

Kinetikus áramlási citometriás mérések értékelése

Doktori tézisek

Dr. Kaposi Ambrus

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

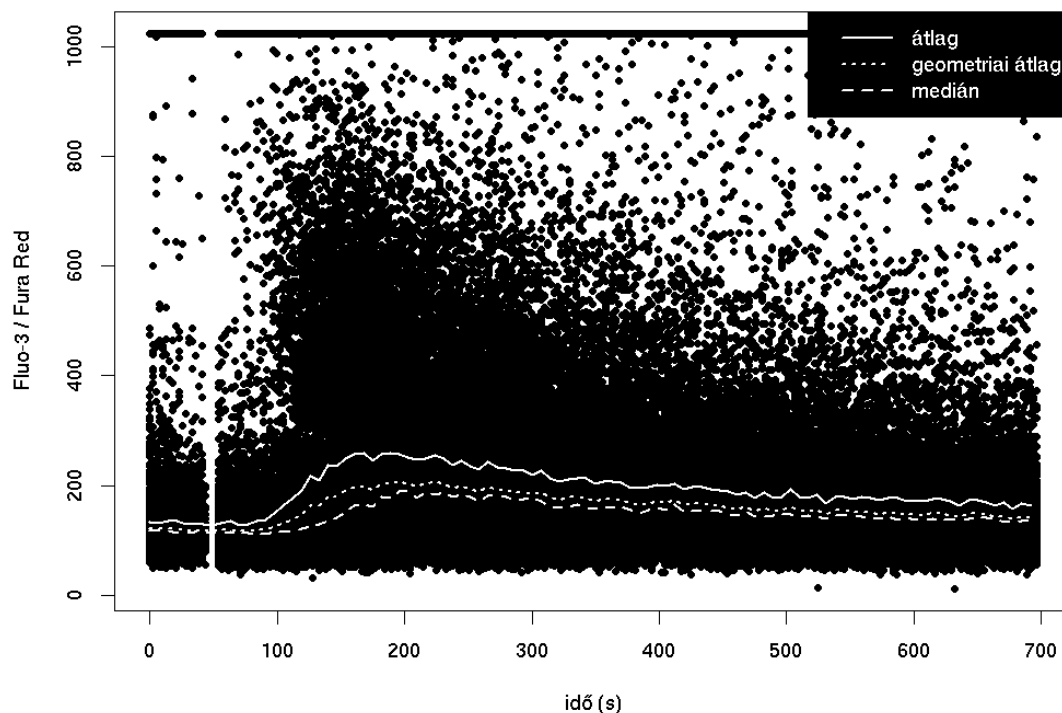


Témavezető: Dr. Vásárhelyi Barna, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Lacza Zsombor, Ph.D.
Dr. Nagy György, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Smeller László, az MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Matkó János, az MTA doktora
Dr. Ferenczy György, Ph.D.

Budapest
2013



1. ábra. Különböző középérték-számítási módszerek bemutatása egy kinetikus áramlási citometriás mérésen. Az ábrán minden pont egy sejtnek felel meg. A mérés időtartama 100 azonos hosszúságú intervallumra lett osztva, és mindegyik időtartamban meghatároztuk az átlagot (egybefüggő görbe), geometriai átlagot (pontozott görbe) és mediánt (vonalkázott görbe). A mérés humán PBMC sejteken történt, a limfociták és azon belül a CD4+ sejtek lettek kiválasztva a kapuzás során. A mérés egy 1 perces alapvonal felvételével kezdődött, majd rövid szünet következett, melynek során 25 $\mu\text{g/ml}$ PHA-t adtunk hozzá a mintához, majd 11 percen keresztül tartott az adatfelvétel.

