Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar

KOMPARTMENT-MODELL ALKALMAZÁSA ANTIGÉN-ANTITEST REAKCIÓK VIZSGÁLATÁRA

BSc Szakdolgozat

Készítette: Juhos Eszter
Matematika BSc, Matematikai elemző szakirány

Témavezető: Pfeil Tamás
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar
Alkalmazott Analízis és Számításmatematikai Tanszék

Budapest, 2019.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Pfeil Tamásnak a lehetőséget, hogy becsatlakozhattam a kutatásba, valamint hálás vagyok kitartó segítségéért, amely során időt és energiát nem sajnálva támogatta munkámat. Köszönöm továbbá Fekete Imrének a modell szimulálásában nyújtott segítségét, valamint közbenjárását Gustaf Söderlind professzornál, akinek pedig külön köszönöm, hogy rendelkezésemre bocsátotta programját.

Végezetül nagyon köszönöm családomnak a töretlen támogatást és a végtelen türelmet. Külön köszönettel tartozom édesapámnak, Juhos Andrásnak, valamint nagynénémnek, Kurucz Ágnesnek, akik szakmai oldalról is támogattak, továbbá Tóth Bencének a lektorálásért.

Tartalomjegyzék

Bevezetés **5**

1. Matematikai előismeretek **6**

1.1. A derivált és alkalmazásai 6

1.2. Differenciálegyenletek 8

1.3. Kompartment-modell 12

2. Immunbiokémiai előismeretek **13**

2.1. Immunológia 13

2.2. Reakciókinetikai fogalmak 15

2.3. ELISA 17

3. Antigén-antitest reakciók vizsgálata egyetlen differenciálegyenlettel **19**

4. Antigén-antitest reakciók modellezése kompartment-modellel három kompartment esetén **22**

4.1. A modell felállítása 22

4.2. Első integrál 24

4.3. Kétdimenziós rendszer, egyensúlyi pontok és stabilitásvizsgálat 25

4.4. Kvalitatív tulajdonságok vizsgálata 28

5. A reakció vizsgálata tetszőleges számú kompartment esetén **31**

6. Numerikus szimulációk **34**

6.1. A lokális oldat 34

6.2. Diffúzió limitált eset 36

6.3. Konvekció limitált eset 37

6.4. Az immunkomplex felszíni koncentrációja három és négy kompartment esetén . . 38

Bevezetés

A biológiának számos olyan területe van, amelyekben matematikai modellek segítségével lehet jól közelíteni a valóságot, megérteni a különböző anyagok és reakciók természetét, valamint tulajdonságait. Egy ilyen terület az immunológia, ahol sok olyan kísérletet, vizsgálatot végeznek, amelyek tanulmányozásához matematikai ismeretek szükségesek. A diplomamunkám során egy ilyen vizsgálatot ismertetek, modellezem, és elemzem a modell valóságtartalmát. A feladatom az úgynevezett kompartment-modell alkalmazása olyan antigén-antitest reakciók vizsgálatára, amelyek az ELISA immunesszé során is bekövetkeznek. A lényege, hogy a laborvizsgálat során a szérumbeli antigén-specifikus antitestek kimutatására az oldathoz antigént adnak, majd a keletkezett antigén-antitest komplexek koncentrációjából következtetnek a szérumbeli specifikus antitestek koncentrációjára. Vizsgálom a szabad antitestek, a szabad antigének és az antigén-antitest komplexek koncentrációjának időbeli változását.

1. fejezet

Matematikai előismeretek

Ebben a fejezetben a szakdolgozatomban alkalmazott matematikai módszerekhez szorosan kapcsolódó definíciókat és tételeket ismertetem. A fejezet tartalmi forrásaként a [6] és a [11] könyveket használtam fel.

1.1. A derivált és alkalmazásai

1. Definíció. Legyen f egyváltozós valós függvény, amely értelmezve van egy x_0 pont egy környezetében. Ekkor a

$$\lim_{x \to x_0} \frac{f(x) - f(x_0)}{x - x_0}$$

határértéket az f függvény deriváltjának vagy differenciálhányadosának nevezzük, ha a határérték létezik.

Jelölések az x_0 pontbeli deriváltra: $f'(x_0)$, $\dot{f}(x_0)$, $\frac{df}{dx}(x_0)$.

2. Definíció. Legyen f egyváltozós valós függvény, amely értelmezve van egy x_0 pont egy környezetében. Azt mondjuk, hogy az f függvény az x_0 pontban differenciálható, ha az előző definícióban említett hatérték létezik és véges.

Az f függvény f' deriváltfüggvénye ott van értelmezve, ahol f differenciálható, és $f'(x_0) = \lim\limits_{x \to x_0} \frac{f(x)-f(x_0)}{x-x_0}$, ha $x_0 \in D(f')$.

3. Definíció. Egy intervallumon értelmezett f függvény differenciálható, ha az intervallum minden belső pontjában differenciálható, valamint az f' deriváltfüggvénynek véges (egy oldali) határértéke van az intervallum azon végpontjaiban, ahol f értelmezve van.

Az f függvény folytonosan differenciálható, ha differenciálható és a deriváltfüggvénye folytonos.

Az f függvény kétszer differenciálható, ha differenciálható és a deriváltfüggvénye is differenciálható.

1. Tétel. *Legyen f folytonos egy $[a,b]$ intervallumon és differenciálható (a,b)-n. Ekkor*

- *$[a,b]$-n f akkor és csak akkor monoton csökkenő, ha $f'(x) \leq 0$, és akkor és csak akkor monoton növekedő, ha $f'(x) \geq 0$ minden $x \in (a,b)$-re.*
- *ha $f'(x) < 0$ minden $x \in (a,b)$-re, akkor f szigorúan monoton csökkenő $[a,b]$-n, és ha $f'(x) > 0$ minden $x \in (a,b)$-re, akkor f szigorúan monoton növekedő $[a,b]$-n.*

2. Tétel. *Tegyük fel, hogy f differenciálható x_0-ban. Ha f-nek lokális szélsőértékhelye van x_0-ban, akkor $f'(x_0) = 0$.*

Az állítás nem megfordítható. Ellenpélda: legyen $f(x) = x^3$, $D(f) = \mathbb{R}$. Ekkor $f'(0) = 0$, de f-nek nincs lokális szélsőértékhelye nullában.

3. Tétel. *Legyen f kétszer differenciálható x_0-ban. Ha $f'(x_0) = 0$ és $f''(x_0) < 0$, akkor f-nek x_0-ban szigorú lokális maximuma van, ha $f''(x_0) > 0$, akkor pedig szigorú lokális minimuma van.*

4. Tétel. *Legyen f kétszer differenciálható egy I intervallumon. Az f függvény I-n akkor és csak akkor konvex, ha $f''(x) \geq 0$, és akkor és csak akkor konkáv, ha $f''(x) \leq 0$ minden $x \in I$-re.*

4. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}$ függvény, $x_0 \in D(f)$, k egész szám 1 és n között, valamint e_k a k-adik egységvektor $\mathbb{R}^n$ standard bázisában.

Ha létezik a

$$\lim_{t \to 0} \frac{f(x_0 + te_k) - f(x_0)}{t}$$

határérték, és ez valós szám, akkor f a k-adik változó (x_k) szerint parciálisan differenciálható az x_0 pontban.

A fenti határértéket az f függvény x_0 pontbeli k-adik változó (x_k) szerinti parciális deriváltjának nevezzük, jele $\frac{\partial f}{\partial x_k}(x_0)$.

5. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^m$ egy vektorértékű függvény, melynek koordinátafüggvényeit jelölje rendre $f_1, \ldots, f_m$. Ekkor minden $(x_1, \ldots, x_n) \in D(f)$ esetén

$$f(x_1, x_2, \ldots, x_n) = \big(f_1(x_1, x_2, \ldots, x_n), f_2(x_1, x_2, \ldots, x_n), \ldots, f_m(x_1, x_2, \ldots, x_n)\big).$$

Ha f minden koordinátafüggvényének mindegyik változó szerinti parciális deriváltja létezik az $x \in D(f)$ pontban, akkor a függvény elsőrendű parciális deriváltjait tartalmazó alábbi mátrixot

az f függvény x pontbeli Jacobi-mátrixának nevezzük:

$$f'(x) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(x) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_m}{\partial x_n}(x) \end{pmatrix}$$

6. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^k$ egy nyílt halmazon értelmezett függvény. Ha f és minden koordinátafüggvényének minden változó szerinti parciális deriváltfüggvénye létezik és folytonos $D(f)$-n, akkor f folytonosan differenciálható.

Ha minden koordinátafüggvényének minden legfeljebb másodrendű parciális deriváltfüggvénye létezik és folytonos $D(f)$-n, akkor f kétszer folytonosan differenciálható.

1.2. Differenciálegyenletek

7. Definíció. Ha $F\colon \mathbb{R}^{n+2} \to \mathbb{R}$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az

$$F\big(t, x(t), \dot{x}(t), \dots, x^{(n)}(t)\big) = 0$$

egyenletet n-edrendű implicit közönséges differenciálegyenletnek nevezzük, ahol $x\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}$ az ismeretlen függvény, mely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

8. Definíció. Ha $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az

$$x^{(n)}(t) = f\big(t, x(t), \dot{x}(t), \dots, x^{(n-1)}(t)\big)$$

egyenletet n-edrendű explicit közönséges differenciálegyenletnek nevezzük, ahol $x\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}$ az ismeretlen függvény, mely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

9. Definíció. Ha $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az $\dot{x}(t) = f\big(t, x(t)\big)$ egyenletet n-dimenziós explicit elsőrendű közönséges differenciálegyenletnek nevezzük, ahol $x\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}^n$ az ismeretlen vektorértékű függvény, mely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

Ha az $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}^n$ függvény koordinátafüggvényeit rendre $f_1, \dots, f_n$ jelöli, az $x\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}^n$ ismeretlen függvény koordinátafüggvényeit pedig $x_1, \dots, x_n$, vagyis

$$x(t) = \begin{pmatrix} x_1(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{pmatrix}, t \in D(x), f(t,x) = \begin{pmatrix} f_1(t, x_1, \dots, x_n) \\ \vdots \\ f_n(t, x_1, \dots, x_n) \end{pmatrix}, (t,x) \in D(f),$$

akkor a definícióbeli n-dimenziós differenciálegyenletet az alábbi rendszerré írhatjuk át:

$$\left.\begin{aligned} \dot{x}_1(t) &= f_1\big(t, x_1(t), \dots, x_n(t)\big) \\ &\vdots \\ \dot{x}_n(t) &= f_n\big(t, x_1(t), \dots, x_n(t)\big) \end{aligned}\right\}$$

A továbbiakban a differenciálegyenlet alatt mindig közönséges differenciálegyenletet értünk.

5. Tétel. [Egyértelműség tétele]
Legyen $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonosan differenciálható függvény. Ha $x, y\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}^n$ olyan megoldásai az $\dot{x}(t) = f\big(t, x(t)\big)$ differenciálegyenletnek, melyekre létezik olyan $t_0 \in \mathbb{R}$, hogy $x(t_0) = y(t_0)$, akkor $x(t) = y(t)$ minden $t \in D(x) \cap D(y)$ esetén.

10. Definíció. Legyen I nyílt intervallum és $a, b\colon I \to \mathbb{R}$ folytonos függvények, akkor az elsőrendű lineáris differenciálegyenlet: $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$.

6. Tétel. *Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ elsőrendű lineáris differenciálegyenlet megoldása*

$$x(t) = e^{A(t)} \int b(t)e^{-A(t)}dt = Ce^{A(t)} + x_p(t),$$

ahol A az a függvény egyik primitív függvénye és x_p a differenciálegyenlet egyik (partikuláris) megoldása.

11. Definíció. Ha $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az n-dimenziós $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ differenciálegyenlet neve autonóm egyenlet.

12. Definíció. Az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ autonóm egyenlet egyensúlyi pontja $p \in D(f) \subset \mathbb{R}^n$, ha a p értékű konstansfüggvény megoldás, neve stacionárius megoldás.

7. Tétel. *Az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ autonóm egyenletnek p akkor és csak akkor egyensúlyi pontja, ha $f(p) = 0_{\mathbb{R}^n}$.*

13. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ folytonosan differenciálható függvény és az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ egyenletnek egyensúlyi pontja p.

