

**V CONGRESSO
ACADÊMICO
Unifesp**

Análise de Fibroblastos Associados ao Câncer e Linhagens Celulares de Melanoma Utilizando Redes Complexas

Maria Luisa Santos Moreno Sanches

Prof. Dr^a. Lilian Berton

Prof. Dr. André Zelanis

Junho/2019

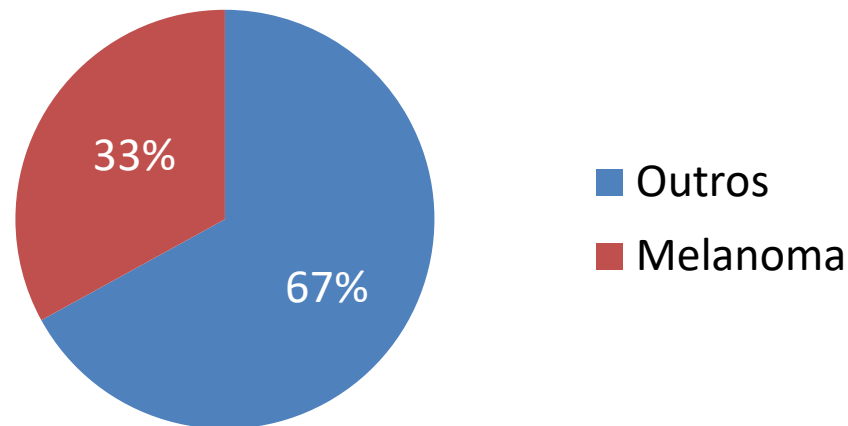
Sumário

- Introdução
- Objetivos
- Fundamentação Teórica
- Metodologia
- Resultados
- Conclusões
- Referências

Introdução

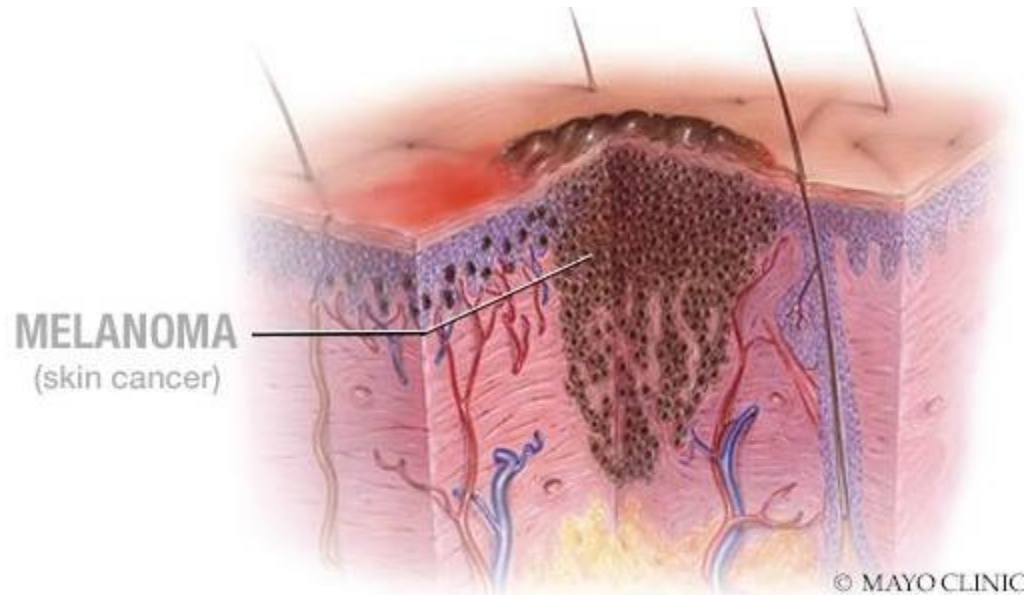
- **Sociedade Brasileira de Dermatologia:** o câncer de pele corresponde a 33% de todos os diagnósticos de câncer.

Diagnósticos de Câncer



Introdução

- A doença é provocada pelo crescimento anormal e descontrolado dos melanócitos que compõem a pele.



Objetivo Geral

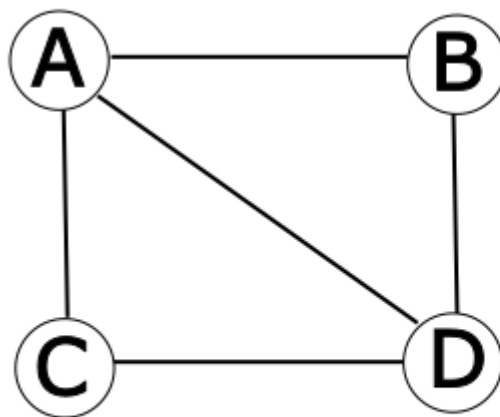
- Analisar características topológicas de redes de interações de proteínas expressas por diferentes linhagens celulares humanas de melanoma em busca de padrões característicos dos diferentes grupos.

Objetivos Específicos

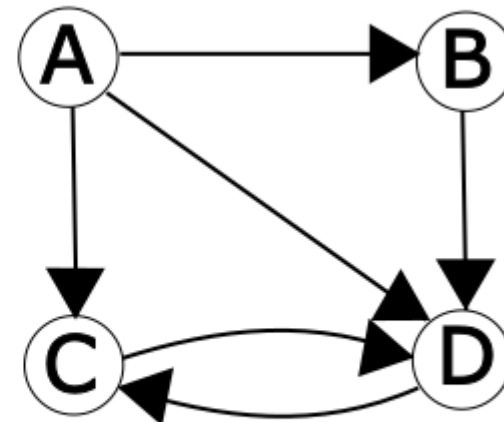
- Tratar os dados coletados;
- Analisar as medidas de centralidade;
- Identificar comunidades;
- Atribuir significado biológico.

Fundamentação Teórica

- Uma rede é um grafo formado por vértices e arestas.
- As arestas estabelecem algum tipo de relação entre dois vértices.
- O grafo pode ser direcionado ou não.



