

CODEN: LUTFD2/(TFRT-5243)/1-055/(1981)

CELLCYKELSIMULERING

GÖRAN OLESKOG

INSTITUTIONEN FÖR REGLERTEKNIK
LUNDS TEKNISKA HÖGSKOLA
MARS 1981

LUND INSTITUTE OF TECHNOLOGY DEPARTMENT OF AUTOMATIC CONTROL Box 725 S 220 07 Lund 7 Sweden		Document name Master thesis	
		Date of issue March 1981	
		Document number CODEN: LUTFD2/(TFRT-5243)/1-055/(1981)	
Author(s) Göran Oleskog		Supervisor Per Hagander	
		Sponsoring organization	
Title and subtitle Cellcykelsimulering (Cell cycle simulation)			
Abstract <p>The growth of a population of cells can in some cases be expressed by a couple of more or less complicated differential equations. For the most, these have to be solved numerically, which means that you have to work with difference equations instead. A more direct way is to create a model in some computer language and simulate the cell culture growth. A flow system model in Fortran has been developed as an alternative to a Monte Carlo model, and these two models are described and compared with each other. The influence of characteristic cell parameters and of the choice of sample interval is examined, and the difference between the two models in simulation time and flexibility is also discussed. Three simulations have been done with both of the models:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Simulation with free exponential growth 2. Simulation with growth and a single radiation dose 3. Simulation with growth and weekly radiation in 4 weeks. 			
Key words			
Classification system and/or index terms (if any)			
Supplementary bibliographical information			
ISSN and key title			ISBN
Language Swedish	Number of pages 60	Recipient's notes	
Security classification			

DOKUMENTDATABLAD RT 3/81

Distribution: The report may be ordered from the Department of Automatic Control or borrowed through the University Library 2, Box 1010, S-221 03 Lund, Sweden, Telex: 33248 lubbis lund.

Cellcykelsimulering

av

Göran Oleskog

Examensarbete utfört vid Institutionen för Reglerteknik,
Lunds Tekniska Högskola.Handledare: Per Hagander.

Mars 1981

SAMMANFATTNING

Tillväxten hos en cellpopulation kan ibland beskrivas med ett par mer eller mindre komplicerade differentialekvationer. Oftast så måste dessa lösas numeriskt vilket innebär att differentialekvationerna övergår i differensekvationer istället. Ett mera direkt sätt är att skapa en modell i något programmeringsspråk och simulera cellkulturens tillväxt.

En Flödes System modell i fortran har utvecklats som ett alternativ till en Monte Carlo modell och dessa två har beskrivits och jämförts med varandra. Inverkan av karakteristiska cellparametrar och val av samplingsintervall har undersökts och skillnader i simuleringstid och flexibilitet hos modellerna har också diskuterats. Tre simuleringar har gjorts med bägge modellerna.

1. Simulering med fri exponentiell tillväxt.
2. Simulering med tillväxt och en bestrålning.
3. Simulering med tillväxt och veckovis bestrålning under 4 veckor.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

	sid
<u>INLEDNING</u>	1
<u>Målsättning</u>	1
<u>Avgränsningar</u>	1
1. <u>TVÅ CELLKINETISKA MODELLER</u>	3
1.1 BAKGRUND	3
1.2 MONTE CARLO MODELLEN	5
1.3 FLÖDES SYSTEM MODELLEN	7
2. <u>SIMULERING AV FRITT VÄXANDE CELLKULTURER</u>	12
2.1 VILKEN MODELL SKALL MAN VÄLJA?	13
2.2 INVERKAN AV CELLPARAMETRAR OCH STARTVILLKOR PÅ FLÖDES SYSTEM MODELLEN	14
<u>Val av tidsstegets storlek</u>	14
<u>Startförhållanden</u>	18
<u>Lognormalfördelningen</u>	19
<u>Uppehållstider</u>	24
<u>Parametrarna α och β</u>	25
3. <u>SIMULERING AV STRÅLNINGSTERAPI</u>	26
3.1 BEHANDLING AV TUMÖRER	26
3.2 RADIOTERAPI-FLÖDES SYSTEM MODELLEN	28
<u>Celldöd vid radioterapi</u>	28
<u>Vad som krävs av modellen</u>	31
<u>Realisering av radioterapi i modellen</u>	33
3.3 SIMULERING AV RADIOTERAPI MED EN BESTRÅLNING	37
<u>Resultat</u>	39
3.4 SIMULERING AV RADIOTERAPI MED UPPREPÅDE BESTRÅLNINGAR	40
<u>Resultat</u>	49

REFERENSER

sid

55

BILAGOR

56

INLEDNING

Målsättning

Det fortranprogram som i arbetet benämns Flödes System modellen är en modell av hur en cellkultur och då speciellt tumörer tillväxer. Modellen konstruerades till en början som ett alternativ till Monte Carlo simuleringar eftersom dessa är tidskrävande och dyra att använda sig av. Då modellen delgavs mig av dess upphovsman, Per Hagander, var målsättningen att metoden skulle förbättras och kompletteras i vissa avseenden. Förbättringarna skulle främst vara att korrigera inläsningen av vissa parametrar och förbättra beräkningen av cellernas uppehållstider i de olika celltillstånden. Den väsentligaste utökningen av metoden var att modellen skulle kompletteras med programavsnitt som gjorde det möjligt att även kunna simulera medicinsk behandling av cancerceller. Vidare har målsättningen varit att göra en kontinuerlig jämförelse mellan Flödes System modellen och Monte Carlo modellen. Dels att jämföra erhållna resultat och diskutera vilken som är mest ändamålsenlig i ett visst sammanhang och dels att försöka bedöma flexibiliteten hos de bägge modellerna och skillnader i maskintid och simuleringskostnad.

Avgränsningar

Då det är svårt att få fram ett tillräckligt dataunderlag på tumörceller (och även normala celler) har det varit svårt att göra en jämförelse mellan de erhållna resultaten från simuleringarna och experimentella resultat från en verklig cellkulturs tillväxt. Jag har därför fått nöja mig med att analysera hur valet av dessa cellparametrar inverkar på modellernas resultat, speciellt Flödes System modellens resultat, och vilken inverkan simuleringstekniska parametrar såsom samplingstid, startvillkor har.

Vidare finns det en rad olika terapiformer som används vid

behandlingen av tumörer. Cytostatika behandling, Radioterapi, Immunoterapi, Termisk terapi mm. Jag har i detta arbetet avgränsat mig till att behandla Radioterapi eftersom detta är den kanske vanligaste behandlingsformen och mekanismerna vid påverkan av cancercellerna därför är någorlunda välkända och matematiskt beskrivna.

1. TVÅ CELLKINETISKA MODELLER

1.1 BAKGRUND

Djurceller, dit även tumörceller som här behandlas hör, genomlöper under sin levnad cykliskt återkommande stadier från att de bildas tills de dör. Dessa återkommande livscyklar består av 5 stadier eller faser som det också kallas, nämligen M-, G2-, S-, G1- och G0-fas. Faserna är någorlunda väl avgränsade från varandra men just i skarven mellan en fas och nästa så är det svårt att säga i vilket tillstånd cellen befinner sig. Varaktigheten på detta odefinierade tillstånd i fasgränserna är b.l.a. beroende av hur tiden i de olika faserna förhåller sig till varandra. Är uppehållstiden lång för bägge blir tiden för det odefinierade tillståndet också lång. Rent allmänt kan sägas att G2 och S har längst varaktighet, G1 in-tar en mellanställning medan tiden i Mitos har en kort varaktighet och ibland t.o.m. försummas. I fas M eller Mitos delar sig cellkärnans alla kromosompar och vardera halvan i varje par fördelar sig i två läger på varsin sida om cellens centrum. Cellen snörps sedan av på mitten och resultatet blir två stycken med halv kromosommassa. I G1, som är nästa fas, vilar sig cellen efter delningen. Härpå följer syntesfasen (S-fasen) där cellen kompletterar sin kromosomuppsättning m.h.a. de fria byggstenar, nukleotider bestående av b.l.a. fosforsyra och kvävebaser, som finns färdigblandade i plasman. Vid denna fasens slut så är cellen således identisk med den som inträdde i Mitosen tidigare. Efter S-fas så följer en ny vilofas som kallas G2. Förutom att vila sig så förbereder sig cellen för en ny delning i den efteråt kommande Mitosen. Den sammanlagda tiden för dessa fyra faser brukar kallas cykeltiden T_c och celler som befinner sig i någon av dem kallas för prolifererande celler eller cyklade celler. De fyra faserna är tillräckligt för att livsprocesserna skall fortlöpa i populationen. Emellertid så kan det efter mitos av mer eller mindre kända anledningar inträffa att en fraktion celler inte byter fas till G1 utan inträder i en mellanliggande fas G0. Denna fraktion brukar i allmänhet betecknas $1-\zeta$ där $0 \leq \zeta \leq 1$, och enbart ζ

står således för den fraktion som tar den andra vägen, via G1. Anledningen till att en del celler inträder i G0 kan vara att de blir påverkade av sina grannar. Eftersom cellerna ligger tätt packade i kulturen så kan de på kemisk eller mekanisk väg kommunicera med varandra. När en cellsamling innehåller tillräckligt många celler för att klara av en viss funktion blir en större eller mindre del påverkade till att inträda i G0 istället för att gå till G1 och så småningom duplicera sig. De bägge levercellerna som bildas vid en delning går exempelvis alltid till G0. Isjälva verket så är G0 det normala tillståndet för alla friska celler. I tumörer, som det är frågan om här, befinner sig emellertid en mindre del av det totala antalet i G0 och det är en av anledningarna till att en tumör växer så fort.

Uppehållstiden i G0 är svårbestämd och därför sällan angiven men med säkerhet lång jämfört med de andra faserna, ofta cykeltiden eller mer. Av denna anledning minskar tillväxthastigheten i populationer där celler inträder i G0.

En annan anledning till att celler förpassas till denna fas kan vara att ett fel uppstod i Mitosen och cellen inte har möjlighet att fortsätta i cykeln. Emellertid kan cellen i vissa fall repa sig i G0 och bli fullt funktionsduglig igen. De celler som av nämnda eller andra anledningar befinner sig i denna passiva fas kan genom någon liknande kommunikationsmekanism som ovan förvandlas till cyklande celler igen via G1. En viss fraktion celler återkommer emellertid aldrig till cykeln utan befinner sig i stadiet G0 en kortare eller längre tid och dör sedan och försvinner. Denna fraktion brukar betecknas med β där $1 \geq \beta \geq 0$.

Sammanfattningsvis inträder alltså $1 - \alpha$ av antalet celler som delar sig per tidsenhet i G0. β av dessa dör d.v.s. $(1 - \alpha)\beta$ totalt. Resten $(1 - \alpha)(1 - \beta)$ inträder i cykeln igen.

1.2 MONTE CARLO MODELLEN

En möjlighet att simulera levnadsförloppet för en cellkultur är Monte Carlo simulering. I det fortranprogram som Tommy Knöös på radiofysiska inst. på lasarettet i Lund har skrivit simuleras en cellkulturs förändring (med avseende på cellantalet) med tiden.

Simuleringen tillgår på så sätt att man först följer de ursprungliga cellerna en efter en tills de dör eller till simuleringstidens slut. För varje ursprungscell initieras simuleringen med att en slumpvalsgenerator bestämmer i vilken fas som cellen skall starta. Slumpningen sker på så sätt att intervallet mellan 0 och 1 delas in i fem delintervall, ett för varje fas. Utfallet av ett slumpstal bestämmer i vilken fas cellen skall starta vid tiden 0. De fyra första delintervallens längd bestäms på så sätt att growth fraction som är ett mått på hur stor del av cellerna i populationen som är prolifererande och som definieras $\mathcal{C} / (\mathcal{C} + \beta(1 - \mathcal{C}))$ multipliceras med den teoretiska uppehållstiden för resp. fas dividerat med cykeltiden. Det femte delintervallet som anger sannolikheten för start i G0 räknas ut till $1 - \text{growth fraction}$.

När väl fasen är bestämd genereras tiden för hur länge cellen skall befinna sig i fasen. Inputparametrar är uppehållstidens medelvärde och standardavvikelse som är relaterade till den ofta förekommande fördelningen i dessa sammanhang, nämligen lognormalfördelningen. Uppehållstiden i en viss fas är således en lognormalfördelad stokastisk variabel.

Tiden som cellen har fått sig tilldelad i fasen delas upp i ett antal tidssteg med på förhand given längd. Det erhållna antalet tidssteg adderas till en tidsvektor och klockan flyttas fram till den tidpunkt då cellen skulle ha lämnat fasen. Cellen inträder därefter i nästa fas och en ny uppehållstid genereras.

När cellen inträder i Mitos blir förfarandet annorlunda. En fraktion \mathcal{C} går som beskrevs tidigare direkt vidare till G1. Vidare sas det att resten d.v.s. $1 - \mathcal{C}$ gick vidare till G0 och en fraktion β av detta så småningom dog och försvann. Det gör emellertid ingen större skillnad om man låter denna mängd dö

direkt efter mitos. Med denna variant kommer således hela fraktionen $(1-\alpha)(1-\beta)$ som inträder i G0 också att återkomma till cykeln.

Eftersom programet behandlar en enda cell i taget kommer α att vara sannolikheten för att cellen antar tillståndet G1. $\beta(1-\alpha)$ kommer att vara sannolikheten för att cellen skall försvinna och resten, alltså $(1-\alpha)(1-\beta)$, sannolikheten för inträde i G0. Beroende på vad utfallet blir kommer antingen en uppehållstid för G0 eller G1 att genereras och modercellens fortsatta levnad fortskrider genom faserna till den dör (eller till simuleringstidens slut) eller också dör den direkt. Om det senare inträffar nollställs klockan och man går tillbaka till tiden noll och följer en ny ursprungscell på motsvarande sätt. Oavsett vad som händer så produceras det genom delning en ny cell i Mitosen. Denna som vi kan kalla dottercell läggs undan i en vektor som innehåller lika många fack som simuleringstiden har tidssteg. Cellen placeras i det fack som svarar mot tidssteget i det aktuella ögonblicket.

När simuleringen av ursprungscellerna är avslutad flyttas klockan tillbaka till den tidpunkt då de första dottercellerna bildades. Deras levnadshistoria simuleras nu på samma sätt som ursprungscellernas. Emellertid så görs inte den inslumpning i olika faser som gjordes för de första cellerna eftersom alla dotterceller bildas ju i Mitosen och har således bara tre olika startalternativ. Antingen G0, G1 eller direkt död. Testen som görs här blir alltså samma som gjordes för modercellerna när de skulle vidare efter Mito. I övrigt är det samma simulering som tidigare och den fortgår tills vektorn är tom.

Eftersom nya celler lagras in i vektorn efter hand erhåller man snart ett väldigt stort antal celler i vektorn och vid långa simuleringstider blir maskintiden och därmed maskinkostnaden betydande.

1.3 FLÖDES SYSTEM MODELLEN

I Monte Carlo modellen simuleras cellernas levnadsförlopp genom upprepade slumpningar. I vilken fas cellerna skall starta. Om den nybildade cellen skall födas i den prolifererande eller icke prolifererande delen eller om den skall dö direkt. Hur länge cellen när den inträder i en ny fas skall uppehålla sig i denna.

Om man istället använder sig av en model som behandlar bråkdelar av celler så kan hela populationens celler följas på en gång och utfallet för en viss händelse behöver inte styras av slumpen. Cellernas nya uppehållstider vid fasbyte och fördelningen av celler efter Mitos kan följa de verkliga sannolikhetsfördelningarna.

Fördelarna med en sådan model är att den blir mer sparsam med maskintid samtidigt som simuleringen mer efterliknar en verklig cellkulturs tillväxt på så sätt att cellernas livsprocesser sker samtidigt. Per Hagander på inst. för reglerteknik i Lund har lagt grunden för ett fortranprogram där den bärande ideen för administrationen av kulturens tillväxt är en i tiden rörlig vektor. I vektorns olika fack ligger cellantalet i varje utvecklingsskede lagrat.

I alla simuleringar som skall göras på dator så är det lämpligt att processen är diskret och så förhåller sig det här också.

Simuleringstiden delas in i ett antal lika långa tidssteg. Val av tidsstegets längd är b.l.a. beroende av hur lång maskintid man vill kosta på sig och kommer att behandlas senare. Det första som görs är att en vektor som innehåller värden från de tidigare nämnda lognormalfördelningarna genereras. Värdena från de fem faserna ligger lagrade i block med Mitos först följt av G2, S, G1 och G0. Jag väljer att beskriva förfarandet för en av faserna. Frekvensfunktionen styckas upp i ett antal intervall med samma längd som det aktuella tidssteget. (skulle det totala antalet intervall i de fem faserna överstiga den reserverade minnesarean ökas tidssteget och man försöker på nytt) Ytan under frekvensfunktionen för varje intervall beräknas och lagras i tidsordning i parametervektorn.

Lagringen avbryts när man har tagit med så många tidssteg att deras sammanlagda tid motsvarar "det till normalfördelning transformerade väntevärdet" + 3.1 multiplicerat med "den till normalfördelning transformerade standardavvikelsen". Detta innebär att cirka 999/1000 av frekvensfunktionens totala yta representeras. När detta är gjort beräknar man väntevärde och standardavvikelse för de värden i parametervektorn som svarar mot den aktuella fasen. Om avvikelsen är för stor mellan de beräknade och de inlästa värdena utökar man parametervektorn med maximalt "standard avv. för fas i" / "summa standard avv. för alla de fem faserna" multiplicerat med 1000 nya fack. Slutligen så normerar man parametervärdena så att deras summa blir lika med 1. När beräkningarna är klara för samtliga fem faser läses de tidigare omtalade parametrarna α och β in. Underprogrammet Parins som svarade för parametertilldelningen lämnas nu för gott och hopp sker till subrutinen Contin som läser in simuleringstidens längd och hur många tidssteg det skall vara mellan varje utskrift. Mer uträttas inte av detta underprogram utan hopp sker till rutinen Statin där mängden ursprungsceller bestäms och ursprungscellerna sedan placeras i de fem faserna. Det var det första som gjordes i Monte Carlo simuleringen också men istället för att slumpa in cellerna en och en så fördelas alltså cellerna här alla på en gång och efter vad sannolikheten anger. Det kommer således innebära att ett medeltal av ett oändligt antal slumpningar av mängden ursprungsceller placeras i varje fas. Hur cellerna som har blivit fördelade till en viss fas sprids ut i denna kommer att beskrivas i nästa kapitel.

Den verkliga platsen där cellerna placeras är i den tidigare omtalade rörliga vektorn som vi hädanefter kallar för cellvektorn. Denna har samma uppbyggnad och storlek som parametervektorn och representerar själva cellkulturen. Cellerna ligger lagrade efter hur långt dom har utvecklats i varje fas och rör sig uppåt i vektorn vid varje tidssteg.

Statin lämnas nu för gott och återhopp sker till huvudprogrammet där den egentliga simuleringen kan börja.

