

WYBRANE MODELE BIOFIZYCZNE DLA RADIACYJNEJ ODPOWIEDZI ADAPTACYJNEJ

Selected biophysical models for the radiation adaptive response

Rafał Jarmakiewicz, Krzysztof W. Fornalski

Streszczenie: W niniejszym artykule przeglądowym przedstawiono zagadnienie radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej z punktu widzenia biofizycznego. Efekt ten – w dużym uproszczeniu – polega na wzmocnieniu mechanizmów naprawczych komórki oraz regulowaniu apoptozy i produkcji białek, w sytuacji napromienienia niską dawką lub mocą dawki promieniowania jonizującego. Jednakże efekt ten nie występuje zawsze, a jego powtarzalność eksperymentalna bywa częstokroć kwestionowana. Nie zmienia to faktu, że mechanizmy wywołujące odpowiedź adaptacyjną wymagają wciąż wielu badań, nie tylko radiobiologicznych, ale też fizycznych. W tym duchu powstało szereg modeli teoretycznych, a wybrane z nich zostały szczegółowo omówione w niniejszym artykule przeglądowym. Modele te stanowią dobry przykład możliwości współpracy na trójstyku biologii, fizyki i matematyki.

Abstract: This review article presents the issue of radiation adaptive response from a biophysical point of view. This effect – to put it very simply – involves strengthening cell repair mechanisms and regulating apoptosis and protein production in the event of irradiation with a low dose or dose-rate of ionizing radiation. However, this effect does not always occur and its experimental repeatability is often questioned. This does not change the fact that the mechanisms causing the adaptive response still require a lot of research, not only radiobiological, but also physical. In this spirit, a number of theoretical models have been developed, and some of them are discussed in detail in this review article. These models are a good example of the possibilities of cooperation at the intersection of biology, physics and mathematics.

Słowa kluczowe: odpowiedź adaptacyjna; niskie dawki; promieniowanie jonizujące; modelowanie; efekt Yonezawy

Keywords: adaptive response; low doses; ionizing radiation; modelling; Yonezawa effect

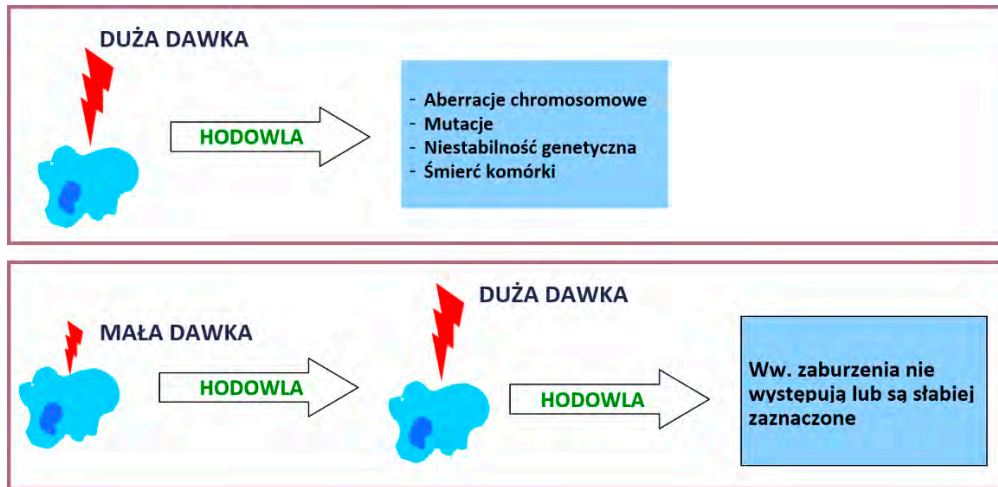
1. Wstęp

Radiacyjna odpowiedź adaptacyjna (Wolff 1998; Feinendegen 1999; Mitchel 2010) to jeden z tzw. efektów niecelowanych, polegający m.in. na zwiększeniu sprawności mechanizmów naprawczych uszkodzeń popromiennych, regulacji produkcji białek czy też regulacji procesu apoptozy. Odpowiedź adaptacyjna może zostać wywołana na wiele sposobów, spośród których wyróżniają się dwa szczególne: w wyniku stymulacji komórek małą dawką promieniowania (lub wieloma małymi dawkami) oraz w wyniku stymulacji stałą małą mocą dawki promieniowania jonizującego (chroniczne napromieniowanie). Efekt odpowiedzi adaptacyjnej nie jest efektem zachodzącym zawsze, a wręcz przeciwnie – istnieje pewne prawdopodobieństwo jego wywołania, które zależy od wielu złożonych czynników. Jeśli wystąpi, wówczas radiacyjna odpowiedź adaptacyjna zachodzi po pewnym czasie od otrzymania impulsu dawki (dawek) promieniowania lub po pewnym czasie od rozpoczęcia chronicznego napromieniowania komórek, tkanki lub organizmu.

Efekt radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej może przejawiać się poprzez (Guéguen et al. 2019):

- zwiększone możliwości usuwania wolnych rodników,
- zwiększenie skuteczności naprawy uszkodzeń DNA,
- produkcję nowych białek i antyoksydantów,
- wzmocnienie reakcji immunologicznych,
- regulację cyklu komórkowego, czy też
- indukcję apoptozy.

Sz szczególnie istotnym sposobem wywołania odpowiedzi adaptacyjnej jest wspomniane wyżej napromieniowanie komórek, tkanek lub organizmów impulsem dawki (lub wieloma impulsami). Taki sposób wywołania odpowiedzi adaptacyjnej jest dużo łatwiejszy do zaplanowania i przeprowadzenia badań eksperymentalnych. Ponadto, dokładne poznanie tego zjawiska, a także skonstruowanie modelu dobrze go opisującego, mogłoby znacznie przyczynić się do minimalizowania niepożądanych, negatywnych efektów biologicznych związanych z napromieniowaniem komórek lub tkanek. Efektem dawki poprzedzającej (lub równoważnie efektem Yonezawy lub Rapera-Yonezawy) nazywa się sposób wywołania odpowiedzi adaptacyjnej, gdy przed podaniem docelowej dawki promieniowania



Rys. 1. Schemat ilustrujący efekt Yonezawy (zwany efektem dawki poprzedzającej lub efektem Rapera-Yonezawy) na podstawie hipotetycznej hodowli komórek. Gdy komórki napromieniowano jedynie dużą (docelową) dawką promieniowania, po pewnym czasie zaobserwowano liczne zaburzenia związane z uszkodzeniami DNA. Gdy taką samą kolonię komórek przed napromieniowaniem dawką docelową, z odpowiednim odstępem czasowym, napromieniowano małą, stymulującą dawką, to wyżej wymienione zaburzenia występują znacznie rzadziej. Źródło: prezentacja prof. M. Janiaka (2008)

Fig. 1. The schematic view on the Yonezawa effect (called priming dose effect, or the Raper-Yonezawa effect) based on the hypothetical cell cultures. When cells were irradiated with only a high (targeted or challenging) dose of radiation, after some time numerous lesions related to DNA damage were observed. When the same colony of cells is irradiated with a small, stimulating dose (called priming dose) before irradiation with the challenging dose, with an appropriate time interval, the above-mentioned lesions occur much less frequently. Source: presentation by prof. M. Janiak (2008)

wcześniej komórki, tkanki lub organizm napromieniowano małą dawką. Taki schemat napromieniowania przedstawiono na rys. 1.

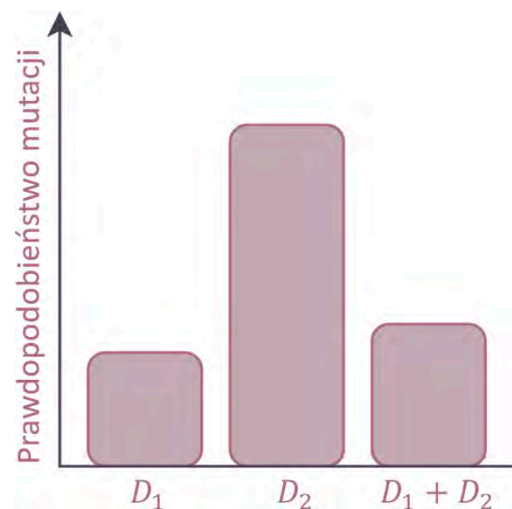
W celu pełnego zrozumienia efektu Yonezawy zaprezentowanego na rys. 1 posłużmy się wykresem z rys. 2 (zwanym schematem Yonezawy). Pokazuje on, że prawdopodobieństwo wystąpienia danego biologicznego wskaźnika (end-point'u), na przykład mutacji, powstałej w wyniku napromieniowania małą dawką D_1 (poprzedzającą, tzw. priming dose) jest stosunkowo małe w porównaniu do napromieniowania pojedynczą dawką D_2 (docelową, tzw. challenging dose). Natomiast dla organizmu napromieniowanego najpierw dawką poprzedzającą D_1 , a następnie, po pewnym interwale czasowym, napromieniowanego dawką docelową D_2 , prawdopodobieństwo mutacji jest mniejsze niż suma prawdopodobieństw mutacji pochodzących od napromieniowania pojedynczą dawką D_1 oraz od napromieniowania pojedynczą dawką D_2 (scenariusz, gdy pomiędzy dawkami brak interwału czasowego).

Ze względu na potencjalnie duże znaczenie biologiczne radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej powstało wiele modeli biomatematycznych i biofizycznych próbujących określić prawdopodobieństwo jego wystąpienia oraz poziomu tegoż efektu. Przykładowe modele to:

- Model Yonezawy i Smirnowej (Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996) – jest modelem deterministycznym, ściśle związanym z biologią. Jest on dedykowany bezpośrednio efektowi Yonezawy dla komórek mysich. Model ten bazuje na układzie wielu równań różniczkowych, szczegółowo opisują-

cych dynamikę koncentracji komórek krwi w zależności od schematu napromieniowania. Ten model został szeroko opisany w rozdziale 2.

- Model Esposito et al. (Esposito et al. 2011) – to model deterministyczny, który wywodzi się z modelu LPL (Lethal Potentially Lethal) (Curtis 1986). Model ten nie wprowadza wymagań dotyczących rodzajów komórek do których może zostać stosowany, a jego



Rys.2. Schemat efektu Yonezawy. Symbole D_1 oraz D_2 oznaczają odpowiednio dawkę poprzedzającą oraz dawkę docelową ($D_1 < D_2$). $D_1 + D_2$ oznacza napromieniowanie najpierw dawką poprzedzającą D_1 , a następnie, po odpowiednim interwale czasowym, napromieniowanie dawką docelową D_2 .

Fig. 2. Diagram of the Yonezawa effect. The symbols D_1 and D_2 mean the priming dose and the challenging dose ($D_1 < D_2$), respectively. $D_1 + D_2$ means irradiation first with the priming dose D_1 , and then, after an appropriate time interval, irradiation with the challenging dose D_2 .

architektura pozwala na symulację różnych schematów napromieniowania. Model został opisany w rozdziale 3.

- Model Bodgi'ego i Foray'a (Bodgi i Foray 2016) – jest modelem, który stanowi rozwinięcie modelu linowo-kwadratowego (LQ) (Kellerer i Rossi 1974; Chadwick i Leenhouts 1973; Williams i Denekamp 1985) na podstawie teorii związanych z biologicznymi procesami naprawy uszkodzeń DNA. Model ten nie zawiera ograniczeń dotyczących rodzajów komórek, do których może zostać stosowany. Dokładny opis modelu zawarto w rozdziale 4.

Niniejszy artykuł zawiera przegląd i szczegółowy opis wszystkich wymienionych wyżej trzech modeli opisujących radiacyjną odpowiedź adaptacyjną od strony matematycznej i fizycznej.

2. Model Yonezawy i Smirnowej

Model autorstwa Yonezawy i Smirnowej opisuje wpływ promieniowania jonizującego na hematopoezę, czyli proces krwiotwórczy - systemu krytycznego do poprawnego funkcjonowania organizmu (Calvi et al. 2019; Sacher i Trucco 1996; Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996). W skład hematopoezy wchodzi cztery główne procesy, a każdy z nich jest odpowiedzialny za powstawanie innych komórek krwi: trombopoeza odpowiedzialna za powstawanie trombocytów, erytropoeza odpowiedzialna za powstawanie erytrocytów, limfopoeza odpowiedzialna za powstawanie limfocytów oraz granulopoeza odpowiedzialna za powstawanie granulocytów. Każdy z wymienionych procesów zawiera własny zestaw komórek – począwszy od komórek macierzystych szpiku kostnego, predefiniujących typ danej komórki, aż do dojrzałych komórek wchodzących w skład krwi.

Opisywany model dzieli zestawy komórek każdego z procesów na trzy kategorie ze względu na ich dojrzałość (Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996):

1. Komórki macierzyste szpiku kostnego X_1 . Zalicza się do nich komórki macierzyste z danego mikrośrodowiska, aż do morfologicznie rozróżnialnych, dzielących się komórek.
2. Dojrzewające i niepodzielne komórki prekursorowe X_2 . Są to komórki częściowo zróżnicowane, mogące rozwijać się w kierunku jednej, wyspecjalizowanej grupy komórek (National Institutes of Health – Stem cell information 2024).
3. Dojrzałe komórki krwi X_3 .

Zakłada się, że proces powstawania komórek X_i jest kontrolowany przez chaloney – specjalne substancje hamujące namnażanie komórek określonego typu (Wydawnictwo Naukowe PWN – Chaloney 2024). Natomiast chaloney odpowiedniego rodzaju są wytwarzane przez wszystkie komórki z danej linii hematopoetycznej.

Podczas opisywania wpływu promieniowania jonizującego na hematopoezę, autorzy korzystają z popularnego w radiobiologii modelu jednocarzewego. Wynika z niego, że liczba uszkodzonych komórek rośnie wprost proporcjonalnie do mocy otrzymywanej dawki promieniowania, \dot{D} . Każda z komórek, w zależności od jej reakcji na promieniowanie jonizujące, jest przypisywana do jednej z trzech kategorii:

1. Nieuszkodzonych komórek X_{ni} ,
2. Uszkodzonych komórek X_{di} . Zalicza się do nich komórki, które ze względu na doznane uszkodzenia obumierają w ciągu 1-2 dni (śmierć mitotyczna (Stępień et al. 2007)).
3. Silnie uszkodzonych komórek X_{hdi} . Zalicza się do nich komórki, które ze względu na bardzo duże uszkodzenia spowodowane promieniowaniem jonizującym, obumierają w ciągu 4-7 godzin po napromieniowaniu (śmierć międzyfazowa (Nias 1998)).

