

BIOFIZYKA RADIACYJNA

wykład #10

Krzysztof Wojciech Fornalski

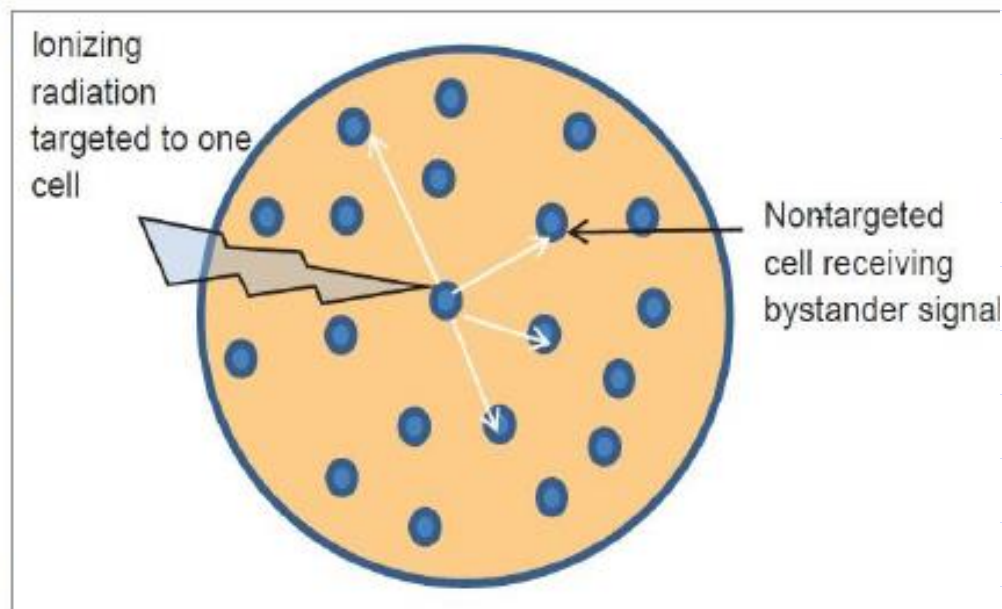
Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska



PRZYPOMNIENIE Z POPRZEDNIEGO WYKŁADU

Efekt sąsiedztwa (Bystander Effects)

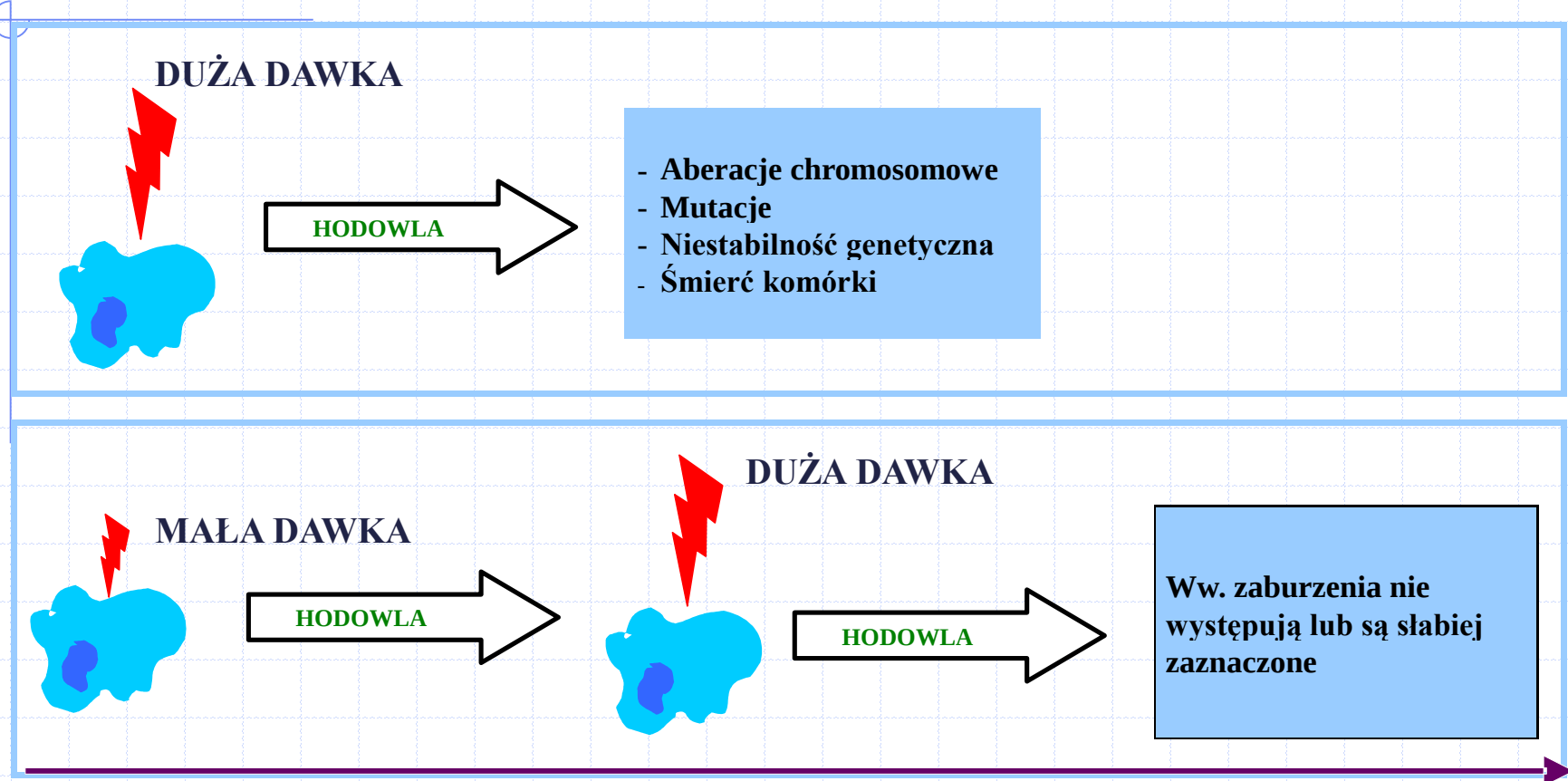
- Efekt polegający na pojawianiu się różnego rodzaju efektów takich jak: obniżenie przeżycia, mutageneza, kancerogeneza, apoptoza, itd. W komórkach które nie są bezpośrednio napromienione.
- Dzieje się tak na skutek emitowania czynników i sygnałów przez komórki, które zostały bezpośrednio napromienione.



