

Spis treści

1.	<i>Wprowadzenie</i>	1
1.1	Streszczenie	1
1.2	Abstract	1
1.3	Cel pracy	1
1.4	Układ pracy	2
2.	<i>Wstęp</i>	3
2.1	Procesy nowotworowe	3
2.2	Budowa układu immunologicznego i jego znaczenie w procesie leczenia nowotworów	3
2.2.1	Limfocyty typu T	5
2.2.2	Komórki NK	6
2.2.3	Interferony	6
2.2.4	Interleukiny	6
3.	<i>Sposoby leczenia nowotworów</i>	8
3.1	Immunoterapia	8
3.1.1	Nieswoista bierna immunoterapia	8
3.1.2	Swoista bierna immunoterapia	8
3.1.3	Nieswoista czynna immunoterapia	9
3.1.4	Swoista czynna immunoterapia	9
3.2	Chemioterapia	9
3.3	Leczenie skojarzone	9
4.	<i>Model</i>	11
4.1	Założenia modelu	11
4.2	Równania modelu	12
4.2.1	Model bez składowych odpowiadających leczeniu	12
4.2.2	Model uwzględniający proces leczenia	12
4.3	Opis modelu	13
4.4	Interpretacja równań modelu	13
4.4.1	Równanie $\frac{dT}{dt}$	13
4.4.2	Równanie $\frac{dN}{dt}$	14

4.4.3	Równanie $\frac{dL}{dt}$	14
4.4.4	Równanie $\frac{dC}{dt}$	15
4.4.5	Równanie $\frac{dM}{dt}$	15
4.4.6	Równanie $\frac{dI}{dt}$	15
4.4.7	Równanie $\frac{dI_\alpha}{dt}$	15
4.5	Parametry modelu	15
5.	<i>Symulacje</i>	18
5.1	Odpowiedź układu immunologicznego na nowotwór – brak leczenia	19
5.1.1	Scenariusz I	19
5.1.2	Scenariusz II	22
5.2	Leczenie metodą chemioterapii	25
5.3	Leczenie metodą immunoterapii	25
5.4	Połączenie metod chemioterapii i immunoterapii	25
6.	<i>Rezultaty</i>	26
7.	<i>Analiza wyników</i>	27
8.	<i>Podsumowanie</i>	28

Spis rysunków

2.1	Podział limfocytów typu T [7].	5
5.1	Wykresy zmian liczby komórek badanych populacji – komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$	20
5.2	Liczba komórek nowotworu po czasie symulacji $t = 120$ dni w zależności od początkowej liczby komórek nowotworowych $T(0)$ [7].	21
5.3	Wykresy zmian liczby komórek badanych populacji – komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$	23
5.4	Liczba komórek nowotworu po czasie symulacji $t = 120$ dni w zależności od początkowej liczby krążących limfocytów $C(0)$ [7].	24

Spis tabel

2.1	Podział mechanizmów obronnych odporności nieswoistej i swoistej [7]. .	4
4.1	Parametry modelu odpowiedzi immunologicznej na rozwijający się nowotwór bez i z uwzględnieniem procesu leczenia.	16
5.1	Warunki początkowe dla modelu odpowiedzi immunologicznej na rozwijający się nowotwór bez uwzględnienia procesu leczenia.	18
5.2	Zmiany wartości $T(0)$, $T(120)$ i szacowanej objętości nowotworu podczas symulacji.	19
5.3	Zmiany wartości $C(0)$, $T(120)$ i szacowanej objętości nowotworu podczas symulacji.	22

1. Wprowadzenie

1.1 Streszczenie

W pracy przedstawiono model opisujący odpowiedź układu immunologicznego na rozwijający się w organizmie nowotwór. Model ten oparty jest na modelu de Pillis'a oraz modelu Isaeva i Osiopov'a [1]. Obejmuje on rozwój komórek nowotworowych w organizmie oraz odpowiedź układu immunologicznego – w tym limfocytów naciekających nowotwór (TIL, ang. Tumor Infiltrating Lymphocytes), tak zwanych „naturalnych zabójców” (komórek NK, ang. Natural Killer cells) oraz limfocytów T_{CD8+} . Następnie model został poddany modyfikacji polegającej na uwzględnieniu procesu leczenia nowotworu skojarzonymi metodami chemioterapii i immunoterapii z użyciem cytokin: interleukin-2 (IL-2) i interferonów alfa (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 nowotworów i sposobów ich rozwoju 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 utratą komórek. W przypadku nowotworu ginie mniej komórek niż przybywa [3]. W efekcie spontanicznej proliferacji komórek nowotworowych składająca się z nich struktura 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 także zwrócić uwagę na zmiany systemów naprawy DNA oraz zmiany systemów regulujących podstawowe procesy komórkowe (na przykład wzrost, różnicowanie, apoptozę¹). Na skutek zmian systemów naprawczych dochodzi do szybkiej i dużej niestabilności genomu. Zmiany w systemach regulujących powodują natomiast powolny proces zaburzenia homeostazy komórki oraz stopniowo narastającą niestabilność genomu. Choroby nowotworowe w większości rozwijają się w tym drugim przypadku, dlatego od pojawienia się początkowej zmiany do klinicznego wykrycia guza mija zazwyczaj wiele lat [3].

2.2 Budowa układu immunologicznego i jego znaczenie w procesie leczenia nowotworów

Na układ immunologiczny składają się mechanizmy odporności swoistej (nabytej) i nieswoistej (wrodzonej) [4,5]. Podział tych mechanizmów przedstawiono w Tab. 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.

¹ Śmierć programowana, śmierć samobójcza komórki zachodząca w warunkach fizjologicznych [12].

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, komplement² aktywowany lektynami lub drogą alternatywną,
- opsonizacja i fagocytoza³.

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

Tab. 2.1: Podział mechanizmów obronnych odporności nieswoistej i swoistej [7].

Odporność		
Odporność	Nieswoista (wrodzona)	Swoista (nabyta)
Humoralna	Lizozym Laktoferyna Transferyna Białka ostrej fazy Układ dopełniacza Interferony	Immunoglobuliny Limfocyty typu B
Komórkowa	Fagocyty Eozynofile Komórki K Komórki NK	Limfocyty typu T

² Układ dopełniacza, system kaskadowo aktywowanych białek pełniących znaczącą rolę w walce przeciwko czynnikom patogennym, w utrzymywaniu stanu homeostazy oraz wzbudzaniu stanu zapalnego [17].

³ Usuwanie kompleksów immunologicznych i uszkodzonych komórek (ułatwienie fagocytozy immunologicznej). Efektywne niszczenie drobnoustrojów przez fagocyty [13, 14].

Znaczącą rolę w oddziaływaniu układu immunologicznego na rozwijający się nowotwór pełnią:

- limfocyty T_{CD8+} ,
- komórki NK,
- interferony,
- interleukiny.

