

Negyedik félévi beszámoló

Grajzel Dániel (daniel.grajzel@ttk.elte.hu)

Fizika doktori iskola / Biológiai fizika

Témavezetők : Dr. Derényi Imre és Dr. Szöllösi Gergely János

A rák fizikája

Bevezetés:

Az előző beszámolóban ismertetett problémákkal foglalkoztunk tovább. Az elmúlt években több kísérletes kutatási eredményt publikáltak a mutációk halmozódásáról, dinamikájáról, a szomatikus evolúció folyamatáról normál és tumoros szövetekben. Ezen tanulmányokból kinyert adatokra illesztjük a modellt. Mik okozzák a valós, klinikai adatokban jelenlévő eltéréseket az egyes páciensek között? A hierarchikus modellben ezt melyik paraméterrel tudjuk megvalósítani? Mekkora a szerepe az életkornak és az egyéb külső behatásoknak a mutációk felhalmozódásában? A különböző mutáns klónok közti kölcsönhatás mekkora mértékben van hatással a felhalmozódási dinamikára?

Az előző három félévben elért kutatási eredmények összegzése:

A korábbi félévek során túlnyomórészt programozási és szakirodalom tanulmányozási munkát folytattam. Az első félévben a beküldött publikációnk kapcsán kapott visszajelzésekkel foglalkoztunk, javítottuk, pótoltuk, ami szükséges volt. Ezt követően a tovább haladáshoz szükséges új irányok, problémák keresését végeztem. Sikert is megtalálni a mutációk felhalmozódásának dinamikáját, a szomatikus evolúció vizsgálatát normális tehát még nem daganatos szövetekben. Az eddig ismertetett eredmények alapján jelentős méretű, számú mutáns klón populációk mutathatók ki egészséges emberek különböző szöveteiből vett mintákból: szemháj, nyelőcső, húgyhólyag. Ezen mutánsok jellemzően rendelkeznek már valamilyen növekedési előnnyel a vad típusú sejtekhez képest, azonban ez az előny nem elegendő ahhoz, hogy kontrollálatlanul szaporodni kezdjenek és tumort formázzanak. Arra voltunk, vagyunk kíváncsiak, hogy a korábban kidolgozott hierarchikus szövetmodell milyen módon tudja magyarázni, reprodukálni ezen vizsgálati eredményeket.

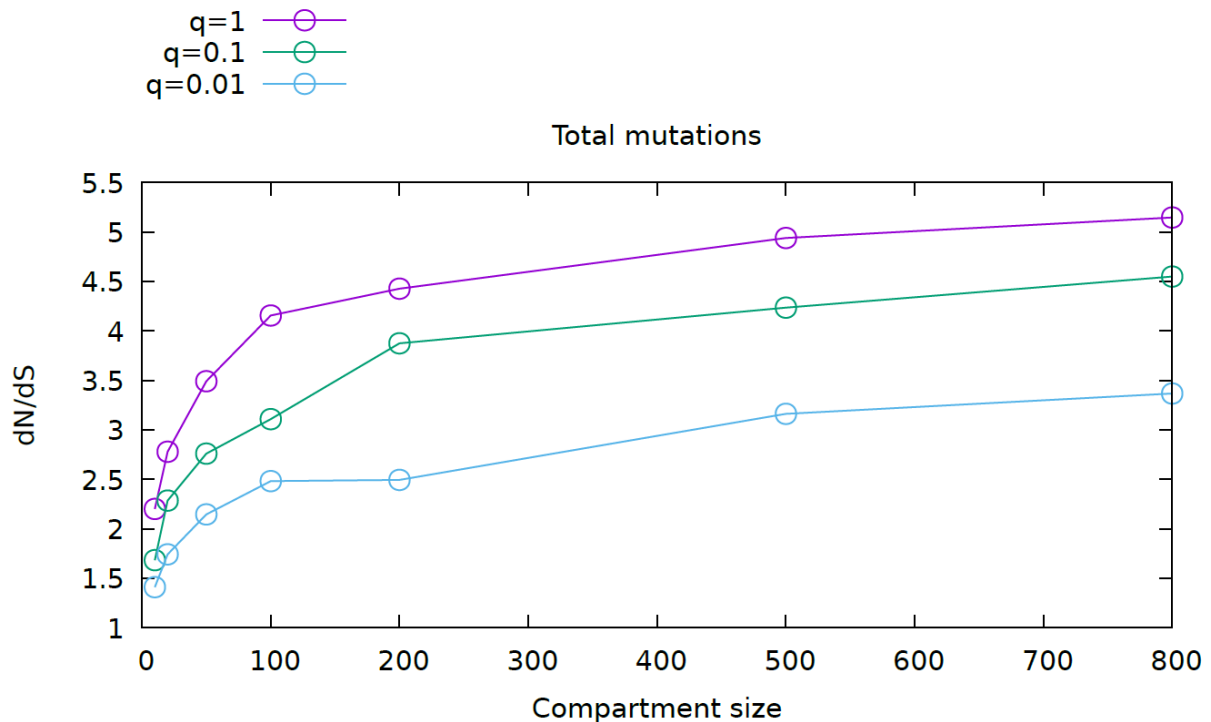
Ehhez a korábban használt szimuláció jelentős átalakítását, fejlesztését kellett elvégezni. Bevezettem az egyedi mutációk megjelölését és időbeli nyomon követését. Ez által lehetővé vált az irodalomban VAF-ként emlegetett allélgyakoriság közvetett mérésére. A szimuláció során a mutáns sejtek gyakoriságát tudom mérni, a két mennyiség (sejt szám gyakoriság és allélgyakoriság) között néhány megalapozott közelítéssel élve egyszerű kapcsolat írható fel:

$$\rho = 2 * VAF$$

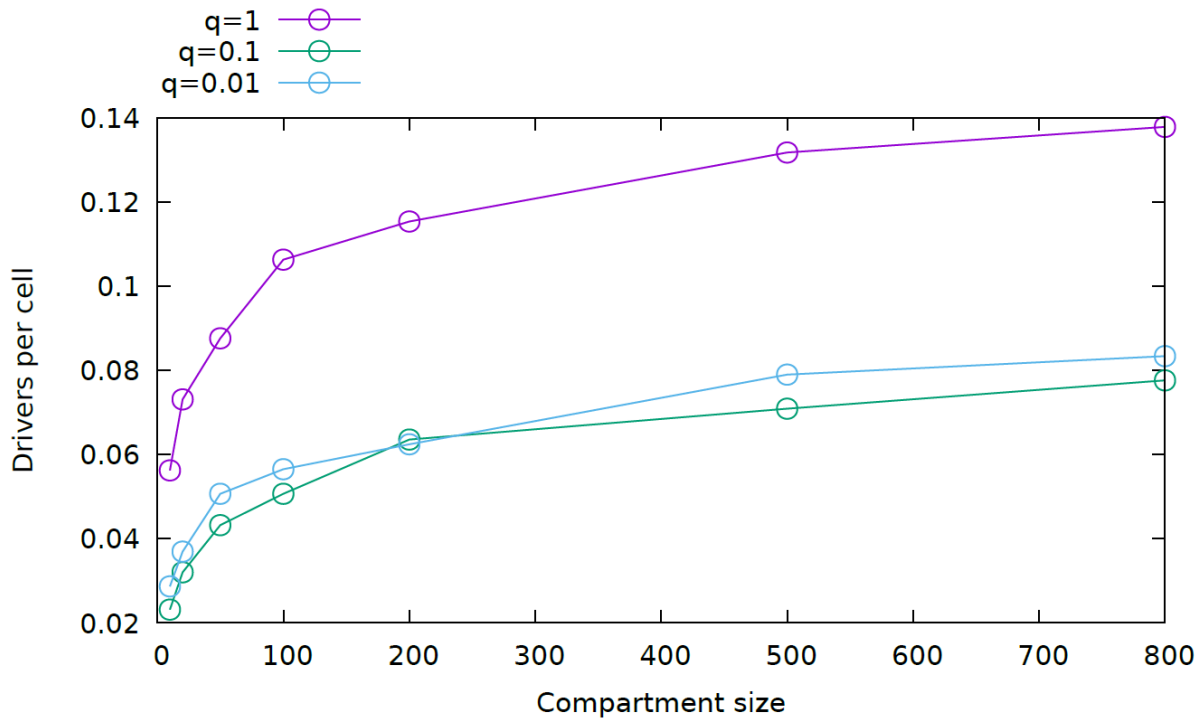
ahol ρ a mutáns sejtek gyakorisága. A legfontosabb feltételezés ehhez, hogy diploid sejtekről legyen szó, melyek soha vagy nagyon ritkán szenvednek el kópiaszám változást (pl. duplikáció) és a mutációk heterozigóták ezen sejtekben. A vizsgálatok azt mutatják, hogy a szóban forgó szöveteket alkotó sejtek (pl. nyelőcső) pont ilyenek.

