



Technische Universiteit Delft
Faculteit Elektrotechniek, Wiskunde en Informatica
Delft Institute of Applied Mathematics

**Semi-stochastisch model voor de groei van een
tumor met interventie van T-cellen**

Verslag ten behoeve van het
Delft Institute of Applied Mathematics
als onderdeel ter verkrijging

van de graad van

**BACHELOR OF SCIENCE
in
TECHNISCHE WISKUNDE**

door

MERIJN VAN ES

**Delft, Nederland
April 2014**



BSc verslag TECHNISCHE WISKUNDE

“Semi-stochastisch model voor de groei van een tumor met interventie van T-cellen”

MERIJN VAN ES

Technische Universiteit Delft

Begeleider

Dr.ir. F.J. Vermolen

Overige commissieleden

Prof.dr.ir. A.W. Heemink

Dr.ir. M. Keijzer

April, 2014

Delft

Voorwoord

Dit verslag is het resultaat van mijn bachelorproject aan de TU Delft. Dr.ir. Fred Vermolen zag er, als begeleider, op toe dat het onderzoek in de juiste richting werd geleid. Hierin gaf hij mij voldoende vrijheid om zelfstandig keuzes te mogen maken, waardoor ik met veel plezier dit project heb kunnen afronden. Ook wil ik Wietse Boom, Linda Crapts, Liselot Arkesteijn en Rune van der Meijden noemen voor hun verrichtte onderzoek naar dit onderwerp, in de vorm van een bachelorproject. Waarin met name de onderzoeken van de twee laatst genoemden de basis vormen van dit bachelorproject. Tot slot wil ik de lezer veel plezier wensen bij het inzien van dit verslag!

Samenvatting

Door mutatie kan er in het menselijk lichaam een kankercel ontstaan. Onder normale omstandigheden reageert het lichaam hierop door de kankercel onschadelijk te maken. Toch komt het voor dat een adequate reactie van het lichaam uitblijft, waardoor de kankercel zich kan gaan delen. Zo kan er een tumor ontstaan van een formaat die schadelijk is voor het omliggende weefsel. Het kan zelfs zo erg worden dat de tumor gaat drukken tegen een bloedvat en er zo kankercellen in de bloedbaan terecht komen. Met als gevolg dat de kankercellen zich ergens anders in het lichaam kunnen vestigen en zich daar kunnen voortdelen. Dit noemt men uitzaaiing.

Zodra er uitzaaiingen ontstaan is de kanker veel moeilijker te behandelen, de kankercellen kunnen zich tenslotte over heel het lichaam verspreiden. Een plaatselijke behandeling is dan niet meer voldoende en moeten er zware behandelingen zoals chemotherapie gebruikt worden. Dit wordt door de patiënt als zeer slopend ervaren, aangezien de chemotherapie niet alleen de kankercellen doodt, maar ook gezonde cellen doodt. Omdat een dergelijke behandeling het lichaam zelf ook aantast, kan er niet frequent genoeg een kuur plaatsvinden. Er is dus nog een grote kans dat de patiënt uiteindelijk aan de kanker komt te overlijden. Om de overlevingskansen te vergroten is het dus van belang om eventuele uitzaaiingen voor te zijn, zodat er een efficiëntere plaatselijke behandeling kan worden toegepast.

Door middel van simulatie kan men een idee krijgen hoe door verandering van parameters de groei van een tumor gestremd kan worden en zo uitzaaiing kan worden uitgesteld. Ook kan worden bekeken hoe de tumor reageert op bepaalde medicijnen. Een simulatie blijft een benadering van de werkelijkheid, maar het kan zeer nuttige resultaten geven die gebruikt kunnen worden voor het onderzoek naar de genezing van kanker.

Om een dergelijke simulatie te kunnen uitvoeren is er een realistisch model nodig die deze aspecten bevat. In dit verslag proberen we stappen te nemen om misschien in de toekomst ooit tot zo'n realistisch model te komen. Allereerst verdiepen we ons in de biologie achter de groei van een tumor en het immuunsysteem. Met de verkregen kennis stellen we een wiskundig model op. Het model bekijkt cellen in het menselijk lichaam, waarin een tumor kan ontstaan. Door het gebruik van numerieke methoden is het mogelijk een simulatie in de tijd te maken. We behandelen zowel een tweedimensionaal (2D) als een driedimensionaal (3D) model. Sommige onderdelen worden als stochastisch bekeken om een zo realistisch mogelijk resultaat te krijgen. In het model worden drie verschillende cellen gemodelleerd, namelijk:

- Gezonde cellen
- Kankercellen
- T-cellen (een type wittebloedcel die schadelijke lichaamsvreemde deeltjes op ruimen, zoals kankercellen)

Tenslotte zullen we bekijken wat voor invloed het veranderen van bepaalde parameters heeft op de interventie van T-cellen binnen de simulatie.

Inhoudsopgave

Voorwoord	i
Samenvatting	iii
1 Inleiding	1
1.1 Probleemstelling	1
1.2 Biologische achtergrond	1
1.2.1 Celmigratie	1
1.2.2 Celcyclus	2
1.2.3 Celdeling en celsterfte	3
1.2.4 Tumorcellen	3
1.2.5 Immuunsysteem	3
2 Wiskundig model	5
2.1 Algemene eigenschappen	5
2.2 Beweging van cellen	6
2.2.1 Actieve migratie	6
2.2.2 Passieve migratie	8
2.2.3 Mitotische cellen & kankercellen	9
2.2.4 Bewegingsrischting	10
2.2.5 Bewegingsvergelijking	10
2.3 Levensloop van een cel	10
2.3.1 Celcyclus	10
2.3.2 Apoptose	13
2.4 Externe druk	14
2.4.1 Invloed op groei	15
2.4.2 Invloed op celsterfte	15
2.5 Kankercellen	15
2.5.1 Celcyclus	16
2.5.2 Uitzaaing	17
2.5.3 Concentratie cytokinen uitgescheiden door kankercellen	17
2.6 T-cellen	18
2.6.1 Leven binnen het substraat	18
2.6.2 Beweging	18
2.7 3-Dimensionaal substraat	19
3 Numerieke methode	21
3.1 Beweging	21
3.2 Groei en deling	22

3.3	Integratie cytokineconcentratie	22
3.4	Parameter waarden	25
4	Simulatie	27
4.1	Tweecellig model	27
4.2	Koloniegroei	29
4.2.1	3D	30
4.3	Gedrag T-cellen	33
4.4	Simulatie vanuit gezond weefsel	35
4.4.1	3D	35
5	Conclusie	39
6	Discussie	41
	Bibliografie	43
	Appendices	45
A	Wiskundige toevoegingen	47
A.1	Definitie van een Brownse beweging	47
A.2	Euler voorwaarts	47
A.3	Modified Euler	47
B	Matlab-code	49
B.1	Hoofdprogramma	49
B.2	Hulpprogramma's	63

1 Inleiding

1.1 Probleemstelling

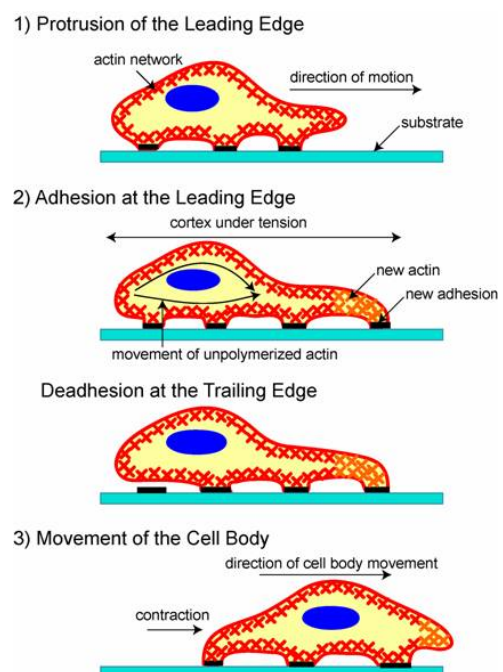
Er is nooit sprake geweest van een duidelijke probleemstelling. Dit onderzoek levert slechts een kleine bijdrage op het totaalbeeld; tumorgroei op een zo realistisch mogelijke wijze modelleren. Het is de bedoeling dat dit verslag een stap zet in de richting van een uitgebreide implementatie van het immuunsysteem, waar in vorige werken vooral de nadruk gelegd is op de celbiologie.

1.2 Biologische achtergrond

Ons lichaam bestaat uit cellen. Deze cellen liggen in de extracellulaire matrix, wat bestaat uit langgerekte vezelachtige eiwitten die structuur en stevigheid bieden. Dit kan gezien worden als de leefomgeving van de cellen en zullen we vanaf nu aanduiden met het woord substraat. Door de eiwitten in het substraat vast te pakken blijft een cel op zijn plaats.

1.2.1 Celmigratie

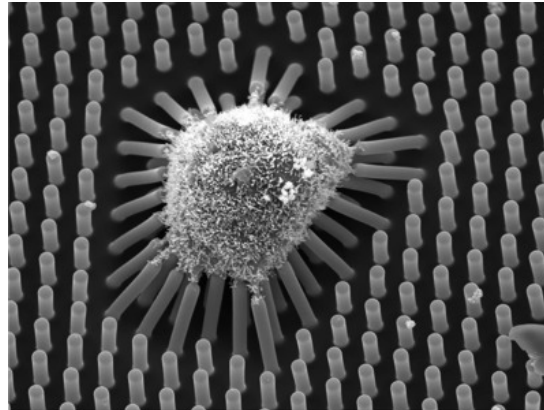
Cellen hoeven niet altijd op dezelfde plek te blijven, ze kunnen namelijk bewegen (vaktaal: migreren). Onder invloed van chemische en fysische signalen die door de cel worden opgevangen, zal deze zich gaan bewegen in de richting van de gradiënt van de signaalsterkte (of juist er vanaf, afhankelijk van het signaal). De cellen bewegen zich op een 'kruipende' manier voort [5]. Dit doen ze door telkens een stukje substraat in de bewegingsrichting vast te pakken en een stukje substraat van achter los te laten, wat in figuur 1.1 is te zien. In de celbiologie wordt onderscheid gemaakt tussen twee vormen van beweging, namelijk: actieve migratie en passieve migratie. Hier zullen we iets uitgebreider op ingaan.



Figuur 1.1: Een cel migreert door middel van een lopende beweging. [5]

Actieve migratie

Met actieve migratie bedoelen we de beweging die voorkomt uit de signalen van omliggende cellen. Dit kunnen chemische stoffjes zijn die worden uitgescheiden, maar cellen communiceren onderling ook door aan het substraat te trekken. Een levende cel oefent namelijk een trekracht uit op het substraat, zie figuur 1.2, met als gevolg dat het substraat zich vervormd onder de spanning die er ontstaat. Een naburige cel wordt door deze vervorming naar die cel toe getrokken. Omdat de buurcel zelf ook aan het substraat trekt, zullen de twee cellen naar elkaar toe gaan kruipen.



Figuur 1.2: Een cel, van ongeveer $15\mu\text{m}$ in diameter, trekt aan een kunstmatig gemodificeerd microsubstraat. [7]

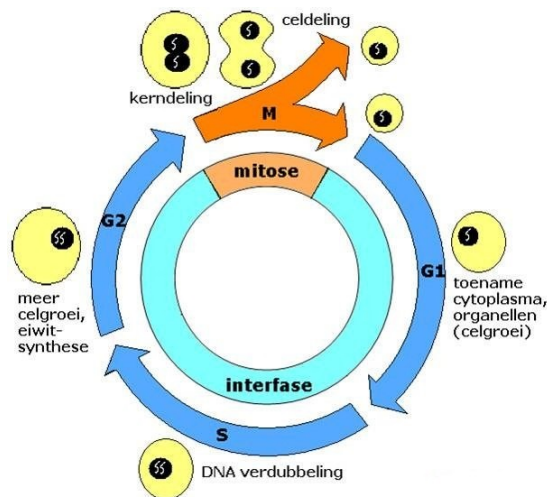
Pasieve migratie

Wanneer twee cellen naar elkaar toe blijven bewegen zullen ze uiteindelijk tegen elkaar botsen. De cellen zullen zich bij een botsing indeuken, waardoor er een afstotende kracht ontstaat. Als deze kracht groter is dan de kracht die ontstaat onder actieve migratie, dan zullen de cellen zich van elkaar af gaan bewegen totdat de kracht onder actieve migratie weer de dominante kracht wordt.

1.2.2 Celcyclus

In ons lichaam vinden continu celdelingen plaats. Om tot een celdeling te komen moet een cel eerst een cyclus doorlopen. Behalve geslachtscellen doorloopt iedere cel met een celkern, ook wel eukaryotische cellen genoemd, dezelfde cyclus. Dit type cel gaan we verder bekijken. Bij deze cellen kan de celcyclus worden verdeeld in de interfase en de mitose. Tijdens de interfase bereidt de cel zich voor op de celdeling die in de mitotische fase plaatsvindt. De interfase kunnen we weer opsplitsen in de G1-, S- en G2-fase, op eenzelfde manier wordt de mitose ook wel aangeduid als de M-fase. In de volgorde van doorlopen, zie ook de figuur 1.3, bespreken we de vier genoemde fasen [6]:

- G1-fase: de eerste tussenfase, waarin extra cytoplasma en eiwitten gemaakt worden;
- S-fase: de synthesefase, waarin het DNA uit de celkern verdubbeld wordt door replicatie;
- G2-fase: de tweede tussenfase, waarin extra stoffen voor de celdeling aangemaakt worden;
- M-fase: de mitose, waarin de celdeling plaatsvindt.



Figuur 1.3: Een cel doorloopt de eerste drie fasen, de interfase, van de celcyclus, om zich tenslotte in de mitose op te delen in twee nieuwe cellen.

1.2.3 Celdeling en celsterfte

Het menselijk lichaam, in feite elk meercellig organisme, stuurt de celdeling aan op plekken waar dat nodig is. Op die manier kan het lichaam bijvoorbeeld wondheling reguleren: cellen gaan zich sneller delen zodat de wond dicht kan groeien. Evenzo wordt de sterfte van cellen door het lichaam gereguleerd. Onnodige of ongewenste cellen kunnen zichzelf afbreken, wanneer de 'geprogrammeerde celdood' geactiveerd wordt. In de biologie noemt men dit apoptose. Onder normale omstandigheden zal het lichaam de celdeling en celsterfte zo aansturen dat de celpopulatie stabiel blijft.

1.2.4 Tumorcellen

Tijdens de celcyclus die voorafgaat aan de celdeling kan er een foutje, mutatie, ontstaan in het gekopieerde DNA. Zo kan het DNA van één van de twee cellen na de celdeling verkeerde informatie bevatten. Vaak heeft dit geen ernstige (in schaarse gevallen zelfs positieve) gevolgen en treedt de cel in apoptose. De cel zal sterven en daarna worden opgeruimd. De kans bestaat echter dat de mutatie optreedt in het gen dat de celdeling en celsterfte regelt. In dat geval is het mogelijk dat de cel zich ongecontroleerd gaat delen, waaruit een kankergezwell, ook wel tumor, ontstaat. Men maakt onderscheid tussen goed- en kwaadaardige tumoren. Waar een goedaardige tumor alleen kleine schade aanricht, kan een kwaadaardige tumor een orgaan volledig vernietigen en zich verspreiden naar andere weefsels. Als er sprake is van een kwaadaardige tumor spreekt men van de ziekte kanker.

1.2.5 Immuunsysteem

Ons immuunsysteem verdedigt ons tegen ziekteverwekkers van buitenaf. Verscheidene cellen en moleculen werken samen om virussen en bacteriën in ons lichaam op te sporen en te elimineren. Daarbij heeft het immuunsysteem nog een andere functie, die in dit onderzoek vooral belangrijk is, namelijk het opruimen van zieke lichaamseigen cellen, zoals kankercellen. Het immuunsysteem kan op verschillende manieren reageren op kankercellen. Om het enigszins overzichtelijk te houden bekijken we slechts één specifieke manier. Dit is de reactie van het lichaam met behulp van T-lymfocyten, die ook wel T-cellen genoemd worden.

Een lymfocyt is een type leukocyt (ook wel: witte bloedcel) waartoe de T-cel behoort. Witte bloedcellen bevinden zich in de bloedbaan en maken deel uit van het immuunsysteem. Een andere cel in ons afweersysteem is de antigeenpresenterende cel (APC), deze is van essentieel belang voor het functioneren van de T-cellen. De antigeenpresenterende cellen bevinden zich overal in het lichaam, waar ze cytokinen, een type eiwit, opnemen die door cellen worden uitgescheiden. De APC knipt de opgenomen cytokinen in kleine stukjes, dit noemen we antigenen, om deze vervolgens aan de T-cellen te presenteren. Elke T-cel kan precies één specifiek lichaamsvreemd antigeen herkennen, als dit het geval is zal de T-cel de cellen die het betreffende antigeen bezitten proberen te indentificeren en daarna te doden. Elke cel scheidt cytokinen uit, zo ook een kankercel. Toch hoeven de T-cellen een kankercel niet altijd als lichaamsvreemd te beschouwen, een kankercel is tenslotte een lichaamseigencel die een mutatie bezit. In dat geval faalt het immuunsysteem, op deze manier, om de kankercel te elimineren.

Ons immuunsysteem bezit nog een aantal andere methoden om een kankercel te onschadelijk te maken, bijvoorbeeld met B-cellen. Pas als een kankercel het gehele afweersysteem weet te omzeilen, kan er een tumor ontstaan. [3]

2 Wiskundig model

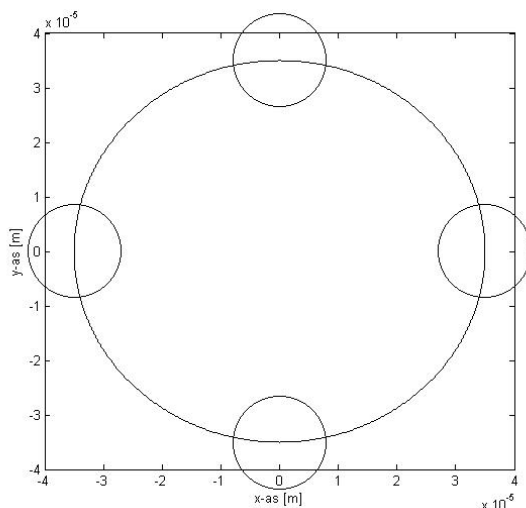
Op basis van de verkregen biologische kennis kunnen we een wiskundig model opzetten voor de groei van een tumor. In dit hoofdstuk wordt er behandeld hoe we aan een dergelijk model gekomen zijn. We zullen beginnen een tweedimensionaal model over de beweging van cellen te beschrijven. Vanuit die basis laten we zien hoe het model stap voor stap kan worden uitgebreid tot een model dat rekening houdt met gezonde cellen, wittebloedlichaampjes en kankercellen, maar ook met bijvoorbeeld celsterfte en celdeling. Uiteindelijk zullen we laten zien hoe het 2D-model aangepast kan worden naar een 3-dimensionaal model.

2.1 Algemene eigenschappen

We bekijken een tweedimensionaal substraat waarin cellen leven, biologisch gezien kan dit bijvoorbeeld het weefsel van een longblaasje zijn (wat één cel dik is). Voor het substraat kiezen we een circelvormig vlak

$$\Omega = \{(x, y) \in \mathbb{R}^2 : x^2 + y^2 \leq R_w^2\}$$

met R_w de straal van het substraat. Verder beschouwen we het substraat als homogeen en isotoop, wat respectievelijk inhoudt dat ieder punt van het substraat dezelfde eigenschappen heeft en de eigenschappen in elke richting gelijk zijn. We nemen aan dat bloedvaten het substraat op vier punten raakt: noord b_1 , oost b_2 , zuid b_3 en west b_4 . Dit is in figuur 2.1 weergegeven. Deze bloedvaten zijn circelvormig met een straal R_b .



Figuur 2.1: Het substraat met de vier bloedvatwanden.

Voor de cellen nemen we aan dat het hele bollen zijn met een gegeven straal, waarvan het middelpunt op het vlak wordt geprojecteert. In werkelijkheid zijn cellen niet noodzakelijk bolvormig, maar varieert hun vorm onder bepaalde invloeden van beweging en botsing. Eigenlijk bekijken we dus 3D cellen in een 2D substraat. De grootte van de celpopulatie kan door celdeling en celsterfte veranderen in de tijd. We laten $m(t)$ het aantal cellen waaruit de kolonie bestaat op tijdstip t . Een celkolonie op tijdstip t bestaat dan uit $m = m(t)$ cellen en elke cel $i \in \{1, \dots, m\}$ heeft een positie op tijdstip t :

$$\mathbf{r}_i(t) = \begin{bmatrix} x_i(t) \\ y_i(t) \end{bmatrix}$$

Hier zijn $x_i(t)$ en $y_i(t)$ de positie van projectie van het middelpunt van de cel op respectievelijk de x en y-as. Omdat de straal van een cel variabel is in het model, zeggen we dat R_0 en $R_{\max} = 2^{\frac{1}{3}} R_0$ respectievelijk de minimale en de maximale straal is die een cel kan aanemen.

2.2 Beweging van cellen

Zoals besproken in de inleiding verdelen we de beweging van cellen onder in twee categoriën: actieve en passieve migratie. We bespreken de interpretatie van deze twee vormen van migratie in ons model en stellen daarmee een bewegingsvergelijking op. We maken hierbij gebruik van het onderzoek van Gefen en Vermolen in [1] en [2].

2.2.1 Actieve migratie

Cellen oefenen een trekkracht uit op het substraat, dit veroorzaakt een vervorming. Nu nemen we aan dat de vervorming relatief klein is en vanwege de eerder aangenomen homogeniteit kunnen we stellen dat de elasticiteit van het substraat $E_s(\mathbf{r}_i)$ in elk punt $\mathbf{r}_i$ gelijk is, er volgt $E_s(\mathbf{r}_i) = E_s$. We mogen nu de wet van Hooke gebruiken:

$$\sigma = E_s \epsilon$$

waar σ de normaalspanning en ϵ de rek is. Door de rek wordt er potentiële energie opgeslagen in het substraat. Zij M_i^0 de potentiële energie dichtheid in het punt $\mathbf{r}_i$ als gevolg van de trekkracht F_i die de cel i uitoefent (we zien de cel als een puntbron in haar middelpunt $\mathbf{r}_i$), dan volgt er dat

$$M_i^0 = \frac{1}{2} \sigma \epsilon = \frac{1}{2} E_s \epsilon^2$$

Als A_i de oppervlakte van de projectie van de cel op het substraat en R_i de straal van de cel is, dan geldt er voor de spanning:

$$\sigma = \frac{F_i}{A_i} = \frac{F_i}{\pi R_i^2}$$

De trekkracht is lineair evenredig met de oppervlakte van een cel. Stel we weten $\hat{F}$, de trekkracht is die hoort bij de minimale straal R_0 van een cel (direct na een celdeling), dan geldt voor een levende cel $F_i = \hat{F} \left(\frac{R_i}{R_0}\right)^2$. Voor een dode cel geldt altijd dat $F_i = 0$. Invullen geeft:

$$\sigma = \frac{\hat{F} R_i^2}{\pi R_i^2 R_0^2} = \frac{\hat{F}}{\pi R_0^2}$$

Uit de wet van Hooke halen we dat $\epsilon = \frac{\sigma}{E_s}$. Dit passen we toe in de formule voor de potentiële energie dichtheid verwekt door cel i in haar middelpunt:

$$M_i^0 = \frac{\hat{F}^2}{2\pi^2 E_s R_0^4}$$

Merk op dat $\hat{F}$, E_s en R_0 constanten zijn en dus de potentiële energie dichtheid ook constant is.