Simuleringen sker i en DO-slinga med lika många steg som simuleringstiden har tidssteg. Efter exempelvis 1 tidssteg har en kort tid förflutit och det är dags för cellerna att förflytta

sig ett steg i cykeln. De celler som i tidssteg 0 (d.v.s. vid fördelningen av ursprungsceller) befann sig vid utträdet av en fas skall nu inträda i nästa fas och fördelas enligt dennas lognormalfördelning. Jag beskriver förfarandet för de celler som är på väg att lämna Mitosen och således befinner sig i cellvektorns allra första fack. Till att börja med multipliceras detta cellantal med två p.g.a. att cellerna delar sig. En fraktion \mathcal{L} av cellerna stannar kvar i den prolifererande delen och skall enligt tidigare resonemang inträda i G1. Emellertid så finns det ett antal celler som precis är på väg att lämna G0 och de skall också inträda i G1. Dessa bägge cellpaket adderas och summan multipliceras med vart och ett av parametervärdena för G1. Var och en av produkterna läggs sedan i det fack i cellvektorn som svarar mot parametervärdets fack i parametervektorn. I öch med detta är samtliga celler som inträder i G1 fördelade. (se fig. 1.1).

Det som är kvar att fördela av cellerna som lämnade Mitos är $1-\mathcal{L}$. Av denna fraktion är det β som dör d.v.s. totalt $(1-\mathcal{L})\beta$ och denna mängd läggs därför inte in i cellvektorn. Återstoden $(1-\mathcal{L})(1-\beta)$ inträder i G0 och fördelas där enligt samma mönster som de som gick till G1. Alla celler som lämnar Mitos är nu fördelade. Celler som lämnar de andra faserna behandlas på motsvarande sätt men fördelningen blir enklare eftersom de celler som lämnar dessa faser bara har en väg att välja på. Vid varje tidssteg så sker dels dessa byten av faser och dels att cellerna förflyttar sig ett steg inom faserna. Beräkningstekniskt så sker förflyttningen inom faserna först. D.v.s. cellerna i fack i förs över till fack $i-1$ (i är skiljd från första facket i varje fas) och därefter adderar man till bråkdelen celler från fasbytet. Hela denna operation utförs av subrutinen Xpeqax och den sker således vid varje tidssteg. Det är lämpligt att i jämna intervall dokumentera cellernas fördelning i olika faser. Subrutinen Yeqcx anropas vid varje tidssteg men resultaten därifrån används bara när utskrift skall göras och det svarar subrutinen Output för.

Det som jag funnit vara värt att ta med i utskriftsrutinen är följande:

-En tidsangivelse som anger vid vilken tidpunkt som utskriften sker.

-Det totala cellantalet vid utskrifts tidpunkten och hur dessa fördelar sig på de fem faserna.

-Hur stor del av populationens celler som befinner sig i M resp.S-fas.

I en cellpopulation som växer ger dessa bägge värden stor information om hur tillväxten sker. Om exempelvis antalet celler i kulturen ökar enligt en viss exponalitet så ökar antalet celler i varje fas (med undantag av G0) med samma exponalitet. Det innebär att inträdet av celler i en viss fas ex.i Mitos måste ske över hela cellcykeln (asynkron population). Kvoten mellan antalet celler i Mitos och det totala antalet celler är då konstant. Detta förhållande är vanligt att använda då man påvisar exponentiell tillväxt och brukar kallas för Mitotiskt index.

Motsvarande resonemang gäller för S-fasen (G1,G2) och kvoten kallas för S-index.

När simuleringen är avslutad multiplicerar man varje fack i cellvektorn med 100/totala cellantalet. Man väljer alltså ut 100 celler som kommer att ligga utspridda över cellvektorn i bråkdelar. Cellvektorn lagras nu i ett dataelement och kan,om så önskas,läsas in vid nästa simulering. Den tidigare beskrivna initialiseringen av ursprungsceller behöver då inte göras utan man startar den nya simuleringen med den fördelning man slutade med.

Inläsning av den sparade cellvektorn görs med subroutinen Statin.

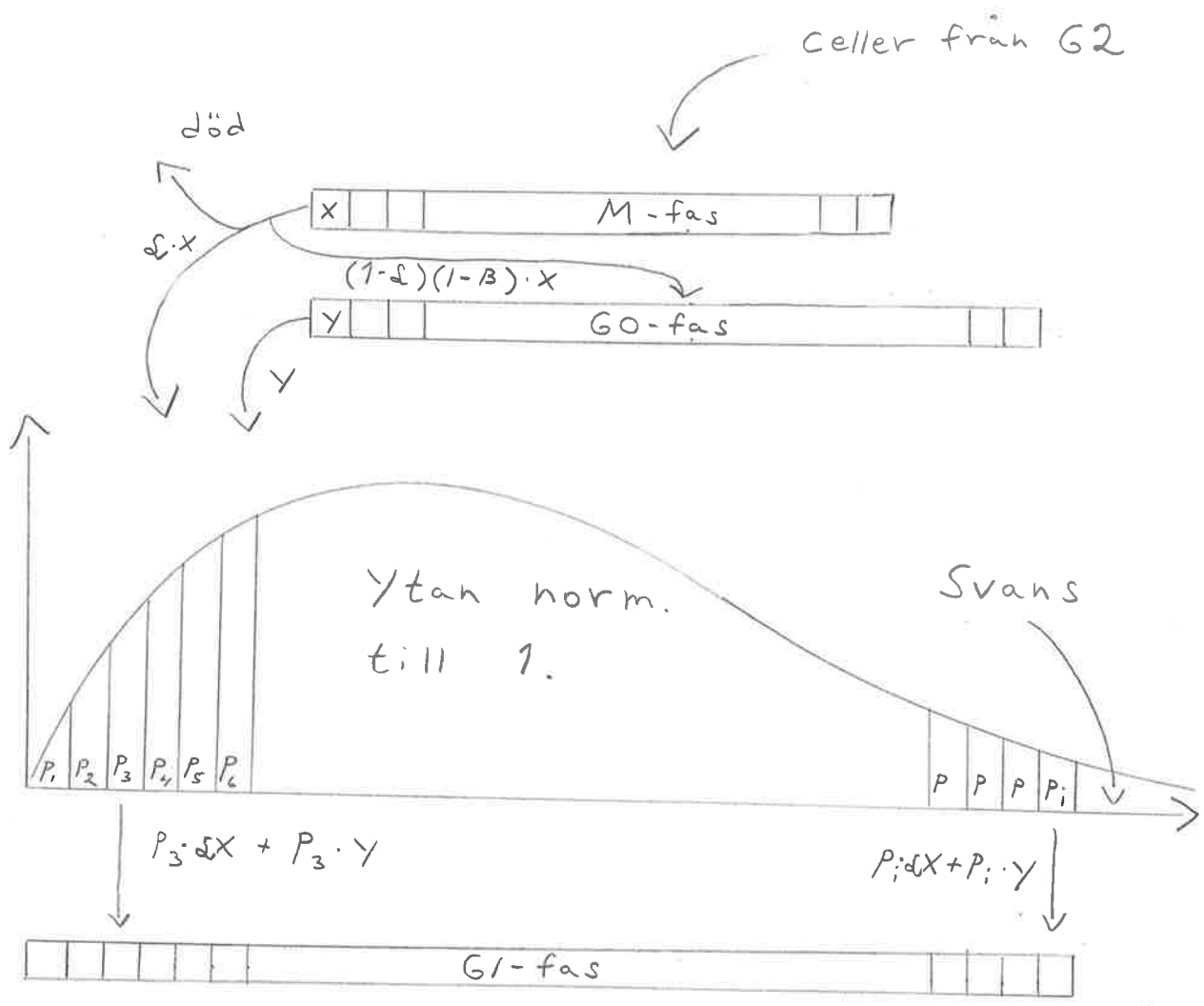
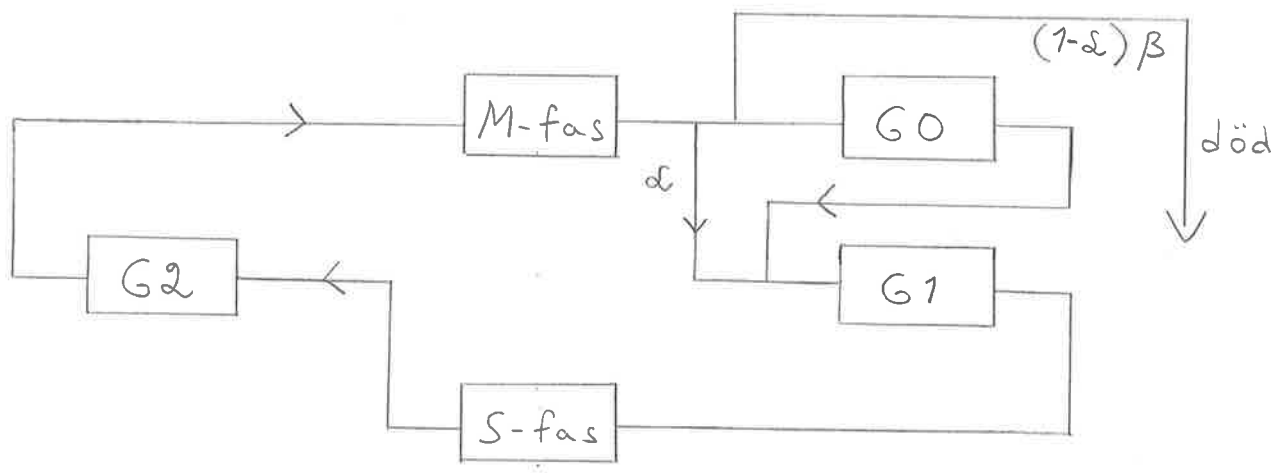


fig.1.1 De olika cellfaserna och inträdet av celler till G1-fasen.

2. SIMULERING AV FRITT VÄXANDE CELLKULTURER

INLEDNING:

I litteraturen är det lätt att finna modeller som beskriver cellkulturers tillväxt. Den enklaste man kan tänka sig har utseendet $N_t = N_0 \exp(bt)$. N_0 är antalet celler vid tiden noll och b är en tillväxtkonstant som bestämmer tillväxthastigheten. Om modellen inte tar hänsyn till fenomen såsom bortfall av celler genom celldöd och att celler av någon anledning minskar sin delningsfrekvens så kommer cellantalet att fördubblas efter varje cykel. Cykeltiden T_c är som vanligt den prolifererande delens uppehållstid och tillväxtkonstanten är lika med $\log_e 2 / T_c$ (om spridningen kring uppehållstid i varje fas är 0). I en verklig population så förekommer dels förlust av celler och dels att en viss fraktion föds i den icke prolifererande delen och har därför mer än tiden T_c kvar till delning. Även mer sofistikerade modeller visar sig ha svårt att följa de få experimentella data över tumörkulturer som finns. En av orsakerna kan vara att olika typer av celler har så olika typer av egenskaper och därför är det svårt att finna en matematisk formel som fungerar allmänt.

Om man som målsättning med sitt modellbygge har att simulera cellkulturer som blir utsatta för olika sorters behandling, ex. bestrålning, så är det emellertid viktigt att modellen tillfredställande beskriver även tillväxt utan påverkan.

Tyvärr så är det svårt att finna kompletta uppgifter om en celltyps olika parametrar och ännu svårare att hitta experimentella data om kulturers tillväxt. En jämförelse mellan modellens resultat och verkligheten är därför svår att göra. Vi får istället försöka koncentrera oss på att jämföra de ovan beskrivna simuleringsmodellerna och undersöka hur valet av olika parametrar och startvillkor påverkar resultaten.

2.1 VILKEN MODELL SKALL MAN VÄLJA?

Vid en enstaka simulering med en inte alltför stor mängd ursprungsceller är det svårt att säga vilken av modellerna som bäst efterliknar verkligheten. Det beror lite på vad man eftersträvar med simuleringen. Vill man få en uppfattning om hur ett stort antal tumörer utvecklas i medeltal eller är man mer intresserad av hur en enstaka tumör kan utvecklas.

Om cellerna redan i en begynnande cancerhärd, då cellantalet fortfarande är lågt, har karaktären av fullt utbildade cancer-celler så borde tumörens fortsatta utveckling och tillväxthastighet påverkas mycket av slumpen. Monte Carlo metoden kan då ge tumörer som exempelfierar inom hur vida gränser en cancerhärd kan utvecklas.

Förhåller sig det istället så att en samling celler gradvis förvandlas till tumörceller så kan antalet vara betydande innan cellerna har utvecklats till den slutgiltiga cancerformen med dess karakteristiska parametrar. Slumpens inverkan har mindre betydelse i detta fall och modellen med Flödes System ska kunna fungera bra. Även Monte Carlo modellen bör fungera i detta fall men innan populationen kommer till exponentiell tillväxt så är antalet celler förödande stort och modellen blir då tidskrävande och dyr.

Slutligen kan sägas att det finns möjlighet att få en uppfattning om slumpens inverkan i modellen med Flödes System. Modellens upphovsman, Per Hagander, har skrivit en subroutine som beräknar standardavvikelsen för det erhållna antalet celler.

Teorin och matematiken är emellertid ganska komplicerad så jag har valt att lämna denna möjlighet utanför detta examensarbete.

2.2 INVERKAN AV CELLPARAMETRAR OCH STARTVILLKOR PÅ FLÖDES SYSTEM MODELLEN

Eftersom olika celler har så olika egenskaper är det självklart att simuleringens resultat är starkt kopplat till celltypernas parametrar. Vidare har de förhållanden som gäller i inledningsskedet stor betydelse.

Valet av dessa parametrar och startvillkor har samma inverkan i bägge modellerna.

I detta kapitlet är de viktigaste faktorerna som inverkar på Flödes System modellen beskrivna.

Val av tidsstegets storlek

En väldigt stor betydelse för simuleringens omfattning när det gäller maskintid men även när det gäller behövlig minnesarea har tidsstegets längd. Halveras ex.tidssteget så kommer DO-slingan i vilken simuleringen görs att innehålla dubbelt så många steg. Det innebär att dubbelt så många beräkning-rundor om simuleringstidens längd är oförändrad. Dessutom så kommer varje enskilt tidssteg att kräva mer beräkningar eftersom vektorn där cellerna ligger lagrade blir ungefär dubbelt så lång. Anledningen till detta är att cellvektorn är lika stor som parametervektorn och parametervektorns längd är beroende av hur smalt man valt varje intervall i frekvensfunktionerna. Som nämndes i kap.1.3 sätts längden på varje fas direkt till väntevärdet + 3.1•standardavvikelsen. I detta läget är tidsstegets längd direkt avgörande för hur många parametervärden som krävs för att representera fasen. En halvering av tidssteget resulterar i dubbelt så många fack o.s.v. Vidare är det sannolikt att överensstämmelsen i detta läget mellan de inlästa och de beräknade värdena på uppehållstiderna är bättre ju mindre tidssteget är eftersom ytan under frekvensfunktionen blir exaktare beräknad (Ett stort tidssteg kan i vissa fall ge en bättre överensstämmelse. Så är fallet om det totala bidraget från samtliga delintervall är så lagom för stort att det kompenserar för kapningen av svansen. Detta gäller

speciellt om fasens standardavv. är stor i förhållande till väntevärdet eftersom svansen då blir lång).

Om däremot den högsta tillåtna avvikelser mellan teoretiska och verkliga värden är lågt satt krävs ofta en extra parameter-tilldelning. Detta resulterar oftast i att ett stort tidssteg ger bättre värden. Anledningen har och göra med att antalet reservfack, 1000 i detta programet, måste bestämmas redan vid kompileringen av programmet. (Hur dessa 1000 fack fördelas på de fem faserna bestäms, som nämndes i kap. 1.3, av varje fas:s standardavv. Ju större standardavv. desto mer extra fack).

I vissa fall kan emellertid hända att antalet extra fack är för litet för att de beräknade värdena skall närma sig de teoretiska tillräckligt. Om fasens standardavv. är stor i förhållande till väntevärdet är chansen att facken skall räcka till större för ett större tidssteg. Det beror på att varje nytt intervalls bidrag har mer inverkan ju större yta det har och ju längre ut till höger det befinner sig.

Ett exempel på i vilken riktning tidsstegets längd kan påverka de beräknade uppehållstidernas värden är följande exempel.

I tabell 2.1 är de inlästa och de beräknade värdena på uppehållstiderna angivna och hur stor den extra tilldelningen har varit i varje fas. I M-fasen är s.av. låg och då har vi en bättre överensstämmelse med ett kortare tidssteg. I G1 däremot är s.av. stor och maximal tilldelning har skett i bägge fallen p.g.a. att gränsen 0.02 inte har underskridits för s.av. För fallet med tidssteget 0.1 har kapningen av svansen inneburit att väntevärdet inte har hunnit komma upp till rätt värde. I 0.2-fallet har det större tidssteget gjort att intervallens yta har överskattats vilket fört med sig att väntevärdet har blivit för stort. Hade det funnits mer fack tillgängliga så skulle således väntevärdet fortsatt att växa tills s.av. kommit innanför 0.02-gränsen. I det mest ogynnsamma fallet hade väntevärdet kommit över 0.02-gränsen samtidigt som s.av. kommit under och tilldelningen hade fortsatt. I G0 slutligen har den maximala gränsen på antalet extra fack nåtts för 0.1-fallet men för tidssteget 0.2 har tilldelningen stoppats tidigare p.g.a. det större tidssteget och värdena stämmer därför bättre överens.

Skillnaderna är i det här fallet ganska marginella. I fig. 2.1

är den totala celltillväxten hos kulturen i log.skala angiven. Kulturen som simuleras med det mindre tidssteget växer något snabbare. Säkerligen är förklaringen det lägre väntevärdet på uppehållstiden i främst G1 men även G0 och M. Skillnaden i totalt cellantal håller sig vid alla tidpunkter under 1% och kan nästan bortses ifrån.

Något som är viktigt är däremot att tidssteget inte väljs för långt i förhållande till någon av fasernas väntevärden. Med ett tidssteg på 0.4 tim. och ett väntevärde i en fas på 0.2 tim. (och en därtill låg s.av.) så kommer större delen av de celler som inträder i fasen att få en uppehållstid på 0.4 tim.

Detta missförhållande kommer visserligen att synas i de beräknade värdena på uppehållstiderna men är ändå värt att nämna. Det är således lämpligt att välja tidssteget gott och väl mindre än det minsta väntevärdet. Förslagsvis en fjärdedel, femtedel kortare.

Sammanfattningsvis kan alltså sägas att valet av tidssteg har störst inverkan på maskintidens längd och därmed maskinkostnaden. Vad det gäller resultaten så behöver de inte påverkas av tidsstegets längd. Huvudsaken är att det beräknade d.v.s. det verkliga väntevärdet på uppehållstiden så mycket som möjligt stämmer överens med det inlästa. En avvikande s.av. är inte så allvarlig eftersom det är medelvärdet som är avgörande i längden. Om medelvärdet avviker för mycket kommer ju en annan cellkultur än vad som är tänkt att simuleras och det har naturligtvis en allvarlig inverkan på resultatet.

Med tanke på simulering av cellkulturer med besvärliga parametrar (höga s.av. ex.) kan det kanske vara ideé att göra areaberäkningen noggrannare (Simsons formel, trapetsformeln) och ha ett väl tilltaget utrymme i vektorerna reserverat för en justerande parametertilldelning.

