

# TRANSPORT-KINETIKAI MODELLEK I.

GYÖRGYI SÁNDOR

SOTE Biofizikai Intézet, Budapest

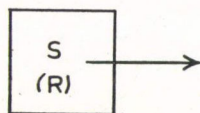
## A modellekről általában

A modell olyan segédeszköz, amit a kutató azért készít el, hogy segítse az általa vizsgált rendszer megismerését, megértését. A modell a kutató feltevézéseinek, elképzeléseinek, koncepciójának, sőt bizonyos mértékig kísérleti tervének formális rögzítése. A modell, a kísérleti adatokkal ellentétben, kvantitatíve tárgyalható és értékelhető, vagyis lehetővé teszi a kísérleti adatok kvantitatív feldolgozását. A kísérleti adatokhoz illeszkedő modell segítségével lehetőség van a megfigyelésekkel kapcsolatos *összes hipotézis egyidejű* ellenőrzésére és a rendszerünk a priori megismerésére.

A jelenség legáltalánosabb, legtömörebb jellemzését a *matematikai modell* adja. Matematikai modellen a folyamat belső törvényszerűségeit tükröző egyenletet (egyenletrendszert, leggyakrabban differenciálegyenlet-rendszert) értjük, az adott jelenségre vonatkozó egyértelműségi feltételekkel együtt. Ennek megoldásával a folyamat jellemzői között egyértelmű kapcsolatot kapunk.

## Izotópkinetikai vizsgálatok általános problémái

A radioaktív izotópok alkalmazása különösen előnyös biológiai folyamatok vizsgálatánál, amikor valamilyen anyag *bedúsulását, kiürülését*, általában *mozgását, kinetikáját* tanulmányozzák. Az esetek többségében a cél egy adott rendszer, szerv, szervrészlet (*rekesz*) koncentrációja időbeli változásának a kimérése, azaz az  $S_i = S_i(t)$  függvény meghatározása ( $S_i =$  az  $i$ . anyag koncentrációja). Különösen előnyös a módszer steady state rendszerek vizsgálatánál, amikor is  $S_i = \text{konst.}$  ellenére a vizsgált anyag kétirányú transzportfolyamatban vesz részt és a probléma éppen ezen transzportot jellemző állandó v. állandók meghatározása. Egy egyszerű példán szeretném ezt szemléltetni. Legyen



a kísérleti rendszerünk egyetlen rekesz, amelyben vizsgált anyagunk koncentrációja:  $S$ , a kiürülés miatti koncentráció változás sebessége  $dS/dt$ . Elsőrendű reakciónak feltételezve a folyamatot, a „matematikai modellünk”:

$$-\frac{dS}{dt} = kS. \quad (1)$$

Az ismert alakú differenciálegyenlet megoldása az ugyancsak ismert

$$S = S_0 e^{-kt} \quad (2)$$

exponenciális egyenlet.

Kísérleti adatainkat ehhez az egyenlethez illesztve megkaphatjuk a folyamatot jellemző  $k$  állandót. (A gyakorlatban ez könnyen megvalósítható az adatoknak féllogaritmikus koordinátarendszerben történő ábrázolásával, amikor is  $k$  értéke az egyenesről leolvasható felezési időből kiszámítható.)  $k$  állandó jelentésének szemléltetéséhez fejezzük ki (1) egyenlet segítségével: (az előjelkonvenciót elhagyva):

$$k = \frac{dS/dt}{S} = \frac{dS/S}{dt}.$$

$k$  tehát a kiáramlás valószínűségével arányos mennyiség; úgy is felfoghatjuk, hogy mi a valószínűsége, hogy egy molekula (ion, atom)  $dt$  idő alatt kijut a rendszerből — tehát valóban kvantatíve jellemzi a kiürülést.

*Steady state* esetben (valamilyen oknál fogva)  $S = \text{konst.}$ , ezért  $k$  meghatározásához tracer alkalmazunk. Ugyanis: a rendszerbe juttatott izotóp kiáramlására ugyanaz az egyenlet érvényes ( $R \ll S$  esetén):

$$-\frac{dR}{dt} = kR,$$

ahol  $R$  a fajlagos aktivitás vagy radiokémiai koncentráció,  $k$  pedig *ugyanaz a rate konstans*, ami az (1) egyenletben szerepelt. (Ez az egyébként jogos feltételezés a tracer kinetika alapja.)  $R = R(t)$  már mérhető, s ebből az  $S$  anyag kiáramlását jellemző  $k$  meghatározható.