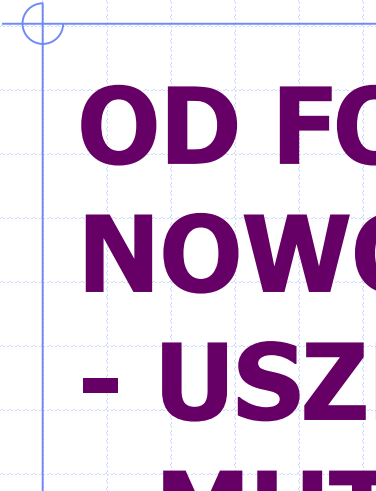
Odpowiedź adaptacyjna

- ◆ W wyniku stymulacji komórek/organizmu niską dawką / dawkami / mocą dawki oraz powstałymi w ten sposób niewielkimi uszkodzeniami, wytwarzane są w większej ilości enzymy naprawcze DNA
- ◆ Dzięki większemu stężeniu enzymów naprawczych, ich zwiększonej sprawności, dochodzi do większej liczby napraw DNA, także napraw uszkodzeń pozaradiacyjnych
- ◆ A także skutki ewentualnej dawki dużej są zdecydowanie mniejsze
- ◆ Mamy więc mniej mutacji onkogennych
- ◆ Efekt: zmniejszone ryzyko transformacji nowotworowej

Odpowiedź adaptacyjna – przykład jako tzw. priming dose effect



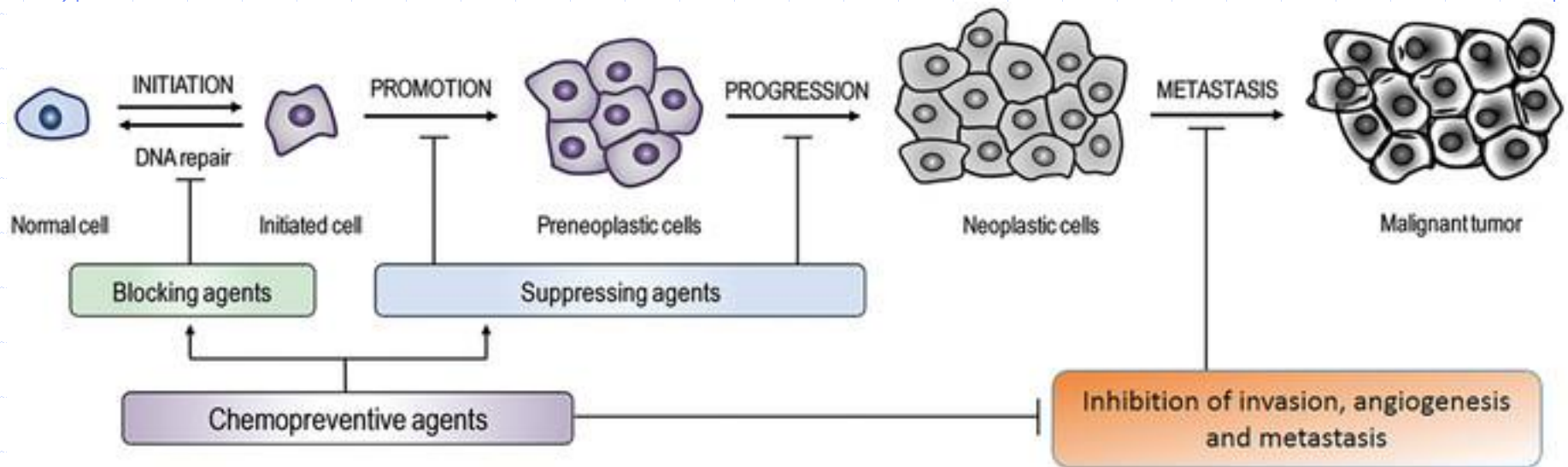
(z prezentacji prof. M. Janiaka, WIHE, 2008)



