

## مدل رشد تومور جامد بدون رگ بر اساس چرخه سلولی با استفاده از اتوماتای سلولی

فاطمه پورحسن زاده<sup>۱\*</sup>، سید حجت سبزویشان<sup>\*</sup>، علی محمد علیزاده<sup>\*\*</sup>، ابراهیم عصمتی<sup>\*\*</sup> و ریحانه چمنی<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>گروه بیوالکتریک، دانشکده مهندسی فیزیک، دانشگاه علم و صنعت

<sup>\*\*</sup>مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو سرطان ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>\*\*</sup>مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو سرطان ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۹

**چکیده:** سرطان سومین عامل اصلی مرگ در ایران است. از این رو تحقیق در حوزه هایی که به نوعی به درک خواص مورفولوژیک و عملیاتی سرطان منجر شود، اهمیت به سزایی دارد. مدل سازی و شبیه سازی کامپیوتری رشد تومور به درک بهتر این پدیده کمک می کند. در این مقاله با استفاده از مفهوم اتوماتای سلولی و با تکیه بر اثر چرخه سلولی به بررسی رشد سرطان سینه می پردازیم. شبکه بکار رفته مربعی بوده و پنج نوع سلول شامل سرطانی تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک، سلول سالم و سلول ایمنی در نظر گرفته شد. شبیه سازی ها در این مقاله برای دو حالت با و بدون در نظر گرفتن سیستم ایمنی انجام شده اند. در این مقاله علاوه بر نمایش گرافیکی دوبعدی رشد، تعداد هر نوع سلول، پارامترهای کسر رشد و کسر نکروتیک نیز گزارش شدند. سپس فاکتورهای نکروتیک و رشد مدل را با داده های سرطان سینه در موش که با همکاری انستیتو کانسر برای یک بازه پنج هفته ای به دست آوردیم، مقایسه کردیم. نتایج این تحقیق علاوه بر سازگاری بیشتر با واقعیت فیزیولوژیکی، نشان می دهد که نتایج شبیه سازی در پارامترهای خروجی با داده های تجربی انطباق بیشتری دارند. در این حالت خطای میانگین ۵,۸٪ می باشد.

**واژه های کلیدی:** چرخه سلولی، سیستم ایمنی، رشد تومور، سرطان سینه، آزمایشات in vivo

رده بندی ریاضی: ۳۷B۱۵، ۶۸Q۸۰

## ۱- مقدمه

سرطان، بیماری است که در آن سلول‌ها بدون هیچ کنترلی تکثیر می‌شوند. این سلول‌ها طبیعی نیستند و می‌توانند به بافت‌های دیگر حمله کنند. به‌علاوه می‌توانند از طریق خون و لنف به قسمت‌های دیگر بدن مهاجرت نمایند [۱].

در ایران پس از بیماری‌های قلبی و تصادفات، سرطان سومین عاملی است که جان مردم کشور را به‌سختی و با هزینه زیاد می‌گیرد [۲]. سرطان به‌سرعت در حال پیشرفت است و ابتلا به این بیماری مهلک در ایران از آمارهای جهانی فراتر رفته است. شیوع بالای بیماری و کاهش سن مبتلایان، زنگ‌های هشدار را به صدا درآورده است.

طبق آمارهای غیررسمی هر سال ۲۰۰ هزار بیمار سرطانی در کشور، شناسایی می‌شوند و سرطان سالانه جان ۴۰ هزار نفر را می‌گیرد. به گفته متخصصان، مردان و زنان ایرانی به ترتیب ۵۵٪ و ۴۵٪ از مبتلایان را تشکیل می‌دهند؛ اما آمار مبتلایان به سرطان از این مقدار نیز بیشتر است و معاون بهداشت، وزارت بهداشت تأیید کرده است که ۷٪ از موارد ابتلا به سرطان در کشور ثبت نمی‌شوند. تخمین نرخ مرگ در زنان و مردان در هر ۱۰۰ هزار نفر در سال ۲۰۰۶ به ترتیب ۴۱/۱٪ و ۶۵٪ گزارش شده است [۲]. از این رو تحقیق در حوزه سرطان موضوعی است که امروزه بودجه‌ی بسیاری در تحقیقات به آن اختصاص داده می‌شود [۳]. از آنجاکه درمان سرطان موضوع بحث برانگیزی است، تلاش‌های گوناگونی در زمینه مطالعات آن انجام شده است. به نظر می‌رسد مطالعه رشد تومور، برای درک خواص مورفولوژیک و عملیاتی سرطان مفید باشد [۴].

گام اول برای درک مسئله رشد سرطان، چرخه حیات سلول است. یک سلول در یک ارگان بالغ می‌تواند به‌صورت یک سیستم حالت پایدار<sup>۱</sup> ملاحظه شود. بهترین درک از دینامیک سلول، می‌تواند بررسی مسیرش در چرخه حیات باشد. هر سلول از تقسیم سلول والد به دو سلول دختر ایجاد می‌شود. توالی این رخداد که منجر به این تقسیم می‌شود، چرخه سلول خوانده می‌شود. از آنجاکه چرخه‌ی سلول مکانیزمیست که در آن سلول رشد می‌کند و چند برابر می‌شود، پس خطر ناپایداری یعنی رشد بی‌رویه و غیرعادی در آن مطرح می‌گردد [۳].

چرخه‌ی سلول از ۴ گام تشکیل شده است که به‌عنوان ساعت داخلی حیات سلول رفتار می‌کند [۳ و ۵].

- گام G1: که درواقع بررسی شرایط شروع تکرار DNA (اندازه سلول و شرایط محیطی اطراف برای پروسه تقسیم، بررسی آسیب‌دیدگی DNA (آیا می‌تواند چند برابر شود؟)) می‌باشد.