### Membrántranszport modellezése

Biofizikai értelemben a membrán olyan molekuláris rendszernek tekinthető, amely struktúrájánál fogva, a benne levő energiaforrás hatására — *molekuláris kölcsönhatások révén* — szabályozza és fenntartja a rajta keresztül végbemenő anyag- és energiáttranszportot.

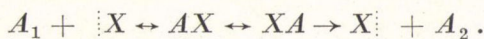
A membránokkal kapcsolatos biofizikai, biokémiai vizsgálatok célja tehát a fenti molekuláris kölcsönhatások felderítése, megismerése. Ezen megismerési folyamat egyik útja a *transzport-kinetika* vizsgálata, kinetikai modellek segítségével olyan paraméterek megkeresése, amelyek *közvetlenül* v. *közvetve* jellemzik a molekuláris kölcsönhatásokat. (A másik út a membránstruktúra direkt vizsgálata morfológiai, biokémiai, fizikai módszerekkel.) A kinetikai modellek alkalmazását a *radioaktív izotópok* mellett a *számítógépek* elterjedése tette lehetővé. Nem véletlen, hogy az utóbbi években egyre bonyolultabb modellekkel próbálják leírni a biológiai jelenségeket, így a transzportfolyamatokat is, hiszen a számítógépek teszik lehetővé az összetett modellből következő egyenletrendszer megoldását, a kísérleti eredményekhez való illesztését.

A matematikai modellt — különösen összetettebb biológiai folyamatok leírásánál — megelőzi egy általános, *formális* modell, amely a már meglévő biológiai, biokémiai, fiziológiai eredményeket figyelembe véve a biológiai rendszer formális felosztását adja és megadja a rendszer egyes részeiben, ill. egyes részei között lejátszódó lehetséges folyamatokat (részletes példa erre: Sugár István előadásában). Ez a lépés nem más, mint *szemléltetés*, egyúttal azonban már első lépés az absztrakció útján. Hogy helyes-e vagy sem, azt a kísérleti eredményekhez való illesztés dönti el.

Ilyen modelleknek tekinthetők pl. az irodalomból ismert, az aktív transzportot, carrier mediated transzportot, vagy a passzív transzportot leíró egyszerű vagy összetettebb modellek. Azok a reakcióegyenletek pedig, amelyeket az elképzelés alapján esetleg felírunk, a megfelelő matematikai modellek kiindulását jelentik.

Egy példa erre: *Facilitált diffúzió*.

Ismeretes, hogy minden olyan esetben, amikor a transzportfolyamat specifikus kémiai folyamathoz kötött, a fluxus valamilyen nemlineáris (rendszerint hiperbola) függvénye a transzportált anyag koncentrációjának (SNELL és mtsai, 1965). Esetünkben a kémiai reakció az ion és az „átvivő hely” specifikus reakciója. A folyamatot az ábrán látható séma szemlélteti:



Ez tehát a *formális* (biológiai) modell, amelyben feltételezzük, hogy  $A$  anyag transzportja csak  $AX$  közbeeső állapoton keresztül lehetséges.  $X$ -ről nem tudunk közelebbit, de a tárgyalás szempontjából ez nem is lényeges. Az 1. oldalról a 2. oldal felé irányuló egyirányú áramlás azáltal áll elő, hogy

$$K = \frac{[A] \cdot [X]}{[AX]}$$

egyensúlyi állandó az 1. oldalon jóval kisebb mint a 2. oldalon ( $K_1 \ll K_2$ ) és a három ionra nézve egy oldalon is különböző.  $AX$  fluxusa a membránban (s ez egyúttal  $A$  anyag fluxusát is jelenti):

$$I_{AX} = p_{AX} ([AX]_1 - [AX]_2)$$

ahol  $p_{AX}$  az  $AX$  komplex mozgékonyságától, a membrán vastagságától függő permeabilitási állandó. Az előző összefüggést felhasználva és figyelembe véve, hogy  $X$  összes mennyisége  $[X_T] = [X] + [AX]$ , az egyenlet így módosul:

$$I_{AX} = p_{AX} \left( \frac{[A]_1 [X_T]_1}{[A]_1 + K_1} - \frac{[A]_2 [X_T]_2}{[A]_2 + K_2} \right).$$

Izotópos kísérletekben, ha az aktivitást a kísérlet kezdetén az 1. oldalhoz adjuk és rövid, 10–15 perces inkubálás után mérjük a 2. oldal (pl. a vörösvértetek) izotópkoncentrációját, azaz  $[A]_2 \approx 0$ , az egyenlet egyszerűsödik:

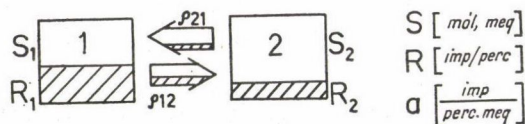
$$I_{AX} = p_{AX} \frac{[A]_1 [X_T]_1}{[A]_1 + K_1}.$$

Ez egy tipikus telítési kinetikai összefüggés, amely bár elhanyagolásokat tartalmaz, jól alkalmazható pl. a kompetitív hatások jellemzésére. A Lineweaver-Burk-féle reciprok ábrázolással a tengelymetszetek megadják az ion és a membrán kölcsönhatását jellemző  $K$  értékét, valamint a membránra jellemző  $p_{AX} \cdot [X_T]$  szorzatot.  $K$  az ion--membrán kölcsönhatást jellemzi, nem mond semmit a kölcsönhatás természetére vonatkozólag, de a módszer alkalmas pl. különböző ionok viselkedésének összehasonlítására, kompetitív v. egyéb típusú gátlás jellegének és mértékének kimutatására, különböző hatások, pl. anyagcseregátlók hatásának kvantitatív jellemzésére, azaz a formális modell részletességének megfelelő mélységű következtetések levonására.

Hasonló elv alapján lehet a bonyolultabb mechanizmust feltételező modelleket (pl. Caldwell modellje) is megoldani, természetesen ebben az esetben nem a Lineweaver--Burk módszerrel, hanem a kísérleti adatok és a matematikai modell számítógépes illesztésével.

### Kétrekeszes izotópkinetikai modell

Ebben az esetben az extra- és intracelluláris tér a két rekesz, azokban mérjük az izotóp aktivitás-változását, s a membránt most csak a két rekesz közötti ionáramlás sebességét megszabó, kiterjedés nélküli barriernek tekintjük. (Ez a membrántranszport legegyszerűbb formális modellje.)



Az egyes rekeszek fajlagos aktivitása:

$$a_1 = \frac{R_1}{S_1}, \quad a_2 = \frac{R_2}{S_2}, \quad \text{míg } \varrho_{ij} = \frac{dS_{i \rightarrow j}}{dt} \text{ a fluxust jellemzi.}$$

Az aktivitás:  $R_1 = a_1 S_1$   $R_2 = a_2 S_2$   
Steady state-ben  $S_1$  és  $S_2$  állandó, ezért  $R_1$  és  $R_2$  idő szerinti differenciálja:

$$\frac{dR_1}{dt} = S_1 \frac{da_1}{dt} \quad \frac{dR_2}{dt} = S_2 \frac{da_2}{dt}.$$

Az izotóópáramlást az aktivitás (a fajlagos aktivitás) különbsége hozza létre, a „vezetési együttható” pedig éppen  $\varrho$ :

$$\frac{dR_1}{dt} = \varrho (a_2 - a_1) \quad \frac{dR_2}{dt} = \varrho (a_1 - a_2)$$

(steady state-ben  $\varrho_{12} = \varrho_{21} = \varrho$ ). Az utolsó két sor alapján:

$$\frac{da_1}{dt} = \frac{\varrho}{S_1} (a_2 - a_1); \quad \frac{da_2}{dt} = \frac{\varrho}{S_2} (a_1 - a_2).$$

Ha a radioaktív izotópot az 1. rekeszhez adjuk, a következő kezdeti feltétellel számolhatunk

$$\begin{aligned} a_2(0) &= 0 \\ a_1(0) &= a(0) \\ S_1 + S_2 &= S. \end{aligned}$$

Ezzel a megoldások:

$$\begin{aligned} a_1 &= \frac{a(0)}{S} \left( S_1 + S_2 e^{-\frac{\varrho}{S_1 S_2} St} \right) \\ a_2 &= \frac{a(0) S_1}{S} \left( 1 - e^{-\frac{\varrho}{S_1 S_2} St} \right). \end{aligned}$$

Ha kísérletünkben mérjük az  $a_1 = f(t)$ -t, esetleg az  $a_2 = f(t)$  függvényt is, az adatokból  $\varrho$  értéke kiszámítható.