Zmiennymi opisywanego modelu są koncentracje: komórek nieuszkodzonych x_{ni} , komórek uszkodzonych x_{di} , komórek silnie uszkodzonych x_{hdi} oraz odpowiednich chalonów l . Powyższe koncentracje są znormalizowanymi¹ stosunkami liczb komórek określonego typu, do całkowitej objętości krwi. Ogólna dynamika koncentracji komórek z odpowiednich linii hematopoetycznych, a także dynamika koncentracji odpowiednich chalonów wystawionych na działanie promieniowania jonizującego o mocy dawki \dot{D} , jest określona przez układ równań różniczkowych:

$$\frac{dx_1}{dt} = Bx_1 - \gamma x_1 - \frac{\dot{D}}{D_1} x_1 \quad (1)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = \gamma x_1 - \delta x_2 - \frac{\dot{D}}{D_2} x_2 \quad (2)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = \delta x_2 - \psi x_3 - \frac{\dot{D}}{D_3} x_3 \quad (3)$$

$$\frac{dx_{di}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{1}{1 + \rho_i} x_i - v_1 x_{di}, \quad i = 1, \dots, n \quad (4)$$

$$\frac{dx_{hdi}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{\rho_i}{1 + \rho_i} x_i - v_2 x_{hdi}, \quad i = 1, \dots, n \quad (5)$$

$$\frac{dl}{dt} = G \sum_{i=1}^m [\theta_i (x_i + \Phi x_{di} + \Gamma x_{hdi})] - H_{chal} l \quad (6)$$

gdzie: B – tempo reprodukcji komórek X_1 , γ – tempo transferu komórek z kategorii X_1 do kategorii X_2 , δ – tempo transferu komórek z kategorii X_2 do kategorii X_3 , ψ – tempo obumierania komórek X_3 , D_i – wartość dawki po której otrzymaniu liczba komórek która nie została uszkodzona jest $e = 2.718...$ razy mniejsza. Jest

¹ Normalizacja polega na wyznaczeniu stosunku koncentracji analizowanych komórek do koncentracji komórek (tego samego typu) zdrowego organizmu przed napromieniowaniem. Zmienne modelu są więc bezwymiarowe.

to odpowiednik radiobiologicznej stałej eksperymentalnej D_0 (Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996; Wedenberg 2013), ρ_i – stosunek liczby silnie uszkodzonych komórek X_{hdi} do liczby uszkodzonych komórek X_{di} , v_1 – tempo obumierania uszkodzonych komórek X_{di} , v_2 – tempo obumierania silnie uszkodzonych komórek X_{hdi} , n – parametr zależny od linii hematopoetycznej (zostanie wyjaśniony w rozdziałach 2.1-2.4), m – parametr zależny od linii hematopoetycznej (dla trombopoety, erytropoety i limfopoety $m = 3$, natomiast dla granulopoety $m = 4$), $G\theta_i$ – tempo wydzielania chalonów przez komórki X_i , $G \times \theta_i \times \Phi$ – tempo wydzielania chalonów przez komórki X_{di} , $G \times \theta_i \times \Gamma$ – tempo wydzielania chalonów przez komórki X_{hdi} , H_{chal} – czas naturalnego rozkładu chalonu.

Zależność tempa reprodukcji komórek X_1 od koncentracji odpowiednich chalonów (parametr B w równaniu (1)) opisany jest równaniem Jeruzalimskiego-Monoda (Liu 2020):

$$B = \frac{\alpha}{1 + \frac{I}{K}} \quad (7)$$

gdzie: α – maksymalne tempo namnażania komórek X_1 , I – koncentracja odpowiedniego chalonu, K – stała spowolnienia namnażania się komórek X_1 .

Jednakże mając na uwadze, że chalony pozostają aktywne przez kilka godzin, a proces podziału komórkowego oraz dojrzewanie komórki zajmuje kilka dni (Cooper i Ganem 1997; Sawicki i Malejczyk 2012), to równanie (7) uważa się za gwałtowne² w porównaniu z równaniami (1), (2) oraz (3). Aby rozwiązać ten problem, skorzystano z twierdzenia Tikhonova (Klonowski 1983), zastępując równanie (6) jego stacjonarnym odpowiednikiem. W ten sposób otrzymano:

$$B = \frac{\alpha}{1 + \beta \sum_{i=1}^m [\theta_i(x_i + \Phi x_{di} + \Gamma x_{hdi})]}, \quad \beta = \frac{G}{H_{chal}K} \quad (8)$$

gdzie: Φ , Γ – stałe oznaczające różny wpływ komórek uszkodzonych i silnie uszkodzonych na tempo wydzielania chalonów.

Posługując się modelem Yonezawy w celu symulowania dynamiki koncentracji komórek w odpowiedzi na impuls promieniowania jonizującego, czyli dużą dawkę pochłoniętą w bardzo krótkim czasie, w równaniach od (1) do (5) przyjęto parametr mocy dawki $\dot{D} = 0$. Taka war-

tość parametru \dot{D} wynika z tego, że w przypadku impulsu dawki, procesy opisane równaniami (1)-(5) znacznie przekraczają czas przyjmowania tejże dawki (Cooper i Ganem 1997; Sawicki i Malejczyk 2012). W przypadku symulowania wpływu promieniowania chronicznego na organizm, należy posługiwać się równaniami (1)-(5) w niezmienionej postaci.

Warunki początkowe równań (1)-(5) różnią się w zależności od symulowanej sytuacji. Rozważając przypadek otrzymania impulsu dawki przez organizm, należy wziąć pod uwagę, że czasy procesów opisanych równaniami (1)-(5) znacznie przekraczają czas przyjmowania tejże dawki.

W związku z tym, możemy przepisać równania (1)-(5) do formy uwzględniającej jedynie „prędkie”³ człony:

$$\begin{aligned} \frac{dx_i}{dt} &= -\frac{\dot{D}}{D_i} \\ \frac{dx_{di}}{dt} &= \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{1}{1 + \rho_i} x_i \\ \frac{dx_{hdi}}{dt} &= \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{\rho_i}{1 + \rho_i} x_i \end{aligned} \quad (9)$$

Zakładając, że moc dawki promieniowania jest stała, można powyższe równania scałkować, otrzymując warunki początkowe:

$$\begin{aligned} x_i(0) &= (x_i)_0 \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right) \\ x_{di}(0) &= (x_i)_0 \frac{1}{1 + \rho_i} \left[1 - \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right)\right] + (x_{di})_0 \\ x_{hdi}(0) &= (x_i)_0 \frac{\rho_i}{1 + \rho_i} \left[1 - \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right)\right] + (x_{hdi})_0 \end{aligned} \quad (10)$$

gdzie: D – przyjęta przez organizm dawka promieniowania, $(x_i)_0$ – koncentracja komórek X_i przed napromieniowaniem, $(x_{di})_0$ – koncentracja komórek X_{di} przed napromieniowaniem, $(x_{hdi})_0$ – koncentracja komórek X_{hdi} przed napromieniowaniem.

Rozważając przypadek chronicznego napromieniowania organizmu należy przyjąć warunki początkowe:

$$\begin{aligned} x_i(0) &= (x_i)_0 \\ x_{di}(0) &= (x_{di})_0 \\ x_{hdi}(0) &= (x_{hdi})_0 \end{aligned} \quad (11)$$

W przypadku, gdy organizm nie został wcześniej napromieniowany, należy przyjąć koncentracje komórek $(x_i)_0$ równe ich standardowym wartościom (czyli równe wartościom koncentracji zdrowego organizmu, który nie został wcześniej napromieniowany) $(x_i)_0 = \bar{x}_i$, oraz

² Chalony są aktywne jedynie przez kilka godzin, natomiast cykl komórkowy może trwać kilka dni. Z powodu tych znacznych różnic rozpatrywanych czasów aktywności danych procesów, błędne by było posługiwanie się równaniem (6) w celu wyznaczenia koncentracji chalonów I w równaniu (7). W celu rozwiązania tego problemu skorzystano z twierdzenia Tikhonova i wyznaczono stacjonarną postać koncentracji chalonów

³ Ze względu na dużą rozbieżność czasu trwania danych procesów (cykl komórkowy oraz napromieniowania komórek) uwzględniono jedynie człony odpowiadające krótszemu procesowi – napromieniowaniu komórek. Nieuwzględnione człony równania w rozpatrywanym czasie mają pomijalny wpływ.

koncentrację komórek uszkodzonych i silnie uszkodzonych równo zero ($(X_{di})_0 = 0$, $(X_{hdi})_0 = 0$).

Stosunek liczby silnie uszkodzonych komórek X_{hdi} do liczby uszkodzonych komórek X_{di} można wyznaczyć korzystając z danych eksperymentalnych. Na ich podstawie wyznaczono, że część komórek X_i które nie obumarły podczas interfazy na skutek otrzymania impulsu dawki promieniowania D , jest eksponencjalną funkcją tegoż impulsu dawki (Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996):

$$\mu_i = \exp\left(-\frac{D}{D_{mi}}\right) \quad (12)$$

gdzie: D_{mi} – wartość dawki, po której otrzymaniu liczba komórek które nie obumarły w trakcie interfazy jest $e = 2.718$ razy mniejsza (Smirnova i Yonezawa 2003; Kovalev i Smirnova 1996).

Z powyższego wynika, że μ_i jest odsetkiem komórek zdrowych X_i oraz komórek uszkodzonych X_{di} , a zatem można wyznaczyć liczbę komórek X_{hdi} w postaci ułamka ka wszystkich komórek jako:

$$\omega_{hdi} = 1 - \mu_i = 1 - \exp\left(-\frac{D}{D_{mi}}\right) \quad (13)$$

Zgodnie ze wzorami na koncentrację komórek uszkodzonych i silnie uszkodzonych (10), odsetek tychże komórek jest określony członem $\omega_i = 1 - \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right)$. W związku z tym, liczba komórek X_{di} wyrażona w postaci ułamka wszystkich komórek, ma wartość:

$$\omega_{di} = \omega_i - \omega_{hdi} = \exp\left(-\frac{D}{D_{mi}}\right) - \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right) \quad (14)$$

Wykorzystując wielkości wyznaczone za pomocą równań (13) oraz (14), można wyznaczyć stosunek liczby silnie uszkodzonych komórek do liczby uszkodzonych komórek:

$$\rho_i = \frac{\omega_{hdi}}{\omega_{di}} = \frac{1 - \exp\left(-\frac{D}{D_{mi}}\right)}{\exp\left(-\frac{D}{D_{mi}}\right) - \exp\left(-\frac{D}{D_i}\right)} \quad (15)$$

W przypadku, gdy przyjęta przez organizm dawka promieniowania jest dużo mniejsza niż stałe D_i oraz D_{mi} można skorzystać z przybliżenia:

$$\rho_i \approx \left(\frac{D_{mi}}{D_i} - 1\right)^{-1} \quad (16)$$

2.1. Trombopoeza

Najmłodsze, morfologiczne rozróżnialne komórki z linii trombopoetycznej, to megakarioblasty. Są to komórki o zdolności podziału. Kolejnym etapem rozwoju komórek jest etap różnicowania – komórka megakarioblastu zmienia się w promegakariocyt. Promegakariocyt to komórka, która nie potrafi się dzielić, natomiast rośnie wytwarzając ploidia. Ostatnim typem

komórki z linii trombopoezy jest megakariocyt. Jest to duża, poliploidalna komórka szpiku kostnego wytwarzająca trombocyty. Megakariocyty mogą mieć 4, 8, 16, 32, 64 lub 128 jąder komórkowych. Trombocyty zaczynają być wytwarzane dopiero w momencie, gdy megakariocyt posiada co najmniej 8 jąder komórkowych. Liczba produkowanych przez megakariocyt trombocytów jest proporcjonalna do objętości jego cytoplazmy, a ta jest proporcjonalna do liczby jąder w dorosłym megakariocycie (Kovalev i Smirnova 1996; Deutsch i Tomer 2006; Sawicki i Malejczyk 2012).

W przypadku trombopoezy, skomplikowany proces produkcji płytek krwi uwzględniono dodając do pierwszego członu równania (2) czynnik ploidalny f . Reprezentuje on stosunek średniego poziomu ploidalności megakariocytów $P(x_3)$, odpowiadającego koncentracji komórek x_3 , do średniego poziomu ploidalności megakariocytów $P(\bar{x}_3)$, odpowiadającego standardowemu poziomowi koncentracji komórek \bar{x}_3 . Zgodnie z danymi eksperymentalnymi (Kovalev i Smirnova 1996), przyjmuje się, że współczynnik f jest malejącą funkcją koncentracji trombocytów x_3 :

$$f = \frac{1}{h + \varphi x_3} \quad (17)$$

gdzie: h , φ – stałe parametry.

Wprowadzając współczynnik f zakłada się także, że wszystkie komórki X_2 mają taki sam średni poziom ploidalności $P(\bar{x}_3)$ oraz, że po dojrzaniu produkują taką samą liczbę trombocytów σ . Z tego powodu, pierwszy człon równania (3) należy pomnożyć przez parametr σ . Dzięki wprowadzeniu powyższych czynników, zmiana średniego poziomu ploidalności jest reprezentowana przez zmianę koncentracji komórek X_2 . Zmodyfikowane równania (2) oraz (3) pozwalają więc uwzględnić opóźnienie pomiędzy odchyleniem koncentracji trombocytów od standardowego poziomu, a zmianą średniego poziomu ploidalności megakariocytów.

Symulując proces trombopoezy, należy również wziąć pod uwagę fakt, że komórki trombopoezy, począwszy od promegakariocytów, są radiooporne, natomiast megakariocyty są radioczułe (Kovalev i Smirnova 1996; Castellino et al. 1997). W związku z tym, uwzględniono jedynie uszkodzenia komórek X_1 , odpowiada to przyjęciu w równaniach (4) oraz (5) wartości $n = 1$.

Trombopoeza jest więc opisana układem pięciu równań różniczkowych:

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{ax_1}{1 + \beta[\theta_1(x_1 + \Phi x_{d1} + \Gamma x_{hd1}) + \theta_2 x_2 + \theta_3 x_3]} - \gamma x_1 - \frac{\dot{D}}{D_1} x_1 \quad (18)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = f \gamma x_1 - \delta x_2 - \frac{\dot{D}}{D_2} x_2 \quad (19)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = \sigma \delta x_2 - \psi x_3 - \frac{\dot{D}}{D_3} x_3 \quad (20)$$

$$\frac{dx_{d1}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_1} \frac{1}{1 + \rho_1} x_1 - v_1 x_{d1} \quad (21)$$

$$\frac{dx_{hd1}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_1} \frac{\rho_1}{1 + \rho_1} x_1 - v_2 x_{hd1} \quad (22)$$

2.2. Erytropoeza

Najmłodsze, morfologicznie rozróżnialne komórki z linii erytropoetycznej, to proerytroblasty. Te kolejno zmieniają się w erytroblasty zasadochłonne, erytroblasty polichromatofilne, normoblasty oraz retikulocyty. Ostatnie z wyżej wymienionych komórek odłączają się od szpiku kostnego i przedostają się do krwi. Dojrzałe retikulocyty zmieniają się bezpośrednio w erytrocyty (Kovalev i Smirnova 1996; Sawicki i Malejczyk 2012). Tempo reprodukcji prekursorów erytrocytów jest kontrolowane przez odpowiednie chalone (Kovalev i Smirnova 1996; Kivilaakso i Rytömaa 1971).

