

جلد ۱۲ - رویه ۵۹

شبیه سازی و مدلسازی چند مرحله ای اندرکنشهای موجود در اینمنی سلولی

^۱حبیب رجبی مشهدی، ^۲امیر صادقی زاده، ^۳جلیل توکل افشاری

۱- دکترای مهندسی برق و استادیار گروه برق دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد مشهد

۳- دکترای اینمولوژی و دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد و رییس بخش اینمولوژی پژوهشکده بوعالی مشهد

E-mail:

* sadeghizadeh@moniran.co.ir

چکیده

در اینجا مدلی تصادفی با ساختاری چند مرحله ای از پاسخ لنفوسيتهای نوع T به آنتی ژن به همراه حافظه موجود در سیستم اینمنی ارائه شده است. همچنین دینامیک های اساسی این سیستم نظیر آلودگی ویروسی، تحریک شدن لنفوسيتها، زاد و ولد و همانند سازی مدل شده است. این مدل قادر است دینامیک های مختلف مربوط به جمعیت T-cell ها را به وسیله گیرنده های آنها که به صورت رشته بیتی در نظر گرفته شده است، شبیه سازی نماید. کمپلکس های MHC و پپتید ویروس نیز به روش رشته های برای محاسبه میزان قرابت گیرنده های T-cell از قانون جفت شدن رشته های بیتی استفاده شده است.

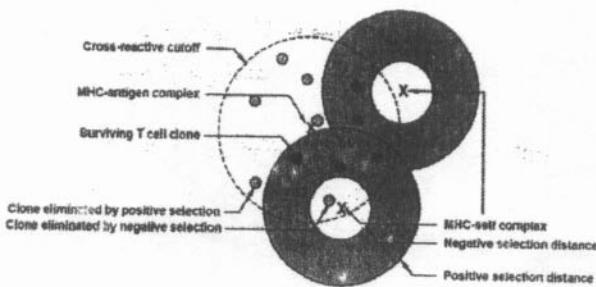
واژه های کلیدی: سیستم اینمنی، لنفوسيتهای نوع T، مدلسازی چند مرحله ای

آزمایشات، مدل های ریاضی سیستم اینمنی امروزه بسیار مورد توجه اینمولوژیستها قرار گرفته است و در دهه های اخیر تحقیقات در زمینه هوش مصنوعی با الهام از پدیده های حیاتی بسیار توسعه یافته است. در اینجا بر مبنای نتایج تجربی متعدد بدست آمده مدلی تصادفی از پاسخ لنفوسيتهای نوع T به آنتی ژنها ارائه شده است. هدف اختصاصی ما باکارگرفتن مدل برای فراهم آوردن دیدگاهی نسبت به پاتولوژی و درمانهای مؤثر بیماری هایی نظیر ایدز، آنفولانزا، سرطان و اختلالات خود ایمن می باشد. مدل ارائه شده مدلی است با ساختاری شامل چند مرحله و کارآمد از دیدگاه محاسباتی در پاسخ سلولی سیستم اینمنی که ما را قادر می سازد تا ویژگی های بیولوژیکی T-cell ها را به سادگی بررسی کنیم و امکان پیش بینی های کمی به وسیله مدل فراهم می شود.

۱- مقدمه

در قرون گذشته، تحقیقات انجام شده منجر به روشن شدن حقایق جالب توجهی در زمینه سیستم اینمنی شده است. با این حال هنوز به یک تئوری متمرکز که کلیه واقعیات را در برگیرد دست یافته نشده است. شبیه سازی سیستم اینمنی در کامپیوتر راهکار نوینی را موسوم به آزمایشات ماشینی برای اینمولوژیستها فراهم نموده است که امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است. برخلاف آزمایشات *in vitro* و *in vivo*، شبیه سازی های کامپیوتری ارزان قیمت و قابل پیاده سازی و تحلیل به نحوی آسان می باشند. همچنین باعث ایجاد نگرشی بهتر بر عملکرد متقابل اجزای سیستم اینمنی می شوند و تمامی جنبه های مدل بدین طریق قابل ارزیابی هستند. بنابراین به خاطر سادگی انجام این

می گیرند. در خلال بلوغ ، T-cell ها و B-cell می گیرند. در این حال برخی از انتی زن مجهر می شوند . با این حال برخی از انتی زن مجهر هایی می شوند که در برابر خودی واکنش می دهند. برای جلوگیری از پاسخ ایمنی خودی ، این گونه انتی زن مجهر هایی از اتمام پروسه بلوغ طی فرآیند انتخاب حذف می شوند. این گیرنده قادر به تشخیص انتی زن مجتمع با پروتئین غشایی سلول موسوم به کمپلکس MHC می باشد. اگر T-cell با انتی زن مجتمع با MHC مواجه شود و آنرا تشخیص دهد شروع به همانند سازی و تبدیل به حافظه دار (memory T-cell) و انواع مختلف T-cell های عامل (effector T-cell) می کند. دو زیر مجموعه اصلی از T-cell ها شامل سلولهای (T_h cells) T helper و سلولهای کشنده (T_c cells) T cytotoxic می باشد. یک سلول T_h در صورت تشخیص ملکول کمپلکس MHC-antigen (class II) تحریک می شود. سلول T_h تحریک شده تولید سایتوکین می کند که نقش ضروری در تحریک سلولهای T_c و B-cell را ایفا می کند. اگر یک سلول T_c کمپلکس MHC مجتمع با پیتید عامل خارجی نوع یک (class I) را شناسایی کند ، تحت تأثیر سایتوکین تولید شده بوسیله سلولهای T_h به لنفوسيتهای T cytotoxic (CTL) ارتقا می یابد . CTL ها به عنوان عامل کشنده به از بین بردن ویروسها ، تومورها و سلولهای بیگانه می پردازند. پاسخ ناشی از CTL ها منجر به ایمنی سلولی می شود.



