

MODELOWANIE BIOFIZYCZNE POPROMIENNEGO EFEKTU SĄSIEDZTWA – CZĘŚĆ II

Biophysical modeling of the radiation bystander effect - part II

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 zajęcia różnego rodzaju uszkodzenia (w tym mutacje) pojawiają się nie tylko w komórce bezpośrednio napromienionej, ale też wśród jej nienapromieniowanych sąsiadów.

Ten ciekawy efekt radiobiologiczny może być z sukcesem opisywany przez różnego rodzaju modele biofizyczne. Ich przegląd został przedstawiony w I części niniejszego artykułu (opublikowanej w poprzednim numerze PTJ). W tej części (II) przedstawiono dwa kolejne, a także opisano szerzej nowy model stworzony w Polsce.

2. Istniejące modele symulujące efekt sąsiedztwa

Chociaż efekt sąsiedztwa badany jest przede wszystkim przez radiobiologów, to z uwagi na specy-

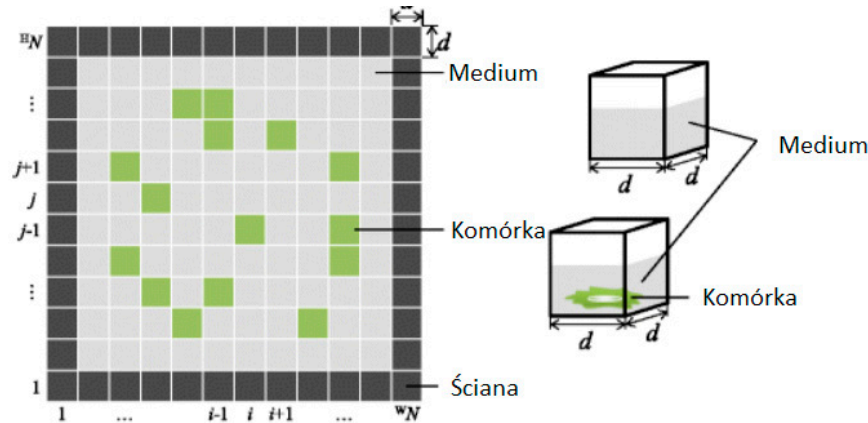
ficzne procesy rozchodzenia się sygnałów fizykochemicznych, które mogą być zapisane ściśle, również fizycy zaczęli zajmować się tą tematyką. W szczególności w ciągu ostatnich lat powstało wiele modeli biofizycznych, które implementując dane biologiczne oraz mechanizmy fizyczne do kodu komputerowego z sukcesem generują wyniki, które pomagają lepiej zrozumieć ten relatywnie niedawno odkryty efekt.

Poniżej opisano pozostałe z najważniejszych modeli opisujących popromienny efekt sąsiedztwa.

2.5. Model japoński Hattori-Yokoya-Watanabe

Jest to kolejny model [17] symulujący odpowiedź komórek na promieniowanie jonizujące z uwzględnieniem efektu sąsiedztwa. Opiera się on na dwuwymiarowym automacie komórkowym, w którym można rozróżnić trzy główne elementy:

- komórki;
- medium (np. pusta przestrzeń, woda);
- ściana (ściany naczynia, w którym znajduje się grupa komórek albo inna tkanka np. kość).



Rys. 2-8. Główne elementy automatu komórkowego wykorzystanego w modelu Hattori-Yokoya-Watanabe [17]
Figure 2-8. Main elements of the cellular automata used in the Hattori-Yokoya-Watanabe model [17]

W praktyce symulowano układ eksperymentalny jak na rysunku 2-8. Przy czym każde pole oznaczone jako komórka jest wypełnione podłożem hodowlanym, gdzie umiejscowiona jest właściwa komórka. W medium występuje tylko podłoże hodowlane, a ściana reprezentuje pojemnik, w którym znajduje się hodowla komórek.

Cały algorytm symulacji składa się z czterech głównych komponentów:

- napromieniania komórki;
- generowania sygnałów efektu sąsiedztwa;
- uszkodzeń DNA wywołanych bezpośrednim napromienieniem i sygnałami efektu sąsiedztwa;
- odpowiedzi komórki na wywołane uszkodzenia DNA.

Dawka pochłonięta przez napromienioną komórkę może być obliczona przy użyciu równania:

$$D_{i,j}(t) = d_{\text{track}} K_{i,j}(t) \quad (2.30)$$

gdzie:

- d_{track} – jest dawką, którą została napromieniona komórka od jednej cząstki promieniowania (a konkretnie powstałej w wyniku jej oddziaływania ścieżki);
- $K_{i,j}$ – liczba ścieżek promieniowania o współrzędnych (i,j) w chwili czasu t .