Signaalsterkte

Door het toedoen van cel j is er door vervorming energie opgeslagen in het substraat. De vervorming is het grootst in het celcentrum, daar wordt dan ook het hoogste mechanische signaal gemeten. Naarmate de afstand tot het middelpunt van de cel groter wordt zal de vervorming minder worden en daarmee het mechanische signaal zwakker. Als $\lambda_j = \frac{E_s}{E_{c_j}}$ de verhouding is tussen de elasticiteit van het substraat E_s en de elasticiteit van de cel E_{c_j} , waar we de elasticiteit voor elke cel i als gelijk beschouwen ($E_{c_j} = E_c, \forall j \in \{1, \dots, m\}$), dan benaderen we de potentiële energie dichtheid opgewekt door cel i in positie $\mathbf{r} \in \Omega$ met:

$$M_j(\mathbf{r}) = M_j^0 \exp \left\{ -\lambda_j \frac{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j\|}{R_j} \right\}$$

Energie is een scalaire grootte, derhalve kan het mechanische signaal van verschillende cellen dat wordt opgevangen in een bepaald punt bij elkaar worden opgeteld. In een punt $\mathbf{r} \in \Omega$ is de totale potentiële energie dichtheid:

$$M(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^n M_j(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^n M_j^0 \exp \left\{ -\lambda_j \frac{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j\|}{R_j} \right\}$$

In figuur 2.2 is $M_j(\mathbf{r})$ uitgezet tegen $\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j\|/R_j$. Op de celwand, waar $\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j\|/R_j = 1$, is $M_j(\mathbf{r})$ verwaarloosbaar klein vergeleken met de positie van het celcentrum, waar $\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j\|/R_j = 0$. Hieruit volgt dat $M(\mathbf{r}_i) \approx M_i(\mathbf{r}_i) = M_i^0$, hiermee kunnen we later afleiden dat alle cellen die geen passieve migratie ondergaan zich met ongeveer dezelfde snelheid voortbewegen.

Detectiedrempel

Nu kan het zijn dat sommige cellen ver genoeg van een cel i liggen, dat de cel het mechanische signaal niet meer opvangt. Daarom introduceren een detectiedrempel ϵ voor de rekenergie dichtheid. Wanneer geldt dat

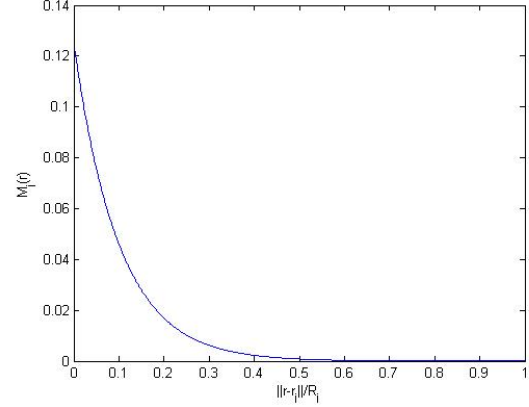
$$M_j(\mathbf{r}_i) = M_j^0 \exp \left\{ -\lambda_j \frac{\|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\|}{R_j} \right\} < \epsilon$$

zeggen we dat cel i het signaal van cel j niet meer detecteert en dat $M_j(\mathbf{r}_i) = 0$. Reinhart-King vond hierbij in [4] een maximale afstand waarop cellen elkaars signaal konden detecteren, namelijk $\hat{d} = 30\mu\text{m}$. Deze afstand vonden ze voor een substraat met een elasticiteit van $E_s = 5.0\text{kPa}$ en een cel-elasticiteit van $E_c = 0.5\text{kPa}$. We kunnen nu een functie definiëren

$$\mathbb{1}_{\|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\| \leq \hat{d}} = \begin{cases} 1, & \text{als } \|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\| \leq \hat{d} \\ 0, & \text{als } \|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\| > \hat{d} \end{cases}$$

zodat we de detectiedrempel kunnen toepassen in het model. De potentiële energie dichtheid die werkt op cel i schrijven we dan als volgt:

$$M(\mathbf{r}_i) = \sum_{j=1}^n M_j(\mathbf{r}_i) = \sum_{j=1}^n M_j^0 \exp \left\{ -\lambda_j \frac{\|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\|}{R_j} \right\} \mathbb{1}_{\|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\| \leq \hat{d}}$$



Figuur 2.2: Uitdemping van het signaal.

2.2.2 Passieve migratie

Bij contact tussen twee cellen deuken de celwanden in, wat voor een afstotende kracht zorgt. In ons model houden we geen rekening met vervorming van de cellen door indeuking. Om de bijdrage aan de potentiële energiedichtheid mee te nemen bekijken we de overlapping van beide cellen tot elkaar en hoe groter de overlapping hoe groter de afstotende kracht moet zijn. Zij $h = \frac{1}{2} \max\{0, R_i + R_j - \|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j\|\}$ de afstand van de celkern van beide cellen i en j ($i \neq j$) zich indeuken, is de bijdrage van de afstotende kracht in termen van potentiële energie gelijk aan:

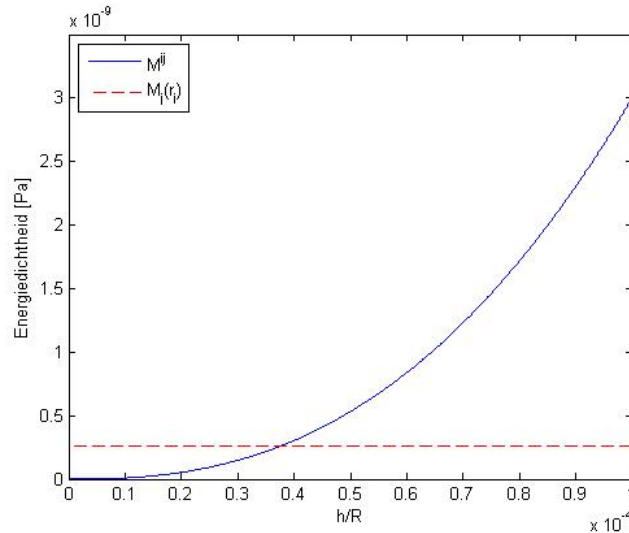
$$M^{ij} = \frac{4E_c}{15\sqrt{2}\pi} \left(\frac{h}{R_i} \right)^{\frac{5}{2}} \quad (2.1)$$

Omdat de afstotende kracht tegengesteld werkt, ten aanzien van de potentiële energiedichtheid verkregen door actieve migratie, trekken we deze er vanaf :

$$\hat{M}_j(\mathbf{r}_i) = M_j(\mathbf{r}_i) - M^{ij}$$

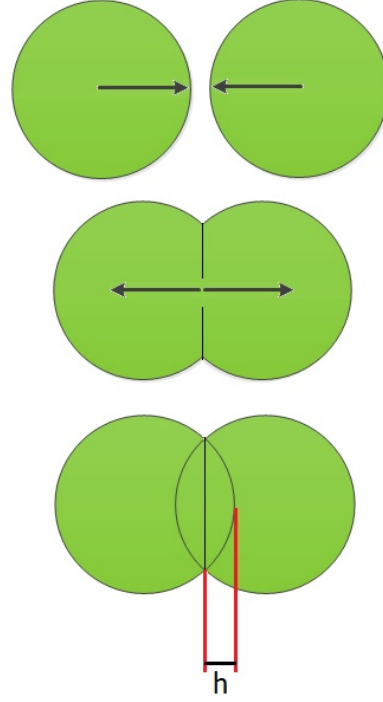
Figuur 2.3: Twee cellen botsen tegen elkaar aan.

Het snijpunt ligt in figuur 2.4 waar $M_j(\mathbf{r}_i) = M^{ij}$, de waarde van h/R is een stabiel evenwicht voor hoever de cellen zullen indeuken. Aangezien deze indeuking relatief aan de straal R nihil is, kunnen we zeggen dat op dit evenwicht $h \approx 0$, en daarom de celcentra op een afstand van ongeveer $2R$ moeten liggen in het ideale geval.



Figuur 2.4: De potentiële energiedichtheden bij een botsing van twee cellen met gelijke straal.

Het is ook mogelijk dat een cel tegen de substraatwand aan botst. In dat geval zeggen we dat een botsing met substraatwand de zelfde reactie geeft als een botsing met een andere cel. Zij



$h_w = \frac{1}{2} \max\{0, \|\mathbf{r}_i\| + R_i - R_w\}$ de afstand van het celcentrum tot de indeuking met de celwand van cel i , dan volgt:

$$M_{\text{wand}}^i = \frac{4E_c}{15\sqrt{2}\pi} \left(\frac{h_w}{R_i} \right)^{\frac{5}{2}} \quad (2.2)$$

Door de keuze van het substraat, met de bijbehorende bloedvaten is het ook mogelijk voor een cel om tegen een bloedvatwand aan te botsen. Stel een cel raakt de bloedvatwand van bloedvat $b \in \{b_1, b_2, b_3, b_4\}$ aan, omdat de bloedvaten ver genoeg uit elkaar liggen kan de cel niet nog een ander bloedvat raken. We zeggen dat dit een bijdrage aan de potentiële energiedichtheid levert van (dit is een nieuw resultaat vergeleken met [1] en [2]):

$$M_b^i = \frac{4E_c}{15\sqrt{2}\pi} \left(\frac{h_b}{R_i} \right)^{\frac{5}{2}}$$

waar $h_b = \frac{1}{2} \max\{0, R_i + R_b - \|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_b\|\}$. Als de cel geen bloedvat aanraakt, dan geldt er dat $M_b^i = 0$. T-cellen worden hierbij speciaal behandeld omdat deze binnen de bloedvaten ontstaan (zie paragraaf 2.6 voor meer informatie), daarom kiezen we:

$$\zeta_i = \begin{cases} 0, & \text{als } i \text{ een T-cel is met } \|r_b - r_i\| \leq R_b + R_{\text{T-cel}}/2 \\ 1, & \text{anders} \end{cases}$$

Dit gebruiken we zodat T-cellen die met de helft of meer van de straal binnen een bloedvat wand liggen geen uitwaartse kracht krijgen. Voor de totale potentiële energiedichtheid van een cel i , met zowel de actieve als passieve migratie in achtnemend, geldt er:

$$M(\mathbf{r}_i) = M_{\text{wand}}^i + \zeta_i M_b^i + M_i^0 + \sum_{j=1, j \neq i}^n |\hat{M}_j(\mathbf{r}_i)|$$

De absolute waarde van $\hat{M}_j(\mathbf{r}_i)$ is nodig, aangezien de potentiële energiedichtheid per cel alleen een positieve bijdrage kan leveren.

2.2.3 Mitotische cellen & kankercellen

Voor cellen in mitose en kankercellen moeten we een extra aanpassing doen, want deze bewegen niet door actieve migratie. Deze cellen leveren nog wel een bijdrage aan de potentiële energiedichtheid van omliggende cellen, omdat ze wel aan het substraat blijven trekken. De buurcellen zelf hebben dus alleen nog invloed op de beweging van mitotische cellen en kankercellen, door botsingen (passieve migratie). Om dit in ons model te verwerken hebben we de volgende functie nodig:

$$\phi_i = \begin{cases} 0, & \text{als cel } i \text{ een kankercel is of in mitose is} \\ 1, & \text{als cel } i \text{ geen kankercel is en niet in mitose is} \end{cases}$$

Nu kunnen we de formule voor de totale potentiële energiedichtheid van een willekeurige cel i geven als:

$$M(\mathbf{r}_i) = M_{\text{wand}}^i + \zeta_i M_b^i + M_i^0 + \sum_{j=1, j \neq i}^n |\phi_i M_j(\mathbf{r}_i) - M^{ij}|$$

2.2.4 Bewegingsrischting

Voor de bewegingsrichting van cel i nemen we het gewogen gemiddelde van alle richtingen waaruit deze mechanische signalen opvangt, met de bijbehorende rekenergiedichtheid het gewicht:

$$\mathbf{z}_i = -M_{\text{wand}}^i \frac{\mathbf{r}_i}{\|\mathbf{r}_i\|} - \zeta_i M_b^i \frac{\mathbf{r}_b - \mathbf{r}_i}{\|\mathbf{r}_b - \mathbf{r}_i\|} + \sum_{j=1, j \neq i}^n (\phi_i M_j(\mathbf{r}_i) - M^{ij}) \frac{\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i}{\|\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i\|}$$

Wanneer $\|\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i\| = 0$ voor een zeker paar (i, j) , waar $i \neq j$, zeggen we dat de bijdrage nul is. Omdat we hier puur en alleen een richting nodig hebben, normeren we $\mathbf{z}_i$ voor het gewenste resultaat:

$$\hat{\mathbf{z}}_i = \frac{\mathbf{z}_i}{\|\mathbf{z}_i\|}$$

2.2.5 Bewegingsvergelijking

De beweging van een cel kunnen we volgens opschrijven als een differentiaal vergelijking van de vorm

$$\mathbf{r}_i'(t) = \alpha_i M(\mathbf{r}_i) \hat{\mathbf{z}}_i \quad (2.3)$$

waar $\alpha_i = \frac{\beta_i R_i^3 F_i}{\mu \tilde{F}^2}$ een parameter is die de mobiliteit van een cel aangeeft, met eenheid $\left[\frac{\text{m}^3}{\text{Ns}}\right]$. Hier is μ de wrijvingscoëfficiënt van de cel en β_i $[\text{m}^{-1}]$ de mobiliteitsparameter van de cel over het oppervlak van het substraat. Merk op dat anders dan in [1] en [2] traagheid niet in het model wordt meegenomen. Dit doen we omdat de bijdrage relatief klein is en geen groot verschil gaf wanneer deze werd verwaarloosd.

2.3 Levensloop van een cel

Om een zo realistisch mogelijk resultaat te krijgen, nemen we de celcyclus mee in het model. We achten celdeling afhankelijk van de celcyclus, wat afwijkt van [1] en [2], waar een volledig stochastische deling verondersteld wordt. Hierbij is het Bsc.-verslag van Rune van der Meijden [9] gevolgd, die hier uitgebreid onderzoek naar heeft gedaan. Verder behandelen we ook celsterfte in de vorm van apoptose.

2.3.1 Celcyclus

Zoals eerder beschreven hebben we vier fases waarin een cel zich kan bevinden, kort de G1-, S-, G2- en de M-fase. We nemen elke fase mee in het model en de fase van een cel houdt de gegeven volgorde aan. We doen de volgende aannamens op basis van de biologische kennis:

1. **G1-fase:** Fase direct na de deling. De straal van de cel groeit van R_0 tot R_C . De cel beweegt onder zowel actieve als passieve migratie. Verwachte duur T_{G1} .
2. **S-fase:** De cel wacht tot de cel mag doorgroeien in G2. De cel beweegt onder zowel actieve als passieve migratie. Verwachte duur T_S .
3. **G2-fase:** Tweede groeifase. De straal van de cel groeit van R_C tot R_{max} . De cel beweegt onder zowel actieve als passieve migratie. Verwachte duur T_{G2} .
4. **M-fase:** Mitose vindt plaats. De cel deelt zich in twee, de nieuwe cellen hebben beiden straal R_0 . Er vindt geen actieve migratie plaats, alleen passieve migratie. Verwachte duur T_M .

Voor het overzicht kan men kijken in tabel 2.1. Verder is het voor een cel mogelijk te sterven ongeacht de fase, meer informatie op sectie 2.3.2. Zij T_C de verwachte duur van een cel om de gehele cyclus te doorlopen, dan geldt $T_C = T_{G1} + T_S + T_{G2} + T_M$.

	Actieve migratie	Passieve migratie	Verwachte duur	Straal
G1-fase	Ja	Ja	T_{G1}	R_0 tot R_C
S-fase	Ja	Ja	T_S	$\pm R_C$
G2-fase	Ja	Ja	T_{G2}	$\pm R_C$ tot $R_{\max}$
M-fase	Nee	Ja	T_M	$R_{\max}$

Tabel 2.1: Informatie van het model over de verschillende fasen binnen de celcyclus.

Groei

We veronderstellen dat de groei bestaat uit een deterministische en stochastische component. Voor het deterministische deel construeren we de functie

$$\gamma_i = \begin{cases} 1, & \text{als cel } i \text{ in G1 of G2-fase} \\ 0, & \text{als cel } i \text{ in S of M-fase} \end{cases}$$

zodat we een differentiaalvergelijking kunnen opstellen, waarin $\kappa > 0$ een constante voor de groeisnelheid:

$$\frac{dR_i}{dt} = \gamma_i \kappa$$

Hier zit een afhankelijkheid van de fase in, voor het stochastische deel nemen we aan dat deze onafhankelijk is van de fase waarin de cel zich bevindt. We gebruiken een eendimensionale Brownse beweging $W(t)$, zie appendix A.1, zodat:

$$dR_i = \gamma_i \kappa dt + \sigma dW(t) \quad (2.4)$$

met σ de standaarddeviatie van de onzekerheid. Omdat $\mathbb{E}(dW(t)) = 0$ en de groei in beide groeifasen als gemiddeld even snel wordt verondersteld volgt er dat verwachte groeisnelheid gelijk is aan de constante:

$$\kappa = \frac{R_{\max} - R_0}{T_{G1} - T_{G2}}$$

S-fase

Een cel i gaat van de G1-fase naar de S-fase, zodra deze een straal $R_i \geq R_C$ heeft bereikt. De cel ondervindt dan geen constante groei meer ($\gamma_i = 0$), de onzekerheid $\sigma dW(t)$ blijft daarentegen wel. Dan volgt er uit (2.4) dat:

$$dR_i = \sigma dW(t)$$

Elke cel blijft een periode in de S-fase om vervolgens in de G2-fase door te groeien. We veronderstellen dat de duur van het verblijf van een cel in de S-fase stochastisch is met een verwachte duur T_S . Zij $T_{S,i}$ de verblijfsduur van cel i in de S-fase, dan:

$$\mathbb{E}[T_{S,i}] = T_S \quad (2.5)$$

Stel de grootte van de tijdstap Δt is constant en zij N het aantal tijdstappen die we uitvoeren, dan is de totaal gesimuleerde tijd gelijk aan $T_N = N\Delta t(n)$. Zij $P_{G2}(\Delta t)$ de kans waarmee een

cel per tijdstap van de S-fase naar de G2-fase gaat. Dan is de kans, dat de verblijfsduur van een cel i in de S-fase precies gelijk aan T_N is, gegeven door de geometrische verdeling:

$$P(T_{S,i} = N\Delta t) = (1 - P_{G2}(\Delta t))^{N-1} P_{G2}(\Delta t)$$

De verwachting van het aantal tijdstappen is nu gegeven door:

$$\mathbb{E}[N] = \frac{1}{P_{G2}(\Delta t)}$$

Er volgt dat de verwachte tijdsduur van een cel i in de S-fase gelijk is aan:

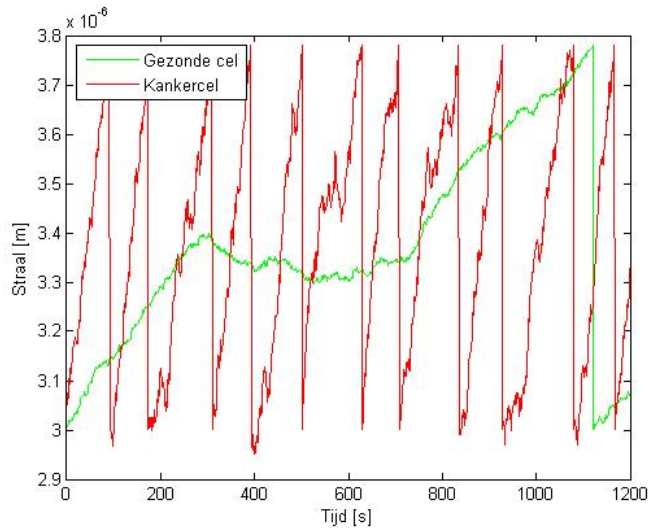
$$\mathbb{E}[T_{S,i}] = \sum_{n=1}^{\infty} T_n P(T_{S,i} = n\Delta t) = \sum_{n=1}^{\infty} n\Delta t (1 - P_{G2}(\Delta t))^{n-1} P_{G2}(\Delta t) = \Delta t \mathbb{E}[N] = \frac{\Delta t}{P_{G2}(\Delta t)}$$

Als we dit resultaat samenvoegen met de aanname uit vergelijking (2.5), dan krijgen we:

$$P_{G2}(\Delta t) = \frac{\Delta t}{T_S}$$

Mitose

Een cel komt in de mitotische fase als deze in de G2-fase de maximale straal $R_{\max}$ heeft bereikt. Groei in elke vorm (zowel stochastisch als deterministisch) is niet meer aan de orde, de straal blijft gelijk aan $R_{\max}$ gedurende het gehele verblijf in de M-fase. Een mitotische cel migreert alleen nog passief, de implementatie hiervan is reeds behandeld in 2.2.3. Omdat de tijdsduur in vergelijking tot de andere fases miniem is, nemen we aan dat $T_M = \Delta t$. Dit maakt de informatie die we nodig hebben voor de simulatie van celgroei compleet. In figuur 2.5 een korte simulatie van de groei van een gezonde cel en een kankercel in de tijd gedaan. Duidelijk is dat de gezonde cel in de S-fase komt waar de kankercel deze overslaat.



Figuur 2.5: De cyclus van een gezonde cel en een kankercel gesimuleerd in de tijd, met de fasetijden uit tabel 3.2. De cyclus is uitgedrukt in de straal van de cel.

