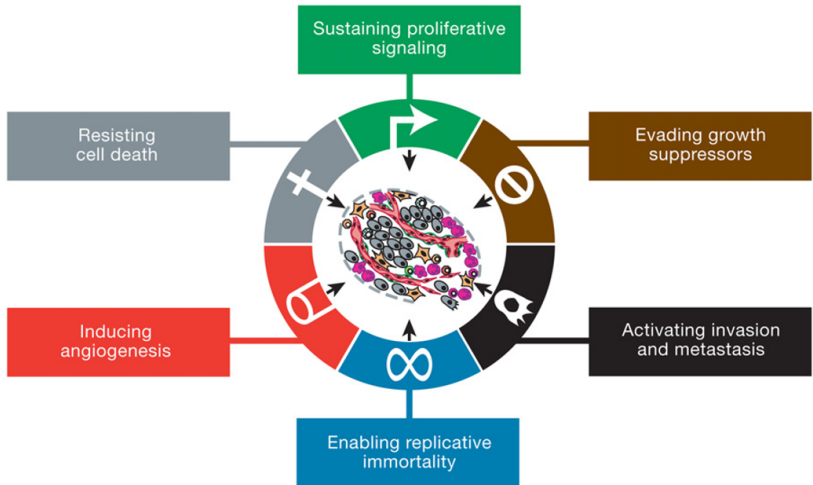


Modelowanie matematyczne w zastosowaniach biomedycznych

Wykład 6: Model liniowo-kwadratowy w radioterapii nowotworów

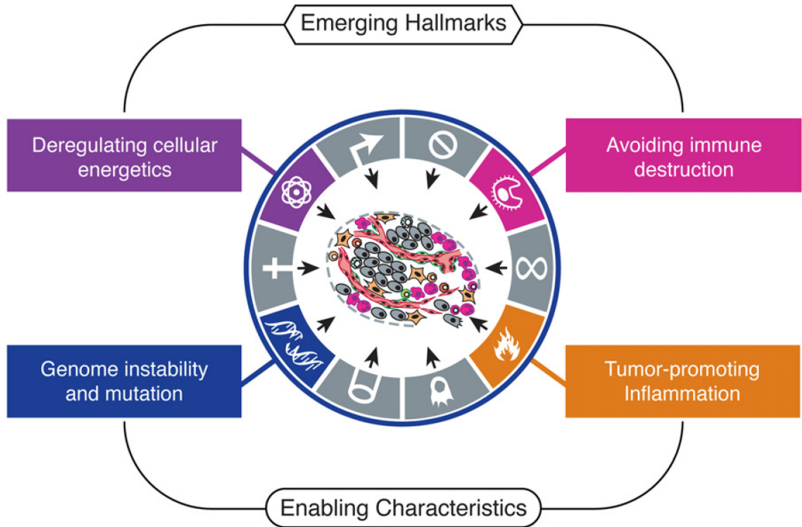
Dr Jan Poleszczuk
5/04/2017 IBIB PAN

Znamiona raka ("Hallmarks of Cancer")



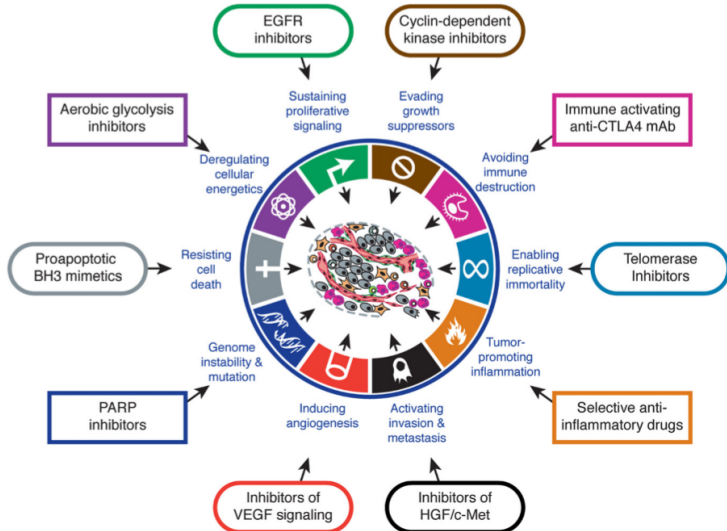
Hanahan & Weinberg, Cell 2000

Znamiona raka ("Hallmarks of Cancer")