W tym miejscu należy wspomnieć, że liczba ścieżek promieniowania w sąsiednich komórkach jest opisana rozkładem Poissona i występuje w postaci:

$$P_{i,j}(n) = \frac{(a)^n e^{-a}}{n!} \quad (2.31)$$

gdzie:

- $P_{i,j}(n)$ – to prawdopodobieństwo pojawienia się n ścieżek promieniowania w polu (i, j) w czasie t ;
- a – to średnia liczba ścieżek promieniowania przechodzących przez pole (i,j) w czasie t ;

Wartość d_{track} i a są różne w zależności od typów promieniowania, np. dla komórek napromienionych ^{60}Co promieniowaniem gamma parametry te wynoszą odpowiednio: $d_{\text{track}} = 0,001$ Gy oraz $a = 1,000$ ścieżek/min, co obliczane jest za pomocą metod mikrodozymetrycznych [17].

Komórka na skutek oddziaływania z promieniowaniem może wysyłać sygnały efektu sąsiedztwa do komórek znajdujących się w pobliżu. Mogą się one rozchodzić na dwa sposoby:

- przez medium, tj. MDP (Medium-mediated Pathway);
- drogą połączeń szczelinowych, tj. GJP (Gap Junctional Pathway).

Ponadto w modelu założono, że sygnały nie mogą oddziaływać ze sobą, a ich liczba jest proporcjonalna do dawki. Rozchodzenie się sygnałów również jest ściśle określone i opisane następującym równaniem:

$$\Phi_{i,j}(t + \Delta t) = \Phi_{i,j}(t) + \frac{\Delta t}{4d^2} \Phi_W 2 \sum_{k_1, l_1} (\Phi_{k_1, l_1}(t) - \Phi_{i,j}(t)) + \sum_{k_2, l_2} (\Phi_{k_2, l_2}(t) - \Phi_{i,j}(t)) \quad (2.32)$$

gdzie:

- $\Phi_{i,j}(t)$ – to koncentracja sygnału efektu sąsiedztwa w polu (i,j) w czasie t ;
- Δt – to interwał czasowy;
- d^2 – to ściana komórki;
- Φ_W – to stała dyfuzji;
- k_1, l_1 – komórki sąsiadujące z komórką (i,j) (na wprost w pozycji:
 - » $(i + 1, j), (i - 1, j), (i, j + 1), (i, j - 1)$;
- k_2, l_2 – komórki sąsiadujące z komórką (i,j) (na skos w pozycji:
 - » $(i + 1, j + 1), (i - 1, j - 1), (i - 1, j + 1), (i + 1, j - 1)$;

W związku z tym, że w modelu uwzględnione są dwie ścieżki rozchodzenia się sygnału, należy zdefiniować dwie zmienne związane z kierunkiem dyfuzji sy-

gnału: ${}^M W'_{k,l}$ (związany z MDP) i ${}^G W'_{k,l}$ (związany z GJP), którego wartość jest związana z tym, czy pole (k,l) jest komórką, ścianą czy medium. I tak mamy:

$$\begin{aligned} {}^M W'_{k,l} &= M_w, \text{ gdy pole (k,l) jest komórką;} \\ {}^M W'_{k,l} &= M_w, \text{ gdy pole (k,l) jest medium;} \\ {}^M W'_{k,l} &= 0, \text{ gdy pole (k,l) jest ścianą;} \\ {}^G W'_{k,l} &= G_w, \text{ gdy pole (k,l) jest komórką;} \\ {}^G W'_{k,l} &= 0, \text{ gdy pole (k,l) jest medium;} \\ {}^G W'_{k,l} &= 0, \text{ gdy pole (k,l) jest ścianą.} \end{aligned}$$

Wartości stałych dyfuzji są bezpośrednio związane ze sposobem rozchodzenia się sygnałów dwiema drogami. W związku z tym, jeśli sygnał rozchodzi się na zasadzie MDP, wówczas może pojawić się w komórce i medium, dlatego, jeśli pole (k,l) ma właśnie taki status, to współczynnik ${}^M W'_{k,l} = M_w$. W przypadku GJP sygnał może pojawić się tylko i wyłącznie w komórce, dlatego, jeśli pole (k,l) ma status komórki, wtedy ${}^G W'_{k,l} = G_w$. W jednym i drugim przypadku sygnał nie może pojawić się w ścianie. Ponadto w przypadku GJP sygnał nie rozchodzi się do medium. W takim przypadku wartość stałej dyfuzji jest równa 0, co jest równoważne z zatrzymaniem sygnału.

Nawiązując do liczby sygnałów efektu sąsiedztwa produkowanych drogą MDP i GJP, to może zostać ona policzona przy użyciu następujących równań:

$$\begin{aligned} M_{i,j}(t + \Delta t) &= {}^M \alpha D_{i,j}(t) - {}^M \beta D_{i,j}(t) + M_{i,j}(t) \\ &+ \frac{\Delta t}{4a^2} [2 \sum_{k_1, l_1} {}^M W'_{k_1, l_1} (M_{k_1, l_1}(t) - M_{i,j}(t))] \\ &+ [\sum_{k_2, l_2} {}^M W'_{k_2, l_2} (M_{k_2, l_2}(t) - M_{i,j}(t))] \end{aligned} \quad (2.33)$$

$$\begin{aligned} G_{i,j}(t + \Delta t) &= {}^G \alpha D_{i,j}(t) - {}^G \beta D_{i,j}(t) + G_{i,j}(t) \\ &+ \frac{\Delta t}{4a^2} [2 \sum_{k_1, l_1} {}^G W'_{k_1, l_1} (G_{k_1, l_1}(t) - G_{i,j}(t))] \\ &+ [\sum_{k_2, l_2} {}^G W'_{k_2, l_2} (G_{k_2, l_2}(t) - G_{i,j}(t))] \end{aligned} \quad (2.34)$$

gdzie:

- ${}^M \alpha$ i ${}^G \alpha$ – to stałe związane z produkcją sygnałów;
- ${}^M \beta$ i ${}^G \beta$ – to stałe rozpadu, związane z redukcją liczby sygnałów;
- $D_{i,j}(t)$ – to dawka, którą została napromieniona komórka.

