

УДК 616 – 006 – 085. 849. 1

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАЗЛИЧНО ОКСИГЕНИРОВАННЫХ СЛОЕВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

В.Г. Книгавко, Н.С. Пономаренко, Е.Б. Радзишевская, Л.В. Батюк*, Н.П. Полетова

Харьковский государственный медицинский университет, 610022, Харьков, пр. Ленина, 4

*Институт медицинской радиологии им С.П.Григорьева, ул. Пушкинская, 82**

Поступила в редакцию 24 октября 2007 г.

Предложена концепция математического моделирования процессов, определяющих радиочувствительность слоев злокачественной опухоли, и построены соответствующие модели. Проанализирована зависимость от концентрации кислорода параметров, входящих в выражение, связывающее выживаемость облученных клеток с поглощенной дозой рентгеновского или гамма излучений. Приведены результаты расчетов зависимости выживаемости клеток различных слоев опухоли от их оксигенации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: математическое моделирование, радиочувствительность опухолевых клеток, оксигенация.

Фракционирование дозы при лучевой терапии злокачественных опухолей является широко распространенной методикой. Используемые режимы фракционирования дозы подобраны эмпирически и их оптимальность в каждом конкретном случае неизвестна. Разработка теоретических подходов к оптимизации методик фракционирования дозы при лучевой терапии требует решения ряда сложных задач, связанных с математическим моделированием процессов, определяющих зависимости радиочувствительности клеток и скорости их деления от степени оксигенации.

Настоящая работа посвящена изложению предлагаемых нами подходов к решению задачи оценки вероятности выживания клеток в слоях опухоли, различающихся степенью оксигенации, после первой фракции облучения для случая опухоли, облучаемой рентгеновским или гамма – излучением.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Различия в выживаемости облученных клеток в разных слоях опухоли связаны с различной оксигенацией этих слоев и общеизвестным явлением – кислородным эффектом. Оценка оксигенации различных слоев опухоли требует решения задачи совместного описания процессов диффузии кислорода в опухоли и его потребления опухолевыми клетками. Это, в свою очередь, требует знания вида зависимости скорости потребления клетками кислорода от его концентрации. В литературе широко распространено мнение о том, что скорость потребления кислорода не зависит от его концентрации. Вместе с тем, есть экспериментальные работы, доказывающие, что такова, точнее, примерно такова, ситуация только при больших значениях концентрации кислорода. Приведенный в одной из статей [1] график экспериментально полученной зависимости скорости потребления кислорода от его концентрации и использованная нами [2] аппроксимация этого графика приведены на рис. 1 и 2 соответственно.

Видно, что при больших значениях концентрации кислорода скорость его потребления мало зависит от концентрации, а при малых значениях график этой зависимости близок к линии, проходящей через начало координат.