Hanahan & Weinberg, Cell 2013

Terapie celowane



Hanahan & Weinberg, Cell 2013

Radioterapia

- Radioterapię do leczenia nowotwór zastosowano po raz pierwszy już w 1896 roku.
- Szacuje się, że w ostatniej dekadzie około połowa wszystkich pacjentów z rozpoznanymi nowotworami poddawana była radioterapii na którymś z etapów leczenia.
- Co więcej, stanowiła ona element terapii u około 40% wszystkich pacjentów, których udało się wyleczyć z pierwotnego nowotworu.



Źródło obrazka:

<https://pl.wikipedia.org/wiki/Radioterapia>

Działanie promieniowania jonizującego

- Promieniowanie nadające ładunek elektryczny atomom, które były wcześniej elektrycznie obojętne, na drodze выбijania elektronów z powłok elektronowych.
- Jonizacja zasad azotowych (adeniny, guaniny, cytozyny i tyminy) składających się na nić DNA, może prowadzić do powstawania w niej pęknięć i co za tym idzie uszkodzeń materiału genetycznego, którego integralność jest niezbędna dla przeżycia i funkcjonowania komórek.
- Do powstawania pęknięć dochodzi w dużo większym stopniu poprzez oddziaływanie nici DNA z produktami przemian chemicznych wody, wywołanych pochłonięciem przez nie promieniowania jonizującego (radioliza wody).

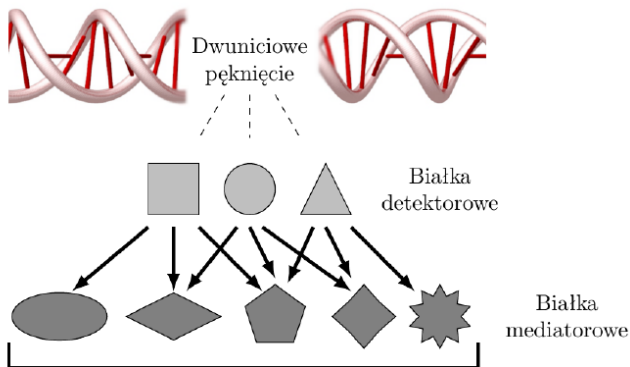
Działanie promieniowania jonizującego

Przyjmuje się, że najbardziej szkodliwe dla komórki jest tzw. dwuniciowe pęknięcie (ang. Double Strand Break - DSB), czyli powstanie jednoczesnych pęknięć na obu niciach DNA na tyle blisko siebie, że dochodzi do rozerwania całego łańcucha DNA.



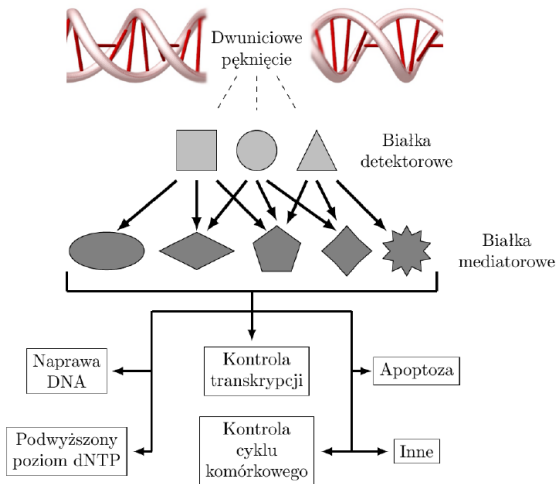
Działanie promieniowania jonizującego

Pojedyncze i podwójne pęknięcia nici DNA są wykrywane poprzez odpowiednie białka detektorowe, które przekazują następnie sygnał kolejnym białkom mediatorowym.



