

Zárójelentés
a „Funkcionális dinamika” című kutatási program (OTKA 81646)
során elért eredményekről

A *Funkcionális dinamika* című OTKA pályázattal azokhoz a kutatásainkhoz sikerült támogatást elnyerni, amelyekkel továbbra is részt tudunk venni a FUNCDYN programban, valamint segítették folytatni sikeres együttműködéseinket nemzetközi partnereinkkel. A FUNCDYN (Funkcionális dinamika komplex kémiai és biológiai rendszerekben) az Európai Tudományos Alap (ESF) által támogatott Kutatási Együttműködési Program volt. A 2006-2011 között megvalósult program célkitűzése olyan biológiai rendszerek vizsgálata volt, amelyekben a dinamikai jelenség a biológiai funkció lényeges eleme. Az élő rendszerekhez nagyon hasonló, tér- és időbeli periodicitást mutató kémia és elektrokémiai rendszerek vizsgálata is fontos részét képezték a FUNCDYN programnak, amelyben kutatócsoportom a kezdetektől részt vett. Az OTKA pályázatban megfogalmazott kutatási terveink (növekvő komplexitás szerint) a következők voltak: 1) elektrokémiai oszcillátorok dinamikájának kísérleti és numerikus tanulmányozása, különös tekintettel a késleltetett visszacsatolás hatásának vizsgálatára; 2) reakció-diffúzió rendszerekben kialakuló osztódó és egyéb mintázatok képződésének kísérleti vizsgálata és modellezése; 3) a ribavirin adagolás optimalizálása (dinamikus terápia kidolgozása) hepatitis C vírussal (HCV) fertőzött betegek esetében, különös tekintettel a krónikus vesebetegségben szenvedőkre.

A kutatási tervekkel összhangban a következő eredményeket sikerült elérnünk:

1) Elektrokémiai oszcillátorok dinamikájának kísérleti és numerikus vizsgálata

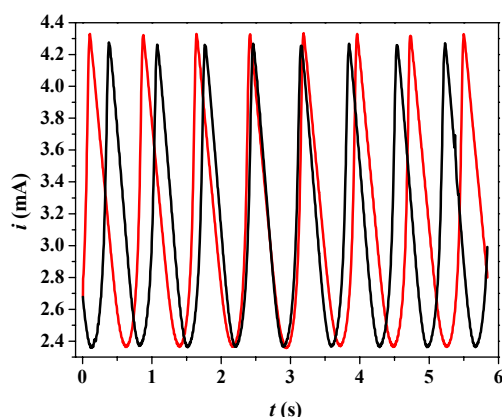
a) Potenciosztatikus körülmények között szisztematikusan tanulmányoztuk a *késleltetett visszacsatolás* hatására kialakuló biritmicitást az alkalmas feltételek mellett áramoszcillációt mutató nikkel–kénsav és réz–ortofoszforsav elektrokémiai rendszerekben. A biritmicitás olyan dinamikai jelenség, amikor egy adott késleltetési idő értékhez kétféle, egy kisebb és egy nagyobb periódusidővel oszcilláló határciklus is tartozhat (1. ábra). A visszacsatolás alkalmazásakor a potenciált időben változtatjuk:

$$V(t) = V_0 + \delta V(t),$$

ahol a V_0 egy fix potenciál érték, $\delta V(t)$ pedig az alkalmazott feszültségperturbáció:

$$\delta V(t) = K [E(t) - E(t - \tau)].$$

K a szabályozási (visszacsatolási) állandó, $E(t)$ és $E(t - \tau)$ a kettősréteg-potenciál t és $(t - \tau)$ időpontbeli értékei, ahol τ a késleltetési idő.



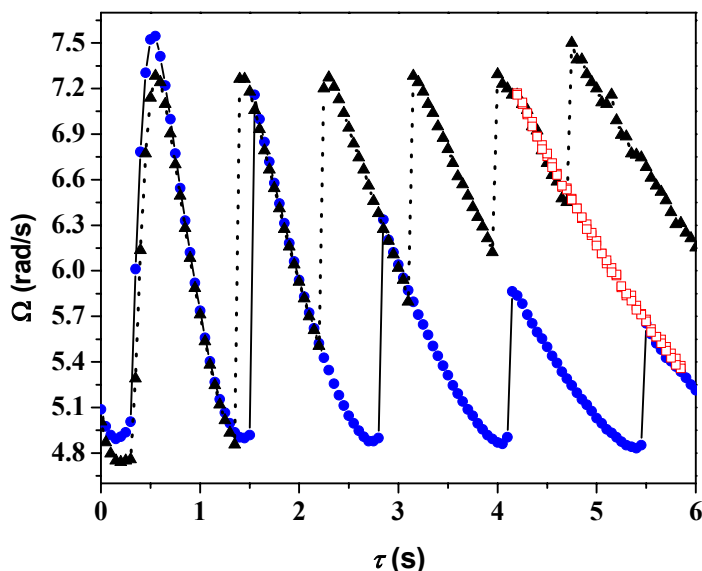
1. ábra: Biritmicitás a réz-ortofoszforsav elektrokémiai rendszerben.

