

Spis treści

1.	<i>Wprowadzenie</i>	1
1.1	Streszczenie	1
1.2	Abstract	1
1.3	Cel pracy	1
1.4	Układ pracy	1
2.	<i>Wstęp</i>	3
2.1	Procesy nowotworowe	3
2.2	Sposoby leczenia nowotworów	3
2.2.1	Znaczenie układu immunologicznego	3
2.2.2	Immunoterapia	6
2.2.3	Chemioterapie	7
2.2.4	Leczenie skojarzone	8
2.2.5	Chemioimmunoterapie	8
2.2.6	Alternatywne modele	8
3.	<i>Model</i>	9
3.1	Opis modelu	9
3.2	Założenia modelu	9
3.3	Równania modelu	10
3.4	Parametry modelu	10
4.	<i>Symulacje</i>	11
4.1	Brak leczenia	11
4.2	Leczenie metodą immunoterapii	11
4.3	Leczenie metodą chemioterapii	11
4.4	Połączenie metod immunoterapii i chemioterapii	11
5.	<i>Rezultaty</i>	12
6.	<i>Analiza wyników</i>	13
7.	<i>Podsumowanie</i>	14

Spis rysunków

2.1	Różnice pomiędzy odpornością wrodzoną a nabytą.	4
-----	---	---

Spis tabel

1. Wprowadzenie

1.1 Streszczenie

W pracy przedstawiono model opisujący leczenie nowotworu skojarzonymi metodami immunoterapii i chemioterapii. Model ten oparty jest na modelu de Pillis'a oraz modelu Isaeva i Osiopov'a [1]. Uwzględnia on rozwój komórek nowotworowych w organizmie, odpowiedź układu immunologicznego – limfocytów naciekających nowotwór (TIL), komórek naturalnie bójczych (komórek NK), limfocytów CD8+ – na nowotwór oraz leczenie metodą chemioterapii i immunoterapii z użyciem cytokin: interleukin-2 (IL-2) i interferonów alpha (INF- α).

1.2 Abstract

1.3 Cel pracy

Celem pracy było:

- utworzenie modelu rozwoju nowotworu w organizmie z uwzględnieniem leczenia skojarzonymi metodami chemioterapii i immunoterapii,
- przeprowadzenie symulacji leczenia nowotworu metodą chemioterapii, immunoterapii oraz skojarzonych metod chemioterapii i immunoterapii,
- analiza rozwiązań modelu opisującego leczenie wyłącznie metodą chemioterapii,
- analiza rozwiązań modelu opisującego leczenie wyłącznie metodą immunoterapii,
- analiza rozwiązań modelu opisującego leczenie zarówno metodą chemioterapii, jak i immunoterapii.

1.4 Układ pracy

Praca składa się z następujących części:

- wstępu teoretycznego zawierającego informacje na temat rodzajów i sposobów rozwoju nowotworów oraz niektórych metod ich leczenia, a także dotyczących budowy i sposobu działania układu immunologicznego,

-
- przedstawienia zaimplementowanego modelu, na którym przeprowadzano symulacje,
 - opisu dokonanych symulacji i scenariuszy, według których zostały przeprowadzone,
 - analizy wyników symulacji i wynikających z nich wniosków,
 - podsumowania.

2. Wstęp

2.1 Procesy nowotworowe

Nowotworem określa się nieprawidłowe komórki w organizmie, których wzrost odbywa się w sposób niekontrolowany [1,2]. W zdrowym organizmie występuje równowaga pomiędzy tempem podziałów komórkowych a ich utratą. W przypadku nowotworu ginie mniej komórek niż przybywa [3]. W efekcie ich spontanicznego mnożenia się struktura, która się z nich składa zaczyna niszczyć narząd, w którym wystąpił proces nowotworowy. Niektóre z tych komórek mogą oderwać się od pozostałych, przedostać do naczyń krwionośnych i limfatycznych, a w konsekwencji dawać przerzuty do innych narządów [2]. Powstawanie nowotworu wiąże się z wieloma zmianami materiału genetycznego. Rozpoczęcie tego procesu zależy zarówno od wagi, jak i miejsca, w którym dana zmiana wystąpiła. Warto zwrócić uwagę na zmiany systemów naprawy DNA oraz systemów regulujących podstawowe procesy komórek (na przykład wzrost, różnicowanie, apoptoza). Na skutek zmian systemów naprawczych dochodzi do szybkiej i dużej niestabilności genomu, natomiast w przypadku zmian w systemach regulujących proces zaburzenia homeostazy komórki jest powolny, a niestabilność narasta stopniowo. Choroby nowotworowe w większości rozwijają się zgodnie z powolnym mechanizmem, dlatego od pojawienia się początkowej zmiany do klinicznego ujawnienia guza mija zazwyczaj wiele lat [3].

