

# MODELOWANIE BIOFIZYCZNE POPROMIENNEGO EFEKTU SĄSIEDZTWA – CZĘŚĆ I

## Biophysical modeling of the radiation bystander effect - part I

Paweł Wysocki, Krzysztof W. Fornalski

**Streszczenie:** Powszechnie wiadomo, że promieniowanie jonizujące może wywoływać uszkodzenia w komórkach, które z nim bezpośrednio oddziaływały. Jednakże ostatnie badania wykazały, że uszkodzenia pojawiają się również w komórkach, które nie doświadczyły bezpośredniej interakcji. Jest to związane z występowaniem tak zwanego efektu sąsiedztwa (ang. bystander effect), który polega na wysyłaniu przez komórkę napromienioną sygnałów, które mogą uszkadzać komórki sąsiednie. Ze względu na złożoność tego efektu, nie jest on prosty do ścisłego biofizycznego opisu, a co za tym idzie, także do symulacji.

W niniejszym artykule przedstawiony został przegląd różnych podejść do modelowania i symulowania efektu sąsiedztwa z punktu widzenia biofizyki radiacyjnej (część I). W szczególności ostatni z przedstawionych modeli jest częścią większego projektu symulacji odpowiedzi grupy komórek na promieniowanie jonizujące z wykorzystaniem metod Monte Carlo (część II).

**Abstract:** It is well known that ionizing radiation can cause damages to cells that interact with it directly. However, recent studies have shown that damages also occur in cells that have not experienced direct interaction. This is due to the so-called bystander effect, which is observed when the irradiated cell sends signals that can damage neighboring cells. Due to the complexity of this effect, it is not easy to strictly describe it biophysically, and thus also to simulate.

This article reviews various approaches to modeling and simulating the bystander effect from the point of view of radiation biophysics (Part I). In particular, the last model presented within this article is part of a larger project of modeling the response of a group of cells to ionizing radiation using Monte Carlo methods (Part II).

**Słowa kluczowe:** efekt sąsiedztwa, efekt widza, modelowanie, biofizyka radiacyjna

**Keywords:** bystander effect, modelling, radiation biophysics

### 1. Wstęp

Efekt sąsiedztwa, zwany też efektem widza (ang. bystander effect), jest jednym ze skutków niebezpiecznych (ang. non-targeted effects) oddziaływania promieniowania jonizującego z komórkami. Na skutek jego zajścia różnego rodzaju uszkodzenia (w tym mutacje) pojawiają się nie tylko w komórce bezpośrednio napromienionej, ale też wśród jej nienapromieniowanych sąsiadów. Jeden z pierwszych eksperymentów, który potwierdził występowanie efektu sąsiedztwa, odbył się na początku lat dziewięćdziesiątych XX wieku. Polegał on na napromienieniu 1% komórek jajnikowych chomika chińskiego niską dawką promieniowania jonizującego. W wyniku tego naświetlenia aż 30% komórek uległo uszkodzeniu [24] [1]. Co więcej, zwiększając dawkę od 0,3 do 2,5 mGy liczba uszkodzeń rosła, zaś dla większych dawek ich liczba pozostawała stała. Wyniki te były pierwszymi obserwacjami dotyczącymi efektu sąsiedztwa, choć początkowo nie do końca rozumiano jego mechanizm. Generalizując, zjawisko to polega na pojawieniu się różnego rodzaju skutków

napromienienia, takich jak: zmniejszenie przeżywalności, kancerogeneza czy apoptoza w komórkach, które nie były bezpośrednio poddane działaniu promieniowania jonizującego. W komórkach napromienionych, poza bezpośrednią jonizacją makrocząsteczek, mogą pojawić się m.in. długo żyjące rodniki (atomy lub cząsteczki zawierające niesparowane elektrony), których okres półtrwania wynosi około 20 godzin. I to właśnie głównie one mogą indukować uszkodzenia DNA w komórkach sąsiednich. Ponadto dodatkowe badania [1] pokazały, że tlenek azotu wywiera również istotny wpływ na napromieniowanie komórki, powodując ich uszkodzenia. Będąc wolnym rodnikiem cząsteczka ta pełni ważną rolę w wielu procesach biologicznych np. pobudza apoptozę.

W odniesieniu do mechanizmu rozchodzenia się sygnałów efektu sąsiedztwa do innych komórek wyróżniamy dwa sposoby jego zachodzenia:

- drogą połączeń szczelinowych;
- na zasadzie wydzielania do otaczającego środowiska i aktywowania w komórkach sąsiednich kinazy MAP [2], która odgrywa rolę w regulacji odpowie-

dzi na sygnały zewnętrzne dochodzące do komórki w postaci białek NF- $\kappa$ B [3], które działają jako czynniki transkrypcji (wiążą DNA w odpowiednim obszarze).

Sam proces rozchodzenia się sygnałów od komórki napromienionej do komórki sąsiadującej można opisać równaniem dyfuzji, która jest procesem samorzutnego rozprzestrzeniania i przenikania się cząsteczek w ośrodku, będący konsekwencją chaotycznych zderzeń cząstek dyfundujących między sobą.

Prawdopodobieństwo wystąpienia tego efektu rośnie quasi-liniowo w przypadku wzrostu dawki w obszarze niskich dawek, po czym wysycza się i utrzymuje na stałym poziomie dla dawek większych. Jest również zauważalny w przypadku oddziaływania na komórki promieniowania o niskim współczynniku liniowego przekazu energii (LET).

Efekt sąsiedztwa może mieć zarówno pozytywne, jak i negatywne skutki. W przypadku uszkodzenia zdrowych komórek efekt jest negatywny. Może on prowadzić do powstania nowotworów wtórnych i innego rodzaju powikłań popromiennych. Jednakże jeśli komórka napromieniona będzie swoimi sygnałami uszkadzała komórki nowotworowe, to będzie to rezultat jak najbardziej pożądany. Ponadto efekt sąsiedztwa może w pewnych warunkach prowadzić do wytworzenia odpowiedzi adaptacyjnej [4], powszechnie uważanej za pozytywny skutek.

Co ciekawe efekt sąsiedztwa obserwowany jest nie tylko pomiędzy komórkami, w obrębie jednego organizmu, ale również pomiędzy całymi organizmami. Dowodzi tego eksperyment, w którym pewna część populacji ryb została poddana działaniu promieniowania X o dawce 0,5 Gy. W kolejnym kroku doprowadzono do kontaktu powyższej grupy z osobnikami nienapromienianymi. Po pewnym czasie wśród ryb nie mających bezpośredniego kontaktu z promieniowaniem zauważono efekty, które powinny wystąpić tylko u ryb napromienionych. Jest to jeden z pierwszych dowodów na to, że efekt sąsiedztwa może występować również pomiędzy organizmami, a nie, jak uważano dotychczas, tylko pomiędzy komórkami w obrębie jednego organizmu. W tym konkretnym przypadku istotne było to, że otoczeniem była woda, która w łatwy i szybki sposób umożliwiała rozchodzenie się sygnałów fizykochemicznych [5].