- p stabil, ha minden $\varepsilon > 0$-hoz létezik $\delta > 0$, hogy minden $q \in \mathbb{R}^n$-re $\big(|q - p| < \delta \Rightarrow |\varphi(t, q) - p| < \varepsilon\big)$, ahol $t \mapsto \varphi(t, q)$ a differenciálegyenlet megoldása az $x(0) = q$ kezdeti feltétellel.

- p aszimptotikusan stabil, ha stabil és minden fenti $q \in \mathbb{R}^n$ esetén: $\lim\limits_{t\to\infty} \varphi(t, q) = p$.

- p instabil, ha nem stabil.

8. Tétel. *Legyen $f\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}$ nyílt intervallumon értelmezett differenciálható függvény, és az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ differenciálegyenletnek legyen $p \in \mathbb{R}$ egyensúlyi pontja.*

- *Ha $f'(p) > 0$, akkor p instabil.*
- *Ha $f'(p) < 0$, akkor p aszimptotikusan stabil.*

9. Tétel. [Linearizálási tétel]
Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett kétszer folytonosan differenciálható függvény és az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ differenciálegyenletnek legyen p egyensúlyi pontja.

- *Ha $A = f'(p)$ minden λ_i sajátértékére $\operatorname{Re}\lambda_i < 0$, akkor a differenciálegyenlet p egyensúlyi pontja aszimptotikusan stabil,*
- *Ha $A = f'(p)$-nek létezik olyan λ_i sajátértéke, melyre $\operatorname{Re}\lambda_i > 0$, akkor a differenciálegyenlet p egyensúlyi pontja instabil.*

14. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^2 \to \mathbb{R}^2$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény és az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ kétdimenziós nemlineáris differenciálegyenlet-rendszernek legyen (p_1, p_2) egyensúlyi pontja.

- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont stabil csomó, ha van olyan környezete, melyben a megoldásokat polárkoordinátákkal felírva a pályák mentén $\lim\limits_{t\to\infty} r(t) = 0$ és $\lim\limits_{t\to\infty} |\varphi(t)| < \infty$.
- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont instabil csomó, ha van olyan környezete, melyben a megoldásokat polárkoordinátákkal felírva a pályák mentén $\lim\limits_{t\to-\infty} r(t) = 0$ és $\lim\limits_{t\to-\infty} |\varphi(t)| < \infty$.
- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont stabil fókusz, ha van olyan környezete, melyben a megoldásokat polárkoordinátákkal felírva a pályák mentén $\lim\limits_{t\to\infty} r(t) = 0$ és $\lim\limits_{t\to\infty} |\varphi(t)| = \infty$.
- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont instabil fókusz, ha van olyan környezete, melyben a megoldásokat polárkoordinátákkal felírva a pályák mentén $\lim\limits_{t\to-\infty} r(t) = 0$ és $\lim\limits_{t\to-\infty} |\varphi(t)| = \infty$.
- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont centrum, ha van olyan környezete, ahol minden pálya periódikus.
- A (p_1, p_2) egyensúlyi pont nyereg, ha van olyan környezete, amelyben pontosan két olyan pálya van, ami $t \to \infty$ esetén befut (p_1, p_2)-be, van pontosan két olyan pálya, ami $t \to -\infty$ esetén befut (p_1, p_2)-be, és az összes többi pálya, a (p_1, p_2) egypontú pálya kivételével, $t \to \infty$ és $t \to -\infty$ esetén is elhagyja a környezetet.

10. Tétel. *Legyen $f\colon \mathbb{R}^2 \to \mathbb{R}^2$ kétszer folytonosan differenciálható függvény, és legyen az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ kétdimenziós rendszernek (p_1, p_2) egyensúlyi pontja. Ha a*

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x}(p_1,p_2) & \frac{\partial f_1}{\partial y}(p_1,p_2) \\ \frac{\partial f_2}{\partial x}(p_1,p_2) & \frac{\partial f_2}{\partial y}(p_1,p_2) \end{pmatrix}$$

Jacobi-mátrix sajátértékei λ_1, λ_2, akkor

- $\lambda_1 > 0 > \lambda_2$ *esetén* (p_1, p_2) *nyereg,*
- $\lambda_1, \lambda_2 > 0$ *esetén* (p_1, p_2) *isntabil csomó,*
- $\lambda_1, \lambda_2 < 0$ *esetén* (p_1, p_2) *stabil csomó,*
- $\lambda_{1,2} = \alpha \pm \beta i$ *valódi komplex sajátértékpárra*
  - $\alpha > 0$ *esetén* (p_1, p_2) *instabil fókusz,*
  - $\alpha < 0$ *esetén* (p_1, p_2) *stabil fókusz.*

15. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^2 \to \mathbb{R}^2$ folytonos függvény. A $V\colon D(f) \to \mathbb{R}$ függvényt az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ autonóm rendszer első integráljának mondjuk, ha a rendszer minden x megoldására $t \mapsto V\big(x(t)\big)$ konstansfv.

11. Tétel. *Egy A $n \times n$-es mátrix $\det(A - \lambda I)$ karakterisztikus polinomjának gyökei a mátrix sajátértékei, jelölje ezeket multiplicitással $\lambda_1, \lambda_2, \ldots, \lambda_n$. E sajátértékek összege a mátrix nyoma, vagyis a főátlójában álló elemek összege: $\lambda_1 + \lambda_2 + \ldots + \lambda_n = \mathrm{Tr}(A)$. E sajátértékek szorzata pedig a mátrix determinánsa, azaz $\lambda_1\lambda_2 \ldots \lambda_n = \det(A)$.*

Minden 2×2-es mátrixra

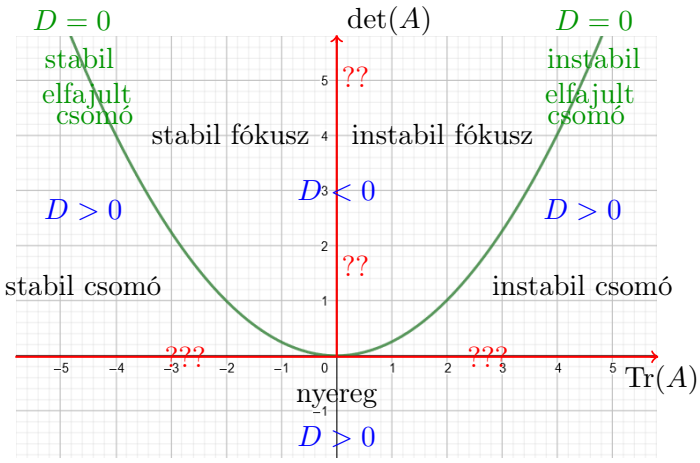
$$\det(A - \lambda I) = \lambda^2 - \mathrm{Tr}(A)\lambda + \det(A),$$

$$\lambda_{1,2} = \frac{\mathrm{Tr}(A) \pm \sqrt{\mathrm{Tr}^2(A) - 4\det(A)}}{2}.$$

A kétdimenziós nemlineáris differenciálegyenlet-rendszerek egyensúlyi pontjainak típusa meghatározható az egyensúlyi pontbeli Jacobi-mátrix karakterisztikus polinomja nyomának, determinánsának és diszkriminánsának előjeléből, ha egyik sajátérték valós része sem nulla.

12. Tétel. *Legyen $f\colon \mathbb{R}^2 \to \mathbb{R}^2$ kétszer folytonosan differenciálható függvény, és legyen az $\dot{x}(t) = f\big(x(t)\big)$ autonóm rendszernek p egyensúlyi pontja. Ha az $A = f'(p)$ Jacobi-mátrix karakterisztikus polinomjának diszkriminánsa $D = \mathrm{Tr}^2(A) - 4\det(A)$, akkor a nyom, a determináns*

és a diszkrimináns előjele az ábrán jelzett módon adja meg a p egyensúlyi pont típusát, amikor A-nak nincs nulla valós részű sajátértéke.



1.3. Kompartment-modell

A kompartment-modell, vagy más néven rekeszmodell, egy olyan matematikai modell, amely számos területen, például a biológiában, kémiában, biokémiában és a populációdinamikában használatos modell, amelynek segítségével számos jelenséget vizsgálhatunk. A vizsgált rendszereket úgy írják le, hogy több, egymással kölcsönhatásban álló alrendszerre, azaz rekeszre bontják. Ezek a rekeszek, vagy más néven kompartmentek homogén módon viselkedő egységek. A rekeszek között anyagáramlás történhet, az egyes rekeszekben pedig reakciók mehetnek végbe. Ebben a modellben a rendszer dinamikáját, vagyis az anyagáramlást és a reakciókat közönséges differenciálegyenlet-rendszerrel adhatjuk meg, amelyet lényegesen könnyebben lehet vizsgálni, mint például a diffúziót is tartalmazó jelenségeket leíró parciális differenciálegyenlet-rendszereket.

2. fejezet

Immunbiokémiai előismeretek

2.1. Immunológia

Ebben az alfejezetben leírtaknak az [5] könyv szolgál alapjául.

Az immunológia, vagy immunbiológia, a biológiának egy olyan ága, amely a szervezetben lejátszódó védekező folyamatokat vizsgálja. A szó a latin "immunitas" szóból származik, amely mentességet, védettséget jelent. Szervezetünkben az immunfolyamatokat egy önmagát folyamatosan megújító, hálózatot alkotó felismerő rendszer, az immunrendszer végzi. Három fő feladata van, felismerni, információkat továbbítani és effektor (végrehajtó, pusztító) funkciókat ellátni. Legfőbb tulajdonsága, hogy különbséget tud tenni a szervezet saját és nem saját struktúrái között, és eltérő módon reagál rájuk. A felismert és idegenként azonosított anyagokat antigéneknek nevezzük. A sajátként felismert struktúrákat az immunrendszer megtűri, azaz velük szemben tolerancia alakul ki, azonban az idegen anyagok immunválaszt váltanak ki, amely a kiváltó antigén semlegesítéséhez, elpusztításához, majd a szervezetből való eltávolításához vezet. Az immunválasz során az immunrendszer antitesteket (ellenanyagokat) termel, olyan fehérjéket, amelyek a külvilágból bekerülő anyagokat felismerik, majd közvetlen vagy közvetett úton elpusztítják. Az antitestek az antigének egyedi részét ismerik fel és ahhoz kötődnek. Az antitesttel megjelölt, tehát kötött antigént a szervezet már képes felismerni, és az antitestek által közvetített különböző információk értelmezésével reagálni tud az idegen anyag jelenlétére. Először a veleszületett immunrendszer elemei aktiválódnak az immunválasz során, a szerzett (adaptív, specifikus) csak napokkal később. Veleszületettnek nevezzük az immunrendszernek azt a részét, amely már születésünktől kezdve jelen van a szervezetünkben, nem igényel tanulást, azaz az antigénekkel való előzetes találkozást, vagyis nem specifikus velük szemben. Az adaptív immunitásra születésünk

után, természetes (például fertőzés) vagy mesterséges (védőoltások) úton teszünk szert, és sejtjei, valamint molekulái az antigénekkel szemben már specifikusak. Egy nagyon fontos képessége az adaptív immunrendszernek az immunológiai memória kialakítása, azaz, hogy egy korábban felismert antigén tulajdonságait „megjegyezve" arra később az elsődleges immunválasznál gyorsabb, erősebb, specifikus immunválaszt képes adni. Ennek a tulajdonságnak köszönhetően meg tudjuk határozni, hogy egy ember fertőzött-e vagy volt-e fertőzve egy bizonyos antigénnel.