1. Bevezetés

Az áramlási citometria egy vizsgálóeljárás, mely rövid idő alatt nagyszámú sejt fényelnyelési, -szórási és fluoreszcencia tulajdonságait képes detektálni. Fő erőssége, hogy a sejtekről egyenként ad információt, így a mérés során nem csak az átlagos sejt tulajdonságairól nyerünk adatokat, hanem a vizsgált tulajdonság szórásáról, sejtek között való eloszlásáról is, így a sejtek egyes alcsoportjai is elkülöníthetővé válnak. Sejt-alcsoportok megoszlásának megállapítására évtizedek óta használják az áramlási citometriát az orvosi diagnosztikában és sejtélettani kutatásokban. A sejtben időben gyorsan változó mennyiségű anyagok detektálására kifejlesztett fluoreszcens festékek lehetővé tették az intracelluláris folyamatok valós idejű nyomon követését áramlási citométerrel is. Az ilyen típusú, ún. kinetikus mérések értékelése ennek a dolgozatnak a témája.

Áramlási citometriás mérések összehasonlítására a mérések valamely paraméteréből (vagy paramétereiből) numerikus jellemzőket számolunk ki, mely lehet egy adott paraméterérték alatti sejtszám, a paraméter átlaga vagy mediánja, Probability Binning módszerrel számított rekesz-számok stb. Kinetikus áramlási citometriás mérések esetén valamely mért paraméter (a kinetikus paraméter, pl. kalcium szint limfociták aktivációjakor) eloszlása függ az időtől. Ilyen mérésekből általában úgy számítanak numerikus jellemzőket, hogy a mérést idő szerinti simítják mozgó-átlag, mozgó medián vagy egyéb simító módszerrel (1. ábra), majd a simított görbéből különböző paramétereket, pl. maximum, maximum elérési ideje, meredekség stb. olvasnak le. Ezen paraméterek értékeit nagymértékben befolyásolják az alkalmazott simítási módszer beállításai valamint a paraméterek pontos definíciója. Emiatt a különböző mérés-sorozatokból kapott paraméterek nem hasonlíthatók össze.

2. Célkitűzések

Célul tűztük ki egy, a kinetikus áramlási citometriás mérések leírására és összehasonlítására szolgáló algoritmus kifejlesztését, mely

1. objektív numerikus értékeket ad, ezáltal statisztikai összehasonlítást tesz lehetővé,
2. nem függ a felhasználó által ad-hoc módon megadott beállításoktól, így reprodukálható eredményeket ad,
3. a kinetika különböző aspektusait (pl. maximum, válasz gyorsasága) képes számszerűsíteni,
4. megfelelő a kalcium-flux mérések kinetikájának leírására, de kellően robusztus ahhoz, hogy más, hasonlóan bonyolult kinetikájú méréseket leírjon,
5. hatékonyan implementálható és a kutatásban felhasználható.

3. Módszerek

A simítási módszerek alkalmasak az adatok megjelenítésére és minták exploratív analízisére, hipotézisek felállítására, de nem használhatók a hipotézisek igazolására. Matematikai modell használatával a kinetikus folyamatról feltett hipotéziseink explicitté és így verifikálhatóvá válnak. A modelleknek függvények felelnek meg, emiatt módszerünk alapötlete az volt, hogy illesszünk függvényeket a mérési adatokra, és az illesztett függvény paramétereivel jellemezzük a mérést. Az alább leírt módszereket R ill. Java programozási nyelveken implementáltuk.

3.1. Helyettesítés

A mérést 100 db egyenlő hosszúságú idő-intervallumra osztottuk föl, és minden idő-intervallumban meghatároztunk 201 kvantilist. Az így kapott adathalmazra végeztük a lentebb leírt illesztéseket.

3.2. Függvény-illesztés

Az alábbi empirikus modelleknek megfelelő függvényeket illesztettük a mérésekre:

- Logisztikus függvény:

$$\text{logist}(t; b, c, d, e) = c + \frac{d - c}{1 + \left(\frac{t}{e}\right)^b}$$

- Hormesis függvény (a hormesis nevű jelenség bizonyos dózis-hatás görbék jellegzetessége, miszerint kis dózisokra ellentétes reakció alakul ki, mint nagyobbakra; ezen függvény egy módosított változatát is használtuk):

$$hormesis(t; b, c, d, e, f) = c + \frac{d - c + f * \exp\left(\frac{-1}{t^{0,25}}\right)}{1 + \left(\frac{t}{e}\right)^b}$$