OD FOTONU DO NOWOTWORU

- USZKODZENIA**
- MUTACJE**
- TRANSFORMACJA
NOWOTWOROWA**

Od zdrowej komórki do komórki nowotworowej



◆ W dużym uproszczeniu:

- komórka zdrowa ulega uszkodzeniu DNA (np. promieniowanie)
- Uszkodzenie może być naprawione lub nie
- Nieprawidłowa naprawa prowadzi do mutacji (stabilnej zmiany, której nie da się już naprawić)
- Nagromadzenie się mutacji może doprowadzić do transformacji nowotworowej (neoplastic transformation)
- Komórka nowotworowa może zainicjować właściwy nowotwór (guz)



UPROSZCZONY MODEL POWSTAWANIA POPROMIENNYCH USZKODZEŃ DNA W KOMÓRCIE

Uszkodzenia popromienne DNA

- ◆ Na potrzeby modelowania zawężymy je w tym momencie jedynie do uszkodzeń szybkich, tj. powstałych w chwili oddziaływania promieniowania z DNA, w skutek przede wszystkim aktów jonizacji
- ◆ Kluczowe jest odniesienie się do przekrojów czynnych (σ) na oddziaływanie promieniowania z materią komórki/organizmu
- ◆ Rozkład p-twa zaistnienia uszkodzenia (ang. *lesion*) przedstawia się więc następująco:

$$P_L = \text{const } \sigma P_{hit}$$

P_{hit} – czyli prawdopodobieństwo uszkodzenia DNA w komórce

- ◆ Kluczowe jest określenie, czy cząstka promieniowania jonizującego oddziaływała z cząstką wchodzącą w skład DNA
- ◆ Do tego celu posłużymy się omówionym już przy innej okazji modelem tarczy (target model, hit model)
- ◆ Zakładamy, że mamy N pikseli, spośród których n reprezentuje DNA ($n \ll N$)

Model tarczy

let us imagine that single cell is composed of N pixels which can be hit by radiation. Some number of them, say n , are important from radiobiological point of view and represent e.g. cellular DNAs. Thus, the probability of DNA damage made in a pixel by a single particle hit is n/N . In case of two particles impinging on the considered cell this probability changes to:

$$P_{2 \text{ particles}} = 2 \left(\frac{n}{N} \cdot \frac{N-n}{N} \right) + \left(\frac{n}{N} \right)^2$$

because one shall consider three scenarios: i) first particle hit DNA and the second not, ii) analogical to the previous one, but the opposite, iii) two particle hit DNA.

Model tarczy – c.d.

For many (k) particles, where some of them hit DNA, one can use the sum of binomial distribution functions as:

$$P_{k \text{ particles}} = \sum_{r=1}^k \frac{k!}{r! (k-r)!} \left(\frac{n}{N}\right)^r \left(1 - \frac{n}{N}\right)^{k-r} \equiv P_{hit}$$

Jest to tzw. rozkład Bernoulliego (w Polsce tak nazywamy rozkład dwumianowy), gdzie pierwszy człon (z silniami) to symbol Newtona (inaczej jest to kombinacja bez powtórzeń – do przypomnienia zagadnienia z kombinatoryki)

Model tarczy – c.d.

$$P_{k \text{ particles}} = \sum_{r=1}^k \frac{k!}{r! (k-r)!} \left(\frac{n}{N}\right)^r \left(1 - \frac{n}{N}\right)^{k-r}$$

- ◆ Uwaga! Powyższy wzór nie uwzględnia $r=0$, czyli sytuacji, gdy żadna z k cząstek promieniowania nie trafiła w n
- ◆ Dla tego konkretnego przypadku (tj. $r=0$) mamy

$$P_{0 \text{ particles}} = \binom{k}{0} \left(\frac{n}{N}\right)^0 \left(1 - \frac{n}{N}\right)^k = \left(1 - \frac{n}{N}\right)^k$$

Model tarczy – c.d.

- ◆ Oczywiście suma obu tych wzorów da wszystkie możliwe scenariusze, czyli prawdopodobieństwo równe 1:

$$P_{0 \text{ particles}} + P_{k \text{ particles}} = P_{\text{all particles}} = 1$$

- ◆ bo definicji rozkładu Bernoulliego i tzw. dwumianu Newtona wiemy, że

$$P_{\text{all particles}} = \sum_{r=0}^k \frac{k!}{r! (k-r)!} \left(\frac{n}{N}\right)^r \left(1 - \frac{n}{N}\right)^{k-r} = \left(\left(\frac{n}{N}\right) + \left(1 - \frac{n}{N}\right)\right)^k = 1$$

Model tarczy – c.d.

Teraz podstawiamy do $P_{0 \text{ particles}} + P_{k \text{ particles}} = 1$
pozostałe równania i otrzymujemy:

$$\left(1 - \frac{n}{N}\right)^k + P_{k \text{ particles}} = 1$$

i otrzymujemy:

$$P_{k \text{ particles}} = 1 - \left(1 - \frac{n}{N}\right)^k \equiv P_{hit}$$

W zasadzie to już koniec, ale...

