

Mathematisches Modell der Immunantwort auf reife und unreife Dengueviren

Peter Rashkov

Mathematical Modelling and Numerical Analysis
Institut für Mathematik und Informatik
Bulgarische Akademie der Wissenschaften

Oberseminar zur Numerik, Philipps-Universität Marburg
zu Ehren des 60. Geburtstages von Prof. Dr. Stephan Dahlke

Zusammenarbeit mit Dr. Milen Borisov (IMI-BAS) und Prof. Gabriel Dimitriu (UMF-Iași, Rumänien)

COST Action 16227 *Investigation and mathematical analysis of avant-garde disease control via mosquito nano-tech repellents*

Forschungsprogramm IKTVNOS des bulgarischen Ministerium für Bildung und Wissenschaft

Veröffentlichung:

M. Borisov, G. Dimitriu, P. Rashkov. Modelling the host immune response to mature and immature dengue viruses, *Bull Math Biol*, (online)
doi:10.1007/s11538-019-00664-3



Denguefieber, eine Vektorkrankheit

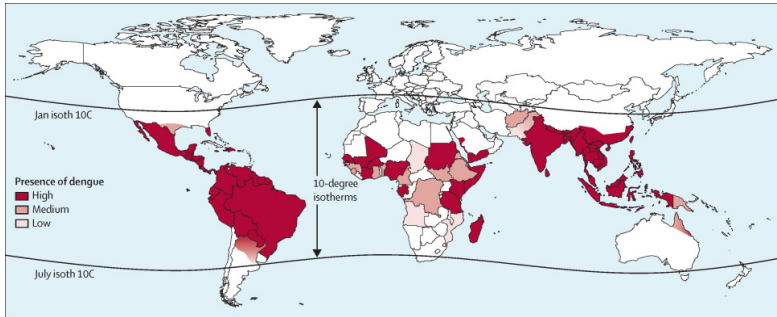
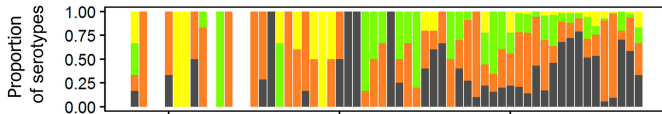
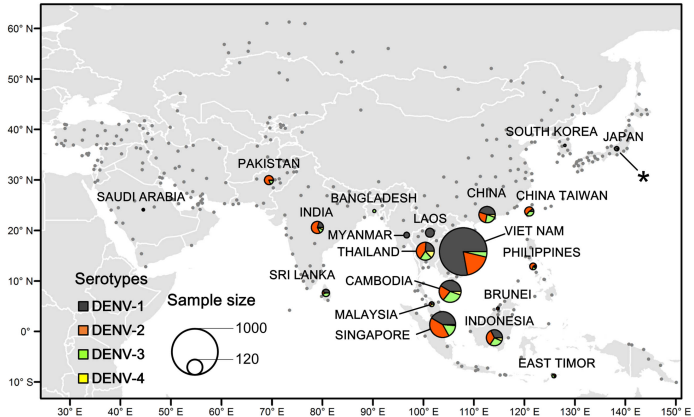


Abbildung: Denguefieber-Verbreitung im 2014 (WHO-Daten). Die Krankheit wird durch Stechmücken der Gattung *Aedes* übertragen. Eine davon ist auch in Europa verbreitete asiatische Tigermücke.

Kozirkulation der 4 DENV-Serotypen



Tian et al, *PLOS Negl Trop Dis*, 2017

Eine Infektion mit einem Serotyp *führt nicht* zu einer lebenslangen Immunität gegen die anderen Serotypen.

Eine weitere, sekundäre Infektion mit einem unterschiedlichen Serotyp¹ kann als Hämorrhagisches Denguefieber (DHF) oder Dengue-Schock- Syndrom (DSS) auftreten, die beide zum Tode führen können.

Der im 2015 eingeführte Impfstoff der Sanofi-Pasteur wurde wegen Seitenwirkungen aus Südostasien zurückgezogen.