Ez által lehetőségünk lett arra, hogy vizsgálni tudjuk, hogy a különböző paraméterek, mint a szimuláció futási ideje, a szövet különböző dinamikai paraméterei, a mutációs ráta, az össejtek száma, milyen hatással vannak a VAF-ra.

A következőkben az eredményeink egy részét mutatom be, kronológiai sorrendben, tehát az első ábrák a doktori képzés elején, az utolsók az elmúlt hónapokban készültek. Elsőként a nem-szinoním (aminosav változást okozó) mutációk és szinoním (aminosav változást NEM okozó) mutációk arányát megadó dN/dS mennyiséget választottuk megfigyelésünk tárgyának. Ez a hányados jól jellemzi a szelekciós viszonyokat, ha értéke meghaladja az 1-et pozitív szelekcióról beszélünk, ha kisebb, mint 1 akkor negatív szelekcióról, ha egyenlő 1-gyel akkor pedig neutrális szelekcióról, ami lényegében a szelekció hiányát jelenti. A q a sejtek osztódási profilját jellemző szöveti dinamikai paraméter, megadja, hogy a hierarchia felsőbb szintjén lévő sejthiány, „lyuk”, milyen valószínűséggel töltődik be alulról. Ha $q=1$, akkor mindig alulról érkezik a sejt utánpótlás, ha 0-val egyenlő, akkor mindig szinten belül történik a lyuk betöltése. Kompartment méret alatt a hierarchia egy szintjén lévő sejtek homeosztatisz számát értjük. Az első ábrán az látható, hogy minél magasabb a q , annál nagyobb a teljes szövetre vonatkozó dN/dS . A görbe alakja telítődést mutat a kompartment méret függvényében.

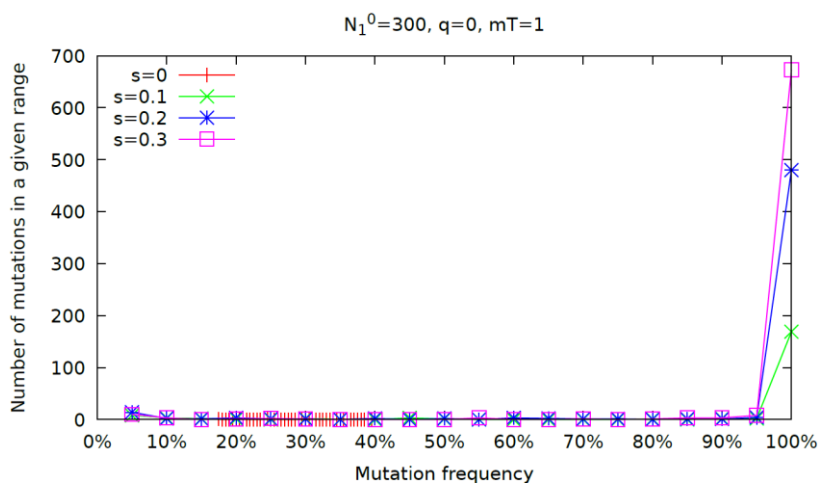


Érdeemes megvizsgálni mi történik eggyel kisebb szinten, a sejtekben:

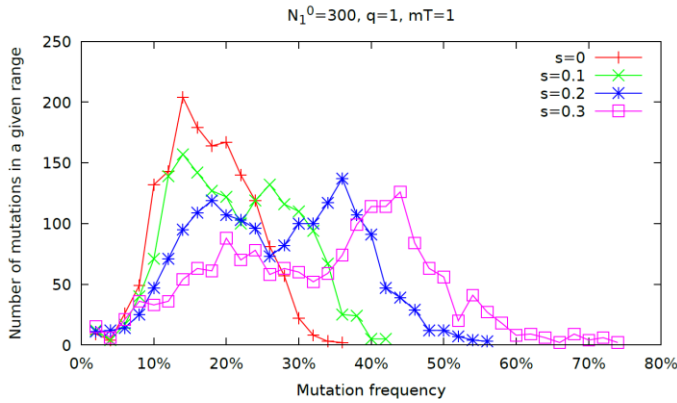


Az egy sejtre jutó driver vagy non-szinoním mutációk száma nő a q növelésével, ez felelős a dN/dS növekedéséért. A rendszerben két szint található, az összejek találhatóak az 'alsó' szinten. A q növelésével az történik, hogy egyre nagyobb nyomást helyezünk az összejtekre, egyre gyakrabban kell nekik pótolni a fenti sejthiányt, egyre többet kell osztódjanak. A több osztódás növeli egy mutáció begyűjtési valószínűségét, amit az összejek továbbadnak utódaiknak.

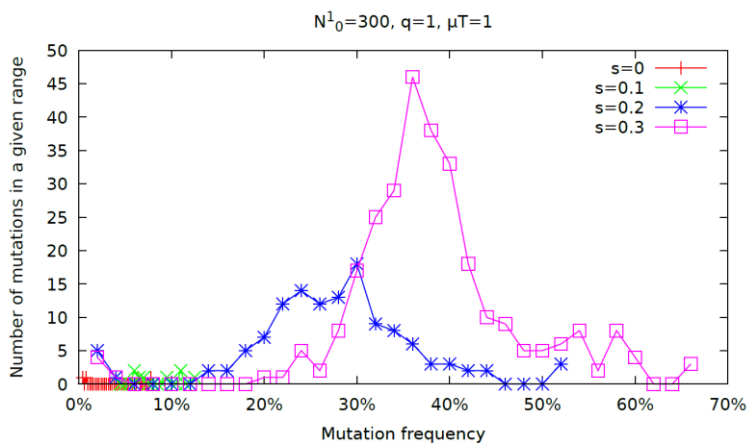
A mutációk révén a mutáns sejtek szelekciós előnyhöz jutnak, gyakrabban tudnak osztódni a vad típusú sejtekhez képest, ezt fejezi ki a s paraméter.



Különböző s mellett ábrázoltam a mutáns sejtek gyakoriságát a szimulációk végén. Azt láthatjuk, hogy $q=0$ esetben bármilyen 0 fölötti előny birtokában a szimuláció végére mindegyik sejt mutáns lesz, a teljes számuk az az a klónméret növekszik az s növelésével.