Działanie promieniowania jonizującego

Następujące potem kaskady sygnałów prowadzi do zmian w regulacji różnorodnych aspektów funkcjonowania komórki. Podjęta jest próba naprawy DNA.



Białko p53 — strażnik genomu

- Jednym z najważniejszych białek regulujących odpowiedź komórki na powstanie uszkodzeń w nici DNA jest białko p53.
- Jego rola polega na wydłużaniu czasu pomiędzy kolejnymi podziałami komórki co umożliwia naprawę uszkodzeń DNA indukowanych różnymi czynnikami egzo- i endogennymi.
- Co najważniejsze, jeśli uszkodzenia są zbyt rozległe lub naprawa nieskuteczna, białko p53 uruchamia proces zaprogramowanej "samobójczej" śmierci komórkowej — apoptozy.
- Mutacje w genie TP53, które upośledzają jego działanie, stanowią najbardziej rozpowszechnione zmiany genetyczne odnajdywane w nowotworach ludzkich (około 50%).

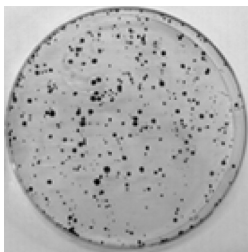
Badanie frakcji komórek klonogennych

Metoda powszechnie stosowana od lat pięćdziesiątych ubiegłego wieku do mierzenia wpływu radioterapii na komórki.

Komórka, wokół której po czasie odpowiadającym około 5-6 cyklom podziału komórkowego (7-14 dni) powstanie kolonia składająca się z co najmniej 50 komórek, nazywamy klonogenną. Ten typ komórek napędza wzrost nowotworu.

Ich frakcję w w populacji (PE) obliczamy w następujący sposób:

$$PE = \frac{\text{liczba uformowanych kolonii}}{\text{liczba posianych komórek}}$$



Model formowania kolonii

Najprostszy model podziału komórkowego

- Rozważmy populację N komórek "luźno" posianych na płytce hodowlanej.
- Załóżmy, że przy każdej próbie podziału komórka umiera z pewnym prawdopodobieństwem p (z uwagi na niestabilność genetyczną).
- Zakładamy, że obie komórki potomne są tak samo niestabilne, czyli mają taką samą wartość prawdopodobieństwa śmierci przy podziale p .
- Zakładamy, że czas cyklu komórkowego ma rozkład normalny o średniej 26 godzin i odchyleniu standardowym 1 godziny.

Pytanie: Jaka będzie frakcja przeżywających komórek klonogennych w populacji w zależności od czasu hodowli i prawdopodobieństwa p ?

Spróbujmy najpierw odpowiedzieć na to pytanie korzystając z symulacji.

Funkcja zwracająca wielkość kolonii utworzonej z jednej komórki

```
function y = wzrostKolonii(params, liczbaDni)
    tend = 24*liczbaDni; %czas symulacji w godzinach
    t = 0; %czas poczatkowy
    %zaczynamy od pojedynczej komorki, losujemy dla niej czas cyklu
    cells = normrnd(params.mu, params.sigma);

    while t<tend
        [w, i] = min(cells);
        t = t+w;
        cells = cells - w;
        if rand()>params.p
            cells(i) = normrnd(params.mu, params.sigma);
            cells = [cells normrnd(params.mu, params.sigma)];
        else
            cells(i) = [];
        end
        if length(cells)>100
            break;
        end
    end
    y = length(cells);
end
```