Grafo A



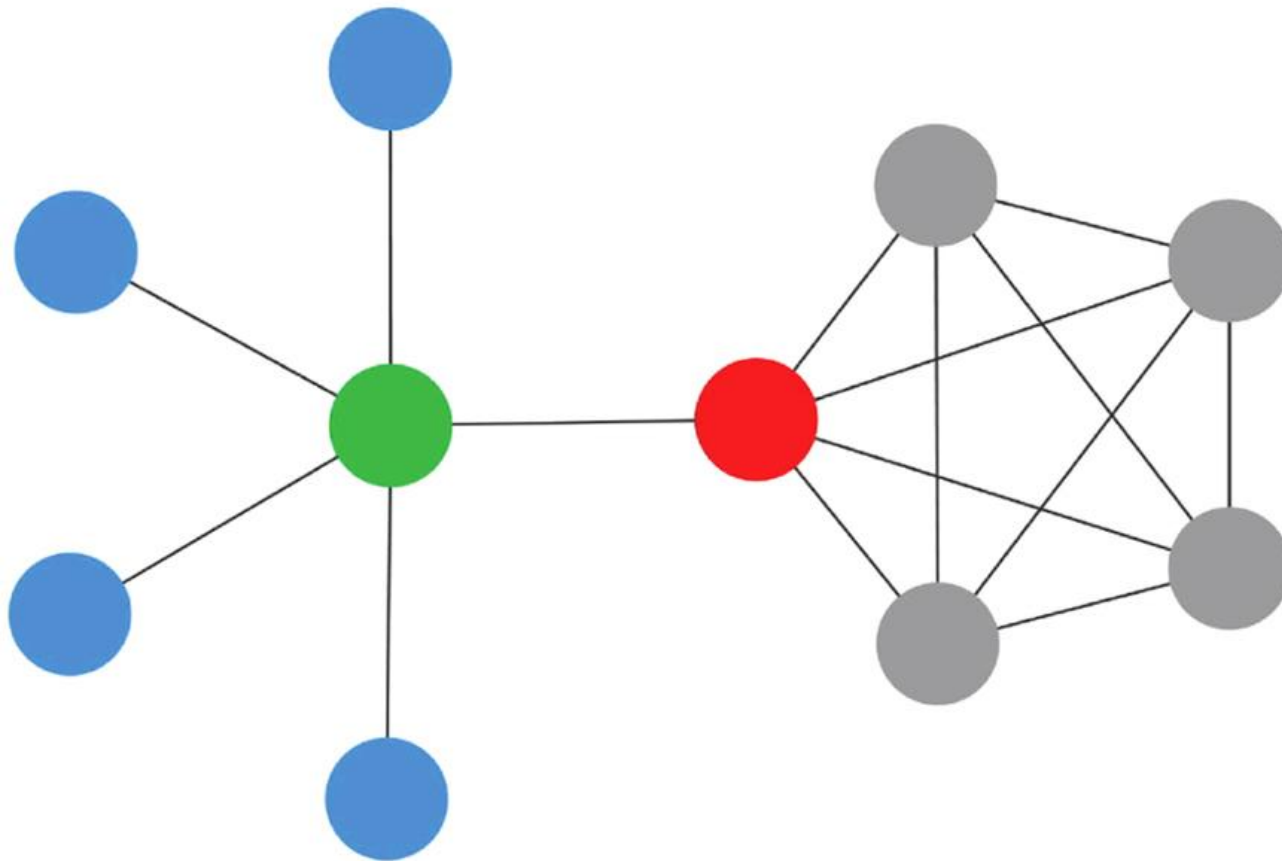
Grafo B

Medidas de Centralidade

É comum em redes complexas utilizar medidas de grafos a fim de **avaliar a importância dos vértices** de acordo com algum critério específico.

Grau	$G_i = \sum_{j \in V} a_{ij}$
Betweenness	$B_i = \sum_{j, k \in E, j \neq k} \frac{d_{jk}(i)}{d_{jk}}$
Closeness	$Cl_i = \frac{1}{\sum_j d_{ij}}$

Medidas de Centralidade



Algoritmo de Louvain

É um método otimizado de modularidade que possui um tempo de execução $O(n \log n)$.

$$Q = \frac{1}{2m} \sum_{ij} \left[A_{ij} - \frac{k_i k_j}{2m} \right] \delta(c_i, c_j)$$

$$\Delta Q = \left[\frac{\Sigma_{in} + 2k_{i,in}}{2m} - \left(\frac{\Sigma_{tot} + k_i}{2m} \right)^2 \right] - \left[\frac{\Sigma_{in}}{2m} - \left(\frac{\Sigma_{tot}}{2m} \right)^2 - \left(\frac{k_i}{2m} \right)^2 \right]$$

Metodologia

Materiais:

- Triplicatas de proteínas identificadas a partir da digestão tripsínica de proteínas intracelulares provenientes de lisados celulares adquiridas da *American Type Culture Collection*.



Metodologia

Materiais:

- Bibliotecas do Python:
 - NetworkX
 - Matplotlib
 - Community
- Site STRING as conexões de alta confiabilidade entre as proteínas.



Metodologia

Proteínas Analisadas:

- **HS68**: linhagem celular de fibroblastos da pele saudável de um recém nascido.
- **HS895SK**: linhagem celular de fibroblastos da pele saudável de um paciente com melanoma no pulmão.
- **A375**: linhagem celular maligna de melanoma de fonte primária.
- **HS985T**: linhagem celular obtida a partir de um local metastático do nodo pulmonar de um doente que tinha melanoma.
- **SH4**: linhagem celular derivada de derrame pleural de um paciente com melanoma metastático.

Metodologia

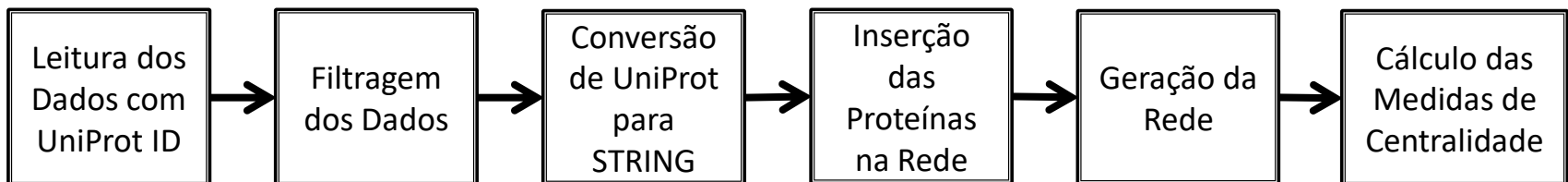
Filtragem dos Dados:

- Foram utilizados os dados de *label-free quantification* (LFQ *intensity*) do arquivo de grupos de proteínas de ATCC;
- Foram retiradas as proteínas onde havia a ausência de dados nas replicatas e alta variação (coeficiente de variação $\geq 20\%$) entre as os valores de LFQ nas triplicatas biológicas.

