

Istraživanje pojave tumorskih kariotipa

Veronika PISAČIĆ*

JMBAG: 0119036358

Fizički odsjek, Prirodoslovno - matematički fakultet,
Bijenička cesta 32, Zagreb

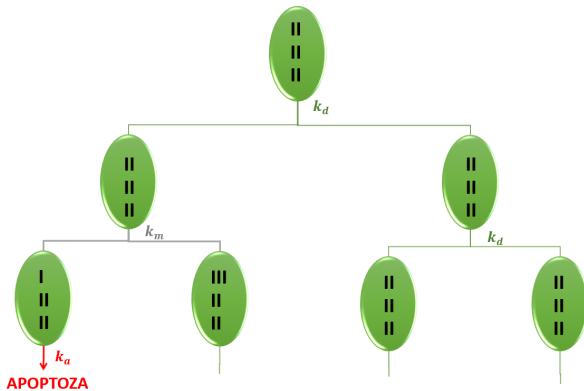
Mentor: prof.dr.sc NENAD PAVIN

Siječanj 2022.

U ovom seminarskom radu najprije ćemo definirati kariotip stanice kao veličinu u kojoj je sadržana sva informacija o kromosomima stanice i objasniti na koja tri načina može završiti život stanice. Napisat ćemo *rate* jednadžbu za broj stanica određenog kariotipa te tražiti njeno stacionarno rješenje. Problem će se potom svesti na rješavanje svojstvene jednadžbe numeričkim metodama. Parametrizirati ćemo funkciju vjerojatnost da se stanica neispravno podjeli te naposljetku gledati pod kojim uvjetima dobivamo stanice određenog kariotipa, posebice onih kariotipa koje uočavamo u tumorskim stanicama.

I. TEORIJSKI UVOD

Prilikom diobe, stanice se mogu podijeliti ispravno, ali može doći i do pogrešaka. Pogreške koje se događaju pri diobi stanica glavni su uzrok težih bolesti kao što su tumori. Na Sliku 1. shematski je prikazana dioba nekoliko generacija stanica. Radi jednostavnosti sheme, stanice



Slika 1. Shematski prikaz diobe stanica
(kromosomi označeni crno)

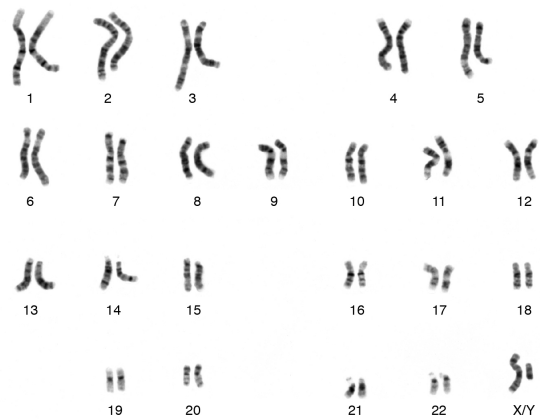
imaju samo 3 kromosoma, dok će ostatak seminarskog rada sadržavati informaciju o 23 kromosoma koliko ih ima čovjek. Na shemi je prikazana ispravna dioba gdje od roditeljske stanice nastaju dvije identične stanice kćeri, ali i misegregacija u čijem slučaju stanice kćeri imaju jednu kopiju prvog kromosoma više ili manje u odnosu na roditeljsku stanicu. Misegregacija se, naravno, može dogoditi na bilo kojem od kromosoma. Osim ispravne diobe i misegregacije, može se dogoditi da stanica nema dovoljno dobre uvjete za život te umire. Taj se događaj naziva

apoptoza. Svaka stanica ima dobro definirano vrijeme života, T , na kraju kojeg će doživjeti jedan od ova tri moguća ishoda, stoga mora vrijediti:

$$p_d + p_m + p_a = 1$$

gdje su p_d , p_m i p_a vjerojatnosti za ispravnu diobu, misegregaciju i apoptozu, respektivno.