شکل ۱: نمایش دو بعدی فرم فضایی پدیده انتخاب تیموسی [۹]

۲-۲ - پاسخ اولیه و ثانویه :

پس از تحریک شدن و همانند سازی در پاسخ به انتی زنها ، اغلب T-cell های تحریک شده پس از پاسخ می میرند و تنها جمعیت کوچکی از آنها به عنوان سلول های حافظه دار (memory cells) باقی می مانند. سلول های حافظه دار قادرند در صورت مواجهه با پاتوزنهای مشابه در آینده پاسخ سریع تر و مناسب تری ارائه نمایند. این پاسخ ثانویه

۲- بیولوژی لنفوسيتهای نوع T :

مشابه لنفوسيتهای نوع B (B-cell) از مغز استخوان نشأت می گیرند. پیش از رها شدن در سیستم ایمنی در تیموس به بلوغ می رسد. در خلال بلوغ به هر لنفوسيت نوع T (T-cell) یک گیرنده خاص نسبت داده می شود. این گیرنده قادر به تشخیص انتی زن مجتمع با پروتئین غشایی سلول موسوم به کمپلکس MHC می باشد. اگر T-cell با انتی زن مجتمع با MHC مواجه شود و آنرا تشخیص دهد شروع به همانند سازی و تبدیل به حافظه دار (memory T-cell) و انواع مختلف T-cell های عامل (effector T-cell) می کند. دو زیر مجموعه اصلی از T-cell ها شامل سلولهای (T_h cells) T helper و سلولهای کشنده (T_c cells) T cytotoxic می باشد. یک سلول T_h در صورت تشخیص ملکول کمپلکس MHC-antigen (class II) تحریک می شود. سلول T_h تحریک شده تولید سایتوکین می کند که نقش ضروری در تحریک سلولهای T_c و B-cell را ایفا می کند. اگر یک سلول T_c کمپلکس MHC مجتمع با پیتید عامل خارجی نوع یک (class I) را شناسایی کند ، تحت تأثیر سایتوکین تولید شده بوسیله سلولهای T_h به لنفوسيتهای T cytotoxic (CTL) ارتقا می یابد . CTL ها به عنوان عامل کشنده به از بین بردن ویروسها ، تومورها و سلولهای بیگانه می پردازند. پاسخ ناشی از CTL ها منجر به ایمنی سلولی می شود.

۱-۲ - بلوغ در T-cell ها :

سلولهای موجود زنده در سطح غشاء خود پروتئین دارند. پروتئین های ارائه شده بوسیله سلولهای یک فرد متعلق به مجموعه کوچکی موسوم به پروتئین های خودی می باشد. بنابراین اگر لنفوسيت پروتئین خودی را تشخیص دهد مشابه با زمانی که آنتی زن را تشخیص می دهد واکنش نشان خواهد داد. با این حال ، در سیستم ایمنی با عملکرد صحیح ، لنفوسيتهایی که در برابر پروتئین های خودی واکنش نشان می دهند غایب هستند. این مسئله سیستم ایمنی را قادر می سازد تا بین سلولهای خودی و سلولهای T-cell و B-cell ها و تیموسی تمايز قائل شود. بدین ترتیب های تازه بوجود آمده تحت پروسه ای موسوم به بلوغ قرار

افزودن عدم قطعیت به مدل امکان جستجو در بین پاسخ های ممکن را میسر می سازد [۵] ، که با آنچه که به وسیله اغلب مدلهای محاسباتی عرضه می گردد مغایرت دارد. این امر به ویژه هنگام مطالعه پاسخ سیستم ایمنی ارزشمند است ، چرا که حتی از لحاظ ژنتیکی اجزای مشابه می توانند به آنی ژن های مشابه پاسخ های متفاوت بدeneند. متأسفانه مدلسازی مبتنی بر عاملها از دیدگاه محاسباتی هزینه بر است . بالغ بر 10^{12} T-cell در بدن انسان و 10^8 T-cell در بدن موش وجود دارد. پیاده سازی و اجرای مدلی با این تعداد اجزای متمایز گران خواهد بود.

برای بالا بردن کارآیی محاسباتی ، ما در اینجا از رویکرد مدلسازی چند مرحله ای تصادفی [۶] (stochastic stage-structured approach) برای مدل کردن پاسخ سیستم ایمنی استفاده کرده ایم . در مدلهای چند مرحله ای سیکل زندگی فرد یا سلول به مراحلی نظری بلوغ تکاملی یا وضعیت های تشخیصی دیگر تقسیم می شود . تمامی افراد در یک مرحله مشخص به صورت مشابه و یکسان فرض می شوند . سپس احتمال گذر بین این مراحل تعریف می شود و مدل می تواند آمار جمعیت اولیه داده شده در طول زمان را پیش بینی کند . عدم قطعیت هم در صورت نیاز می تواند به مدل اضافه شود. به منظور فراهم آوردن امکان اندرکنش بین T-cell ها و سلولهای آلوده ویروسی ، ما در اینجا مدل T-cell ها و مدل ویروسها را در هر مرحله زمانی از شبیه سازی همزمان با هم اجرا و پیاده سازی می کنیم تا جمعیتهای آنها بتوانند با هم اندرکنش متقابل داشته باشند . بنابراین در هر مرحله زمانی تعداد سلول های آلوده به وسیله تابعی از تعداد T-cell هایی که در مرحله کشندگی قرار دارند کاهش می یابد . با وارد کردن جمعیت ها در شبیه سازی به صورت گسته به جای پیوسته و با تعیین صریح عملکرد و گذر سلولها بین مراحل به صورت توابع احتمال برای تک تک سلولها ، مدل ما رفتار حقیقی و طبیعی هر یک از سلولها را بدون هزینه محاسباتی برای نمایش هر سلول شبیه سازی می کند . این مدل تلاش می کند تا بین مقادیر جمعیتی کوچک غیر واقعی که برای کاربردهای تحلیلی بکار می رود و همچنین تفسیر - یک عامل برای هر سلول - در مدلها مبتنی بر عامل ها موازن و مصالحه برقرار نماید .