Áramoszcillációk a biritmicitás tartományában: $V_0 = 54$ mV, $K = 0,02$ és $\tau = 4,7$ s.

A periódusidő a piros görbe esetében $T = 0,79$ s (τ növelésével érhető el),

a fekete görbe esetében pedig $T = 0,71$ s (τ csökkentésével érhető el).

A jelenség numerikus modellezése során azt tapasztaltuk, hogy az áramoszcilláció periódusidejének legalább ötszörösét meghaladó késleltetési idő alkalmazásakor tri- illetve magasabb rendű multiritmiticitás fejlődik ki. A körülmények alkalmas megválasztásával sikerült a triritmiticitást a réz elektrokémia oldódása során kísérletesen kimutatni. *Ez az első kísérleti bizonyítéka a korábban elméletileg megjósolt különleges dinamikai jelenségnek (2. ábra).*



2. ábra: Triritmiticitás a réz-ortofoszforsav rendszerben.

Az oszcilláció frekvenciájának változása $K = 0,12$ szabályozási állandó alkalmazásával.

A késleltetési időt (τ) először 0-tól 6 s-ig növeljük (●), majd 0-ra csökkentjük vissza (▲).

A triritmiticitás (□) az alsó vagy felső ágon lévő rendszer alkalmas perturbációjával érhető el.

A multiritmiticitás kialakulásának értelmezésére egy ún. fázismodellt dolgoztunk ki, mellyel a kísérletekkel jó összhangban tudjuk megjósolni a kritikus késleltetési idő értékét a visszacsatolás erősségét jellemző K szabályozási állandó függvényében. Ezeket az eredményeket – a tervnek megfelelően – Kiss István Zalánal (Saint Louis University, USA) együttműködve érték el.

A multiritmiticitás felfedezéséről és elméleti értelmezéséről posztert mutattunk be az Olaszországban (Il Ciocco, Barga) 2010-ben rendezett “Oscillations and Dynamic Instabilities in Chemical Systems,” című Gordon Konferencián. Sajnos, a kutatási témán dolgozó PhD hallgató (Nagy Timea) a Saint Louis Egyetemen megkezdett doktori tanulmányait 2010-ben felfüggesztette, és a kutatásokba csak 2013 szeptemberében tudott újból bekapcsolódni a Debreceni Egyetemen. Nagy Timea jelenleg a doktori értekezését készíti, melynek része a bi- és multiritmiticitás témaköre is. Ennek során fog elkészülni az OTKA pályázattal elért eredményekről beszámoló közlemény, melynek megjelentetését még ebben az évben, 2014-ben tervezzük.

b) A tervnek megfelelően Kiss István Zalánal együttműködve tanulmányoztuk a réz-ortofoszforsav elektrokémiai oszcillátor periódusidejének paraméterfüggését. *Kísérleteinkkel elsőként sikerült igazolni a korábban általunk levezetett elméleti összefüggés érvényességét, mely szerint a Hopf-bifurkációval kialakuló áramoszcilláció körfrekvenciája (ω) négyzetgyökösen függ a forgókorong-elektrod forgási sebességétől (d):*

$$\omega \propto d^{1/2}.$$

A kísérletek során új összefüggéseket tártunk fel és igazoltunk kísérletesen az áramoscilláció hullámalakjának a forgókorong-elektrod forgási sebességétől való függésére vonatkozóan is.