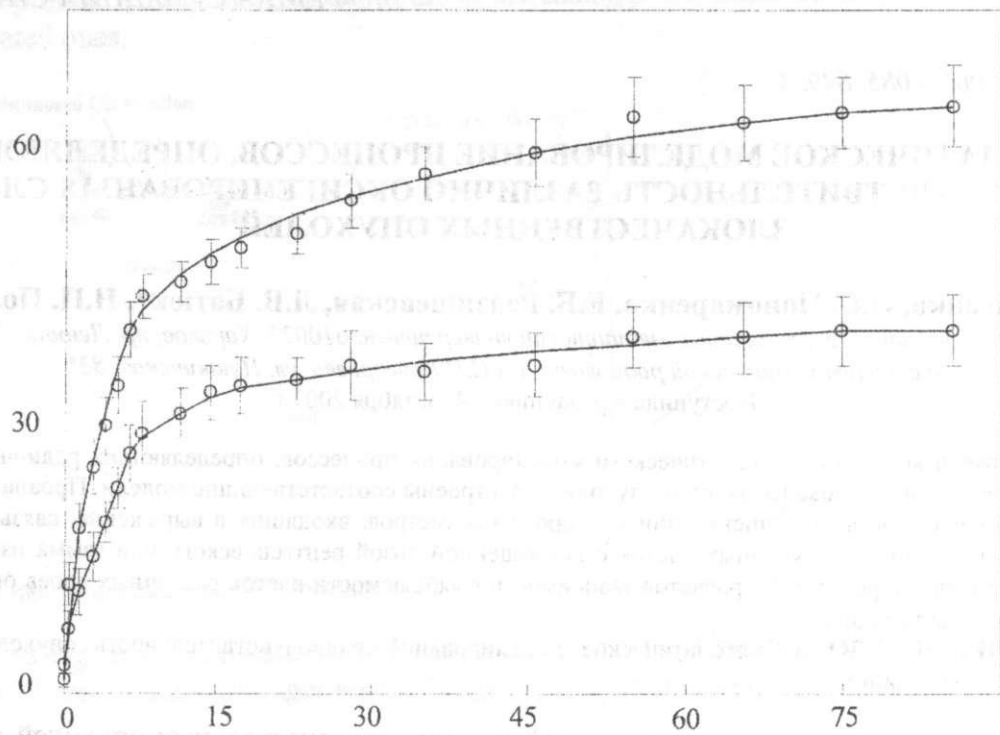


Рис. 1. Экспериментально полученная зависимость скорости потребления кислорода нормоксическими (1) и гипоксическими (2) клетками китайского хомячка от напряжения кислорода в околоклеточной среде. По оси абсцисс – напряжение кислорода (pO_2), мм рт.ст.; по оси ординат – скорость потребления кислорода, мкл кислорода (при нормальных условиях) в минуту в расчете на 10^6 клеток.

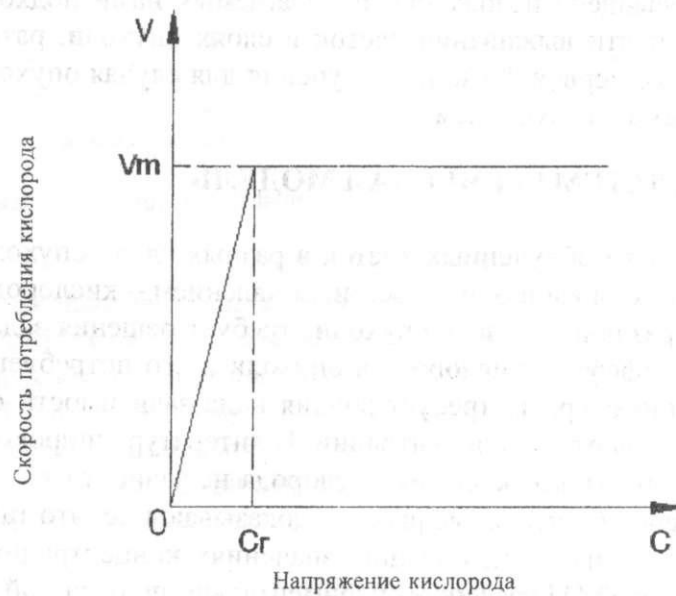


Рис. 2. Аппроксимация зависимости, приведенной на рис. 1. Здесь v – скорость потребления кислорода, v_m – максимальная (при нормоксии) скорость потребления кислорода, c – концентрация кислорода в околоклеточной среде, c_r – граничное между нормоксией и гипоксией значение концентрации кислорода.

Исходя из приведенной аппроксимации графика зависимости скорости потребления кислорода от его концентрации, нами ранее [2-4] была решена задача расчета распределения кислорода в опухолях разной формы. В частности, для опухоли сферической формы производился [2] расчет зависимости концентрации кислорода в некоторой точке опухоли от расстояния (r) между этой точкой и центром сферы.

Для оценки выживаемости клеток различных слоев облученной опухоли необходимо знать как концентрацию кислорода в каждой точке опухоли, так и зависимость выживаемости облученных клеток от концентрации кислорода.