A szervezetben az immunválasz során aktiválódó sejteket, azaz a limfocitákat a nyirokszervek termelik. Megkülönböztetünk elsődleges és másodlagos nyirokszerveket. Az elsődleges nyirokszervek a vörös csontvelő és a csecsemőmirigy, amelyek a limfociták termeléséért felelősek, a másodlagos nyirokszervek a lép, a máj, a mandulák és a nyirokcsomók. Ezeken a területeken válnak antigén-specifikussá a limfociták, és itt zajlik az idegen anyagok kiszűrése. A limfocitáknak két típusát különböztetjük meg, a csontvelőben található őssejtekből kialakuló B-limfocitákat, vagy más néven B-sejteket, és a csecsemőmirigy által termelt T-limfocitákat. A B-sejtek a csontvelőből a véráramba kerülnek, majd eljutnak a másodlagos nyirokszervekhez. Mivel a másodlagos nyirokszervek egyfajta antigén szűrőként funkcionálnak, így nagyobb az esélye, hogy a B-sejtek ezen a területen találkoznak az idegen anyagokkal. Egy B-sejt csak egyetlen antigént ismer fel. Amennyiben megtörténik az antigénhez való kötődése, bekövetkezik a B-sejt aktivációja, és osztódásnak indul. Ezáltal olyan utódsejtek jönnek létre, amelyek az eredeti B-sejttel azonos antigénfelismerésűek. Ezeket más néven klónoknak nevezzük. Ezek után a B-sejtek számottevő része átalakul, úgynevezett plazmasejtté, amely nagy mennyiségben antitesteket kezd termelni és szekretálni. A B-sejtek antigéntől függő érése (affinitás érés) során bekövetkezhet az úgynevezett izotípus váltás, amelyhez helper T-sejtek szükségesek. Történhet hátrányos és előnyös mutáció is. Az előnyös mutációk növelik a termelt antitestek antigénkötő erősségét és biztosítják, hogy olyan antitestek is termelődjenek, amelyek ugyanazt az antigént ismerik fel, azonban az eltérő izotípusuk következtében különböző funkciókat lássanak el. A B-sejtek egy része a helper T-sejtek segítségével memória B-sejtté alakul, amelyek hosszú élettartamú sejtek, és a funkciójuk, hogy az általuk eltárolt tulajdonságokkal rendelkező antigénekkel való újabb találkozás (másodlagos immunválasz) esetén aktiválódjanak. Mivel ezek a sejtek korábban már átestek az affinitás érésen és az izotípus váltáson, így a másodlagos immunválasz sokkal gyorsabb és hatékonyabb. Azok a B-sejtek, amelyek nem ismertek fel antigént, visszakerülve a véráramba más nyirokszervbe vándorolnak, és amennyiben továbbra sem kötődnek antigénekkel, elpusztulnak. A T-limfociták, vagy más néven T-sejtek a csecsemőmirigyben (tímuszban) termelődnek. Aktivitásuk szempontjából két részre, effektorokra és memóriasejtekre osztják őket, amelyeken belül különböző alcsopor-

tokat különböztetünk meg. Az alcsoportok közé tartoznak a helper (segítő) T-sejtek, amelyek más fehérvérsejteknek segítenek ellátni immunológiai feladatukat, például a korábban említett B-sejtek érését plazmasejtté, valamint memóriasejtté. Aktiválásukat a velük kapcsolatba lépő antigénprezentáló sejtek indítják be, amelyek jelzik az antigének jelenlétét. Az aktivált helper T-sejtek gyors ütemben osztódnak és jelzőmolekulákat választanak ki. A citotoxikus (vagy killer) T-sejtek elpusztítják a szervezet azon sejtjeit, amelyek vírusfertőzöttek vagy rákos transzformáción estek át. A regulációs, vagy szupresszor T-sejtek felelősek azért, hogy az immunrendszer ne támadja meg a saját szöveteket, vagyis az immunreakciók végeztével lekapcsolják a sejtes immunválaszt és elpusztítják a rosszul szelektálódott T-sejteket, amelyek autoimmun betegséget indukálnának. A naiv T-sejtek egy része az antigénnel való találkozás után memóriasejtté alakul át, ezek a memória T-sejtek, amelyek hosszú élettartamúak és a rájuk specifikus antigénnel való újabb találkozás következtében gyors osztódással effektor utódsejteket hoznak létre, amely gyors immunválaszt tesz lehetővé.

Tehát az immunválasz során az antigén szervezetbe való bekerülése után a T-limfociták felismerik őket és beindítják a védekezési folyamatot, amely következtében az aktivált B-sejtek specifikus antitesteket termelnek, amelyek kapcsolatba lépnek az antigénekkel és immunkomplexet alkotnak velük. A limfociták hatására felszabaduló anyagokat érzékelő falósejtek aktiválódnak, ezt követően bekebelezik majd elpusztítják a képződött antigén-antitest komplexet. Végül a memória T-sejtek az antigénre jellemző tulajdonságokat, a memória B-sejtek pedig a specifikus antitestekre jellemző aminosav sorrendet jegyzik meg.

2.2. Reakciókinetikai fogalmak

Ebben az alfejezetben leírtaknak a [4] jegyzet szolgál alapjául.

A reakciókinetika egy részterülete a fizikai kémiának, amely kémiai reakciók és más fizikai-kémiai folyamatok mechanizmusával és időbeli lezajlásával foglalkozik. A számunkra fontos reakciókinetikai fogalmak az asszociáció és a disszociáció, valamint a konvekció. Ezeket röviden ismertetem.

Azt a folyamatot nevezzük disszociációnak, amely során egy molekula vagy molekuláris komplexum, például AB, két összetevőjére bomlik szét, A-ra és B-re. Ezek a folyamatok reverzibilisek, azaz megfordíthatók. A disszociáció fordítottja az asszociáció, vagy más néven rekombináció, amikor két elem vagy molekula, A és B, összeáll egy komplexummá, AB-vé. Egy ilyen reverzibilis

folyamatot a következő reakcióegyenlettel szokás felírni:

$$A + B \underset{d}{\overset{a}{\rightleftharpoons}} AB,$$

ahol az „a” az asszociációt, a „d” pedig a disszociációt jelöli. A reakciósebesség adja meg az időegységenként és térfogategységenként lejátszódó reakciók számát. A disszociáció esetében ez megegyezik a molekuláris komplexum, tehát AB koncentrációjának időegységenkénti megváltozásának ellentettjével, így ha a disszociációs folyamat független a többi jelenlévő anyagtól, akkor a reakciósebessége, v_d, egyenesen arányos a komplex koncentrációjával:

$$v_d = k_d[AB], \tag{2.1}$$

ahol k_d a reakció sebességi állandója. Kémiai számításokban szögletes zárójellel szokás jelölni a koncentrációt, így a képletben szereplő $[AB]$ a komplex koncentrációját jelöli. A disszociációt elsőrendű reakciónak, a sebességi állandóját pedig elsőrendű sebességi állandónak nevezik, mivel a folyamat során egyetlen érintett komponens (az AB molekuláris komplexum) van.

Amennyiben az asszociáció egymástól függetlenül mozgó molekulák találkozása következtében zajlik le vagy legalább az egyik reagens mobilis, a reakciósebessége, v_a, egyenesen arányos a két résztvevő molekula koncentrációjának szorzatával:

$$v_a = k_a[A][B] \tag{2.2}$$

ahol k_a a reakció sebességi állandója és $[A]$, valamint $[B]$ a molekulák koncentrációja. Az asszociációt másodrendű reakciónak, a sebességi állandóját pedig másodrendű sebességi állandónak hívják, mivel a folyamat során két résztvevő mulekula van. Adott körülmények között egy asszociációs-disszociációs folyamat egyensúlyra vezet. Amennyiben megadott koncentrációk mellett $v_a > v_d$, akkor időegységenként több asszociáció megy végbe, amely következtében $[A]$ és $[B]$ csökkenni, $[AB]$ pedig nőni fog. Ezzel v_d nő és v_a pedig csökken, tehát a reakciósebességek közelíteni fognak egymáshoz. Fordított esetben, amikor $v_d > v_a$, is hasonló eredményre jutunk. Így határértékben kialakul az egyensúlyi helyzet, ahol $v_a = v_d$, azaz

$$k_a[A][B] = k_d[AB].$$

Tehát egyensúlyi helyzetben a következő feltételt kapjuk a résztvevő molekulák koncentrációjára:

$$\frac{k_d}{k_a} = \frac{[A][B]}{[AB]}$$

Bevezetjük a K_D egyensúlyi állandó fogalmát: $K_D = \frac{k_d}{k_a}$.

Most egy oldott anyag koncentrációját vizsgáljuk. Az oldatot két részre, két kompartmentre osztjuk, amelyek között anyagáramlás zajlik. Ezt az áramlást a két oldatrész közötti koncentrációkülönbség indukálja. Jelölje N az egyik oldatrészben lévő molekulák számát. A kérdés, hogy N hogyan változik. Fick első törvényének következménye, hogy N változásának sebessége egyenesen arányos a két oldatrész közötti koncentrációkülönbséggel és az oldatrészek közös határának felszínével. A jelenségben az arányossági tényezőt a vizsgált anyagáramlás oldatrészek közötti diffúziós együtthatójának nevezzük. Jelölje $[A]_1$ a vizsgált oldatrészben lévő A anyag koncentrációját, $[A]_2$ a másik oldatrészben lévő koncentrációját, S az oldatrészek közös határának felszínét és k az arányossági tényezőt. Ekkor a következő differenciálegyenletet lehet felírni N változásának sebességére:

$$\dot{N} = ([A]_2 - [A]_1)Sk.$$

Jelölje V_1 a vizsgált oldatrész térfogatát. Amennyiben a kapott egyenletet elosztjuk ezzel a térfogattal, megkapjuk a vizsgált oldatrészben lévő anyag koncentrációjának időbeli változására vonatkozó differenciálegyenletet:

$$\frac{\dot{N}}{V_1} = \frac{([A]_2 - [A]_1)Sk}{V_1}$$

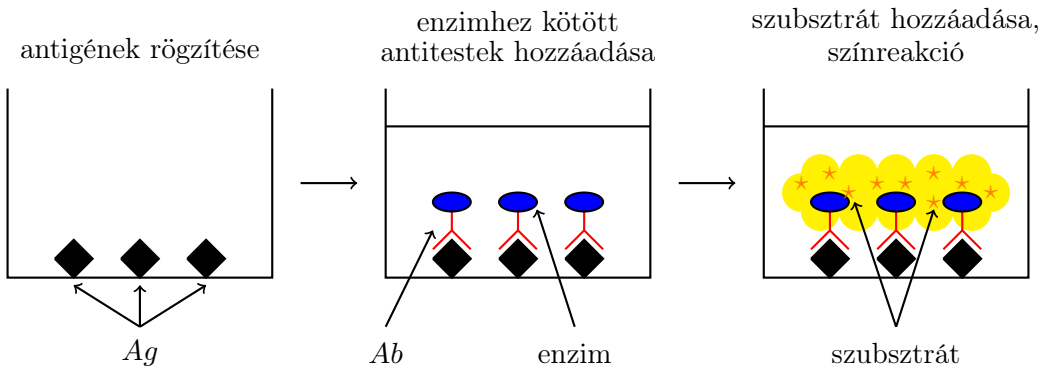
$$[\dot{A}]_1 = ([A]_2 - [A]_1)\frac{S}{V_1}k. \tag{2.3}$$

2.3. ELISA

Ebben az alfejezetben a leírtakhoz a [14] honlapot használtam fel.

Az ELISA elnevezés az enzyme-linked immunosorbent assay rövidítése, amely enzimhez kötött ellenanyag-vizsgálatot jelent. A vizsgálat során bizonyos fehérjék (például antitestek) jelenlétének kimutatása a cél. Általában egy 96-lyukú polisztirol lemezen (ún. mikrotiter lemezen) végzik a vizsgálatot. A különböző ELISA-eljárások között megkülönböztetünk direkt és indirekt módszereket. A direkt esetén az enzim közvetlenül az antitesthez kapcsolódik, az indirekt esetben viszont az enzim olyan molekulához van kötve, amely a szérumhoz korábban hozzáadott antitestet ismeri fel. Ezeken belül az ELISA-nak több különböző fajtája van, azonban a szakdolgozatomban a legegyszerűbbet mutatom be. Ebben az esetben a kinyomtatott antigénhez közvetlenül az enzimmel kapcsolt antitest kötődik. Az antigének irreverzibilisen kötődnek a reakciótartály aljára, így a szabad és a komplexben kötött antigének együttes koncentrációja a kísérlet során biztosan nem változik, tehát csak az immunkomplex és az antitestek koncentrációjának változását kell figyelemmel kísérnünk. A kinyomtatott antigénre ráengedik az antitestekkel teli oldatot. Az

antitestek komplexet alkotva kötődnek az antigénekhez, majd egy tisztító mosással eltávolítják a szabadon maradt, nem kötött molekulákat. Az utolsó lépésben az oldathoz olyan szubsztrátot adnak, amely az oldatban jelenlévő enzimekkel reagál és ezáltal látható eredményt, az esetek többségében színreakciót produkál. Ennek a színelváltozásnak az intenzitásából lehet következtetni az antitestek koncentrációjára. A következő ábra egyszerűsített formában szemlélteti a vizsgálat menetét:



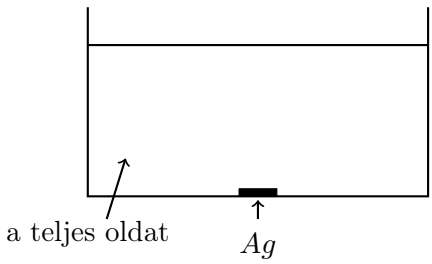
Sokszor olyan vizsgálatokra használják az ELISA-t, amikor egy páciensről el szeretnék dönteni, hogy egy adott betegségben szenved-e, vagy volt-e már jelen a szervezetében kórokozó vagy kórjelző molekula. Ezért a betegséget okozó antigént rögzítik a mikrotiter lemezre, majd a páciens szérumát hígítva készítik el azt az oldatot, amelyet ezután a kinyomtatott antigénhez adnak. Amennyiben a vizsgálat elvégzése után tapasztalnak színváltozást, az azt jelenti, hogy az illetőnek jelen van, vagy volt a szervezetében a kórokozó, hiszen a vizsgálat kimutatta, hogy a vérében megjelenik a hozzá specifikusan kötődő antitest. Ha nem történik látható reakció, akkor a páciens negatív az adott betegségre vagy nem alakult ki a szervezetében immunválasz.