¹Es gibt Hinweise dafür, dass eine sekundäre Infektion mit dem selben Serotyp auch möglich ist.

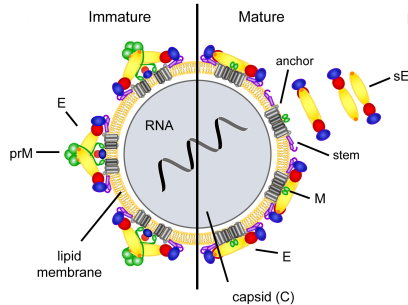
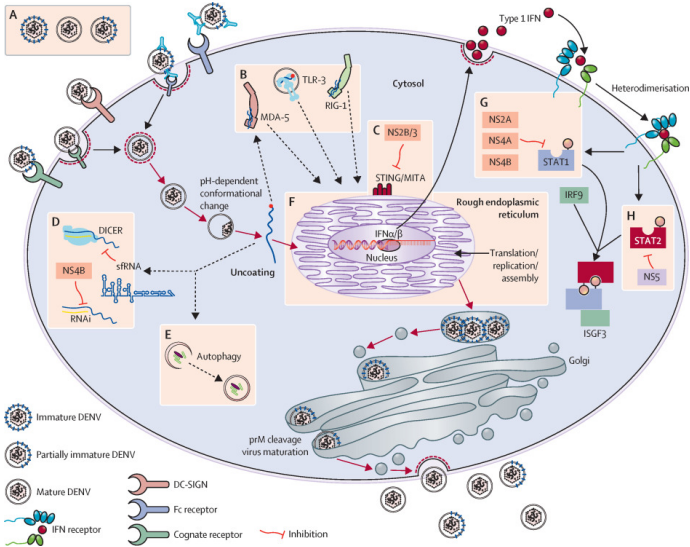


Abbildung: Abspaltung von prM vom Virusmembran unter der Wirkung vom Zellenzym Furin ist für die Erzeugung reifer/infektionfähiger DENV-Viren erforderlich. Reife Viren weisen eine glatte marmorartige Struktur aus, während unreife oder teilweise unreife Viren – ein stacheliges Aussehen, und sind unfähig sich auf die Zielzelle anzubinden.

Infection durch DENV



Guzman & Harris, *The Lancet*, 2015

Mathematische Modelle für die Immunantwort auf DENV

- 1 N. Ansari, M. Hesaaraki. A within host dengue infection model with immune response and Beddington-DeAngelis incidence rate. *Appl Math*, 3: 177-184, 2012
- 2 H. Clapham, et al. Within-host viral dynamics of dengue serotype 1 infection. *J R Soc Interface*, 11: 20140094, 2014
- 3 T. Gujarati, G. Ambika. Virus antibody dynamics in primary and secondary dengue infections. *J Math Biol*, 69: 1773-1800, 2014
- 4 R. Ben-Shachar, K. Koelle. Minimal within-host dengue models highlight the specific roles of the immune response in primary and secondary dengue infections. *J R Soc Interface*, 12: 20140886, 2015
- 5 R. Nikin-Beers, S. M. Ciupe. The role of antibody in enhancing dengue virus infection *Math Biosci*, 263: 83-92, 2015.
- 6 R. Ben-Shachar, S. Schmidler, K. Koelle. Drivers of inter-individual variation in dengue viral load dynamics *PLoS Comput Biol*, 12(11):e1005194, 2016

- Anteil an unreifen Viren im Blutproben von DENV-Kranken: etwa 30%
- Hemmung der Furinproduktion (*in vitro*) führt zu Produktion unreifes DENVs
- Heterogenität der Virenmenge berücksichtigen
- Infektionsstimulierende Antikörper: das mit anti-prM Antikörper gebundenes unreifes Virus kann sich auf die Zielzelle anbinden und ist gleichermaßen infektionsfähig
- Rolle des unreifen DENV bei sekundären Infektionen untersuchen