Symulując proces erytropoezy, należy wziąć pod uwagę fakt, iż erytrocyty są radiooporne, natomiast ich prekursorzy ze szpiku kostnego są radioczułe (Kovalev i Smirnova 1996; Castelino et al. 1997). W związku z tym, uwzględniono uszkodzenia komórek należących jedynie do grup X_1 oraz X_2 . Odpowiada to przyjęciu w równaniach (4) oraz (5) wartości $n = 2$.

Ze względu na brak dodatkowych zależności w procesie erytropoezy, jest ona opisana układem siedmiu równań różniczkowych (1)-(5) (z uwzględnieniem parametru danego równaniem (8)). Przedstawiają one koncentracje komórek zdrowych X_i , komórek uszkodzonych X_{di} oraz komórek silnie uszkodzonych X_{hdi} dla $i = 1, 2$, a także koncentrację radioopornych komórek X_3 .

2.3. Limfopoeza

Najmłodsze, morfologicznie rozróżnialne komórki z linii limfopoetycznej, to limfoblasty. Te kolejno zmieniają się w preprolimfocyty, prolimfocyty, niedojrzałe limfocyty aby ostatecznie stać się limfocytami. Dojrzałe limfocyty przechodzą ze szpiku kostnego do krwi. Komórki tej linii hematopoetycznej mają zdolność przemieszczania się z krwi do limfy i na odwrót, a także zdolność do wnikania w narządy limfatyczne takie jak: szpik kostny, grasica, węzły chłonne, śledziona itd. Tempo reprodukcji prekursorów limfocytów jest kontrolowane przez odpowiednie chalone (Kovalev i Smirnova 1996; Sawicki i Malejczyk 2012).

Symulując proces limfopoezy wykluczono antygenową stymulację tegoż procesu oraz wzięto pod uwagę fakt, iż wszystkie komórki linii limfopoetycznej są radioczułe. Odpowiada to przyjęciu w równaniach (4) oraz (5) wartości $n = 3$.

Ze względu na brak dodatkowych zależności w procesie limfopoezy, jest on opisany układem dziewięciu równań różniczkowych (1)-(5) (z uwzględnieniem parametru danego równaniem (8)). Przedstawiają one kon-

centracje komórek zdrowych X_i , komórek uszkodzonych X_{di} oraz komórek silnie uszkodzonych X_{hdi} dla $i = 1, 2, 3$.

2.4. Granulopoeza

Granulocyty są rodzajem leukocytów, które w organizmie pełnią funkcje obronne poprzez wydzielanie do otoczenia substancji bakteriobójczych. Najmłodszymi, morfologicznie rozróżnialnymi komórkami z linii granulopoetycznej są mieloblasty. Te kolejno zmieniają się w promielocyty, mielocyty, metamielocyty i niedojrzałe granulocyty aby ostatecznie stać się granulocytami. Część niedojrzałych granulocytów nie przechodzi od razu do krwi, a pozostaje przez pewien czas w szpiku kostnym, tworząc rezerwy uruchamiane w razie konieczności. Oznacza to, że istnieje odwrotna zależność pomiędzy liczbą granulocytów przedostających się do krwi, a już krążących w krwi obwodowej. Granulocyty ulegają przypadkowemu i nieodwracalnemu procesowi przejścia z krwi do tkanek. Tempo reprodukcji prekursorów granulocytów jest kontrolowane przez odpowiednie chalone (Kovalev i Smirnova 1996; Sawicki i Malejczyk 2012).

Uwzględniając fakt, iż granulocyty w swym ostatnim stadium znajdują się w tkankach, a nie we krwi, proces granulopoezy przewiduje odmienny podział komórek od innych linii hematopoetycznych:

1. Komórki w fazie rozwoju od komórek prekursorowych, znajdujących się w szpiku kostnym, aż do mieloblastów przypisuje się do kategorii X_1 .
2. Komórki w fazie rozwoju od metamielocytów, do granulocytów znajdujących się w szpiku kostnym, przypisuje się do kategorii X_2 .
3. Granulocyty znajdujące się w krwi obwodowej, przypisuje się do kategorii X_3 .
4. Granulocyty znajdujące się w tkankach, przypisuje się do kategorii X_4 .

Symulując proces granulopoezy należy również uwzględnić wpływ rezerwy komórek w szpiku kostnym na koncentrację granulocytów w krwi obiegowej. W związku z tym, parametr określający tempo transferu komórek z kategorii X_2 do kategorii X_3 jest malejącą funkcją koncentracji komórek X_3 :

$$F = \delta \frac{1 + Mx_3^2}{1 + Lx_3^2} \quad (23)$$

gdzie: δ – maksymalne tempo przechodzenia granulocytów do krwi, $\frac{\delta M}{L}$ – minimalne tempo przechodzenia granulocytów do krwi.

Uwzględniając powyższe, specyficzne własności granulopoezy, oraz fakt, iż komórki tej linii hematopoetycznej na każdym etapie rozwoju są komórkami radioczułymi (Hulse 1961), proces granulopoezy jest opisany układem dwunastu równań różniczkowych:

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{ax_1}{1 + \beta \sum_{i=1}^4 [\theta_i (x_i + \Phi x_{di} + \Gamma x_{hdi})]} - \gamma x_1 - \frac{\dot{D}}{D_1} x_1 \quad (24)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = \gamma x_1 - \delta \frac{1 + Mx_3^2}{1 + Lx_3^2} x_2 - \frac{\dot{D}}{D_2} x_2 \quad (25)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = \delta \frac{1 + Mx_3^2}{1 + Lx_3^2} x_2 - \kappa x_3 - \frac{\dot{D}}{D_3} x_3 \quad (26)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = \kappa x_3 - \psi x_4 - \frac{\dot{D}}{D_4} x_4 \quad (27)$$

$$\frac{dx_{di}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{1}{1 + \rho_i} x_i - v_1 x_{di}, \quad i = 1, \dots, 4 \quad (28)$$

$$\frac{dx_{hdi}}{dt} = \frac{\dot{D}}{D_i} \frac{\rho_i}{\rho_i} x_i - v_2 x_{hdi}, \quad i = 1, \dots, 4 \quad (29)$$

gdzie: κ – tempo przechodzenia komórek z kategorii X_3 do kategorii X_4 , ψ – tempo obumierania komórek X_4 .

2.5. Podsumowanie modelu

Model Yonezawy i Smirnowej jest modelem deterministycznym, ściśle związanym z biologią. Bazuje on na układzie wielu równań różniczkowych, które szczegółowo opisują koncentrację czterech rodzajów komórek krwi: trombocytów, erytrocytów, limfocytów oraz granulocytów, uwzględniając ich specyficzne własności. Model Yonezawy i Smirnowej umożliwia zastosowanie różnych schematów napromieniowania:

- Napromieniowanie impulsem dawki – ten schemat napromieniowania pozwala symulować efekt dawki poprzedzającej (efekt Yonezawy) dla określonego rodzaju komórek.
- Chroniczne napromieniowanie pewną mocą dawki. W celu symulacji efektu Yonezawy przy użyciu modelu Yonezawy i Smirnowej, należy:
 1. Wybrać rodzaj analizowanych komórek spośród czterech opisanych przez model.
 2. Ustalić koncentrację początkową komórek (przed pierwszym analizowanym napromieniowaniem). W przypadku gdy organizm nie został wcześniej

napromieniowany, należy przyjąć koncentracje początkowe komórek równe ich standardowym wartościom (równe wartościom koncentracji dla zdrowego organizmu), a koncentracje komórek uszkodzonych i silnie uszkodzonych równe zero.

3. Zgodnie ze wzorami (10) zasymulować napromieniowanie dawką poprzedzającą (impulsem dawki).
4. Symulować koncentrację komórek po napromieniowaniu dawką poprzedzającą przez pewien, ustalony czas – ten czas jest interwałem pomiędzy napromieniowaniem dawką poprzedzającą a dawką docelową. Symulację w tym punkcie należy przeprowadzić uwzględniając specyfikę wybranej grupy komórek (rozdziały 2.1-2.4). Moc dawki promieniowania \dot{D} w trakcie symulacji należy przyjąć równą zero.
5. Zgodnie ze wzorami (10) zasymulować napromieniowanie dawką docelową (impulsem dawki). Jako koncentracje początkowe należy przyjąć koncentracje końcowe wyznaczone w wyniku symulacji opisanej w punkcie 4.
6. Wyznaczyć minimum koncentracji komórek po napromieniowaniu docelową dawką promieniowania. Aby wyznaczyć minimum koncentracji komórek można przeprowadzić symulację analogiczną do tej przedstawionej w punkcie 4, a następnie obliczyć minimum otrzymanej funkcji koncentracji.

2.6. Analiza wyników

Korzystając z danych eksperymentalnych (Smirnova i Yonezawa 2003), metodą najmniejszych kwadratów wyznaczono nieznane parametry równań (parametry niezbędne do przeprowadzenia symulacji z wykorzystaniem modelu Yonezawy i Smirnowej). Do wyznaczenia parametrów napisano program w języku *Python*, a w celu minimalizacji kwadratów różnic skorzystano z quasi-Newtonowskiego algorytmu *L-BFGS-B* (Byrd et al. 1995; Zhu et al. 1997) zawartego w bibliotece *scipy* (wyznaczone parametry zawarto w Tabeli 1). Kolejno, zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 2.5, przeprowadzono symulację efektu Yonezawy. Równania

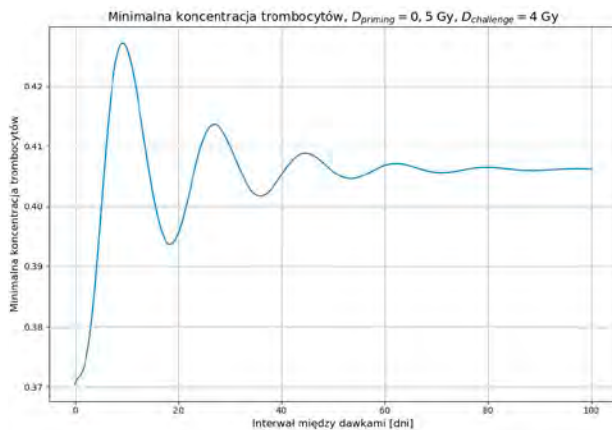
Tabela 1. Wartości parametrów modelu Yonezawy i Smirnowej (dla linii trombopoetycznej) wyznaczone przy użyciu algorytmu *L-BFGS-B* na podstawie danych eksperymentalnych (Smirnova i Yonezawa 2003)

Table 1. Parameter values of the Yonezawa and Smirnova model (for the thrombopoietic line) determined using the *L-BFGS-B* algorithm based on experimental data (Smirnova and Yonezawa 2003)

Parametr	$\alpha \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$	h	φ	β	θ_1	θ_2	θ_3
Wartość	4,0398	-,3921	1,9796	0,6871	0,0811	0,3160	5,6239
Parametr	ϕ	Γ	$\gamma \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$	$\delta \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$	σ	$\psi \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$	$v_1 \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$
Wartość	199,9998	50	0,9057	0,2651	0,8912	0,3608	1,1019
Parametr	$v_2 \left[\frac{1}{\text{dzień}} \right]$	$D_1[\text{Gy}]$	$D_2[\text{Gy}]$	$D_3[\text{Gy}]$	$D_{m1}[\text{Gy}]$		
Wartość	4,0001	2,4	7	7	4,8		

różniczkowe, korzystając z biblioteki *scipy* języka *Python*, rozwiązano numerycznie metodą *Rungego-Kutty* rzędu 4.

Analizując uzyskane wyniki symulacji, przedstawione na rys. 3, należy zwrócić uwagę, że istnieje pewien interwał pomiędzy napromieniowaniem dawką poprzedzającą a dawką docelową, dla którego minimalna koncentracja trombocytów osiąga maksimum – w analizowanym przypadku maksimum zostaje osiągnięte dla interwału równego 9,1 dnia. Dla takiego interwału odpowiedź adaptacyjna wywołana napromieniowaniem dawką poprzedzającą osiąga maksymalny poziom. Istotne jest również, że gdy interwał pomiędzy napromieniowaniem dwoma dawkami wynosi zero, to wyznaczona minimalna koncentracja komórek przyjmuje najmniejszą wartość. Wynika to z faktu, że gdy interwał między napromieniowaniem dawką poprzedzającą a docelową wynosi zero, to następuje pojedyncze napromieniowanie o dawce równej sumie dawki poprzedzającej i docelowej.



Rys. 3. Wyniki symulacji koncentracji trombocytów otrzymane przy użyciu modelu Yonezawy i Smirnowej. Wartości parametrów użytych w symulacji zawarto w Tabeli 1. Schemat napromieniowania użyty w symulacji był następujący: dawka poprzedzająca $D_{\text{priming}} = 0,5$ Gy, dawka docelowa $D_{\text{challenge}} = 4$ Gy

Fig. 3. Simulation results of thrombocyte concentration obtained using the Yonezawa and Smirnova model. The values of the parameters used in the simulation are included in Table 1. The irradiation scheme used in the simulation was as follows: priming dose $D_{\text{priming}} = 0.5$ Gy, challenging dose $D_{\text{challenge}} = 4$ Gy

3. Model włoski – Esposito et al.

Model autorstwa Esposito et al. (Esposito et al. 2011) został opracowany na podstawie popularnego w radiobiologii modelu Lethal-Potentially Lethal (LPL) opisującego krzywe przeżywalności komórkowej (Curtis 1986). Model włoski umożliwia określenie poziomu ochronnego wpływu dawki poprzedzającej w zależności od czasu, który upłynął od przyjęcia tejże dawki, biorąc również pod uwagę wartości dawki oraz wartość mocy dawki. W modelu wprowadzono szereg zmiennych, zdefiniowanych układem równań różniczkowych, opisujących m.in.: tempo napraw komór-

rek, poziom wolnych rodników wytworzonych przez promieniowanie jonizujące, czy poziom enzymów antyoksydacyjnych.