De celdeling tijdens de M-fase laten we plaatsvinden aan het eind van de tijdstap, de moeder-cel deelt zich dan op in twee dochtercellen met beiden straal R_0 . De positie van de middelpunten

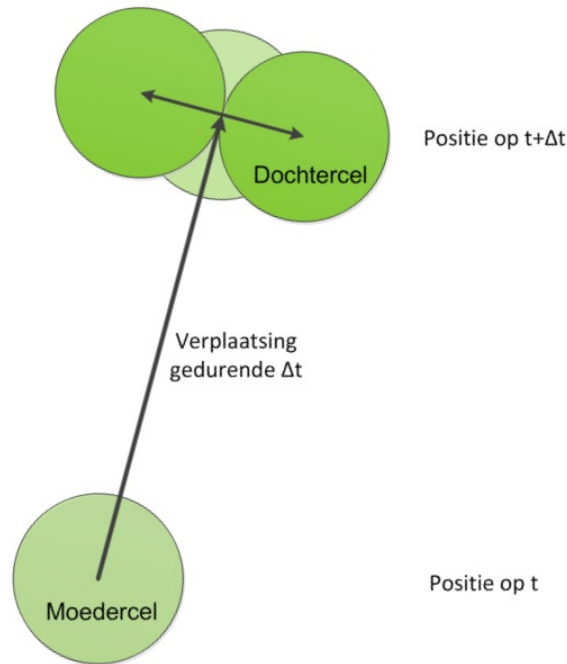
van de twee dochtercellen noemen we $\mathbf{r}_{i,a}(t + dt)$ en $\mathbf{r}_{i,b}(t + dt)$. De exacte positie van deze twee punten wordt bepaald aan de hand van de positie die moedercel zou hebben als er geen celdeling zou plaatsvinden, deze positie noemen we $\tilde{\mathbf{r}}_i(t + dt)$. We laten $\mathbf{r}_{i,a}(t + dt)$ en $\mathbf{r}_{i,b}(t + dt)$ op een afstand δR_0 van $\tilde{\mathbf{r}}_i(t + dt)$ liggen, waarin δ een constante vermenigvuldigingsfactor is. Beide dochtercellen zullen precies de tegenovergestelde richting op gaan, waar we zeggen dat dochtercel a richting $\hat{\mathbf{u}}_i$ op gaat. We willen dat elke richting evenveel kans heeft, daarom kiezen we $\theta_i \sim U(0, 1)$, waar $U(0, 1)$ de uniforme verdeling op het interval $[0, 1]$ is. Laat de richting zijn:

$$\hat{\mathbf{u}}_i(t) = \begin{bmatrix} \cos(2\pi\theta_i) \\ \sin(2\pi\theta_i) \end{bmatrix}$$

Dan zeggen we dat de positie van de twee dochtercellen na de celdeling gelijk is aan:

$$\mathbf{r}_{i,a}(t + dt) = \tilde{\mathbf{r}}_i(t + dt) + \delta R_0 \hat{\mathbf{u}}_i(t + dt)$$

$$\mathbf{r}_{i,b}(t + dt) = \tilde{\mathbf{r}}_i(t + dt) - \delta R_0 \hat{\mathbf{u}}_i(t + dt)$$



Figuur 2.6: De moedercel verplaatst zich gedurende de tijdstap, vanuit deze positie deelt zij zich in twee nieuwe cellen.

2.3.2 Apoptose

Aanvankelijk laten we drukafhankelijkheid achterwege in het model met apoptose, op deze manier kunnen we apoptose als volledig stochastisch beschouwen. Op basis van de gemiddelde duur van de celcyclus, T_C , en de verdubbelingstijd van de celkolonie, T_2 , willen we de kans op sterfte van een cel per tijdstap binnen de discretisatie berekenen. Zij $P_{\text{apt}}(\Delta t)$ nu de kans op het sterven van een cel binnen een tijdsinterval Δt . We willen dat in deze discretisatie de kans op sterven

binnen de tijd $T_n = n\Delta t$ onafhankelijk is van de grootte van de tijdstap Δt . Daarom kunnen we stellen dat de kans dat een cel het tijdsinterval $[0, T_n]$ overleeft gelijk moet zijn aan:

$$1 - P_{\text{apt}}(n\Delta t) = (1 - P_{\text{apt}}(\Delta t))^n$$

Stel nu dat dit tijdsinterval de lengte heeft van de gemiddelde duur van de celcyclus, $T_n = T_C$, dan volgt er simpelweg dat de kans waarmee een cel de hele celcyclus overleeft gelijk is aan:

$$1 - P_{\text{apt}}(T_C) = (1 - P_{\text{apt}}(\Delta t))^{\frac{T_C}{\Delta t}} \quad (2.6)$$

Laat $m(t)$ het aantal cellen binnen de celkolonie op tijdstip t en zij $m(t_0) = m_0 > 0$. Stel nu dat $t_0 = 0$, dan is de verwachting voor het aantal cellen na een periode T_C gelijk aan:

$$\mathbb{E}[m(T_C) \mid m(0) = m_0] = 2 \cdot (1 - P_{\text{apt}}(T_C)) \cdot m_0 \quad (2.7)$$

Omdat we er vanuit gaan dat in het model zonder celdruk de celkolonie groeiend is, bekijken we slechts $P_{\text{apt}} < \frac{1}{2}$. In dat geval volgt er dat voor elke $t_0 \geq 0$ geldt:

$$\mathbb{E}[m(t_0 + T_2) \mid m(t_0) = m_0] = 2m_0 \quad (2.8)$$

Met behulp van de eerder genoemde vergelijkingen (2.7) en (2.8) kunnen we zien dat:

$$\mathbb{E}[m(T_2) \mid m(0) = m_0] = \{2 \cdot (1 - P_{\text{apt}}(T_C))\}^{\frac{T_2}{T_C}} \cdot m_0 = 2m_0$$

Hieruit volgt dat:

$$1 - P_{\text{apt}}(T_C) = 2^{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)T_C}$$

Uit de vergelijking (2.6) volgt:

$$1 - P_{\text{apt}}(\Delta t) = 2^{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)T_C \frac{\Delta t}{T_C}} = 2^{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)\Delta t}$$

En zo verkrijgen we de kans op apoptose over een tijdsinterval Δt :

$$P_{\text{apt}}(\Delta t) = 1 - 2^{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)\Delta t} \quad (2.9)$$

2.4 Externe druk

Tot nu toe hebben we de druk die cellen onderling creëren door tegen elkaar aan te liggen niet meegenomen in celgroei en -sterfte. In werkelijkheid heeft dit wel degelijk invloed op zowel de groei als de apoptose. Namelijk hoe groter de totale druk op een cel, hoe minder snel deze zal groeien en hoe groter de kans dat deze zal sterven. Om dit in het model te verwerken zullen we eerst de totale celdruk definiëren. We gaan er van uit dat de omliggende cellen, j , en de celwand een bijdrage kunnen leveren op de celdruk van een cel i . We gebruiken voor de druk van omliggende cellen vergelijking (2.1) voor M^{ij} en vergelijking (2.2) voor de celwand M_{wand}^i . Dan stellen we dat de totale celdruk, gemeten in Pa, in cel i gelijk is aan:

$$\Lambda_i = M_{\text{wand}}^i + M_b^i + \sum_{j=1, j \neq i}^n M^{ij}$$

2.4.1 Invloed op groei

Een cel zal niet direct in beide groei fases langzamer groeien als gevolg van een verhoogde celdruk. De vertraging zit hem in de S-fase, waar de cel langer in zal blijven hangen. Dit komt doordat andere cellen signalen afgeven dat er minder ruimte is om te delen, als de celdruk hoog is. Een cel blijft zo langer in de S-fase wachten, zodat er minder celdelingen plaats vinden en het overschot aan cellen zich kan herstellen. In ons model vertaalt zich dat in een verlaagde kans binnen het interval Δt om vanuit de S-fase naar de G2-fase te gaan, die we in paragraaf 2.3.1 als $P_{G2}(\Delta t)$ hebben gedefinieerd. Door de bijkomende afhankelijkheid van druk zoeken we een dalende functie $f(\Lambda_i)$ zodat:

$$P_{G2}^i(\Delta t, \Lambda_i) = \frac{\Delta t}{T_S} f(\Lambda_i)$$

We kiezen voor een functie van de vorm:

$$f(\Lambda_i) = \frac{c_1}{1 + c_2 \exp\{c_2 \Lambda_i\}}$$

We nemen de referentietoestand $P_{G2}^i(\Delta t, \Lambda_i) = \frac{\Delta t}{T_S}$ en willen dat deze geldt voor een gemiddelde cel. Een gemiddelde cel ondervindt druk, daarom kiezen we er voor dat $P_{G2}^i(\Delta t, 0) = 1.1 \frac{\Delta t}{T_S}$. Hieruit volgt dat $c_1 = 11$, $c_2 = 9$ en $c_3 = 1$ een oplossing is die hieraan voldoet. We gebruiken deze oplossing en krijgen de functie:

$$P_{G2}^i(\Delta t, \Lambda_i) = \frac{11\Delta t}{T_S(1 + 9 \exp\{\Lambda_i\})}$$

Deze kans is in figuur 2.7 afgezet tegen druk.

2.4.2 Invloed op celsterfte

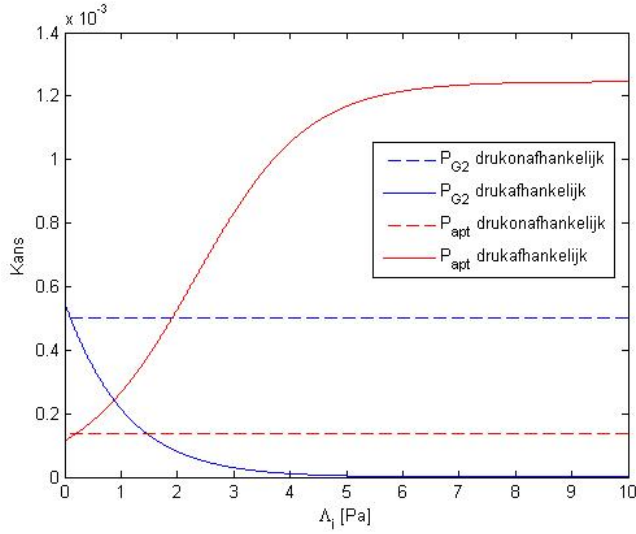
Wat betreft de apoptose, zal de kans hierop juist groter worden naarmate de celdruk toeneemt. Bij een hoge celdruk zal het lichaam de cellen sneller laten sterven om zo de ruimte te doen vergroten en de celdruk te doen laten afnemen. We kunnen dit in ons model meenemen door de sterfte kans $P_{\text{apt}}(\Delta t)$, gegeven in vergelijking (2.9), drukafhankelijk te maken. Dit doen we door een stijgende functie $g(\Lambda_i) = \frac{9}{1+10\exp\{-\Lambda_i\}}$ toe te voegen:

$$P_{\text{apt}}^i(\Delta t, \Lambda_i) = 1 - 2^{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)\Delta t \cdot g(\Lambda_i)}$$

In figuur 2.7 zien we ook de kans op apoptose afgezet tegen de druk. Het snijpunt in deze grafiek ligt waar $P_{G2}^i(\Delta t, \Lambda_i) = P_{\text{apt}}^i(\Delta t, \Lambda_i)$. Voor een gezond weefsel geldt dat wanneer de druk Λ_i voor elke cel rond de waarde van dit snijpunt ligt, het in een stabiele toestand verkeerd. De celpopulatie zal op de lange termijn rond deze waarde blijven schommelen.

2.5 Kankercellen

Een kankercel verschilt van een gezonde cel. Dit verschil komt voort uit een mutatie in het DNA, die de afwijkende eigenschappen tot gevolg heeft. De delingssnelheid, functie of grootte kunnen bijvoorbeeld veranderen, maar in essentie blijft het een cel net zoals gezonde cellen dat zijn. Vanuit dit oogpunt bekijken we de kankercel. We nemen het model voor de gezonde cel als basis voor die van de kankercel. De gemodelleerde kankercel die we willen creëren is niet gevormd naar een bepaald type uit de celbiologie, maar gevormd naar een meer algemene vorm.



Figuur 2.7: Kansen P_{G2} en P_{apt} voor $\Delta t = 0.2$ als een functie van de celdruk.

Een kankercel trekt zich in het algemeen minder aan van uitwendige stimuli, zo zullen de trekkrachten van andere cellen op het substraat minder invloed hebben op de beweging van een kankercel. Met die rede laten we in dit model actieve migratie voor kankercellen achterwege, zie paragraaf 2.2.3. Een kankercel zal daarom alleen in beweging komen door botsing met buurcellen of de substraatwand, ofwel door passieve migratie.

2.5.1 Celcyclus

Vanaf nu is het bovenschrift g en k voor respectievelijk de gezonde cellen en de kankercellen. Door ongecontroleerde groei duurt de celcyclus van een kankercel in het algemeen minder lang ($T_C^k < T_C^g$) en is kans op sterfte kleiner ($P_{apt}^{k,i}(\Delta t, \Lambda_i) < P_{apt}^{g,i}(\Delta t, \Lambda_i)$). Dit heeft als gevolg dat de verdubbelings tijd van een kolonie kankercellen kleiner is dan die van een kolonie gezonde cellen, ofwel: $T_2^k < T_2^g$. Om de ongecontroleerde groei te modelleren laten we de kankercellen de S-fase overslaan ($T_S^k = 0$), zodat de kankercellen vanuit de G1-fase direct in de G2-fase komen. De kankercel groeit dus na de celdeling (straal R_0^k) in één keer door tot de M-fase (straal R_{max}^k).

Omdat de S-fase wordt overgeslagen, beperkt de invloed van celdruk op kankercellen zich slechts tot celsterfte. Voor een kankercel is de kans op sterfte kleiner dan voor een gezonde cel, we passen deze als volgt aan:

$$P_{apt}^{k,i}(\Delta t, \Lambda_i) = 1 - 2\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_C}\right)\Delta t \cdot g^k(\Lambda_i)$$

Waar we g^k als volgt gekozen hebben:

$$g^k(\Lambda_i) = \frac{1.9}{1 + \exp\{-3\Lambda_i\}}$$

Verder laten we er een kans bestaan dat een gezonde cel zich muteert tot een kankercel tijdens de mitose. Deze kans noemen we P_{mut} en is voor elke gezonde mitotische cel gelijk. Hierbij krijgt één van de twee dochtercellen het verkeerde DNA mee, de andere cel blijft gezond.

2.5.2 Uitzaaing

Uitzaaiing kan plaatsvinden als de druk op de bloedvatwand M_b^i van kankercel i groter is dan een bepaalde waarde M_b^* . Als de kankercel aan deze voorwaarde voldoet nemen we aan dat er de kankercel de bloedvatwand doordringt en zo in de bloedbaan terecht komt. In het model nemen we de kankercel dan niet meer mee en nemen we aan dat deze zich in de bloedbaan bevindt en een mogelijkheid heeft tot uitzaaiing.

2.5.3 Concentratie cytokinen uitgescheiden door kankercellen

Iedere cel scheidt cytokinen uit, maar voor latere toepassing met T-cellen zijn we alleen geïnteresseerd in de cytokinen die door de kankercellen worden achtergelaten. In het model wordt daarom alleen de cytokineconcentratie meegenomen die door de kankercellen geproduceerd is. We laten elke kankercel een puntbron zijn die cytokinen uitscheidt. Deze cytokinen verspreiden zich over het substraat. We kunnen de concentratie cytokinen $c \left[\frac{\text{mol}}{\text{m}^3} \right]$, afhankelijk van de tijd t en positie $\mathbf{x}$, modelleren als (in [2] hetzelfde gedaan alleen dan voor een zuurconcentratie door bacteriën):

$$\begin{cases} \frac{\partial c_k}{\partial t} - D\Delta c_k = \psi_k(t)\delta(\mathbf{x} - \mathbf{x}_k), & \text{in } \mathbb{R}^d \\ c_k(0, \mathbf{x}) = 0, & \text{in } \mathbb{R}^d \end{cases} \quad k = 1, \dots, m_{\text{kanker}} \quad (2.10)$$

met m_{kanker} het aantal kankercellen, d het aantal dimensies en $\mathbf{x}_k \in \mathbb{R}^d$ de positie van de k^{de} kankercel. De diffusiecoëfficiënt D wordt gemeten in $\left[\frac{\text{m}^2}{\text{s}} \right]$ en $\psi_k(t)$, gemeten in $\left[\frac{\text{mol} \cdot \text{m}^2}{\text{s}} \right]$, geeft de productie van cytokinen van de k^{de} kankercel aan, waarvoor geldt:

$$\psi_k(t) = \begin{cases} \psi, & \text{als kankercel } k \text{ levend is} \\ 0, & \text{als kankercel } k \text{ dood is} \end{cases}$$

Vanwege lineariteit van de vergelijking (2.10) is het toegestaan het superpositiebeginsel te gebruiken. Dit doen we over alle bronnen k :

$$c(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} c_k(t, \mathbf{x})$$

De volgende Green-Duhamel functie beschrijft de oplossing op elke positie in de tijd [2]:

$$c(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} c_k(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} \int_0^t \frac{\psi_k(s)}{4\pi D(t-s)^{d/2}} \exp \left\{ -\frac{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\|^2}{4D(t-s)} \right\} ds$$

Merk op dat wanneer t_a het tijdstip van ontstaan en t_b het tijdstip van sterven is voor kankercel k , dat de integraal als volgt kan worden geschreven:

$$c(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} c_k(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} \int_{t_a^k}^{t_b^k} \frac{\psi}{4\pi D(t-s)^{d/2}} \exp \left\{ -\frac{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\|^2}{4D(t-s)} \right\} ds \quad (2.11)$$

waarbij we opmerken dat als de kankercel nog niet gestorven is dat dan geldt $t_b^k = t$. Deze schrijfwijze zal later bij het behandelen van de numerieke implementatie in paragraaf 3.3 van belang zijn. Wat we in het vervolg ook zullen gebruiken is de gradiënt van de cytokineconcentratie:

$$\nabla c_k(t, \mathbf{x}) = \frac{\partial c_k}{\partial \mathbf{x}} = - \int_0^t \frac{\psi_k(s)}{4\pi D(t-s)^{d/2}} \exp \left\{ -\frac{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\|^2}{4D(t-s)} \right\} \frac{(\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s))}{2D(t-s)} ds \quad (2.12)$$

En ook hiervoor geldt:

$$\nabla c(t, \mathbf{x}) = \sum_{k=1}^{m_{\text{kanker}}} \nabla c_k(t, \mathbf{x})$$

2.6 T-cellen

In dit model zijn de T-cellen, straal $R_{\text{T-cel}}$, de enige vorm van afweer tegen kankercellen. Zoals eerder genoemd nemen de antigeenpresenterende cellen (APC), in de realiteit, de cytokinen van de kankercellen op om ze te presenteren aan de T-cellen, die vervolgens de kankercel proberen te doden. In dit model nemen we het betreden van T-cellen tot het substraat stochastisch en nemen we de APC zelf niet mee in het model. De kans op het betreden van het substraat voor een T-cel wordt dus direct afhankelijk gemaakt van de concentratie cytokinen die door de kankercellen zijn uitgescheiden, gemeten op de vier punten waar de bloedbaan in direct contact staat met het substraat (waar zich de T-cellen zich bevinden en in realiteit ook de APC).

2.6.1 Leven binnen het substraat

We nemen aan dat de T-cellen het substraat via de bloedvaten kunnen betreden. Om precies te zijn laten we de nieuwe T-cel op een afstand van $0.5\mu\text{m}$ richting de oorsprong vanaf het bloedvatpunt, waar de cel vandaan komt, betreden. Dit houdt in dat de nieuwe positie gelijk is aan $\mathbf{r}_b + \frac{\mathbf{r}_b}{\|\mathbf{r}_b\|} \cdot 0.5 \cdot 10^{-6}$, met $b \in \{b_1, b_2, b_3, b_4\}$ het betreffende bloedvatpunt. Het betreden is alleen mogelijk als het bloedvat vrij is, m.a.w.: als voor alle $i \in \{1, \dots, m_{\text{T-cel}}\}$ geldt dat $\|\mathbf{r}_b - \mathbf{r}_i\| > R_b + R_{\text{T-cel}}$, dan mag een T-cel het bloedvat b betreden.

Nu willen we de kans $P_{\text{T-in}}^{\Delta t}$ weten voor het betreden van het substraat door een T-cel in een willekeurig punt waar een bloedvat het substraat raakt, binnen een tijdstap Δt . Stel dat de kans $P_{\text{T-in}}^{\Delta t=1} = P_{\text{T-in}}$ gegeven is, dan kunnen we achterhalen dat $P_{\text{T-in}}^{\Delta t} = 1 - (1 - P_{\text{T-in}})^{\Delta t}$. We hebben aangenomen dat de kans op het betreden van een T-cel direct afhankelijk is van de concentratie cytokinen $c_b = c_{b1}, \dots, c_{b4}$. Om te proberen een zo natuurlijk mogelijk resultaat te krijgen, zoeken we een continue stijgende functie $P_{\text{T-in}}(c_b)$ waarvoor geldt dat deze naar een waarde $A \in [0, 1]$ convergeert als c_b heel groot wordt. Hier is A dus de maximale kans voor het betreden van het substraat, zodoende stellen we

$$P_{\text{T-in}}(c_b) = \frac{Ac_b^2}{c_b^2 + B}$$

waarin B de sterkte van de helling voorstelt. Dit gebruiken we voor de kans met variabele tijdstap:

$$P_{\text{T-in}}^{\Delta t}(c_b) = 1 - \left(1 - \frac{Ac_b^2}{c_b^2 + B}\right)^{\Delta t}$$

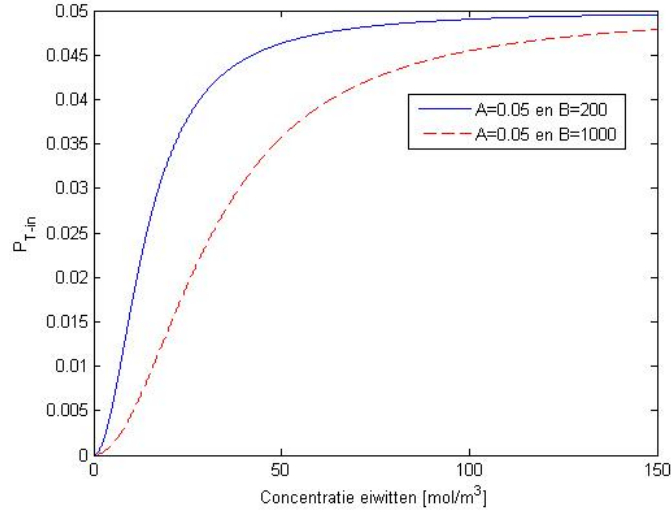
De levenscyclus van een T-cel bestaat in dit model alleen uit het betreden van het substraat en doodgaan, groei vindt niet plaats, zo is er ook geen celdeling. We nemen aan dat het sterven een stochastische gebeurtenis is, met kans $P_{\text{T-uit}}^{\Delta t} = 1 - (1 - P_{\text{T-uit}})^{\Delta t}$, waar $P_{\text{T-uit}} = P_{\text{T-uit}}^{\Delta t=1}$ gegeven is.

