
Άσκηση 4

Προσομοίωση Εξέλιξης Καρκινικών Όγκων

1. Σκοπός

Σκοπός της άσκησης είναι αφενός μεν η εξοικείωση του φοιτητή με έννοιες της βιοπληροφορικής, οι οποίες αναφέρονται κυρίως στο μοριακό και κυτταρικό επίπεδο οργάνωσης της ζωής, αφετέρου δε η ενημέρωση και πρακτική εξάσκησή του σε θέματα ανάπτυξης υπολογιστικών προσομοιωτικών προτύπων βιολογικών συστημάτων. Για το σκοπό αυτό παρουσιάζεται ένα τετραδιάστατο υπολογιστικό προσομοιωτικό πρότυπο της εξέλιξης συμπαγών καρκινικών όγκων και της απόκρισής τους σε ακτινοθεραπευτικά σχήματα, που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο διδακτορικών διατριβών του Εργαστηρίου Βιοϊατρικών Προσομοιώσεων και Απεικονιστικής Τεχνολογίας, Ε.Μ.Π. [1-10]. Επιπρόσθετα, οι φοιτητές συμμετέχουν στην ανάπτυξη τμημάτων λογισμικού για την προσομοίωση της ανάπτυξης όγκων και της απόκρισής τους στην ακτινοθεραπεία. Στόχος είναι τόσο η καλύτερη κατανόηση της ασθένειας του καρκίνου σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο, όσο και η επαφή των φοιτητών με τη βελτιστοποίηση και εξατομίκευση της ακτινοθεραπευτικής αγωγής.

2. Προετοιμασία Άσκησης

Ανατρέχοντας σε κατάλληλες βιβλιογραφικές πηγές, π.χ. βιβλία Βιολογίας Λυκείου, αναζήτηση στο διαδίκτυο για συγκεκριμένα λήμματα («cell cycle», «DNA», «cancer biology», «radiation therapy»), σύνδεση με δικτυακούς τόπους (όπως τον ακόλουθο <http://www.nobel.se/medicine/educational/2001/cellcycle.html>), γενική βιβλιογραφία Βιολογίας κ.λπ, βεβαιωθείτε ότι έχετε κατανοήσει πλήρως τους ακόλουθους όρους. Η κατανόηση των όρων αυτών είναι απαραίτητη για την επιτυχή διεξαγωγή της άσκησης και κατά συνέπεια θα πρέπει να έχει ολοκληρωθεί ΠΡΙΝ τη διεξαγωγή της.

- α. κύτταρο και δομή του κυττάρου
- β. DNA (χημική δομή, πληροφοριακό περιεχόμενο)
- γ. ανθρώπινο γονιδίωμα

- δ. πρωτεΐνες
- ε. αμινοξέα
- στ. γενετικός κώδικας
- ζ. μετάλλαξη
- η. μεταβολισμός του κυττάρου
- θ. κυτταρικός θάνατος
- ι. φαγοκύτωση
- ια. κυτταρικός κύκλος
- ιβ. ακτινοθεραπεία

3. Θεωρητικό Μέρος

3.1. Εισαγωγή

Ο καρκίνος είναι η δεύτερη σε συχνότητα αιτία θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες [4-7]. Περίπου το 60% όλων των καρκινοπαθών στην Ευρώπη και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής υποβάλλεται σε ακτινοθεραπεία (εξωτερική ακτινοβολήση ή βραχυθεραπεία) είτε ως τη βασική μέθοδο αντιμετώπισης του καρκίνου, είτε ως συμπλήρωμα στη χημειοθεραπεία ή τη χειρουργική επέμβαση.

Η βελτιστοποίηση του σχεδιασμού της ακτινοθεραπείας πραγματοποιείται πριν την ακτινοβολήση του ασθενούς και μέχρι σήμερα στηρίζεται κυρίως στη χωρική κατανομή της απορροφώμενης δόσης. Συγκεκριμένα, ο σχεδιασμός της ακτινοθεραπείας γίνεται έτσι ώστε ο καρκινικός ιστός να λαμβάνει τη μεγαλύτερη δυνατή δόση, ενώ συγχρόνως να ελαχιστοποιείται η δόση που απορροφούν τα όργανα ζωτικής σημασίας και οι παρακείμενοι φυσιολογικοί ιστοί. Η διαδικασία αυτή, ο «φυσικός» σχεδιασμός της ακτινοθεραπείας, σχετίζεται με διάφορα φυσικά μεγέθη που χαρακτηρίζουν τους ιστούς, όπως οι συντελεστές σκέδασης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

Παράλληλα, τα τελευταία χρόνια αναπτύσσεται μια προσπάθεια βελτιστοποίησης της χρονικής κατανομής ή του «κερματισμού» της δόσης, βασιζόμενη στην αξιοποίηση γνώσεων που αναφέρονται σε βιολογικούς μηχανισμούς του κυτταρικού και μοριακού επιπέδου («βιολογικός» σχεδιασμός της ακτινοθεραπείας). Στόχος της προσέγγισης που παρουσιάζεται στη συγκεκριμένη άσκηση είναι ακριβώς η μαθηματική έκφραση και η ενσωμάτωση των παραπάνω βιολογικών μηχανισμών σε ένα πρωτότυπο υπολογιστικό πρότυπο ανάπτυξης καρκινικών όγκων και απόκρισής τους σε διάφορα ακτινοθεραπευτικά σχήματα [9]. Το ζητούμενο είναι η - κατά το δυνατό - τετραδιάστατη πρόβλεψη της εξέλιξης του όγκου με βάση τα απεικονιστικά, ιστοπαθολογικά και γενετικά δεδομένα του ασθενούς και η συνακόλουθη εκτίμηση της καλύτερης δυνατής αντιμετώπισης. Τονίζεται ωστόσο ότι ο όρος «πρόβλεψη» δε χρησιμοποιείται με απόλυτη έννοια. Λόγω της πολυπλοκότητας και του στοχαστικού χαρακτήρα των σχετικών βιολογικών φαινομένων, κάποια αβεβαιότητα θα υπεισέρχεται πάντοτε στις προβλέψεις οποιασδήποτε ογκολογικής προσομοίωσης.

3.2. Συλλογή Ατομικών Δεδομένων Ασθενούς

Αρχικά, συλλέγονται τα ατομικά απεικονιστικά (π.χ. αξονική τομογραφία - CT, μαγνητική τομογραφία - MRI, τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίου - PET), ιστοπαθολογικά (π.χ. τύπος καρκινικών κυττάρων) και γενετικά δεδομένα (π.χ. κατάσταση ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53) του ασθενούς. Ο ειδικευμένος γιατρός

χαράζει τα περιγράμματα του όγκου και άλλων ανατομικών περιοχών ενδιαφέροντος, με χρήση κατάλληλου υπολογιστικού εργαλείου που έχει αναπτυχθεί για το σκοπό αυτό (Σχήμα 1). Με βάση τα απεικονιστικά δεδομένα, πραγματοποιείται η τρισδιάστατη ανακατασκευή των ανατομικών περιοχών ενδιαφέροντος.