- eingeborene Immunantwort: natürliche Killerzellen (NK-Zellen)
- erworbene Immunantwort: T-Lymphozyten (T-Zellen), Antikörper
- Signalmoleküle, die zusätzliche Immunzellen aktivieren oder rekrutieren
 - Interferon vom Typ I
 - entzündungsauslösende Zytokine
- plasmazytoide dendritische Zellen (pDCs) im peripheren lymphatischen System, die eindringende Krankheitserreger und Fremdobjekte spüren
- pDCs können Interferon vom Typ I bis zu tausendfach grösseren Mengen produzieren als andere Zelltypen und können T-Zellen aktivieren

- Daten aus *in vitro* Experimente (Décembre et al. 2014)
- die Intensität der antiviralen Reaktion bei pDCs auf mit DENV infizierte Zellen hängt davon ab, ob die reifes oder unreifes Virus produzieren
- vielvach intensivere pDC-Reaktion auf infizierte Zelle, die unreifes DENV produzieren
- Produktion von Interferon vom Typ I – abhängig vom Zell-Zell-Kontakt zwischen pDCs und DENV-infizierten Zellen

- Sind unreife, nichtinfektiöse Viren vom evolutionären Vorteil? Oder nur ein Nebenprodukt?
- Wie und ob profitiert das Virus von der Präsenz nichtinfektiöser Viren, die eine sehr intensive Immunantwort gegen sich selbst verursacht?
- Anteil des unreifen DENV und seine Wirkung auf
 - den Krankheitsverlauf: maximale Anzahl infizierter Zellen, maximale Viruslast, Zeit bis zur maximalen Viruslast
 - die Immunantwort: Rekrutierung zusätzlicher Zielzellen, Unterschiede zwischen primären und sekundären Infektion
- Gibt das Modell eventuelle Anweisungen auf neue Experimente?

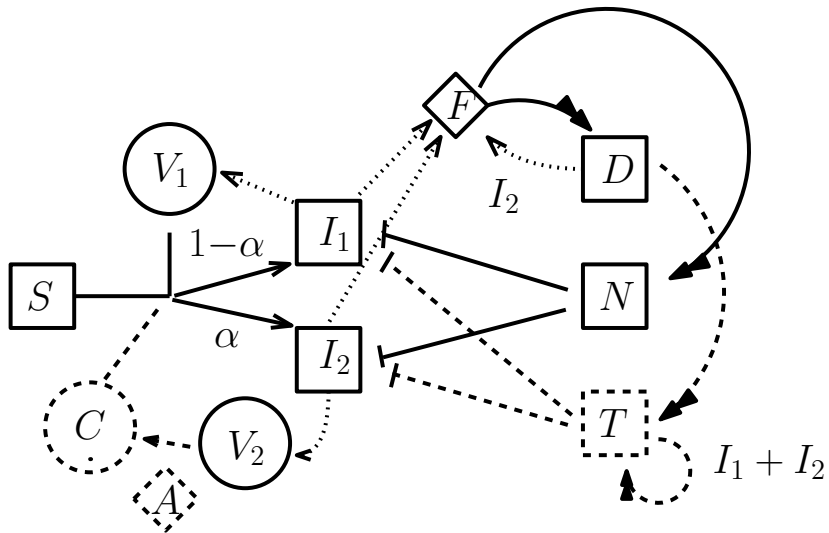
- Populationsdynamik mit Abteile – System von gewöhnlichen DGL.
- unvollständige biologische Information, Hinweise ausschließlich aus *in vitro* Experimente
- Indikatoren von biomedizinischem Interesse
 - *Krankheitsindikatoren*: Höchststand der Viruslast und infizierten Zellen, Zeitdauer der Viruszuwachsphase zwischen der Nachweisgrenze (LOD) und der maximalen Viruslast
 - *Immunindikatoren*: Höchststand der aktivierten NK-Zellen, T-Zellen, des Interferons und der anti-prM Antikörper

- große Anzahl von Modellparametern mit nicht identifizierten oder unsicheren Werten
- Annahme: gleichmäßige Verteilung für einige Parameterwerte
- Monte-Carlo-Methode
- Parameterabtastung nach dem Muster des *lateinischen Hyperwürfels* (etwa wie eine Verteilung von Türme auf dem Schachbrett, die sich nicht gegenseitig bedrohen)
- DGI-System integrieren und aus der numerischen Lösung die Krankheits- und Immunindikatoren generieren
- statistische Hypothesentests durchführen
- 2 Modellszenarien betrachten