W celu wyjaśnienia wystąpienia radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej autorzy skupili się na zwiększonej sprawności naprawy DNA i wytworzeniu enzymów antyoksydacyjnych w wyniku napromieniowania dawką poprzedzającą. Zgodnie z wykorzystanym modelem LPL uszkodzone komórki podzielono na dwie kategorie: na komórki, których uszkodzenia są potencjalnie letalne oraz na komórki, których obrażenia są definitywnie letalne dla tych komórek. Potencjalnie letalne uszkodzenia mogą zostać poprawnie naprawione przez mechanizmy naprawcze organizmu – w tym także przez wydzielone enzymy antyoksydacyjne. Tego typu uszkodzenia mogą również zostać niepoprawnie naprawione, wtedy takie uszkodzenia stają się letalne. Autorzy jako wyznacznik odpowiedzi adaptacyjnej wykorzystali liczbę letalnie uszkodzonych komórek. Założono, że odpowiedź adaptacyjna charakteryzuje się niższą liczbą letalnych uszkodzeń w porównaniu do liczby letalnych uszkodzeń, gdy odpowiedź adaptacyjna nie wystąpiła. Model został opracowany na poniższych założeniach:

1. Potencjalnie letalne uszkodzenia komórkowe mogą zostać prawidłowo naprawione ze średnim tempem ε_{PL} . Średnie tempo nie jest stałe – jest jedną ze zmiennych modelu. Potencjalnie letalne uszkodzenia mogą również zostać niepoprawnie naprawione w stałej liczbie ε_{2PL} na jednostkę czasu.
2. Średnia liczba potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} wzrasta proporcjonalnie do mocy dawki promieniowania \dot{D} i proporcjonalnie do poziomowi wolnych rodników docierających do DNA N_R .
3. Liczba letalnych uszkodzeń (np. nienaprawialne uszkodzenia DNA) N_L wzrasta proporcjonalnie do mocy dawki promieniowania \dot{D} .
4. Promieniowanie jonizujące generuje wolne rodniki docierające do DNA w tempie proporcjonalnym do mocy dawki. W modelu uwzględniono rodzaj promieniowania jonizującego poprzez współczynnik η_2 kontrolujący poziom wytwarzanych wolnych rodników. Wytworzone wolne rodniki mogą zostać zneutralizowane przez wydzielone enzymy antyoksydacyjne ze stałym tempem ε_2 .
5. Zarówno tempo poprawnych napraw ε_{PL} , jak i poziom wydzielonych enzymów antyoksydacyjnych N_X nie są stałe. Zmieniają się one w czasie, a ich zmiany są opisane funkcjami zależnymi od średniej liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} . Co więcej, wraz z czasem są one redukowane w tempie odpowiednio v_1 (w przypadku poprawnych napraw) i v_2 (w przypadku enzymów antyoksydacyjnych).

Na podstawie powyższych założeń wprowadzono siedem równań różniczkowych (32)-(38) opisujących ewolucję:

- liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} ,
- liczby letalnych uszkodzeń N_L ,
- tempa napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń ε_{PL} ,
- liczby wolnych rodników docierających do DNA N_R ,
- oraz poziomu enzymów antyoksydacyjnych N_X .

W modelu uwzględniono fakt, że różne rodzaje promieniowania w różny sposób oddziałują na komórki. W tym celu wprowadzono parametry η_2 , η_{PL} oraz v_{PL} . Parametr η_2 opisuje tempo wytwarzania wolnych rodników w wyniku napromieniowania. Natomiast parametry η_{PL} i v_{PL} stanowią wagi efektów odpowiednio bezpośrednich i pośrednich, które przyczyniają się do powstawania potencjalnie letalnych uszkodzeń komórkowych (Jarmakiewicz 2021). W celu określenia wartości tych parametrów dla promieniowania gamma, autorzy wprowadzili kolejny parametr C_{dir} określający procentowy udział uszkodzeń bezpośrednich. Został on użyty do wyznaczenia wartości η_{PL} i η_2 zgodnie z równaniami:

$$\eta_{PL} = \frac{A}{100} \cdot C_{dir} \quad (31)$$

$$\eta_2 = \frac{B}{100} \cdot (100 - C_{dir})$$

Autorzy modelu wyznaczyli parametr B tak, by dla dawki $D = 1$ Gy otrzymano liczbę wytworzonych wolnych rodników zgodną z danymi dostępnymi w literaturze (Nikjoo et al. 1997). Ostatecznie przyjęto wartość $B = 6 \cdot 10^6 \text{ Gy}^{-1}$. Następnie autorzy przyjęli, że dla określonej dawki promieniowania średnia liczba potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} wywołanych zarówno przez bezpośrednie i pośrednie efekty równa się wartości potencjalnie letalnych uszkodzeń wyznaczonej w modelu LPL dla tej samej wartości dawki. Jako wartość parametru A autorzy przyjęli wartość parametru η_{PL} z modelu LPL (Curtis 1986). Finalnie przyjęta wartość parametru wynosi $A = 0,6 \text{ Gy}^{-1}$. Następnie, korzystając z faktu, że w modelu LPL nie rozróżnia się efektów bezpośrednich i pośrednich, wyznaczona została wartość parametru $v_{PL} = 10^{-6} \text{ s}^{-1}$.

Model, po pewnych modyfikacjach, może również zostać zastosowany do promieniowania charakteryzującego się wysokim liniowym przekazem energii (ang. linear energy transfer – LET). Należy wtedy uwzględnić komunikację międzykomórkową. Wynika to z faktu, że przy małych dawkach promieniowania wiązka promieniowania byłaby znacznie niejednorodna, a przez to mechanizmy adaptacyjne związane z komunikacją międzykomórkową nie mogą zostać pominięte (Antonelli et al. 2015; Rothkamm i Löbrich 2003; Leatherbarrow et al. 2006; Antonelli et al. 2005; Olive i Banáth 2004).

Finalnie model bazuje na układzie równań różniczkowych w postaci:

$$\frac{dN_{PL}}{dt} = \eta_{PL} \dot{D} - \varepsilon_{PL} N_{PL} - \varepsilon_{2PL} (N_{PL})^2 + v_{PL} (N_R - N_{R0}) \quad (32)$$

$$\frac{dN_L}{dt} = \eta_L \dot{D} + \varepsilon_{2PL} (N_{PL})^2 \quad (33)$$

$$\frac{d\varepsilon_{PLA}}{dt} = \eta_1 (N_{PL})^2 \exp\left[-\frac{(N_{PL} - N_{PLP})^2}{2\sigma^2}\right] \theta\left(\frac{dN_{PL}}{dt}\right) - v_1 (\varepsilon_{PLA} - \varepsilon_{PL0}) \quad (34)$$

$$\frac{d\varepsilon_{PL}}{dt} = -v_M (\varepsilon_{PL} - \varepsilon_{PLA}) \theta(\varepsilon_{PLA} - \varepsilon_{PL}) - v_R (\varepsilon_{PL} - \varepsilon_{PLA}) \theta(\varepsilon_{PL} - \varepsilon_{PLA}) \quad (35)$$

$$\frac{dN_R}{dt} = \eta_2 \dot{D} - \varepsilon_2 N_X (N_R - N_{R0}) \quad (36)$$

$$\frac{dN_{XA}}{dt} = \eta_3 (N_{PL})^2 \exp\left[-\frac{(N_{PL} - N_{PLP})^2}{2\sigma^2}\right] \theta\left(\frac{dN_{PL}}{dt}\right) - v_2 (N_{XA} - N_{X0}) \quad (37)$$

$$\frac{dN_X}{dt} = -v_M (N_X - N_{XA}) \theta(N_{XA} - N_X) - v_R (N_X - N_{XA}) \theta(N_X - N_{XA}) \quad (38)$$

gdzie: \dot{D} – moc dawki promieniowania jonizującego, ε_{PLA} – równowagowe tempo napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} , ε_{2PL} – liczba niepoprawnych napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} na jednostkę czasu, ε_{PL0} – wartość tempa napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń w momencie $t = 0$, ε_2 – stała określająca proporcjonalny spadek wolnych rodników N_R w odniesieniu do poziomu enzymów antyoksydacyjnych N_X , N_{XA} – poziom równowagowy wydzielonych enzymów antyoksydacyjnych N_X , N_{X0} – poziom enzymów antyoksydacyjnych w czasie $t = 0$, N_{R0} – poziom wolnych rodników w czasie $t = 0$, N_{PLP} – wartość progowa liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń. Gdy liczba potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} w określonym czasie zbliży się do tego proggu, to zarówno tempo napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń ε_{PLA} , jak i poziom wydzielonych antyoksydantów N_{XA} zostają stymulowane, η_1 – stała określająca proporcjonalny wzrost tempa napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń ε_{PL} w odniesieniu do liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} , η_2 – stała określająca proporcjonalny wzrost liczby wytworzonych wolnych rodników N_R w odniesieniu do mocy dawki \dot{D} , η_3 – stała określająca proporcjonalny wzrost poziomu wydzielonych enzymów antyoksydacyjnych N_X w odniesieniu do liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń N_{PL} , η_L – stała określająca proporcjonalny wzrost liczby letalnych uszkodzeń N_L w odniesieniu do mocy dawki \dot{D} , v_2 – stała określająca tempo spadku tempa napraw potencjalnie letalnych uszkodzeń ε_{PL} , v_2 – stała określająca tempo spadku poziomu enzymów antyoksydacyjnych N_X , v_{PL} – stała określająca tempo wzrostu potencjalnie letalnych uszkodzeń, v_M – zmienny w czasie parametr określający tempo narastania efektu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej. Parametr jest opisany wzorem $v_M = v_{M1} + (v_{M2} - v_{M1}) \cdot \left(\frac{t}{t_0}\right)^n$ (parametr powinien charakteryzować się stromym wzrostem w punkcie t_0 ; dlatego przyjmuje się wartość $n = 8$), v_R – stały parametr określający tempo spadku wydajności mechanizmów naprawczych ε_{PL} i poziomu antyoksydantów N_X do

wartości średnich, σ – eksperymentalnie wyznaczone odchylenie standardowe rozkładu liczby potencjalnie letalnych uszkodzeń, θ – funkcja skokowa Heaviside'a.

3.1. Wyniki symulacyjne

Autorzy, korzystając z modelu, przeprowadzili analizę występowania radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej. W celu określenia poziomu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej zastosowany został parametr r :

$$r = \frac{N_L(D_p, T, D_C, 3h)}{N_L(D_C, 3h)} \quad (39)$$

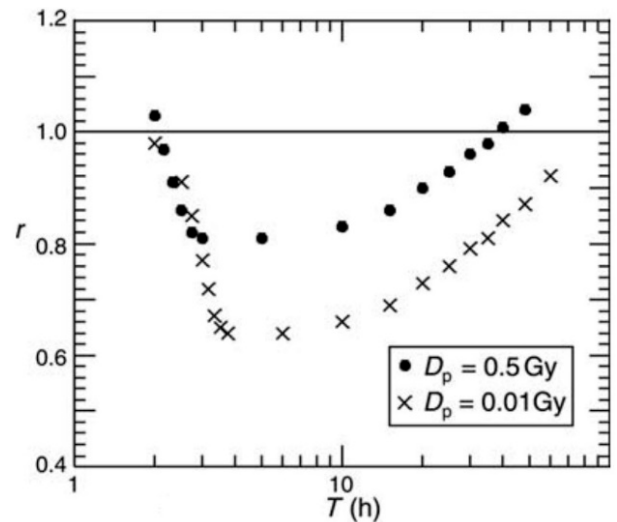
gdzie: D_p – wartość dawki poprzedzającej, D_C – wartość dawki docelowej, T – interwał pomiędzy dawkami D_p i D_C .

Powyższe równanie określa stosunek liczby letalnych uszkodzeń komórkowych wygenerowanych w konsekwencji napromieniowania w schemacie: *napromieniowanie dawką poprzedzającą D_p , odstęp w czasie równy T , napromieniowanie dawką docelową D_C , odstęp 3 h*, do liczby letalnych uszkodzeń komórkowych, które wystąpią po napromieniowaniu w schemacie: *napromieniowanie dawką docelową D_C , odstęp 3 h*.

Wartości parametru r poniżej $r = 1$ oznaczają, że liczba letalnych uszkodzeń komórkowych w schemacie z napromieniowaniem dawką poprzedzającą jest niższa, niż w przypadku braku napromieniowania dawką poprzedzającą – jednoznacznie wskazuje to na wystąpienie radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej. Im niższa wartość parametru r , tym silniejszy poziom radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej.

Do symulacji autorzy przyjęli następujące warunki początkowe: $N_{PL}(0) = N_L(0) = 0$; $N_R(0) = N_{R0}(0) = 100$; $N_X(0) = N_{XA}(0) = N_{X0} = 100$; $\varepsilon_{PL}(0) = \varepsilon_{PLA}(0) = \varepsilon_{PL0} = 1,39 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Wartość $\varepsilon_{PL}(0)$ została przyjęta zgodnie z wartością zastosowaną w modelu LPL (Curtis 1986). Parametry ε_{2PL} i η_L przyjęto również zgodnie z danymi podanymi w literaturze (Curtis 1986), natomiast pozostałe dopasowano tak, aby wyniki analizy odpowiadały danym eksperymentalnym (Cai i Liu 1990; Shadley et al. 1987). Pełny zestaw wartości parametrów modelu zawarto w tabeli Tabela 2.

Autorzy przeprowadzili symulację dla dwóch wartości dawek poprzedzających D_p , dla $D_p = 0,01 \text{ Gy}$ oraz $D_p = 0,5 \text{ Gy}$. W obydwu przypadkach moc dawki wynosiła $\dot{D}_p = 0,01 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$. Wartość dawki docelowej wynosiła $D_C = 1,5 \text{ Gy}$, a odpowiadająca jej moc dawki $\dot{D}_p = 1 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$. Symulacja została przeprowadzona dla zmiennego interwału zawartego w granicach $2 \text{ h} < T < 60 \text{ h}$. Wyniki symulacji zaprezentowano na rys. 4.



