

SILICOCELL: A NOVEL TOOL FOR TUMOR AND CELL GROWTH SIMULATION

Stanislav Bělehrádek

Master Degree Programme (5.), FEEC BUT

E-mail: xbeleh05@stud.feec.vutbr.cz

Supervised by: Karel Sedlář

E-mail: sedlar@feec.vutbr.cz

Abstract: Modern research in cell biology requires utilization of advanced tools of systems biology as only the deep understanding of various signaling pathways in cells brings substantial information for setting up a targeted therapy for genetic disorders or cancer. Therefore, *in silico* modelling became an inseparable part of the cell research. Here, I present novel simple-to-control software to analyze and visualize a human cell colony dynamics based on cell cycle regulation and principles of known signaling pathways allowing a simulation of tumor cells proliferation in healthy tissue. The tool available at *GitHub* is written in C++ and utilizes OpenGL for visualization.

Keywords: cell; cell cycle; modelling; system biology; tumor growth

1 ÚVOD

Mutace signálních drah regulujících buněčný cyklus jsou jednou z příčin vzniku nádorových onemocnění. Počítačové modely buněčných kolonií, které je dnes možné vytvářet díky pokrokům ve výzkumu signálních drah a dostupnému výpočetnímu výkonu, umožňují simulovat chování buněk v různých situacích – v extrémních teplotách, v toxickém prostředí nebo naopak s neomezenou zásobou živin a neomezeným prostorem pro růst. Je tak možné oproti práci s živými buňkami levněji a rychleji testovat nová cílená léčiva a sledovat předpokládaný růst a invazivitu rakovinných buněk.

2 MODELOVÁNÍ BUNĚČNÉHO CYKLU

Vytvořený model simuluje proliferaci lidských buněk a kombinuje buněčný cyklus s trváním 24 hodin a intercelulární dynamiku pro co největší podobnost s živými buňkami [1]. Buněčný cyklus je možné podle aktuálních intracelulárních procesů rozdělit na fáze G_1 , S, G_2 a M. Zatímco v inter-fázi tvořené fázemi G_1 , S a G_2 se buňka replikací DNA a zvětšováním objemu připravuje na dělení, při samotné mitóze (fáze M) dochází ke kondenzaci chromozomů, jejich přesunu k pólům buňky, cytokinezi a finálnímu rozdělení mateřské buňky na dvě dceřiné. Vstup do buněčného cyklu, stejně jako délka cyklu, je řízen signálními drahami, které regulují veškerou buněčnou aktivitu [2]. Signální dráhy živých buněk prostřednictvím kaskád proteinů modulují přítomnost faktorů (např. mitogenů, růstových faktorů atd.) na expresi genů, jejichž produktem jsou bílkoviny pro odpovídající odezvu buňky. Mutací těchto signálních drah ionizujícím zářením či toxiny může dojít k jejich neustálé aktivaci nebo deaktivaci. U regulace buněčného cyklu se mutace, pokud nezareagují opravné mechanismy buňky, projevují nekontrolovaným dělením a vznikem nádorů.

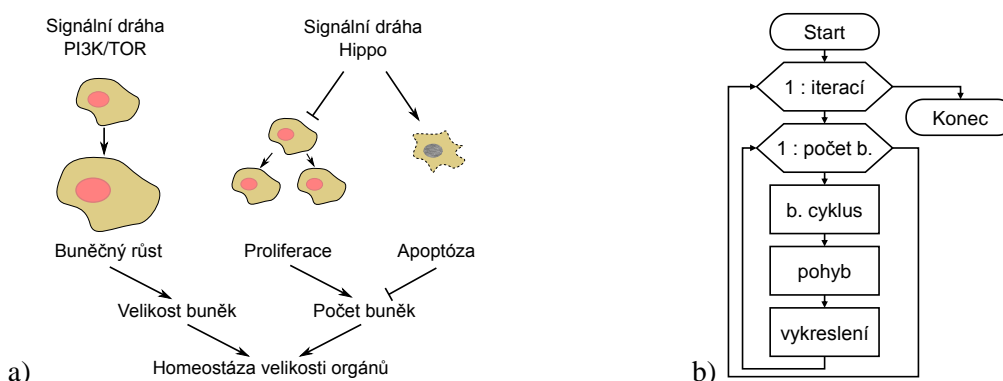
3 MODEL BUNĚČNÉ KOLONIE

Model vychází ze známých intracelulárních procesů a je přizpůsoben pro simulaci proliferace lidských buněk se zaměřením na růst tumorů. Implementována je regulace růstu buněk, řízení buněčného cyklu včetně možnosti přechodu do fáze G_0 , intercelulární dynamika pro vzájemné interakce buněk a prostorové gradienty živin, toxinů, růstových faktorů a mitogenů. Je tak možné sledovat

závislost aktivity buněk v různých částech kolonie na koncentracích uvedených látek. V případě rakovinných buněk, které mají kvůli mutacím neomezený replikační potenciál, lze v grafickém výstupu modelu sledovat výrazný nárůst jejich počtu oproti zdravým buňkám, jejichž počet a velikost jsou regulovány v závislosti na množství živin a mitogenů (Obrázek 1a).

