

Teorija nastanka pogrešaka za vrijeme niza staničnih dioba

Tomašić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:806434>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

Lucija Tomašić

TEORIJA NASTANKA POGREŠAKA ZA VRIJEME
NIZA STANIČNIH DIoba

Diplomski rad

Zagreb, 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
FIZIKA; SMJER ISTRAŽIVAČKI

Lucija Tomašić

Diplomski rad

**Teorija nastanka pogrešaka za
vrijeme niza staničnih dioba**

Voditelj diplomskog rada: prof. dr. sc. Nenad Pavin

Ocjena diplomskog rada: _____

Povjerenstvo: 1. _____

2. _____

3. _____

Datum polaganja: _____

Zagreb, 2020.

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr. sc. Nenadu Pavinu na prenesenom znanju, strpljenju i podršci tijekom izrade ovog rada. Zahvaljujem se mag. phys. Ivani Ban što mi je nesebično dala uvid u svoj model i rezultate koji su korišteni u ovom radu. Zahvaljujem se ocu Stipi na bezuvjetnoj ljubavi i podršci. Zahvaljujem se svim kolegama i prijateljima što su uvijek uz mene, posebice kolegici Marti Fatović na podršci, navijanju i lektoriranju ovog rada.

Sažetak

Pogreške u podjeli kromosoma za vrijeme stanične diobe uzrokuju aneuploidiju, stanje neravnoteže u broju kromosoma. Takvo stanje dovodi do teških bolesti i ubrzava stvaranje tumora. Stoga su otkrivanje podrijetla pogrešaka i njihov dugoročni učinak na stanice ključni za razumijevanje aneuploidije. Da bi se razumjeli mehanizmi koji dovode do velike učestalosti pogrešaka, uveli smo teorijski opis diobe stanica. U pojedinoj diobi, model opisuje mogućnost gubitka kromosoma i brzinu staničnog ciklusa, pri čemu je uzeto u obzir da obje pojave ovise o broju kromosoma u stanici. U modelu se prati veliki broj staničnih dioba gdje se svaka od tih dioba pojedinačno simulira. Na taj način daje se veza između procesa koji se događaju za vrijeme jedne diobe te izgleda cjelokupne populacije stanica. Također, predviđa se broj kromosoma u stanicama kroz generacije i vrste stanica koje prevladavaju nakon velikog broja dioba.

Ključne riječi: aneuploidija, nestabilnost broja kromosoma, gubitak kromosoma, brzina staničnog ciklusa, stohastičke simulacije.

Theory for error generation over multiple cell divisions

Abstract

Dividing cells that experience chromosome missegregation generate aneuploid daughter cells, which contain an incorrect number of chromosomes. This causes severe diseases and promotes tumorigenesis. Hence, the discovery of causes and cellular consequences of missegregation is the key in understanding aneuploidy. To provide insight into important cell mechanisms that drive chromosome instability, we developed theoretical model of cell division. For every single cell division, the model describes the ability of chromosome gain/loss and cell proliferation, where it is taken into consideration that both of these processes depend on the cell karyotype. Model tracks a large number of cell divisions where every single division is simulated separately. In that way, the correlation between the processes in one single cell and the appearance of the whole population is achieved and studied. Likewise, the expected number of chromosomes in cells is predicted.

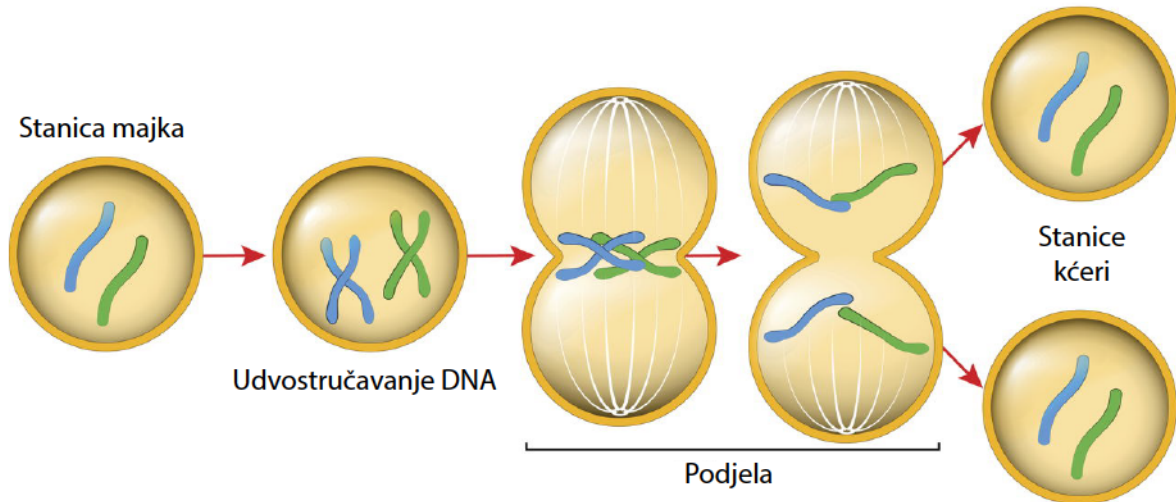
Keywords: aneuploidy, chromosome instability, chromosome missegregation, proliferation rate, stochastic simulations.

Sadržaj

1	Biološka motivacija	1
1.1	Stanična dioba	1
1.2	Aneuploidija	2
2	Stohastički procesi	4
3	Teorijski model	6
3.1	Vremenska evolucija u granici srednjeg polja	9
4	Stohastička simulacija diobe	11
4.1	Vjerojatnost missegregacije	12
4.2	Brzina diobe	13
4.3	Dijagram toka	14
5	Rezultati	16
5.1	Populacija stanica u prostoru stanja s najviše dvije kopije kromosoma .	16
5.2	Prostor stanja s najviše osam kopija kromosoma	24
6	Zaključak	26
	Literatura	28

1 Biološka motivacija

1.1 Stanična dioba



Slika 1.1: Proces mitoze diploidne stanice. Stanica se priprema za mitozu udvostručavanjem svog genetskog materijala. Zatim se formira diobeno vreteno koje razdvaja sestrinske kromatide. Slijedi dioba citoplazme čime nastaju dvije stanice kćeri. Uočimo da za vrijeme ovakve diobe nije došlo do gubitka kromosoma. Preuzeto iz [1].

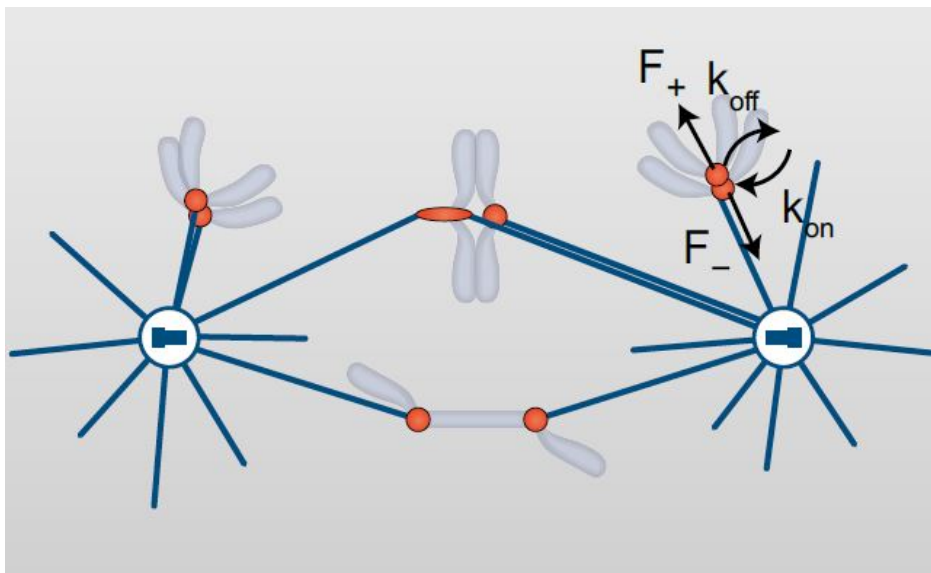
Stanična dioba je biološki proces u kojem se stanica majka dijeli u dvije ili više stanica kćeri. Dio je većeg procesa kojeg nazivamo stanični ciklus u kojem se stanica priprema za diobu i naposljetku dijeli. Postoje dvije vrste stanične diobe: mitoza i mejoza. Mitoza je vegetativna dioba koja organizmima omogućava rast i razvoj. Stanice kćeri nastale mitozom dobivaju jednak broj kromosoma i sve gene koje je imala stanica majka, tj. imaju jednak kariotip kao stanica majka. Kariotip je definiran kao broj, oblik i veličina kromosoma određene stanice [?]. Mejoza je diobeni proces kojim nastaju spolne stanice. Njome dolazi do redukcije broja kromosoma na polovičan broj pa stanice nastale mejozom neće biti genetski istovjetne stanici majci. Tjelesne (somatske) stanice čovjeka imaju dvostruk (diploidan), a spolne stanice jednostruk (haploidan) broj kromosoma. Tako npr. većina stanica čovjekova tkiva ima kariotip s kromosoma, odnosno kromosomska para, a kariotip spolnih čine kromosoma. Mitoza diploidne stanice prikazan je na slici 1.1.

Separacija genetičkog materijala tijekom diobe odvija se pomoću diobenog vretena. Dioba je vrlo dinamičan proces pri čemu se prilikom ulaska stanice u mitozu

formira diobeno vreteno, koje se po završetku diobe u potpunosti razgradi. Diobeno vreteno je kompleksan dinamičan mikro-stroj sastavljen od kromosoma, mikrotubula koji se protežu iz dva pola prema kromosomima i motornih proteina. Nakon što se svi kromosomi ispravno povežu za diobeno vreteno, kromatide se razdvajaju i odvlače prema polovima. Nakon toga dolazi do razgradnje diobenog vretena i dijeljenja stanice u dvije stanice kćeri.

1.2 Aneuploidija

Premda je separacija kromosoma vrlo precizan i kontroliran stanični proces, rijetke greške se ipak pojavljuju. Takva dioba vodi na neproporcionalnog nasljeđivanja u kojem jedna stanica kći ima jedan kromosom više u odnosu na stanicu majku, a druga stanica kći jedan kromosom manje. Jedan od kromosoma se pri diobi ne dijeli ispravno, što se naziva missegregacija (eng. *chromosome mis-segregation*). Ta pojava stanica s nepravilnim brojem kromosoma naziva se aneuploidija [3]. Aneuploidne stanice posjeduju kariotip koji je različit od normalnog. Stanice s normalnim kariotipom nazivaju se euploidne.



Slika 1.2: Ilustracija pogrešaka u anafazi koje dovode do missegregacije kromosoma.

Aneuploidija se rijetko javlja tijekom mitoze. Razlog tome je što stanice imaju niz nadzornih mehanizama koji sprječavaju nastajanje pogrešaka. Jedan od tih mehanizama je kontrolna točka sastavljena od diobenog vretena (eng. *spindle assembly checkpoint*, skraćeno SAC) koja ne dopušta stanici da ode u anafazu dok se ne is-

prave pogreške u hvatanju kromosoma i obliku diobenog vretena [4]. Greške u SAC mehanizmu rezultiraju preranoj separaciji s nepravilnostima u diobenom vretenu i neuhvaćenim kromosomima, što dovodi do missegregacije [5]. Nadalje, do missegregacije kromosoma može doći zbog suvišnog broja centrosoma [6]. Centrosomi su stanična tjelešca koja su glavna organizacijska središta mikrotubula i mikrofilamena u stanici. Njihova uloga je formiranje diobenog vretena, a aberacije broja centrosoma također dovode do nepravilnih veza između mikrotubula i kromosoma koje rezultiraju missegregacijom. Konačno, kohezijski defekti uzrokuju prerano odvajanje sestrinskih kromatida što uzrokuje missegregaciju [7].

Iako su mehanizmi nastanka pogrešaka i aneuploidije dobro poznati, njihove posljedice i daljnje ponašanje aneuploidnih stanica predmet je istraživanja. Razlog nedostatka detaljnog razumijevanja posljedica missegregacije je u tome što je proučavanje neispravne podjele kromosoma i rezultirajuće aneuploidije zahtjevno kako u eksperimentalnim, tako i u teorijskim istraživanjima. Također, missegregacija kromosoma događa se rijetko i zbog toga ju je teško eksperimentalno ispitivati.