3.3. Αλγόριθμοι Ανάπτυξης και Απόκρισης Όγκου στην Ακτινοθεραπεία

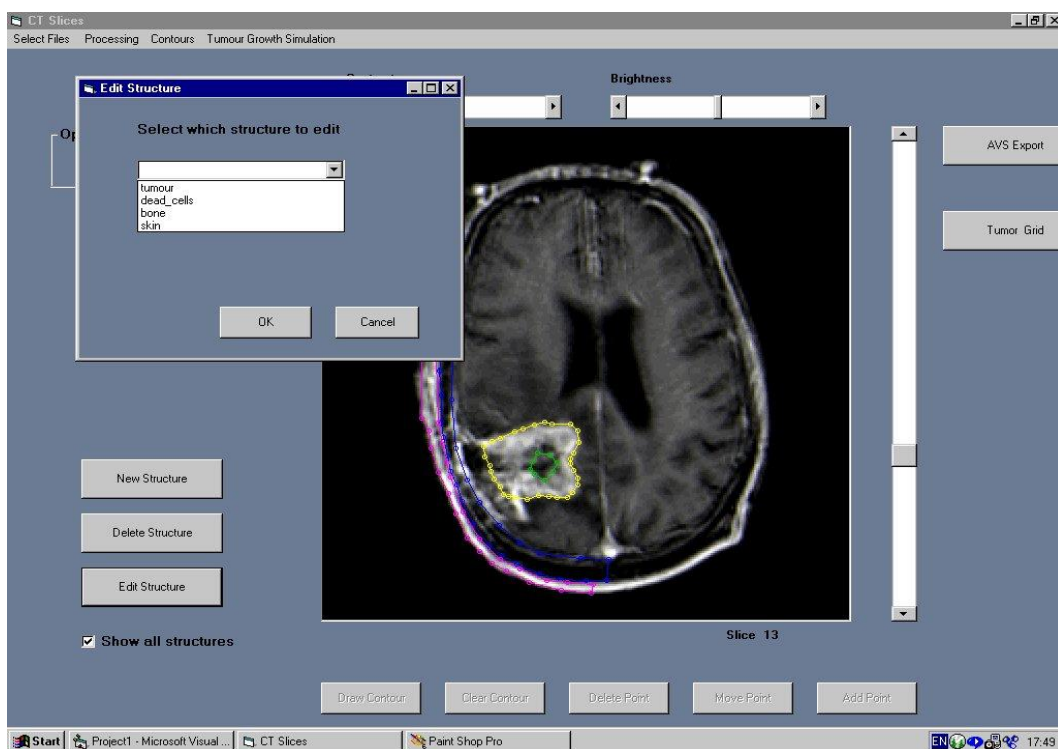
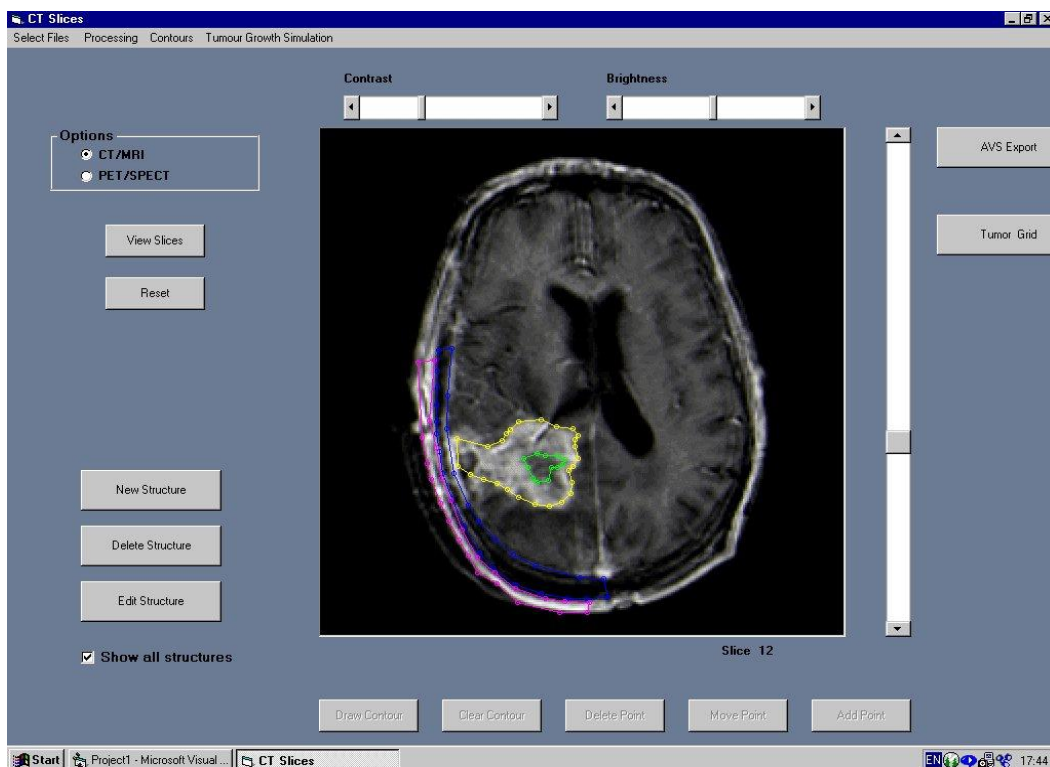
Ένα τρισδιάστατο πλέγμα διακριτοποίησης «υπερτίθεται» στην ανατομική περιοχή στόχο (όγκο). Υιοθετείται η απλουστευτική παραδοχή ότι σε κάθε γεωμετρική κυψέλη του πλέγματος περιέχεται αρχικά ένας σταθερός αριθμός βιολογικών κυττάρων (ABK). Επιδιώκεται η υπολογιστική περιγραφή (μοντελοποίηση) της βιολογικής δραστηριότητας των κυττάρων αυτών (π.χ. του μηχανισμού πολλαπλασιασμού τους) και των φαινομένων που λαμβάνουν χώρα κατά την ακτινοβολή τους. Για το συγκεκριμένο σκοπό προτείνονται και υλοποιούνται οι παρακάτω βασικές υποθέσεις (ο ενδιαφερόμενος αναγνώστης παραπέμπεται για λεπτομέρειες στη σχετική βιβλιογραφία [1-10]):

1. Τα βιολογικά κύτταρα ακολουθούν το κυτταροκινητικό πρότυπο του Σχήματος 2.
2. Κάθε γεωμετρική κυψέλη του πλέγματος στην περιοχή του όγκου περιλαμβάνει έναν αριθμό «διαμερισμάτων», σε καθένα από τα οποία βρίσκονται βιολογικά κύτταρα που ανήκουν σε συγκεκριμένη φάση εντός ή εκτός του κυτταρικού κύκλου (Εικόνα 3). Η αρχική κατανομή των βιολογικών κυττάρων σε κάθε διαμέρισμα εκτιμάται με βάση τη θέση της αντίστοιχης γεωμετρικής κυψέλης στον όγκο, δηλαδή με πρωταρχικό κριτήριο την αναμενόμενη τροφοδοσία σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά στο υπό εξέταση σημείο (π.χ. πληροφορίες για τη μεταβολική δραστηριότητα του όγκου προκύπτουν από τομές PET).
3. Ο θάνατος των κυττάρων λόγω της ακτινοβολήσης περιγράφεται με βάση το Γραμμικό Τετραγωνικό Πρότυπο (Linear Quadratic Model, LQ Model):

