

# Krivulje ponovnog rasta tumora

---

**Marmeggi, Silvana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Mathematics / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za matematiku**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:126:467885>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-19**



**mathos**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of School of Applied Mathematics and Informatics](#)



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku  
Odjel za matematiku  
Sveučilišni diplomski studij Financijska matematika i statistika

Silvana Marmeggi  
**Krivulje ponovnog rasta tumora**  
Diplomski rad

Osijek, 2022.

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku  
Odjel za matematiku  
Sveučilišni diplomski studij Financijska matematika i statistika

Silvana Marmeggi  
**Krivulje ponovnog rasta tumora**  
Diplomski rad

Mentor: doc. dr. sc. Ivan Papić

Osijek, 2022.

# Sadržaj

Uvod	1
<b>1 Klasične krivulje rasta</b>	<b>2</b>
1.0.1 Logistički model . . . . .	3
1.0.2 Gompertzov model . . . . .	4
1.0.3 Von Bertalanffyjev model . . . . .	5
1.0.4 Richardsova krivulja . . . . .	5
<b>2 Krivulje preživljenja</b>	<b>7</b>
<b>3 Krivulje ponovnog rasta tumora</b>	<b>10</b>
3.1 Dvostruka eksponencijalna krivulja ponovnog rasta . . . . .	10
3.2 Dvostruka eksponencijalna prijelazna krivulja ponovnog rasta . . . . .	12
3.3 Gompertzova prijelazna krivulja ponovnog rasta . . . . .	15
3.4 Primjene krivulja ponovnog rasta . . . . .	16
3.5 Modeli mješovitih efekata . . . . .	16
<b>4 Mjere ishoda tretmana</b>	<b>21</b>
4.1 Vrijeme do ponovnog rasta $T_R$ . . . . .	21
4.2 Vrijeme do postizanja specifične veličine tumora $T_*$ . . . . .	22
4.3 Vrijeme do udvostručenja tumora $T_D$ . . . . .	23
4.4 Vrijeme odgode eksponencijalnog rasta $T_{GD}$ i udio preživjelih stanica $\theta$ . . .	24
4.5 Procjena varijance nekih mjera ishoda tretmana . . . . .	26
4.6 Statističko testiranje mjera ishoda tretmana . . . . .	26
4.7 Sinergijski efekt . . . . .	28
<b>Literatura</b>	<b>30</b>
<b>Sažetak</b>	<b>31</b>
<b>Životopis</b>	<b>33</b>

# Uvod

Rak je jedna od najdugovječnijih i najistraživanijih bolesti u povijesti čovječanstva. Razvoj modernih lijekova i terapija protiv raka kompleksan je proces koji najčešće zahtijeva interdisciplinarni pristup. Matematički modeli pokazuju se kao iznimno koristan alat za otkrivanje i objašnjavanje različitih mehanizama rasta tumora. Njihova upotreba u medicini započinje sredinom 20. stoljeća, a s razvojem računala ti modeli postaju sofisticiraniji i njihova primjena u medicini postaje gotovo neizostavna.

Za objašnjavanje neometanog rasta netretiranih tumora razvijeni su mnogobrojni matematički modeli, a svakako najpoznatije su klasične krivulje rasta, od kojih neke potječu čak iz 19. stoljeća. S druge strane, postoje i modeli koji opisuju nemonotoni rast tumora, koji su tretirani zračenjem, radijacijom ili nekim specifičnim lijekom. Modele koji opisuju ovu pojavu zovemo *krivulje ponovnog rasta tumora* te oni čine središnju temu ovoga rada.

Kako bismo opisali teoriju krivulja ponovnog rasta najprije ćemo objasniti teoriju klasičnih krivulja rasta te krivulja preživljenja. Zatim, navodimo nekoliko specijalnih krivulja ponovnog rasta te demonstriramo njihovu primjenu. Naposljetku, objašnjavamo neke mjere ishoda tretmana koje se koriste za ocjenjivanje i uspoređivanje efikasnosti tretmana te navodimo kako se one statistički testiraju.

# 1 Klasične krivulje rasta

Često početak razvoja nekog organizma ili tkiva odvija se eksponencijalnom stopom rasta, odnosno stopom rasta proporcionalnom trenutnoj veličini organizma. Ako s  $f$  označimo trenutnu veličinu organizma, s  $x$  vrijeme te s  $\kappa$  konstantu rasta, tada eksponencijalni rast možemo opisati sljedećom diferencijalnom jednačbom

$$\frac{df}{dx} = \kappa f, \quad \kappa > 0,$$

čije se rješenje,  $f(x) = \gamma e^{\kappa x}$ ,  $\gamma \in \mathbb{R}$ , još naziva i Malthusov<sup>1</sup> zakon. Po tom zakonu, pri konstantnim uvjetima populacija raste (ili opada) eksponencijalno.

Međutim, u prirodi eksponencijalni rast nije održiv te stopa rasta nekog organizma (populacije) usporava kako se trenutna veličina približava svojoj maksimalnoj veličini  $\alpha = \lim_{x \rightarrow \infty} f(x)$ . Ograničeni eksponencijalni rast može se postići uz pretpostavku da je stopa rasta proporcionalna razlici između konačne i trenutne veličine,  $(\alpha - f)$ , tj. da vrijedi

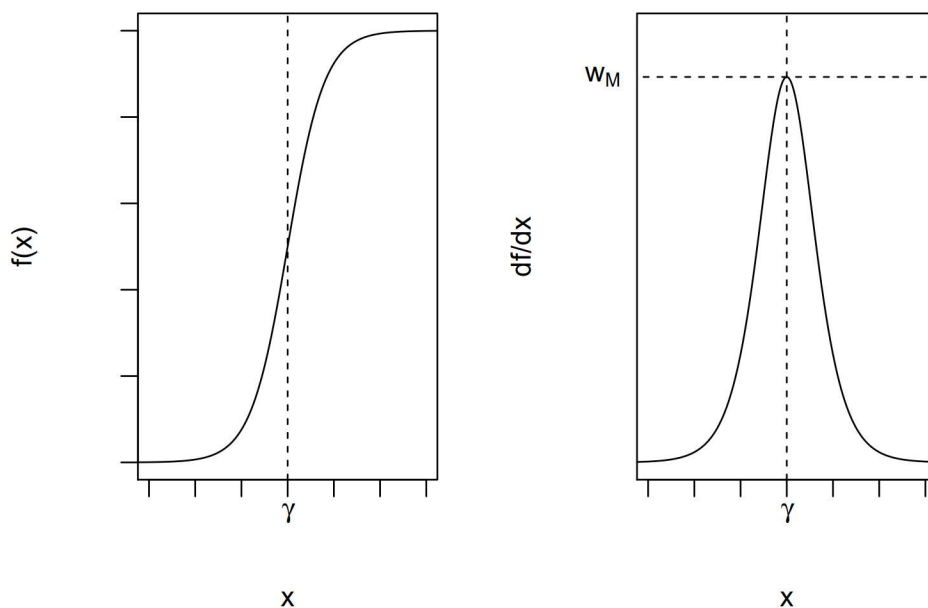
$$\frac{df}{dx} = \kappa(\alpha - f), \quad \kappa > 0.$$

Klasu krivulja čiji je rast ograničen te čija stopa rasta nakon postizanja maksimuma polako opada u nulu nazivamo *sigmoidalne krivulje*, a lako ih prepoznamo po obliku slova "S". To su krivulje sljedećeg oblika:

$$\frac{df}{dx} \propto g(f)(h(\alpha) - h(f)), \quad (1.1)$$

gdje su  $g$  i  $h$  rastuće funkcije sa svojstvom  $g(0) = h(0) = 0$ , a simbol  $\propto$  označava proporcionalnost između navedenih veličina. Specifično svojstvo ovih krivulja je da trenutak u kojem se postiže maksimalna stopa rasta odgovara poziciji točke infleksije.

Na slici 1 možemo vidjeti primjer sigmoidalne krivulje i grafa stope rasta veličine  $f$ . Vidimo kako se maksimalna stopa rasta postiže točno u točki infleksije krivulje  $f$ .



Slika 1: Primjer sigmoidalne krivulje i odgovarajuće krivulje stope rasta veličine  $f$ .

<sup>1</sup>Thomas Robert Malthus (1776.-1834.), engleski demograf.

U nastavku poglavlja objasniti ćemo klasične krivulje rasta, koje su specijalni oblici sigmoidalne krivulje, a koriste se pri modeliranju (ponovnog) rasta tumora.

### 1.0.1 Logistički model

Ukoliko u izrazu 1.1 uvrstimo funkcije  $h$  i  $g$  koje su identitete dobivamo diferencijalnu jednadžbu sljedećeg oblika:

$$\frac{df}{dx} = \frac{\kappa}{\alpha} f(\alpha - f), \quad \kappa > 0, \quad \alpha > 0, \quad 0 < f(x) < \alpha, \quad \forall x \in \mathbb{R}.$$

Sigmoidalnu krivulju koju dobivamo rješavanjem ove jednadžbe nazivamo *logistička krivulja*, koja glasi:

$$f(x) = \frac{\alpha}{1 + e^{-\kappa(x-\gamma)}}, \quad -\infty < x < \infty. \quad (1.2)$$

Lijeva horizontalna asimptota je pravac  $f(x) = 0$ , dok je desna horizontalna asimptota pravac  $f(x) = \alpha$ . Uočimo da model pretpostavlja da veličina  $f$  ne može postići vrijednost 0, odnosno, da vrijedi  $f(x) \neq 0, \forall x \in \mathbb{R}$ . Maksimalna stopa rasta  $w_M = \kappa\alpha/4$  postiže se za  $f(\gamma) = \alpha/2$ , što znači da je stopa rasta simetrična obzirom na pravac  $x = \gamma$ .

Postoje mnoge parametrizacije logističke krivulje, a jedna od najčešćih je

$$f(x) = \frac{\alpha}{1 + \beta e^{-\kappa x}},$$

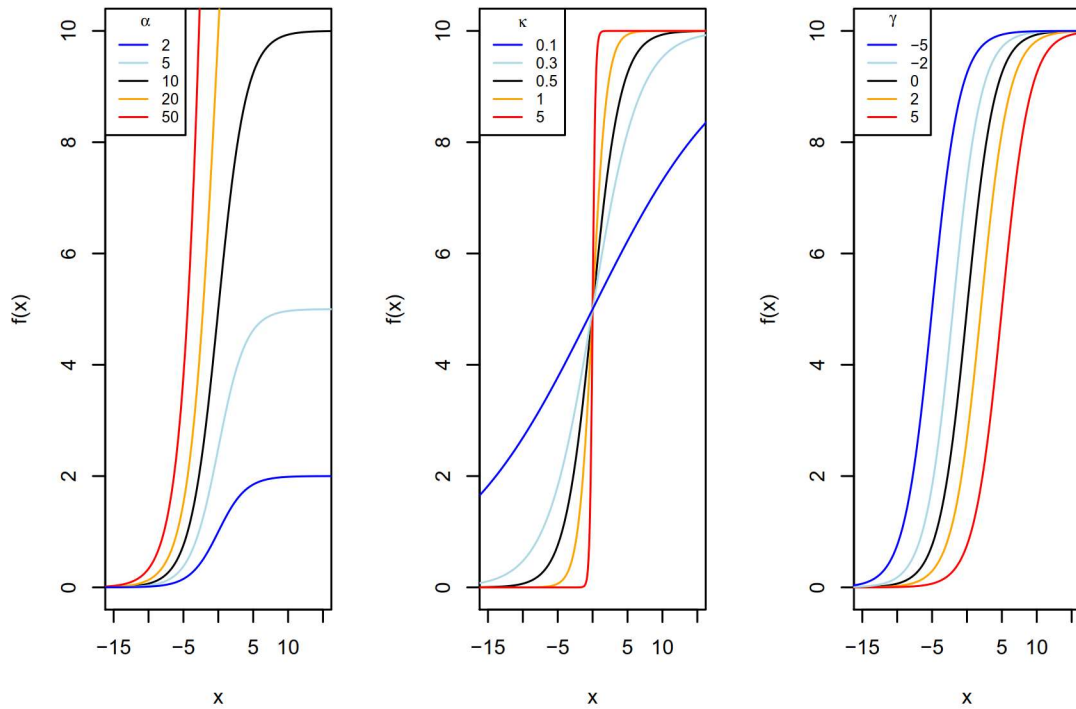
gdje je uzeto  $\beta = e^{\kappa\gamma}$  u izrazu 1.2.

Ovu je krivulju prvi izveo znanstvenik Pierre-François Verhulst<sup>2</sup>, koji je zastupao teoriju da je stopa reprodukcije neke populacije, pri stalnim uvjetima, proporcionalna veličini trenutne populacije, ali i količini dostupnih resursa. Ovaj se model ponekad koristi u medicini za jednostavno opisivanje neometanog rasta tumora te u modelima za optimizaciju kemoterapije, no pokazuje se da je Gompertzov model nešto prikladniji za tu svrhu.

Na slici 2 možemo vidjeti kako se mijenja oblik logističke krivulje u ovisnosti o različitim vrijednostima parametara ove krivulje.

---

<sup>2</sup>Pierre-François Verhulst (1804.-1849.), belgijski matematičar



Slika 2: Grafovi logističke krivulje za različite vrijednosti parametara. Fiksne vrijednosti parametara gledajući s lijeva na desno su redom:  $\kappa = 0.5$  &  $\gamma = 0$ ,  $\alpha = 10$  &  $\gamma = 0$  i  $\alpha = 10$  &  $\kappa = 0.5$ .