Stanice pogođene aneuploidijom mogu doživjeti značajnu promjenu u stabilnosti genoma te njihova vjerojatnost preživljavanja uvelike zavisi o konkretno zahvaćenim kromosomima i njihovom broju. Aneuploidija većeg broja kromosoma u stanicama najčešće vodi do nefunkcionalnosti i smrti tih stanica (apoptoza) [10]. Također je uzrok različitih teških bolesti kod ljudi.

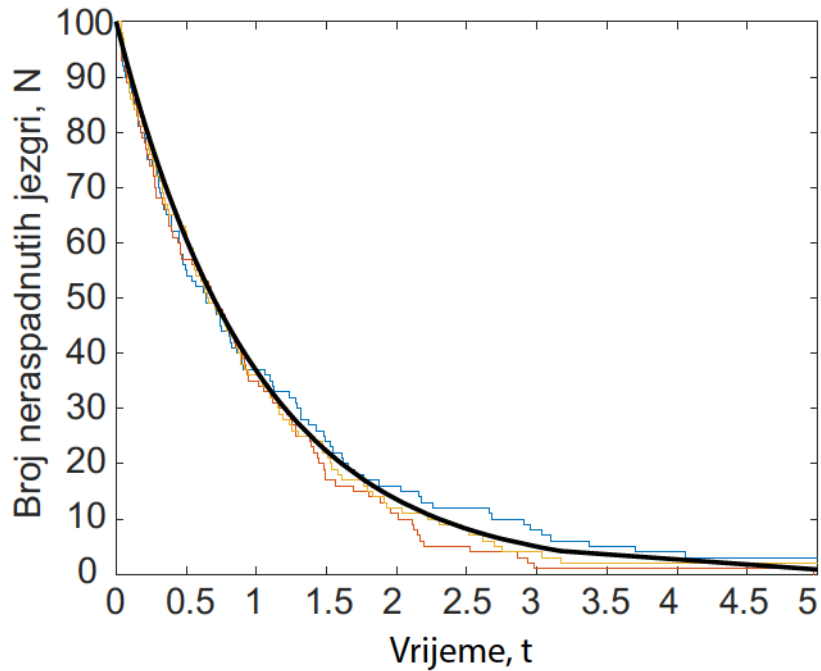
Kada se aneuploidija javlja po čitavom tijelu, riječ je o konstitucionaloj aneuploidiji [9]. Ona je uzrokovana greškama podjele kromosoma pri formiranju gameta u mejozi što dovodi do bolesti kao što su Downov i Turnerov sindrom koji su uzrokovani viškom kromosoma 21 i nedostatkom kromosoma X kod žena. Somatska aneuploidija rezultat je pogrešaka u mitozu i opisuje stanja u kojima samo neke stanice organizma imaju nepravilan kariotip. Ona je usko povezana sa stanjem nestabilnosti kromosoma (eng. *Chromosomal instability*, skraćeno CIN). CIN opisuje stanje velike učestalosti pogrešaka pri kojima pojedine stanice gube ili dobivaju kromosome [3]. Premda aneuploidija utječe na sposobnost diobe stanica [8], paradoksalno, također se javlja kod većine tumora, bolesti koja je karakterizirana ubrzanom diobama i CIN-om [18]. Na koji način aneuploidija utječe na nastanak i širenje tumora te koje posljedice ona ima na organizam još nije poznato i predmet je istraživanja.

2 Stohastički procesi

Kako bismo točno definirali stohastičke procese, prvo ćemo uvesti pojam slučajne varijable i objasniti ga na jednostavnom primjeru. U teoriji vjerojatnosti, slučajna varijabla definira se preslikavanjem $X: \Omega \rightarrow \mathbb{R}$, gdje je Ω moguć skup ishoda, a prostor stanja [12]. Za svaku realizaciju elementarnog događaja ω ona poprima vrijednost $X(\omega)$ u skupu realnih brojeva. Na primjer, pretpostavimo da bacamo novčić dva puta te nas zanima koliko puta smo dobili glavu. Broj glava je tada slučajna varijabla koja elementima skupa ishoda $\Omega = \{GG, GB, BG, BB\}$, gdje je p pismo, a g glava, pridružuje elemente prostora stanja \mathbb{R} . Kako bi pridruživanje bilo jednoznačno, osim prostora ishoda, potrebno je i definirati pripadajuću mjeru vjerojatnosti, P , gdje je $P(\{GG\}) = p^2$. Mjera vjerojatnosti je “veličina” (u smislu teorije mjera) skupa A za koje je vrijednost funkcije unutar s , te se tu veličinu normira tako da je ukupna mjera jedan. U ovom primjeru, $P(\Omega) = 1$.

Općenito, pojam slučajne varijable neovisan je o vremenu. Međutim, mnogi procesi u fizici koji se odvijaju u vremenu, a čiji je ishod neizvjestan zahtijevaju da se koncept slučajne varijable poopći tako da uključuje i vremensku komponentu. Na taj način, promatrajući familiju slučajnih varijabli koja ovisi o vremenu, dolazi se do pojma stohastičkog procesa. Neka je T skup vremena u kojima promatramo stohastički proces. Za svako vrijeme $t \in T$ određena je slučajna varijabla X_t . Familija tih slučajnih varijabli definira stohastički proces $\{X_t\}_{t \in T}$ [12]. Stohastički proces može se shvatiti kao funkciju dviju varijabli $X: T \times \Omega \rightarrow \mathbb{R}$ [14]. Za izabrano vrijeme t i elementarni događaj ω , $X_t(\omega)$ je realizacija procesa. Ako se izabere fiksni t , tada preslikavanje $X_t: \Omega \rightarrow \mathbb{R}$ opisuje realizacije procesa X tijekom vremena i ta se funkcija vremena naziva trajektorija. Izgled trajektorije mijenja se za svaku drugu realizaciju elementarnog događaja.

Na slici 2.1 prikazane su trajektorije slučajnog procesa na primjeru nuklearnog raspada. Kod nuklearnog raspada, broj neraspadnutih jezgri može se modelirati kao slučajan proces $\{X_t\}_{t \geq 0}$. Također je crnom linijom prikazana očekivana vrijednost broja neraspadnutih jezgri $E[X_t]$, koja bi se dobila usrednjavanjem beskonačnog broja putanja u svakoj vremenskoj točki. Može se pokazati da je očekivani broj neraspadnutih jezgri dan poznatom formulom nuklearnog raspada $E[X_t] = N_0 e^{-\lambda t}$, gdje je



Slika 2.1: Primjer nasumičnog procesa – broj neraspadnutih radioaktivnih jezgri u ovisnosti o vremenu. Trajektorije su prikazane obojanim linijama, očekivana vrijednost broja neraspadnutih jezgri crnom linijom.

početni broj jezgri.

Nuklearni raspad primjer je procesa koji nema pamćenje. Većina mnogočestičnih sustava u fizici su takvi sustavi, čije buduće stanje $X(t + \Delta t)$ ovisi samo o trenutnom stanju sustava $X(t)$, a ne i o načinu na koji je sustav došao u to stanje [11]. U teoriji vjerojatnosti, takvi stohastički procesi koji nemaju pamćenje, nazivaju se Markovljevi procesi. Formalno, sustav ima Markovljevo svojstvo ako, za uređen skup vremenskih točaka $\{t_1, t_2, \dots, t_i, t_{i+1}, \dots\}$, vjerojatnost da je sustav u trenutku t_{i+1} u stanju x_{i+1} ovisi samo o stanju sustava u trenutku t_i , x_i , a ne i o stanju sustava u pijašnjim stanjima sustava, x_1, x_2, \dots, x_{i-1} [13]. To se može iskazati kao

$$P(x_{i+1} | x_1, x_2, \dots, x_{i-1}, x_i) = P(x_{i+1} | x_i). \quad (2.1)$$

Niz staničnih dioba primjer je stohastičkog procesa koji ima Markovljevo svojstvo. U nastavku ćemo prvo objasniti kako se proces može opisati determinističkim jednadžbama u granici srednjeg polja gdje se zanemaruju fluktuacije sustava. Zatim ćemo opisati kako stohastički simulirati proces. S tom namjerom izradili smo Monte Carlo proceduru koja je napravljena za simuliranje vremenske evolucije sustava sta-

nica za velik broj generacija dioba.

3 Teorijski model

Kao što je već rečeno u uvodu, kariotip je definiran kao broj, oblik i veličina kromosoma određene stanice. Prema toj definiciji, kariotip se može zapisati kao

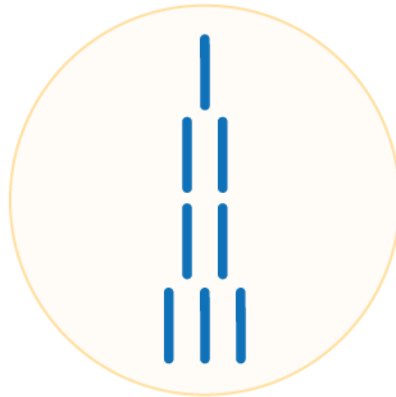
$$\text{kariotip} \begin{matrix} \text{kromosom 1 s} & \text{kopija} \\ \text{kromosom 2 s} & \text{kopija} \\ \vdots & \\ \text{kromosom 23 s} & \text{kopija} \end{matrix} \quad (3.1)$$

Ovakvim zapisom možemo za svaku stanicu reći koliko svaki kromosom ima kopija što je potpuna informacija o setu kromosoma u jednoj stanici. Međutim, takav zapis kariotipa ima svoje velike mane. Jedna od njih je visoka dimenzionalnost prostora mogućih aneuploidnih stanja. On će biti određen s maksimalnim dopuštenim brojem kopija svakog kromosoma. Na primjer, za ljudsku stanicu s n , tj. za koju je maksimalan dopušten broj kopija svakog kromosoma jednak n , aneuploidni prostor sadrži n^n stanja. Kao takvog teško ga je istražiti i grafički reprezentirati.

Umjesto da se u stanici prati svaki kromosom zasebno, zapis kariotipa je moguće pojednostavniti tako da se gleda ukupni broj kopija kromosoma. Za svaku stanicu prati se koliko kromosoma ima određen broj kopija, na primjer koliko kromosoma ima jednu kopiju, koliko dvije, koliko tri... Model koji se koristi u ovom radu općenito vrijedi za proizvoljan broj kopija, ali radi preglednosti u ovom poglavlju prikazana je njegova primjena na stanice s maksimalno 3 kopije. U ovom modelu (I. Ban i suradnici, neobjavljeno) kariotip je reprezentiran kao

$$\text{kariotip} = (\begin{matrix} \text{br. kromosoma koji imaju jednu kopiju} \\ \text{br. kromosoma koji imaju dvije kopije} \\ \text{br. kromosoma koji imaju tri kopije} \end{matrix}) \quad (3.2)$$

Na slici 3.1 prikazan je primjer stanice koja ima jedan kromosom s jednom kopijom, dva kromosoma s dvije kopije i jedan kromosom s tri kopije. U ovom modelu



kariotip =
 prvi kromosom - 1 kopija
 drugi kromosom - 2 kopije
 treći kromosom - 2 kopije
 četvrti kromosom - 3 kopije

Slika 3.1: Primjer stanice s četiri tipa kromosoma koja ima jedan kromosom s jednom kopijom, dva kromosoma s dvije kopije i jedan kromosom s tri kopije. Njen kariotip se može zapisati kao .

njen kariotip se može reprezentirati kao

(3.3)

Najviše stanica ljudskog tkiva su diploidne i imaju para kromosoma. U ovakvoj reprezentaciji njihov kariotip se može zapisati kao

