

Modelování dynamiky astmatické reakce a léčiva pomocí upraveného ET modelu

Miloš Halda^{1,*}

¹*Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Bioinformatika, Praha, Česká republika*

^{*}*milos.halda@gmail.com*

Abstrakt

Společnost Genentech publikovala v nedávné době výzkum, který podporuje zavedení nového typu léčiva proti astmatu. Tento výzkum byl založen na pozorování, že hladina tryptázy, serin proteázy, pozitivně koreluje s mírou příznaků astmatu u pacientů s velmi silnými (severe) příznaky astmatu.¹ Po podání nově vytvořené protilátky se testovacím subjektům výrazně zlepšily příznaky.

ET model² je jednoduchý matematický model, který byl vyvinut pro sledování dynamiky imunitního systému a patogenu. V případě alergické reakce se ale negativním agentem stává sám imunitní systém. Skrze analýzu a mírnou úpravu ET modelu byl vytvořen nový model ET-A, který zachycuje dynamiku astmatické reakce a zahrnuje její potlačení léčivem. Ukázalo se také, že model ET-A dokáže věrně replikovat data získaná ve zmíněném výzkumu anti-tryptázy.

1 Úvod

Astma je rozšířené chronické onemocnění dýchacích cest. Projevuje se epizodickými stavy, kdy se dýchací cesty jedince po kontaktu s rizikovým faktorem stávají hyperreaktivními, stahují se a mají omezenou průchodnost. Pro 5%-10% pacientů s astmatem, kteří mají velmi silné příznaky a nezabírají na ně běžné dostupné léky na astma, byl společností Genentech vynalezen nový přístup k léčbě, který spočívá v inaktivaci proteinu β -tryptázy speciálně vyvinutou protilátkou, anti-tryptázou. Ta účinně deaktivuje tryptázu, aktivní ve formě tetramerů tak, že se na tryptázu naváže a znevýhodní konformaci tetramerické tryptázy, takže se rozpadne na monomery. Ukazuje se, že pro danou třídu silných astmatiků je deaktivace tryptázy klíčová k potlačení příznaků astmatu. Tryptáza je serin proteáza, která štěpí ostatní proteiny a ve své aktivní formě může vést i k dalšímu rozvoji imunitního systému skrze aktivaci žírných buněk. To vše vede k dalšímu dráždění tkáně průdušek a zhoršování příznaků astmatu.

Matematické modelování biologických systémů umožňuje zjednodušit problémy řešené v biologii. V případě, že je model vhodně nastaven, může sloužit k bližšímu zkoumání biologického systému, či k predikci jeho chování bez nutnosti provádět náročné experimenty. Model ET² je základní model pro modelování imunitní odpovědi na patogen, což z něj dělá potenciálního kandidáta pro modelování přehnané, astmatické reakce organismu na patogen. Model ET byl v této práci rozšířen na tzv. ET-A model, který v sobě zahrnuje i interakci imunosupresiva (A) a imunitního systému (E). Ukázalo se, že tento model je schopen

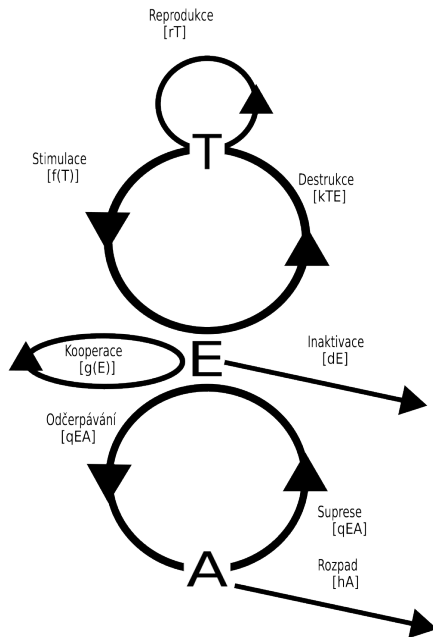
z velké části replikovat data naměřená během experimentů s hladinou tryptázy, reagující na patogen a dynamiku tryptázy v reakci na anti-tryptázu, podávanou pacientům.

2 Matematický model

Na základě již existujícího ET modelu² byl vytvořen upravený model ET-A (viz obrázek 1), který je schopen zachytit nejen dynamiku imunitního systému a patogenu, ale i léčiva, které omezuje hyperreaktivní reakci imunity při astmatické reakci. Pro úspěšné fungování modelu bylo nejprve potřeba přizpůsobit model ET konfiguraci experimentu z výzkumu anti-tryptázy¹ a následně přidat vhodně novou proměnnou reprezentující anti-tryptázu a její interakci s imunitním systémem na základě úpravy původních rovnic a přidání nové rovnice a parametrů. Díky tomu se podařilo replikovat výsledky výzkumu Genentechu a odvodit, jak by mohl vypadat vývoj imunitní reakce při jiných parametrech efektivity anti-tryptázy jako antagonistovi imunitního systému.