(secondary response) می تواند پیش از آنکه آسیب قابل توجهی به بدن وارد شود اثرات آلودگی را از بین ببرد . با تحریک آنتی ژنیک ، سلولهای حافظه دار به سرعت شروع به همانند سازی می کنند و پس از چند ساعت خاصیت کشندگی پیدا می کنند . سلولهای کشنه به وجود آمده از سلولهای حافظه دار ، با نرخ پایینتری نسبت به سلولهای عاملی که در پاسخ اولیه به وجود آمده اند از بین میروند ، که همین امر باعث می شود که سریع تر مجتمع شوند و امکان اینکه بخش وسیعتری از آنها به سلولهای حافظه دار تبدیل شوند به این ترتیب افزایش می یابد .

۳- رویکردهای مدلسازی سیستم ایمنی :

مدلهای تحلیلی مبتنی بر معادلات دیفرانسیل مدهای طولانی برای مدلسازی سیستم ایمنی و همچنین آلودگی ویروسی مورد استفاده قرار می گرفت ([۱]، [۲]) : تکنیکهای تحلیلی به مدلسازان این امکان را می داد تا ریزیمی از رفتار سیستم ها و پارامترهای وابسته به آنها و شرایط اولیه آنها تعریف نمایند . در این حالت ، پاسخ از رفتار یک جمعیت وسیع تقریباً مشابه که به طور کامل با هم آمیخته شده اند میانگین گیری می کند . تکنیکهای زیادی وجود دارد که این مدلها را به حقیقت رفتار بیولوژیکی آنها نزدیکتر می کند ، مثل افزودن تأخیر زمانی یا معادلات دیفرانسیل پاره ای - زمانی [۳] که مدل را از نظر تحلیل و محاسبات پیچیده تر می کنند .

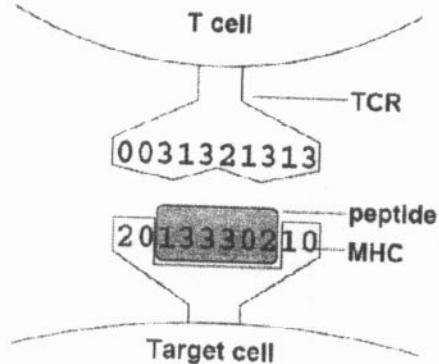
شبیه سازی مبتنی بر عاملها (Agent-based) نیز تکنیکی مطمئن و کارآمد است که با ظهور کامپیوترهای پیشرفته کنونی مورد توجه قرار گرفته است . این شبیه سازیها عملکرد تعداد وسیعی از اجزای ساده یا عامل ها (agents) را مانیتور می کنند تا رفتار جمعیتی آنها را مشاهده نمایند . هر عامل شامل متغیرهای حالت و مجموعه ای از قوانین است که حاکم بر رفتار آنهاست . همچنین عاملها می توانند به طور مستقیم با یکدیگر و یا غیر مستقیم از طریق محیط در تماس و اندرکنش باشند . مدلسازی مبتنی بر عاملها ویژگیهای زیادی دارد که برای مدلسازی پاسخ ایمنی مناسب است . این روش در شبیه سازی وضعیت های تصادفی که در عملکرد سیستم ایمنی کاربردی به نظر می رسد بسیار کارآمد است [۴] .

رشته ها هم میزان قربت بین TCR با کمپلکس MHC و پپتید را نشان می دهد . قدرت اتصال مربوط به TCR برای یک اپیتوپ تابعی از قربت آن ، که به وسیله قانون جفت شدن رشته ها تعیین می شود ، و همچنین چگالی اپیتوپ در سطح سلول می باشد . بنابراین یک جفت شدن با قربت بالا می تواند منجر به قدرت اتصال پایین شود ، اگر چگالی آن اپیتوپ خاص پایین باشد . فاصله بین رشته TCR تولید شده جدید و کمپلکس های MHC و پپتید خودی تعیین می کند که کدام T-cell ها در پروسه انتخاب تیموسی باقی بمانند .

تا کنون انواع مختلفی از قوانین جفت شدن با ویژگی های متفاوت که با توجه به پاسخ به آنتی ژنهای مختلف و جهش (mutation) در اپیتوپها بر رفتار مدل تأثیر می گذارند ، مورد استفاده قرار گرفته است . برای مثال قانون فاصله همینگ (Hamming distance) ، فاصله بین دو رشته را به گونه ای تعریف می کند که عبارتست از تعداد مکانهایی (بیت هایی) که دو رشته با هم تفاوت دارند [۱۳] . اگر تنها یک رقم جهش در یکی از رشته ها وجود داشته باشد ، فاصله به اندازه یک واحد افزایش یا کاهش پیدا خواهد کرد . در قانون فاصله مانهتن (Manhattan distance) (Minkowski) هم عنوان نرم مرتبه اول مینکووسکی (Minkowski) هم شناخته می شود ، فاصله بین دو رشته به صورت مجموع فواصل بین رقم های (بیت های) متناظر آنها تعریف می شود . بنابراین یک رقم جهش فاصله بین دو رشته را به اندازه α تغییر می دهد که α سایز الفبای مورد استفاده می باشد . قانون xor rule (XOR rule) که در آن فاصله عبارت از مجموع xor تک تک بیت های نظیر دو رشته با هم می باشد ، نیز برای درجه قربت بالا مناسب می باشد و از دیدگاه محاسباتی از مانهتن کارآمدتر است [۷] . برای تمامی قوانین فاصله ذکر شده ، فرض بر آن است که قدرت اتصال بین ارقام نظیر ، اضافه شونده و مستقل از سایر رقم هاست که با مشاهدات انجام شده مبنی بر اینکه حلقه های آمینو اسید پپتید سهم مستقلی در انرژی تماس و اتصال با TCR ها دارند مطابقت دارد [۱۰] . تعیین اینکه کدام قانون مناسب است دشوار می باشد و برای مجموعه داده های مختلف قوانین متفاوت مناسب خواهد بود . از طرف دیگر رشته های TCR ابتدا به صورت یکنواخت و تصادفی