Metodologia

Construção da rede:

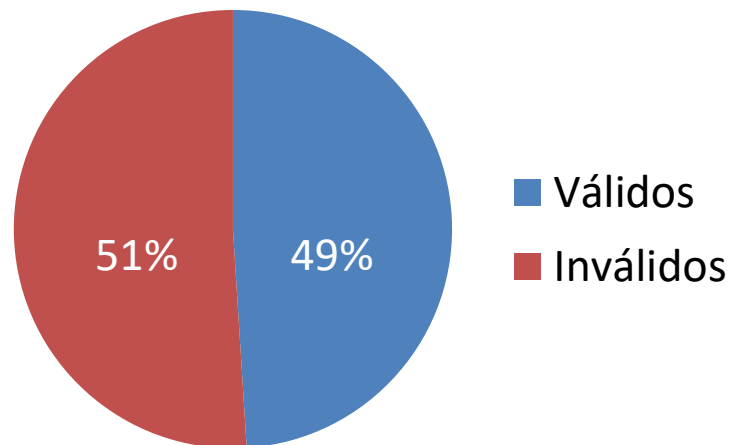
- Como as proteínas de ATCC estavam com o ID do site Uniprot, foi utilizado um dicionário para converter os dados do ID Uniprot para ID String, do arquivo de arestas.



Resultados

- Total de proteínas no identificadas: 1818
- Proteínas com LFQ válidos: 1160
- Proteínas convertidas de Uniprot para String: 1128
- Total de arestas possíveis: 16914
- Total de proteínas com possíveis conexões: 877

Proteínas

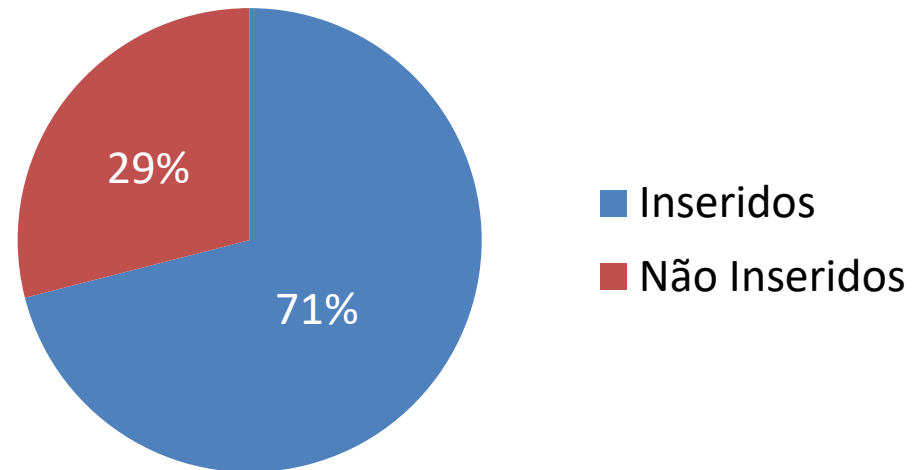


A375: Melanoma

- Total de comunidades encontradas: 4
- Total de proteínas: 621

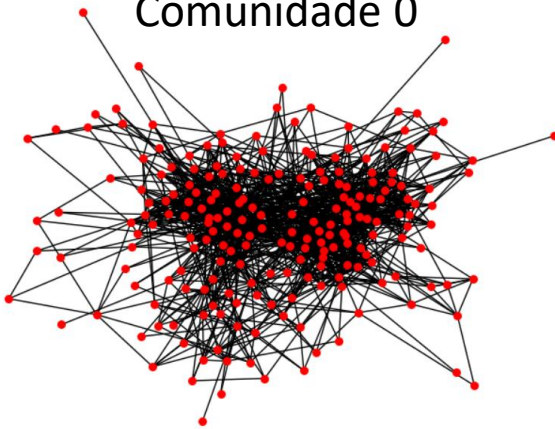
Comunidade	Quantidade
0	235
1	127
2	231
3	27

Quantidade de Proteínas

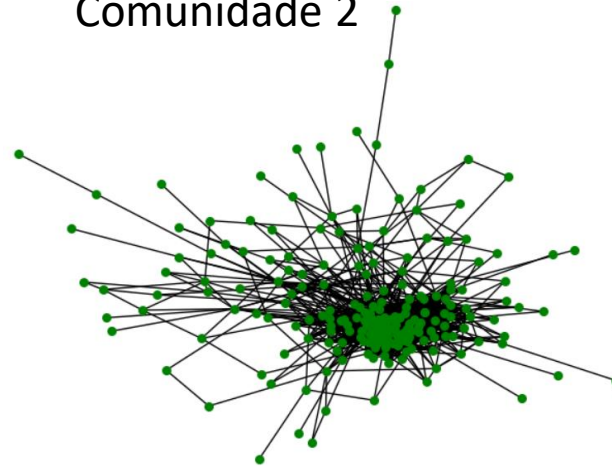


A375: Melanoma

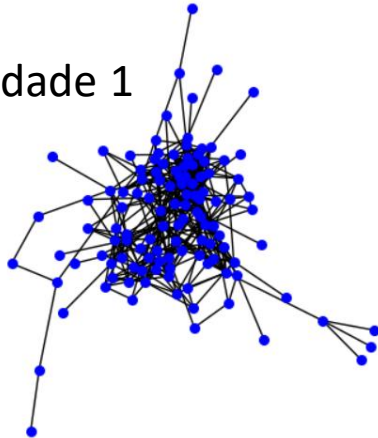
Comunidade 0



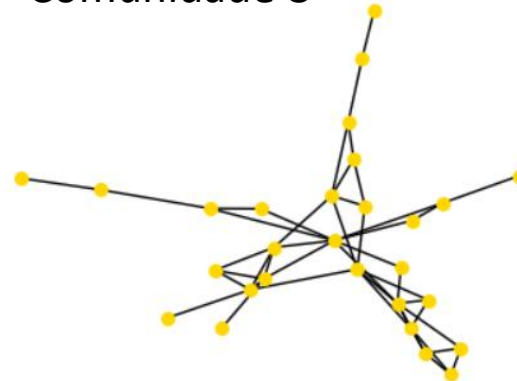
Comunidade 2



Comunidade 1



Comunidade 3



A375: Melanoma

Top 5 de cada medida:

