

A TÜDŐHÁMSZÖVET SZERKEZETÉNEK NUMERIKUS LEÍRÁSA A RADON LEÁNYELEMÉK BIOLÓGIAI HATÁSÁNAK ELEMZÉSÉHEZ

Madas Balázs Gergely¹, Tatár Loránd Gergely¹, Balásházy Imre¹,
Szöke István¹, Farkas Árpád¹, Kerényi Tibor²

¹Magyar Tudományos Akadémia KFKI Atomenergia Kutatóintézet, Sugárvédelmi és
Környezetfizikai Laboratórium, 1121 Budapest, Konkoly Thege M. út 29-33.

²Semmelweis Egyetem, II. Sz. Patológiai Intézet 1091 Budapest, Üllői út 93.

Bevezetés

Kutatócsoportunk hosszú távú célja, hogy számítógépes modellezés segítségével összefüggést találjunk a környezet radon-koncentrációja és az ember tüdőrákban való megbetegedésének valószínűsége között. Ehhez meg kell határoznunk a radonleányelemek kiülepedés-eloszlását a légutakban, majd találat számot, illetve dózist kell számítanunk, végül valamilyen rákkeletkezési modell segítségével el kell jutnunk a dózistól a kockázatig.

A rák kialakulását valószínűleg főként sejt-, vagy sejt környezet-szintű folyamatok határozzák meg. Emiatt törekednünk kell arra, hogy minél kisebb tömegben (térfogatban) határozzuk meg az elnyelt energiát. Létezik olyan modellünk, amelyik a sejtmagok által elszennvedett dózisokat határozza meg. Ezek bizonyosan fontosak és a továbbiakban felhasználandó adatok. Emellett azonban ismertek olyan mikronyalábos kísérletek, melyek szerint a citoplazmát ért találatok a sejtmagot ért találatoknál is veszélyesebbek lehetnek és azokhoz hasonlóan okozhatnak mutációt és sejthalált is. Így célszerűnek látszik egy olyan program elkészítése, amellyel sejtre vonatkozó dózist lehet számolni. A centrális légutakban meg tudjuk határozni a részecskék kiülepedését, és az alapján az α -nyomokat is elő tudjuk állítani. Ezután a sejtszintű dózis meghatározásához még a tüdőhám sejtszerkezetének egy modelljére van szükség. E tanulmány egy ilyen modell kidolgozását mutatja be.

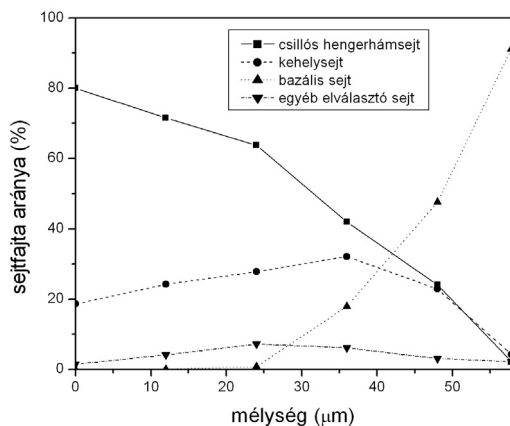
Kísérleti adatok és felhasználásuk

Mire gondolunk akkor, amikor a tüdőhám sejtszerkezetét említjük? Arra, hogy milyen típusú sejtek alkotják, ezek átlagosan mekkorák, átlagosan mekkora az egyes sejtek sejtmagja, illetve milyen mélységben, milyen gyakorisággal helyezkednek el a hámszövetben az egyes sejttípusok, valamint azok sejtmagjai. Lennének még elgondolásaink arra vonatkozóan, hogy mit szeretnénk tudni a sejtszerkezettel kapcsolatban, de sajnos csupán a fenti adatok állnak rendelkezésünkre, azok is csak részben.