۱-۳-۱- مدلسازی اتصال گیرنده های T-cell ها و کمپلکس MHC و پپتید :

در اینجا از رشته های عددی و قوانین جفت شدن رشته های برای نمایش آنتی ژنهای و همچنین میزان قربت آنها استفاده شده است ([۸],[۷]) . هر آنتی ژن در شبیه سازی با یک یا تعداد بیشتر رشته های عددی مرتبط می شود که نشانگر اپیتوپهای آنهاست . هر اپیتوپ همچنین یک مقدار اسکالر دارد که بیانگر چگالی سطحی آن می باشد و با ρ نمایش داده می شود و روی قدرت اتصال تأثیر می گذارد . ما در اینجا فرض کرده ایم تمامی سلولهایی که با پاتوژن مشابه آلوهه شده اند ، چگالی های اپیتوپ مشابهی دارند و به طور مساوی آنتی ژنیک شده اند . رشته های همچنین میزان MHC که برای TCR قابل رویت است نشان می دهند . هر MHC با یک رشته تصادفی متفاوت نشان داده می شود .



شکل ۲: نمایش عددی و رشته ای اتصال گیرنده T-cell و کمپلکس MHC و پپتید آنتی ژن [۹]

پپتیدهای خودی با $\rho = 10^{-3}$ رشته تصادفی با طول مساوی با رشته های اپیتوپ آنتی ژنیک نشان داده می شوند (شکل ۲) . هر رشته پپتید خودی یا آنتی ژنیک به یک MHC نسبت داده می شود و این نتیجه را نشان می دهد که هر پپتید تنها با یک نوع MHC در بدن نشان داده می شود . در اینجا ۴ رقم برای MHC و ۶ رقم برای پپتید در نظر گرفته شده است [۷] .

هر CTL یک رشته دارد که نشانگر TCR مربوط به آن می باشد و به محض به هم پیوستن رشته مربوط به MHC با رشته مربوط به پپتید شکل می گیرد . قانون جفت شدن

می رسد و سپس کاهش پیدا می کند. در شبیه سازی انجام شده، از معادلات دیفرانسیل سیستم معادلات دیفرانسیل ذکر شده در بالا به صورت زیر استفاده شده است

$$\begin{aligned}\Delta T &= (\lambda - \delta_T T - \beta TV) \Delta t \\ \Delta I &= (\beta TV - \delta_I I) \Delta t \\ \Delta V &= (\pi I - cV) \Delta t\end{aligned}\quad (2)$$

که در آن $\Delta t = 10 \text{ min}$ می باشد. به منظور وارد کردن عدم قطعیت، عبارات موجود در معادلات ذکر شده به صورت تصادفی در هر مرحله زمانی از تابع توزیع احتمال مناسب محاسبه می شوند. همچنین متغیرها در طول بازه زمانی کوچک Δt ثابت فرض شده اند و در انتهای هر مرحله زمانی شبیه سازی مقادیر آنها به روز می شود. برای نرخ تولید سلولهای غیر آلوده و همچنین نرخ تولید ویروس از توزیع پواسون استفاده شده است. به این ترتیب که مقادیر امید ریاضی هر یک از آنها به عنوان میانگین از توزیع احتمال بدست می آید و به ترتیب $\lambda \Delta t$ و $\beta I \Delta t$ خواهد بود. برای تعیین تعداد سلولها به صورت تصادفی از بین جمعیتی مشابه از سلولها که کاری مشخص را انجام می دهند، مثل مرگ سلولی، مقادیر به صورت تصادفی از توزیع دو جمله ای محاسبه می شود. برای رسیدن به این هدف، باید نرخ های پیوسته به احتمال وقوع هر یک در هر مرحله زمانی تبدیل شوند. اگر پروسه با نرخ λ دهد، احتمال اینکه اولین بار در زمان t رخ دهد بوسیله توزیع نمایی $E(r) = re^{-r}$ تعریف می شود. بنابراین احتمال اینکه پیش از زمان t رخ دهد، $1 - e^{-\lambda t}$ خواهد بود. حال نرخ های λ می تواند به احتمال رخ دادن در مرحله زمانی Δt ، به صورت $1 - e^{-\lambda \Delta t}$ تبدیل شود. اگر n سلول با احتمال عملکرد p وجود داشته باشند، استفاده از توزیع دو جمله ای $B(n, p)$ شیوه ای مناسب از دیدگاه محاسباتی برای محاسبه تعداد سلولهایی که وارد پروسه می شوند خواهد بود.