- گام S (سنتز)<sup>۱</sup>: شروع تکثیر DNA
  - گام G2: که مانند گام G1 نوعی بررسی شرایط می باشد. بررسی اینکه آیا تکرار DNA به درستی انجام شده است؟ (آیا اندازه سلول و شرایط محیطی اطراف اجازه ورود به گام میتوز را می دهند؟)
  - گام M (میتوز)<sup>۲</sup>: توالی گام ها که در خلال آن تقسیم سلولی اتفاق می افتد.
- سه گام اول، گام های میانی خوانده می شوند. قانونی کلی برای چند برابر شدن سلول پستانداران وجود دارد. این قانون کلی بیان می کند فقط وقتی که سیگنالی از سلول های دیگر برسد، سلول ها چند برابر می شوند. در غیر این صورت (فقدان چنین سیگنال هایی)، چرخه سلول در یک نقطه تست G1 توقف می کند و وارد حالت G0 می گردد. اگر سلول ها در حالت خاموش باشند، باز تولید نمی شوند، این حالت G0 خوانده می شود. در واقع G0 حالت G1 اصلاح شده است که در آن سیستم کنترل چرخه سلول نسبتاً بی مصرف می باشد. اگر سلول ها اجازه تکثیر داشته باشند، وارد گام G1 می شوند، از چرخه سلولی می گذرند تا به نقطه ای برسند که دو سلول دختر از یک سلول والد شکل بگیرد [۳]. شکل ۱ فازهای مختلف چرخه سلولی را نشان می دهد.
- از آنجاکه دینامیک رشد تومور فرآیند بیولوژیکی پیچیده ای می باشد، پیش بینی روند رشد تومور دشوار است. از این رو مدل سازی ریاضی با استفاده از روش های گوناگون از جمله استفاده از معادلات دیفرانسیل معمولی (ODE)<sup>۳</sup> یا جزئی (PDE)<sup>۴</sup>، مونت کارلو<sup>۵</sup> (MC) و اتوماتای سلولی<sup>۶</sup> (CA) می تواند درک بهتر ویژگی های مهم چنین سیستمی مفید باشد. این مدل ها می توانند از آزمایش های وقت گیر و پرهزینه جلوگیری کنند. در واقع بیش از استفاده از گونه های بیولوژیکی زنده چون موش های سرطانی، در وقت صرفه جویی می کنند.
- روش سنتی مدل سازی رشد سرطان، استفاده از معادلات ریاضی است. پرهیز از روبرویی با معادلات دیفرانسیل پیچیده و حل زمان بر آن ها پس از گسسته سازی که خود از جمله مشکلات بزرگ این مدل هاست، ما را بر آن داشت تا به روشی ساده تر بیندیشیم. از این رو بر آن شدیم مفهوم اتوماتای سلولی را برای مدل سازی سلول ها در بافت و تکثیر بی رویه آن ها در رشد سرطانی بکار ببریم. در این مقاله قصد داریم با تکیه بر فازهای مختلف چرخه سلولی و با استفاده از اتوماتای سلولی به مدل سازی رشد تومور جامد کروی چندلایه بدون رگ بپردازیم.

1- Synthesis

2- Mitotic

3- Ordinary Differential Equation

4- Partial Differential Equation

5- Monte Carlo

6- Cellular Automata

در اتوماتای سلولی فضا به صورت یک شبکه تعریف می‌گردد، هر خانه این شبکه یک سلول نامیده می‌شود. در سیستم‌های مبتنی بر CA، قانونی جامع وجود دارد. این قانون بر اساس ارتباطات محلی مشخص می‌کند که هر سلول چگونه از سلول‌های همسایه خود اثر می‌پذیرد و تحت چه شرایطی تحریک می‌شود. در اینجا منظور از تحریک، تغییر وضعیت یا حالت سلول است؛ بنابراین قانون اتوماتا مشخص می‌کند که چه شرایطی سلول را تحریک می‌کند تا از حالت سالم به حالت سرطانی تغییر وضعیت دهد [۶ و ۷]. اتوماتای سلولی توانایی تولید الگوهای رفتاری پیچیده به کمک قوانین ساده را دارد و برای دستیابی به بسیاری از ویژگی‌های اساسی رفتارهای خودسازمانده<sup>۱</sup> پیچیده که در سیستم‌های واقعی مشاهده می‌شوند، مناسب است. دانشمندان و محققان از اتوماتای سلولی در حوزه‌های گوناگونی از جمله فیزیک، شیمی و بیولوژی استفاده کرده‌اند [۶-۸]. همچنین با استفاده از ایده اتوماتا در مدل‌سازی رشد سرطان می‌توان به مطالعه رفتار ماکروسکوپی با در نظر گرفتن اجزا میکروسکوپی پرداخت [۹].

در سالیان اخیر مدل‌های بسیاری برای بیان مسئله رشد تومور با استفاده از CA معرفی شدند. یکی از اولین مدل‌های رشد تومور با استفاده از اتوماتای سلولی شبکه مربعی دو بعدی  $10 \times 10$  سلولی بود که توسط داجینگ<sup>۲</sup> معرفی گردید [۸]. این مدل با تغییر اندازه شبکه، افزودن محیط مواد غذایی و گام‌های چرخه سلول و ... توسط محققان بعدی و خود نویسنده توسعه داده شد [۸]. از دیگر مدل‌های اولیه برای رشد تومور بدون رگ مدل برهم‌کنش سلول ایمنی - تومور بود که توسط کی<sup>۳</sup> و همکاران [۱۰] ارائه گردید. مدل‌هایی از جمله کنسرسیم<sup>۴</sup> و سلکام<sup>۵</sup> [۳] از منظر داخل سلولی به شبیه‌سازی دینامیک رشد تومور پرداختند؛ و در این راستا از هال مارک‌های مطرح‌شده توسط هاناها<sup>۶</sup> و وینبر<sup>۷</sup> [۱۱] بهره جستند. به‌علاوه چاپلین<sup>۸</sup> و اندرسون<sup>۹</sup> [۱۲]، اسمول<sup>۱۰</sup> و استتتر<sup>۱۱</sup> [۱۳]، مالت<sup>۱۲</sup> و دی فیلیس<sup>۱۳</sup> [۱۴] به بررسی ویژگی‌های مختلف توسعه سرطان از جمله رگ زایی، تهاجم و اندرکنش‌های سیستم ایمنی-تومور پرداختند.

1- Self-organizing

2- Duchting

3- Qi

4- CancerSim

5- Cellcom

6- Hanahan

7- Weinber

8- Chaplain

9- Anderson

10- Smolle

11- Stettner

12- Mallet

13- De Philis

بسیاری از مدل‌ها از جمله پاتل<sup>۱</sup> و همکاران [۱۵]، دورمن<sup>۲</sup> و دویچ<sup>۳</sup> [۱۶]، آلاکن<sup>۴</sup> و همکاران [۱۷]، گرلی<sup>۵</sup> و آندرسون [۱۸] به بررسی عوامل محیطی بر روی رشد تومور پرداختند. مرور کاملی از مدل‌های رشد تومور توسط رجنیک<sup>۶</sup> و آندرسون [۱۹] انجام شد.

ساختار این مقاله بدین صورت است که ابتدا مفاهیم اولیه‌ای که با آن‌ها مواجه خواهیم شد را در بخش ۲ بیان خواهیم کرد. سپس در بخش ۳، مدل خود را معرفی می‌نماییم. نتایج شبیه‌سازی‌ها برای رشد تومور و مقایسه آن‌ها با نتایج تجربی *in vivo* در بخش ۴ انجام خواهد گرفت. نتایج نشان می‌دهند که مدل پیشنهادی قادر به شبیه‌سازی‌هایی منطبق بر نتایج تجربی است. نتیجه‌گیری‌های متنوع و مباحثی در مورد ادامه کار در بخش ۵ بیان خواهند شد.