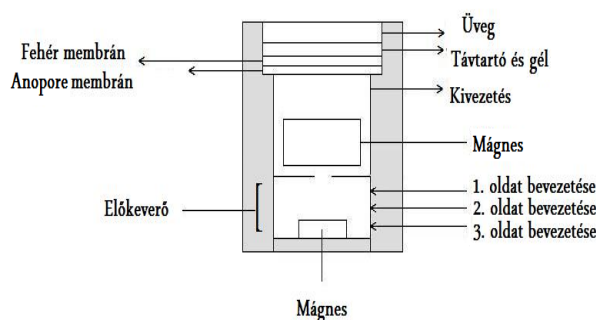
Az elért eredményekről posztert mutattunk be a 2012-ben megrendezett “Oscillations and Dynamic Instabilities in Chemical Systems,” című Gordon Konferencián (Waterville, ME, USA), és közleményt jelentettünk meg a nagy presztizsű *Chemical Engineering Science* című folyóiratban.

c) 2010 elején az elektrokémiai oszcillátorok dinamikai viselkedéséről szóló összefoglaló (review) írására kért fel minket a Wiley-VCH kiadó. A Nagy Timeával és Kiss István Zalánnal társszerzőségben írt kb. ötven oldalas fejezet „Dynamic Instabilities in Electrochemical Processes” címmel a Handbook of Solid State Electrochemistry 2. kötetében jelent meg 2011-ben.

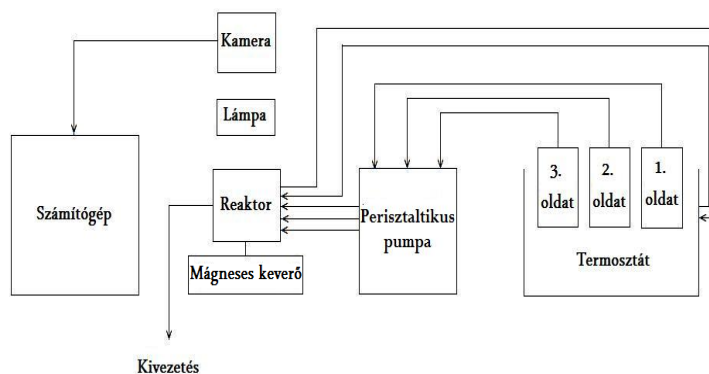
d) A fémek elektrokémiai oldására alkalmazott cellákban kialakuló bonyolult, komplex mintázatok dinamikáját modelleztük és jellemeztük sikerrel a legkorszerűbb numerikus módszerek alkalmazásával. A kutatást Adrian Birzu (I. Cuza Univeristy, Iasi, Románia) romániai kutatóval együttműködve végeztük, és az eredményekről cikket jelentettünk meg a *Journal of Computational Interdisciplinary Sciences* című folyóirat különszámában, amely a FUNCDYN program legérdekesebb eredményeit mutatta be.

2) Reakció-diffúzió rendszerekben kialakuló mintázatok képződésének kísérleti vizsgálata

A projekt kezdeti szakaszában a debreceni MTA ATOMKI műhelyének segítségével építettünk egy ún. texasi típusú gélreaktort (3. ábra), majd összeállítottuk a kísérleti berendezést (4. ábra) és kifejlesztettük a kiértékeléshez szükséges digitális képfeldolgozó rendszert.

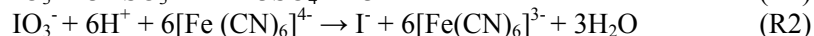
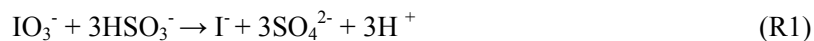


3. ábra: A kísérlethez használt texasi típusú gélreaktor sematikus rajza



4. ábra: A kísérleti berendezés sematikus rajza

Ezt követően Pontos István PhD hallgató a mintázatok képződésének dinamikáját vizsgálta a ferrocianidion-jodátion-szulfition (FIS)-rendszerben. A FIS-reakció egy jól ismert aktivátor-inhibitor rendszer, amelyben az (R1) és (R2) reakciók egyszerre játszódnak le. Az első folyamat (R1) a hidrogén-szulfition oxidációja, melynek eredményeként hidrogénion keletkezik (autokatalitikusan). Ezzel párhuzamosan játszódik le a ferrocianid-ion oxidációja (R2), melyhez viszont hidrogénionra van szükség.



Az aktivátor szerepét a hidrogénion, az inhibitor szerepét pedig a ferrocianidion játssza. Jól ismert, hogy a hidrogénion diffúziója nagyban befolyásolja a mintázatképződést. Korábbi megfigyelések igazolták, hogy a hidrogénion effektív diffúziója jelentősen módosítható gyenge sav funkciós csoportokat tartalmazó, kis mobilitású polimer, például nátrium-poliakriát (PA) hozzáadásával a gélhez (mi a kísérletekben agarózt használtunk). Így a PA-koncentráció változtatásával szabályozni lehet az aktivációs és inhibíciós folyamatok „térbeli szeparációját”, amely a mintázatképződés egyik feltétele.