2.2 Sposoby leczenia nowotworów

2.2.1 Znaczenie układu immunologicznego

Budowa układu immunologicznego

Na układ immunologiczny składają się mechanizmy odporności swoistej (nabytej) i nieswoistej (wrodzonej) [4,5]. Najważniejsze różnice pomiędzy tymi dwoma rodzajami odporności zostały przedstawione na rys. 2.1 Funkcjonowanie mechanizmów nieswoistych jest niezależne od wcześniejszej styczności organizmu z czynnikami patogennymi i pełni funkcję obronną przed infekcjami i chorobami będącymi skutkiem działania czynników środowiskowych. Mechanizmy te cechuje mniejsza precyzja, ale są one zdolne do szybkiego rozpoznawania i niszczenia wnikających drobnoustrojów. Odporność wrodzoną warunkują między innymi: komórki NK, makrofagi, granulocyty, monocyty. Do mechanizmów swoistej odporności należą [6]:

- aktywność cytokin i chemokin,

- cytokinozależna wrodzona oporność leukocytów i innych komórek,
- zabijanie zakażonych lub nowotworowych komórek przez komórki NK, komplement aktywowany lektynami lub drogą alternatywną,
- opsonizacja i fagocytoza.

Odporność swoista rozpoznaje antygeny bardzo precyzyjnie. Jej ważnymi elementami są limfocyty T, limfocyty B, cytokiny, przeciwciała. Komórki tego typu są zdolne do wytwarzania nieograniczonej liczby receptorów. Dodatkowo, jeśli dojdzie do ich kontaktu z antygenem wytwarza się pamięć immunologiczna, dzięki czemu przy ponownym zetknięciu wytwarzana jest odpowiedź immunologiczna. W przypadku limfocytów T, typ odpowiedzi swoistej określany jest jako komórkowy, natomiast dla limfocytów B – humoralny. Pomimo bardzo dużego znaczenia układu immunologicznego dla organizmu, wiele mechanizmów jego działania pozostaje niewyjaśnionych [4].

Różnice	Odporność wrodzona nieswoista	Odporność nabyta swoista
Kinetyka rozwoju reakcji immunologicznej	rozwija się bardzo szybko (minuty); nie wymaga wstępnej aktywacji	rozwija się powoli, nawet do 6 dni
Pochodzenie receptorów	nabyte w rozwoju ewolucyjnym, niezmiennie, dziedziczone z pokolenia na pokolenie, rozpoznają struktury wspólne i obecne na dużej liczbie patogenów	powstają de novo poprzez rearanżację genów na skutek kontaktu z nowym antygenem, nie dziedziczą się
Typy receptorów	toll-like (TLRs) lektynowe scavenger receptory komórek NK	swoiste dla poszczególnych struktur patogenu
Rozpoznawane struktury patogenu	niezmiennie, obecne na dużej grupie patogenów np. LPS Gram-ujemne, sekwencje CpG DNA, wirusowe, dwuniciowe replikacyjne postaci dsRNA, struktury osłonki wirusów	poszczególne domeny struktur patogenu
Komórki	NK, DC, limfocyty $\gamma\delta$ T, makrofagi, granulocyty, limfocyty B-1a	APC, limfocyty T (CD4+, CD8+) i B
Ekspansja	nieklonalna	klonalna
Pamięć immunologiczna	brak	trwała
Aktywacja	rozwija się niezależnie od swoistej, może być wspomagana przez swoistą	do rozwoju wymaga odpowiedzi nieswoistej
Mechanizmy efektorowe	cytotoksyczność (niezależna od MHC) zależna od NK, makrofagów, DC, komplementu, wytwarzanie cytokin: IFN (α , β , γ), rodziny TNF, interleukin, chemokin, cytokinozależna oporność komórek	cytotoksyczność limfocytów TCD8+ zależna od MHC, przeciwciała, cytotoksyczność oparta na komplemencie, zależna od przeciwciał, aktywność cytokin

Rys. 2.1: Różnice pomiędzy odpornością wrodzoną a nabytą.