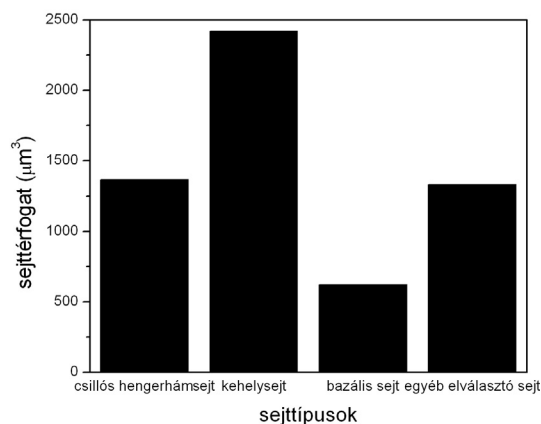
Mercer és munkatársai (1991) hatféle sejttípus mélységeloszlását közlik (külön a sejtmagra és a citoplazmára)². Egy másik cikkükben e hat sejttípus közül négy átlagos

térfogatát ábrázolják egy diagramon Mercer és társai (1994)³. Azonban ebben a cikkben közölnek további olyan adatokat, melyekből következtetni lehet a másik két sejttípus térfogataira is.

A mi modellünk jelenlegi formája négy sejttípusból építi fel a tüdő hámszövetét, melyek a következők: csillós hengerhámsejt, bazális sejt, kehelysejt, valamint egyéb elválasztó sejt. Utóbbiak közé tartozónak tekintjük a Clara-sejteket és a neuroendokrin sejteket, mert a kehelysejteken kívül ezeknek van elválasztó működésük. Mivel hat sejttípus mélységeloszlás adata állt a rendelkezésünkre, mi pedig a térfogadatok miatt csak négy sejtet vehetünk figyelembe, valahogy el kellett osztani a maradék két sejttípus térfogatrészesedését a többi négy között. Erre nézve a következő eljárást választottuk: a Mercer cikkeiben „Preciliated”-nek nevezett sejtek arányát teljes egészében hozzáadtuk a csillós hengerhámsejtekéhez. Az „Indeterminate”, azaz meghatározhatatlan sejtekről pedig feltételeztük, hogy a valóságban adott sejtfajtaéhoz tartoznak, ám ezeket a mikroszkóp képe alapján az emberi szemnek nem sikerült a többi öt csoport egyikébe sem besorolni. Ez a feltevés igen lényeges, és komoly hibát okoz, ha ezek a sejtek nem a fenti ok miatt meghatározhatatlanok, hanem köztes állapotot jelentenek a bazális sejtek és valamely differenciáltabb sejt között. Ezen lehet változtatni a későbbiekben. Egyelőre viszont ezek arányát arányosan elosztottuk a többi négy sejt-típus között. Jelenleg az 1. és 2. ábrán látható adatokkal számolunk.



1. ábra: A sejtfajták mélységeloszlása



2. ábra: A sejtek átlagos térfogata

A számítógépes modell elkészítése

Modellünktől három feltétel teljesítését követeltük: a sejtek hézagmentesen töltsék ki a teret, az alapmembránnal párhuzamos metszetekben a sejtfajták aránya megfeleljen a mért mélységeloszlásoknak, továbbá az egyes sejtek térfogata szintén illeszkedjék a mért adatokhoz.

Először elkészítünk egy olyan téglatestet, mely kielégíti a fenti feltételeket. Vegyünk egy négyzet alapú hasábot, amely körülbelül 600000 darab, $1 \mu\text{m}^3$ -os kis kockából áll. Egy ilyen kis kocka (továbbiakban cella) mérete adja meg modellünk felbontását. A hatszázezer cella hatvan réteget jelent, az egyes rétegek adott mélységeknek felelnek meg. A mélységeloszlás-adatok alapján kiszámítjuk a téglatestben lévő sejtek számát, valamint az egyes rétegekben lévő sejtféleség-eloszlásokat. Mivel csak hat rétegről van adatunk, az ezek közötti rétegek eloszlásait két pont közti lineáris interpolációval becsüljük.

Feltételezzük, hogy minden sejt érintkezik az alapmembránnal. Ezzel összhangban, a legalsó rétegben minden sejtnak sorsolunk egy cellát, ami a növesztésének kiindulópontja lesz. Ezután minden sejtet sejtfajtájának az adott rétegben lévő arányával, illetve végső és pillanatnyi térfogata különbségének $2/3$ -ik hatványával arányos sebességgel növesztünk úgy, hogy a szomszédos cellákat azok szomszédszámával arányos valószínűséggel foglalhatja el a sejt. Fontos megjegyezni, hogy az egyes sejtek növesztését akkor fejezzük be az adott rétegben, amikor elérték végső térfogatukat, vagy fajtájuk elérte a megfelelő arányszámot. Emellett növesztésüket felfüggesztjük akkor is, ha nincs mellettük elfoglalható üres cella, de a velük azonos fajtájú sejtek növesztésével még lehet növelni a sejtféleség arányát az adott rétegben.