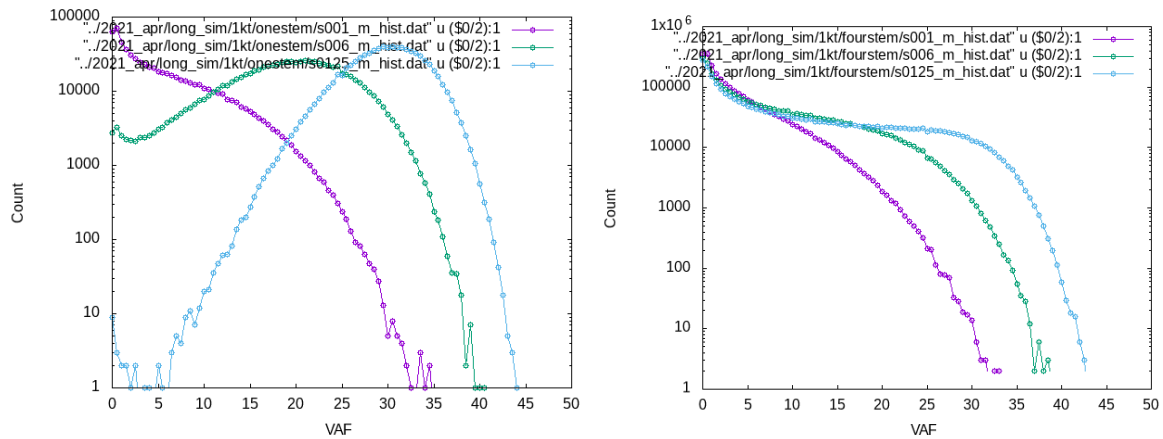


Ha q -t 1-re állítjuk jelentősen megváltozik az eloszlás alakja. Ilyenkor többnyire a mutáns őssejtek utódai jelennek meg a felső szinten még $s=0$ esetben is 10% fölötti arányban! Az előny növelésével egyre inkább jobbra tolódik és elkenődik az eloszlás. Nagyobb előny birtokában a sejtek nagyobb arányát fogják képezni a mutánsok, viszont az őssejtek által biztosított kimosódás miatt, hiszen vad típusú sejtek is érkeznek a megfelelő őssejtektől, egyik esetben sem lesz a teljes rendszer mutáns. Kapcsoljuk ki az őssejtek mutálódását!



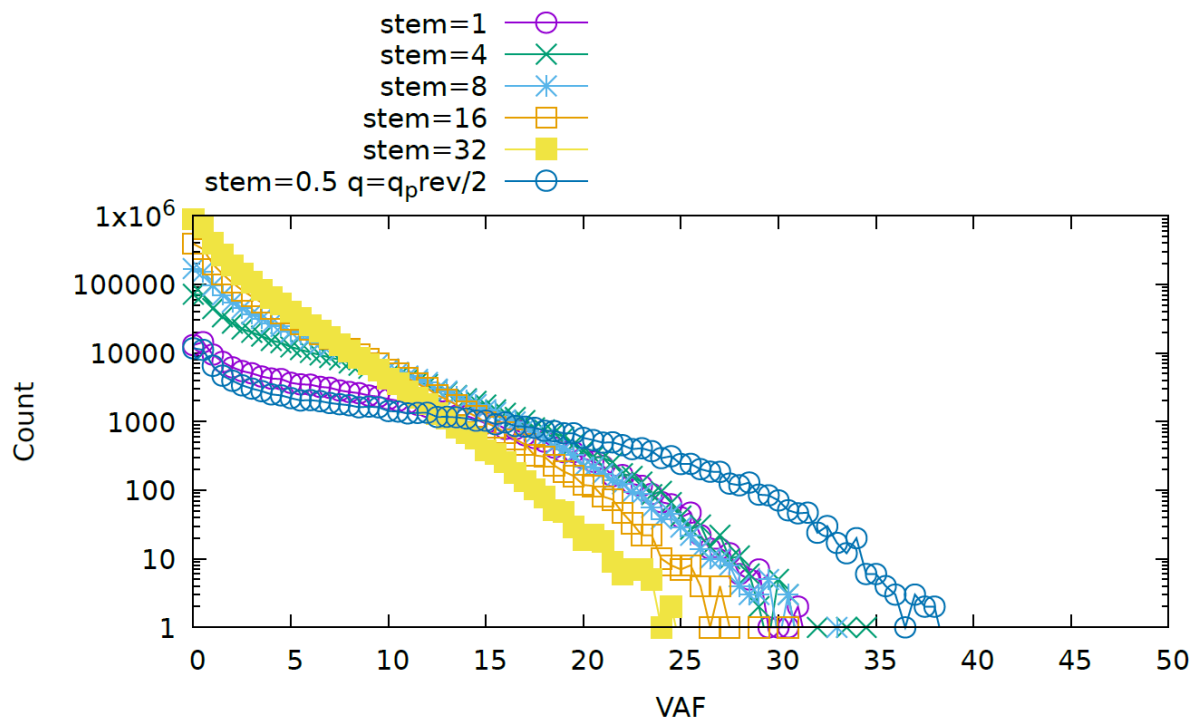
Az ábra jól példázta a publikációkban leírt szelekciós küszöb jelenségét, egy bizonyos s alatt a mutáns sejtek nem tudnak tartósan a rendszerben maradni a vad típusú őssejtek általi kimosódás miatt. A küszöb fölötti két esetben az eloszlások közepe jó közelítéssel az elméleti kvázistacionárius populáció méretek arányánál található.