Annahme von 2 bestehenden Unterpopulationen mit infizierten Zellen

- I_1 produziert reife, infektiöse Viren V_1 (Anteil $1 - \alpha$ an Zielzellen in der Eclipsephase)
- I_2 produziert unreife, nichtinfektiöse Viren V_2 (Anteil α an Zielzellen in der Eclipsephase)

Parameter $0 \leq \alpha \leq 1$



$$S' = -\beta SV_1 + \gamma_S F$$

$$I_1' = (1 - \alpha)\beta SV_1 - k_N I_1 N$$

$$I_2' = \alpha\beta SV_1 - k_N I_2 N$$

$$V_1' = p l_1 - \beta V_1 S - d_V V_1$$

$$V_2' = p l_2 - d_V V_2$$

$$F' = q_1 D I_2 + q_2 (I_2 + I_1) - d_F F$$

$$D' = D_0 + \frac{K_D F}{\kappa_F + F} - d_D D$$

$$N' = \gamma_N F - d_N N$$

$$S' = -\beta S V_1 - \beta S C + \gamma_S F$$

$$I_1' = (1 - \alpha)\beta S(V_1 + C) - k_N I_1 N - k_T I_1 T$$

$$I_2' = \alpha\beta S(V_1 + C) - k_N I_2 N - k_T I_2 T$$

$$V_1' = p I_1 - \beta V_1 S - d_V V_1 - k_{a1} A V_1$$

$$V_2' = p I_2 - d_V V_2 - k_{a2} A V_2$$

$$C' = \sigma k_{a2} A V_2 - \beta C S - d_V C$$

$$F' = q_1 D I_2 + q_2 (I_2 + I_1) - d_F F$$

$$D' = D_0 + \frac{K_D F}{\kappa_F + F} - d_D D$$

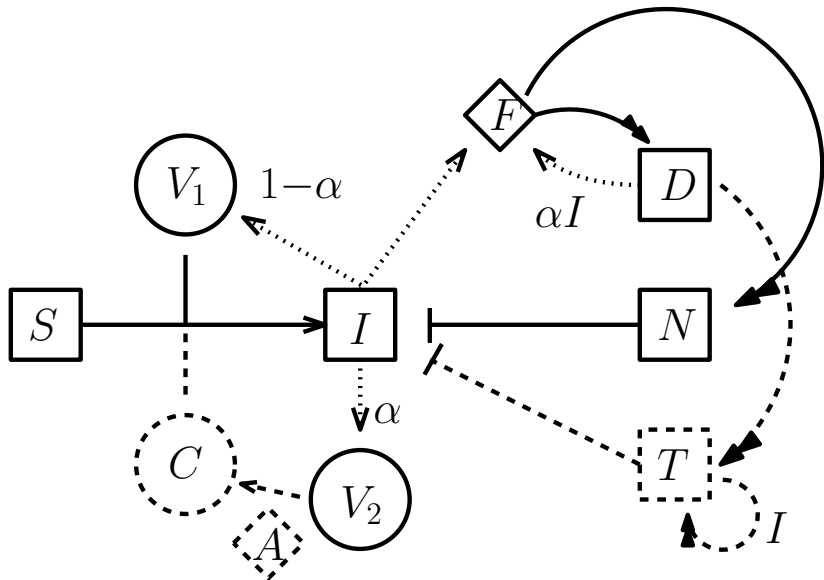
$$N' = \gamma_N F - d_N N$$

$$T' = \gamma_{T1} T (I_1 + I_2) + \gamma_{T2} T D - d_T T$$

$$A' = r A \left(1 - \frac{A}{K_a + m(V_1 + V_2)} \right) - k_{a1} A V_1 - k_{a2} A V_2$$

Annahme von einer einzigen Population infizierten Zellen, I

Parameter α ist der Anteil an nichtinfektiösem DENV und $1 - \alpha$ der Anteil an infektiösem DENV, die I produziert.