3. fejezet

Antigén-antitest reakciók vizsgálata egyetlen differenciálegyenlettel

Az ELISA immunesszé során is lezajló antigén-antitest reakciót vizsgáljuk abban az esetben, amikor a reakciótartály aljára van kinyomtatva ismert konstans koncentrációban az antigén, és a tartályt monoklonális antitesteket tartalmazó oldat tölti ki. Feltesszük, hogy egy antitest- és egy antigén-molekula alkot immunkomplexet. Feltesszük továbbá, hogy a kinyomtatott antigén-molekulák száma nagyságrendekkel kisebb az oldatbeli antitestek számához képest, az antigén-molekulák egyrétegű felületet képeznek, vagy csak a molekulák felső rétege léphet reakcióba az antitestekkel, irreverzibilis módon kötődnek a reakciótartály aljához, és az oldat nem tartalmaz antigéneket.

Ebben a fejezetben azt feltételezem, hogy az oldatban az antitestek eloszlása minden időpillanatban homogén. Ha az oldatban gyors az antitestek diffúziója az antigén-antitest reakcióhoz képest, akkor közelítőleg ezt az esetet kapjuk.



Az antigén-antitest reakciót vizsgáljuk, ahol a disszociáció elsőrendű és az asszociáció másodrendű reakció a kinyomtatott antigén felszínén. Az asszociáció során az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja növekszik, míg a disszociáció során csökken. Jelölje $[AbAg]$ az

antigén-antitest komplex és $[Ag]$ a szabad antigén felszíni koncentrációját, valamint $[Ab]$ a szabad antitestek koncentrációját, mint a t idő függvényét. A második fejezet (2.1) és (2.2) képletei alapján az említett biokémiai folyamatok hatása az immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjára: az asszociáció hozzájárulása $k_a[Ab][Ag]$, a disszociációé pedig $-k_d[AbAg]$, ahol k_a és k_d a reakciók sebességi állandója. Ezen képletek segítségével leírható a komplex felszíni koncentrációjának időbeli változása egy differenciálegyenlettel, amely magában foglalja a szabad antigén és a szabad antitestek koncentrációját is:

$$\frac{d}{dt}[AbAg] = k_a[Ab][Ag] - k_d[AbAg].$$

A modellben az antigén- és antitest-molekulák számának nagyságrendbeli különbségéből adódóan $[Ab]$ közelíthető az antitestek kezdeti (teljes) koncentrációjával, jelölje ezt $[Ab]_T$. Emellett $[Ag] = [Ag]_T - [AbAg]$, ahol $[Ag]_T$ a kinyomtatott antigén koncentrációja, hiszen pontosan annyi antigén van kötött állapotban a felszínen, mint az antigén-antitest komplexek száma. Ezzel a differenciálegyenlet

$$\frac{d}{dt}[AbAg] = k_a[Ab]_T([Ag]_T - [AbAg]) - k_d[AbAg]. \tag{3.1}$$

$[AbAg]$-n kívül az egyenletben szereplő adatok mind állandók. A kapott

$$\frac{d}{dt}[AbAg] = -(k_a[Ab]_T + k_d)[AbAg] + k_a[Ab]_T[Ag]_T$$

differenciálegyenlet egy elsőrendű lineáris egyenlet, amelynek megoldása a 6. Tétel alapján

$$[AbAg] = \frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d} + Ce^{-(k_a[Ab]_T+k_d)t}. \tag{3.2}$$

Az immunreakció kezdetén ($t = 0$ időpontban) immunkomplex még nem képződött, koncentrációja nulla, jelölje azt $[AbAg]_0$. Az $[AbAg]_0 = 0$ kezdeti feltétellel a megoldás

$$[AbAg] = \frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d}\Big(1 - e^{-(k_a[Ab]_T+k_d)t}\Big).$$

Keressük meg a (3.1) differenciálegyenlet egyensúlyi pontjait és azok stabilitását! Az egyensúlyi pontban

$$k_a[Ab]_T([Ag]_T - [AbAg]) - k_d[AbAg] = 0,$$

amiből

$$[AbAg] = \frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d}.$$

Az egyensúlyi helyzet stabilitását a 8. Tétel alapján a differenciálegyenlet jobb oldala $[AbAg]$ szerinti deriváltjának előjele dönti el, ami

$$\frac{d}{d[AbAg]}\Big(-(k_a[Ab]_T + k_d)[AbAg] + k_a[Ab]_T[Ag]_T\Big) = -k_a[Ab]_T - k_d < 0$$

konstansfüggvény. Tehát a derivált előjele az egyensúlyi pontban is negatív, így a tétel alapján a differenciálegyenlet egyensúlyi pontja aszimptotikusan stabil. A megoldások (3.2) képlete is megadja az egyensúlyi pontot és mutatja annak globális aszimptotikus stabilitását.

Tehát azt kaptuk, hogy az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja az időben exponenciálisan tart az aszimptotikusan stabil egyensúlyához.

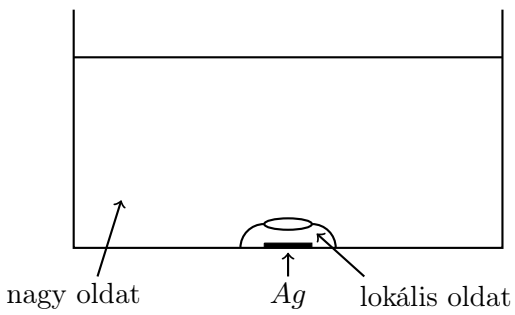
4. fejezet

Antigén-antitest reakciók modellezése kompartment-modellel három kompartment esetén

Ebben a fejezetben azt az esetet vizsgálom, amikor a kinyomtatott antigén körüli teljes oldat két részre van osztva, az antigén közvetlen környezetére, a lokális oldatra, és az oldat többi részére, a nagy oldatra. Feltesszük, hogy érvényesek ugyanazon feltételek, amelyeket az előző fejezet elején feltettünk.

4.1. A modell felállítása

A reakciót kompartment-modellel közelítjük. Három rekeszt használunk, melyek a kinyomtatott antigén és a belőle képződött immunkomplex, a lokális oldat, valamint a nagy oldat. Feltételezzük, hogy az antitestek eloszlása minden időpillanatban homogén mind a lokális, mind a nagy oldatban, valamint a képződő immunkomplex eloszlása is minden időpillanatban homogén a kinyomtatott antigénfelszínen.



Célunk azt megvizsgálni, hogy milyen módon változik a lokális oldatban és a nagy oldatban a szabad antitestek koncentrációja, valamint az antigén-antitest komplexek felszíni koncentrációja az antigénfelszínen az idő függvényében. Az ezeket befolyásoló tényezők az antigén- és antitest-molekulák között zajló reakciók, valamint az antitestek áramlása az oldatrészek között.

Jelölések:

- ismeretlen függvények:
  - $[AbAg]$: antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja, mol/cm^2
  - $[Ab]_l$: szabad antitestek koncentrációja a lokális oldatban, mol/cm^3
  - $[Ab]$: szabad antitestek koncentrációja a nagy oldatban, mol/cm^3

- konstansok:
  - $[Ab]_T$: a teljes oldat kezdeti antitest-koncentrációja, mol/cm^3
  - $[Ag]_T$: a szabad antigén kezdeti felszíni koncentrációja, mol/cm^2
  - k_a: az asszociáció sebességi állandója, cm^3/mol $\cdot$ s
  - k_d: a disszociáció sebességi állandója, 1/s
  - S: a kinyomtatott antigén felszíne, cm^2
  - S_l: a lokális oldat és a nagy oldat közös határának felszíne, cm^2
  - V: a teljes oldat térfogata, cm^3
  - V_l: a lokális oldat térfogata, cm^3
  - k: az antitestek kompartmentek közötti diffúziós együtthatója, cm/s

A konstansok mind nemnegatívak, az immunológiában vizsgált esetekben pozitívak.

A három rekeszes kompartment-modell három differenciálegyenlettel írja le a reakciót. Az első egyenlet az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációjának időbeli változását adja meg, amelyet hasonlóan az egyetlen differenciálegyenlet esetéhez, a kinyomtatott antigén felszínén történő első- és másodrendű kémiai reakciók befolyásolják. A második egyenlet a lokális oldatban jelenlévő szabad antitestek koncentrációjának időbeli változását írja le. Ezt a koncentrációt az asszociáció csökkenti, a disszociáció pedig növeli, valamint befolyásolja az antitestek diffúziója, amely során a két oldatrész között a koncentrációkülönbség hatására antitestek áramlanak a kisebb koncentrációjú részbe. Végül a harmadik egyenlet adja meg a szabad antitestek koncentrációjának időbeli változását a nagy oldatban, amelyre csak az antitestek diffúziója van hatással. A

reakciókinetikai fejezetben levezetett (2.3) egyenletet felhasználva a differenciálegyenlet-rendszer

$$\left.\begin{aligned}
&\frac{d}{dt}[AbAg] = k_a[Ab]_l\big([Ag]_T - [AbAg]\big) - k_d[AbAg] \\
&\frac{d}{dt}[Ab]_l = -k_a\frac{S}{V_l}[Ab]_l\big([Ag]_T - [AbAg]\big) + k_d\frac{S}{V_l}[AbAg] + \big([Ab] - [Ab]_l\big)\frac{S_l}{V_l}k \\
&\frac{d}{dt}[Ab] = -\Big([Ab] - [Ab]_l\Big)\frac{S_l}{V - V_l}k
\end{aligned}\right\} \tag{4.1}$$

A három egyenletből álló rendszer egy nemlineáris differenciálegyenlet-rendszer. Nemlinearitása miatt a pontos megoldását nem lehet kiszámolni, azonban az egyensúlyi helyzete vizsgálható. A 12. Definíció alapján a rendszernek ott van egyensúlyi pontja, ahol a differenciálegyenlet-rendszer jobb oldala nulla:

$$\left.\begin{aligned}
&k_a y\big([Ag]_T - [AbAg]\big) - k_d[AbAg] = 0 \\
&-k_a\frac{S}{V_l}[Ab]_l\big([Ag]_T - [AbAg]\big) + k_d\frac{S}{V_l}[AbAg] + \big([Ab] - [Ab]_l\big)\frac{S_l}{V_l}k = 0 \\
&-\Big([Ab] - [Ab]_l\Big)\frac{S_l}{V - V_l}k = 0
\end{aligned}\right\} \tag{4.2}$$

A harmadik egyenlet megoldásából kapjuk, hogy egyensúlyi helyzetben $[Ab] = [Ab]_l$. Így a második egyenletben az $\big([Ab] - [Ab]_l\big)\frac{S_l}{V_l}k$ tag kiesik, és két egyenlet marad két ismeretlennel:

$$\left.\begin{aligned}
&k_a[Ab]_l\big([Ag]_T - [AbAg]\big) - k_d[AbAg] = 0 \\
&-k_a\frac{S}{V_l}[Ab]_l\big([Ag]_T - [AbAg]\big) + k_d\frac{S}{V_l}[AbAg] = 0
\end{aligned}\right\}$$

Ez ekvivalens az alábbi egyetlen egyenlettel:

$$[Ab]_l = \frac{k_d[AbAg]}{k_a([Ag]_T - [AbAg])}. \tag{4.3}$$

Ebből látható, hogy a (4.2) egyenletrendszernek végtelen sok megoldása van, ami azt jelenti, hogy a differenciálegyenletrendszernek végtelen sok egyensúlyi pontja van. Ugyanis látni fogjuk, hogy a teljes oldat minden $[Ab]_T$ kezdeti antitest-koncentrációjához tartozik egy egyensúlyi pont.

