



C'È UN LIMITE FISICO ALLA DURATA DI VITA DI UNA CELLULA? AFFIDABILITÀ DEI MECCANISMI DI REPAIR E SOPRAVVIVENZA CELLULARE *

Carla Rossi

Dipartimento di Matematica, Università di Roma "Tor Vergata".

Nel presente lavoro viene preso in considerazione un modello di sopravvivenza cellulare dipendente da diversi parametri biologici. Si considera, in particolare, una cellula, immersa in un ambiente mutageno, in cui agisca un meccanismo di repair costituito da geni in molteplice copia (ridondanza), che agiscono indipendentemente.

Alcune simulazioni del processo di decadimento cellulare mostrano che il parametro di ridondanza e il parametro di repair hanno effetti peculiari. In particolare, il parametro di repair ha maggiore influenza quando il valore della ridondanza è basso. La funzione di sopravvivenza varia notevolmente in funzione del parametro di ridondanza quando questo è relativamente basso mentre, al di sopra di una certa soglia, all'aumentare di tale parametro la vita media cellulare rimane pressoché costante.

1. INTRODUZIONE

In precedenti lavori si è introdotto un modello matematico adatto all'analisi dose-risposta, basato sulla struttura genetica della cellula. Si è quindi analizzata l'influenza sulla sopravvivenza cellulare del parametro di ridondanza genetica, che può risultare nell'acquisizione di resistenza specifica ai diversi trattamenti da parte della cellula (Rossi, 1989; Balzano et. al., 1990).

* Il lavoro svolto nell'ambito del contratto C.N.R. n. 89.01219.01.

Il modello proposto generalizza sia il modello multi target–single hit, sia il modello cellulare (o lineare–quadratico) e si è dimostrato sufficientemente flessibile ed affidabile per le analisi classiche, anche imponendo alcune restrizioni sui parametri (tasso di guasto proporzionale alla dose senza termine quadratico, riparazione istantanea certa per tutti i guasti fintanto che almeno un elemento di ridondanza risulti ancora attivo ecc.).

Nel presente lavoro si analizzano i risultati ottenuti mediante simulazioni del modello proposto al variare dei diversi parametri (ma a dose costante) e si approfondisce, in particolare, l'influenza specifica sia del parametro di ridondanza, sia del parametro "efficienza di ogni unità di ridondanza" ovvero probabilità che una qualsiasi unità di ridondanza entri in funzione per riparare un danno prodotto nella cellula.

Le prove di simulazione sono state condotte dal gruppo di lavoro formato da Sante Candia, Rosamaria Mininni e Marcella Secli, durante il corso "Processi Stocastici e applicazioni" tenuto presso la scuola SASIAM di Tecnopolis (Bari, 20/11/89–23.11.89).

2. IL MODELLO (BREVI RICHIAMI)

Consideriamo una popolazione cellulare sottoposta ad un'influenza dell'ambiente esterno, naturale o artificiale, secondo le seguenti modalità:

- ogni cellula è sottoposta a guasti casuali che si verificano con intensità hb (dipendente dall'ambiente);
- in ogni cellula esiste una porzione di DNA che può intervenire per riparare i guasti prodotti nella restante parte;
- tale porzione di DNA è costituita da un certo numero "a" di repliche identiche (a = parametro di ridondanza);
- ogni replicazione può intervenire indipendentemente dalle altre con probabilità p ad ogni guasto subito dalla cellula (p = parametro di repair);
- il tempo necessario per la riparazione è trascurabile (la riparazione, se effettuata, si considera istantanea);
- ogni replicazione è a sua volta sottoposta ad un processo di guasti casuali di intensità b (dipendente dall'ambiente);
- i guasti nella unità di repair non sono riparati;
- se un guasto prodotto nella cellula non viene riparato si ha la morte cellulare.

La funzione di sopravvivenza cellulare dipende quindi da quattro parametri: un parametro ambientale b e tre parametri legati alla struttura della cellula: a , p , h .