Rys. 4. Wykres zależności parametru „ r ” od interwału „ T ” pomiędzy dawką poprzedzającą a dawką docelową promieniowania jonizującego. Dla obydwu dawek poprzedzających, tj. $D_p = 0,01 \text{ Gy}$ oraz $D_p = 0,5 \text{ Gy}$, symulowana moc dawki wynosiła $\dot{D}_p = 0,01 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$. Wartość dawki docelowej wynosiła $D_C = 1,5 \text{ Gy}$, a symulowana moc dawki docelowej $\dot{D}_p = 1 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$ (na podstawie (Esposito et al. 2011))

Fig. 4. The relations between the parameter „ r ” and time interval „ T ” between priming and challenging dose. For both priming doses: $D_p = 0.01 \text{ Gy}$ and $D_p = 0.5 \text{ Gy}$, simulated dose-rate equals $\dot{D}_p = 0.01 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$. The challenging dose was $D_C = 1.5 \text{ Gy}$ with the dose-rate of $\dot{D}_p = 1 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$ (based on (Esposito et al. 2011))

Wyniki wskazują, że odpowiedź adaptacyjna zachodzi dla interwału 2-60 h przy napromieniowaniu dawką poprzedzającą o wartości $D_p = 0,01 \text{ Gy}$ oraz dla interwału w zakresie od 2 h 9 min do 35 h 9 min przy napromieniowaniu dawką poprzedzającą o wartości $D_p = 0,5 \text{ Gy}$. Należy również zwrócić uwagę, że poziom radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej jest znacznie silniejszy dla dawki poprzedzającej $D_p = 0,01 \text{ Gy}$. Wynika to z faktu, że przy napromieniowaniu dawką poprzedzającą

Tabela 2. Parametry modelu włoskiego użyte w symulacji (Esposito et al. 2011).

Table 2. Parameters of the Italian model used in the simulation (Esposito et al. 2011)

Parametr	Wartość	Parametr	Wartość	Parametr	Wartość
$\eta_{PL} (\text{Gy}^{-1})$	0,24	$v_{2PL} (\text{s}^{-1})$	$1,00 \cdot 10^{-6}$	$\varepsilon_{2PL} (\text{s}^{-1})$	$1,54 \cdot 10^{-5}$
$\eta_L (\text{Gy}^{-1})$	0,137	$v_1 (\text{s}^{-1})$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	$\varepsilon_2 (\text{s}^{-1})$	10
$\eta_1 (\text{s}^{-2})$	25	$v_2 (\text{s}^{-1})$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	N_{PLP}	$5,8 \cdot 10^{-3}$
$\eta_2 (\text{Gy}^{-1})$	$3,6 \cdot 10^6$	$v_{M1} (\text{s}^{-1})$	$1,00 \cdot 10^{-6}$	σ	$2,00 \cdot 10^{-5}$
$\eta_1 (\text{s}^{-1})$	$8,00 \cdot 10^6$	$v_{M2} (\text{s}^{-1})$	$3,00 \cdot 10^{-4}$	$t_0 (\text{h})$	3
		$v_R (\text{s}^{-1})$	$1,00 \cdot 10^{-5}$	n	8

o wartości $D_p = 0,5$ Gy powstaje znacznie więcej letalnych uszkodzeń komórkowych niż w przypadku dawki poprzedzającej $D_p = 0,01$ Gy.

3.2. Podsumowanie modelu

Model włoski autorstwa Esposito i Współpracowników jest modelem deterministycznym, opartym na układzie wielu równań różniczkowych. Jego podstawy wywodzą się z modelu LPL (Curtis 1986). Pozwala on na symulację m.in. poziomu letalnie uszkodzonych komórek, ukazując wpływ promieniowania jonizującego na organizm. Wprowadzony parametr r modelu umożliwia w łatwy sposób ocenienie wystąpienia oraz poziomu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej. Model nie ogranicza rodzaju komórek, do których może zostać zastosowany, jednakże, ze względu na potencjalnie znaczne różnice w radiowrażliwości poszczególnych komórek, zaleca się, aby symulacja dotyczyła komórek tego samego typu. Dzięki swojej budowie model umożliwia zastosowanie różnych schematów napromieniowania:

- Napromieniowanie impulsem dawki – ten schemat napromieniowania pozwala symulować efekt dawki poprzedzającej (efekt Yonezawy). Impuls dawki charakteryzuje się relatywnie wysoką mocą dawki w porównaniu do wartości dawki.
- Chroniczne napromieniowanie pewną mocą dawki. W celu symulacji efektu dawki poprzedzającej przy użyciu modelu włoskiego należy:
 1. Eksperymentalnie wyznaczyć lub oszacować parametry modelu.
 2. Ustalić warunki początkowe symulacji.
 3. Symulować liczby komórek potencjalnie letalnie uszkodzonych i letalnie uszkodzonych zgodnie z równaniami (32) i (33).

4. Model Bodgi'ego i Foray'a

Model Bodgi'ego i Foray'a (Bodgi i Foray 2016) został opracowany na bazie popularnego radiobiologicznego modelu liniowo-kwadratowego (ang. linear-quadratic (LQ)) (Kellerer i Rossi 1974; Chadwick i Leenhouts 1973; Williams i Denekamp 1985). Umożliwia on określenie wystąpienia i poziomu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej poprzez analizę liczby podwójnoniciowych uszkodzeń DNA oraz liczby monomerów ATM biorących udział w procesach naprawczych DNA, w zależności od otrzymanej dawki promieniowania i czasu, który upłynął od jej przyjęcia. Podstawowym założeniem modelu jest możliwość jego interpretacji pod kątem biologicznym, a w szczególności wyjaśnienie:

- wpływu promieniowania jonizującego w szerokim zakresie dawek,
- radiowrażliwości pewnych genów spowodowanej mutacją białek cytoplazmatycznych,
- oraz zjawiska hiperradioczułości dla niskich dawek promieniowania.

4.1. Model LQ

Model LQ opiera się na teorii tarczy postulującej, że kluczowe zdarzenia prowadzące do śmierci komórkowej wywołanej przez promieniowanie zachodzą tylko w jądrze komórkowym. Model opisuje prawdopodobieństwo przeżycia komórki po otrzymaniu określonej dawki promieniowania D . Prawdopodobieństwo opisane jest następującym równaniem:

$$P_s(D) = \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad (40)$$

gdzie: P_s – prawdopodobieństwo przeżycia komórki po otrzymaniu dawki promieniowania D , αD – komponent odzwierciedlający nienaprawialne, letalne uszkodzenia podwójnoniciowe, βD^2 – komponent odzwierciedlający kombinację dwóch subletalnych pojedynczonicowych uszkodzeń DNA.

Warto również wspomnieć, że stosunek α/β jest szeroko stosowany w radiologii w celu określenia zdolności regeneracyjnych tkanek. Przeważanie parametru $\alpha(\beta)$ w powyższym stosunku wskazuje na niską (wysoką) zdolność regeneracyjną (Williams i Denekamp 1985).

Pomimo szerokiego zastosowania w praktyce model LQ nie wyjaśnia wpływu promieniowania na poziomie komórkowym. Brakuje również wyjaśnień zjawisk przedstawionych w poprzednim podrozdziale 4.

4.2. Opis modelu Bodgi'ego i Foray'a

Autorzy, po dokonaniu przeglądu literatury na temat translokacji genów ATM⁴ (ang. Ataxia-Telangiectasia Mutated) do jądra komórkowego w odpowiedzi na promieniowanie jonizujące (Lim et al. 1998; Yang et al. 2011; Bodgi et al. 2013) oraz na temat indukowanej monomeryzacji ATM⁵ przez promieniowanie (Bakkenist i Kastan 2003), postanowili ponownie przeanalizować podstawy teorii modelu LQ. Bodgi i Foray, tworząc model, zapostulowali, że promieniowanie jonizujące prowadzi do utleniania dimerów ATM, które w konsekwencji wyzwalają monomeryzację ATM o natężeniu proporcjonalnym do otrzymanej dawki promieniowania. Tak powstałe monomery dyfundują do jądra komórkowego, a następnie umożliwiają rozpoznanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA poprzez fosforylację histonów H2AX (γ H2AX)⁶ (Podhorecka 2009), by finalnie naprawić takie uszkodzenie. Spośród nienaprawionych uszkodzeń podwójnoniciowych, jedynie niektóre przy-

⁴ Gen ATM koduje kinazę ATM, która poprzez fosforylację szeregu białek, bierze udział w rozpoznaniu i naprawie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA (Banin et al. 1998).

⁵ Nieaktywna kinaza ATM znajdująca się w komórkach ma postać dimerów, które pod wpływem czynników zewnętrznych (np. promieniowania jonizującego) przechodzą proces autofosforylacji (przyłączenia reszty fosforanowej do cząsteczki) prowadzący do rozpadu nieaktywnych dimerów na aktywne monomery ATM (Du et al. 2014).

⁶ Histony H2AX są białkami, które są formowane w odpowiedzi na podwójnoniciowe uszkodzenie DNA. Tym samym są uważane za markery tego typu uszkodzeń DNA (Kuo i Yang 2008).

czynią się do śmierci komórki. Pozostałe uszkodzenia są przez nią tolerowane. Taka hipoteza prowadzi do spójnej biomatematycznej i molekularnej interpretacji modelu LQ, uznając rozpoznane, ale nienaprawione uszkodzenia podwójnoniciowe (uszkodzenia typu α) oraz nierozpoznane uszkodzenia podwójnoniciowe (uszkodzenia typu β) za zdarzenia letalne dla komórki.

4.2.1. Główne założenia

- **Podwójnoniciowe uszkodzenia DNA**

Pośród różnych rodzajów uszkodzeń DNA to uszkodzenia podwójnoniciowe prowadzą do śmierci lub niestabilności w przypadku odpowiednio, braku lub niepoprawnej naprawy uszkodzenia (Jeggo i Lobrich 2007; Joubert et al. 2008).

- **Naprawa poprzez scalanie niehomologicznych końców DNA (ang. Non-homologous end-joining (NHEJ))**

W modelu skupiono się na komórkach znajdujących się w stanie spoczynku (w fazie cyklu komórkowego), gdyż takie komórki dominują w organizmie człowieka. Dominującym mechanizmem naprawczym podwójnoniciowych uszkodzeń DNA w komórkach ssaków (a zwłaszcza w komórkach będących w spoczynku) jest naprawa poprzez scalanie niehomologicznych końców DNA (ang. Non-homologous end-joining (NHEJ)) (Woodbine et al. 2014). Istnieją przypuszczenia dotyczące istnienia wielu sposobów w jaki NHEJ może zostać przeprowadzone (np. B-NHEJ, C-NHEJ, D-NHEJ lub alt-NHEJ (Chakraborty et al. 2016; Perrault et al. 2004; Schipler i Iliakis 2013; Iliakis et al. 2004)). W modelu uwzględniono indywidualne czasy rozpoznania podwójnoniciowych uszkodzeń DNA oraz indywidualne czasy naprawy (Foray et al. 2005; Bodgi et al. 2013). Tym samym model uwzględnia różne ścieżki naprawy NHEJ (np. wspomniane B-NHEJ lub C-NHEJ) oraz odpowiadające im czasy połowicznych napraw (Iliakis et al. 2004). Prawdopodobne jest, że rozpoznane, ale nienaprawione przez NHEJ podwójnoniciowe uszkodzenia DNA są główną przyczyną obumarcia komórek poza fazami / cyklu komórkowego (gdy komórka nie znajduje się w stanie spoczynku) (Beucher et al. 2009). Pozostałe metody napraw uszkodzeń podwójnoniciowych (np. rekombinacja homologiczna), które dominują poza stanem spoczynku komórki, w znacznym stopniu kończą się sukcesem. Zatem ich wkład w śmiertelność komórek jest znikomy.

- **Kinaza ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated)**

Autorzy przeanalizowali wyniki badań (Bakkenist i Kastan 2003) wskazujące, że promieniowanie jonizujące doprowadza do monomeryzacji dimerów kinazy ATM, które następnie są aktywowane w celu fosforylacji jej substratów (w tym białka p53 (Canman et al. 1998; Podhorecka 2009) czy histonu H2AX (Bakkenist i Kastan 2003; Huang et al. 2004; Podhorecka 2009)). Biorąc pod uwagę powyższe, Bodgi i Foray postawili hipotezę, że

cytoplazmatyczne dimery ATM są monomeryzowane w wyniku ich utlenienia wywołanego przez promieniowanie jonizujące (wolne rodniki). Następnie monomery, ale nie dimery, dyfundują do jądra komórkowego w celu rozpoznania podwójnoniciowych uszkodzeń DNA. Uszkodzenia są rozpoznawane niezależnie od NHEJ, a mechanizm ich rozpoznania polega na fosforylacji histonu H2AX.

4.2.2. Powstawanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA i monomeryzacja ATM

- **Powstawanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA**

Powstawanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA wywołanych promieniowaniem jonizującym jest procesem biofizycznym i biochemicznym, który można uznać za nagły (wymagający bardzo mało czasu) w skali czasu trwania procesów biologicznych (np. czasu cyklu komórkowego). Liczba takich uszkodzeń jest ograniczona przez długość genomu oraz przez liczbę aktów jonizacji niezbędnych do wytworzenia przynajmniej jednego uszkodzenia podwójnoniciowego. Tym samym wytworzenie uszkodzeń podwójnoniciowych podlega sigmoidalnej relacji zależnej od energii padających cząstek. W przypadku biologicznie istotnych dawek (dawek przekraczających wartości pochodzące od promieniowania tła) uważa się, że liczba wytworzonych przez promieniowanie podwójnoniciowych uszkodzeń jest opisana zależnością liniową o nachyleniu proporcjonalnym do przyjętej dawki promieniowania i liczby generowanych uszkodzeń podwójnoniciowych przez jednostkę dawki promieniowania. Stoi to w zgodzie z licznymi pracami naukowymi (Foray et al. 1997; Rothkamm i Löbrich 2003). Liczba wytworzonych podwójnoniciowych uszkodzeń DNA, $N_{DSB}(t, D)$, opisana jest następującym równaniem:

$$N_{DSB}(0, D) = I_{DSB}D \quad (41)$$

gdzie: I_{DSB} – liczba podwójnoniciowych uszkodzeń DNA generowanych przez jednostkę dawki promieniowania, D – otrzymana dawka promieniowania jonizującego.

- **Monomeryzacja ATM**

Monomeryzacja ATM wywołana promieniowaniem jonizującym jest biochemicznym procesem, który – tak samo, jak powstawanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA – może zostać uznany za nagły (wymagający małej ilości czasu) w skali czasu trwania procesów biologicznych. Liczba monomerów ATM wytworzonych przez promieniowanie jonizujące jest ograniczona przez liczbę białek ATM znajdujących się w komórce oraz przez minimalną liczbę aktów jonizacji wymaganą do wytworzenia dwóch monomerów z jednego dimeru ATM. Zatem monomeryzacja ATM podlega sigmoidalnej relacji zależnej od energii padających cząstek. Dla

biologicznie istotnych dawek uważa się, że liczba wytworzonych monomerów ATM jest opisana zależnością liniową o nachyleniu proporcjonalnym do otrzymanej dawki promieniowania i liczby wytworzonych monomerów na jednostkę dawki promieniowania (Bodgi et al. 2013). Biorąc pod uwagę, że liczba białek tego samego typu w pojedynczej komórce ludzkiej waha się średnio od 20 000 (np. insulina), do $5 \cdot 10^8$ (np. aktyna) (Lodish 2008), liczba białek ATM w cytoplazmie jest istotnie większa niż liczba podwójnoniciowych uszkodzeń DNA wytworzonych przez biologicznie istotną dawkę promieniowania jonizującego. Tym samym rozpoznanie uszkodzenia przez monomer ATM jest wysoce prawdopodobne. Należy również zaznaczyć, że energia potrzebna do utlenienia dimeru jest niższa, niż energia niezbędna do wytworzenia uszkodzenia podwójnoniciowego. Tym samym liczba monomerów ATM wytworzonych przez jednostkę dawki promieniowania jest większa niż liczba uszkodzeń podwójnoniciowych wygenerowanych przez tą samą dawkę: $I_{mono} \gg I_{DSB}$. Liczba wytworzonych monomerów ATM, $N_{mono}(t, D)$, jest opisana równaniem

$$N_{mono}(0, D) = I_{mono}D \quad (42)$$

gdzie: I_{mono} – liczba monomerów ATM generowanych przez jednostkę dawki promieniowania, D – otrzymana dawka promieniowania jonizującego.