2.6.2 Beweging

In zijn beperkte leven laten we de T-cel op zoek gaan naar kankercellen om deze vervolgens te elimineren. Zodra de T-cel op een kankercel botst laten we beide cellen dood gaan. Maar om tot een botsing te kunnen komen moet de T-cel eerst naar de kankercel toe bewegen. We zeggen dat

$$V_{\text{T-cel}} = \alpha_i v_{\text{T-cel}} \nabla c(t, \mathbf{r}(t))$$

waar $v_{\text{T-cel}}$ een dimensieloze bewegingsconstante is en $i \in \{1, \dots, m_{\text{T-cel}}\}$ met $m_{\text{T-cel}}$ het aantal T-cellen. Hier is $\nabla c(t, \mathbf{r}(t))$ de gradiënt van de cytokineconcentratie uit vergelijking (2.12) in



Figuur 2.8: Kans op het betreden van het substraat door een T-cel bij verschillende waarden van B .

het celcentrum van de T-cel. Om onnatuurlijk grote snelheden te voorkomen stellen we een maximum waarde voor deze snelheid in. Iedere T-cel kan als gevolg van de cytokinen niet sneller bewegen dan $V_{\max}$, dit houdt in:

$$V_{T\text{-cel}} = \min\{\|V_{T\text{-cel}}\|, V_{\max}\} \cdot \frac{V_{T\text{-cel}}}{\|V_{T\text{-cel}}\|}$$

waar we $V_{\max} = R_0$ nemen. De T-cellen laten we passieve migratie ondervinden en enkel actieve migratie ten gevolge van de cytokinen, hieruit volgt de algehele bewegingsvergelijking voor een T-cel:

$$\mathbf{r}'_i(t) = \alpha_i M(\mathbf{r}_i) \hat{\mathbf{z}}_i + V_{T\text{-cel}}$$

met $i \in \{1, \dots, m_{T\text{-cel}}\}$.

Verder moet er worden opgemerkt dat afgezien van het bovengenoemde de T-cellen zich gedragen als normale cellen. Niet benoemde, maar wel gebruikte coëfficiënten en eigenschappen zijn dan ook hetzelfde voor de bij overige cellen.

2.7 3-Dimensionaal substraat

Tot zover hebben we het model voor twee meetkundige dimensies beschreven, nu willen we een derde toevoegen. Dit vergt een aantal kleine aanpassingen die we in deze paragraaf zullen behandelen.

Allereerst bekijken we nu een bolvormig substraat

$$\Omega_3 = \{(x, y, z) \in \mathbb{R}^3 : x^2 + y^2 + z^2 \leq R_w^2\}$$

waar R_w opnieuw de straal van het substraat is. Ook voegen we twee bloedvaten toe: boven b_5 en onder b_6 , deze bloedvaten zijn laten we nu bolvormig binnen het substraat als gevolg van de extra dimensie. De waarde $\mathbf{r}_i(t)$ beschrijft in deze paragraaf de positie van het middelpunt van cel i op tijdstip t binnen het domein Ω_3 . Omdat we in het 2D model de cellen al als bollen beschouwden zullen er geen aanpassingen nodig zijn voor de straal om de inhoud het zelfde

te houden. Daarmee heeft de toegevoegde dimensie geen gevolgen op het bewegen van cellen, afgezien van het feit dat die zich nu binnen een bolvormig domein kunnen verplaatsen in plaats van het vlak.

Voor de richting van de dochtercellen na de celdeling hebben we een extra random stochast ξ_i nodig om gelijke kans in elke richting te kunnen garanderen. Laat $\theta_i, \xi_i \sim U(0, 1)$, dan is de willekeurige richting gelijk aan:

$$\hat{\mathbf{u}}_i(t) = \begin{bmatrix} \cos(2\pi\theta_i) \sin(2\pi\xi_i) \\ \sin(2\pi\theta_i) \sin(2\pi\xi_i) \\ \cos(2\pi\xi_i) \end{bmatrix}$$

Verder heerst er binnen de celcyclus geen afhankelijkheid van dimensie en zijn er hier geen extra aanpassingen nodig.

3 Numerieke methode

Voor de numerieke implementatie van het besproken model is het computerprogramma Matlab gebruikt. Binnen deze software is geprobeerd een programma te schrijven dat zowel efficiënt als nauwkeurig is. Programmeertechnisch is efficiëntie bereikt door bijvoorbeeld 'for loops' zo veel mogelijk te mijden en matrixberekeningen te hanteren, aangezien Matlab die sneller kan oplossen. Voor de keuze van de gebruikte numerieke methoden zullen we in dit hoofdstuk een verdere toelichting geven, bovendien wordt aan het eind van dit hoofdstuk de parameterkeuze behandeld.

3.1 Beweging

Voor de beweging van cellen hadden we de eerste orde differentiaalvergelijking (2.3) gevonden:

$$\mathbf{r}'_i(t) = \alpha_i M(\mathbf{r}_i) \hat{\mathbf{z}}_i$$

Het fijne aan eerste orde differentiaalvergelijkingen is dat expliciete methoden goed toepasbaar zijn. We maken daarom ook de keuze om een geheel expliciete methode te gebruiken om de vergelijking in de tijd te integreren. Er zijn drie methoden getest: Euler voorwaarts (EV), Modified Euler (ME) en Runge-Kutta (RK4). Deze numerieke methoden worden uitgebreid beschreven in [8]. Runge-Kutta is het meest nauwkeurigst, met een fout van $O(\Delta t^4)$, waar Modified Euler en Euler voorwaarts respectievelijk een fout van $O(\Delta t^2)$ en $O(\Delta t)$ hebben. Deze nauwkeurigheid heeft een nadeel en dat is de langere rekentijd, voor RK4 zijn er namelijk twee keer meer iteraties nodig dan voor ME, die op zijn beurt weer twee keer zoveel gebruikt als EV. Als de gewonnen rekentijd t.o.v. RK4 voor de andere twee methoden gebruikt wordt om een kleinere tijdstap te hanteren, zal de nauwkeurigheid stijgen. Deze test wordt beschreven in paragraaf 4.1. Uiteindelijk is met behulp van deze resultaten gekozen voor de numerieke methode van Runge-Kutta, dit geeft een discretisatie met de predictoren (de discretisatie van de andere twee methoden is te vinden in appendices A.2 en A.3):

$$\begin{aligned} k_1 &= \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i(t_n)) \hat{\mathbf{z}}_i \\ k_2 &= \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i(t_n + \frac{1}{2} \Delta t) + \frac{1}{2} k_2) \hat{\mathbf{z}}_i \\ k_3 &= \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i(t_n + \frac{1}{2} \Delta t) + \frac{1}{2} k_3) \hat{\mathbf{z}}_i \\ k_4 &= \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i(t_n + \Delta t) + k_4) \hat{\mathbf{z}}_i \end{aligned}$$

en een corrector:

$$\mathbf{r}_i^{n+1} = \mathbf{r}_i^n + \frac{\Delta t}{6} [k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4]$$

Hier zijn beginwaarden voor positie op $t = 0$ vereist. De gebruikte tijdstap is $\Delta t = 0.2$, waarvoor tijdens verschillende simulaties geen instabiliteit is ontdekt.

Tijdstapbegrenzing

Proefondervindelijk blijkt het model stabiel te zijn voor relatief grote tijdstappen. Toch doet zich een probleem voor, cellen kunnen namelijk over elkaar heen gaan bewegen bij een te grote tijdstap. Om dit te voorkomen voeren we een variabele tijdstap in:

$$\Delta t(n) = \frac{R_0}{2 \cdot \max_{i \in \{1, \dots, m\}} \|v_i\|}$$

voor de n -de tijdstap is v_i hier de snelheid van cel i . Dit voorkomt cellen meer dan 25% van hun minimale diameter te verplaatsen binnen een tijdstap, waardoor cellen niet over elkaar heen kunnen lopen tijdens de simulatie. Voor tijdstip $t(n)$ geldt nu een afhankelijkheid van de grootte van de genomen tijdstappen, er volgt:

$$t(n) = \sum_{k=1}^n \Delta t(k)$$

3.2 Groei en deling

De tijdsintegratie voor de groei van de straal, uit vergelijking (2.4), doen we met behulp van Euler voorwaarts, omdat de nauwkeurigheid (herinner: $O(\Delta t)$) niet erg van belang is. Dit komt mede door de stochastische term die al een onzekerheid geeft, maar ook omdat de nauwkeurigheid van celgroei relatief van minder belang is dan de migratie van de cel. De voorwaartse methode van Euler voldoet en we krijgen de volgende discretisatie:

$$R_i^{n+1} = R_i^n + \gamma_i \kappa \Delta t + \sigma(W(t^{n+1}) - W(t^n))$$

Nu volgt uit de eigenschappen van de standaard Brownse beweging dat:

$$W(t^{n+1}) - W(t^n) \sim N(0, \Delta t)$$

Dit geeft:

$$R_i^{n+1} = R_i^n + \gamma_i \kappa \Delta t + N\left(0, \frac{\sigma^2}{\sqrt{\Delta t}}\right) \Delta t$$

Hier zijn ook weer startwaarden van de straal aan verbonden. Wat er gebeurt tijdens de deling laten we onafhankelijk van de tijd. We zien de positieveranderingen van de twee dochtercellen, die van de oorspronkelijke positie van de moeder cel komen, niet als een beweging, maar als een gebeurtenis. Het gemiddelde van de posities van de twee dochtercellen is namelijk gewoon de oorspronkelijke positie van de moeder cel.

3.3 Integratie cytokineconcentratie

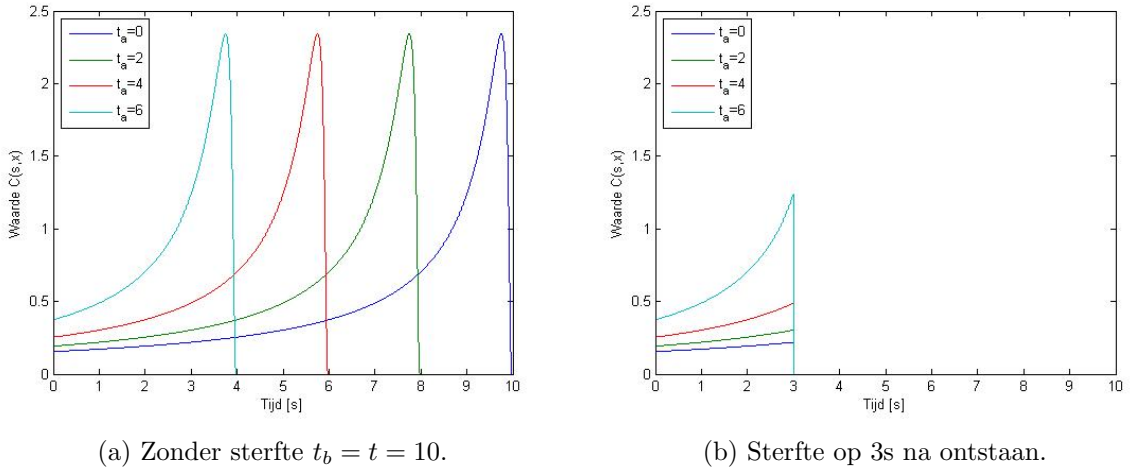
Beschouw vergelijking (2.11) voor de concentratie cytokinen en vergelijking (2.12) voor de gradiënt ervan. We berekenen de concentratie cytokinen alleen in de bloedvatpunten en de gradiënt ervan alleen op het middelpunt van iedere T-cel. Laten we nu voor het gemak zeggen dat:

$$C(s, \mathbf{x}) = \frac{\psi}{4\pi D(t-s)^{d/2}} \exp\left\{-\frac{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\|^2}{4D(t-s)}\right\}$$

dan volgt er dat $c_k(s, \mathbf{x}) = \int_0^t C(s, \mathbf{x}) ds$. Deze integraal benaderen we met behulp van de trapeziumregel, dit houdt in dat voor een tijdstap $n \in \{1, \dots, N\}$ de volgende afchatting gemaakt wordt:

$$c_k(t, \mathbf{x}) = \int_{t(n)}^{t(n+1)} C(s, \mathbf{x}) ds \approx \frac{\Delta t(n+1)}{2} [C(t(n), \mathbf{x}) + C(t(n+1), \mathbf{x})]$$

Na enkele simulaties blijkt de berekening van de cytokineconcentratie zeer tijdsintensief in verhouding tot de andere onderdelen en moeten we het relatieve belang van dit onderdeel afwegen tegen de rekentijd. Deze werd te groot geacht en daarom zijn er een aantal aanpassingen vereist. Laten we voor we de aanpassingen gaan behandelen de functie C beter bekijken.

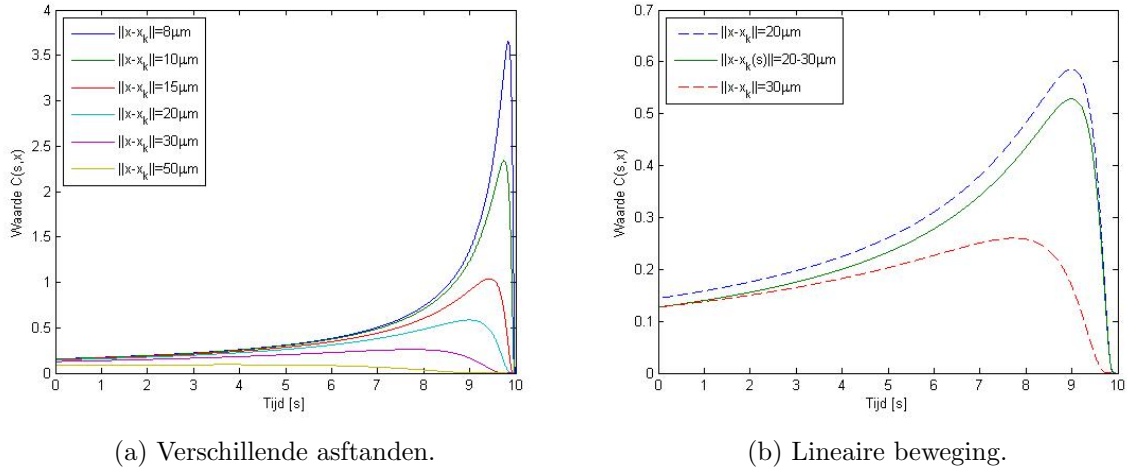


Figuur 3.1: Waarde $C(s, \mathbf{x})$ bij verschillende momenten van ontstaan van de kankercel t_a en een afstand van $10\mu\text{m}$.

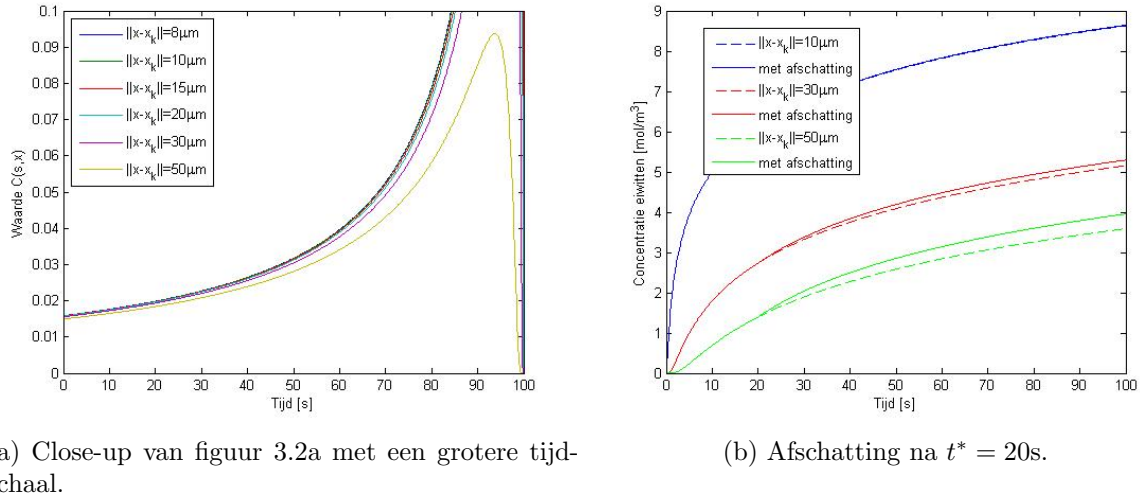
Stel $t = 10$ en de afstand van een kankercel tot de positie van meting is $\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\| = 10\mu\text{m}$, dan ziet de functie $C(s, \mathbf{x})$ er uit zoals in figuur 3.1a voor verschillende waarde van t_a (tijdstip van ontstaan). Merk op dat alle grafieken in deze paragraaf op basis van het model met twee dimensies ($d = 2$) zijn gevisualiseerd, echter al deze theoriën zijn ook op drie ruimtelijke dimensies ($d = 3$) toepasbaar. Als de kankercel 3 seconden na het ontstaan zou sterven ($t_b = t_a + 3$), dan krijgen we de grafiek uit figuur 3.1b. We zien dat hoe langer het sterven geleden is, hoe kleiner de bijdrage tot de cytokineconcentratie wordt.

In figuur 3.2a is de tijd van ontstaan voor elke kankercel gelijk, namelijk $t_a = t$, maar voor verschillende afstanden tot het meetpunt. Een kortere afstand geeft een grotere bijdrage, dan een langere. Voor bewegende cellen bekijken we figuur 3.2b, waarin een kankercel met een lineaire beweging van $\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\| = 20\mu\text{m}$ naar afstand van $\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k(s)\| = 30\mu\text{m}$ kruipt.

Doordat de posities van de cellen variabel in de tijd zijn, worden afchattingen moeilijker. Toch is het nodig bepaalde aanpassingen te doen, om de rekentijd binnen de perken te houden. De eerste heeft te maken met celsterfte. In eerste instantie wordt de cytokineconcentratie berekend over alle kankercellen die ooit geleefd hebben. Dit houdt in dat er berekeningen plaats moeten vinden voor kanker cellen die al langere tijd dood zijn. Zoals we in figuur 3.1b zien we dat de bijdrage dan steeds kleiner wordt, specifiek: $\int_{t_a}^{t_b} C(s, \mathbf{x}) ds \rightarrow 0$ als $t - t_b \rightarrow \infty$, want $C(s, \mathbf{x}) \rightarrow 0$. Als een kankercel op t_b sterft, dan geldt dus dat er een $\hat{t}$ bestaat, zodat voor alle $t - t_b > \hat{t}$ de bijdrage aan cytokineconcentratie verwaarloosbaar klein is, dat is $C(s, \mathbf{x}) < \epsilon$. In praktijk blijkt een redelijke waarde voor $\hat{t}$ nog aanzienlijk groot te zijn, maar we zijn genooddaakt om een relatief kleine waarde hiervoor te gebruiken, namelijk $\hat{t} = 80$. Deze waarde geeft een grote fout bij kankercellen die gestorven zijn, maar lang hebben geleefd. Toch is dit nodig om

Figuur 3.2: Waarde $C(s, \mathbf{x})$ met $t_a = 10$.

het grootste deel verwaarloosbaar kleine berekeningen eruit te filteren, die op de lange termijn heel veel rekentijd kosten.

Figuur 3.3: Grafieken voor bij de afchatting met behulp van t^* .

Voor grotere tijdswinst moeten we het gedrag van de functie C bekijken voor grote waarden van t met verschillende afstanden tussen het meetpunt $\mathbf{x}$ en de kankercel $\mathbf{x}_k$. In figuur 3.3a is dit visueel gemaakt, we zien dat de waarden van $C(s, \mathbf{x})$ dichtbij elkaar gaan liggen als t groot wordt. Voor een bepaalde $t^* \in \mathbb{R}$ kunnen we zonder veel verlies van nauwkeurigheid stellen dat $\forall t > t^*$, geldt dat $C(s, \mathbf{x}) \approx C(s)$, waar

$$C(s) = \frac{\psi}{4\pi D(t-s)^{d/2}}$$

Merk op dat $C(s, \mathbf{x}) \leq \frac{\psi}{4\pi D(t-s)^{d/2}}$ voor elke $\mathbf{x}$. Dit betekent dat de fout $C(s) - C(s, \mathbf{x})$ nooit negatief is voor deze afchatting. Voor verdere toepassing op de concentratie cytokinen $c_k(t, \mathbf{x})$

moeten we de gevonden vergelijking integreren:

$$\begin{aligned} d = 2 : \quad & \int_{t_a}^{t-t^*} C(s)ds = \frac{\psi}{4\pi D} \log\left(\frac{t-t_a}{t^*}\right) \\ d = 3 : \quad & \int_{t_a}^{t-t^*} C(s)ds = \frac{\psi}{2\pi D} \left(\frac{1}{\sqrt{t^*}} - \frac{1}{\sqrt{t-t_a}} \right) \end{aligned}$$

Het is noodzakelijk te melden dat dit slechts het geval betreft waar $t_a < t^*$ en $t_b \geq t - t^*$. Er zijn twee andere mogelijkheden, aangezien er moet gelden dat $t_a < t_b$, bij $t_a, t_b \in [0, t - t^*)$ loopt de integraal van t_a tot t_b en bij $t_a, t_b \in [t - t^*, t]$ is de toegevoegde waarde van de afchatting gelijk aan nul, immers de kankercel leeft nog niet lang genoeg. Als we bijvoorbeeld $t^* = 20$, dan zien we in figuur 3.3b de waarde van $c_k(t, \mathbf{x})$ met en zonder de genoemde maatregel voor verschillende waarden van $\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_k\|$ en dus dat de fout klein is.

Met de laatste aanpassing is al meer tijdswinst geboekt, alleen de rekentijd blijkt op deze manier nog steeds te lang. We hebben een meer drastische maatregel nodig om op een acceptabele rekentijd voor dit onderdeel uit te komen. We passen de tijdstap voor deze methode aan om zover te komen. Zij $\eta \in \mathbb{N}_{>0}$, dan gebruiken we de volgende tijdstap voor het berekenen van de cytokineconcentratie:

$$\Delta t_c = \eta \Delta t$$

wat in de praktijk inhoudt dat we $\eta - 1$ tijdstappen overslaan. Er wordt gekozen voor $\eta = 5$. Deze maatregel zorgt wel voor een aanzienlijk verlies in nauwkeurigheid, maar dit is nodig om de simulatietijd binnen de perken te houden.

3.4 Parameter waarden

De gebruikte parameters zijn te vinden in tabel 3.1, de waarden uit [1] en [2] zijn direct overgenomen. Bij de keuze van de nieuwe parameters t.o.v. [1] en [2] moet benadrukt worden dat vooral gekeken is naar hun gedrag binnen dit model, er is slechts binnen ruime grenzen rekening gehouden met de biologische waarden hiervan.

