



A MITOKONDRIÁLIS ANYAGCSERE MODELLEZÉSE

Sváb Gergely^{1,2}, Horváth Gergő¹, Ádám Veronika¹, Tretter László¹, Szederkényi Gábor²

¹ Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet, MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport
² Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar



Bevezetés

A mitokondriumok fontos szerepet töltenek be a szervezet sejtjeinek anyagcseréjében. A mitokondriális citrát-kör által katalizált reakciók közismertek, viszont a mitokondrium aktuális metabolitszintjeiről kevés információval rendelkezünk. Joggal vetődik fel az igény a ciklusban résztvevő intermedierek időbeli koncentráció-változásának leírására, mivel ezek számos kórállapotban megváltoznak. Az irodalomban megtalálható modellek elsősorban az egyensúlyi állapotok leírásával foglalkoznak, melyeket a kinetikai és termodinamikai paraméterekből határoznak meg. Ezek a modellek széles tartományban mozgó paramétereket igényelnek, ezért a validációjuk során jelentős ponttalanságok figyelhetők meg.

A munkánk során egy pontosabb kvantitatív modellt szeretnénk fölláttani a citrát-köri folyamatok analízise érdekében, melynek célja a reakciókat katalizáló enzimek megváltozott működése során kialakult anyagcsere állapotok leírása. Emellett a mitokondrium új körülményekhez való metabolikus adaptációját vizsgáljuk.

A modellezés során a Michaelis-Menten enzimkinetikát használtuk a reakciósebességek és a transzportok sebességeinek meghatározáshoz. Az enzimek és transzporterek paramétereit enzimkinetikai méréseink és irodalmi adatok alapján határoztuk meg. A reakciók során lezajló koncentráció-változásokat differenciálegyenletekkel írtuk föl, és MATLAB környezetben implementáltuk. A modellezés során fiziológiás paraméterek és kezdeti értékek mellett a modell eredményei eltértek az egyensúlyi koncentrációktól, aminek okaként feltételeztük, hogy a modell nem vette figyelembe a mitokondrium és a környezete közti intermediér áramlásokat. Transzportereket építve a modellbe közelítettük az egyensúlyi koncentrációkat, ezáltal szimulálva az egészséges működést. Az iszkémiát követő módosult koncentrációkat kezdeti értéként alkalmazva megfigyelhető volt, hogy a mitokondrium az iszkémia lezajlása után elkezdti helyreállítani a szubsztrátok arányát a fiziológiás arányra. Modellünket a későbbiekben más kórállapotokban kívánjuk felhasználni. Az egyes enzimek defektusainak következtében megváltozott paramétereinek metabolizmusra gyakorolt hatását szeretnénk kvantitatívan megbecsülni. Ezáltal szeretnénk komplex képet kapni a mitokondrium metabolizmusáról és metabolomikájáról.

Következtetés és további tervek

A modell jelenlegi paraméterek mellett a fiziológiás mitokondrium működést képes kvalitatívan szimulálni. A kvantitatív működés leírásához a paraméterek pontosítása szükséges, melyeket további mérésekkel és paraméterbecslési eljárásokkal kívánunk meghatározni. Emellett további transzporterek és az enzim-szubsztrát interakciók hatásának beépítésével tovább finomítható a modell.

Modell felépítése és implementálása

• Szubsztrátok változásának meghatározása: differenciál-egyenletek alkalmazásával, a Michaelis-Menten enzimkinetikai modell felhasználásával.

• Paraméterek meghatározása: saját mérési eredmények és irodalomból származó értékek felhasználásával.