La sua espressione formale è riportata nei lavori citati e non verrà comunque utilizzata nel presente, in cui ci si focalizzerà sull'influenza dei parametri legati alla struttura di repair: a e p , mediante prove di simulazione, data l'impossibilità di uno studio analitico della funzione di sopravvivenza nel caso generale (p qualsiasi).

3. SIMULAZIONI

Le prove di simulazione sono state effettuate secondo lo schema seguente, che ricalca le fasi del calcolo della funzione di sopravvivenza cellulare in funzione dei diversi parametri, riportato in Rossi (1989):

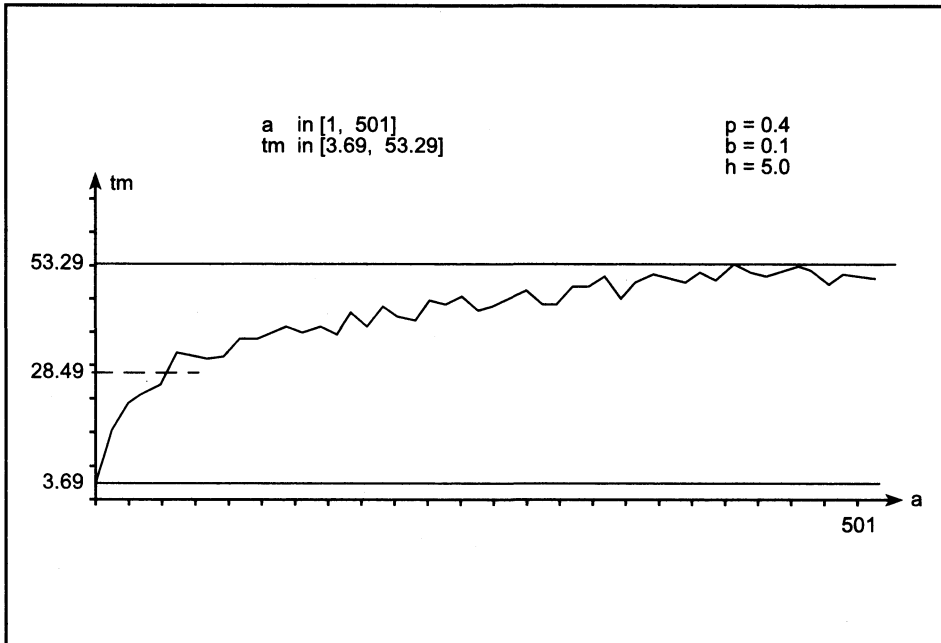
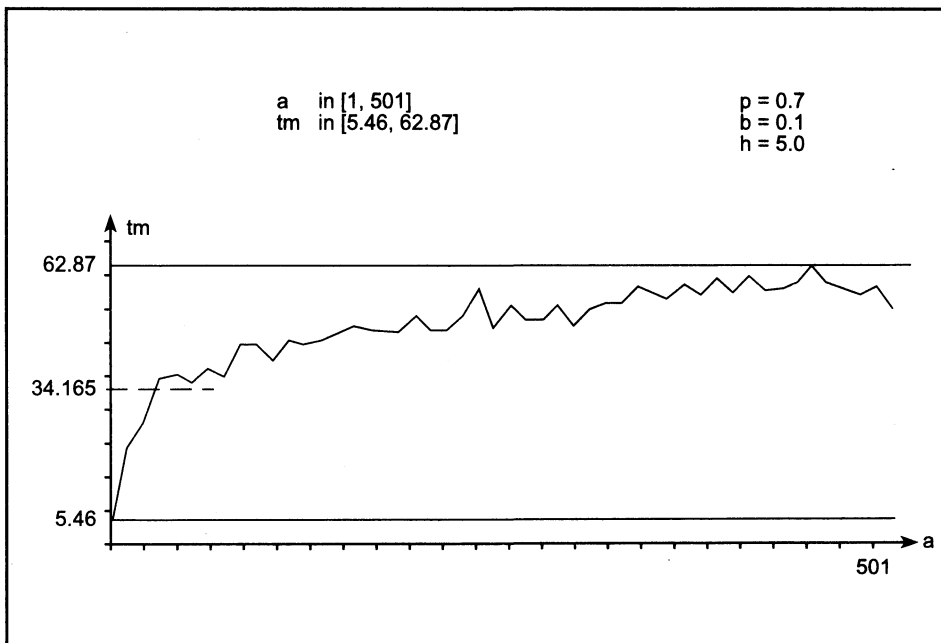
- vengono generati gli istanti di tempo $T(1) \geq T(2) \geq \dots \geq T(a)$ in cui si verificano i guasti nelle unità di ridondanza (a variabili aleatorie indipendenti con distribuzione esponenziale di parametro b);
- viene generato l'istante di tempo T in cui si verifica il primo guasto nella cellula (distribuzione esponenziale con parametro hb);
 - 1) se $T \geq T(a)$ allora T è il tempo di morte della cellula,
 - 2) se $T(k) \leq T < T(k+1)$ è $(1-p)^{a-k}$ la probabilità che il guasto nella cellula non venga riparato, pertanto, in tal caso, si controlla se un numero casuale con distribuzione uniforme tra 0 e 1 è minore o uguale a tale valore. In tal caso T è il tempo di morte della cellula, altrimenti si genera il tempo del secondo guasto nella cellula e si itera quindi il procedimento fino al tempo di morte cellulare.