- Konstans függvény:

$$constant(t; y) = y$$

Paraméter megszorítás: $y \geq 0$

- Pozitív logisztikus függvény (ez a függvény egy adott y_0 értékről indul és értéke folyamatosan növekedve végül végtelenben egy adott y_2 értéket ér el):

$$logist_+(t; y_0, y_2, x_1, m_1) = \frac{y_0 + (y_2 - y_0)}{1 + \exp\left(\frac{4 * m_1 * (-t + x_1)}{y_2 - y_0}\right)}$$

Paraméter megszorítások: $y_0, y_2, x_1, m_1 \geq 0$ and $y_0 < y_2$

- Negatív logisztikus függvény (ez a függvény egy adott y_0 értékről indul és értéke folyamatosan csökkenve végül végtelenben egy adott y_2 értéket ér el): képlete a pozitív társához hasonló.
- Pozitív dupla logisztikus függvény (ez a függvény egy adott y_0 értékről indul, értéke folyamatosan növekedve eléri egy y_1 maximumot, majd innen folyamatosan csökkenve végül végtelenben egy adott y_2 értéket ér el):

$$dlogist_+(t; y_0, y_1, y_2, x_1, x_{d0}, x_{d2}, m_0, m_2) = \begin{cases} y_0 + \frac{y_1 - y_0}{1 + \left(\frac{x_1 - t}{x_{d0}}\right)^{\frac{4 * x_{d0} * m_0}{y_1 - y_0}}} & \text{if } t < x_1 \\ y_2 + \frac{y_1 - y_2}{1 + \left(\frac{t - x_1}{x_{d2}}\right)^{\frac{4 * x_{d2} * m_2}{y_2 - y_1}}} & \text{if } t \geq x_1 \end{cases}$$

Paraméter megszorítások: $y_0, y_1, y_2, m_0, x_1, x_{d0}, x_{d2} \geq 0, m_2 \leq 0, x_{d0} \leq x_1, y_1 > y_0, y_1 > y_2$

- Negatív dupla logisztikus függvény (ez a függvény egy adott y_0 értékről indul, értéke folyamatosan csökkenve eléri egy y_1 minimumot, majd innen folyamatosan növekedve végül végtelenben egy adott y_2 értéket ér el): képlete a pozitív társához hasonló.

A függvények illesztésére az alábbi módszereket használtuk (mivel az általunk használt nem-lineáris függvények illesztésére nem ismert mindig legjobb megoldást adó algoritmus, iterációs módszerek használatára kényszerültünk):

- Newton-módszer: tetszőleges függvényt képes minimalizálni, szükségesek a függvény második deriváltjai.
- Gauss-Newton módszer: SSD-t minimalizál (Sum of Squared Deviation, eltérésnégyzetösszeg).
- Gauss Newton módszer robusztus változata (Iterated Reweighted Least Squares, IWLS): SSD-t minimalizál.
- BFGS módszer: egy kvázi-Newton módszer, függvényértékeket és gradienseket használ, kvantilis-regresszió (tehát pl. medián regresszió, vagyis SAD-minimalizálás) céljára implementálja az R `nlsrq` függvénye.
- NM módszer (Nelder-Mead): szimplex algoritmus tetszőleges függvény minimalizálására.
- SANN módszer (Simulated ANNealing): szimulált hűtés algoritmus.

Egy mérésre több függvényt is illesztettünk, s annak eldöntésére, hogy melyik a legjobban illeszkedő függvény, a négyzetes- (SSD) ill. abszolút (SAD) eltérésösszegeket használtuk ill. 10-szeres kereszt-validációt (10-fold cross validation) végeztünk.