3 Výsledky

Provedené experimenty ukázaly, že je možné nastavit parametry modelu ET-A tak, aby jeho chování odpovídalo chování imunitního systému s daty naměřenými in vivo. V sekci Experimenty (3.1) jsou analyzovány jednotlivé případy, na kterých byl model ET-A testován. V rámci určování parametrů modelu ET-A a jeho testování bylo provedeno několik experimentů s modelem. Experimenty jsou vždy poj-



Obrázek 1: Obdoba schématu FIG. 1. v Mayer a kol. (1995)². Jsou zde vidět významy všech členů a proměnných v modelu ET-A.

menovány jako "[zahrnuté proměnné (E,T,A)][číslo experimentu]_test". Byly provedeny 4 experimenty pouze s proměnnou E , 1 experiment pouze s proměnnou A , 3 experimenty s proměnnými E a T a 3 experimenty se všemi proměnnými naráz. Během experimentů bylo testováno a v reakci na ně testováno, že chování modelu odpovídá chování systému *in vivo*, viz tabulka 1.

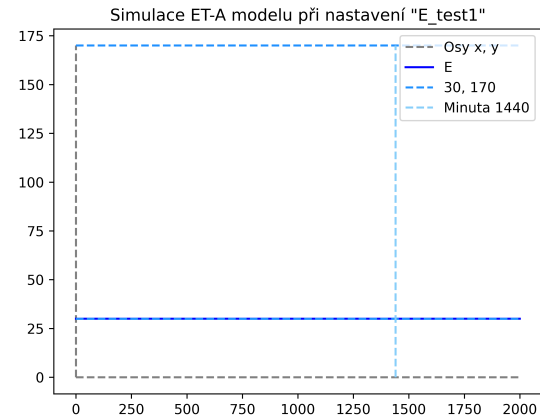
3.1 Experimenty

Experimenty s proměnnou E ukázaly, že při nastavení proměnných d a s ve správném poměru, viz sekci 5.4.3, se proměnná E drží na hodnotě 30 (obrázek 2) a vrací se k ní z potlačeného (obrázek 3), či excitovaného stavu (obrázek 4). Ukázalo se, že pro rychlejší návrat do klidového stavu je možné oba parametry d a s vynásobit $5\times$ (obrázek 5), aby doba návratu proměnné E odpovídala *in vivo* pozorováním.

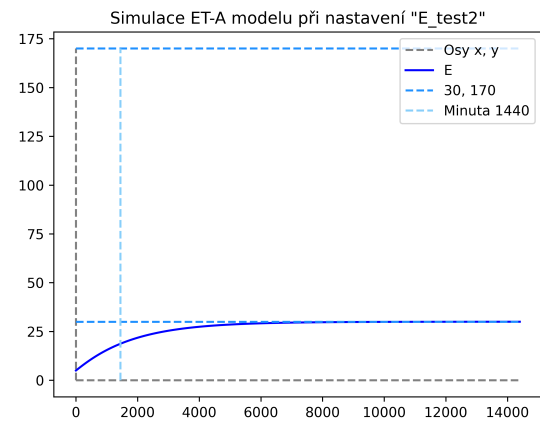
Experiment s proměnnou A (obrázek 6) ukázal, že díky správnému nastavení parametru h je možné nastavit poločas rozpadu jako 15 dní.

Experimenty s proměnnými E a T ukázaly, že díky vhodnému nastavení proměnných k a p je možné nastavit dynamiku reakce E na T tak, aby odpovídala i reakci imunitního systému astmatika s nepotlačenou i potlačenou hladinou tryptázy (obrázek 7 a 8) a reakci imunitního systému zdravého člověka (obrázek 9).

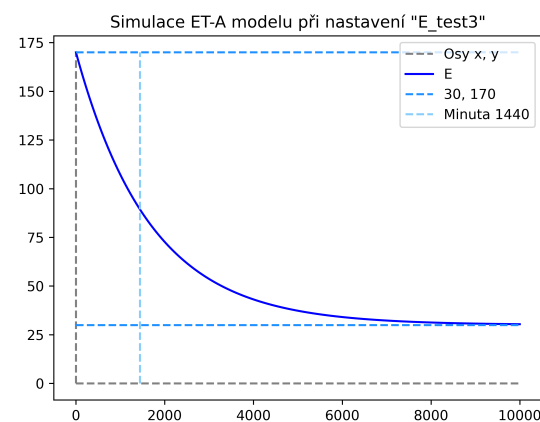
Závěrem byly provedeny experimenty se všemi proměnnými modelu ET-A. U prvního se ukázalo, že při vhodném nastavení proměnné q a počáteční dávce anti-tryptázy A systém docílí omezení imunitního systému astmatika, aby jeho reakce odpovídala zdravé osobě (obrázek 10). V druhém experimentu (obrázek 11) se ukázalo, že pokud zároveň probíhá reakce na patogen, je pro ET-A model velmi těžké



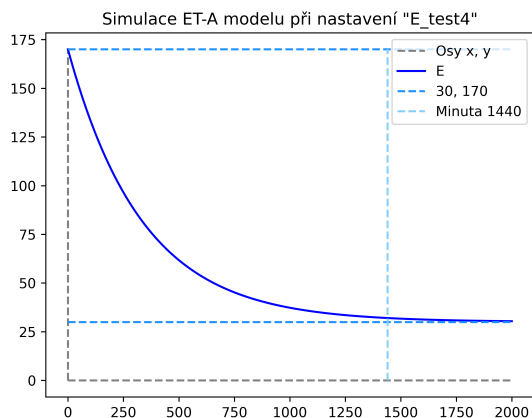
Obrázek 2: E se neodchyluje od hodnoty 30 po celou dobu simulace.