## 2. Istniejące modele symulujące efekt sąsiedztwa

Chociaż efekt sąsiedztwa badany jest przede wszystkim przez radiobiologów, to z uwagi na specyficzne procesy rozchodzenia się sygnałów fizykochemicznych, które mogą być zapisane ściśle, również fizycy zaczęli zajmować się tą tematyką. W szczególności w ciągu ostatnich lat powstało wiele modeli biofizycznych, które implementując dane biologiczne oraz me-

chanizmy fizyczne do kodu komputerowego z sukcesem generują wyniki, które pomagają lepiej zrozumieć ten relatywnie niedawno odkryty efekt.

Poniżej opisano najważniejsze z modeli opisujące popromienny efekt sąsiedztwa.

### 2.1. Model chiński Xia-Liu Xue-Wang-WU

Jest to jeden z pierwszych modeli symulujących odpowiedź komórek na promieniowanie jonizujące z uwzględnieniem efektu sąsiedztwa [6]. Zakłada on, że komórka będąca bezpośrednio napromieniona może wysłać sygnały do swoich sąsiadów powodując u nich uszkodzenia pośrednie. Nazywane są one przez autorów sygnałami efektu sąsiedztwa. Rozchodzenie ich jest ściśle określone i opisane przy pomocy uproszczonego równania dyfuzji Einsteina:

$$\langle r^2 \rangle = 6D\Delta t \quad (2.1)$$

gdzie:

$D$  – mobilność translacyjna;

$\Delta t$  – interwał czasowy;

$\langle r \rangle$  – odległość jaką pokonuje sygnał po upływie interwału czasowego.

Mobilność translacyjna związana z rozchodzeniem się sygnału zależy między innymi od masy molekuly przenoszącej sygnał. W przypadku efektu sąsiedztwa mogą to być cytokiny [7], których masa wynosi około 10 kDa [8]. W związku z tym mobilność translacyjna  $D$  w przybliżeniu równa się  $10^8 \frac{nm^2}{s}$ .

Za każdym razem po upływie czasu  $\Delta t$  zakładamy, że sygnał przemieszcza się na określoną odległość w dowolnym kierunku. Sygnał znajdujący się w odpowiedniej odległości od komórki może spowodować pojawienie się między nimi reakcji. W modelu przyjęto założenie, że odległość  $a$  jest równa rozmiarowi komórki, czyli w przybliżeniu 10  $\mu$ m. W takim wypadku założono w modelu dwie możliwości:

- sygnał uderzając w komórkę, która jest już uszkodzona, zniknie z symulacji na skutek pochłonięcia przez komórkę;
- w momencie uderzenia sygnału w komórkę, która nie jest uszkodzona, będzie wędrował dalej w dowolnym kierunku.

Ponadto każda komórka mająca kontakt z sygnałami efektu sąsiedztwa może z prawdopodobieństwem  $P_{em}$  wysłać kolejny sygnał. Uszkodzenia pojawiają się z prawdopodobieństwem oznaczonym jako  $P_{dam}$ . Czas życia sygnału, po upływie którego znika on z symulacji, również jest ściśle określony. Jednakże z biologicznego punktu widzenia nie ma on nic wspólnego z czasem życia cytokiny, a jest jedynie fenomenologicznym założeniem modelu.

W opisywanym modelu chińskim, poza uszkodzeniami związanymi z bezpośrednim napromienieniem i na skutek reakcji z sygnałami efektu sąsiedztwa, uwzględnione zostały również naturalne uszkodzenia, które zostały opisane rozkładem Gaussa.

W celu oszacowania poszczególnych parametrów autorzy modelu wykonali symulacje, w których liczba generowanych sygnałów była ściśle określona. Dla każdej z nich wartości prawdopodobieństw oraz czas życia zostały dopasowane tak, aby ich wyniki zgadzały się z danymi eksperymentalnymi. Wartości poszczególnych parametrów zostały przedstawione w tabeli 2.1.

**Tabela 2.1.** Wartości poszczególnych parametrów dla różnej liczby sygnałów w modelu chińskim [6]

**Table 2.1.** Values of individual parameters for a different number of signals in the Chinese model [6]

Liczba sygnałów	$P_{dam}$	$P_{em}$	Czas życia
10	0,0040	0,9	1,5 h
20	0,0018	0,95	1,5 h
30	0,0020	0,15	1,5 h

Wyniki symulacji pokazują, że uszkodzenia pojawiają się nie tylko wśród sąsiednich komórek, ale również w tych od siebie odległych, co jest zgodnie z założeniami i danymi eksperymentalnymi.

## 2.2. Model BSDM

BSDM (Bystander Diffusion Model) jest kolejnym biofizycznym modelem symulującym pojawienie się efektu sąsiedztwa wśród komórek nienapromienionych [10] [11] [12] [13]. Zakłada, że wyłącznie komórki uśmiercone przez bezpośrednie trafienie promieniowaniem jonizującym wysyłają molekuly zwane sygnałami efektu sąsiedztwa do swoich sąsiadów. Sposób ich rozchodzenia związany jest z dyfuzją i może być opisany równaniem analogicznym do (2.1), a opisującym średni zasięg jako:

$$\langle l \rangle = \sqrt{6Dt} \quad (2.2)$$

gdzie:

$D$  – oznacza mobilność białek przenoszących sygnały.  
 $t$  – czas.

Wartość mobilności jest ściśle powiązana z masą i rozmiarem białek, analogicznie jak w modelu chińskim. Autorzy modelu założyli, że ich masa wynosi od 400 Da do 40 kDa, a promień 0,67 – 6,7 nm, przyjmując sferyczny kształt. W związku z tym wartość  $D$  została oszacowana pomiędzy  $(4 - 200)10 \frac{nm^2}{s}$ . Jest to wartość zbliżona do tej wykorzystanej w modelu opisanym w poprzednim punkcie. Dla typowego czasu naświetlania, czyli około 10 – 15 min, średnia droga pokonywana

przez sygnał obliczona za pomocą równania (2.2) wynosi od 120 do 1000  $\mu m$ .

Ponadto w modelu przyjęto założenie, że:

- czas życia sygnałów jest większy niż przewidywany czas dyfuzji;
- reakcja pomiędzy sygnałem a komórką pojawia się w momencie, gdy odległość między nimi jest mniejsza niż połowa rozmiaru komórki ( $R$ );
- komórka może emitować dwa rodzaje sygnałów efektu sąsiedztwa;
  - Sygnały typu S – powodujące śmierć komórki;
  - Sygnały typu T – powodujące transformację w komórkę nowotworową.
- sygnały efektu sąsiedztwa nie reagują ze sobą;
- dyfuzyjne ruchy komórek są pomijane;
- sygnały efektu sąsiedztwa nie reagują z komórkami, które je wysyłają.

Do obliczenia frakcji komórek, które przeżyły naświetlanie brana jest pod uwagę nie tylko bezpośrednia interakcja z promieniowaniem, ale również kontakt z sygnałami efektu sąsiedztwa. Tę zależność opisano następującym równaniem:

$$S_F = S_d (1 - B_s) \quad (2.3)$$

gdzie:

$S_F$  – to frakcja komórek, które przeżyły;

$S_d$  – to frakcja komórek, które przeżyły bezpośrednie napromienienie promieniowaniem jonizującym, czyli relatywna liczba odbiorców sygnałów efektu sąsiedztwa;

$B_s$  – to frakcja komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa, w wyniku czego obumarły.