Kísérleteinkben szisztematikusan változtattuk a membrán vastagságát és a poliakrilát koncentrációját. Célunk a mintázatképződés dinamikájának tanulmányozása volt a mintázat kialakulásának kezdeti szakaszában. Erre ezidáig csak kevés figyelmet fordítottak, pedig az első néhány szimmetriatörésre vonatkozó kísérletek szolgáltatathatják a legjobban tesztelhető adatokat a jelenség értelmezére kidolgozott illetve kidolgozni tervezett modellek és numerikus módszerek teljesítőképességére vonatkozóan.

Kísérleteinkben elsőként sikerült megmutatni, hogy a mintázat kialakulása két egymást követő lépés: rügyezés és elágazás eredménye.



5. ábra: Rügyezés és elágazás a mintázatképződés kezdeti szakaszában.

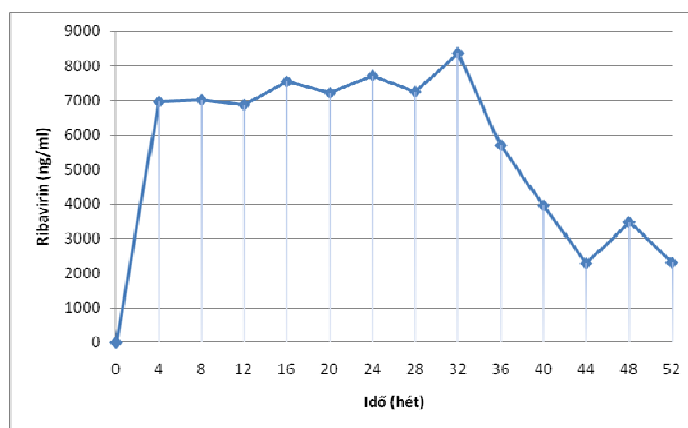
Gélvastagság 0,38 mm, PA-koncentráció 8 mM,
a soronként balról-jobbra követendő felvételek között eltelt idő 90 perc.

E rendkívül jelentős új eredmény alapján kértem a pályázat egy évvel történő meghosszabbítását. Kísérleteinkről posztert mutattunk be a 2013-ban Madriban rendezett XXXIII. Dynamics Days Europe konferencián. Az eredményekről beszámoló közleményt a közeljövőben tervezzük megjelentetni.

A terveknek megfelelően Adrian Birzuval együttműködve elkezdtek a mintázatképződés kétdimenziós modellezéséhez szükséges FORTRAN kódok kifejlesztését. Sajnos a modellszámításokban a nemzetközi együttműködés nehézségei miatt (romániai partnerem németországi illetve amerikai ösztöndíjakat kapott) jelentős haladást nem sikerült elérni.

3) A ribavirin adagolás optimalizálása hepatitis C vírussal fertőzött betegek esetében

A terveknek megfelelően a kutatás első fázisában Fráter Edit PhD hallgató sikerrel adaptálta és tesztelte az irodalomban közölt HPLC-s módszereket a ribavirin koncentráció meghatározására a Hepatitis C vírussal fertőzött betegek vérmintáiban. A kutatás második fázisában Dr. Tornai Istvánnal (Debreceni Egyetem II. számú Belgyógyászati Klinika) együttműködve elkezdtek a plazma ribavirin szintek 2008-ig visszamenőleges és aktuális monitorozását súlyosan beszűkült vesefunkciójú, HCV pozitív betegek kombinált peginterferon alfa-2a és ribavirin kezelése során. A kontroll csoportban 37 normális vesefunkciójú, krónikus C vírus hepatitises beteg volt. A 6. ábra azt mutatja, hogy a programozott, dinamikus gyógyszeradagolással 32 héten keresztül sikerült tartósítani a kb. 7000 ng/ml plazma ribavirin szintet egy eredményesen kezelt beteg esetében.



6. ábra: Plazma ribavirin szint alakulása egy sikeresen kezelt beteg esetében.