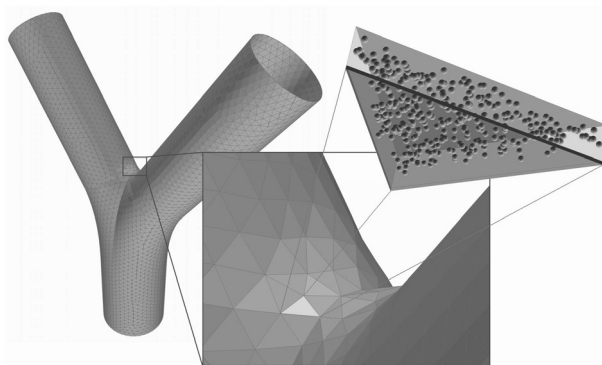
Ezt az eljárást mindaddig folytatjuk, ameddig valamelyik sejtfajta meg nem akad, vagyis nem tudja szomszédos cellák elfoglalásával tovább növelni arányát az adott rétegben. Ekkor a típus sejtszelei már csak a szomszédos sejtektől tudnak cellákat nyerni. Ekkor megkeressük a megakadt sejtfajtahoz képest legkisebb sejtszámnyi távolságra eső ürt, majd a beszorult sejt és a közeli ür között lévő sejtek egymásba harapnak addig, amíg ki nem töltik a teret. Ezután elkezdhetjük a következő réteg elkészítését. Az új réteg létrehozása az előző réteg másolásával kezdődik. Ezt követően sorsolással minden sejttől elveszünk annyi cellát, amennyi többlete van és az így előálló ürt a fenti két eljárással feltöltjük.

Eljutottunk odáig, hogy van egy rögzített méretű tüdőhámдарab, amelyik a cellák számától függő pontossággal illeszkedik a mért adatokhoz és a térkitöltés feltételét is teljesíti. Ez a darab viszont téglatest alakú, vagyis méretéből és alakjából adódóan is távol áll attól, amit a tüdő egy elágazásának valóságos formája, vagy akár csoportunk bármely elágazásmodellje is igényelne. A következő feladatot tehát az adja, hogy az elkészített tüdőhámдарabot a légutak formájához igazítsuk.

A radon leányelemek kiülepedésének számítása, illetve a belőlük származó α -nyomok előállításának egy olyan alakzatban történik, ahol a légutakat különböző méretű és alakú háromszöglapok határolják. A cél tehát ezeknek a háromszögeknek adott vastagságú hámsovéttel való beborítása.

Az eddigiek során determinisztikus módszereket alkalmaztunk, vagyis az elkészített hámsovétдарab a cellamérettől és a konkrét adatoktól függő pontosságon belül biztosan megfelelt a mérési eredményeknek. Sajnos a számítógépeink kapacitása miatt ez a módszer csak egy bizonyos méretig használható. Így a továbbiakban egyetlen, a légutak méretéhez képest nagyon kicsiny méretű darabot használunk, és

részben az ebből adódó túlzott korreláltságot csökkentendő, részben kényszerűségből sztochasztikus módszereket alkalmazunk.



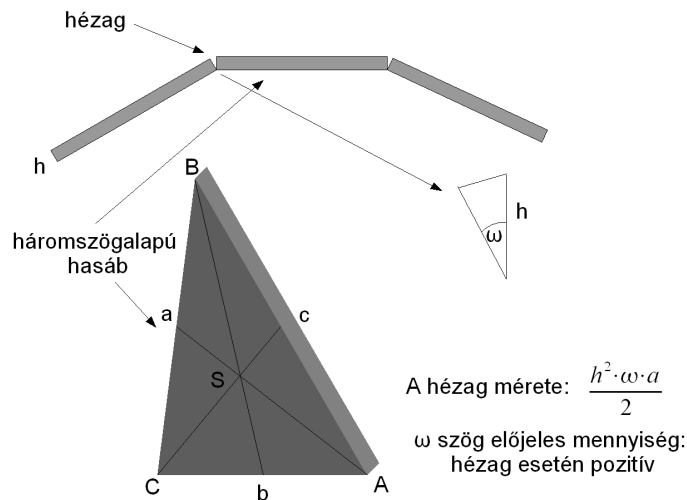
3. ábra: Egy elágazás háromszögrácsa
(a gömbök egy korábbi modellünk sejtmagjait jelölik)