Analityczne rozwiązanie równania (2.3) jest niemożliwe, jednak twórcy modelu stworzyli prosty algorytm pozwalający obliczyć wartości  $S_d$  oraz  $B_s$ . Z definicji wzór (2.3) może zostać zapisany w postaci:

$$S_F = \frac{(N_0 - N_d - N_b)}{N_0} = S_d - B(x) \quad (2.4)$$

gdzie:

$N_0$  – początkowa liczba komórek;

$N_d$  – liczba komórek zabitych na skutek bezpośredniego napromienienia;

$N_b$  – liczba komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa.

Znając warunki napromienienia, całkowitą liczbę komórek, które przeżyły oraz dokładny sposób rozchodzenia się sygnału, istnieje możliwość oszacowania funkcji  $B(x)$ :

$$B(x) = c_1 x + c_2 x^2 \quad (2.5)$$

$$S_F = S_d - c_1 x - c_2 x^2 \quad (2.6)$$

gdzie:

$c_1$  i  $c_2$  – współczynniki ekspansji.

Równania (2.5) i (2.6) są to funkcje kwadratowe o określonych współczynnikach.

Przyjmując że  $S_d \equiv x = \frac{(N_0 - N_d)}{N_0}$  i stosując odpowiednie podstawienie można otrzymać następujące równania, umożliwiające obliczenie poszczególnych frakcji:

$$S_F = (1 - c_1)S_d - c_2S_d^2 \quad (2.7)$$

$$S_d = \frac{\sqrt{(4c_2S_F + (1 - c_1)^2) - (1 - c_1)}}{2c_2} \quad (2.8)$$

Z powyższych równań wynika, że frakcja komórek, które przeżyły zarówno bezpośrednią interakcję z promieniowaniem, jak i z sygnałami efektu sąsiedztwa, jest zależna od frakcji komórek trafionych wiązką promieniowania. W związku z tym posiadając odpowiednie dane można eksperymentalnie oszacować wartości stałych liczbowych  $c_1$  i  $c_2$ .

Odnosząc się do frakcji komórek, które uległy transformacji w komórki nowotworowe, w modelu założono, że ich gęstość zadana jest jako

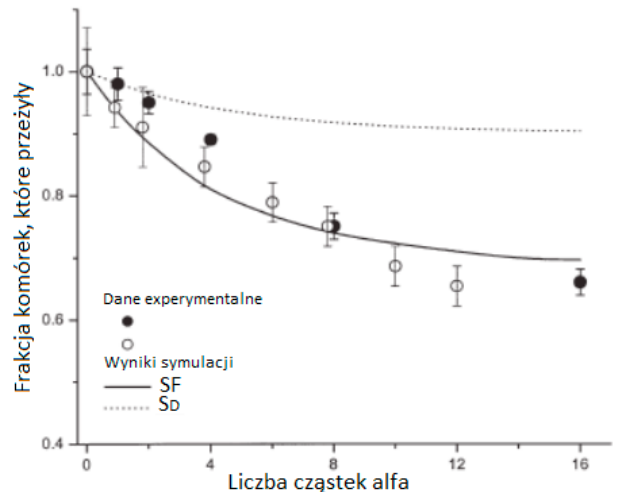
$$T_F = \frac{[bDS_d + cS_dB_S S_F]}{S_F} \quad (2.9)$$

gdzie:

$c$  i  $b$  – są stałymi dopasowanymi eksperymentalnie;  
 $D$  – to dawka, którą została napromieniona komórka.

Wykorzystując wcześniej wspomniane algorytmy autorzy modelu wykonali symulacje umożliwiające obliczenie liczby komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa oraz wartości  $B(x)$  oraz  $x$ . Wyniki zostały przedstawione w tabeli 2.2.

Na rys. 2.2. przedstawione zostały wyniki eksperymentu, w którym 10% losowo wybranych komórek C3HT10 zostało napromienione cząstkami  $\alpha$  z LET = 90  $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$ . Są to zależności frakcji komórek, które przeżyły napromienienie od liczby cząstek  $\alpha$  w nie trafiających.



**Rys. 2.1.** Zależność frakcji komórek od liczby cząstek alfa na komórkę [13] dla losowo wybranych 10% komórek poddanych napromienieniu. Kropki reprezentują dane eksperymentalne, a krzywe są wynikami symulacji otrzymanymi przy użyciu modelu BSDM - przy czym czarne kropki i czarna krzywa to frakcja komórek, które przeżyły zarówno bezpośrednio napromienienie, jak i sygnały efektu sąsiedztwa. Białe punkty i przerywana krzywa reprezentują grupę komórek, które przeżyły działania sygnału efektu sąsiedztwa (widoczne duże różnice między wynikami symulacji, a eksperymentem).

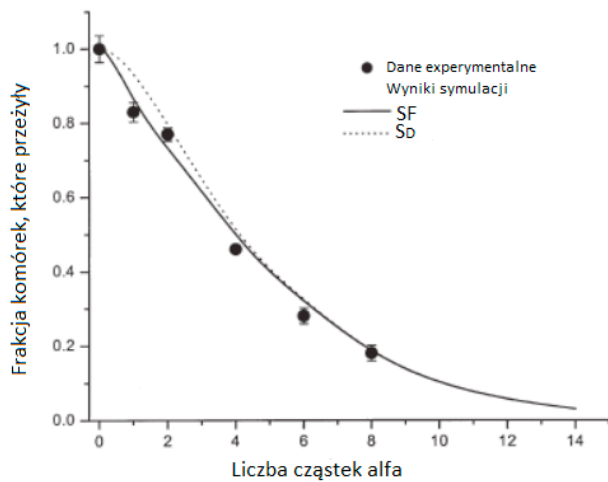
**Fig. 2.1.** The dependence of the cell fraction on the number of alpha particles per cell [13] for randomly selected 10% of irradiated cells. The dots represent experimental data and the curves are simulation results obtained using the BSDM model - with the black dots and the black curve being the fraction of cells that survived both direct irradiation and bystander effect signals. The white points and the dashed curve represent the group of cells that have survived the effects of the bystander effect signal (visible large differences between the simulation results and the experiment).

Na rys. 2.2. przedstawione zostały wyniki eksperymentu, w którym komórki zostały poddane wpływowi promieniowania o dawce opisanej rozkładem Poissona względem głównej osi wiązki (tj. od napromienionej komórki). Zarówno w tym przypadku, jak i na poprzednim wykresie, czarne kopki i czarna krzywa reprezentuje wyniki eksperymentu dotyczące frakcji komórek, które przeżyły bezpośrednie napromienienie i interakcję z sygnałami efektu sąsiedztwa. Krzywa przerywana dotyczy tylko efektu sąsiedztwa. Jak widać dodanie

**Tabela 2.2.** Obliczone liczby komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa,  $B(x)$  oraz  $x$ , dla modelu BSDM  
**Table 2.2.** Calculated numbers of cells that received bystander effect signals,  $B(x)$  and  $x$ , for the BSDM model

Liczba komórek, które przetrwały bezpośrednio napromienienie	Liczba sygnałów efektu sąsiedztwa	Średnia liczba komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa	$B(x)$	$x$
0	1000	0	0	0
50	1000	16,5	0,04125	0,125
100	1000	33	0,08250	0,25
200	1000	64,9	0,16225	0,5
300	1000	95,8	0,23950	0,75
400	1000	126	0,31500	1

założenia o poissonowskim rozkładzie spowodowało, iż model w pełni odzwierciedla wyniki eksperymentu.