Limfocyty T CD8+

Limfocyty T wytwarzane są w szpiku kostnym, natomiast dojrzewają w grasicy. Te oznaczane jako CD8+ dzielą się na:

- T_c – cytotoksyczne – odpowiadają za niszczenie komórek i odrzucanie przeszczepów,
- T_s – supresyjne – odpowiadają za hamowanie działania innych limfocytów, reakcji alergicznych i utrzymanie tolerancji immunologicznej na własne antygeny [7].

Odpowiedź immunologiczna swoista typu komórkowego, w którą zaangażowane są subpopulacje limfocytów T polega na wywołaniu reakcji zwalczania antygeny. Możliwe są dwa typy tej reakcji. W pierwszym z nich funkcję efektorów pełnią limfocyty CD4+, a makrofagi są komórkami pomocniczymi. Drugi typ reakcji zakłada, że limfocyt cytotoksyczny CD8+ jest komórką efektorową, a limfocyt CD4+ pomocniczą. Odporność komórkowa ma za zadanie, przede wszystkim walczyć z zakażeniami będącymi efektem namnażających się drobnoustrojów, ale również spełnia ważną rolę w reakcji kontaktowej ze związkami chemicznymi, odrzuceniu przeszczepu czy tkanek zmienionych nowotworowo i w niektórych reakcjach autoimmunologicznych [4]. Między 5 a 6 dekadą życia ustaje czynność grasicy, czego skutkiem są zmiany w subpopulacjach limfocytów T. Z wiekiem głównie wzrasta liczba limfocytów CD4+, natomiast zmniejsza się liczba limfocytów supresorowych i cytotoksycznych CD8+ [4].

Komórki NK

Swoją rolę w odpowiedzi immunologicznej mają także komórki NK, które pochodzą z prekursorów dojrzewających w szpiku kostnym [7]. Stanowią one 10-15% limfocytów obecnych w krwi. Ich zadaniem jest niszczenie komórek nowotworowych i zainfekowanych wirusami [5]. Charakterystyczny jest dla nich brak posiadania markerów czy receptorów antygenowych na powierzchni. Ich działanie wpływa na cytotoksyczne uszkodzenie, między innymi komórek nowotworowych. Jest to możliwe dzięki rozpoznawaniu przez receptor pektynowy reszt cukrowych, co wpływa na gotowość komórek NK do zabicia komórki docelowej. Z kolei receptor KIR (Killer Cell Inhibitory Receptor) zmniejsza aktywność komórek NK, jeśli rozpoznają one prawidłowe komórki organizmu [4]. Z wiekiem aktywność komórek NK spada (ze względu na zwiększoną liczbę receptorów KIR [5]), co zwiększa ryzyko umieralności z powodu ciężkich infekcji. Niekorzystnymi czynnikami mającymi wpływ na komórki NK są stres, niska aktywność fizyczna oraz dieta wysokotłuszczowa [4]. Silna aktywność cytotoksyczna komórek NK może być uznana za oznakę dobrego zdrowia [5].

Interferony

Interferony należą do humoralnych mechanizmów obronnych odporności nieswoistej. Ich funkcją jest, między innymi hamowanie replikacji wirusów w komórce i proliferacji komórek (w szczególności nowotworowych), aktywowanie syntezy enzymów (rybonukleazy, syntetazy, kinazy białkowej) i cytotoksyczności makrofagów oraz limfocytów T, a także wzmoczenie aktywności komórek cytotoksycznych [7].

