



UNIwersytet
Warszawski

CeNT CENTRUM
NOWYCH
TECHNOLOGII

6 września, 2019

Prof. dr hab. Joanna Trylska
e-mail: joanna@cent.uw.edu.pl
telefon (22) 55 43 683
<https://bionano.cent.uw.edu.pl>

Rada Naukowa
Wydziału Matematyki, Informatyki i Mechaniki
Uniwersytetu Warszawskiego

Recenzja rozprawy doktorskiej mgra Piotra Bajgra pt. "*W poszukiwaniu zwięzłych metod opisu matematycznego szlaków sygnałowych w kontekście procesów nowotworowych*"

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgra Piotra Bajgra zatytułowana "*In search of concise mathematical description of drug-resistant tumour growth*" ("*W poszukiwaniu zwięzłych metod opisu matematycznego szlaków sygnałowych w kontekście procesów nowotworowych*") została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Urszuli Foryś oraz prof. dra hab. inż. Krzysztofa Fajarewicza, prof. PŚ.

Temat badawczy mgra Piotra Bajgra dotyczył stworzenia modelu matematycznego rozwoju guza nowotworowego opornego na leki oraz odpowiedzi takiego guza na chemioterapię. Nowotwory są nadal drugą przyczyną śmierci na świecie, więc problem leczenia nowotworów, a w szczególności dawkowanie chemioterapii mają istotne znaczenie kliniczne. Pojawiająca się oporność komórek nowotworowych na leki jest główną przeszkodą w planowaniu dawek chemioterapii nowotworów. Jednym ze sposobów próby rozwiązania tego problemu jest zaplanowanie odpowiedniego harmonogramu podawania leków, w którym podaje się niskie i wysokie dawki leku w odpowiednich krótszych niż do tej pory stosowano odstępach czasu. Obecnie odchodzi się od klasycznego sposobu podawania tolerowanej dawki maksymalnej leku w wydłużonych odstępach czasu, najczęściej co kilka tygodni.

Autor rozprawy postawił hipotezę, że pojawienie się oporności komórek nowotworowych guza na leki może zostać zmniejszone przez odpowiednie dawkowanie chemioterapii. W rozprawie doktorskiej mgr Bajger opracował model matematyczny pokazujący jak planowanie chemioterapii wpływa na rozwój nowotworu i otaczających go naczyń krwionośnych oraz oporność na leki. Wykorzystując ten model potwierdził swoją hipotezę.

Motywacją dla autora rozprawy do zajęcia się tworzeniem modeli matematycznych wzrostu guzów był fakt, że procesy te są niezwykle skomplikowane i mało przewidywalne, a badania doświadczalne dostarczają wielu danych, które mogą być wykorzystane w modelowaniu. Zwłaszcza nabywanie oporności na przyjmowane przez pacjenta leki jest problemem, który może zostać opisany w sposób

matematyczny, zaś częstość oraz dawki terapii dostosowane tak, aby zmniejszyć nabywanie lekooporności.

Do tej pory nie było prostych modeli matematycznych, które opisywałyby np. oddziaływanie pomiędzy komórkami opornymi i wrażliwymi na leki. Autor postawił sobie za cel stworzenie jak najprostszego modelu, który by dobrze opisywał podstawowe zależności potrzebne do decyzji odnośnie harmonogramu podawania leków. Autor oparł swój model na modelach stosowanych w ekologii i opartych na zwykłych równaniach różniczkowych. Nabywanie oporności przez komórki zostało opisane poprzez współzawodnictwo komórek wrażliwych i opornych. W późniejszych etapach do najprostszego modelu dodano m. in., możliwość mutacji podczas proliferacji komórek.

Rozprawa doktorska mgra Bajgra została napisana w języku angielskim. Jest napisana poprawnie językowo i w sposób zrozumiały. Składa się z sześciu głównych rozdziałów przetłumaczonych przeze mnie na język polski jako: Wstęp, Dotychczasowy stan wiedzy, Model podstawowy, Model podstawowy z możliwością mutacji, Model rozszerzony oraz Podsumowanie. Autor umieścił też Bibliografię, w której odwołuje czytelnika do około 70 pozycji literaturowych. Na końcu znajduje się załącznik oraz wykaz tabel i rysunków.