Если опухоль облучается рентгеновским или гамма излучениями, вопрос о зависимости радиобиологического эффекта от концентрации кислорода достаточно сложен. Во-первых, известные аналитические выражения обычно отражают не зависимость собственно выживаемости от концентрации кислорода, а зависимости какой-то характеристики выживаемости, например, D_0 (см., например, [5]). Во-вторых, известная формула Альпер и Говард-Фландерса исходит из предположений, учитывающих не все факторы, влияющие на зависимость выживаемости эукариотических клеток от концентрации кислорода. В-третьих, известные зависимости, чаще всего, относятся к облучению в таких дозах, которые существенно превышают дозы при фракционированной лучевой терапии. Кроме того, зависимость выживаемости от поглощенной дозы является, как известно, достаточно сложной и никем еще достаточно убедительно необъясненной.

Наши нынешние представления по этому вопросу близки к тем, которые изложены в работе [6]. Мы считаем, что генетический аппарат эукариотической клетки состоит из структурно-функциональных единиц (СФЕ), обслуживаемых своим собственным комплексом ферментов рекомбинационной репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК. Как и в модели Хейнса, проанализированной в работе [7], предполагается также, что существует такая стадия клеточного цикла, что клетка, вошедшая в эту стадию с хотя бы одним нерепарированным ДР обязательно погибает. Промежуток времени от момента образования ДР до входа клетки в указанную выше стадию клеточного цикла будем называть репарабельным интервалом. Будем также считать, что полная репарация ДР возможна только в том случае, если в каждой СФЕ образовалось не более одного ДР. Если же в какой-либо СФЕ образовалось два или более ДР, то такая клетка неминуемо гибнет. Если в СФЕ образовался один ДР, то в зависимости от продолжительности репарабельного интервала клетка может успеть или не успеть репарировать этот ДР. Если в клетке не образовалось ни одного ДР или в каждой СФЕ образовалось не более одного разрыва и клетка успела на протяжении репарабельного интервала все ДР репарировать, то она выживает. Если же хотя бы в одной СФЕ клетки образовалось более одного ДР или если образовался один ДР, но клетка не успела его репарировать, то она гибнет. В работе [6] мы предполагали, что вышеупомянутой структурно-функциональной единицей хромосомы является петлевой домен. Сравнение расчетных кривых выживаемости облученных клеток с экспериментальными кривыми привело нас к выводу о том, что такой единицей скорее является MASSU (membrane associated superstructure unit).

Формула, отражающая зависимость выживаемости (вероятности выживания) клеток от дозы излучения (поглощенной дозы), вытекающая из вышеизложенных модельных предположений, имеет вид

$$S = e^{-n_0 D} \left(k + (1-k) \left(1 + \frac{n_0 D}{n_c} \right)^{n_c} \right), \quad (1)$$

где S – выживаемость клеток, D – поглощенная доза, n_0 – среднее на клетку число ДР ДНК, образующихся при дозе $D = 1$ Гр, $k = \frac{\tau}{T}$, τ – время репарации одного ДР, T – максимальная продолжительность реparableного интервала, n_e – число транскрипционно активных СФЕ.

Обсудим теперь зависимость параметров модели (т.е. параметров, входящих в формулу (1)) от концентрации кислорода. Мы предполагаем, что величина n_e мало зависит от оксигенации клеток. Что касается величины k , то с уменьшением концентрации кислорода (c) величина k должна увеличиваться. Это связано с тем, что при гипоксии процессы транскрипции в клетке замедляются, что приводит либо к увеличению продолжительности клеточного цикла, а значит, и к увеличению продолжительности реparableного интервала, либо вообще к прекращению деления и переходу клетки в стадию G_0 .

Для последующего изложения полезно сравнить графики на рис. 1 и на рис. 3. На рис.3 показан приводимый, например, в монографии [5], график зависимости коэффициента кислородного усиления от концентрации (точнее, от пропорционального ей напряжения) кислорода.