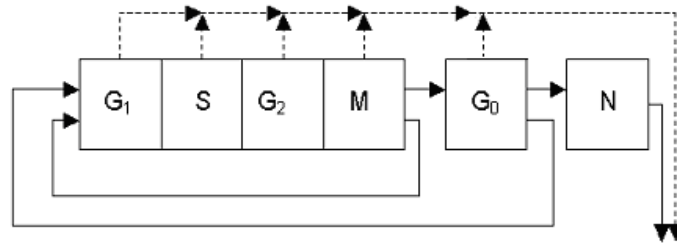
$$S = \exp[-(\alpha D + \beta D^2)] \quad (1)$$

όπου S είναι η πιθανότητα επιβίωσης ενός κυττάρου μετά από την ακτινοβολήσή του με δόση ακτινοβολίας D (Gy). Οι παράμετροι α (Gy^{-1}) και β (Gy^{-2}) σχετίζονται με την ακτινευσαισθησία του κυττάρου.

4. Η προσομοίωση της διόγκωσης και της συρρίκνωσης του καρκινικού όγκου πραγματοποιείται με βάση τους παρακάτω κανόνες:
 - 4.a. Εάν ο τρέχων Αριθμός των Βιολογικών Κυττάρων (ABK) σε μια κυψέλη υπερβεί την τιμή $ABK + ABK/2$, τότε δημιουργείται μια νέα γεωμετρική κυψέλη που περιέχει τα πλεονάζοντα βιολογικά κύτταρα. Η δημιουργία της καινούριας κυψέλης προκαλεί τη μεγέθυνση του καρκινικού όγκου.
 - 4.b. Αντίστοιχα, εάν ο τρέχων αριθμός των βιολογικών κυττάρων βρεθεί κάτω από το όριο $ABK/2$, λόγω π.χ. της ακτινοβολήσης, η αντίστοιχη γεωμετρική κυψέλη εξαφανίζεται και ο καρκινικός όγκος συρρικνώνεται.
5. Η στοχαστικότητα των διαφόρων βιολογικών φαινομένων και μηχανισμών ενδιαφέροντος προσομοιώνεται με τη βοήθεια γεννήτριας τυχαίων αριθμών. Για το λόγο αυτό όλη η προσομοίωση θεωρείται ότι ανήκει στην κατηγορία των στοχαστικών προσομοιώσεων Monte Carlo.

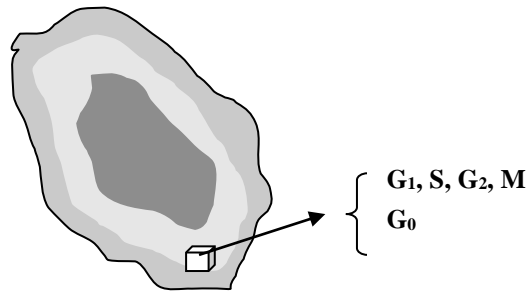


Σχήμα 1: Ειδικό υπολογιστικό «εργαλείο» για την εμφάνιση των απεικονιστικών δεδομένων του ασθενούς και τη χάραξη των περιοχών ενδιαφέροντος από τον ειδικευμένο γιατρό.



Κυτταρική Λύση

Σχήμα 2: Απλοποιημένο κυτταροκινητικό πρότυπο. G_1 : φάση G_1 , S : φάση σύνθεσης DNA, G_2 : φάση G_2 , M : μίτωση, G_0 : φάση ανάπαυσης, N : νέκρωση. Διακεκομμένες γραμμές: απόπτωση.

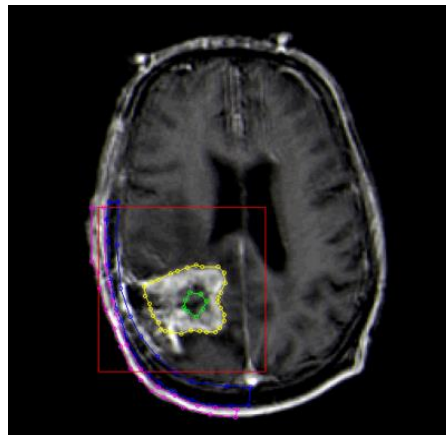


Σχήμα 3: Κυβική κυψέλη του τρισδιάστατου πλέγματος.