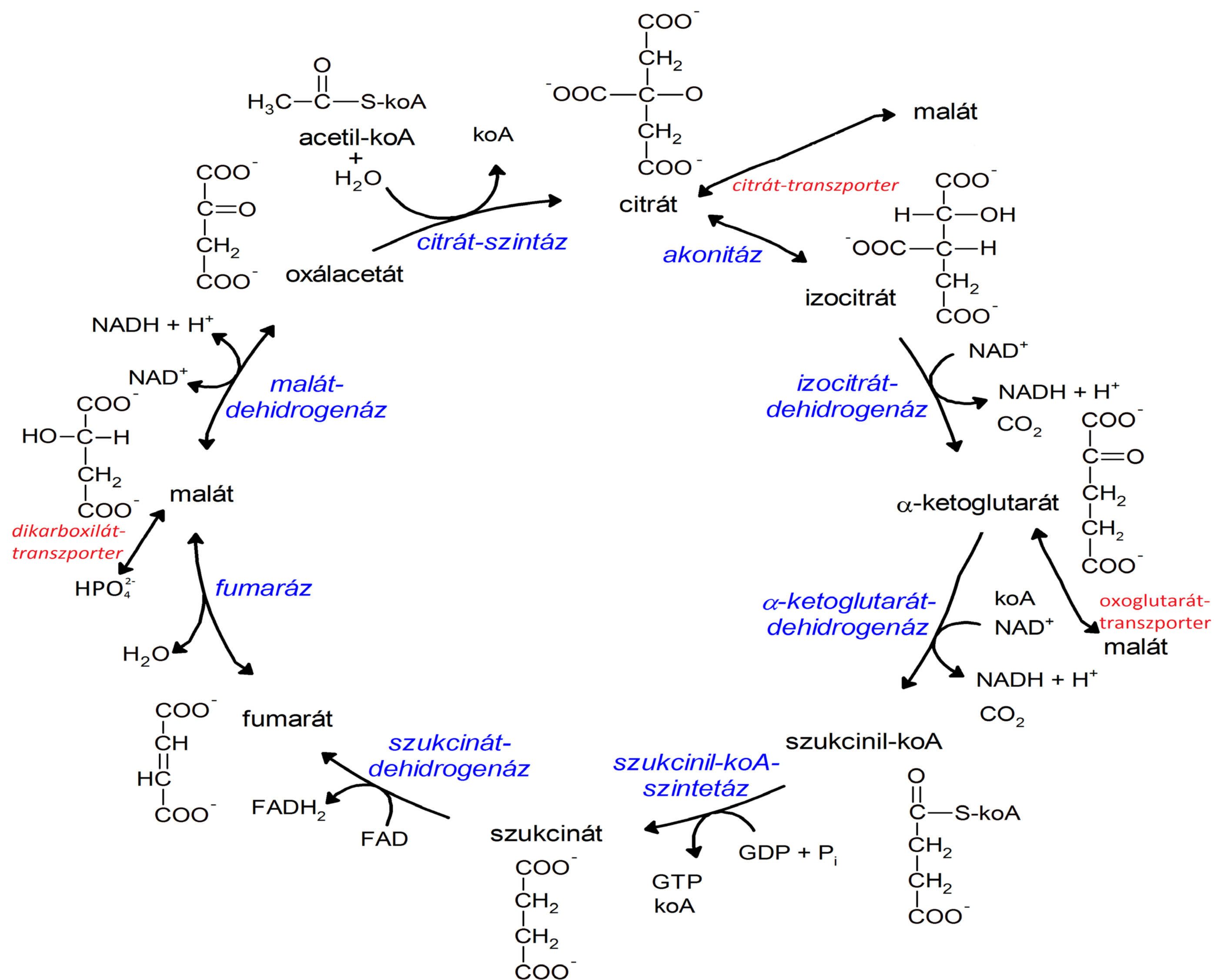
• Reakciók modelljének elkészítése: Paraméterek függvényében reverzibilis vagy irreverzibilis reakció modell alkalmazása.

• MATLAB környezetben történő megvalósítás: ode45 differenciál egyenlet megoldó segítségével, sztöchiometriai mátrix és reakciósebesség vektor használatával.