Model tarczy – c.d.

$$P_{hit} = 1 - \left(1 - \frac{n}{N}\right)^k$$

- ◆ Pamiętając, że $n \ll N$ możemy powyższe równanie zapisać inaczej, w bardziej znanej w biofizyce radiacyjnej postaci
- ◆ Uwzględniając wówczas szereg Maclaurina (szczególny przypadek szeregu Taylora)

$$e^x = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{x^n}{n!} \Rightarrow e^{-\frac{n}{N}} = 1 - \frac{n}{N} + \dots$$

oraz zawężając go do 2 pierwszych wyrazów (co jest słuszne właśnie gdy $n \ll N$)

Model tarczy – c.d.

otrzymujemy przybliżenie

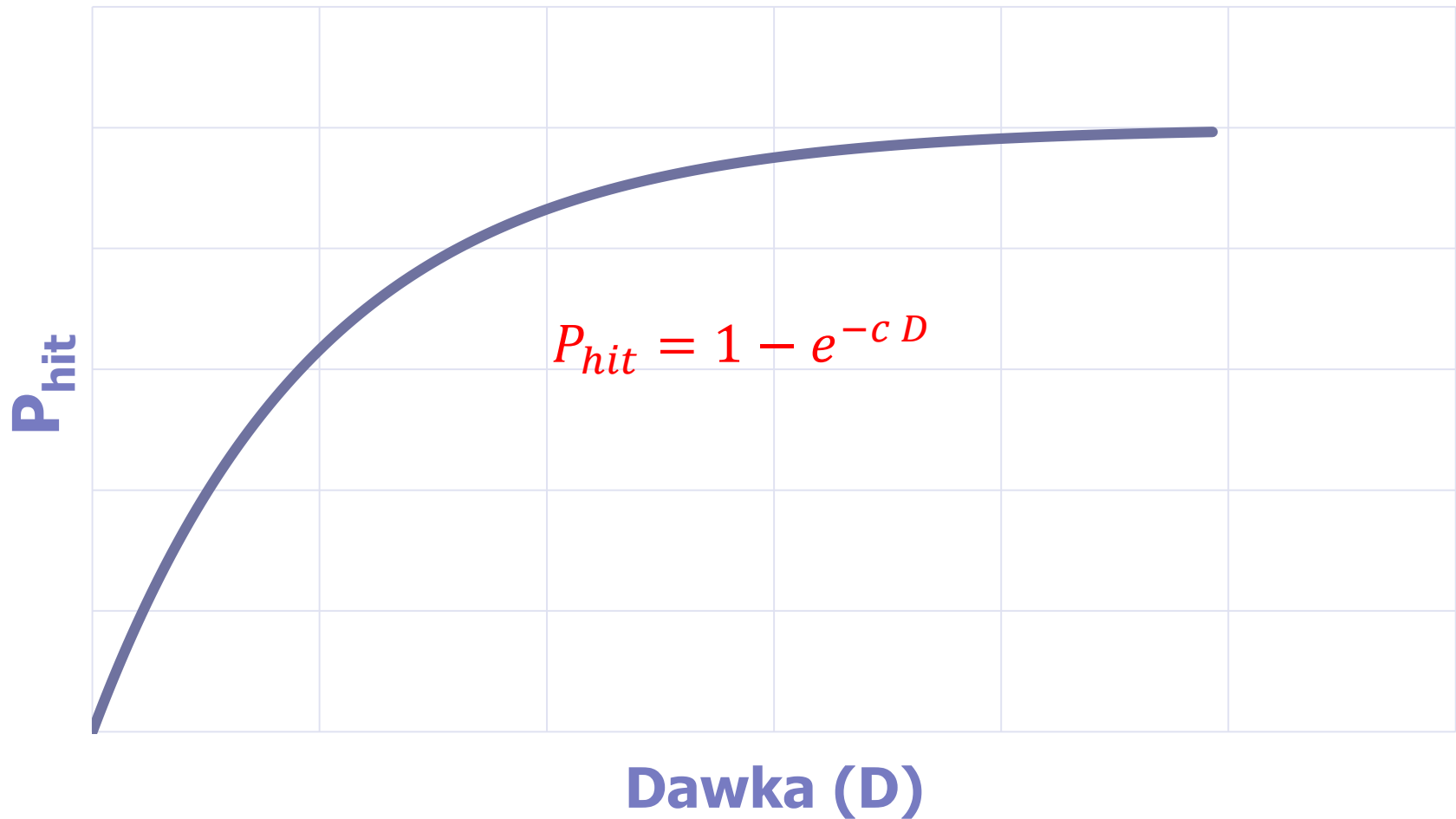
$$e^{-\frac{n}{N}} \approx 1 - \frac{n}{N}$$

czyli mamy wówczas:

$$P_{hit} = 1 - \left(e^{-\frac{n}{N}}\right)^k = 1 - e^{-\frac{n}{N}k}$$

A przyjmując jako $c = n/N$ (czyli prawdopodobieństwo pojedynczego uszkodzenia DNA przez jedną cząstkę), a za liczbę cząstek dawkę ($k=D$), otrzymujemy:

$$P_{hit} = 1 - e^{-cD}$$



- ◆ W efekcie finalna formuła na p-two uszkodzenia DNA przybiera postać:

$$P_L = const \sigma (1 - e^{-c D})$$



OD KOMÓRKI USZKODZONEJ DO ZMUTOWANEJ

Uszkodzenia podwójnoniciowe (DSB)