Znając już liczbę sygnałów efektu sąsiedztwa produkowanych przez napromienione komórki, można przejść do analizy w zakresie wywołanych uszkodzeń. Założono, że bezpośrednie napromienienie oraz sygnały efektu sąsiedztwa mogą wywoływać DSBs (Double Strand Breaks, czyli podwójnoniciowe pęknięcia DNA), które z kolei mogą powodować między innymi zatrzy-

manie cyklu komórkowego lub śmierć komórki. Ponadto uszkodzenia wywołane bezpośrednim napromienieniem i sygnałami efektu sąsiedztwa są produkowane niezależnie, przy czym liczba DSBs jest proporcjonalna do liczby sygnałów efektu sąsiedztwa.

Całkowita liczba uszkodzeń jest obliczana przy użyciu następującego równania:

$$Z_{i,j}(t + \Delta t) = Z_{i,j}(t) + {}^R Z_{i,j} + {}^M Z_{i,j} + {}^G Z_{i,j} + {}^B Z_{i,j} - {}^r Z_{i,j} \quad (2.35)$$

gdzie:

- ${}^R Z_{i,j}$ – to uszkodzenia powstałe na skutek bezpośredniego napromienienia;
- ${}^M Z_{i,j}$ – to uszkodzenia wywołane sygnałami MDP;
- ${}^G Z_{i,j}$ – to uszkodzenia wywołane sygnałami GJP;
- ${}^B Z_{i,j}$ – to uszkodzenia wywołane czynnikami zewnętrznymi;
- ${}^r Z_{i,j}$ – to uszkodzenia, które zostały naprawione.

Wszystkie człony równania (2.36) i wyglądają następująco:

$$\begin{aligned} {}^R a_{i,j} &= {}^{ZR} \lambda_{i,j} D_{i,j}(t) \\ {}^M a_{i,j} &= {}^{ZM} \lambda_{i,j} M_{i,j}(t) \Delta t \\ {}^G a_{i,j} &= {}^{ZG} \lambda_{i,j} G_{i,j}(t) \Delta t \\ {}^B a_{i,j} &= {}^{ZB} \lambda_{i,j} \end{aligned}$$

gdzie:

$$\begin{aligned} {}^R a_{i,j} &\text{ – to średnia wartość } {}^R Z_{i,j} \\ {}^M a_{i,j} &\text{ – to średnia wartość } {}^M Z_{i,j} \\ {}^G a_{i,j} &\text{ – to średnia wartość } {}^G Z_{i,j} \\ {}^B a_{i,j} &\text{ – to średnia wartość } {}^B Z_{i,j} \end{aligned}$$

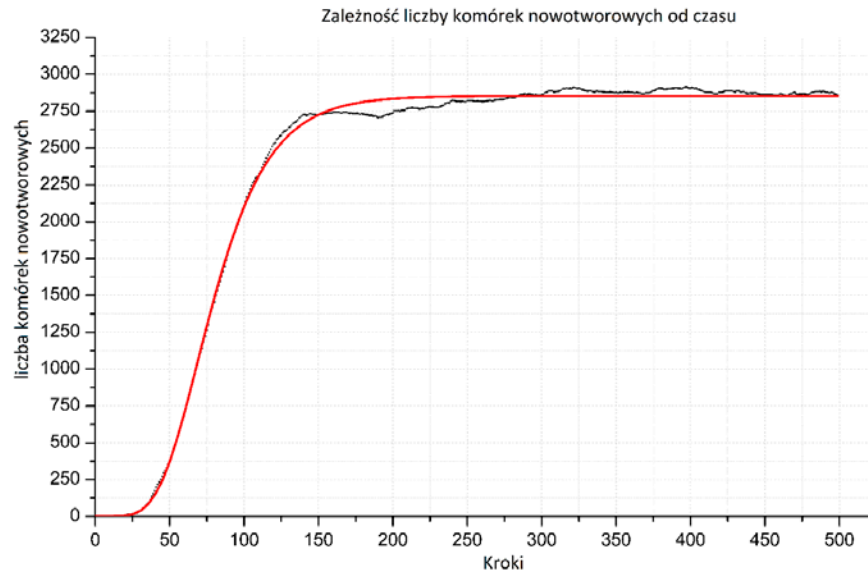
Współczynnik $\lambda_{i,j}$, występujący w powyższych równaniach jest stałą, której wartość jest różna dla każdego członu.