We wstępnym rozdziale 1 autor przedstawia swoją motywację do podjęcia tej tematyki badawczej, cel pracy, hipotezę badawczą, plan rozprawy, a także listę swoich publikacji w czasopiśmie oraz pełnych artykułów w materiałach konferencyjnych.

W rozdziale 2 opisane są biologiczne podstawy nowotworzenia i rozrostu guza. Autor rozprawy wyjaśnia czym jest nowotwór i sygnalizuje, że własność niekontrolowanego wzrostu komórek nowotworowych zostanie wykorzystana jako jedna z cech modelu. Komórkom nowotworowym brakuje mechanizmów regulacji wzrostu; proliferacja jest niekontrolowana, więc guz wymaga jedynie przestrzeni do wzrostu oraz składników odżywczych. W związku z szybkimi podziałami komórkowymi, w komórkach nowotworowych dochodzi do mutacji. Pojawiające się mutacje są drugim istotnym elementem nowotworów, poza nieregulowanym wzrostem. Trzecim istotnym elementem jest angiogeneza, czyli tworzenie sieci naczyń krwionośnych wokół guza, aby guz mógł wykorzystać tę sieć do wzrostu.

W kolejnym podrozdziale rozdziału 2 autor wyjaśnia czym jest chemioterapia. Omawia też jak powstaje oporność komórek w odpowiedzi na leczenie. Twierdzi, że najważniejszym mechanizmem jest wypychanie leku z komórek przez pompy błonowe (tzw. *efflux pumps*). Wynika to z nadekspresji transporterów błonowych spowodowanych kaskadą zdarzeń, w której komórka "dowiada się", że pobrała substancje hamującą jej wzrost. Dodatkowo, nadprodukcja transporterów regulujących wpływ substancji obcych z komórki jest najczęstszym powodem wielolekooporności, gdyż pompy te nie są wysoce selektywne w stosunku do jednego rodzaju leku. Przez podawanie wysokich dawek leku pojawiają się komórki wielolekooporne i wzrost guza nie zostaje zahamowany, jest wręcz indukowany. Dlatego poszukuje się sposobów skuteczniejszego schematu podawania chemioterapii, gdyż stwierdzono, że dawki i częstość pobierania leków są istotnym elementem leczenia.

W następnym podrozdziale omówiona jest chemioterapia metronomiczna i jej porównanie z terapią konwencjonalną opartą na podawaniu maksymalnych tolerowanych dawek leku, aby jak

najskuteczniej zniszczyć komórki guza. Z powodu wysokich dawek leki te nie mogą być podawane za często, zwykle co kilka tygodni. W terapii metronomicznej podaje się mniejsze dawki leku, czyli mniej toksyczne, ale podaje się je częściej, podobnie jak w chorobach przewlekłych. Autor rozprawy stwierdza, że jest to podyktowane hipotezą, że utrzymywanie przez cały czas w równowadze komórek lekowrażliwych i lekoopornych guza spowoduje, że komórki lekooporne nie zdominują guza. Znalezienie właściwej równowagi pomiędzy komórkami wrażliwymi i niewrażliwymi na lek może być modelowane. Właśnie taki model taki został opisany w rozprawie doktorskiej.

W rozdziale 2 autor opisuje też wstępnie zastosowane modele matematyczne. Zostały one oparte na analizie populacji komórek wrażliwych i opornych czerpiąc podejście z ekologii. Najpierw mgr Bajger przedstawia model wzrostu jednej populacji (autor stosuje równanie logistyczne z parametrem szybkości wzrostu λ i tzw. pojemnością środowiska K). Następnie podaje równania opisujące wzrost komórek w przypadku dwóch populacji konkurujących o składniki odżywcze i przestrzeń do wzrostu (poprzez odpowiednie współczynniki w równaniu).