- ◆ Zawężamy nasze mutacje na razie tylko do DSB
- ◆ Wykorzystamy tutaj obliczenia wykonane na potrzeby omawianego już modelu Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA) – z pracy Fleck et al. 1999
- ◆ P-two uszkodzenia podwójnoniciowego (DSB) jako iloczyn 2 prawdopodobieństw uszkodzenia pojedynczoniciowego (SSB) i czasu naprawy

Fleck C.M., Schöllnberger H., Kottbauer M.M, Dockal T., Prufert U. 1999. Modeling radioprotective mechanisms in the dose effect relation at low doses rates of ionizing radiation. Math. Biosciences 155, 13-44

$$S_t = (\alpha C + \beta \dot{D})^2 \tau$$

gdzie pierwszy człon odnosi się do uszkodzeń spontanicznych (bez promieniowania) zaś τ oznacza czas naprawy

Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA)

Assuming that the production of the repair enzymes increases up to saturation to a certain equilibrium, Fleck et al. (1999) argue that it is reasonable to assume that the average repair time must decrease in a manner inversely proportional to $(1 + \delta\dot{D})$, where δ is a coefficient related to the rate of enzyme production, possibly dependent on LET. This stems from the following reasoning: the higher the radiation dose rate, the greater the number of induced repair enzymes per unit time. With increasing efficiency of repair enzymes the probability of their presence in close proximity to a damaged DNA fragment must increase. Hence, the average repair time of the damaged fragments should decrease with increasing dose rate. Finally, eq. (3.5) will then take the form:

$S_t = (\alpha C + \beta\dot{D})^2 \frac{\tau_0}{1 + \delta\dot{D}}$, where t_0 denotes the characteristic repair time for non-radiation-induced lesions.

Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA)

Instead of reliance on the previous eq., it would seem that one could alternatively assume: $S_t = (\alpha C + \beta \dot{D})^2 \tau_0 e^{-\delta \dot{D}}$, which, at small values of $\delta \dot{D}$, is not much different from previous one.

The development of DNA double strand breaks (DSBs) or double lesions of all possible kinds induced by a single track of an ionizing particle may be an interrelated rather than an independent process. Fleck et al. (1999) assumed that the repair of such lesions cannot be successful and that their rate of appearance is proportional to the dose rate. With this assumption, Fleck et al. (1999) showed that the proportionality constant has the form $(1/f_{nuc})\overline{z}_F\beta^2$, where f_{nuc} denotes the average fraction of the volume of cell nuclei (about 0.3), and $\overline{z}_F$ is the mean specific energy per event deposited in a critical volume. Thus the modified S_t is:

$$S_t = (\alpha C + \beta \dot{D})^2 \tau_0 e^{-\delta \dot{D}} + (1/f_{nuc})\overline{z}_F\beta^2 \dot{D} .$$

Mutacje – c.d.

- ◆ Oczywiście powyższe równanie na p-two powstania stabilnej mutacji od podwójnego uszkodzenia można zmodyfikować o pojedyncze uszkodzenia, ale jest to problematyczne z uwagi na kwestie naprawy, więc nie robimy tego w tym uproszczeniu
- ◆ Same procesy naprawy dotyczą jedynie p-twa powstania uszkodzenia (P_L)

Powstawanie mutacji

- ◆ Drugi rodzaj mutacji zawężamy do aberracji chromosomowych
- ◆ Dzięki temu możemy skorzystać ze znanych nam wielomianowych zależności dawka-efekt dla powstawania aberracji (patrz: krzywe kalibracyjne w biodozymetrii):

$$p_{aber} = \sum_R \sum_{i=0} a_{i,R} D_R^i$$

Powstawanie mutacji

- ◆ Różnych dodatkowych członów może być wiele i jest to katalog otwarty w zależności od tego, jaki stopień szczegółowości potrzebujemy
- ◆ Na tę chwilę prawdopodobieństwo mutacji komórki zależne jest od p-twa powstania uszkodzenia P_L (pomniejszone o p-two jego naprawy, P_R), p-twa mutacji od podwójnego trafienia S_t a także p-twa powstania aberracji p_{aber} , ale katalog może być większy:

$$P_{\text{mutation}} = (P_L - P_R) (S_t + p_{\text{aber}} + \dots)$$

A co z naprawą?

Wspomniane p-two naprawy P_R , które zmniejsza p-two powstania uszkodzenia (tzn. naprawia je) można ogólnie zapisać jako:

$$P_R = P_{NR} + P_{AR}$$

czyli naprawa naturalna i indukowana (odpowiedź adaptacyjna!).

Odpowiedź adaptacyjna była omawiana i w najbardziej ogólnej postaci można ją zapisać jako:

$$P_{AR} = C \int_{t=0}^T \dot{D}^n (T - t)^m e^{-\alpha_2 \dot{D} - \alpha_3 (T-t)} dt$$

Naprawa – c.d.