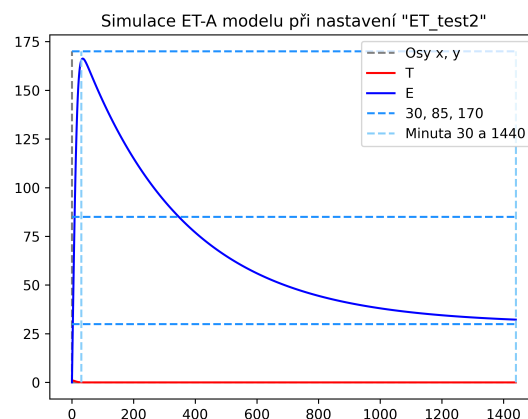
Obrázek 3: E se vrací z hodnoty 5 na hodnotu 30. Změna probíhá přibližně 7000 jednotek simulace, což odpovídá přibližně 5 dnům reálného času.



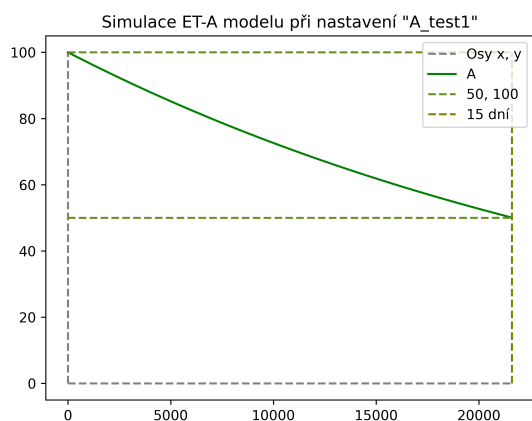
Obrázek 4: E začíná v excitovaném stavu imunity na hodnotě 170. Za přibližně 7000 jednotek simulace se vrací do zklidněné hodnoty. V reálných datech (viz tabulku 1) se ale má vracet již po jednom dni, což odpovídá 1440 jednotkám simulace.



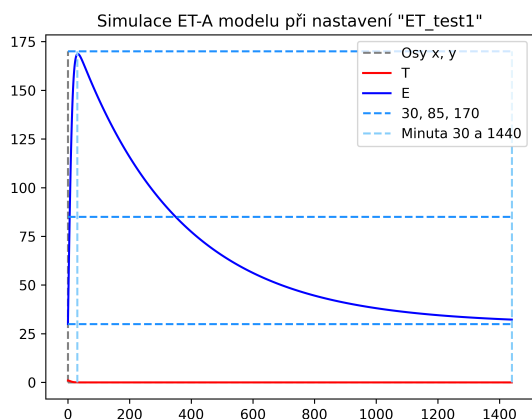
Obrázek 5: V tomto experimentu se již E vracelo rychleji, po 1440 jednotkách simulace byla hodnota E ze 170 na hodnotě 32. Toho bylo docíleno 5 násobným navýšením parametrů d a s .



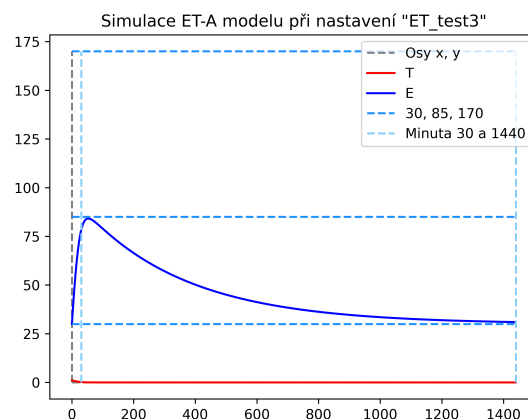
Obrázek 8: V tomto experimentu se dostává organismus do kontaktu s patogenem ve zklidněném stavu, kdy $E = 0$. Patogenem je nabuzen a tak stoupá i přesto až k hodnotě 170.



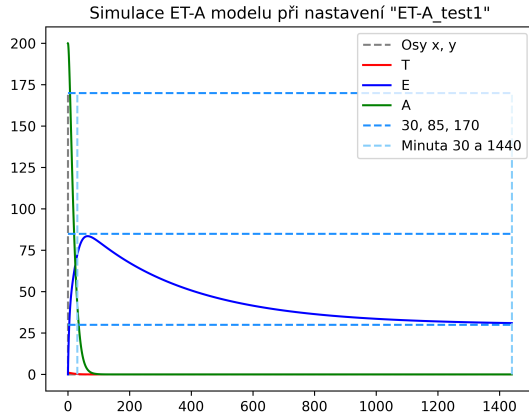
Obrázek 6: Tento experiment otestoval, že po patnácti dnech, což odpovídá 21,600 cyklům simulace, se hodnota A (anti-tryptázy) sníží na polovinu.



Obrázek 7: V tomto experimentu se ukazuje reakce astmatika na patogen - E stoupá na hodnotu 170 během 30 jednotek simulace, což odpovídá půl hodině reálného času. T bohužel není dobře rozpoznatelné - začíná na hodnotě pouhých 1 a po 30 jednotkách simulace klesá na hodnotu blízkou nule, ze které se již nezvysí.