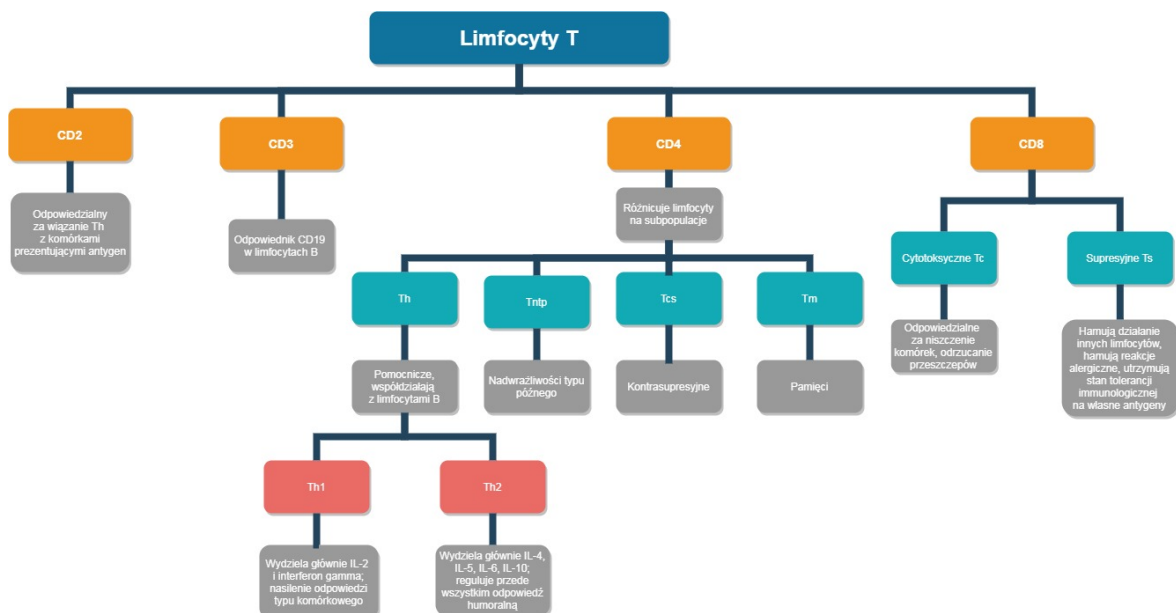
W związku z ważną funkcją wyżej wymienionych komórek, ujęto je w opisywanym modelu, natomiast ich znaczenie opisano w dalszej części pracy.

2.2.1 Limfocyty typu T

Limfocyty typu T wytwarzane są w szpiku kostnym, natomiast dojrzewają w grzyscy. Limfocyty typu T oznaczane jako $CD8+$ dzielą się na limfocyty [7]:

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

Podział limfocytów typu T przedstawiono na Rys. 2.1.



Rys. 2.1: Podział limfocytów typu T [7].

Odpowiedź immunologiczna swoista typu komórkowego, w którą zaangażowane są subpopulacje limfocytów typu 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, ale również spełnia ważną rolę w reakcji kontaktowej ze związkami chemicznymi, w 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 typu T. Z wiekiem głównie wzrasta liczba limfocytów CD4+, natomiast zmniejsza się liczba limfocytów supresorowych i cytotoksycznych CD8+ [4].

2.2.2 Komórki NK

Swoją rolę w odpowiedzi immunologicznej mają także komórki NK, stanowiące populację odrębną od limfocytów typu B i T. [7]. Komórki NK stanowią 10-15% limfocytów obecnych w krwi [5]. Ich zadaniem jest niszczenie komórek nowotworowych i zainfekowanych wirusami [5]. Charakterystyczną cechą komórek NK jest brak posiadania markerów czy receptorów antygenowych na powierzchni. Działanie komórek NK opiera się na rozpoznawaniu przez receptor pektynowy reszt cukrowych, co umożliwia im cytotoksyczne zniszczenie komórki docelowej, między innymi nowotworowej. Z kolei receptor KIR (ang. 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 śmierci spowodowanej ciężką infekcją. Niekorzystnymi czynnikami mającymi wpływ na układ komórek NK są: stres, niska aktywność fizyczna oraz dieta wysokotłuszczowa [4]. Silna aktywność cytotoksyczna komórek NK może być uznana za oznakę dobrego zdrowia [5].

2.2.3 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 typu T, a także zwiększenie aktywności komórek cytotoksycznych [7].

2.2.4 Interleukiny

Interleukiny są jedną z grup cytokin⁴, która służy, między innymi do komunikacji pomiędzy komórkami układu odpornościowego. Komórki te dotyczą zarówno odporności

⁴ Białka o niskiej masie cząsteczkowej biorące udział w przekazywaniu informacji pomiędzy komórkami; odgrywają istotną rolę w odpowiedzi zapalnej, apoptozie, wzroście i różnicowaniu komórek [16].

wrodzonej, jak i nabytej. Interleukiny to białka produkowane głównie przez leukocyty. Ze względu na cechy biologiczne, w tym różnice w budowie molekularnej i strukturze, interleukiny zostały zgrupowane w trzy rodziny [8]:

- pierwszą – podzieloną na podrodzinę interleukiny-2 i podrodzinę interferonów (reprezentowaną przez interferon- α i interferon- β),
- drugą – rodzinę interleukiny-1,
- trzecią – zawierającą interleukinę 17A, B, C, D, F oraz IL-8, 25 i 27, a także IL-31, 32 i 33.

3. Sposoby leczenia nowotworów

3.1 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 [10].

3.1.1 Nieswoista bierna immunoterapia

Nieswoista bierna immunoterapia ma za zadanie wywołać nieswoistą aktywację układu immunologicznego, a w konsekwencji działanie przeciwnowotworowe na skutek podawania m.in. aktywowanych komórek efektorowych. Wykorzystuje się tu, na przykład cytokiny czy komórki zabójcze aktywowane limfokiną LAK (ang. Lymphokine Activated Killers). Aby wywołać efekt biologiczny konieczne jest połączenie cytokiny ze swoistym receptorem na komórkach docelowych (limfocytach typu T i B, komórkach NK, monocytach, makrofagach i granulocytach). Działanie przeciwnowotworowe cytokin polega na:

- bezpośrednim efekcie cytotoksycznym,
- modyfikacji migracji limfocytów,
- wzroście wrażliwości komórek nowotworowych na efekty cytotoksyczne różnych czynników biologicznych lub chemicznych,
- hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych,
- aktywacja komórek NK.

INF- α to pierwsza rekombinowana cytokina zarejestrowana do stosowania klinicznego [10].

3.1.2 Swoista bierna immunoterapia

Swoista bierna immunoterapia to metoda leczenia nowotworu, która polega na podawaniu pacjentowi m.in. komórek efektorowych swoście ukierunkowanych na daną komórkę nowotworową. Do swoistej biernej immunoterapii zaliczamy [10]:

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

3.1.3 Nieswoista czynna immunoterapia

W nieswoistej czynnej immunoterapii 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. mikroorganizmy, elementy ściany komórkowej) i immunomodulatory (m. in. wyciągi z grasicy, syntetyczne hormony grasicy, tuftsyna, enkefaliny, endorfiny, wyciągi z limfocytów) [10].