$$S' = -\beta SV_1 + \gamma_S F$$

$$I' = \beta SV_1 - k_N I_1 N$$

$$V_1' = (1 - \alpha)pl - \beta V_1 S - d_V V_1$$

$$V_2' = \alpha pl - d_V V_2$$

$$F' = q_1 \alpha DI + q_2 I - d_F F$$

$$D' = D_0 + \frac{K_D F}{\kappa_F + F} - d_D D$$

$$N' = \gamma_N F - d_N N$$

$$S' = -\beta S V_1 - \beta S C + \gamma_S F$$

$$I' = \beta S (V_1 + C) - k_N I_1 N - k_T I_1 T$$

$$V_1' = (1 - \alpha) p I - \beta V_1 S - d_V V_1 - k_{a1} A V_1$$

$$V_2' = \alpha p I - d_V V_2 - k_{a2} A V_2$$

$$C' = \sigma k_{a2} A V_2 - \beta C S - d_V C$$

$$F' = q_1 \alpha D I + q_2 I - d_F F$$

$$D' = D_0 + \frac{K_D F}{\kappa_F + F} - d_D D$$

$$N' = \gamma_N F - d_N N$$

$$T' = \gamma_{T1} T I + \gamma_{T2} T D - d_T T$$

$$A' = r A \left(1 - \frac{A}{K_a + m(V_1 + V_2)} \right) - k_{a1} A V_1 - k_{a2} A V_2$$

Im Szenario 1 zeigt man, α sei eine gute Approximation für den experimentell beobachteten Anteil an nichtinfektiösem DENV in Blutproben, d.h

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} \frac{I_1(t)}{I_2(t)} = \frac{1 - \alpha}{\alpha} \quad \text{und} \quad \lim_{t \rightarrow +\infty} \frac{V_1(t)}{V_2(t)} = \frac{1 - \alpha}{\alpha}$$

bei der primären Infektion und

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} \frac{I_1(t)}{I_2(t)} = \frac{1 - \alpha}{\alpha} \quad \text{und} \quad \lim_{t \rightarrow +\infty} \frac{V_1(t)}{V_2(t) + C(t)} = \frac{1 - \alpha}{\alpha}$$

bei der sekundären Infektion.

Numerische Tests zeigen schnelle Konvergenz innerhalb der Infektionsdauer.

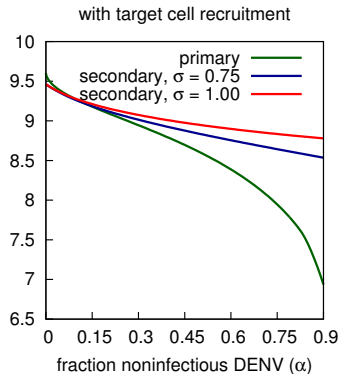
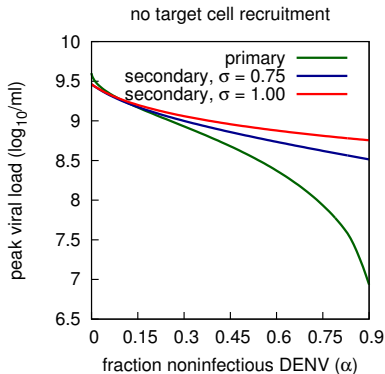
- 1 Die Lösungen des Anfangswertproblems bleiben positiv, wenn die Anfangsbedingungen positiv sind.
- 2 Sei $\gamma_S = 0$, und $\gamma_{T2}(D_0 + K_D) < d_D d_T$. Die Lösungen des Anfangswertproblems sind von oben begrenzt für alle $t > 0$.
- 3 *basic reproduction numbers* berechnen

$$\mathcal{R}_0^P = \sqrt{\frac{(1 - \alpha)p\beta S_0}{k_N N_0(d_V + \beta S_0)}},$$
$$\mathcal{R}_0^S \approx \mathcal{R}_0^P + \frac{3}{2} \cdot \frac{\sigma k_{a2} K_a}{k_{a2} K_a + d_V} \cdot \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