3.3. Standardizálás

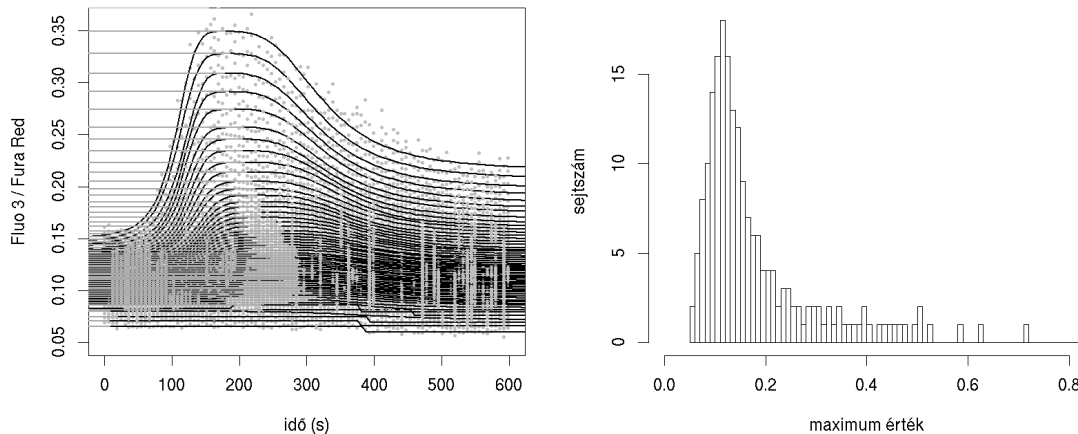
Hogy különböző körülmények között felvett mérések paraméterei összehasonlíthatók legyenek, standardizálást használtunk: a vízszintes irányú standardizálást (mely tkp. eltolás az időtengely mentén) a paraméterek helyes megválasztásával, míg a függőleges irányú standardizálást azzal értük el, hogy a függvények minden olyan paraméterét, melynek van függőleges komponense (y , y_0 , y_1 , y_2 , m_0 és m_2) elosztottuk az alábbi értékek egyikével:

- a függvény kezdő paramétere. Ekkor a függvény 1-ről fog kezdődni, pl. a pozitív logisztikus függvény kezdő érték paramétere 1 lesz.
- a mérés kezdeti szakaszának medián értéke. Ha készült alapvonal-mérés, akkor ennek mediánja. Ekkor a kezdő érték lehet 1-től különböző is, a mérés kezdetén (a 0 időpont környékén) fog 1-et felvenni a függvény.

3.4. Paraméterek eloszlásának generálása

Medián módszernek nevezzük azt, amikor csak a mérés közepére illesztünk, tehát minden időintervallumban a medián értékre illesztjük a függvényeket, így a megfelelő függvény kiválasztása után egy mérésből annyi db paramétert kapunk, ahány paraméteres a függvény, s minden paraméternek egyetlen értékét kapjuk meg. Ezzel a mérés közepét, az átlagosan (közepesen) viselkedő sejteket jellemezzük. Hogy a mérés teljes tartományát leírjuk, az alábbi módszereket alkalmaztuk paramétereloszlások generálására:

- Medián eloszlása: bootstrap módszerrel megkaphatjuk az egyes paraméterek eloszlásait.
- Kvantilis módszer: a 201 kvantilisre külön-külön illesztünk függvényeket, és feltételezve, hogy az egyes sejtekben párhuzamosan zajlanak le a kinetikus folyamatok, 201 értékből álló eloszlásokat kapunk minden egyes paraméterre (2. ábra).
- Hálós illesztés: egy lépésben illesztünk az egész mérésre a paraméterek kvantilisfüggését újabb meta-függvényekkel leírva. Míg a kvantilis módszer egy 8-paraméteres függvény esetén tkp. egy $8 * 201 = 1608$ paraméteres illesztés, ebben az esetben, ha mind a 8 paraméter kvantilis-függését le tudjuk írni egy 2-paraméteres függvényvel, $2 * 8 = 16$ paraméteres modellt használunk. Metafüggvényként első-, másod-, harmadfokú polinomokat és normális eloszlás módosított kvantilis-függvényét (negatív szórás esetén negatív meredekségű) használtuk.



2. ábra. Kvantilis módszer: dupla logisztikus függvény illesztése egy calcium flux mérés különböző kvantiliseire (bal oldal, szürke pontok felelnek meg az egyes kvantilis értékeknek, a szürke vonalak a maximum értékek) és a maximum paraméter eloszlásának meghatározása (jobb oldal). A mérés időtartama 100 egyenlő hosszúságú időintervallumra lett osztva, és minden intervallumban meghatároztunk 201 kvantilist. A Fluo-3 / Fura Red arány az intracelluláris Ca^{2+} -koncentrációval arányos. Az FCM mérés előtt a PBMC sejteket $10 \mu\text{g/ml}$ PHA-val stimuláltuk. A mért sejtek közül ki lettek választva a CD4+ limfociták.