Le prove vengono ripetute per n volte in corrispondenza ad ogni coppia di valori prescelta per i parametri a e p , mentre i valori di b ed h vengono tenuti fissi.

4. ALCUNI RISULTATI

Nel seguito (Figure 1–5) vengono riportati in forma grafica alcuni risultati ottenuti con $n=20$, $b=0.1$, $h=5$, che implica che si modella l'influenza dell'ambiente in modo tale che si ha, in media, nella cellula un numero di guasti che è 50 volte quello atteso su ogni unità di ridondanza.

I valori dei parametri utilizzati sono riportati sul grafico di tm = media dei tempi di morte cellulare, calcolata sui 20 esperimenti, (in ordinata) in funzione del valore del parametro di ridondanza a (in ascissa). Si riporta anche il range di variazione di tm .

Fig. 1: Variazione di tm in funzione di a .Fig. 2: Variazione di tm in funzione di a .

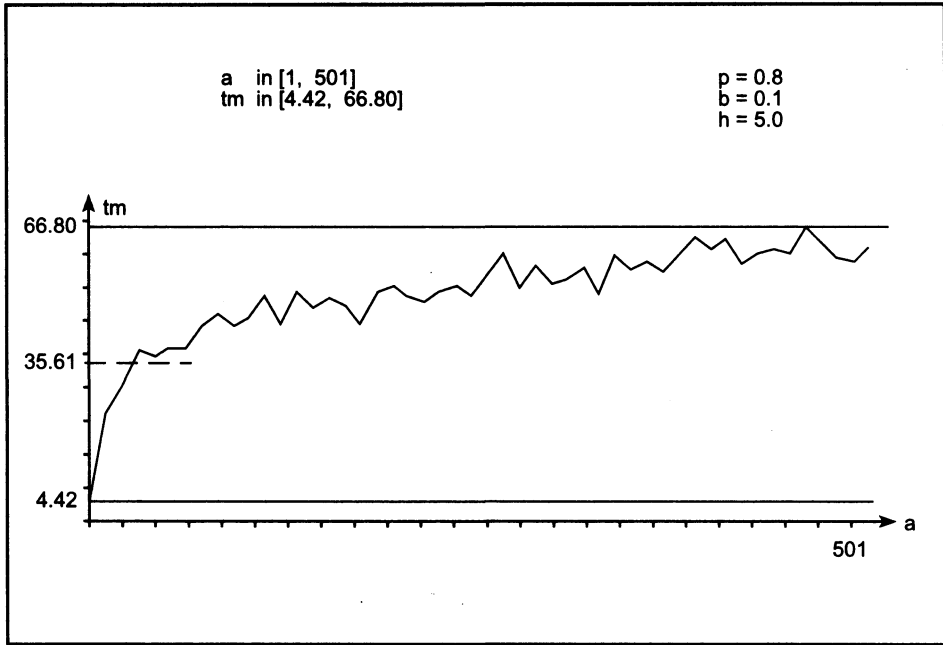


Fig. 3: Variazione di tm in funzione di a .