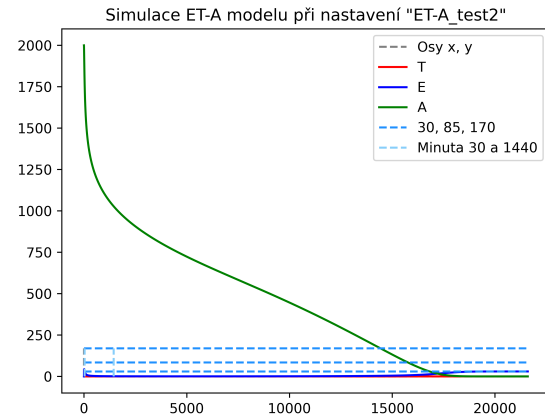


Obrázek 9: E se zvýší na pouhých 85 i přes kontakt s patogenem. Tento experiment ukazuje reakci zdravého jedince na patogen. Nižší reakce byla vytvořena nižší hodnotou parametru p - ta byla snížena přibližně 4× oproti experimentu s astmatikem.



Obrázek 10: V tomto experimentu bylo za cíl dosílit zklidnění bouřlivé reakce astmatika, respektive jeho hladiny tryptázy (E) na patogen díky přidané anti-tryptáze ($A = 200$ na počátku simulace). Maximální hodnota E nepřesahuje 85, což odpovídá normální zdravé reakci imunitního systému na patogen.

simulovat zároveň reakci potlačení patogenu a zároveň následné potlačení hladiny tryptázy. Třetí experiment ukazuje případ, kdy je imunitní systém pacienta dlouhodobě potlačen (obrázek 12).

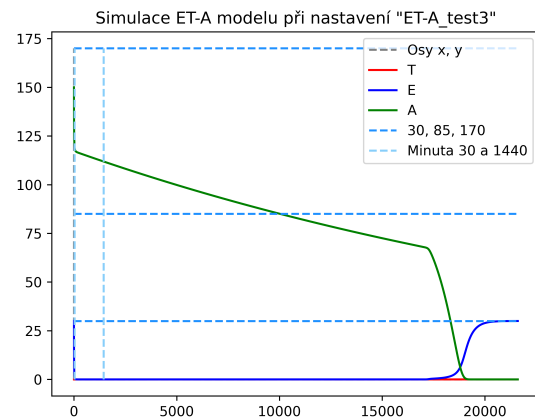


Obrázek 11: Zde se ukazuje, že přílišná dávka anti-tryptázy zabraňuje rychlému potlačení patogenu. To je dané tím, že v modelu ET-A není možné využít jiné mechanismy imunitní reakce, než tryptázu (E). Proto je tryptáza relativně rychle odčerpávána - na jednu deaktivovanou tryptázu je totiž potřeba jedna anti-tryptáza - a nakonec vybuzený E dosáhne hodnoty alespoň 30. Astmatická reakce tedy je zažehnána, ale za cenu velmi zvýšené spotřeby anti-tryptázy.

4 Diskuze

Model ET-A, tedy model ET² s rozšířenou kapacitou, byl schopen zachytit nejdůležitější hlediska dynamiky hladin tryptázy a anti-tryptázy společně s patogenem *A. suum* pozorovaná v reálném systému¹. Byl schopen namodelovat reakci hladiny tryptázy na patogen v případě zdravého a astmatického jedince, namodelovat polčas rozpadu anti-tryptázy a ukázat supresivní účinek anti-tryptázy, který vedl ke zdravě vypadající dynamice tryptázy. Model ET-A také ukázal úplné potlačení tryptázy v jednom z experimentů, po kterém se ale tryptáza dokázala opět obnovit do původního stavu.

Největší problém, se kterým se systém ET-A během experimentů potýkal, bylo potlačení hladiny tryptázy anti-tryptázou při souběžné infekci *A. suum* (11). V tomto nastavení experimentu bylo prakticky nemožné nastavit konfiguraci modelu, aby byla zároveň zachována schopnost imunitního systému zastavit infekci (srazit koncentraci T na hodnotu blízkou nule) a zároveň byla hladina tryptázy E potlačena v celém průběhu simulace. Zde se ukázala příliš malá kapacita modelu ET-A. V modelu ET-A je simulována hladina tryptázy, jako reprezentanta celého imunitního systému, přestože v organismu fungují další mechanismy imunitní reakce, které jsou schopny infekci zastavit i za nepřítomnosti tryptázy.



Obrázek 12: V tomto experimentu šlo o to ukázat, jak bude imunitní reakce potlačena anti-tryptázou a následně udržována v potlačovaném stavu (hodnota E velmi blízká nule) a zda je možné nastavit parametry A tak, aby takto vydržela E potlačena alespoň dva týdny, jak by odpovídalo experimentálním datům. Graf potvrzuje, že toto je možné naplnit.

5 Metody

Pro vytvoření modelu, který co nejvěrněji replikuje výsledky experimentu, bylo nejprve potřeba analyzovat daný systém z pohledu ET modelu. Následně byl ET model upraven do nového ET-A (viz sekci 5.3.3 a obrázek 1) modelu tak, aby odpovídal lépe modelovanému systému. Také byly vypočítány a upraveny parametry modelu, aby odpovídaly dynamice systému. Po dosažení věrné replikace výsledků experimentu, byly některé parametry modelu upraveny tak, aby simulovaly situace odlišné od situace experimentu.