3.1.4 Swoista czynna immunoterapia

Leczenie metodą swoistej czynnej 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, na bazie białek szoku cieplnego HSP (ang. Heat Shock Protein), szczepionki DNA oraz szczepionki wirusowe,
- komórkowe, niemodyfikowane i modyfikowane genetycznie oraz komórki dendrytyczne DC (ang. Dendritic Cells) „karmione” antygenami nowotworowymi [10].

3.2 Chemioterapia

Chemioterapia to metoda leczenia, która polega na niszczeniu komórek nowotworowych, drobnoustrojów oraz bakterii za pomocą środków chemicznych. W przypadku nowotworów, stosuje się różne grupy leków, tzw. cytostatyków. Zależnie od indywidualnych cech pacjenta chemioterapia ma ściśle określony przebieg. Leki mogą być stosowane w monoterapii (stosowanie jednego leku cytostatycznego) lub polichemioterapii (stosowanie kilku leków zgodnie z określonym schematem). Leki cytostatyczne podawane są w sekwencjach co kilka dni, tygodni lub stale, bez przerwy w leczeniu. Leki cytostatyczne działają w określonych fazach podziału komórek nowotworowych, zmniejszając lub spowalniając ich proliferację. Najczęściej podawane są w postaci dożylnych wlewów, lecz niektóre z nich mają formę tabletek. Skutki uboczne chemioterapii można zaobserwować już po kilku dniach terapii, a czasem nawet po kilku godzinach [9].

3.3 Leczenie skojarzone

Leczenie skojarzone polega na połączeniu u pacjenta kilku metod leczenia nowotworu. Ten sposób terapii posiada wiele zalet, między innymi umożliwia wykonanie zabiegu operacyjnego w wielu przypadkach pierwotnie nieoperacyjnych i pozwala zastąpić okaleczające zabiegi chirurgiczne równie skutecznym leczeniem zachowawczym. Ponadto, zmniejsza ryzyko wznowy miejscowej choroby i rozwoju odległych przerzutów, co wpływa na wydłużenie czasu przeżycia chorych. Pomimo wielu zalet, leczenie skojarzone ma również pewne wady, chociażby, znaczne zwiększenie toksyczności w porównaniu z monoterapią czy brak współpracy między specjalistami, co z kolei utrudnia wdrożenie optymalnej terapii.

Wśród metod leczenia skojarzonego można wyróżnić [11]:

- leczenie sekwencyjne – poszczególne metody lecznicze stosowane jedna po drugiej, 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. 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 oraz napromienianie śródoperacyjne;
- leczenie naprzemienne — dotyczy kojarzenia radioterapii i chemioterapii.

W tej pracy omawiany jest przypadek leczenia skojarzoną metodą chemioterapii i immunoterapii, zwanej także biochemioterapią [1].

4. Model

4.1 Założenia modelu

Przyjęto założenia jak w połączonym modelu de Pillis'a oraz modelu Isaeva i Osio-pov'a [1]:

1. W przypadku braku odpowiedzi układu immunologicznego liczba komórek nowotworowych wzrasta logistycznie.
2. Komórki NK i limfocyty T_{CD8+} są zdolne zniszczyć komórki nowotworu.
3. Pod wpływem komórek nowotworowych komórki NK i limfocyty T_{CD8+} ulegają szybszej proliferacji oraz wzrasta ich aktywność cytolityczna¹.
4. Komórki NK są zawsze obecne w organizmie, także w przypadku braku występowania komórek nowotworowych.
5. W organizmie występuje duża liczba aktywnych limfocytów T_{CD8+} , tylko w przypadku obecności komórek nowotworowych. Jest to specyficzna odpowiedź immunologiczna.
6. Komórki NK i limfocyty T_{CD8+} ulegają całkowitej dezaktywacji po pewnej liczbie 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 zniszczonych w wyniku chemioterapii zależy od ilości cytostatyku obecnego w organizmie. Maksymalny odsetek zniszczonych komórek wynosi mniej niż 1 – pokonanie komórek nowotworowych wskutek chemioterapii jest możliwe tylko na niektórych etapach ich rozwoju.
10. Część komórek NK, limfocytów T_{CD8+} i limfocytów krążących jest niszczona podczas chemioterapii.
11. Komórki NK i limfocyty T_{CD8+} uczestniczą w procesie stymulacji i eliminacji aktywowanych komórek (efektorów); uproszczony model ma odzwierciedlać samoregulujący charakter układu immunologicznego.

¹ Jeden z mechanizmów cytotoksyczności limfocytów służący do niszczenia komórek zainfekowanych lub nowotworowych [15].

4.2 Równania modelu

4.2.1 Model bez składowych odpowiadających leczeniu

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = aT(1 - bT) - cNT - DT, \\ \frac{dN}{dt} = eC - fN + g\frac{T^2}{h + T^2}N - pNT, \\ \frac{dL}{dt} = -mL + j\frac{D^2T^2}{k + D^2T^2}L - qLT + (r_1N + r_2C)T - uNL^2, \\ \frac{dC}{dt} = \alpha - \beta C, \end{array} \right. \quad (4.1)$$

gdzie: $D = d\frac{(\frac{L}{T})^l}{s + (\frac{L}{T})^l}$.

4.2.2 Model uwzględniający proces leczenia

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = aT(1 - bT) - cNT - DT, \\ \frac{dN}{dt} = eC - fN + g\frac{T^2}{h + T^2}N - pNT - K_N(1 - e^{-M})N, \\ \frac{dL}{dt} = -mL + j\frac{D^2T^2}{k + D^2T^2}L - qLT + (r_1N + r_2C)T - uNL^2 - K_L(1 - e^{-M})L + \frac{p_iLI}{g_i} + \nu_L(t), \\ \frac{dC}{dt} = \alpha - \beta C - K_C(1 - e^{-M})C, \\ \frac{dM}{dt} = -\gamma M + \nu_M(t), \\ \frac{dI}{dt} = -\mu_i L - j'LI - k'TI + \nu_I(t), \\ \frac{dI_\alpha}{dt} = V_\alpha(t) - gI_\alpha, \end{array} \right. \quad (4.2)$$

gdzie: $D = d\frac{(\frac{L}{T})^l}{s + (\frac{L}{T})^l}$ i $c' = c_{CTL}(2 - e^{\frac{I_\alpha}{I_{\alpha 0}}})$.

4.3 Opis modelu

Model matematyczny wykorzystany w pracy to model de Pillis'a oraz model Isaeva i Osiopov'a opisany w literaturze [1, 18, 19]. W pierwszym etapie model (4.1) obejmuje tempo rozwoju czterech populacji komórek:

- $T(t)$ – liczba komórek nowotworowych w chwili czasowej t ,
- $N(t)$ – liczba komórek NK w chwili czasowej t ,
- $L(t)$ – liczba limfocytów T_{CD8+} w chwili czasowej t ,
- $C(t)$ – liczba limfocytów krążących w chwili czasowej t ,

gdzie jednostką czasu jest dzień.

W drugim etapie model 4.2 zostaje poddany modyfikacji i dodatkowo badane są zmiany stężenia trzech podawanych leków:

- $I(t)$ – interleukin-2,
- $I_\alpha(t)$ – interferonów- α ,
- $M(t)$ – cytostatyku użytego w chemioterapii.