Interleukiny

Interleukiny są jedną z grup cytokin, która służy, między innymi do komunikacji pomiędzy komórkami układu odpornościowego, stanowiącymi elementy odporności wrodzonej i nabytej. Mają one charakter białkowy i są produkowane głównie przez leukocyty. Ze względu na cechy biologiczne, w tym różnice w budowie molekularnej i strukturze, interleukiny zostały zgrupowane w trzy rodziny:

- pierwsza – podzielona na podrodzinę interleukiny-2 i podrodzinę interferonów (reprezentowaną przez interferon- α i interferon- β),
- druga – rodzina interleukiny-1,
- trzecia – zawierająca interleukinę 17A, B, C, D, F oraz IL-8, 25 i 27, a także IL-31, 32 i 33 [8].

2.2.2 Immunoterapia

Podczas immunoterapii dochodzi do ingerencji w układ odpornościowy, co ma na celu wzmocnienie lub modyfikację mechanizmów obronnych walczących z nowotworem. Immunoterapię można podzielić na bierną i czynną o charakterze swoistym albo nieswoistym.

Nieswoista bierna immunoterapia

Immunoterapia tego typu ma za zadanie wywołać nieswoistą aktywację układu immunologicznego, a w konsekwencji działanie przeciwnowotworowe na skutek podawania czynników lub aktywowanych komórek efektorowych. Wykorzystuje się tu, na przykład cytokiny czy komórki LAK (lymphokine activated killers). Aby wywołać efekt biologiczny konieczne jest połączenie cytokiny ze swoistym receptorem na komórkach docelowych (limfocyty T i B, komórki NK, monocyty, makrofagi i granulocyty). Efektami przeciwnowotworowymi cytokin są:

- bezpośredni efekt cytotoksyczny (TNF- α),
- modyfikacja migracji limfocytów (TNF, IL-1, INF- γ),
- wzrost wrażliwości komórek nowotworowych na efekty cytotoksyczne różnych czynników biologicznych lub chemicznych (INF- γ , TNF- α),
- hamowanie proliferacji komórek nowotworowych (INF- α , INF- γ),
- aktywacja komórek NK (GM-CSF, IL-2, IL-6).

INF- α to pierwsza rekombinowana cytokina zarejestrowana do stosowania klinicznego.

Swoista bierna immunoterapia

Swoista bierna immunoterapia to metodą, która polega na podawaniu czynników lub komórek efektorowych swoście skierowanych przeciwko danej komórce nowotworowej. Są to, na przykład:

- przeciwciała podawane przeciwko antygenom, które występują na komórkach nowotworowych,
- terapie komórkowe, które wykorzystują limfocyty naciekające guz (tumor infiltrating lymphocytes – TIL); są one izolowane, następnie namnożone i aktywowane, po czym ponownie przetaczane,
- limfocyty krwi obwodowej stymulowane in vitro komórkami prezentującymi antygen.

Nieswoista czynna immunoterapia

W metodzie tej pobudzany jest układ odpornościowy, a zwłaszcza odpowiedź komórkowa. Wykorzystywane są do tego antygeny, niewystępujące w komórkach nowotworu. Substancjami stymulującymi procesy odpornościowe są nieswoiste immunostymulatory (np. całe mikroorganizmy, elementy ściany komórkowej) i immunomodulatory (m. in. wyciągi z grasicy, syntetyczne hormony grasicy, tuftsynę, enkefaliny, endorfiny, wyciągi z limfocytów).

Swoista czynna immunoterapia

Ostatni rodzaj leczenia metodą immunoterapii polega na pobudzaniu odporności na antygeny swoiste dla danego typu nowotworu. Wykorzystuje się w niej immunizację przy użyciu tzw. terapeutycznych szczepionek nowotworowych. Są to szczepionki:

- niekomórkowe – peptydowe, HSP (heat shock protein – szczepionki na bazie białek szoku cieplnego), szczepionki DNA oraz wirusowe,
- komórkowe – niemodyfikowane i modyfikowane genetycznie oraz komórki DC „karmione” antygenami nowotworowymi [10].