5.1 Popis modelovaného systému

Mastocyty (česky také žírné buňky) jsou základní složkou imunitního systému. Díky IgE protilátkám umístěným na svém povrchu umí identifikovat patogen. IgE se naváže na patogen a propojí se s dalšími IgE, což spustí degranulaci, uvolnění obsahu granulí mastocytu do okolí buňky. Granula mastocytu obsahují hydrolytické enzymy (především tryptázu), a další látky, jako heparin, histamin a cytokiny. To vede k rozvoji mnoha dalších reakcí imunitního systému, ale při průduškovém astmatu je nejvýraznější aktivita proteázy tryptázy.

Mastocyty produkují tryptázu a ukládají ji do svých sekrečních granulí.

Heparin je nezbytný pro aktivaci tryptázy a její stabilizaci do formy tetrameru.

Tryptáza ve své aktivní formě indukuje další degranulaci mastocytů. Degranulaci mastocytů se uvolní další tryptáza, což vytváří pozitivní zpětnovazebnou smyčku. Uvolněná tryptáza také indukuje stah hladkých svalových buněk (Smooth Muscle Cell - SMC) v průduškách a produkci kolagenu bronchiálními fibroblasty, což se vnějškově projevuje příznaky astmatu. Pokud není astmatická reakce nijak potlačena a odezní, hladina tryptázy se vrátí na svoji normální hodnotu po přibližně 24 hodinách.

Vyvinutá anti-tryptáza (anti-tryptase) se váže na tryptázu, ať už v jejím aktivním tetramerickém, či monomerním stavu a tím omezuje její proteázovou aktivitu. Astmatici ji do těla dostanou pomocí injekce. Při pokusu na opicích byla anti-tryptáza podána 24 hodin před kontaktem jedince s alergenem, který spouští astmatickou reakci. Poločas rozpadu anti-tryptázy u opic byl odhadnut na přibližně 15 dní.

Astmatická reakce opic byla indukována pomocí parazitické hlístice *Ascaris suum*. Opice byly nejprve vystaveny jejímu kontaktu. Po tzv. senzitaci, během které si vyvinula velmi silnou imunitní reakci na *A. suum*, byla opětovným kontaktem opic s hlísticemi vyvolána astmatická reakce.

5.2 Data experimentu

Výzkum Genentechu o anti-tryptáze¹ měl jako výsledek data, která mohou ukázat, jak funguje dynamika astmatu. Některá z těchto dat jsou důležitá pro správné nastavení parametrů modelu.

Jak vyplývá z výzkumu, tryptáza je důležitou komponentou astmatické reakce a u silných astmatiků byla její hladina těsně spjata s příznaky, které se testovacím projevovaly navenek. Běžná koncentrace tryptázy byla naměřena jako 30pg/mL, v případě silné astmatické reakce hladina tryptázy stoupala až na 170pg/mL. Za přibližně 24 hodin se hodnota tryptázy vrátila ze 170pg/mL zpět na 30pg/mL. Množství dodaného patogenu ke spuštění astmatické reakce bylo takové, aby hladina tryptázy stoupla ze 30pg/mL na 170pg/mL za 30 minut od jeho podání.

Jev	Hodnota
Běžná koncentrace tryptázy	30 pg/mL
Zvýšená hladina tryptázy	170 pg/mL
Doba zklidnění imunitního systému	24 hodin
Poločas rozpadu anti-tryptázy	15 dní
Podání tryptázy - doba potlačení tryptázy	14 dní

Tabulka 1: Tabulka dat modelovaných v tomto projektu a naměřených v reálném systému.

Poločas rozpadu molekuly anti-tryptázy byl přibližně 15 dní.

Pokud byla podána anti-tryptáza do těla opic, byla aktivita tryptázy nedetekovatelná po dobu dvou týdnů.

Hodnota, kterou autoři naopak nenaměřili, nicméně byla důležitá pro simulaci, je koncentrace alergenu po jeho aplikaci v dýchacích cestách. Víme, že jeho množství se pro různé jedince lišilo, aby bylo dosaženo podobné reakce imunitního systému. Proto byla jeho počáteční hodnota nastavena jako 1 při každé simulaci.

5.3 Simulační model

Protože se během analýzy ET modelu v kontextu modelovaného systému ukázalo (viz sekci 5.3.1), že model nemá dostatečnou kapacitu pro zachycení dynamiky systému (viz sekci 5.3.2), byl tento model upraven a byl vytvořen nový ET-A model (viz sekci 5.3.3), který již tuto kapacitu má.

5.3.1 Popis ET modelu

ET model je i přes svoji jednoduchou definici nástroj pro zkoumání velkého množství situací v dynamice reakce imunitního systému proti patogenu. Umožňuje pomocí několika parametrů určit, jak silně bude probíhat reakce imunitního systému, jak moc se patogen může množit a jak efektivní je imunitní systém při ničení patogenu.

Ukažme si, jak vypadá ET model standardně, definován v originálním článku².

ET model je popsán dvěma diferenciálními rovnicemi 3 a 4. Z nich je možné určit, jaké je množství patogenu T (jako Target) a imunitní reakce, či množství komponentů imunity E (jako Effector).