Svaka stanica ima određeni **kariotip**. Kariotip nam govori koliko stanica ima kromosoma, kako ti kromosomi izgledaju te koliko svaki od njih ima kopija. Primjer kariotipa zdravih tjelesnih stanica čovjeka prikazan je na Sliku 2. Stoga uvodimo vektor \vec{K} koji nam opisuje kari-



Slika 2. Kariotip čovjeka [1]

* vpisacic.phy@pmf.hr

otip stanice:

$$\vec{K} = \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \\ \vdots \\ c_{22} \\ c_{23} \end{bmatrix}$$

Njegove komponente c_i označavaju broj kopija i-tog kromosoma. Stanice kod kojih svi kromosomi imaju jednak broj kopija nazivaju se **euploidi**. Naše zdrave tjelesne stanice imaju po *dvije* kopije svakog kromosoma pa su one **diploidi**, dok, na primjer, spolne stanice imaju *jednu* kopiju svakog kromosoma pa su one **haploidi**. Sve stanice koje nisu euploidi, nazivaju se **aneuploidi**. Kod njih jedan ili više kromosoma imaju višak ili manjak kopija u odnosu na ostale. U ovome radu promatrat ćemo kromosome do dvije kopije pa će pojedini c_i moći biti samo 1 ili 2. Misegregacija i-tog kromosoma ovisit će o broju kopija tog kromosoma, c_i , pa vrijedi $p_{m_i} = p_0 c_i$ gdje je p_0 vjerojatnost misegregacije jedne kopije.

A. Matematički formalizam

Broj stanica određenog kariotipa, $N(\vec{K})$, u vremenu možemo opisati sljedećom *rate* jednažbom:

$$\begin{aligned} \frac{dN(\vec{K})}{dt} = & (k_d(\vec{K}) - k_m(\vec{K}) - k_a(\vec{K}))N(\vec{K}) + \\ & + \sum_{i=1}^{23} k_m(\vec{K} + \vec{e}_i)N(\vec{K} + \vec{e}_i) + \\ & + \sum_{i=1}^{23} k_m(\vec{K} - \vec{e}_i)N(\vec{K} - \vec{e}_i) \end{aligned} \quad (1)$$

gdje su k_d, k_m i k_a brzine ispravne diobe, misegregacije i apoptoze, respektivno. Njih možemo povezati sa odgovarajućim vjerojatnostima preko relacije $k_j = p_j/T$.

Dakle, ako se stanica ispravno podijeli doći će do povećanja broja stanica $N(\vec{K})$ (prvi član u jednažbi (1)), ako pak dođe do pogreške pri diobi stanice nastat će stanice drugačijeg kariotipa što će smanjiti broj $N(\vec{K})$ (drugi član u jednažbi (1)), a ako stanica umre, naravno, dolazi do smanjenja broja stanica kariotipa \vec{K} (treći član u jednažbi (1)). Četvrti član opisuje situaciju u kojoj roditeljska stanica ima kopiju i-tog kromosoma *više* te ju prilikom neispravne diobe izgubi pa nestane stanica kariotipa \vec{K} , dok posljednji član opisuje situaciju u kojoj roditeljska stanica imaju kopiju i-tog kromosoma *manje* te ju prilikom neispravne diobe dobije pa nastane stanica kariotipa \vec{K} .

Nadalje, grupirat ćemo sve kromosome koji imaju jednak broj kopija te uvesti novu veličinu koju zovemo

makro-kariotip. Tako smo izgubili informaciju o svakom pojedinom kromosomu, ali smo si znatno smanjili dimenziju problema jer umjesto da se bavimo s 2^{23} različita kariotipa, bavimo se s 24 različita makro-kariotipa. Makro-kariotip definiramo na sljedeći način:

$$\vec{M} = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix}$$

gdje su x_1 i x_2 brojevi kromosoma u stanici sa jednom, odnosno dvije kopije. Budući da mora vrijediti $x_1 + x_2 = 23$, u ovom pojednostavljenom slučaju sa maksimalno dvije kopije kromosoma, makro-kariotip je u potpunosti određen jednim od ova dva broja, uzmimo da je to x_2 .

Broj stanica određenog makro-kariotipa, $N(\vec{M})$, dan je sljedećim izrazom:

$$N(\vec{M}) \equiv \frac{1}{x_1!x_2!} \sum_{allperm.} N(\vec{K}) \quad (2)$$

gdje se faktor ispred sume brine da se permutacije kromosoma s istim brojem kopija ne broje više puta.