Jeśli chodzi o prawdopodobieństwo naprawy uszkodzeń DSBs, to w modelu zostało ono uproszczone i założono jego niezmienniczość dla wszystkich rodzajów uszkodzeń wynoszące ${}^{Zr} \lambda_{i,j}$.

2.6. Model Monte Carlo

Kolejnym modelem symulującym efekt sąsiedztwa jest model Monte Carlo w oparciu o drzewo prawdopodobieństw [19] [20] opracowany w polskim Narodowym Centrum Badań Jądrowych. W modelu tym brano pod uwagę wyłącznie negatywne skutki tego efektu polegające na pojawieniu się dodatkowego uszkodzenia w komórce.

Wspomniany model Monte Carlo jest całkowicie stochastyczny oraz opisuje kompleksowo, lecz na poziomie ogólnym, możliwie wszystkie zjawiska biofizyczne dotyczące napromienionej komórki uwzględniając m.in. śmierć komórki, transformację w komórkę nowotworową, spontaniczne powstanie uszkodzeń, naprawę uszkodzeń itd., który, jak wspomniano, w swo-



Rys. 2-9 Wykres zależności liczby komórek nowotworowych od czasu, uzyskany w wyniku symulacji, w której zdrowe komórki zostały napromienione stałą mocą dawki przez określony czas. Czerwona krzywa reprezentuje dopasowywaną funkcję (tzw. krzywa Gomperta [26]), czarna zaś reprezentuje przykładowe wyniki symulacji

Figure 2-9. The number of cancer cells in function of time, obtained by simulation in which healthy cells were irradiated with a constant dose rate for a specified period of time. The red curve represents the matched function (the so-called Gompertz curve [26]), and the black one represents exemplary simulation results

im działaniu wykorzystuje procesy Monte Carlo oraz drzewo prawdopodobieństw.

Prawdopodobieństwo wystąpienia tego zjawiska jest określone następującym rozkładem prawdopodobieństwa [19]:

$$P_b = \beta_1 [1 - \exp(-\beta_2 D)] \quad (2.36)$$

Jest to rozkład kwasi – liniowy zależny od dawki (D), ze stałymi skalującymi β_1 i β_2 , który wysyca się dla dużych dawek. Jest to więc zgodne z wieloma doniesieniami eksperymentalnymi w tym zakresie [23][24].

Opisywany model traktuje czas jako dyskretny, gdzie w każdym kroku czasowym brana pod uwagę jest i -ta komórka, u której może wystąpić efekt sąsiedztwa, zgodnie z równaniem 2.36. Inaczej mówiąc równanie 2.36 opisuje, czy w danym kroku czasowym efekt sąsiedztwa zostanie zainicjowany przez i -tą komórkę, czy nie.

Następnie, jeśli i -ta komórka jest w stanie zapoczątkować efekt sąsiedztwa (prawdopodobieństwo P_b jest spełnione), wysyła sygnały do komórek sąsiednich, które mogą je uszkadzać z prawdopodobieństwem wyrażonym jako rozkład [19]

$$P'_b(r) = \frac{\text{const}}{r!} \quad (2.37)$$

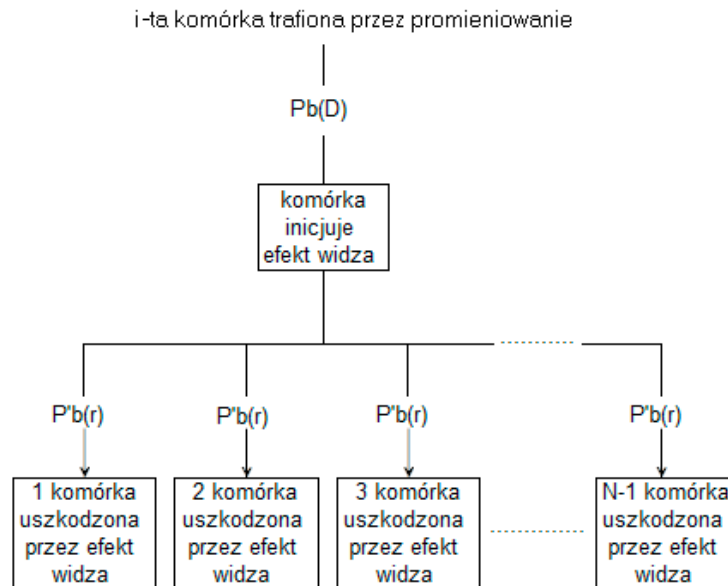
gdzie r jest odległością pomiędzy komórką i -tą, czyli inicjującą efekt sąsiedztwa, a j -tą, u której efekt sąsiedztwa może wystąpić. Czynniki pochodzą z rozkładu Poissona, co było już wielokrotnie omawiane przy okazji innych modeli. Schemat blokowy opisywanego

algorytmu efektu sąsiedztwa przedstawiono na rysunku 2-10.