V rovnici 3 vidíme dva členy. Člen $r \times T$ označuje čistě množení patogenu - r je konstanta (grow rate), kterou se násobí množství patogenu. Za jednu časovou jednotku se tedy patogen namnoží na

r -násobné množství. Druhý člen rovnice, $k \times T \times E$, pak označuje, jak rychle je patogen ničen imunitním systémem. k označuje efektivitu imunitního systému při ničení patogenu. Čím větší je množství patogenu a větší je množství imunity, tím snazší je pro imunitní systém patogen ničit. To odpovídá např. i rovnici pro reakční rychlost látek, kdy koncentrace reaktantů je přímo úměrná rychlosti reakce, v našem případě rychlosti rozpadu patogenu T .

Rovnice 4 má tři členy. První člen, $f(T)$ je rozepsán v rovnici 1. Člen $f(T)$ označuje stimulaci imunitního systému patogenem. Všechny konstanty jsou pozitivní a $u \leq v$. Tato funkce má tři možné typy průběhů v závislosti na hodnotách u a v - všechny tři jsou však shora omezené a nepřesáhnou hodnotu p . Druhý člen, $g(E)$ (rozepsán v rovnici 2), ukazuje na míru sebe-stimulace imunitních buněk, příp. jeho samovolného růstu. V případě zdravého organismu by měl mít imunitní systém schopnost se bez přítomnosti patogenu ustálit na relativně nízké hladině. Maximální přírůstek daný členem $g(E)$ je roven s , takže pokud se při boji s patogenem množství patogenu nedostane na nulu, díky tomuto členu E opět vzroste, nicméně jeho rychlost růstu je shora omezena konstantou s . Třetí člen, $d \times E$ označuje samovolný rozpad komponent imunitního systému v čase s rychlostí d .

$$f(T) = \frac{p \times T^u}{m^v + T^v} \quad (1)$$

$$g(E) = \frac{s \times E^n}{c^n + E^n} \quad (2)$$

$$dT = r \times T - k \times T \times E \quad (3)$$

$$dE = f(T) + g(E) - d \times E \quad (4)$$

5.3.2 Nedostatky a vylepšení ET modelu

Model ET v sobě zahrnuje schopnost simulovat dynamiku patogenu (A , $suum$, T), na který reaguje imunitní systém (hladina tryptázy, E), jako je to i v případě astmatu. Bohužel ale není schopen zahrnout dynamiku anti-tryptázy. Proto je potřeba přidat do modelu další proměnnou s vlastní dynamikou, která navíc bude ovlivňovat dynamiku proměnné E , což odpovídá antagonnímu charakteru anti-tryptázy vůči tryptáze.

Proto byl ET model upraven následovně: Dynamika v koncentraci anti-tryptázy je nyní popsána rovnicí 9. Koncentrace anti-tryptázy je označena jako A . Rovnice 9 zahrnuje přirozený rozpad anti-tryptázy díky členu $-h \times A$ a odčerpávání anti-tryptázy při deaktivaci tryptázy. Druhý zmíněný člen bude přidán také do rovnice 4, nově 8, protože anti-tryptáza je odčerpávána jedna ku jedné k deaktivaci tryptázy.

5.3.3 Popis ET-A modelu

Nyní můžeme formulovat rovnice modelu znovu a definovat tak z hlediska proměnných trojrozměrný model ET model s přidanou dynamikou anti-tryptázy, antagonisty imunitního systému, A (ET-A) (pro vizuální zjednodušení konceptu modelu viz obrázek 1):

$$dT = r \times T - k \times T \times E \quad (5)$$

$$f(T) = \frac{p \times T^u}{m^v + T^v} \quad (6)$$

$$g(E) = \frac{s \times E^n}{c^n + E^n} \quad (7)$$

$$dE = f(T) + g(E) - d \times E - q \times E \times A \quad (8)$$

$$dA = -h \times A - q \times E \times A \quad (9)$$

Všimněme si, že pokud je koncentrace $A = 0$, model ET-A se neliší od ET modelu a model se vrací zpět na dvourozměrný, respektive rozměr proměnné A zůstává konstantní.

5.4 Diskretizace modelu a volba parametrů

5.4.1 Diskretizace

Model ET-A je sice definován spojitě, nicméně pro účely replikace experimentálních dat a provedení experimentů byl diskretizován. Každý časový krok byl proto rozdělen na 1000 kroků simulace. Díky tomu bylo možné výsledky počítat výrazně efektivněji. Cenou za to jsou odlišné výsledky oproti spojitému modelu, jak byl originálně definován.

5.4.2 Úvodní volba parametrů

Jako první bylo potřeba určit časové jednotky simulace. Vzhledem k tomu, že astmatická reakce probíhá v řádu desítek minut, byla jako jedna časová jednotka zvolena jedna minuta experimentálního času. Jeden krok simulace byla tedy jedna tisícina vteřiny, viz sekci 5.4.1.

Při volbě parametrů hrálo roli, že jako časový krok simulace byla zvolena jedna tisícina minuty, přičemž jedna časová jednotka simulace byla jedna minuta.

Rychlost růstu T - parametr r byl nastaven na 0, protože patogen způsobující astma se v těle opic nemnožil. Efektivita E v potlačování T daná hodnotou k byla nastavena na 1, což zaručuje rychlé potlačení T . Při $E = 1$, $T = 1$ a $k = 1$ je rychlost potlačování T rovna jedné.