Kako bi dobili *rate* jednažbu za makro-kariotip, izraz (1) moramo posumirati po svim permutacijama kariotipa te nakon malo sređivanja dobivamo:

$$\begin{aligned} \frac{dN(\vec{M})}{dt} = & \frac{1}{T(\vec{M})} (1 - 2 \sum_{n=1}^2 n x_n p_0(\vec{M})) N(\vec{M}) - 2 \frac{p_a(\vec{M})}{T(\vec{M})} N(\vec{M}) + \\ & + (x_1 + 1) \frac{p_0(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)}{T(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)} N(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2) + \\ & + 2(x_2 + 1) \frac{p_0(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1)}{T(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1)} N(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1) \end{aligned} \quad (3)$$

Budući da ne želimo da dioba stanica ide u beskonačnost u jednažbu (3) uvodimo parametar saturacije, α , koji definiramo na sljedeći način:

$$\alpha \equiv (1 - \frac{\sum_{\vec{M}} N(\vec{M})}{N_{tot}}) \quad (4)$$

gdje je N_{tot} broj stanica nakon kojeg dioba prestaje. Sada je naša jednažba od interesa sljedeća:

$$\begin{aligned} \frac{dN(\vec{M})}{dt} = & \frac{\alpha}{T(\vec{M})} (1 - 2 \sum_{n=1}^2 n x_n p_0(\vec{M})) N(\vec{M}) - 2 \frac{p_a(\vec{M})}{T(\vec{M})} N(\vec{M}) + \\ & + (x_1 + 1) \frac{\alpha p_0(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)}{T(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)} N(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2) + \\ & + 2(x_2 + 1) \frac{\alpha p_0(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1)}{T(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1)} N(\vec{M} + \vec{e}_2 - \vec{e}_1) \end{aligned} \quad (5)$$

Kao što se može primijetiti, parametar α pojavljuje se u svim članovima osim onoga koji odgovara apoptozi. To je zato što apoptoza ni na koji način nije uvjetovana saturacijom dok svi preostali članovi utječu na povećanje broja stanica pa ih saturacija mora "gušiti".

Time smo dobili nelinearan sustav običnih diferencijalnih jednadžbi koji se može riješiti ili numeričkom integracijom ili traženjem stacionarnog rješenja, a budući da nas zanima odrasli organizam čiji se broj stanica ne mijenja značajno u vremenu, stacionarno rješenje se nameće kao jednostavni pristup koji nam može dati korisne informacije. Dakle, rješavamo jednadžbu:

$$\frac{dN(\vec{M})}{dt} = 0 \quad (6)$$

$$A = \begin{bmatrix} \frac{1}{2p_a(0)}(1 - 46p_0(0)) & \frac{p_0(1)T(0)}{T(1)p_a(0)} & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 23 \frac{p_0(0)T(1)}{2T(0)p_a(1)} & \frac{1}{2p_a(1)}(1 - 48p_0(1)) & 2 \frac{p_0(2)T(1)}{T(2)p_a(1)} & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 22 \frac{p_0(1)T(2)}{2T(1)p_a(2)} & \frac{1}{2p_a(2)}(1 - 50p_0(2)) & \ddots & 0 & \vdots \\ \vdots & 0 & \ddots & \ddots & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & \ddots & \ddots & 23 \frac{p_0(23)T(22)}{T(23)p_a(22)} \\ 0 & 0 & \dots & 0 & \frac{p_0(22)T(23)}{2T(22)p_a(23)} & \frac{1}{2p_a(23)}(1 - 92p_0(23)) \end{bmatrix} \quad (8)$$

$\frac{1}{\alpha}$ prepoznavamo kao svojstvene vrijednose λ , dok su \vec{N}_0 prikladni svojstveni vektori oblika:

$$\vec{N}_0 = \begin{bmatrix} N(x_2 = 0) \\ N(x_2 = 1) \\ \dots \\ \dots \\ N(x_2 = 22) \\ N(x_2 = 23) \end{bmatrix}$$

Dakle, sada nam je cilj riješiti gornju matričnu jednadžbu, tj. pronaći svojstvenu vrijednost koja odgovara stacionarnom rješenju te pripadni svojstveni vektor. Međutim, treba imati na umu da nam vektor broja stanica, \vec{N} , mora zadovoljavati definicijski izraz za saturaciju (4) pa uvodimo dodatnu konstantu, c , takvu da je $\vec{N} = c\vec{N}_0$.