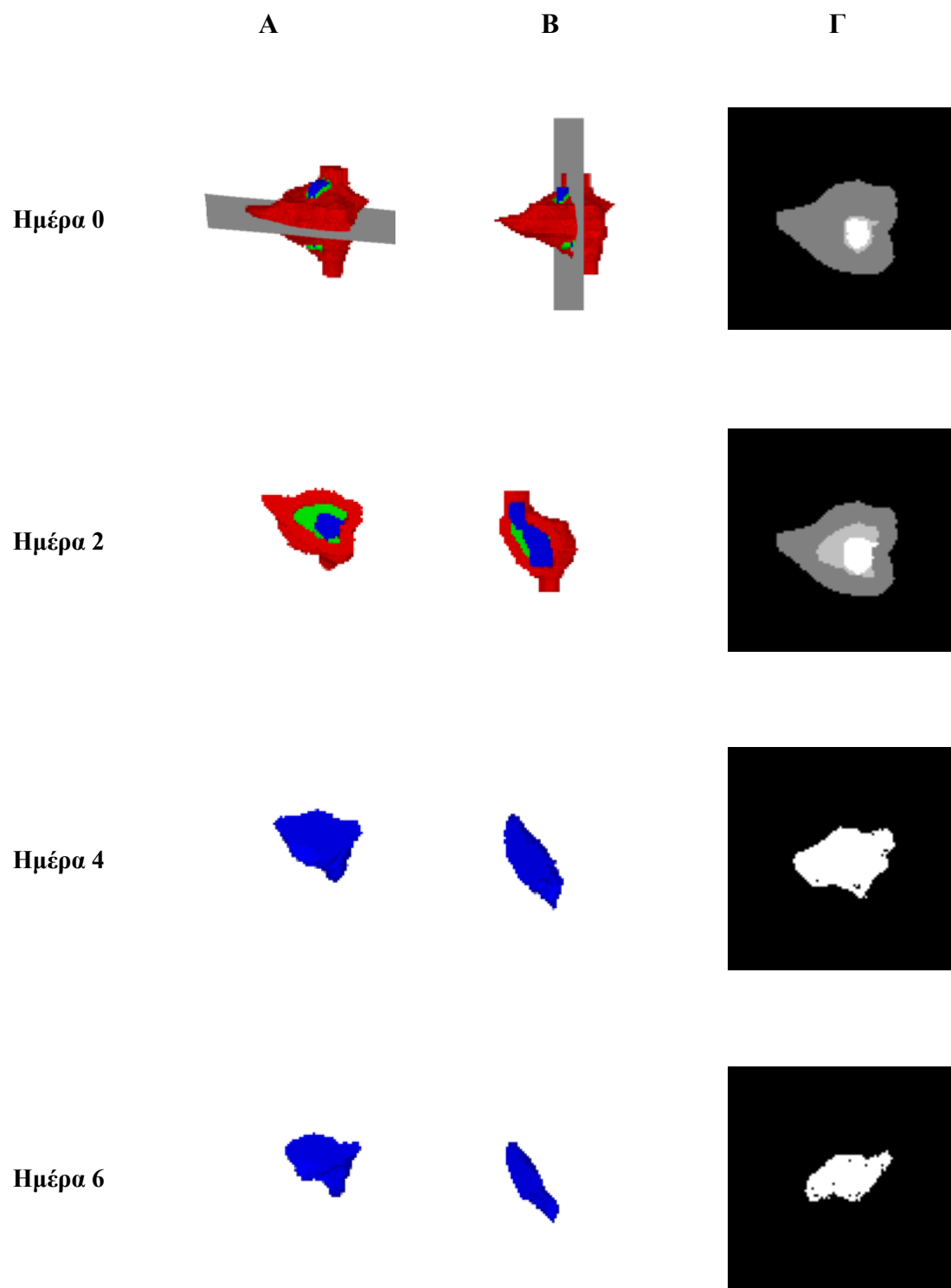
3.4. Χωροχρονική Προσομοίωση

Το τρισδιάστατο πλέγμα που καλύπτει την περιοχή ενδιαφέροντος σαρώνεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα (μπορεί να χρησιμοποιηθεί χρονικό βήμα διάρκειας μιας ώρας ή και παραπάνω, ανάλογα με το επιθυμητό επίπεδο διακριτοποίησης και την διαθέσιμη υπολογιστική ισχύ). Σε κάθε κυψέλη εφαρμόζονται οι αλγόριθμοι προσομοίωσης των επιμέρους βιολογικών μηχανισμών που περιγράφηκαν παραπάνω και έτσι προκύπτει η «πρόβλεψη» της χωροχρονικής εξέλιξης του όγκου.

Το τετραδιάστατο προσομοιωτικό πρότυπο, που περιγράφηκε προηγουμένως [9] εφαρμόστηκε σε κλινική περίπτωση γλοιοβλάστωματος στον εγκέφαλο (Σχήμα 4). Στο Σχήμα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα προσομοίωσης της απόκρισης όγκου στο συνήθη κεραματισμό της ακτινοθεραπείας (2 φορές την ημέρα από 2 Gy, 5 ημέρες ανά εβδομάδα, 60 Gy συνολικά).



Σχήμα 4: Τομή MRI: Πολύμορφο γλοιοβλάστωμα στον εγκέφαλο. Διακρίνονται το περίγραμμα του όγκου και εκείνο της κεντρικής νεκρωτικής περιοχής.



Ημέρα 8



Ημέρα 10



Ημέρα 20



Σχήμα 5: Προσομοίωση της απόκρισης καρκινικού όγκου στο συνήθη κερματισμό της ακτινοθεραπείας. Οι στήλες A και B δείχνουν στις τρεις διαστάσεις δύο διαφορετικές δυνατότητες τομής του όγκου (οριζόντια και κατακόρυφη αντίστοιχα), ενώ η στήλη Γ παρουσιάζει μια διδιάστατη κεντρική τομή. Οι τιμές ορισμένων παραμέτρων έχουν σκοπίμως υπερτιμηθεί, ώστε να δοθεί έμφαση στην ικανότητα του μοντέλου να προσομοιώνει το φαινόμενο της συρρίκνωσης λόγω ακτινοβολήσης. Χρωματικός κώδικας → Κόκκινο/Σκούρο γκριζο: στρώμα πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων, Πράσινο/ανοιχτό γκριζο: στρώμα αναπαυόμενων κυττάρων, Μπλε/άσπρο: στρώμα νεκρωτικών κυττάρων.

4. Πρακτική Εξάσκηση

A) Σε σχέση με το τετραδιάστατο υπολογιστικό προσομοιωτικό πρότυπο που παρουσιάστηκε από τον υπεύθυνο της άσκησης

Ως παράδειγμα υπολογιστικής προσομοίωσης θεωρήστε την κλινική περίπτωση ενός ασθενούς με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (αστροκύττωμα του εγκεφάλου, τετάρτου βαθμού κακοήθειας). Με τη βοήθεια του υπεύθυνου της άσκησης μελετήστε τα αποτελέσματα της προσομοίωσης της απόκρισης στην ακτινοθεραπεία για τη συγκεκριμένη κλινική περίπτωση. Συγκρίνετε τα αποτελέσματα για διαφορετικά ακτινοθεραπευτικά συστήματα (υπερκερματισμός: ακτινοβολήση 2 φορές την ημέρα,

5 ημέρες την εβδομάδα, συνολική δόση: 72 Gy, **συνήθης κερματισμός:** ακτινοβολήση 1 φορά την ημέρα, 5 ημέρες την εβδομάδα, συνολική δόση: 60 Gy) και για διαφορετικές τιμές των παραμέτρων του προβλήματος (π.χ. διαφορετικές τιμές των παραμέτρων του Γραμμικού Τετραγωνικού Προτύπου).

B) Σε σχέση με το πρόγραμμα προσομοίωσης ανάπτυξης και απόκρισης του όγκου σε ακτινοθεραπεία, στην υλοποίηση του οποίου θα συμμετάσχουν οι φοιτητές

Στο πλαίσιο της εργαστηριακής άσκησης, οι φοιτητές θα συμμετάσχουν στην ολοκλήρωση κατάλληλου λογισμικού, το οποίο προσομοιώνει την ανάπτυξη όγκων και την απόκριση τους στην ακτινοθεραπεία. Το λογισμικό έχει αναπτυχθεί για τις ανάγκες της άσκησης σε περιβάλλον Matlab. Οι φοιτητές καλούνται να συμμετάσχουν στη συμπλήρωση κρίσιμων τμημάτων του κώδικα στα m. αρχεία που υπάρχουν σε υπεύθυνος της άσκησης. Επίσης, θα συνθέσουν ακτινοθεραπευτικά σχήματα, θα τα εφαρμόσουν *in silico* σε όγκο που θα δημιουργήσουν και θα αναλύσουν τα αποτελέσματα. Πρέπει να σημειωθεί εδώ, ότι ο κώδικας που θα αναπτυχθεί, στόχο έχει την εξάσκηση των φοιτητών και σε καμία περίπτωση δε μπορεί να αντικαταστήσει σε αρτιότητα και αξιοπιστία αποτελεσμάτων το ολοκληρωμένο τετραδιάστατο προσομοιωτικό πρότυπο που παρουσιάστηκε.