Először az elkészített hámszövetdarab mellé önmagának véletlenszerű elforgatottjait másoljuk addig, amíg egy akkora darabot kapunk, amelynek alapterületébe „belefér” az általunk beborítani kívánt elágazás legnagyobb háromszöge is. Ezt követően minden háromszöget véletlenszerűen „rádobunk” a nagy hámdarabra, s az általa kivágott rész lesz az adott háromszöget borító hámdarab. Így azonban adódik egy nehézség: tudniillik ilyen módon a háromszöglapok szélén keletkeznének kettőbe vágott sejtek is. Ez hibát eredményezne a dózisszámításnál is, mert az így kapott sejtrészek által elszenvedett dózis várható értéke ugyan közelítőleg megegyezne a többi sejt által kapott dózis várható értékével, de csak olyan módon, hogy a kisebb darabok az átlagosnál kisebb valószínűséggel kapnak az átlagosnál nagyobb dózist (ugyanis a találat valószínűsége közelítőleg arányos a térfogat $2/3$ -ik hatványával, de találat esetén a kapott dózis közelítőleg arányos a térfogat $-2/3$ -ik hatványával). Tehát bármely számított átlagdózis szórása indokolatlanul megnövekednék.

Emellett a háromszögekre ilyen módon hámdarabokat illesztve körülbelül $60\ \mu\text{m}$ magasságú háromszög alapú hasábok keletkeznek, melyek a háromszöglapok egymással bezárt szögének 0° -tól különböző volta miatt a térbeli légutakon egymás közti hézagokat, illetve egymással való átfedéseket eredményeznek. Felmerült, hogy ez utóbbi körülményt olyan módon vesszük figyelembe, hogy felhelyezzük az elágazásra azokat a sejteket, amelyek térfogatának több mint a fele benne lenne a kivágott darabban. Ilyen módon egy kicsivel több, vagy egy kicsivel kevesebb lenne a légutakon elhelyezett sejtek össztérfogata, mint a valóságban. Ennek például az lenne a következménye, hogy a valóságtól eltérő eredményt kapnánk arra, hogy hány sejtet ér adott nagyságú dózis. Ismert ugyanis, hogy az elágazás karina régiójában nagyságrendekkel nagyobb lehet a radon leányelemek kiülepedése, mint az elágazás egyéb részeiben. Ez éppen az a rész, ahol a háromszög alapú hasábok többnyire átfedik egymást, vagyis a karina régióban nagyobb lenne a sejtek darabsűrűsége, mint egyéb területeken, s

ennél fogva az átlagosnál lényegesen nagyobb dózist valamivel több sejt kapna mint a valóságban. Ezt elkerülendő egyrészt igyekeznünk kell, hogy minél jobb közelítéssel ugyanannyi sejtet helyezünk az elágazásra, mint amennyi a valóságban van, másrészt törekednünk kell arra, hogy ez ne csupán az egész elágazásra, hanem az elágazás minél kisebb részleteire (mondjuk határoló háromszögeire) is igaz legyen. Ennek megvalósítására az ad lehetőséget, hogy a kettőbe vágott sejtek közül melyeket hagyjuk meg, illetve melyeket hagyjuk el. Ezt az alábbiak szerint tesszük.

Nézzünk egy tetszőleges háromszöget. Feltesszük, hogy hézagok és átfedések tekintetében elegendő vizsgálni az élszomszédokat, vagyis eltekinthetünk a „gömbcikk-hézagoktól”, illetve „gömbcikkátfedésektől”, amelyek a csúcsok találkozásánál keletkeznek. Ezek után az adott háromszögnek egy adott oldalát vizsgáljuk. Első közelítésben a korrekció szükséges feltétele, hogy az átlagos sejtterfogat felének az N-szerese, többszöröse legyen az oldal mentén keletkezett hézag (átfedés) térfogatának a felénél (itt N az oldal mentén félbevágott sejtek száma). Ekkor ugyanis a sejtek számának változtatása elég nagy szabadságot ad ahhoz, hogy abból tudjuk fedezni a hézagok (átfedések) miatt keletkező hiányterfogatot (többletterfogatot). A könnyebb megértés érdekében nézzük meg a 4. ábrát!