Skrypt rysujący zależność PE od p i liczby dni

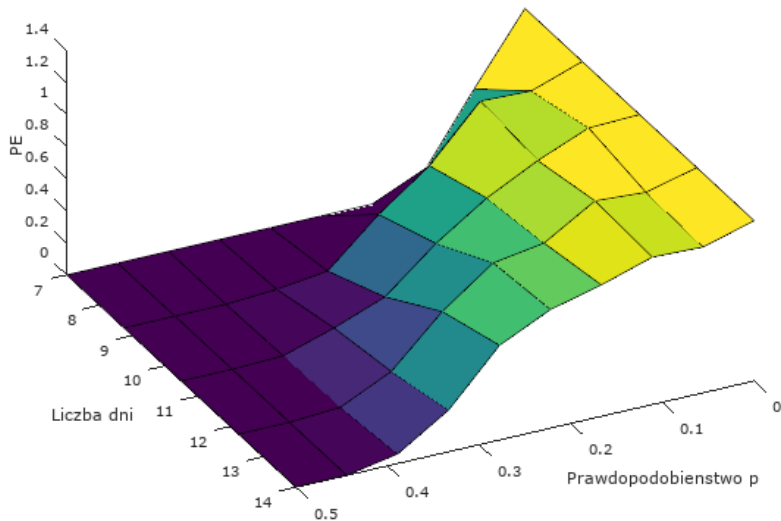
```
%definiowanie parametrow
params.mu = 26;
params.sigma = 1;
N = 100; %liczba komorek

pMesh = linspace(0, 0.5,10);
dniMesh = linspace(7,14,5);
PE = zeros(length(pMesh),length(dniMesh));

for i = 1:length(pMesh)
    for j = 1:length(dniMesh)
        params.p = pMesh(i);
        liczbaDni = dniMesh(j);
        for k = 1:N
            PE(i,j) = PE(i,j) + (wzrostKolonii(params, liczbaDni) > 50)/N;
        end
    end
end

[A,B] = meshgrid(pMesh, dniMesh);
surface(A,B,PE')
xlabel('Prawdopodobienstwo p')
ylabel('Liczba dni')
zlabel('PE')
```

Zależność PE od p i liczby dni



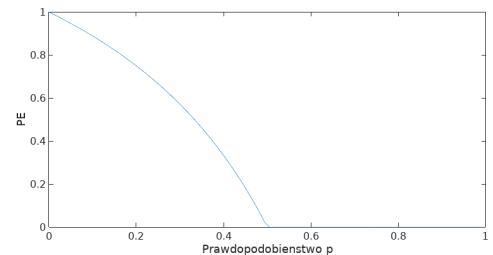
Zależność teoretyczna

Przy założeniu, że mamy nieograniczoną ilość czasu na eksperyment (liczba dnia obserwacji jest bardzo duża), można pokazać, że prawdopodobieństwo, tego że dana komórka wraz ze swoimi wszystkimi klonami umrze wynosi

$$P = \min\left(1, \frac{p}{1-p}\right).$$

Zatem PE powinno teoretycznie wynosić

$$PE = 1 - P = 1 - \min\left(1, \frac{p}{1-p}\right).$$

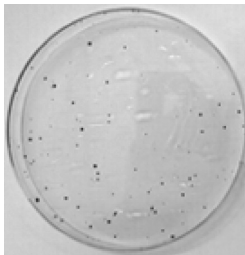


Frakcja przeżywających komórek klonogennych

Po zaaplikowaniu promieniowania jonizującego komórki posiewa się na płytki hodowlane i po upływie tego samego czasu co przy wyliczaniu wartości PE dla komórek nieleczonych znów zliczane są kolonie.

Frakcję przeżywających komórek klonogennych (SF) po ekspozycji na czynnik określa się poprzez formułę

$$SF = \frac{\text{liczba uformowanych kolonii po zastosowaniu leczenia}}{\text{liczba posianych komórek} \times PE}$$



Model formowania kolonii po napromienieniu

- Załóżmy, że w eksperymencie posiewamy jedynie te komórki, które przeżyły daną dawkę promieniowania.
- Przyjmijmy, że promieniowanie jonizujące zwiększa prawdopodobieństwo śmierci komórki przy podziale

$$\bar{p} = \min(p(1 + c), 1).$$

- Załóżmy, że eksperyment dla PE przeprowadzony został dla 8 dniowego okna czasowego.