Το λογισμικό που οι φοιτητές καλούνται να συμπληρώσουν με δικό τους κώδικα και στη συνέχεια να εκτελέσουν, έχει αναπτυχθεί σύμφωνα με τις παρακάτω αρχές:

- i) **Γεωμετρικές Κυψέλες:** Θεωρούμε ότι ο όγκος βρίσκεται σε ένα γεωμετρικό πλέγμα του τρισδιάστατου χώρου που αποτελείται από στοιχειώδεις Γεωμετρικές Κυψέλες (ΓΚ). Κάθε ΓΚ έχει διαστάσεις $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ και περιέχει 10^6 κύτταρα, τα οποία μπορούν να ανήκουν σε οποιαδήποτε από τις φάσεις του κυτταροκινητικού προτύπου (G_1 , S, G_2 , M, G_0 , N). Ο ιστός που περιέχεται σε κάθε ΓΚ του όγκου, και κατά συνέπεια και η ΓΚ ως σύνολο, ταξινομείται, με βάση την κατανομή των κυττάρων της στις διάφορες καταστάσεις του κυτταροκινητικού προτύπου, σε μια τις τρεις κατηγορίες: νεκρωτική, ανάπαυσης και πολλαπλασιασμού. Έτσι, μία ΓΚ χαρακτηρίζεται ως νεκρωτική όταν τουλάχιστον το 90% των κυττάρων που περιέχει είναι στη φάση νέκρωσης (N) του κυτταροκινητικού προτύπου. Όταν δεν ισχύει το παραπάνω, θεωρούμε ότι η ΓΚ βρίσκεται στη φάση ανάπαυσης όταν τα κύτταρα που είναι στη φάση ανάπαυσης (G_0) είναι περισσότερα από αυτά που βρίσκονται σε μία από τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου (φάσεις G_1 , S, G_2 , M), ενώ θεωρούμε ότι η ΓΚ βρίσκεται στη φάση πολλαπλασιασμού σε αντίθετη περίπτωση (Σχήμα 6).

$\text{αν } \frac{\# \text{ κυττάρων στην N φάση}}{\text{συνολικός } \# \text{ κυττάρων της ΓΚ}} \geq 0.9$ <p style="text-align: center;">η ΓΚ χαρακτηρίζεται ως “νεκρωτική”</p> <p style="text-align: center;">αλλιώς</p> $\text{αν } (\# \text{ κυττάρων στη φάση } G_0) \geq (\# \text{ κυττάρων στις φάσεις } G_1, S, G_2, M)$ <p style="text-align: center;">η ΓΚ χαρακτηρίζεται ως “ανάπαυσης”</p> <p style="text-align: center;">αλλιώς</p> <p style="text-align: center;">η ΓΚ χαρακτηρίζεται ως “πολλαπλασιασμού”</p> <p style="text-align: center;">τέλος</p>

Σχήμα 6: Ψευδοκώδικας για την ταξινόμηση των ΓΚ (με “# κυττάρων” συμβολίζεται ο αριθμός των κυττάρων).

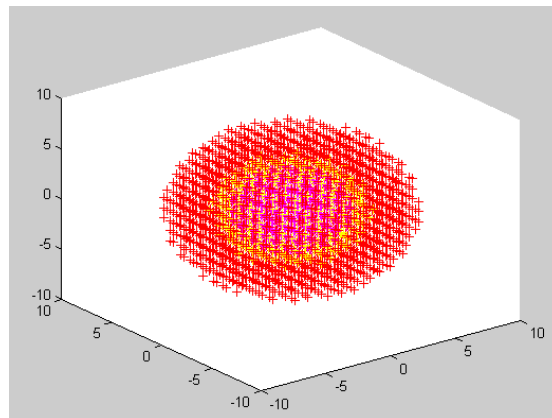
Ο διαχωρισμός των ΓΚ στις παραπάνω κατηγορίες χρησιμεύει τόσο στην οπτικοποίηση του όγκου όσο και στον καθορισμό των πιθανοτήτων μετάβασης από μια φάση του κυτταρικού κύκλου σε άλλη, όπως θα γίνει φανερό παρακάτω.

- ii) Θεωρούμε ότι ο όγκος, αρχικά, αποτελείται από μία εσωτερική σφαιρική περιοχή που αντιστοιχεί στο νεκρωτικό τμήμα, που αποτελείται, δηλαδή, από ΓΚ που χαρακτηρίζονται ως νεκρωτικές σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω. Κινούμενοι προς το εξωτερικό του όγκου συναντάμε την περιοχή με κύτταρα που βρίσκονται σε φάση ανάπαυσης, η οποία αντιστοιχεί σε ένα ομόκεντρο δακτύλιο με τη νεκρωτική περιοχή. Ακόμα πιο έξω υπάρχει δεύτερος ομόκεντρος δακτύλιος που αντιστοιχεί στη περιοχή των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση του πολλαπλασιασμού (δηλαδή σε μία από τις φάσεις G_1 , S , G_2 , M). Η αρχικοποίηση αυτή σχετίζεται με την υπόθεση ότι οι συνθήκες (διαθεσιμότητα γλυκόζης και οξυγόνου) δεν είναι ευνοϊκές στο εσωτερικό του όγκου, ενώ γίνονται πιο ευνοϊκές όσο κινούμαστε προς την εξωτερική του επιφάνεια. Η συνάρτηση `initialize_tumour.m` είναι η συνάρτηση που αρχικοποιεί τον όγκο στον τρισδιάστατο χώρο (το αντίστοιχο αρχείο μπορεί να βρεθεί στον κατάλογο που θα σας υποδείξει ο υπεύθυνος της άσκησης). Η συνάρτηση δέχεται ως εισόδους τις ακτίνες που ορίζουν τα όρια των τριών περιοχών του όγκου, ενώ επιστρέφει ένα τρισδιάστατο πίνακα (array) από δομές (structs) του Matlab. Κάθε δομή περιέχει όλες τις χρήσιμες πληροφορίες για μία από τις ΓΚ του γεωμετρικού πλέγματος που περιέχει τον όγκο.

Π.χ. πληκτρολογώντας

```
>> tumour_in_GC = initialize_tumour(Rπολλ., Rαναπ., Rνεκρ.)1
```

στο command line του Matlab επιστρέφεται στη μεταβλητή ένας πίνακας από δομές σχετικές με τον όγκο που μόλις δημιουργήθηκε. Ο όγκος αυτός (Σχήμα 7) περιέχει μια νεκρωτική περιοχή που αντιστοιχεί σε σφαίρα με κέντρο το σημείο (0,0,0) και ακτίνα $R_{νεκρ.}$, μια περιοχή ανάπαυσης που αντιστοιχεί σε δακτύλιο με εσωτερική ακτίνα $R_{νεκρ.}$ και εξωτερική $R_{αναπ.}$, και μια περιοχή πολλαπλασιασμού που αντιστοιχεί σε δακτύλιο με εσωτερική ακτίνα $R_{αναπ.}$ και εξωτερική $R_{πολλ.}$. Οι ακτίνες $R_{πολλ.}$, $R_{αναπ.}$, $R_{νεκρ.}$ μετρούνται σε *mm*.