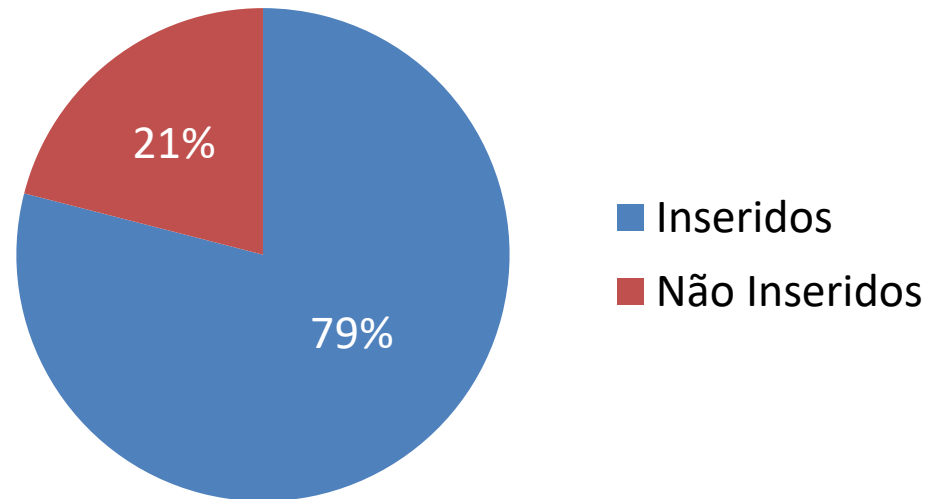
Proteína	Degree	Proteína	Betweenness	Proteína	Closeness	Proteína	LFQ Value
P04406	165	P04406	0.0654	P04406	0.5646	P06733	1592133333
P13639	143	P60709	0.0260	P07900	0.5448	P14618	1300400000
P78371	139	P62979	0.0254	P13639	0.5386	P68363	1176366666
P07900	134	P07900	0.0250	P34932	0.5381	P60709	960653333
P62979	134	P34932	0.0219	P78371	0.5367	P00558	929753333

SH4: Derrame Pleural

- Total de comunidades encontradas: 4
- Total de proteínas: 693

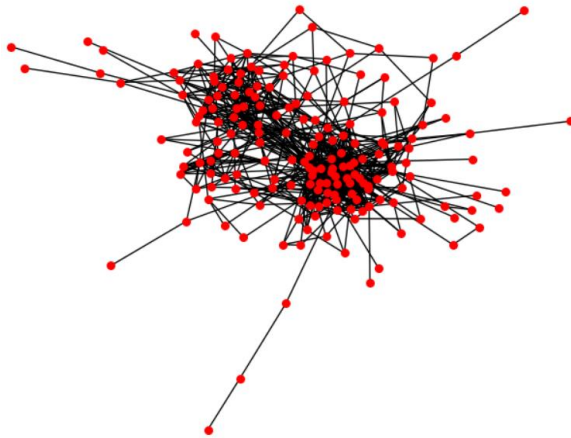
Comunidade	Quantidade
0	193
1	146
2	216
3	138

Quantidade de Proteínas

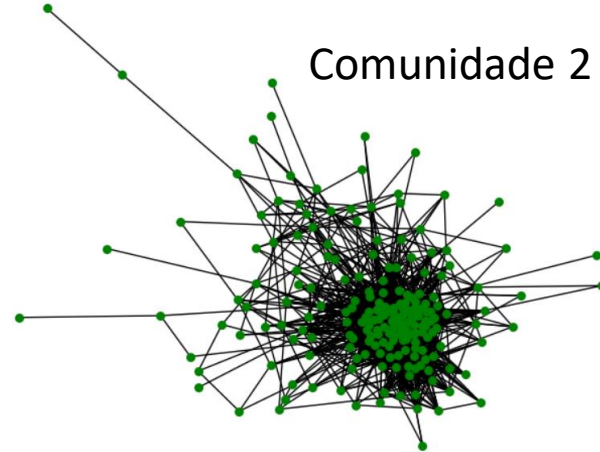


SH4: Derrame Pleural

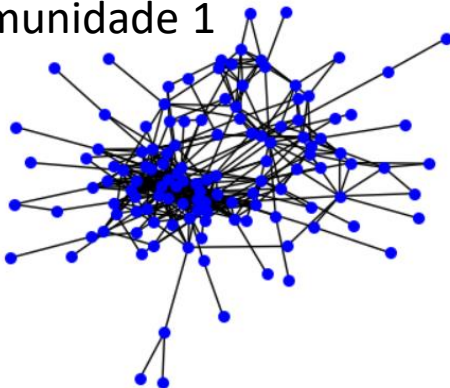
Comunidade 0



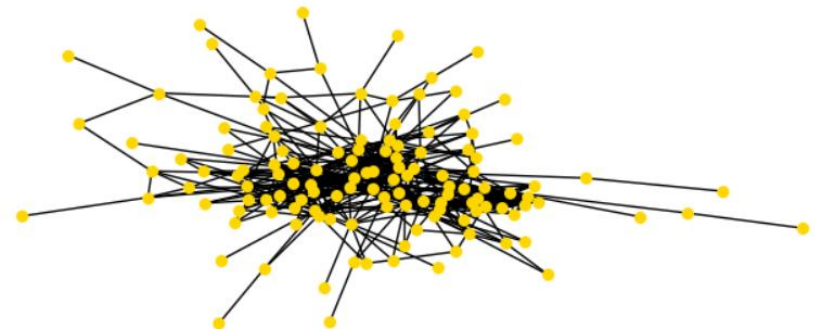
Comunidade 2



Comunidade 1



Comunidade 3



SH4: Derrame Pleural

Top 5 de cada medida:

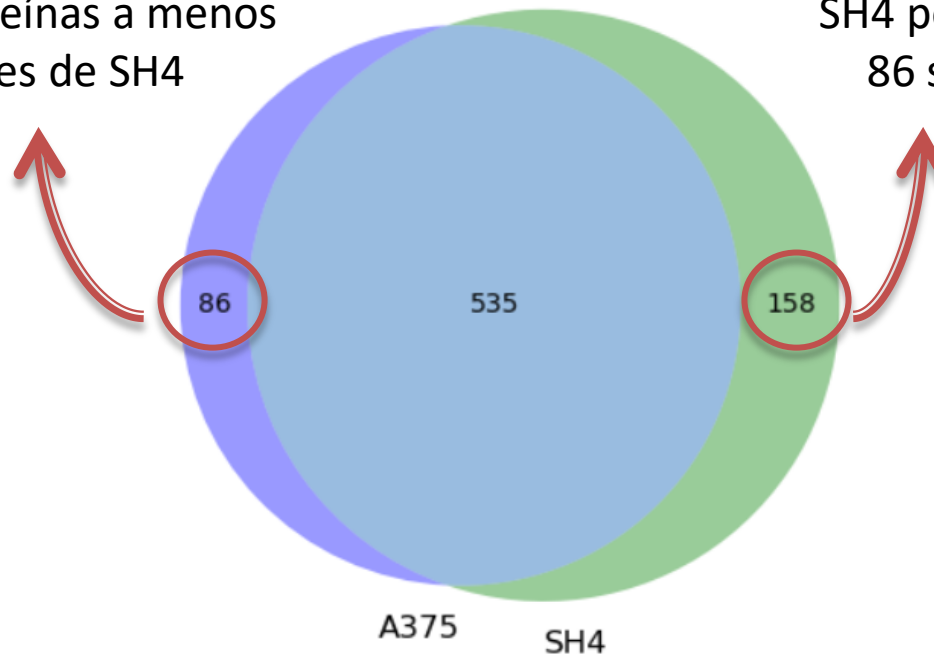
Proteína	Degree	Proteína	Betweenness	Proteína	Closeness	Proteína	LFQ value
P04406	173	P04406	0.051	P04406	0.557	P07900	1320666667
P13639	155	P60709	0.027	P07900	0.543	P60709	1238933333
P07900	148	P62979	0.024	P34932	0.536	P14618	1208233333
P48643	142	P07900	0.024	P13639	0.5356	P68363	1091333333
P63244	141	P34932	0.022	P78371	0.524	P00558	1009063333

A375: Melanoma x SH4: Derrame Pleural

Quantidade de proteínas presentes em comum em cada um:

A375 possui 72 proteínas a menos
86 são diferentes de SH4

SH4 possui 72 proteínas a mais
86 são diferentes de A375

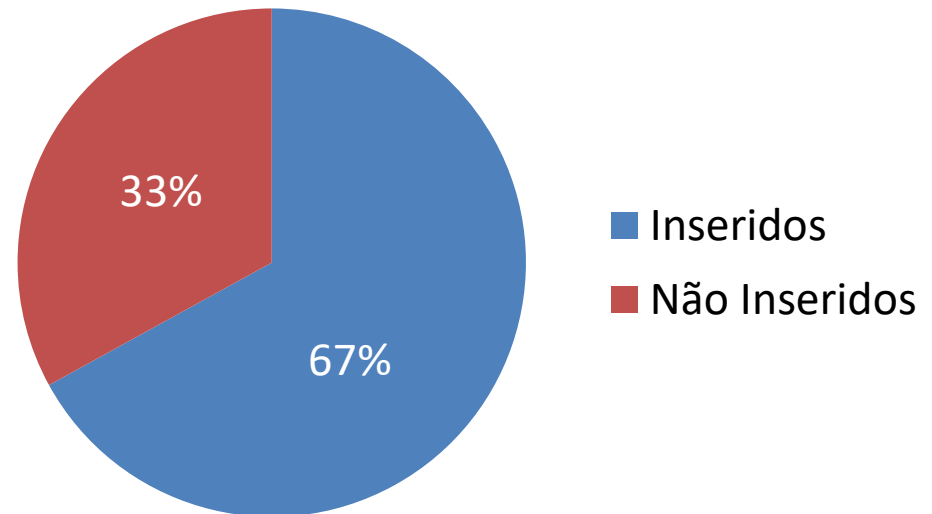


HS895SK: Pele Saudável de um Paciente com Melanoma

- Total de comunidades encontradas: 5
- Total de proteínas: 584

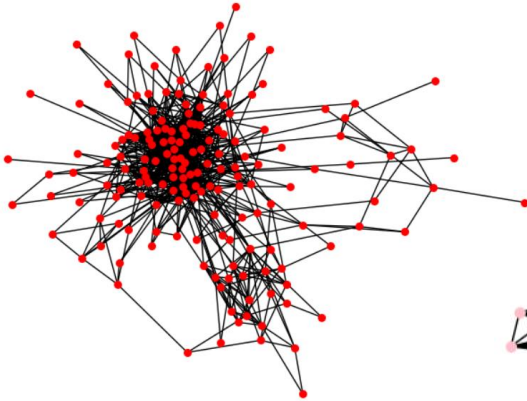
Comunidade	Quantidade
0	176
1	162
2	129
3	90
4	27

Quantidade de Proteínas

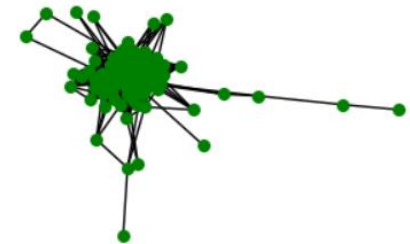


HS895SK: Pele Saudável de um Paciente com Melanoma

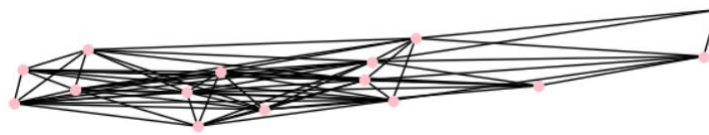
Comunidade 0



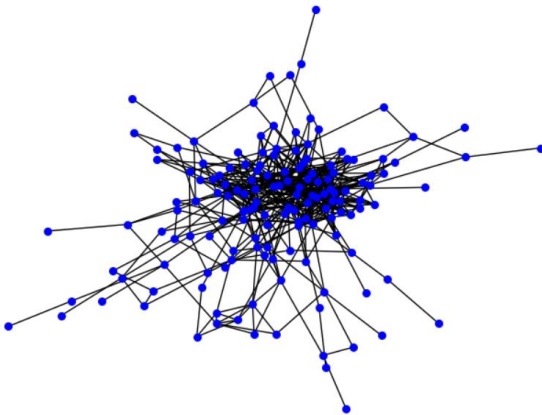
Comunidade 2



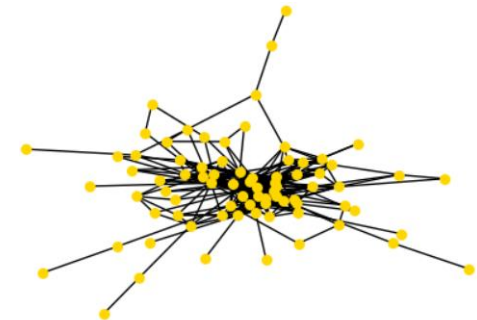
Comunidade 4



Comunidade 1



Comunidade 3



HS895SK: Pele Saudável de um Paciente com Melanoma

Top 5 de cada medida:

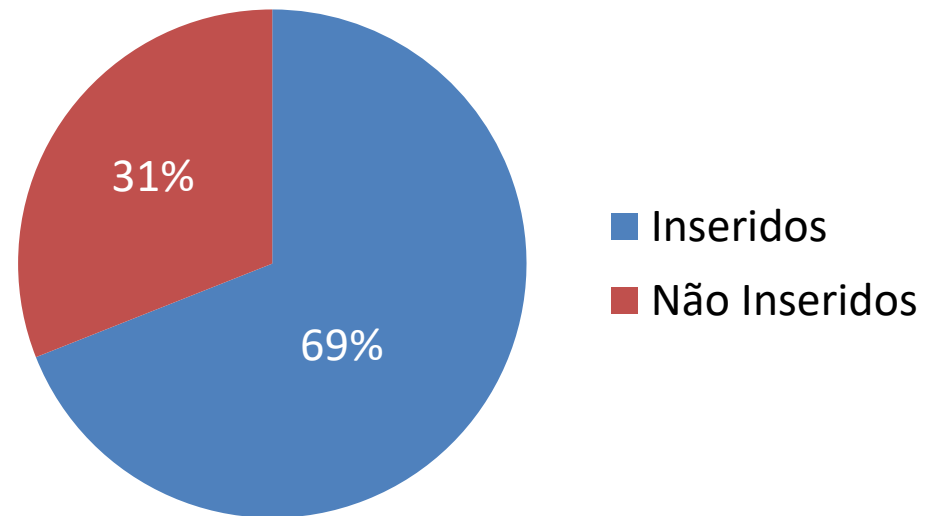
Proteína	Degree	Proteína	Betweenness	Proteína	Closeness	Proteína	LFQ value
P04406	167	P04406	0.077	P04406	0.568	P07355	2446500000
P13639	129	P60709	0.036	P07900	0.538	P60709	2285266667
P78371	127	P62979	0.028	P34932	0.531	P14618	1655033333
P07900	125	P07900	0.027	P13639	0.529	P21333	1549033333
P62979	125	P28482	0.020	P60709	0.522	P00338	1450766667

HS895T: Pulmão do Paciente com Melanoma

- Total de comunidades encontradas: 5
- Total de proteínas: 604

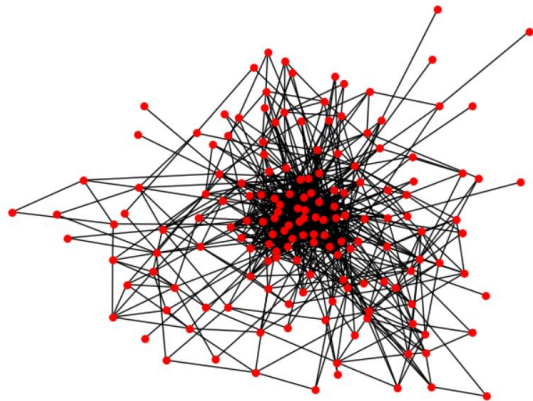
Comunidade	Quantidade
0	180
1	194
2	146
3	72
4	12

Quantidade de Proteínas

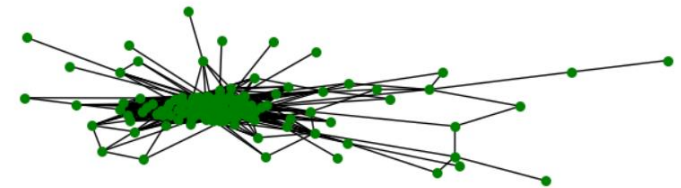


HS895T: Pulmão do Paciente com Melanoma

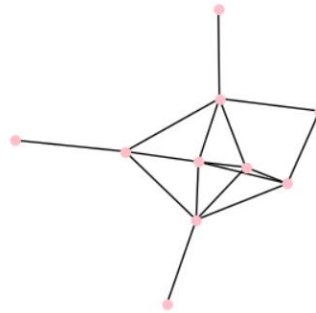
Comunidade 0



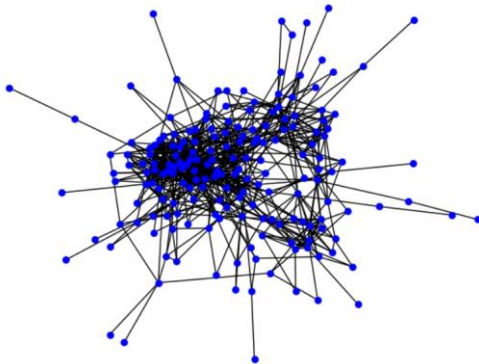
Comunidade 2



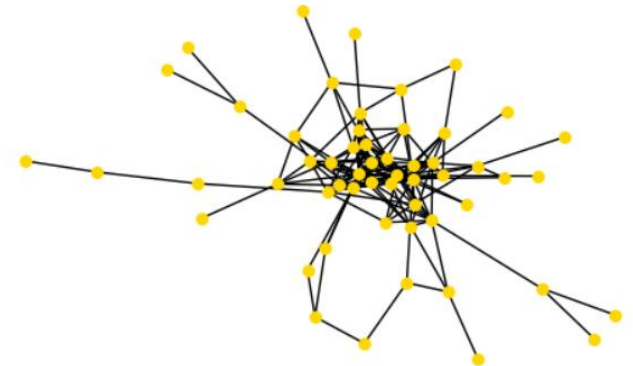
Comunidade 4



Comunidade 1



Comunidade 3



HS895T: Pulmão do Paciente com Melanoma

Top 5 de cada medida:

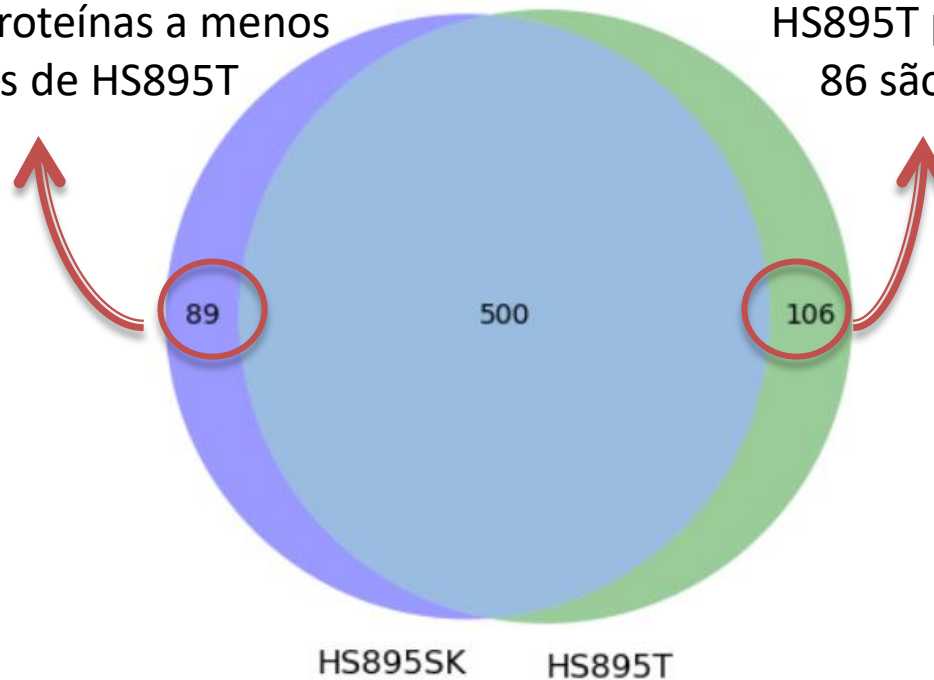
Proteína	Degree	Proteína	Betweenness	Proteína	Closeness	Proteína	LFQ value
P04406	176	P04406	0.076	P04406	0.573	P60709	3914933333
P13639	131	P60709	0.034	P07900	0.540	P07355	1828866667
P07900	127	P60174	0.023	P34932	0.529	P68363	1597700000
P78371	127	P07900	0.022	P60709	0.528	P21333	1491033333
P34932	122	P62979	0.019	P13639	0.527	P08758	1243133333

HS895SK: Pele Saudável de um Paciente com Melanoma X HS895T: Pulmão do Paciente com Melanoma

Quantidade de proteínas presentes em comum em cada um:

HS895SK possui 20 proteínas a menos
69 são diferentes de HS895T

HS895T possui 20 proteínas a mais
86 são diferentes de HS895SK

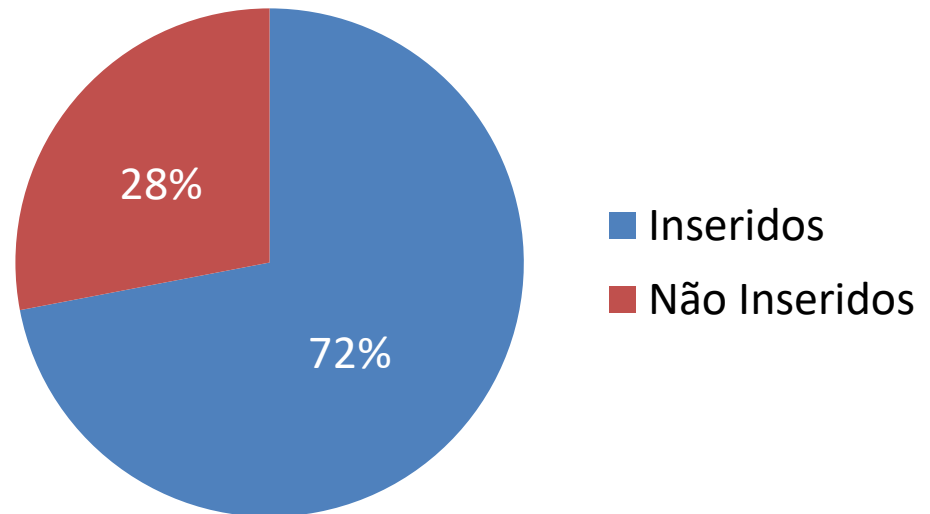


HS68: Pele Saudável

- Total de comunidades encontradas: 5
- Total de proteínas: 625

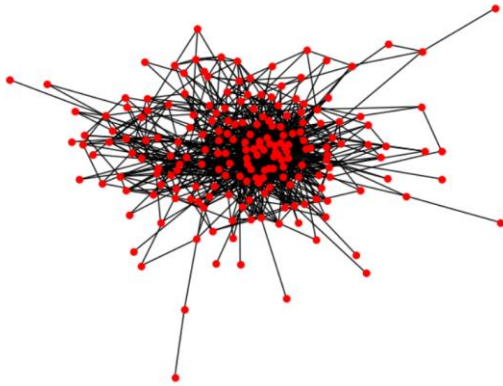
Comunidade	Quantidade
0	209
1	150
2	177
3	19
4	70