### 1.0.2 Gompertzov model

U *Gompertzovom modelu*, stopa rasta je dana izrazom

$$\frac{df}{dx} = \kappa f(\log \alpha - \log f), \quad \kappa > 0, \quad \alpha > 0,$$

kojeg dobivamo primjenom  $g(x) = x$  i  $h(x) = \log x$  u 1.1. Rješenje te diferencijalne jednadžbe glasi

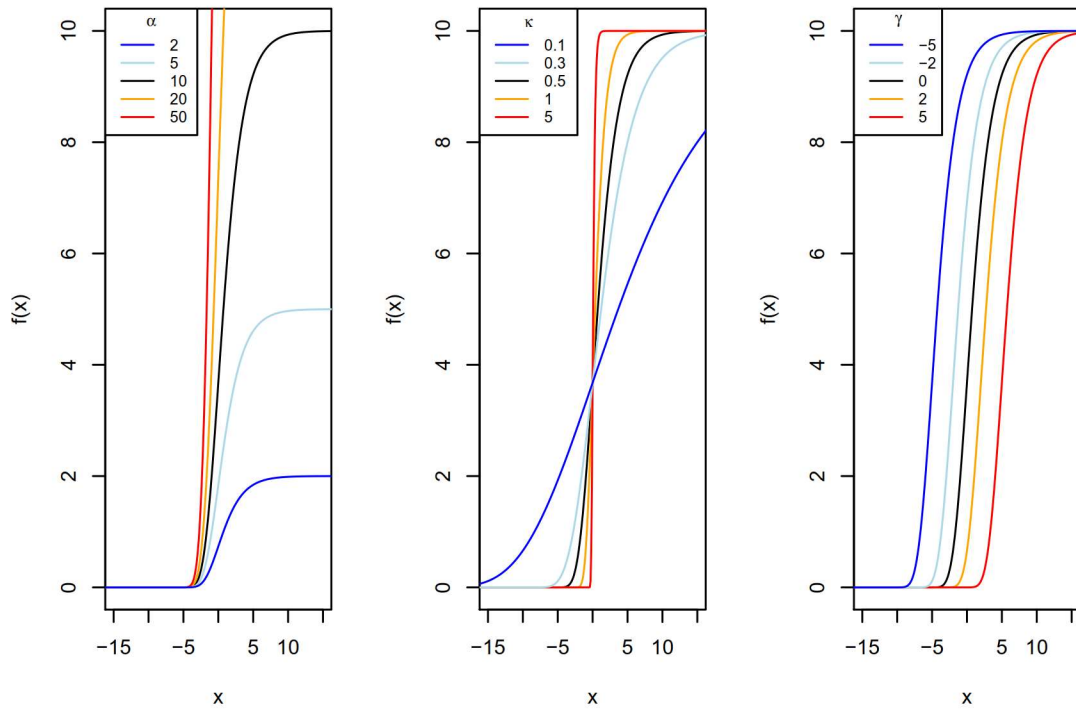
$$f(x) = \alpha e^{-e^{-\kappa(x-\gamma)}}.$$

Za ovaj model je specifično da stopa rasta ubrzava dok ne dostigne maksimalnu stopu rasta  $w_M = \kappa\alpha/e$  u točki infleksije  $(x, f) = (\gamma, \alpha/e)$ , a zatim usporava te naposljetku stagnira. Također, može se pokazati da je bilo koja potencija Gompertzove krivulje opet Gompertzova krivulja, što je korisno svojstvo kada se promatra duljina, površina te volumen.

Početak 19. stoljeća, matematičar Gompertz<sup>3</sup> razvio je ovaj model kako bi opisao pojavu da stopa smrtnosti ljudi eksponencijalno raste starenjem. Kasnije je otkriveno da taj model dosta dobro opisuje rast veličine nekog organizma, a pogotovo rast tumora. Mnogi su pokušaji interpretacija ovog fenomena, a za više informacija vidjeti [7] i [8]. Na slici 3 pogledajmo različite grafove Gompertzove krivulje za različite vrijednosti parametara.

<sup>3</sup>Benjamin Gompertz (1779.-1865.), engleski matematičar





Slika 3: Grafovi Gompertzove krivulje za različite vrijednosti parametara. Fiksne vrijednosti parametara gledajući s lijeva na desno su redom:  $\kappa = 0.5$  &  $\gamma = 0$ ,  $\alpha = 10$  &  $\gamma = 0$  i  $\alpha = 10$  &  $\kappa = 0.5$ .

### 1.0.3 Von Bertalanffyjev model

Znanstvenik Ludwig von Bertalanffy<sup>4</sup> smatrao je kako stopa rasta nekog organizma nastaje kao razlika između anabolizma - sinteze novog materijala te katabolizma - razgradnje postojećeg materijala. Preciznije, smatrao je da je anabolizam u alometrijskom odnosu s  $f$  (proporcionalan nekoj potenciji veličine  $f$ ), dok je katabolizam proporcionalan  $f$ , odnosno, da je

$$\frac{df}{dx} = \eta f^\delta - \xi f, \quad \eta > 0, \quad \xi > 0, \quad \delta > 0,$$

što daje *von Bertalanffyjev model*. Pokazuje se kako u prirodi brzina metabolizma  $\delta$  iznosi  $2/3$ . Gledajući os veličine, točka infleksije nalazi se na poziciji  $(\frac{2}{3})^3$  konačne veličine.

Ovaj model često se primjenjuje u ekologiji za modeliranje rasta riba te u paleontologiji za modeliranje rasta nekih vrsta školjki.

### 1.0.4 Richardsova krivulja

Richardsova<sup>5</sup> krivulja definirana je izrazom

$$\frac{df}{dx} = \frac{\kappa}{1 - \delta} f \left[ \left( \frac{f}{\alpha} \right)^{\delta-1} - 1 \right], \quad \kappa = \eta(1 - \delta)\alpha^{\delta-1},$$

<sup>4</sup>Ludwig von Bertalanffy (1901.-1972.), austrijski biolog

<sup>5</sup>Francis John Richards (1901.-1965.), engleski botaničar

gdje su  $\alpha$ ,  $\kappa$  i  $\eta$  pozitivni parametri, a  $\delta \neq 1$ . Rješenje ove diferencijalne jednadžbe je krivulja:

$$f(x) = \alpha(1 + (\delta - 1)e^{-\kappa(x-\gamma)})^{1/(1-\delta)}, \quad \delta \neq 1. \quad (1.3)$$

Richardsova krivulja svojevrsna je generalizacija dosada spomenutih modela, obzirom da obuhvaća logistički model (za  $\delta = 2$ ), von Bertalanffyjev model (za  $\delta = \frac{2}{3}$ ) te Gompertzov model (kada  $\delta \rightarrow 1$ ).

Parametar  $\delta$  određuje poziciju točke infleksije, čije su koordinate  $(\gamma, \alpha/\delta^{1/(\delta-1)})$ , te tako utječe na oblik krivulje. Odgovarajuća maksimalna stopa rasta kod ove krivulje iznosi  $w_M = \kappa\alpha\delta^{\delta/(1-\delta)}$ .

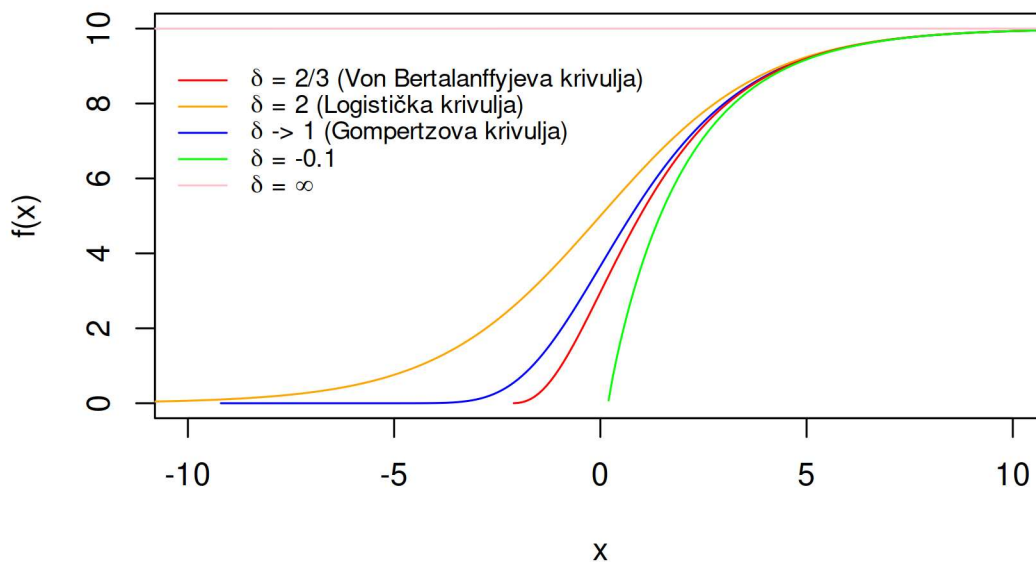
Nadalje, pustimo li  $\delta \rightarrow \infty$  u 1.3 Richardsova krivulja nalikuje na pravac, dok za  $\delta \leq 0$  ta krivulja niti nema točku infleksije. Kao i ranije, za fiksnu vrijednost parametra  $\delta$  parametar  $\kappa$  možemo promatrati kao faktor skaliranja vremena  $x$ .

Kao alat za uspoređivanje stopa rasta krivulja različitih oblika Richards izvodi izraz za srednju stopu rasta:

$$\frac{1}{\alpha} \int_0^\alpha \frac{\kappa f}{1 - \alpha} \left[ \left( \frac{f}{\alpha} \right)^{\delta-1} - 1 \right] df = \frac{\alpha\kappa}{2(\delta + 1)}.$$

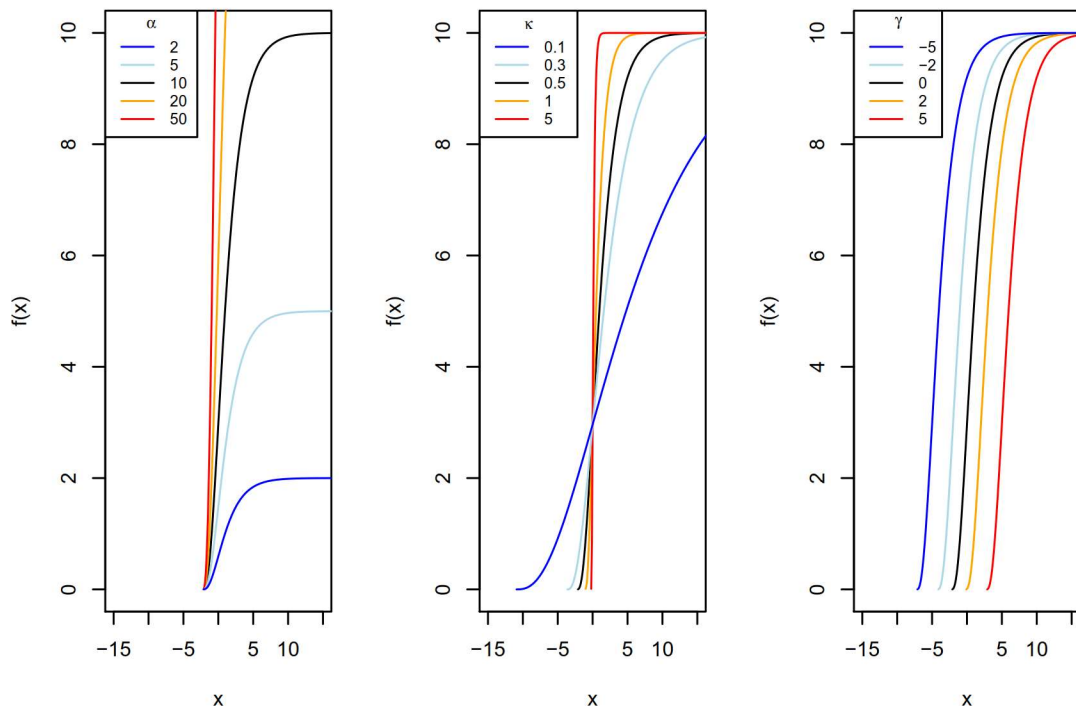
Sada izraz  $\kappa/(2(\delta + 1))$  predstavlja mjeru stope rasta krivulja različitog oblika, korigiranu za konačnu veličinu  $\alpha$ .

Na slici 3 možemo vidjeti Richardsovu krivulje za neke specifične vrijednosti parametra  $\delta$ .



Slika 4: Richardsova krivulja za različite vrijednosti parametra  $\delta$ . Ostali parametri su fiksni i iznose  $\alpha = 10$ ,  $\kappa = 0.5$  i  $\gamma = 0$ .

Slično, na slici 5 vidimo Von Bertalanffyjevu krivulju, kao specijalan oblik Richardsove krivulje za različite vrijednosti parametara.



Slika 5: Grafovi Von Bertalanffyjeve krivulje za različite vrijednosti parametara. Fiksne vrijednosti parametara gledajući s lijeva na desno su redom:  $\kappa = 0.5$  &  $\gamma = 0$ ,  $\alpha = 10$  &  $\gamma = 0$  i  $\alpha = 10$  &  $\kappa = 0.5$ .

## 2 Krivulje preživljenja

Važna komponenta svih modela ponovnog rasta tumora su krivulje preživljenja. One određuju udio stanica tumora koje prežive neki tretman usmjeren na smanjivanje veličine ili broja stanica tumora, ovisno o dozi tog tretmana,  $D$ . Ukoliko sa  $S = S(D)$  označimo krivulju preživljenja, tada u slučaju izostanka tretmana mora vrijediti  $S(0) = 1$ , dok u slučaju primljene (teoretske) beskonačne doze tretmana sve stanice tumora umiru, tj.  $S(\infty) = 0$ .

Jedna od jednostavnijih i najčešće korištenih krivulja preživljenja je *eksponencijalna krivulja preživljenja*

$$S(D) = e^{-\alpha D}, \quad \alpha > 0.$$

Parametar  $\alpha$  ovdje označava stopu odumiranja stanica tumora nakon primljenog tretmana  $D$ , koju nazivamo *radioosjetljivost* (za detalje vidjeti [12]). Ovakva krivulja preživljenja tipična je za jednostavne mikroorganizme, kao što su virusi i bakterije.

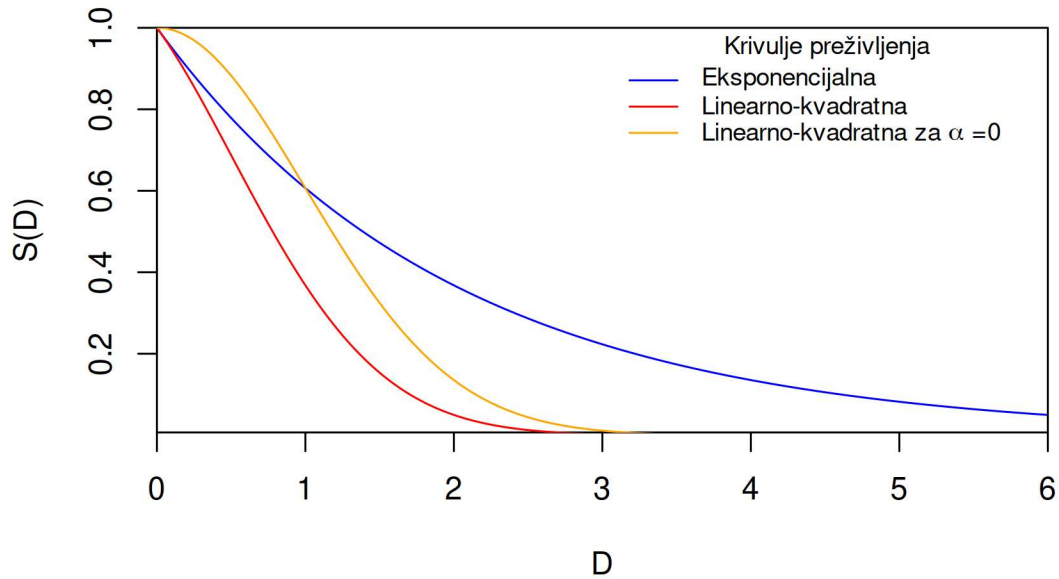
Međutim, poznato je da kod sisavaca pri jako niskim dozama tretmana  $D$  udio preživjelih stanica tumora sporije opada nego u slučaju primljene veće doze. To je posljedica veće otpornosti organizma te regeneracije stanica. Kao rezultat ovog efekta, krivulja preživljenja dobiva prepoznatljivo "rame". U tom slučaju koristi se *linearno-kvadratna* krivulja preživljenja,

$$S(D) = e^{-\alpha D - \beta D^2}, \quad \alpha \geq 0, \quad \beta \geq 0,$$

te specijalno, za  $\alpha = 0$ , krivulja

$$S(D) = e^{-\beta D^2}.$$

Na idućoj slici 6 možemo vidjeti usporedbu grafova spomenutih krivulja preživljenja za fiksne parametre  $\alpha$  i  $\beta$ .