Σχήμα 7: Όγκος με νεκρωτική περιοχή ακτίνας $R_{νεκρ.} = 4$ (ροζ χρώμα), περιοχή ανάπαυσης με εξωτερική ακτίνα $R_{αναπ.} = 5$ (κίτρινο χρώμα) και περιοχή πολλαπλασιασμού με εξωτερική ακτίνα $R_{πολλ.} = 8$ (κόκκινο χρώμα).

¹ Οι τιμές $R_{πολλ.}$, $R_{αναπ.}$, $R_{νεκρ.}$ αναφέρονται εδώ συμβολικά. Ο χρήστης εισάγει τις επιθυμητές ακτίνες των τριών περιοχών του όγκου $R_{πολλ.}$, $R_{αναπ.}$, $R_{νεκρ.}$ ως θετικούς ακεραίους αριθμούς.

Κατά την αρχικοποίηση του όγκου αρχικοποιείται και το γεωμετρικό πλέγμα, το οποίο θεωρούμε ότι είναι ένας κύβος με κέντρο το σημείο (0,0,0) και πλευρά το τετραπλάσιο της εξωτερικής ακτίνας της περιοχής πολλαπλασιασμού αυξημένο κατά 1. Η εντολή

```
>> tumour_in_GCs=initialize_tumour(Rπολλ., Rαναπ., Rνεκρ.)
```

αρχικοποιεί το γεωμετρικό πλέγμα ως κύβο με κέντρο το (0,0,0) και πλευρά ίση με $4 * R_{\text{πολλ.}} + 1$. Το γεωμετρικό πλέγμα περιλαμβάνει ΓΚ που αντιστοιχούν σε σημεία $P(x, y, z)$ με ακέραιες συντεταγμένες (x, y, z) για τις οποίες ισχύει: $-2R_{\text{πολλ.}} \leq x \leq 2R_{\text{πολλ.}}$, $-2R_{\text{πολλ.}} \leq y \leq 2R_{\text{πολλ.}}$ και $-2R_{\text{πολλ.}} \leq z \leq 2R_{\text{πολλ.}}$.

Προφανώς, περιλαμβάνονται και ΓΚ οι οποίες απέχουν απόσταση μεγαλύτερη από $R_{\text{πολλ.}}$ από το κέντρο και είναι εκτός του όγκου (μπορούν όμως κατά τη διαδικασία της προσομοίωσης να αποτελέσουν μέρος του όγκου σε περίπτωση διόγκωσης του). Η εντολή

```
>> tumour_in_GCs=initialize_tumour(Rπολλ., Rαναπ., Rνεκρ.)
```

επιστρέφει ένα τρισδιάστατο πίνακα από δομές (tumour_in_GCs) που περιέχει $(4R_{\text{πολλ.}} + 1) * (4R_{\text{πολλ.}} + 1) * (4R_{\text{πολλ.}} + 1)$ δομές, καθεμία από τις οποίες αντιστοιχεί σε μία ΓΚ. Κατά τη διαδικασία της προσομοίωσης τα στοιχεία της δομής για κάθε ΓΚ ανανεώνονται. Αναλυτικά, τα στοιχεία της κάθε δομής περιγράφονται στο παράρτημα της άσκησης.

- iii) **Προσομοίωση:** Ως μονάδα χρόνου θεωρούμε τις 6 ώρες, ώστε να είναι δυνατή η προσομοίωση και η εξαγωγή των αποτελεσμάτων σε λογικά χρονικά πλαίσια. Με αυτή την υπόθεση, η διάρκεια των φάσεων του κυτταρικοκινητικού προτύπου σε χρονικά βήματα (ts: time steps) ορίζονται σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

Φάση	Διάρκεια (ts)
G ₁	2
S	2
G ₂	1
M	1
G ₀	4
N	8

Για κάθε χρονικό βήμα, σαρώνονται όλες οι ΓΚ του γεωμετρικού πλέγματος, ώστε σε κάθε μια από αυτές να προσομοιωθούν τα φαινόμενα της ακτινοβόλησης και της επακόλουθης νέκρωσης των κυττάρων, της απόπτωσης, της μετάβασης από φάση σε φάση του κυτταρικοκινητικού προτύπου, της συρρίκνωσης και της διόγκωσης του όγκου. Τα κύρια σημεία της διαδικασίας της προσομοίωσης περιγράφονται παρακάτω:

- Θεωρούμε ότι τα κύτταρα που δεν επιβιώνουν κατά την ακτινοβόληση νεκρώνονται και μένουν νεκρωμένα στον όγκο για διάρκεια δυο μιτωτικών διαιρέσεων (δηλαδή για 12 ts). Στη συνέχεια εξαφανίζονται (λύση του κυττάρου). Υπενθυμίζεται, εδώ, ότι ο αριθμός των κυττάρων που επιβιώνουν κατά την ακτινοβόληση ακολουθεί το Γραμμικό Τετραγωνικό Πρότυπο (Εξίσωση (1)).

- Όσον αφορά στο φαινόμενο της απόπτωσης, θεωρούμε ότι σε κάθε χρονικό βήμα ένα ποσοστό ίσο με $1/10^6$ των κυττάρων που βρίσκονται στις φάσεις G_1 , S , G_2 , M και G_0 μεταβαίνουν κατευθείαν στη λύση.
- Σε κάθε χρονικό βήμα, αφού υπολογιστούν ο αριθμός των κυττάρων που Σε κάθε χρονικό βήμα, αφού υπολογιστούν ο αριθμός των κυττάρων που νεκρώνονται λόγω ακτινοβολήσης ή μεταβαίνουν στη λύση λόγω απόπτωσης ή προηγούμενης ακτινοβολήσης υπολογίζεται ο αριθμός των κυττάρων που μεταβαίνουν από φάση σε φάση σύμφωνα με το κυτταροκινητικό πρότυπο. Όσον αφορά στις μεταβάσεις από τη φάση M στις φάσεις G_0 ή G_1 και από τη φάση G_0 στις φάσεις G_1 ή N ορίζονται αντίστοιχες πιθανότητες με βάση την κατάσταση στην οποία βρίσκεται η ΓΚ, η οποία και αντικατοπτρίζει τις συνθήκες (διαθεσιμότητα γλυκόζης και οξυγόνου) στις οποίες βρίσκονται τα αντίστοιχα καρκινικά κύτταρα. Σημειώνουμε εδώ, ότι ως κατάσταση της ΓΚ λαμβάνεται η κατάσταση της κατά το προηγούμενο χρονικό βήμα. Οι πιθανότητες αυτές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Μετάβαση	Κατάσταση Πολλαπλασιασμού	Κατάσταση Ανάπαυσης	Κατάσταση Νέκρωσης
$M \rightarrow G_1$	70%	30%	20%
$M \rightarrow G_0$	30%	70%	80%
$G_0 \rightarrow M$	80%	10%	2%
$G_0 \rightarrow N$	20%	90%	98%

- Μετά τις μεταβάσεις από φάση σε φάση σε κάθε ΓΚ, όπως υποδεικνύει το κυτταροκινητικό πρότυπο, ακολουθεί σάρωμα όλων των ΓΚ, ώστε να επιτευχθεί η συρρίκνωση ή η διόγκωση του όγκου, σύμφωνα με την αρχή που έχει ήδη περιγραφεί.
- Τέλος, κάθε ΓΚ χαρακτηρίζεται ως ΓΚ πολλαπλασιασμού, ανάπαυσης και νέκρωσης σύμφωνα με όσα έχουν ήδη περιγραφεί.