Program (dostupný z <https://github.com/StandAB/SilicoCell>) je napsaný v jazyce C++ a pro zobrazení využívá OpenGL z knihovny SFML. Simulace je spouštěna prostřednictvím příkazové řádky konzole. Při spouštění lze měnit nastavení délky simulace v podobě počtu iterací a zrychlení, které n -násobně zkrátí délku buněčného cyklu ze standardních 24 hodin. Dále je možné určit prostorové omezení simulace – buňky za nastavenou hranici se nepohybují a omezují další růst kolonie. Takto lze sledovat jen výřez z teoreticky rozsáhlé kolonie a zároveň je snížena výpočetní náročnost, která s přibývajícím počtem buněk roste exponenciálně – na PC s taktem CPU 3,8 GHz trvá výpočet 5 000 iterací s 1 287 buňkami přibližně 5 minut. Program také umožňuje volit model rozložení látek v prostoru. První možností je ideální homogenní rozložení látek, druhou je plošný pokles koncentrací pro modelování kultur *in vitro* [3] a třetí je pro cévu v prostoru pro modelování tkáně. Úpravou vzorců ve zdrojovém souboru *vypocty.cpp* je však možné simulovat libovolné umístění zdroje živin, toxinů, růstových faktorů a kyslíku. Nastavení modelu lze měnit i v automaticky vytvářeném souboru *config.ini*, kde lze zadat velikost buněk a délku buněčného cyklu.

Algoritmus výpočtu modelu je rozdělen na 3 části, které na sebe navazují (Obrázek 1b). Nejprve je ve funkci *b. cyklus* určen aktuální stav každé buňky a provedení příslušné operace. Rozpoznávány jsou stavy apoptóza, G_0 , G_1 a buněčný cyklus, který zahrnuje fáze S, G_2 a M a dochází v něm k dělení buňky. V závislosti na poškození buňky jsou vyhodnocovány pravděpodobnosti apoptózy, čímž jsou simulovány kontrolní body cyklu. Nechybí ani restriční bod, pro jehož překročení je třeba splnit dané podmínky. Druhou částí algoritmu je výpočet pohybu buněk v závislosti na blízkém okolí tak, aby se žádné buňky nepřekrývaly, ale stále se dotýkaly membránami. Nakonec jsou buňky vykresleny v podobě koulí s průměrem odpovídajícím aktuální velikosti buňky.