## ۲- مفاهیم اولیه

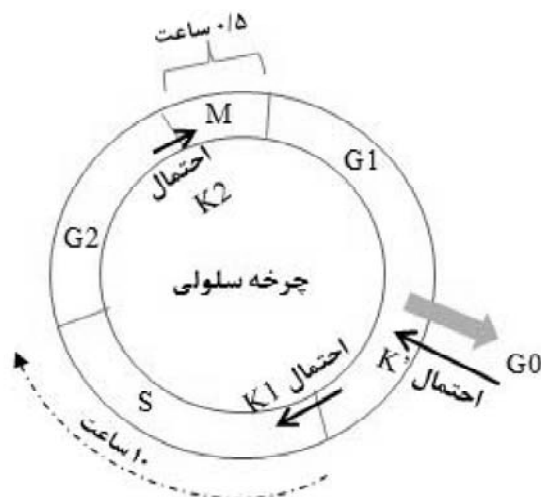
در این مقاله با استفاده از مفهوم اتوماتای سلولی و با استفاده از چرخه سلولی به مدل‌سازی رشد تومور جامد چندلایه خواهیم پرداخت. از این رو ناگزیریم به اختصار معرفی چند مفهوم اولیه که در مدل از آن‌ها استفاده کرده‌ایم، بپردازیم.

### ۱- چرخه سلولی

شکل ۱ ساختار چرخه سلولی در نظر گرفته در این مقاله را نشان می‌دهد. این ساختار با استفاده مستقیم از تعاریف مربوط به هر فاز به دست آمد [۲۰]. همان‌طور که مشاهده می‌شود، سلولی که در فاز G1 قرار دارد با احتمال K1 که در واقع بررسی شرایط ورود به فاز بعدی است، می‌تواند وارد فاز S شود. پس از ۱۰ ساعت از این فاز خارج شده و وارد فاز G2 می‌شود تا پس از بررسی وجود شرایط لازم با احتمال K2 وارد فاز میتوز گردد. در نهایت پس از گذشت ۰/۵ ساعت از فاز M دو سلول دختر از یک سلول والد متولد می‌گردند.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ممکن است در صورت فراهم نبودن شرایط سلول وارد فاز G0 گردد که در نهایت می‌تواند در صورتی که شرایط مناسب فراهم شد با احتمال K' مجدداً با ورود به فاز G1 به چرخه بازگردد.

- 
- 1- Patel
  - 2- Dormann
  - 3- Deutsch
  - 4- Alarcon
  - 5- Gerlee
  - 6- Rejniak



شکل (۱): چرخه سلولی بکار رفته در مدل برای یک سلول

$$\text{Phases of cell cycle} = \begin{cases} 1: G_1 \\ 2: S \\ 3: G_2 \\ 4: M \end{cases} \quad (1)$$

فازهای نمایش داده شده در رابطه 1 حالت‌های هر سلول در اتوماتای سلولی است صرف نظر از اینکه سلول سالم، سرطانی یا ایمنی باشد.

## ۲- تومور چندلایه

وقتی یک تومور شروع به رشد می‌کند، اندازه و تعداد سلول‌ها افزایش می‌یابد. این سلول‌ها برای کسب انرژی نیاز به مواد غذایی دارند. اگر سلول به هر دلیل نتواند مواد غذایی کافی به دست آورد، نهایتاً خواهد مرد. سلول همچنین طبق برنامه از پیش تعیین شده نیز ممکن است بمیرد که این مورد در مدل ما لحاظ نشده است.

در یک ساختار کروی چند سلولی<sup>۱</sup> (MTS)؛ هرچه تومور بیشتر رشد می‌کند، دستیابی هسته یا مرکز کره به مواد غذایی مشکل‌تر می‌شود؛ زیرا که سلول‌های بیرونی تومور تمایل بیشتری به

1- Multicellular spherical

مصرف زودتر مواد غذایی دارند [۱ و ۲۱]؛ بنابراین سلول‌های نزدیک به هسته (در لایه میانی) می‌توانند قابلیت تکثیر خود را از دست دهند و وارد مرحله خاموش شوند. سلول‌های خاموش (غیر تکثیر شونده) هنوز زنده‌اند و با دستیابی به مواد غذایی کافی می‌توانند مجدداً فعال شوند [۱ و ۲۱]. به‌علاوه، هسته داخلی به دلیل دوری از مواد غذایی از سلول‌های مرده (نکروتیک) تشکیل شده است. سلول‌های مرده از طریق این فرآیند هضم نمی‌شوند و تشکیل بافت‌های مرده (نکروتیک) می‌دهند. در نهایت هسته خارجی شامل سلول‌های تومور فعال (تکثیر شونده) است [۲۱]. فقط این نوع از سلول‌های توموری قابلیت تکثیر را دارند و می‌توانند در میتوز شرکت کنند؛ بنابراین نواحی حلقوی متحدالمرکز تومور به ترتیب از داخل به خارج شامل لایه مردگی (نکروتیک)، غیر تکثیر شونده و تکثیر شونده می‌باشند. محققانی همچون کانسال<sup>۱</sup> [۲۱]، تورکاتو<sup>۲</sup> [۲۲] و [۱] از ساختار چندلایه برای مدل‌های خود استفاده کرده‌اند.

### ۳- مدل پیشنهادی

شبکه‌ای دو بعدی مربعی از  $L \times L$  سلول را در نظر می‌گیریم که هر سلول  $(i, j)$  از شبکه نماینده یک سلول بیولوژیکی می‌باشد. پنج نوع جمعیت سلولی شامل سلول سالم یا فضای خالی ( $E_m$ ) یا  $(N)$ ، تومور تکثیر شونده ( $PT$ )، تومور غیر تکثیر شونده ( $NT$ )، نکروتیک ( $Ne$ ) و سلول ایمنی ( $E$ ) در مدل فرض شده است. به‌علاوه از آنجا که سلول‌های مرده ناشی از نکروسیز نمی‌توانند هضم شده و در محیط حل شوند، مرگ سلول توموری ناشی از اندرکنش با سلول ایمنی ( $D$ ) را نیز در این مدل متمایز از حالت نکروتیک در نظر گرفته‌ایم. فرض کردیم این سلول‌های مرده می‌توانند تغییر حالت داده و به سلول سالم یا فضای خالی تبدیل شوند. از این‌رو هر سلول  $(i, j)$  شبکه اتوماتای سلولی دو بعدی مدل شامل ۶ حالت  $(S_{i,j})$  مطابق زیر است.