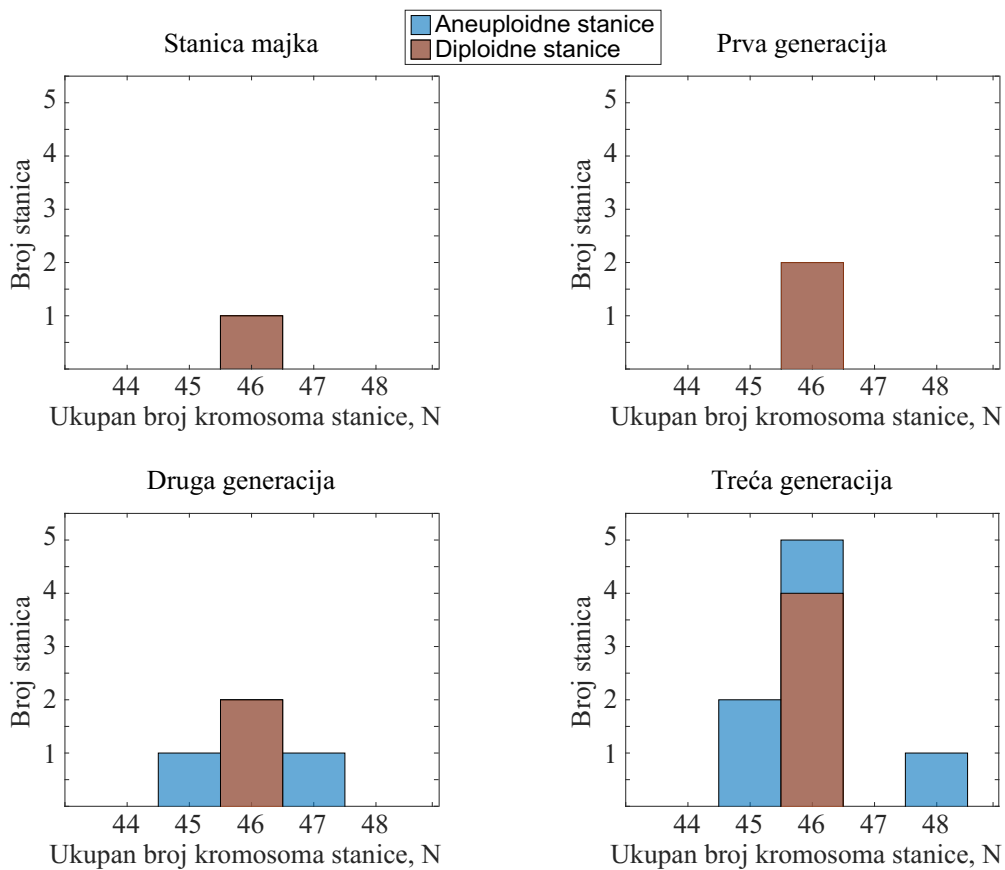
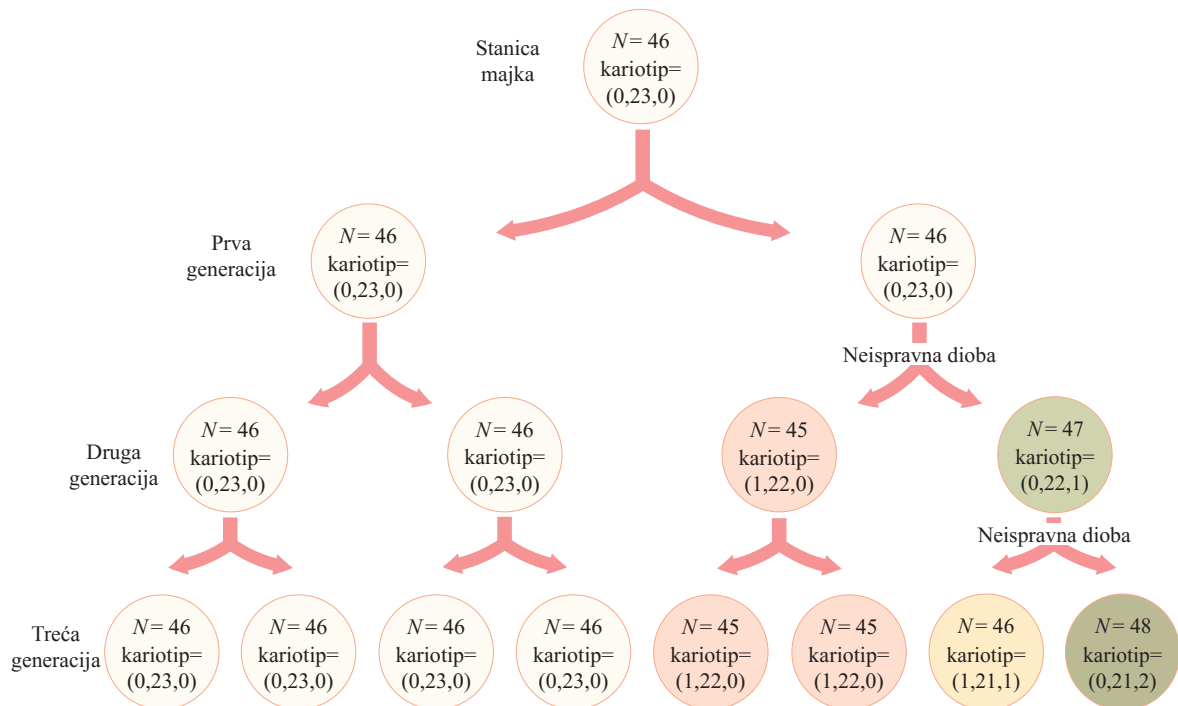
(3.4)

S druge strane spolne ljudske stanice su haploidne i imaju po jednu kopiju svakog kromosoma te njihov kariotip možemo zapisati kao

(3.5)

Pogledajmo sada primjer nekoliko dioba koji je slikovito prikazan rodoslovnim stablom na slici 3.2. Diobu započinjemo od jedne diploidne stanice s kariotipom

. Maksimalan dopušten broj kopija kromosoma je tri. Pri prvoj diobi nema missegregacije i dobivaju se dvije diploidne stanice. U drugoj generaciji jedna od stanica se podijeli neispravno (stanica na desnoj strani slike), tj. njenom diobom nastaje jedna stanica s kariotipom i ukupnim brojem kromosoma te stanica s kariotipom i ukupnim brojem kromosoma . U drugoj generaciji diobe, stanica s se podijeli bez missegregacije i dobiju se dvije stanice s . Stanica s se podijeli uz missegregaciju kromosoma koji ima dvije



Slika 3.2: Rodoslovno stablo i histogrami ukupnog broja kromosoma. Slika prikazuje ogledni primjer prve tri generacije dioba koje započinju od diploidne stanice majke. Prikazane su dvije nepravilne diobe u drugoj i trećoj generaciji. Na donjem dijelu slike prikazani su grafovi broja stanica s pojedinim ukupnim brojem kromosoma.

kopije, tako da nastaju stanica s kariotipima $2n$ i $4n$. Iako stanica s kariotipom $2n$ ima ukupan broj kromosoma jednak $2n$ kao i zdrava diploidna stanica, njihovi kariotipi su očito vrlo različiti.

Na donjem dijelu slike 3.2 prikazani su grafovi broja stanica s određenim ukupnim brojem kromosoma za opisane tri generacije diobe. Diploidne stanice predočene su crvenom bojom, a aneuploidne plavom. Vidimo kako od jedne diploidne stanice s $2n$ kroz tri generacije dioba dobivamo 4 diploidne i 4 aneuploidne stanice. U ovakvom zapisu kariotipa, ukupna suma $2n$ za neku stanicu, bit će jednaka za sve stanice rodoslovnog stabla. Na primjer, ako se krene od diploidne stanice $2n$ kao na slici 3.2, tada će za svaku stanicu nastalu daljnjim diobama vrijediti

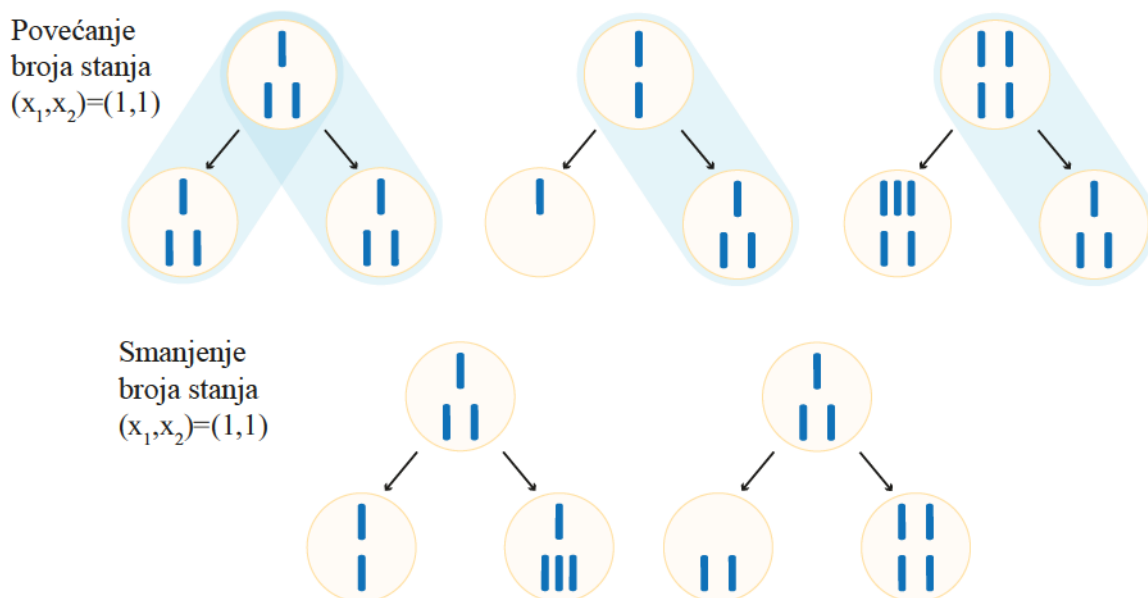
(3.6)

3.1 Vremenska evolucija u granici srednjeg polja

Jedan od mogućih načina opisa diobe stanica je da se pretpostavi da je vremenska evolucija sistema kontinuirana i deterministička. U ovakvom modelu, gdje se kariotip reprezentira brojem kromosoma s određenim brojem kopija, se broj jednadžbi potrebnih za opis znatno reducira. Jednadžbe koje opisuju evoluciju sistema razvila je Ivana Ban. Ovdje ćemo radi jednostavnosti dati jednadžbu koja opisuje kariotipe stanica s maksimalno dvije kopije nekog kromosoma. U takvoj aproksimaciji vremenska evolucija broja stanja s određenim kariotipom dana je jednadžbom

(3.7)

Ona opisuje kako se broj stanica s određenim kariotipom mijenja u vremenu. Prva tri člana na desnoj strani jednadžbe opisuju porast broja određenog stanja, a zadnja dva člana smanjenje. Da bi bilo jasnije, članove ćemo opisati na primjeru stanica s kariotipom $2n$, tj. kariotipom koji ima jedan kromosom s jednom kopijom i jedan kromosom s dvije kopije. Zanima nas kojim se sve mogućim diobama broj stanica s kariotipom $2n$ može mijenjati u vremenu. Ilustracija svih dioba kojima se povećava broj stanica s kariotipom $2n$, prikazana je na



Slika 3.3: Ilustracija svih dioba kojima se broj stanica s kariotipom mijenja u vremenu. Gornji dio slike prikazuje tri diobe kojima se broj stanica povećava. Takve diobe kojima se broj stanica određenog kariotipa povećava u jednadžbi 3.7 opisane su s prva tri člana. Posljednja dva člana u jednadžbi opisuju smanjenje broja stanica određenog kariotipa. Dvije diobe kojima se to događa za stanje prikazane su na donjoj polovici slike.

gornjem dijelu slike 3.3, dok su na donjem dijelu slike prikazane diobe kojima se broj stanica s takvim kariotipom smanjuje. Prvi član na desnoj strani jednadžbe prikazuje ispravnu diobu stanice s kariotipom čiju evoluciju pratimo. Takvom diobom se poveća za jedan. Za primjer kariotipa takva dioba je prikazana na prvoj ilustraciji na slici 3.3. Drugi član opisuje neispravnu diobu stanice s kariotipom kojom nastaje jedna stanica s kariotipom čiji broj pratimo. Ovakvom diobom se također poveća za jedan. Za primjer kariotipa , ovakva dioba prikazana je na drugoj ilustraciji na slici 3.3. Missegregacijom jedne od kopija kromosoma haploidne stanice nastaje jedna stanica s kariotipom . Treći član opisuje neispravnu diobu stanice s kariotipom kojom se također povećava (treća dioba na slici 3.3). Zadnja dva člana u jednadžbi opisuju neispravne diobe stanica s kariotipom kojima se smanjuje.

Koeficijenti u jednadžbi 3.7 predstavljaju stope koje govore o vjerojatnosti i brzini diobe. One su dane kao umnožak vjerojatnosti da se dogodi određena dioba i stope . Stopa govori o tome koliko brzo se stanice dijele. Poznato je da se stanice s različitim kariotipima ne dijele jednako brzo. Više o vjerojatnosti diobe i

stopi bit će rečeno u nastavku.