**Rys. 2.2.** Zależność frakcji komórek od liczby cząstek alfa na komórkę [13], analogicznie jak na rys. 2.1. z tą różnicą, iż przyjęto poissonowską zależność otrzymanej dawki od osi wiązki padającego promieniowania **Fig. 2.2.** The dependence of the cell fraction on the number of alpha particles per cell [13], similarly to Fig. 2.1., with the difference that the Poisson dependence of the received dose on the axis of the incident radiation beam was assumed

Powyższe wykresy pokazują, że model ten lepiej sprawdza się w przypadku dawki opisanej rozkładem Poissona, niż w przypadku jednorodnego napromienienia komórek. Warto dodać, iż założenie o poissonowskim charakterze zależności dawki w funkcji odległości od osi wiązki ma odzwierciedlenie także w innych niezależnych badaniach nad efektem sąsiedztwa [21] [22].

### 2.3. Model BaD

Model BaD [14] (Bystander and Direct) jest ilościowym modelem badającym wpływ promieniowania jonizującego na komórki. Kładzie on szczególny nacisk na efekt sąsiedztwa i zakłada, że:

- w przypadku transformacji nowotworowej dominuje zasada „wszystko albo nic”, według której zwiększenie dawki promieniowania nie powoduje zwiększenia obserwowanych efektów nowotworowych, a jedynie sam proces transformacji;
- w przypadku komórki trafionej bezpośrednio przez promieniowanie, skutki związane z efektem sąsiedztwa są znikome.

Mechanizm rozchodzenia się sygnału w modelu BaD nie jest w żaden sposób uszczegółowiony, dzięki czemu może być stosowany zarówno w przypadku komórek stykających się, jak i od siebie oddalonych.

Założenia tego modelu zostały oparte o wyniki trzech różnych eksperymentów:

- w pierwszym z nich cała grupa komórek została poddana działaniu promieniowania jonizującego;

- w drugim tylko 10% całej populacji komórek zostało napromienione;
- w ostatnim komórki zostały napromienione, gdzie dawka opisana jest rozkładem Poissona od osi wiązki (napromienionej komórki).

Na tej podstawie określono trzy różne sposoby obliczania zarówno frakcji komórek, które przeżyły napromienianie, jak i frakcji komórek związanej zostały napromienione, obliczanie frakcji komórek, które przeżyły odbywa się za pomocą równania:

$$SF = q^N \quad (2.10)$$

gdzie:

$q$  – jest prawdopodobieństwem przeżycia komórki po napromienieniu pojedynczą cząstką;

$N$  – liczba cząstek  $\alpha$ , którymi została napromieniona komórka.

Na podstawie danych eksperymentalnych oszacowano wartość  $q \approx 0,80$ . W związku z tym, że  $q < 1$ , to frakcja komórek, które przeżyły wraz ze zwiększaniem liczby cząstek  $\alpha$ , którymi została napromieniona komórka, będzie malała.

Frakcja komórek reagujących na promieniowanie jonizujące i ulegających mutacji opisywana jest jako:

$$D = \nu N q^N \quad (2.11)$$

gdzie:

$\nu$  – to stała równa nachyleniu liniowej zależności odpowiedzi na dawkę.

Frakcja komórek, które uległy transformacji dzielona przez liczbę komórek, które przeżyły wynosi:

$$TF = \nu N \quad (2.12)$$

Powyższa zależność jest wprost proporcjonalna do liczby cząstek  $\alpha$ , którymi została napromieniona komórka.

W drugim przypadku, w którym tylko 10% komórek zostało napromienionych, frakcja komórek, które przeżyły przedstawia się jako:

$$SF = 0,1q^N + 0,9F(N) \quad (2.13)$$

gdzie:

$F(N)$  – jest to frakcja komórek, które przeżyły kontakt z sygnałami efektu sąsiedztwa.

Jak widać pierwszy człon równania (2.13) jest tożsamy z równaniem (2.10) pomnożonym przez 0,1. Jest to ściśle powiązane z tym, że tylko 10% wszystkich komórek zostało napromienionych. Druga część jest związana z efektem sąsiedztwa.

Mając wyznaczoną wartość parametru  $q$  i znając liczbę cząstek, którymi została napromieniona komórka ( $N$ ), wartość  $F(N)$  może zostać wyznaczona empirycznie, wykorzystując równanie (2.13):

$$F(N) \approx \exp(-0,0034N - 0,0027N^2) \quad (2.14)$$

gdzie ( $0 \leq N \leq 8$ ).

Powyższa funkcja potwierdza, że w przypadku śmierci komórek wywołanej sygnałami efektu sąsiedztwa, wspomniana zasada „wszystko albo nic” nie obowiązuje, co oznacza, iż wraz ze wzrostem dawki promieniowania liczba martwych komórek również rośnie.

Fracja komórek reagujących zarówno z promieniowaniem jonizującym, jak i sygnałami efektu sąsiedztwa, i które przeżyły tę interakcję, została opisana następującą zależnością:

$$D + B = 0,1vNq^N + 0,9\sigma F(N) \quad (2.15)$$

gdzie:

$\sigma$  – jest stałą skalującą liczbę transformacji nowotworowej w przypadku niskich dawek.

Analogicznie jak poprzednio pierwszy człon równania (2.15) został pomnożony przez 0,1, gdyż tylko 10% komórek zostało napromienionych. Drugi człon dotyczy pozostałych 90% komórek, do których mogą dotrzeć sygnały efektu sąsiedztwa, stąd 0,9.

Fracja komórek, które uległy transformacji nowotworowej została przedstawiona w postaci:

$$TF = \frac{[0,1vNq^N + 0,9\sigma F(N)]}{[0,1q^N + 0,9F(N)]} \quad (2.16)$$

W przypadku ostatniego eksperymentu, gdzie komórki zostały naświetlone dawką promieniowania określoną za pomocą rozkładu Poissona, frakcja komórek, które przeżyły, przedstawia się jako:

$$SF = \exp[-(1 - q)\langle N \rangle] - \exp(-\langle N \rangle)[1 - G(\langle N \rangle)] \quad (2.17)$$

gdzie:

$G\langle N \rangle$  – jest frakcją komórek, które otrzymały sygnały efektu sąsiedztwa i przeżyły.