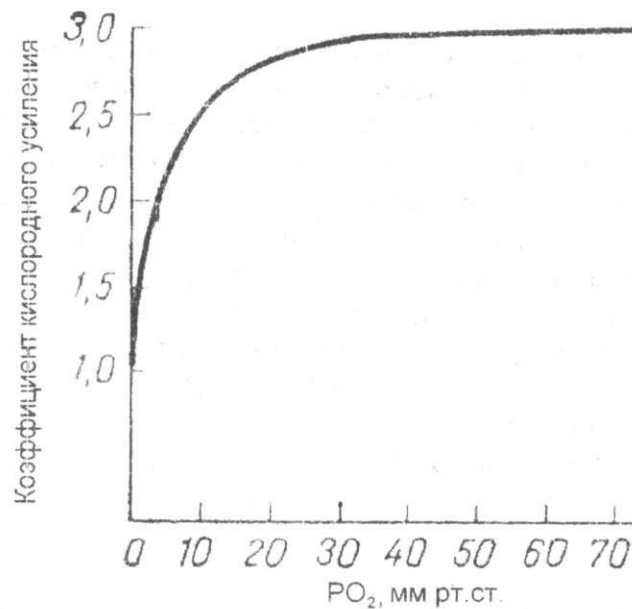


Рис. 3. Зависимость коэффициента кислородного усиления от напряжения кислорода.

Видно, что графики подобны и что точка перелома у них наблюдается при достаточно близких значениях концентрации кислорода. Таким образом, есть основания предполагать, что выраженность кислородного эффекта определяется не столько концентрацией кислорода во внеклеточной среде, сколько связанной с ней скоростью потребления кислорода клетками. Эти соображения использовались нами при дальнейшем моделировании.

Вернёмся к зависимости параметра k от концентрации кислорода в околклеточной среде. Будем предполагать, что максимальная продолжительность реparableного интервала при нормоксии в основном определяется временем, необходимым клетке для выполнения всех тех биосинтетических процессов, которые обеспечивают как текущую жизнедеятельность клетки, так и подготовку к процессу репликации. Говоря о биосин-

Математическое моделирование процессов, определяющих радиочувствительность...

тетических процессах, обеспечивающих текущую жизнедеятельность, мы имеем в виду процессы, протекающие в клетках, находящихся в стадии G_0 .

Будем считать, что $c_{ж}$ – это такая концентрация кислорода, при которой скорость потребления кислорода клеткой достаточна для поддержания текущей жизнедеятельности, но недостаточна для проведения подготовки к репликации. Предполагаем, что в интервале значений концентрации кислорода $c_{ж} \leq c \leq c_r$ скорость потребления (v) пропорциональна концентрации кислорода, т.е. $v = kc$, где k – некоторый коэффициент пропорциональности.

Пусть $v = v_{ж} + v_p$, где $v_{ж}$ – скорость потребления кислорода, обеспечивающего поддержание текущей жизнедеятельности клетки, а v_p – скорость потребления кислорода, обеспечивающего подготовку к репликации. Для осуществления репликации независимо от оксигенации клетки необходимо выполнить один и тот же объем биосинтетической работы, а следовательно, потребить одно и то же количество кислорода. Следовательно,

$$T \cdot v_p = T_0 \cdot (v_m - v_{ж}), \quad (2)$$

где T_0 и T – максимальные продолжительности репаративного интервала при нормоксии и гипоксии соответственно.

Учитывая, что $v_p = v - v_{ж}$, $v_m = kc_r$, а $v_{ж} = kc_{ж}$, из (2) получим

$$T = \frac{T_0 \cdot (v_m - v_{ж})}{v_p - v_{ж}} = \frac{T_0 \cdot (c_r - c_{ж})}{c - c_{ж}},$$

откуда

$$k = \frac{\tau}{T} = \frac{\tau \cdot (c - c_{ж})}{T_0 \cdot (c_r - c_{ж})}.$$

При $c < c_{ж}$ клетка не делится и T становится неопределенно большим (формально – бесконечно большим). В этом случае $k = 0$.