$$S_{i,j} = \begin{cases} 0 & \text{سلول سالم یا فضای خالی} \\ 1 & \text{سلول سرطانی تقسیم شونده} \\ 2 & \text{سلول سرطانی غیر تقسیم شونده} \\ 3 & \text{سلول مرده} \\ 6 & \text{سلول ایمنی} \\ 8 & \text{مرگ ناشی از سلول ایمنی} \end{cases} \quad (2)$$

1- Kansal

2- Torquato

لازم به یادآوری است که ما در مدلمان چرخه سلولی سلول‌های سالم و ایمنی را در نظر نگرفته‌ایم و فقط چرخه سلولی مربوط به سلول‌های سرطانی را مورد مطالعه قرار داده‌ایم. در ضمن فرض کردیم که سلول سرطانی تا بی‌نهایت بار قادر به تقسیم سلولی است. از این رو برای نمایش سلول سرطانی که در فاز G1 قرار دارد حالت ۱۱ که ۱ سمت چپ نماینده سرطانی بودن سلول و ۱ سمت راست نشان‌دهنده قرار داشتن در فاز G1 می‌باشد، استفاده کردیم. به همین ترتیب متغیرهای حالت مربوط به سلول سرطانی ( $i, j$ ) در فازهای مختلف از چرخه سلولی را به صورت زیر مجدداً معرفی می‌نماییم.

$$S_{i,j} = \begin{cases} 11 & \text{سلول سرطانی تقسیم شونده در فاز G1} \\ 12 & \text{سلول سرطانی تقسیم شونده در فاز S} \\ 13 & \text{سلول سرطانی تقسیم شونده در فاز G2} \\ 14 & \text{سلول سرطانی تقسیم شونده در فاز M} \end{cases} \quad (3)$$

این نحوه انتخاب متغیرهای حالت به ما کمک می‌کند که در هر مرحله به راحتی فاز مربوط به چرخه سلولی هر سلول را از روی متغیر حالت تشخیص دهیم بدون آنکه نیاز به متغیر اضافی چرخه سلولی باشیم؛ بنابراین در فضای کمتری از حافظه در حین محاسبات اشغال خواهد شد.

قوانین گذر بین حالت‌های مختلف مدل به دودسته کلی قوانین مربوط به سلول‌های سرطانی و قوانین مربوط به اندرکنش سلول ایمنی-سرطانی تقسیم می‌شود و به شرح زیر است:

- قوانین گذر مربوط به سلول‌های سرطانی:

I. اگر سلول در فاز G1 باشد و احتمال گذر از فاز G1 به S ( $K1$ ) کمتر از مقدار حد آستانه مربوطه ( $G1S_{th}$ ) باشد، سلول سرطانی وارد فاز S می‌شود. در غیر این صورت، سلول وارد فاز G0 شده و در این حالت باقی می‌ماند.

II. سلول در فاز S؛ پس از گذشت ۱۰ ساعت، وارد فاز G2 می‌شود. در این صورت تایمر سن سلول در فاز S ریست می‌شود.

III. اگر سلول در فاز G2 باشد و  $K2$  (احتمال گذر از فاز G2 به M) از مقدار حد آستانه مربوطه ( $G2M_{th}$ ) کمتر باشد، سلول سرطانی وارد فاز M می‌شود.

IV. سلول در فاز M؛ پس از ۰/۵ ساعت به دو سلول دختر تقسیم می‌شود. اولین سلول دختر دقیقاً در موقعیت سلول والد قرار می‌گیرد و با تغییر به فاز G1 دوباره وارد پروسه چرخه سلولی

می‌شود. سلول والد در سلول‌های خالی یا سالم همسایگی "مور" خود (۸ سلول مجاور سلول مرکزی) جستجو می‌کند و دومین سلول دختر را با فاز G1 به‌صورت تصادفی در یکی از آن‌ها قرار می‌دهد. به‌علاوه سلول والد که در فاز M قرار داشته با احتمال  $p$  که تابعی از زمان و مکان است، تکثیر شود. به‌علاوه برای اطمینان از تطابق نتایج مدل بر منحنی گمپرتز، پارامتر اضافی شعاع بیشینه خارجی ( $R_{\max}$ ) را نیز معرفی می‌نماییم. از این‌رو دینامیک مدل را طوری در نظر می‌گیریم که احتمال تقسیم در شعاع‌های بزرگ‌تر از  $R_{\max}$  صفر گردد. این مسئله اثرات فشار دینامیکی محیط اطراف بر رشد تومور را نشان می‌دهد و بنابراین رشد تومور در این شعاع به دلیل فقدان مواد غذایی متوقف خواهد شد. احتمال  $p$  توسط معادله ۴ بیان می‌شود [۲۱].

$$p = p_0 \left(1 - \frac{r}{R_{\max}}\right) \quad (4)$$

که  $p_0$  احتمال پایه تقسیم است و  $r$  موقعیت (مکان) سلول تقسیم شونده (والد) از مرکز تومور را نشان می‌دهد.

V. در صورتی که شرایط بند IV مهیا نبود یا مدت زمان حضور سلول در چرخه سلولی بیش از ۲۵ ساعت شد، سلول وارد مرحله غیر تکثیر شوندگی می‌شود که در این صورت حالت آن به ۲ تغییر می‌یابد.

لازم به ذکر است که سلول‌های موجود در فاز G0 از آنجا که در حالت استراحت قرار دارند را غیر تکثیر شونده در نظر می‌گیریم و حالت آن‌ها را به ۲ تغییر می‌دهیم. در ضمن ما در این مدل احتمال وجود شرایط برای ورود سلول از فاز G0 به G1 (به جهت وجود مواد غذایی کافی) را نیز در نظر گرفتیم. در این صورت این سلول‌ها در گام‌های زمانی بعدی با حالت ۱۱ وارد شبیه‌سازی می‌شوند.