4.2. Első integrál

A (4.1) differenciálegyenlet-rendszer első egyenletét S-sel, a másodikat V_l-lel, a harmadikat pedig $(V - V_l)$-lel szorozva, majd a kapott három egyenletet összeadva az eredmény

$$S\frac{d}{dt}[AbAg] + V_l\frac{d}{dt}[Ab]_l + (V - V_l)\frac{d}{dt}[Ab] = 0,$$

$$\frac{d}{dt}\Big(S[AbAg] + V_l[Ab]_l + (V - V_l)[Ab]\Big) = 0.$$

Tehát a

$$V([AbAg],[Ab]_l,[Ab]) = S[AbAg] + V_l[Ab]_l + (V - V_l)[Ab] \tag{4.4}$$

függvény első integrálja a (4.1) rendszernek.

Mivel a $t = 0$ helyen $[AbAg] = 0$, $[Ab]_l = [Ab]_T$ és $[Ab] = [Ab]_T$, ezért ezt a kezdeti feltételt teljesítő megoldásra minden t esetén

$$S[AbAg] + V_l[Ab]_l + (V - V_l)[Ab] = V[Ab]_T. \tag{4.5}$$

Ezt az eredményt naivan is megkaphatjuk. Ugyanis a teljes oldatban lévő antitestek száma, $V[Ab]_T$, kiszámolható az antigén-antitest komplexben ($S[AbAg]$), a lokális oldatban ($V_l[Ab]_l$) és a nagy oldatban ($(V - V_l)[Ab]$) lévő antitestek számának összegeként:

$$S[AbAg] + V_l[Ab]_l + (V - V_l)[Ab] = V[Ab]_T.$$

4.3. Kétdimenziós rendszer, egyensúlyi pontok és stabilitásvizsgálat

Az első integrál segítségével a (4.1) differenciálegyenlet-rendszert visszavezethetjük egy kétdimenziós rendszerre az alábbi módon. Új jelölést vezetek be az ismeretlen függvényekre: $x := [AbAg]$, $y := [Ab]_l$ és $z := [Ab]$, majd a (4.5)-ből kifejezem ($[Ab] - [Ab]_l$)-t:

$$\begin{aligned}
&S[AbAg] + V_l[Ab]_l + (V - V_l)[Ab] = V[Ab]_T \\
&S[AbAg] + (V - V_l)([Ab] - [Ab]_l) + V[Ab]_l = V[Ab]_T \\
&[Ab] - [Ab]_l = \frac{V[Ab]_T - S[AbAg] - V[Ab]_l}{V - V_l},
\end{aligned}$$

azaz

$$z - y = \frac{V[Ab]_T - Sx - Vy}{V - V_l}.$$

Ezt helyettesítem be a (4.2) egyenletrendszer második egyenletébe:

$$\left.\begin{aligned}
\dot{x} &= k_a y([Ag]_T - x) - k_d x \\
\dot{y} &= -k_a \frac{S}{V_l} y([Ag]_T - x) + k_d \frac{S}{V_l} x + \Big(\frac{V[Ab]_T - Sx - Vy}{V - V_l}\Big)\frac{S_l}{V_l} k
\end{aligned}\right\} \tag{4.6}$$

Az első egyenlet $\frac{S}{V_l}$-szeresét hozzáadva a másodikhoz

$$\Big(\frac{V[Ab]_T - Sx - Vy}{V - V_l}\Big)\frac{S_l}{V_l} k = 0.$$

Ebből kapunk egy újabb, az előzőtől különböző összefüggést $x = [AbAg]$ és $y = [Ab]_l$ között:

$$y = [Ab]_T - \frac{S}{V}x, \tag{4.7}$$

amelyet összevetve a (4.3)-mal másodfokú egyenletet kapunk x-re:

$$\frac{k_d x}{k_a\big([Ag]_T - x\big)} = [Ab]_T - \frac{S}{V}x$$

$$k_a\frac{S}{V}x^2 - \Big(k_a[Ab]_T + k_a\frac{S}{V}[Ag]_T + k_d\Big)x + k_a[Ab]_T[Ag]_T = 0. \tag{4.8}$$

Tehát a (4.6) rendszer egyensúlyi pontjainak első koordinátájára másodfokú egyenletet kaptunk, melynek mindkét megoldása a megoldóképlet szerint pozitív valós szám. Megmutatjuk, hogy az egyik megoldás $[Ag]_T$-nál nagyobb. A (4.8) egyenlet bal oldalán álló pozitív főegyütthatós másodfokú polinom értéke az $[Ag]_T$ helyen

$$k_a\frac{S}{V}[Ag]_T^2 - \Big(k_a[Ab]_T + k_a\frac{S}{V}[Ag]_T + k_d\Big)[Ag]_T + k_a[Ab]_T[Ag]_T = -k_d[Ag]_T < 0,$$

ezért a polinom két zérushelye közül a nagyobb $[Ag]_T$-nál nagyobb, a kisebb $[Ag]_T$-nál kisebb pozitív szám. A másodfokú egyenlet nagyobb gyökének nincs biológiai jelentése, a kisebb az immunfolyamat egyetlen lehetséges egyensúlyi állapotában az immunkomplex koncentrációja.

A biológiai jelentéssel bíró egyensúlyi pont stabilitása a 9. Tétel alapján vizsgálható. A (4.6) egyenletrendszer deriváltmátrixa:

$$J(x,y) = \begin{pmatrix} -k_a y - k_d & k_a[Ag]_T - k_a x \\ k_a\frac{S}{V_l}y + k_d\frac{S}{V_l} - \frac{S}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k & -k_a\frac{S}{V_l}[Ag]_T + k_a\frac{S}{V_l}x - \frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k \end{pmatrix}.$$

A deriváltmátrix adott pontbeli sajátértékeinek előjele meghatározható a mátrix nyoma és a determinánsa előjeléből. A mátrix nyoma

$$\mathrm{Tr}\big(J(x,y)\big) = -k_a y - k_d - ([Ag]_T - x)k_a\frac{S}{V_l} - \frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k.$$

A nyom a biológiai jelentéssel bíró egyensúlyi pontban négy negatív tag összege, tehát negatív. A mátrix determinánsa

$$\begin{aligned}\det\big(J(x,y)\big) =&(-k_a y - k_d)\Big(-k_a\frac{S}{V_l}[Ag]_T + k_a\frac{S}{V_l}x - \frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big) - \\ &- (k_a[Ag]_T - k_a x)\Big(k_a\frac{S}{V_l}y + k_d\frac{S}{V_l} - \frac{S}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big) = \\ =&(k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + k_a([Ag]_T - x)\frac{S}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k.\end{aligned}$$

Így a determináns a biológiai jelentéssel bíró egyensúlyi pontban három pozitív tag összege, ezért pozitív. Mivel a Jacobi-mátrix nyoma negatív, determinánsa pedig pozitív, ezért a sajátértékeinek valós része negatív. Tehát a differenciálegyenlet-rendszer biológiai jelentéssel bíró egyensúlyi pontja aszimptotikusan stabil. A 10. Tétel alapján az egyensúlyi pont típusát is meg lehet határozni. Mivel a sajátértékek valós része negatív, ezért az egyensúlyi pont vagy stabil csomó vagy stabil fókusz. Tehát meg kell vizsgálni, hogy a sajátértékek valósak vagy komplexek, amihez meg kell nézni a karakterisztikus egyenlet diszkriminánsának előjelét.

$$
\begin{aligned}
D =& \operatorname{Tr}^2\big(J(x,y)\big) - 4\det(J(x,y)) = \\
=&\Big(-k_a y - k_d - ([Ag]_T - x)k_a\frac{S}{V_l} - \frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big)^2 - \\
&- 4\Big((k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + k_a([Ag]_T - x)\frac{S}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big) = \\
=&k_a^2y^2 + k_d^2 + k_a^2\frac{S^2}{V_l^2}([Ag]_T - x)^2 - \frac{V^2}{(V-V_l)^2}\frac{S_l^2}{V_l^2}k^2 + \\
&+ 2\Big(k_a k_d y + k_a^2 y\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) + k_a y\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + \\
&+ k_d k_a\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) + k_d\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + k_a\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big) - \\
&- 4(k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k - 4k_a([Ag]_T - x)\frac{S}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k = \\
=&k_a^2y^2 + k_d^2 + ([Ag]_T - x)^2k_a^2\frac{S^2}{V_l^2} + \frac{V^2}{(V-V_l)^2}\frac{S_l^2}{V_l^2}k^2 + \\
&+ 2\Big(k_a k_d y + k_a^2 y\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) + k_d k_a\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x)\Big) - \\
&- 2(k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + 2k_a\frac{S}{V-V_l}([Ag]_T - x)\frac{S_l}{V_l}k\Big(\frac{V}{V_l} - 2\Big).
\end{aligned}
$$

Észrevehető, hogy a diszkriminánsban majdnem megegyezik a következő négyzettel:

$$
\Big(k_a y + k_d + k_a\frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) - \frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k\Big)^2,
$$

amely alsó becslése a diszkriminánsnak:

$$
\begin{aligned}
&k_a^2y^2 + k_d^2 + ([Ag]_T - x)^2 k_a^2 \frac{S^2}{V_l^2} + \frac{V^2}{(V-V_l)^2}\frac{S_l^2}{V_l^2}k^2 + \\
&+ 2\Big(k_a k_d y + k_a^2 y \frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) + k_d k_a \frac{S}{V_l}([Ag]_T - x)\Big) - \\
&- 2(k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k + 2k_a \frac{S}{V-V_l}([Ag]_T - x)\frac{S_l}{V_l}k\Big(\frac{V}{V_l} - 2\Big) > \\
>&k_a^2y^2 + k_d^2 + k_a^2 \frac{S^2}{V_l^2}([Ag]_T - x)^2 + \frac{V^2}{(V-V_l)^2}\frac{S_l^2}{V_l^2}k^2 + \\
&+ 2\Big(k_a k_d y + k_a^2 y \frac{S}{V_l}([Ag]_T - x) + k_d k_a \frac{S}{V_l}([Ag]_T - x)\Big) - \\
&- 2(k_a y + k_d)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k,
\end{aligned}
$$

$$
2k_a \frac{S}{V-V_l}([Ag]_T - x)\frac{S_l}{V_l}k\Big(\frac{V}{V_l} - 2\Big) > -2k_a \frac{S}{V_l}([Ag]_T - x)\frac{V}{V-V_l}\frac{S_l}{V_l}k,
$$

$$
V > V_l,
$$

amely igaz, hiszen így definiáltuk. Tehát a vizsgált négyzet valóban alsó becslése a diszkriminánsnak, amiből következik, hogy a diszkrimináns pozitív. Így a sajátértékek valósak, ezért a differenciálegyenlet-rendszer biológiai jelentést hordozó egyensúlyi pontja stabil csomó.

4.4. Kvalitatív tulajdonságok vizsgálata

Ebben a fejezetben olyan kvalitatív tulajdonságokat fogok belátni, amelyek az immunológusok számára nyilvánvalók. Ez megerősít abban, hogy a fejezetben tárgyalt modell viszonylag megfelelően írja le a vizsgált jelenséget.