Fas	Tidssteg 0.1					→	Tidssteg 0.2 ¹⁷				
	M	G2	S	G1	G0		M	G2	S	G1	G0
Jnläst väntevärde	1.000	3.000	6.000	1.000	22.000	→	"	"	"	"	"
Verkligt väntevärde	1.000	2.995	5.999	0.992	21.927		1.001	2.995	5.999	1.011	21.954
Jnläst standardav.	0.100	1.000	0.500	1.500	22.000	→	"	"	"	"	"
Verkligt standardav.	0.103	0.986	0.499	1.419	21.379		0.110	0.988	0.501	1.455	21.560
Totalt antal fack	18	78	78	281	2931		11	39	39	201	1664
Antal fack från extra p.tilld.	4	0	0	120	876		4	0	0	120	636

Högsta tillåtna relativa avvikelser mellan Jnlästa och verkliga värden 0.02

tab.2.1 Uppehållstider och simuleringsparametrar vid simulering av en godtyckligt vald celltyp med tidssteget H valt till 0.1 resp.0.2 tim.

fig.2.1 Celltillväxt för celltypen i tab.2.1 och relativa skillnaden i cellantal om H är valt till 0.1 resp. 0.2 tim.

a=celltillväxten, b=relativa skillnaden i cellantal



Startförhållanden

När en tumör upptäcks och kan observeras så kan den fortfarande vara ganska liten till storleken men p.g.a. att cellerna är väldigt små så kan dom vara många till antalet. Om man utgår ifrån att tumörcellerna antog sina slutgiltiga egenskaper när populationen var mindre så har ett stort antal kompletta cellcykler genomlöpts. Det är därför troligt att cellerna är perfekt fördelade över hela cellcykeln och tumören befinner sig i exponentiell tillväxt.

När man simulerar är det eftersträvansvärt att så fort som möjligt uppnå denna exponentiella tillväxt.

I slutraderna i kap.1.3 så nämndes det att efter en avbruten simulering är möjligt att spara cellvektorn d.v.s. cellkulturen och läsa in den på nytt. Denna cellvektor representerar då, om den föregående simuleringen varit tillräckligt lång, exponentiell tillväxt. Den nya simuleringen får på så sätt en "flygande start" och utskrifterna är redan från början att jämföra med en verklig tumörs tillväxt. (under förutsättning att modellen är riktig).

Men även i fallet med fördelning av ursprungsceller (det måste alltid göras för den allra första simuleringen av varje celltyp) så är det önskvärt att uppnå den exponentiella tillväxten så fort som möjligt.

Det finns en rad olika möjligheter att fördela cellerna inom faserna. Man kan fördela dem rektangelfördelade d.v.s. lika många i varje fack. Man kan utnyttja parametervärdena för fasen och lägga cellerna enligt vad dom anger. Det motsvarar således hur celler som inkommer från den föregående fasen skulle fördelas vid ett visst tidssteg.

Emellertid tar det ganska lång tid innan dessa bägge startmetoder ger den asynkrona spridning som är typisk för exponentiell tillväxt. Uppskattningsvis en 8-10 cykler och om cykeltiden är lång så blir därför simuleringstiden betydande. Av denna anledning så försöker vi göra den ursprungliga fördelningen så att den liknar cellfördelningen vid exp. tillv. så mycket som möjligt.

Om vi försöker se lite i förväg hur fördelningen av celler

kommer att se ut efter en tids simulering så inser man att huvuddelen av cellerna kommer att befinna sig i fasernas slutskede. Det beror på att antalet celler i ett visst utvecklingsskede ökar för varje tidssteg efterhand som nya celler inträder i fasen. Fördelningen kommer därför att påminna om en triangelfördelning.

Vi viktar fasens första fack (de celler som i nästa tidssteg skall lämna fasen) med summan av parametervärdena för fasen. Det andra facket vikts med summa parametervärden från och med andra facket. Det tredje p.s.s.och så fortgår det till fasens sista fack. Slutligen normeras samtliga fack med summan av alla viktningar d.v.s.man dividerar med $1 \cdot \text{första parametervärdet} + 2 \cdot \text{andra parameterv.} + \dots + k \cdot k\text{:te parameterv.}$ (som är det sista i fasen).

Efter detta fördelningsförfarande tar det 2-3 cykler innan det mitotiska indexet är ungefär konstant d.v.s.tillväxten är ungefär exponentiell. (se insvängningen av det procentuella antalet celler i varje fas i figurerna 2.2-2.4).

Lognormalfördelningen

Både i Monte Carlo modellen och i Flödes System modellen är uppehållstiden i faserna lognormalfördelade stokastiska variabler. Det är den fördelning som är i särklass vanligast när man försöker beskriva cellers karakteristiska tider. Det är inte säkert att det för den skull är den bästa. Det kan vara så att när cellkinetiken var en ung vetenskap så tyckte man att denna fördelning såg lämplig ut till att beskriva cellers uppehållstider och så har den hängt med av bara farten.

Det är en transformation av den omtyckta och mycket vanliga normalfördelningen. Det kan hända att man först försökte med normalfördelningen men när man fann att denna inte var helt lämplig så såg man att en av dess varianter passade bra. Definitionen på lognormalfördelning lyder att en stokastisk variabel T är lnf.-fördelad om $\ln(T)$ är normalfördelad. Om T har väntevärdet m och standardavvikelsen σ så har den lnf.-fördelade variabeln frekvensfunktionen $f_T = 1/(T \cdot n\sigma \cdot 2\pi) \cdot \exp(-((\log(T) - nm)^2 / (2 \cdot (n\sigma)^2))$ där nm och $n\sigma$ är väntevärdet och

standardavvikelsen för motsvarande normalfördelade variabel.

Transformationen lyder:

$$n\sigma = (\ln(1 + (\sigma/m)^2))^{1/2}$$

$$nm = \ln(m) - (n\sigma)^2/2$$

En annan som gör att en lognormalfördelning (och många andra fördelningar) verkar lite tvivelaktig är att med denna fördelning kommer en bråkdel av cellerna att uppehålla sig i fasen en mycket kort tid. Det är föga troligt att det förhåller sig så utan en viss minimitid borde gälla som inte kan understigas. Speciellt i S-fasen där syntetiseringen av DNA bör ta en viss tid.

P.s.s.så skall en bråkdel av cellerna uppehålla sig i fasen en nära nog oändligt lång tid. Det är kanske inte lika svårt att tänka sig men cellerna borde ju i varje fall ha en maximal livslängd.

Frågan är om det finns någon fördelning överhuvudtaget som passar. Kanske en enkel rektangelfördelning med en minimigräns som inte kan understigas och en maximigräns som inte kan överstigas är det som kommer sanningen närmast.

fig.2.2 Visar hur Mitosens och Syntesens index svänger in. a=M-index , b=S-index

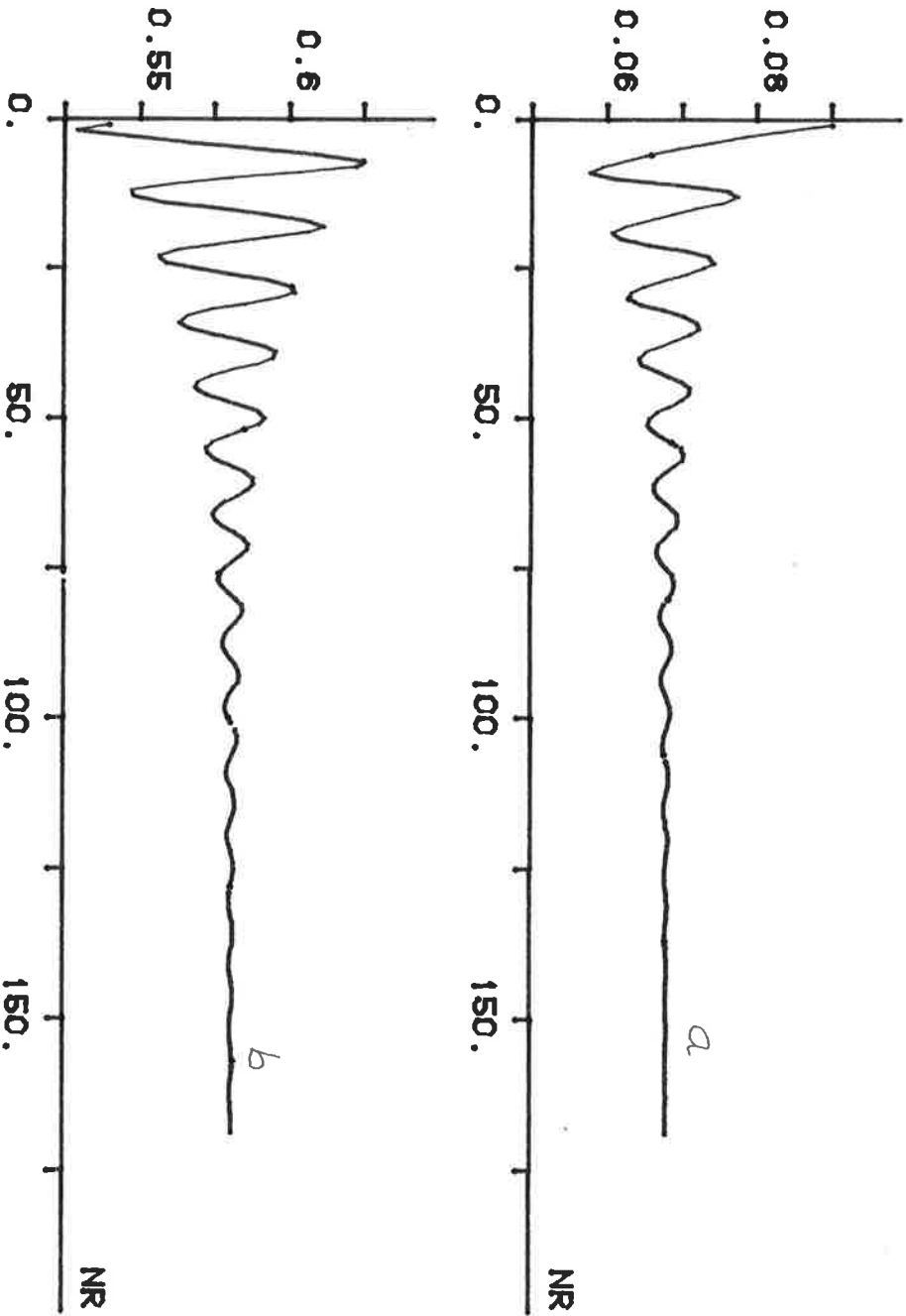


fig.2.2-2.4 Visar insvängningen till asynkron fördelning i de olika faserna för populationen. Celltypen är samma som är angiven i tab.2.1. I fig. 2.4 underst visas hur kulturen övergår till exponentiell tillväxt.

fig.2.3 Visar hur G1- och G2-fasens
index svänger in.
c=G2-index , d=G1-index

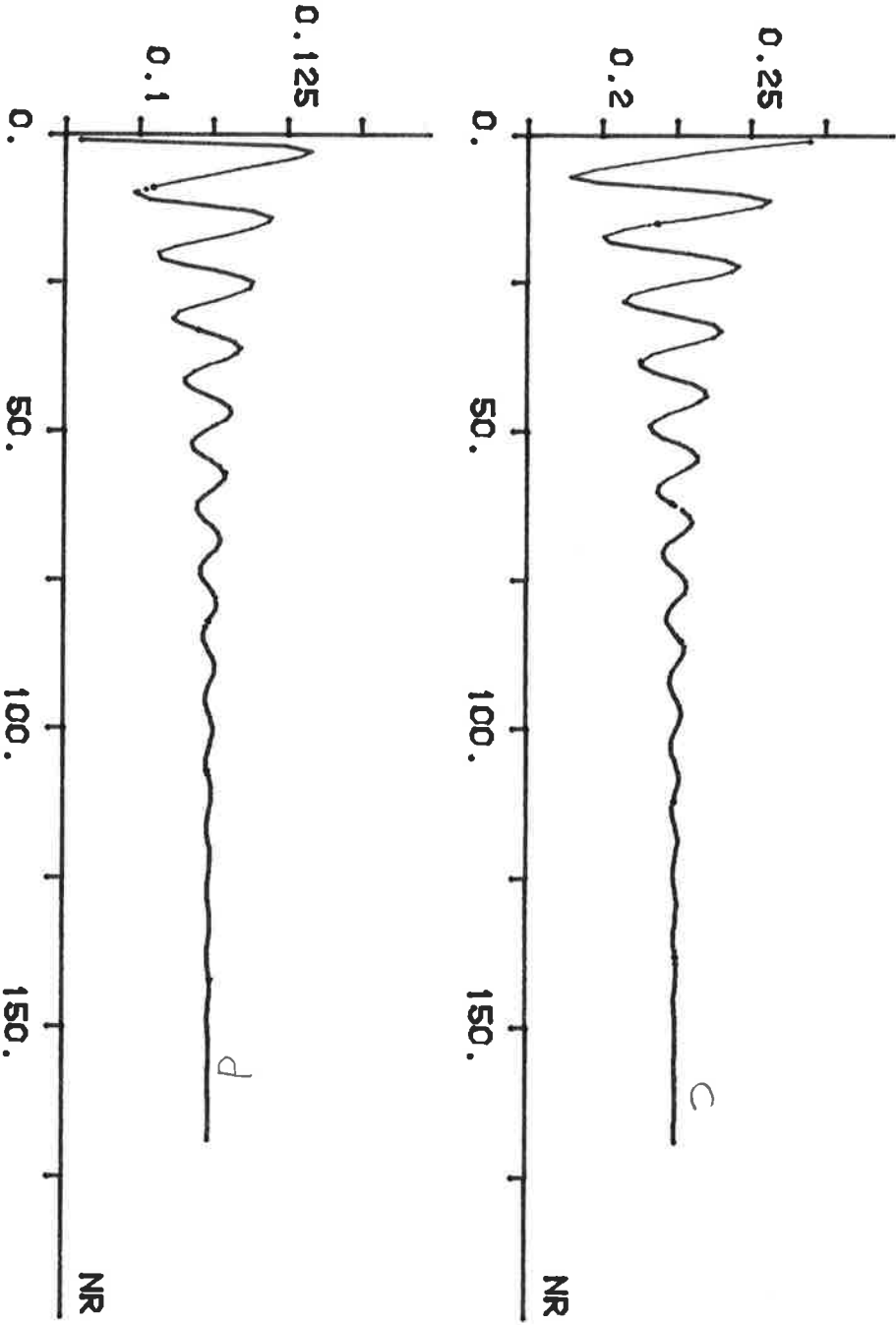
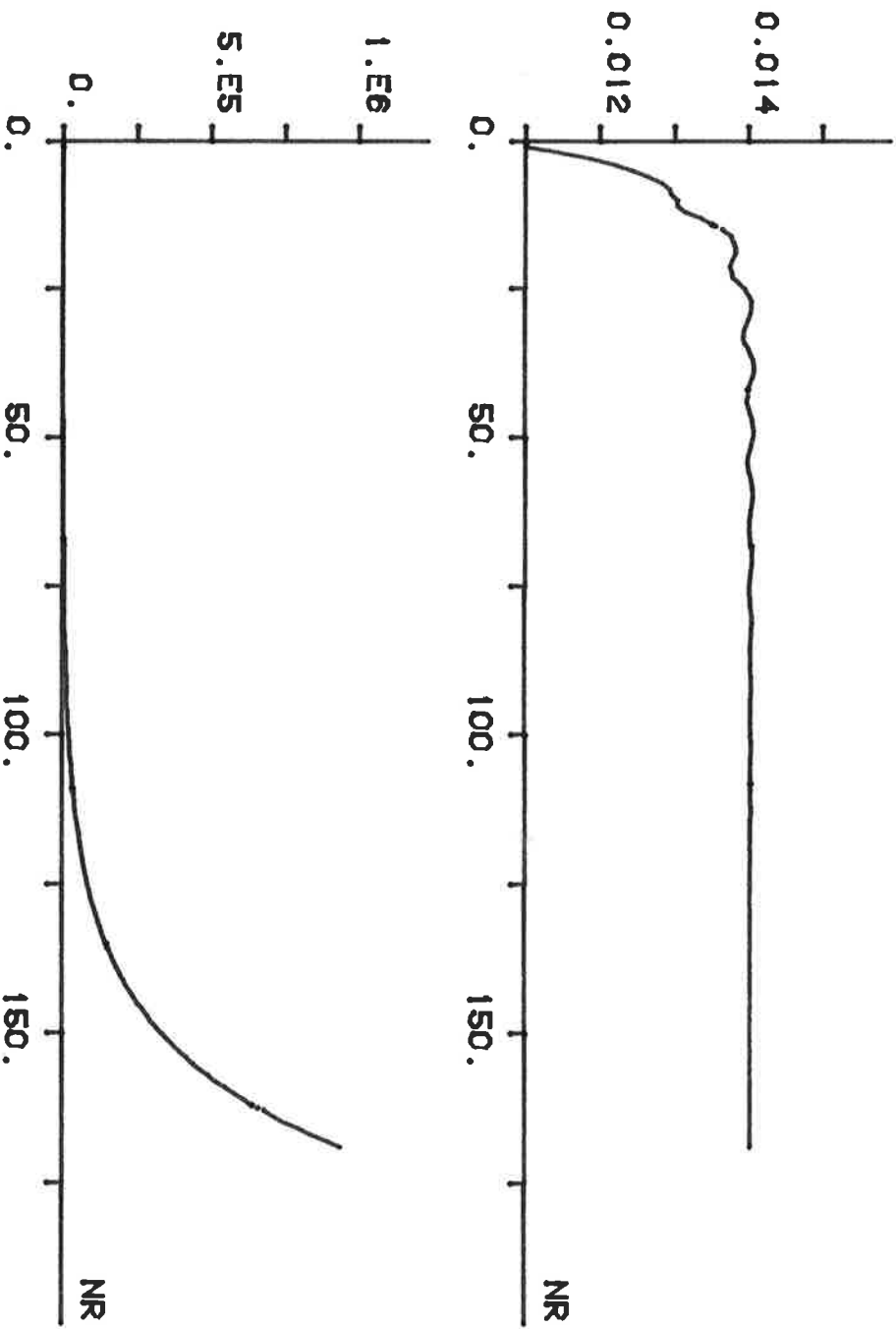


fig.2.4 Visar hur G0-fasens index
svänger in och den totala
celltillväxten.



De tre nämnda faktorerna d.v.s. tidssteget, startförhållanden och valet av fördelning är kopplade till modellen man använder sig av.

De nedan nämnda faktorerna är mera typiska för kulturen och har, oavsett modell, en mera generell inverkan.

Uppehållstider

De parametrar som kanske har störst inverkan på simuleringens förlopp är de som rör uppehållstiden i faserna. Om medelvärdet av uppehållstiden för en av faserna i den proliferande delen är lång så ger det utslag i cykeltiden. Och med en lång cykeltid så tar det lång tid för en cell som just delat sig att dela sig igen vilket sänker tillväxthast. hos populationen. Uppehållstiden i G0 har inte en lika direkt inverkan på tillväxthast. Om α är nära 1 går fraktionen α av cellerna direkt från Mitos och in i G1 och då har G0 inte så stor betydelse. Om α däremot ligger en bra bit under 1 och β samtidigt ligger nära 0 är det många celler som skall igenom G0. På detta sätt kommer G0 att ingå i cykeln för en stor mängd celler och dessa får sin cykeltid drastiskt förändrad.

Även uppehållstidernas standardavvikelse kan ha stor betydelse, i varje fall indirekt. Om s.av. för en fas är stor blir frekvensfunktionen flack och fasen måste delas in i ett stort antal fack för att 999/1000 av ytan skall kunna representeras. Särskilt den högra svansen på kurvan blir omfattande och då denna måste kapas någonstans och den del som blir över befinner sig långt ut till höger försvinner ett väsentligt bidrag när väntev. och s.av. skall beräknas. Visserligen kan detta kompenseras med att man utökar antalet fack men kompenseringen brukar inte vara tillräcklig om den inlästa s.av. är stor.