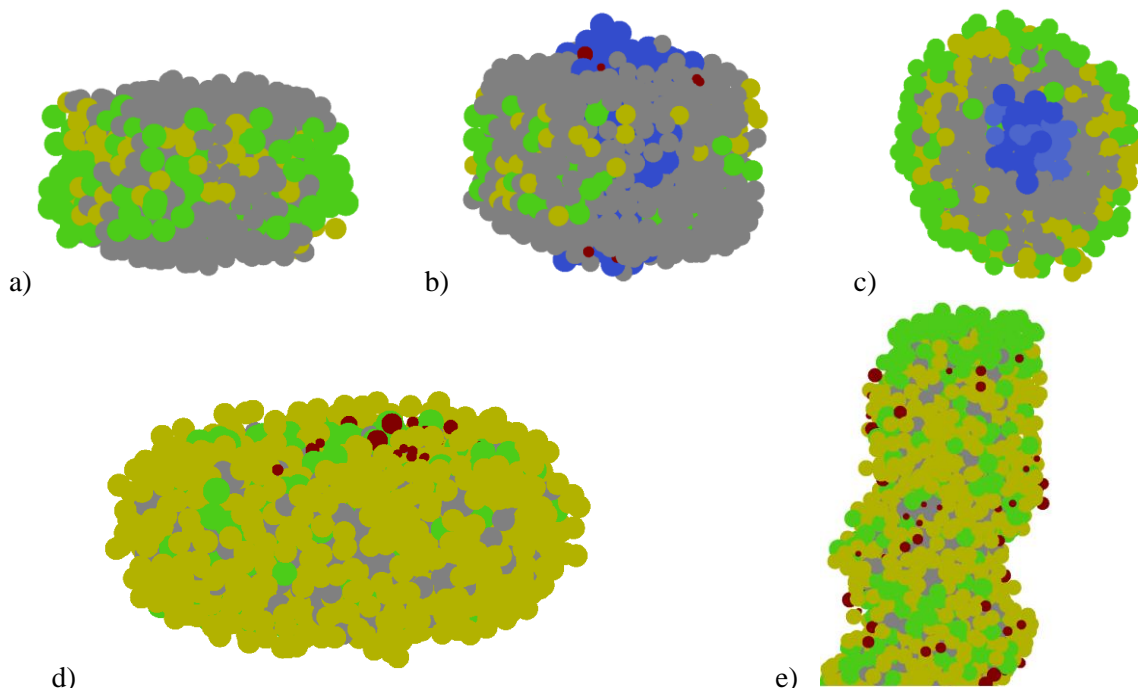


Obrázek 1: Regulace velikosti a celkového počtu buněk signálními drahami (a), zjednodušený vývojový diagram popisující algoritmus výpočtu modelu (b)

4 DOSAŽENÉ VÝSLEDKY

Výstupem modelu je v okně zobrazená buněčná kolonie (Obrázek 2) s barevným označením buněk. Šedě zbarvené buňky jsou ve fázi G_0 , žlutě zbarvené ve fázi G_1 a zeleně jsou označeny buňky ve fázích S, G_2 a M. V případě apoptózy buněk z důvodu poškození toxiny nebo nedostatkem živin jsou tyto buňky zbarveny červeně a po nastavené době jsou ze simulace vymazány. Rakovinné buňky jsou ve všech fázích buněčného cyklu označeny odstínem modré. Po několika iteracích dochází v závislosti na nastavení modelu ke stabilizaci kolonie a počet nově se dělících zdravých buněk se snižuje. K nejvýraznější inhibici dělení a následnému přechodu buněk do fáze G_0 dochází uprostřed kolonie z důvodu vysokého počtu vzájemných dotyků a omezeného prostoru pro další růst. V živé tkáni je tímto způsobem regulován celkový počet buněk a výsledná velikost orgánů [4]. U rakovinných buněk je tato regulace inhibována a dochází k jejich dalšímu dělení (Obrázek 2b). Nej-

větší aktivita zdravých buněk je pozorovatelná na okraji kolonie (Obrázek 2c), kde jsou nejpříznivější podmínky pro růst buněk. Obrázek 2e znázorňuje kolonii buněk rostoucích v okolí cévy, jejíž tvar byl pro účely simulace upraven na spirálu.



Obrázek 2: Prostorově omezená kolonie buněk s nádorovou buňkou a tumor-supresory (a) a bez supresorů se stejným nastavením (b); řez prostorově neomezenou simulací tumoru bez omezení živin (c); prostorově neomezená kolonie s omezením živin s plošným modelem (d) a s modelem cévy (e) bez simulace tumoru.

5 ZÁVĚR

Vytvořený program umožňuje spouštět simulaci modelu růstu buněk a následně graficky zobrazovat rostoucí buněčnou kolonii. Implementací signálních drah do modelu lze simulovat odezvu buněk na konkrétní látky v okolí a vizualizovat tak životaschopnost jednotlivých buněk. Změnou parametrů buněčného cyklu u některých buněk je možné vytvářet mutace a následně sledovat neřízený růst těchto nyní již rakovinných buněk. Program tak může být po přizpůsobení konkrétním účelům využit pro studium invazivity nádorů a chování buněk v nepříznivých podmínkách.

REFERENCE

- [1] LODISH, H.F. Molecular cell biology: Overview of the Cell Cycle and Its Control. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2000.
- [2] Cell cycle - Homo sapiens (human). KEGG PATHWAY [online]. 2016 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04110.
- [3] CROLL, Tristan I., Silke GENTZ, Kilian MUELLER, Malcolm DAVIDSON, Andrea J. O'CONNOR, Geoffrey W. STEVENS a Justin J. COOPER-WHITE. Modelling oxygen diffusion and cell growth in a porous, vascularising scaffold for soft tissue engineering applications. *Chemical Engineering Science*. 2005, **60**(17), str. 4924-4934.
- [4] MENG, Z., MOROISHI, T. a GUAN, K.L. Mechanisms of Hippo pathway regulation. *Genes*. 2016, 30(1), 1-17. DOI: 10.1101/gad.274027.115.