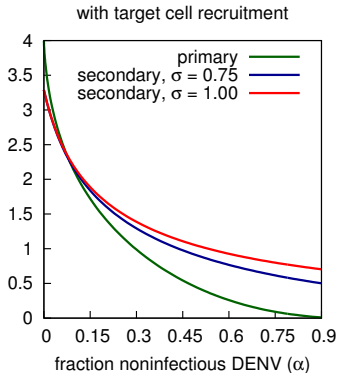
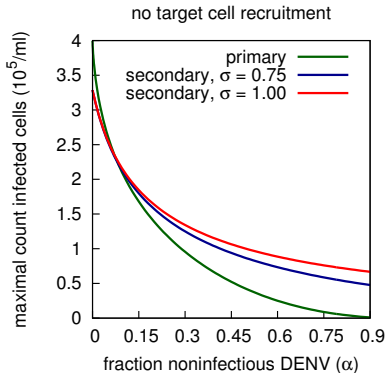
Rechenexperiment #1: Anteil an nichtinfektiösen Viren

- $\alpha \in (0, 0.9)$ variieren, das Modell lösen, Krankheits- und Immunindikatoren berechnen
- “schwachneutralisierende Antikörper”: bei der sekundären Infektion wird den Fall berücksichtigt, wo nichtinfektiösen Viren teilweise durch Antikörper neutralisiert werden ($\sigma < 1$)

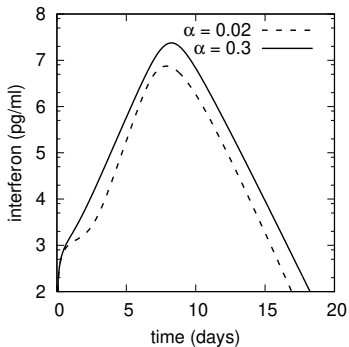
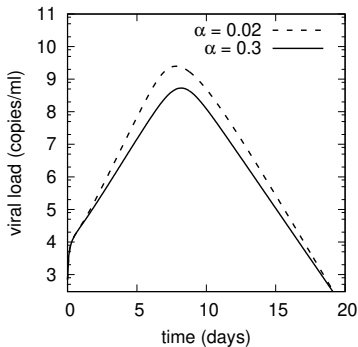
Höchststand der Viruslast

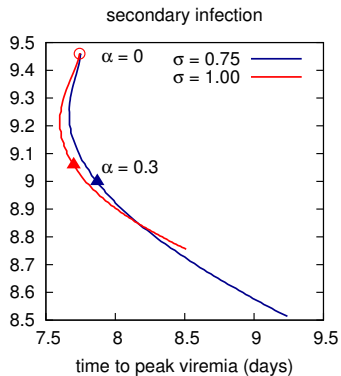
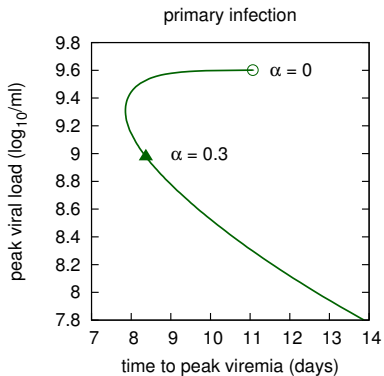


Höchststand infizierten Zellen



bei primären Infektion





Rechenexperiment #2: "interferon bait hypothesis"

- Frage: ist die Rekrutierung zusätzlicher Zielzellen unter der Wirkung von Interferon von statistischer Bedeutung für die Krankheitsindikatoren (max. Viruslast) ($\gamma_S > 0$ gegen $\gamma_S = 0$)?
- Monte-Carlo Methode: Auswahl der Parametern mit dem lateinischen Hyperwürfel
- Modelle numerisch lösen and Krankheitsindikatoren berechnen für beide Szenarien $\gamma_S = 0$ und $\gamma_S > 0$
- den Kolmogorov-Smirnov statistischen Test durchführen für die Nullhypothese
 H_0 "Höchststand der Viruslast in beiden Szenarien hat die gleiche Verteilung"