Tak jak w przypadku frakcji komórek, znając  $q$  istniała możliwość wyznaczenia  $F(N)$ . Tutaj na podstawie danych eksperymentalnych wartość  $G\langle N \rangle$  została oszacowana i wynosi (przy czym  $\langle N \rangle$  jest średnią liczbą cząstek, którymi napromieniona została komórka):

$$G\langle N \rangle \approx 1, \quad \text{gdzie } (0 \leq \langle N \rangle \leq 8) \quad (2.18)$$

Fracja komórek, które przeżyły transformację, w przypadku napromienienia promieniowaniem

o dawce opisanej rozkładem Poissona, wygląda następująco:

$$D + B = vq\langle N \rangle \exp[-(1 - q)\langle N \rangle] + \sigma \exp(-\langle N \rangle) \quad (2.19)$$

Wykorzystując równanie (2.18) i (2.20), przy założeniu  $G = 1$ , otrzymano częstość występowania transformacji nowotworowej w przeliczeniu na żyjącą komórkę:

$$TF = vq\langle N \rangle + \sigma \exp(-q\langle N \rangle) \quad (2.20)$$

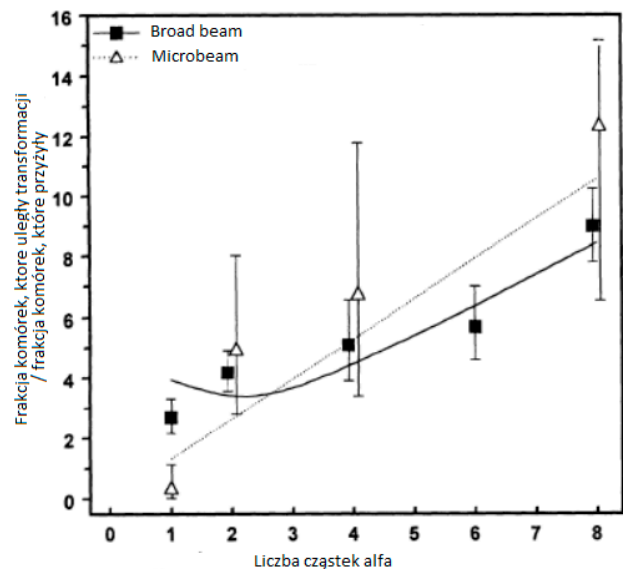
W przypadku, gdy  $\langle N \rangle$  osiąga duże wartości, cały drugi człon równania jest zaniedbywany i jest ono w całości redukowane do prostej zależności liniowej:

$$TF = vq\langle N \rangle \quad (2.21)$$

W sytuacji uzyskania niewielkich wartości parametru  $\langle N \rangle$  drugi człon związany z efektem sąsiedztwa jest znaczący i większy, niż ten związany z bezpośrednim napromienieniem.

Równania (2.15) i (2.19) pokazują główne założenia prezentowanego modelu, a mianowicie fakt, iż komórki, które są nadwrażliwe (podatne) na transformacje nowotworowe związane z sygnałami sąsiedztwa, są także nadwrażliwe na śmierć związaną z bezpośrednim napromienieniem.

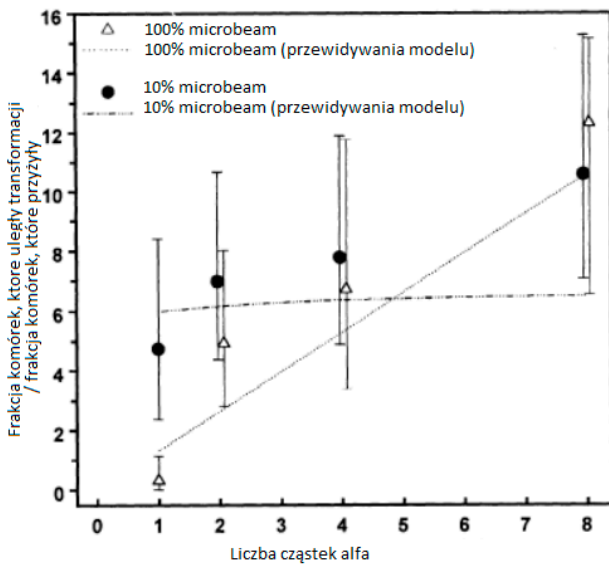
W celu przetestowania modelu autorzy oryginalnej pracy przeprowadzili symulacje, a ich wyniki porównano z danymi eksperymentalnymi. Uzyskane rezultaty przedstawiono na rys. 2.4 i 2.5.



**Rys. 2.3.** Przedstawiono zależność frakcji komórek ulegających transformacji nowotworowej dzielonej przez frakcję komórek, które przeżyły, od liczby cząstek  $\alpha$ . Za pomocą trójkątów i kwadratów przedstawione zostały dane eksperymentalne: trójkąty dotyczą eksperymentu, w którym 100% komórek zostało napromienione stałą mocą dawki. Kwadraty natomiast eksperymentu, w którym wszystkie komórki dawką o mocy opisanej rozkładem Poissona (wartość dawki, która rośnie wraz z czasem, po czym wysycha się i utrzymuje na stałym poziomie). Do da-

nych eksperymentalnych dopasowano prostą i krzywą wyznaczoną na podstawie równań (2.13) i (2.21). Stałe występujące w tych równaniach zostały oszacowane i osiągają wartości odpowiednio:  $\sigma = 6.4 \times 10^{-4}$  i  $\nu = 1.3 \times 10^{-4}$  [14]

**Fig. 2.3.** The relationship between the fraction of cells undergoing neoplastic transformation divided by the fraction of surviving cells and the number of a particles is presented. The experimental data are presented by means of triangles and squares: the triangles refer to an experiment in which 100% of cells were irradiated at a constant dose rate. On the other hand, the squares of an experiment in which all cells have a dose of the strength described by the Poisson distribution (dose value that increases with time, then saturates and remains constant). A straight line and a curve determined on the basis of equations (2.13) and (2.21) were fitted to the experimental data. The constants appearing in these equations have been estimated and reach the following values, respectively:  $\sigma = 6.4 \times 10^{-4}$  and  $\nu = 1.3 \times 10^{-4}$  [14]



**Rys. 2.4.** Przedstawiono taką samą zależność, jak na rys. 2-3., tj. zależność frakcji komórek ulegających transformacji dzielonej przez frakcję komórek, które przeżyły, od liczby cząstek  $\alpha$ . Trójkątami oznaczono dane uzyskane podczas eksperymentu, w którym wszystkie komórki zostały napromienione stałą mocą dawki. Znacznikami okrągłymi oznaczono dane z eksperymentu, w którym tylko 10% wszystkich komórek zostało napromienione. Ponadto do danych eksperymentalnych dopasowano prostą i krzywą teoretyczną, uzyskaną przy użyciu modelu BaD [14]

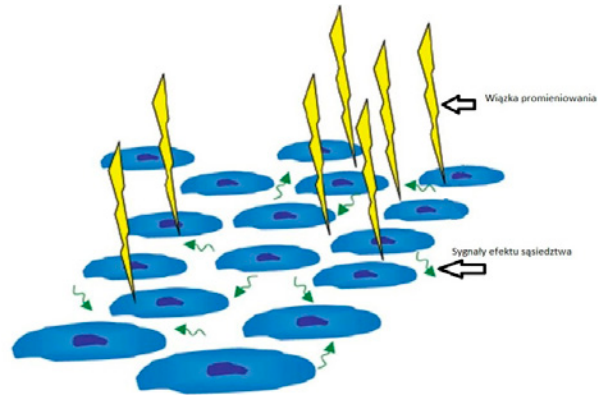
**Fig. 2.4.** The same relationship as in Fig. 2-3. is shown, i.e. the relationship between the fraction of cells undergoing transformation, divided by the fraction of surviving cells, and the number of a particles. The triangles mark the data obtained during the experiment in which all cells were irradiated at the constant dose rate. Round tags marked data from an experiment in which only 10% of all cells were irradiated. Moreover, a straight line and a theoretical curve, obtained using the BaD model, were fitted to the experimental data [14]

## 2.4. Model Ebert-Suchowerska-Jackson-McKenze

Jest to biomatematyczny model, w którym zakłada się, że odpowiedzi grupy komórek na bezpośrednie napromienienie i na sygnały efektu sąsiedztwa powstałe na skutek wcześniejszego naświetlenia są niezależne od siebie [15].