4 Stohastička simulacija diobe

Iako je opisivanje stohastičkih sustava determinističkim jednadžbama jako korisno, takvim pristupom se gube informacije o fluktuacijama u sustavu i od velike koristi je usporediti ih sa stohastičkim simulacijama. Ovdje ćemo opisati Monte Carlo proceduru koja je napravljena za simuliranje vremenske evolucije sustava stanica za velik broj generacija dioba. Ova stohastička metoda u obzir uzima i fluktuacije koje se gube pri determinističkom tretmanu stohastičkog procesa. Ovakvim pristupom svaka dioba predstavlja slučajan događaj koji se zasebno simulira. Kao što je već spomenuto, svaku diobu opisujemo preko vjerojatnosti missegregacije i vremena staničnog ciklusa, odnosno brzine diobe.

Stohastički modeli se već dugu niz godina koriste u različitim istraživanjima staničnih dioba. Jedan od prvih modela stohastičke simulacije diobe ispitao je kako broj stanica u populaciji ovisi o vjerojatnosti missegregacije [15]. U tom modelu, vrijeme staničnog ciklusa promatrano je kao kontinuirana slučajna varijabla dana raspodjelom vjerojatnosti. Također, tu je bilo pretpostavljeno da stanica umire ako izgubi sve kopije nekog kromosoma. Nadalje, stohastički model koji opisuje utjecaj kariotipa na evolucijsku adaptaciju, pokazao je da tetraploidni organizmi imaju veću mogućnost prilagodbe mutacijama od haploidnih i diploidnih organizama [16]. U tom modelu pretpostavljeno je da je vrijeme staničnog ciklusa konstantno i da pri svakoj diobi postoji vjerojatnost smrti stanice koja ovisi o mutacijama kariotipa. Između ostalog, stohastičkim simulacijama pokazano je kako CIN ubrzava rast tumora [17]. U tom modelu također je pretpostavljeno da je vrijeme staničnog ciklusa konstantno. Usto, pretpostavljeno je da stanica umire ako izgubi sve kopije ili ako ima više od 8 kopija nekog kromosoma.

U svim ovim dosadašnjim modelima kariotip je bio zapisan preko broja kopija svakog kromosoma pojedinačno. Također, vjerojatnost gubitka kromosoma i vrijeme staničnog ciklusa bili su neovisni o kariotipu. Ovdje je korišten model (I, Ban i suradnici, neobjavljeno) koji uzima u obzir da stanice s različitih kariotipa imaju različite vjerojatnosti missegregacije i brzine diobe.

4.1 Vjerojatnost missegregacije

Postavlja se pitanje kako opisati missegregaciju kromosoma, odnosno diobu pri kojoj stanice kćeri nemaju isti broj kromosoma kao stanica majka. Pri simulaciji diobe pretpostavljeno je da svi kromosomi u nekoj stanici imaju jednaku vjerojatnost missegregacije jedne kopije p_{mis} . Vrijednost p_{mis} različita je za stanice različitog broja kromosoma. Aneuploidne stanice općenito imaju veću vjerojatnost missegregacije od haploidnih i diploidnih stanica. Kromosomi aneuploidnih stanica imaju vjerojatnost missegregacije $p_{mis} \sim 2.5 \times 10^{-3}$ dok za diploidne i haploidne stanice ta vrijednost je nekoliko puta manja. Eksperimentalno je utvrđeno da se vrijednosti vjerojatnosti missegregacije jedne kopije kromosoma kreću između $p_{mis} = 0.001$ i $p_{mis} = 0.0025$ [19]. Uzimajući u obzir da aneuploidne stanice općenito imaju veću vjerojatnost missegregacije od haploidnih i diploidnih, pri izradi simulacija pretpostavljeno je da je p_{mis} funkcija koja ovisi o kariotipu pojedine stanice. Za funkcije je uzeto da u blizini euploidnih stanja daju male vjerojatnosti missegregacije, a za dalja aneuploidna stanja rastu. Prilikom simulacije svake diobe, pomoću te funkcije ovisne o kariotipu $p_{mis}(kariotip)$, računa se vjerojatnost missegregacije svake od kopija kromosoma. Zatim se računa vjerojatnost svih mogućih dioba te stanice. Na primjer, vjerojatnost diobe pri kojoj se missegregira kopija kromosoma koji ima ukupan broj kopija i dana je s

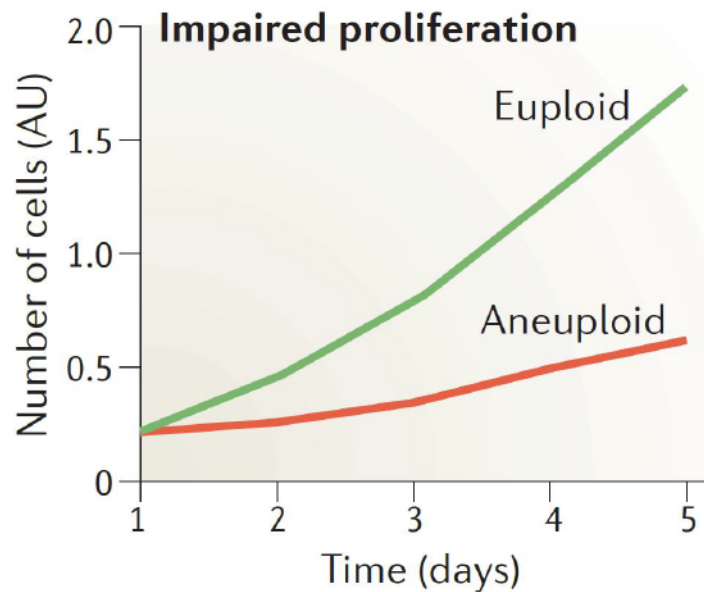
$$p_{dioba}^0 = i \cdot p_{mis}(kariotip). \quad (4.1)$$

Ona je produkt broja kopija nekog kromosoma i vjerojatnosti missegregacije svake od kopija. Tada je vjerojatnost ispravne diobe jednaka

$$p_{dioba}^0 = 1 - \sum_{i=1} p_{dioba}^i. \quad (4.2)$$

Nasumično se odabire jedna od mogućih dioba uzimajući u obzir da diobe s većom vrijednosti p_{dioba}^i imaju veću vjerojatnost da budu izabrane.

4.2 Brzina diobe

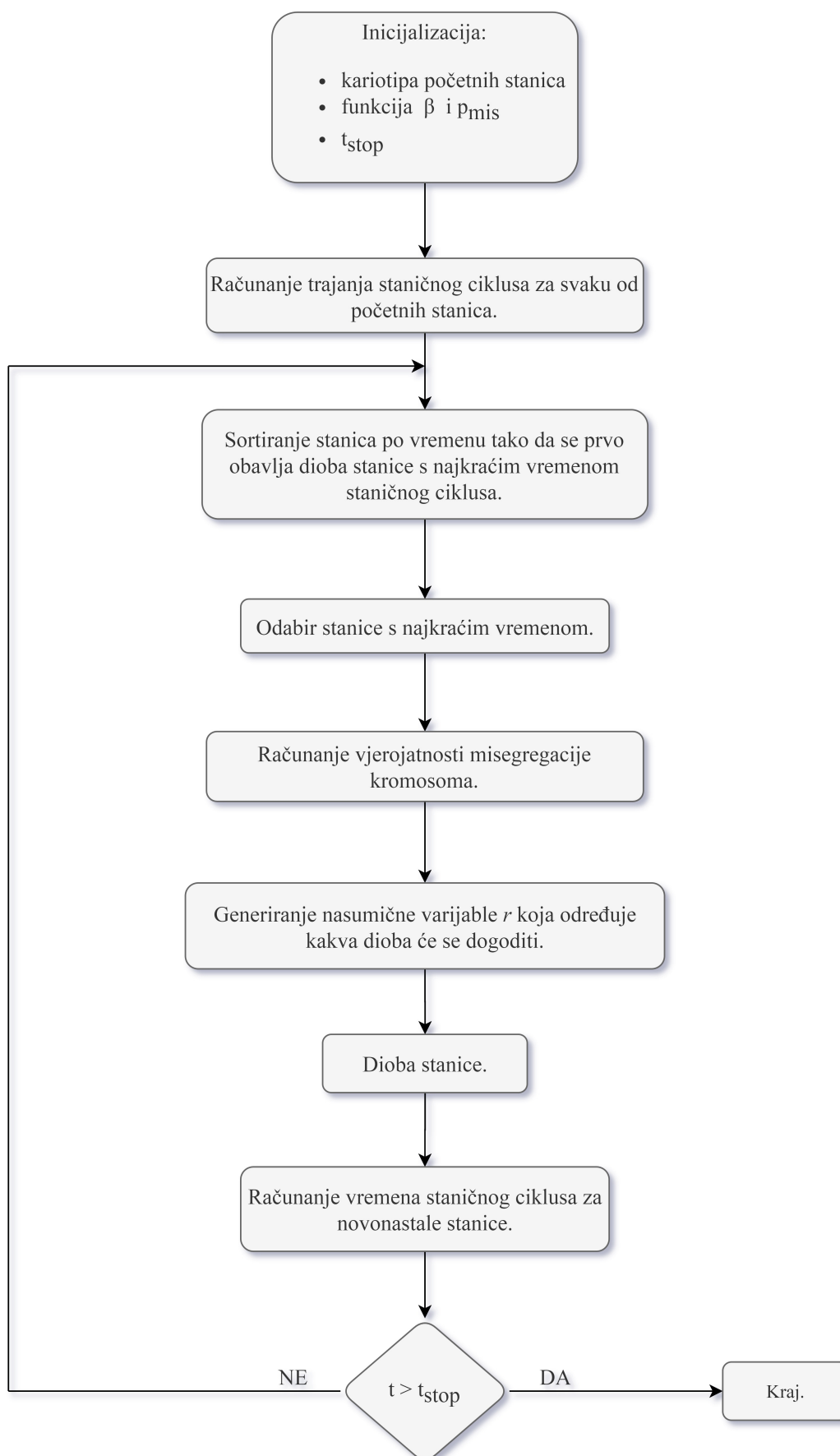


Slika 4.1: Graf povećanja broja stanica u vremenu za aneuploidne i euploidne stanice. Na grafu možemo vidjeti kako se aneuploidne stanice dijele sporije od euploidnih. Preuzeto iz [20].

Sljedeća pojava kojom opisujemo diobu je vrijeme staničnog ciklusa. Njega u modelu uvodimo preko stope koja opisuje ovisnost brzine diobe o kariotipu. Općenito, aneuploidne stanice se ne dijele jednako brzo kao euploidne [21]. One ulaze u stanje opterećenja (eng. *enviromental-stress response*) koje utječe na sposobnost rasta i diobe [22]. Zbog toga se aneuploidne stanice dijele sporije od euploidnih kao što se može vidjeti na grafu na slici 4.1. Stoga je pretpostavljeno da trajanje staničnog ciklusa, tj. brzina diobe pojedine stanice ovisi o kariotipu. Brzina diobe definirana je veličinom (eng. *proliferative index*) [23]. Pretpostavit ćemo da je ta stopa funkcija kariotipa koja aneuploidnim stanjima pridružuje manje vrijednosti brzine diobe nego euploidnim stanja. No istraživanja također ukazuju na to da se tumorske aneuploidne stanice dijele velikom brzinom [24]. Diobu takvih stanica opisat ćemo visokim vrijednostima stope .

4.3 Dijagram toka

Pomoću programskog paketa "Matlab R2018a" napravljen je algoritam koji u obzir uzima stohastičke efekte problema diobe stanica kroz više generacija. Dijagram toka algoritma prikazan je na slici 4.2. Na početku programa zadaju se kariotipi stanica majki čija dioba se želi promatrati. Za svaku stanicu računa se vrijeme staničnog ciklusa. Obzirom da nije poznato kako točno aneuploidija utječe na trajanje staničnog ciklusa, to vrijeme se računa pomoću proizvoljne funkcije $f(t)$. Zatim se stanice sortiraju po vremenu i odabire se stanica s najkraćim vremenom trajanja staničnog ciklusa. Za tu stanicu računa se vjerojatnost missegregacije kromosoma pomoću funkcije $P(t)$. Kakva dioba će se dogoditi određuje se generiranjem slučajne varijable X iz uniformne distribucije u intervalu $[0, 1]$. Nakon toga se odvija dioba kojom nastaju dvije nove stanice. Za svaku novonastalu stanicu računa se vrijeme staničnog ciklusa. Ponovo se izabire stanica s najmanjim vremenom te se postupak diobe ponavlja.