No, prije nego to učinimo, potrebno je parametrizirati funkcije $p_0(x_2)$, $p_a(x_2)$ i $T(x_2)$ koje se kriju u našoj matrici:

$$\begin{aligned} p_0(x_2) &= a + b \cdot x_2 \cdot (23 - x_2) \\ p_a(x_2) &= 10^{-2}, \text{ za svaki } x_2 \\ T(x_2) &= 1 \text{ dan, za svaki } x_2 \end{aligned}$$

Funkcijama $p_a(x_2)$ i $T(x_2)$ pridružujemo konstante vrijednosti tako da one postaju neovisne o makro-kariotipu

pa nakon množenja jednadžbe (5) sa $\frac{T(\vec{M})}{2\alpha p_a(\vec{M})}$ imamo:

$$\begin{aligned} & \frac{1}{2p_a(\vec{M})}(1 - 2p_0(\vec{M})(x_1 + 2x_2))N(\vec{M}) + \\ & + (x_1 + 1) \frac{p_0(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)T(\vec{M})}{2T(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2)p_a(\vec{M})}N(\vec{M} + \vec{e}_1 - \vec{e}_2) + \\ & + (x_2 + 1) \frac{p_0(\vec{M} - \vec{e}_1 + \vec{e}_2)T(\vec{M})}{T(\vec{M} - \vec{e}_1 + \vec{e}_2)p_a(\vec{M})}N(\vec{M} - \vec{e}_1 + \vec{e}_2) = \\ & = \frac{1}{\alpha}N(\vec{M}) \end{aligned} \quad (7)$$

Ako gornju jednadžbu zapišemo za svaki od 24 makrokariotipa dobit ćemo svojstvenu jednadžbu $A\vec{N}_0 = \lambda\vec{N}_0$ gdje je A trodijagonalna 24×24 matrica oblika:

x_2 , dok ćemo funkciji p_0 mijenjati vrijednosti konstanti a i b te promatrati kako to utječe na rješenje svojstvenog problema. Prisjetimo se, funkcija p_0 daje vjerojatnost da se dogodi misegregacija jedne kopije kromosoma.

II. REZULTATI I RASPRAVA

Svojstveni problem rješavan je numerički koristeći NumPy i SciPy biblioteke u Pythonu.

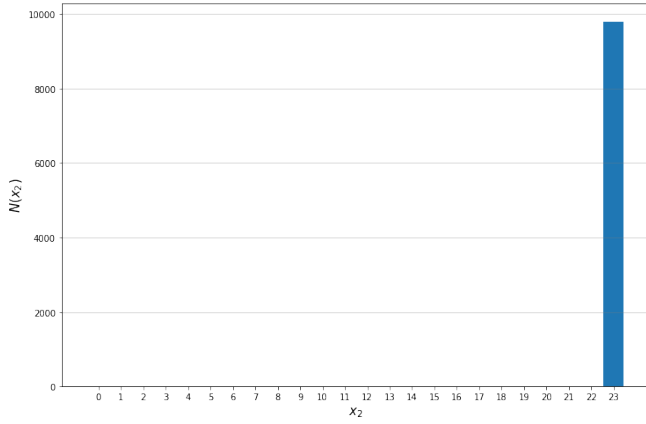
1. Veća misegregacija haploidnih stanica

Ako parametre odaberemo tako da je:

$$a = \begin{cases} 10^{-4} & \text{za } x_2 = 0 \\ 10^{-5} & \text{za } x_2 = 23 \\ 10^{-3} & \text{inače} \end{cases} \quad (9)$$

$$b = 10^{-3} \quad (10)$$

rješavanjem svojstvene jednadžbe dobivamo rezultat prikazan na Slika 3. Kao što se može primijetiti, odabrani parametri odgovaraju situaciji u kojoj imamo veću misegregaciju haploidnih stanica u odnosu na diploidne pa



Slika 3. Ovisnost broja stanica o makro-kariotipu za parametre (9) i (10) te $N_{tot} = 10000$.

kao rješenje dobivamo da u sustavu prevladavaju diploidne stanice ($x_2 = 23$), dok je broj stanica ostalih makro-kariotipa zanemarivo mali te se niti ne vidi na grafu.