Pytanie: Jak wygląda zależność SF od parametrów p oraz c ?

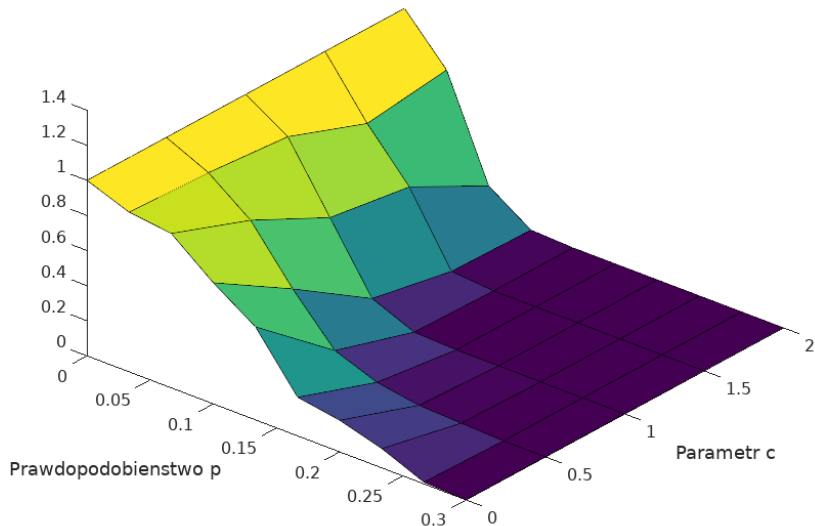
Skrypt wyznaczający zależność na drodze symulacji

```
params.mu = 26;
params.sigma = 1;
N = 100; %liczba komorek
liczbaDni = 8;
%rozważane wartości dla p
pMesh = linspace(0,0.3,10);
cMesh = linspace(0,2,5);

PE = zeros(length(pMesh),length(cMesh));
for i = 1:length(pMesh)
    for j = 1:length(cMesh)
        params.p = min(pMesh(i)*(1+cMesh(j)),1);
        for k = 1:N
            PE(i,j) = PE(i,j) + (wzrostKolonii(params, liczbaDni) > 50)/N;
        end
    end
end

[A,B] = meshgrid(pMesh, cMesh);
surface(A,B,PE')
xlabel('Prawdopodobieństwo p')
ylabel('Parametr c')
zlabel('PE')
```

Zależność pomiędzy SF a prawdopodobieństwem p i parametrem c



Model liniowo-kwadratowy

- Kluczowym zagadnieniem dla radiobiologów jest opisanie zależności wartości frakcji przeżywających komórek klonogennych (SF) od dawki promieniowania oraz protokołu jej dostarczenia.
- Najczęściej wykorzystywanym do tego celu modelem matematycznym jest radiobiologiczny model liniowo-kwadratowy.
- W przypadku gdy rozważania dotyczą krzywej przeżycia uzyskanej dla pojedynczych dawek promieniowania jonizującego, model ten opiera się na trzech prostych założeniach.

Założenia modelu liniowo-kwadratowego

- 1 Pojedyncze trafienie może wywołać dwuniciowe pęknięcie DNA, w wyniku czego może dojść do patologicznej zmiany w genotypie komórki i, co za tym idzie, utraty klonogenności. Zakładamy, że prawdopodobieństwo takiego zdarzenia zależy liniowo od dawki.
- 2 Zmiany patologiczne mogą również powstać na skutek błędnej naprawy położonych blisko siebie dwuniciowych pęknięć DNA, które powstały w wyniku dwóch niezależnych trafień. Przyjmuje się, że liczba tego typu zmian jest wprost proporcjonalna do kwadratu dawki promieniowania.
- 3 Liczba patologicznych zmian przypadających na pojedynczą komórkę ma w całej populacji rozkład Poissona ($P(k) = \lambda^k e^{-\lambda} / k!$).