W rozdziale 3 autor przedstawia zastosowany model podstawowy i ponownie opisuje jego założenia oraz teoretyczne podstawy i twierdzenia. W skrócie autor rozprawy modeluje wzrost guza złożonego z dwóch populacji komórek, wrażliwych i opornych. Do równania opisującego wzrost komórek wrażliwych wprowadza efekt leku (poprzez jego stężenie i parametr określający wrażliwość komórek na ten lek). Analizuje stan stacjonarny w odniesieniu do parametru opisującego dawki leku. W Tabeli 3.1 przedstawia wartości nominalne używanych parametrów. Autor stwierdza, że długofalowo zniszczenie guza nie jest możliwe, gdyż pojawia się lekooporność, skupia się więc nie na całkowitym zniszczeniu guza, ale na spowolnieniu pojawiania się lekooporności komórek. W tym celu do modelu wprowadza funkcję kary za oporność w postaci nieliniowej wygładzonej funkcji Heaviside'a i testuje jej parametr. W tym rozdziale autor przedstawia też sposoby i wyniki obliczeń numerycznych. Równania różniczkowe zostały rozwiązane przy użyciu funkcji zaimplementowanej w programie Matlab. Wyniki potwierdzają znalezienie stanu utrzymania guza w stanie lekowrażliwości. Potwierdzają też hipotezę autora, że podawanie mniejszych dawek leków zmniejsza oporność oraz że dobrze została zdefiniowana funkcja celu do optymalizacji.

W kolejnych rozdziałach 4 i 5 autor przedstawia rozszerzenia modelu podstawowego z rozdziału 3, uwzględniające więcej biologicznych aspektów nowotworzenia. W rozdziale 4 autor dodaje do modelu możliwość mutacji, gdyż z badań doświadczalnych wiadomo, że nabyta oporność jest wynikiem mutacji. W poprzednim podstawowym modelu lek miał wpływ na populację komórek wrażliwych ale nie miał wpływu na dynamikę populacji komórek opornych. Jednak kiedy komórki nowotworowe poddawane są terapii to tylko te, które nabyły oporność przetrwają i będą się dzielić. W związku z tym w modelu muszą być uwzględnione aspekty przepływu populacji komórek, gdyż komórki podczas podziału mogą ulec mutacji, czyli zmienić swoją cechę z wrażliwej na oporną lub odwrotnie. Będzie się tak działo z określonym prawdopodobieństwem. W modelu przyjętym przez autora częstość mutacji jest proporcjonalna do proliferacji komórek oraz komórki nie giną z powodu mutacji. W rozdziale 4 aspekty dotyczące mutacji komórek zostały dodane do modelu (równanie 4.1) i w podobny sposób przeprowadzono dalszy tok rozumowania i obliczeń numerycznych.

W rozdziale 5 autor rozprawy przedstawia model rozszerzony (równanie 5.2). W tym modelu dodaje dwa elementy, konkurowanie komórek nowotworowych między sobą oraz proces tworzenia nowych

cienkościennych naczyń krwionośnych (angiogenezę). Naczynia krwionośne dostarczają komórkom guza tlenu oraz składników odżywczych. Z punktu widzenia modelu proces angiogenezy można regulować poprzez wcześniej używany parametr K (tzw. *carrying capacity*) wprowadzając jego zależność od czasu. Aby modelować współzawodnictwo komórek autor dodał do modelu współczynniki konkurencji, które w ogólności nie muszą być takie same dla populacji. Autor sprawdził, które parametry determinują zachowanie przedstawionego modelu i stwierdził, że na jakościowe wyniki wpływają współczynniki konkurencji. W tym modelu przedstawiając objętość guza w funkcji dawki przy odpowiednich współczynnikach konkurencji można zaobserwować, że określone pośrednie dawki leku najlepiej hamują jego rozwój.

W tym rozdziale autor podejmuje także próbę dyskusji jak można wykorzystać model do zaplanowania chemioterapii krótko- i długo-czasowej. Przy ustalonych współczynnikach konkurencji lub częstości mutacji, autor przedstawił zależność maksymalnego czasu przeżycia guza od dawki leku. Autor przeanalizował też wrażliwość rozwiązania na powyższe parametry. Dodatkowo stwierdził, że dodanie zależności K od czasu nie zmienia wyników modelowania.