Slika 6: Usporedba različitih krivulja preživljenja za  $\alpha = 0.5$  i  $\beta = 0.5$ .

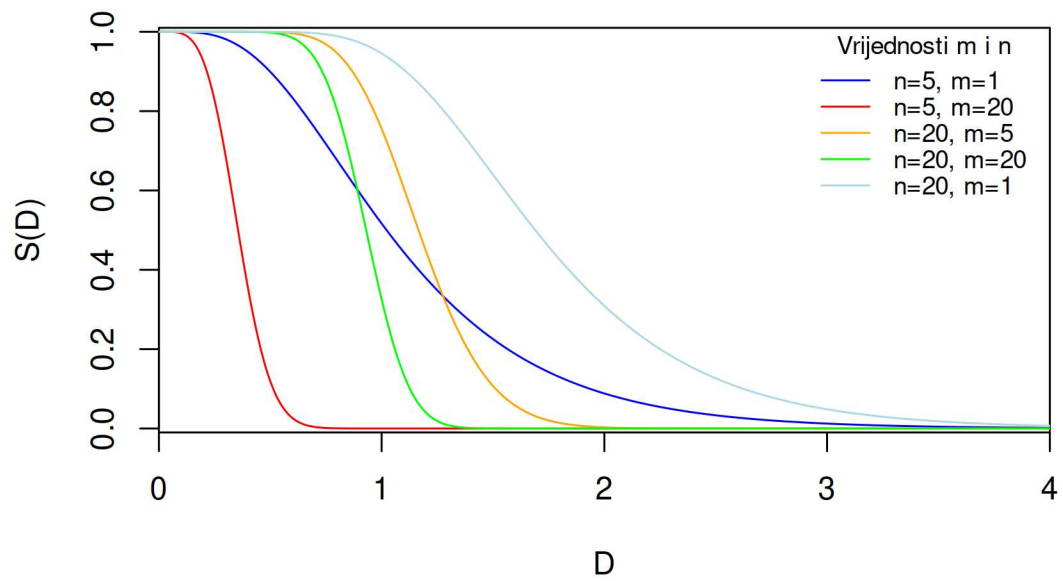
Nadalje, u [13] i [5] spominje se tzv. *teorija mete*. Po toj teoriji, za smrt neke stanice potrebno je zračenjem pogoditi svaku od  $n$  jezgri unutar te stanice, tj.  $n$  meta. Pritom je svaku metu dovoljno pogoditi jednom te je vjerojatnost pogađanja mete jednaka za sve mete, neovisno o broju  $n$ ,  $n \in \mathbb{N}$ . Ako eksponencijalnu krivulju preživljenja  $e^{-\alpha D}$  tumačimo kao vjerojatnost da meta nije pogođena, tada  $(1 - e^{-\alpha D})^n$  predstavlja vjerojatnost da je svih  $n$  meta pogođeno, te je

$$S(D) = 1 - (1 - e^{-\alpha D})^n$$

vjerojatnost da nisu pogođene sve mete. Sada krivulja preživljenja  $m$  stanica s  $n$  meta glasi:

$$S(D) = [1 - (1 - e^{-\alpha D})^n]^m, \quad n \in \mathbb{N}, \quad m \in \mathbb{N}.$$

Na slici 7 možemo vidjeti grafove krivulja preživljenja po teoriji mete za različite vrijednosti  $m$  i  $n$ .



Slika 7: Krivulje preživljenja po teoriji mete za  $\alpha = 2$  i različite vrijednosti parametara  $m$  i  $n$ .

### 3 Krivulje ponovnog rasta tumora

U ovom poglavlju govorit ćemo o krivuljama ponovnog rasta tumora, koje služe za modeliranje nemonotonog rasta tumora ovisno o jačini primljene doze tretmana,  $D$ . Generalni oblik krivulja ponovnog rasta je

$$R(t) = S(D)G(t) + G(0)(1 - S(D))e^{-\phi t}, \quad t \geq 0,$$

gdje  $R(t)$  predstavlja krivulju ponovnog rasta,  $S(D)$  predstavlja krivulju preživljenja koja opisuje udio preživjelih stanica raka ovisno o primljenoj dozi tretmana  $D$  te je  $G(t)$  krivulja rasta koja opisuje neometani rast tumora netretiranog tumora. Pritom,  $G(0)$  označava vrijednost krivulje rasta tumora u trenutku  $t = 0$ , dok je  $\phi > 0$  stopa kojom stanice tumora oštećene tretmanom odumiru.

Primijetimo kako za početnu vrijednost krivulje  $R$  zbog  $S(D) \leq 1$  vrijedi sljedeće:

$$R'(0) = S(D)G'(0) - \phi G(0)(1 - S(D)) < G'(0),$$

što znači da će ovakav tip modela biti prikladan za opisivanje tumora koji su vrlo responsivni na tretman, tj. čiji volumen opada odmah po primljenom tretmanu.

Koristi ovih modela su široke, a između ostalog oni omogućuju usporedbu mjera ishoda različitih terapija, kao što su vrijeme do udvostručenja tumora ili vrijeme do ponovnog rasta tumora. Zatim, oni ukazuju na optimalan raspored i intenzitet tretiranja tumora u slučaju uzastopnih terapija te mogu ukazivati i na neke nekonvencionalne režime tretiranja. Također, uz specijalnu strukturu ovaj model omogućuje testiranje učinkovitosti kombinacije tretmana u usporedbi s učinkovitosti pojedinačnih tretmana.

U nastavku ćemo predstaviti specijalan slučaj krivulje ponovnog rasta - dvostruku eksponencijalnu krivulju ponovnog rasta. Zatim ćemo teoriju generalnih krivulja ponovnog rasta proširiti na prijelazne krivulje ponovnog rasta, koje dopuštaju prijelazni period rasta tumora netom nakon tretmana. Naposljetku, navodimo mjere ishoda tretmana koje određujemo koristeći parametre krivulja ponovnog rasta.

#### 3.1 Dvostruka eksponencijalna krivulja ponovnog rasta

Pretpostavimo da  $N = N(t)$  modelira broj stanica tumora u nekom trenutku  $t \geq 0$ . Stanice tumora možemo podijeliti u dvije skupine: na stanice koje se aktivno razmnožavaju (dijele na dva jednaka dijela),  $P$ , te na stanice koje su u stanju mirovanja i ne razmnožavaju se,  $Q$ . Sada ukupni broj stanica tumora u trenutku  $t$  možemo izraziti kao sumu

$$N(t) = P(t) + Q(t). \tag{3.1}$$

Nadalje, pretpostavimo da je dinamika kretanja prethodno opisanih skupina stanica dana na sljedeći način:

1. stanice  $P$  razmnožavaju se konstantom stopom  $\nu$ ,
2. stanice  $Q$  umiru konstantom stopom  $\phi$  te
3. stanice  $P$  prelaze u skupinu  $Q$  stopom  $\tau$ .

Navedene pretpostavke možemo izraziti matematički sustavom diferencijalnih jednadžbi:

$$\frac{dP}{dt} = \nu P, \quad (3.2)$$

$$\frac{dQ}{dt} = \tau P - \phi Q, \quad (3.3)$$

gdje su  $\nu$ ,  $\tau$  i  $\phi$  pozitivni parametri.

Sada, uz uvjet da je  $P(0) = P_0$  dobivamo da je rješenje diferencijalne jednadžbe 3.2 jednako  $P(t) = P_0 e^{\nu t}$ ,  $t \geq 0$ . Dobiveni izraz zatim uvrštavamo u diferencijalnu jednadžbu 3.3, čije rješenje uz uvjet  $Q(0) = Q_0$  glasi:

$$Q(t) = \frac{\tau}{\nu + \phi} P_0 e^{\nu t} + \left( Q_0 - \frac{\tau}{\nu + \phi} P_0 \right) e^{-\phi t}, \quad t \geq 0.$$

Sada je ukupan broj stanica  $N(t)$  jednak sumi  $P(t)$  i  $Q(t)$  te glasi:

$$N(t) = \frac{\tau + \nu + \phi}{\nu + \phi} P_0 e^{\nu t} + \left( Q_0 - \frac{\tau}{\nu + \phi} P_0 \right) e^{-\phi t}, \quad t \geq 0.$$

Nadalje, neka je  $PF(t) = P(t)/N(t)$  omjer koji opisuje broj stanica tumora koje se razmnožavaju ovisno o ukupnom broju stanica tumora i označimo  $PF_0 = PF(0)$  i  $PF_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} PF(t)$ . Lako se pokazuje da vrijedi  $PF_\infty = (\nu + \phi)/(\tau + \nu + \phi)$ . Sada možemo pisati

$$\begin{aligned} N(t) &= \frac{P_0}{PF_\infty} e^{\nu t} + \left( \frac{1}{PF_0} - \frac{1}{PF_\infty} \right) P_0 e^{-\phi t} \\ &= \frac{PF_0}{PF_\infty} N_0 e^{\nu t} + \left( 1 - \frac{PF_0}{PF_\infty} \right) N_0 e^{-\phi t}. \end{aligned}$$

Označimo li sada s  $\theta$  omjer  $PF_0/PF_\infty$ , dobivamo sljedeći izraz za broj stanica tumora u trenutku  $t$ :

$$N(t) = N_0(\theta e^{\nu t} + (1 - \theta)e^{-\phi t}), \quad t \geq 0. \quad (3.4)$$

Pritom,  $N_0$  predstavlja broj stanica tumora u trenutku  $t = 0$ , a parametar  $\theta$  možemo interpretirati kao udio stanica koje su preživjele primjenu nekog tretmana dozom  $D$ , stoga ga možemo modelirati nekom krivuljom preživljenja  $S(D)$ .

Specijalno, uvrstimo li jednostavnu eksponencijalnu krivulju  $S(D) = e^{-\alpha D}$  na mjesto parametra  $\theta$  u izrazu 3.4 dobivamo krivulju

$$N(t) = N_0(e^{-\alpha D + \nu t} + (1 - e^{-\alpha D})e^{-\phi t}) \quad (3.5)$$

koju nazivamo *dvostruka eksponencijalna krivulja ponovnog rasta*. Primijetimo, broj stanica tumora zadan je kao suma stanica koje su neoštećene preživjele tretman dozom  $D$  i rastu neometano,  $N_0 e^{-\alpha D + \nu t}$ , te stanica koje su oštećene prilikom tog tretmana i postupno odumiru,  $N_0(1 - e^{-\alpha D})e^{-\phi t}$ . Također, možemo vidjeti da u slučaju izostanka tretmana ( $D = 0$ ) tumor raste eksponencijalno stopom  $\nu$ .

Kao što je i ranije spomenuto, ova je krivulja prikladna za modeliranje ponovnog rasta tumora koji se počne smanjivati odmah nakon primljenog tretmana.

### 3.2 Dvostruka eksponencijalna prijelazna krivulja ponovnog rasta

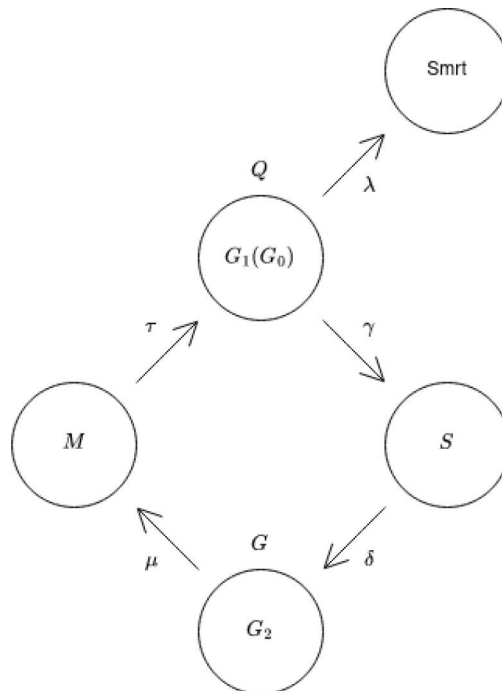
Sada ćemo proširiti teoriju iz prethodnog poglavlja kako bismo omogućili modeliranje tumora čije smanjenje kao reakcija na primljeni tretman nije trenutno. Točnije, omogućit ćemo modeliranje prijelaznog perioda nakon primljenog tretmana, tijekom kojeg tumor nastavlja rasti prije nego što oštećene tretirane stanice počnu umirati.

U biologiji je poznato da se svako tkivo, pa tako i tumorsko, sastoji od stanica koje se ciklički kreću kroz stanične faze. Kako slijedi iz [7], postoji četiri stanične faze - to su  $G_1, S, G_2$  i  $M$  faza. U  $G_1$  fazi događa se sinteza RNK i proteina potrebnih za replikaciju DNK, koja se zatim odvija u fazi  $S$ . Nakon  $S$  faze, stanica prelazi u  $G_2$  fazu, gdje se priprema za staničnu diobu. Naposljetku, stanica ulazi u  $M$  fazu, tijekom koje se dijeli na dvije jednake stanice. Pritom, svaka od novonastalih stanica nastavlja se kretati kroz stanični ciklus kako je opisano ili provodi dulje vrijeme mirujući u fazi  $G_1$ , koja se ponekad naziva i faza  $G_0$ .