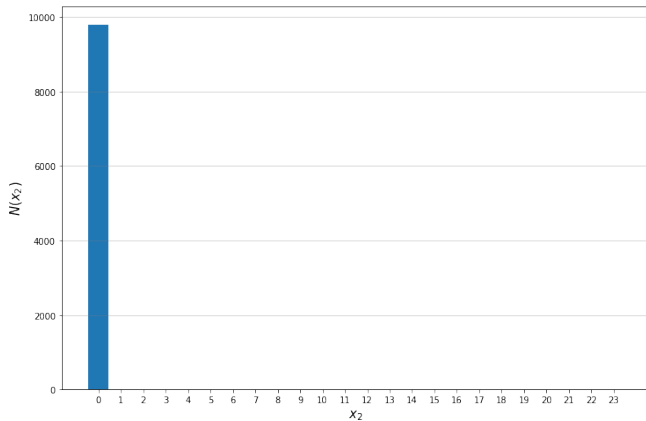
2. Veća misegregacija diploidnih stanica

Ako sada parametre postavimo na veću misegregaciju diploidnih stanica:

$$a = \begin{cases} 10^{-5} & \text{za } x_2 = 0 \\ 10^{-4} & \text{za } x_2 = 23 \\ 10^{-3} & \text{inače} \end{cases} \quad (11)$$

$$b = 10^{-3} \quad (12)$$

rješavanjem svojstvene jednadžbe dobivamo rezultat prikazan na Slika 4. Kao što se moglo i očekivati, prevlada-



Slika 4. Ovisnost broja stanica o makro-kariotipu za parametre (11) i (12) te $N_{tot} = 10000$.

vaju haploidne stanice ($x_2=0$).

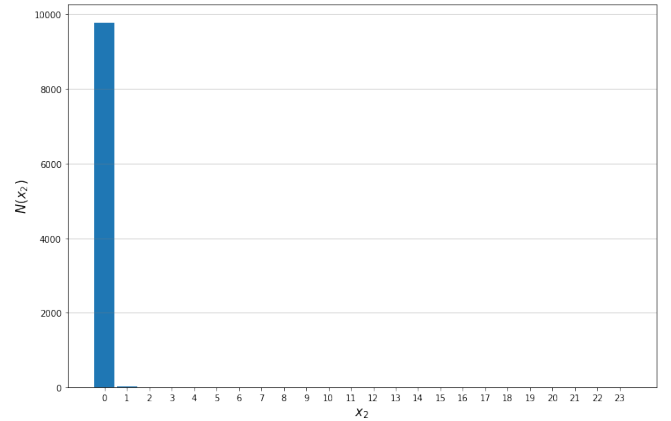
3. Jednaka misegregacija haploidnih i diploidnih stanica

Promotrimo sada situaciju u kojoj parametre odaberemo tako da je misegregacija jednaka i za haploidne i za diploidne stanice:

$$a = \begin{cases} 10^{-4} & \text{za } x_2 = 0 \\ 10^{-4} & \text{za } x_2 = 23 \\ 10^{-3} & \text{inače} \end{cases} \quad (13)$$

$$b = 10^{-3} \quad (14)$$

Odabirom gornjih parametara dobivamo rezultat prikazan na Slika 5. Zanimljivo, opet su prevladale haploidne



Slika 5. Ovisnost broja stanica o makro-kariotipu za parametre (13) i (14) te $N_{tot} = 10000$.

stanice iako je postavljena misegregacija bila jednaka.

U sva tri gornja primjera, konstantu b držali smo na istoj vrijednosti. To je značilo da nam se misegregacija aneuploidnih stanica kretala od 10^{-2} do 10^{-1} što je veće od misegregacije haploidnih i diploidnih stanica pa ih niti nismo uočavali.