Repair probability can be generally composed of two main components ($P_R = P_{NR} + P_{AR}$): natural repair of the DNA lesions (cell age dependent and may depend on genetic background), P_{NR} and the radiation-activated mechanism, namely the adaptive response effect, P_{AR} . The first one can likely be approximated by the inverted sigmoidal function (Avrami equation), where the repair possibilities decrease over time: $P_{NR} = C e^{-a K^n}$, where C and a are scaling constants, and K is the age of the irradiated cell. The parameter n is of crucial importance because it is determined by down-regulation of the repair enzymes decrease with the cell's age.



OD KOMÓRKI ZMUTOWANEJ DO KOMÓRKI NOWOTWOROWEJ

Procesy kancerogenezy

- ◆ Wspomniano, iż niemożliwa jest naprawa mutacji i powrót do stanu poprzedniego
- ◆ Do transformacji nowotworowej kluczowe jest nagromadzenie odpowiedniej liczby mutacji w DNA komórki
- ◆ Do tego celu posłużmy się ponownie modelem Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA) – z pracy Fleck et al. 1999

Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA)

Neglecting cooperation between cells, Fleck et al. (1999) suggested that the time dependent generation of cells with the 1st mutation (number of cells per person at time t which undergone 1st mutation, M_1) should be governed by the equation:

$$\frac{dM_1}{dt} = (B_0M_0 - B_1M_1)P_m$$

where P_m denotes $P_{mutation}$. M_0 in this equation denotes the number of non-mutated cells, while B_0 is interpreted as the “number of critical DNA bases in critical codons of all tumour associated genes per cell”.

Random Coincidence Model – Radiation Adapted (RCM - RA)

For cells of the same tissue one can assume that B_1 (the value similar to B_0 , however after the first mutation) should not be much different from B_0 . It would seem that there should be minor error if both these coefficients were substituted by a single one, $B = B_0 = B_1$.

The solution of differential equation is:

$$M_1 = M_0(1 - e^{-BP_m t})$$

which shows at small values of time a linear growth of M_1 with time (as in eq. (B37) in (Fleck et al, 1999)) and at high t -values saturation (equilibrium), so $M_1 = M_0$. The saturation, however, most likely overestimates the number of singly mutated cells as $M_1 = M_0$ means that the number of mutated cells is equal to the number of all cells.

I analogicznie dla 2 mutacji onkogennych

To find the expected number of cells with two mutations Fleck et al (1999) consistently suggests equation similar to first eq.:

$$\frac{dM_2}{dt} = (M_1 - M_2)P_m$$

The solution is:

$$M_2 = M_1(1 - e^{-BP_mt}) = M_0(1 - e^{-BP_mt})^2$$

With increasing time the number of such cells must be smaller than M_1 . This equation is next easily generalized to the case of m mutations per cel:

$$M_n = M_0(1 - e^{-B P_m t})^m$$

It is important to note that according to this procedure the number of mutated cells grows in sigmoidal manner with time.

Ile tych mutacji?

- ◆ Według literatury potrzeba od 2 do 8 mutacji, aby zainicjować transformację nowotworową. Fleck et al. w swym modelu przyjęli $m=5$
- ◆ The number of mutations in a cell, m , is critical for possible transformation to a cancerous one. One can assume that the probability of this transformation is 1 at, say, 10 mutations, and may depend on the number of mutations in sigmoidal fashion using Avrami-Mehl equation as: $P_c(m) = 1 - e^{-0.0277m^k}$
- ◆ which for $m = 5$ and $k = 2$ is close to 0.5, and saturates quickly to 1.0 at larger m values.

Dochodzimy do transformacji nowotworowej N komórek

It follows that the number of cells possessing m mutations that transform to cancer cells is:

$$N_{canc}(m, t) = M_0(1 - e^{-BP_m t})^m \left(1 - e^{-0.0277m^k}\right)$$

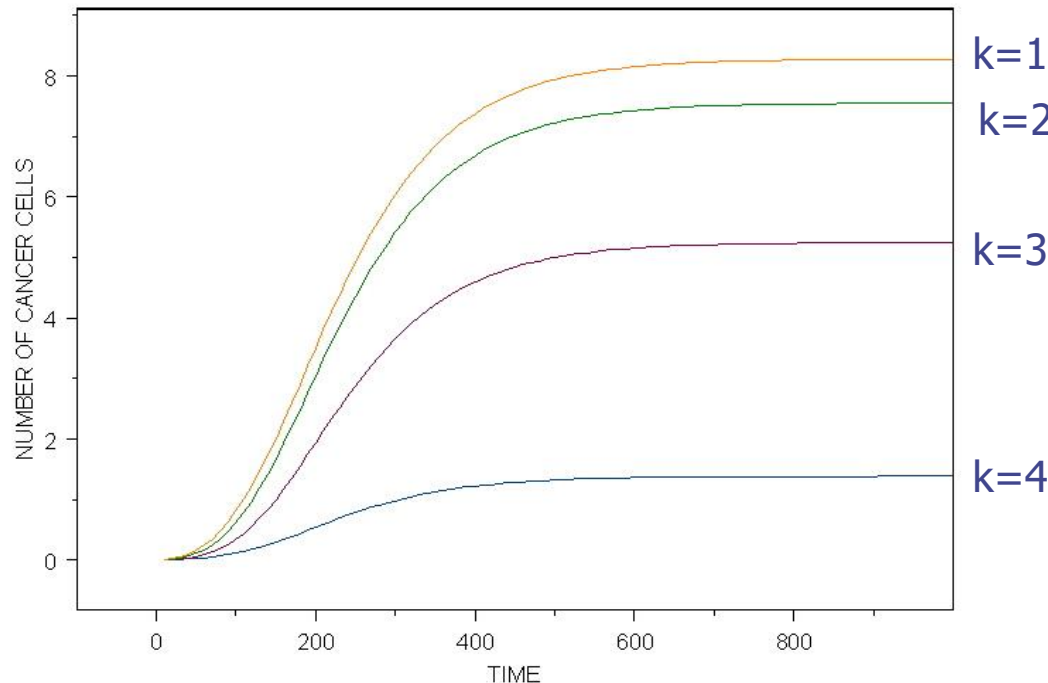
This equation does not take into account any cooperative action within the collection of cells. It relates only to the creation of cancer cells.

Powstawanie i rozwój komórek nowotworowych w czasie

$$N_{cancer}(t) = \sum_m M_0 (1 - e^{-BP_{mut}t})^m (1 - e^{-cm^k})$$

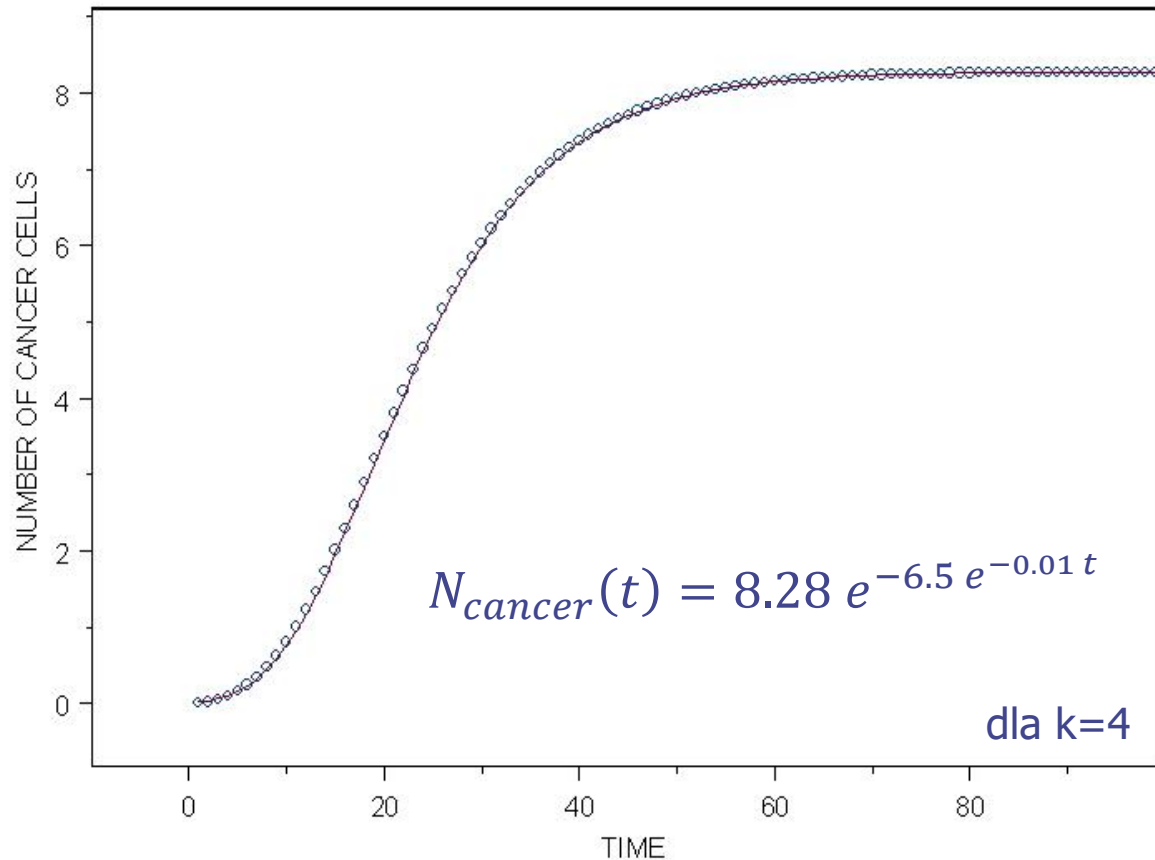
gdzie B charakteryzuje DNA zaś P_{mut} to rozkład prawdopodobieństwa powstania mutacji:

$$P_{mut} = (P_L - P_R) (S_t + p_{aber})$$



Stosując wspomniany szereg Maclaurina powyższy wzór analitycznie można przekształcić do tzw. krzywej Gompertza