W ogólności, wyniki autora wskazują, że najlepsze są dawki pośrednie leków. Jednak autor zaobserwował zjawisko histerezy, co może być istotne w praktyce klinicznej, gdyż po przekroczeniu pewnej dawki leku, ponowne jej obniżenie nie wiąże się z powrotem do tej samej liczby komórek wrażliwych. Z analiz wynika także, że decyzje o tym jaki plan terapii zastosować - dużych czy małych dawek - należy podjąć w oparciu o parametry częstości mutacji - τ_1 i τ_2 . Tylko jak te parametry w praktyce klinicznej przewidzieć? W szczególności, duże wartości τ_1 (częstość mutacji powodująca lekooporność) sugerują stosowanie dużych dawek leku. W przypadku mniejszych wartości τ_1 , utrzymanie wrażliwej populacji na pewnym poziomie, przez stosowanie średnich dawek leku, będzie korzystne, gdyż zapobiegnie rozwojowi populacji odpornej.

Po przeczytaniu rozprawy mam kilka pytań i punktów do dyskusji, które przedstawiam poniżej.

Czy jednak głównym celem leczenia metronomicznego nie jest aby zahamowanie angiogenezy przez wybiórcze zahamowanie proliferacji i migracji komórek śródbłonna, a nie zmniejszanie nabywania oporności jak twierdzi autor rozprawy? Czy podczas niskodawkowych terapii nie dochodzi po prostu do zahamowania procesu tworzenia naczyń krwionośnych odżywiających nowotwór? W terapiach standardowych działanie antyangiogenne jest słabe, natomiast komórki biorące udział w angiogenezie są wrażliwe na mniejsze stężenia leków podawane w krótkich odstępach.

Czy stwierdzono wyższość terapii metronomicznej od klasycznej? W jakich przypadkach terapia metronomiczna jest lepsza od klasycznej? Wygląda, że ten sposób podawania leków jest korzystny jedynie w przypadku osób starszych oraz w przypadku nawrotu choroby, gdyż zatrzymuje rozwój guza ale go nie niweluje.

Skąd wzięto parametry w Tabeli 3.1 czy 4.1? Czy te parametry nominalne są oparte na badaniach biologicznych?

Jak dobrano τ_1 i τ_2 w Tabeli 4.1. Częstość mutacji powodujących oporność na lek jest niższa niż częstość mutacji, która nie powoduje oporności. Skąd znane są te proporcje?

Autor w ostatnim zdaniu podsumowania napisał, że kolejnym krokiem byłoby dopracowanie modelu w oparciu o dane doświadczalne. Czy więc dane doświadczalne, chociażby w typowych parametrach nie były jednak uwzględnione w modelu?

Zauważyłam też kilka drobnych przeoczeń językowych ale wymieniam je tylko z powodu mojej roli recenzenta.

- strona 14, powinno być "...may then take..."
- strona 14, trzeba usunąć jedno "is" w zdaniu "...but the general idea is, in line with the "log-kill" hypothesis, is to maximise cell..."
- strona 25, powinno być "...these sections..."
- strona 65, rysunek 5.4, brak oznaczenia jednej z osi
- strona 67, rysunek 5.5 jest nieczytelny,
- strona 70, powinno być "That conclusion remains valid..."

Podsumowując, mgr Bajger opracował model matematyczny, który może być pomocny w planowaniu dawek leków przeciwnowotworowych. W modelu tym celem była minimalizacja nabywania przez nowotwór oporności poprzez odpowiedni schemat dawkowania; celem nie było całkowite zniszczenie komórek guza. Efektem modelu jest funkcja analityczna pozwalająca na ustalenie dawki leku. Autor chciał odpowiedzieć na pytanie jak podawanie leków wpływa na nabieranie przez komórki oporności. Zgodnie z modelami autora długość życia wirtualnego pacjenta byłaby najdłuższa dla średnich dawek leku wskazując, że terapia metronomiczna jest skuteczna. Autor potwierdził stawianą hipotezę, że pojawienie się oporności komórek nowotworowych guza na leki może zostać zmniejszone przez odpowiednie dawkowanie chemioterapii.

Wobec powyższego stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra Piotra Bajgra stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza jego ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska mgra Bajgra spełnia więc warunki ustawy o tytule naukowym i stopniach naukowych. W związku z tym wnoszę o dopuszczenie mgra Bajgra do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

J. Trzeźbka