Om de keuze van parameters volledig te maken rest ons nog de gekozen waarden voor fase-duur en verdubbelingstijd van zowel gezonde cellen als kankercellen te noemen. Deze waarden, aangegeven in tabel 3.2, zijn overgenomen uit het onderzoek van Rune van der Meijden [9]. Gezegd moet worden dat deze waarden zwaar zijn teruggeschaald van de meer realistische tijden; in het onderzoek werd gesteld dat één seconde ongeveer overeen komt met een halve dag. De rede voor verkorte duur van de celcyclus in dit model is de beperkt beschikbare rekentijd. Binnen acceptabele simulatietijd moet de kankerkolonie tot een heuse tumor kunnen uitgroeien om de resultaten van enige inhoud te kunnen voorzien.

Parameter	Betekenis	Waarde	Eenheid
E_s	Stijfheid substraat	5.0	kPa
E_c	Stijfheid cel	0.5	kPa
$\hat{F}$	Opwaartse trekkracht cel aan substraat	1.0	nN
M_b^*	Te overschijden grens wanddruk kankercel	0.1	kPa
R_0	Straal cel direct na deling	3.0	μm
$R_{\text{T-cel}}$	Straal T-cel	4.5	μm
R_w	Straal substraat	35	μm
R_b	Straal bloedvatwand	8.0	μm
$\hat{d}$	Detectiedrempel	30	μm
D	Difussiecoëfficiënt cytokinen	100	$\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$
ψ	Cytokineproductie	2.0	$\text{nmol}/(\text{m}^3\text{s})$
β	Mobiliteitsparameter	10	s^{-1}
μ	Frictiecoëfficiënt	0.2	-
δ	Constante voor verplaatsing tijdens deling	0.8	-
$v_{\text{T-cel}}$	Evenredigheidsconst. beweging T-cel door cytokineconc.	10^4	-
P_{mut}	Kans op mutatie per celdeling	10^{-7}	-
$P_{\text{T-uit}}$	Kans sterven T-cel per seconde	0.02	-
A	Parameter voor kans betreden T-cel	0.05	-
B	Parameter voor kans betreden T-cel	200	-

Tabel 3.1: Parameterkeuze.

Fase	Tijd [s]	
	Gezonde cel	Kankercel
$G1$	300	50
S	400	0
$G2$	300	50
M	1	1
Totaal	1001	101
Verdubbelingstijd	10^7	200

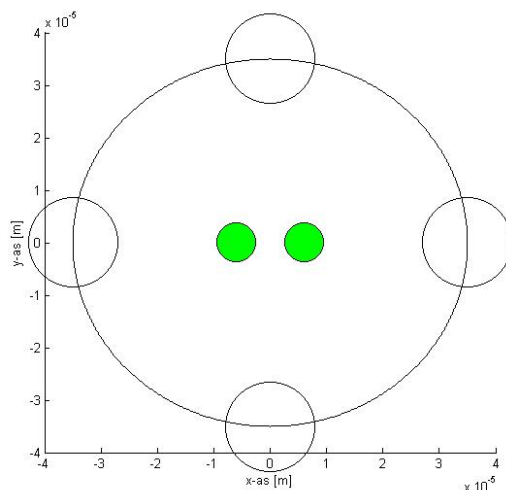
Tabel 3.2: Duur fasen van de celcyclus en de verdubbelingstijd.

4 Simulatie

4.1 Tweecellig model

Om een beter beeld te krijgen van het bewegingsgedrag van de cellen voor de verschillende tijdsintegratiemethoden uit paragraaf 3.1 bekijken we een tweecellig model. Hierin veronderstellen we dat de twee cellen gezond zijn, niet kunnen sterven en de straal gelijk blijft aan $R_0 = 3\mu\text{m}$. De startposities zijn weergegeven in figuur 4.1, de cellen liggen $12\mu\text{m}$ van elkaar verwijderd.

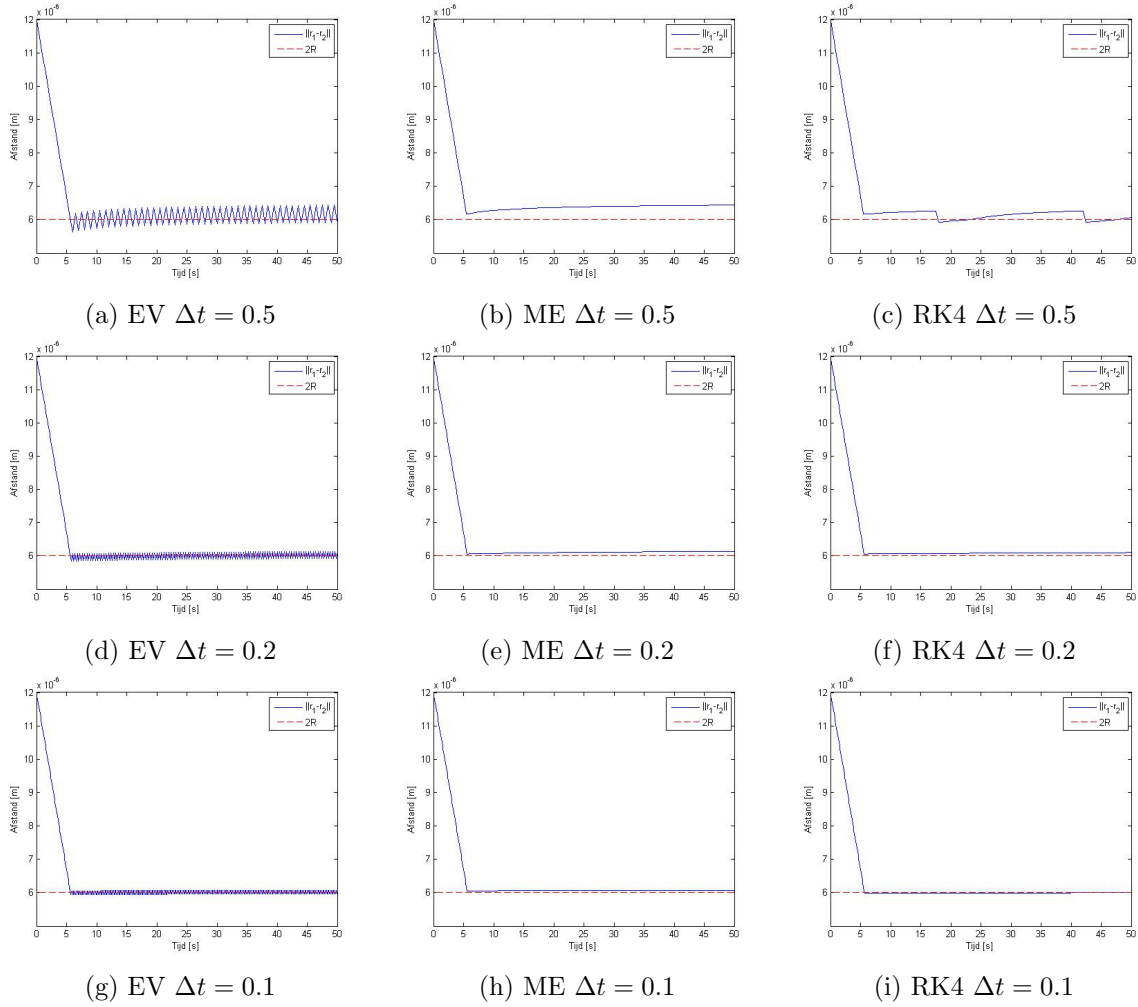
We doen eerst drie simulaties per methode om de rekentijden te kunnen vergelijken. We kiezen $\Delta t = 0.1$ en nemen vervolgens 1000 tijdstappen, in tabel 4.1 hebben we de simulatietijden onderelkaar gezet. De tijden liggen dicht bij elkaar, dit houdt in dat de beweging van de cellen maar een klein deel van de simulatietijd voor zijn rekening neemt. Een hogere orde methode als Runge-Kutta zal de totale rekentijd relatief niet aanzienlijk doen laten stijgen ten opzichte van Euler voorwaarts. Nu kan men beargumenteren dat er slechts naar een populatie van twee cellen gekeken is. Toch zal een vergroting van de celpopulatie het relatieve tijdsverschil van de methoden niet in extremen doen vergroten, want bij een aanzienlijk deel van de overige berekeningen is het aantal iteraties ook lineair afhankelijk van de grootte van de celpopulatie. Ook moet er rekening gehouden worden dat kankercellen niet in dit model voorkomen en dus ook de cytokineconcentratie niet berekend hoeft te worden, wat veel tijd kost. Uit deze resultaten leiden we dus af dat een hogere orde tijdsintegratiemethode, als Modified Euler of Runge-Kutta, voor de beweging van cellen niet bijdraagt tot een extreme verhoging van de relatieve simulatietijd.



Figuur 4.1: Startposities tweecellig model.

Simulatie	Tijd [s]		
	EV	ME	RK4
1	58.68	58.94	59.42
2	58.97	58.88	59.87
3	58.63	58.87	59.59
Totaal	176.28	176.69	178.88

Tabel 4.1: Rekentijd van drie simulaties met 1000 tijdstappen ter grootte $\Delta t = 0.1$.

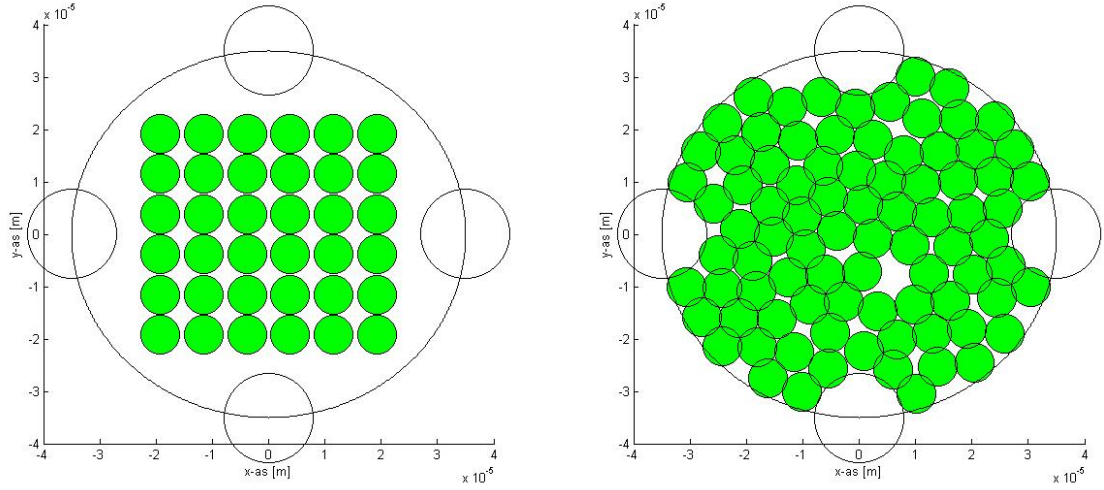


Figuur 4.2: Nauwkeurigheid van de drie tijdsintegratiemethoden bij een botsing tussen twee cellen. De rood gestreepte lijn is de som van de straal van de twee cellen.

Vervolgens bekijken we de nauwkeurigheid, in figuur 4.2 zijn EV, ME en RK4 vergeleken voor tijdstappen van 0.5, 0.2 en 0.1. Bij de drie simulaties waar Euler voorwaarts gebruikt is, alterneert de oplossing hevig rond het evenwichtspunt. Dit is bij de andere twee methoden nauwelijks het geval. In het bijzonder laten de figuren 4.2e, 4.2h, 4.2f en 4.2i een mate van nauwkeurigheid zijn, waar we zeker tevreden mee kunnen zijn. Qua tijdsefficiëntie concludeerden we dat wanneer in dit onderdeel Runge-Kutta gebruikt wordt, het verlies niet drastisch is. We kiezen daarom Runge-Kutta vanwege de hogere orde van nauwkeurigheid. De tijdstap die we gaan gebruiken kiezen we $\Delta t = 0.2$, omdat de nauwkeurigheid in figuur 4.2f voldoende oogt.

4.2 Koloniegroei

Voor verder onderzoek hebben we een gezond en stabiel weefsel nodig om vanuit te kunnen simuleren. We beginnen met een simpele opstelling: 36 gezonde cellen elk in de G1-fase met straal R_0 . De genoemde celkolonie is te zien in figuur 4.3a. We nemen hier $P_{\text{mut}} = 0$, zodat de gezonde cellen niet kunnen muteren naar kankercellen en het weefsel gezond blijft. De stapgrootte kiezen we $\Delta t = 0.2$ en vervolgens nemen we 50000 stappen.

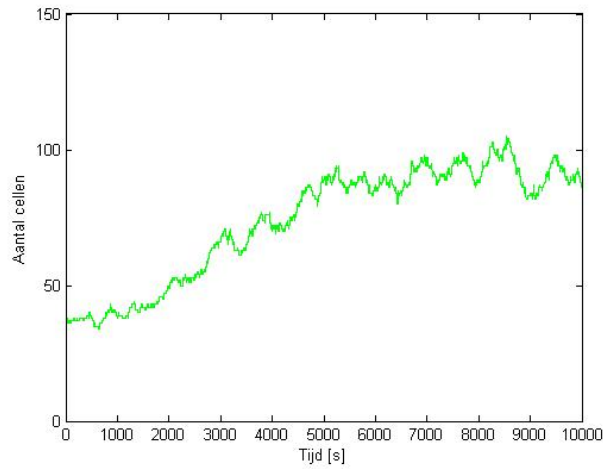


(a) Celkolonie van 36 cellen met allen straal R_0 .

(b) Celkolonie na 50000 tijdstappen.

Figuur 4.3: Beginnend met de celkolonie van 4.3a eindigen we na een simulatie van 50000 tijdstappen ter grootte $\Delta t = 0.2$ met 4.3b.

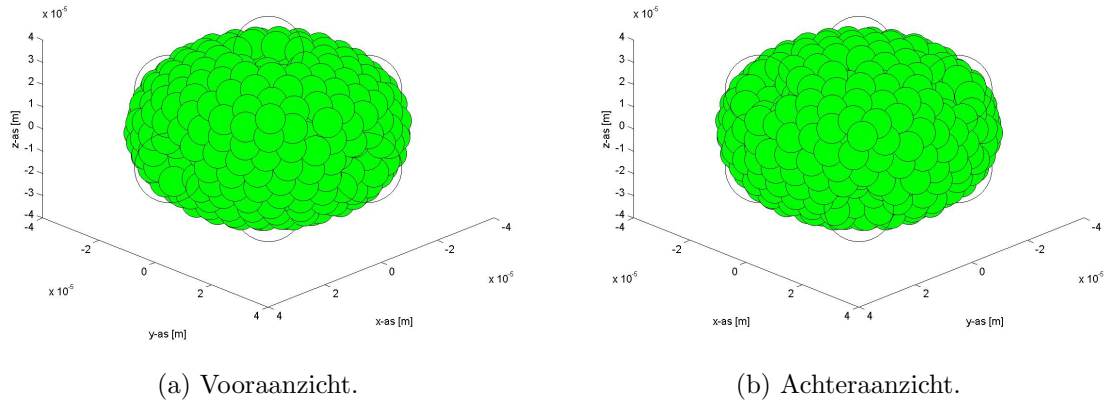
Deze simulatie van 10000 seconden resulteerde in het weefsel uit figuur 4.3b en in figuur 4.4 zien we de bijbehorende populatiegrootte in de tijd. De celpopulatie blijft als gevolg van de drukafhankelijke sterftekans na ongeveer 5000s rond eenzelfde waarde schommelen; het weefsel verkeert in stabiele toestand zoals in paragraaf 2.4.2 is uitgelegd. We onthouden de positie, straal en de fase waarin de cellen zich verkeren als startwaarden voor volgende simulaties.



Figuur 4.4: Populatiegroei van de celkolonie.

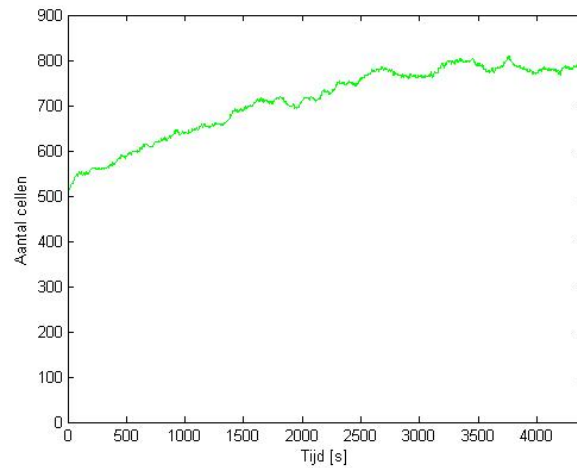
4.2.1 3D

Voor het model in 3D is hetzelfde gedaan om aan een startweefsel te komen. De simulatie begint met 8^3 cellen en na 22000 tijdstappen van $\Delta t = 0.2$ en een rekentijd van ± 11 uur resulteert dit in het gezonde weefsel uit figuur 4.5.



Figuur 4.5: Een driedimensionaal gezond weefsel.

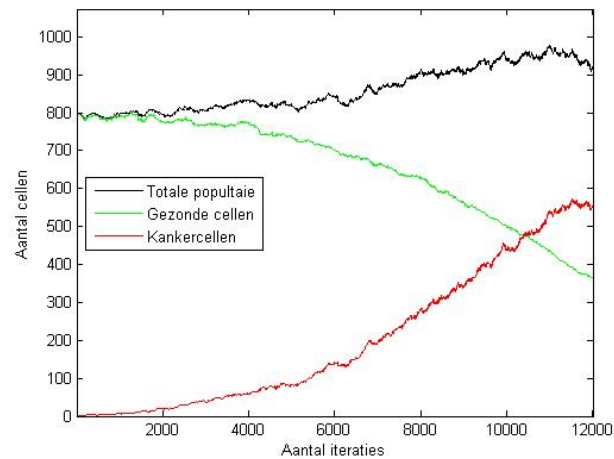
De populatiegrootte wordt in figuur 4.6 beschreven, deze stabiliseert zich na ongeveer 3000s. Het weefsel is dus stabiel en daarmee geschikt om als startweefsel te gebruiken. Voor dit stabilisatie punt lijkt de groei van de kolonie met een lineaire trend te verlopen.



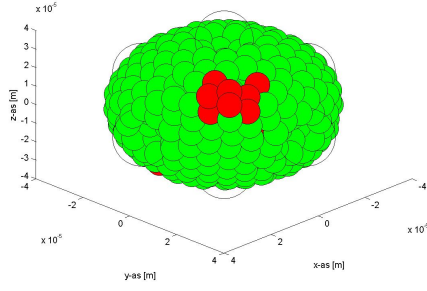
Figuur 4.6: Populatiegroei van de celkolonie.

Tumorgroei

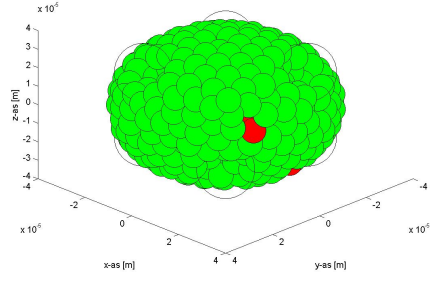
We voeren op basis van het verkregen weefsel een simulatie van 12000 iteraties uit, waarin kankercellen wel worden meegenomen. We gebruiken weer dezelfde parameters, met uitzondering $P_{\text{mut}} = 0.1$ om het resultaat te doen versnellen. De figuren 4.7 en 4.8 volgen, waarin respectievelijk de populatiegrootte en de weefseltoestand te zien zijn. De toename van kankercellen lijkt op een relatief groot interval met een lineaire trend te verlopen en de kankercellen blijven veelal in clusters bij elkaar liggen.



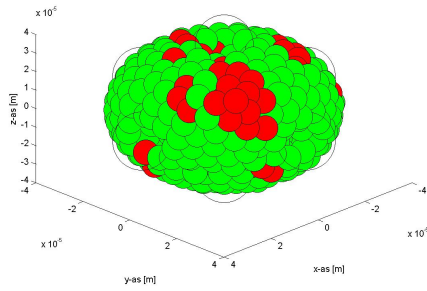
Figuur 4.7: Populatiegroei van een celkolonie met kankercellen.



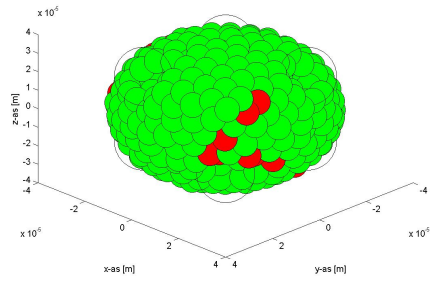
(a) Vooraanzicht na 3000 iteraties.



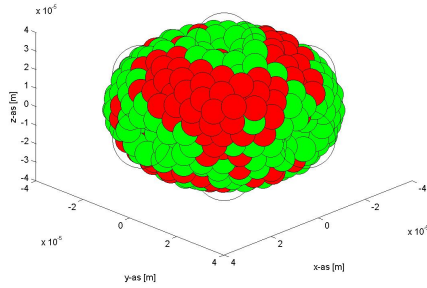
(b) Achteraanzicht na 3000 iteraties.



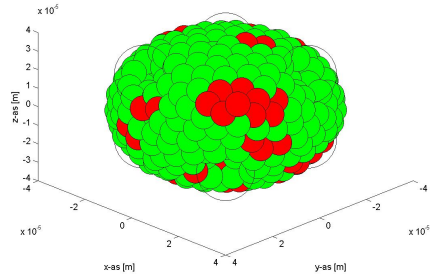
(c) Vooraanzicht na 6000 iteraties.



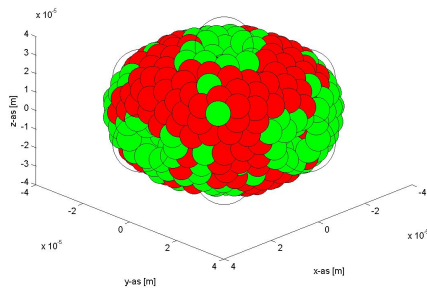
(d) Achteraanzicht na 6000 iteraties.



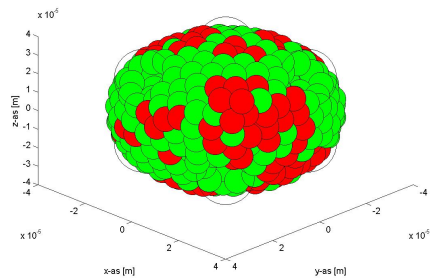
(e) Vooraanzicht na 9000 iteraties.



(f) Achteraanzicht na 9000 iteraties.



(g) Vooraanzicht na 12000 iteraties.