$\varrho$  helyett jobban használható, több információt ad a bevezetőben már látott valószínűség jelentésű  $k$  transzfer koefficiens:

$$k_{ij} = \frac{dS_{ij}}{dt \cdot S_i}$$

Ez ugyanis akkor is állandó, ha  $S_i$  értéke változik (pl. az izotóp hordozója miatt a steady state feltétel nem áll fenn). Segítségével az aktivitásokra egy formailag is egyszerűbb és jól használható összefüggést kapunk:

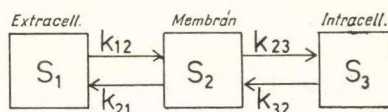
$$\frac{R_2(t)}{R_1(0)} = \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{21}} (1 - e^{-(k_{12} + k_{21})t}).$$

$R_2(t)$  a 2. rekesz aktivitását,  $R_1(0)$  az 1. rekeszhez  $t = 0$  időpontban hozzáadott (azaz az összes) aktivitást jelenti.  $k_{12}$  és  $k_{21}$  a kétirányú áramlást jellemzi, értékük természetesen különböző, ha  $S_1 \neq S_2$ .

A kísérleti adatok és az egyenlet illesztésével  $k_{12}$  és  $k_{21}$  meghatározható.

### Háromrekeszes modell

Formális modellünk annyiban módosult, hogy a membránt külön rekesznek tekintjük,  $S_2$  koncentrációval. A négy transzfer koefficiens most a transzportált anyagnak membránba való be- és kilépését jellemzi a membrán két oldalán.



Az 1. rekeszre felírható:

$$\frac{dS_1}{dt} = \frac{dS_{21}}{dt} - \frac{dS_{12}}{dt}$$

$dS_{21}$  – 2-ből 1-be átáramlott,  
 $dS_{12}$  – 1-ből 2-be átáramlott  
 anyagmennyiség  $dt$  idő alatt

Figyelembe véve, hogy:

$$k_{12} = \frac{dS_{12}}{dt S_1} \quad \text{és} \quad k_{21} = \frac{dS_{21}}{dt S_2},$$

az első egyenlet így írható:

$$\frac{dS_1}{dt} = k_{21} S_2 - k_{12} S_1.$$

Hasonló megfontolással a másik két rekeszre:

$$\frac{dS_2}{dt} = k_{12} S_1 + k_{32} S_3 - k_{21} S_2 - k_{23} S_2$$

$$\frac{dS_3}{dt} = k_{23} S_2 - k_{32} S_3.$$

Steady state-ben  $\frac{dS_1}{dt} = \frac{dS_2}{dt} = \frac{dS_3}{dt} = 0$ .

Radioaktív izotópot adva az egyik rekeszhez, az izotóp áramlására is felírható a fenti három differenciálegyenlet-rendszer, hiszen a bevezetőben tett megfontolás az izotópra is igaz — miután a  $k$  konstansok értéke (az izotópeffektust elhanyagolva) minden izotópra (stabil és radioaktív) azonos.

Az egyenletrendszert megoldva a kiválasztott  $i$ . rekesz aktivitására ( $R_i$ ) a következő egyenlet adódik:

$$R_i = A_0 + A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$$

$A_0$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $\alpha$  és  $\beta$  konstansok összetett függvényei  $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{23}$  és  $k_{32}$  rate konstansoknak.

Ha tehát a kísérletileg mért  $R_i = R_i(t)$  függvényt illesztjük a fenti egyenlethez, a konstansok, s azokból a transzport állandók meghatározhatók.

Az illesztés elvégezhető analóg számítógéppel (egyszerűbben, de kevésbé pontos eredményt adóan) és digitális számítógéppel.

A  $k$  konstansok, mint láttuk, a rekeszek közötti átmeneteket jellemzik és a módszer különösen jól használható különböző *hatások* mértékének kvantitatív jellemzésére.

#### IRODALOM

- CHAPMAN, D.: The Chemical and Physical Characteristics of Biological Membranes. Membranes and Ion Transport, Volume 1, (Wiley, London) 23—63 (1970).
- DEFARES, J. G., I. N. SNEDDON: The Mathematics of Medicine and Biology, North-Holland Publ. Co., Amsterdam) 533 (1964).
- GÁRDOS, G., J. F. HOFFMAN, H. PASSOW: Flux Measurements in Erythrocytes. Laboratory Techniques in Membrane Biophysics, (Springer-Verlag, Berlin) 9—20 (1969).
- SACHS, J. R.: J. Clin. Invest. **46**, 1433 (1967).
- SACHS, J. R., L. G. WELT: J. Clin. Invest. **46**, 65 (1967).
- SHEPPARD, C. W., GERTRUDE, E. BEYL: J. Gen. Physiol. **34**, 691 (1951).
- SHEPPARD, C. W.: Basic Principles of the Tracer Method, (Wiley, New York) 10 (1962).
- SNELL, F. M., S. SHULMAN, R. P. SPENCER, C. MOOS.: Biophysical Principles of Structure and Function, (Addison—Wesley Publ. Co., Reading) 325 (1965).