Обобщая, получаем следующую зависимость k от c :

$$k = \begin{cases} \frac{\tau}{T_0}, & c \geq c_r \\ \frac{\tau \cdot (c - c_{ж})}{T_0 \cdot (c_r - c_{ж})}, & c_{ж} \leq c \leq c_r \\ 0, & c \leq c_{ж} \end{cases}$$

Известно, что под действием рентгеновского и гамма излучений повреждаются, главным образом, транскрипционно активные гены. Именно поэтому мы определяли величину n_e именно как число транскрипционно активных СФЕ. Величина n_0 зависит от концентрации кислорода, причем, по-видимому, вследствие нескольких причин.

Известно также, что под действием рентгеновского или гамма излучения в клетке образуются как повреждения, являющиеся результатом прямого действия излучения на ДНК, так и повреждения, являющиеся результатом воздействия на ДНК продуктов радиолитиза воды, причем эти повреждения являются кислородозависимыми. В нормоксических условиях первые составляют около 10-20 % (по различным оценкам), а вторые соответственно 90-80 %. Если число первых обозначить n_{01} , а вторых n_{02} , то

$$n_0 = n_{01} + n_{02}; \quad n_{01} = \alpha n_{0n} D,$$

где n_{0H} – среднее на клетку число ДР при $D = 1$ Гр в нормоксических условиях (это число известно из литературы), а α – величина, значение которой лежит в интервале от 0,1 до 0,2.

Зависимость величины n_{02} от концентрации кислорода в клетке связана как с зависимостью активности транскрипции от концентрации кислорода, так и с зависимостью от нее вероятности фиксации кислородозависимых радиационных повреждений ДНК. В результате у нас получилось следующее выражение, описывающее зависимость n_{02} от концентрации кислорода:

$$n_{02} = (1 - (1 - \beta)^{\chi c})(1 - \alpha)n_{0H}\gamma D,$$

где $\gamma = \begin{cases} 1, & c \geq c_r \\ \frac{c}{c_r}, & c < c_r \end{cases}$, а β и χ – некоторые константы.

В результате, для n_0 окончательно получаем

$$n_0 = n_{0H} D (\alpha + (1 - \alpha) \gamma (1 - (1 - \beta)^{\chi c})).$$

Подставляя приведенные выражения для k и n_0 в формулу вычисления S , получаем зависимость выживаемости клеток от концентрации кислорода, график которой показан на рис. 4.