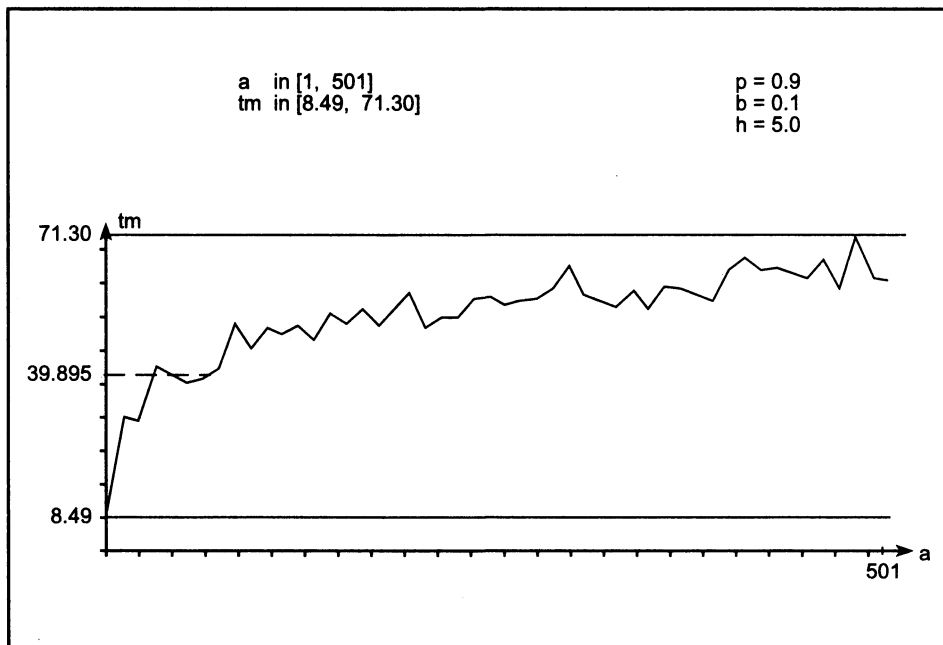


Fig. 4: Variazione di tm in funzione di a .

