkosť mapy = 512x512 buniek, trvanie simulácie = 500 týždňov

Výstupy: Grafy (Figure05) zobrazuje priebeh menej agresívnej mutácie vírusu

Experiment 4 - agresívna infekcia

Vstupy: $P_{HIV} = 0.05$, $P_{INFECT} = 0.00003$, $P_{REPLACE} = 0.99$, $T = 6$ týždňov, veľkosť mapy = 512x512 buniek, trvanie simulácie = 500 týždňov

Výstupy: Grafy (Figure05) zobrazuje priebeh agresívnejšej mutácie vírusu

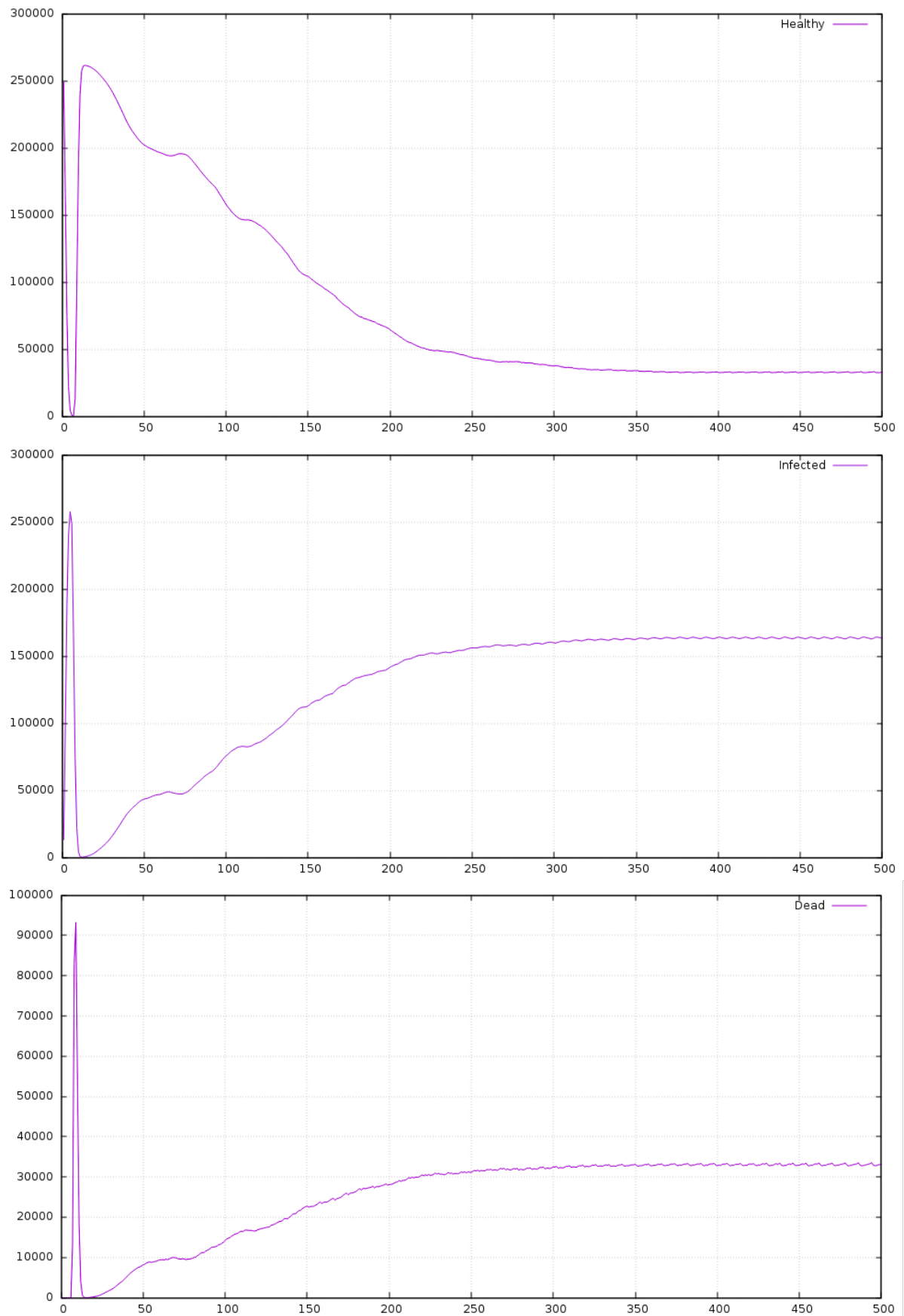


Figure04 - Horizontálne osy= čas v týždňoch, Vertikálne osy = počet buniek

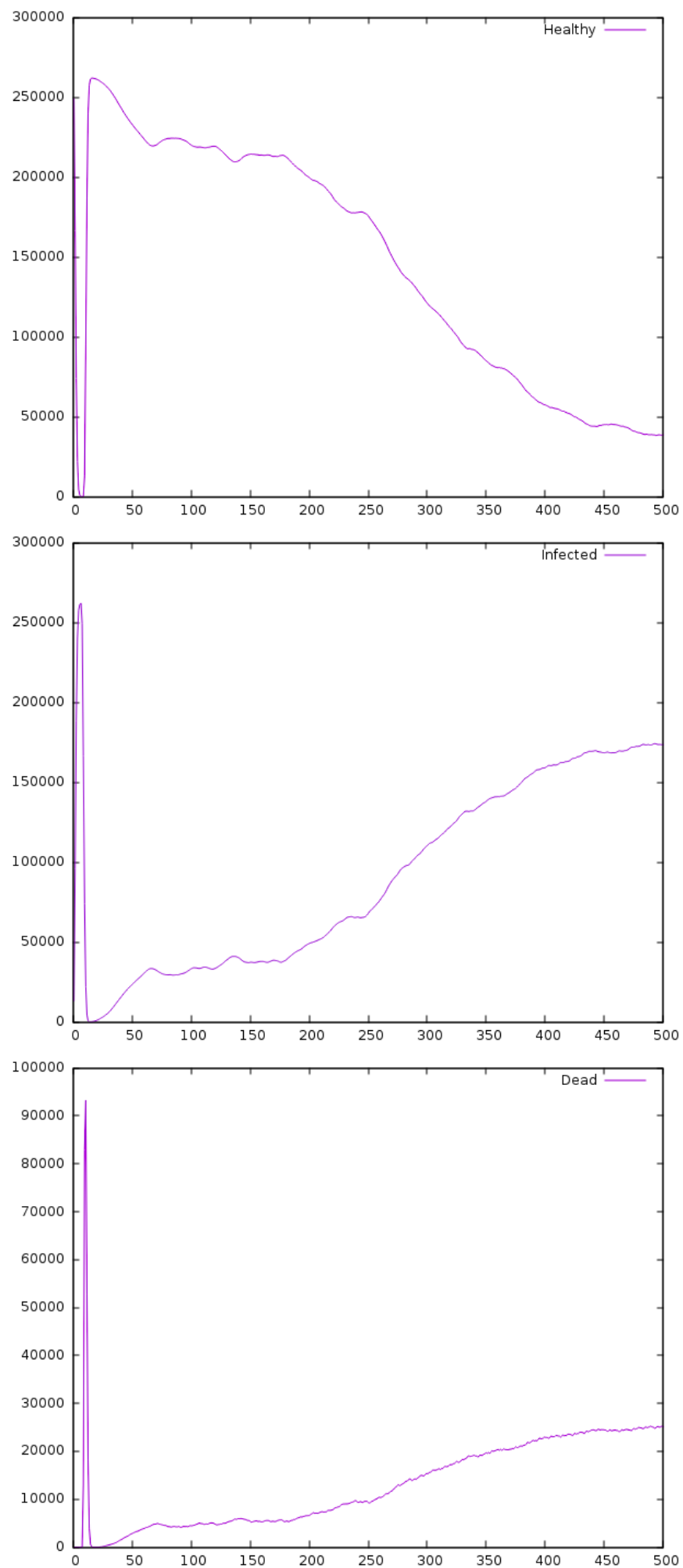


Figure05- osy rovnako ako Figure04

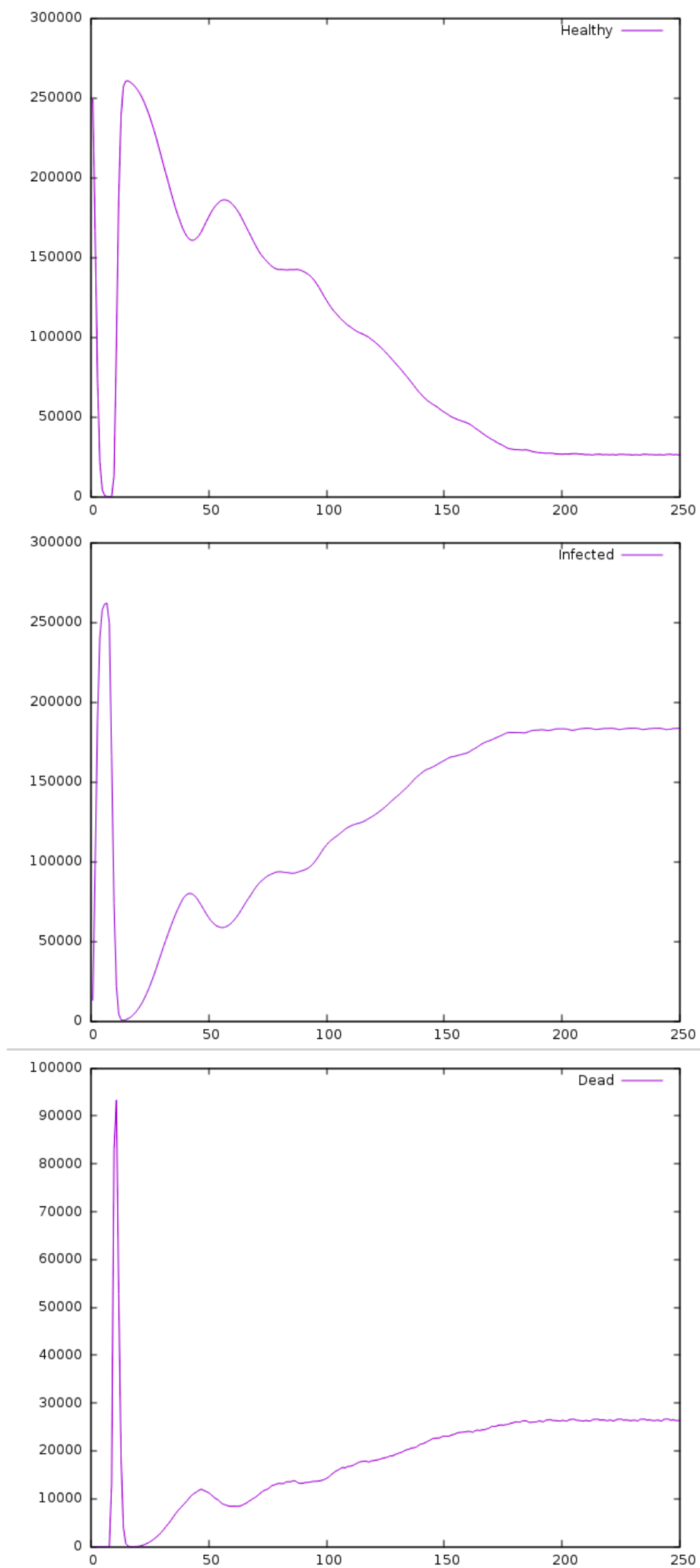


Figure06- osy rovnako ako Figure04

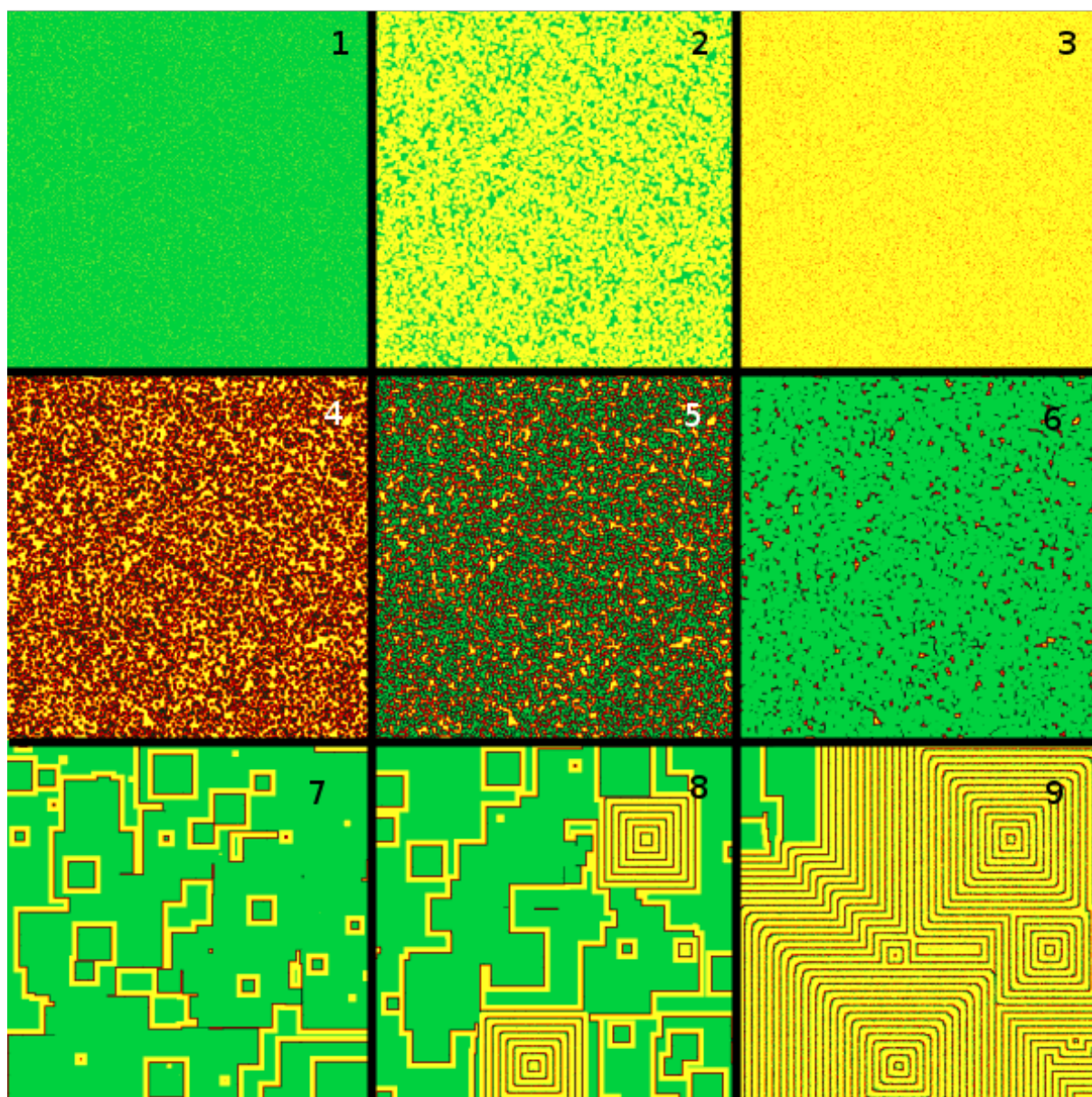


Figure07 - Visual representation of simulation