Rychlost rozpadu efektoru d byla zvolena jako 6×10^{-4} . Hodnota d vychází ze znalosti toho, že se hladina tryptázy vrací do normálu po přibližně 24 hodinách, tzn. po 1440 minutách, od nejtěžší fáze astmatu, přičemž nejvýše dosahuje koncentrace 170pg/mL a normální hladina tryptázy je okolo 30pg/mL. Jeden časový krok je tisícina sekundy, čili po 1,440 minutách simulace proběhne 1,440,000 kroků simulace. Po zanedbání členů $f(T)$, $g(E)$ a $q \times E \times A$ rovnice 8 můžeme spočítat z diskretizované funkce dE

$$\begin{aligned}
 E_1 &= E_0 - d \times dt \times E_0 \\
 &= E_0 \times (1 - d \times dt) \\
 E_2 &= E_1 \times (1 - d \times dt) \\
 &= (E_0 \times (1 - d \times dt)) \times (1 - d \times dt) \\
 &= E_0 \times (1 - d \times dt)^2 \\
 (\dots)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 E_{1,440,000} &= E_0 \times (1 - d \times dt)^{1,440,000} \\
 30 &= 170 \times (1 - d \times dt)^{1,440,000} \\
 (30/70)^{1/1,440,000} &= 1 - d \times dt \\
 d &= -((30/70)^{1/1,440,000} - 1)/0.001 \\
 d &\approx 5.88 \times 10^{-4} \approx 6 \times 10^{-4}
 \end{aligned}$$

Hodnota p byla nejprve zvolena jako 170, což zaručuje rychlý nárůst imunitní reakce při kontaktu s patogenem. Hodnota m byla zvolena jako 1 - člen $f(T)$ díky tomu nebude nijak ovlivněn. Hodnoty u a v byly shodně zvoleny na 1, což zaručuje nástup imunitní reakce už při nízké přítomnosti T , viz obrázek 2 v Mayer a kol., (1995)².

Hodnoty s , c a n musí být nastaveny tak, aby se proměnná E ustálila na hodnotě okolo 30, pokud nebude zároveň snižována skrze A , či nabuzována přítomností patogenu T . V tom případě můžeme změnu dE zjednodušit na dva členy takto:

$$dE = (g(E) - d \times E) \times dt$$

Vzhledem k tomu, že parametr d je již určen jako 6×10^{-4} a dt , musíme zvolit parametry s , c a n tak, aby člen $g(E)$ vyrovnal člen $-d \times E$ při $E = 30$.

$$-d \times E = -0.0006 \times 30 = -0.018$$

Parametr n chceme mít roven 1, kvůli tvaru křivky nárůstu $d(E)$ a pro jednoduchost můžeme zvolit jako 1 i hodnotu parametru c . Zbývá nám tedy určit parametr s .

$$\begin{aligned}
 g(E) &= 0.018 = \frac{s \times E^n}{c^n + E^n} \\
 &= \frac{s \times 30^1}{1^1 + 30^1} \\
 &= s \times \frac{30}{31} \\
 s &= 0.018 \times \frac{31}{30} \\
 &= 0.0186 \\
 &= 1.86 \times 10^{-2}
 \end{aligned}$$

Hodnota h musí být stanovena tak, aby její poločas rozpadu byl přibližně 15 dnů. To je možné získat pomocí podobné rovnice, jako v případě proměnné d . Tentokrát jde o $15 \times 1,440 \times 1,000 = 21,600,000$ kroků. Finální hodnota A musí být poloviční oproti počáteční. Z výpočtů, viz dále, vyšla hodnota $h = 5 \times 10^{-4}$.

$$\begin{aligned}
 A_1 &= A_0 - h \times dt \times A_0 \\
 &= A_0 \times (1 - h \times dt) \\
 A_2 &= A_1 \times (1 - h \times dt) \\
 &= (A_0 \times (1 - h \times dt)) \times (1 - h \times dt) \\
 &= A_0 \times (1 - h \times dt)^2 \\
 (\dots)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 A_{21,600,000} &= A_0 \times (1 - h \times dt)^{21,600,000} \\
 50 &= 100 \times (1 - h \times dt)^{21,600,000} \\
 (0.5)^{1/21,600,000} &= 1 - h \times dt \\
 -\frac{(0.5)^{1/21,600,000} - 1}{0.001} &= h \\
 h &\approx 3.20 \times 10^{-5}
 \end{aligned}$$

Hodnota q byla zvolena jako 1, aby míra rozkladu tryptázy antitryptázou nebyla nijak urychlována, ani potlačována.

S těmito hodnotami byl model použit pro první fázi jeho testování.

5.4.3 Problémy prvního testování modelu

Provedením několika experimentů bylo na jednu stranu potvrzeno, že hodnota E se drží, či vrací k hodnotě blízké 30, což byl záměr (viz obrázky 2 a 3). Bohužel se také zjistilo, že hodnota neklesá ze 170 na 30 během jednoho dne, což byl záměr, ale pomaleji (viz obrázek 4). Bylo to způsobeno tím, že proměnné d a s byly odhadnuty samostatně, bez zahrnutí dalších členů. Při návratu imunitního systému do klidové hladiny ale působí proti sobě a tím tento proces zpomalují. Proto byly hodnoty těchto dvou proměnných vynásobeny $5 \times$, což zvýšilo rychlost, jakou se E navrací do klidové hodnoty, aniž by se změnila klidová hladina jako taková. Díky tomu bylo dosaženo návratu E do blízkosti hodnoty 30 během jednoho dne (obrázek 5).

Poločas rozpadu anti-tryptázy byl také otestován a byla potvrzena hodnota cca 15 dnů (viz obrázek 6).