4.2.3. Redimeryzacja ATM oraz reasocjacja z białkami cytoplazmatycznymi

Autorzy założyli, że spośród $N_{mono}(0, D)$ monomerów ATM wytworzonych przez promieniowanie, niektóre z nich oddziałują ze sobą tworząc $N_{redim}(t, D)$ dimerów ATM (proces ten zachodzi poprzez redimeryzację monomerów⁷). Inne monomery ATM mogą reasocjować z białkami cytoplazmy (białkami X) aby utworzyć $N_X(t, D)$ kompleksów X-ATM. Możliwa jest również dyfuzja monomerów do jądra komórkowego. Redimeryzacji oraz reasocjacji z białkami cytoplazmy przypisano współczynniki oznaczone odpowiednio k_{redim} oraz k_X . Powyższe można formalnie zapisać jako:

$$N_{mono}(t, D) = N_{mono}(0, D) - 2N_{redim}(t, D) - N_X(t, D) \quad (43)$$

$$\frac{dN_{redim}}{dt} = 2k_{redim}N_{mono}^2 \quad (44)$$

$$\frac{dN_X}{dt} = k_X N_X N_{mono} \quad (45)$$

$$\frac{dN_{mono}}{dt} = -2k_{redim}N_{mono}^2 - k_X N_X N_{mono} \quad (46)$$

Założono również, że zależność czasowa liczby wytworzonych monomerów ATM przez promieniowanie jonizujące jest taka sama, jak liczba aktywowanych przez promieniowanie cytoplazmatycznych białek (oznaczonych jako białka X) mogących wejść w interakcję z ATM. W związku z tym przyjęto, że liczba białek X mogących połączyć się z ATM jest proporcjonalna do liczby dostępnych monomerów ATM ze stałą proporcjonalności ξ . Matematycznie można to zapisać jako:

$$N_X(t, D) = \xi N_{mono}(t, D) \quad (47)$$

$$\frac{dN_{mono}}{dt} = -(2k_{redim} + \xi k_X) N_{mono}^2 = -\chi_{mono} N_{mono}^2 \quad (48)$$

$$\text{gdzie: } \chi_{mono} = 2k_{redim} + \xi k_X \quad (49)$$

$$N_{mono}(t, D) = \frac{I_{mono}D}{1 + \chi_{mono} I_{mono}Dt} = \frac{1}{\chi_{mono}} \frac{b_{mono}}{1 + b_{mono}t} \quad (50)$$

$$\text{gdzie: } b_{mono} = \chi_{mono} I_{mono}D \quad (51)$$

oraz gdzie: χ_{mono} – współczynnik reasocjacji monomerów ATM z białkami X cytoplazmy, b_{mono} – odwrotna czasu półtrwania monomeru.

4.2.4. Dyfuzja monomerów ATM

Monomery ATM, które nie uległy reasocjacji z innymi monomerami ATM lub z proteinami X cytoplazmy, dyfundują do jądra komórkowego. W modelu przyjęto, że liczba monomerów ATM znajdująca się w jądrze komórkowym przed napromieniowaniem jest pomijalna w stosunku do monomerów znajdujących się w cytoplazmie. W celu zasymulowania dyfuzji monomerów ATM pomiędzy cytoplazmą a jądrem komórkowym posłużono się prawem dyfuzji Ficka. Stąd przyjmując, że błona jądra komórkowego charakteryzuje się szerokością L , powierzchnią S , przepuszczalnością P oraz wprowadzając współczynnik dyfuzji k_{diff} , można zapisać:

$$\frac{1}{S} \frac{dN_{diff}}{dt} = \frac{P}{L} N_{mono} \quad (52)$$

$$N_{diff}(t, D) = \frac{k_{diff}}{\chi_{mono}} \ln(1 + \chi_{mono} I_{mono}Dt) \quad (53)$$

$$\text{gdzie: } k_{diff} = \frac{SP}{L} \quad (54)$$

gdzie: N_{diff} – liczba monomerów ATM, które dyfundowały z cytoplazmy do jądra komórkowego.

4.2.5. Rozpoznanie podwójnoniciowych uszkodzeń DNA przez ATM

Zgodnie z hipotezą zapostulowaną powyżej, większość podwójnoniciowych uszkodzeń DNA zostaje rozpoznana przez monomery ATM, które dyfundowały do jądra komórkowego i przeprowadziły fosforylację

⁷ Redimeryzacja polega na połączeniu ze sobą dwóch monomerów w efekcie, czego utworzony zostaje pojedynczy dimer.

histonów H2AX w okolicy uszkodzeń. Prawo dyfuzji Flicka implikuje rozpoznanie wszystkich uszkodzeń w czasie $t \rightarrow \infty$. Jednakże autorzy zapostulowali, że jeśli uszkodzenie podwójnoniciowe nie zostanie rozpoznane w pewnym czasie t_{rec} , to nigdy nie zostanie naprawione. Jako pierwszy krok do określenia liczby rozpoznanych uszkodzeń $N_{rec}(t, D)$ oraz nierozpoznanych uszkodzeń $N_{nonrec}(t, D)$ można założyć, że stosunek rozpoznanych uszkodzeń podwójnoniciowych jest proporcjonalny do liczby monomerów ATM znajdujących się w jądrze komórkowym. W związku z tym wprowadzono współczynnik rozpoznania uszkodzeń ρ :

$$N_{rec}(t, D) = \frac{1}{\rho} N_{diff}(t, D) \quad (55)$$

$$\frac{dN_{rec}(t, D)}{dt} = \frac{1}{\rho} \frac{dN_{diff}(t, D)}{dt} = \frac{k_{diff}}{\rho} N_{mono} = \frac{k_{diff}}{\rho \chi_{mono}} \frac{b_{mono}}{1 + b_{mono}t} \quad (56)$$

Dla początkowej liczby uszkodzeń (równanie (41)), zgodnie z wyprowadzeniem opisanym w artykule (Bodgi et al. 2013), liczba rozpoznanych $N_{rec}(t, D)$ i nierozpoznanych $N_{nonrec}(t, D)$ uszkodzeń wynosi odpowiednio:

$$N_{rec}(t, D) = I_{DSB} D \left(\frac{b_{rec}t}{1 + b_{rec}t} \right) \quad (57)$$

$$N_{nonrec}(t, D) = I_{DSB} D \left(\frac{1}{1 + b_{rec}t} \right) \quad (58)$$

gdzie: b_{rec} – połowiczny czas rozpoznania uszkodzenia podwójnoniciowego.

Następnie autorzy przeanalizowali wpływ otrzymanej dawki promieniowania na liczbę rozpoznanych (N_{rec}) oraz nierozpoznanych (N_{nonrec}) uszkodzeń. W związku z tym rozważono poniższe zjawiska mogące wpłynąć na rozpoznanie uszkodzeń podwójnoniciowych:

- Dyfuzja monomerów ATM
- Redimeryzacja monomerów ATM
- Reasocjacja ATM z białkami X cytoplazmy

W celu uproszczenia autorzy wprowadzili dwie kategorie nierozpoznanych uszkodzeń podwójnoniciowych, kategorię A oraz B. Odpowiednio liczby uszkodzeń należące do tych kategorii oznaczono jako N_{nonrec}^A oraz N_{nonrec}^B .

W przypadku kategorii A uszkodzenia podwójnoniciowe pozostają nierozpoznane ze względu na zbyt małą dawkę promieniowania, która wytwarza zbyt małą liczbę monomerów ATM. Ten przypadek dotyczy zakresu niskich dawek promieniowania. Dla bardzo małych dawek promieniowania liczba rozpoznanych uszkodzeń jest pomijalna. W takim przypadku liczba $N_{nonrec}(D)$ jest równa liczbie wytworzonych uszkodzeń podwójnoniciowych:

$$\frac{dN_{nonrec}^A}{dD} = \frac{N_{nonrec}^A}{D} = I_{DSB} \Rightarrow N_{nonrec}^A = I_{DSB} D \quad (59)$$

Dla zakresu większych dawek promieniowania liczba rozpoznanych uszkodzeń wzrasta stopniowo wraz ze wzrostem przyjętej dawki. Wprowadzając parametr D_A i przyjmując, że rozpoznawanie uszkodzeń odbywa się w tempie, a także wprowadzając stałą A , liczbę nierozpoznanych uszkodzeń można zapisać następująco:

$$\frac{dN_{nonrec}^A}{dD} = N_{nonrec}^A \left(\frac{1}{D} - \frac{1}{D_A} \right) \Rightarrow N_{nonrec}^A(D) = A D e^{-\frac{D}{D_A}} \quad (60)$$

W przypadku kategorii B uszkodzenia podwójnoniciowe pozostają nierozpoznane ze względu, iż redimeryzacja, reasocjacja z białkami X cytoplazmy oraz okres półtrwania monomerów ATM (a także potencjalnie efekt nasycenia) uniemożliwiają dyfuzję monomerów ATM. Efekt ten dotyczy dużych dawek promieniowania. Nasilenie efektu wzrasta proporcjonalnie do otrzymanej dawki promieniowania ze stałą proporcjonalności B :

$$\frac{dN_{nonrec}^B}{dD} = B D \Rightarrow N_{nonrec}^B(D) = \frac{B D^2}{2} \quad (61)$$

Po połączeniu obu wyżej opisanych przypadków całkowita liczba nierozpoznanych uszkodzeń podwójnoniciowych, dla dowolnego zakresu dawek, wynosi:

$$N_{nonrec} = N_{nonrec}^A + N_{nonrec}^B = A D e^{-\frac{D}{D_A}} + \frac{B D^2}{2} \quad (62)$$

4.2.6. Naprawa podwójnoniciowych uszkodzeń DNA

Aby dane uszkodzenie zostało naprawione, to najpierw musi zostać poprawnie rozpoznane. W literaturze uszkodzenia, które nie zostaną naprawione w czasie t_{rep} (np. $t_{rep} = 24$ h), są uznawane za nienaprawialne (Iliakis 1988). Autorzy wprowadzili dwie kategorie nienaprawialnych uszkodzeń podwójnoniciowych:

- Uszkodzenia typu α – uszkodzenia, które zostały rozpoznane, ale nienaprawione w czasie t_{rep} (np. $t_{rep} = 24$ h). Liczbę uszkodzeń tego typu oznaczono symbolem $N_{unr}^{nonrec}(D)$. Zgodnie z równaniem Bodgi'ego (Bodgi et al. 2013):

$$N_{unr}^{nonrec}(D) = N_{rep}(D) = I_{DSB} D \cdot \frac{b_{rec}t_{rec}}{1 + b_{rec}t_{rec}} \cdot \frac{1}{1 + b_{rep}t_{rep}} \quad (63)$$

gdzie: b_{rec} – połowiczny czas rozpoznania uszkodzenia podwójnoniciowego, t_{rec} – połowiczny czas naprawy uszkodzenia podwójnoniciowego.

- Uszkodzenia typu β – uszkodzenia, które nie zostały rozpoznane w czasie t_{rec} (np. $t_{rec} = 4$ h), a co za tym idzie, nigdy nie zostały naprawione. Liczbę uszkodzeń tego typu oznaczono symbolem $N_{unr}^{nonrec}(D)$. Tego typu uszkodzenia można zapisać na dwa sposoby:

1. Korzystając z równania (58):

$$N_{unr}^{nonrec}(D) = N_{nonrec}(D, t_{rec}) = I_{DSB} D \cdot \frac{1}{1 + b_{rec}t_{rec}} \quad (64)$$

2. Korzystając z równania (62):

$$N_{unr}^{nonrec}(D) = ADe^{\frac{D}{D_A}} + \frac{BD^2}{2} \quad (65)$$

4.2.7. Letalne nienaprawialne podwójnoniciowe uszkodzenia DNA i przeżywalność komórki

Autorzy postawili hipotezę, że niektóre z nienaprawialnych podwójnoniciowych uszkodzeń DNA nie przyczyniają się do śmierci komórkowej. Jest to spowodowane kondensacją chromatyny (silnie skondensowana chromatyna ma ograniczony udział w procesie transkrypcji genów) lub specyficzną lokalizacją uszkodzenia w jądrze. Biorąc pod uwagę powyższe, Bodgi i Foray wprowadzili pojęcie tolerancji komórek na nienaprawialne uszkodzenia podwójnoniciowe. Wprowadzono również funkcję zależną od otrzymanej dawki promieniowania θ , określającą odwrotność udziału letalnych uszkodzeń typu α lub β wśród wszystkich uszkodzeń podwójnoniciowych. Liczby nienaprawialnych uszkodzeń podwójnoniciowych typu α i β można więc zapisać odpowiednio $N_{unr}^{rec}(D) / \theta_\alpha$ oraz $N_{unr}^{nonrec}(D) / \theta_\beta$. Przeżywalność napromieniowanych komórek $S(D)$ jest spowodowana całkowitym naprawieniem uszkodzeń podwójnoniciowych. Traktując śmiertelne, nienaprawialne uszkodzenia podwójnoniciowe jako zdarzenia rzadkie, można uznać, że przeżywalność komórek jest opisana rozkładem Poissona ze średnią liczbą śmiertelnych komórek $\mu(D)$:

$$S(D) = e^{-\mu(D)} \quad (66)$$

Średnia liczba nienaprawialnych uszkodzeń podwójnoniciowych prowadzących do śmierci komórki wynosi więc:

$$\mu(D) = \frac{N_{unr}^{rec}}{\theta_\alpha} + \frac{N_{unr}^{nonrec}}{\theta_\beta} \quad (67)$$

Korzystając z równania (62), można zapisać:

$$\mu(D) = \frac{N_{unr}^{rec}}{\theta_\alpha} + \frac{ADe^{\frac{D}{D_A}} + \frac{BD^2}{2}}{\theta_\beta} \quad (68)$$

Poprzez analogię do modelu LQ (Kellerer i Rossi 1974; Chadwick i Leenhouts 1973; Williams i Denekamp 1985) oraz zmodyfikowanego modelu LQ opisującego hiper-radiowrażliwość dla niskich dawek (Marples i Joiner 1993), średnia liczba letalnych, nienaprawialnych uszkodzeń podwójnoniciowych $\mu(D)$ musi spełniać obydwa następujące warunki:

1. Zgodnie z historycznym modelem LQ (rozdział 4.1):

$$\mu(D) = \alpha D + \beta D^2 \quad (69)$$

2. Zgodnie ze zmodyfikowanym modelem LQ (Marples i Joiner 1993):

$$\mu(D) = \alpha D - (\alpha - \alpha_S) D e^{\frac{-D}{D_C}} + \beta D^2 \quad (70)$$

gdzie: α_S oraz D_C – wolne parametry modelu.