Quantidade de Proteínas

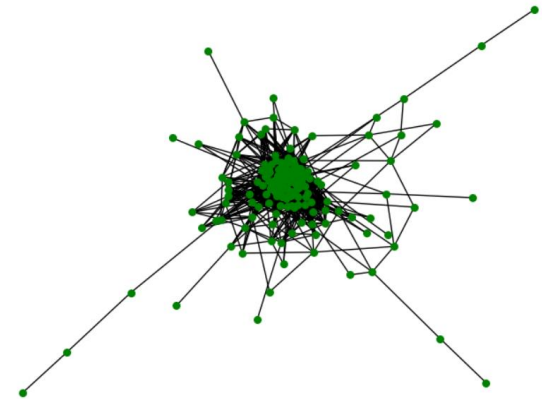


HS68: Pele Saudável

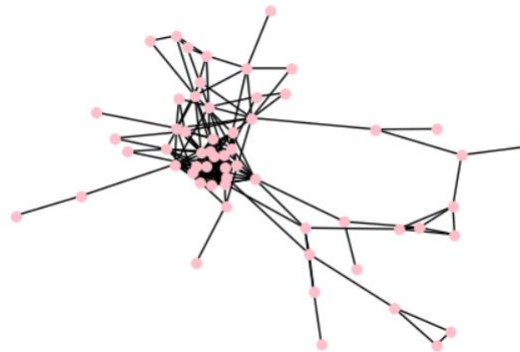
Comunidade 0



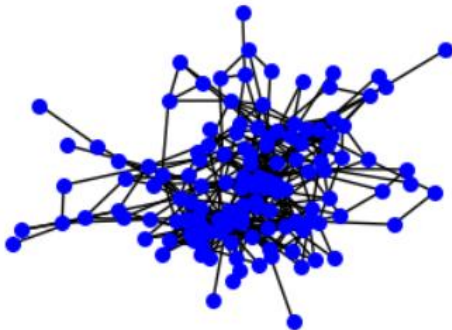
Comunidade 2



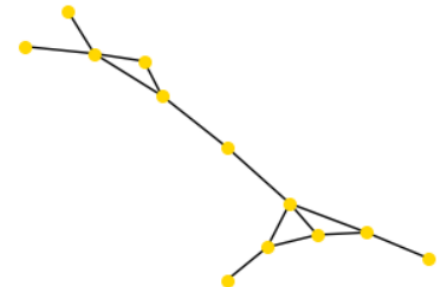
Comunidade 4



Comunidade 1



Comunidade 3



HS68: Pele Saudável

Top 5 de cada medida:

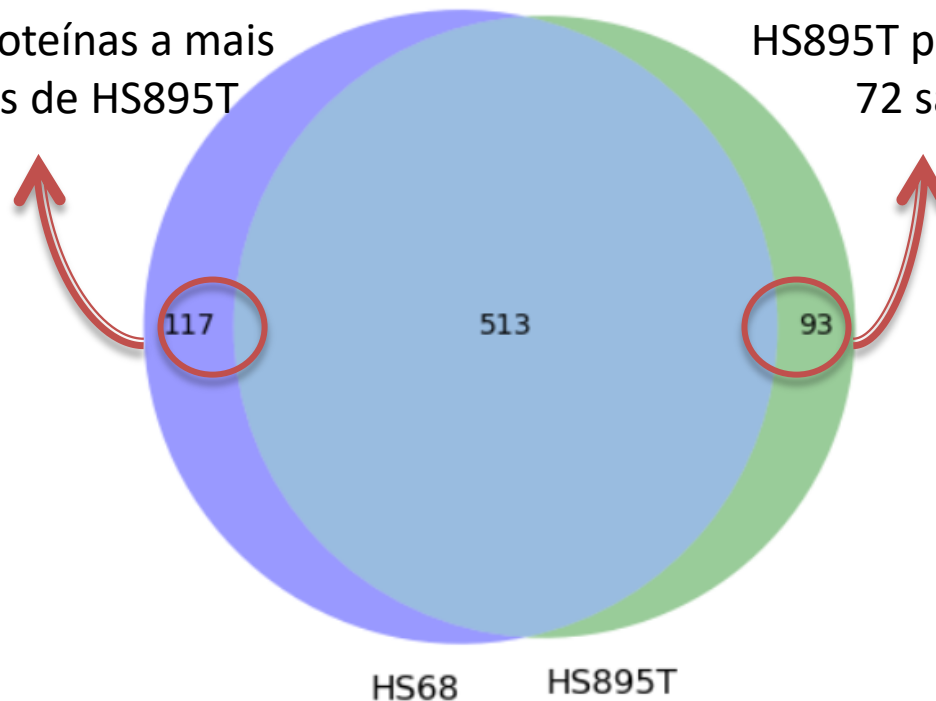
Proteína	Degree	Proteína	Betweenness	Proteína	Closeness	Proteína	LFQ value
P04406	175	P04406	0.073	P04406	0.570	P60709	3553266667
P13639	139	P60709	0.033	P07900	0.544	P07355	2063500000
P78371	134	P62979	0.027	P13639	0.536	P21333	1973866667
P07900	133	P07900	0.026	P34932	0.533	P14618	1290333333
P62979	130	P28482	0.018	P78371	0.528	P35579	1183056667

HS68 : Pele Saudável X HS895T: Pulmão do Paciente com Melanoma

Quantidade de proteínas presentes em comum em cada um:

HS68 possui 21 proteínas a mais
96 são diferentes de HS895T

HS895T possui 21 proteínas a menos
72 são diferentes de HS68



Conclusões

- A linhagem SH4 possui um nível alto de estresse em comparação com as demais proteínas.
- A linhagem HS68 possui uma quantidade maior de proteínas em relação a HS895T, e a HS895T possui mais proteínas do que a HS895SK.
- As linhagens A375 e SH4 possuem um número menor de comunidades identificadas em relação as demais linhagens.
- Próximos passos: analisar mais a fundo as proteínas que se diferem de cada linhagem e executar mais medidas de centralidade.

Referências

Sociedade Brasileira de Dermatologia. Disponível em

<https://www.sbd.org.br/>. Acesso em 27 maio 2019.

Borges, K. **Assinaturas de expressão proteica reveladas por análises secretas de fibroblastos associados ao câncer e linhas celulares de melanoma.** Saúde in evidência. Disponível em

<https://saudeinevidencia.com/2018/10/25/assinaturas-de-expressao-proteica-reveladas-por-analises-secretas-de-fibroblastos-associados-ao-cancer-e-linhas-celulares-de-melanoma/>. Acesso em 27 maio 2019.

Metz, J. et. al. **Redes Complexas: conceitos e aplicações.** Disponível em

<http://conteudo.icmc.usp.br/CMS/Arquivos/arquivos_enviados/BIBLIOTECA_113_RT_290.pdf>. Acesso em 27 maio 2019.

Referências

Blondel, V. D. et. al. **Fast unfolding of communities in large networks.** *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*. 2008.

Clauset, A. Newman, M. E. J. Moore, C. **Finding community structure in very large networks.** *Physical Review E*. **70** (6): 2004.

Borba, E. M. **Medidas de Centralidade em Grafos e Aplicações em Redes de Dados.** Dissertação de Mestrado. UFRGS. 2013. Disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/86094/000909891.pdf?sequence=1>>. Acesso em 27 maio 2019.

Moreno, C. C. **ANÁLISE DE REDES DE INTERAÇÕES DE PROTEÍNAS EM LINHAGENS CELULARES DE MELANOMA.** Trabalho de Conclusão de Curso. UNIFESP. 2018.