۳-۳- مدلسازی پاکسازی و حذف سلولهای آلوده :

چون به نظر می رسد که پاسخ CTL ها به اپیتوپهای آنتی رُنْتِیک متفاوت از پاتوژن مشابه با هم تداخل نداشته باشند، ما پاسخ سیستم ایمنی به اپیتوپهای مختلف را به صورت

تولید می شوند. این TCR ها سپس وارد مرحله انتخاب تیموسی می شوند (شکل ۱). که در آن T-cell ها اگر گیرنده هایشان از تمامی کمپلکس های MHC خودی خیلی دور باشند یا اینکه خیلی نزدیک به هر کمپلکس MHC خودی باشند که به ترتیب موسوم به پدیده انتخاب مثبت و انتخاب منفی می باشد، حذف می شوند. برای مدل کردن پاسخ به مجموعه ای از پاتوژنهای نیازی نیست که تمام مجموعه T-cell ها را در آغاز شبیه سازی وارد نماییم، بلکه تنها بخش کوچکی از سلولها در پاسخ سیستم ایمنی به پاتوژنهای شرکت می کنند که این تکنیک به ارزیابی تنبل (lazy evaluation) موسوم است. این مجموعه هایی که هیچ قرابتی با آنتی زنها ندارند، نقشی در پاسخ ایفا نمی کنند. بنابراین مدل تنها به سلولهایی توجه دارد که می توانند با آنتی زن واکنش دهند و همین امر تعداد T-cell ها را در هر مرحله شبیه سازی به میزان زیادی کاهش می دهد. بدین ترتیب برای هر مرحله اجرای شبیه سازی، رشته های TCR به صورت تصادفی با در نظر گرفتن ناحیه قطع مربوط به انتخاب تیموسی تولید می شوند و وارد شبیه سازی می شوند.

۴-۳- مدلسازی آلودگی ویروسی :

ما در اینجا مدل استاندارد برای آلودگی ویروسی را که قبل از توصیف دینامیکهای ویروس HIV و هپاتیت C استفاده شده است پذیرفته ایم [۱۱]. در غیاب پاسخ ایمنی، عملکرد آلودگی ویروسی به صورت زیر توصیف می شود:

$$\begin{aligned}\dot{T} &= \lambda - \delta_T T - \beta TV \\ \dot{I} &= \beta TV - \delta_I I \\ \dot{V} &= \pi I - cV\end{aligned}\quad (1)$$

که در آن T تعداد سلول های غیر آلوده (یا هدف) می باشد و I تعداد سلول های آلوده می باشد. همچنین V تعداد ذرات ویروس، λ نرخ تولید سلول های غیر آلوده، π نرخ تولید ویروس بوسیله سلولهای آلوده، β پارامتر آلودگی، δ_T نرخ مرگ سلولی برای سلول های هدف، δ_I نرخ مرگ سلولی برای سلول های آلوده و C نرخ محو و پاک شدن (Clearance) برای ویروسهای آزاد می باشد. به طور معمول پس از آلودگی، بار ویروسی و تعداد سلولهای آلوده به صورت نمایی افزایش پیدا می کند و به پیک خود

$$K_j = (k_j^d + k_j^c) / k_j^b \quad \text{که در آن:} \quad (8)$$

جواب معادله بالا وقتی که چندین دسته مشابه T-cell وجود داشته باشد، به صورت زیر خواهد بود:

$$C_j \approx \frac{IE_j}{K_j + I + \sum_k E_k (I + K_j) / (I + K_k)} \quad (9)$$

بنابراین نرخ پاکسازی و محو سلولهای آلوده I با توجه به تمامی انواع عاملهای کشنده به صورت زیر خواهد بود:

$$\begin{aligned} \dot{I} &= -\sum_j k_j^c C_j \\ &\approx \sum_j -k_j^c \frac{IE_j}{K_j + I + \sum_k E_k (I + K_j) / (I + K_k)} \end{aligned} \quad (10)$$

برای سیستمی با تنها یک T-cell مشابه، خواهیم داشت:

$$\dot{I} \approx \frac{-k^c IE}{K + I + E} \quad (11)$$

عبارت بدست آمده نهایی ارتباط بین تعداد سلولهای عامل کشنده و نرخ حذف سلولهای آلوده که با افزایش تعداد سلولهای عامل کشنده در k^c اشباع می شوند مشخص می کند [۱۲]. علاوه بر اینها رابطه نشان می دهد که عبارت CTL های با قدرت اتصال بالا و پایین با نرخ یکسان هدفهای خود را تضعیف و نابود می کنند، بنا براین k^c برای تمامی دسته های T-cell در مدل ما یکسان فرض شده است. در مدل ارائه شده، افزایش قدرت اتصال K، بر قابلیت جستجو و پیوستن به سلول های آلوده در تجمع پایین I تاثیرگذار است. دسته های مختلف T-cell، سلولهای آلوده را با نرخ توصیف شده در رابطه آخر حذف می کنند، که در آن T-cell ها برای دستیابی به سلولهای آلوده با توجه به میزان قدرت اتصال رقابت می کنند. دسته های با قدرت اتصال بالا نسبت به دسته های با قدرت اتصال پایین در حذف سلولهای آلوده موثرترند. در اینجا فرض شده است که فرآیند حذف سلولهای آلوده بوسیله سلولهای عامل کشنده یک فرآیند پواسون است. از رابطه آخر می توان نتیجه گرفت که میانگین سلولهای آلوده ای که در بازه زمانی Δt حذف می شوند $\dot{I} \Delta t$ می باشد. برای محاسبه تعداد سلولهای آلوده که در زمان Δt حذف می شوند از

مجموع پاسخهای مستقل هر یک از اپیتوپها مدل کرده ایم. بنابراین تنها لازم است پاک شدن و حذف سلول های آلوده ای که یک اپیتوپ منفرد را در برآور دسته های مختلف T-cell عرضه می کنند، تعریف شود. حال فرض می کنیم عاملهای کشنده (effectors) مربوط به T-cell های کلونی j (E_j)، در واکنش معکوس به سلولهای آلوده I بپیوندد (با نرخ k^b برای پیوستن و برای جدا شدن) تا کمپلکس های C_j شکل گیرند و عامل کشنده که به این کمپلکسها متصل است سلولهای آلوده را با نرخ k^c حذف کند:



با تفسیر مستقیم عبارت بالا به معادلات دیفرانسیل خواهیم داشت:

$$\dot{C}_j = k_j^b E_j \hat{I} - (k_j^d + k_j^c) C_j \quad (4)$$

که در آن \hat{I} عوامل کشنده ای هستند که اتصال برقرار نکرده اند و \hat{I} سلولهای آلوده می باشند. با تطبیق متغیرها برای کل سلولها رابطه به صورت زیر در می آید:

$$\dot{C}_j = k_j^b (E_j - C_j) \left(I - \sum_k C_k \right) - (k_j^d + k_j^c) C_j \quad (5)$$

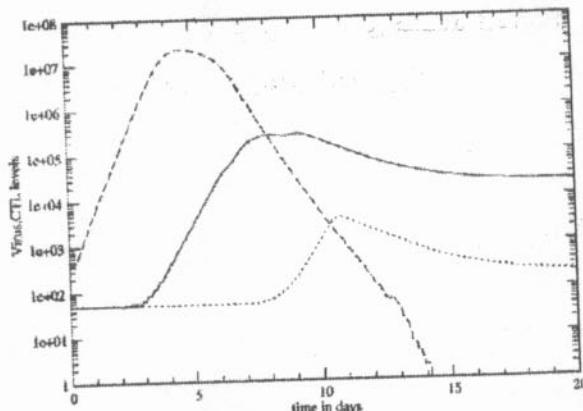
که در آن $\sum_k C_k$ تعداد کمپلکس های تمامی سلولهای کشنده از تمامی انواع با I می باشد. با فرض حالت شبکه پایدار خواهیم داشت:

$$0 = k_j^b \left(E_j I - C_j I - E_j \sum_k C_k + C_j \sum_k C_k \right) - (k_j^d + k_j^c) C_j \quad (6)$$

با فرض اینکه عبارت های $C_j C_k$ خیلی کوچک هستند و قابل صرف نظر کردن می باشند، پاسخ معادله بالا به صورت زیر تخمین زده می شود:

$$C_j \approx \frac{E_j I - E_j \sum_k C_k}{I + K_j} \quad (7)$$

$K = 7.8 \cdot 10^3$) و دسته دیگر هم با قدرت اتصال پایین ($K = 4.5 \cdot 10^7$) در نظر گرفته شده است. فرض شده است که هر یک از دسته ها در ابتداء حاوی ۵۰ سلول عامل می باشند. همانگونه که در نمودار شبیه سازی شده شکل ۴ مشهود است، پیک پاسخ دسته با قدرت اتصال بالا حدود یک بزرگتر و یک روز زودتر از دسته با قدرت اتصال پایین می باشد، که با واقعیت زیستی و حیاتی هم انطباق دارد. یکی از نقاط قوت مدل ارائه شده آنست که با این مدل میتوان قدرت عکس العمل و پاسخ T-cell ها با قدرت اتصال مختلف به انواع آنتی ژنهای متعدد را سنجید. شاید ۲۰ دسته T-cell به یک اپیتوپ منفرد پاسخ مناسب دهند [۱۴]. این دسته ها نه تنها برای اپیتوپ مذکور بلکه برای سایر اپیتوپها قربان دارند. کاربرد رشته های بیتی در مدل ما که تلویحاً معرف میزان قرابت بین TCR و هر اپیتوپ می باشد این امکان را به ما می دهد تا میزان تأثیر آلودگیها در طول عمر یک ارگانیسم را به سادگی مدل کنیم.



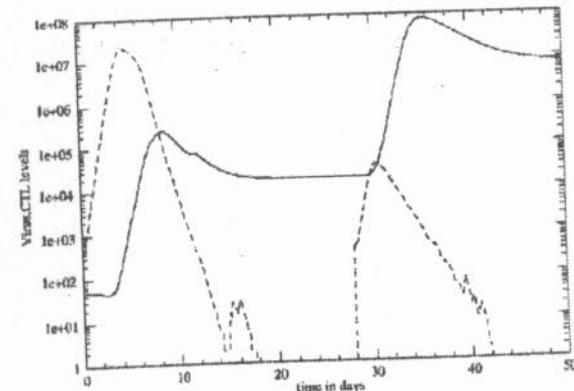
شکل ۴: پاسخ CTL های مشابه با قدرت اتصال بالا و پایین (خط پر نمایانگر دسته با قدرت اتصال بالا و نقطه چین نمایانگر دسته با قدرت اتصال پایین و خط چین میزان ویروسهاست)

یکی از تعابیر موجود در پاسخ برنامه ریزی شده T-cell ها این است که پاسخ سیستم ایمنی بوسیله تحریک آنتی ژن آغاز می شود، اما نتیجه آن مستقل از آنتی ژن است. اگر این تعابیر درست باشد، حذف آنتی ژنهای پس از شروع پاسخ بر روند آن تأثیرگذار نخواهد بود. این مسأله بر روی موهشهای آلوده به آنتی ژن موسوم به مونوستیوتوزن آزمایش شده است [۱۵]. سپس با تزریق آنتی بیوتیک برای حذف

توزیع پواسون ($P(\hat{I}\Delta t)$ در هر مرحله زمانی استفاده شده است. این عبارت از قسمت سمت راست رابطه دیفرنس مربوط به تعداد سلولهای آلوده کم می شود تا اثر حذف T-cell های کشنه بر جمعیت سلولهای آلوده لحاظ گردد.