Parametrarna för uppehållstiden kan också sättas så att cellerna mer eller mindre hoppar över en fas. Det är användbart för simulering av de celltyper där uppehållstiden i Mitos försummas. Cellernas delning sker i skarven mellan G2 och G1. Uppehållstidens väntevärde sätts till ett tidssteg och s.av.

väljs mycket liten. Cellerna kommer på så sätt att rusa igenom fasen på en gång och dela sig vid tidssteget efter. Samma knep kan ex.användas för GO och då får \mathcal{L} -värdet mindre betydelse.

Parametrarna \mathcal{L} och β

Parametrarna \mathcal{L} och β har som nämndes i föregående avsnitt stort inflytande på hur GO påverkar populationen. Om \mathcal{L} och β är litet minskar tillväxthast.genom att ett stort antal celler inträder i GO och får sin cykeltid förlängd. Är β stor (\mathcal{L} litet) minskar tillväxthast.p.g.a.att många av de celler som lämnar den proliferande delen dör.

En annan variant som brukar förekomma är att \mathcal{L} som tidigare står för den fraktion som går vidare till G1 och fraktionen $1-\mathcal{L}$ går in i GO. Tiden cellerna tillbringar i GO är på samma sätt som tidigare en stokastisk variabel men förbindelsen tillbaka till cykeln via G1 är i detta fall bruten. Cellerna kommer alltså att befinna sig i GO en varierande tid och sedan dö och försvinna.

För många celltyper finns det ingen ingen information tillgänglig om uppehållstiden i GO och därför struntar man helt i denna fas i en del modeller. Alla celler är i detta fall proliferande och \mathcal{L} och β fyller då ingen funktion.

Om det är svårt att få uppgifter om GO så är det nästan omöjligt för \mathcal{L} och β . Av de celltyper som jag har simulerat och en rad andra som jag har funnit i litteraturen så har det aldrig funnits några uppgifter om dessa parametrar. Man får sätta dem till vad man tycker är rimligt men det är svårt att veta.

Jag har genomgående i simuleringarna valt $\mathcal{L} = 0.9$ och $\beta = 0.9$ vilket i klarteck betyder att 10% av cellerna som delar sig per tidsenhet inträder i GO och 90% av dessa dör.

3. SIMULERING AV STRÅLNINGSTERAPI

3.1 BEHANDLING AV TUMÖRER

Att i simuleringen låta cellerna bli utsatta för något slag av yttre påverkan är en naturlig komplettering av den modell som beskrevs i förra kapitlet. Om man har byggt en modell över hur en kultur tillväxer så ska den ju användas till något. Visserligen kan det vara intressant att undersöka hur valet av olika parametrar påverkar cellkulturens förändringar men i verkligheten är dessa parametrar svåra att påverka.

Möjligtvis kan man påstå att det i viss bemärkelse går att ändra uppehållstiderna i några faser. Det finns nämligen kemiska ämnen som blockerar cellerna i vissa faser. Cellen inträder i fasen men kan inte lämna den utan "låses fast" ex. omedelbart innan utträdet.

Andra typer av yttre påverkan är cytostatikaterapi och radio-terapi som bägge slår ut d.v.s. dödar celler i kulturen. Utslagningseffekten är störst i vissa faser och av denna anledning används ibland någon av dessa metoder i kombination med den ovan nämnda blockeringsmetoden. Behandlingen sker på så sätt att cellkulturen utsätts för en relativt hög dos med ett ämne som låser cellerna i en bestämd fas. Preparatet ges så att det har effekt under en ganska lång tid vilket innebär att en stor del av populationens celler stoppas upp efter hand som de inträder i fasen. När sedan preparatet förlorar sin effekt släpps alla cellerna som stoppats upp på en gång. Populationen är inte längre asynkron utan en stor mängd celler kommer att utvecklas parallellt i cykeln. Tiden som blockeringspreparatet verkar kan bestämmas tämligen exakt och det gör att man med stor säkerhet kan säga när cellerna kommer att befinna sig i en efterkommande fas. Om den andra metoden är strålningsterapi, som slår hårdast mot celler som befinner sig i Mitos eller Syntes-fas (det anses allmänt att celler som befinner sig i M och S-fas är strålningskänsligast), kan man alltså se till så att en stor del av populationens celler befinns sig just i dessa faser då bestrålning sker.

Användande av blockeringspreparat är emellertid inte så vanligt utan det som nästan uteslutande förekommer är radioterapi och/eller cytostatikaterapi. I dessa metoder koncentrerar man sig på de prolifererande cellerna av den enkla anledning att celler som befinner sig i G0 är okänsliga för såväl joniserande strålning som cytostatika.

G0 är emellertid inte utan betydelse för resultatet vid dessa terapiformer. Det kan i vissa sammanhang hända att det sker en påfyllning av celler från G0 när en stor mängd celler i de andra faserna har slagits ut.

I detta examensarbete har jag valt behandlingsformen radioterapi. Den Roterande Vektor modellen har utökats med vissa programavsnitt för att denna terapiform skall kunna simuleras. Emellertid så är verkningssätten hos bestrålnings- och cytostatikabehandling så likartade att modellen lika gärna kan gälla för det senare.

3.2 RADIOTERAPI-FLÖDES SYSTEM MODELLEN

Celldöd vid radioterapi

Ett vanligt sätt att beskriva effekter av strålbehandling är att studera hur stor fraktion celler som överlever en given stråldos. Cellöverlevnaden kan beskrivas med någon av träff-teorierna singelhit-singeltarget, där en träff i en cell räcker för att den skall slås ut, eller singelhit-multitarget där det krävs flera träffar i en och samma cell för att den skall slås ut. I det första fallet skrivs antalet överlevande celler $S_1 = \exp(-D/D_{37})$ där:

D = Den av cellerna absorberade dosen

D_{37} = Den dos som reducerar antalet överlevande celler S_1 till $1/e = 0.37$.

D_{37} , som kallas för strålningskänsligheten, varierar för olika celltyper. Ur behandlingsteknisk synpunkt så är emellertid det faktum att D_{37} varierar från fas till fas viktigare. Ovan nämndes att cellerna i Mitos och Syntesfas är mest känsliga för strålning. I fig. 3.1 är cellöverlevnaden i varje fas vid olika bestrålningsdoser angiven. Celltypen är Chinese hamster cells och är den cell som används vid simulering av ett enda bestrålningsfall. Vi ser att S-fasen är representerad med två stycken kurvor. Det beror på att cellerna är strålningskänsligare i början av fasen. (om man inte vill använda sig av två olika värden får man försöka uppskatta ett medelvärde för S). Kurvorna har erhållits genom att man låtit samtliga celler befinna sig i en fas och sedan strålat med en bestämd dos. Cellöverlevnaden har sedan bestämts genom att beräkna kvoten mellan "antal celler i kulturen när jämvikt uppnåtts efter bestrålning" och "antal celler i en opåverkad kultur efter samma tid". För att erhålla värden för de olika faserna vid doserna 200-1000 i steg om 200 har således 21 mätningar behövts göras.

I singelhit-multitarget teorin är inte alla träffar dödliga (letala) utan man betraktar en del av skadorna som reperabla (subletala). Överlevnadsekvationen skrivs i detta fall som

$S_2 = 1 - (1 - \exp(-D/D_{37}))^n$ där:

D och D_{37} står för samma saker som tidigare och n står för hur många träffar som erfordras för att cellen skall bli letalt skadad.

Om cellen får en subletal skada kan det ex. innebära att uppehållstiden i näst påföljande syntesfas förlängs.

I fig. 3.2 åskådliggörs singelhit-multitarget teorin. På den vågräta axeln avsätts absorberad dos/strålningskänslighet d.v.s. argumentet för exp-funktionen i överlevnadsekvationerna och på den lodräta cellöverlevnaden. Området som är streckat \\ \\ representerar subletala skador och det /// -streckade området anger letala.

När en cell har blivit dödligt träffad så finns det i varje fall två alternativ för hur den skall försvinna från populationen. Antingen blir den så illa tilltygad att den dör direkt vid strålningstillfället och bryts ner i sina beståndsdelar (som förs bort som avfallsprodukter eller blir material till nya celler) eller också stannar den kvar i populationen till Mito och dör när den skall dela sig. Hur det förhåller sig har betydelse för kulturens cellantal. Om det senare alternativet gäller så fungerar cellen som vilken annan cell som helst (ev. med förlängd uppehållstid) fram till delningstillfället och populationens antal sjunker mindre drastiskt efter bestrålningen. När man studerar cellöverlevnadskurvor över bestrålningar så finner man att nedgången i antal celler beskriver ett ganska mjukt förlopp. Det verkar där för som död i Mito är det sannolikaste. Möjligtvis kan man tänka sig att ett mellanting av de bägge förändringarna är det riktigaste.

120 • RADIOBIOLOGY FOR THE RADIOLOGIST

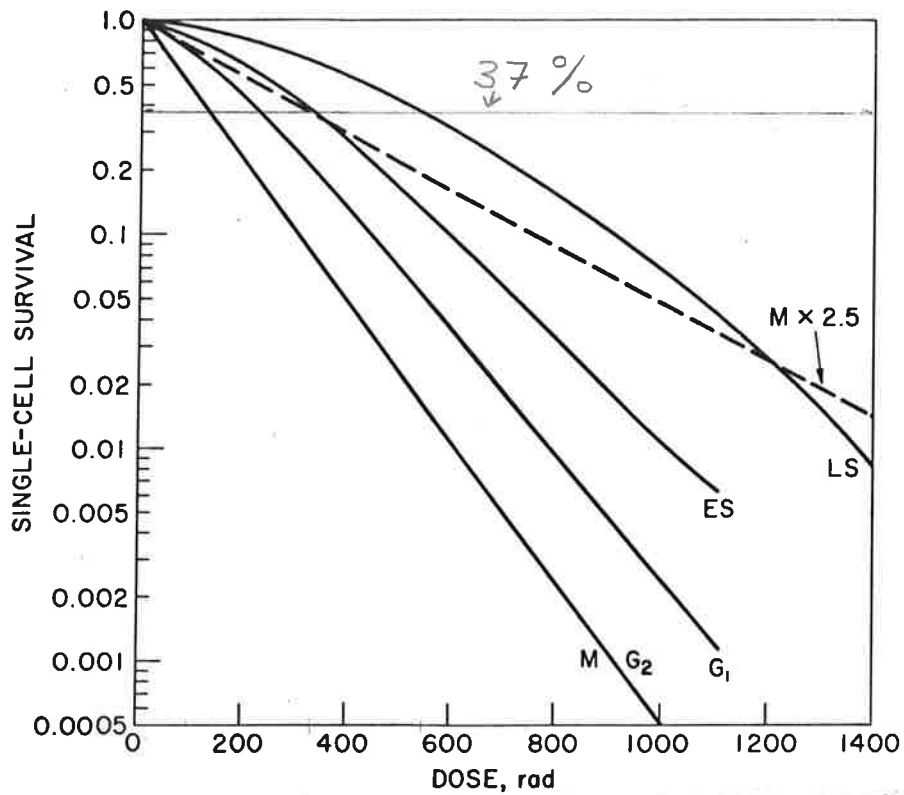


fig.3.1 Cellöverlevnaden vid olika absorberad dos hos Chinese Hamster cells

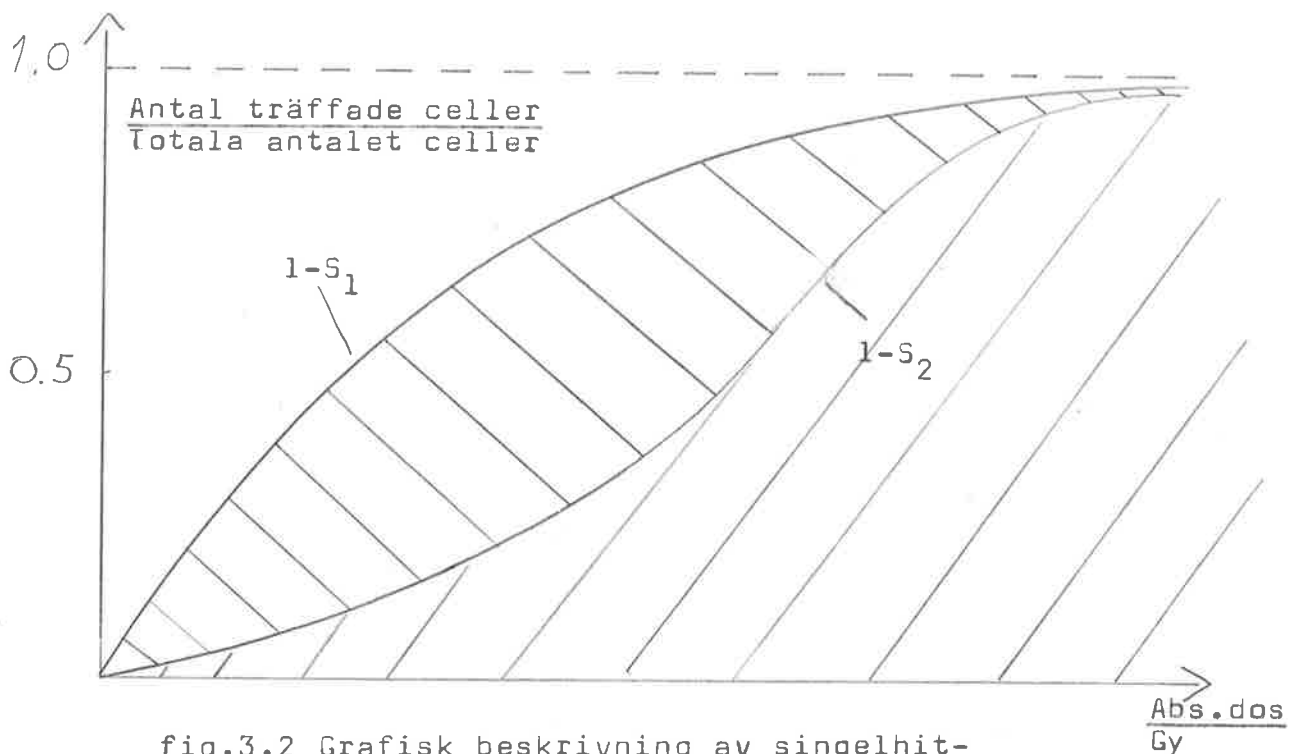


fig.3.2 Grafisk beskrivning av singelhit-multitarget teorin

Vad som krävs av modellen

Cellöverlevnadsekvationerna beskriver hur många av cellerna som överlever efter det att kulturen har absorberat en viss mängd joniserande strålning. Det spelar ingen roll om strålningen tillförs ögonblickligt eller under en längre tid.

I den radioterapi som bedrivs på lasaretten så utsätts emellertid de kroppsdelar som behandlas för strålning under en viss tidsrymd. Mängden joniserande strålning som absorberas av cellkulturen vid varje bestrålningstillfälle måste således per tidsenhet vara omvänt proportionell med tiden.

Eftersom de bägge modellerna vi har till förfogande arbetar med ekvidistanta tidssteg måste den absorberade dosen delas upp på flera tidssteg om man vill att bestrålningen skall ha en viss varaktighet. Överlevnadsekvationen för singelhit-singeltarget lyder $S = \exp(-D/D_{37})$ och tolkas som tidigare nämnts antalet celler som överlever i varje fas. Detta antal skall bli samma oavsett om strålningen sker momentant eller med viss varaktighet.

Vi erhåller i det förra fallet, om antalet celler i en viss fas är N_0 vid bestrålningstillfället, att $\exp(-D/D_{37}) \cdot N_0$ av fasens celler överlever. I det senare fallet skall resultatet bli detsamma. Säg att bestrålningen sker under p tidssteg. Vi erhåller, om x anger fraktionen celler som dör (eller rättare sagt träffas) vid varje tidssteg:

$$\underbrace{N_0 - N_0 \cdot x - x(N_0 - N_0 \cdot x) - x(N_0 - N_0 \cdot x - x(N_0 - N_0 \cdot x)) - \dots - x(\quad)}_{\text{fraktion celler kvar efter } p \text{ tidssteg}} =$$

$$= N_0(1-x)^p \quad \text{d.v.s. att} \quad N_0(\exp(-D/D_{37})) = N_0(1-x)^p \quad \Rightarrow$$

$$\Rightarrow x = 1 - \exp(-D/D_{37} \cdot p)$$

vilket innebär att $\exp(-D/D_{37} \cdot p)$ blir motsvarigheten till S_1 ovan och utsäger hur många celler som överlever vid varje tidssteg om bestrålningen sker under p tidssteg.

Eftersom behandling med radioterapi sker vid upprepade tillfällen och ofta i jämna intervall, ex. en gång om dagen, bör man kräva av modellen att flera bestrålningar kan göras och att de kan ske både i jämna och inte jämna intervall. Vid bestrålning i jämna intervall skulle man under vissa förutsättningar kunna uppnå mycket goda resultat. Genom att få populationen så synkron som möjligt, ex. genom att använda ett preparat som blockerar cellerna i någon fas, så kan man välja bestrålnings-tillfällena med ett sådant intervall (ex. med intervallet T_c) så att en stor del av cellerna befinner sig i en strålkänslig fas när behandling sker

Slutligen är det önskvärt att den absorberade dosen hos kulturen skall kunna varieras vid varje bestrålning (i praktiken genom att öka den till den behandlade kroppsregionen inkomna strålningsenergin).

Sammanfattningsvis skall alltså modellen:

- vara konstruerad enligt träffteorin singelhit-singeltarget, d.v.s. celler som har blivit träffade är dödligt skadade.
- vara konstruerad så att de celler som blivit dödligt träffade tillhör kulturen fram till de ska dela sig.
- tillåta att bestrålningarna kan ske när som helst under simuleringen.
- tillåta att den av cellerna absorberade dosen kan varieras.

Realisering av radioterapi i modellen

Det viktigaste kriteriet man kan ställa på en modell är naturligtvis hur väl den efterliknar verkligheten. Det måste gälla även om modellen endast fungerar i ett enskilt specialfall och är oduglig annars. Än bättre är det emellertid om modellen fungerar allmänt och kan kompletteras efter hand som det den skall efterlikna blir mera komplext.

Som redan nämnts så är det svårt att kontrollera hur väl modellen med flödes-system beskriver en cellkulturs tillväxt. Däremot så fungerar den tillfredsställande för olika simuleringsfall samtidigt som den är flexibel och erbjuder stora möjligheter till att utökas utan att någon av grundprinciperna behöver korrigeras. Kanske detta är ett tecken som gör det lite mindre troligt att modellen är helt felaktig eftersom även en verklig cellkultur bibehåller sina grundläggande egenskaper då dess omgivning förändras.

Ett ex. är det fallet då cellkulturen utsätts för yttre påverkan i form av joniserande strålning. En stor fraction av cellerna uppträder då exakt som tidigare medan en annan, påverkad fraction, får sina parametrar och en del andra typiska egenskaper förändrade. Trots det så fungerar de i allt väsentligt som tidigare tills de försvinner i Mitosen.

Tanken har således varit att behålla den ursprungliga modellen oförändrad och endast komplettera denna med rutiner och enskilda satser som är typiska för bestrålnings-simuleringen.