Kako bismo detaljnije opisali interakcije između skupina stanica u različitim staničnim fazama, uvest ćemo sljedeće oznake: neka  $Q$  čine stanice u fazi  $G_0$  i  $G_1$ ,  $S$  čine stanice u fazi  $S$ ,  $G$  čine stanice u fazi  $G_2$  te  $M$  čine stanice u fazi  $M$ . Nadalje, označimo s

- $\tau$  stopu prelaska stanica iz  $M$  u  $Q$ ,
- $\lambda$  stopu po kojoj stanice iz  $Q$  umiru,
- $\gamma$  stopu prelaska stanica iz  $Q$  u  $S$ ,
- $\delta$  stopu prelaska stanica iz  $S$  u  $G$  te
- $\mu$  stopu prelaska stanica iz  $G$  u  $M$ .

Shemu dinamike kretanja stanica u staničnom ciklusu možemo vidjeti na slici 8.



Slika 8: Shema dinamike kretanja stanica u staničnom ciklusu.

Sada ukupan broj stanica tumora u trenutku  $t$  modeliramo sumom

$$N(t) = Q(t) + S(t) + G(t) + M(t),$$



gdje se sumandi dobivaju rješavanjem sljedećeg sustava diferencijalnih jednadžbi:

$$\frac{dQ}{dt} = \tau M - \lambda Q, \quad \frac{dS}{dt} = \gamma Q, \quad \frac{dG}{dt} = \delta S, \quad \frac{dM}{dt} = \mu G.$$

Pritom pretpostavljamo da su svi korišteni parametri pozitivni. Ovaj se sustav može reducirati na sljedeću običnu diferencijalnu jednadžbu četvrtog reda:

$$\frac{d^4 Q}{dt^4} = \kappa Q - \lambda \frac{d^3 Q}{dt^3}, \quad (3.6)$$

gdje je  $\kappa = \delta\gamma\mu\tau$ ,  $\kappa > 0$ . Kako bismo pronašli rješenje ove jednadžbe, potrebno je riješiti karakterističnu jednadžbu  $z^4 + \lambda z^3 = \kappa$ , u čemu nam pomaže sljedeća propozicija preuzeta iz [3], koju navodimo bez dokaza.

**Propozicija 3.1.** *Algebarska jednadžba četvrtog reda*

$$z^4 + \lambda z^3 = \kappa, \quad \lambda > 0, \quad \kappa > 0,$$

ima dva realna korijena, jedno pozitivno ( $\nu$ ) i jedno negativno ( $-\phi$ ) te jedan par konjugirano kompleksnih korijena,  $-\zeta \pm \omega i$ .

Iz prethodne propozicije i teorije običnih diferencijalnih jednadžbi slijedi da je rješenje jednadžbe 3.6, sljedećeg oblika:

$$Q(t) = C_1 e^{\nu t} + C_2 (e^{-\phi t} + T(t)), \quad t \geq 0$$

gdje funkciju  $T(t) = C e^{-\zeta t} \sin(\omega t)$ ,  $C > 0$ , zovemo *funkcija prijelaza*. Konstante  $C_1 > 0$  i  $C_2 > 0$  ovdje predstavljaju broj preživjelih i oštećenih stanica u nultom trenutku, tim redom. Kako tvrdi [3], tada se i broj stanica tumora  $N(t)$  može modelirati krivuljom oblika

$$N(t) = C_1 e^{\nu t} + C_2 (e^{-\phi t} + T(t)). \quad (3.7)$$

Ukoliko je  $N_0$  broj stanica tumora u trenutku  $t = 0$ , tada  $C_1/N_0$  predstavlja udio stanica koje su preživjele tretman, a  $C_2/N_0$  predstavlja udio stanica koje će umrijeti od tretmana. Kako bi krivulja 3.7 opisivala broj stanica tumora ovisno o dozi tretmana  $D$ , uvrštavamo funkciju preživljenja  $S = S(D)$  na sljedeći način:

$$N(t) = N_0 (S(D) e^{\nu t} + (1 - S(D)) (e^{-\phi t} + C e^{-\zeta t} \sin(\omega t))),$$

gdje je  $N_0 S(D)$  broj preživjelih stanica za početni broj stanica tumora  $N_0$ . Konstantu  $C$  računamo iz uvjeta da je stopa nekontroliranog rasta tumora (za  $D = 0$ ) jednaka stopi rasta tumora u trenutku  $t = 0$ .

Naime, u slučaju izostanka tretmana vrijedi da tumor raste eksponencijalno, tj. prati formulu  $N(t) = N_0 e^{\nu t}$ , što pretpostavljamo da vrijedi i za trenutke prije početka mjerenja veličine tumora ( $t \leq 0$ ). Zatim, zaključujemo da mora vrijediti

$$\left. \frac{d(N_0 e^{\nu t})}{dt} \right|_{t=0} = \left. \frac{d(N(t))}{dt} \right|_{t=0},$$

kako bi  $N(t)$  bila glatka u  $t = 0$ , za svaku dozu  $D$ . Ova jednakost daje da  $C$  mora biti jednako  $C = (\nu + \phi)/\omega$ .

Konačno, uvrštavanjem dobivene konstante  $C$  u izraz 3.7 dobivamo krivulju

$$N(t) = N_0 \left( S(D)e^{\nu t} + (1 - S(D)) \left( e^{-\phi t} + \frac{\nu + \phi}{\omega} e^{-\zeta t} \sin(\omega t) \right) \right),$$

koju nazivamo *općenita prijelazna dvostruka eksponencijalna krivulja ponovnog rasta*.

Specificiramo li dodatnu ovu krivulju odabirom eksponencijalne krivulje preživljenja  $S(D) = e^{-\alpha D}$ , dobivamo *prijelaznu dvostruku eksponencijalnu krivulju preživljenja*:

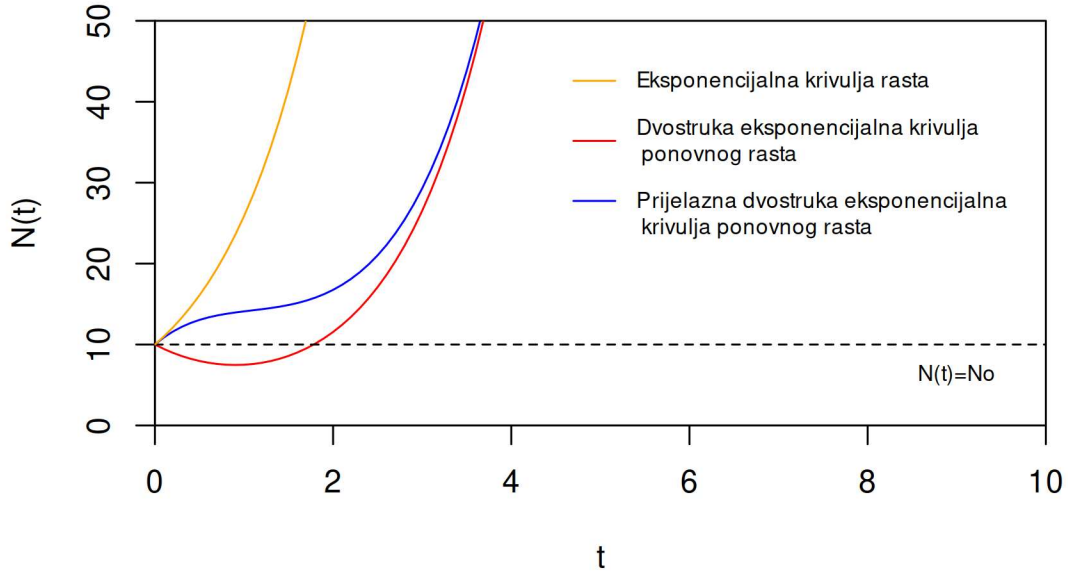
$$N(t) = N_0 \left( e^{\nu t - \alpha D} + (1 - e^{-\alpha D}) \left( e^{-\phi t} + \frac{\nu + \phi}{\omega} e^{-\zeta t} \sin(\omega t) \right) \right). \quad (3.8)$$

Sada dio  $N_0 e^{\nu t - \alpha D}$  opisuje rast stanica koje nisu oštećene tretmanom te se razmnožavaju eksponencijalno stopom  $\nu$ , dok dio  $N_0(1 - e^{-\alpha D})e^{-\phi t}$  opisuje broj stanica koje su ubijene odmah nakon tretmana i odumiru eksponencijalnom stopom  $\phi$ . Međutim, za razliku od obične dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta, dodatno se pojavljuje i dio koji opisuje kretanje tzv. *apoptičkih stanica*.

Naime, stanice koje su oštećene tretmanom ne moraju se odmah isprati iz tumora, već mogu proći kroz nekoliko staničnih ciklusa prije nego što to učine, što znači da nakon primljenog tretmana postoji prijelazni period u kojem broj stanica tumora raste, prije nego što počne padati. Zanimljivo je da broj stanica s ovim svojstvom oscilira s periodom  $2\pi/\omega$ , što je dobro poznati, ali još uvijek nepotpuno objašnjeni fenomen u medicini.

Kako slijedi iz [1], ukoliko je poznato trajanje svake od faza staničnog ciklusa stanice tumora, svojstvo osciliranja stanica može biti iskorišteno na sljedeći način. Uz pomoćih određenih lijekova moguće je do neke mjere sinkronizirati stanice, tako da se većina nalazi u istoj fazi staničnog ciklusa, najčešće fazi  $G_1$  ili  $S$ . Zatim se pričekava da stanice zajedno dođu do faze najosjetljivije na tretman te se tada primjenjuje tretman.

Na idućoj slici 9 možemo vidjeti razliku između dosad opisanih krivulja ponovnog rasta uz fiksne vrijednosti parametara za sve tri krivulje.



Slika 9: Usporedba različitih krivulja (ponovnog) rasta tumora za parametre  $N_0 = 10$ ,  $\alpha = 0.95$ ,  $D = 2$ ,  $\nu = 0.95$ ,  $\phi = 0.85$ ,  $\omega = 0.5$ ,  $\zeta = 0.8$ .

Parametri prijelazne dvostruke eksponecijalne krivulje imaju sljedeće biološke interpretacije. Parametar  $\alpha$  predstavlja osjetljivost na zračenje specifičnih vrsta tumora, stoga je  $e^{-\alpha D}$  odgovarajući udio preživjelih stanica tumora nakon zračenja dozom  $D$ , a  $(1 - e^{-\alpha D})$  je udio stanica koje će umrijeti kao posljedica zračenja tom dozom. Zatim,  $\zeta$  predstavlja stopu po kojoj se oštećene, apoptičke stanice uništavaju iz tumora, za koju vrijedi  $\zeta < \phi$ . Konačno,  $\omega$  predstavlja frekvenciju osciliranja stanica oštećenih zračenjem dozom  $D$ , koja iznosi  $\pi/(2\omega)$  odmah nakon tretmana te se s vremenom prigušuje.

### 3.3 Gompertzova prijelazna krivulja ponovnog rasta

Postavimo li ograničenje na maksimalnu veličinu tumora, što odgovara stvarnim situacijama, dobivamo specijalni oblik dvostruke eksponecijalne prijelazne krivulje ponovnog rasta.

Ograničeni rast implemetiramo tako što uvrstimo eksplicitni izraz Gompertzove krivulje direktno u prijelaznu dvostruku eksponecijalnu krivulju ponovnog rasta na mjesto neograničenog eksponecijalnog rasta. Odnosno, uz oznake  $n_\infty = \ln N_\infty$  i  $n_0 = \ln N_0$ , gdje je  $N_\infty$  maksimalna i  $N_0$  početna veličina tumora, uvršavamo Gompertzovu krivulju  $f(t) = e^{(n_\infty - (n_\infty - n_0)e^{-\nu t})}$  u izraz 3.8 te za  $t \geq 0$  dobivamo krivulju

$$N(t) = e^{n_\infty - (n_\infty - n_0)e^{-\nu t} - \alpha D} + e^{n_0} (1 - e^{-\alpha D}) \left( e^{-\phi t} + \frac{\nu(n_\infty - n_0) + \phi}{\omega} e^{-\zeta t} \sin(\omega t) \right),$$

koju nazivamo *Gompertzova prijelazna krivulja ponovnog rasta*. Ova je krivulja neprekidna i glatka u  $t = 0$  za svaku dozu  $D$ , a posebno, za  $D = 0$  dobivamo standardnu Gompertzovu krivulju. Primjena Gompertzove prijelazne krivulje ponovnog rasta prikladna je u slučaju modeliranja većih, tretiranih tumora.

Dodatno, moguće je modificirati ovu krivulju uvrštavanjem neke kompleksnije funkcije preživljenja ili korištenjem slučajnih efekata, koje ćemo detaljnije predstaviti u idućem poglavlju.

### 3.4 Primjene krivulja ponovnog rasta

U ovom poglavlju bavit ćemo se primjenom krivulja ponovnog rasta na stvarnim scenarijima koji se pojavljuju u medicinskim istraživanjima. No, najprije ćemo objasniti modele mješovitih efekata, koji često omogućuju elegantnije i preciznije modeliranje ovakvih problema.

Napomenimo kako se u ovom radu nećemo se baviti procjenom parametara ovakvih modela, no zainteresirani čitatelj može pronaći više o toj temi u literaturi [3], [1], [2].

### 3.5 Modeli mješovitih efekata

Znanstvenici često procjenjuju modele rasta tumora na osnovu longitudinalnih mjerenja tumora više pojedinaca ili životinja. *Longitudinalna mjerenja*, kako je definirano u [2], su uzastopna mjerenja takva da vrijednosti koje se odnose na istog pojedinca ili pojavu nisu dodijeljena na slučajan način. Kao posljedica, observacije unutar pojedinih skupina ili klastera podataka postaju međusobno korelirane, ali i istovremeno nezavisne od observacija koje pripadaju različitoj skupini. Ova specifična struktura koreliranosti dozvoljava elegantno modeliranje koristeći modele s mješovitim efektima, koji se još nazivaju *modeli uzastopnih mjerenja* ili *hijerarhijski modeli*. Oni omogućavaju modeliranje s dva izvora varijance, unutar klastera i između klastera.

*Modeli mješovitih efekata*, kako ime govori, sadrže kombinaciju dvije vrste efekata - fiksne i slučajne efekte.