W równaniach modelu uwzględniono takie czynniki, jak:

- naturalny rozwój i śmierć komórek,
- śmierć komórek nowotworowych pod wpływem komórek NK, limfocytów T_{CD8+} i leków cytostatycznych,
- wytwarzanie komórek NK i limfocytów T_{CD8+} ,
- dezaktywację komórek NK i limfocytów T_{CD8+} ,
- ilość podawanych leków i czas, w którym zostały podane.

4.4 Interpretacja równań modelu

4.4.1 Równanie $\frac{dT}{dt}$

- $aT(1 - bT)$ – liczba komórek nowotworowych powstałych w chwili czasowej t (wzrost logistyczny),
- $-cNT$ – liczba komórek nowotworowych zniszczonych w chwili czasowej t na skutek ich interakcji z komórkami NK,

- $-DT$ – liczba komórek nowotworowych zniszczonych w chwili czasowej t na skutek ich interakcji z limfocytami T_{CD8+} ,
- $-K_T(1-e^{-M})T$ – liczba komórek nowotworowych zniszczonych w chwili czasowej t na skutek działania cytostatyku podanego podczas chemioterapii,
- $-c'TL$ – liczba komórek nowotworowych zniszczonych w chwili czasowej t na skutek interakcji INF- α , limfocytów T_{CD8+} i komórek nowotworu;

4.4.2 Równanie $\frac{dN}{dt}$

- eC – liczba komórek NK powstałych w chwili czasowej t z krążących limfocytów,
- $-fN$ – liczba zniszczonych komórek NK w chwili czasowej t ,
- $g\frac{T^2}{h+T^2}N$ – liczba komórek określonych jako komórki NK podczas rekrutacji w chwili czasowej t ,
- $-pNT$ – liczba dezaktywowanych komórek NK w chwili czasowej t na skutek interakcji z komórkami nowotworowymi,
- $-K_N(1-e^{-M})N$ – liczba komórek NK zniszczonych w chwili czasowej t na skutek działania cytostatyku podanego podczas chemioterapii;

4.4.3 Równanie $\frac{dL}{dt}$

- $-mL$ – liczba limfocytów T_{CD8+} zniszczonych w chwili czasowej t na skutek obecności komórek nowotworowych,
- $j\frac{D^2T^2}{k+D^2T^2}L$ – liczba stymulowanych limfocytów T_{CD8+} przez resztę komórek nowotworowych lizowanych przez limfocyty T_{CD8+} w chwili czasowej t ,
- $-qLT$ – liczba dezaktywowanych limfocytów T_{CD8+} w chwili czasowej t na skutek interakcji z komórkami nowotworowymi,
- $(r_1N + r_2C)T$ – liczba stymulowanych limfocytów T_{CD8+} przez resztę komórek nowotworowych lizowanych przez komórki NK oraz limfocytów T_{CD8+} powstałych na skutek obecności komórek nowotworowych w chwili czasowej t ,
- $-uNL^2$ – liczba dezaktywowanych limfocytów T_{CD8+} w chwili czasowej t na skutek działania komórek NK,
- $-K_L(1-e^{-M})L$ – liczba limfocytów T_{CD8+} zniszczonych w chwili czasowej t na skutek działania cytostatyku podanego podczas chemioterapii,

- $\frac{p_i LI}{g_i}$ – liczba limfocytów T_{CD8+} stymulowanych przez IL-2,
- $\nu_L(t)$ – funkcja opisująca ilość i czas podania TIL;

4.4.4 Równanie $\frac{dC}{dt}$

- $\alpha - \beta C$ – liczba powstałych i zniszczonych limfocytów krążących w chwili czasowej t ,
- $-K_C(1 - e^{-M})C$ – liczba limfocytów krążących zniszczonych w chwili czasowej t na skutek działania cytostatyku podanego podczas chemioterapii;

4.4.5 Równanie $\frac{dM}{dt}$

- $-\gamma M$ – spadek stężenia cytostatyku na skutek jego rozpadu,
- $+\nu_M(t)$ – funkcja opisująca ilość i czas podania cytostatyku;

4.4.6 Równanie $\frac{dI}{dt}$

- $-\mu_i L$ – spadek stężenia IL-2 na skutek jej rozpadu,
- $-j'LI$ – liczba komórek IL-2 wchłoniętych przez limfocyty T_{CD8+} w chwili czasowej t ,
- $-k'TI$ – liczba dezaktywowanych komórek IL-2 przez prostaglandyny w chwili czasowej t ,
- $\nu_I(t)$ – funkcja opisująca ilość i czas podania IL-2;

4.4.7 Równanie $\frac{dI_\alpha}{dt}$

- $V_\alpha(t)$ – funkcja opisująca ilość i czas podania INF- α ,
- $-gI_\alpha$ – spadek stężenia INF- α na skutek jego rozpadu;

4.5 Parametry modelu

W celu przeprowadzenia symulacji wykorzystano wartości parametrów (Tab. 4.1) dla modelu opisanego w literaturze [1].

Tab. 4.1: Parametry modelu odpowiedzi immunologicznej na rozwijający się nowotwór bez i z uwzględnieniem procesu leczenia.

Nazwa	Wartość	Jednostka	Opis
a	$4,31 \cdot 10^{-1}$	dzień^{-1}	Tempo wzrostu nowotworu
b	$1,02 \cdot 10^{-9}$	komórka^{-1}	Odwrotność pojemności środowiska
c	$6,41 \cdot 10^{-11}$	$\text{dzień}^{-1} \cdot \text{komórka}^{-1}$	Liczba komórek nowotworu zabita przez komórki NK
d	2,34	dzień^{-1}	Współczynnik siły układu odpornościowego
e	$2,08 \cdot 10^{-7}$	dzień^{-1}	Liczba krążących limfocytów, które stały się komórkami NK
l	2,9	bezwymiarowe	Współczynnik skalowania siły układu odpornościowego
f	$4,12 \cdot 10^{-2}$	dzień^{-1}	Tempo wyniszczania komórek NK
g	$1,25 \cdot 10^{-2}$	dzień^{-1}	Maksymalna liczba komórek NK wytwarzanych na skutek obecności komórek nowotworowych
h	$2,02 \cdot 10^7$	komórka^2	Współczynnik stromości krzywej rekrutacji komórek NK
j	$2,49 \cdot 10^{-2}$	dzień^{-1}	Maksymalne tempo rekrutacji limfocytów T_{CD8+}
k	$3,66 \cdot 10^7$	komórka^2	Współczynnik stromości krzywej rekrutacji limfocytów T_{CD8+}
m	$2,04 \cdot 10^{-1}$	dzień^{-1}	Tempo wyniszczania limfocytów T_{CD8+}
q	$1,42 \cdot 10^{-6}$	$\text{dzień}^{-1} \cdot \text{komórka}^{-1}$	Tempo dezaktywacji limfocytów T_{CD8+} przez komórki nowotworu
p	$3,42 \cdot 10^{-6}$	$\text{dzień}^{-1} \cdot \text{komórka}^{-1}$	Tempo dezaktywacji komórek NK przez komórki nowotworu
s	$8,39 \cdot 10^{-2}$	bezwymiarowe	Wartość $(\frac{L}{T})^l$ konieczna do osiągnięcia połowy maksymalnej wartości cytotoksyczności limfocytów T_{CD8+}