4. Eredmények

4.1. Helyettesítés

A helyettesítéssel kapott adathalmazra az illesztés jóval hatékonyabb (akár több százszor gyorsabb), mint az eredeti, sokszor milliós nagyságrendű adatból álló mérésre, és feltételezve, hogy a sejtek idő szerinti eloszlása egyenletes, ha függvényt illesztünk a helyettesítéssel kapott adatokra, tapasztalataink szerint ugyanaz az eredmény, mintha az eredeti adatokra illesztettünk volna. Mivel a statisztikai tesztek szempontjából érdekes elemszám a mérések száma, nem pedig a méréseken belüli sejtszám, a szabadsági fok csökkenése nem okoz problémát.

4.2. Függvény-illesztés

A logisztikus és hormesis függvény problémája, hogy paraméterei nehezen becsülhetők, és biológiai szempontból nehezen értelmezhetők. A hormesis függvény ezen felül vízszintesen nem eltolható. Előnye, hogy egyik paraméterét nullának választva átmegy egyszerűbb, logisztikus függvénné. Mivel azonban az illesztés jóságát CV-módszerrel becsüljük (lásd lejjebb), ezt az előnyt nem használnánk ki. A konstans, pozitív és negatív

logisztikus ill. dupla logisztikus függvényekből álló készlet nagyszámú kinetikus FCM mérés mediánjaira való illesztése alapján úgy találtuk, hogy a (pozitív/negatív) logisztikus függvény tetszőleges olyan mérést le tud írni, melyben egy olyan emelkedő/ereszkedő folyamat van, melynek maximum egy inflexiós pontja van, míg a dupla logisztikus függvény tetszőleges egy „huplit” tartalmazó mérést le tud írni.

Legtöbbször konvergáló illesztési módszernek a Nelder-Mead és SANN algoritmus kombinációját találtuk, sokféle induló paraméterbecslést használva. A mérésre legjobban illeszkedő függvény kiválasztására a 10-szeres kereszt-validáció módszerét találtuk legalkalmasabbnak, mert a túlillesztés (overfit) a mienkhez hasonló, sok-paraméteres modellek esetén gyakori. Ez a módszer egy numerikus értéket ad minden mérésre, mely minél kisebb, annál jobb illeszkedést jelez.

4.3. Standardizálás

Ha a modell (és az ennek megfelelő függvény) nem illeszkedik a mérésre, az illesztett függvény alapján való standardizálás egy hamis transzformációt hajt végre az adatokon, emiatt a mérés első szakasza alapján történő standardizálást láttuk helyesnek.

4.4. Paraméterek eloszlásának generálása

A T-limfocita aktiváció különböző betegségek (1-es típusú diabetes, SM, preeclampsia, RA) és körülmények (újszülött kor, bizonyos kalcium-pumpák és kálium-csatornák gátlása) hatására bekövetkező specifikus változásainak leírására a medián függvény maximum, maximum elérési idő, 50%-os érték meredeksége és AUC paraméterei megfelelőnek bizonyultak. Ez a módszer a jelenleg elterjedt simító módszerek egy közvetlen továbbfejlesztésének felel meg. A módszer a célkitűzéseknek megfelelően:

1. objektív numerikus értékeket számít a mérésekből, mégpedig az illesztett függvény paramétereit, melyeket aztán statisztikai összehasonlításokra használni lehet. Különböző mérések összehasonlításakor ugyanazt a modellt (függvényt) kell használni az összehasonlításhoz.
2. a mérési adatokon kívül más bemenő adattól nem függ, és reprodukálható eredményeket ad: 40-szer ugyanazt a mérést kiértékelve a pozitív dupla logisztikus függvény paraméterei 36 esetben 3 tizedesjegyre mind megegyeztek, 4 esetben pedig a mérés alapján megjósolható paraméterekben alig különböztek.
3. megadja a CV érték alapján, hogy melyik a legjobb modell a mérésre, és a modellnek megfelelő függvény paramétereivel a kinetika különböző aspektusait képes jellemezni.