Simuleringen av radioterapi inleds därför på exakt samma sätt som i fallet med fri celltillväxt. Antingen så görs den fördelning av ursprungsceller till de fem faserna som tidigare beskrivits eller också sker inläsning av det dataelement som innehåller resultatet av föregående simulering. Därefter bestäms om bestrålning skall göras under simuleringen. Om svaret är ja sätts en variabel JARAD=1 och hopp sker till subrutinen RADCON där inläsning och behandling av data rörande bestrålningen sker. Stråldoskänsligheten för de olika faserna, som är konstant i tiden, läses in. Vidare bestäms hur många gånger

bestrålning skall ske under simuleringen, vid vilka tidpunkter dessa bestrålningar skall börja, hur länge resp. bestrålning skall pågå och hur stor den absorberade dosen skall vara varje gång. Alla tidsangivelser görs decimalt i timmar och därefter räknas dessa över till tidssteget H. Uppgifterna lagras i vektorer som är tillgängliga för huvudprogrammet. I det första fältet i varje vektor ligger uppgifter om, när den första bestrålningen börjar, hur länge den varar resp. dosens storlek. I det andra när andra bestrålningen börjar (om det finns någon) o.s.v. upp till den sista bestrålningen. När dessa data om bestrålningen är bestämda och sparade sker återhopp till huvudprogrammet.

Som framgått i kap. 3.2 kommer modellen att vara konstruerad efter träffteorin singelhit-singeltarget vilket innebär att en fraction celler blir dödligt träffade vid varje bestrålning. Vidare skall celler som träffats finnas kvar i populationen tills de ska dela sig.

På samma sätt som alla cellerna i kulturen är representerade i en cellvektor efter hur långt de har utvecklats är det lämpligt att lagra de träffade cellerna i en annan vektor. Denna har samma uppbyggnad och storlek som cellvektorn och anger på motsvarande sätt i vilket utvecklingsstadium dessa påverkade celler befinner sig. Denna vektor kommer att kallas för cellträffvektorn hädanefter.

I och med att antalet träffade celler är noll innan första bestrålningen nollställs denna vektor innan bestrålningen börjar. Om man skulle vilja återuppta en tidigare simulering där det fanns träffade celler kvar vid simuleringens slut så finns det möjlighet att läsa in träffcellvektorn p.s.s. som cellvektorn.

Efter detta så är den egentliga simuleringen klar att börja. Det första som görs i DO-slingan är att testa om bestrålning skall ske under simuleringen. Om JARAD=0, vilket innebär ingen behandling, kommer den fortsatta simuleringen att vara fri tillväxt hos kulturen. Är JARAD=1 görs en test mot variabeln IHDOS som anger vid vilket tidssteg första bestrålningen skall börja. Om värdet av IHDOS och det nuvarande tidssteget inte är samma så innebär det att bestrålningen skall vänta. Cellerna i cellvektorn förflyttas då som i den fria tillväxten. Vid nästa

tidssteg så sker åter samma test. Om IHDOS och tidssteget nu överensstämmer så skall bestrålning påbörjas. Beräkning av vid vilket tidssteg som bestrålningen skall upphöra görs m.h.a. de tidigare nämnda datavektorerna. Vidare så beräknas de konstanter, FHITF(k), som anger hur stor fraction celler som skall påverkas i varje fas k vid varje tidssteg som bestrålningen varar. Hopp sker nu till subrutinen RAD där en fraction celler från varje fas placeras i cellträffvektorn.

Som tidigare nämndes så är denna vektor identisk med cellvektorn vad det gäller uppbyggnad och storlek. Om vi som ex. antar att FHITF(1) (1 står för Mitosfasen) är lika med 0.1 så skall 0.1 * "antal celler i Mitosens i:te fack" placeras i det fack i cellträffvektorn som representerar celler i Mitosens i:te fack o.s.v. för de andra faserna. De bägge vektorerna är således synkroniserade på så sätt att fack som motsvarar samma utvecklingsstadium befinner sig mittför varandra.

Emellertid så skall den bråkdel celler som befinner sig i Mitosens första fack (d.v.s. omedelbart innan utträde ur Mitos) i cellvektorn inte fördelas till varken G0 eller G1 utan dö. Hopp sker därför till rutinen CDEATH som reducerar cellvektorns första fack med cellträffvektorns första fack. När detta är gjort rör sig cellerna i bägge vektorerna ett tidssteg i sin utveckling genom anrop av rutinen XPEQAX. Vektorerna rör sig på detta sätt parallellt och det antal celler som är träffade i ett visst fack i cellvektorn kommer att vara lika med antalet celler i cellträffvektorn. Förflyttningen av cellträffvektorn sker emellertid med den modifieringen att sätts till 0 och till 1 eftersom denna vektor skall tömmas på celler allt eftersom tiden går.

Anrop av rutinen YEQCX sker nu för bägge vektorerna där totala antalet celler och antalet träffade celler i kulturen räknas. Behandlingen av bestrålningstillfallets första tidssteg är nu avslutad.

I en sats omedelbart efter anropet av RAD har tidigare en test gjorts om det aktuella bestrålningstillfallet också innefattar nästa tidssteg. Om så inte är fallet sätts IHDOS till det tidssteg då nästa bestrålning börjar. Beroende på hur testet utfaller sker alltså antingen en fortsatt bestrålning enligt

samma förfarande som ovan eller också sker bara förflyttning och cellräkning av de bägge vektorerna fram till nästa best-rålning börjar.

Vid simuleringstidens slut görs samma normering med 100 celler som tidigare och de bägge vektorerna sparas i två dataelement.

Avslutningsvis kan sägas att det med denna metod även är möj-
ligt att simulera träffteorin singelhit-multitarget. I detta
fall så skulle det krävas n stycken extra träffvektorer (där
 n står för antal nödvändiga träffar för en letal skada).
Reduktionsfaktorn $1-S$ får då verka på samtliga vektorer och
cellerna förflyttas från vektor till vektor tills de når den
 n :te träffvektorn och där så småningom försvinner efter MitoS.

3.3 SIMULERING AV RADIOTERAPI MED EN BESTRÅLNING

Celltypen som har använts vid simuleringen är Chinese Hamster cells (uppgift om från vilken kroppsdel cellerna hörde gick inte att få). Uppehållstidernas väntevärde och standardavvikelse är angivna i tab. 3.1. P.g.a. att detsällan finns kompletta data om olika celltyper har jag varit tvungen att uppskatta en del av de olika fasernas värden.

Väntevärdet för G0 har satts till dubbla cykeltiden d.v.s. 22 timmar och standardavv. detsamma eftersom spridningen i G0 ofta är stor.

Väntevärdena för de övriga faserna är hämtade från litteraturen medan storleksordningen på resp. standardavv. är skattad efter andra celltyper.

De tio värdena är lagrade i dataelementet TCHK2 och läses in i en följd med ett ADD-kommando.

I fig. 3.1 är cellöverlevnaden i varje fas vid olika stråldoser visad. Genom att avläsa mittför 37/100 överlevnad för varje fas erhålles stråldoskänsligheten D_{37} . Vi ser att för S-fasen gäller två stycken kurvor, tidig S-fas och sen S-fas. Jag har här beräknat medelvärdet av de bägge vid 37% överlevnad.

I vanlig ordning så är det svårt att finna värden för G0. Emellertid så anses det allmänt att G0-fasen är väldigt okänslig för strålning. Som nämndes tidigare så är en av stötestenarna med strålbehandling att trots att man slår ut större delen av de cyklande cellerna så hämtar sig tumören snabbt genom att det sker en påspädning från G0. Jag har här valt känsligheten i G0 till 100 Grey. Det innebär ex. att 98% av cellerna som befinner sig i G0 vid bestrålningen överlever om tumören absorberar en dos på 2 Grey (ganska normal dos). I tab. 3.1 är stråldoskänsligheten D_{37} för varje fas angiven. Dessa värden är lagrade i ett dataelement DOCH och läses in på en gång under exekveringen.

Vidare har jag valt tidssteget H till 0.2 tim., högsta tillåtna avvikelse för uppehållstiderna till 0.02 och α och β till 0.9.

Fas	Väntevärde (timmar)	Standardav. (timmar)	Relativ av.	Stråldoskänsl. D_{37} (Grey)
Mitos-fas	1.0	0.1	0.02	1.30
G2-fas	3.0	1.0	"	"
Syntes-fas	6.0	0.5	"	4.35
G1-fas	1.0	1.5	"	2.30
G0-fas	22.0	22.0	"	100.00

tab.3.1 Cellparametrar för Chinese Hamster cells

Som nämndes i avsnittet startförhållanden i kap.2.2 är det mycket sannolikt att en tumör som skall behandlas med radio-terapi har växt tillräckligt länge för att befinna sig i exponentiell tillväxt. För att en simulerad bestrålning skall efterlikna ett verkligt fall så mycket som möjligt är det därför önskvärt att även den simulerade kulturen tillväxer exponentiellt när bestrålning sker. Dessutom ger beräkningen av den totala cellöverlevnaden riktigare resultat om insvängningsförlopp före (och även efter) bestrålningen är borta. Av denna anledning har en försimulering i 168 timmar av 100 ursprungsceller gjorts. Efter denna tid är cellantalet närmare 1 miljon och M-index och S-index har stabiliserats kring 0.068 resp. 0.581 (se motsvarande insvängning av en annan celltyp i fig.2.2 i avsnittet startförhållanden). Denna cellkultur har sedan normerats till 100 celler och sparats i ett data-element XELDO.

Bestålnings-simuleringen har nu gjorts på så sätt att XELDO har lästs in och kulturen har fått växa fritt under ytterligare 48 timmar. Vid 48 timmar har momentan bestrålning skett med en absorberad dos på 0,2,4,6,8,10,12,14 resp.16 Grey. Momentant i det här fallet innebär att cellerna har utsatts för strålning under ett enda tidssteg. Eftersom tidssteget är så långt som 0.2 tim.kan bestrålningstiden ha varit allt mellan 0-6 minuter och det täcker de flesta verkliga behandlingar. Efter bestrålningen låter man kulturen växa ostört under 120

tim.för att åter komma i jämvikt och därmed exponentiell tillväxt.

Kulturens cellöverlevnad beräknas sedan på så sätt att antalet celler efter 168 timmars simulering (120 tim. efter bestrålning med resp.dos) divideras med antalet celler som erhöles efter 168 timmars fri tillväxt (0-dosen).

Samtliga värden från simuleringarna d.v.s.tiden, antal celler i varje fas, M-index, S-index, totala antalet celler och antalet träffade celler lagras i dataelement SIMD0Y, SIMD2Y,

SIMD16Y resp. Dessa konverteras till en sådan form så att ett programpaket IDPAC (utvecklat av regl.tekn.inst.på LTH) kan rita kurvor över de olika bestrålningsfallen.

Resultat

I fig. 3.3 är det totala cellantalet som funktion av tiden plottat när bestrålning med doserna 0,4,8,12 och 16 Grey har skett.

Fram till bestrålningen så sammanfaller kurvorna och växer exponentiellt enligt $N_t = N_0 \cdot e^{t/T_e}$ där T_e är approximativt 18.5. T_e är inte helt konstant till en början men kan bestämmas exaktare genom att lösa ekvationen $N_2 = N_1 \cdot e^{(t_2 - t_1)/T_e}$ där N_1 , N_2 , t_1 och t_2 är värden från 0-dos simuleringens slutskede då tillväxten är nära nog perfekt exponentiell.

Fördubblingstiden för 0-dos fallet (och för de andra kurvorna fram till 48 tim.) blir alltså ca. 12.8 timmar. Om samtliga celler hade varit prolifererande så hade cykeltiden T_c gett en ganska god uppfattning om fördubblingstiden (inte exakt T_c eftersom spridningen kring uppehållstidens medelvärde i varje fas gör att celler som har en kortare cykeltid än genomsnittet ökar kulturens tillväxt mer än de som har en längre sänker den).

I fig. 3.3 ser vi hur cellantalet börja sjunka efter bestrålningen. Som tidigare nämnts så beror det på att träffade celler som lämnar Mitosen inte kan dela sig och fortsätta i cykeln. Emellertid så befinner sig bara en mycket liten del av populationens celler (92 av 1350 d.v.s. M-index 7%) i Mitos när

bestrålning sker. Det innebär att det till en början inte gör så stor skillnad för det totala cellantalet om dosen är 4 eller 16 Grey. Vid den mindre dosen träffas 95% av cellerna i Mitosen och vid den högre alla utom 5 miljon delar. I det lägre bestrålningsfallet kommer därför en obetydligt större mängd celler (ca.4.5 styck) att dela sig och tillhöra kulturen även efter Mitos. Då Mitosen har en maximal varaktighet på 2.2 tim. (11 fack) kommer således kurvorna att följas åt under de första två timmarna. Visserligen så inträder det träffade celler från G2 under denna tid och dessa skall i genomsnitt uppehålla sig i Mitosen i bara en tim. men G2 har också en hög strålkänslighet (samma som Mitosen d.v.s. förhållandet 5%/5 miljondelar gäller även här så skillnaden i antalet friska celler som inkommer från G2 fasen är inte stor mellan 4 och 16 Grey-fallet.

Efter en 5-10 timmar så slår de celler som befann sig i S-fasen vid bestrålningen (där förhållandet mellan överlevande celler för 4 resp. 16 Greys dos är 40%/3%) ordentligt igenom och kurvorna skiljs åt.

Beroende på vad dosen har varit så observerar vi att det tar olika lång tid innan cellantalet börjar öka någorlunda igen. För den lägsta dosen så går cellantalet ner med knappt 50% innan tillväxten blir positiv efter 14 tim. och den fortsatta ökningen sker därefter relativt snabbt. Vid den kraftigaste bestrålningen så tar det bara 2 tim. mer innan cellantalet börjar öka men här är antalet reducerat till 5% och det dröjer ända till 48 tim. efter bestrålning innan cellsumman passerar 25% (29 tim. i 4-dos fallet).

En annan sak som tydligt framträder i fig.3.3 är att när cellantalet börjar öka igen så får tillväxten ett svängigare och mer instabilt förlopp ju mindre dosen har varit (jämför också fig.3.4 där ökningen av cellantalet i varje fas jämte den totala tillväxten är plottat). I tab.3.2 är den faktor med vilken kulturens totala cellantal ökar för varannan timme angiven. Vi ser att för dosen 4 Grey så varierar tillväxten mer till en början och dessutom så är tillväxten snabbare i genomsnitt. En tänkbar förklaring kan vara att cellkulturen inte bringas

så långt ifrån den asynkrona fördelning som ger exponentiell tillväxt om dosen är låg. En avvikelse sker emellertid alltid och det för med sig att tillväxthastigheten förändras. Denna förändring i tillväxthast. leder till en ny förändring av cellernas fördelning i faserna o.s.v. Eftersom exponentiell tillväxt är den i särklass snabbaste tillväxtformen så leder en liten avvikelse från den asynkrona spridning av cellerna som är typisk för exp.tillväxt till stora förändringar i tillväxthast. Om den ursprungliga avvikelsen är större, som en större dos leder till, blir variationerna i tillväxthast. inte så dramatiska och tillväxten blir dessutom lägre i genomsnitt. I tab.3.2 framgår att redan vid knappt två dygn efter dosen så har cellernas fördelning stabiliserats kring den asynkrona förd. för både 4 och 16-dos fallen. Vi ser också att variationen i tillväxthast. svänger kring 1.115 som är exp.tillväxt. Den snabba insvängningen kring asynkron fördelning framgår också i fig.3.6 där M-index och S-index för strålning med 4 och 16 Grey har plottats. Vi noterar att periodtiden på indexens svängning som är ca.10.5 tim. överensstämmer med tillväxthast.periodtid och även med variationen av antalet celler i de olika faserna (fig.3.5). Man kan alltså direkt se kopplingen mellan tiden för en avvikelseändring från asynkron spridning och en förändring av tillväxthast.

På sid. i fig.3.4 så är förutom celltillväxten också antalet träffade celler plottat. Man observerar den plötsliga nedgången i cellantalet just då bestrålningen sker. Bestrålningen sker som tidigare nämnts momentant men i figuren så sker uppgången med antalet träffade celler linjärt från 47 till 48 tim. Det beror på att de sparade värdena i dataelementen bara beskriver kulturens förändringar för varje hel timme. Om man i simuleringen hade valt att göra utskrift med rutinen OUTPUT varje kvart isället så hade antalet träffade celler fortfarande varit noll fram till 48 tim. men kurvan hade ritats som om träffarna hade vuxit linjärt från 47.75 till 48. Att kurvan inte går spikrakt upp som den egentligen skall göra har alltså

bara en plottningsteknisk anledning.

Vi ser av figuren att nästan alla de träffade cellerna måste ha lämnat kulturen innan tillväxten kan bli positiv igen. Minskningen av cellantalet genom celldöd övervinner ökningen genom celldelning eftersom den senare är kraftigt reducerad.

Att celler som har blivit träffade stannar kvar i kulturen ända tills Mitosen framgår tydligt i fig.3.5. De faser där cellantalet först sjunker är de som ligger efter Mitosen d.v.s. G0 och G1. Dessa faser töms på celler eftersom få celler inträder från Mitosen (till G1 inträder även celler från G0 men det är en mycket liten del av det totala antalet) samtidigt som celler lämnar G0 och G1 i vanlig ordning. Dessa inträder i S-fasen och passerar så småningom även denna och cellantalet sjunker även här o.s.v. P.g.a.denna fördröjning kommer minskningen av cellantalet i G0 och G1 att vara anledningen till att det totala cellantalet sjunker direkt vid bestrålningen och minskningen av cellantalet i Mitosen vara anledningen till att tillväxten blir negativ under så lång tid. I figuren ser vi tydligt detta fenomen och noterar att samma förhållande gäller oavsett om dosen är 4 eller 16 Grey.

Inverkan av denna fördröjningseffekt framgår på ett annat sätt i kurvorna på M- och S-index i fig.3.6. S-indexet slår neråt (till en början en liten knyck uppåt då celler försvinner i G0 och G1) eftersom antalet celler i S-fasen minskar i ett tidigt stadium och M-index slår uppåt eftersom det relativa antalet celler i M-fasen blir större och större.

tab.3.2 Tillväxthast.förändring hos populationen för varannan timme och den procentuella förd.av celler på de olika faserna

	64	66	68	70	72	74	76	78	80	82	84	86	88	90	92	94	96	98	100	exp.tillv.
4 Grey	1.111	1.112	1.148	1.092	1.066	1.101	1.145	1.149	1.113	1.082	1.093	1.128	1.143	1.123	1.077	1.073	1.116	1.134	1.128	1.115
16 Grey	—	1.083	1.100	1.065	1.054	1.093	1.136	1.138	1.103	1.078	1.074	1.127	1.139	1.119	1.074	1.074	1.117	1.133	1.125	1.115

Timmar (H)	62		64		70		80		90		100		exp.tillv.
Dos (Grey)	4	16	4	16	4	16	4	16	4	16	4	16	Valfri
M-fas (%)	6,7	—	9,7	10,4	3,9	3,9	5,1	4,9	6,0	5,9	6,7	6,5	6,8
G2-fas (%)	31,2	—	33,0	29,8	16,3	16,5	16,4	16,6	17,7	17,7	19,3	19,2	22,5
S-fas (%)	52,9	—	43,3	37,2	68,7	63,7	66,1	64,6	63,1	62,8	60,6	60,7	58,1
G1-fas (%)	7,0	—	12,0	10,9	9,3	8,6	10,9	10,4	11,7	11,4	12,0	11,9	11,2
G0-fas (%)	2,2	—	2,0	11,8	1,8	7,3	1,5	3,6	1,5	2,2	1,4	1,7	1,4

Slutligen så skall den tidigare utlovade cellöverlevnads-kurvan redovisas. Som nämdes på sid. så beräknas överlevnaden genom att beräkna hur många procent det hela cellantal som är kvar efter bestrålning med en viss dos (och när jämvikt åter har uppnåtts) utgör av det cellantal som hade varit kvar om bestrålning inte hade gjorts. Man beräknar alltså förhållandet "antal celler efter 168 tim.om strålning med p Grey gjorts" /"antal celler efter 168 tim.fri tillväxt".