W celu przetestowania efektu sąsiedztwa przeprowadzono symulacje, w których 700 zdrowych komórek zostało napromienionych stałą mocą dawki promieniowania równej 1 UAD/krok, gdzie UAD (Unit of Absorbed Dose) jest niewykalibrowaną jednostką dawki pochłoniętej. Jej dokładne określenie może odbyć się dopiero w wyniku przeprowadzenia kalibracji modelu na danych eksperymentalnych. Wartości parametrów wykorzystanych w symulacjach wynosiły odpowiednio $\beta_1 = 0,001$ i $\beta_2 = 300$. W każdej symulacji zliczana była liczba komórek uszkodzonych podczas pojedynczego efektu sąsiedztwa. Następnie na podstawie wszystkich wyników, wyliczona została średnia, która wynosiła: 5 ± 4 . Jest to wynik zgodny z oczekiwaniami, gdyż pokazuje, że efekt sąsiedztwa zachodzi głównie dla komórek położonych najbliżej komórki inicjującej efekt.

3. Opracowanie modelu własnego

Przedstawiony w poprzednim rozdziale przegląd istniejących modeli pokazuje, iż istnieje bardzo wiele możliwości ścisłego opisu tego ciekawego zjawiska radiobiologicznego, jakim jest radiacyjny efekt sąsiedztwa. Większość modeli posiada pewne cechy wspólne (np. użycie równania dyfuzji do opisu rozchodzenia się sygnału sąsiedztwa, czy też poissonowski rozkład dawki od napromienionej komórki), ale są też zasadnicze różnice między nimi. Oczywiście każdy z tych modeli miał na celu zastosowanie do konkretnej sytuacji, a osadzenie w takim, a nie innym formalizmie matema-



Rys. 2-10. Schemat blokowy algorytmu efektu sąsiedztwa (widza) użyty w programie symulującym odpowiedź grupy komórek na promieniowanie jonizujące metodą Monte Carlo [25]. Przedstawione funkcje prawdopodobieństwa zadane są równaniami 2.36 i 2.37

Figure 2-10. Block diagram of the bystander effect algorithm used in a program simulating the response of a group of cells to ionizing radiation using the Monte Carlo method [25]. The presented probability functions are given by equations 2.36 and 2.37

tycznym było dobrane przez autorów, jako optymalne w dedykowanym zakresie.

Z uwagi na to, iż efekt sąsiedztwa jest wciąż badany, a pewne jego elementy nie do końca poznane, nie istnieje jeden uniwersalny model jego opisu. Dlatego też podejście zakładające tworzenie dedykowanego modelu do konkretnego zastosowania wydaje się jedyne możliwe, chociaż zasadniczo zawęża nam możliwości stosowania takiego konkretnego rozwiązania w bardziej ogólnym aspekcie.

Badania biofizyczne nad efektem sąsiedztwa, a konkretnie jego symulacje komputerowe, były prowadzone także w Polsce, między innymi w Narodowym Centrum Badań Jądrowych oraz na Wydziale Fizyki Politechniki Warszawskiej. Symulacje efektu stanowiły element szerszych symulacji wpływu promieniowania jonizującego na grupę komórek, w szczególności procesów nowotworzenia [27].

3.1. Opis algorytmu

Wspomniany rodzimy model efektu sąsiedztwa, opracowany przez autorów niniejszego artykułu, swoje działanie opiera na połączeniu dwóch ostatnich opisywanych w poprzednim rozdziale modeli, a mianowicie modelu Monte Carlo oraz modelu japońskiego Hattori-Yokoya-Watanabe z pewnymi modyfikacjami. Podejście to uwzględnia najważniejsze cechy efektu sąsiedztwa, a mianowicie:

- rozchodzenie się sygnału na drodze dyfuzji;
- wysycanie się jego rozkładu prawdopodobieństwa dla pewnej dawki;

- poissonowski kształt zależności liczby uszkodzeń od odległości od komórki trafionej.

W pierwszym etapie symulacji poszczególnym elementom trójwymiarowej tablicy imitującej grupę komórek zostają nadane odpowiednie statusy (takie jak medium, czyli obszar międzykomórkowy tożsamy z brakiem komórki, czy też właściwa komórka, która z kolei może być zdrowa, uszkodzona, zmutowana lub nowotworowa). Następnie w każdym kroku czasowym obliczana jest liczba sygnałów efektu sąsiedztwa, zarówno tych rozchodzących się drogą MDP, jak i GJP za pomocą równań 2.33 i 2.34 (zob. model japoński).

Kolejnym etapem jest obliczenie za pomocą zmodyfikowanego wzoru całkowitej liczby uszkodzeń pojawiających się w poszczególnych komórkach wywołane sygnałami GJP i MDP za pomocą zmodyfikowanego równania (2.35):

$$Z_{i,j}(t + \Delta t) = Z_{i,j} + {}^M Z_{i,j} + {}^G Z_{i,j} \quad (3.1)$$

gdzie:

- ${}^M Z_{i,j} = \lambda_M M_{i,j}$
- ${}^G Z_{i,j} = \lambda_G G_{i,j}$

Przy czym λ_G i λ_M są to stałe, a $M_{i,j}$ i $G_{i,j}$ to odpowiednio liczba uszkodzeń powstałych na drodze MDP i GJP. Całkowita liczba uszkodzeń, po odpowiednim przeskalowaniu, jest traktowana jako wkład do prawdopodobieństwa zapoczątkowania wystąpienia efektu sąsiedztwa, co opisane jest szczegółowo według schematu z rysunku 2-10. Pozostałe procesy opisywane są według wspomnianego modelu Monte Carlo: każda

komórka ma swój wiek, liczbę uszkodzeń oraz tablicę, w której przechowywane są informacje o dawkach, którymi została napromieniona w danym kroku czasowym (historia napromienienia komórki). Komórki posiadające status zdrowych mają liczbę uszkodzeń równą 0, a powyżej tej wartości – status zmienia się na uszkodzoną. Uszkodzenia nienaprawione (lub niepoprawnie naprawione) stają się mutacjami. Jeśli w komórce pojawi się mutacja, wtedy zmienia ona automatycznie swój status na zmutowaną. Nagromadzenie mutacji w komórce prowadzi do transformacji w komórkę nowotworową według sigmoidalnego rozkładu prawdopodobieństwa [27].

Cały algorytm składa się z dwóch instrukcji iteracyjnych (pętli). Pierwsza z nich jest pętlą po krokach czasowych, zaś druga po wszystkich elementach tablicy trójwymiarowej, czyli po wszystkich komórkach. W każdym kroku czasowym komórka może zostać napromieniona lub nie, co w konsekwencji może wywołać różne zjawiska, w szczególności opisywany tu efekt sąsiedztwa.

3.2. Przykładowe wyniki symulacji

W tabeli 3-1 przedstawiono parametry wejściowe użyte do symulacji efektu sąsiedztwa w przedstawionym wyżej podejściu.

Tabela 3-1. Wartości poszczególnych parametrów użytych do obliczenia liczby sygnałów i liczby uszkodzeń związanych z efektem sąsiedztwa [17], a także rozkładu prawdopodobieństwa jego wystąpienia [19]
Table 3-1. The values of individual parameters used to calculate the number of signals and the number of damages associated with the bystander effect [17], as well as the probability distribution of its occurrence [19]

Parametr	Przyjęta wartość
a	10^{-5}
M_w	10^{-10}
M_α	1
M_β	$4.6 \cdot 10^{-6}$
G_w	$5 \cdot 10^{-11}$
G_α	1
G_β	$1.18 \cdot 10^{-3}$
λ_D	60
λ_M	0.006
λ_G	0.06
β_1	0.001
β_2	300

Jednym z podstawowych elementów, które w stonkowo prosto można przetestować za pomocą symulacji jest stwierdzenie, jaką część wszystkich uszkodzeń stanowią te wywołane sygnałami efektu sąsiedztwa. W tym celu zasymulowano napromienienie 512 zdrowych komórek jednakową dawką promieniowania na jeden krok (czyli stałą mocą dawki) przez 500 kroków czasowych. Każda z symulacji została powtórzona 100 razy, a przedstawione wyniki są średnią arytmetyczną uzyskanych wartości dla trzech różnych wariantów:

Wariant 1:

- Dawka na krok – 0.001 Gy;
- Uszkodzenia powstałe w wyniku bezpośredniego napromienienia i interakcji z sygnałami efektu sąsiedztwa – 31 ± 1 ;
- Uszkodzenia wywołane sygnałami efektu sąsiedztwa – 2 ± 0.8 .

Wariant 2:

- Dawka na krok – 0.005 Gy;
- Uszkodzenia powstałe w wyniku bezpośredniego napromienienia i interakcji z sygnałami efektu sąsiedztwa – 159 ± 6 ;
- Uszkodzenia wywołane sygnałami efektu sąsiedztwa – 10 ± 5 .

Wariant 3:

- Dawka na krok – 0.01 Gy;
- Uszkodzenia powstałe w wyniku bezpośredniego napromienienia i interakcji z sygnałami efektu sąsiedztwa – 312 ± 9 ;
- Uszkodzenia wywołane sygnałami efektu sąsiedztwa – 20 ± 7 .

Z powyższego wynika, że główną część powstających uszkodzeń stanowią te wywołane bezpośrednim napromienieniem. Defekty pochodzące od sygnałów efektu sąsiedztwa niezależnie od wartości użytej dawki stanowią około 20% wszystkich uszkodzeń. Wynik jest więc zgodny z oczekiwaniami [1].

W kolejnej symulacji komórki były napromieniane tylko w 5 i 15 kroku czasowym dawką równą 0.001 Gy, w pozostałych krokach czasowych dawka była równa zero. Czas trwania symulacji oraz początkowa liczba zdrowych komórek nie uległa zmianie. W efekcie liczba wszystkich uszkodzeń wynosiła 0.15 ± 0.05 , z czego te pochodzące od sygnałów efektu sąsiedztwa to 0.03 ± 0.02 .