Ο κώδικας που προσομοιώνει την ανάπτυξη του όγκου και την απόκριση στην ακτινοθεραπεία περιέχεται στη συνάρτηση `simulate.m`, που οι φοιτητές θα έχουν την ευκαιρία να βρουν σε συγκεκριμένο κατάλογο των υπολογιστών τους. Πέρα από όσα έχουν συμπεριληφθεί στο παρόν κείμενο, οι φοιτητές θα έχουν την ευκαιρία να δουν τον τρόπο λειτουργίας της `simulate.m` διαβάζοντας και τα εκτενή σχόλια (comments) που υπάρχουν στο αρχείο `simulate.m`. Για να είναι δυνατή η έναρξη της προσομοίωσης με χρήση της `simulate.m`, στο χώρο εργασίας (workspace) της Matlab θα πρέπει να είναι φορτωμένα τα εξής:

1. Ο τρισδιάστατος πίνακας (array) των δομών που περιέχει τις απαραίτητες πληροφορίες για την αρχική κατάσταση του όγκου (π.χ. `tumour_in_GC`s). Αυτό μπορεί να επιτευχθεί, όπως προαναφέρθηκε πληκτρολογώντας π.χ. `tumour_in_GC=initialize_tumour (Rπολλ., Rαναπ., Rνεκρ.)`.
2. Δύο μονοδιάστατοι πίνακες, α και β , που δίνουν την ακτινευσαισθησία του όγκου. Οι πίνακες αυτοί έχουν τη μορφή $\alpha = [\alpha_1 \ \alpha_2 \ \alpha_3]$ και $\beta = [\beta_1 \ \beta_2 \ \beta_3]$,

όπου $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ είναι οι τιμές της παραμέτρου α της ακτινευαισθησίας στις φάσεις G_1 ή G_2 ή M (α_p), στη φάση S (α_s) και στη φάση G_0 (α_{G_0}) αντίστοιχα, και $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ είναι οι τιμές της παραμέτρου της β ακτινευαισθησίας στις φάσεις G_1 ή G_2 ή M (β_p), στη φάση S (β_s) και στη φάση G_0 (β_{G_0}) αντίστοιχα.

3. Ένας μονοδιάστατος πίνακας, στον οποίο θα έχει εκχωρηθεί το σχήμα ακτινοβολήσης που θα εφαρμοστεί. Π.χ πληκτρολογώντας
`>> radiotherapy_scheme=[0 2 0 0 0 2...]` ;
 δημιουργούμε ακτινοθεραπευτικό σχήμα κατά το οποίο ο όγκος ακτινοβολείται με 2 Gy κατά το δεύτερο και έκτο χρονικό βήμα.
4. Μια μεταβλητή στην οποία έχει εκχωρηθεί η διάρκεια της προσομοίωσης σε χρονικά βήματα (η οποία, βέβαια, πρέπει να είναι ίση με το μήκος του μονοδιάστατου πίνακα που περιέχει το ακτινοθεραπευτικό σχήμα). Π.χ. μπορούμε να πληκτρολογήσουμε
`>> duration=60;`
 (αντιστοιχεί σε 360 ώρες, ή αλλιώς σε 15 ημέρες) ή απλά
`>> [anything, duration]=size(radiotherapy_scheme);`

Οι φοιτητές στο πλαίσιο της άσκησης καλούνται να:

1. Ολοκληρώσουν τον κώδικα που θα βρουν σε συγκεκριμένο κατάλογο ώστε να είναι δυνατή η προσομοίωση της ανάπτυξης του όγκου και της απόκρισης του στην ακτινοθεραπεία. Συγκεκριμένα θα:
 - i. Συμπληρώσουν τον κώδικα που υπολογίζει τον αριθμό των κυττάρων που επιβιώνουν από την ακτινοβολήση και εκείνων που χάνονται λόγω απόπτωσης, καθώς και τον κώδικα που ανανεώνει τον αριθμό των κυττάρων ύστερα από τις μεταβάσεις στις διάφορες φάσεις του κυτταροκινητικού προτύπου
 - ii. Γράψουν δικιά τους συνάρτηση που να σχεδιάζει τον όγκο και να κωδικοποιεί με διαφορετικό χρώμα τις κυψέλες, ανάλογα με την κατάσταση στην οποία βρίσκονται (πολλαπλασιασμού, ανάπαυσης ή νέκρωσης).
2. Χρησιμοποιήσουν τον ολοκληρωμένο κώδικα για την προσομοίωση της εξέλιξης όγκου με τα παρακάτω στοιχεία: ακτίνα νεκρωτικής περιοχής $R_{\text{πολλ.}} = 4 \text{ mm}$, εξωτερική ακτίνα περιοχής ανάπαυσης $R_{\text{ανap.}} = 5 \text{ mm}$ και εξωτερική ακτίνα περιοχής πολλαπλασιασμού $R_{\text{πολλ.}} = 8 \text{ mm}$. Στη συνέχεια θα εφαρμόσουν σε αυτόν σχήμα ακτινοθεραπείας συνήθους κερματισμού (ακτινοβολήση 1 φορά την ημέρα με 2 Gy, για 2 εβδομάδες) θεωρώντας όγκο ακτινευαίσθητο ($\alpha_p = 0.6 \text{ Gy}^{-1}$, $\alpha_s = 0.5 \text{ Gy}^{-1}$, $\alpha_{G_0} = 0.4 \text{ Gy}^{-1}$, $\beta_p = 0.06 \text{ Gy}^{-2}$, $\beta_s = 0.05 \text{ Gy}^{-2}$, $\beta_{G_0} = 0.04 \text{ Gy}^{-2}$) και μέτρια ακτινευαίσθητο ($\alpha_p = 0.4 \text{ Gy}^{-1}$, $\alpha_s = 0.3 \text{ Gy}^{-1}$, $\alpha_{G_0} = 0.2 \text{ Gy}^{-1}$, $\beta_p = 0.04 \text{ Gy}^{-2}$, $\beta_s = 0.03 \text{ Gy}^{-2}$, $\beta_{G_0} = 0.02 \text{ Gy}^{-2}$). Επίσης, οι φοιτητές, για λόγους σύγκρισης καλούνται να εφαρμόσουν στον μέτρια ακτινευαίσθητο όγκο σχήμα υπερκερματισμού (ακτινοβολήση 2 φορές την ημέρα με 1.2 Gy τη φορά, για 2 εβδομάδες) αλλά και να προσομοιώσουν την ανάπτυξη του χωρίς ακτινοθεραπεία για μια εβδομάδα. Τέλος, για τις παραπάνω προσομοιώσεις θα πρέπει να σχεδιαστούν τα γραφήματα μεταβολής του συνολικού αριθμού των κυττάρων, των κυττάρων που βρίσκονται σε φάση πολλαπλασιασμού, ανάπαυσης και νέκρωσης ως

προς το χρόνο, καθώς και η τρισδιάστατη απεικόνιση του όγκου σε διάφορες χρονικές στιγμές κατά την προσομοίωση. Τέλος, οι φοιτητές καλούνται να συγκρίνουν και να σχολιάσουν τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων.