Krzywa Gompertza opisuje rozwój komórek nowotworowych



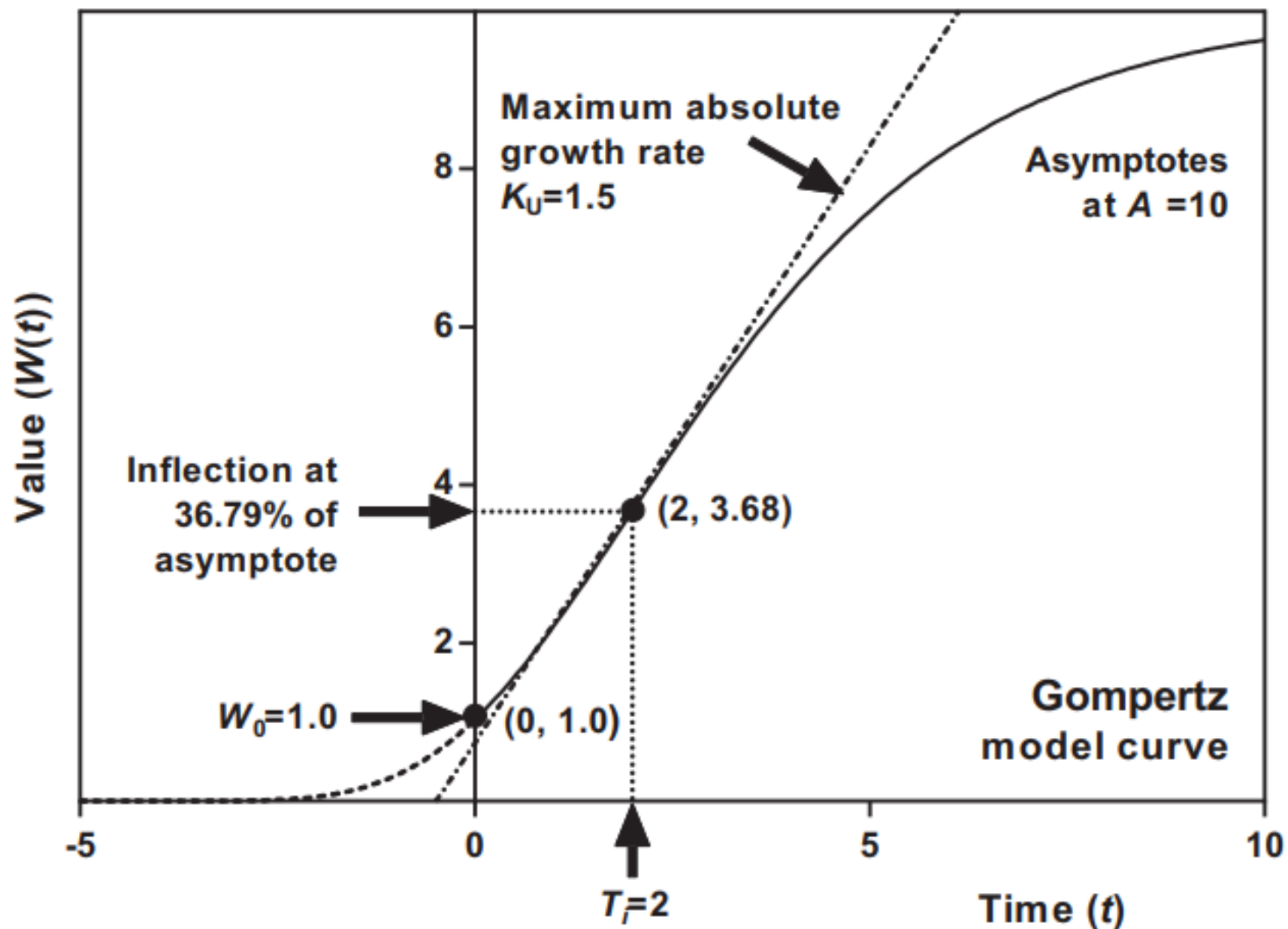


Fig 1. Shape characteristics of the (Unified) Gompertz model (unbroken line). The inflection value is fixed at 36.79% of the upper asymptote. Here the upper asymptote (A) is set at 10.0, maximum absolute growth rate (K_U) to 1.5, time at inflection (T_I) to 2.0, and the starting point (W_0) to 1.0. With a set asymptote and growth rate, time of inflection follows from a given starting point or vice versa. Maximum growth rate is represented by the tangent at inflection (dashed line).

Podsumowanie

- ◆ Uwzględniono najważniejsze mechanizmy biofizyczne, od oddziaływania promieniowania z łańcuchem DNA, przez transformację nowotworową zmutowanej komórki (krzywa Avramiego), po namnażanie się komórek nowotworowych
- ◆ Uwzględniono model RCM-RA jako generator komórek zawierających mutacje onkogenne

Modelowanie transformacji nowotworowej - wciąż otwarta kwestia

- ◆ Kształt krzywej zasadniczo nie zmienia się po wyborze innego modelu samej transformacji nowotworowej
- ◆ Można rozważać inne modele transformacji :
 - Model perkolacji
 - Model przejść fazowych
 - Model *self-organized criticality*