۴- بررسی نتایج و شبیه سازیها:

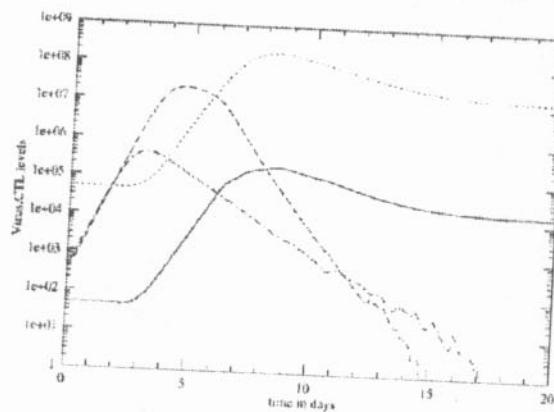
به منظور بررسی پاسخهای اولیه و ثانویه سیستم ایمنی و CTLL ها در برابر آلودگی ویروسی آنتی ژنیک به دنبال تطبیق نتایج حاصله با تجربیات آزمایشگاهی خاصی نرفتیم، بلکه به جای آن به مدلسازی دینامیکهای اساسی در پاسخ T-cell ها در مدل پرداختیم که نتایج آن در شکل ۳ مشهود است. همانگونه که از شکل مشخص است، پاسخ اولیه پس از تقریباً یک روز آغاز می شود. پاسخ در روز نهم به پیک خود می رسد و سپس کاهش می یابد تا به سطح پایدار حافظه دار برسد. در روز بیست و هشت مجدداً سیستم مورد هجوم آلودگی ویروسی مشابه قرار گرفته است و پاسخ ثانویه مطابق نمودار شبیه سازی شده، سریعتر و قویتر از پاسخ اولیه است. به عبارتی دیگر نرخ مرگ پایین سلولهای حافظه دار باعث می شود که جمعیت T-cell های مناسب برای مقابله با آنتی ژن خاص به سرعت افزایش پیدا کند.



شکل ۳: پاسخهای اولیه و ثانویه CTL ها در برابر آلودگی ویروسی (خط چین نمایانگر میزان ویروسهاست و خط پر نمایانگر میزان CTL هاست)

برای مطالعه پاسخ دسته های مشابه T-cell، مدل را با یک ویروس با اپیتوپ منفرد و دو دسته T-cell مشابه با قدرت اتصال (avidity) متفاوت برای این اپیتوپ اجرا و پیاده سازی کرده ایم. یک دسته با قدرت اتصال بالا

همانگونه که از نمودار بر می آید با افزایش تعداد سلولهای عامل از ۵۰ عدد به ۵۰۰۰۰ عدد، پیک بار ویروسی یک روز زودتر و حدود دو \log کوچکتر می شود.



شکل ۶: تأثیر افزایش سلولهای عامل در پاسخ. مدل اجرا شده با ۵۰ سلول عامل (خط پر) و ۵۰۰ ویروس (خط چین) مدل اجرا شده با ۵۰۰۰۰ سلول عامل (نقطه چین) و همان تعداد ویروس (خط نقطه چین)

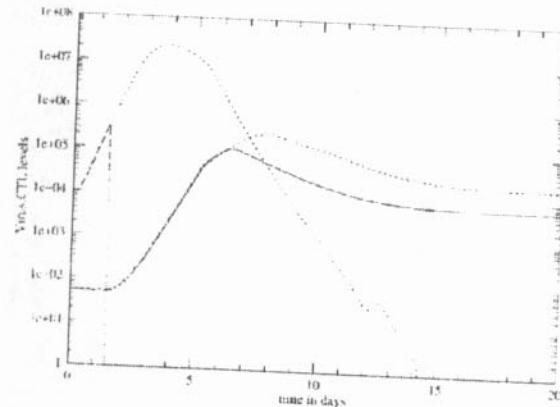
۵- نتیجه‌گیری :

در اینجا مدلی تصادفی (stochastic) با ساختار چند مرحله‌ای (stage-structured) از پاسخ T-cell ها در برابر آلودگی ویروسی که در مقایسه با الگوریتمهای استاندارد مبتنی بر عاملها (agent-based) بسیار نزدیکتر به رفتار حیاتی واقعی سیستم ایمنی در بدن هر فرد می باشد ارائه گردید. در این مدل سلولهای عامل مستقل از آنتی زن و میزان قرباشان تحریک می شوند، مشابه پاسخ برنامه ریزی شده مستقل از آنتی زن و اختلاف موجود بین سلولهای عامل کشنه که تحقیقات و آزمایشات تجربی اخیر هم مؤید این امر است.

مزیت روش ارائه شده، فراهم آوردن امکان شبیه سازی در سطوح مختلف از کل جمعیت T-cell ها تا تعدادی از سلولهای عامل پاسخگر در هر دسته می باشد. همچنین مدل خاصیت عکس العمل متقابل بین آنتی زنها و آنتی بدیهای (cross-reactivity) و همچنین تأثیر قرباست و چگالی کمپلکس MHC و پیتید بر دینامیک پاسخ را شبیه سازی می کند. این مدل می تواند برای دستیابی به دیدگاهی کمی و کیفی از عملکرد پاسخهای ایمنی سلولی

آلودگی ۲۴ ساعت پس از تلقیح، تمامی آنتی زنها به سرعت از بین رفتند. با این حال پیک پاسخ T-cell ها برای موشهای درمان یافته بوسیله آنتی بیوتیک و موشهای درمان نیافته در یک زمان اتفاق می افتد. بنابراین حذف آنتی زن به طور قابل ملاحظه ای بر زمان و دامنه پاسخ T-cell ها تأثیرگذار نیست. این واقعیت در شکل ۵ نشان داده شده است. در اینجا دز اولیه آنتی زن ۱۰۰۰ ذره ویروس می باشد. پس از ۳۶ ساعت از شروع پاسخ آنتی زنها از سیستم حذف می شوند. همانگونه که از نتایج شبیه سازی بر می آید، پاسخ T-cell با حذف آنتی زن از سیستم تغییر نکرده است که گواهی بر این مدعاست. برای ساده سازی تنها پاسخ یک نوع T-cell و یک اپیتوپ آنتی زنیک بررسی شده است.