4. megfelelő a kalcium-flux mérések és egyéb kinetikus mérések leírására: 1846 kinetikus mérésre (lásd következő pont), melyek nagy része kalcium-flux, illesztettük az 5 függvényből álló sorozatot, és CV módszerrel meghatároztuk a legjobban illeszkedő függvényt. Szemrevételezéssel megállapítva ezek közül 2 esetben (0,07 %) a függvény nem illeszkedett jó helyre, tehát az illesztő algoritmus nem találta meg a minimumot, 68 esetben (3,68 %) pedig a mérések olyan kinetikát mutattak, melyet az 5 függvényünk közül egyik sem képes leírni. Mitokondriális kalcium-szint, ROS termelés és plazmamembrán-potenciál mérésekre is alkalmazható volt az eljárásunk.
5. A medián módszert (a kvantilis módszerrel együtt) egy felhasználóbarát számítógépes programban, a FacsKin-ben implementáltuk (3. ábra). A programot a kutatók számára az interneten keresztül elérhetővé tettük a <http://www.facskin.com> címen. A honlapon 76 kutató regisztrált, és 2011. január 27. és 2012. szeptember 26. között 1846 mérést értékelték ki a módszerrel. Toldi és mtsai a medián módszer használatával vizsgálták limfocitákban a kalcium-flux változásait újszülöttekben, 1-es típusú cukorbetegségben, preeclampsziában, sclerosis multiplexben és rheumatoid arthritisben. Egészségesekben a Th1 és Th2 limfocita alcsoportok kalcium-kinetikájának különbségeire és azok okaira világítottak rá Toldi és mtsai.

A bootstrap paraméter-eloszlásokat a paraméterek megbízhatóságának jellemzésére találtuk alkalmasnak. A kvantilis módszer a teljes mérési tartományt leírja függvényekkel, de más eredményeket ad, mint a medián módszer. A hálós illesztést a paraméterek szórásának mesterséges csökkentése miatt nem találtuk alkalmasnak kinetikus mérések leírására.



3. ábra. A FacsKin 0.6.4 felhasználói felülete. 8 mérés van megnyitva, ezek közül a felhasználó négyet az A, négyet a B csoportba sorolt. A $logist_+$ modell van kijelölve, a modell paraméter-eloszlásai medián [kvartilisek] formában a táblázatban vannak megjelenítve. Egy sor egy mérésnek, egy oszlop (a SAD fejlécű oszloptól jobbra) egy paraméternek felel meg. A kezdő érték (starting value) paraméter ki van jelölve és a különböző mérésekben ennek a paraméternek az eloszlása box and whisker's plottal megjelenítve a jobb felső ábrán. A bal felső ábrán az egyes mérések medián értékei és az ezekre illesztett függvény látható. A sejtek humán PBMC-ből kikapuzott CD4+ limfociták Fluo-3 és Fura Red kalcium-szenzitív festékekkel megfestve és 5 ill. 50 μM PHA-val stimulálva. A kinetikus paraméter érték a Fluo-3 / Fura Red arány. A mérések az alapvonalhoz mediánjára (2 perc) lettek standardizálva.

5. Következtetések

1. Kifejlesztettünk egy függvény-készletet, mely a kinetikus FCM mérések nagy részét képes leírni. Mindegyik függvény különböző kinetikus modellnek felel meg: a konstans függvény a kinetikus folyamat hiányának, a pozitív logisztikus függvény az adott szintről induló, emelkedő, majd egy adott szintet elérő folyamatnak, a negatív logisztikus függvény a hasonló, csak csökkenő folyamatnak, a pozitív dupla logisztikus függvény az adott szintről induló, egy maximumot elérő, majd egy alacsonyabb, adott szintre csökkenő folyamatnak, a negatív dupla logisztikus függvény a hasonló, csak átmeneti minimummal rendelkező folyamatnak.