Definirajmo najprije što je to model s fiksnim efektima. Kako slijedi iz [1], za  $n \in \mathbb{N}$  observacija, *model s  $p + 1$  fiksnih efekata*, gdje je  $p \in \mathbb{N}, p < n$ , je model oblika:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\alpha} + \mathbf{e},$$

gdje je  $\mathbf{y} = (y_1, \dots, y_n)^T$  vektor opaženih vrijednosti,  $\boldsymbol{\alpha} = (\mu, \alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_p)^T$  je vektor fiksnih efekata parametara, a  $\mu$  predstavlja slobodni član,  $\mathbf{e} = (e_1, e_2, \dots, e_n)^T$  je vektor grešaka,  $\sigma^2$  je varijanca grešaka, a varijanca  $\text{Var}(\mathbf{y})$  jednaka je  $\sigma^2 \mathbf{I}$ , gdje je  $\mathbf{I}$  jedinična matrica dimenzije  $n \times n$ . Matricu  $\mathbf{X}$  dimenzije  $n \times p$ , kojom su specificirane vrijednosti fiksnih efekata odgovarajućih parametara za svaku od observacija nazivamo *matrica dizajna*.

S druge strane, modeli mješovitih efekata sadrže i slučajne efekte koje možemo shvatiti kao slučajne koeficijente. Dakle, za razliku od fiksnih efekata, koje smatramo fiksnim konstantama, za slučajne efekte se pretpostavlja da prate određenu distribuciju. Dakle, uz prethodno navedene oznake, modeli mješovitih efekata sljedećeg su oblika:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\alpha} + \mathbf{Z}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{e}, \tag{3.9}$$

gdje su  $\mathbf{y}, \mathbf{X}, \boldsymbol{\alpha}$  i  $\mathbf{e}$  definirani kao u modelu fiksnih efekata, no dodatno se pojavljuje i vektor  $\boldsymbol{\beta} = (\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_q)^T, q \in \mathbb{N}$ , koji predstavlja slučajne efekte parametara te je  $\mathbf{Z}$  matrica dizajna dimenzije  $n \times q$  koja sadrži vrijednosti slučajnih efekata odgovarajućih observacija.

Promotrimo sad varijancu ovako definiranog vektora  $\mathbf{y}$ , koju označimo s  $\mathbf{V}$ . Uz pretpostavku da su slučajni efekti i greške nekorelirani, vrijedi

$$\mathbf{V} = \text{Var}(\mathbf{y}) = \text{Var}(\mathbf{X}\boldsymbol{\alpha}) + \text{Var}(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta}) + \text{Var}(\mathbf{e}).$$

Obzirom da  $\alpha$  opisuje fiksne efekte, vrijedi  $\text{Var}(\mathbf{X}\alpha) = \mathbf{0}$ . Također, matrica  $\mathbf{Z}$  je konstantna. Stoga, vrijedi:

$$\mathbf{V} = \mathbf{Z}\text{Var}(\beta)\mathbf{Z}^T + \text{Var}(\mathbf{e}).$$

Sada, označimo  $\mathbf{G} = \text{Var}(\beta)$ ,  $\mathbf{R} = \text{Var}(\mathbf{e})$ . Ukoliko pretpostavimo da  $\beta$  i  $\mathbf{e}$  dolaze iz normalne distribucije s očekivanjem  $\mathbf{0}$ , tada je

$$\mathbf{V} = \mathbf{Z}\mathbf{G}\mathbf{Z}^T + \mathbf{R},$$

gdje  $\mathbf{Z}\mathbf{G}\mathbf{Z}^T$  specificira kovarijancu slučajnih efekata, tj. varijancu unutar klastera, a  $\mathbf{R}$  označava varijancu grešaka - varijancu izvan klastera.

Nadalje, kroz primjer, preuzet iz [9], ilustrirat ćemo upotrebu fiksnih i slučajnih efekata u modelu mješovitih efekata.

**Primjer 3.1.** *Pretpostavimo da želimo modelirati djelovanje lijeka za snižavanje krvnog tlaka. Svaki sudionik studije prima zasebno dvije doze lijeka i kontrolnu (placebo) dozu. Kako svaka osoba ima specifičan očekivani iznos krvnog tlaka, prikladno je da model sadržava specifičan slobodni član za svakog ispitanika. Slično, reakcija na pojedinu dozu razlikuje se od osobe do osobe pa je nagib krivulje također specifičan za svakog ispitanika. Dodatno, pretpostavlja se da vrijednost krvnog tlaka ovisi o dobi ispitanika, koja je izmjerena na početku testiranja.*

Označimo s  $y_{ij}$  vrijednost krvnog tlaka  $i$ -tog ispitanika starosti  $x_i$  u trenutku  $j$ , koji je primio dozu  $d_{ij}$ . Sada je model za očekivani krvni tlak oblika:

$$E[y_{ij}] = a_i + b_i d_{ij} + \gamma x_i.$$

Kako su parametri  $a_i$  i  $b_i$  specifični za  $i$ -tog ispitanika, njih smatramo slučajnim efektima, dok je parametar  $\gamma$  isti za sve ispitanike, stoga je to fiksni efekt.

Kada bi od interesa bila reakcija ukupne populacije na lijek, navedeni model bismo mogli formulirati na sljedeći način:

$$E[y_{ij}] = (\alpha + a'_i) + (\beta + b'_i)d_{ij} + \gamma x_i,$$

gdje je  $a'_i = a_i - \alpha$  i  $b'_i = b_i - \beta$ , a  $\alpha$  i  $\beta$  su pripadne očekivane vrijednosti za populaciju i kao takvih su fiksni efekti. Sada parametri  $a'_i$  i  $b'_i$  predstavljaju pojedinačna odstupanja od očekivanja, a tretiramo ih kao slučajne efekte koji slijede distribuciju s očekivanjem 0 i varijancama  $\sigma_a^2$  i  $\sigma_b^2$ , tim redom.

Međutim, ponekad nije tako jasno koju vrstu efekata koristiti. Idući primjer, također preuzet iz [9], ilustrira uporebu različitih efekata ovisno o kontekstu.

**Primjer 3.2.** *Poliklinika je osmislila kliničko ispitivanje kojim želi procijeniti efikasnost nekog operativnog zahvata. Kada bi se ovaj zahvat primjenjivao u širokom rasponu poliklinika, tada bi prikupili reprezentativan uzorak klinika i na njima testirali navedeni zahvat. U tom slučaju, odabrane klinike bile bi slučajan efekt. Međutim, pretpostavimo da se navedeni zahvat primjenjuje isključivo u nekoliko bolnica te da su one sve uključene u ispitivanje. Tada ove klinike ne možemo smatrati slučajnim uzorkom iz šire populacije klinika, stoga u tom slučaju klinike tretiramo kao fiksne efekte.*

Model definiran izrazom 3.9 nazivamo još *linearni model mješovitih efekata*, obzirom da parametri ulaze u model linearno. Međutim, on se može zakomplicirati tako da za fiksne efekte uzmemo neku nelinearnu funkciju parametra  $\alpha$ . Takav model nazivamo *nelinearni*

model mješovitih efekata. Obzirom da se u ovom radu bavimo krivuljama eksponencijalnog rasta, upravo ova vrsta modela mješovitih efekata je pogodna za opisivanje rasta tumora.

U idućem primjeru navest ćemo neke upotrebe dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta 3.4 izražene u terminima (nelinearnih) modela mješovitih efekata, koje su također opisane u [3].

**Primjer 3.3.** *Pretpostavimo da raspoložemo podacima o volumenu tumora laboratorijskih miševa koji su tretirani nekom terapijom. Neka je  $N$  ukupan broj miševa tretiranih na nulti dan,  $i$  neka  $n_i$  označava broj mjerenja volumena  $i$ -tog miša. Nadalje, neka  $y_{ij} = \ln Y_{ij}$  označava logaritam  $j$ -tog mjerenja volumena tumora  $i$ -tog miša u trenutku  $t_{ij}$ ,  $i = 1, 2, \dots, N$ ,  $j = 1, 2, \dots, n_i$ . Model koji opisuje logaritam rasta volumena tumora miševa koji se sastoji samo od fiksni efekata glasi:*

$$y_{ij} = y_0 + \ln [\theta e^{\nu t_{ij}} + (1 - \theta)e^{-\phi t_{ij}}] + \varepsilon_{ij},$$

gdje je  $y_0$  logaritam početnog volumena tumora, a  $\varepsilon_{ij}$  su međusobno nezavisne greške regresije za koje vrijedi  $E[\varepsilon_{ij}] = 0$  i  $\text{Var}(\varepsilon_{ij}) = \sigma^2$ , za svaki par  $i, j$ . Dodatno, u ovom modelu se može pretpostaviti da je volumen tumora povezan s ukupnim brojem stanica tumora na sljedeći način  $Y_{ij} = \tau N_{ij}^\gamma$ , što kao posljedicu ima dodatni parametar  $\gamma$ .

Nadalje, možemo pretpostaviti da je početni volumen tumora specifičan za pojedinog miša, odnosno, da vrijedi  $y_{0i} = y_0 + \delta_i$ . Tada model glasi:

$$y_{ij} = y_0 + \ln [\theta e^{\nu t_{ij}} + (1 - \theta)e^{-\phi t_{ij}}] + \delta_i + \varepsilon_{ij}, \quad (3.10)$$

gdje je  $E[\delta_i] = 0$  i  $\text{Var}(\delta_i) = \sigma^2 d$ ,  $d > 0$ . U ovom modelu su observacije koje se odnose na različite miševe nekorelirane, dok su longitudinalna mjerenja korelirana s konstantnom korelacijom  $d/(1 + d)$ , što ćemo i pokazati u primjeru 3.4.

Nadalje, možemo pretpostaviti da je svaka tretirana grupa miševa primila doze  $D_l$ ,  $l = 1, 2, \dots, L$ , tj. da je krivulja preživljenja jednaka  $\theta = e^{-\alpha D_l}$ , što daje model:

$$y_{ijl} = y_0 + \ln [e^{\nu t_{ijl} - \alpha D_l} + (1 - e^{-D_l})e^{-\phi t_{ijl}}] + \delta_i + \eta_l + \varepsilon_{ijl}.$$

Također, moguće je definirati slučajni efekt koji je specifičan za tretman, primjerice, moguće je pretpostaviti da je parametar radioosjetljivosti jednak  $\alpha_l = \alpha + \omega_l$ , gdje je  $\omega_l$  slučajni efekt.

**Primjer 3.4.** *Pretpostavimo da je logaritam volumena  $j$ -tog mjerenja  $i$ -tog miša zadan modelom 3.10 iz primjera 3.3. Vrijedi  $\text{Var}(\varepsilon_{ij}) = \sigma^2$  i  $\text{Var}(\delta_i) = \sigma^2 d$ ,  $\forall i, j$ . Pritom su  $\delta_i$  međusobno nezavisne, a isto vrijedi i za  $\varepsilon_{ij}$ . Pokazat ćemo kako su tada observacije koje se odnose na različite miševe nekorelirane, a longitudinalna mjerenja su korelirana s konstantnom korelacijom  $d/(1 + d)$ .*

Za početak, kovarijanca između dvije observacije koje se odnose na različite miševe,  $y_{ij}$  i  $y_{kl}$ , gdje je  $i \neq k$  i  $j$  i  $l$  su proizvoljni, sljedećeg je oblika:

$$\begin{aligned} \text{Cov}(y_{ij}, y_{kl}) &= \text{Cov}(c_{ij} + \delta_i + \varepsilon_{ij}, c_{kl} + \delta_k + \varepsilon_{kl}) \\ &= \text{Cov}(c_{ij}, c_{kl}) + \text{Cov}(c_{ij}, \delta_k) + \text{Cov}(c_{ij}, \varepsilon_{kl}) \\ &\quad + \text{Cov}(\delta_i, c_{kl}) + \text{Cov}(\delta_i, \delta_k) + \text{Cov}(\delta_i, \varepsilon_{kl}) \\ &\quad + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, c_{kl}) + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, \delta_k) + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, \varepsilon_{kl}), \end{aligned}$$

gdje su  $c_{ij}$  i  $c_{kl}$  odgovarajuće konstante. Iz svojstava kovarijanca slijedi da je kovarijanca između konstante i bilo koje druge slučajne varijable jednaka nuli. Također, kovarijanca

između dvije nezavisne slučajne varijable, kao što su i dvije vrste greške u ovom modelu, iznosi nula. Isto tako, zbog nezavisnosti vrijedi da je  $\text{Cov}(\delta_i, \delta_j) = 0$  i  $\text{Cov}(\varepsilon_{ij}, \varepsilon_{kl}) = 0$ . Iz prethodno navedenih razloga možemo zaključiti da je  $\text{Cov}(y_{ij}, y_{kl}) = 0$ , a obzirom da je koeficijent korelacije između dviju varijabli definiran kao kvocijent njihove kovarijance i produkta njihovih standardnih devijacija, slijedi da je i koeficijent korelacije između  $y_{ij}$  i  $y_{kl}$  jednak nuli.

S druge strane, primjenom ranije navedenih svojstava kovarijance dobivamo da je kovarijanca između dvaju longitudinalnih mjerenja  $y_{ij}$  i  $y_{i(j+1)}$  sljedećeg oblika:

$$\begin{aligned} \text{Cov}(y_{ij}, y_{i(j+1)}) &= \text{Cov}(c_{ij} + \delta_i + \varepsilon_{i(j+1)}, c_{i(j+1)} + \delta_i + \varepsilon_{i(j+1)}) \\ &= \text{Cov}(c_{ij}, c_{i(j+1)}) + \text{Cov}(c_{ij}, \delta_i) + \text{Cov}(c_{ij}, \varepsilon_{i(j+1)}) \\ &\quad + \text{Cov}(\delta_i, c_{i(j+1)}) + \text{Cov}(\delta_i, \delta_i) + \text{Cov}(\delta_i, \varepsilon_{i(j+1)}) \\ &\quad + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, c_{i(j+1)}) + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, \delta_i) + \text{Cov}(\varepsilon_{ij}, \varepsilon_{i(j+1)}) \\ &= \text{Cov}(\delta_i, \delta_i) \\ &= \text{Var}(\delta_i) \\ &= \sigma^2 d, \end{aligned}$$

gdje su  $c_{ij}$  i  $c_{i(j+1)}$  odgovarajuće konstante. Nadalje, kako bismo odredili koeficijent korelacije između  $y_{ij}$  i  $y_{i(j+1)}$ , dovoljno je još izračunati  $\text{Var}(y_{ij})$ :

$$\begin{aligned} \text{Var}(y_{ij}) &= \text{Var}(c_{ij} + \delta_i + \varepsilon_{ij}) \\ &= \text{Var}(c_{ij}) + \text{Var}(\delta_i) + \text{Var}(\varepsilon_{ij}) \\ &= \text{Var}(\delta_i) + \text{Var}(\varepsilon_{ij}) \\ &= \sigma^2 d + \sigma^2 \\ &= \sigma^2(d + 1), \end{aligned}$$

gdje druga jednakost slijedi zbog nezavisnosti  $c_{ij}$ ,  $\delta_i$  i  $\varepsilon_{ij}$ . Sada je koeficijent korelacije između  $y_{ij}$  i  $y_{i(j+1)}$ , kojeg označimo s  $\rho$ , jednak:

$$\rho = \frac{\text{Cov}(y_{ij}, y_{i(j+1)})}{\sqrt{\text{Var}(y_{ij})}\sqrt{\text{Var}(y_{i(j+1)})}} = \frac{\text{Cov}(y_{ij}, y_{i(j+1)})}{\text{Var}(y_{ij})} = \frac{\sigma^2 d}{\sigma^2(d + 1)} = \frac{d}{d + 1}.$$

U nastavku, promotrimo jednu primjenu prijelazne dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta 3.8, opisanu u [3].