2.2.3 Chemioterapia

Chemioterapia to metoda leczenia, która polega na niszczeniu komórek nowotworowych, drobnoustrojów, bakterii za pomocą środków chemicznych. W przypadku nowotworów, stosuje się różne grupy leków, tzw. cytostatyków. Zależnie od indywidualnych cech pacjenta ma ona ściśle określony przebieg. Leki stosowane są w monoterapii – stosowanie jednego leku cytostatycznego lub polichemioterapii – stosowanie kilku leków w określonym schemacie. Leki podawane są w pewnych sekwencjach – co kilka dni, tygodni czy bez stosowania przerwy w leczeniu. Leki cytostatyczne działają w określonych fazach podziału komórek nowotworowych zmniejszając lub spowalniając ich namnażanie

się. Najczęściej podawane są w postaci dożylnych wlewów, lecz niektóre z nich mają formę tabletek. Skutki uboczne chemioterapii są liczne i zauważalne już po kilku dniach terapii, a czasem nawet po kilku godzinach [9].

2.2.4 Leczenie skojarzone

Leczenie skojarzone, polega na połączeniu kilku metod leczniczych u pacjenta. Ten sposób terapii posiada wiele zalet: umożliwia wykonanie zabiegu operacyjnego w wielu przypadkach pierwotnie nieoperacyjnych, pozwala zastąpić okaleczające zabiegi chirurgiczne równie skutecznym leczeniem zachowawczym, zmniejsza ryzyko wznowy miejscowej choroby i rozwoju odległych przerzutów, wpływa na wydłużenie czasu przeżycia chorych. Sposób ten ma również pewne wady: znacznie większa toksyczność w porównaniu z monoterapią, brak współpracy między specjalistami – trudności w przeprowadzeniu optymalnego w danym przypadku leczenia skojarzonego. Można wyróżnić:

- leczenie sekwencyjne – poszczególne metody lecznicze stosowane są po kolei, np.:
 - leczenie wstępne (neoadiuwantowe, indukcyjne) — poprzedza leczenie radykalne. Jego celem jest wczesne oddziaływanie na mikroprzerzuty lub zmniejszenie masy guza u chorych z miejscowo zaawansowanym nowotworem i umożliwienie tym samym przeprowadzenia leczenia radykalnego.
 - uzupełniające (adiuwantowe) — stosowane jest po leczeniu radykalnym, czyli u osób bez cech choroby nowotworowej, u których ryzyko uogólnienia jest duże. Jego celem jest zniszczenie potencjalnie istniejących mikroprzerzutów i zmniejszenie tym samym prawdopodobieństwa nawrotu nowotworu;
- leczenie równoczesne — kojarzenie różnych metod leczenia w tym samym czasie, na przykład równoczesna chemioradioterapia, napromienianie śródoperacyjne.
- leczenie naprzemienne — dotyczy kojarzenia radioterapii i chemioterapii [11].

2.2.5 Chemioimmunoterapia

2.2.6 Alternatywne modele

3. Model

3.1 Opis modelu

3.2 Założenia modelu

1. W przypadku braku odpowiedzi układu immunologicznego liczba komórek nowotworowych wzrasta logistycznie.
2. Limfocyty NK i T CD8+ są zdolne zniszczyć komórki nowotworu.
3. Pod wpływem komórek nowotworowych limfocyty NK i T CD8+ ulegają rozszerzeniu się oraz wzrasta ich aktywność cytolityczna.
4. Limfocyty NK są zawsze obecne w organizmie, także w przypadku braku występowania komórek nowotworowych.
5. Jako część specyficznej odpowiedzi immunologicznej aktywne limfocyty T CD8+ są obecne w dużej liczbie tylko w przypadku obecności komórek nowotworowych.
6. Limfocyty NK i T CD8+ ulegają całkowitej dezaktywacji po pewnej ilości interakcji z komórkami nowotworowymi.
7. Komórki nowotworowe dezaktywują się pod wpływem interferonów α .
8. Poziom krążących limfocytów może służyć do oceny zdrowia pacjenta.
9. Odsetek komórek nowotworowych zabitych w wyniku chemioterapii zależy od ilości leku obecnego w organizmie. Maksymalny odsetek zabitych komórek wynosi mniej niż 1 – pokonanie komórek nowotworowych wskutek chemioterapii jest możliwe tylko na niektórych etapach ich rozwoju.
10. Część limfocytów NK, T CD8+ i krążących jest również zabijana podczas chemioterapii, zgodnie z krzywą zabijania.
11. Limfocyty NK i T CD8+ uczestniczą w procesie stymulacji i eliminacji aktywowanych komórek (efektorów); uproszczony model ma odzwierciedlać samoregulujący charakter układu immunologicznego.