2. Algoritmusunk képes a kinetikus FCM mérésre a legjobban illeszkedő függvényt meghatározni (10-szeres kereszt validáció módszerével), és ezáltal a méréseket kvitatív módon osztályozni. Az egyes paraméterek mérésből való megjósolhatóságának számszerűsítésére relatív szórásukat használjuk.
3. A függvények paraméterei a kinetikus folyamat különböző aspektusait írják le, melyekhez különböző biológiai jelentés társulhat: a maximum a kinetikus reakció nagyságát, a maximum elérési ideje annak gyorsaságát, az 50%-os értékek maximumtól való távolsága az indulás ill. a lecsengés gyorsaságát, míg meredekségei azt írják le, hogy ez a lecsengés mennyire hirtelen történik. A kezdő- és végső érték a mérés előtti ill. utáni kinetikus paraméter szintre enged következtetni. Az AUC paraméter a kinetikus folyamat összesített méretét adja meg, kalcium-flux esetén pl. a kalcium-ionok citoplazmában eltöltött idejének összegével arányos.
4. A különböző paraméterek alapján a méréseket a paramétereknek megfelelő aspektusok mentén tudjuk összehasonlítani, ezzel finomítva az összességében, pl. az AUC paraméter által adott különbségek háttérét, ill. ki tudunk mutatni olyan különbségeket, melyek összesítve nem látszanak.
5. Módszerünket számos esetben sikerrel alkalmazták kalcium-flux adatok elemzésére és biológiai következtetések levonására. Az utóbbi három évben 6 ezzel kapcsolatos publikáció jelent meg.
6. A módszert implementáló algoritmus a tudományos közvélemény számára elérhető a <http://www.facskin.com> honlapon egy felhasználóbarát program formájában. A program képes mérések kézi kapuzására, függvények illesztésére, az illesztett függvények paramétereinek megadására, mérések csoportosítására és paraméterek alapján történő összehasonlítására.
7. Az egyelőre biológiailag nem validált, ún. kvantilis-módszerrel a kinetikus FCM méréseknek nem csak a közepét (mediánját), hanem teljes terjedelmét le tudjuk írni.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. Az értekezéshez kapcsolódó közlemények

Összesített impakt faktor: 17,351, első szerzőként: 3,729.

- Nemzetközi közlemények:

1. **Kaposi A**, Veress G, Vasarhelyi B, Macardle P, Bailey S, Tulassay T, Treszl A. (2008) Cytometry-acquired calcium-flux data analysis in activated lymphocytes. *Cytometry Part A*, 73A: 246-53. IF: 3,729
2. Toldi G, Vásárhelyi B, **Kaposi A**, Mészáros G, Pánczél P, Hosszúfalusi N, Tulassay T, Treszl A. (2010) Lymphocyte activation in type 1 diabetes mellitus: The increased significance of Kv1.3 potassium channels. *Immunol Lett*, 133: 35-41. IF: 2,526
3. Toldi G, Folyovich A, Simon Z, Zsiga K, **Kaposi A**, Mészáros G, Tulassay T, Vásárhelyi B. (2011) Lymphocyte calcium influx kinetics in multiple sclerosis treated without or with interferon beta. *J Neuroimmunol*, 237: 80-86. IF: 2,959
4. Mészáros G, Szalay B, Toldi G, **Kaposi A**, Vásárhelyi B, Treszl A. (2012) Kinetic Kinetic Measurements Using Flow Cytometry: New Methods for Monitoring Intracellular Processes. *ASSAY and Drug Development Technologies*, 10: 97-104. IF: 1,727
5. Toldi G, **Kaposi A**, Zsembergy Á, Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B. (2012) Human Th1 and Th2 Lymphocytes are Distinguished by Calcium Flux Regulation During the First Ten Minutes of Lymphocyte Activation. *Immunobiology*, 217: 37-43. IF: 3,205
6. Toldi G, Bajnok A, Dobi D, **Kaposi A**, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. (2012) The effects of Kv1.3 and IKCa1 potassium channel inhibition on calcium influx of human peripheral T lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Immunobiology*, 218: 311-6. IF: 3,205

- Könyvfejezet:

7. **Kaposi A**, Toldi G, Mészáros G, Szalay B, Veress G, Vásárhelyi B. Experimental conditions and mathematical analysis of kinetic measurements using flow cytometry - the FacsKin method. In: *Flow Cytometry/Book 1*. Schmid I (ed.). Intech, 2012. ISBN 979-953-307-355-1.