Při testování vzájemné dynamiky T a E se ukázalo, že hodnoty k a p nebyly v první fázi určeny správně. Pro účely testování reakce E na T bylo vždy množství T zvoleno jako 1 - pro jednoduchost. Článek Maun a kol. (2019)¹ totiž uvádí, že bylo opicím dávkováno mezi 4-4000g/mL. Toto rozpětí v sobě zahrnuje, že různé opice měli různou reaktivitu na *A. suum* (což odpovídá různým hodnotám parametru p v ET-A modelu), nicméně jejich cílem bylo vždy docílit hodnoty $E = 170$ (koncentrace tryptázy jako 170pm/mL). Proto můžeme počítat s počáteční koncentrací jako 1 a hodnotu parametru p (a případně parametru k) odhadnout na tomto základě.

V tomto ohledu bylo dilema, jak nastavit poměr parametrů p a k . Čím vyšší je parametr p , tím větší je vzestup E . Čím nižší je parametr k , tím pomaleji je T redukován a tím déle E vzestupuje. Skrze pokusy byly

určeny parametry $k = 9.3 \times 10^{-4}$ a $p = 21$ tak, aby hodnota E dosáhla svého maxima okolo 170 za 30 minut od kontaktu E s T . Pomocí několika experimentů ale bylo docíleno požadovaných výsledků, viz obrázky 7, 8 a 9.

5.4.4 Určení počáteční hodnoty A a q

Ukázalo se, že hodnota q nemůže být rovna jedné, ale musí být mnohem menší. V případě, že by hodnota q byla jedna, by byla hodnota E snížena příliš rychle, takže by imunitní systém ani nedokázal potlačit T , nebo by byla anti-tryptáza (A) spotřebována příliš rychle. Sérií experimentů se jako optimální ukázala hodnota 0.001, která zaručila potlačování E na hodnotu, která ještě nevede k silné astmatické reakci, ale zároveň umožní imunitnímu systému T potlačovat. Kromě toho bylo potřeba určit optimální úvodní hladinu anti-tryptázy, která by měla být schopná dostatečně dlouho tryptázu potlačovat. Nakonec ale bylo dosaženo určitých úspěchů, viz výsledky experimentů "ET-A_test1-3" na obrázcích 10, 11 a 12.

5.5 Implementace modelu

S ohledem na definici modelu ET-A v sekci 5.3.3 a jeho diskretizaci, viz sekci 5.4.1, byla vytvořena implementace modelu. Model byl implementován v jazyce Python pouze s využitím "built-in" možností jazyka. Pro další zpracování byly využity knihovny Pandas a Matplotlib.

Základem implementace byly objekty tříd 'Parameters' a 'Simulation', do kterých byly přidány konstanty a proměnné definující model. Objekty těchto tříd byly následovně předávány metodám pro výpočet hodnot proměnných v dalším časovém kroku. Celá implementace modelu je ve zdrojovém kódu v příloze. Pro pochopení fungování modelu je ale vhodné uvést alespoň implementaci rovnic 5 až 9:

```
def f(params, T):
    return params.p * T**params.u /
        (params.m**params.v + T**params.v)
def g(params, E):
    return params.s * E**params.n /
        (params.c**params.n + E**params.n)
def dT(params, T, E):
    return params.r * T
        - params.k * T * E
def dE(params, T, E, A):
    return f(params, T) + g(params, E)
        - params.d * E - params.q * E * A
def dA(params, E, A):
    return -params.h * A
        - params.q * E * A
```

Metody $dT()$ až $dA()$ byly použity pro úpravu hodnot proměnných E , T a A . Kromě parametrů modelu byly každé simulaci zadány ještě hodnoty času na začátku simulace, času konce simulace a hodnoty proměnných E , T a A na začátku simulace. V každém

cyklu simulace byl zaznamenán čas simulace a hodnoty jednotlivých proměnných, v případě delších simulací (nad 2000 časových kroků) byl pro úsporu času a místa zaznamenáván jen každý 100. krok simulace.

Pro experimenty, které vyžadovaly vzájemné neovlivňování jednotlivých proměnných byly vytvořeny zjednodušené metody simulace, které ale vycházely z kopií originálních metod.

Celou implementaci modelu včetně komentářů (v angličtině) je možné najít v příloze.

References

- [1] H. R. Maun, J. K. Jackman, D. F. Choy, K. M. Loyet, T. L. Staton, G. Jia, A. Dressen, J. A. Hackney, M. Bremer, B. T. Walters, et al., An allosteric anti-tryptase antibody for the treatment of mast cell-mediated severe asthma, *Cell* **179**, 417 (2019), ISSN 0092-8674.
- [2] H. Mayer, K. S. Zaenker, and U. an der Heiden, A basic mathematical model of the immune response, *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science* **5**, 155 (1995), ISSN 1054-1500, [arXiv:https://pubs.aip.org/aip/cha/article-pdf/5/1/155/18300603/155_1_online.pdf](https://pubs.aip.org/aip/cha/article-pdf/5/1/155/18300603/155_1_online.pdf).

Doplňkové materiály

Pdf této práce včetně zdrojového kódu simulace, parametrů jednotlivých experimentů a vygenerovaných grafů je možné najít na GitHubu autora práce: https://github.com/haldami/MMB_Final_Project-ET-A