I fig.3.7 är den teoretiska kurvan jämte Flödes System modellens och Monte Carlo modellens resultat ritade.

Den teoretiska definitionen på hela cellkulturens strålkänslighet kan uttryckas $S = N_i \cdot e^{-D/D_i} / N_i$ där:

N_i = antal celler i fas i vid bestrålningstillfället

D_i = strålkänslighet i fas i

D = absorberad dos

I figuren så ser vi att den teoretiska kurvans läge i förhållande till de simulerade värdena bekräftar resonemanget i kap.3.3.

Att de simulerade värdena bildar en kurva med brantare lutning beror nämligen på att tillväxthastigheten avviker från den exponentiella när en bestrålning har gjorts och därmed växer kulturen långsammare. Vi får därför ett lägre värde på cellöverlevnaden än om man bara plockar bort de träffade cellerna som man gör i det teoretiska fallet.

I figuren kan man också tydligt se att tillväxthast. minskar kraftigare ju större dosen har varit. För ex.dosen 8 Grey så har man i Flödes System modellen 87 % av cellantalet som man hade haft om exp.tillv.hade inträtt direkt efter bestrålning kvar men för dosen 12 Grey så har man bara 79 %.

Vi observerar att de bägge simuleringsmodellernas resultat överensstämmer anmärkningsvärt väl. Möjligtvis hade man kunnat önska att Monte Carlo modellens cellöverlevnad för 16 Grey varit lite högre.

fig.3.3 Totala antalet Chinese Hamster cells efter bestrålning vid 48 tim. Absorberad dos hos kulturen är 0-16 Grey
 a=0 Grey
 b=4 G.
 c=8 G.
 d=12 G.
 e=16 G.

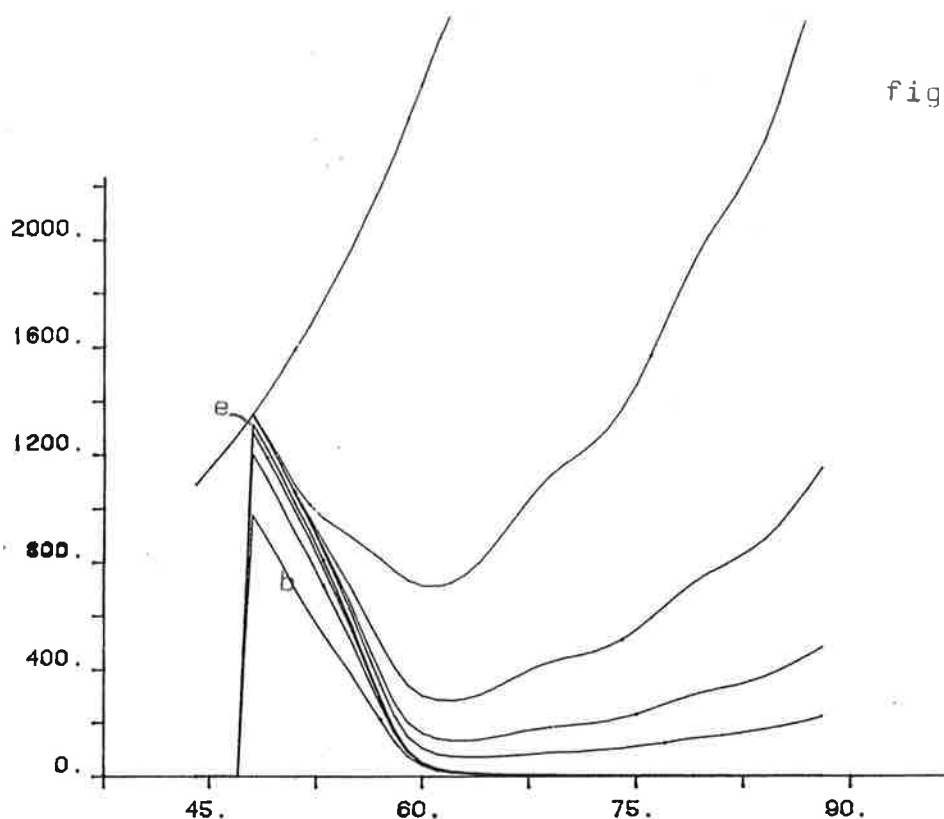
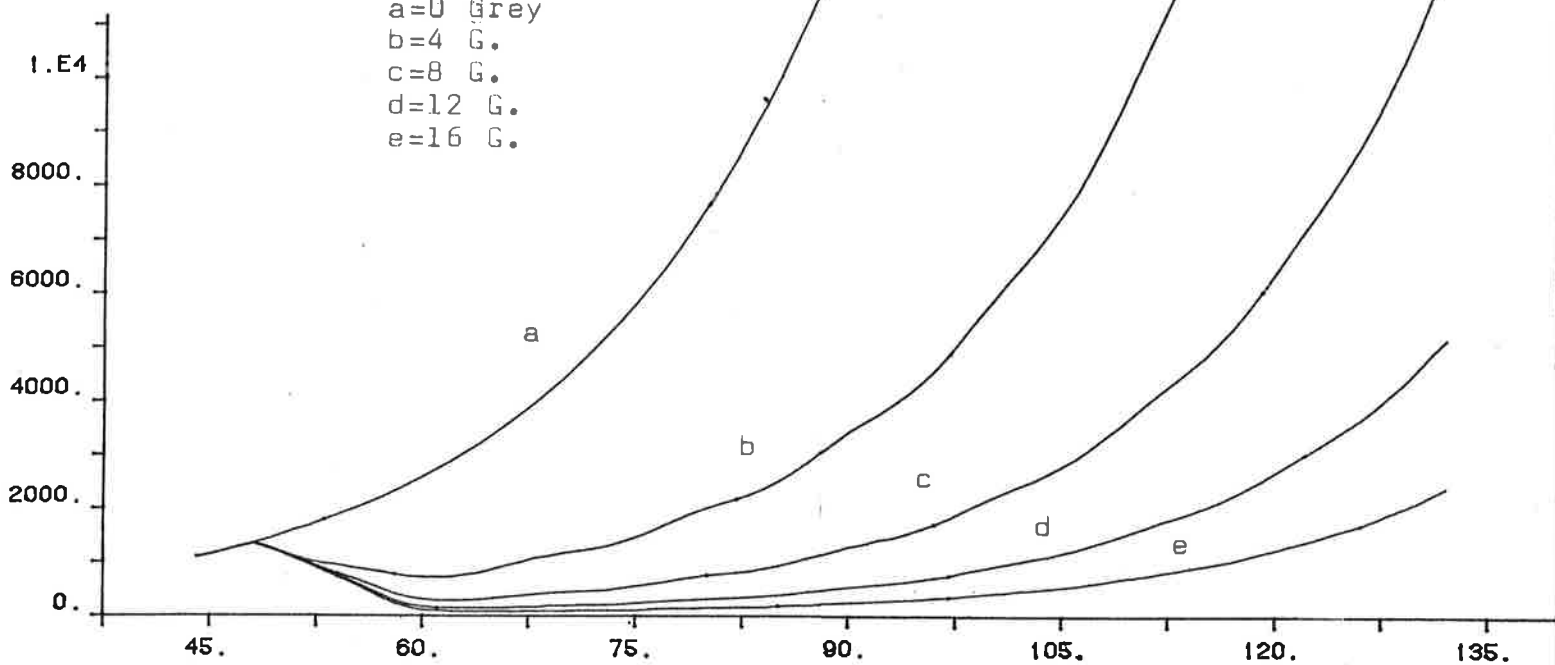


fig.3.4 Samma som i fig. 3.3 men även med antalet träffade celler plottat. b motsvarar fallet med minst antal träffade celler och e flest träffade

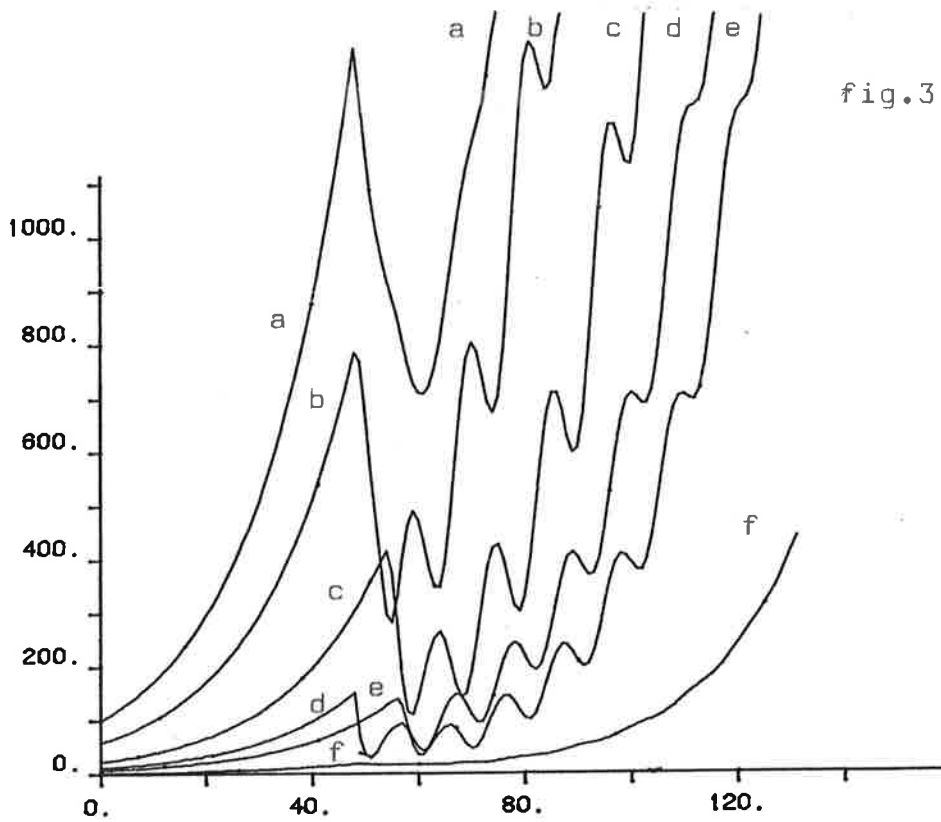


fig.3.5a. Antal celler i varje fas under 0-130 timmar. Bestrålning med en absorberad dos på 4 Grey
 a=Totalt cellantal
 b=S-fas
 c=G2-fas
 d=G1-fas
 e=M-fas
 f=G0-fas

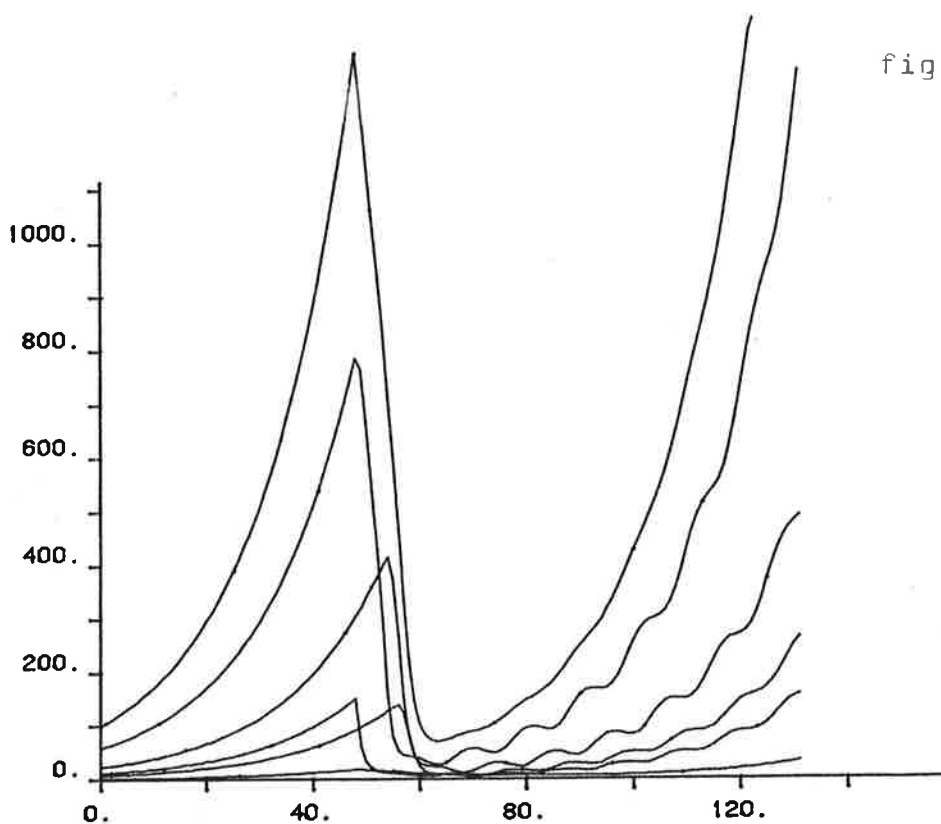
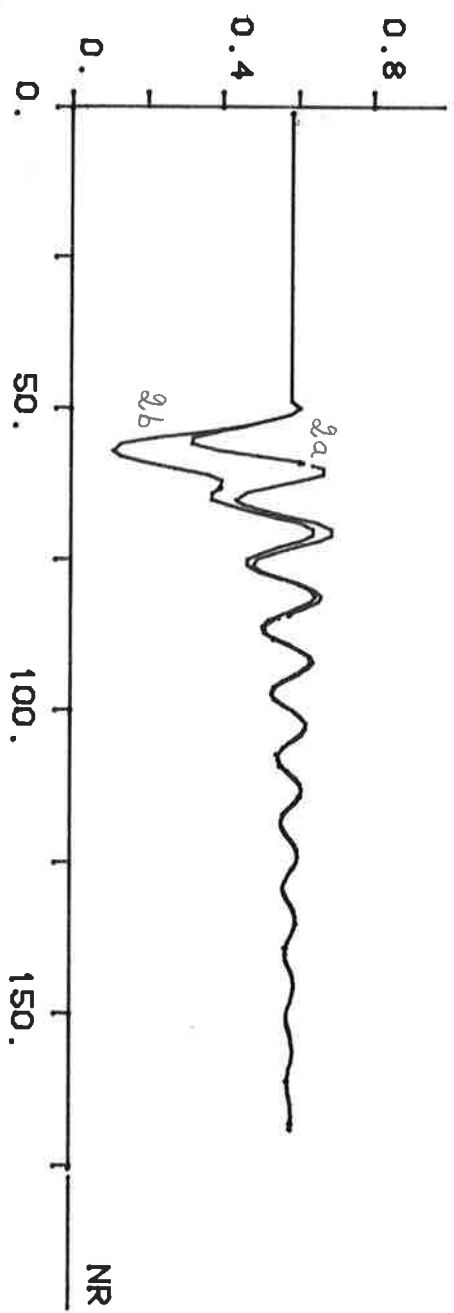
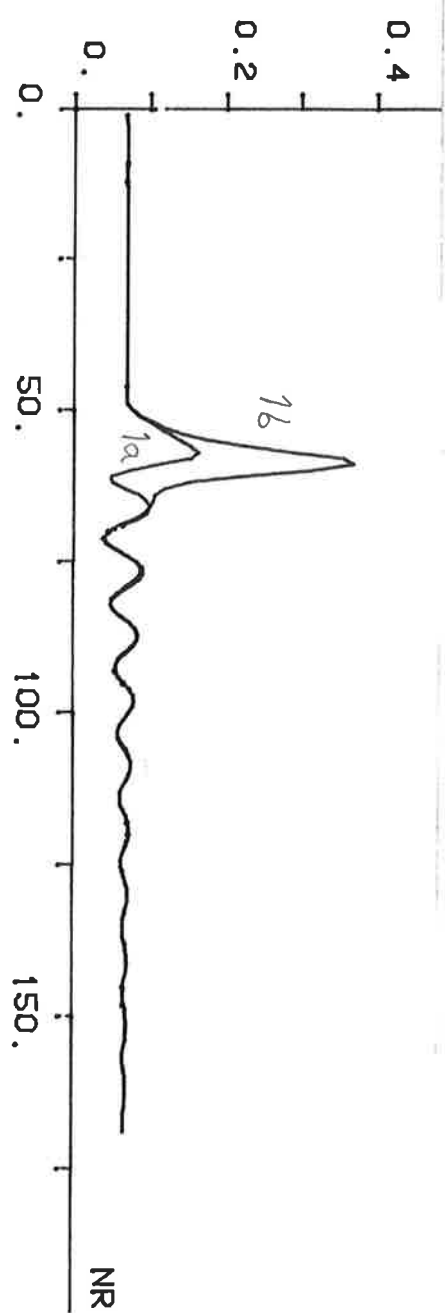


fig.3.5b Som i fig.3.5a men med en absorberad dos på 16 Grey

fig.3.6 M- och S-index kraftiga svängning efter
 bestrålning vid 48 tim med 4 resp.16
 absorberad dos
 1a=M-index vid 4 Grey absorberad dos
 1b= " " 16 " "
 2a=S-index vid 4 Grey absorberad dos
 2b= " " 16 " "

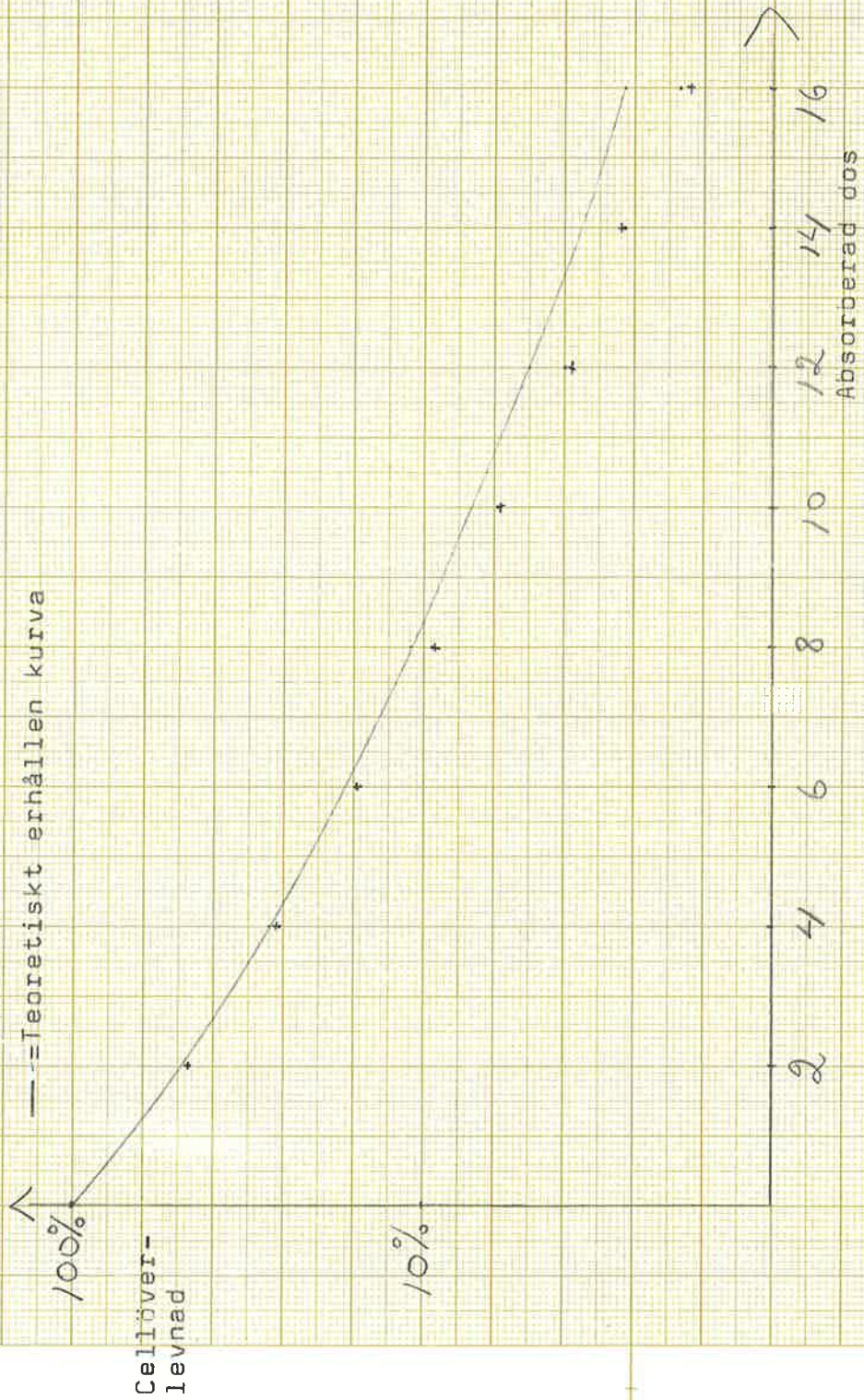
sid.46



1/10

fig.3.7 Cellöverlevnadskurva för Chinese Hamster cells vid bestrålning med 0-16 Grey och teoretiska cellöverlevnad enligt def.