VI. سلول غیر تکثیر شونده در صورتی که در شعاعی کمتر از شعاع نکروتیک ( $R_n$ ) قرار داشته باشد، در گام زمانی بعدی نکروتیک می‌شود و حالت آن به ۳ تغییر می‌یابد. مقدار  $R_n$  در هر گام شبیه‌سازی مقدار شعاع نکروتیک را مطابق (۵) محاسبه می‌نماییم [۲۱].

$$R_n = R_t - (\delta_n + \delta_p) \quad (5)$$

که در آن  $R_t$  متوسط شعاع سلول‌های تومور واقع در لبه خارجی تومور و  $\delta_p$  و  $\delta_n$  به ترتیب ضخامت لایه PT و NT می‌باشد و از روابط (۶) به دست می‌آیند.  $a$  و  $b$  پارامترهای ثابت می‌باشند.

$$\delta_n = aR_t^{2/3} \quad \text{و} \quad \delta_p = bR_t^{2/3} \quad (۶)$$

بنابراین اگر فاصله یک سلول NT از مرکز کره کمتر از  $R_n$  یا فاصله‌اش از لبه تومور بیش از  $\delta_n + \delta_p$  باشد، به دلیل کمبود مواد غذایی به حالت نکروتیک تبدیل می‌شود؛ بنابراین حالت آن به ۳ تغییر خواهد یافت. همان‌طور که اشاره شد سلول‌های Ne در هسته کره تجمع کرده و در طول زمان تغییر حالت نخواهند داد. همچنین در مواجهه با سیستم ایمنی در محیط حل نمی‌شوند. لازم به یادآوری است که سلول‌های نکروتیک در تمام طول برنامه نمی‌توانند تغییر حالت داشته باشند.

- قوانین گذر مربوط به سلول‌های ایمنی:

سلول ایمنی که با حالت ۶ نمایش داده شده است، در همسایگی مور خود سلول سرطانی تکثیر شوند (در هر فازی از چرخه سلولی که قرار داشته باشد) را جستجو می‌کند. در صورت وجود حداقل یک سلول سرطانی در همسایگی سلول ایمنی یکی از دو حالت زیر ممکن است رخ دهد:

۱. سلول ایمنی به سمت سلول سرطانی حرکت می‌کند، سلول سرطانی با احتمال  $k\_D$  کشته می‌شود و حالتش به ۸ تغییر می‌یابد. در این حالت سلول ایمنی به سلول سالم یا فضای خالی تبدیل می‌شود.
۲. در تهاجم سلول ایمنی به سلول سرطانی؛ سلول ایمنی شکست خورده، با احتمال  $i\_D$  کشته می‌شود و سلول ایمنی به سلول سالم یا فضای خالی تبدیل می‌شود. در این سلول سرطانی به حیات خود ادامه می‌دهد. در صورتی که سلول ایمنی در پروسه جستجو در همسایگی مور خود، با سلول سرطانی تکثیر شونده‌ای مواجه نشود؛ به حرکت تصادفی خود در بافت ادامه می‌دهد. برای این منظور باید در همسایگی مور خود سلول سالم یا فضای خالی بیابد تا در گام زمانی بعدی به آنجا حرکت کند (جابجا شود). در غیر این صورت در موقعیت فعلی خود باقی می‌ماند.

#### ۴- نتایج شبیه‌سازی‌ها

در ابتدا بافتی متشکل از سلول‌های سالم (حالت صفر) فرض می‌کنیم. سپس، در زمان صفر تعدادی از سلول‌ها که در شعاع اولیه ثابتی از مرکز شبکه قرار دارند را تکثیر شونده در نظر می‌گیریم و حالت آن‌ها را از صفر به ۱ تغییر می‌دهیم.

جدول ۱ پارامترهای ورودی و مقادیر ثابت مورد استفاده در مدل را نشان می‌دهد. مقادیر  $a$  و  $b$  طوری انتخاب شده‌اند که روند رشد تومور از لحاظ کیفی بر نتایج تجربی منطبق باشد.

در ابتدا مدل را بدون در نظر گرفتن سیستم ایمنی در شبکه‌ای شامل  $100 \times 100$  سلول شبیه‌سازی کردیم. شرایط اولیه با قرار دادن ۵ سلول سرطانی تکثیر شونده در فاز G1 در مرکز

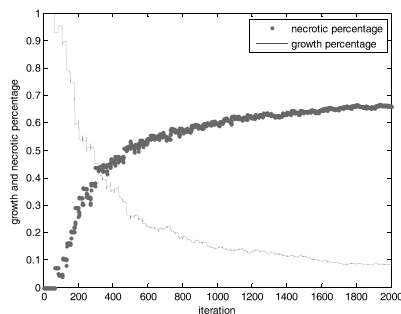
شبکه به شکل "+" در نظر گرفته شد. رشد گرافیکی تومور در طول زمان در شکل ۲ قابل مشاهده است. سلول‌های نکروتیک، غیر تکثیر شونده، تکثیر شونده و سالم به ترتیب بارنگ‌های قرمز، نارنجی، آبی روشن و آبی تیره نمایش داده شده‌اند. نرخ تغییرات تعداد سلول‌های تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک در شکل ۳ الف مشاهده می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، به جهت محدودیت دسترسی به مواد غذایی در تومور بدون رگ، تعداد سلول‌های نکروتیک در طول زمان افزایش قابل توجهی داشته است. تعداد سلول‌های تکثیر شونده نیز از دینامیک گمپرتز پیروی کرده و به حد اشباع ۱۹۰۰ سلول می‌رسد. مشابه شکل ۳ ب تغییرات فاکتور رشد (تعداد سلول‌های تکثیر شونده به کل سلول‌های سرطانی) و فاکتور نکروتیک (تعداد سلول‌های نکروتیک به کل سلول‌های سرطانی) را نشان می‌دهد؛ که گواهی دیگر بر محدودیت رشد در اثر فقدان مواد غذایی است.

جدول (۱): پارامترهای ورودی مدل.

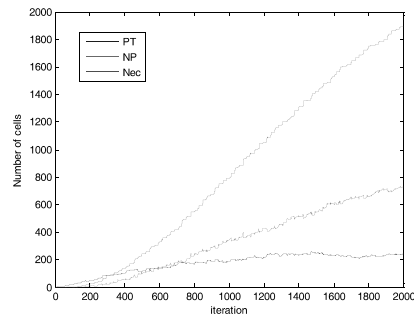
| پارامترهای ورودی مدل                           | مقادیر اولیه |
|------------------------------------------------|--------------|
| احتمال پایه تقسیم سلولی                        | $P_0$        |
| ضخامت پایه مردگی                               | $a$          |
| ضخامت پایه تکثیر شونده                         | $b$          |
| حداکثر اندازه تومور برای GBM                   | $R_{max}$    |
| احتمال گذر از فاز G1 به S                      | $G1St_h$     |
| احتمال گذر از فاز G2 به M                      | $G2Mth$      |
| احتمال مرگ سلول سرطانی در نتیجه سلول‌های ایمنی | $k\_D$       |
| احتمال مرگ سلول ایمنی در اثر سلول سرطانی       | $i\_D$       |



شکل (۲): نمایش رشد تومور بدون رگ در نظر گرفتن سلول ایمنی. ناحیه آبی روشن بیرونی از سلول‌های تکثیر شونده تشکیل شده است. ناحیه نارنجی رنگ و قرمز به ترتیب شامل سلول‌های غیر تکثیر شونده و نکروتیک می‌باشند. مقیاس‌ها بر حسب میلی‌متر می‌باشد.