3.3 Równania modelu

$$\frac{dT}{dt} = aT(1 - bT) - cNT - DT - K_T(1 - e^{-M})T - c'TL, \quad (3.1)$$

$$\frac{dN}{dt} = eC - fN + g\frac{T^2}{h + T^2}N - pNT - K_N(1 - e^{-M})N, \quad (3.2)$$

$$\frac{dL}{dt} = -mL + j\frac{D^2T^2}{k + D^2T^2}L - qLT + (r_1N + r_2C)T - uNL^2 - K_L(1 - e^{-M})L + \frac{p_iLI}{g_i} + \nu_L(t), \quad (3.3)$$

$$\frac{dC}{dt} = \alpha - \beta C - K_C(1 - e^{-M})C, \quad (3.4)$$

$$\frac{dM}{dt} = -\gamma M + \nu_M(t), \quad (3.5)$$

$$\frac{dI}{dt} = -\mu_i L - j'LI - k'TI + \nu_I(t), \quad (3.6)$$

$$\frac{dI_\alpha}{dt} = V_\alpha(t) - gI_\alpha, \quad (3.7)$$

gdzie:

$$D = d\frac{(\frac{L}{T})^l}{s + (\frac{L}{T})^l} \quad (3.8)$$

$$c' = c_{CTL}(2 - e^{\frac{I_\alpha}{I_{\alpha 0}}}) \quad (3.9)$$

3.4 Parametry modelu

4. Symulacje

4.1 Brak leczenia

4.2 Leczenie metodą immunoterapii

4.3 Leczenie metodą chemioterapii

4.4 Połączenie metod immunoterapii i chemioterapii

5. Rezultaty

6. Analiza wyników

7. Podsumowanie

Bibliografia

- [1] "Mathematical Model of Cancer Treatments Using Immunotherapy, Chemotherapy and Biochemotherapy", Mustafa Mamat, Subiyanto i Agus Kartono
- [2] R. Tadeusiewicz, „Biocybernetyka. Metodologiczne podstawy dla inżynierii biomedycznej.”, PWN 2013
- [3] Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie "podstawy onkologii klinicznej" Redaktor naukowy dr n. med. Janusz Meder Warszawa 2011 r.
- [4] Ewelina Dymarska Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Zeszyty Naukowe Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. Witelona w Legnicy nr 19(2)/2016 "Czynniki modulujące układ immunologiczny człowieka"
- [5] "Immunologiczna teoria starzenia" Nadzieja Drela, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, Instytut Zoologii, Zakład Immunologii, Warszawa, Artykuł zaakceptowano 23 kwietnia 2014 r.
- [6] "Mechanizmy wrodzonej odporności" Marta Sochocka, Zofia Błach-Olszewska Laboratorium Wirusologii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im L. Hirszfelda we Wrocławiu, Postepy Hig Med Dosw. (online), 2005; 59: 250-258, Published: 2005.06.07
- [7] Emilia Kolarzyk Emilia Kolarzyk, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2008, wyd.1, "Wybrane problemy higieny i ekologii człowieka"
- [8] "CYTOKINY Z RODZINY INTERLEUKINY 1", Beata Tokarz-Deptuła*1, Tymoteusz Miller1, Wiesław Deptuła, 1Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński
- [9] "Chemioterapia, Immunoterapia i Terapia Celowana Informacje dla Pacjenta", Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli, Lublin 2011
- [10] "Immunoterapia nowotworów i perspektywy jej rozwoju", Jacek Mackiewicz, Andrzej Mackiewicz, Zakład Immunologii Nowotworów, Katedra Biotechnologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu BioContract Sp. z o.o

-
- [11] "Skojarzone leczenie nowotworów — współpraca chirurga i onkologa klinicznego w zakresie leczenia raka piersi, jelita grubego i płuca" Anna Świeboda-Sadlej, Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych WUM