- + =Värde erhållet med Monte Carlo modellen
- =Värde erhållet med Flödes system modellen
- =Teoretiskt erhållen kurva



3.4 SIMULERING AV RADIOTERAPI MED UPPREPADE BESTRÅLNINGAR

Celltypen som använts i detta fallet är en typ av Maxillcancer. Den växer i näshålans slemhinnor och är således en human (mänsklig) tumör.

Av samma anledning som tidigare är en del av fasernas parametrar uppskattade. Det har gjorts för väntevärdet på uppehållstiden i G₀ och för alla standardavvikelser. Värdena för uppehållstiderna är lagrade i dataelementet TUBK1.

I det här fallet är även strålkänsligheten för de olika faserna uppskattad. Värdet på D₃₇ för de prolifererande faserna har valts dels så att förhållandet på strålkänsligheten mellan de olika faserna är vad det allmänt anses vara och dels så att ett rimligt stort antal celler har slagits ut vid varje bestrålning. För G₀ har en så låg strålkänslighet som 1000 valts vilket innebär att denna fas är i det närmaste okänslig för strålning (99.8% av cellerna i G₀ överlever en dos på 2 Grey). Värdena på strålkänsligheten ligger lagrade i dataelementet DOUB.

I tab.3.3 är samtliga cellparametrar angivna.

Tidssteget H är satt till 1 tim.och avvikelsen för uppehållstiderna, α och β till samma som vid den tidigare simuleringen d.v.s.0.02,0.9 resp.0.9.

Fas	Väntevärde (timmar)	Standardav. (timmar)	Relativ av.	Stråldoskänsl. D ₃₇ (Grey)
M-fas	2.0	0.1	0.02	0.75
G ₂ -fas	5.0	1.5	"	"
S-fas	11.0	1.0	"	2.75
G ₁ -fas	8.0	12.0	"	1.75
G ₀ -fas	52.0	52.0	"	1000.0

tab.3.3 Cellparametrar för Maxillcancer

Simuleringen har gjorts så att den skall efterlikna den behandling av tumörer som sker på sjukhusen. Kulturen i simuleringen har därför utsatts för bestrålning mer än en gång och dosen har valts strax över de prolifererande fasernas genomsnittsliga stråldoskänslighet (1.5) nämligen 2 Grey. Vidare så ges varje bestrålning momentant d.v.s. cellerna påverkas under ett enda tidssteg. Eftersom tidssteget är så långt som en timme så täcker detta mer än väl in alla verkliga strålnings-tider.

Ursprungsantalet celler har varit 10000 och dessa har först fått växa utan någon yttre påverkan i 130 tim. Eftersom celltypens cykeltid är 26 tim. motsvarar detta 5 cykler. Efter denna tid är kulturen nära exponentiell tillväxt med ett M-index som varierar mellan 5.94-5.98 % och ett S-index som varierar mellan 43.08-43.21 %.

Vid 130 timmar, som vi för enkelhetens skull kan säga är kl. 12 en måndag, har första bestrålningen gjorts. 24 timmar ges andra dosen o.s.v. fram till fredag kl. 12 då femte och sista strålningen i vecka 1 görs. Lördag och söndag sker ingen behandling och då växer kulturen till sig. På måndag i vecka 2 bestrålar man igen och på detta sätt så upprepas schemat i totalt fyra veckor. Efter fredag middag i 4:de veckan låter man kulturen växa till sig och återgå till exponentiell tillväxt. 5 dygn efter detta avbryts simuleringen och då har man alltså totalt simulerat i 840 tim. eller drygt 35 dygn.

P.s.s. som i den förra bestrålningssimuleringen så sparas de erhållna resultaten i ett dataelement. Detta heter SUPBE och konverteras så småningom till programpaketet IDPAC.

Resultat

I fig. 3.8 är det totala antalet celler som funktion av tiden från simuleringen av de bägge modellerna ritade tillsammans med antalet träffade celler (som är ett delresultat från Flödes System modellen enbart).

Vi ser att de bägge cellkurvorna knixar lite grann till en början för att sedan plana ut till rätta linjer då exp. tillv. inträder.

Då första bestrålningen görs slår detta p.s.s.som tidigare direkt igenom på cellantalet. Man kan urskilja en väldigt hastig nedgång under de första två timmarna och därefter sjunker kurvorna mindre drastiskt men fortfarande med en ganska ordentlig lutning neråt.

Kurvan som beskriver träffade celler går upp helt lodrät i det ögonblick som bestrålningen börjar. Celler som blir skadade vid en momentan bestrålning träffas ju alla vid samma ögonblick. Av en tillfällighet så uppgår antalet träffade celler vid bestrålningen till 65.5 % d.v.s.34.5 % av cellerna undgår att bli träffade vilket ligger nära de 37 % (e^{-1}) som är definitionen på strålkänsligheten. Vid den fördelning av celler på de fem faserna som råder vid exponentiell tillväxt så kan man således säga att 2 Grey är ett approximativt värde på hela kulturens strålkänslighet.

Vid de andra bestrålningarna under de följande fyra dagarna sker ånyo en kraftig nedgång under de första timmarna efter doserna men lutningen förblir ungefär konstant d.v.s.nedgången i cellantalet är exponentiellt (logskala).

Vi ser att alla tre kurvornas utseende under varje 24 tim.-period har nästan identisk form. Möjligtvis kan man urskilja att minskningen av det totala cellantalet är något mindre efter första bestrålningen i varje vecka p.g.a.att cellerna ligger närmare exp.tillv.här (se sid.51).

Efter fredag i första veckan fortsätter antalet träffade celler att sjunka efter hand som de kommer till Mitos. Det totala cellantalet ökar därmed p.g.a.att flera celler får möjligheten att dela sig. Under helgen hinner inte kulturen uppnå exp.tillv.utan kurvorna knycker lite hit och dit uppåt.

Förloppet upprepar sig därefter enligt samma mönster under de följande tre veckorna med det tydliga faktum att bestrålningarna är så pass kraftiga och ofta återkommande att kulturen så småningom hade slagits ut.

Vi observerar att tiden som populationen får växa till sig efter behandlingens slut är tillräcklig för att exp.tillv.något så när åter skall inträda. Under det sista dygnet så

pendlar M-index mellan 5.79-6.06 % och S-index mellan 42.7-43.3 %.

Om vi jämför de bägge celltillväxtkurvorna så ser vi att kurvan med F-S modellen växer fortare då cellkulturen är opåverkad medan kurvan med M-C modellen växer fortare eller rättare sagt avtar mindre då kulturen är påverkad. P.g.a.den relativt långa tiden som cellerna får vara opåverkade och populationen i F-S modellen som sagt var växer fortare (anledningen kan vara att M-C modellen befinner sig längre från exp.tillv.vid simuleringens början. M-index exempelvis svänger som minst under de 130 första tim.med en amplitud på 0.14 % i M-C modellen men bara med 0.04 % i F-S fallet) kommer man att ha en ganska stor skillnad i cellantal när första bestrålningen skall göras. Efter hand som simuleringen fortskrider närmar sig kurvorna varann och sammanfaller t.o.m.under vissa stycken. Även då behandlingen är avslutad drar F-S kurvan ifrån i cellantal (samma förhållande på lutningen mellan kurvorna som i början). Av någon anledning svänger Monte Carlo modellens M- och S-index betydligt mer även här.

I fig.3.9 är M- och S-indexens variation i tiden för Flödes System modellen plottad. Man urskiljer tydligt de fyra veckorna då bestrålning görs som fyra stycken grupper med fem spikar i varje.

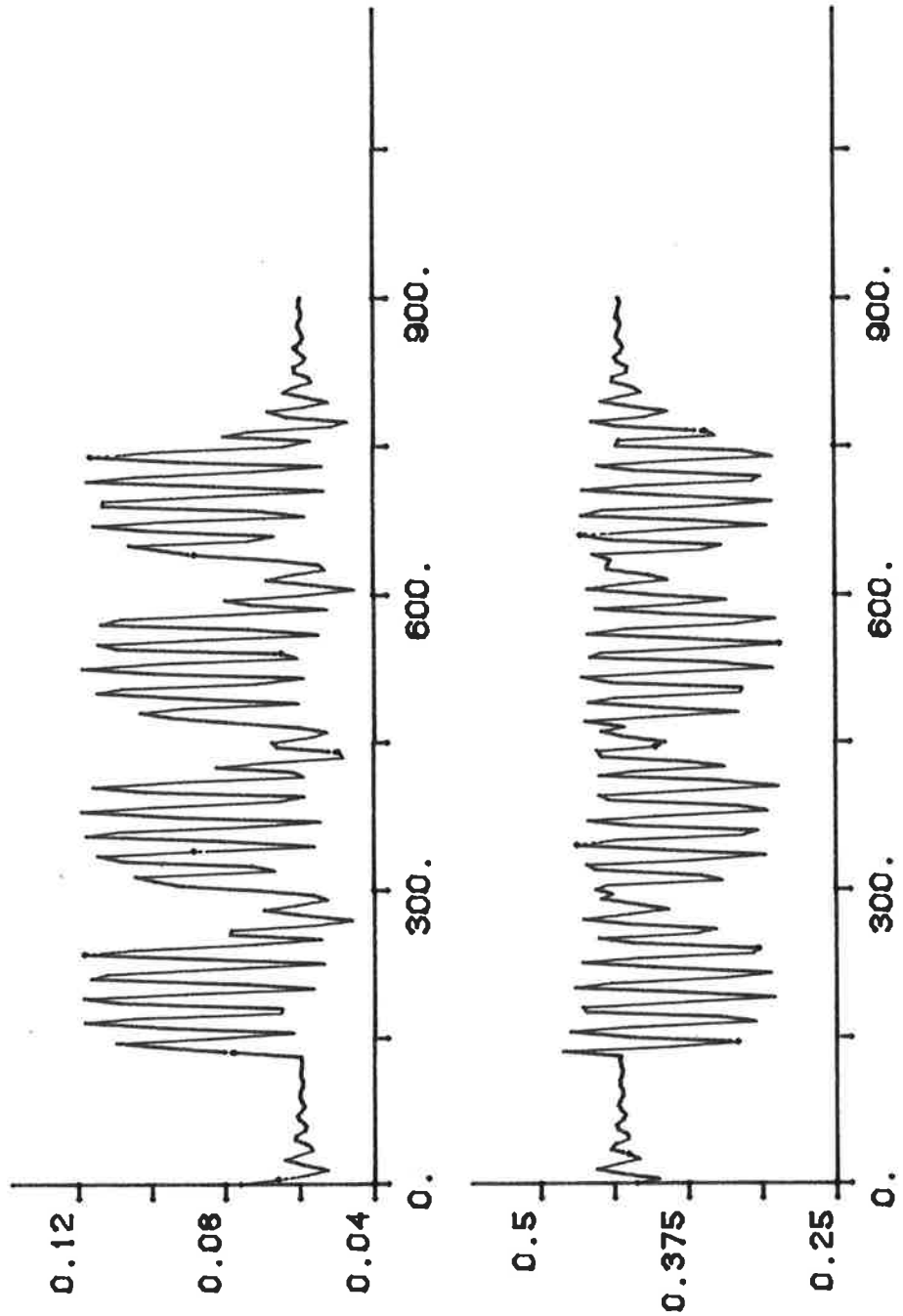
Vi ser att fram till den första bestrålningen så har bägge kurvorna stabiliserat sig någorlunda och kulturen är på väg mot jämvikt.

På samma sätt som vid den tidigare simuleringen med ett enda bestrålningstillfälle och av samma anledning så slår M-index uppåt vid varje stråldos och S-index neråt. Amplituden på störningarna är ungefär lika stor under veckans fyra sista bestrålningar medan måndagen i varje vecka uppvisar en något lägre spik. Tydligen så blir inte utslaget i M- och S-index så stor d.v.s.bestrålningen slår mer lika över alla faser om cellerna är någorlunda asynkront fördelade (speciellt mellan två bestrålningsveckor så är det första utslaget i den nya veckan mindre än de kommande i samma vecka). En anledning kan vara att p.g.a.G2:s läge långt bak i cykeln så slår G2-index

av samma anledning som M-index upp efter bestrålning. När det nu är dags för strålningen under tisdagen så är det många celler som blir träffade p.g.a. att G2 är en strålningskänslig fas och den procentuella andelen celler i G2 även i normala fall är hög. Dessa träffade celler försvinner ganska snart ifrån populationen eftersom G2 ligger näst sist i cykeln. Detta medför att G1-index och S-index slår nedåt kraftigare än vanligt och G2- och M-index slår motsvarande upp (eftersom det är så få celler i G0 så lämnar jag den utanför resonansområdet). Vid bestrålningen på onsdagen blir det samma förlopp och detta upprepas fram till fredag. Under lördag och söndag sker som sagt var ingen behandling och då hinner kulturen något så när svänga tillbaka till det normala. Nästa vecka upprepas det hela o.s.v.

Efter fjärde veckan så observerar vi att indexen är på väg mot konstant värde och populationen därmed exponentiell tillväxt.

fig.3.9 M- och S-index vid simu-
lering av upprepade be-
strålningar med Flödes
System modellen



REFERENSER:

- P.Hagander, Simulation and Flow System analysis of the cell cycle, Lund (1980)
- T.Knöös, Cellkinetik:Monte Carlo metoder, Lund (1980)
- G.Gordon Steel, Growth kinetics of tumors, Belmont, Surrey (1976)
- D.Brynmor Thomas, The kinetics of cell produktion
- R.Bellairst, Cell growth and morphogenesis
- D.Bellamy, Ageing of cells
- Warren K. Sinclair, Cyclic X-ray responses in mammalian cells in vitro

RUNID * POH USER ID * POH PART NUMBER * 00 INPUT DEVICE * SMSK43 DUTED
FILE NAME * ON\$ITE CREATED AT: 13:28:40 FEB 16,1981 PRINTED AT: 13:3

@PRT,S CELL.MAINN,.PARINS,.CONTIN,.STATIN,.RADCON,.RAD
FURPUR 28R1 E35 S74T11 02/16/81 13:29:42

GOL*CELL(1).MAINN

1 COMMON/STATE/X(5000),XHIT(5000),Y(8),YHIT(8),VY(6,6)
2 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NY,NDCT,H,TMED(5),IURDEL
3 COMMON/CONTR/NSTEP,NP,IST
4 COMMON/XRAY/EXPD(30),EXPDO(5),IABT,IHFB(30),IRLIH(30),FHITF(5)
5 COMMON/LASX/IANSWE

6 C
7 C HUVUDDPROGRAM MAINN STARTAR
8 C

9 C
10 NYHM=1

```

12 NR=5
13 NW=6
14 NY=6
15 NU=5
16 C
17 C ANROP AV SUBROUTINER
18 CALL PARINS
19 CALL CONTIN
20 CALL STATIN
21 C
22 C BESTEM OM BESTRILNING SKALL GÅRAS UNDER SIMULERINGEN
23 WRITE(NW,100)
24 READ(NR,9100) JARAD
25 IF(JARAD.EQ.1) CALL RADCON(H)
26 C
27 C ANTAL TRIFFADE (LETALT SKADADE) CELLER SETTS TILL NDLL
28 DO 10 I=1,NDCT
29 XHIT(I)=0
30 C
31 C BESTEM OM XHIT-VÄRDENA SKALL LÄSAS FRJN FIL
32 WRITE(NW,110)
33 READ(NR,9100) IRXHIT
34 IF(IRXHIT.NE.1) GO TO 15
35 READ(NR,200,ERR=14,END=14) (XHIT(I),I=1,NDCT)
36 CONTINUE
37 C
38 C UTSKRIFT AV \VERSKRIFT
39 WRITE(NW,1001)
40 IF(IANSWE.EQ.1) WRITE(NW,1002)
41 IF(IRXHIT.EQ.1) WRITE(NW,1003)
42 IF(JARAD.NE.1) GO TO 17
43 WRITE(NW,1004)
44 WRITE(NW,1005)
45 DO 16 L=1,IABT
46 C
47 C OMVÄNDLING FRJN TIDSSTEG TILL TIMMAR AV NER BESTRILNINGEN
48 C BARJAR OCH AV DESS VARAKTIGHET
49 TFB=FLOAT(IHFB(L))*H
50 TFB=TFB+FLOAT(IBLIH(L))*H
51 WRITE(NW,1006) L,TFB,TFBS,EXPD(L)
52 CONTINUE
53 C
54 C
55 WRITE(NW,1111)
WRITE(NW,1112)

```

```

57 C SITT OM BESTRILNING SKALL SKE UNDER SIMULERINGEN, NER FÖRSTA
58 C BESTRILNINGEN SKALL BARJA
59 C IF(JARAD.EQ.1) IHDOS=IHFB(1)
60 C NPBT=1
61 C
62 C START BIG LOOP
63 C DO 40 IST=1,NSTEP
64 C
65 C TESTA OM BESTRILNING SKALL SKE NJGON GJNG UNDER SIMULERINGEN
66 C IF(JARAD.NE.1) GO TO 28
67 C
68 C TESTA OM BESTRILNING SKALL BARJA NU
69 C IF(IST-1.NE.IHDOS) GO TO 24
70 C
71 C SITT BESTRILNINGSVILLKOR
72 C NIR BESTRILNING NPBT SLUTAR
73 C JHDOS=IHDOS+IBLIH(NPBT)-1
74 C
75 C BERäkNA DEN KONSTANT SOM ANGER HUR STOR FRAKTION AV DE FRISKA
76 C CELLERNA SOM BLIR LETALT SKADADE I DE OLIKA FASERNA VID VARJE
77 C TIDSSTEG UNDER BESTRILNING
78 C DO 22 K=1,NU
79 C FHITF(K)=1.-(EXP(-EXPD(NPBT))/(EXPDO(K)*IBLIH(NPBT))))
80 C CONTINUE
81 C
82 C TESTA OM BESTRILNING SKALL SKE NU
83 C IF(IST-1.LT.IHDOS) GO TO 28
84 C IF(IST-1.GT.JHDOS) GO TO 26
85 C
86 C BESTRILA ,D.V.S. FÖR ÖVER EN FRAKTION CELLER FRÖM DE ÖKKE
87 C TRIFFADE TILL DE TRIFFADE
88 C CALL RAD
89 C GO TO 28

90 C
91 C TEST OM DET ÖR BESTRILNINGAR KVAR ATT GARA
92 C SITT I SJ FALL NIR NÖSTA BESTRILNING SKALL BARJA
93 C NPBT=NPBT+1
94 C IF(NPBT.LE.IABT) IHDOS=IHFB(NPBT)
95 C
96 C RÖKNA ANTALET TRIFFADE CELLER
97 C CALL YEQCX(XHIT,YHIT)
98 C CELHIT=YHIT(6)
99 C
100 C RÖKNA ANTALET CELLER I VARJE FAS