Kolmogorov-Smirnov statistischer Test

Verteilung des Höchststandes der Viruslast (RNA/ml)

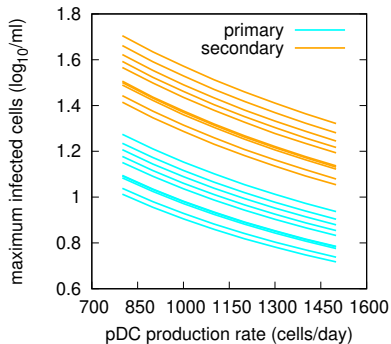
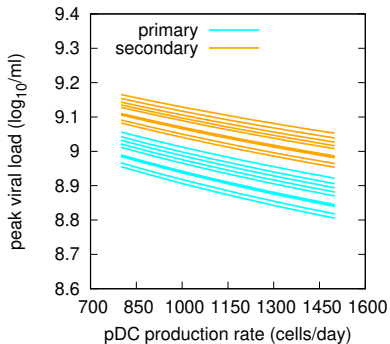
	$\gamma_S = 0$		$\gamma_S = 0.0005$		p-Wert
	MW	StAbw	MW	StAbw	
primäre	$5.57 \cdot 10^8$	$6.94 \cdot 10^7$	$5.74 \cdot 10^8$	$7.25 \cdot 10^7$	0.022
sekundäre ($\sigma = 0.75$)	$7 \cdot 10^8$	$7.44 \cdot 10^7$	$7.21 \cdot 10^8$	$7.77 \cdot 10^7$	0.016
sekundäre ($\sigma = 1$)	$8.33 \cdot 10^8$	$8.51 \cdot 10^7$	$8.59 \cdot 10^8$	$8.89 \cdot 10^7$	0.012

Nullhypothese H_0 "Höchststand der Viruslast in beiden Szenarien hat die gleiche Verteilung" kann nicht verworfen werden

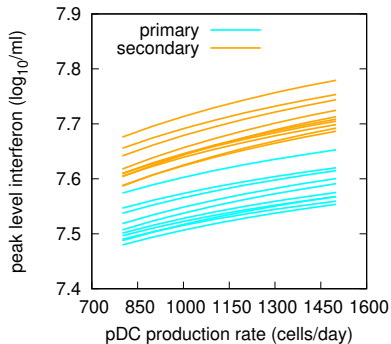
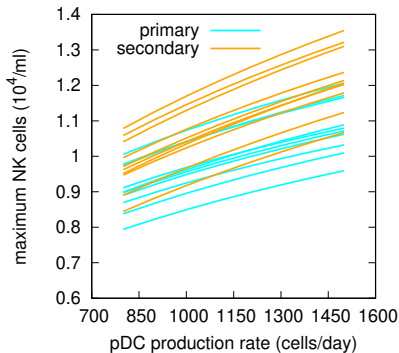
- das Modell kann die “interferon bait Hypothesis” nicht bestätigen, man braucht zusätzliche statistische Nachweise aus Experimente
- durch die Nichlinearität der Immunantwort erweisen sich beim Variieren von α in beiden Szenarien nichtmonotone Abhängigkeiten zwischen Krankheitsindikatoren
- Hinweise für weitere biomedizinische Studien
 - Heterogenität der Furin-expression bei den Zielzellen
 - bessere Messungen der Stände der Immunzellen – besonders in der Viruszuwachsphase
 - experimentelle Suche nach dem Trade-off, evolutionäre Vorteile des DENV?
 - bessere Beobachtung über die Verbindung zwischen Immunindikatoren und äußere Symptome (Fieber)

- pDC sind kräftige Produzenten von Interferon
- *in silico* ihrer Wirkung auf den Krankheitsverlauf untersuchen
- bei zufällig abgetasteten Parameterwerte, die Produktionsrate D_0 der pDCs variieren und das DGI-System für die sekundäre Infektion lösen
- die Krankheits- und Immunindikatoren berechnen und vergleichen