Model liniowo-kwadratowy

Na podstawie powyższych założeń postuluje się, że w wyniku działania promieniowania jonizującego w komórce dochodzi średnio do

$$Y = \alpha D + \beta D^2$$

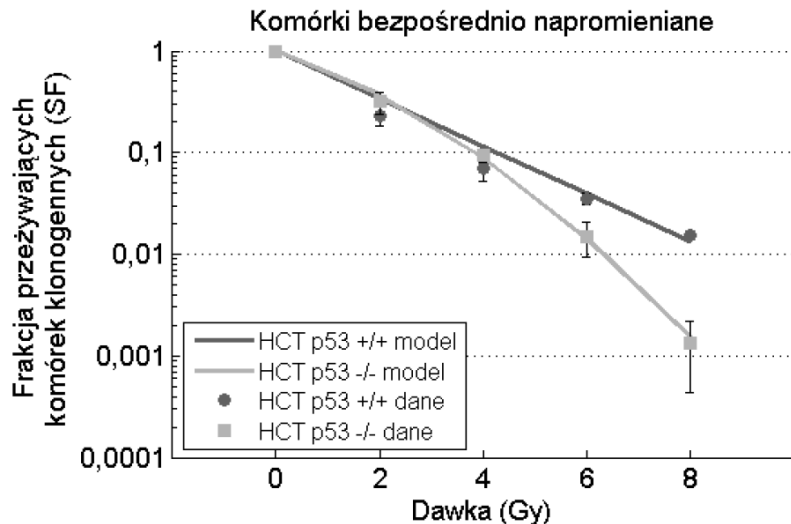
patologicznych zmian w materiale genetycznym, czyli Y jest parametrem założonego rozkładu Poissona.

Ostatecznie, w populacji klonogenne pozostają jedynie te komórki, w których nie doszło do żadnej patologicznej zmiany, czyli frakcja przeżywających komórek klonogennych w zależności od dawki ($SF(D)$) wyraża się wzorem

$$SF(D) = \exp(-Y) = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$$

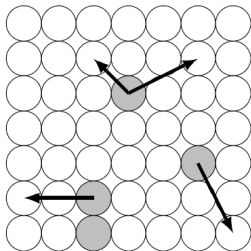
gdzie D określa wykorzystaną dawkę promieniowania.

Model liniowo-kwadratowy dobrze opisuje dane eksperymentalne

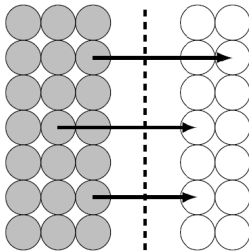


Efekty nielokalne

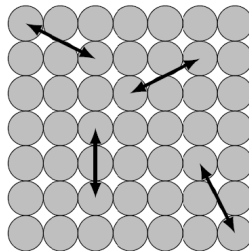
A Efekt sąsiedztwa



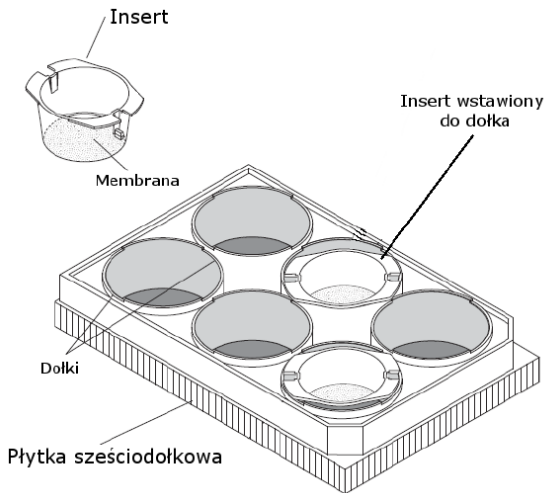
B Efekt widza (Viewer Effect)



C Efekt kohorty (Cohort Effect)



Efekty nielokalne



Efekty nielokalne