**Primjer 3.5.** *Pretpostavimo da želimo odrediti prijelaznu dvostruku eksponencijalnu krivulju koja opisuje volumen sferoida ljudskog LAN-1 neuroblastoma koji je tretiran sa sedam vrsta doza radijacije. Sferoidi se često koriste u medicini za modeliranje tumora jer je moguće dosta precizno procijeniti njihov volumen. Također, uočava se kako su oni responzivni na tretmane, no ponekad nastavljaju rasti neko vrijeme nakon tretmana, što odgovara krivulji 3.8. Dodatno, u ovom modelu uključujemo i normalizirajući faktor koji odražava činjenicu da broj stanica tumora nije proporcionalan volumenu tumora, odnosno da gustoća stanica nije uniformno raspoređena. Pokazuje se da je linearno-kvadratna krivulja preživljenja  $S(D) = e^{-\beta D^2}$  najadekvatnija, obzirom da se radi o tipu tumorskih stanica izrazito responzivnom na terapiju zračenjem. Konačni statistički model koji opisuje logaritam volumena tumora mjerenog u trenutku  $t_{ij}$ , gdje  $j = 1, 2, \dots, 7$  označava dozu radijacije od 0, 3, 5, 7, 9, 11 ili 13*

$Gy$ <sup>6</sup> kojom je tretiran tumor u nultom trenutku glasi:

$$y_{ij} = (A + \delta_j) \ln \left[ e^{-\alpha D_i^2 + \nu t_{ij}} + (1 - e^{-\alpha D_i^2}) \left( e^{-\phi t_{ij}} + \frac{\nu + \phi}{\omega} e^{-\zeta t_{ij}} \sin(\omega t_{ij}) \right) \right] + \varepsilon_{ij}. \quad (3.11)$$

Primijetimo kako se u ovom modelu slučajni učinak pojavljuje u normalizirajućem faktoru, dok su ostali parametri fiksni učinka za sve grupe tretmana.

Naposlijetku navodimo primjer modela Gompertzove prijelazne krivulje ponovnog rasta, također preuzet iz [3].

**Primjer 3.6.** Znanstvenici provode eksperiment na četiri grupe imunosno kompromitiranih miševa kojima je ugrađen ksenograft<sup>7</sup> ljudskog tumora 14 dana prije terapije zračenjem. Tri grupe miševa je na nulti dan primilo dozu zračenja, 3, 5 i 10 Gy, a preostala grupa se smatra kontrolnom grupom. Dobivene podatke moguće je modelirati na sljedeći način.

Pretpostavimo da su početni i maksimalni volumen tumora specifični za svakog miša te ih modeliramo slučajnim efektima. Podatke kontrolne grupe i podatke za svaku od preostale tri grupe miševa prije primljene doze zračenja modeliramo zasebno, koristeći logaritam Gompertzove krivulje koja glasi:

$$y_{ij} = n_{j\infty} - (n_{j\infty} - n_{j0})e^{-\nu t_{ij}} + \varepsilon_{ij},$$

gdje je  $i = 1, 2, \dots, n_j$  broj longitudinalnih mjerenja volumena tumora  $j$ -tog miša, a  $\varepsilon_{ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_\varepsilon^2)$  je greška regresije. Pritom, uzimamo da su početni i maksimalni volumen tumora distribuirani na sljedeći način:

$$\begin{bmatrix} n_{j\infty} \\ n_{j0} \end{bmatrix} \sim \mathcal{N} \left( \begin{bmatrix} n_{j\infty} \\ n_{j0} \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma_\infty^2 & \sigma_{\infty 0} \\ \sigma_{\infty 0} & \sigma_0^2 \end{bmatrix} \right),$$

što daje nelinearni model mješovitih učinaka.

Zatim, podatke o tretiranim tumorima možemo također zasebno opisati Gompertzovom prijelaznom krivuljom ponovnog rasta koja uz iste oznake od ranije glasi:

$$y_{ij} = \ln \left[ e^{n_\infty - (n_\infty - n_{j0})e^{-\nu t} - \alpha D} + e^{n_{j0}} (1 - e^{-\alpha D}) \right. \\ \left. \times \left( e^{-\phi t} + \frac{\nu(n_\infty - n_{j0}) + \phi}{\omega} e^{-\zeta t} \sin(\omega t) \right) \right] + \varepsilon_{ij}. \quad (3.12)$$

<sup>6</sup> Gray (simbolički  $Gy$ ) mjerna je jedinica SI sustava koja se koristi za mjerenje apsorbirane doze ionizirajućeg zračenja. Jedan Gray približno je jednak apsorbiranoj dozi ionizirajućeg zračenja energije u iznosu jednog Joula energije po kilogramu mase ( $J/kg$ ).

<sup>7</sup> Ksenograft je tumorsko tkivo ljudskog pacijenta koje je ugrađeno na laboratorijskog miša u eksperimentalne svrhe. Koristi se za testiranje različitih lijekova ili tretmana protiv raka prije eventualne primjene na samom pacijentu, a korisni su i za razvoj novih lijekova.



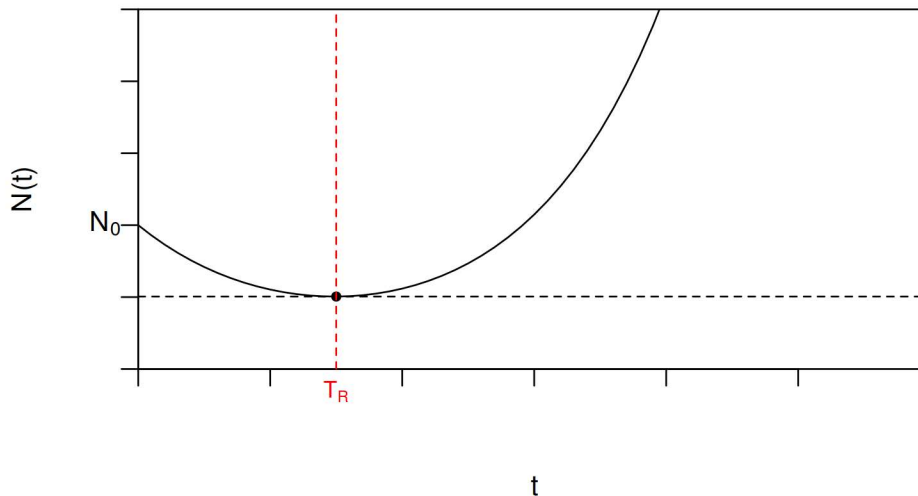
## 4 Mjere ishoda tretmana

Podrazumijeva se da je onaj tretman koji uništi najveći udio tumorskih stanica u najkraćem vremenu, uz što manju štetu na zdravom tkivu, najučinkovitiji. U ovom poglavlju predstaviti ćemo različite mjere ishoda tretmana koje se koriste za ocjenjivanje efikasnosti i međusobnu usporedbu tretmana. Također ćemo opisati kako se provode statistički testovi na tim mjerama ishoda tretmana.

### 4.1 Vrijeme do ponovnog rasta $T_R$

Jedna od mjera ishoda tretmana koja je često od interesa radiobiolozima jest *vrijeme do ponovnog rasta tumora*, koje ćemo označiti s  $T_R$ . Kako ime govori, to je vrijeme nakon tretmana potrebno da tumor počne ponovno rasti. Što je dulje vrijeme do ponovnog rasta tumora, to je djelovanje tretmana na tumor bilo intenzivnije.

Ukoliko trenutak u kojem je primjenjen tretman označimo s  $t_0 = 0$ , tada je  $T_R$  onaj trenutak u kojem krivulja ponovnog rasta postiže minimum. Ovaj se podatak lako očitava sa grafa krivulje ponovnog rasta. Na idućoj slici 10 možemo vidjeti kako vrijeme do ponovnog rasta iščitavamo s grafa krivulje ponovnog rasta kao vrijeme koje odgovara najmanjem broju stanica tumora.



Slika 10: Vrijeme do ponovnog rasta  $T_R$ .

S druge strane, u slučaju dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta 3.4, vrijeme do ponovnog rasta možemo dobiti eksplicitno u terminima parametara krivulje, tako što deriviramo ovu krivulju po  $t$ , a zatim izjednačimo dobiveno s nulom. Izračunato vrijeme do ponovnog rasta iznosi:

$$T_R = \frac{1}{\nu + \phi} \ln \left( \frac{(1 - \theta)\phi}{\theta\nu} \right). \quad (4.1)$$

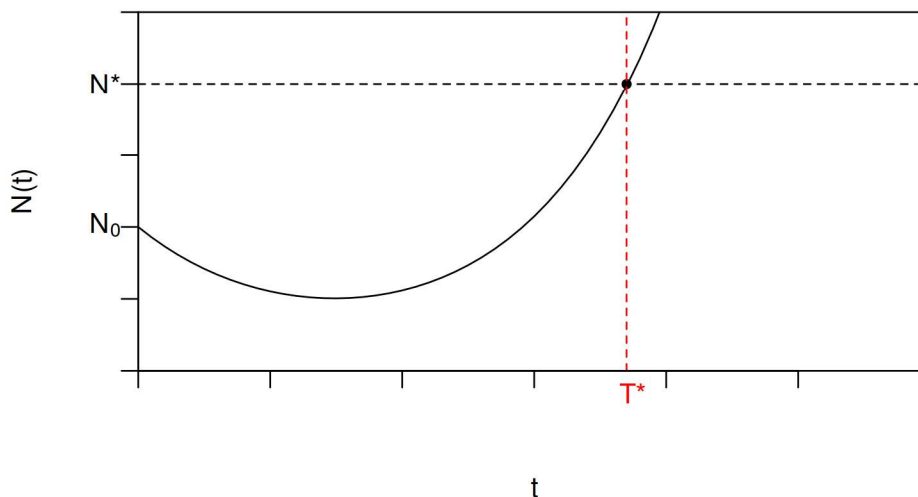
Nadalje, najveći udio preživjelih stanica,  $\theta$ , koji će voditi ka smanjenju tumora ( $T_R > 0$ ) iznosi  $\phi/(\nu + \phi)$ . Za više vrijednosti  $\theta$ , volumen tumora se neće smanjiti.

Dodatno, za udio preživjelih stanica zadan specifičnom krivuljom preživljenja  $S = S(D)$  možemo izračunati minimalnu dozu tretmana potrebnu za postizanje smanjenja tumora. Primjerice, za udio preživjelih stanica dan eksponencijalnom krivuljom preživljenja  $S(D) = e^{-\alpha D}$ , minimalna doza tretmana koja smanjuje veličinu tumora je  $D_0 = \alpha^{-1} \ln(\phi^{-1}(\nu + \phi))$ . Dakle, za doze manje od  $D_0$  rast tumora će usporiti, no to neće prouzrokovati smanjenje tumora.

## 4.2 Vrijeme do postizanja specifične veličine tumora $T_*$

Mjera ishoda tretmana koja često služi za uspoređivanje djelotvornosti različitih tretmana jest *vrijeme do postizanja specifične veličine tumora*, koju označimo s  $T_*$ . Dakle, to je vrijeme potrebno da veličina tumora od trenutka kada je primjenjen tretman,  $t_0 = 0$ , do trenutka  $t = T_*$  dostigne neku specifičnu veličinu  $N_* > N_0$ .

U idealnom slučaju, vrijeme  $T_*$  pronalazimo grafički iščitavanjem trenutka u kojem odgovarajuća krivulja ponovnog rasta dostiže veličinu  $N_*$ , kao na slici 11.



Slika 11: Vrijeme do postizanja veličine  $N_*$ ,  $T_*$ .

Numerički  $T_*$  pronalazimo tako što izjednačimo krivulju  $N(t)$  sa željenom veličinom  $N_*$  te izvedemo odgovarajuće vrijeme  $t = T_*$ . Ponekad je rješenje potrebno izračunati nekom numeričkom metodom, kao što je to slučaj kod dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta 3.4.

Točnije, potrebno je riješiti jednadžbu

$$N_0(\theta e^{\nu t} + (1 - \theta)e^{-\phi t}) = N_*$$

po  $t$  kako bismo dobili traženi  $T_*$ . Međutim, ovu jednadžbu očito ne možemo riješiti egzaktno pa stoga koristimo neku od iterativnih metoda pronalaska rješenja, primjerice Newtonovu metodu. Ova je metoda, opisana sljedećim teoremom.