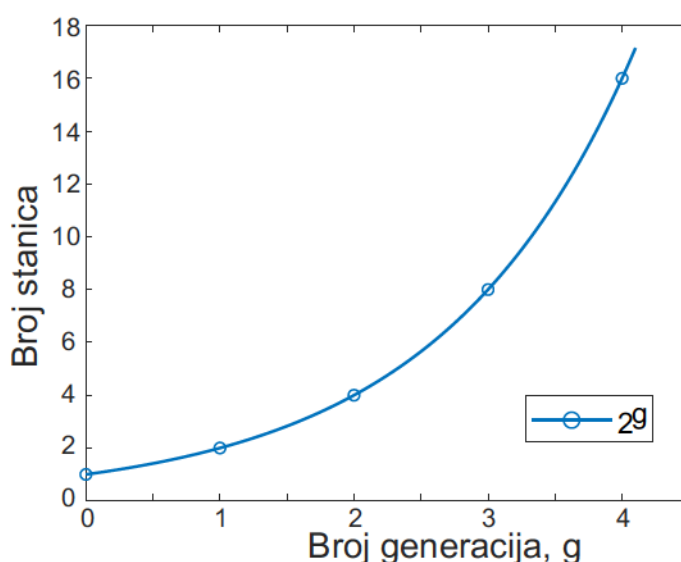


Slika 4.2: Dijagram toka algoritma.

5 Rezultati

Da bismo dobili uvid u to kako dolazi do grešaka u našem modelu, napravili smo stohastičke Monte Carlo simulacije. Prvo smo riješili model za najjednostavniji odabir parametara, što je uključivalo jednaku brzinu podjele stanice i jednaku vjerojatnost gubitka kromosoma, neovisno o kariotipu.

Pri simulaciji diobe pretpostavljeno je da se svaka stanica majka dijeli na dvije stanice kćeri. Takva dioba vodi na eksponencijalni rast broja stanica u vremenu. Dobiveni eksponencijalni rast broja stanica u vremenu prikazan je na grafovima na slici 5.1.



Slika 5.1: Porast broja stanica s brojem generacija dioba. U svakoj generaciji diobe, svaka od stanica se dijeli na dvije nove stanice. Ako se simulacija započne od jedne stanice majke, tada je broj stanica u populaciji nakon g dioba dan s 2^g .

5.1 *Populacija stanica u prostoru stanja s najviše dvije kopije kromosoma*

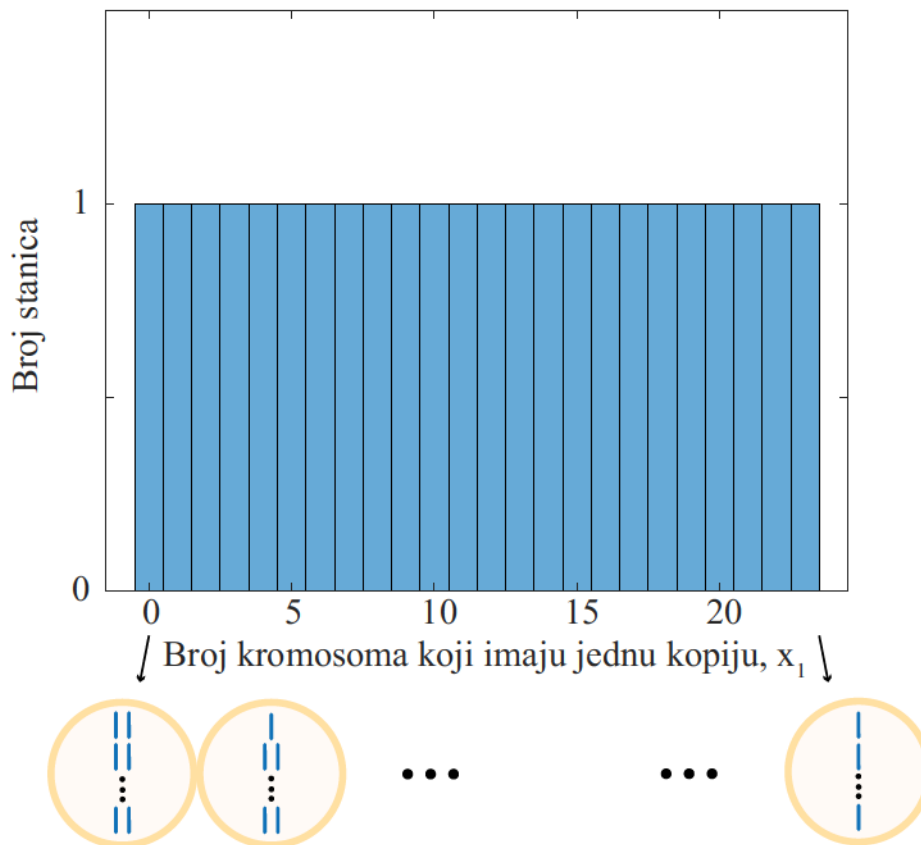
Ispitat ćemo model u kojem se stanicama dopušta da imaju najviše dvije kopije kromosoma, tj. pretpostavlja se kariotip

$$\text{kariotip} = (\quad , \quad).$$

Kada diobom nastane stanica koja ima više od dvije kopije ili nema ni jednu kopiju nekog kromosoma, ona ide u staničnu smrt i ne dijeli se. Kako vrijedi da je zbroj varijabli kariotipa konstantan, $\sum x_i = 2n$, broj varijabli kariotipa se može reducirati na jednu, što olakšava grafičko prikazivanje rezultata. Ovdje ćemo kariotip na grafovima predočavati preko varijable x_1 . Tada je kariotip dan kao

$$\text{kariotip} = (x_1, \dots, x_n).$$

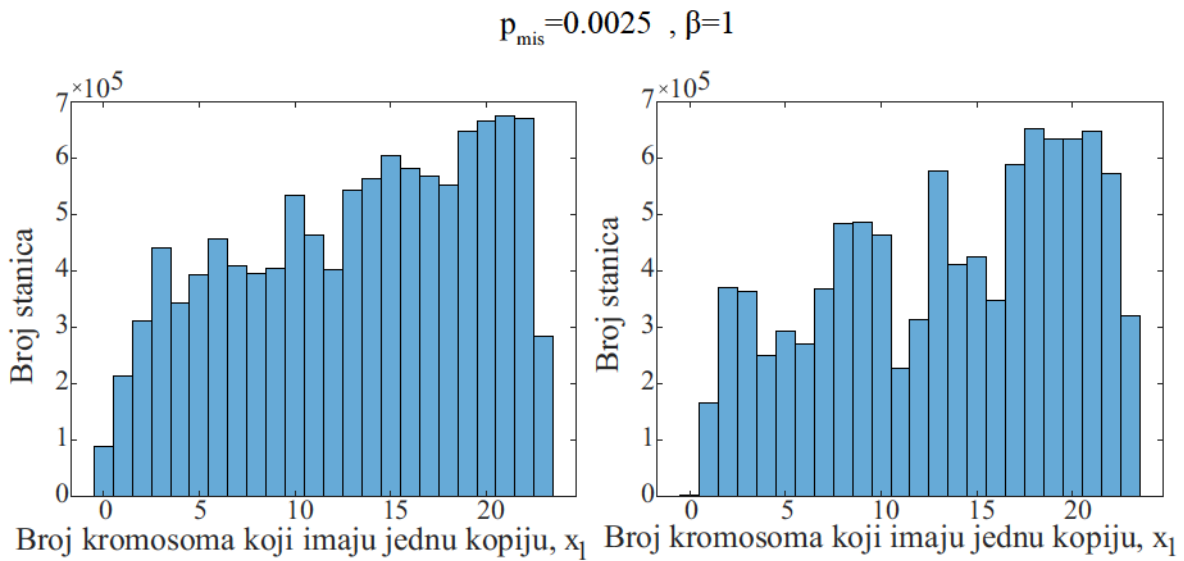
Istražit ćemo ponašanje modela za različite početne uvjete i parametre vjerojatnosti missegregacije μ i stope δ . Svaki od parametara μ i δ ovisi o kariotipu što je ovdje prikazano u ovisnosti o varijabli x_1 . Simulaciju započinjemo s populacijom



Slika 5.2: Razdioba kariotipa stanica u početnom trenutku. Distribucija ide od diploidne stanice preko niza aneuploidnih stanja sve do haploidne stanice i obuhvaća sve moguće kariotipe u modelu dvije kopije.

stanica koja sadrži sve moguće kariotipe u ovakvom modelu s najviše dvije kopije. Ta razdioba ide od diploidnog do haploidnog stanja preko niza aneuploidnih stanja. Prikaz razdiobe stanica pojedinog kariotipa u početnom trenutku je dan na slici 5.2. Za svaki kariotip uzeta je po jedna stanica.

Za početak, za parametre vremena i vjerojatnosti missegregacije uzete su konstantne vrijednosti koje ne ovise o kariotipu, β i p_{mis} . Na grafovima na



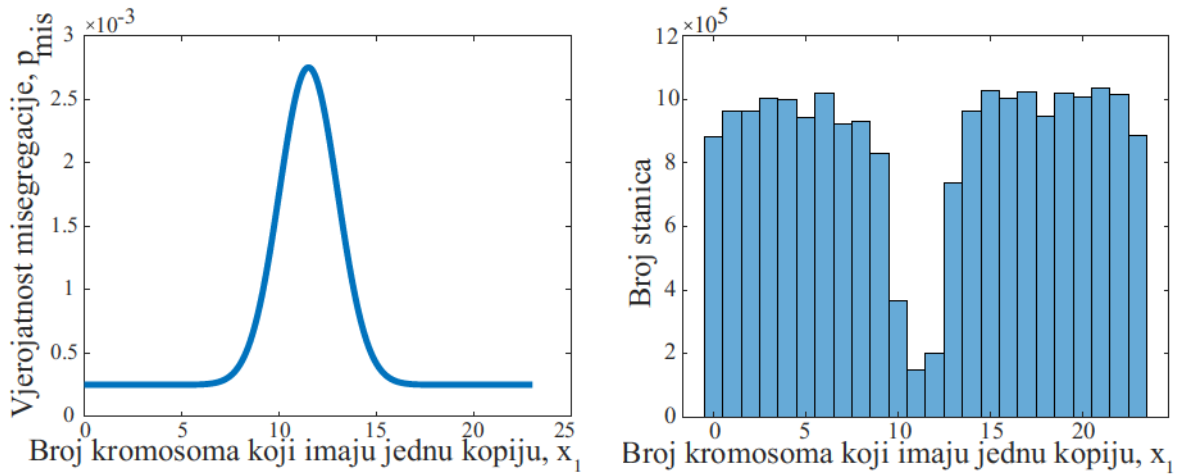
Slika 5.3: Grafovi populacije stanica nakon 20 generacija dioba. Za parametre vremena i vjerojatnosti missegregacije uzete su konstantne vrijednosti β i p_{mis} . Prikazane su dvije realizacije simulacija kako bi se dobio dojam o fluktuacijama sustava.

slici 5.3 prikazane su populacije stanica koje se dobiju nakon 20 generacija dioba. Prikazane su dvije realizacije simulacija kako bi se dobio dojam o fluktuacijama sustava. Iako su prisutne velike fluktuacije, možemo primjetiti kako je maksimum raspodjele pomaknut na desnu polovicu grafa. Stanice preferiraju stanje bliže haploidnom nego diploidnom stanju, tj. stanju s većim brojem kromosoma koji imaju jednu kopiju. To je posljedica toga što kromosomi s manjim brojem kopija imaju i manju ukupnu vjerojatnost missegregacije.