Köszönetnyilvánítás:

OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2./B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nemzeti Agykutatási Program (KTIA_13_NAP-A-III/6)

A modellben vizsgált reakciók és transzportok

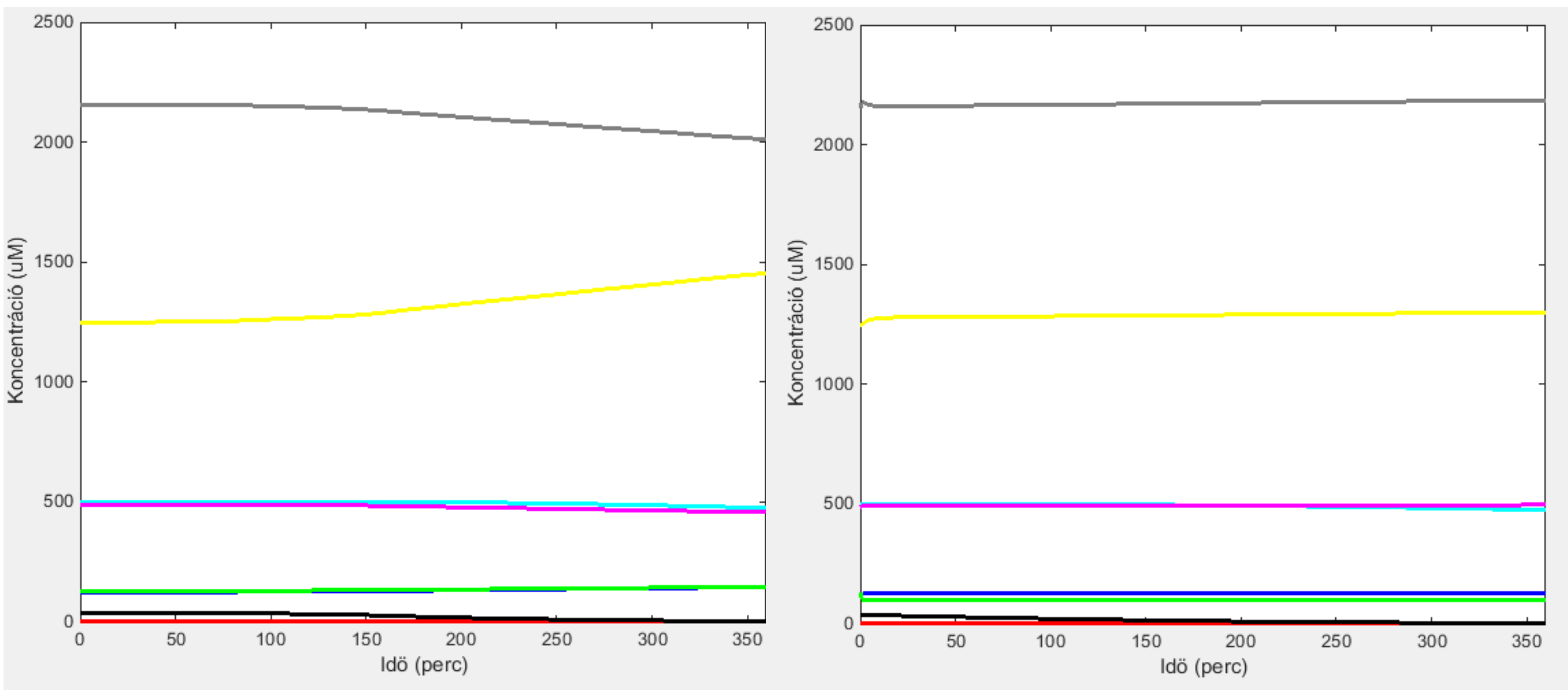


A modell által figyelembe vett folyamatok: 8 citrát-köri enzim és 3 transzporter

Fiziológiás kezdeti feltételek melletti változások izolált esetben és transzporterekkel

Szubsztrátok (μM)	Kezdeti értékek Mitokondrium	Kezdeti értékek Citoplazma	Végső állapot izolált esetben	Végső állapot transzporterekkel	Szín
Acetil-koenzim A	42	130	-199	-200	
Oxálacetát	5,7	30	2,1	2,2	Piros
Citrát	1250	230	1453	1301	Sárga
Izocitrát	125	0	145	130	Kék
α-ketoglutarát	130	69	147	100	Zöld
Szukcinil-koenzim A	38	0	3	3	Fekete
Szukcinát	500	0	476	476	Cián
Fumarát	490	0	457	497	Magenta
Malát	2156	1840	2011	2186	Szürke
O2	0	0	-157	-158	
ATP	0	0	765	768	
P/O	0	0	2,3	2,3	

Transzporterek beépítésével pontosabb eredményeket és stabilabb modellt kapunk.