Model Bodgi'ego i Foray'a spełnia powyższe warunki w następujący sposób:

1. Zgodność z historycznym modelem LQ została zapewniona przyjmując:

$$\alpha = \frac{N_{unr}^{rec}(D)}{\theta_\alpha} D \quad (71)$$

$$\beta = \frac{N_{unr}^{nonrec}(D)}{\theta_\beta} D^2 \quad (72)$$

2. Zgodność ze zmodyfikowanym modelem LQ została zapewniona przyjmując następujące wartości parametrów:

$$A = -(\alpha - \alpha_S)\theta_\beta \quad (73)$$

$$B = 2\beta\theta_\beta \quad (74)$$

$$D_A = D_C \quad (75)$$

Zgodność modelu Bodgi'ego i Foray'a z danymi eksperymentalnymi wskazuje na poprawną interpretację modelu LQ (oraz zmodyfikowanego modelu LQ) pod kątem biologicznym rozszerzając jego użyteczność także do zakresu niskich dawek promieniowania jonizującego.

4.2.8. Związek z radiacyjną odpowiedzią adaptacyjną

Związek modelu Bodgi'ego i Foray'a z efektem radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej, a także sposób, w jaki może być wykorzystany do symulowania tego zjawiska, został opisany w pracy (Devic et al. 2018). Autorzy postulowali, iż u podstaw radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej leży liczba monomerów ATM znajdująca się w jądrze komórkowym. Bazując na literaturze wprowadzony został podział na trzy klasy radiowrażliwości:

- Grupa 1 – grupa radiooporna, charakteryzująca się niskim ryzykiem nowotworowym oraz szybkim przemieszczaniem się (dyfuzją) monomerów ATM z cytoplazmy do jądra komórkowego. Łańcuchy DNA komórek należących do tej grupy zostają w pełni naprawione.
- Grupa 2 – grupa średnio radiowrażliwa. Charakteryzuje się dużym ryzykiem nowotworowym i opóźnionym (względem grupy radioopornej) przemieszczaniem się monomerów ATM z cytoplazmy do jądra komórkowego. Łańcuchy DNA komórek należących do tej grupy nie zostają w pełni naprawione. Komórki należące do tej grupy przejawiają efekt radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej.

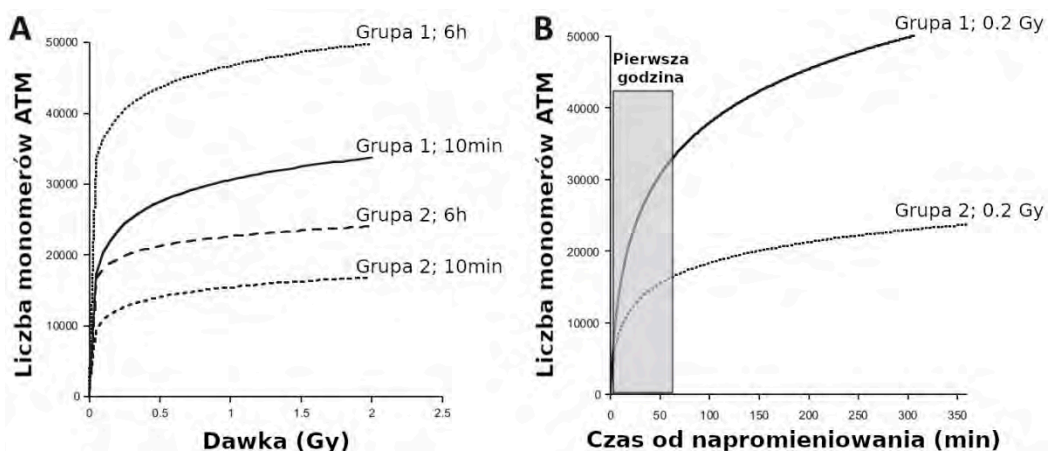
- Grupa 3 – grupa hiper-radiowrażliwa. Charakteryzuje się dużym ryzykiem nowotworowym. Naprawa łańcuchów DNA komórek należących do tej grupy odznacza się licznymi defektami, które prowadzą do szybkiej śmierci komórki.

Na podstawie danych eksperymentalnych (Devic et al. 2018; Bodgi i Foray 2016) oraz zgodnie z równaniem (53) przeprowadzono symulację dyfuzji monomerów ATM z cytoplazmy do jądra komórkowego. Symulacja dotyczyła średnio radiowrażliwej grupy komórek (grupa 2). Na podstawie otrzymanych wyników autorzy zauważyli, że mechanizm radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej może zostać wytłumaczony następująco: po pierwsze, należy zwrócić uwagę, że zależność liczby monomerów dyfundujących do jądra komórkowego od otrzymanej dawki promieniowania, a także od czasu, jest gwałtownie rosnąca, gdyż jest to zależność logarytmiczna (zgodnie z równaniem (53), po znacznym wzroście, szybko występuje efekt nasycenia; patrz rys. 5). Oznacza to, że najistotniejszy wzrost liczby monomerów, które dostają się do jądra komórkowego ma miejsce w zakresie małych dawek promieniowania i występuje w pierwszych chwilach po napromieniowaniu (około 70% monomerów ATM dostaje się do jądra komórkowego w czasie pierwszej godziny od napromieniowania). Przykładowo, w przypadku komórek należących do grupy 2, po napromieniowaniu dawką 0,1 Gy i odczekaniu 10 minut, 6600 monomerów ATM przedostaje się do jądra komórkowego. Jednocześnie napromieniowanie dawką 2 Gy generuje jedynie 18 000 monomerów.

Po napromieniowaniu dawką poprzedzającą, np. $D_1 = 0,2$ Gy oraz po odczekaniu czasu $\Delta t = 6$ h do jądra komórkowego dyfunduje około 20 000 monomerów ATM. Zakładając, że 80% podwójnoniciowych uszkodzeń DNA zostaje naprawionych, 80% monomerów ATM znajdujących się w jądrze zostaje dezaktywowanych (ze względu na redimeryzację, która następuje po rozpoznaniu uszkodzenia). Pozostałe 20% monomerów (4000) pozostaje nadal aktywne. Finalnie, po napromieniowaniu dawką docelową, np. $D_1 = 2$ Gy, po 10 minutach od napromieniowania, do jądra komórkowego dociera 18 000 dodatkowych monomerów ATM. Biorąc pod uwagę nadal aktywne monomery pozostałe po napromieniowaniu dawką D_1 , które w podanym przypadku stanowią 18% ($4000/(4000+18\ 000)$) wszystkich aktywnych monomerów, można stwierdzić, że jest to istotne wzmocnienie mechanizmów rozpoznających uszkodzenia podwójnoniciowe. Bezpośrednio przekłada się to na wzmocnienie mechanizmów naprawczych, a w efekcie prowadzi to do wystąpienia radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej.

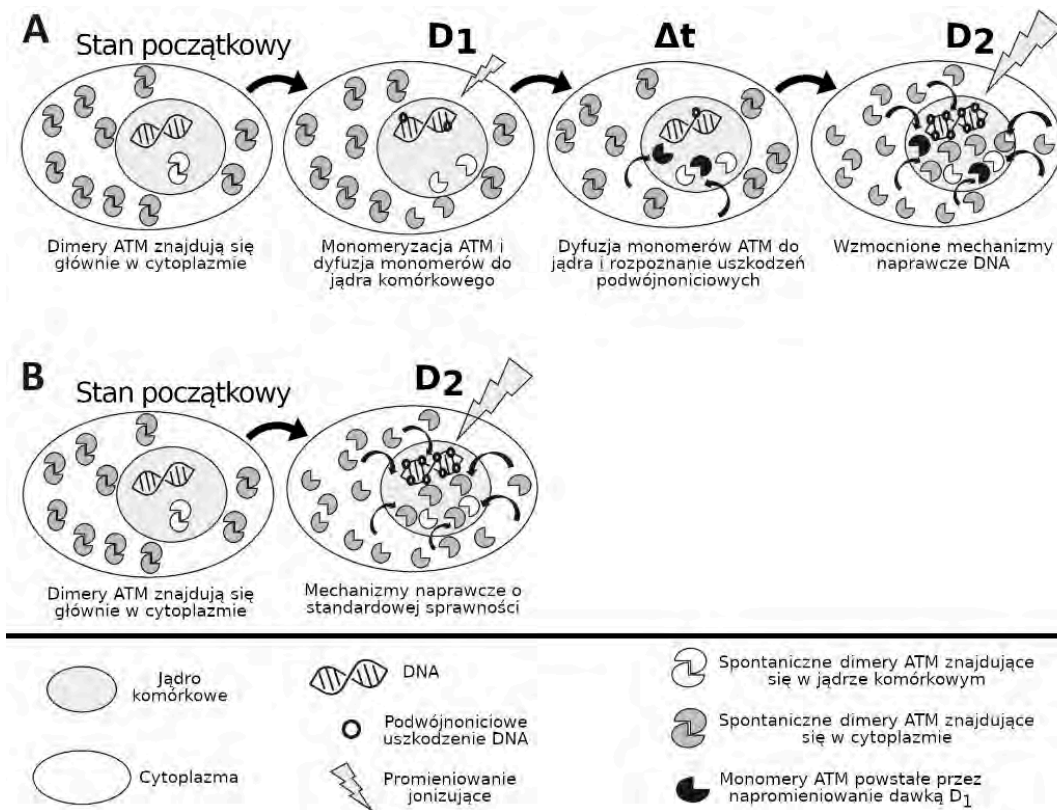
4.3. Podsumowanie modelu

Model Bodgi'ego i Foray'a (Bodgi i Foray 2016) stanowi rozwinięcie modelu liniowo-kwadratowego (LQ) (Kellerer i Rossi 1974; Chadwick i Leenhouts 1973; Williams i Denekamp 1985). W oparciu o teorię monomeryzacji kinaz ATM oraz udziału tak powstałych monomerów w procesie rozpoznania i naprawy podwójnoniciowych uszkodzeń DNA wprowadza dokładne wyjaśnienie modelu LQ od strony biologicznej i fizycznej.



Rys. 5. Wykresy przedstawiają liczbę monomerów ATM, które dyfundują do jądra komórkowego dla komórek należących do dwóch grup radiowrażliwości: radioopornej grupy 1 oraz średnio radiowrażliwej grupy 2. Liczby monomerów zostały wyznaczone zgodnie z równaniem (53) w oparciu o dane pochodzące z literatury (Bodgi i Foray 2016). Do obliczeń przyjęto wartości: $S/L = 100\pi \cdot 10^{-6}$ i $\chi_{mono} I_{mono} = 1,5$ dla komórek należących do grupy 1 oraz $\chi_{mono} I_{mono} = 3,8$ dla komórek należących do grupy 2. Finalnie wykreślone funkcje są następującej postaci: $N_{diff}(t, D) = 11048\ln(1 + 1,5 Dt)$ w przypadku komórek należących do grupy 1 oraz $N_{diff}(t, D) = 4221\ln(1 + 3,8 Dt)$ w przypadku komórek należących do grupy 2. Wykres A przedstawia zależność od dawki, natomiast wykres B przedstawia zależność czasową liczby monomerów, które dyfundowały do jądra komórkowego. Zmodyfikowane wykresy pochodzą z pracy (Devic et al. 2018)

Fig. 5. Figures represent the number of ATM monomers which diffuse to the cell nucleus for cells from two different radiosensitivity groups: radioresistant group no. 1, and medium radioresistant group no. 2. Number of monomers was calculated based on eq. (53) and data from the literature (Bodgi i Foray 2016). It was assumed that: $S/L = 100\pi \cdot 10^{-6}$ and $\chi_{mono} I_{mono} = 1.5$ for group 1 cells, and $\chi_{mono} I_{mono} = 3.8$ for group 2 cells. Final forms of functions are: $N_{diff}(t, D) = 11048\ln(1 + 1.5 Dt)$ for group 1 of cells, and $N_{diff}(t, D) = 4221\ln(1 + 3.8 Dt)$ for group 2. Plot A represents dose relations, while plot B presents time relation of numer of monomers which diffused to the cell nucleus. Figures are based on (Devic et al. 2018)



Rys. 6. Schemat przedstawiający wyjaśnienie działania mechanizmu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej (napromieniowanie w schemacie Yonezawy) postulowanej przez Devic'a et al. (Devic et al. 2018) w oparciu o model Bodgi'ego i Foray'a (Bodgi i Foray 2016). Scenariusz napromieniowania $D_1 + \Delta t$ doprowadza do znacznego wzrostu aktywnych monomerów ATM w jądrze komórkowym przed napromieniowaniem dawką docelową D_2 (panel A). W rezultacie, po napromieniowaniu dawką docelową D_2 , prowadzi to do rozpoznania większej liczby podwójnoniciowych uszkodzeń DNA niż w przypadku napromieniowania pojedynczą dawką D_2 (panel B). Rozpoznanie większej liczby uszkodzeń efektywnie przekłada się na naprawę większej liczby uszkodzeń (poprzez NHEJ), co oznacza, że mechanizmy naprawcze DNA zostają wzmocnione. Zmodyfikowany schemat pochodzi z pracy (Devic et al. 2018)

Fig. 6. A diagram presenting an explanation of the mechanism of the radiation adaptive response (irradiation in the Yonezawa scheme) postulated by Devic et al. (Devic et al. 2018) based on the Bodgi and Foray model (Bodgi and Foray 2016). The $D_1 + \Delta t$ irradiation scenario leads to a significant increase in active ATM monomers in the cell nucleus before irradiation with the challenging dose D_2 (panel A). As a result, after irradiation with the challenging dose of D_2 , this leads to the recognition of more double-stranded DNA lesions than after irradiation with a single dose of D_2 (panel B). Recognizing more damage effectively translates into repairing more damage (via NHEJ), which means that DNA repair mechanisms are strengthened. The modified scheme comes from (Devic et al. 2018)

nej. W szczególności skupiono się na wyjaśnieniu następujących zjawisk:

- wpływu promieniowania jonizującego dla szerokiego zakresu dawek,
- wzmożonej radiowrażliwości pewnych genów spowodowanej mutacją białek cytoplazmy,
- zjawiska hiper-radioczułości niektórych komórek w zakresie niskich dawek promieniowania.