Nadalje, možemo ispitati kako se aneuploidna stanja ponašaju ako za parametre β i p_{mis} pretpostavimo da su funkcije ovisne o kariotipu. Pretpostavimo da vjerojatnost missegregacije ovisi o kariotipu i to na način da stanice koje su aneuploidne imaju veću vjerojatnost gubitka od euploidnih. To ćemo opisati funkcijom za p_{mis} koja ovisi o x_1 na sljedeći način

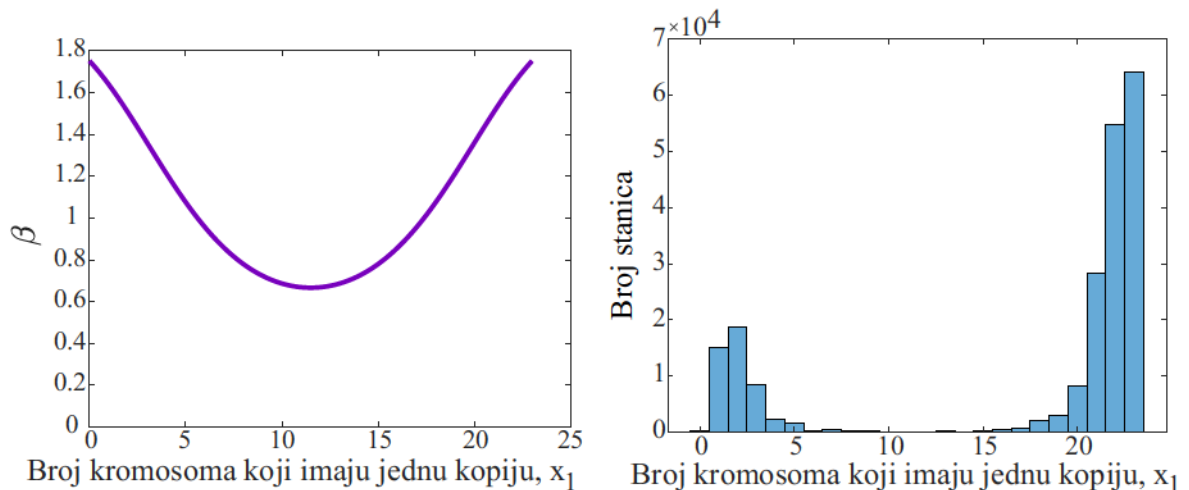
$$(5.1)$$

Aneuploidnim stanjima po sredini raspodjele pridružuju se vjerojatnosti missegre-



Slika 5.4: Funkcija vjerojatnosti missegregacije ovisno o kariotipu (lijevi graf) i populacija stanica dobivena nakon 20 generacija dioba za $\beta = 0.7$. Možemo primijetiti kako stanice s najvećim vjerojatnostima greške polako nestaju iz populacije.

gacije od $\beta = 0.7$, a euploidnim stanjima na rubovima, deset puta manje vrijednosti. Ta funkcija ovisnosti vjerojatnosti missegregacije o kariotipu prikazana je na lijevoj strani slike 5.4. Vrijeme diobe zadržavamo konstantnim, $t = 1$, kao u prethodnom slučaju. Na desnoj strani slike 5.4 prikazana je dobivena populacija stanica nakon 20 generacija dioba. Vidimo kako u razdiobi stanica dobivamo minimum upravo za stanice s najvećom vjerojatnošću missegregacije, tj. kako stanice s najvećim vrijednostima p_{mis} polako nestaju iz populacije.

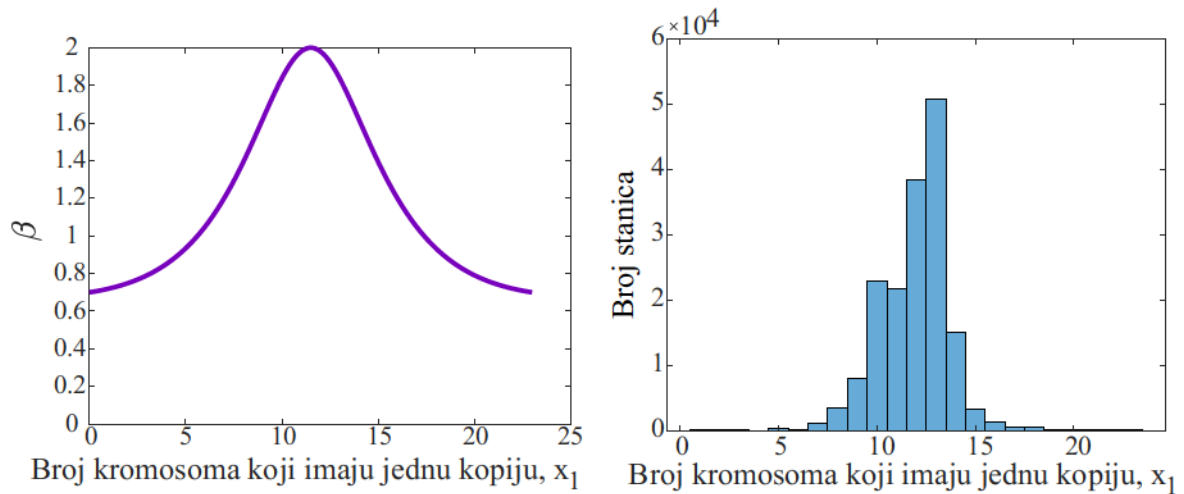


Slika 5.5: Funkcija β ovisno o kariotipu (lijevi graf) i populacija stanica u trenutku $t = 1$ za $\beta = 0.7$. Za ovakav izbor parametara u populaciji se smanjuje udio aneuploidnih stanja, tj. da stanice teže euploidnim stanjima.

Sada možemo pogledati što se događa s populacijom stanica ako pretpostavimo da vrijeme diobe ovisi o kariotipu. Prvo pretpostavimo da se aneuploidne stanice dijele sporije od euploidnih. To ćemo opisati funkcijom β koja ovisi o x_1 na sljedeći način

$$\beta(x_1) = \left[\exp\left(\frac{-(x_1 - \mu)^2}{2 \cdot \sigma^2}\right) + 0.5 \right]^{-1}, \quad \mu = 11.5, \quad \sigma = 5. \quad (5.2)$$

Graf funkcije prikazan je na lijevom dijelu slike 5.5, dok je desno prikazana dobivena populacija stanica u $t = 10$. Vidimo da za ovakav izbor funkcije $\beta(x_1)$ u populaciji se smanjuje udio aneuploidnih stanja, tj. da stanice teže euploidnim stanjima, posebice haploidnom stanju jer kromosomi s jednom kopijom imaju manju vjerojatnost gubitka.

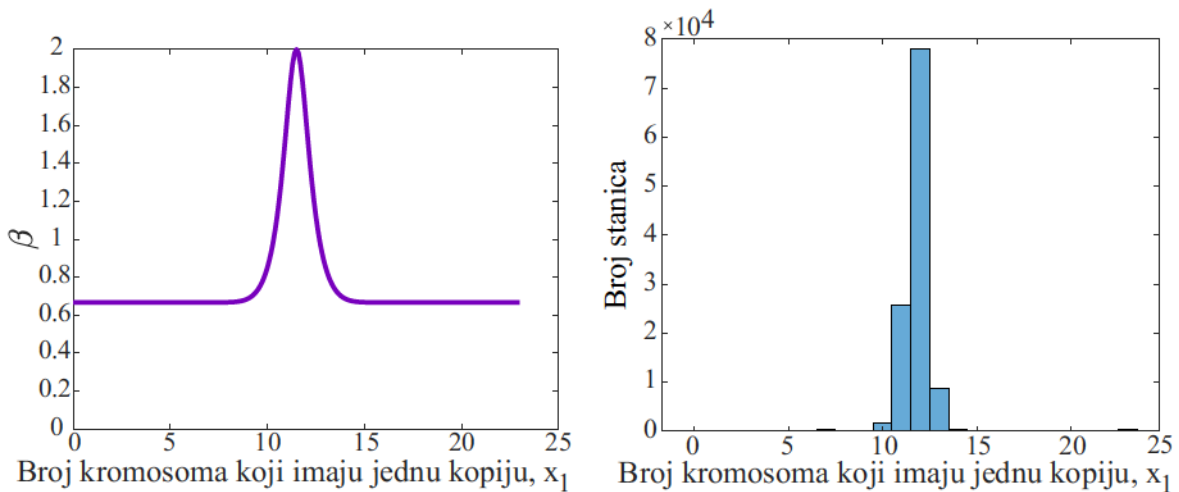


Slika 5.6: Ovisnost stope β o kariotipu (lijevi graf) i populacija stanica (desni graf) dobivena takvim izborom funkcije β i $p_{mis} = 0.0025$ u trenutku $t = 10$. U konačnoj populaciji prevladavaju aneuploidne stanice s najkraćim vremenom staničnog ciklusa.

Sljedeće možemo pretpostaviti da se aneuploidna stanja dijele brže od euploidnih kao što se to događa kod tumorskih aneuploidnih stanica. To ćemo opisati funkcijom β koja ovisi o x_1 na sljedeći način

$$\beta(x_1) = \left[1.5 - \exp\left(\frac{-(x_1 - \mu)^2}{2 \cdot \sigma^2}\right) \right]^{-1}, \quad \mu = 11.5, \quad \sigma = 5. \quad (5.3)$$

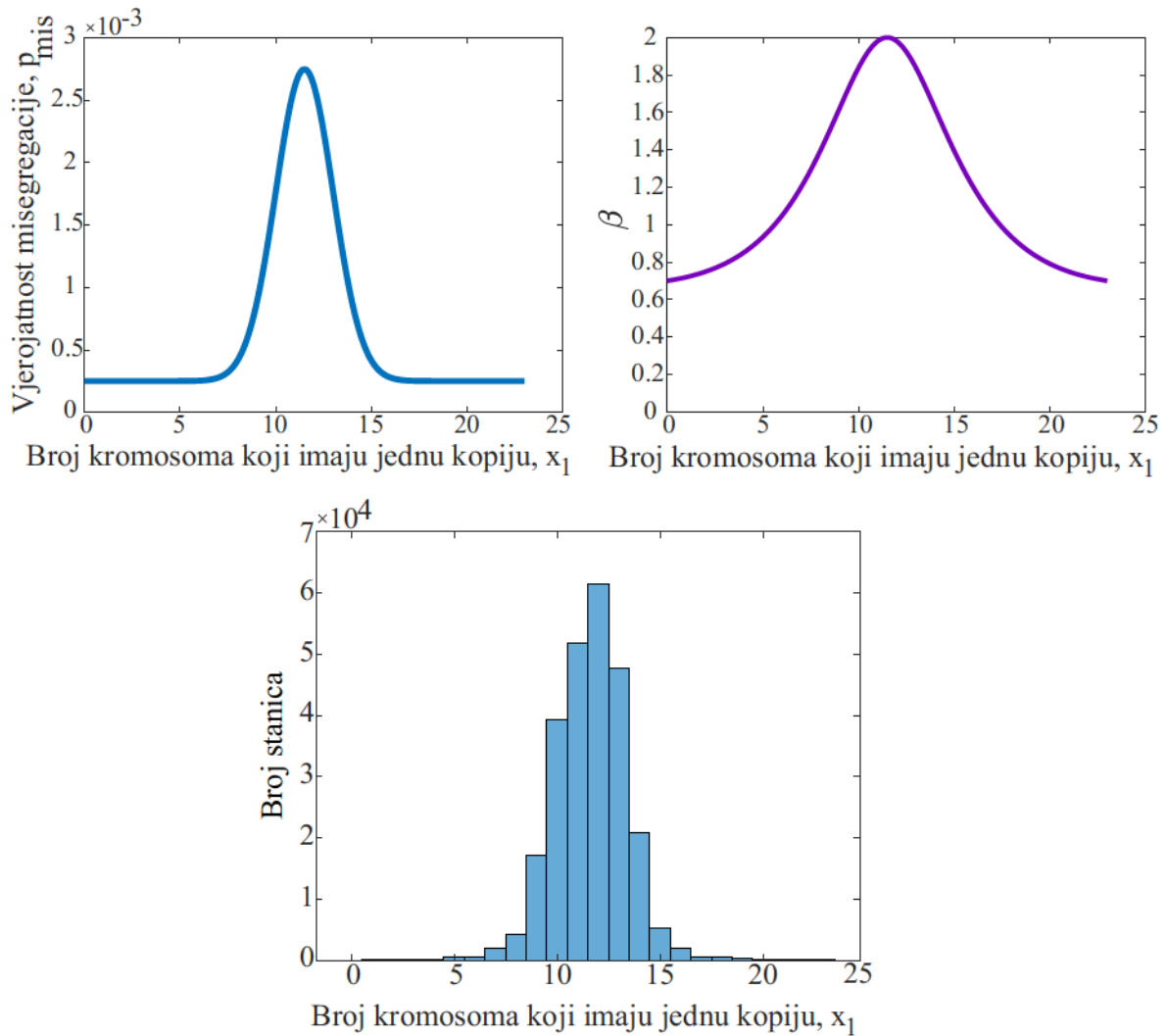
Graf funkcije prikazan je na lijevom dijelu slike 5.6, dok je desno prikazana dobivena populacija stanica u $t = 10$. Na grafu možemo vidjeti kako za ovakvu ovisnost stope β u populaciji prevladavaju aneuploidne stanice s najkraćim vremenom staničnog ciklusa.