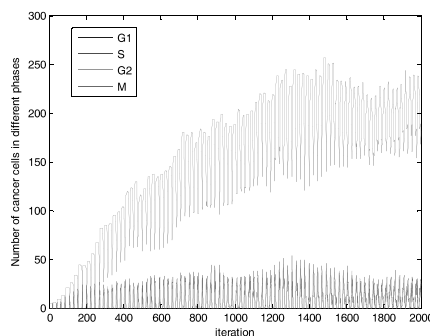


ب



الف

**شکل (۳):** الف تغییرات تعداد سلول‌های تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک در واحد زمان ب- تغییرات زمانی فاکتور رشد و نکروتیک تا ۲۰۰۰ تکرار



**شکل (۴):** تعداد سلول‌های سرطانی همراه با مدت زمان حضور آن‌ها که در فازهای مختلف از چرخه سلولی قرار دارند.

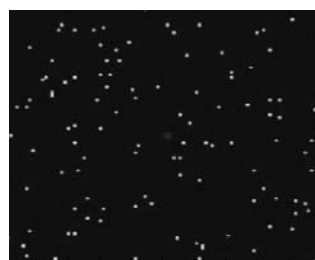
سپس تعداد تصادفی سلول ایمنی که به صورت تصادفی در شبکه قرار گرفته‌اند را در شبیه‌سازی در نظر گرفتیم. شکل ۵ رشد تومور را در فضای دو بعدی نمایش می‌دهد.

شکل ۵، رشد گرافیکی تومور در طول زمان را نشان می‌دهد. مشابه سلول‌های نکروتیک، غیر تکثیر شونده، تکثیر شونده و سالم به ترتیب بارنگ‌های قرمز، نارنجی، آبی روشن و آبی تیره نمایش داده شده‌اند. نرخ تغییرات تعداد سلول‌های تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک در این حالت در شکل ۶ الف نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که تعداد سلول‌های نکروتیک در طول زمان به جهت محدودیت دسترسی به مواد غذایی در تومور بدون رگ افزایش قابل توجهی داشته است. تعداد سلول‌های تکثیر شونده نیز از دینامیک گمپرتز پیروی کرده و به حد اشباع

۱۲۰۰ سلول می‌رسد که نسبت به مقدار مشابهش در شکل ۳ الف کاهش قابل ملاحظه‌ای داشته است. تغییرات فاکتور رشد و فاکتور نکروتیک نیز در شکل ۶ ب نشان داده شده است.

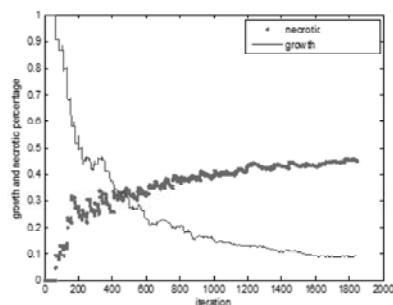


ب

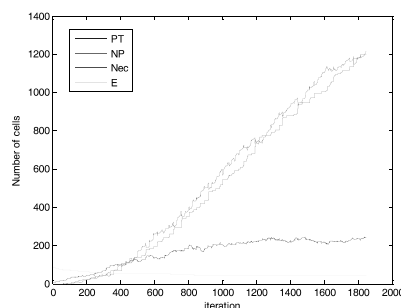


الف

**شکل (۵):** الف-شرایط اولیه با قرار دادن ۵ سلول سرطانی تکثیر شونده در فاز G1 در مرکز شبکه به شکل "+" و تعداد تصادفی سلول ایمنی که به صورت تصادفی در شبکه قرار گرفته‌اند. ب- نمایش رشد تومور با در نظر گرفتن سلول ایمنی



ب



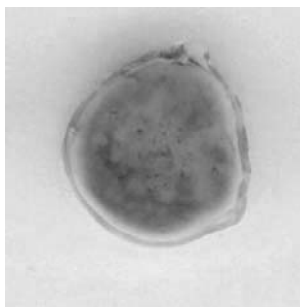
الف

**شکل (۶):** الف-تغییرات تعداد سلول‌های تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک در واحد زمان ب- تغییرات زمانی فاکتور رشد و نکروتیک تا ۲۰۰۰ تکرار زمانی

## ۵- نتایج تجربی

چهار دسته موش به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند و در انتهای هر هفته درصد نکروتیک و ابعاد تومور را در هر دسته اندازه‌گیری کردیم. شروع اندازه‌گیری‌ها از انتهای هفته دوم پس از پیوند سرطان سینه در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری مقادیر مذکور، ابتدا تومور را از بدن موش خارج کردیم. سپس آن را به قطعاتی با ضخامت ۲ میلی‌متر برش زدیم. قطعات برش خورده را

درون محلول تترا زولیوم کلراید<sup>۱</sup> - آب مقطر و به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه درون انکوباتور قرار دادیم. سپس قطعات برش خورده را به مدت ۲۴ ساعت داخل سرم نگهداری کردیم تا به تثبیت رنگ دستیابیم. لازم به یادآوری است که این روش برای اولین بار است که توسط ما برای بررسی درصد نکروتیک تومور بکار برده شده است. شکل ۱۰ برشی از تومور را به عنوان نمونه نشان می‌دهد که در آن ناحیه نکروتیک و سلول‌های زنده تومور (تکثیر شونده و غیر تکثیر شونده) با تغییر رنگ متمایز شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود سلول‌های زنده تومور با رنگ صورتی و سلول‌های نکروتیک با رنگ سفید مات از هم تفکیک شده‌اند. مقادیر اندازه‌گیری شده برای درصد نکروتیک محاسبه شده و ابعاد تومورها در جدول ۲ گزارش شده‌اند.



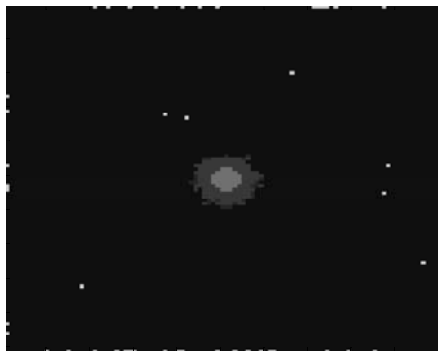
شکل (۷): نمونه‌ای از برش تومور در پایان هفته پنجم

همان‌طور که مشاهده می‌شود تومور در انتهای هفته پنجم به مقدار ماکزیمم درصد نکروتیک می‌رسد که این مقدار برابر با ۲۲٪ می‌باشد. لازم به یادآوری است که واحد هر تکرار زمانی در شبیه‌سازی یک ساعت است؛ بنابراین هر هفته رشد تومور تجربی معادل ۱۶۸ تکرار زمانی در شبیه‌سازی در نظر گرفتیم.