Kolejna symulacja sprawdzała sposób rozchodzenia się sygnałów efektu sąsiedztwa. W tym celu użyto stałej mocy dawki promieniowania, której wartość wynosiła 0.001 Gy/krok do napromienienia komórki o współrzędnych $x = 5, y = 5, z = 5$. Dla pozostałych komórek dawka wynosiła zero. Po pierwszym kroku czasowym

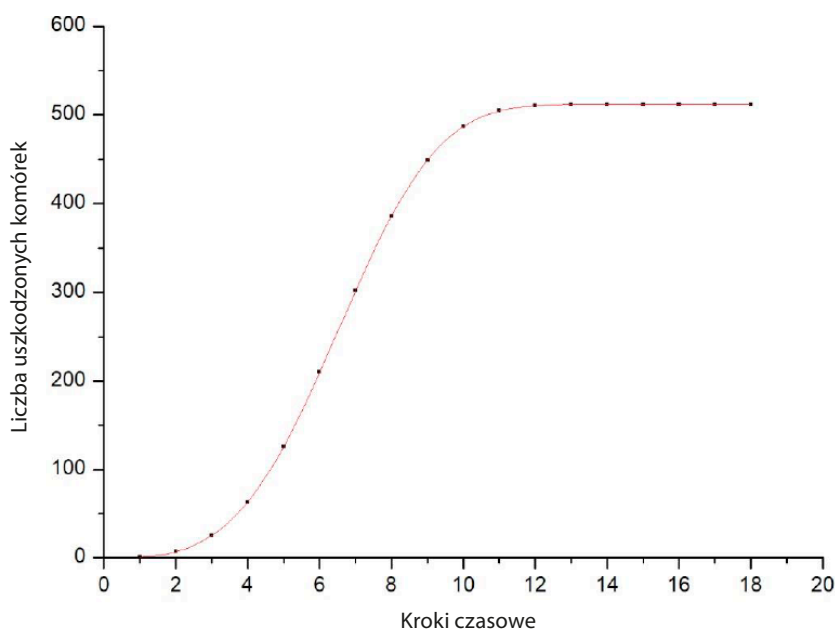
uszkodzenia pojawiają się tylko w bezpośrednio napromienianej komórce z częstością równą $6.52 \cdot 10^{-6}$. Po drugim kroku czasowym uszkodzenia wystąpiły u 7 komórek, przy czym jedna z nich to ta, która była bezpośrednio napromieniona. Pozostałe sześć komórek to najbliżsi sąsiedzi komórki bezpośrednio napromienionej: najwięcej uszkodzeń wystąpiło w komórce o współrzędnych $(x,y,z)=(5,5,5)$, zaś ich częstość wyniosła $1.94 \cdot 10^{-5}$, a w pozostałych komórkach $1.78 \cdot 10^{-8}$. Po trzecim kroku czasowym uszkodzenia pojawiły się u 25 komórek. Liczbę uszkodzeń, które zostały uzyskane w wyniku symulacji obliczono przy użyciu równania 3.1, przy czym w ogólniejszym podejściu te wartości po przeskalowaniu będą stanowiły prawdopodobieństwo pojawienia się efektu sąsiedztwa w konkretnej komórce w danym kroku czasowym.

W kolejnych krokach czasowych uszkodzenia pojawiały się w coraz bardziej odległych komórkach. Po 13 krokach wszystkie komórki biorące udział w symulacji miały częstość uszkodzeń różną od zera co oznacza, że przy dostatecznie długim napromienieniu sygnały efektu sąsiedztwa mogą rozejść się nawet do bardzo odległych komórek od miejsca napromienienia. Wykres zależności liczby komórek, w których pojawiły się uszkodzenia od czasu ma charakter sigmoidalny, co przedstawiono na rysunku 3-1. Widać na nim, że liczba komórek między 4 a 9 krokiem czasowym rośnie quasi-liniowo, po czym następuje wysycenie się. Najlepszą krzywą dopasowania okazała się krzywa Avramiego postaci $a - b \cdot \exp(-cx^d)$ (która oryginalnie wywodzi się

z teorii nukleacji i wzrostu kryształów [27]), jednakże nie oznacza to, że po wysyceniu się częstość uszkodzeń we wszystkich komórkach jest taka sama – ta przebiega według rozkładu zbliżonego do rozkładu Poissona.