**Teorem 4.1** ([11]). *Neka funkcija  $f: I \rightarrow \mathbb{R}$  ima neprekidnu drugu derivaciju na intervalu  $I = [a, b]$ . Neka je nadalje,  $f(a) \cdot f(b) < 0$ , a prva i druga derivacija funkcije  $f$  na intervalu*

$I$  imaju stalan predznak. Tada, ako je  $x_0 \in I$  izabran tako da bude  $f(x_0) \cdot f''(x_0) > 0$ , niz definiran s

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f(x_n)}{f'(x_n)}, \quad n = 0, 1, \dots,$$

konvergira prema jedinstvenom rješenju  $\xi$  jednadžbe  $f(x) = 0$ . Pri tome vrijedi ocjena pogreške aproksimacije

$$|\xi - x_n| \leq \frac{M_2}{2m_1}(x_n - x_{n-1})^2,$$

gdje je

$$m_1 = \min_{x \in I} |f'(x)|, \quad M_2 = \max_{x \in I} |f''(x)|,$$

a metoda ima kvadratnu brzinu konvergencije, tj. vrijedi

$$|\xi - x_{n+1}| \leq \frac{M_2}{2m_1}(\xi - x_n)^2.$$

Uz oznaku  $f(t) = N_0(\theta e^{\nu t} + (1 - \theta)e^{-\phi t}) - N_*$  te  $t_n = x_n$ ,  $n = 0, 1, \dots$ , u prethodnom teoremu, slijedi da će za  $t_0 = \nu^{-1} \ln(N_*(\theta N_0)^{-1})$  iteracije

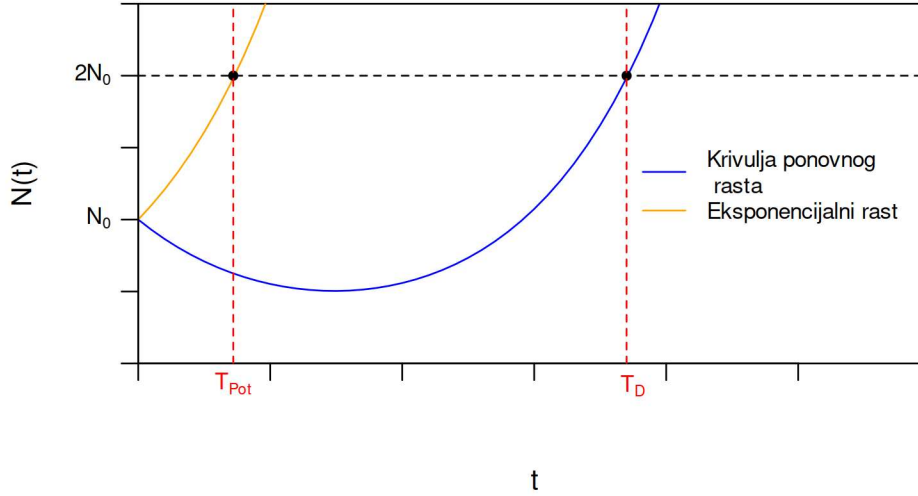
$$t_{n+1} = t_n - \frac{N_0(\theta e^{\nu t_n} + (1 - \theta)e^{-\phi t_n}) - N_*/N_0}{\nu \theta e^{\nu t_n} - \phi(1 - \theta)e^{-\phi t_n}}, \quad n = 0, 1, 2, \dots$$

konvergirati ka rješenju spomenute jednadžbe.

### 4.3 Vrijeme do udvostručenja tumora $T_D$

Još jedna mjera ishoda tretmana koja često zanima znanstvenike jest *vrijeme do udvostručenja tumora*, koje označimo s  $T_D$ . To je vrijeme potrebno da se početna veličina tumora udvostruči. Vrijeme  $T_D$  može se iščitati kao vrijeme u kojem empirijska krivulja rasta tumora siječe pravac  $N(t) = 2N_0$ , kao na slici 12. Isto tako, ovu mjeru možemo smatrati specijalnim slučajem vremena do postizanja specifične veličine tumora, ukoliko stavimo  $N_* = 2N_0$ .

U slučaju eksponencijalnog rasta netretiranog tumora vrijeme do udvostručenja tumora pronalazimo vrlo jednostavno, rješavanjem jednadžbe  $N_0 e^{\nu t} = 2N_0$ . Dobiveno vrijeme,  $T_{pot} = \ln 2 / \nu$ , često se naziva *potencijalno vrijeme do udvostručenja*. Dodatno, korisno je promatrati i omjer  $T_D / T_{pot}$  ovisno o dozi  $D$ , što daje informaciju do koje mjere tretman usporava napredovanje tumora.



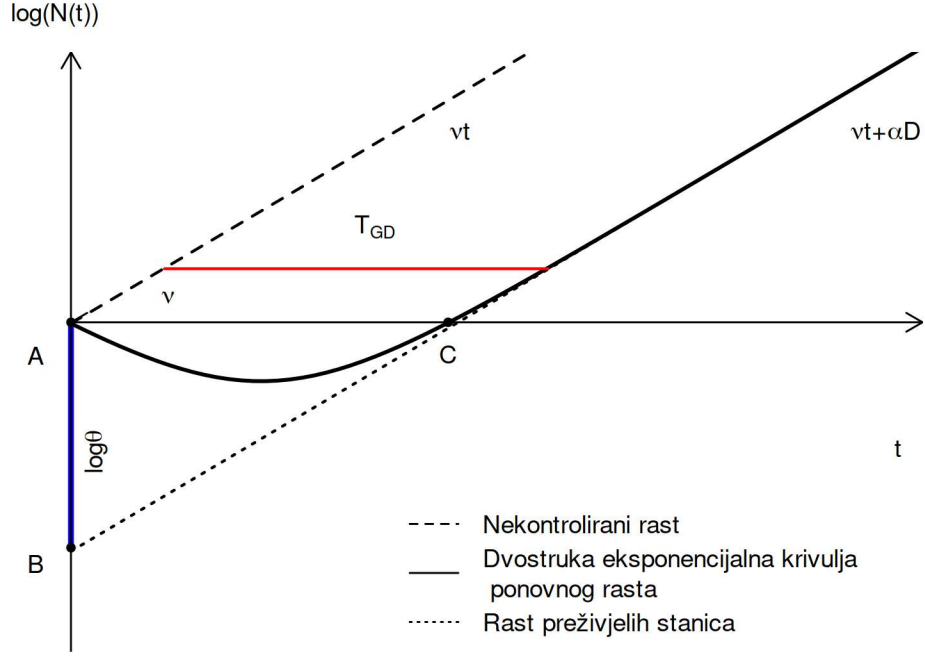
Slika 12: Vrijeme do udvostručenja  $T_D$  u slučaju tretirane i netretirane krivulje.

#### 4.4 Vrijeme odgode eksponencijalnog rasta $T_{GD}$ i udio preživjelih stanica $\theta$

Pretpostavimo da tretirani i netretirani tumor nakon određenog vremena rastu eksponencijalno, podjednakom stopom. Tada vrijeme potrebno da tumor počne ponovno rasti početnom eksponencijalnom stopom nakon tretmana nazivamo *vrijeme odgode eksponencijalnog rasta*, koje označimo s  $T_{GD}$ . Kako slijedi iz [4], u slučaju da tumor postigne eksponencijalni rast nakon vremena do udvostručenja, vrijeme odgode eksponencijalnog rasta možemo definirati kao razliku

$$T_{GD} = T_{D_{TR}} - T_{D_{NTR}},$$

gdje je  $T_{D_{TR}}$  vrijeme do udvostručenja tretiranog tumora, a  $T_{D_{NTR}}$  vrijeme do udvostručenja netretiranog tumora. Kod dvostruke eksponencijalne krivulje 3.4  $T_{GD}$  pronalazimo na grafu logaritmirane krivulje rasta  $N(t)$  kao udaljenost između pravca  $\log N(t) = \nu t$  i pravca  $\log N(t) = -\alpha D + \nu t$ , kao što je demonstrirano na slici 13.



Slika 13: Dvostruka eksponencijalna krivulja ponovnog rasta na logaritamskoj skali s označenim nekontroliranim rastom i odgodom eksponencijalnog rasta  $T_{GD}$ .

Nakon što odredimo vrijeme odgođe eksponencijalnog rasta, moguće je izračunati i udio preživjelih stanica tumora  $\theta$ , odnosno njegov logaritam. Naime, pogledamo li graf 13, vidimo da točka koja odgovara logaritmu početne veličine tumora,  $A$ , točka koja odgovara trenutku  $T_{GD}$ ,  $C$ , te točka u kojoj pravac  $\log(N(t)) = -\alpha D + \nu t$  siječe os ordinatu,  $B$ , čine pravokutni trokut. Štoviše, ordinata točke  $B$  jednaka je suprotnoj vrijednosti logaritma broja preživjelih stanica tumora u trenutku  $t = 0$ , stoga zbog svojstva logaritma razlike, oduzmemo li taj broj od logaritma početnog broja stanica,  $N_0$ , dobivamo logaritam udjela preživjelih stanica,  $\ln \theta$ . Odnosno, vrijedi

$$-\log N_0 \cdot \theta - \log N_0 = -\log \left( \frac{N_0 \cdot \theta}{N_0} \right) = -\log \theta.$$

Također, vrijedi:

$$-\log \theta = T_{GD} \nu, \quad (4.2)$$

obzirom da je koeficijent smjera gornjeg pravca,  $\nu$ , jednak tangensu kuta kojeg taj pravac zatvara s pozitivnim dijelom  $t$  osi, što odgovara omjeru  $\log \theta$  i  $T_{GD}$ .

Iz izraza 4.2 slijedi da je udio preživjelih stanica jednak  $\theta = e^{-\nu T_{GD}}$ . Dakle, za  $T_{GD}$  blizu 0, udio preživjelih stanica je blizu 1, a udio ubijenih stanica blizu 0. Obratno, ukoliko je  $T_{GD}$  veliko, udio stanica ubijenih tretmanom je gotovo 1.

Nadalje, neki autori, poput [4], predlažu sljedeću formulu za modeliranje broja ubijenih stanica:

$$\log_{10}(\text{Broj ubijenih stanica}) = \frac{(T - C) \times 0.301}{T_{D_{NTR}}},$$

gdje su  $T$  i  $C$  medijani vremena potrebnih za postizanje fiksnog volumena, koji iznosi  $\log_{10} 2 = 0.301$ , kod tretirane i kontrolne grupe, tim redom, dok je  $T_{D_{NTR}}$  vrijeme do udvos-

tručenja netretiranog tumora. Međutim, ova formula nije točna u slučaju kada primjena tretmana izostaje. U tom slučaju za  $T = C$  slijedi da je broj ubijenih stanica jednak 1.

Korekcijom te formule, kako slijedi iz [4], uz iste oznake dobivamo točniji izraz za udio ubijenih stanica tumora:

$$\log_{10}(\text{Udio ubijenih stanica}) = \log_{10} \left[ 1 - 10^{-\frac{(T-C) \times 0.301}{T_{D_{NTR}}}} \right].$$

## 4.5 Procjena varijance nekih mjera ishoda tretmana

U slučaju kada se mjere ishoda tretmana mogu izraziti eksplicitno pomoću parametara krivulje ponovnog rasta procjena varijance mjera ishoda lako se dobiva primjenom multivarijantne verzije delta metode.

Po ovoj metodi, kako slijedi iz [10] i [3], ukoliko je  $n$  broj observacija,  $g : \mathbb{R}^p \rightarrow \mathbb{R}$  diferencijabilna funkcija i  $\mathbf{X} = (X_1, \dots, X_p)$  asimptotski normalan slučajni vektor s očekivanjem  $\mathbf{0}$  i matricom kovarijanci  $\Sigma$ , tada je slučajna varijabla  $Y$  definirana kao  $Y = g(\mathbf{X})$  asimptotski normalna slučajna varijabla s očekivanjem nula i matricom kovarijanci  $(\nabla f(\mathbf{X}))^T (\Sigma/n) \nabla f(\mathbf{X})$ .

Primjerice, varijancu vremena do ponovnog rasta dvostruke eksponencijalne krivulje ponovnog rasta 3.5, čiji su parametri procijenjeni kao  $\mathbf{p} = (\hat{\alpha}, \hat{\nu}, \hat{\phi})'$ , a udio preživjelih stanica tumora dan je s  $\theta = e^{-\hat{\alpha}D}$ , možemo izračunati pomoću delta metode. Procjenu vremena do ponovnog rasta dobivamo tako što uvrstimo vektor  $\mathbf{p}$  u formulu za  $T_R$  (4.1):

$$\hat{T}_R = \frac{\ln(e^{\hat{\alpha}D} - 1) + \ln \hat{\phi} - \ln \hat{\nu}}{\hat{\nu} + \hat{\theta}}.$$

Sada po delta metodi slijedi da je varijanca  $\text{Var}(\hat{T}_R)$  približno jednaka

$$\text{Var}(\hat{T}_R) \approx (\nabla \hat{T}_R(\mathbf{p}))^T (\Sigma/n) \nabla \hat{T}_R(\mathbf{p}),$$

gdje je  $\Sigma$  matrica kovarijance parametra  $\mathbf{p}$  i  $n$  broj observacija.

## 4.6 Statističko testiranje mjera ishoda tretmana

Nakon procjene parametara modela i izračuna mjera ishoda tretmana, dodatno se provode statistički testovi kako bismo mogli pouzdano tumačiti dobivene rezultate. U nastavku ćemo objasniti primjenu opsežnog  $F$ -testa, koji se koristi za statističko testiranje cijelog spektra linearnih hipoteza vezanih za mjere ishoda različitih tretmana. Zatim, definiramo model eksponencijalnog rasta s fiksnim vremenom ponovnog rasta i objašnjavamo na koji se način koristi za testiranje udjela preživjelih stanica. Naposljetku, objašnjavamo pojam sinergijskog efekta.

Pretpostavimo da želimo testirati linearnu hipotezu koja je zadana pomoću nekih parametara iz generalnog linearnog modela s poznatom varijancom, koji glasi:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{e}, \quad \mathbf{e} \sim \mathcal{N}(\mathbf{0}, \sigma^2 \mathbf{V}), \quad (4.3)$$

gdje je  $\sigma^2$  nepoznata, no matrica  $\mathbf{V}$  je poznata i nesingularna. Matrica  $\mathbf{X}$  je  $n \times m$  matrica dizajna punog ranga. Želimo testirati linearnu hipotezu

$$H_0 : \mathbf{C}\boldsymbol{\beta} = \mathbf{0},$$

nasuprot alternativne hipoteze  $H_A : \mathbf{C}\boldsymbol{\beta} \neq \mathbf{0}$ , gdje je  $\mathbf{C}$  fiksna  $q \times m$  matrica punog ranga, takva da je  $q \leq m$ .

Pomnožimo li model 4.3 sa  $\mathbf{V}^{-1/2}$ , dobivamo jednadžbu

$$\tilde{\mathbf{y}} = \tilde{\mathbf{X}}\boldsymbol{\beta} + \tilde{\mathbf{e}},$$

gdje je  $\tilde{\mathbf{y}} = \mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{y}$ ,  $\tilde{\mathbf{X}} = \mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{X}$  i  $\tilde{\mathbf{e}} = \mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{e}$ . Kako slijedi iz [6], procjenitelja za parametar  $\boldsymbol{\beta}$ ,  $\tilde{\boldsymbol{\beta}}$ , takvog da vrijedi

$$\begin{aligned}\tilde{\boldsymbol{\beta}} &= \left(\tilde{\mathbf{X}}'\tilde{\mathbf{X}}\right)^{-1}\tilde{\mathbf{X}}'\tilde{\mathbf{y}} \\ &= \left(\left(\mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{X}\right)' \left(\mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{X}\right)\right)^{-1}\left(\mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{X}\right)' \left(\mathbf{V}^{-1/2}\mathbf{y}\right) \\ &= \left(\mathbf{X}'\mathbf{V}^{-1}\mathbf{X}\right)^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{V}^{-1}\mathbf{y},\end{aligned}$$

nazivamo *generalizirani procjenitelj najmanjih kvadrata (GLS)* parametra  $\boldsymbol{\beta}$ . Štoviše, on je efikasan nepristran linearan procjenitelj parametra  $\boldsymbol{\beta}$  s minimalnom varijancom.