1. Állítás. *A* (4.1) *differenciálegyenlet-rendszer* $([AbAg], [Ab]_l, [Ab])|_{t=0} = (0, [Ab]_T, [Ab]_T)$ *kezdeti feltételt kielégítő megoldására* $[AbAg]$ *szigorúan monoton növekvő, felső korlátja* $[Ag]_T$*, és* $[Ab] > [Ab]_l > 0$ $\mathbb{R}^+$*-n.*

Bizonyítás. Indirekt módon bizonyítom. Tegyük fel, hogy az állítás nem igaz. Ekkor egyrészt

$$
[AbAg]|_{t=0} = 0, \tag{4.9}
$$

és

$$
\frac{d}{dt}[AbAg]|_{t=0} = k_a[Ab]_l|_{t=0}[Ag]|_{t=0} = k_a[Ab]_T[Ag]_T > 0,
$$

ezért $t = 0$-nak van olyan jobb oldali környezete, ahol $t > 0$ esetén $[AbAg] > 0$.

Másrészt pedig

$$([Ab] - [Ab]_l)|_{t=0} = 0,$$

és a (4.1) rendszer, valamint a kezdeti feltétel szerint

$$\frac{d}{dt}([Ab] - [Ab]_l)|_{t=0} = \frac{S}{V_l} k_a [Ab]_T [Ag]_T > 0,$$

ezért $t = 0$-nak van olyan jobb oldali környezete is, ahol $t > 0$ esetén $[Ab] > [Ab]_l$.

Tegyük fel, hogy t_0 a legkisebb pozitív szám, hogy $\frac{d}{dt}[AbAg]|_{t=t_0} = 0$ vagy $[AbAg]|_{t=t_0} = [Ag]_T$ vagy $[Ab]|_{t=0} = [Ab]_l|_{t=t_0}$vagy $[Ab]_l = 0$. Ekkor négy eset lehetséges:

1. $[Ab] > [Ab]_l$, $[AbAg] < [Ag]_T$ és $[Ab]_l \geq 0$ t_0-ban, valamint t_0 a legkisebb olyan pozitív szám, melyre $\frac{d}{dt}[AbAg] = 0$.

   Ekkor a (4.1) első és második egyenlete, valamint a feltételek szerint t_0-ban

   $$\frac{d^2}{dt^2}[AbAg] = k_a[Ag]\frac{d}{dt}[Ab]_l + k_a[Ab]_l\frac{d}{dt}[Ag] - k_d\frac{d}{dt}[AbAg] = k_a[Ag]\Big(([Ab] - [Ab]_l)\frac{S_l}{V_l}k\Big) > 0.$$

   Tehát $\frac{d}{dt}[AbAg] = 0$ és $\frac{d^2}{dt^2}[AbAg] > 0$ t_0-ban, ezért $[AbAg]$-nek t_0-ban szigorú lokális minimuma van, ami ellentmondás.

2. $\frac{d}{dt}[AbAg] > 0$ t_0-ban, valamint t_0 a legkisebb pozitív szám, amelyre $[Ab] = [Ab]_l$. Ekkor a (4.1) második és harmadik, majd az első egyenlete alapján t_0-ban

   $$\frac{d}{dt}([Ab] - [Ab]_l) = \frac{S}{V_l}\Big(k_a[Ab]_l[Ag] - k_d[AbAg]\Big) = \frac{S}{V_l}\frac{d}{dt}[AbAg] > 0.$$

   Ezért t_0 egy bal oldali környezetében $t < t_0$ esetén $[Ab] - [Ab]_l < 0$, ami ellentmondás, hiszen feltettük, hogy t_0 a legkisebb pozitív szám, ahol $[Ab] = [Ab]_l$, valamint tudjuk, hogy kis pozitív t-re $[Ab] > [Ab]_l$, így a Bolzano-tétel szerint 0 és t_0 között is lenne zérushelye az $[Ab] - [Ab]_l$ függvénynek.

3. $\frac{d}{dt}[AbAg] = 0$ és $[Ab] = [Ab]_l$ t_0-ban. Ekkor t_0-ban a vizsgált megoldás értéke egyensúlyi pont, amiből következik, hogy minden t-re e megoldás az egyensúlyi pontban van, ami ellentmondás, mert láttuk, hogy $t = 0$ egy környezetében $[AbAg]$ szigorúan monoton növekszik.

4. $\frac{d}{dt}[AbAg] \geq 0$ $(0, t_0)$-n és a $t_0 > 0$ pontban $[AbAg] = [Ag]_T$ vagy $[Ab]_l = 0$, akkor a (4.1) rendszer első egyenlete szerint t_0-ban $\frac{d}{dt}[AbAg] = -k_d[AbAg] < 0$, ami ellentmondás, hiszen $[AbAg]$ folytonosan differenciálható függvény és $\frac{d}{dt}[AbAg] > 0$ $(0, t_0)$-n.

$\square$

2. Állítás. $[Ab]_T > [Ab]$ $\mathbb{R}^+$-*n.*

Bizonyítás. $[Ab]|_{t=0} = [Ab]_T$ a kezdeti feltétel szerint és az előbb láttuk, hogy $[Ab] - [Ab]_l > 0$ $\mathbb{R}^+$-n, így a (4.1) rendszer harmadik egyenlete alapján $[Ab]$ szigorúan monoton csökkenő függvény, tehát valóban igaz, hogy $[Ab] < [Ab]_T$ $\mathbb{R}^+$-n. $\square$

5. fejezet

A reakció vizsgálata tetszőleges számú kompartment esetén

Ebben a fejezetben a modellt tetszőleges számú kompartment esetére kiterjesztem, vagyis tetszőleges számú (n) lokális oldat mellett, és a kapott differenciálegyenlet-rendszernek megkeresem az egyensúlyi pontjait.

Ebben az esetben a reakciótartály aljára kinyomtatott antigén körül több lokális oldat, valamint egy nagy oldat van. Ezek közül semelyik kettőnek nincs közös belső pontja és az uniójuk a teljes oldat. Feltesszük, hogy a lokális oldatok véges sorozatában mindegyiknek csak a sorozatban szomszédos lokális oldattal van közös határa, emellett csak az elsőnek az antigénfelszínnel is, és csak az utolsónak a nagy oldattal is. Így a kompartmentek: a kinyomtatott antigén és a belőle képződött immunkomplex, az egyes lokális oldatok, valamint a nagy oldat. Legyen továbbá mindegyik lokális oldat karakterisztikus távolsága azonos, ekkor a szomszédos oldatrészek közötti diffúziós együttható is azonos.

Jelölje az l_1 index a legkisebb lokális oldatot, vagyis azt, amelyik a kinyomtatott antigén közvetlen környezete, l_2 a nála eggyel nagyobbat és így folytatva l_n jelölje a legnagyobb lokális oldatot. A lokális oldatokhoz tartozó felszínek és térfogatok, valamint a szabad antitestek koncentrációi is a megfelelő indexekkel vannak jelölve. $[AbAg]$ továbbra is az immunkomplex felszíni koncentrációja, $[Ab]$ pedig a nagy oldatban lévő szabad antitestek koncentrációja. Az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációjának, valamint a legkisebb lokális oldatban és a nagy oldatban lévő szabad antitestek koncentrációjának időbeli változására vonatkozó differenciálegyenletekben érdemi változás nincs a három kompartment esetéhez képest, hiszen ugyanazok a folyamatok befolyásolják a koncentrációkat az általános esetben is, mint három kompartment-

nél. Azonban bejönnek új, a köztes lokális oldatokban lévő antitestek koncentrációjának időbeli változását leíró egyenletek a rendszerbe. Ezeket csak a diffúzió befolyásolja, amely ezekben az oldatrészekben két irányba történhet, az egyik vagy a másik szomszédos oldatrész felé. Tehát a differenciálegyenlet-rendszer ebben az esetben

$$\left.\begin{aligned}
\tfrac{d}{dt}[AbAg] &= k_a[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) - k_d[AbAg] \\
\tfrac{d}{dt}[Ab]_{l_1} &= -k_a\tfrac{S}{V_{l_1}}[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) + k_d\tfrac{S}{V_{l_1}}[AbAg] + \big([Ab]_{l_2} - [Ab]_{l_1}\big)\tfrac{S_{l_1}}{V_{l_1}}k \\
\tfrac{d}{dt}[Ab]_{l_2} &= -\big([Ab]_{l_2} - [Ab]_{l_1}\big)\tfrac{S_{l_1}}{V_{l_2}}k + \big([Ab]_{l_3} - [Ab]_{l_2}\big)\tfrac{S_{l_2}}{V_{l_2}}k \\
&\vdots \\
\tfrac{d}{dt}[Ab]_{l_n} &= -\big([Ab]_{l_n} - [Ab]_{l_{n-1}}\big)\tfrac{S_{l_{n-1}}}{V_{l_n}}k + \big([Ab] - [Ab]_{l_n}\big)\tfrac{S_{l_n}}{V_{l_n}}k \\
\tfrac{d}{dt}[Ab] &= -\Big([Ab] - [Ab]_{l_n}\Big)\tfrac{S_{l_n}}{V-(V_{l_1}+V_{l_2}+\ldots+V_{l_n})}k
\end{aligned}\right\} \tag{5.1}$$

Első integrál ebben az esetben

$$S[AbAb] + V_{l_1}[Ab]_{l_1} + V_{l_2}[Ab]_{l_2} + \ldots + V_{l_n}[Ab]_{l_n} + (V - (V_{l_1} + V_{l_2} + \ldots + V_{l_n}))[Ab] = V[Ab]_T, \tag{5.2}$$

amit az első egyenlet S-szeresét, a második V_{l_1}-szeresét,..., az utolsó egyenlet $V - (V_{l_1} + \ldots + V_{l_n})$-szeresét összeadva láthatunk be. Az első integrál segítségével ebben az esetben is eggyel redukálhatjuk az egyenletrendszer dimenzióját.

Az egyensúlyi pontokat is a három kompartmentre vonatkozó rendszeréhez hasonlóan számítjuk ki. Az (5.1) rendszernek a 12. Definíció alapján egyensúlyi pontja ott van, ahol

$$\left.\begin{aligned}
k_a[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) - k_d[AbAg] &= 0 \\
-k_a\tfrac{S}{V_{l_1}}[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) + k_d\tfrac{S}{V_{l_1}}[AbAg] + \big([Ab]_{l_2} - [Ab]_{l_1}\big)\tfrac{S_{l_1}}{V_{l_1}}k &= 0 \\
-\big([Ab]_{l_2} - [Ab]_{l_1}\big)\tfrac{S_{l_1}}{V_{l_2}}k + \big([Ab]_{l_3} - [Ab]_{l_2}\big)\tfrac{S_{l_2}}{V_{l_2}}k &= 0 \\
&\vdots \\
-\big([Ab]_{l_n} - [Ab]_{l_{n-1}}\big)\tfrac{S_{l_{n-1}}}{V_{l_n}}k + \big([Ab] - [Ab]_{l_n}\big)\tfrac{S_{l_n}}{V_{l_n}}k &= 0 \\
-\Big([Ab] - [Ab]_{l_n}\Big)\tfrac{S_{l_n}}{V-(V_{l_1}+V_{l_2}+\ldots+V_{l_n})}k &= 0
\end{aligned}\right\}$$

Az utolsó egyenlet megoldásából azt kapjuk, hogy egyensúlyi helyzetben $[Ab] = [Ab]_{l_n}$, így az előtte lévő egyenlet második tagja nulla. Ekkor az utolsó előtti egyenlet megoldásából az jön ki, hogy egyensúlyi helyzetben $[Ab]_{l_n} = [Ab]_{l_{n-1}}$, vagyis az előtte lévő egyenlet második tagja szintén nulla. Így haladva végig az egyenleteken megkapjuk, hogy egyensúlyi helyzetben $[Ab] = [Ab]_{l_n} = [Ab]_{l_{n-1}} = \ldots = [Ab]_{l_2} = [Ab]_{l_1}$, azaz az összes oldatrészben azonos a szabad

antitestek koncentrációja. Emellett az első két egyenlet

$$\left.\begin{aligned} \tfrac{d}{dt}[AbAg] &= k_a[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) - k_d[AbAg] = 0 \\ \tfrac{d}{dt}[Ab]_{l_1} &= -k_a\tfrac{S}{V_{l_1}}[Ab]_{l_1}([Ag]_T - [AbAg]) + k_d\tfrac{S}{V_{l_1}}[AbAg] = 0 \end{aligned}\right\}$$