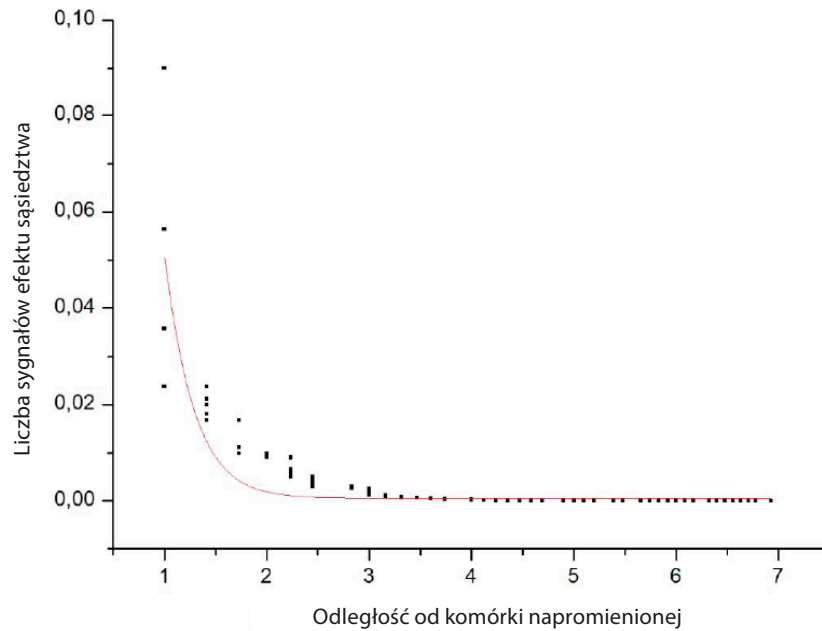
W tym miejscu warto wspomnieć, iż poissonowski charakter rozchodzenia się sygnałów został sprawdzony: wykonane zostały symulacje, w których w pierwszym kroku czasowym jedna komórka została napromieniona dawką 2 UAD. W pozostałych krokach czasowych i dla pozostałych komórek dawka była zerowa. Następnie sprawdzono liczbę sygnałów we wszystkich komórkach po 500 krokach. Na rys. 3-2 przedstawiony został wykres zależności liczby sygnałów sąsiedztwa w komórce od odległości od komórki bezpośrednio napromienionej. Można zauważyć, że kształt różni się nieco od krzywej Poissona. Jest to spowodowane wpływem innych komórek (w tym zmianami ich statusu) oraz złożonością pełnego modelu w stosunku do idealnie poissonowskiego opisu pojedynczej komórki [25].

Powyższe wyniki symulacji potwierdzają tezę, że uszkodzenia pojawiają się nie tylko wśród komórek bezpośrednio napromienionych, ale również wśród ich sąsiadów. Ponadto liczba uszkodzeń pochodzących od sygnałów efektu sąsiedztwa stanowi tylko część wszystkich uszkodzeń powstałych w komórkach, co również jakościowo dowodzi poprawnego działania modelu.



Rys. 3-1. Wykres zależności liczby komórek, w których pojawiły się uszkodzenia wywołane efektem sąsiedztwa, od czasu (niebieskie punkty). Dopasowano krzywą Avramiego o równaniu $512 - 511,55 \cdot \exp(-0,13 \cdot x^{3,4})$ [25]

Figure 3-1. The number of cells with bystander damages in the function of time (blue dots). The Avrami curve with the equation $512 - 511.55 \cdot \exp(-0.13 \cdot x^{3.4})$ [25] was fitted



Rys. 3-2. Wykres zależności liczby sygnałów efektu sąsiedztwa od odległości od komórki napromienionej (niebieskie punkty), do którego dopasowano rozkład Poissona (czerwona krzywa, $R^2=0,67$) [25]

Figure 3-2. The number of signals of the bystander effect in the function of the distance from the irradiated cell (blue points), to which the Poisson distribution was fitted (red curve, $R^2 = 0.67$) [25]

Podsumowanie

Niniejszy artykuł (opublikowany w dwóch częściach w dwóch kolejnych numerach PTJ) traktuje o stosunkowo niedawno odkrytym zjawisku radiobiologicznym, jakim jest efekt sąsiedztwa (widza), w którym komórki nienapromienione wykazują pewne cechy napromienienia, gdy napromieniona została komórka sąsiednia. Efekt sąsiedztwa otwiera więc listę tzw. efektów niecelowanych, które mogą zachodzić w organizmie poddanym działaniu promieniowania jonizującego. Efekt ten, bardzo istotny z punktu widzenia chociażby radioterapii, doczekał się szeregu modeli biofizycznych, w których połączono wiedzę z zakresu radiobiologii i biofizyki z wykorzystaniem narzędzi symulacyjnych. Szeroki przegląd różnych modeli znajduje się w pierwszej części niniejszego artykułu.

Jeden z zaawansowanych modeli powstał również w Polsce na potrzeby modelowania wpływu niskich dawek promieniowania jonizującego na ryzyko wystąpienia poradiacyjnej transformacji nowotworowej na poziomie komórkowym. Został on opisany w drugiej części artykułu, jednakże wymaga on dodatkowych prac, m.in. kalibracji dla konkretnego przypadku klinicznego. Niemniej jednak już teraz można stwierdzić, patrząc na zaproponowane podejście jedynie jakościo-wo, iż model ten uwzględnia wszystkie zasadnicze cechy niezbędne do prawidłowego opisu radiacyjnego efektu sąsiedztwa.

Podziękowanie

Autorzy pragną podziękować Panu prof. Ludwikowi Dobrzyńskiemu z NCBJ za wsparcie i uwagi merytoryczne, a także Panom dr Markowi Kirejczykowi i mgr inż. Łukaszowi Adamowskiemu z NCBJ za ogromną pomoc i niezależną weryfikację kodu numerycznego.

Paweł Wysocki,
Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska
Krzysztof W. Fornalski
Narodowe Centrum Badań Jądrowych,
Otwock-Świerk
PEJ sp. z o.o., Warszawa

Literatura:

- [1] Wideł M., Przybyszewski W., Rzeszowska-Wolny J. Popromienny 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- κ B*. Boca Raton: CRC, 2006.
- [4] Lenarczyk M., Słoiowska 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*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 267 1015 – 1018, 2009.
- [7] Kopeć-Szłęzak 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 (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., Suchowerska 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 α -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