W momencie, gdy komórka zostanie trafiona, tj. oddziałuje bezpośrednio z promieniowaniem jonizującym, ma możliwość wysyłania sygnałów efektu są-

siedztwa. Rozchodzą się one drogą dyfuzji (podobnie jak w poprzednio opisanych modelach) i trafiają do sąsiednich komórek, które nie zostały bezpośrednio napromienione. Zostało to schematycznie przedstawione na rys. 2.6.



**Rys. 2.5.** Schemat odpowiedzi na bezpośrednie napromienienie i sygnały efektu sąsiedztwa [15]

**Fig. 2.5.** Scheme of response to direct irradiation and signals of the bystander effect [15]

Odpowiedź komórek na promieniowanie jonizujące z pominięciem wpływu efektu sąsiedztwa zależy tylko i wyłącznie od dawki, którą została napromieniona komórka.

Zgodnie ze wspomnianą wcześniej tezą w wyniku interakcji z promieniowaniem komórka może produkować różnego rodzaju sygnały. W modelu założono jednak, że jest to tylko jeden rodzaj sygnałów mogących powodować zarówno śmierć komórki, jej uszkodzenia, które mogą zostać naprawione, jak i może nie powodować żadnych zmian. Odpowiedź na sygnały efektu sąsiedztwa związana jest z dawką promieniowania oraz z ich liczbą zakumulowaną w komórce, co opisuje następujące równanie:

$$\rho = \int_{\text{komórki}} W(r' - r) \rho_{\sigma}(r) dr \quad (2.22)$$

gdzie:

$W$  – to niezależne prawdopodobieństwo dyfuzji sygnału z pozycji  $r$  do  $r'$ ;

$\rho_{\sigma}$  – to lokalna gęstość sygnałów efektu sąsiedztwa.

Kompletna odpowiedź komórek na promieniowanie jest związana zarówno z bezpośrednim napromienieniem, jak i reakcją na sygnały efektu sąsiedztwa i wygląda następująco:

$$S_{\text{local}} = S_{R,\text{local}} S_{B,\text{local}} \quad (2.23)$$

gdzie:

$S_{\text{local}}$  – to frakcja komórek, które przeżyły;

$S_{R,\text{local}}$  – to frakcja komórek, które przeżyły bezpośrednio napromienienie;

$S_{B,local}$  – to frakcja komórek, które przeżyły interakcję z sygnałami efektu sąsiedztwa.

Pierwszy człon równania (2.23) może być opisany za pomocą równania liniowo-kwadratowego. W takim przypadku frakcja komórek, które przeżyły bezpośrednie napromienienie, jest opisana zależnością:

$$S_{R,local} = e^{-\alpha_R d_{local} - \beta_R d_{local}^2} \quad (2.24)$$

gdzie:

$d_{local}$  – to dawka promieniowania docierająca do komórki;

$\alpha_R [Gy^{-1}]$  i  $\beta_R [Gy^{-2}]$  – to parametry zależności liniowo kwadratowej.

W odniesieniu do frakcji komórek, które przeżyły interakcję z sygnałami efektu sąsiedztwa, w niniejszym modelu rozpatrywane są trzy różne sposoby jej obliczania. Zanim zostaną one zaprezentowane, w pierwszej kolejności należy zdefiniować parametr  $\mu$ , który określa liczbę sygnałów efektu sąsiedztwa, dzięki czemu istnieje możliwość obliczenia mocy produkowanych sygnałów  $\sigma_{local}$  która jest proporcjonalna do ich gęstości.

*Sposób 1:*

W tym przypadku moc sygnału jest proporcjonalna do frakcji komórek umierających na skutek bezpośredniego napromienienia i jest określona równaniem:

$$\sigma_{local} = \mu(I - S_{R,local}) \quad (2.25)$$

*Sposób 2:*

Tutaj moc sygnału jest proporcjonalna do liczby komórek trafionych przez promieniowanie jonizujące, bez względu na to, czy skutkowało to umieraniem czy też nie:

$$\sigma_{local} = \mu e^{-\lambda d_{local}} \quad (2.26)$$

gdzie:

$\lambda [Gy^{-1}]$  – jest prawdopodobieństwem interakcji promieniowania z komórką;

*Sposób 3:*

W tym przypadku moc sygnału jest proporcjonalna do liczby komórek, które przetrwały bezpośrednie napromienienie promieniowaniem jonizującym i jest opisana następującym równaniem:

$$\sigma_{local} = \mu e^{-\lambda d_{local}} S_{R,local} \quad (2.27)$$

Dla każdego sposobu obliczania mocy sygnału poszczególne parametry zostały dopasowane tak, aby wyniki symulacji zgadzały się z danymi eksperymentalnymi. Ponadto w doświadczeniach zależnych od czasu, bądź takich, w których dyfuzja była ograniczona,

sposób rozchodzenia się sygnału był taki sam, jak ten zastosowany w modelu BSDM. W tym przypadku rozważana jest przestrzennie uśredniona gęstość sygnału, która może być obliczona przy zastosowaniu równania:

$$\bar{\sigma} = \frac{\int_{komórki} \sigma_{local} dV}{\int_{komórki} dV} \quad (2.28)$$

Ostatecznie frakcja komórek, które przeżyły kontakt z sygnałami efektu sąsiedztwa, jest opisana równaniem:

$$S_{B,local} = e^{-\bar{\sigma} W} \quad (2.29)$$

Zarówno w sposobie 1 jak i sposobie 2 moc sygnału wzrasta do pewnego momentu, po czym wysycha się. Odnosząc się do sposobu 3, maksymalna wartość jest osiągana w przypadku konkretnej wartości dawki. Dzieje się tak, gdyż wraz ze spadkiem liczby komórek, które przeżyły, spada również liczba komórek mogących odbierać te sygnały.

W celu przetestowania modelu jego twórcy przeprowadzili szereg symulacji, w trakcie których dopasowali wszystkie parametry tak, aby wyniki zgadzały się z danymi eksperymentalnymi. W tabeli 2-3. i tabeli 2-4. przedstawione zostały wartości poszczególnych parametrów dla komórek typu NCI-H460 (komórki niedrobnokomórkowego raka płuc) i MM576 (komórki czerniaka).