A klinikai vizsgálatok eredményei arra utaltak, hogy állandó kontroll mellett a csökkentett dózisu ribavirin kielégítő biztonsággal és jó hatékonysággal adagolható a jelentősen beszűkült vesefunkciójú betegek esetében is. Az eredményekről egy hepatológiai és egy gasztroenterológiai konferencián számoltunk be poszterek és előadások formájában. Egy korábbi éves beszámolóban jeleztem, hogy a témakörrel foglalkozó PhD hallgató (Fráter Edit) 2011-ben váratlanul külföldre távozott, ezért a ribavirin adagolás optimalizálására vonatkozó kutatásokat nem tudtuk folytatni, az eredményekről közleményt nem jelentettünk meg.

Összegzés

A kutatási tervben szereplő három témakörben eltérő eredményességgel és mértékben sikerült a terveket megvalósítani.

- 1) Az elektrokémiai vizsgálatok esetében a kitűzött célokat szinte teljes egészében elértük, továbbá a szakirodalomban elsőként igazoltuk kísérletileg az elméletileg korábban megjósolt jelenséget, a multiritmicitást. Az elektrokémiai rendszerek dinamikájának jellemzésében elért, nemzetközi figyelmet keltő eredményeink alapján pedig egy review írására is felkértek minket.
- 2) A mintázatképződés témakörében a tervezett kísérleteket sikerült elvégezni. Elsőként vizsgáltuk szisztematikusan és írtuk le sikerrel a mintázatképződés kezdeti szakaszának mechanizmusát.

Megállapítottuk, hogy a mintázat kialakulása és fejlődése két egymást követő lépés, a rügyezés és elágazás eredménye. A tervezett modellszámításokat sajnos nem sikerült elvégezni.

- 3) A ribavirin adagolás optimalizálása témakörben csak részleges eredményt értünk el. A klinikai vizsgálatok eredményei arra utaltak, hogy állandó kontroll mellett csökkentett dózisu ribavirin kielégítő biztonsággal és jó hatékonysággal adagolható a jelentősen beszűkült vesefunkciójú betegek esetében is.

A pályázati célkitűzések elérését nagyban nehezítette a PhD hallgatók státuszában bekövetkezett változás. Nagy Tímea hosszú időre megszakította a tanulmányait, Fráter Edit pedig elhagyta Magyarországot. A mintázatképződéssel kapcsolatos kísérleteket számos technikai probléma nehezítette és késleltette, a modellszámításokat pedig a romániai partnerem (A. Birzu) németországi és amerikai ösztöndíjas útjai miatt nem tudtuk elvégezni.

A pályázatban hat közlemény megjelentetését tüntettem fel várható eredményként. Az elektrokémia témakörében két eredeti közleményt és egy nagy terjedelmű reviewt jelentettünk meg. A cikkek megjelentetése előtt az eredményeinket (a terveknek megfelelően) posztterek formájában jelentős nemzetközi konferenciákon is bemutattuk. Sajnos a review esetében a könyvi jelleg miatt az OTKA pályázati támogatást nem lehetett megköszönni és feltüntetni. Egy további közlemény megjelentetését tervezzük a multiritmicitás témakörében. A mintázatképződés témakörében mindösszesen egy posztert mutattunk be a 2013. évi Dynamics Days konferencián. Az eredményekről beszámoló közlemény megjelentetését ebben az évben tervezzük. A ribavirin terápiával kapcsolatos eredményeket közlemény formájában nem, de előadások és posztterek formájában bemutattuk a rangos orvosi közönségnek. A célt, az optimális és dinamikus ribavirin terápia kidolgozását és alkalmazását sikerült elérni. A gyógyítás szempontjából ennél értékesebb eredményt elképzelni sem lehet.

Ezúton kérem, hogy később tegyék majd lehetővé a zárójelentés kiegészítését a 2014-ben várhatóan megjelenő két további publikációval, amellyel végül is összesen négy közleményt és egy könyvfejezetet (review) tudok majd felsorolni eredményként.

A jegyzékben felsorolt közlemények esetében (egy kivételével) sikerült megadnom a linket az eredeti, teljes dokumentumhoz. A zárójelentésben bemutatott és röviden összefoglalt eredményekkel kapcsolatos részleteket ezekben a dokumentumokban lehet megtalálni. A Gordon Konferencia esetében a konferencia szabályainak megfelelően nyomtatott dokumentum sohasem jelenik meg, így linket sem tudok megadni.

Ezúton is köszönöm az OTKA támogatását, az egy év hosszabbítás engedélyezését, és az OTKA Iroda munkatársainak pótolhatatlan segítségét a pályázat menedzselésében.

Debrecen, 2014. március

Gáspár Vilmos