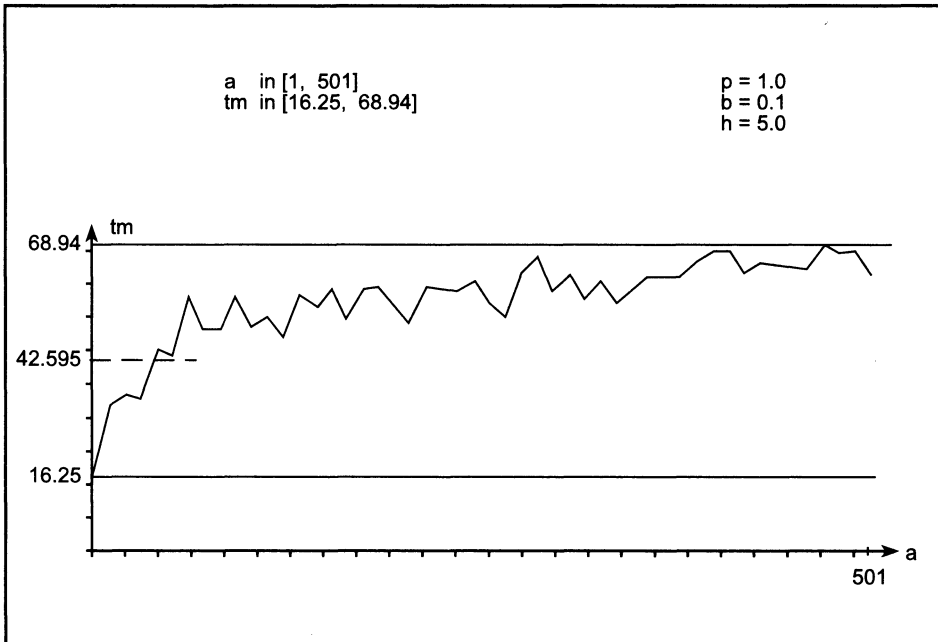


Fig. 5: Variazione di tm in funzione di a .

5. ANALISI DEI RISULTATI

Dall'analisi dei risultati ottenuti, alcuni dei quali sono riportati nelle figure, si rileva che:

- il parametro p influisce soprattutto per valori di a bassi; il guadagno è rilevante passando da valori di $p < 1$ a $p = 1$ (per $p = 0.95$ si ha che il minimo di tm è 7.08 per $p = 0.98$: 10.24);
- il parametro a ha un'influenza più rilevante del parametro p ;
- il guadagno che si ottiene sul tempo medio di sopravvivenza al crescere di a decresce e tende a diventare trascurabile.

In particolare si ottiene un aumento notevole del tempo di sopravvivenza atteso se a passa da 1 a qualche unità, basta un piccolo aumento di a per raggiungere il valore mediano del range dei valori assunti da tm (si vedano le figure), mentre per ottenere l'altra metà dell'incremento occorre portare a a valori molto alti.

In ogni caso sembra che esista un tempo limite oltre il quale non è possibile andare con un sistema come quello modellato. Naturalmente si otterrebbero risultati molto diversi se le unità di ridondanza subissero guasti non casuali ma si disattivassero, per esempio, una volta entrate in funzione. In questo caso si

otterrebbe una proporzionalità tra il numero di unità di ridondanza e tempo medio di sopravvivenza, ma, purtroppo o per fortuna, sembra che le cose non stiano così.

Dalle analisi dei dati (popolazioni cellulari sottoposte a radiazioni), riportate in Balzano et al. (1990), si può osservare che il numero di unità di ridondanza stimato è sempre un numero piuttosto basso (qualche unità anche per le cellule più resistenti) e questo, da una parte è un'ulteriore convalida della ragionevolezza del presente modello (la natura tende a fare economia), dall'altra può essere previsto dal modello stesso dato che cellule con valori di a più alti hanno una maggiore probabilità di essere selezionate fino a che il guadagno in sopravvivenza è rilevante, mentre un valore maggiore di una unità da un certo punto in poi può essere selezionato solo casualmente.

C'è ancora da osservare che, presumibilmente, valori alti di a non sono neanche distinguibili uno dall'altro, sulla base di esperimenti su materiale cellulare, in quanto danno luogo a previsioni molto simili.

BIBLIOGRAFIA

- Balzano M., Mascioli F., Rossi C. (1990), *Mathematical Models and Data Analysis for Cell Dose/Response Problems*. In "Cybernetics and System '90", R. Trappl ed. World Scientific Publishing Co., Singapore, 497–504.
- Rossi C. (1990), *A Stochastic Dose/Response Model: a Genetic Approach to Cell Survival*, in, "IMACS Transactions on Scientific Computing '88". Vol. 5: Biomedical System Modelling and Simulation, Eisenfeld J. and Levine D.L. eds. Balzer J.C. Ag. Scientific Publishing, 29–34.

SUMMARY

In the present paper we consider the problem of modelling the length of life of a cell in a mutagenic environment. Cell repair mechanism is also taken into account. The redundancy of the repair genes is introduced to study its influence upon the survival function of the cell.

Some simulation studies are performed varying the parameters of the model and show that few copies of repair genes can highly influence cell survival. However, if the redundancy parameter increases above a threshold, which also depends upon the reliability of the repair mechanism, the increase of the expected length of life is negligible as a function of such parameter.