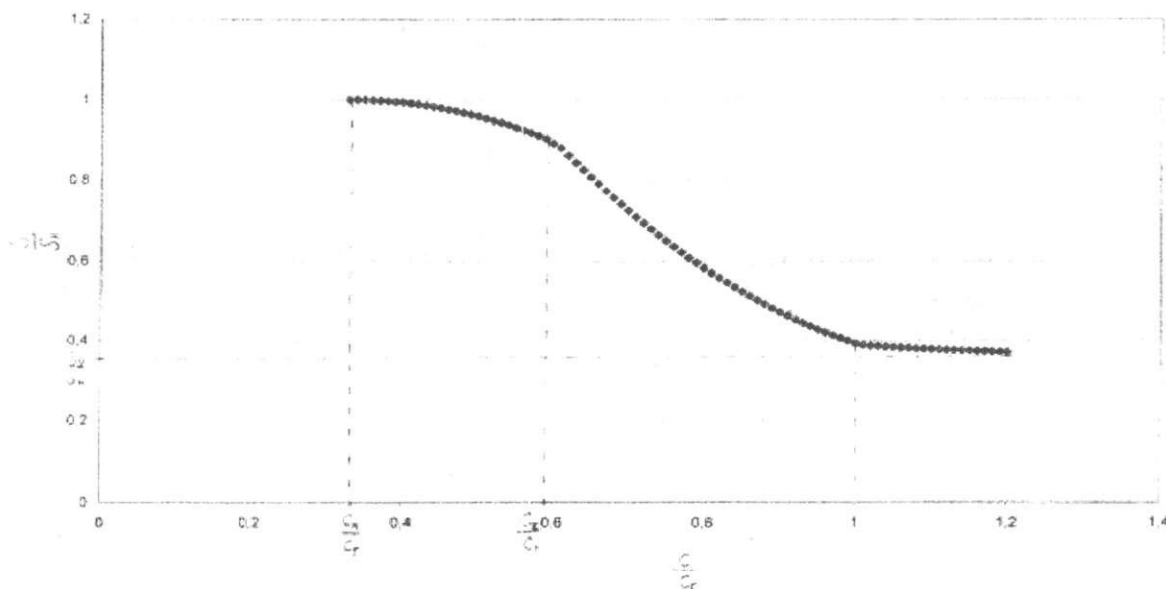


Рис.4. Зависимость относительной выживаемости облученных клеток от относительной концентрации кислорода.

На рис. 4 S_H – выживаемость клеток в нормоксических условиях, под относительной выживаемостью понимается отношение $\frac{S}{S_H}$, под относительной концентрацией кислорода – отношение $\frac{c}{c_r}$, c_H – такая концентрация кислорода, что при $c < c_H$ происходит умирание (некроз) клеток.

Теперь, используя полученную нами ранее (работа [2]) зависимость c от r , можно получить зависимость S от r для опухоли сферической формы.

После выяснения зависимости вероятности выживания клеток в слое опухоли сферической формы от радиуса этого слоя может быть решена и задача установления

зависимости концентрации кислорода в произвольной точке опухоли после облучения от расстояния между этой точкой и центром опухоли, т.е. задачи определения оксигенации опухоли после облучения. Именно это новое распределение оксигенации в толще опухоли определяет процессы изменения радиочувствительности клеток в опухоли после облучения и изменения скорости их пролиферации. Результаты моделирования этих зависимостей мы представим в следующей публикации.

ВЫВОДЫ

1. Предложена концепция математического моделирования процессов, определяющих радиочувствительность слоев злокачественной опухоли отличающихся степенью оксигенации.
2. Получены выражения, определяющие зависимость радиочувствительности опухолевых клеток от концентрации кислорода в окружающей среде.
3. Для случая опухоли с нормоксическим наружным и гипоксическим внутренним слоями рассчитана зависимость относительной радиочувствительности от относительной концентрации кислорода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волошина Е.А., Мещерикова В.В. Кислородный эффект и адаптационные реакции клеток. Сообщение 6. Кинетика дыхания клеток, культивируемых при различной оксигенации и различающихся по модифицируемой радиочувствительности.// Радиобиология.- 1979.- Т.ХІХ, вып.2.- С. 283-285.
2. Книгавко В.Г., Бондаренко М.А. Математическое моделирование диффузии и потребления кислорода в злокачественной опухоли.// Биофизика – 2005. - Т.50, вып. 3. - С.544-549.
3. Книгавко В.Г., Бондаренко М.А., Гордиенко В.Г., Проценко Е.В., Книгавко А.В. Моделирование процессов диффузии и потребления кислорода в тяжках злокачественных опухолей// Вісник Харк. Нац. Університету. Біофізичний вісник. – 2001. - № 525.-Вип.1(8). - С.81-85.
4. Книгавко В.Г., Бондаренко М.А., Гордиенко В.Г., Проценко Е.В. Сопоставление моделей процессов диффузии и потребления кислорода в опухолях плоской и сферической формы// Вісник Харк. Нац. Університету. Біофізичний вісник.- 2001.- №528. - Вип.2(9)-С.76-78.
5. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А., Магдон Э. Кислородный эффект и лучевая терапия опухолей. – М.: Медицина, 1980. – 248 с.
6. Книгавко В.Г., Радзішеська Є.Б., Мещерякова О.П. Математичне моделювання процесів, що визначають форму кривих виживаності опромінених еукаріотичних клітин// Український Радіологічний Журнал. – 2005. - Т.13, N 4. – С. 565-569.
7. Обатуров Г.М. Биофизические модели радиобиологических эффектов.– М.: Энергоатомиздат, 1987.– 148 с.