Slika 5.7: Ovisnost stope β o kariotipu (lijevi graf) i populacija stanica (desni graf) dobivena takvim izborom funkcije β i β u trenutku t . Za ovakvu strmiju funkciju β konačna raspodjela populacije se suzi i samo nekoliko aneuploidnih kariotipa prevladava u populaciji.

Postavlja se pitanje što određuje širinu konačne raspodjele stanica u trenutku t . Ako u funkciji 5.2 uzmemo manju vrijednost β , tj. odaberemo strmiju funkciju β (slika 5.7, lijevi graf), konačna raspodjela populacije se suzi i samo nekoliko kariotipa dominira u populaciji (slika 5.7, desni graf).

Sada možemo pogledati kako izgledaju kariotipi stanica ako stavimo da su vjerojatnost missegregacije i vrijeme funkcije kariotipa, tj. slučaj kada aneuploidne stanice imaju veću vjerojatnost missegregacije, ali se i brže dijele. Za β i β uzete su funkcije (5.1) i (5.3). Grafovi funkcija prikazani su na slici 5.8. Vidimo da je dobivena raspodjela slična onoj na slici 5.6 gdje je uzeto da je samo β funkcija kariotipa. Ovdje parametar β ima veći utjecaj na oblikovanje populacije.

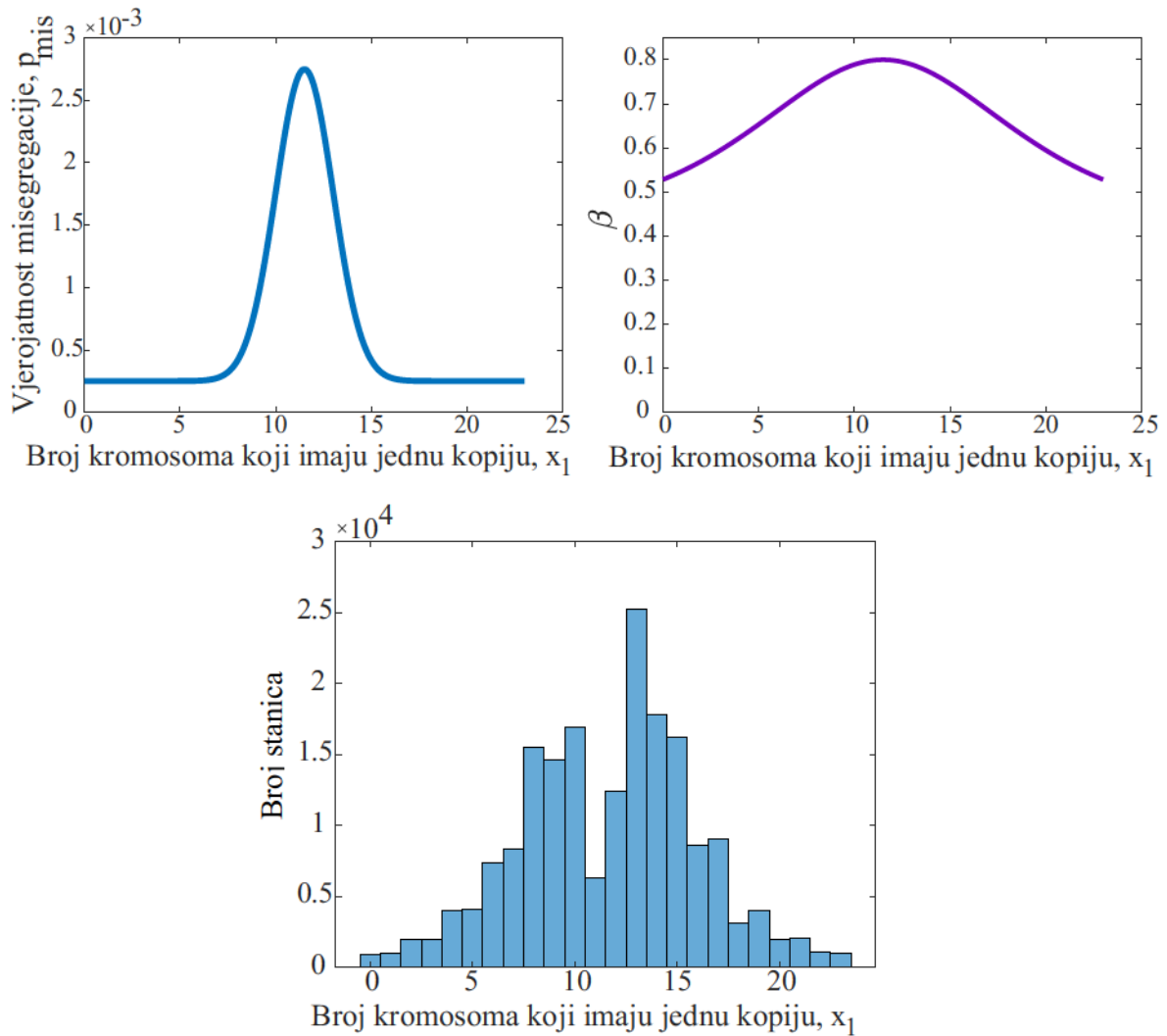


Slika 5.8: Grafovi korištenih funkcija p_{mis} i β u ovisnosti o x_1 (gornji dio slike) i graf dobivene populacije stanica (donji dio slike). Može se uočiti kako je utjecaj parametra β dominantan u oblikovanju populacije jer se ne primjećuje trend smanjenja stanica s $x_1 = 11$ kao što smo imali kada je samo p_{mis} bila funkcija kariotipa.

Da bismo to potvrdili možemo ponoviti prethodnu simulaciju, ali za funkciju β uzeti manje strmu funkciju koja ima manji utjecaj na populaciju. Korištena funkcija dana je formulom

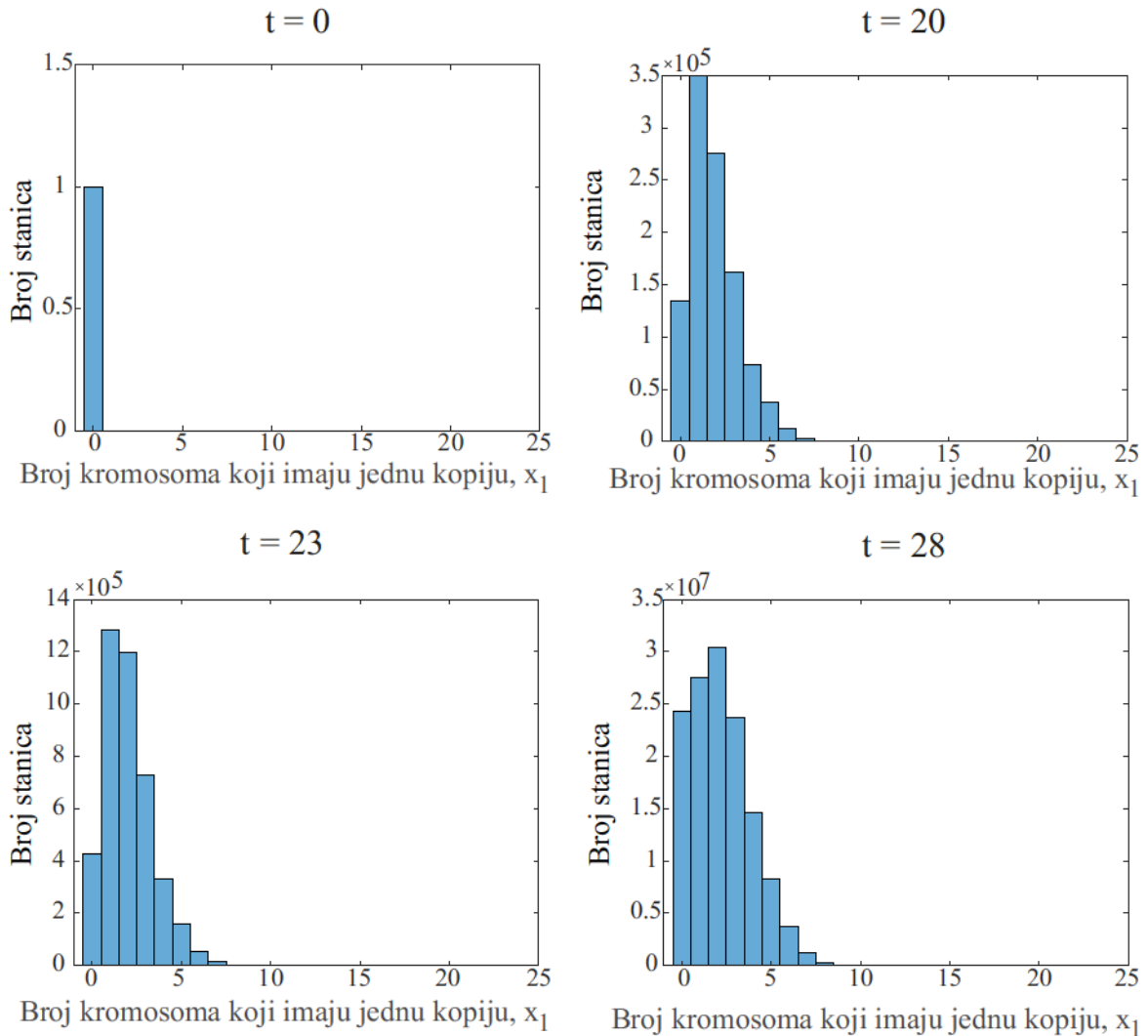
$$\beta(x_1) = \left[2.25 - \exp\left(\frac{-(x_1 - \mu)^2}{2 \cdot \sigma^2}\right) \right]^1, \quad \mu = 11.5, \quad \sigma = 8. \quad (5.4)$$

Grafovi funkcija prikazani su na slici 5.9. Sada osim maksimuma na $x_1 = 13$ uočavamo i minimum na $x_1 = 11$. Minimum za te kariotipe nastaje jer imaju najveće vjerojatnosti missegacije kromosoma.



Slika 5.9: Grafovi korištenih funkcija p_{mis} i β u ovisnosti o x_1 (gornji dio slike) i graf dobivene populacije stanica (donji dio slike). Ovdje je za β korištena manje strma funkcija nego u prethodnom primjeru. Ovdje se može uočiti trend smanjenja stanica s x_1 što je posljedica toga što ti kariotipovi imaju najveće vjerojatnosti missegregacije kromosoma.

Do sada smo u svim primjerima diobu započinjali s populacijom od 10^4 stanice majke s različitim kariotipima. Sada ćemo pogledati trendove koji se dobiju kada se kreće od samo jedne diploidne stanice. U trenutku $t=20$ dominiraju stanja u blizini diploidnog, a najviše je stanja s $x_1 = 11$. Vremenskom evolucijom sustava povećava se broj aneuploidnih stanica, a maksimum razdiobe se pomiče u desno.



Slika 5.10: Grafovi populacija stanica ovisnosti o kariotipu za trenutke . Diobu započinjemo od jedne diploidne stanice prikazane na prvom grafu. U trenutku najviše je stanica s . Za veća vremena maksimum se s pomiče u desno.