r_1	$1,1 \cdot 10^{-7}$	dzień ⁻¹ · komórka ⁻¹	Tempo stymulacji wytwarzania limfocytów T_{CD8+} jako rezultat niszczenia komórek nowotworowych przez komórki NK
r_2	$6,5 \cdot 10^{-11}$	komórka ⁻¹ · dzień ⁻¹	Tempo stymulacji wytwarzania limfocytów T_{CD8+} jako rezultat interakcji komórek nowotworowych z krążącymi limfocytami
u	$3 \cdot 10^{-10}$	komórka ⁻² · dzień ⁻¹	Współczynnik Funkcji regulacyjnej limfocytów T_{CD8+} nadzorowanej przez komórki NK
α	$7,5 \cdot 10^8$	komórka · dzień ⁻¹	Stała liczba krążących limfocytów
β	$1,2 \cdot 10^{-2}$	dzień ⁻¹	Tempo wyniszczania krążących limfocytów
γ	$9 \cdot 10^{-1}$	dzień ⁻¹	Tempo rozpadu leku chemioterapeutycznego
p_i	$1,25 \cdot 10^{-1}$	dzień ⁻¹	Maksymalne tempo rekrutacji limfocytów T_{CD8+} przez interleukiny-2
g_i	$2 \cdot 10^2$	komórka ²	Wartość stężenia interleukiny-2 konieczna do osiągnięcia połowy maksymalnej wartości aktywności cytolitycznej limfocytów T_{CD8+}
μ_i	$1 \cdot 10^1$	dzień ⁻¹	Tempo rozpadu interleukiny-2 (leku)
C_{CTL}	$4,4 \cdot 10^{-9}$	komórka ⁻¹ · dzień ⁻¹	Tempo dezaktywacji nowotworu przez limfocyty T_{CD8+}
g'	1,7	dzień ⁻¹	Tempo rozpadu terapeutycznego interferonu- α
j'	$3,3 \cdot 10^{-9}$	komórka ⁻¹ · dzień ⁻¹	Tempo wchłaniania interleukiny-2 przez limfocyty T_{CD8+}
k'	$1,8 \cdot 10^{-8}$	komórka ⁻¹ · dzień ⁻¹	Dezaktywacja molekuł interleukiny-2 przez prostaglandyny

5. Symulacje

W pracy przeprowadzono modelowanie odpowiedzi układu immunologicznego na rozwijający się nowotwór:

- bez uwzględnienia procesu leczenia,
- z uwzględnieniem leczenia wyłącznie metodą chemioterapii,
- z uwzględnieniem leczenia wyłącznie metodą immunoterapii,
- z uwzględnieniem leczenia skojarzonymi metodami chemioterapii i immunoterapii.

Warunki początkowe (Tab. 5.1) dla modelu 4.1 dobrano zgodnie z literaturą [1].

Tab. 5.1: Warunki początkowe dla modelu odpowiedzi immunologicznej na rozwijający się nowotwór bez uwzględnienia procesu leczenia.

Wartość [liczba komórek]	Rodzaj komórek
$T(0) = 1 \cdot 10^6$	Komórki nowotworowe
$N(0) = 1 \cdot 10^5$	Komórki NK
$L(0) = 1 \cdot 10^2$	Limfocyty T_{CD8+}
$C(0) = 6 \cdot 10^{10}$	Limfocyty krążące

5.1 Odpowiedź układu immunologicznego na nowotwór – brak leczenia

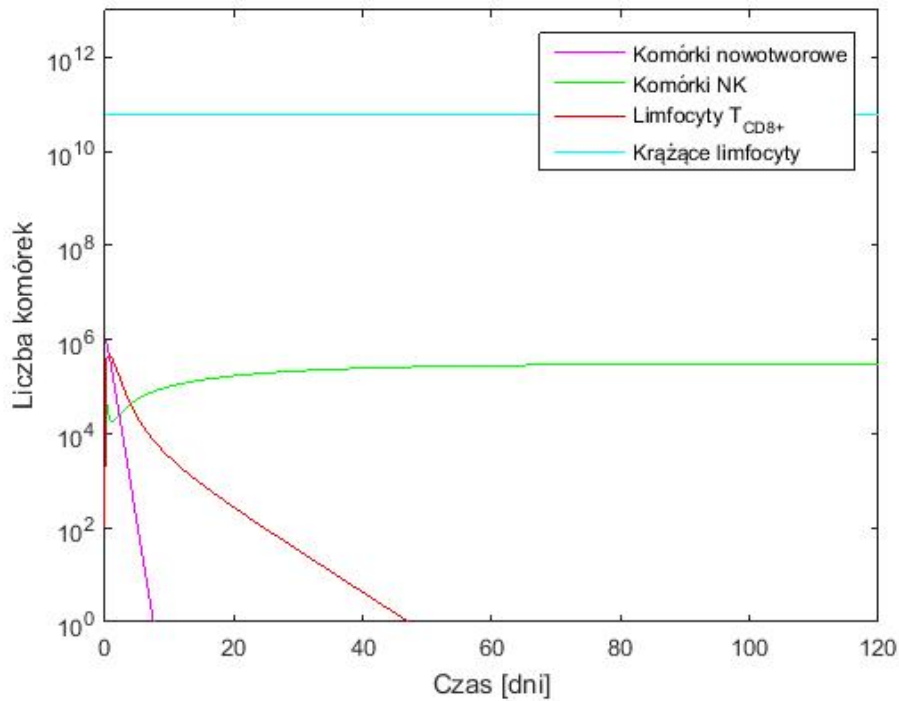
5.1.1 Scenariusz I

Analiza zmian odpowiedzi układu immunologicznego – wielkości nowotworu po zadanym czasie symulacji – w zależności od początkowej wielkości nowotworu. Czas symulacji wynosił $t = 120$ dni. Warunki początkowe – wielkość (liczbę komórek) nowotworu $T(0)$, liczbę komórek NK $N(0)$, liczbę limfocytów T_{CD8+} , liczbę limfocytów krążących $C(0)$ dobrano jak w tabeli 5.1, a następnie doświadczalnie zmieniano wartość początkowej wielkości nowotworu $T(0)$. W tabeli 5.2 przedstawiono wartości przyjmowane przez $T(0)$ podczas symulacji, liczbę komórek nowotworu oraz szacowaną objętość nowotworu w chwili $t = 120$.