4. ábra: A véges vastagságú háromszögrács eredményeként létrejövő hézag

Kérdés, hogy mely sejteket hagyjuk meg. Válasz: az *a* oldal mentén hagyjuk meg azokat a sejteket, melyek térfogatának legalább az f_i része a hasábon belülré esik. f_i alatt az alábbi mennyiséget értjük (*i* az egyes sejt fajtákat jelöli):

$$f_i = F_i^{-1} \left(\frac{1}{2} - \frac{q_i \cdot V_h}{N_i \cdot v_i} \right) \quad i = 1, 2, 3, 4$$

ahol F_i jelöli annak a valószínűségi változónak az eloszlásfüggvényét, hogy egy elvágott sejtnél mekkora hányada esik bele a hámszög által kivágott hasábjába. Az inverzfüggvény argumentumában V_h az **a** oldal melletti hámszög térfogatának a fele (előjeles mennyiség: hámszög esetén pozitív, átfedés esetén negatív), N_i az **a** oldallal elválasztott i fajtaú sejtek száma, q_i a sejtfajta térfogataránya, v_i a sejtfajta átlagos térfogata. q_i , v_i a kísérleti adatokból meghatározható, V_h , N_i pedig a hámszög elhelyezkedéséből számítható ki. Az eloszlásfüggvényt nem ismerjük. Feltehetőleg elméleti megfontolásokból nem is lenne könnyű meghatározni, viszont a hámszögek sokszori hámszögre sorsolását szimulálva mintát vehetünk az eloszlásból. Ezek után függvényillesztéssel becslést adhatunk az eloszlásfüggvényre.

Igy tehát sikerült felhasználni az eredeti hámszöget a légutak adott generációjának hámszöggel való beborításához.

Összefoglalás

Ezzel a módszerrel megfelelő számú sejtet tudunk elhelyezni a vizsgálandó elágazásban, de modellünk csak az alábbiak szerint módosított feltételeket teljesíti:

A légutak felszínének túlnyomó hányadában térkitöltő, de a hámszöglapok határánál néhol egymással átfedő sejtek, néhol pedig hámszögek találhatóak.

Az egyes sejtek térfogata illeszkedik a mért adatokhoz, viszont az egyes sejtféleségek darabszáma és ennek megfelelően az egyes sejtek mélységeloszlása csak várható értékben felel meg a mért adatoknak.

Az így elkészített modell felhasználható egy olyan összetett modellben, melynek segítségével az ember környezetének radonkoncentrációjából becslés adható a légutak különböző részeiben lévő sejtek által elszenvedett találatokra, dózisosokra.

A későbbiekben szeretnénk az előbbi modellben a sejtmagokat elhelyezni. Ezt a sejtek előállításánál használt módszerhez hasonlóan tennénk meg. Csak annyi a különbség, hogy a sejtmagok első celláit az egyes sejteken belülre kell sorsolni, és a sejtmagok növekedésénél nyilván nem szabad átlépni a sejtek határát. Ezt követően szeretnénk meghatározni az egyes sejtek citoplazmája, illetve sejtmagja által elszenvedett találatszámot és dózist. Ezeket sejtbológiai kísérletekkel, modellekkel összevetve becslést kívánunk adni tüdőrák keletkezésének kockázatára. Ebben segítséget jelenthet az is, hogy az elkészített modell korlátozott, ám bizonyos mértékben mégis meglévő térkitöltése révén alkalmas lehet a szomszédhatás (angolul bystander-effect) figyelembevételére, hiszen megfogalmazhatóvá teszi a sejtek szomszédosági viszonyait.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az NKFP-3/A-089/2004, NKFP-1/B-047/2004. GVOP-3.1.1-2004-05-0432/3.0²u"QO HD/6674229"projektek támogatták, melyek segítségével ezúton is köszönjük.

Irodalom

1. L. J. Wu, G. Randers-Pehrson, A. Xu, C. A. Waldren C. R. Geard, Z. L. Yu, T. K. Hei: Targeted cytoplasmic irradiation with alpha particles induces mutations in mammalian cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences the United States of America* 96, (1999), 4959–4964
2. R. R. Mercer, M. L. Russell, J. D. Crapo: Radon dosimetry based on the depth distribution of nuclei in human and rat lungs, *Health Physics* 6, (1991), 117–130
3. R. R. Mercer, M. L. Russell, V. L. Roggli, J. D. Crapo: Cell number and distribution in human and rat lungs, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 10, (1994), 613–624
4. G. Barcsa, I. F. Barna, I. Szőke, I. Balásházy: A numerical model of the human bronchial epithelium to compute cellular doses of inhaled aerosols, *Seventh International Aerosol Conferece (2006); Book of Proceedings* 920.