zelená = bunka A, žltá = bunka B, červená = bunka C, čierna= bunka D (vid' kapitola 3)

6.3 Závery experimentov

Boli vykonané 3 experimenty, ktoré simulovali priebeh nákazy 3 mutáciami vírusu HIV s rôznou úrovňou agresivity a efektivity vírusu. Samotné experimenty neodhalili nepredvídané chovanie implementovaného simulátoru a nebolo nutné simulátor modifikovať. Z experimentov je možné usúdiť správne správanie simulátoru.

Na obrázku Figure07 častiach 1-6 je možné vidieť priebeh prvotného zanorenia systému než nastane imunitná reakcia. Časť 1 ukazuje prvotný stav systému kde 5% buniek je infikovaných typu B. Infikácia sa rapídne šíri kým infikované bunky nezačnú zomierať (časť 4). Tieto bunky sú následne imunitným systémom nahradené za nové zdravé bunky (časť 5-6).

Následne sa však začne prejavovať vlastnosť HIV vírusu a v systéme sa začnú objavovať zárodky novej infekcie. Tie postupne preberú kontrolu nad celým systémom (časti 7-9)

7. Zhrnutie simulačných experimentov a záver

Experimenty potvrdili predpokladané chovanie. Agresívnejší vírus rýchlejšie infikoval celý systém, ako ukazujú grafy vo *Figure06*, už po približne **175** týždňoch (3,5 roka). Čo je však zaujímavé, hoci mal agresívnejší vírus **3** krát vyššiu pravdepodobnosť opätovnej infekcie a **1,5** krát dlhšiu dobu aktivity buniek typu B, zanorenie systému trvalo bolo len **~1.428** krát rýchlejšie.

Naopak pasívnejšia forma vírusu, ktorá mala **2** krát nižšiu pravdepodobnosť opätovnej infekcie a **2** krát kratšiu dobu aktivity buniek typu B, infikovala celý systém až za približne **475** týždňov (vyše 10 rokov), čo predstavuje takmer **2** krát pomalšie zanorenie oproti bežnému vírusu.

Toto chovanie naznačuje, že agresivita a efektivita vírusu HIV nie je priamo úmerná dobe absolútneho zlyhania systému a prejavu syndrómu AIDS a zároveň potvrdzuje výsledky z praxe, kedy pacienti postihnutí vírusom HIV nadobudli syndróm AIDS v rozmedzí 3 až 10 rokov.

V rámci projektu vznikol simulačný nástroj na základe publikácie „*Dynamics of HIV Infection: A Cellular Automata Approach*“, ktorý verne napodobuje chovanie HIV vírusu.

Referencie

- [1] http://www.macs.hw.ac.uk/~dwcorne/RSR/dos_santos_ca_hiv.pdf
- [2] <https://en.wikipedia.org/wiki/HIV>