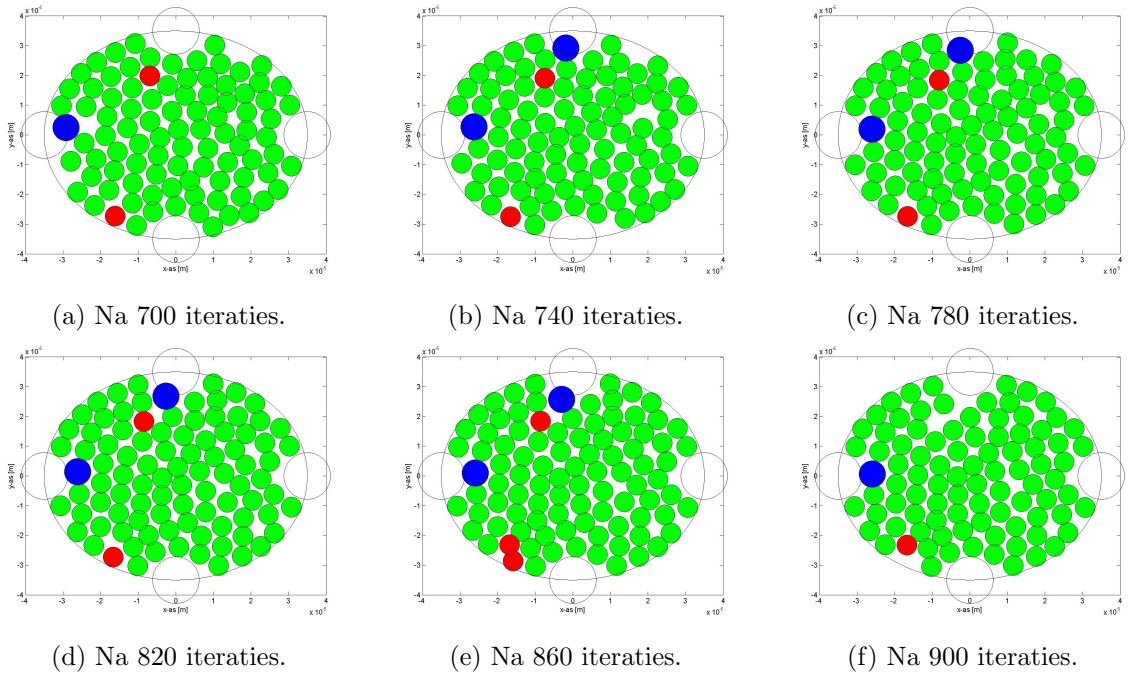


(h) Achteraanzicht na 12000 iteraties.

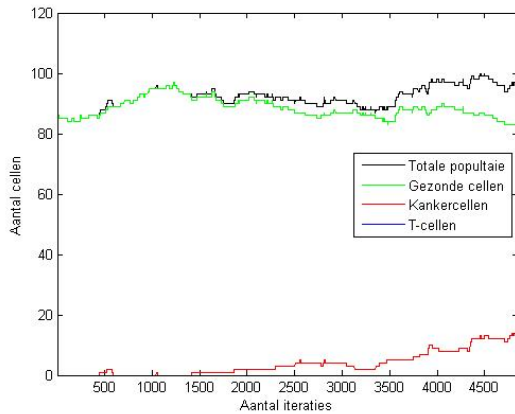
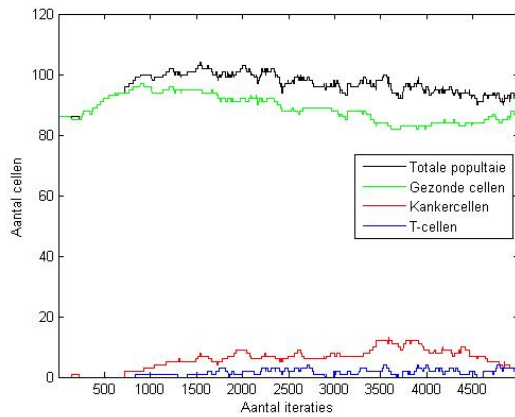
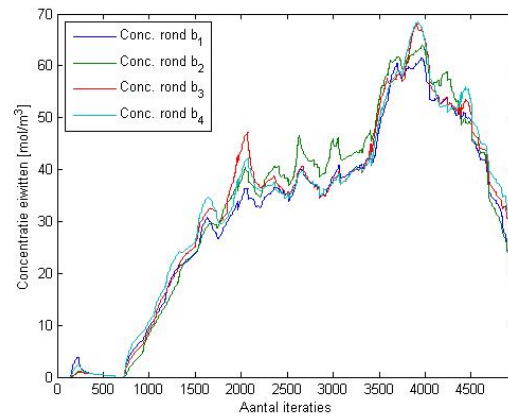
Figuur 4.8: Een driedimensionaal weefsel met tumorvorming waarvan de gesimuleerde ongeveer 2352s bedraagt en de rekentijd ± 7 uur.

4.3 Gedrag T-cellen

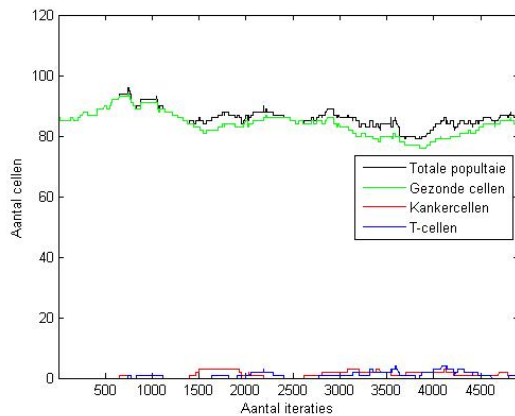
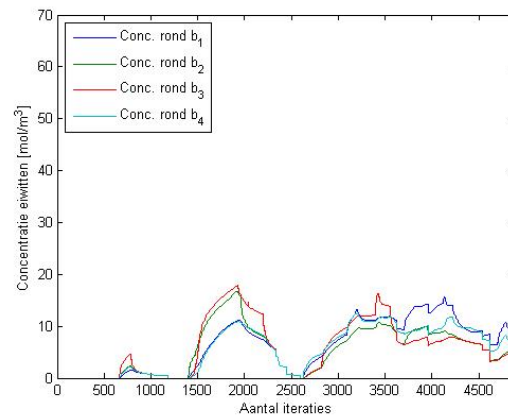
Om een idee te krijgen hoe de T-cel te werk gaat, doen we een korte 2D simulatie waarin we de parameters uit paragraaf 3.4 gebruiken, samen met $\Delta t = 0.2$ en het startweefsel uit 4.2. Tussen de 700ste en de 900ste iteratie vernietigt een T-cel een kankercel, dit wordt in figuur 4.9 in beeld gebracht. De bovenste T-cel ontstaat binnen het bloedvat en loopt naar de kankercel toe, hierbij worden cellen die in de weg liggen weggedrukt. De andere T-cel beweegt nauwelijks, dit komt omdat de kankercellen te ver weg liggen en het signaal daarom te zwak is om de tussengelegen cellen weg te kunnen duwen. In 3D hebben T-cellen iets minder moeite bij het kruipen naar de kankercellen, aangezien er meer ruimte is om tussengelegen cellen weg te duwen.



Figuur 4.9: De groene, rode en blauwe circels zijn respectievelijk de gezonde, kanker- en T-cellen. De bovenste T-cel die vanaf 4.9b te zien is, kruipt naar een kankercel toe om die vervolgens te vernietigen.

(a) Geen activiteit van T-cellen (rekentijd ± 3 min).(b) Lage activiteit van T-cellen (± 5 uur).

(c) Lage activiteit van T-cellen.

(d) Hoge activiteit van T-cellen (± 1 uur).

(e) Hoge activiteit van T-cellen.

Figuur 4.10: Links staan de populatiegrootten van drie 3D celkolonies met verschillende mate van activiteit van de T-cellen weergegeven en rechts de cytokineconcentratie rond de bloevaten, geproduceerd door kankercellen. De gesimuleerde tijd bedraagt ongeveer 969s per simulatie.

4.4 Simulatie vanuit gezond weefsel

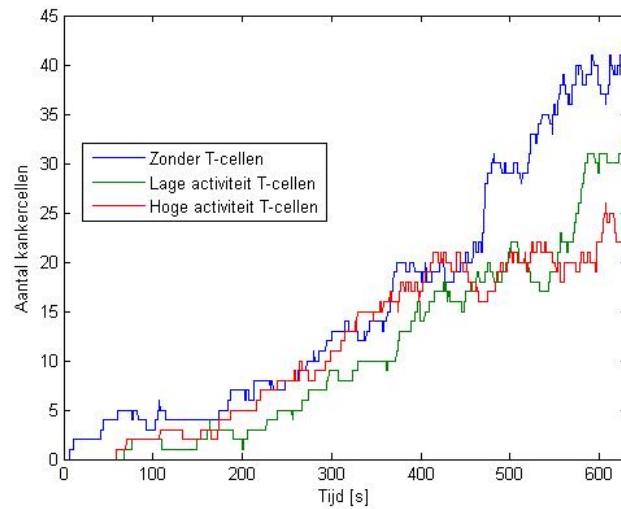
We voeren nu enkele simulaties uit waarbij we de startweefsels uit paragraaf 4.2 gebruiken. In deze simulaties willen we het ontstaan van een tumor in dit model onderzoeken vanuit een gezond weefsel. We nemen daarom aan dat er een verhoogd risico op mutatie is, namelijk $P_{\text{mut}} = 0.1$. Het gevolg hiervan bekijken we in zowel 2D als in 3D, met verschillende mate van activiteit van de T-cellen. We zeggen dat geen activiteit inhoudt dat $A = 0$, lage activiteit inhoudt dat $A = 0.05$ en $B = 1000$ en voor hoge activiteit nemen we aan dat $A = 0.05$ en $B = 200$. De kans $P_{\text{T-in}}$, die afhankelijk is van A en B , is voor dezelfde waarden te zien in figuur 2.8.

We voeren de drie simulaties uit in 2D. De populatiegrootte van deze simulaties is te zien in figuur 4.10. Als de T-cellen geheel uit het model worden weggelaten, kunnen de kankercellen die ontstaan door mutatie zich ongestoord blijven vermenigvuldigen, zie figuur 4.10a. De tumor zal op lange termijn het gehele substraat overnemen. Merk op dat er geen grafiek voor de cytokineconcentratie is, omdat dit nutteloze informatie betreft, aangezien er geen T-cellen worden meegenomen. Bij de simulatie met een lage activiteit van de T-cellen, figuren 4.10b en 4.10c, zien we dat de kankerpopulatie redelijk groot weet te worden. Het gevolg hiervan is dat de cytokineconcentratie omhoog schiet tot ongeveer 70mol/m^3 en daardoor $P_{\text{T-in}} \approx 0.04$ bijna maximaal wordt. Dit houdt in dat de activiteit van de T-cellen, voor deze waarden van A en B , niet veel groter meer kan worden. In dit geval verslaan de T-cellen de kankercellen, maar met een beetje pech kan de kankercelpopulatie de T-cellen weerstaan bij deze concentratie en dan kan de tumor het weefsel overnemen. Nu zal daarentegen bij een hoge activiteit, figuren 4.10d en 4.10e, de kankercelpopulatie nooit omvangrijk kunnen worden. De T-cellen worden namelijk bij een veel lagere concentratie cytokinen rond de bloedvatpunten naar het substraat gelokt, waardoor de kankercellen die ontstaan vaak al worden aangepakt voordat ze kunnen delen. De kankercellen krijgen geen voet aan wal en daarom blijft het weefsel gezond. Bij alle drie de simulaties is één kankercel in de bloedbaan terecht gekomen, waardoor er een eventuele uitzaaiing kan ontstaan. Merk op dat zolang het maar weinig kankercellen betreft die in de bloedbaan komen, zullen deze door elders aanwezige T-cellen geëlimineerd worden. Dit houdt in dat alle simulaties evenveel ‘gevaar’ hebben gesticht voor de rest van het lichaam, maar in potentie zijn natuurlijk die met lage en helemaal die zonder T-cel activiteit veel gevaarlijker.

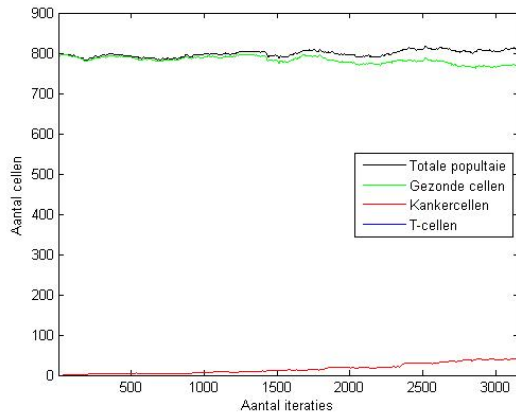
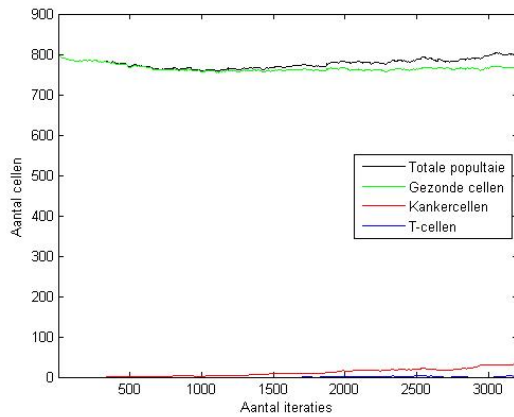
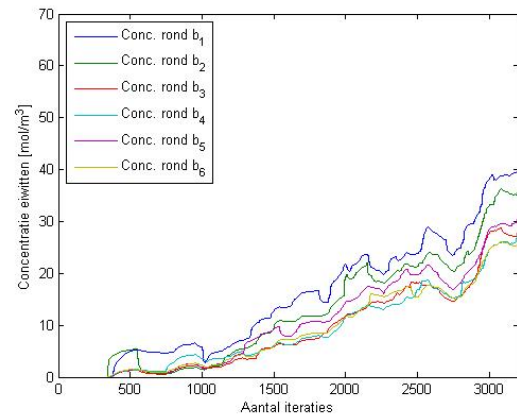
4.4.1 3D

Ook voor het 3D substraat voeren we drie simulaties uit. Voor de celpopulatie van het model zonder T-cel activiteit bekijken we de grafiek 4.12a, hier geldt net als in 2D ongecontroleerde groei. Bovendien zijn er 6 kankercellen in de bloedbaan terecht gekomen. Merk op dat voor deze resultaten de simulatie uit paragraaf 4.2.1 gebruikt is. Figuren 4.12b en 4.12c geven de benodigde informatie over de simulatie met een lage activiteit van de T-cellen. Aan het eind telt de kankerpopulatie 33 cellen, maar vanwege de vorm van de functie blijft de cytokineconcentratie veel lager dan in 2D. Hierdoor blijft $P_{\text{T-in}}$ relatief veel kleiner en hebben de kankercellen de vrijheid om het weefsel over te nemen. Daarnaast hebben 4 kankercellen de bloedvatwand weten te doordringen, wat in verhouding tot de simulatie met hoge T-cel activiteit, waar slechts één kankercel in de bloedbaan is gekomen, een hoge kans op uitzaaiing geeft. Verder lijkt het erop dat de T-cellen, bij een de simulatie met een hoge activiteit, de kankerpopulatie onder controle hebben, zie figuren 4.12d en 4.12e. Er hebben 52 T-cellen het substraat betreden, waar bij lage activiteit dit er slechts 15 waren. Dit houdt in dat er tot wel 37 meer kankercellen vernietigd kunnen worden. Desalniettemin zijn er aan het eind 20 kankercellen, waardoor we niet met grote zekerheid kunnen stellen dat de T-cellen de controle zullen behouden. Deze laatste simulatie zou daarom eigenlijk langer moeten zijn om een betere conclusie te kunnen trekken over deze

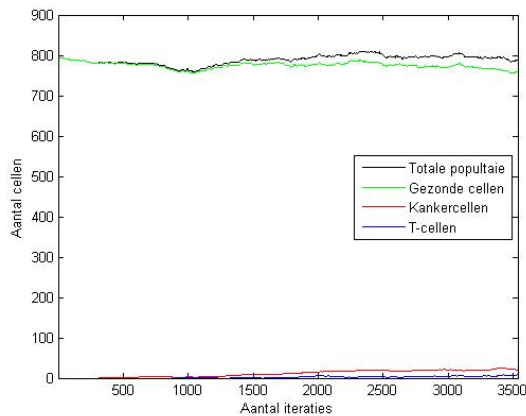
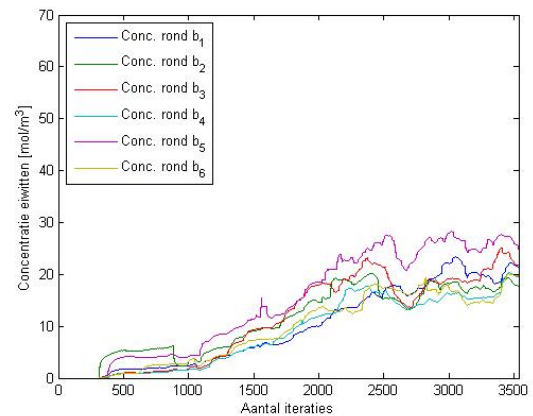
simulatie zelf. Merk op dat dit dan nog slechts één enkele simulatie betreft, waar conclusies over het hele model pas getrokken kunnen worden als er statistisch voldoende simulaties gedaan zijn. Om het aantal kankercellen van de drie simulaties beter met elkaar te kunnen vergelijken verwijzen we naar figuur 4.11, waarin de drie kankerpopulaties te zien zijn.



Figuur 4.11: Het aantal kankercellen bij verschillende simulaties van T-cel activiteit.

(a) Geen activiteit van T-cellen (rekentijd ± 2 uur).(b) Lage activiteit van T-cellen (± 6 uur).

(c) Lage activiteit van T-cellen.

(d) Hoge activiteit van T-cellen (± 10 uur).

(e) Hoge activiteit van T-cellen.

Figuur 4.12: Links staan de populatiegrootten van drie 3D celkolonies met verschillende mate van activiteit van de T-cellen weergegeven en rechts de cytokineconcentratie gemaakt door kankercellen. De gesimuleerde tijd bedraagt ongeveer 631s per simulatie.

5 Conclusie

De belangrijkste onderwerpen van dit verslag zijn de overgang van 2D naar 3D, de implementatie van T-cellen en de bijbehorende cytokineconcentratie geweest. De implementatie van het 3D-model was relatief eenvoudig en de celkolonies bleken zich niet heel anders te gedragen. Voor T-cellen blijkt de extra dimensie echter wel meer uit te maken; de mobiliteit wordt verhoogd door de extra ruimte die gecreëerd wordt. Zowel in 2D als in 3D leken de T-cellen voor een bepaalde parameterkeuze de kankercelpopulatie te kunnen controleren en voor een andere parameterkeuze juist niet. Toch waren de simulaties met T-cellen te kort om zware conclusies te kunnen trekken. Aangezien de rekentijd exponentieel toeneemt, wordt het steeds lastiger om langere tijdsintervallen te onderzoeken. Het meeste verlies in rekentijd was toe te schrijven aan de berekening van de cytokineconcentratie, de genomen maatregelen om dit in te perken bleken achteraf nog niet voldoende. Dit is goed te zien in figuren 4.10 en 4.12 waarin de bijbehorende rekentijden staan. Als je de rekentijden van de simulaties zonder T-cellen, waar dus geen cytokineconcentratie is meegenomen, vergelijkt met die met T-cel activiteit, dan spreken de cijfers voor zich. Er zijn een aantal langere simulaties geprobeerd, maar deze gingen gepaard met de nodige computer-crashes. Bij het model zonder T-cellen konden we de simulatie opdelen in meerdere simulaties, door de staat van het weefsel van de vorige simulatie te laden in de nieuwe. Bij het model met T-cellen hebben we dit niet gedaan, vanwege de lastigheid van de cytokineconcentratie. Het is wel mogelijk dit te doen en het zou iets langere simulaties op kunnen leveren, alleen vereist het extra codeerwerk.

Er zijn verschillende soorten bloedvaten getest, waarbij het betreden van een T-cel tot het substraat vaak tot een onrealistisch bewegingsgedrag leidde (de T-cel sprong heen en weer). De oorzaak was de schaarse ruimte die er was om rustig zijn intreden te kunnen voltooien. De keuze van de bloedvaten in deze vorm lijken het betreden op een normale manier te garanderen, dit stellen we op basis van de simulaties. De T-cel kan op deze manier eerst het substraat zonder conflict betreden, om vervolgens op een geleidelijke manier zich tot de celkolonie te voegen.

6 Discussie

Allereerst moet worden gezegd dat de tijdschaal volkomen buiten proporties is. De tijden uit tabel 3.2 zijn zo gekozen dat de beweging van cellen en koloniegroei samen bekeken kunnen worden. In werkelijkheid liggen de tijden echter zo ver uit elkaar dat deze niet binnen één simulatie te vatten zijn, vandaar de versnelde tijdschaling van de celcyclus, waar de migratieparameters wel zo realistisch mogelijk geschaald blijven. Toch hebben de gekozen celcyclustijden weinig directe invloed op de migratie en vice versa, daarom zal een langere simulatie met realistischere waarden waarschijnlijk niet veel afwijken van de simulaties met de gegeven parameters.

Verder is de keuze van de parameters die te maken hebben met de cytokineconcentratie en de T-cellen ongegrond, omdat hier weinig literair onderzoek aan vooraf is gegaan. Deze parameters zijn veelal gekozen om een specifieke uitkomst te verkrijgen. Maar zelfs realistische keuzes zouden moeten worden opgeschaald vanwege de keuze van de celcyclustijden. Een diepere literatuurstudie in de biologie van het afweersysteem zou al veel kunnen opleveren. Daarbij zal ook beter gekeken moeten worden naar de beweging van T-cellen als gevolg van de cytokineconcentratie, waar wij enkel de bewegingsconstante v_{T-cel} en een snelheidsbegrenzing (zie paragraaf 2.6) bij gebruiken. Er zou ook gekeken kunnen worden naar een efficiëntere manier om rekentijd te winnen bij de berekening van de cytokineconcentratie, die natuurlijk rekening houdt met de nauwkeurigheid. Op dit gebied kan veel computertijd gewonnen worden, wat weer tot langere simulaties kan leiden. Waarschijnlijk kan er al puur met handig programmeerwerk een aanzienlijke winst geboekt worden.

Ook de implementatie van het bloedvatenstelsel zou verbeterd moeten worden. Op dit moment zijn er, afhankelijk van de dimensie, vier of zes punten waar het bloedvatenstelsel het substraat raakt. Met name in 3D zou er gekeken moeten worden naar een bloedvat dat om of door het substraat loopt, voor een realistischer resultaat. Bij een dergelijke aanpassing zou het betreden van een T-cel tot het substraat op een heel andere manier plaats vinden. Hier kan de kans op het doordringen van de bloedvatwand van een T-cel gekoppeld worden aan het aantal T-cellen in het bloedvat en de stroomsnelheid, waar het aantal T-cellen afhankelijk is van de concentratie T-cellen in het bloed. Ook hier zou weer een dieper onderzoek in de literatuur voor nodig zijn. Bij een verandering van de implementatie van de bloedvaten zou het onderdeel van uitzaaiing kunnen worden uitgebreid. Op dit moment wordt slechts gekeken naar de kankercellen die een bepaalde druk M_b^* overschrijden. Maar met de informatie die verkregen is bij de literatuurstudie, zou zo mogelijk een uitzaaiingskans kunnen worden berekend of gevonden. Ook hierbij zou weer rekening gehouden kunnen worden met de concentratie T-cellen in het bloed. Het is natuurlijk niet een gegeven dat wanneer een kankercel in de bloedbaan komt deze zich meteen ergens anders in het lichaam verder gaat delen.