سایز جمعیت اولیه سلولهای عامل می تواند بر خروجی سیستم تأثیرگذار باشد. میتوان ثابت نمود که افزایش تعداد سلولهای عامل می تواند منجر به پاسخ سریعتر و قویتر سیستم ایمنی گردد. این فرضیه بر روی موشها آزمایش شده است [۱۶]. تعداد سلولهای عامل در موشها به منظور بررسی تأثیر تعداد سلولهای عامل بر پاسخ T-cell ها به طور آزمایشی افزایش داده شد. تخمین زده شد که برای موشهای معمولی حدود ۵۰ سلول عامل به آنتی زن پاسخ مناسب می دهند در حالیکه در شرایط فوق این تعداد به ۵۰۰۰ سلول عامل افزایش پیدا می کند. نتایج حاصل از شبیه سازی این پدیده در شکل ۶ آورده شده است.



شکل ۵: پاسخ T-cell به آلودگی ویروسی که با دارو قطع شده است (خط چین دز اولیه آنتی زن و پاسخ T-cell خط پر و نقطه چین سطح T-cell و آنتی زن در حالتی که آنتی زن حذف نشده است را نشان می دهد)

independent binding of individual peptide side-chains." *J. Immunol.* 152, pp.163 175, 1994.

- [11] Neumann, A.U., Lam, N.P., Dahari, H., Gretch, D.R., Wiley, T.E., Layden, T.J., Perelson, A.S., "Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy." *Science* 282, pp.103 107, 1998.
- [12] Lehmann-Grube, F., "Mechanism of recovery from acute virus infection." *Bauer, H., Klenk, H.-D., Scholtissek, C. (Eds.), Modern Trends in Virology. Springer, Berlin*, pp. 49 64, 1988.
- [13] Smith, D.J., Forrest, S., Hightower, R.R., Perelson, A.S., "Deriving shape space parameters from immunological data." *J. Theor. Biol.* 189, pp.141 150, 1997.
- [14] Blattman, J.N., Antia, R., Sourdive, D.J., Wang, X., Kaech, S.M., Murali-Krishna, K., Altman, J.D., Ahmed, R., "Estimating the precursor frequency of naïve antigen-specific CD8 T cells." *J. Exp. Med.* 195, pp. 657-664, 2002.
- [15] Badovinac, V.P., Porter, B.B., Harty, J.T., "Programmed contraction of CD8⁺ T cells after infection." *Nat. Immunol.* 3, pp. 619-626, 2002.
- [16] Ehl, S., Klenerman, P., Zinkernagel, R.M., Bocharov, G., "The impact of variation in the number of CD8⁺ T cell precursors on the outcome of virus infection." *Cell. Immunol.* 189, pp. 67-73, 1998.

بکار گرفته شود. بروز مدل‌های سلولی از سیستم ایمنی می‌تواند با درکیات و تئوریهای ایمنولوژی مقایسه گردد. وقتی که مکانیزم‌های پاسخ سیستم ایمنی به صورت جداگانه مطالعه شود، ممکن است به سادگی دیدگاه کلی به صورت سیستم دچار اشتباہ گردد. مدل ارائه شده، اطلاعات بدست آمده از مطالعه بر روی جمعیت کوچکی از T-cell ها را به صورت مجتمع درمی‌آورد و سیستمی شکل می‌دهد که ارگانیسم‌های پاسخ سیستم ایمنی در برابر پاتوژنها را شبیه سازی می‌کند. این رویکرد پلی خواهد بود که مدل‌های سلولی و مطالعات ارگانیسمی را به هم پیوند می‌دهد و در آینده در شکل گیری درمانهای خاص و ارائه دیدگاهی مناسب در بالا بردن قابلیت سیستم ایمنی برای فراهم آوردن حفاظت بیشتر در برابر بیماریها مؤثر خواهد بود.

مراجع

- [1] Bocharov, G.A., "Modelling the dynamics of LCMV infection in mice: conventional and exhaustive CTL responses." *J. Theor. Biol.* 192, pp.283 308, 1998.
- [2] Perelson, A.S., "Modelling viral and immune system dynamics." *Nat. Rev. Immunol.* 2, pp.28 36, 2002.
- [3] Antia, R., Bergstrom, C.T., Pilyugin, S.S., Kaech, S.M., Ahmed, R., "Models of CD8+ responses: I. What is the antigenindependent proliferation program." *J. Theor. Biol.* 221, pp.585 598, 2003.
- [4] Germain, R.N., "The art of the probable: system control in the adaptive immune system." *Science* 293, pp.240 245, 2001.
- [5] Detours, V., Perelson, A.S., "The paradox of alloreactivity and self restriction: quantitative analysis and statistics." *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, pp. 8479 8483, 2000.
- [6] Chao, D.L., Davenport, M.P., Forrest, S., Perelson, A.S., "Stochastic stage-structured modeling of the adaptive immune system." *Proceedings of the IEEE Computer Society Bioinformatics Conference (CSB 2003). IEEE Press, Los Alamitos, CA*, pp. 124 131, 2003.
- [7] Detours, V., Mehr, R., Perelson, A.S., "A quantitative theory of affinity-driven cell repertoire selection." *J. Theor. Biol.* 200, pp. 389 403, 1999.
- [8] Bernaschi, M., Castiglione, F., "Design and implementation of an immune system simulator." *Comput. Biol. Med.* 31, pp. 303 331, 2001.
- [9] Chao, D.L., Davenport, M.P., Forrest, S., Perelson, A.S., "A stochastic model of cytotoxic T cell responses." *J. Theor. Biol.* 228, pp. 227 240, 2004.
- [10] Parker, K.C., Bednarek, M.A., Coligan, J.E., "Scheme for ranking potential HLA-A2 binding peptides based on