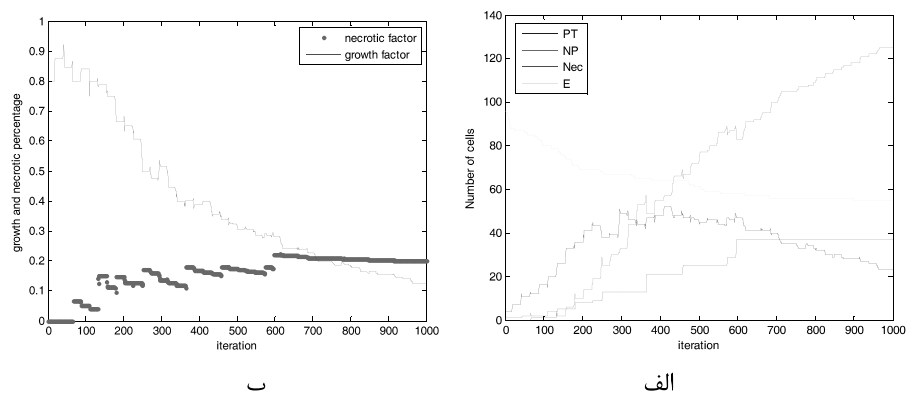
جدول (۲): درصد نکروتیک و ابعاد تومور اندازه‌گیری شده از نمونه‌های تجربی

| هفته                                           | ۲         | ۳         | ۴         | ۵         |
|------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| درصد نکروتیک (%)                               | ۱۱/۷۵     | ۱۲/۲۶     | ۱۲/۵      | ۲۲        |
| اندازه (طول، عرض، ضخامت)<br>(mm <sup>3</sup> ) | ۰/۷*۰/۷*۱ | ۰/۹*۱*۱/۱ | ۱*۱/۱*۱/۲ | ۱/۲*۱/۵*۲ |

1- Tetrazolium chloride



شکل (۸): نمایش رشد تومور با در نظر گرفتن سلول ایمنی



ب

الف

شکل (۹): الف-تغییرات تعداد سلول‌های تکثیر شونده، غیر تکثیر شونده و نکروتیک در واحد زمان ب-تغییرات زمانی فاکتور رشد و نکروتیک تا ۱۰۰۰ تکرار زمانی

برای اعتبارسنجی مدل نتایج شبیه‌سازی را با یافته‌های تجربی مقایسه کردیم. با تغییر پارامترهای مدل به صورت  $a=0.5$ ،  $b=0.4$  و  $R_{max}=7/5$  mm نمایش رشد تومور و تغییرات تعداد هر نوع سلول و تغییر فاکتور کسر رشد و کسر نکروتیک را در شکل ۸ و ۹ مشاهده می‌نمایید. مقدار درصد نکروتیک در هر هفته معادل با گزارشات تجربی در جدول ۳ همراه با میزان خطا نسبت به داده‌های آزمایشگاهی نمایش داد.

لازم به یادآوری است که به دلیل کوچک بودن اندازه تومور، اندازه شبکه اتوماتا با مقیاس ده برابر تومور تجربی شبیه‌سازی شده است. به علاوه ما زمان شروع شبیه‌سازی‌ها را برابر با هفته صفرم در نظر گرفتیم در حالی که در نمونه‌های آزمایشگاهی، شروع پیوند تومور را با هفته اول مشخص

کرده‌ایم؛ بنابراین به‌عنوان مثال هفته دوم در جدول ۲ معادل با هفته اول از جدول ۳ می‌باشد. میانگین خطای مربوط به درصد نکروتیک ۵/۷۷۴۶٪ می‌باشد.

جدول (۳): درصد نکروتیک و ابعاد تومور اندازه‌گیری شده از نمونه‌های تجربی

| هفته                                | ۱        | ۲        | ۳       | ۴      |
|-------------------------------------|----------|----------|---------|--------|
| درصد نکروتیک (%)                    | ۱۱/۳۶    | ۱۲/۶۲    | ۱۷/۰۱   | ۲۱/۳۹  |
| شعاع $10^{-1} \times (\text{mm}^3)$ | ۳/۳۲۳۹   | ۴/۴۳۹۹   | ۵/۵۹۲۶  | ۶/۲۴۱۸ |
| درصد خطا                            | - ۳/۴۰۰۰ | - ۲/۸۶۳۱ | ۲۶/۵۰۰۰ | ۲/۸۶۴۹ |

## ۶- نتیجه‌گیری

مدل‌های ریاضی و کامپیوتری می‌توانند به درک دینامیک پیچیده شکل‌گیری و رشد تومور و یافتن راه‌حلهایی برای پیش‌گیری یا درمان آن کمک کنند. در این مقاله، مدل CA جدیدی برای رشد تومور جامد بدون رگ با در نظر گرفتن چرخه سلولی به‌عنوان زیر سیستم و اثر سیستم ایمنی در شبکه سلولی معرفی کردیم. هر یک از خواص CA را به‌طور مبسوط برای معرفی مدل‌مان مورد مطالعه قرار دادیم. قوانین تغییر حالت سلول‌ها را تصادفی در نظر گرفتیم.

رشد گرافیکی تومور در دو بعد و تعداد سلول‌های نکروتیک، سرطانی تکثیر شونده و غیر تکثیر شونده را در دو حالت بدون در نظر گرفتن سیستم ایمنی و با در نظر گرفتن اثر سیستم ایمنی گزارش کردیم. اگرچه وارد کردن اثر سیستم ایمنی در مدل منجر به افزایش زمان شبیه‌سازی می‌شود، اما جزییات فیزیولوژیک بیشتری را به مدل می‌افزاید. به‌علاوه، ماهیت گسسته مدل ما را قادر به شبیه‌سازی مستقیم موقعیت‌های پیچیده فیزیولوژیکی فقط با اعمال تغییرات کوچکی در پارامترهای مدل می‌نماید. دو فاکتور رشد و نکروتیک را به‌عنوان نتایج مهم مدل خود بررسی نمودیم.