In dit model is bij celmigratie geen traagheid meegenomen, in tegenstelling tot [1] en [2]. Dit maakt niet veel uit als er weinig tot geen botsingen voorkomen tussen cellen onderling of met de wand. Alleen bij een vol substraat is er wel degelijk veel celcontact en zou een model met traagheid een betere kijk op de realiteit geven. Dit heeft echter tot gevolg dat de bewegingsvergelijking een tweede orde differentiaalvergelijking wordt, waardoor een impliciete

tijdsintegratiemethode gewenst is. Wanneer men bij een verder onderzoek de nadruk wil leggen op de celmigratie, dan zou een heroverweging op dit punt worden aanbevolen.

Tot slot is een analyse naar de stabiliteit van het model vereist. In dit onderzoek is hier alleen proefondervindelijk rekening mee gehouden. Een theoretische onderbouwing van de stabiliteit zou de simulatie meer waarde geven en er zou daardoor wellicht een grotere tijdstap gekozen kunnen worden.

Bibliografie

- [1] Vermolen, F.J. & Gefen, A. (2012), A semi-stochastic cell based-formalism to model the dynamics of migration of cells in colonies. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(1-2), 83-195.
- [2] Vermolen, F.J. & Gefen, A. (2013), A semi-stochastic cell-based model for in-vitro infected ‘wound’ healing through motility reduction: a simulation study. *Journal of Theoretical Biology*, 318, 68-80.
- [3] Baars, A. (2007), *Active specific immunotherapy for solid tumors* (Poefschrift), 12-14, ISBN: 978-90-8659-120-6.
- [4] Reinhart-King, C.A., Dembo, M.m & Hammer, D.A. (2008), Cell-cell mechanical communication through compliant substrates. *Biophysical Journal*, 95, 6044-6051.
- [5] Ananthakrishnan, R. & Ehrlicher, A. (2007), The forces behind cell movement, *International Journal of Biological Sciences*, 6044-6051.
- [6] Alberts et al. (2009), *Essential Cell Biology*, Third Edition
- [7] Fu, J., Wang, J.K., Yang, M.T., Desai, R.A., Yu, X., Liu, Z., & Chen, C.S. (2010), Mechanical regulation of cell function with geometrically modulated elastomeric substrates, *Nature Methods*, 7, 733-736.
- [8] Vuik, C., van Beek, P., Vermolen, F. & van Kan, J. (2006), *Numerieke Methoden voor Differentiaalvergelijkingen*, Eerste druk.
- [9] van der Meijden, R. (2013), *Een semi-stochastisch cell-based model voor de ontwikkeling van een longcarcinoom* (Bsc.-verslag).
- [10] Arkesteijn, L. (2012), *Semi-stochastische aanpak van migratie, sterfte en deling in geïnfecteerde celkolonies* (Bsc.-verslag).

Appendices

A Wiskundige toevoegingen

A.1 Definitie van een Brownse beweging

Een Brownse beweging $W(t)$, ook wel Wiener proces of Random Walk, is een continu stochastisch proces die aan de volgende eisen voldoet:

- i) $W(0) = 0$
- ii) Als $t_0 < t_1 < t_2$, dan zijn $W(t_2) - W(t_1)$ en $W(t_1) - W(t_0)$ twee onafhankelijke gebeurtenissen.
- iii) $W(t)$ is stochastisch continu, m.a.w.:

$$\lim_{t \rightarrow t_0} P(|W(t) - W(t_0)| > \epsilon) = 0, \quad \forall \epsilon > 0$$

waar P de kansmaat is.

- iv) Als $t \neq t_0$, dan $W(t) - W(t_0) \sim N(0, t - t_0)$.

A.2 Euler voorwaarts

De toepassing van EV op de beweging in het model is met een nauwkeurigheid van $O(\Delta t)$:

$$\mathbf{r}_i^{n+1} = \mathbf{r}_i^n + \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i^n) \hat{\mathbf{z}}_i$$

A.3 Modified Euler

De toepassing van ME op de beweging in het model is met een nauwkeurigheid van $O(\Delta t^2)$:

$$\begin{aligned} \text{predictor :} \quad & \tilde{\mathbf{r}}_i^{n+1} = \mathbf{r}_i^n + \Delta t \alpha_i M(\mathbf{r}_i^n) \hat{\mathbf{z}}_i \\ \text{corrector :} \quad & \mathbf{r}_i^{n+1} = \mathbf{r}_i^n + \frac{\Delta t}{2} [\alpha_i M(\mathbf{r}_i^n) \hat{\mathbf{z}}_i + \alpha_i M(\tilde{\mathbf{r}}_i^{n+1}) \hat{\mathbf{z}}_i] \end{aligned}$$

B Matlab-code

B.1 Hoofdprogramma

```
clear all;
close all;

dimensie=2; %Dimensie waarin we werken
dt=0.2; %Standaard tijdsverschil per stap (seconde)
T=1000; %Aantal iteraties
eta=5; %Integer voor de tijdstap van de concentratie cytokinen, dt*dtC

if dimensie==2
    StartPositie=importdata('GezondSubstraat\Positie.mat');
    StartStraal=importdata('GezondSubstraat\R.mat');
    StartFase=importdata('GezondSubstraat\Fase.mat');
elseif dimensie==3
    StartPositie=importdata('GezondSubstraat\3D\Positie.mat');
    StartStraal=importdata('GezondSubstraat\3D\R.mat');
    StartFase=importdata('GezondSubstraat\3D\Fase.mat');
end

N0=length(StartPositie(1,:,1)); %Begin aantal cellen
N0_g=N0; N0_k=0; N0_tcel=0;

%-----
%-----Parameters&Beginwaarden-----
%-----
Es=5e3; %Elasticiteit van het substraat (kPa)
Ec=0.5e3; %Elasticiteit van een cel (kPa)
Fh=1e-9; %Trekkracht (Newton)
beta=10; %Mobiliteits coefficient van een cel
mu=0.2; %Celfrictie coefficient
delta=0.8; %Factor hoe ver cellen zich van elkaar verwijderen na mitose
dh=30e-6; %Detectie drempel (meter)
Rw=35e-6; %Straal van de weefselwand (meter)
Rb=8e-6; %Straal van bloedvaten (meter)
R0=3e-6; %Minimale straal van een cel (meter)
Rtcel=4.5e-6; %Straal T-cel (meter)
vtcel=1e4;%4e3; %Bewegingsconstante T-cel
D=0.1e-9; %Diffusiecoefficient (meter^2/seconde)
```

```

psi=2e-9; %Productie cytokinen kankercel (mol/(meter^3 seconde))
Mbster=0.1; %Druk benodigd om bloedvatwand te doordringen kankercel
Puitz=1; %Kans op uitzaaiing kankercel per seconde
Pmut=0.1; %Kans op ontstaan kankercel per celdeling
Ptuit=0.02; %Kans op sterven T-cel per 1 seconde
A=0.05; %max kans f voor 1s tijdstap
B=1000; %hellingsindex kans f voor 1s tijdstap

th=80; %Tijd na dood kankercel dat de difussie niet meer mee telt (seconde)
tster=30; %Tijd waarna difussie als lineair wordt verondersteld (seconde)

%Celcyclus:
TG1_g=300;      TG1_k=50;      %Gemiddelde duur G1 (seconde)
TS_g=400;      TS_k=0;      %Gemiddelde duur S (seconde)
TG2_g=300;      TG2_k=50;      %Gemiddelde duur G2 (seconde)
TM_g=1;        TM_k=1;        %Gemiddelde duur M (seconde)
TC_g=TG1_g+TS_g+TG2_g+TM_g; %Gemiddelde duur hele celcyclus (seconde)
TC_k=TG1_k+TS_k+TG2_k+TM_k;
T2_g=1e7;      T2_k=200;      %>=TC %Verdubbelingstijd (seconde)

lambda=Es/Ec; %Verhouding elasticiteitsmoduli
Rmax=R0*2^(1/3); %Maximale straal cel
Rc=(R0+Rmax)/2; %Straal cel in S-fase
kappa_g=(Rmax-R0)/(TG1_g+TG2_g); %Gemiddelde groeisnelheid van een gezonde cel
kappa_k=(Rmax-R0)/(TG1_k+TG2_k); %Gemiddelde groeisnelheid van een kankercel
sigma_g=2*kappa_g; %Standaarddeviatie van de groeisnelheid gezonde cel
sigma_k=2*kappa_k; %Standaarddeviatie van de groeisnelheid kankercel
%-----

%-----
%Tijdsafhankelijke variabelen
%-----
DT=zeros(T,1); %Variabele grootte van de tijdstap (seconde)
N=zeros(T+1,1); %Totaal aantal cellen
N_g=zeros(T+1,1); %Aantal gezonde cellen
N_k=zeros(T+1,1); %Aantal kankercellen
N_tcel=zeros(T+1,1); %Aantal T-cellen
Nmitose_g=zeros(T,1); %Gezonde cellen die zich gedeeld hebben
Nmitose_k=zeros(T,1); %Kankercellen die zich gedeeld hebben
Nsterfte_g=zeros(T,1); %Gestorven gezonde cellen
Nsterfte_k=zeros(T,1); %Gestorven kankercellen
Nsterfte_t=zeros(T,1); %Gestorven T-cellen
Nmutatie_g=zeros(T,1); %Aantal gezonde cellen dat is gemuteerd naar kankercel
Nnieuw_tcel=zeros(T,1); %Aantal T-cellen dat het domein betreed
Nuitzaai=zeros(T,1); %Aantal kankercellen dat zich uitzaait door bloedvatenstelsel
R=zeros(T+1,N0); %Straal van elke cel (meter)
Positie=zeros(T+1,N0,dimensie); %Positie van een cel
Fase=zeros(T+1,N0); %Fase van de cel G1=1, S=2, G2=3 en M=4
druk=zeros(T,N0); %Totale celdruk op een cel

```

```

druk_b=zeros(T,N0); %Druk van de bloedvatwand op een cel
celtype=zeros(T+1,N0); %0 als cel gezond, 1 als kankercel, 2 als T-cel
GC=zeros(T+1,N0,dimensie); %Gradient voor T-cellen, van cytokinen kankercellen
KANKERINFO=zeros(T+1,N0_k,1+2+dimensie); %celnummer,begintijd,eindtijd,positie
c_b=zeros(T+1,2*dimensie); %Concentratie cytokinen bij bloedvatwand
%-----
%-----

%-----
%Positie bloedvatpunten
%-----
Bloedvat=zeros(2*dimensie,dimensie);
Bloedvat(1,2)=Rw; Bloedvat(2,1)=Rw; Bloedvat(3,2)=-Rw; Bloedvat(4,1)=-Rw;
if dimensie==3
    Bloedvat(5,3)=Rw; Bloedvat(6,3)=-Rw;
end
%-----
%-----

%-----
%Startwaarden
%-----
N_g(1)=N0;
N(1)=N0;
Positie(1,:,:)=StartPositie(1,:,:);
R(1,:)=StartStraal(1,:);
Fase(1,:)=StartFase(1,:);
%-----
%-----

%-----
%-----SIMULATIE-----
%-----
for t=1:T
    GCELLEN=(celtype(t,:)==0).*ones(1,N(t));
    KCELLEN=(celtype(t,:)==1).*ones(1,N(t));
    TCELLEN=(celtype(t,:)==2).*ones(1,N(t));

    G1=(Fase(t,:)==1).*ones(1,N(t));
    S=(Fase(t,:)==2).*ones(1,N(t));
    G2=(Fase(t,:)==3).*ones(1,N(t));
    MITOSE=(Fase(t,:)==4).*ones(1,N(t));

    phi=(G1+S+G2).*GCELLEN; %Bewegingsindex
    gamma=G1+G2; %Groei-index

    POS=reshape(Positie(t,:,:),N(t),dimensie);
    afb=DistMat2(Bloedvat,POS); %Afstand cellen tot bloedvaten

```

```

IN_tcel=sum((afb<=Rb+0.5*Rtcel).*(ones(2*dimensie,1)*TCELLEN),1)==0;
zeta=GCELLEN+KCELLEN+IN_tcel; %Bloedvat afstotings-index

%-----
%Runge-Kutta (4) voor beweging van cellen
%-----
DT(t)=dt;
groeisnelheid=kappa_g*GCELLEN+kappa_k*KCELLEN;
sigma=sigma_g*GCELLEN+sigma_k*KCELLEN;
alpha=(beta*R(t,:).^5)/(mu*R0^2*Fh); %Mobiliteitscoeff (meter^3/(Newt*sec))

%-----
%De extra beweging van T-cellen door concentratie cytokinen:
VTCEL=(vtcel*(ones(dimensie,1)*alpha)).'*reshape(GC(t,:,:),N(t),dimensie);
%VTCEL begrenzing:
NORMVTCEL=NormMat(VTCEL);
VTCEL=VTCEL.*((min(NORMVTCEL,R0)./NORMVTCEL)*ones(1,dimensie));
VTCEL(isnan(VTCEL))=0;

%-----
%Predictor 1: v1
Mj0=(Fh^2)./(2*Es*pi*(R(t,:).^4)); %Elke cel zijn eigen trekkracht
af=DistMat(POS); %Onderlinge afstand cellen
DETECT=(af<dh)-eye(N(t)); %1 als cel j binnen detectiedrempel cel i, anders 0
Mj=(ones(N(t),1)*Mj0).*(exp(-lambda*af./(R(t,:)'*ones(1,N(t)))).*DETECT);

h=ones(N(t),1)*R(t,:)+R(t,:)'*ones(1,N(t))-af;
hh=h>0; %Overlapping tot andere cel
h=0.5*(hh.*h); %Matrix voor h=0.5max{0,Ri+Rj-||ri-rj||}
h(logical(eye(size(h))))=0; %Maakt de elementen op de diagonaal 0
Mij=4*Ec/(15*sqrt(2)*pi)*(h./(ones(N(t),1)*R(t,:)).^(5/2)); %Mij(ri)

hb=ones(2*dimensie,1)*R(t,:)+Rb*ones(2*dimensie,N(t))-afb; %Overlap bloedvat
hbb=hbb>0;
hb=0.5*(hbb.*hb); %Matrix voor h=0.5max{0,Rb+Ri-||rb-ri||}
Mib=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hb./(ones(2*dimensie,1)*R(t,:)).^(5/2));

afmid=NormMat(POS)'; %Afstand cel tot oorsprong
hw=((afmid+R(t,:)-Rw)>0).*(0.5*(afmid+R(t,:)-Rw)); %Matrix voor hw
Miw=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hw./R(t,:)).^(5/2); %Afstotende kracht substr.w.

M=Miw+sum(Mib,1).*zeta+Mj0+sum(abs((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij),1);
druk(t,:)=Miw+sum(Mib,1)+sum(Mij,1); %Totale celdruk
druk_b(t,:)=sum(Mib,1); %Druk op bloedvatwand

%Bewegingsrichting:
NORM1=1./NormMat(POS)';
NORM1(isnan(NORM1))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM1(isinf(NORM1))=0; %Maakt van Inf een 0

```

```

NORM2=1./DistMat(POS);
NORM2(isnan(NORM2))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM2(logical(eye(size(NORM2))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
NORM3=1./afb;
NORM3(isnan(NORM3))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM3(logical(eye(size(NORM3))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
z=zeros(N(t),dimensie);
for d=1:dimensie
    AFd=POS(:,d)*ones(1,N(t))-ones(N(t),1)*POS(:,d)';
    AFBd=Bloedvat(:,d)*ones(1,N(t))-ones(2*dimensie,1)*POS(:,d)';
    z(:,d)=-Miw.*POS(:,d)'.*NORM1-zeta.*sum(Mib.*AFBd.*NORM3,1)
        +sum((((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij).*AFd).*NORM2,1);
end
zh=z./(NormMat(z)*ones(1,dimensie)); %Richting van beweging
zh(isnan(zh))=0; %Maakt van NaN een 0

v1=(ones(dimensie,1)*(alpha.*M))'.*zh;

%-----
%Predictor 2: v2
POS2=reshape(Positie(t,:,:),N(t),dimensie)+0.5*DT(t)*v1;
af2=DistMat(POS2);
DETECT=(af2<dh)-eye(N(t));
Mj=(ones(N(t),1)*Mj0).*(exp(-lambda*af2./(R(t,:)'.*ones(1,N(t)))).*DETECT);
h2=ones(N(t),1)*R(t,:)+R(t,:)'.*ones(1,N(t))-af2;
hh2=h2>0;
h2=0.5*(hh2.*h2);
h2(logical(eye(size(h2))))=0;
Mij=4*Ec/(15*sqrt(2)*pi)*(h2./(ones(N(t),1)*R(t,:)).^(5/2));
afb2=DistMat2(Bloedvat,POS2);
hb2=ones(2*dimensie,1)*R(t,:)+Rb*ones(2*dimensie,N(t))-afb2;
hbb2=hb2>0;
hb2=0.5*(hbb2.*hb2);
Mib=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hb2./(ones(2*dimensie,1)*R(t,:)).^(5/2));
afmid=NormMat(POS2)';
hw=((afmid+R(t,:)-Rw)>0).*(0.5*(afmid+R(t,:)-Rw));
Miw=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hw./R(t,:)).^(5/2);
M=Miw+Mj0+sum(abs((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij),1);

%Bewegingsrichting:
NORM1=1./NormMat(POS2)';
NORM1(isnan(NORM1))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM1(isinf(NORM1))=0; %Maakt van Inf een 0
NORM2=1./DistMat(POS2);
NORM2(isnan(NORM2))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM2(logical(eye(size(NORM2))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
NORM3=1./afb2;
NORM3(isnan(NORM3))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM3(logical(eye(size(NORM3))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0

```

```

z=zeros(N(t),dimensie);
for d=1:dimensie
    AFd=POS2(:,d)*ones(1,N(t))-ones(N(t),1)*POS2(:,d)';
    AFBd=Bloedvat(:,d)*ones(1,N(t))-ones(2*dimensie,1)*POS2(:,d)';
    z(:,d)=-Miw.*POS2(:,d)'.*NORM1-zeta.*sum(Mib.*AFBd.*NORM3,1)
        +sum(((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij).*AFd).*NORM2,1);
end
zh=z./(NormMat(z)*ones(1,dimensie)); %Richting van beweging
zh(isnan(zh))=0; %Maakt van NaN een 0

v2=(ones(dimensie,1)*(alpha.*M))'.*zh;

%-----
%Predictor 3: v3
POS2=reshape(Positie(t, :, :), N(t), dimensie)+0.5*DT(t)*v2;
af2=DistMat(POS2);
DETECT=(af2<dh)-eye(N(t));
Mj=(ones(N(t),1)*Mj0).*(exp(-lambda*af2./(R(t,:)'.*ones(1,N(t)))).*DETECT);
h2=ones(N(t),1)*R(t,:)+R(t,:)'.*ones(1,N(t))-af2;
hh2=h2>0;
h2=0.5*(hh2.*h2);
h2(logical(eye(size(h2))))=0;
Mij=4*Ec/(15*sqrt(2)*pi)*(h2./(ones(N(t),1)*R(t,:)).^(5/2));
afb2=DistMat2(Bloedvat,POS2);
hb2=ones(2*dimensie,1)*R(t,:)+Rb*ones(2*dimensie,N(t))-afb2;
hhb2=hb2>0;
hb2=0.5*(hhb2.*hb2);
Mib=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hb2./(ones(2*dimensie,1)*R(t,:)).^(5/2));
afmid=NormMat(POS2)';
hw=((afmid+R(t,:)-Rw)>0).*(0.5*(afmid+R(t,:)-Rw));
Miw=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hw./R(t,:)).^(5/2);
M=Miw+Mj0+sum(abs((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij),1);

%Bewegingsrichting:
NORM1=1./NormMat(POS2)';
NORM1(isnan(NORM1))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM1(isinf(NORM1))=0; %Maakt van Inf een 0
NORM2=1./DistMat(POS2);
NORM2(isnan(NORM2))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM2(logical(eye(size(NORM2))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
NORM3=1./afb2;
NORM3(isnan(NORM3))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM3(logical(eye(size(NORM3))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
z=zeros(N(t),dimensie);
for d=1:dimensie
    AFd=POS2(:,d)*ones(1,N(t))-ones(N(t),1)*POS2(:,d)';
    AFBd=Bloedvat(:,d)*ones(1,N(t))-ones(2*dimensie,1)*POS2(:,d)';
    z(:,d)=-Miw.*POS2(:,d)'.*NORM1-zeta.*sum(Mib.*AFBd.*NORM3,1)
        +sum(((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij).*AFd).*NORM2,1);

```

```

end
zh=z./(NormMat(z)*ones(1,dimensie)); %Richting van beweging
zh(isnan(zh))=0; %Maakt van NaN een 0

v3=(ones(dimensie,1)*(alpha.*M))'.*zh;

%-----
%Predictor 4: v4
POS2=reshape(Positie(t, :, :), N(t), dimensie)+DT(t)*v3;
af2=DistMat(POS2);
DETECT=(af2<dh)-eye(N(t));
Mj=(ones(N(t),1)*Mj0).*(exp(-lambda*af2./(R(t,:)'.*ones(1,N(t)))).*DETECT);
h2=ones(N(t),1)*R(t,:)+R(t,:)'.*ones(1,N(t))-af2;
hh2=h2>0;
h2=0.5*(hh2.*h2);
h2(logical(eye(size(h2))))=0;
Mij=4*Ec/(15*sqrt(2)*pi)*(h2./(ones(N(t),1)*R(t,:)).^(5/2);
afb2=DistMat2(Bloedvat,POS2);
hb2=ones(2*dimensie,1)*R(t,:)+Rb*ones(2*dimensie,N(t))-afb2;
hbb2=hb2>0;
hb2=0.5*(hbb2.*hb2);
Mib=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hb2./(ones(2*dimensie,1)*R(t,:)).^(5/2);
afmid=NormMat(POS2)';
hw=((afmid+R(t,:)-Rw)>0).*(0.5*(afmid+R(t,:)-Rw));
Miw=(4*Ec/(15*sqrt(2)*pi))*(hw./R(t,:)).^(5/2);
M=Miw+Mj0+sum(abs((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij),1);

%Bewegingsrichting:
NORM1=1./NormMat(POS2)';
NORM1(isnan(NORM1))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM1(isinf(NORM1))=0; %Maakt van Inf een 0
NORM2=1./DistMat(POS2);
NORM2(isnan(NORM2))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM2(logical(eye(size(NORM2))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
NORM3=1./afb2;
NORM3(isnan(NORM3))=0; %Maakt van NaN een 0
NORM3(logical(eye(size(NORM3))))=0; %Maakt elementen op de diagonaal 0
z=zeros(N(t),dimensie);
for d=1:dimensie
    AFd=POS2(:,d)*ones(1,N(t))-ones(N(t),1)*POS2(:,d)';
    AFBd=Bloedvat(:,d)*ones(1,N(t))-ones(2*dimensie,1)*POS2(:,d)';
    z(:,d)=-Miw.*POS2(:,d)'.*NORM1-zeta.*sum(Mib.*AFBd.*NORM3,1)
        +sum((((ones(N(t),1)*phi).*Mj-Mij).*AFd).*NORM2,1);
end
zh=z./(NormMat(z)*ones(1,dimensie)); %Richting van beweging
zh(isnan(zh))=0; %Maakt van NaN een 0

v4=(ones(dimensie,1)*(alpha.*M))'.*zh;