Dodatkowo model wprowadza wielkości (liczbę podwójnoniciowych uszkodzeń DNA oraz liczbę monomerów DNA, które dyfundują do jądra komórkowego) pozwalające finalnie na określenie wystąpienia oraz poziomu radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej (Devic et al. 2018). Wadą modelu jest duża liczba wolnych parametrów, które, aby zapewnić satysfakcjonujący poziom dokładności symulacji, muszą zostać wyznaczone w oparciu o dane eksperymentalne. Należy zaznaczyć, że wolne parametry równań nie są uniwersalne i należy je wyznaczyć dla konkretnego rodzaju komórek.

5. Podsumowanie

Radiacyjna odpowiedź adaptacyjna jest zjawiskiem niezwykle intrygującym, gdyż wydaje się istotnie burzyć obowiązujące w radiobiologii i biofizyce postulaty. Z drugiej jednak strony jest zjawiskiem niezwykle złożonym, trudnym do uchwycenia, co w efekcie powoduje duże trudności w jej precyzyjnym opisie oraz powtarzalności eksperymentalnej. Niewątpliwie odpowiedź adaptacyjną na promieniowanie jonizujące trzeba badać, bo wiele jej aspektów jeszcze nie rozumiemy, a przez co nie umiemy jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, co dokładnie i w jakich warunkach ją wywołuje.

Przedstawione w niniejszym artykule przeglądowym trzy modele biofizyczne opisują zjawisko radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej od strony matematycznej i fizycznej. Modele te są trudne, wymagają dobrego przygotowania matematycznego i programistycznego, niemniej stanowią doskonałe uzupełnienie do prowa-

dzonych badań radiobiologicznych w tym zakresie. Jest to o tyle istotne, iż do pełnego zrozumienia niezwyklego zjawiska radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej potrzeba współpracy wielu specjalistów z różnych dziedzin, z radiobiologami i fizykami na czele.

*Rafał Jarmakiewicz,
Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska
Krzysztof W. Fornalski,
Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska*

Literatura:

- [1] Antonelli, F., Belli, M., Cuttone, G., Dini, V., Esposito, G., Simone, G., ... & Tabocchini, M. A. (2005). Induction and repair of DNA double-strand breaks in human cells: dephosphorylation of histone H2AX and its inhibition by calyculin A. *Radiation research*, 164(4), 514-517.
- [2] Antonelli, F., Campa, A., Esposito, G., Giardullo, P., Belli, M., Dini, V., ... & Tabocchini, M. A. (2015). Induction and repair of DNA DSB as revealed by H2AX phosphorylation foci in human fibroblasts exposed to low-and high-LET radiation: relationship with early and delayed reproductive cell death. *Radiation research*, 183(4), 417-431.
- [3] Bakkenist, C. J., & Kastan, M. B. (2003). DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 421(6922), 499-506.
- [4] Banin, S., Moyal, L., Shieh, S. Y., Taya, Y., Anderson, C. W., Chessa, L., ... & Ziv, Y. (1998). Enhanced phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science*, 281(5383), 1674-1677.
- [5] Beucher, A., Birraux, J., Tchouandong, L., Barton, O., Shibata, A., Conrad, S., ... & Löbrich, M. (2009). ATM and Artemis promote homologous recombination of radiation-induced DNA double-strand breaks in G2. *The EMBO journal*, 28(21), 3413-3427.
- [6] Bodgi, L., & Foray, N. (2016). The nucleo-shuttling of the ATM protein as a basis for a novel theory of radiation response: Resolution of the linear-quadratic model. *International journal of radiation biology*, 92(3), 117-131.
- [7] Bodgi, L., Granzotto, A., Devic, C., Vogin, G., Lesne, A., Bottollier-Depois, J. F., ... & Foray, N. (2013). A single formula to describe radiation-induced protein relocalization: Towards a mathematical definition of individual radiosensitivity. *Journal of theoretical biology*, 333, 135-145.
- [8] Byrd, R. H., Lu, P., Nocedal, J., & Zhu, C. (1995). A limited memory algorithm for bound constrained optimization. *SIAM Journal on scientific computing*, 16(5), 1190-1208.
- [9] Cai, L., & Liu, S. Z. (1990). Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low-dose X-irradiation. *International journal of radiation biology*, 58(1), 187-194.
- [10] Calvi, L. M., Frisch, B. J., Kingsley, P. D., Koniski, A. D., Love, T. M., Williams, J. P., & Palis, J. (2019). Acute and late effects of combined internal and external radiation exposures on the hematopoietic system. *International Journal of Radiation Biology*, 95(11), 1447-1461.
- [11] Canman, C. E., Lim, D. S., Cimprich, K. A., Taya, Y., Tamai, K., Sakaguchi, K., ... & Siliciano, J. D. (1998). Activation of the ATM kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53. *Science*, 281(5383), 1677-1679.
- [12] Castelino, J., Holland, P., Jacobs, O., Lapidot, M., & Markovic, M. (1997). Effects of ionizing radiation on blood and blood components: A Survey. *International Atomic Energy Agency-TECDOC Series*, 934.
- [13] Chadwick, K. H., & Leenhouts, H. P. (1973). *Molecular theory of cell survival*. Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw, Wageningen, Netherlands.
- [14] Chakraborty, A., Tapryal, N., Venkova, T., Horikoshi, N., Pandita, R. K., Sarker, A. H., ... & Hazra, T. K. (2016). Classical non-homologous end-joining pathway utilizes nascent RNA for error-free double-strand break repair of transcribed genes. *Nature communications*, 7(1), 13049.
- [15] Cooper, G. M., & Ganem, D. (1997). The cell: a molecular approach. *Nature Medicine*, 3(9), 1042-1042.
- [16] Curtis, S. B. (1986). Lethal and potentially lethal lesions induced by radiation---a unified repair model. *Radiation research*, 106(2), 252-270.
- [17] Deutsch, V. R., & Tomer, A. (2006). Megakaryocyte development and platelet production. *British journal of haematology*, 134(5), 453-466.
- [18] Devic, C., Ferlazzo, M. L., & Foray, N. (2018). Influence of individual radiosensitivity on the adaptive response phenomenon: toward a mechanistic explanation based on the nucleo-shuttling of ATM protein. *Dose-Response*, 16(3), 1559325818789836.
- [19] Du, F., Zhang, M., Li, X., Yang, C., Meng, H., Wang, D., ... & Sun, Y. (2014). Dimer monomer transition and dimer re-formation play important role for ATM cellular function during DNA repair. *Biochemical and biophysical research communications*, 452(4), 1034-1039.
- [20] Esposito, G., Campa, A., Pinto, M., Simone, G., Tabocchini, M. A., & Belli, M. (2011). Adaptive response: modelling and experimental studies. *Radiation protection dosimetry*, 143(2-4), 320-324.
- [21] Feinendegen, L. E. (1999). The role of adaptive responses following exposure to ionizing radiation. *Human & experimental toxicology*, 18(7), 426-432.
- [22] Foray, N., Arlett, C. F., & Malaise, E. P. (1997). Radiation-induced DNA double-strand breaks and the radiosensitivity of human cells: a closer look. *Biochimie*, 79(9-10), 567-575.
- [23] Foray, N., Charvet, A. M., Duchemin, D., Favaudon, V., & Lavalette, D. (2005). The repair rate of radiation-induced DNA damage: a stochastic interpretation based on the gamma function. *Journal of theoretical biology*, 236(4), 448-458.
- [24] Guéguen, Y., Bontemps, A., & Ebrahimian, T. G. (2019). Adaptive responses to low doses of radiation or chemicals: their cellular and molecular mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76, 1255-1273.
- [25] Huang, X., Halicka, H. D., & Darzynkiewicz, Z. (2004). Detection of histone H2AX phosphorylation on Ser-139 as an indicator of DNA damage (DNA double-strand breaks). *Current protocols in cytometry*, 30(1), 7-27.
- [26] Hulse, E. V. (1961). The recovery of myelopoietic cells after irradiation: A quantitative study in the rat. *Brit. J. Haematol.*, 7.

- [27] Iliakis, G. (1988). Radiation-induced potentially lethal damage: DNA lesions susceptible to fixation. *International journal of radiation biology*, 53(4), 541-584.
- [28] Iliakis, G., Wang, H., Perrault, A. R., Boecker, W., Rosidi, B., Windhofer, F., ... & Pantelias, G. (2004). Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation. *Cytogenetic and genome research*, 104(1-4), 14-20.
- [29] Jarmakiewicz, R. (2021). Modelowanie efektu Yonezawy w biofizyce radiacyjnej. Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska.
- [30] Jeggo, P. A., & Lobrich, M. (2007). DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact?. *Oncogene*, 26(56), 7717-7720.
- [31] Joubert, A., Zimmerman, K. M., Bencokova, Z., Gastaldo, J., Chavaudra, N., Favaudon, V., ... & Foray, N. (2008). DNA double-strand break repair defects in syndromes associated with acute radiation response: at least two different assays to predict intrinsic radiosensitivity?. *International journal of radiation biology*, 84(2), 107-125.
- [32] Kellerer, A. M., & Rossi, H. H. (1974). The theory of dual radiation action. *Current Topics in Radiation Research Quarterly*, 85-158.
- [33] Kivilaakso, E., & Rytömaa, T. (1971). Erythrocytic chalone, a tissue-specific inhibitor of cell proliferation in the erythron. *Cell Proliferation*, 4(1), 1-9.
- [34] Klonowski, W. (1983). Simplifying principles for chemical and enzyme reaction kinetics. *Biophysical chemistry*, 18(2), 73-87.
- [35] Kovalev, E. E., & Smirnova, O. A. (1996). Estimation of radiation risk based on the concept of individual variability of radiosensitivity (p. 202). Bethesda (MD): Armed Forces Radiobiology Research Institute.
- [36] Kuo, L. J., & Yang, L. X. (2008). γ -H2AX-a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In vivo*, 22(3), 305-309.
- [37] Leatherbarrow, E. L., Harper, J. V., Cucinotta, F. A., & O'Neill, P. (2006). Induction and quantification of γ -H2AX foci following low and high LET-irradiation. *International journal of radiation biology*, 82(2), 111-118.
- [38] Lim, D. S., Kirsch, D. G., Canman, C. E., AHN, J., ZIV, Y., NEWMAN, L., ... & KASTAN, M. (1998). Atm binds b-adaptin; a novel explanation for pleiotropic abnormalities in ataxia telangiectasia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 10146-10151.
- [39] Liu, S. (2020). Bioprocess engineering: kinetics, sustainability, and reactor design. Elsevier.
- [40] Lodish, H. F. (2008). *Molecular cell biology*. Macmillan.
- [41] Marples, B., & Joiner, M. C. (1993). The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population. *Radiation research*, 133(1), 41-51.
- [42] Mitchel, R. E. (2010). The dose window for radiation-induced protective adaptive responses. *Dose-Response*, 8(2), dose-response.
- [43] National Institutes of Health – Stem cell information (dostęp: 18.02.2024 r.), <https://stemcells.nih.gov/info/basics/stc-basics/>
- [44] Nias, A. H. W. (1998). *An introduction to radiobiology*. John Wiley & Sons.
- [45] Nikjoo, P., O'Neill, D., Goodhead and M. Terrissol, H. (1997). Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. *International journal of radiation biology*, 71(5), 467-483.
- [46] Olive, P. L., & Banáth, J. P. (2004). Phosphorylation of histone H2AX as a measure of radiosensitivity. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 58(2), 331-335.
- [47] Perrault, R., Wang, H., Wang, M., Rosidi, B., & Iliakis, G. (2004). Backup pathways of NHEJ are suppressed by DNA-PK. *Journal of cellular biochemistry*, 92(4), 781-794.
- [48] Podhorecka, M. (2009). γ H2AX jako marker dwuniciowych pęknięć DNA. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 63, 92-98.
- [49] Rothkamm, K., & Löbrich, M. (2003). Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(9), 5057-5062.
- [50] Sacher, G. A., & Trucco, E. (1966). Theory of radiation injury and recovery in self-renewing cell populations. *Radiation Research*, 29(2), 236-256.
- [51] Sawicki, W. H., & Malejczyk, J. H. (2012). *Wydawnictwo lekarskie PZWL*. Warsaw, Poland.
- [52] Schipler, A., & Iliakis, G. (2013). DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucleic acids research*, 41(16), 7589-7605.
- [53] Shadley, J. D., Afzal, V., & Wolff, S. (1987). Characterization of the adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of X rays to human lymphocytes. *Radiation Research*, 111(3), 511-517.
- [54] Smirnova, O. A., & Yonezawa, M. (2003). Radioprotection effect of low level preirradiation on mammals: modeling and experimental investigations. *Health physics*, 85(2), 150-158.
- [55] Stępień, A., Izdebska, M., & Grzanka, A. (2007). The types of cell death. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 61.
- [56] Wedenberg, M. (2013). From cell survival to dose response: modeling biological effects in radiation therapy. *Karolinska Institutet (Sweden)*.
- [57] Williams, M. V., Denekamp, J., & Fowler, J. F. (1985). A review of $\alpha\beta$ ratios for experimental tumors: implications for clinical studies of altered fractionation. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 11(1), 87-96.
- [58] Wolff, S. (1998). The adaptive response in radiobiology: evolving insights and implications. *Environmental health perspectives*, 106(suppl 1), 277-283.
- [59] Woodbine, L., Gennery, A. R., & Jeggo, P. A. (2014). The clinical impact of deficiency in DNA non-homologous end-joining. *DNA repair*, 16, 84-96.
- [60] Wydawnictwo Naukowe PWN – Chalony (dostęp 18.02.2024 r.), <https://encyklopedia.pwn.pl/haslo/chalony;3884592.html>
- [61] Yang, D. Q., Halaby, M. J., Li, Y., Hibma, J. C., & Burn, P. (2011). Cytoplasmic ATM protein kinase: an emerging therapeutic target for diabetes, cancer and neuronal degeneration. *Drug discovery today*, 16(7-8), 332-338.
- [62] Zhu, C., Byrd, R. H., Lu, P., & Nocedal, J. (1997). Algorithm 778: L-BFGS-B: Fortran subroutines for large-scale bound-constrained optimization. *ACM Transactions on mathematical software (TOMS)*, 23(4), 550-560.