نکته بعدی که در این مقاله به آن پرداختیم گزارش تغییرات رشد و درصد نکروتیک سرطان سینه پیوندی در موش در گروه کنترل (بدون اعمال پروتکل درمان) و در یک بازه پنج هفته‌ای بود. سپس برای اعتبارسنجی مدل‌مان مقایسه‌ای بین نتایج مدل در حالت کلی (با در نظر گرفتن سیستم ایمنی) و یافته‌های تجربی مذکور انجام دادیم. نتایج نشان می‌دهند که نتایج مدل پیشنهادی به‌اندازه کافی با یافته‌های تجربی سرطان سینه در موش مطابقت دارد. افزودن اثرات سیستم ایمنی به مدل می‌تواند به مطالعه بهتر ایمنی درمانی - استفاده از سیستم ایمنی خود بدن برای مقابله با سرطان - کمک قابل توجهی نماید [۲۳]. توسعه مدل برای مطالعه اثرات درمانی بر تومور از اهداف آتی نویسندگان این مقاله است. علاوه بر این، می‌توانیم مدل پیشنهادی

را برای در نظر گرفتن متاستاز که پدیده‌ای بسیار مهم در تومورهای بدخیم است، توسعه دهیم. افزودن سلول‌های ایمنی به مدل در جریان رشد تومور و در نظر گرفتن ترشح فاکتورهای جذب تومور توسط سلول‌های سرطانی و انتشار آن‌ها در بافت از اهداف دیگر نویسندگان می‌باشد.

## مراجع

- [1]. Ang, K.C. (2009). Analysis of a tumor growth model with MATLAB.
- [2]. Mousavi, S.M., Gouya, M.M., Ramazani, R., Davanlou, M., Hajsadeghi, N. and Seddighi, Z. (2009). Cancer incidence and mortality in Iran. *Annals of Oncology*, **20**, 556-563.
- [3]. Rodrigues, D. (2007). CellCom - A Hybrid Cellular Automaton Model of Tumorous Tissue Formation and Growth. Report - Master program in Complexity Sciences (ISCTE/FCUL, Lisbon)
- [4]. Ghaemi, M., Naderi, O. and Zabihinpour, Z. (2010). *A novel method for simulating cancer growth*. In Cellular Automata (pp. 142-148). Springer Berlin Heidelberg.
- [5]. Altinok, A., Gonze, D., Lévi, F. and Goldbeter, A. (2011). An automaton model for the cell cycle. *Interface focus*, **1**, 36-47.
- [6]. Sabzpoushan, S.H. and Pourhasanzade, F. (2011). A cellular Automata-based Model for Simulating restitution Property in a Single Heart cell. *Journal of medical signals and sensors*, **1**, 19.
- [7]. Pourhasanzade, F. and Sabzpoushan, S.H. (2010). A new cellular automata model of cardiac action potential propagation based on summation of excited neighbors. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, **44**, 917-921
- [8]. Moreira, J. and Deutsch, A. (2002). Cellular automaton models of tumor development: a critical review. *Advances in Complex Systems*, **5**, 247-267.
- [9]. Schmitz, J.E., Kansal, A.R. and Torquato, S. (2002). A cellular automaton model of brain tumor treatment and resistance. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, **4**, 223-239.
- [10]. Qi, A.S., Zheng, X., Du, C.Y. and An, B.S. (1993). A cellular automaton model of cancerous growth. *Journal of Theoretical Biology*, **161**, 1-12.

- 
- [11]. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *cell*, **100**, 57-70.
- [12]. Anderson, A.R. and Chaplain, M.A.J. (1998). Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. *Bulletin of Mathematical Biology*, **60**, 857-899.
- [13]. Smolle, J. and Stettner, H. (1993). Computer simulation of tumour cell invasion by a stochastic growth model. *Journal of Theoretical Biology*, **160**, 63-72.
- [14]. Mallet, D.G., and De Pillis, L.G. (2006). A cellular automata model of tumor-immune system interactions. *Journal of Theoretical Biology*, **239**(3), 334-350.
- [15]. Patel, A.A., Gawlinski, E.T., Lemieux, S.K. and Gatenby, R.A. (2001). A cellular automaton model of early tumor growth and invasion: the effects of native tissue vascularity and increased anaerobic tumor metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, **213**, 315-331.
- [16]. Alarcón, T., Byrne, H.M. and Maini, P.K. (2003). A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. *Journal of Theoretical Biology*, **225**, 257-274.
- [17]. Dormann, S. and Deutsch, A. (2002). Modeling of self-organized avascular tumor growth with a hybrid cellular automaton. *In Silico Biology*, **2**, 393-406.
- [18]. Gerlee, P., and Anderson, A.R. (2007). An evolutionary hybrid cellular automaton model of solid tumour growth. *Journal of Theoretical Biology*, **246**, 583-603.
- [19]. Rejniak, K.A. and Anderson, A.R. (2011). Hybrid models of tumor growth. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, **3**, 115-125.
- [20]. Baguley, B.C., Marshall, E.S., Joseph, W.R., van Brunt, B., Wake, G. and Wall, D.J. (2002). A mathematical model for analysis of the cell cycle in human tumour. Department of Mathematics and Statistics, University of Canterbury.
- [21]. Kansal, A.R., Torquato, S., Harsh, G.R., Chiocca, E.A. and Deisboeck, T.S. (2000). Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *Journal of Theoretical Biology*, **203**, 367-382.

- [22]. Torquato, S. (2011). Toward an Ising model of cancer and beyond. *Physical Biology*, **8**, 015017.
- [23]. Pourhasanzade, F., Sabzpoushan, S.H., Alizadeh, A.M. and Esmati, E., (2017). An agent-based model of avascular tumor growth: Immune response tendency to prevent cancer development. *Simulation*, p.0037549717699072.

## A Cellular Automata Model of Tumor Growth Based on Cell Cycle

Fateme Pourhasanzade<sup>\*</sup>, S. H. Sabzpoushan<sup>\*</sup>, Ali Mohammad Alizadeh<sup>\*\*</sup>,  
Ebrahim Esmati<sup>\*\*\*</sup>, Reyhaneh Chamani<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Department of Biomedical Engineering, Research Laboratory of Biomedical Signals and Sensors, Iran University of Sciences and Technology, Tehran, Iran.

<sup>\*\*</sup>Cancer Biology Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>\*\*\*</sup>Radiation Oncology Department, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

Breast cancer is one of the major causes of death among women. Therefore, studying the morphology of cancer is necessary. Computer models and simulations may help scientists better understand this disease, and improve current treatments. In this paper, a model of breast cancer based on Cell Cycle is presented. Five states for each cell in a 2D square lattice is considered. The rules for updating the states of the model in the Moore neighborhood are stochastic. The results of our simulations are presented with/without considering immune system. The growth fraction and necrotic fraction are used as output parameters beside a 2-D graphical growth presentation. Moreover, we introduced a new in-vivo study to measure the output parameters by using Tetrazolium chloride. It can be observed that there is an acceptable compatibility between the experimental tests and simulation results.

**Keywords:** Cell Cycle, Immune system, Tumor Growth, Breast Cancer, In vivo.

**Mathematics Subject Classification (2010):** 68Q80, 37B15.