Ebből az egyenletrendszerből kapunk egy (4.3)-hoz hasonló összefüggést $[Ab]_{l_1}$ és $[AbAg]$ között:

$$[Ab]_{l_1} = \frac{k_d[AbAg]}{k_a([Ag]_T - [AbAg])}. \tag{5.3}$$

Ezután, a három kompartmentre vonatkozó esethez hasonlóan, felhasználom a kezdeti antitest-koncentráció értékét és a kapott első integrált. Mivel tudjuk, hogy egyensúlyi helyzetben az összes oldatrészben megegyezik a szabad antitestek koncentrációja, így az (5.2) egyenletben mindenhova $[Ab]_{l_1}$-t írva kapom, hogy:

$$\begin{aligned} S[AbAb] + V_{l_1}[Ab]_{l_1} + \ldots + V_{l_n}[Ab]_{l_1} + (V - (V_{l_1} + \ldots + V_{l_n}))[Ab]_{l_1} &= V[Ab]_T \\ S[AbAg] + (V_{l_1} + \ldots + V_{l_n} + (V - (V_{l_1} + \ldots + V_{l_n})))[Ab]_{l_1} &= V[Ab]_T \\ S[AbAg] + V[Ab]_{l_1} &= V[Ab]_T, \end{aligned}$$

amelyből kapunk egy új összefüggést:

$$[Ab]_{l_1} = [Ab]_T - \frac{S}{V}[AbAg]. \tag{5.4}$$

Az (5.3) és az (5.4) eredményeket összevetve:

$$\frac{k_d[AbAg]}{k_a([Ag]_T - [AbAg])} = [Ab]_T - \frac{S}{V}[AbAg],$$

amelyből az $x = [AbAg]$ helyettesítéssel kapunk x-re egy másodfokú egyenletet:

$$k_a\frac{S}{V}x^2 - \Big(k_a[Ab]_T + k_a\frac{S}{V}[Ag]_T + k_d\Big)x + k_a[Ag]_T[Ab]_T = 0, \tag{5.5}$$

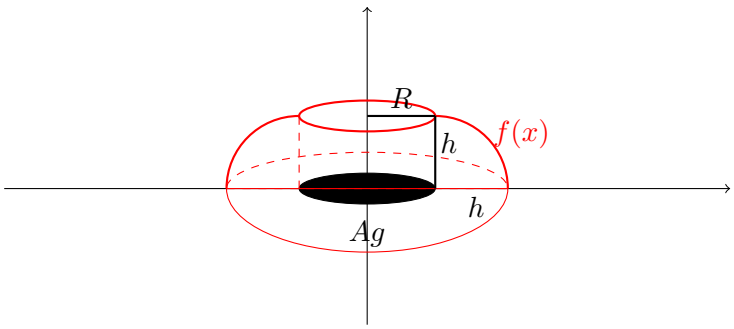
Ez az egyenlet ugyanaz, mint a korábbi (4.8) másodfokú egyenlet, vagyis az n számú lokális oldat esetére vonatkozó differenciálegyenlet-rendszer egyensúlyi pontjának első koordinátája megegyezik az egyetlen lokális oldatra vonatkozó rendszer egyensúlyi pontjának első koordinátájával. Innen a (4.7) és az (5.4) összefüggések szerint biológiai jelentését tekintve tetszőleges kompartment esetén ugyanarra az egyensúlyi helyzetre jutottunk, ahol az összes lokális oldatban megegyezik a szabad antitestek koncentrációja, és az egyensúlyi pont az (5.5) egyenlet kisebb gyöke.

6. fejezet

Numerikus szimulációk

6.1. A lokális oldat

Dolgozatom elkészítésekor a célom az volt, hogy a gyakorlati alkalmazhatóság érdekében a valóságot minél jobban megközelítő modellt építsek fel. Ennek érdekében fontos volt a lokális oldat biokémiai és fizikai paramétereinek minél pontosabb beállítása. Kézenfekvő a lokális oldatot a kinyomtatott antigéntől legfeljebb egy adott (h) távolságra lévő pontok halmazának választani, amely nagyságrendekkel kisebb legyen, mint a nagy oldat térfogata. Mivel a kinyomtatott antigén nem pontszerű, hanem köralakban egy felszínt alkotva terül el, így egy olyan alakzatnak vettem a lokális oldatot, amelynek a teteje a kinyomtatott antigén felszínével azonos R sugarú és a felszíntől h távolságra lévő körlap, az „oldala” pedig egy h sugarú negyedkörív megforgatásával kapott alakzat. A következő ábra szemlélteti az egy lokális oldatot,



ahol $f(x) = R + \sqrt{h^2 - x^2}$, $0 \leq x \leq h$ negyedkörívet megadó függvény (a szimmetriatengely az x tengely). Határozzuk meg az egy lokális oldat felszínét és térfogatát!

A függvény grafikonjának megforgatásával kapott forgástest palástjának felszínét (S_f) és

térfogatát (V_f) a következő képletekkel lehet kiszámolni:

$$S_f = 2\pi \int_0^h f(x)\sqrt{1+(f'(x))^2}dx$$

$$V_f = \pi \int_0^h f^2(x)dx.$$

Azaz

$$\begin{aligned} S_f &= 2\pi \int_0^h \left(R+\sqrt{h^2-x^2}\right)\sqrt{1+\frac{x^2}{h^2-x^2}}dx = \\ &= 2\pi \int_0^h \left(R+\sqrt{h^2-x^2}\right)\sqrt{\frac{h^2}{h^2-x^2}}dx = \\ &= Rh\pi^2 + 2h^2\pi \end{aligned}$$

és

$$\begin{aligned} V_f &= \pi \int_0^h \left(R^2+h^2-x^2+2R\sqrt{h^2-x^2}\right)dx = \\ &= \frac{2h^3\pi}{3} + \frac{Rh^2\pi^2}{2} + R^2h\pi. \end{aligned}$$

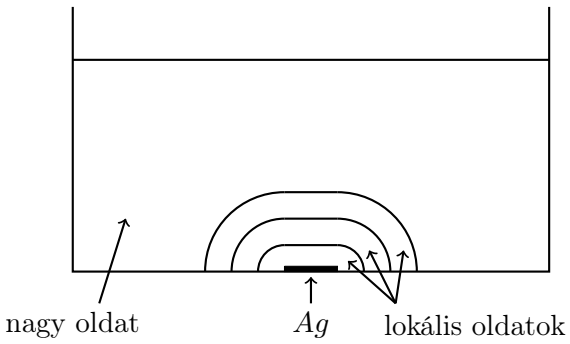
Így az első lokális oldat felszíne (S_{l_1}) és térfogata (V_{l_1})

$$S_{l_1} = S_H + S_f = \left(R^2 + Rh\pi + 2h^2\right)\pi \tag{6.1}$$

$$V_{l_1} = V_H + V_f = \left(2R^2h + \frac{2h^3}{3} + \frac{Rh^2\pi}{2}\right)\pi, \tag{6.2}$$

ahol S_H a henger alapjának felszíne és V_H a henger térfogata.

Háromnál több kompartment, azaz több, j számú lokális oldat esetén legyen az i-edik lokális oldat az olyan pontok halmaza, amelyek a kinyomtatott antigén felszínétől legalább $(i-1)h$, de legfeljebb ih távolságra vannak, ahol $h > 0$.



Ennek oka az, hogy ezekkel az adatokkal a szomszédos lokális oldatok közötti diffúziós együtthatónak az értéke ugyanaz. Így az i-edik lokális oldat felszíne

$$S_{l_i} = \Big(R^2 + Rih\pi + 2(ih)^2\Big)\pi.$$

Jelölje W_i az első i lokális oldatok össztérfogatát, amely a (6.2) képlet alapján számolható, azaz

$$W_i = \Big(2R^2ih + \frac{2(ih)^3}{3} + \frac{R(ih)^2\pi}{2}\Big)\pi.$$

Ekkor az i-edik lokális oldat térfogata

$$\begin{aligned} V_{l_i} &= W_i - W_{i-1} = \\ &= \Big(2R^2ih + \frac{2(ih)^3}{3} + \frac{R(ih)^2\pi}{2}\Big)\pi - \Big(2R^2(i-1)h + \frac{2((i-1)h)^3}{3} + \frac{R((i-1)h)^2\pi}{2}\Big)\pi = \\ &= \Big(2R^2h + \frac{2}{3}(i^3 - (i-1)^3)h^3 + (i^2 - (i-1)^2)\frac{Rh^2\pi}{2}\Big)\pi. \end{aligned}$$

6.2. Diffúzió limitált eset

Egy kémiai folyamat sebességét mindig a leglassabb részfolyamat határozza meg. A vizsgált modell esetén két dolog gátolhatja az immunkomplex képződését. Egyrészt a diffúzió, amikor az oldatrészek között lassú a molekulaáramlás, ezt hívják diffúzió limitált reakciónak. Másrészt a konvekció, amikor a molekulák között végbemenő kémiai reakciók, jelen esetben az asszociáció és a disszociáció, zajlanak lassabban, mint a diffúzió. Ezt konvekció limitált reakciónak nevezzük. Ezekre az esetekre mutatok példát. Mivel az oldatrészek közötti koncentrácókülönbség által indukált molekulaáramlás oldatrészek közötti diffúziós együtthatójára nem ismertem adatokat, k-t változtattam, és megfigyeltem, hogy hogyan befolyásolja a reakciót. Ezek közül azokat a konkrét eseteket választottam ki, amelyek immunológiai szempontból érdekes eredményt adtak.

Ebben az alfejezetben a diffúzió limitált esetet mutatom be három kompartment esetén. Az asszociáció és disszociáció reakció sebességi állandójára felhasznált pontos adatokat a [3] cikkből vettem, ahol a Salmonella baktérium elleni négyféle monoklonális antitest reakciósebességi állandóit határozták meg. A kinyomtatott antigén felszíne sugarának, valamint a teljes oldat térfogatának az ELISA-immunesszénél alkalmazott értékeket vettem. A szimulációk során egyértelműen lehetett látni, hogy a h értéke nagyban befolyásolja a kapott eredményeket. Mivel egy antitest molekula mérete 10^{-6} cm nagyságrendű, így h-t mindenképpen ennél nagyobbnak kell venni. A következő adatokkal dolgoztam: $R = 0,025$ cm a kinyomtatott antigén felszínének sugara, $S = 1,96 \cdot 10^{-3}$ cm^2 a kinyomtatott antigén felszíne, $V = 0,1$ cm^3 a teljes oldat térfogata,

$k_a = 1,57 \cdot 10^6$ cm^3/mol $\cdot$ s az asszociáció, $k_d = 3,98 \cdot 10^{-5}$ 1/s pedig a disszociáció sebességi állandója, végül $h_1 = 10^{-5}$ cm az egy lokális oldat határának az antigénfelszíntől vett távolsága, így a felszíne és térfogata: $S_{l_1} = 1,97 \cdot 10^{-3}$ cm^2 és $V_{l_1} = 3,93 \cdot 10^{-8}$ cm^3.

Az alábbi futtatásoknál $k = 10^{-4}$ cm/s-ot vettem. A 6.1 ábrán narancssárga karikával látható a lokális oldatban lévő szabad antitestek koncentrációjának időbeli változása és kék csillaggal az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja az idő függvényében. Mivel az antigénkoncentráció az antitestkoncentráció ezredrésze, így az ábrán a komplex felszíni koncentrációjának ezerszerese látható a reakció kezdeti szakaszában. A 6.2, nagyobb léptékű ábrán az előbb leírtakon kívül sárga vonallal kirajzoltam a komplex felszíni koncentrációjának időbeli változásának ezerszeresét abban az esetben, amikor nincs lokális oldat. Ebben az esetben ugyanis, a harmadik fejezetben leírtak alapján, tudjuk a pontos megoldást. Az ábrákon jól látható, hogy ezen paraméterek mellett a reakció nagyon gyors, tehát a komplex felszíni koncentrációja hirtelen megugrik, aminek következtében a lokális oldat hamar kimerül, és mivel a nagy oldat csak lassan képes pótolni a lokális oldatot, ezért a komplex felszíni koncentrációjának változása idővel lelassul. A 6.2 ábra jól szemlélteti, hogy hogyan lassítja a diffúzió az immunkomplex képződését (narancssárga folyamatos görbe vs. kék pöttyök).

Tehát diffúzió hatására később következik be az egyensúly.