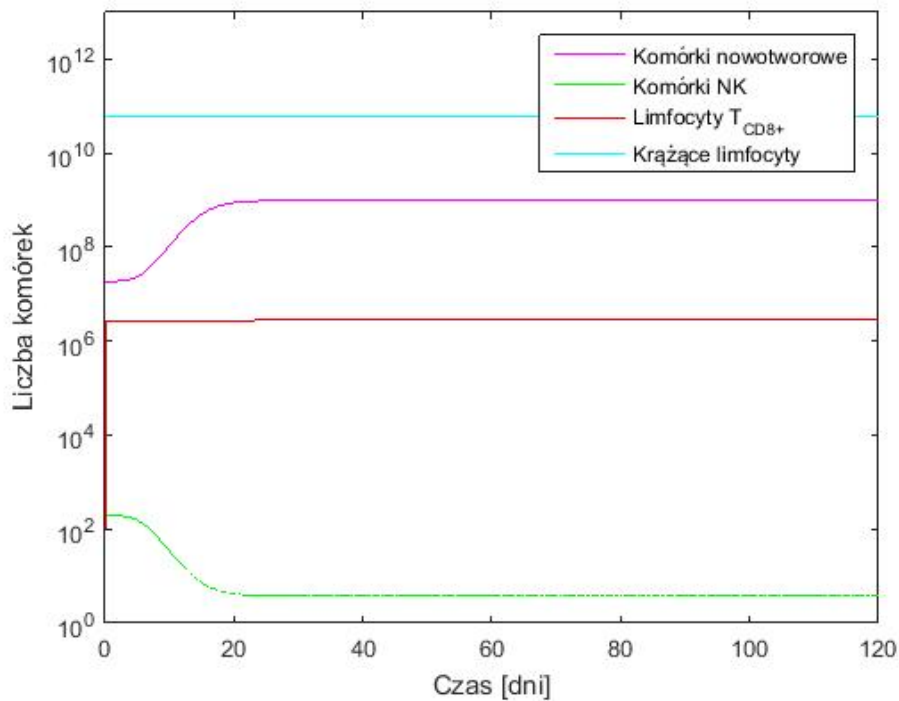
Tab. 5.2: Zmiany wartości $T(0)$, $T(120)$ i szacowanej objętości nowotworu podczas symulacji.

$T(0)$ [liczba komórek]	$T(120)$ [liczba komórek]	Objętość nowotworu [cm^3]
$1 \cdot 10^6$	$6,76 \cdot 10^{-8}$	$6,76 \cdot 10^{-17}$
$2 \cdot 10^6$	$8,15 \cdot 10^{-8}$	$8,15 \cdot 10^{-17}$
$5 \cdot 10^6$	$2,69 \cdot 10^{-8}$	$2,69 \cdot 10^{-17}$
$1 \cdot 10^7$	$3,44 \cdot 10^{-8}$	$3,44 \cdot 10^{-17}$
$1,5 \cdot 10^7$	$4,41 \cdot 10^{-8}$	$4,41 \cdot 10^{-17}$
$1,7 \cdot 10^7$	$2,96 \cdot 10^{-8}$	$2,96 \cdot 10^{-17}$
$1,75 \cdot 10^7$	$3,67 \cdot 10^{-8}$	$3,67 \cdot 10^{-17}$
$1,8 \cdot 10^7$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$2 \cdot 10^7$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$5 \cdot 10^7$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$

Przykładowe zmiany liczby komórek każdej z czterech badanych populacji - komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$ przedstawiono na poniższych wykresach (Rys. 5.1). Na pierwszym wykresie (Rys. 5.1a) przedstawiono sytuację, gdy nowotwór zostaje stłumiony przez układ immunologiczny – liczba komórek nowotworowych stabilizuje się na poziomie bliskim 0. Wykres drugi (Rys. 5.1b) obrazuje przypadek, w którym układ immunologiczny nie jest w stanie pokonać nowotworu – liczba jego komórek stabilizuje się około wartości $9,8 \cdot 10^8$.



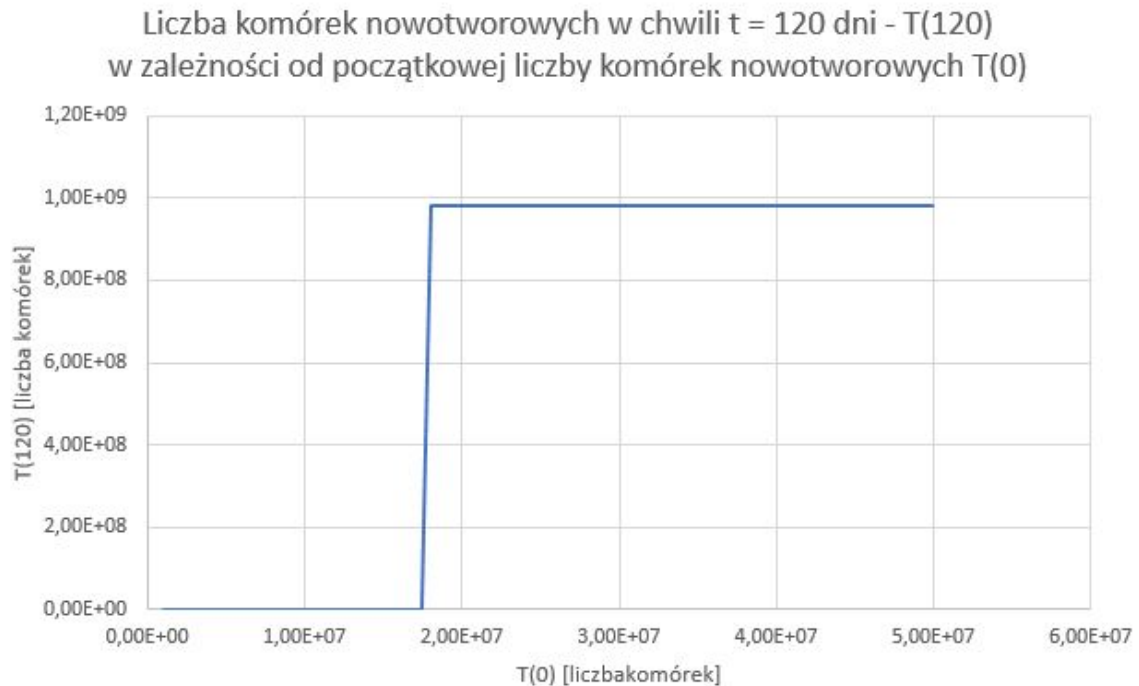
(a) Zmiany liczby komórek badanych populacji dla wartości początkowej $T(0) = 1 \cdot 10^6$. Stabilizacja liczby komórek nowotworowych około wartości 0.



(b) Zmiany liczby komórek badanych populacji dla wartości początkowej $T(0) = 1.8 \cdot 10^7$. Stabilizacja liczby komórek nowotworowych około wartości $9,8 \cdot 10^8$.

Rys. 5.1: Wykresy zmian liczby komórek badanych populacji – komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$.

Zmiany wielkości nowotworu po czasie $t = 120$ dni w zależności od początkowej wartości $T(0)$ przedstawiono na wykresie (Rys. 5.2).



Rys. 5.2: Liczba komórek nowotworu po czasie symulacji $t = 120$ dni w zależności od początkowej liczby komórek nowotworowych $T(0)$ [7].

Wnioski:

- zdrowy układ immunologiczny jest w stanie zniszczyć komórki nowotworowe przy wykorzystaniu wyłącznie komórek występujących naturalnie w organizmie – komórek NK, limfocytów T_{CD8+} , limfocytów krążących – bez ingerencji dodatkowych czynników (np. leczenia);
- jeśli nowotwór rozwija się zbyt szybko, co jest równoznaczne z początkową liczbą komórek nowotworu $T(0) = 1,8 \cdot 10^7$ w chwili $t = 0$ podczas symulacji, układ immunologiczny nie jest w stanie samoistnie pozbyć się nowotworu.