Zatim, definiramo rezidualne sume kvadrata:

$$\begin{aligned}RSS &= (\mathbf{y} - \mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\beta}})'\mathbf{V}^{-1}(\mathbf{y} - \mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\beta}}), \\ RSS_0 &= (\mathbf{y} - \mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\beta}}_0)'\mathbf{V}^{-1}(\mathbf{y} - \mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\beta}}_0),\end{aligned}$$

gdje je  $RSS$  minimum rezidualne sume iz težinske metode najmanjih kvadrata, a  $\hat{\boldsymbol{\beta}}$  je pripadni *GLS* procjenitelj.  $RSS_0$  je minimum rezidualne sume iz težinske metode najmanjih kvadrata pod restrikcijom  $H_0 : \mathbf{C}\boldsymbol{\beta} = \mathbf{0}$ , a  $\hat{\boldsymbol{\beta}}_0$  je odgovarajući *GLS* procjenitelj. Tada, pod uvjetom istinitosti nul-hipoteze vrijedi

$$\frac{(RSS_0 - RSS)/q}{RSS/(n - m)} \sim \mathcal{F}(q, n - m).$$

Statistički test koji se temelji na ovoj test-statistici naziva se *F*-test, a on omogućava testiranje mnogobrojnih hipoteza o  $\boldsymbol{\beta}$ . Za generalizaciju ovog testa za modele s mješovitim efektima pogledati primjerice [9].

U nastavku ćemo predstaviti nešto jednostavniji oblik modela eksponencijalnog rasta, koji je pogodan za testiranje različitih statističkih hipoteza. Glavne pretpostavke ovog modela su sljedeće:

1. Stopa rasta tretiranog i netretiranog tumora postaje jednaka nakon određenog vremena  $T^*$  poslije tretmana,
2. Vrijeme  $T^*$  je poznato.

Odnosno, pretpostavljamo da je nakon vremena  $T^* = C$  stopa rasta tretiranog tumora jednaka eksponencijalnoj stopi rasta netretiranog tumora,  $\nu$ .

Kao što je objašnjeno u jednom od prijašnjih poglavlja, udio preživjelih stanica jedna je od najčešće korištenih mjera ishoda tretmana koja služi za usporedbu efikasnosti različitih režima liječenja tumora. Logaritmiranjem modela kojeg navodimo u nastavku slobodni član postaje upravo logaritam udjela preživjelih stanica tumora, koji označimo s  $h$ . Tada efektivnost tretmana možemo testirati korištenjem linearne statističke hipoteze.

Pretpostavimo da posjedujemo podatke o veličini tumora životinja koje su podijeljene u tri grupe:  $A$  i  $B$ , koje su primile tretman nultog dana ( $t = 0$ ), te kontrolnu grupu koja nije primila nikakav tretman. Pretpostavimo je stopa nekontroliranog rasta  $\nu$  jednaka za sve

grupe i označimo s  $T^*$  dan kada tretirani tumor dostiže tu stopu rasta. Neka  $j$  označava grupu kojoj životinja pripada te neka  $0$  označava kontrolnu grupu, a  $1$  i  $2$  označavaju grupe  $A$  i  $B$ , tim redom. Nadalje, označimo s  $h_1$  i  $h_2$  udjele preživjelih stanica tumora grupa  $A$  i  $B$ , tim redom. Podatke grupa  $A$  i  $B$  te kontrolne grupe objedinit ćemo modelom koji sadrži indikator varijable. Stoga, definiramo varijable  $d_{i1}$  i  $d_{i2}$  na sljedeći način:

$$d_{i1} = \begin{cases} 1, & i\text{-ta životinja pripada grupi } A, \\ 0, & \text{inače.} \end{cases}$$

$$d_{i2} = \begin{cases} 1, & i\text{-ta životinja pripada grupi } B, \\ 0, & \text{inače.} \end{cases}$$

Tada model koji opisuje logaritam volumena tumora,  $i$ -te životinje iz grupe  $j = 0, 1, 2$  u trenutku  $t$  gledanom od trenutka  $t^*$  glasi:

$$y_{ijt_{ij}} = h_0 + h_1 d_{i1} + h_2 d_{i2} + \nu t_{ij} + \varepsilon_{ij}. \quad (4.4)$$

Vidimo kako je ovo klasični multivarijantni regresijski model gdje sve greške nezavisne i imaju jednaku varijancu. Za procjenu parametara ovog modela bismo koristili samo podatke nakon trenutka  $T^*$  grupa  $A$  i  $B$  te sve podatke kontrolne grupe.

Kako slijedi iz modela 4.4, za  $i$ -tu životinju iz kontrolne grupe vrijedi  $y_{i0t_{i0}} = h_0 + \nu t_{i0} + \varepsilon_{i0t_{i0}}$ , gdje je  $h_0$  logaritam volumena tumora kontrolne grupe. Zatim, za  $i$ -tu životinju iz grupe  $A$  vrijedi jednadžba  $y_{i1t_{i1}} = h_0 + h_1 + \nu t_{i1} + \varepsilon_{i1t_{i1}}$ , gdje je  $h_1$  logaritam volumena preživjelih stanica iz grupe  $A$ , a slično vrijedi i za životinje grupe  $B$ .

Udio preživjelih stanica možemo dobiti kao omjer volumena preživjelih stanica i volumena stanica kontrolne grupe, stoga je logaritam udjela preživjelih stanica tumora grupe  $A$  jednak  $h_1 - h_0$ , a isto je jednako  $h_2 - h_0$  za grupu  $B$ .

Nešto kompliciranija verzija modela 4.4 uključuje slučajne efekte. Primjerice, prikladno je pretpostaviti da su slobodni članovi specifični za životinju i pojedinu grupu, što daje model sljedećeg oblika:

$$y_{ijt_{ij}} = h_0 + h_1 d_{i1} + h_2 d_{i2} + \nu t_{ij} + \delta_i + \tau_j + \varepsilon_{ijt_{ij}},$$

gdje pretpostavljamo da su  $\delta_i \sim \mathcal{N}(0, \sigma_\delta^2)$ ,  $\tau_j \sim \mathcal{N}(0, \sigma_\tau^2)$  i  $\varepsilon_{ijt_{ij}} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_\varepsilon^2)$  međusobno nezavisni.

Pomoću različitih mjera ishoda tretmana koje su zadane kao funkcije parametara modela moguće je testirati razne linearne statističke hipoteze, koristeći ranije opisani  $F$ -test. Primjerice ukoliko nas u modelu 4.4 zanima je li razlika između stope preživljenja grupe  $A$  i stope preživljenja kontrolne grupe statistički značajna, testirali bismo nul-hipotezu  $H_0 : h_1 = 0$  nasuprot alternativne hipoteze  $H_1 : h_1 \neq 0$ . Slično, za testiranje različitosti grupa  $A$  i  $B$ , testirali bismo nul-hipotezu  $H_0 : h_1 = h_2$  nasuprot alternativne hipoteze  $H_1 : h_1 \neq h_2$ . S druge strane, moguće je testirati statističku značajnost razlike u vremenima udvostručenja veličine tumora grupa  $A$  i  $B$  koju također testiramo nul-hipotezom  $H_0 : h_2 = h_1$ , obzirom da su vremena udvostručenja grupa  $A$  i  $B$  jednaka  $(\ln 2 - h_1)/\nu$  i  $(\ln 2 - h_2)/\nu$ , tim redom.

## 4.7 Sinergijski efekt

U većini slučajeva liječenje tumora sastoji se od kombinacije različitih lijekova/terapija. Cilj liječnika je odrediti koja je kombinacija tretmana optimalna za nekog pacijenta. Također, često je relevantan problem odgonetnuti je li terapijski efekt intenzivniji ukoliko se tretmani primjene odvojeno ili zajedno, odnosno, ima li neka kombinacija tretmana *sinergijski efekt*.



**Definicija 4.1.** [3] Kažemo da dva tretmana primjenjena u kombinaciji imaju sinergijski efekt ukoliko je udio preživjelih stanica kombiniranog tretmana manji, nego produkt udjela preživjelih stanica nakon tretmana koji su primijenjeni odvojeno.

Pretpostavimo da su  $A$  i  $B$  dva različita tretmana koja uništavaju stanice raka. Također, označimo s  $SF_1$  udio preživjelih stanica raka nakon tretmana  $A$ , a s  $SF_2$  udio preživjelih stanica raka nakon tretmana  $B$ , gdje su tretmani  $A$  i  $B$  primijenjeni odvojeno. Sada, ukoliko primijenimo tretman  $B$  nakon tretmana  $A$ , udio preživjelih stanica glasi  $SF_1 \cdot SF_2$ , obzirom da tretmanom  $B$  djelujemo samo na stanice koje prežive tretman  $A$ . Zamijenimo li redoslijed tretmana, dobivamo isti udio preživjelih stanica, kako je  $SF_1 \cdot SF_2 = SF_2 \cdot SF_1$ . Neka je  $SF_3$  udio preživjelih stanica nakon kombinirane istovremene terapije tretmana  $A$  i  $B$ .

Jedna mjera intenziteta sinergijskog učinka je *relativni sinergijski efekt (RSE)* kojeg definiramo kao

$$RSE = \frac{SF_1 \cdot SF_2 - SF_3}{SF_1 \cdot SF_2} 100\%.$$

U slučaju da je  $RSE$  blizu 100% kombinirani tretman gotovo u potpunosti uništava tumor. S druge strane, kada je  $RSE$  blizu 0% učinak odvojene i kombinirane primjene tretmana približno je jednak. Također,  $RSE$  postiže negativne vrijednosti kada je kombinirani tretman manje učinkovit od pojedinačnih tretmana.

Također, moguće je testirati sinergijski efekt korištenjem modela 4.4, koji smo opisali na početku poglavlja. Konkretno, pretpostavimo da su članovi  $h_1, h_2$  i  $h_3$  logaritmi udjela preživjelih stanica nakon odvojenih tretmana  $A, B$  i kombiniranog tretmana  $C$ , tim redom. Sinergijski efekt postoji ukoliko je udio preživjelih nakon kombiniranog tretmana manji nego kod pojedinačnih tretmana. Kako je logaritam produkta udjela preživjelih stanica jednak sumi tih udjela, sinergijski efekt postoji ukoliko vrijedi  $h_3 < h_1 + h_2$ , dok je u suprotnome  $h_3 = h_1 + h_2$ . Dakle, postojanje sinergijskog efekta možemo testirati koristeći nul-hipotezu  $H_0 : h_3 = h_1 + h_2$ , nasuprot alternativne hipoteze  $H_1 : h_3 < h_1 + h_2$ .

## Literatura

- [1] H. BROWN, R. PRESCOTT, *Applied mixed models in medicine*, John Wiley & Sons, 2015.
- [2] D. M. BATES, M. J. LINDSTROM, *Nonlinear mixed effects models for repeated measures data*, *Biometrics*, 46(1990), 673-687.
- [3] E. DEMIDENKO, *Mixed models: Theory and Applications with R*, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2013.
- [4] E. DEMIDENKO, *Three endpoints of in vivo tumour radiobiology and their statistical estimation*, *International Journal of Radiation Biology*, 86/2(2010), 164-173.
- [5] M. M. ELKIND, *The initial part of the survival curve: does it predict the outcome of fractionated radiotherapy?*, *Radiation research*, 114/3(1988), 425-436.
- [6] B. E. HANSEN, *Econometrics*, Princeton University Press, New Jersey, 2022.
- [7] H. KNOLLE, *Cell kinetic modelling and the chemotherapy of cancer*, Vol. 75, Springer Science & Business Media, Berlin, 2013.
- [8] A. K. LAIRD, *Dynamics of Tumour Growth*, *British journal of cancer*, 18/3(1964), 490.
- [9] C. E. MCCULLOH, S. R. SEARLE, *Generalized, linear, and mixed models*, John Wiley & Sons, New York, 2004.
- [10] C. R. RAO, *Linear Statistical Inference and its Applications Second Edition*, John Wiley & Sons, New York, 2001.
- [11] R. SCITOVSKI, *Numerička matematika*, Sveučilište J. J. Strossmayera, Odjel za matematiku, Osijek, 2004.
- [12] G. A. F. SEBER, C. J. WILD, *Nonlinear Regression*, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2003.
- [13] G. W. SWAN, *Optimization of Human Cancer Radiotherapy*, Springer Science & Business Media, Berlin, 2013.

## Sažetak

U ovom radu predstavljene su krivulje ponovnog rasta tumora koje se koriste za opisivanje tumora tretiranih zračenjem ili nekim lijekom.

U prvom su poglavlju definirane klasične krivulje rasta, kojima modeliramo monotoni rast tumora: logistička, Gompertzova, Von Bertalanffyjeva krivulja te krivulja koja ih objedinjuje - Richardsova krivulja. Zatim su definirane različite krivulje preživljenja.

U drugom poglavlju predstavljamo tri različite krivulje ponovnog rasta i njihova moguća proširenja na modele mješovitih efekata te navodimo neke primjene ovih krivulja.

U posljednjem poglavlju navodimo neke mjere ishoda tretmana i objašnjavamo prikladne statističke testove.

**Ključne riječi:** krivulje ponovnog rasta tumora, klasične krivulje rasta, krivulje preživljenja, modeli mješovitih efekata, mjere ishoda tretmana, sinergijski učinak

# Tumor regrowth curves

## Summary

In this thesis we present tumor regrowth curves which are used to describe the growth of tumors that are treated with radiation or with some kind of drug.

In the first chapter, we define classical growth curves which are used to model monotone growth of tumors: the logistic, the Gompertz and the Von Bertalanffy curve, and the curve that unifies them all - the Richards curve. After that, we define different survival curves.

In the second chapter, we present three different tumor regrowth curves and their possible extensions to mixed effects models. We list some applications of these curves.

In the last chapter, we list some treatment endpoints and explain the appropriate statistical tests.

**Keywords:** tumor regrowth curves, classic growth curves, survival curves, mixed effects model, treatment endpoints, synergistic effect

## Životopis

Rođena sam 5.11.1996. godine u Osijeku. Osnovnoškolsko obrazovanje stekla sam u Osnovnoj školi Jagode Truhelke u Osijeku. Potom sam stekla srednjoškolsko obrazovanje u III. gimnaziji u Osijeku. Obrazovanje sam nastavila na preddiplomskom studiju matematike na Odjelu za matematiku Sveučilišta J.J.Strossmayera u Osijeku kojeg sam završila 2019. godine sa završnim radom pod nazivom "Newton-Cotesove kvadrature formule". Nakon preddiplomskog studija matematike upisala sam diplomski studij financijske matematike i statistike na istom Odjelu.