Wirkung der pDC-Produktion auf die Krankheitsindikatoren



Wirkung der pDC-Produktion auf die Immunindikatoren



Wirkung der pDC-Produktion auf die Krankheitsindikatoren

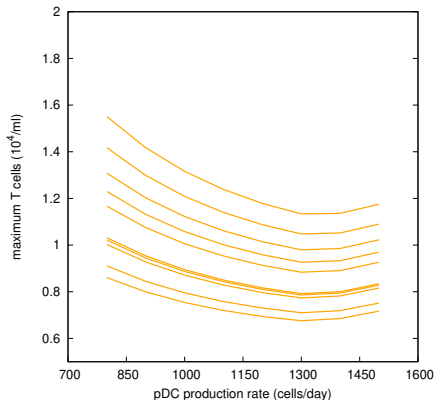


Abbildung: Nichtmonotone Abhängigkeit: höhere Anzahl T-Zellen bei niedriger Produktionsrate D_0

- pDCs dienen als Vermittler zwischen der angeborenen und adaptiven Immunantwort
- die Modellprognose stimmt mit klinischen Daten überein: unzureichender pDC-Stand ist mit erhöhtem Risiko von DHF verbunden (Thailand: Pichyangkul et al. 2003)
- das Modell spricht für eine nichtmonotone Wirkung der pDCs auf die Aktivierung T-Zellen (und die davon verursachte Entzündung)

- Nachteile des Modells: Annahme von unterschiedlichen Unterpopulationen infizierten Zellen in Szenario 1
- Ob solche Unterpopulationen dauerhaft bestehen, kann man nur durch weitere *in vitro* oder *in vivo* Experimente beweisen
- in beiden Szenarien sind weitere Immunzellen (B-Lymphozyten) und weitere Antikörper nicht berücksichtigt
- breites Potential für single-cell Experimente, um die Heterogenität der infizierten Zellen besser zu verstehen

- COST Action 16227, financed by EU-Framework Programme H2020
- Bulgarian Fund for Scientific Research (FNI), contract № ДКОСТ01/29
- National Scientific Program IKTVNOS, contract № ДО1-205/23.11.2018, financed by the Ministry of Education and Science of Bulgaria
- Mathematical Biosciences Institute (Ohio State University)
- Prof. Libin Rong (University of Florida)
- Doktorand Nikolay I. Nikolov (IMI-BAN)





Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!

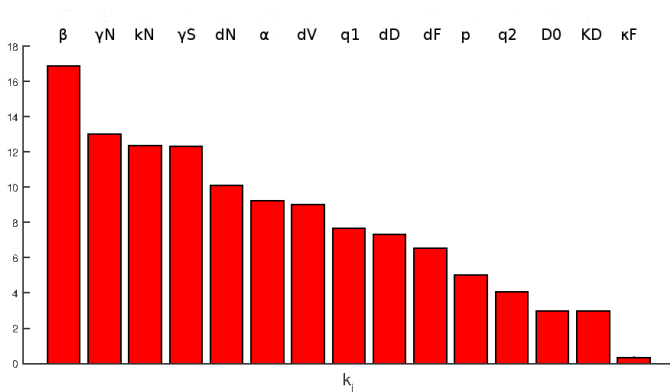


Abbildung: Parameter sensitivity spectrum, primary infection.

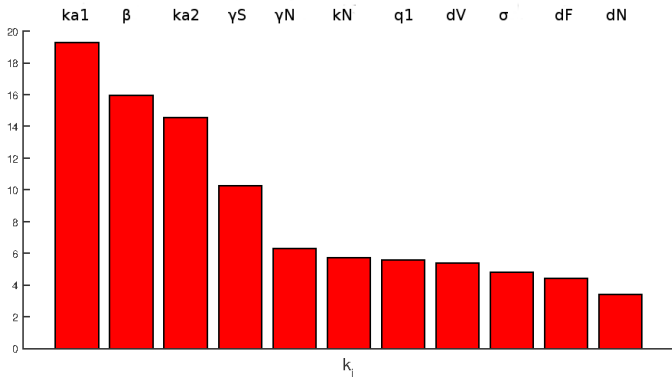


Abbildung: Parameter sensitivity spectrum, secondary infection.