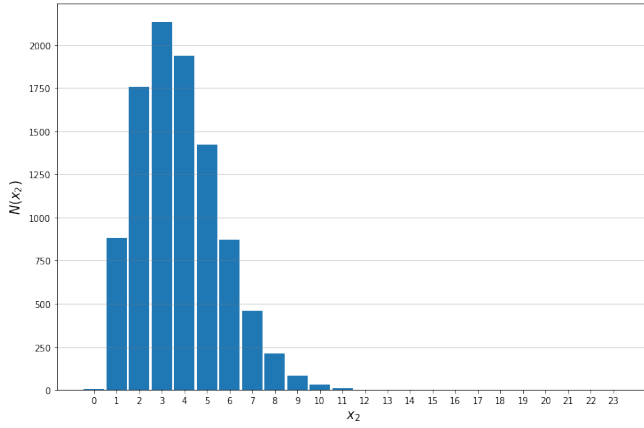
4. Pojava aneuploidnih stanica

Ono što nas zapravo najviše zanima je pogledati za koje parametre prevladavaju aneuploidne stanice jer su one povezane s nastankom tumora i drugih anomalija. Ako parametre odaberemo tako da je:

$$a = \begin{cases} 10^{-2} & \text{za } x_2 = 0 \\ 10^{-3} & \text{za } x_2 = 23 \\ 10^{-3} & \text{inače} \end{cases} \quad (15)$$

$$b = 10^{-5} \quad (16)$$

dobivamo rezultat prikazan na Slika 6. Na grafu možemo uočiti nezanemariv broj aneuploidnih stanica u području $x_2 = [1, 11]$.



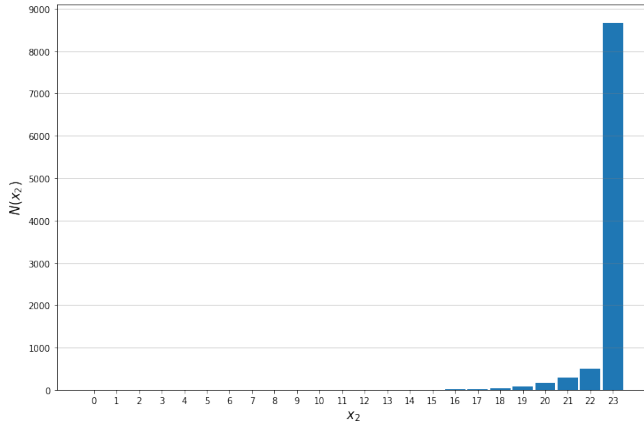
Slika 6. Ovisnost broja stanica o makro-kariotipu za parametre (15) i (16) te $N_{tot} = 10000$.

Pogledajmo i sljedeću kombinaciju parametara:

$$a = \begin{cases} 10^{-2} & \text{za } x_2 = 0 \\ 10^{-4} & \text{za } x_2 = 23 \\ 10^{-3} & \text{inače} \end{cases} \quad (17)$$

$$b = 0 \quad (18)$$

za koju dobivamo rezultat prikazan na Slika 7. Domi-



Slika 7. Ovisnost broja stanica o makro-kariotipu za parametre (17) i (18) te $N_{tot} = 10000$.

niraju diploidne stanice uz pojavu aneuploidnih stanica makro-kariotipa $x_2 = [16, 22]$.

III. ZAKLJUČAK

U ovom seminarskom radu objasnili smo što je kariotip te na koja tri načina završava život svake stanice. Kako bi si smanjili dimenziju problema, tj. broj nelinearnih običnih diferencijalnih jednadžbi, s kariotipa smo prešli na makro-kariotip. Napisali smo *rate* jednadžbu za broj stanica određenog makro-kariotipa te numeričkim metodama tražili njeno stacionarno rješenje. Parametrizirali smo izraz za misegregaciju jedne kopije kromosoma te promatrali pod kojim uvjetima prevladavaju stanice određenog kariotipa, posebice onih kariotipa koje uočavamo u tumorima.

U daljnjoj analizi ove teme ima još puno mjesta za napredak. Naime, poznato je da vrijeme života stanice kao i vjerojatnost za smrt također ovise o kariotipu tako da bi funkcije $T(x_2)$ i $p_a(x_2)$ također trebalo parametrizirati te promatrati kako to utječe na rješenje svojstvenog problema. Uz to, poželjno je povećati broj kopija kromosoma na više od dvije kopije čime bi dobili veće bogatstvo rješenja i bolji opis bioloških sustava.

IV. ZAHVALA

Od srca zahvaljujem mentoru Nenadu Pavinu na savjetima, pomoći i trudu u izradi ovog seminara.

[1] <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Karyotype>