- Magyar közlemény:

8. Mészáros G, Rónai K, Toldi G, **Kaposi A**, Vásárhelyi B, Treszl A. (2008) Sejtélettani folyamatok jellemzése „real-time” áramlási citometriás módszerrel. Magyar Immunológia, 7: 22-29.

6.2. Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények

Összesített impakt faktor: 3,705, első szerzőként: 0.

- Nemzetközi közlemények:

9. Treszl A, **Kaposi A**, Hajdú J, Szabó M, Tulassay T, Vásárhelyi B. (2007) The Extent to Which Genotype Information May Add to the Prediction of Disturbed Perinatal Adaptation: None, Minor, or Major? *Pediatr Res*, 62: 610-4. IF: 2,7
10. Gombos P, Langer RM, Korbely R, Varga M, **Kaposi A**, Dinya E, and Müller V. (2010) Smoking Following Renal Transplantation in Hungary and Its Possible Deleterious Effect on Renal Graft Function. *Transplantation Proceedings*, 42: 2357–2359. IF: 1,005

- Könyvfejezet:

11. Mihalik A, **Kaposi A**, Kovacs IA, Nanasi T, Palotai R, Rak A, Szalay MS, Csermely P. How creative elements help the recovery of networks after crisis: lessons from biology. *Networks in Social Policy Problems*. B Vedres and M Scotti (ed.). Cambridge University Press, Cambridge, 2011.

- Magyar közlemény:

12. Lantos B, Riesz P, Gulácsi A, Keszthelyi A, Szűcs M, **Kaposi A**, Romics I. (2009) Hólyagrák-diagnosztikai program klinikai felhasználása. *Uroonkológia*, 6: 51-56.

Köszönetnyilvánítás

2006 őszén, harmadéves orvostanhallgató koromban kapcsolódtam be TDK hallgatóként az I. sz. Gyermekklinikán működő áramlási citometriás laboratórium munkájába. Az itt tapasztalt szakmailag színvonalas és emberileg befogadó, támogató közeg nélkül az orvosi egyetemet sem tudtam volna elvégezni. Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Vászárhegyi Barna professzornak, aki megteremtette ezt a közeget, biztatott és bármilyen probléma esetén mindig elérhető volt. Szeretnék köszönetet mondani Tulassay Tivadar professzor úrnak személyes támogatásáért és a laboratórium munkájához szükséges feltételek megteremtéséért. A laboratóriumban dolgozó Dr. Treszl Andrásról sokat tanultam az orvosi statisztikáról, Dr. Toldi Gergely, Dr. Mészáros Gergő és Dr. Szalay Balázs hallgatótársaim pedig a FacsKin program fő felhasználóiként hasznos észrevételeikkel, kérdéseikkel, igényeikkel segítettek elő a program fejlődését. Ők adták a motivációt a program fejlesztésére. A laboratórium kiváló atmoszférájának kialakításáért ők is felelősek voltak.

Köszönettel tartozom Veress Gábor matematikusnak, akinek szakmai irányítása alatt fejlesztettem az algoritmust. Minden közös megbeszélésünkön volt valamilyen izgalmas, továbblépést jelentő ötlete.

Köszönöm Dr. Dinya Eleknek, hogy megtanított az orvosi statisztika alapjaira, és soha véget nem érő, ezzel kapcsolatos feladatokkal látott el. Nagyon sokat tanultam tőle.

A FacsKin programmal kapcsolatos értékes megjegyzéseikért köszönettel tartozom Éliás Gergelynek, Diviánszky Péternek és Egri Ádámnak, valamint a program összes felhasználójának.

Köszönöm azon önkéntesek és betegek felajánlását és áldozatkészségét, akik vérmin-tákkal segítettek a kísérletek elvégzését.