**Tabela 2.3.** Wartości parametrów użytych w modelu symulacji efektu sąsiedztwa w przypadku komórek NCI-H460 [15].

**Table 2.3.** Values of the parameters used in the bystander effect simulation model for NCI-H460 cells [15].

	$\alpha_R [Gy^{-1}]$	$\beta_R [Gy^{-2}]$	$\mu.W$	$\lambda (Gy^{-1})$	$X^2$
Sposób 1	0,053	0,061	1,28	N/A	0,00062
Sposób 2	0,00	0,083	6,10	0,033	0,0054
Sposób 3	0,00	0,13	20,2	0,013	0,015

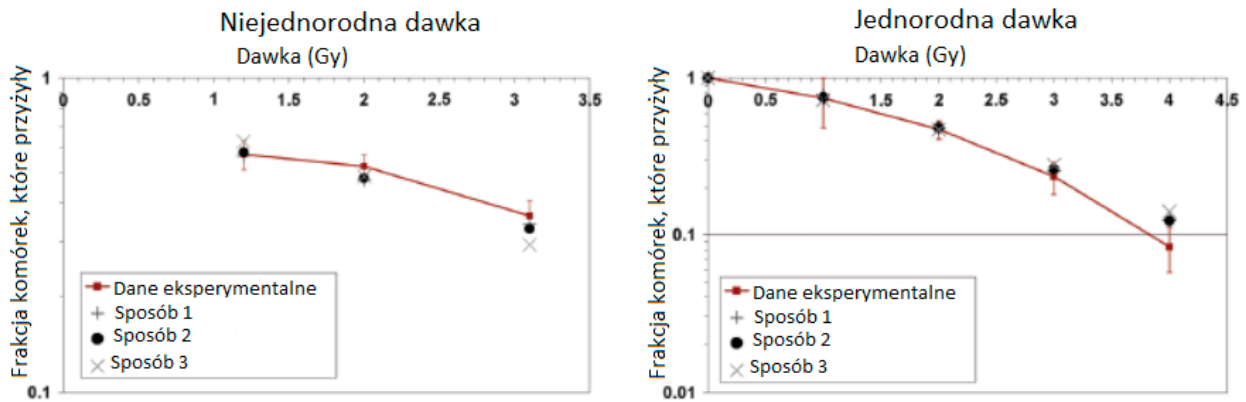
**Tabela 2.4.** Wartości parametrów w modelu symulacji efektu sąsiedztwa w przypadku komórek MM576 [15].

**Table 2.4.** Parameter values in the bystander effect simulation model for MM576 cells [15].

	$\alpha_R [Gy^{-1}]$	$\beta_R [Gy^{-2}]$	$\mu.W$	$\lambda (Gy^{-1})$	$X^2$
Sposób 1	0,014	0,0024	4,71	N/A	0,0041
Sposób 2	0,00	0,0070	70,12	0,0015	0,029
Sposób 3	0,00	0,010	55,00	0,0022	0,052

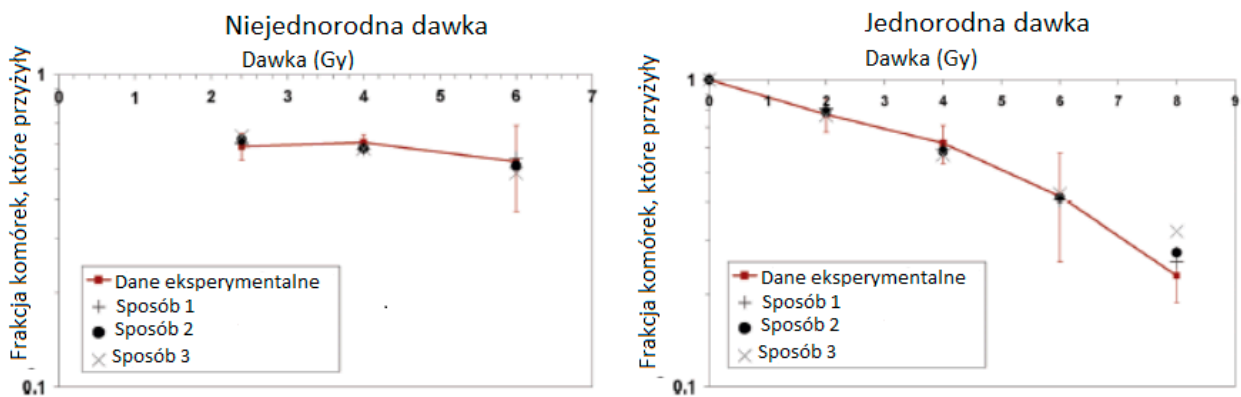
Na rys. 2.7. i 2.8. przedstawiono zależność frakcji komórek NCI-H460 i MM576, które przeżyły, od dawki, którą zostały napromienione. Parametry użyte w symulacji zaprezentowane zostały w tabeli 2.3. i tabeli 2.4.





**Rys. 2.6.** Zależności frakcji komórek NCI-H460, które przeżyły interakcję z promieniowaniem, od dawki promieniowania [15]. Porównanie danych eksperymentalnych z wynikami modelowania

**Fig. 2.6.** Relationships of the fraction of NCI-H460 cells, which survived the interaction with radiation, on the radiation dose [15]. Comparison of experimental data with modeling results



**Rys. 2.7.** Zależności frakcji komórek MM576, które przeżyły interakcję z promieniowaniem, od dawki promieniowania [15]. Porównanie danych eksperymentalnych z wynikami modelowania

**Fig. 2.7.** The relationship between the fraction of MM576 cells that survived the interaction with radiation and the radiation dose [15]. Comparison of experimental data with modeling results

Wszystkie trzy podejścia w modelu dają wyniki zgodne z danymi eksperymentalnymi. W tabeli 2.3. i tabeli 2.4. przedstawione zostały również wyniki testu zgodności chi-kwadrat [16]. Wynika z niego, że najlepsze uzyskano sposobem 1, najmniej zadowolające zaś sposobem 3. Jednakże, tak jak zostało już wspomniane wcześniej, wszystkie wyniki symulacji zgadzają się z eksperymentem w granicach niepewności.

Koniec części I.

Część II niniejszego artykułu ukaże się w kolejnym numerze PTJ. Przedstawiony zostanie m.in. polski model symulujący efekt sąsiedztwa i przykłady jego zastosowania.  
Paweł Wysocki<sup>1</sup>, Krzysztof W. Fornalski<sup>2,3,\*</sup>

1 – Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska

2 – Narodowe Centrum Badań Jądrowych

3 – PEJ Sp. z o.o.