```

```

%-----
%Corrector:
v=(1/6)*(v1(:, :)+2*v2(:, :)+2*v3(:, :)+v4(:, :))+VTCEL;

%Tijdstapbegrenzing:
vmax=max(NormMat(v));
if vmax*dt > (R0/4)
    DT(t)=R0/(4*vmax);
end

Positie(t+1, :, :)=Positie(t, :, :)+reshape(DT(t)*v, 1, N(t), dimensie);
%-----
%-----

%-----
%Sterftekans, Groei & Stofdiffusie
%-----
%Sterftekans cellen:
PSTERFTE_g=GCELLEN.*(1-2.^(((1/T2_g-1/TC_g)*DT(t)*9)
    ./(1+10*exp(-druk(t, :))))); %Kans op sterfte gezonde cel
PSTERFTE_k=KCELLEN.*(1-2.^(((1/T2_k-1/TC_k)*DT(t)*1.9)
    ./(1+exp(-3*druk(t, :))))); %Kans op sterfte kankercel
Pt_uit=TCELLEN.*(1-(1-Ptuit)^DT(t)); %Kans op sterfte van een T-cel

%Stervende cellen:
STERFTE_g=binornd(1, PSTERFTE_g); %Kans sterven per individuele gezonde cel
STERFTE_k=binornd(1, PSTERFTE_k); %Kans sterven per individuele kankercel
STERFTE_t=binornd(1, Pt_uit); %Kans sterven per individuele kankercel

%T-cel killt kankercel:
Traak=(TCELLEN'*KCELLEN).*h; %1 als een tcel kankercel raakt, anders 0
temp=Traak;
temp(temp==0)=Inf; %Geeft 0 waarde oneindig
minh=min(temp, [], 2);
dichstbij=Traak-minh*ones(1, N(t));
dichstbij=(dichstbij==0); %Kan zijn dat 2 T-cellen 1 kankercel killen
KILL=find(dichstbij>0);
rij=ceil(KILL./N(t));
kolom=mod(KILL-1, N(t))+1;
for i=1:length(kolom)
    STERFTE_k(kolom(i))=1;
    STERFTE_t(rij(i))=1;
end

%Uitzaaiing:
CONTACT=sum(afb.*(ones(2*dimensie, 1)*((STERFTE_k==0).*KCELLEN)), 1)>0;
    %Kankercellen die tegen een bloedvat liggen
UITZAAI_k=(CONTACT.*druk_b(t, :))>Mbster; %Kankerc. die grensdruk Mb* oversch.
STERFTE_k=STERFTE_k+UITZAAI_k;

```

```

%Totale sterfte:
STERFTE_k=STERFTE_k>0;
STERFTE_t=STERFTE_t>0;
Sterfte=STERFTE_g+STERFTE_k+STERFTE_t; %Kans sterven elke cel (N(t)*1)
Fase(t,:)=Fase(t,:).*(Sterfte==0);
        %Verzekering tegen celdeling als cel gaat sterven
Nsterfte_g(t)=sum(STERFTE_g); %Totale sterfte onder gezonde cellen
Nsterfte_k(t)=sum(STERFTE_k); %Totale sterfte onder kankercellen
Nsterfte_t(t)=sum(STERFTE_t); %Totale sterfte onder T-cellen
Nuitzaai(t)=sum(UITZAAI_k); %Totale uitzaaiing kankercellen

%-----
%Groei
Fase(t,:)=Fase(t,:).*(Sterfte(:)'==0);
        %Verzekering tegen celdeling als cel gaat sterven
R(t+1,:)=(R(t,:)+(gamma.*groeisnelheid+(G1+S+G2)
        .*normrnd(0,sigma/sqrt(DT(t))))*DT(t)).*(Sterfte(:)'==0);
celtype(t+1,:)=celtype(t,:).*(Sterfte(:)'==0);

%-----
%KANKERINFO matrix aanpassen
LENGTEKINFO=length(KANKERINFO(t,:,1));
for k=1:LENGTEKINFO
    if KANKERINFO(t,k,1)>0 && Sterfte(KANKERINFO(t,k,1))~=1
        if KANKERINFO(t,k,1)==1
            KANKERINFO(t+1,k,1)=KANKERINFO(t,k,1);
        else
            KANKERINFO(t+1,k,1)=KANKERINFO(t,k,1)
            -sum(Sterfte(1:KANKERINFO(t,k,1)-1));
        end
        KANKERINFO(t+1,k,2)=KANKERINFO(t,k,2);
        KANKERINFO(t+1,k,3)=t+1;
        KANKERINFO(t+1,k,4:3+dimensie)=Positie(t+1,KANKERINFO(t,k,1,:));
    elseif KANKERINFO(t,k,1)==0
        KANKERINFO(t+1,k,2)=KANKERINFO(t,k,2);
        KANKERINFO(t+1,k,3)=KANKERINFO(t,k,3);
    elseif Sterfte(KANKERINFO(t,k,1))==1
        KANKERINFO(t+1,k,1)=0;
        KANKERINFO(t+1,k,2)=KANKERINFO(t,k,2);
        KANKERINFO(t+1,k,3)=t;
    end
end
end

%-----
%Cytokineconcentratie in bloedvaten en gradient voor T-cellen:
pos_t=find(TCELLEN==1);
if isempty(pos_t)==0
    for k=1:LENGTEKINFO

```

```

for i=1:N_tcel(t)
    GC(t+1,pos_t(i),:)=GC(t+1,pos_t(i),:)
        +reshape(GradConc(Positie(t,pos_t(i),:),t,DT(1:t),
            KANKERINFO(1:t,k,:),D,psi),1,1,dimensie);
end
end
end
if mod(t,eta)==1 || eta==1
    if isempty(KANKERINFO(1,:,1))==0
        AANTALKANKERINFO=length(KANKERINFO(1,:,1));
        if tster<sum(DT)
            tijd=sum(tril(ones(t,1)*DT(1:t)'),2);
            qq=find((tijd-tster)>0);
            eind=qq(1)-1;
            %ONDERGRENS: min{t-tster,t_a} (1*Nkinf)
            VANOTOTLEVEN=sum((ones(AANTALKANKERINFO,1)*DT(1:t)')
                .*((ones(AANTALKANKERINFO,1)*sum(triu(ones(t,t)),1)
                -reshape(KANKERINFO(t,:,2),AANTALKANKERINFO,1)
                *ones(1,t))<0),2);
            ONDERGRENS=min((sum(DT)-tster)*ones(AANTALKANKERINFO,1),
                VANOTOTLEVEN);
            %BOVENGRENS: min{t-tster,t_b} (1*Nkinf)
            VANOTOTDOOD=sum((ones(AANTALKANKERINFO,1)*DT(1:t)')
                .*((ones(AANTALKANKERINFO,1)*sum(triu(ones(t,t)),1)
                -reshape(KANKERINFO(t,:,3),AANTALKANKERINFO,1)
                *ones(1,t))-1<0),2);
            BOVENGRENS=min((sum(DT)-tster)*ones(AANTALKANKERINFO,1),
                VANOTOTDOOD);
            if dimensie==2
                c_b(t+1,:)=sum(psi/(4*pi*D)*(log((sum(DT)-ONDERGRENS)
                    ./((sum(DT)-BOVENGRENS)))));
            elseif dimensie==3
                c_b(t+1,:)=sum(psi/(2*pi*D)*(1/sqrt(sum(DT)-BOVENGRENS)
                    -1/sqrt(sum(DT)-ONDERGRENS))));
            end
        else
            eind=t;
        end
        for s=1+t-eind:t
            AFbk=DistMat2(Bloedvat(:,:),reshape(KANKERINFO(s,:,4:3+dimensie)
                ,AANTALKANKERINFO,dimensie));
            CBs=Conc2(dimensie,AFbk,sum(DT),sum(DT(1:s-1)),DT(s),D,psi);
            LEVEND=reshape(KANKERINFO(s,:,2)<=s,1,AANTALKANKERINFO)
                .*reshape(KANKERINFO(s,:,3)>=s,1,AANTALKANKERINFO);
            c_b(t+1,:)=c_b(t+1,:)+reshape(sum(CBs.*(ones(2*dimensie,1)
                *LEVEND),2),1,2*dimensie);
        end
    end
else

```

```

        c_b(t+1,:)=c_b(t,:);
    end

%-----
%Betreden T-cel van het substraat:
Bloedvat_vrij=sum((afb<=Rb+0.5*Rtcel).*(ones(2*dimensie,1)*TCELLEN),2)==0;
    %Bloedvaten waar geen T-cel in ligt.
Pt_in=1-(1-(A*c_b(t,:).^2./(c_b(t,:).^2+B)).^DT(t);
Nieuw_tcel=binornd(1,Pt_in).*Bloedvat_vrij' ;
Posnieuw_tcel=(Nieuw_tcel'*ones(1,dimensie)).*Bloedvat(:,:);
Nnieuw_tcel(t)=sum(Nieuw_tcel);
%-----
%-----

%-----
%FASE BEPALING & CELDELING
%-----
%Faseverandering:
%Merk op dat cellen die sterven niet groeien in straal en dus niet
%binnen de volgende matrices kunnen liggen
G1toS=(R(t+1,:).*(G1)>=Rc;
StoG2=binornd(1,(11*DT(t))./(TS_g*(1+9*exp(druk(t,:))))).*S;
G2toM=(R(t+1,:).*(G2)>=Rmax;
Fase(t+1,:)=Fase(t,:)+(G1toS.*GCELLEN)+2*(G1toS.*KCELLEN)+StoG2+G2toM;
R(t+1,:)=R(t+1,:).*(G2toM==0)+Rmax*G2toM; %Voorkomt straal > Rmax

%-----
%Celdeling
Fase(t+1,:)=Fase(t+1,:).*(MITOSE~=1)+1*MITOSE;
R(t+1,:)=R(t+1,:).*(MITOSE~=1)+R0*MITOSE;

MITOSE_g=MITOSE.*(Sterfte(:)'==0).*GCELLEN; %Gezonde cellen die gaan delen
MITOSE_k=MITOSE.*(Sterfte(:)'==0).*KCELLEN; %Kankercellen die gaan delen
Nmitose_g(t)=sum(MITOSE_g); %#gezonde cellen in mitose (die niet sterven)
Nmitose_k(t)=sum(MITOSE_k); %#kankercellen in mitose (die niet sterven)
Nmitose=Nmitose_g(t)+Nmitose_k(t); %#cellen in mitose (die niet sterven)
Nnieuw=Nmitose_g(t)+Nmitose_k(t)+Nnieuw_tcel(t); %Aantal nieuwe cellen

Positie(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw),:)=zeros(T+1,Nnieuw,dimensie);
R(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(T+1,Nnieuw);
Fase(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(T+1,Nnieuw);
celtype(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(T+1,Nnieuw);
druk(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(T,Nnieuw);
druk_b(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(T,Nnieuw);
GC(:,(N(t)+1):(N(t)+Nnieuw),:)=zeros(T+1,Nnieuw,dimensie);

MITOSE_g((N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(1,Nnieuw);
MITOSE_k((N(t)+1):(N(t)+Nnieuw))=zeros(1,Nnieuw);

```

```

NIEUW_g=zeros(1,N(t)+Nnieuw);
NIEUW_k=zeros(1,N(t)+Nnieuw);
NIEUW_t=zeros(1,N(t)+Nnieuw);
NIEUW_g(N(t)+1:N(t)+Nmitose_g(t))=ones(1,Nmitose_g(t));
NIEUW_k(N(t)+Nmitose_g(t)+1:N(t)+Nmitose_g(t)+Nmitose_k(t))=ones(1,Nmitose_k(t));
NIEUW_t(N(t)+Nmitose_g(t)+Nmitose_k(t)+1:N(t)+Nnieuw)=ones(1,Nnieuw_tcel(t));

MUTATIE=binornd(1,Pmut*NIEUW_g);
Nmutatie_g(t)=sum(MUTATIE);
KANKERINFO(:,LENGTEKINFO+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)+Nmutatie_g(t),:)=
    =zeros(T+1,Nmitose_k(t)+Nmutatie_g(t),3+dimensie);

XI=unifrnd(0,(MITOSE_g+MITOSE_k)'/ones(1,dimensie-1)); %Random richting

KOPPEL_g=KopMat(MITOSE_g,NIEUW_g);
KOPPEL_k=KopMat(MITOSE_k,NIEUW_k);
KOPPEL=KOPPEL_g+KOPPEL_k;

XI=XI+KOPPEL*XI;

R(t+1,:)=R(t+1,:)+RO*(NIEUW_g+NIEUW_k+NIEUW_t);
Fase(t+1,:)=Fase(t+1,:)+1*(NIEUW_g+NIEUW_k)+5*NIEUW_t;
celtype(t+1,:)=celtype(t+1,:)+MUTATIE+NIEUW_k+2*NIEUW_t;

%-----
%Positiebepaling nieuwe cellen:
Positie(t+1,:,:)=Positie(t+1,:,:)+reshape(KOPPEL*reshape(Positie(t+1,:,:),
    ,N(t)+Nnieuw,dimensie),1,N(t)+Nnieuw,dimensie); %Positie moeder cel
if dimensie==2
    Positie(t+1,:,:)=Positie(t+1,:,:)+reshape(((MITOSE_g+MITOSE_k-NIEUW_g
        -NIEUW_k)'/ones(1,2)).*(delta*RO*[cos(2*pi*XI) sin(2*pi*XI)]),
        1,N(t)+Nnieuw,dimensie);
elseif dimensie==3
    Positie(t+1,:,:)=Positie(t+1,:,:)+reshape(((MITOSE_g+MITOSE_k-NIEUW_g
        -NIEUW_k)'/ones(1,3)).*(delta*RO*[cos(2*pi*XI(:,1))
        .*sin(2*pi*XI(:,2)) sin(2*pi*XI(:,1)).*sin(2*pi*XI(:,2))
        cos(2*pi*XI(:,2))]),1,N(t)+Nnieuw,dimensie);
end

%-----
%Toevoegen nieuwe kankercellen aan KANKERINFO:
INDEX_knieuw=find(NIEUW_k==1);
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t),1)=reshape(
    INDEX_knieuw-Nsterfte_g(t)-Nsterfte_k(t)-Nsterfte_t(t),1,Nmitose_k(t),1);
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t),2)=t+1;
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t),3)=t+1;
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t),4:dimensie+3)
    =Positie(t+1,N(t)+Nmitose_g(t)+1:N(t)+Nmitose_g(t)+Nmitose_k(t),:);

```

```

%Mutatie
INDEX_mutatie=find(MUTATIE==1);
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)
+Nmutatie_g(t),1)=reshape(INDEX_mutatie-Nsterfte_g(t)-Nsterfte_k(t)
-Nsterfte_t(t),1,Nmutatie_g(t),1);
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)
+Nmutatie_g(t),2)=t+1;
KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)+1:LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)
+Nmutatie_g(t),3)=t+1;
for k=1:Nmutatie_g(t)
    KANKERINFO(t+1,LENGTEKINFO+Nmitose_k(t)+k,4:dimensie+3)
        =Positie(t+1,INDEX_mutatie(k),:);
end
%-----
%-----

%-----
%Aanmaak nieuwe T-cellen
%-----
if Nnieuw_tcel(t)>0
    index=find(Nnieuw_tcel==1);
    for n=1:Nnieuw_tcel(t)
        Positie(t+1,N(t)+Nmitose+n,1)=(1-0.5e-6/Rw)*Posnieuw_tcel(index(n),1);
        Positie(t+1,N(t)+Nmitose+n,2)=(1-0.5e-6/Rw)*Posnieuw_tcel(index(n),2);
        if dimensie==3
            Positie(t+1,N(t)+Nmitose+n,3)
                =(1-0.5e-6/Rw)*Posnieuw_tcel(index(n),3);
        end
        R(t+1,N(t)+Nmitose+n)=Rtcel;
        Fase(t+1,N(t)+Nmitose+n)=5;
        celtype(t+1,N(t)+Nmitose+n)=2;
    end
end
%-----
%-----

%-----
%Deleten dode cellen
%-----
%Delete cellen bij celsterfte:
for n=N(t):-1:1
    if Sterfte(n)==1
        Fase(:,n)=[];
        Positie(:,n,:)=[];
        R(:,n)=[];
        druk(:,n)=[];
        druk_b(:,n)=[];
        celtype(:,n)=[];
        GC(:,n,:)=[];
    end
end

```

```

        end
    end

    %Delete kankercellen die langer dan tster dood zijn
    for k=LENGTEKINFO:-1:1
        if sum(DT(KANKERINFO(t,k,3):t))>th
            KANKERINFO(:,k,:)=[];
        end
    end

    end

    %-----
    %-----

    %-----
    %Celpopulatie
    %-----
    N_g(t+1)=N_g(t)+Nmitose_g(t)-Nmutatie_g(t)-Nsterfte_g(t);
    N_k(t+1)=N_k(t)+Nmitose_k(t)+Nmutatie_g(t)-Nsterfte_k(t);
    N_tcel(t+1)=N_tcel(t)+Nnieuw_tcel(t)-Nsterfte_t(t);
    N(t+1)=N_g(t+1)+N_k(t+1)+N_tcel(t+1);
    %-----
    %-----

    t

end

%-----
%-----
%-----

```

B.2 Hulpprogramma's

```
%-----
function [ Y ] = DistMat( X )
%DistMat returns the distance between points
%   Input X=[x1 y1; x2 y2; ...] or X=[x1 y1 z1; x2 y2 z2; ...]
%   2D or 3D

[m,n]=size(X);

Ax=ones(m,1)*X(:,1)';
Bx=(Ax-Ax');
Cx=Bx.*Bx;

Ay=ones(m,1)*X(:,2)';
By=(Ay-Ay');
Cy=By.*By;

if n==3
    Az=ones(m,1)*X(:,3)';
    Bz=(Az-Az');
    Cz=Bz.*Bz;

    Y=sqrt(Cx+Cy+Cz);
else
    Y=sqrt(Cx+Cy);
end
end
%-----
```

```

%-----
function [ Q ] = DistMat2( X, Y )
%DistMat2 returns the distance between points
%   Input X and Y containing points, boths same dimension
%   Output (m*n)

[m,d]=size(X);
[n,d]=size(Y);

Ax=X(:,1)*ones(1,n);
Bx=ones(m,1)*Y(:,1)';
Cx=(Ax-Bx);
Dx=Cx.*Cx;

Ay=X(:,2)*ones(1,n);
By=ones(m,1)*Y(:,2)';
Cy=(Ay-By);
Dy=Cy.*Cy;

if d==3
    Az=X(:,3)*ones(1,n);
    Bz=ones(m,1)*Y(:,3)';
    Cz=(Az-Bz);
    Dz=Cz.*Cz;

    Q=sqrt(Dx+Dy+Dz);
else
    Q=sqrt(Dx+Dy);
end

end
%-----

```

```

%-----
function [ Y ] = NormMat( X )
%NormMat returns the 2-norm of points in a matrix both 2D and 3D
%   X=[x1 y1 (z1); x2 y2 (z2); ...]
%   Y=[||(x1,y1,(z1))||; ||(x2,y2,(z2))||; ...]

Y=sqrt(sum(X.^2,2));

end
%-----

%-----
function [ A ] = KopMat( X, Y )
%KopMat returns a matrix that couples the indices not equal to zero of the
%vectors X and Y, given X and Y have the same amount of indices not equal
%to zero and have the same length
%   We kunnen dan waarden van vector X naar Y projecteren door:
%   Waarde_Y=A*Waarde_X

n=length(X);
B=zeros(n,n);
x=find(X~=1);
y=find(Y~=1);
for i=1:length(x)
    B(y(i),x(i))=1;
end

A=B;

end
%-----

```

```

%-----
function [ gck ] = GradConc( X, t, DTn, KANKERINFO, D, psi )
%Conc returns the gradient of the concentration of proteins made by one
%cancer cell on a given position X

N=t; %Aantal genomen tijdstappen
d=length(X); %dimensie
tmins=sum(triu(ones(N,1)*DTn(1:N)'),2); %t-s (N*1)
X=(reshape(X,d,1)*ones(1,N))'; %Positie T-cel (N*d)
Xk=reshape(KANKERINFO(:,4:3+d),N,d); %Positie matrix kankercel in de tijd (N*d)
Kinfo=reshape(KANKERINFO,N,3+d);
a=Kinfo(N,2); %Begin leven
b=Kinfo(N,3); %Dood
PSI=zeros(N,1);
PSI(a:b)=psi; %Waarde psi als levend, 0 als dood per tijdstap
PSI=PSI*ones(1,d); %(N*d)
NORM2=sum((X-Xk).^2,2); %norm^2 (N*1)
f=(-PSI/(8*pi*D)).*((X-Xk)./(tmins.^(1+d/2)*ones(1,d)))
   .*(exp(-NORM2./(4*D*tmins))*ones(1,d));

%Trapeziumregel over f
gewicht=DTn;
gewicht(1)=0.5*gewicht(1);
gewicht(N)=0.5*gewicht(N);
gewicht=gewicht*ones(1,d); %(N*d)

gck=sum(gewicht.*f,1); %Gradient eiwitconcentratie in X voor kankercel k

end
%-----

%-----
function [ C ] = Conc2( dimensie, afstand, t, s, dt, D, psi )
%Conc2 concentration with trapezoid rule for one segment

d=dimensie; s1=s+dt;

links=(psi/(4*pi*D*(t-s)^(d/2)))*exp(-afstand.^2./(4*D*(t-s)));
if s1==t
    rechts=0;
else
    rechts=(psi/(4*pi*D*(t-s1)^(d/2)))*exp(-(afstand.^2)./(4*D*(t-s1)));
end

C=dt*0.5*(links+rechts);

end
%-----

```