5.2 Prostor stanja s najviše osam kopija kromosoma

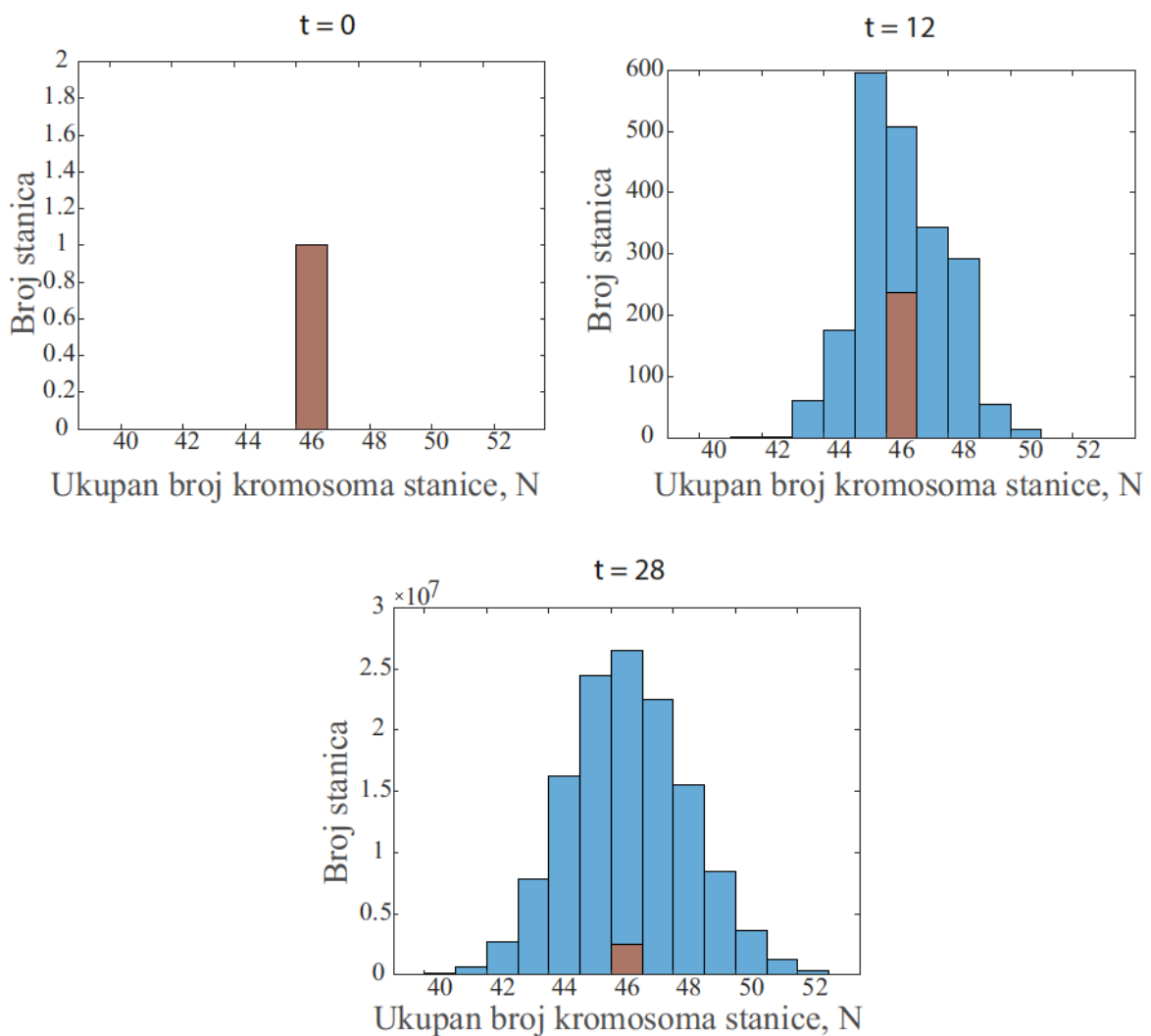
U svim primjerima smo stanicama dopuštali da imaju najviše dvije kopije, a sve stanice s više kopija nekog kromosoma koje bi nastale diobom smo smatrali mrtvima te se one ne bi dalje dijelile. U nastavku ćemo pretpostaviti da stanice mogu imati i do osam kopija kromosoma pa ćemo te rezultate usporediti s onima za najviše dvije kopije. U modelu osam kopija kariotip stanice reprezentiran je kao

$$\text{kariotip} = (\quad , \quad , \quad , \quad , \quad , \quad , \quad , \quad).$$

Jedan od problema na koji nailazimo u modelu osam kopija je taj da se kariotip u tom prostoru ne može jednostavno grafički prikazati pomoću samo jedne varijable kao što smo to radili do sada. Zbog toga ćemo umjesto kariotipa na grafovima prikazivati ukupan broj kromosoma neke stanice . Ukupan broj kromosoma neke stanice računa se kao

$$(5.5)$$

Mana takvog grafičkog prikaza rezultata je što nam daje puno manju informaciju o kariotipu stanica.



Slika 5.11: Grafovi broja stanica ovisno o ukupnom broju kromosoma svake stanice za trenutke . Diobu započinjemo od jedne diploidne stanice prikazane na prvom grafu, a za varijable su uzete konstantne vrijednosti i . U trenutku najviše je stanica s , a samo jedan mali dio tih stanica je diploidan.

Pogledajmo primjer kada krećemo od jedne diploidne stanice i kada se za varijable uzmu konstantne vrijednosti μ i λ . Grafovi broja stanica za različite N prikazani su na slici 5.11. Za razliku od modela s dvije kopije, ovdje diobama mogu nastati i aneuploidne stanice s više od ukupno 46 kromosoma, tj. aneuploidna stanja se na grafu od diploidnog stanja diobama mogu širiti na obje strane.

6 Zaključak

Teorija prikazana u ovom radu novi je model koji uvodi jednostavniji način reprezentacije kariotipa stanice opisuje diobu te dinamiku populacija stanica. Opisana je reprezentacija kariotipa stanice preko broja kopija kromosoma koja smanjuje dimenzionalnost prostora mogućih aneuploidnih stanja te omogućava lakše istraživanje i grafičko prikazivanje. Uveden je teorijski opis diobe stanica koji svaku pojedinu diobu opisuje preko dva parametra: vjerojatnosti gubitka kromosoma, μ , i brzine staničnog ciklusa, stope λ . Pretpostavljeno je da ti parametri ovise o kariotipu stanice. Za takav model napravljene su stohastičke Monte Carlo simulacije u kojima se prati veliki broj staničnih dioba, a svaka se od tih dioba generira pojedinačno. Ispitano je kako parametri μ i stopa λ utječu na propagaciju aneuploidnih stanja kroz stanične diobe i izgled cjelokupne populacije nakon velikog broja generacija dioba. Kada se u modelu stanicama dopušta da imaju maksimalno dvije kopije nekog kromosoma, dobiva se da populacije stanica teže stanju s jednostrukim brojem kromosoma (haploidno stanje). Kada se pretpostavi da samo μ ovisi o kariotipu i to na način da stanice koje su aneuploidne imaju veću vjerojatnost gubitka od euploidnih, dobiva se da aneuploidna stanja s najvećim vjerojatnostima grešaka polako nestaju iz populacije. Nadalje, ako se uzme da je λ konstantan za sve stanice, a da μ ovisi o kariotipu, u konačnoj populaciji dobivaju se stanice koje imaju najveću brzinu diobe. Za slučaj aneuploidnih stanica koje imaju veliku vjerojatnost missegregacije, ali se i brzo dijele, pokazano je da takva stanja prevladavaju u konačnoj populaciji.

Ovdje smo diskutirali što se događa s populacijama ako se za početne stanice uzmu haploidne i diploidne stanice te niz aneuploidnih stanja u njihovoj blizini. Isto bi se moglo ponoviti za poliploidne stanice i vidjeti njihovo ponašanje. Također, za neke od primjera bi bilo dobro pogledati rezultate koji se dobiju za još više generacija dioba. Kako bi se smanjile fluktuacije, rezultate bi trebalo usrednjiti za više realizacija

simulacije. Plan je takve rezultate usporediti s rješenjima determinističkih jednažbi u granici srednjeg polja (Ivana Ban, neobjavljeno) i eksperimentima suradnika.

Daljnji plan istraživanja je unapređenje modela s ciljem da se opiše pojava velike učestalosti pogrešaka pri diobama i nastanak tumora. Jedan od problema modela je što se diobama vrlo brzo dođe do populacija koje imaju više stanica od ljudskog organizma pa bi diobe trebalo na neki način usporiti, tj. uvesti npr. da brzina diobe ovisi o veličini populacije. Također, eksperimentalna istraživanja pokazuju da veliki postotak tumorskih aneuploidnih stanica ide u apoptozu (stanična smrt) i ne dijeli se. U model bi se mogao dodati još jedan parametar koji govori o vjerojatnosti apoptoze pojedine stanice koji bi ovisio o kariotipu. Nadalje, ovdje je bilo pretpostavljeno da se pri neispravnoj diobi missegregira samo jedna kopija kromosoma, a eksperimentalna istraživanja ukazuju na to da se u tumorskim stanicama može missegregirati i nekoliko kromosoma odjednom.

Bibliografija

- [1] Lewis R., Human genetics. 6th edition New York: McGraw Hill, 2005.
- [2] Pavin, N.; Tolić, I.: Self-Organization and Forces in the Mitotic Spindle // Annual Review of Biophysics . Vol. 45, 279-298 (2016).
- [3] Geigl J., Obenauf A., Schwarzbraun T. , Speicher M. ; Defining chromosomal instability// Trends in Genetics Vol. 24, 2, February 2008, 64-69.
- [4] Jelenić I, Selmecki A, Laan L, Pavin N. Spindle Dynamics Model Explains Chromosome Loss Rates in Yeast Polyploid Cells. Front Genet. 2018;9:296. Published 2018 Aug 6. doi:10.3389/fgene.2018.00296
- [5] Musacchio A, Salmon ED. The spindle-assembly checkpoint in space and time. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8(5):379-393.
- [6] Duensing A, Duensing S. Centrosomes, polyploidy and cancer. Adv Exp Med Biol 2010; 676: 93–103.
- [7] Oliveira RA, Nasmyth K. Getting through anaphase: splitting the sisters and beyond. Biochem Soc Trans 2010; 38: 1639–1644.
- [8] Stingele, S. et al. Global analysis of genome, transcriptome and proteome reveals the response to aneuploidy in human cells. Mol. Syst. Biol. 8, 1–12 (2012).
- [9] Hassold, T., Hunt, P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. Nat. Rev. Genet. 2, 280–291 (2001).
- [10] Duijf PH, Benezra R. The cancer biology of whole-chromosome instability. Oncogene. 2013;32(40):4727-4736. doi:10.1038/onc.2012.616
- [11] Risken H., The Fokker-Planck Equation Methods of Solution and Applications, 2nd edition, 1989.
- [12] Elezović, N., Vjerojatnost i statistika, treće izdanje, Zagreb, Element, 2018.
- [13] Gardiner, C. W. Handbook of stochastic methods : for physics, chemistry, and the natural sciences. 2nd ed. Berlin : Springer, 1985.

- [14] Van Kampen, N.G. Stochastic processes in physics and chemistry, Vol. 1. (Elsevier, 1992).
- [15] Gusev, Yuriy ; Kagansky, V. ; Dooley, William. (2001). Long-term dynamics of chromosomal instability in cancer: A transition probability model. *Mathematical and Computer Modelling*. 33. 1253–1273. 10.1016/S0895-7177(00)00313-7.
- [16] Selmecki, A. M., Maruvka, Y. E., Richmond, P. A., Guillet, M., Shores, N., Sorenson, A. L., et al. (2015). Polyploidy can drive rapid adaptation in yeast. *Nature* 519, 349–352. doi: 10.1038/nature14187
- [17] Laughney AM, Elizalde S, Genovese G, Bakhom SF. Dynamics of Tumor Heterogeneity Derived from Clonal Karyotypic Evolution. *Cell Rep*. 2015;12(5):809-820. doi:10.1016/j.celrep.2015.06.065
- [18] Bakhom, S.F., Cantley L.// The Multifaceted Role of Chromosomal Instability in Cancer and Its Microenvironment // Cell Volume 174, ISSUE 6, P1347-1360, September 06, 2018
- [19] Bakhom, S.F.; Genovese, G.; Compton, D.A. // Deviant kinetochore microtubule dynamics underlie chromosomal instability. *Curr. Biol*. 19 (2009a), 1937–1942.
- [20] Santaguida, S.; Amon, A. Short- and long-term effects of chromosome mis-segregation and aneuploidy. // *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2015;16(8):473-485.
- [21] Dürrbaum, M. et al. Unique features of the transcriptional response to model aneuploidy in human cells. *BMC Genomics* 15, 139 (2014).
- [22] Fojer, F. et al. Chromosome instability induced by Mps1 and p53 mutation generates aggressive lymphomas exhibiting aneuploidy-induced stress. *Proc. Natl Acad. Sci*. 111, 13427–13432 (2014).
- [23] Cross SS, Start RD. Estimating mitotic activity in tumours. *Histopathology*. 1996;29(5):485-488. doi:10.1046/j.1365-2559.1996.d01-519.x

- [24] Carter, S. L., Eklund, A. C., Kohane, I. S., Harris, L. N. and Szallasi, Z. A signature of chromosomal instability inferred from gene expression profiles predicts clinical outcome in multiple human cancers. *Nat. Genet.* 38, 1043–1048 (2006).