6.3. Konvekció limitált eset

Ebben az alfejezetben a konvekció limitált esetet mutatom be szintén három kompartment esetén. Az egyes paraméterek értékei megegyeznek az előző alfejezetben leírtakkal, azonban itt $k = 10^{-2}$ cm/s. A konvekció limitált reakció azt eredményezi, hogy mivel a diffúzió gyorsabban zajlik, mint az asszociáció, illetve a disszociáció, így a lokális oldat nem tud jelentős mértékben kimerülni, hiszen a nagy oldat gyorsan pótolja a hiányt. Ez a jelenség figyelhető meg a 6.3. ábrán, ahol szintén narancssárga karikával látható a lokális oldatban lévő szabad antitestek koncentrációja az idő függvényében és kék csillaggal az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációjának ezerszerese, mint az idő függvénye. Mivel ebben az esetben a kinyomtatott antigén körül minden időpillanatban elegendő antitest-molekula van, így a komplex felszíni koncentrációját közelítőleg negatív kitevős exponenciális függvény írja le.

Ebben az esetben gyorsabban éri el a rendszer az egyensúlyi helyzetét.

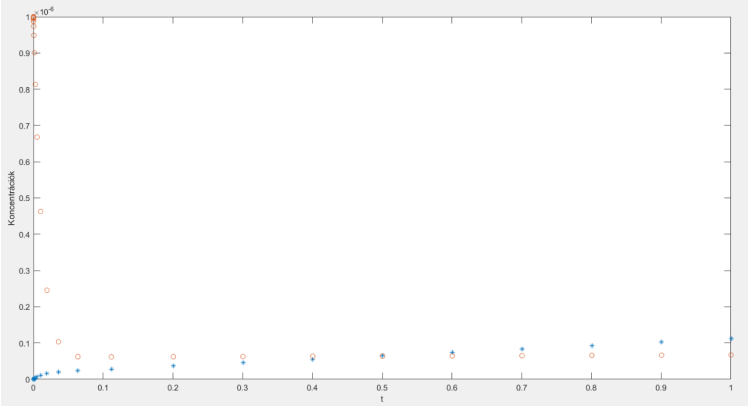
Egy olyan köztes esetet is bemutatok $k = 10^{-3}$ cm/s mellett, amikor sem diffúzió limitált, sem konvekció limitált, hanem a reakció a kettő között zajlik. Ennél az esetnél látható a 6.4.

ábrán, hogy a lokális oldat közepes mértékben merül ki, de aztán jelentős ütemben növekszik a lokális oldatbeli szabad antitestek koncentrációja.

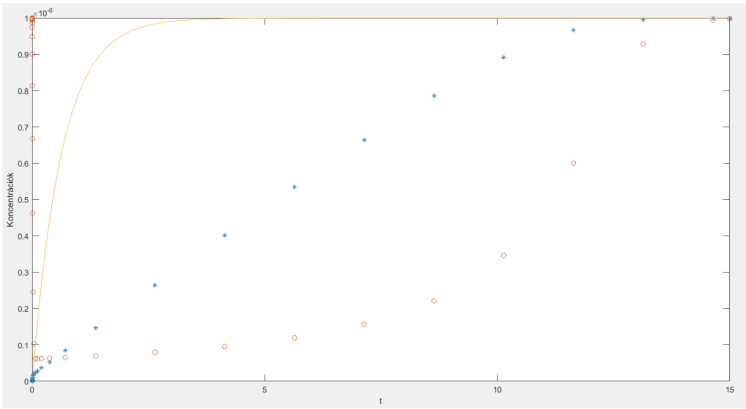
6.4. Az immunkomplex felszíni koncentrációja három és négy kompartment esetén

Ebben a fejezetben azt szemléltetem, hogy mennyire befolyásolja az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációjának időbeli változását az, hogy a teljes oldatot hány részre osztjuk. Ugyanazokkal az adatokkal dolgoztam ebben az esetben is, mint korábban $k = 10^{-3}$ cm/s mellett. Négy kompartment esetén a nagyobb lokális oldatnak a kinyomtatott antigéntől vett távolságát $h_2 = 2 * h_1 = 2 \cdot 10^{-5}$ cm-nek vettem, tehát a felszíne és térfogata: $S_{l_2} = 1,97 \cdot 10^{-3}$ cm^2 és $V_{l_2} = 3,93 \cdot 10^{-8}$ cm^3. A 6.5. ábrán a komplex felszíni koncentrációját sárga vonnallal jelölöm abban az esetben, amikor nincs lokális oldat, kék csillaggal három, és narancssárga plusszal négy kompartment esetén.

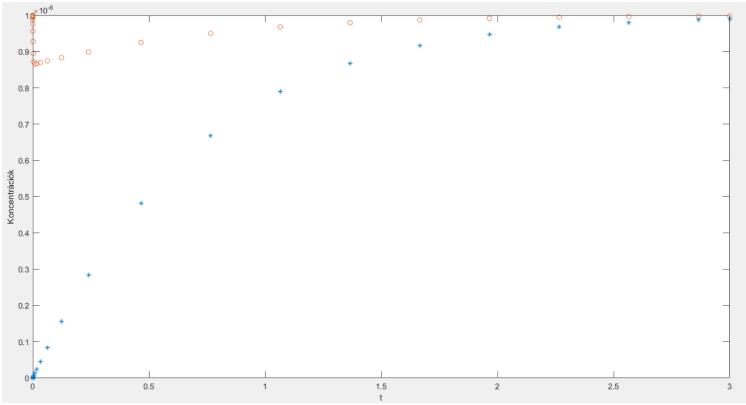
Az utolsó 6.6. ábra négy kompartment esetén szemlélteti az immunkomplex felszíni koncentrációjának ezerszeresét és a két lokális oldatban lévő szabad antitestek koncentrációját az idő függvényében. Jól látható, hogy a paraméterek ezen megválasztásával a két lokális oldat hasonlóan viselkedik, közel egyformán merülnek ki és töltődnek vissza. Mint a diffúzió limitált esetben is, itt is először hirtelen megugrik az immunkomplex felszíni koncentrációja és vele párhuzamosan merülnek ki a lokális oldatok, aztán lelassulnak a folyamatok.



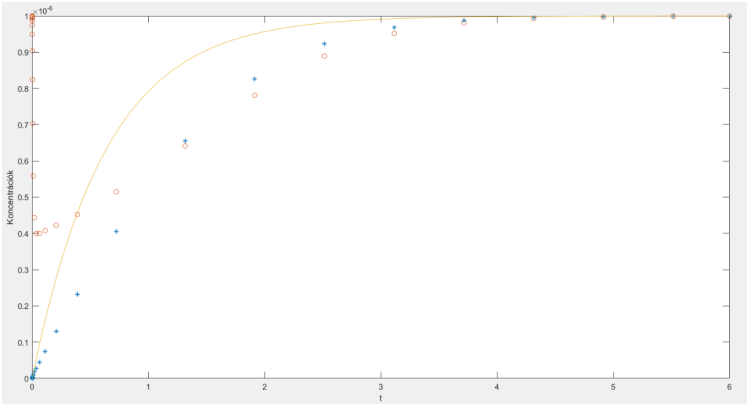
6.1. ábra. Diffúzió limitált első ábra



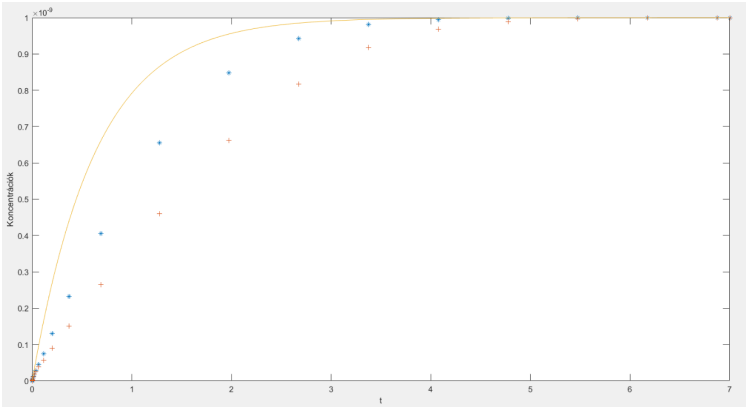
6.2. ábra. Diffúzió limitált második ábra



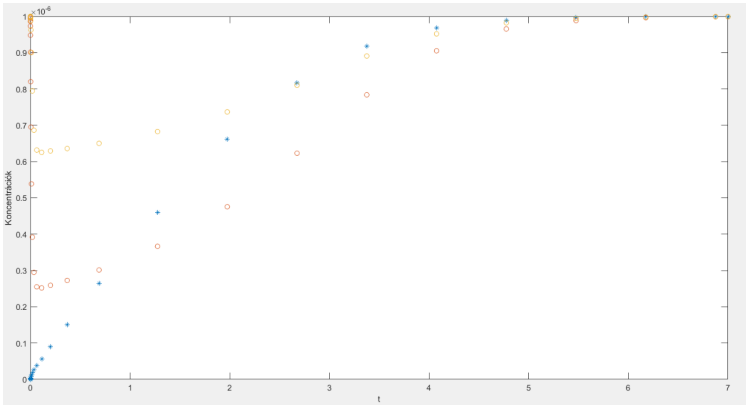
6.3. ábra. Konvekció limitált eset



6.4. ábra. Köztes eset



6.5. ábra. Immunkomplex felszíni koncentrációja három és négy kompartment esetén



6.6. ábra. A reakció négy kompartment esetén

Irodalomjegyzék

[1] Benyó B., Benyó Z., Paláncz B., Szilágyi L., Ferenci T., *Műszaki és biológiai rendszerek elmélete*, 3.fejezet: Kompartment (rekesz) modellek és alkalmazástechnikájuk, Typotex Kiadó, 2014.

[2] Jay A. Berzofsky, Ira J. Berkower, Suzanne L. Epstein, *Thermodynamics and kinetics*, Fundamental Immunology, Lippincott Williams & Wilkins, 2003., `http://lvts.fr/Pages_html/Encyclopedies/FundamentalImmunology/ramiCOMMAND=applyStylesheet(interface.xsl,pau@CH004S0102.pub)&p_userid=pau.html`

[3] Devendra Bhandari, Fur-Chi Chen, Shreya Hamal, Roger C. Bridgman, *Kinetic Analysis and Epitope Mapping of Monoclonal Antibodies to Salmonella Typhimurium Flagellin Using a Surface Plasmon Resonance Biosensor*, Antibodies, 2019.

[4] Derényi I., *A biofizika alapjai*, 2013., `http://derenyi.web.elte.hu/A_biofizika_alapjai.pdf`

[5] Erdei A., Sármay G., Prechl J., *Immunológia*, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2012.

[6] Laczkovich M., T. Sós V., *Analízis I-II.*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2006-2007.

[7] Pfeil T., *Antigén-antitest reakciók vizsgálata felszínhez kötött antigén esetén*, kézirat, Budapest, 2018.

[8] John J. Rhoden, Gregory L. Dyas, and Victor J. Wroblewski, *A Modeling and Experimental Investigation of the Effects of Antigen Density, Binding Affinity, and Antigen Expression Ratio on Bispecific Antibody Binding to Cell Surface Targets*, J Biol Chem. 2016 May 20; 291(21): 11337–11347., `https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4900278/`

[9] G. Söderlind, *Automatic control and adaptive time-stepping*, Numerical Algorithms 31 (1-4), 281-310, 2002.

[10] G. Söderlind, *Digital filters in adaptive time-stepping*, ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS) 29 (1), 1-26, 2003.

[11] Tóth J., Simon L. P., *Differenciálegyenletek, Bevezetés az elméletbe és az alkalmazásokba*, Typotex Kiadó, Budapest, 2005.

[12] *Immunológia Alapjai*,
`http://www.immuntananyag.pte.hu`

[13] *Introduction to Compartment Models*, Kinetic Modelling,
`http://www.pmod.com/files/download/v31/doc/pkin/4614.htm`

[14] *Overview of ELISA*, ThermoFisher Scientific,
`https://www.thermofisher.com/hu/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html#2`

[15] *B-limfocita*,
`https://hu.wikipedia.org/wiki/B-limfocita`

[16] *ELISA*,
`https://en.wikipedia.org/wiki/ELISA`

[17] *Immunrendszer*,
`https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunrendszer`

[18] *Reakciókinetika*,
`https://hu.wikipedia.org/wiki/Reakciókinetika`

[19] *T-limfocita*,
`https://hu.wikipedia.org/wiki/T-limfocita`