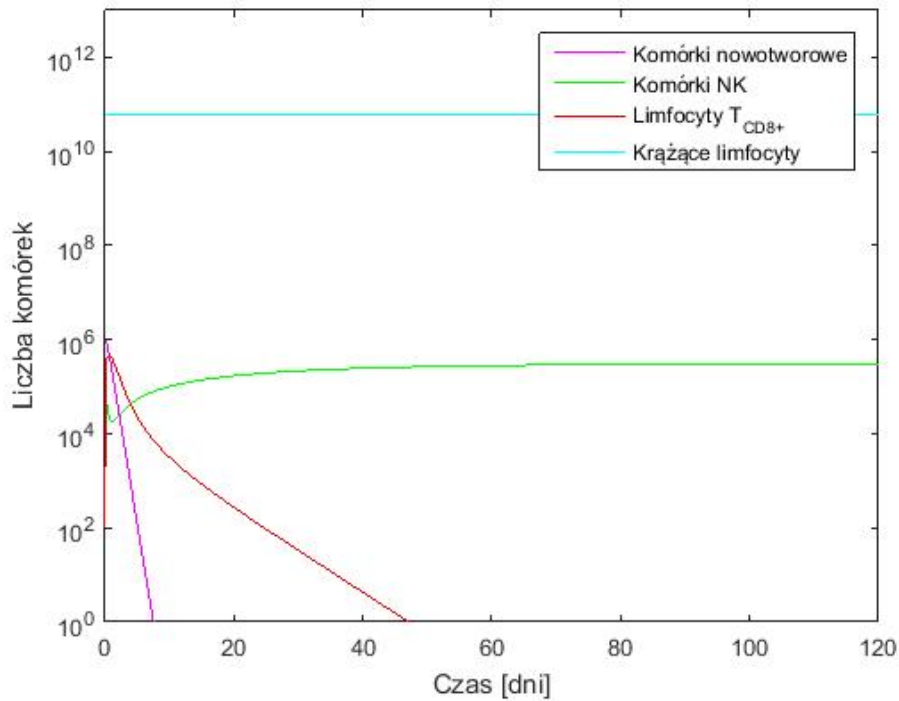
5.1.2 Scenariusz II

Analiza zmian odpowiedzi układu immunologicznego – wielkości nowotworu po zadanym czasie symulacji – w zależności od początkowej liczby krążących limfocytów $C(0)$ (badanie stanu układu immunologicznego). Czas symulacji wynosił $t = 120$ dni. Warunki początkowe – wielkość (liczbę komórek) nowotworu $T(0)$, liczbę komórek NK $N(0)$, liczbę limfocytów T_{CD8+} , liczbę limfocytów krążących $C(0)$ dobrano jak w tabeli 5.1, a następnie doświadczalnie zmieniano wartość początkowej liczby limfocytów krążących $C(0)$. W tabeli 5.3 przedstawiono wartości przyjmowane przez $C(0)$ podczas symulacji, liczbę komórek nowotworu oraz szacowaną objętość nowotworu w chwili $t = 120$.

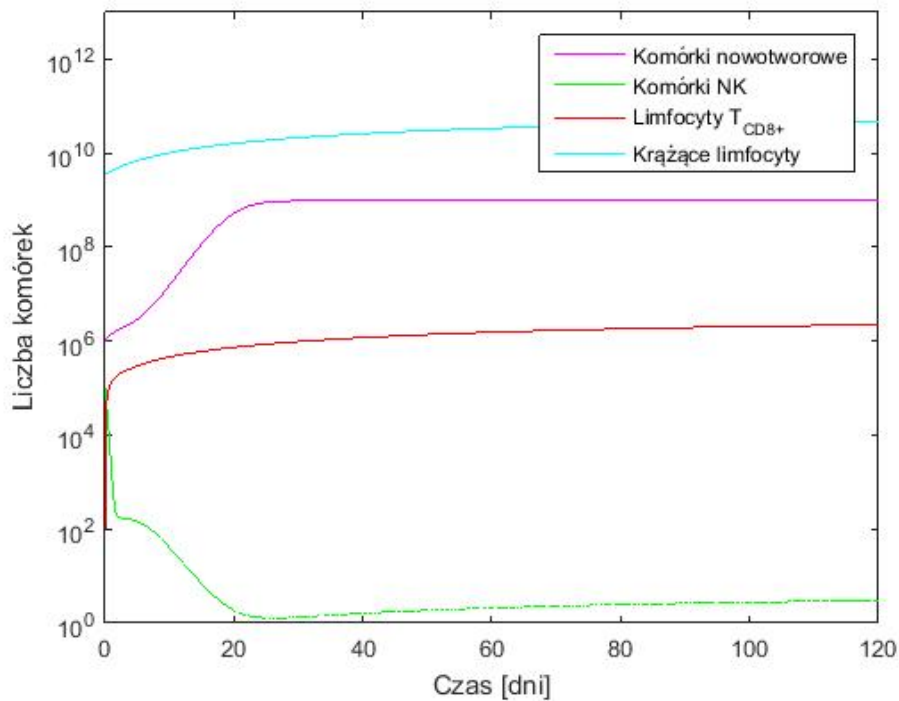
Tab. 5.3: Zmiany wartości $C(0)$, $T(120)$ i szacowanej objętości nowotworu podczas symulacji.

$C(0)$ [liczba komórek]	$T(120)$ [liczba komórek]	Objętość nowotworu [cm^3]
$6 \cdot 10^{10}$	$6,76 \cdot 10^{-8}$	$6,76 \cdot 10^{-17}$
$3 \cdot 10^{10}$	$1,69 \cdot 10^{-7}$	$1,69 \cdot 10^{-16}$
$1 \cdot 10^{10}$	$3,09 \cdot 10^{-8}$	$1,33 \cdot 10^{-17}$
$6 \cdot 10^9$	$4,79 \cdot 10^{-8}$	$4,79 \cdot 10^{-17}$
$4 \cdot 10^9$	$5,72 \cdot 10^{-8}$	$5,72 \cdot 10^{-17}$
$3,5 \cdot 10^9$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$3 \cdot 10^9$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$1 \cdot 10^9$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$6 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$
$3 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^{-1}$

Zmiany liczby komórek badanych populacji - komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$ przedstawiono na wykresach (Rys. 5.3). Na pierwszym z nich (Rys. 5.3a) nowotwór zostaje stłumiony przez odpowiednio silny system immunologiczny – liczba komórek nowotworowych stabilizuje się około wartości 0. Na drugim wykresie (Rys. 5.3b) liczba komórek nowotworowych stabilizuje się około wartości $9,8 \cdot 10^8$. Układ immunologiczny ze względu na zmniejszoną liczbę krążących limfocytów jest zbyt słaby, by zniszczyć komórki nowotworu.