Iszkémiás állapotot követő kezdeti feltételek melletti változások

Szubsztrátok (μM)	Kezdeti értékek Mitokondrium	Kezdeti értékek Citoplazma	Végső állapot	Szín
Acetil-koenzim A	42	130	-2398	
Oxálacetát	5,7	30	1,8	Piros
Citrát	341	230	599	Sárga
Izocitrát	34	0	60	Kék
α-ketoglutarát	65	69	53	Zöld
Szukcinil-koenzim A	38	0	0,2	Fekete
Szukcinát	1500	0	658	Cián
Fumarát	160	0	273	Magenta
Malát	704	1840	1202	Szürke
O2	0	0	-1716	
ATP	0	0	7740	
P/O	0	0	2,2	

Látható a fiziológiás arány visszaállítására irányuló dinamika

Eredmény

• A modell képes numerikusan kiszámítani a citrát-köri szubsztrátok koncentrációinak változását az idő függvényében. Következtet a mitokondrium által termelt ATP mennyiségére a reakciók során keletkező redukált koenzimek mennyiségéből, és ebből P/O hányadost számolni.

• Az enzimek és transzporterek megfelelő paraméterezése mellett képes visszaadni az egyensúlyi állapot elérésére irányuló dinamikát.

• A mért értékek és a modell eredményei közötti nagyobb eltérés az enzimek paramétereinek mérése során keletkező hibából, továbbá az aktivátorok/inhibitorok hiányából származhat.

• A transzporterek bevezetésével jelentősen pontosabbá és stabilabbá vált a modell, csökkent a fiziológiástól való eltérés.

• Iszkémiás szubsztrát koncentrációt kezdeti feltételként beállítva a modell mutatja a szubsztrátok egyensúlyi arányára történő visszaállítást.

A szubsztrátok koncentráció-változásának meghatározása

$$\frac{d}{dt}[SzKoA] = -\frac{V_{SUCLA}[SzKoA]}{[SzKoA] + K_{M(SzKoA,SUCLA)}}$$

$$\frac{d}{dt}[Szuke] = +\frac{V_{SUCLA}[SzKoA]}{[SzKoA] + K_{M(SzKoA,SUCLA)}}$$

Irreverzibilis reakciók esetén
(pl. szukcinil-koenzim A → szukcinát átalakulás)

$$\frac{d}{dt}[Mal] = -\frac{V_{MDH}[Mal]}{[Mal] + K_{M(Mal,MDH)}} + \frac{V_{MDH}[OA]}{[OA] + K_{M(OA,MDH)}}$$

$$\frac{d}{dt}[OA] = +\frac{V_{MDH}[Mal]}{[Mal] + K_{M(Mal,MDH)}} - \frac{V_{MDH}[OA]}{[OA] + K_{M(OA,MDH)}}$$

Reverzibilis esetben „lassú” reakciók esetén
(pl. malát ↔ oxálacetát átalakulás)

$$\frac{d}{dt}[Cit] = \left(+\frac{V_{CS}[OA]}{[OA] + K_{M(OA,CS)}} - \frac{V_{IDH}[Izo]}{[Izo] + K_{M(Izo,IDH)}} \right) \cdot \frac{1}{\frac{[Cit]}{[Izo]} + 1} \cdot \frac{[Cit]}{[Izo]}$$

$$\frac{d}{dt}[Izo] = \left(+\frac{V_{CS}[OA]}{[OA] + K_{M(OA,CS)}} - \frac{V_{IDH}[Izo]}{[Izo] + K_{M(Izo,IDH)}} \right) \cdot \frac{1}{\frac{[Cit]}{[Izo]} + 1}$$

Reverzibilis esetben „gyors” reakciók esetén
(pl. citrát ↔ izocitrát átalakulás)