Παράρτημα

Τα στοιχεία της δομής που περιγράφει κάθε ΓΚ του κυβικού πλέγματος που διακριτοποιεί την περιοχή του όγκου περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

.coords	Είναι μονοδιάστατος πίνακας 3 στοιχείων και δίνει τις συντεταγμένες της ΓΚ.
.state_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει την κατάσταση της ΓΚ όπως αλλάζει στο χρόνο (το 0 αντιστοιχεί σε θέση εκτός όγκου, το 1 αντιστοιχεί σε κατάσταση πολλαπλασιασμού, το 2 αντιστοιχεί σε κατάσταση ανάπαυσης και το 3 σε νεκρωτική κατάσταση). Π.χ αν state_per_time(3)=1, η ΓΚ βρίσκεται σε κατάσταση πολλαπλασιασμού κατά το 3 ^ο χρονικό βήμα.
.num_of_cells_in_G1(S,G2,M,G0,N)_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει των αριθμό των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση G ₁ (S,G ₂ ,M,G ₀ ,N) κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης. Το .num_of_cells_in_N_per_time δίνει τον αριθμό των κυττάρων που έχουν εισέλθει στη φάση N μετά τη φάση τη G ₀ , και όχι αυτών που έχουν νεκρωθεί λόγω της ακτινοβολήσης.
.num_of_cells_in_necrotic_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το άθροισμα των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση N (αυτών που έχουν εισέλθει στη φάση N μετά τη φάση G ₀) και αυτών που έχουν νεκρωθεί λόγω ακτινοβολήσης κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.num_of_all_cells_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το άθροισμα όλων των κυττάρων της ΓΚ κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.num_of_prolif_cells_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει των αριθμό των κυττάρων που βρίσκονται στις φάσεις G ₁ , S, G ₂ , M κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.available_space_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το διαθέσιμο χώρο της ΓΚ κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης. Π.χ για το i χρονικό βήμα είναι available_space_per_time(i)=10 ⁶ -num_of_all_cells_per_time(i)
.prof_to_all	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το ποσοστό των κυττάρων που βρίσκονται στις φάσεις (G ₁ , S, G ₂ , M) κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.rest_to_all	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το ποσοστό των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση G ₀ κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.dead_to_all	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το ποσοστό των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση N ή έχουν νεκρωθεί λόγω ακτινοβολήσης κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
.time_spent_in_G1(S,G2,M,G0,N)_per_time	Είναι μονοδιάστατος πίνακας και δίνει το χρόνο για τον οποίο τα κύτταρα που βρίσκονται στη φάση G ₁ (S,G ₂ ,M,G ₀ ,N) έχουν μείνει στη φάση αυτή κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.

Καθένα από τα στοιχεία της δομής του πίνακα δομών ο οποίος έχει εκχωρηθεί στη μεταβλητή που περιγράφει τον όγκο μπορούν να προσπελαστούν, όπως προσπελαύνεται ένα στοιχείο μιας δομής στη Matlab: π.χ. αν πληκτρολογήσουμε:

```
>> tumour_in_GCs=initialize_tumour(8,5,4)
```

και στη συνέχεια

```
>> tumour_in_GCs(17,17,17).coords
```

λαμβάνουμε [0 0 0] στην οθόνη εντολών του Matlab.

Βιβλιογραφία

- [1] G. Stamatakos, E. Zacharaki, M. Makropoulou, N. Mouravliansky, A. Marsh, K. Nikita, and N. Uzunoglu, Modeling tumour growth and irradiation response in vitro-a combination of high-performance computing and web based technologies including VRML visualization, *IEEE Trans. Inform. Technology Biomedicine*, 5(4), 279-289, 2001.
- [2] D.D. Dionysiou, G.S. Stamatakos, N.K. Uzunoglu, K.S. Nikita, Simulation of solid tumour growth in vivo and tumour response to radiation therapy, in D.I. Fotiadis, C.V. Massalas (Eds), *Scattering Theory and Biomedical Engineering Modelling and Applications*, World Scientific, River Edge, 2002.
- [3] G.S. Stamatakos, D.D. Dionysiou, E.I. Zacharaki, N.A. Mouravliansky, K. Nikita and N. Uzunoglu, In silico radiation oncology: combining novel simulation algorithms with current visualization techniques, *Proceedings of the IEEE*, 90 (11), pp. 1764-1777, 2002.
- [4] H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. Zipursky, P. Matsudaira, J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, New York, NY: Scientific American Books, 1995.
- [5] J. Watson, N. Hopkins, J. Roberts, J. Steitz, A. Weiner, *Molecular Biology of the Gene*, 4th Edition, Menlo Park, CA: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1987.
- [6] G. Steel, Ed., *Basic Clinical Radiobiology*. London, UK: Arnold, 1997.
- [7] C. Perez and L. Brady, *Principles and Practice of Radiation Oncology*, Philadelphia, Lippincott-Raven, 1998.
- [8] Ε. Ζαχαράκη, Ανάπτυξη αλγορίθμων για την ευθυγράμμιση απεικονιστικών δεδομένων και υπολογιστικής προσομοίωσης της εξέλιξης καρκινικών όγκων με στόχο την υποστήριξη κλινικών αποφάσεων ακτινο-ογκολογίας, *Διδακτορική Διατριβή*, Ε.Μ.Π., Απρίλιος 2004
- [9] Δ. Διονυσίου, Υπολογιστική προσομοίωση της ανάπτυξης καρκινικών όγκων in vivo και της απόκρισής τους σε ακτινοθεραπευτικά σχήματα. Βιολογική βελτιστοποίηση της ακτινοθεραπείας μέσω της διεξαγωγής in silico πειραμάτων, *Διδακτορική Διατριβή*, Ε.Μ.Π. Απρίλιος 2004
- [10] D. Dionysiou, G. Stamatakos, N. Uzunoglou, K. Nikita, Antigoni Marioli, A four dimensional simulation model of tumour response to radiotherapy in vivo: parametric validation considering radiosensitivity, genetic profile and fractioning, *Journal of Theoretical Biology* 230, pp. 1-20, 2004.