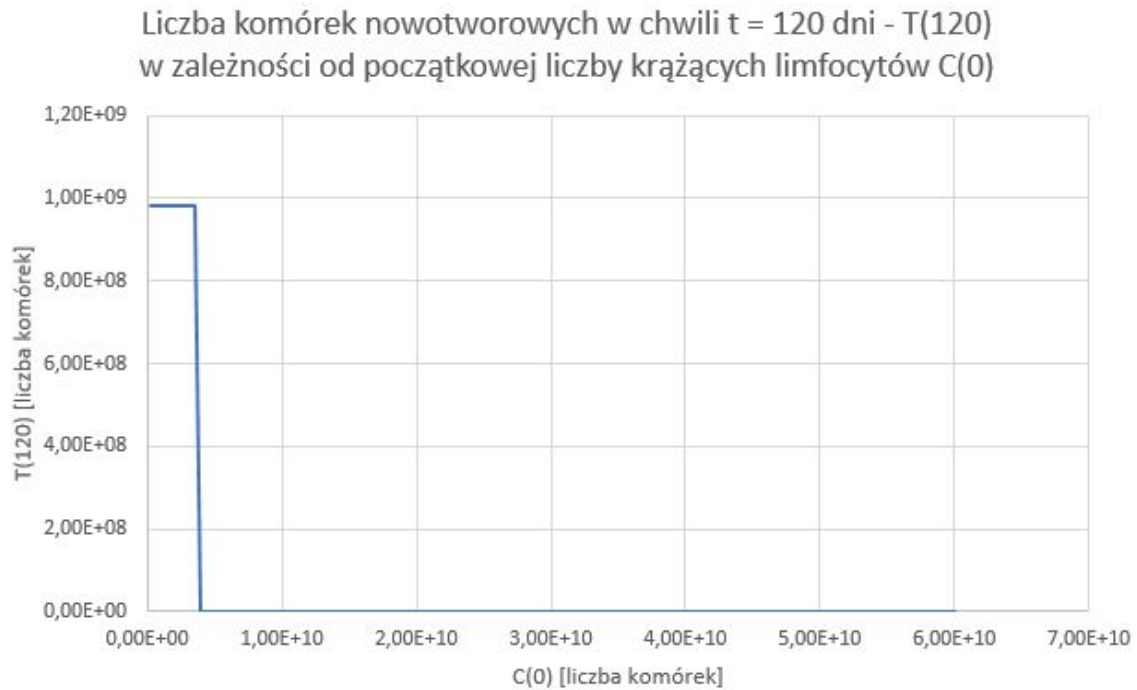
(a) Zmiany liczby komórek badanych populacji dla wartości początkowej $C(0) = 6 \cdot 10^6$. Stabilizacja liczby komórek nowotworowych około wartości 0.



(b) Zmiany liczby komórek badanych populacji dla wartości początkowej $C(0) = 3,5 \cdot 10^9$. Stabilizacja liczby komórek nowotworowych około wartości $9,8 \cdot 10^8$.

Rys. 5.3: Wykresy zmian liczby komórek badanych populacji – komórek nowotworowych $T(t)$, komórek NK $N(t)$, limfocytów T_{CD8+} $L(t)$ i limfocytów krążących $C(t)$.

Zmiany wielkości nowotworu po czasie $t = 120$ dni w zależności od początkowej liczby krążących limfocytów $C(0)$ przedstawiono na wykresie (Rys. 5.4).



Rys. 5.4: Liczba komórek nowotworu po czasie symulacji $t = 120$ dni w zależności od początkowej liczby krążących limfocytów $C(0)$ [7].

Wnioski:

- przy odpowiednio dużej liczbie krążących limfocytów – około $4 \cdot 10^9$, układ immunologiczny jest w stanie zniszczyć komórki nowotworowe bez ingerencji zewnętrznych czynników (np. leczenia),
- przy zbyt małej liczbie krążących limfocytów (zły stan układu immunologicznego) organizm nie jest w stanie zniszczyć komórek nowotworowych.

- 5.2 Leczenie metodą chemioterapii
- 5.3 Leczenie metodą immunoterapii
- 5.4 Połączenie metod chemioterapii
i immunoterapii

6. Rezultaty

7. Analiza wyników

8. Podsumowanie

Bibliografia

- [1] Mustafa Mamat, Subiyanto i Agus Kartono, „Mathematical Model of Cancer Treatments Using Immunotherapy, Chemotherapy and Biochemotherapy”,
- [2] R. Tadeusiewicz, „Biocybernetyka. Metodologiczne podstawy dla inżynierii biomedycznej.”, PWN, 2013
- [3] Redaktor naukowy dr n. med. Janusz Meder, „Podstawy onkologii klinicznej”, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, 2011
- [4] Ewelina Dymarska, „Czynniki modulujące układ immunologiczny człowieka”, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Zeszyty Naukowe Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. Witelona w Legnicy nr 19(2)/2016
- [5] Nadzieja Drela, „Immunologiczna teoria starzenia”, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, Instytut Zoologii, Zakład Immunologii, Warszawa, 23 kwietnia 2014
- [6] Marta Sochocka, Zofia Błach-Olszewska, „Mechanizmy wrodzonej odporności”, Laboratorium Wirusologii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im L. Hirszfelda we Wrocławiu, Postępy Hig Med Dośw., 59: 250-258, 2005
- [7] Emilia Kolarzyk, „Wybrane problemy higieny i ekologii człowieka”, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, 2008, wyd.1
- [8] Beata Tokarz-Deptuła, Tymoteusz Miller, Wiesław Deptuła, „Cytokiny z rodziny interleukiny-1”, Katedra 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] Jacek Mackiewicz, Andrzej Mackiewicz, „Immunoterapia nowotworów i perspektywy jej rozwoju”, Zakład Immunologii Nowotworów, Katedra Biotechnologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu
- [11] Anna Świeboda-Sadlej, „Skojarzone leczenie nowotworów — współpraca chirurga i onkologa klinicznego w zakresie leczenia raka piersi, jelita grubego i płuca”, Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych WUM

-
- [12] Ewa Sikora, „Cykl komórkowy i apoptoza: śmierć starej komórki”, Polskie Towarzystwo Biochemiczne, „Postępy biochemii”, tom 42, nr 2, 1996
- [13] Izabela Klaska, Jerzy Z. Nowak, „Rola układu dopełniacza w fizjologii i patologii”, Łódź, 2007
- [14] dr hab. Krzysztof Bryniarski, „Immunologia”, 2017
- [15] Włodzimierz Maśliński, Ewa Kontny, „Podstawy immunologii dla reumatologów”, Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji, Warszawa, 2015
- [16] Aleksandra E. Tokarz, Iwona Szuścik, Agnieszka Żyłka, Ewa Stępień, „Wykorzystanie mikromacierzy w ocenie prozapalnych i proangiogennych cytokin w patomechanizmie retinopatii cukrzycowej”, 2014
- [17] K. Morka, G. Bugla-Płoskońska, „Medycyna doświadczalna i mikrobiologia”, 2017
- [18] O.G. Isaeva and V.A. Osipov, „Different strategies for cancer treatment: Mathematical modelling”, 2009
- [19] L.G. de Pillisa, W. Gu, A.E. Radunskaya, „Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations”, 2005