\* krzysztof.fornalski@ncbj.gov.pl

## Literatura

- [1] Wideł M., Przybyszewski W., Rzeszowska-Wolny J. *Po-promienny efekt sąsiedztwa, ważny element odpowiedzi na promieniowanie jonizujące – potencjalne implikacje kliniczne*. Post. Hig. Med. Dośw. 2009 t. 63, s. 377-388.
- [2] Bryk D., Oljarz W., Zapolska-Downar D. *Kinazy aktywowane mitogenami i ich znaczenie w patogenezie miażdżycy*. Postępy Hig Med. Dośw (online), 68: 10 – 22, e-ISSN 1732 – 2693, 2014.
- [3] Ghosh S. *Handbook of Transcription Factor NF- $\kappa$ B*. Boca Raton: CRC, 2006.
- [4] Lenarczyk M., Słoiłowska M. G., Matjle T. *Indukcja popromiennej odpowiedzi adaptacyjnej w retikulocytach krwi obwodowej myszy*. Rocznik Państwowego Zakładu Higieny, 3.48: 239 – 344, 1997.
- [5] Mothersill C., Smith R., Wang J., Rusin A., Fernandez-Palomo C., Fazzari J., Seymour C. *Biological Entanglement – Like Effect After Communication of Fish Prior to X-Ray Exposure*. Dose-Response, Volume: 16 issue: 1, 2018.
- [6] Xia J., Liu L., Xue J., Wang Y., Wu L. *Modeling of radiation-induced bystander effect using Monte Carlo methods*. Nuc-

- lear Instruments and Methods in Physics Research B 267 1015 – 1018, 2009.
- [7] Kopeć-Szlęzak J. *Cytokiny w procesach odpornościowych*. Onkol. Pol, 8,4: 217-222, 2005.
- [8] <http://publications.iupac.org/pac/1992/pdf/6410x1535.pdf> (Masa atomowa – nazwa, historia, definicja i jednostki, dokument IUPAC, 1992.)
- [9] [https://pl.wikipedia.org/wiki/Rozk%C5%82ad\\_normalny#media/File:Normal\\_Distribution\\_PDF.svg](https://pl.wikipedia.org/wiki/Rozk%C5%82ad_normalny#media/File:Normal_Distribution_PDF.svg) (grafika rozkładu normalnego).
- [10] Khvostunov I.K., Nikjoo H. *Computer modeling of radiation-induced bystander effect*. J.Radiol. Prot. 22 A33-A37, 2002.
- [11] Nikjoo H., Khvostunov I.K. *A theoretical approach to the role and critical issues associated with bystander effect in risk estimation*. Human & Experimental Toxicology. 23: 81-86, 2004.
- [12] Nikjoo H. *Modeling of radiation – induced bystander effect at low dose and low LET*. Int. J. Low Radiation, Vol. 3, Nos. 2/3, 2006.
- [13] Nikjoo H., Khvostunov I.K. *Biophysical model of the radiation – induced bystander effect*. Int. J. Radiat. Biol, vol 79, No. 1, 43 – 52, 2003.
- [14] Brenner D.J., Little J.B., Sachs R.K. *The bystander effect in radiation oncogenesis: II. A quantitative model*. Radiation Research, 2001; 155:402–408.
- [15] Ebert M.A., Suchowska N., Jackson M.A., McKenzie D.R. *A mathematical framework for separating the direct and bystander components of cellular radiation response*. Acta Oncologica, 49: 1334 – 1343, 2010.
- [16] Taylor J.R. *Wstęp do analizy błędów pomiarowych*. Wyd. Naukowe PWN, 2016.
- [17] Hattori Y., Yokoya A., Watanabe R. *Cellular automaton-based model for radiation-induced bystander effects*. BMC System Biology, 9:90, 2015.
- [18] Wysocki P. *Modelowanie odpowiedzi grupy komórek na promieniowanie jonizujące metodą Monte Carlo*. Praca inżynierska, Wydział Fizyki Politechnika Warszawska, 2017, promotor: K. Fornalski.
- [19] Fornalski K.W. *Mechanistic model of the cells irradiation using the stochastic biophysical input*. International Journal of Low Radiation, vol. 9, no. 5/6, pp. 370-395, 2014.
- [20] Fornalski K.W., Dobrzyński L., Janiak M.K. *Stochastyczny model odpowiedzi komórek na promieniowanie*. Postępy Techniki Jądrowej, vol. 54, no. 3, 2011, pp. 23-37.
- [21] Gaillard S., Pusset D., de Toledo S.M., Fromm M, Azzam E.I. *Propagation Distance of the  $\alpha$ -Particle-Induced Bystander Effect: The Role of Nuclear Traversal and Gap Junction Communication*. Radiat. Res., 2009, 171(5), pp. 513–520.
- [22] Sasaki K., Waku K., Tsutsumi K., Itoh A., Date H. *A Simulation Study of the Radiation-Induced Bystander Effect: Modeling with Stochastically Defined Signal Reemission*. Computational and Mathematical Methods in Medicine (Hindawi Publishing Corporation), 2012, Article ID 389095, doi:10.1155/2012/389095.
- [23] Prise K.M., Folkard M., Michael B.D. *A review of the bystander effect and its implications for low-dose exposure*. Radiation Protection Dosimetry 104(4), 2003, pp. 347-355.
- [24] Nagasawa H., Little J.B. *Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles*. Cancer Res. 1992 Nov 15;52(22):6394-6.
- [25] Wysocki P. *Modelowanie Monte Carlo efektu sąsiedztwa oraz dynamiki procesu nowotworzenia dla grupy komórek narażonych na promieniowanie jonizujące*. Praca magisterska, Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska, 2019, promotor: K. Fornalski.
- [26] Fornalski K.W., Reszczyńska J., Dobrzyński L., Wysocki P., Janiak M.K. *Possible Source of the Gompertz Law of Proliferating Cancer Cells: Mechanistic Modeling of Tumor Growth*. Acta Physica Polonica A, No. 6 Vol. 138, 2020.
- [27] Dobrzyński L., Fornalski K.W., Reszczyńska J., Janiak M.K. *Modeling Cell Reactions to Ionizing Radiation: From a Lesion to a Cancer*. Dose-Response, vol. 17, no. 2, 2019.



## REALIZACJA PRAC PROJEKTOWYCH REAKTORA HTGR – UMOWA PODPISANA

Narodowe Centrum Badań Jądrowych oraz Ministerstwo Edukacji i Nauki podpisały umowę na realizację kolejnej partii prac projektowych wysokotemperaturowego reaktora chłodzonego gazem (ang. High Temperature Gas cooled Reactor, HTGR). W wydarzeniu, które odbyło się 12 maja 2021 r. w Otwocku-Świerku, uczestniczyli minister edukacji i nauki Przemysław Czarnek, minister klimatu i środowiska Michał Kurtyka oraz dyrektor Narodowego Centrum Badań Jądrowych Krzysztof Kurek.

Umowa przewiduje, że w ciągu trzech lat w Narodowym Centrum Badań Jądrowych zostaną przygotowane warunki do wybudowania w Polsce badawczego

reaktora wysokotemperaturowego. NCBJ opracuje projekt podstawowy takiego urządzenia na wstępnym poziomie szczegółowości. Na ten cel MEiN w porozumieniu z Ministerstwem Klimatu i Środowiska przeznaczy 60,5 mln zł.

- Działający od ponad 45 lat w Świerku badawczy reaktor MARIA był dziełem polskich naukowców i inżynierów. Cieszę się, że polscy naukowcy ponownie będą mogli zaprezentować swoje możliwości. Chcielibyśmy, aby stworzyli oni nową jakość – projekt urządzenia potrzebnego dla naszej gospodarki oraz stymulującego rozwój nauki. Dziś dajemy im do ręki potrzebne do tego środki – powiedział minister Przemysław Czarnek.

Jak zaznaczył minister klimatu i środowiska Michał Kurtyka reaktor HTGR to pierwszy krok w kierunku szerokiego wykorzystania reaktorów wysokotemperaturowych w gospodarce.