Ezek alapján felismertük, hogy az őssejtek kiemelt jelentőséggel bírnak a rendszerben történő jelenségek alakulásában. A következő két ábrán különböző s érték mellett futtattam a szimulációkat, a bal oldali ábrán pontosan 1, a jobb oldalin pontosan 4 őssejtben található mutáció. Ebben az esetben nincs mutációs ráta, kézzel állítottam be az őssejtek mutálódását a szimuláció legelején és figyeltem a rendszer időfejlődését. Ahogy növeljük az s -t (lila < zöld < kék) a görbe baloldala csökken, a görbe maximuma jobbra tolódik el. Küszöb alatti előny esetén rövid időn belül kimosódnak a mutánsok, az őssejt időnkénti osztódása miatt újra és újra megjelenik egy mutáns sejt a felső szinten és egy exponenciálisan lecsengő méretű populációt hoz létre. A küszöb fölött viszont a fent említett módon beáll a kvázistacionárius állapot, a mutáns sejtek arányánál lesz a görbe csúcsa. Ha több mutáns őssejt található a rendszerben az egyrészt felhúzza a görbe baloldalát, rengeteg kisméretű klón lesz a rendszerben, melyek egymással versengenek és ez a versengés okozza, hogy már nincs egy jól elkülönülő és megfigyelhető közepe, csúcsa a görbének, nem a kvázistacionárius gyakoriság dominál, ugyanolyan gyakoriak lesznek az attól kisebb populáció méretek is.



Az aktuális félévben elvégzett kutatások ismertetése:

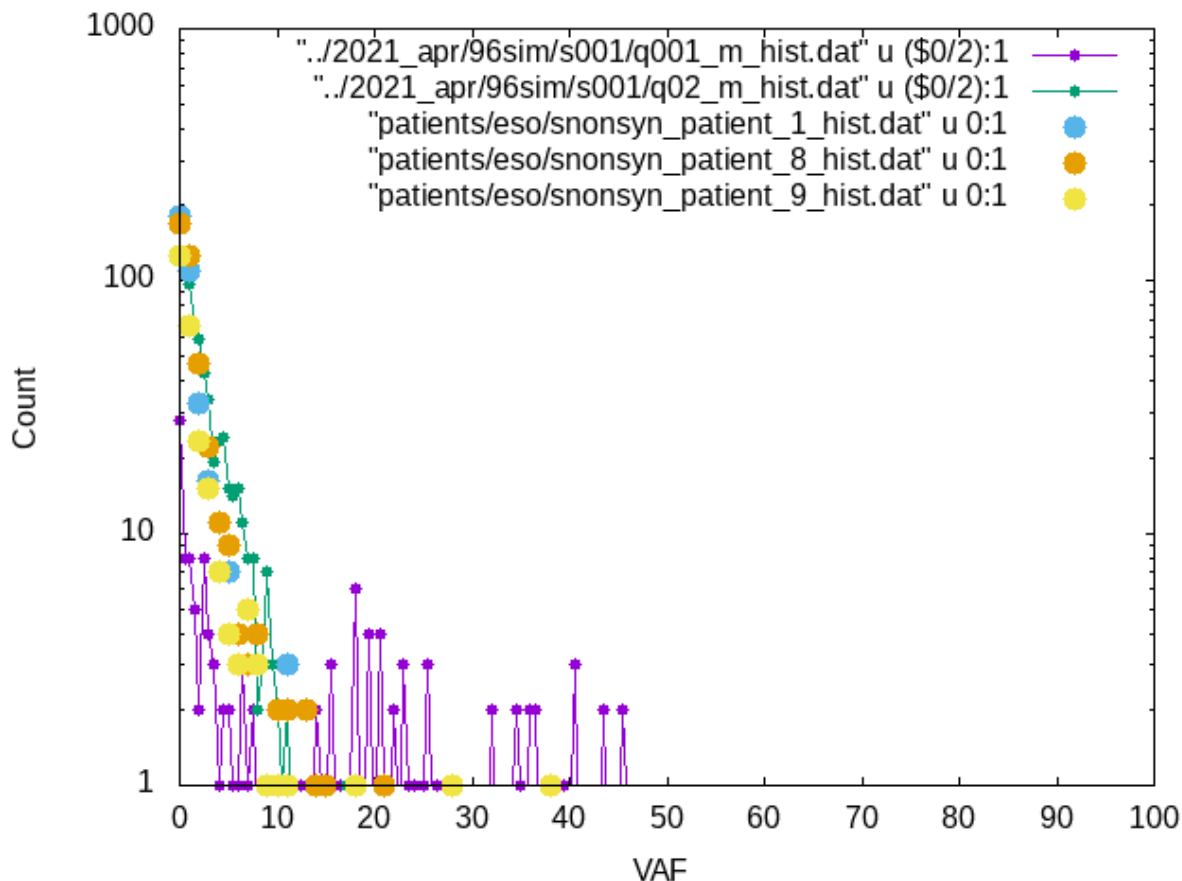
A versengés, a kölcsönhatás erősségének vizsgálatára fix s mellett ábrázoltam a mutációk gyakoriságát különböző számú mutáns összejek esetén:



A sötétkék pontokhoz tartozik a legkevesebb mutáns összejt, a sárgához a legtöbb. Ahogy növeljük a mutáns összejek számát, arányát az összes összejen belül annál inkább tolódik balra, kisebb gyakoriságok felé a görbe. Minél több klón van jelen a rendszerben, annál inkább limitálják egymás növekedését. Mennyivel lett kevesebb mutáns (egy adott gyakorisági küszöb fölött pl. 10%) azáltal, hogy több klón van a rendszerben? A kölcsönhatás nagyságát megbecsülhetjük, ha összegezzük a bineket és megnézzük az 1 összejtes esettel képzett arányukat.

Ezekon felül a bevezetőben említett tanulmányokból kinyert adatokra is végeztem illesztéseket, vizsgálva, hogy a szimulációk milyen paraméterek mellett közelítik a valóságot. Az alábbiakban 9 páciens nyelőcső mintáikból kinyert adatokat közelítettem a szimulációmmal.

Az első ábrán fiatal illetve nem dohányzó páciensektől származnak az adapontok, a görbék a szimulációk eredményei. A zöld és a lila görbe között az a különbség, hogy a lila esetben a q paraméter huszada a zöldnél használt értékhez képest. A q csökkentésével tehát inkább a magasabb gyakoriságokat lehet elérni, a magasabb q jól jellemzi az éles levágást.



A következő ábrán ábrán középkorú, enyhén dohányzó páciensektől származó pontok szerepelnek. Esetében a zöldnél használt q és s értékeket alkalmaztam, 3.5-szeres futási idő mellett, mert ennyiszere volt a mutációi száma a legfiatalabb donorhoz képest.

Az utolsó ábrán egy csoportban ábrázolt a két legidősebb, a legmagasabb BMI-vel rendelkező illetve a két legdohányosabb páciensek. Mindegyikük mintái sok mutációt tartalmaztak és a görbék profilja is hasonlóan ellaposodó volt, az éles levágás helyett. Ebben az esetben a szimuláció 7-szer annyi ideig futott, mint az első esetben és az első ábrán is használt nagyon alacsony q értéket állítottam be. A külső mutagén tényezők fontosságát mutatja, hogy a 45 éves erős dohányos és a 73 éves nem dohányzó páciensek mintái hasonló számú és alakú mutációs profilt mutatnak. Az eddigi eredményeink alapján a nyelőcső mindenképp jól modellezhető a hierarchikus modellünkkel, valószínűleg alacsony q értékkel rendelkezik a szövet, küszöbérték alatti mutációkkal el lehet érni a tanulmányban szereplő mutációs profilokat, a paraméterek megfelelő kombinációja még további munka tárgyát képezi. Ideális esetben a futási idő változtatásával vissza tudom adni az összes páciens pontjait.

Publikációk:

DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1913104117>

Tanulmányi tevékenység az aktuális félévben:

BIO/10/32G Számítógépes modellezés a biológiában

Oktatási tevékenység az aktuális félévben: modern fizika labor, távoktatás formájában, 22 hallgató
adott le mérési jegyzőkönyvet