```

```

102 C TEST OM ANTALET CELLER I VARJE FAS OCH TOTALA ANTALET
103 C TRIFFADE CELLER SKALL SKRIVAS UT
104 C IF(MOD(IST-1,NP).EQ.0) CALL OUTPUT(Y,CELHIT)
105 C
106 C REDUCERA X-VEKTORN I MITOSENS FÖRSTA FACK (FINNS DET INGA
107 C TRIFFADE CELLER, D.V.S. OM XHIT-VEKTORN ÄR TOM, SUBTRAHERAR
108 C MAN MED NOLL)
109 C CALL CDEATH
110 C
111 C F\RFLYTSTA XHIT-VEKTORN
112 C VALF=ALF
113 C VBET=BET
114 C ALF=0
115 C BET=1.
116 C CALL XPEQAX(XHIT)
117 C
118 C F\RFLYTSTA X-VEKTORN
119 C ALF=VALF
120 C BET=VBET
121 C CALL XPEQAX(X)
122 C
123 C CONTINUE
124 C END OF BIG LOOP
125 C
126 C RIKNA ANTAL TRIFFADE CELLER
127 C CALL YEQCX(XHIT,YHIT)
128 C CELHIT=YHIT(6)
129 C
130 C RIKNA ANTAL CELLER I VARJE FAS
131 C CALL YEQCX(X,Y)
132 C
133 C SKRIV ANTALET CELLER I VARJE FAS OCH
134 C TOTALA ANTALET TRIFFADE CELLER
135 C
136 C IST=NSTEP+1
137 C CALL OUTPUT(Y,CELHIT)
138 C
139 C DO 50 I=1,NDCT
140 C VILJ UT 100 CELLER AV DET TOTALA ANTALET CELLER
141 C IF(X(I).LT.1.E-12) X(I)=0
142 C IF(X(I).GE.1.E-12) X(I)=(X(I)*100.)/Y(6)
143 C
144 C VILJ UT MOTSVARANDE MÖNGD AV DE TRIFFADE CELLERNA
145 C IF(XHIT(I).LT.1.E-12) XHIT(I)=0
146 C IF(XHIT(I).GE.1.E-12) XHIT(I)=(XHIT(I)*100.)/Y(6)

```



```

147 C
148 C SKRIV INNEHJLLET I XHIT-VEKTORN P1 FIL
149 WRITE(NXHW,200) (XHIT(I),I=1,NDCT)

150 C
151 C SKRIV INNEHJLLET I X-VEKTORN P1 FIL
152 WRITE(NXW,200) (X(I),I=1,NDCT)

153 C
154 100 FORMAT(' SKALL BESTRJLNING G'RAS UNDER SIMULERINGEN? (JA=1)')
155 110 FORMAT(' SKALL INITIALVERDENA F'AR XHIT-VEKTORN LISAS IN FR'IN FIL? (
-JA=1)')
156
157 FORMAT(5E15.5)
158 1001 FORMAT('H1','ANTAL CELLER I VARJE FAS EFTER SIMULERING')
159 1002 FORMAT(' LISNING AV TOTALA ANTALET CELLERS (D.V.S. X-VEKTORN) INIT
IALVERDEN HAR GJORTS IFRJN FIL')
160
161 1003 FORMAT(' LISNING AV LETALT SKADADE (TRIFFADE) CELLERS INITIALVERDE
-N HAR GJORTS IFRJN FIL')
162
163 1004 FORMAT(' BESTRJLNING SKER UNDER SIMULERINGEN ENLIGT:')
164 1005 FORMAT('// BESTRJLNING NR:',10X,'BESTRJLNING B'YRJAR',10X,'BESTRILN
-ING SLUTAR',10X,'DOS')
165
166 1006 FORMAT(/9X,12,23X,F7.3,22X,F7.3,11X,F7.3)
167 1111 FORMAT('// TID(H)',9X,'MITOS',10X,'G2-FAS',10X,'S-FAS',9X,'G1-FA
-S',9X,'G0-FAS',1X,'M-INDEX',3X,'S-INDEX',11X,'SUMMA',8X,'CELHIT')
168
169 1112 FORMAT(/'
-----//)
170

171 9100 FORMAT( )
172 STOP
173 END

```

```

GOL*CELL(1),PARINS
1 SUBROUTINE PARINS
2 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NY,NDCT,H,TMED(5),IUR DEL
3 DIMENSION TSD(5),TM(5),TS(5),YTA(5),KFMAX(5),EYVF(5),ESAF(5)
4 DIMENSION EVF(5),AVTMED(5),AVTSD(5),MER(5),NYA(5)
5 C
6 C
7 NR=5
8 NW=6
9 C
10 INPUT FR MEDELVERDE OCH STANDARDAVVIKELSE F'AR DE T VARIE

```

```

12 DO 2 K=1,NU
13 WRITE(NW,100) K
14 WRITE(NW,200)
15 READ(NR,300) TMED(K)
16 WRITE(NW,400)
17 READ(NR,300) TSD(K)
18 C
19 C BERKNING AV MEDELVIRDE TM OCH STANDARDAVVIKELSE TS F/R
20 C DE I VARJE CELLFAS NOR.-F/RDELADE UPPEHJLLSTIDERNA LOG XTID
21 C TS(K)=SQRT(ALOG(1+(TSD(K)/TMED(K))**2))
22 C TM(K)=ALOG(TMED(K))-TS(K)**2/2.
23 C
24 C INPUT LR TIDSSTEGETS STORLEK,H
25 C WRITE(NW,1100)
26 C READ(NR,300) H
27 C
28 C BERKNA PARAMETERVEKTOENS STORLEK
29 C IVMAX=0
30 C DO 6 K=1,NU
31 C KFMAX(K)=EXP(TM(K)+3.1*TS(K))/H+1.
32 C IVMAX=IVMAX+KFMAX(K)
33 C
34 C TESTA OM PARAMETERVEKTORN BLIR F\R STOR
35 C I SJ FALL LISES ETT NYTT, ST\RRE H
36 C IF(IVMAX.GT.4000) GO TO 4
37 C
38 C INPUT LR HUR STOR DEN RELATIVA AVVIKELSEN F\R VARA MELLAN
39 C DE ERHJLLNA OCH DE VERKLIGA VIRDENA P\J UPPEHJLLSTIDERNAS
40 C VINTEVIRDE OCH STANDARDAVVIKELSE
41 C WRITE(NW,450)
42 C READ(NR,300) AVVIK
43 C
44 C BERKNA AVVIKELSERNA F\R VARJE FAS
45 C
46 C DO 7 K=1,NU
47 C AVTMED(K)=TMED(K)*AVVIK
48 C AVTSD(K)=TSD(K)*AVVIK
49 C
50 C BERKNA SUMMAN AV STAND.AVV. OCH NOLLSTILL ERHJLLET VIRDE
51 C P\J UPPEHJLLSTIDERNAS VINTEVIRDE OCH VARIANS
52 C SUTSD=0
53 C DO 8 K=1,NU
54 C SUTSD=SUTSD+TSD(K)
55 C EVVF(K)=0
56 C EVVFK=0

```

```

57 C
58 C BERCKNING AV DET MINSTA ANTAL TERMER SOM VARJE PARAMETERVEKTOR
59 C UT\KAS MED OM DE ERHJLLNA VIRDENA PJ UPPEHJLLSTIDERNAS VINTE-
60 C VIRDE OCH STANDARDAVVIKELSE SKILJER SIG F\A MYCKET FRJN DE
61 C GIVNA OCH NOLLSTJLL DESUTOM ANTAL EXTRA TILLDELADE FACK I
62 C VARJE FAS
63 ISMER=0
64 DO 10 K=1,NU
65 MER(K)=TSD(K)/SUTSD*1000.+0.5
66 ISMER=ISMER+MER(K)
67 IF (ISMER.LE.1000) GO TO 9
68 MER(K)=1000-(ISMER-MER(K))
69 ISMER=1000
70 C
71 9 NYA(K)=0
72 10 CONTINUE
73 C
74 C NOLLSTJLLNING AV TILLGSTERMEN VID EXTRA PARAMETERTILLDELNING
75 IREST=0
76 C
77 C GENERERING AV LOGNOR.-F\RD. F\A VARJE FAS
78 C
79 C NOLLSTJLLNING AV SUMMA FACK
80 NDCT=0
81 C
82 C HALVERA H F\A ST\RRE NOGGRANHET
83 BH=H/2
84 C
85 C ANTAL DELINTERVALL INOM VARJE H
86 IH=2
87 C
88 C STARTA STOR SLINGA
89 DO 50 K=1,NU

90 C
91 C SITT IULIM=1 SOM UNDRER GRNS I REPETITIONSSATSEN DER VINTEVIRDENA
92 C OCH STAND.AVV. RKNAS UT
93 IULIM=1
94 C
95 C SITT DE BIGGE VARIABLERNA VVFT OCH VFT TILL NOLL (VARIABLERNA
96 C STJR F\A VINTEVIRDE OCH VARIANS F\A DEN ICKE NORMERADE
97 C PARAMETERVEKTORN)
98 VVFT=0
99 VFT=0
100 C

```

```

102 I=0
103 C
104 14 HSUM=0
105 DO 16 J=1,IH
106 A1=1./(TS(K)*((FLOAT(I)+0.5)*H+BH*(FLOAT(J-1)+0.5))
107 -*SQRT(2.*3.141593))
108 A2=(ALOG((FLOAT(I)+0.5)*H+BH*(FLOAT(J-1)+0.5))-TM(K))**2
109 A3=2.*TS(K)**2
110 FV=A1*EXP(-A2/A3)
111 C
112 C PARAMETERVIRDENA FØR VARJE DELINTERVALL BH SUMMERAS
113 16 HSUM=HSUM+FV
114 I=I+1
115 IF(I.NE.1) GO TO 18
116 C
117 C TILLSKOTTSTERMEN FØR TIDEN 0 TILL 0.5*H BERØKNAS
118 A1=1./(TS(K)*0.5*H*SQRT(2.*3.141493))
119 A2=(ALOG(0.5*H)-TM(K))**2
120 A3=2.*TS(K)**2
121 TTERM=A1*EXP(-A2/A3)*0.5
122 C
123 C MEDELVØRDET AV PARAMETERVIRDENA FØR VARJE BH ØER PARA--
124 C METERVØRDET FØR DET I:TE H:ET
125 PAR(NDCT+I)=HSUM/FLOAT(IH)+TTERM*0.5
126 GO TO 19
127 18 PAR(NDCT+I)=HSUM/FLOAT(IH)
128 19 FRESUM=FRESUM+PAR(NDCT+I)
129 IF(I.LT.KFMAX(K)) GO TO 14
130 C
131 C BERØKNING AV ERHJLLET VØNTEVØRDE
132 DO 22 N=IULIM,I
133 VVFT=VVFT+N*H*PAR(NDCT+N)
134 22 C
135 C OM ALLA PARAMETERVØRDEN HITILS SATTS TILL NOLL (VARIT < 1.E-38)
136 C GARDERAR VI OSS MOT DIVISION MED NOLL
137 IF(FRESUM.EQ.0) FRESUM=1.E-30
138 EVVF(K)=VVFT/FRESUM
139 VDIFF=ABS(EVVF(K)-TMED(K))
140 C
141 C BERØKNING AV ERHJLLEN STANDARDVØVIKELSE
142 DO 24 N=IULIM,I
143 VFT=VFT+((N*H-EVVF(K))**2)*PAR(NDCT+N)
144 EVF(K)=VFT/FRESUM
145 FSAE(K)=SQRT(EVF(K))

```

```

147 C
148 C SITT NYTT IULIM (I HINDELSE AV ATT PARAMETERVEKTORN SKALL UT\KAS)
149 IULIM=I+1
150 C
151 C BERCKNING AV DET MAXIMALA ANTALET EXTRA FACK F\A FAS K
152 IEXTRA=MER(K)+IREST
153 C
154 C TEST OM DE ERHJLLNA VRDENA P\J VINTEVIRDET OCH STANDARD-
155 C AVVIKELSEN LIGGER TILLR\CKLIGT NIRA DE GIVNA OCH OM DET
156 C FINNS FLER FACK TILLG\NGLIGA
157 C IF(VDIFF.LE.AVTMED(K).AND.SDIFF.LE.AVTSD(K).OR.JEXTRA.
158 C -EQ.O) GO TO 30
159 IREST=IREST-1
160 KFMAX(K)=KFMAX(K)+1
161 NYA(K)=NYA(K)+1
162 GO TO 14
163 IREST=IEXTRA
164 C
165 C NOTERA HUR M\NGA FACK FASEN UPPTAR
166 NDC(K)=I
167 C
168 C BERCKNA F\RDELNINGFUNKTIONENS SUMMA
169 YTA(K)=FRESUM*H
170 C
171 C NORMERING AV VARJE PARAMETERVIRDE MED SUMMA PARAMETERVIRDEN
172 DO 40 M=1,I
173 IF(PAR(NDCT+M)/FRESUM.LT.1.E-12) PAR(NDCT+M)=0
174 IF(PAR(NDCT+M)/FRESUM.GE.1.E-12) PAR(NDCT+M)=PAR(NDCT+M)/FRESUM
175 CONTINUE
176 C
177 NDCT=NDCT+I
178 CONTINUE
179 C SLUT P\J GENERERING AV LOGNOR.-F\RDELNING
180 C
181 C INPUT AV TALEN ALF OCH BET
182 WRITE(NW,500)
183 READ(NR,300) ALF
184 WRITE(NW,600)
185 READ(NR,300) BET
186 C
187 C UTSKRIFT AV STORLEKEN P\J PARAMETERVEKTORER OCH ALF OCH BET
188 WRITE(NW,700) NDCT,(NDC(K),K=1,NU)
189 WRITE(NW,750) (NYA(K),K=1,NU)
190 WRITE(NW,800) ALF,BET

```

```

192 C UTSKRIFT AV F/RDELNINGSFUNKTIONERNAS VERDEN
193 WRITE(NW,850)
194 WRITE(NW,851) (YTA(K),K=1,NU)
195 C
196 C UTSKRIFT AV FREKVENSFUNKTIONERNAS VERDEN
197 M=0
198 DO 70 K=1,NU
199 WRITE(NW,900) K
200 WRITE(NW,901) AVVIK
201 WRITE(NW,1200) TMED(K),EVVF(K),TSD(K),ESAF(K),TM(K),TS(K)
202 C
203 C BESTEM OM PARAMETERVERIDENA SKALL SKRIVAS UT
204 WRITE(NW,998)
205 READ(NR,999) IMPV
206 IF(IMPV.NE.1) GO TO 70
207 L=M+1
208 M=M+NDC(K)
209 WRITE(NW,1000) (PAR(I),I=L,M)
210 CONTINUE
211 70 FORMAT(' CELLFAS(M=1,G2=2,S=3,G1=4,G0=5):' I3)
212 100 FORMAT(' ANGE UPPEHJLLSTIDENS MEDELVERDE ( I LOGNOR-F/RD):')
213 200 FORMAT(F7.3)
214 300 FORMAT(F7.3)
215 400 FORMAT(' ANGE UPPEHJLLSTIDENS STAND.AVV. ( I LOGNOR-F/RD):')
216 450 FORMAT(' ANGE DEN HIGST TILLJITNA RELATIVA AVVIKELSEN (I DECIMALTAL
217 -) MELLAN ERHJLLET VINTEVIRDE OCH STAND.AVV. OCH DE GIVNA?')
218 500 FORMAT(' ANGE FRAKTIONEN CELLER SOM STANNAR KVAR I "P" EFTER METOD
-:')
219 600 FORMAT(' ANGE FRAKTIONEN CELLER SOM D/R AV DE SDM LIMNAR "P" EFTER
- MITOS:')
220 700 FORMAT('/', NDCT=' I5,10X,' NDC:' I5)
221 750 FORMAT(/21X,' NYA:' I5)
222 800 FORMAT(' ALF:' F7.3,' BET:' F7.3)
223 850 FORMAT('/', F/RDELNINGSFUNKTIONENS VERDE NCR PARAMETERILLDELNINGEN
224 -AVBRYTS I DE FEM FASERNA:')
225 851 FORMAT(/1H '5(4X,F7.5)')
226 900 FORMAT('/', FREKVENSFUNKTIONEN F/R CELLFAS NR:' I5)
227 901 FORMAT(' TILLJITEN RELATIV AVVIKELSE MELLAN TEORETISKA OCH VERKLIG
-A TIDSPARAMETRAR:' F7.3)
228 998 FORMAT('/', SKALL PARAMETERVERIDENA SKRIVAS UT?(JA=1)')
229 999 FORMAT( )
230 1000 FORMAT(/1X,10F11.6)
231 1100 FORMAT(' ANGE TIDSTEGETS STORLEK(TIMMAR I DECIMALFORM):')
232 1200 FORMAT(' MEDELVERDE:' F7.3,' VERKLIGT MEDELVERDE:' F7.3/
- STANDARD AVVIKELSE:' F7.3,' VERKLIG STANDARD AVVIKELSE:' F7.3/

```

RETURN
END

237
238

```
GOL*CELL(1).CONTIN
1 SUBROUTINE CONTIN
2 COMMON/CONTR/NSTEP,NP,IST
3 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NY,NDCT,H,TMED(5),IUR,BEL
4 C
5 C
6 NR=5
7 NW=6
8 C
9 C INPUT IR SIMULERINGSTIDEN, TIM
10 WRITE(NW,92)
```

```

12 C
13 C INPUT IR ANTALET TIDSSTEG MELLAN VARJE UTSKRIFT
14 WRITE(NW,109)
15 READ(NR,110) NP
16 C
17 C BERCKNING AV ANTALET TIDSSTEG SOM SIMULERINGEN SKALL FOLJA
18 NSTEP=TIM/H+0.0001
19 C
20 WRITE(NW,300) NSTEP,NP,H
21 99 FORMAT(' ANGE SIMULERINGSTIDEN (TIMMAR I DECIMALFORM):')
22 100 FORMAT(F6.2)
23 109 FORMAT(' ANGE INTERVALLSTORLEK MELLAN UTSKRIFT:')
24 110 FORMAT( )
25 300 FORMAT(/1H,'CONTROLLVARIABLES: '/1H0,' NSTEP=',I6,' NP=',I
26 -5,' H=',F6.2,' HOURS'///)
27 RETURN
28 END

```

```

GOL*CELL(1).STATIN
1 SUBROUTINE STATIN
2 COMMON/STATE/X(5000),XHIT(5000),Y(8),YHIT(8),VY(6,6)
3 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NY,NDCT,H,TMED(5),IURDEL
4 COMMON/CONTR/NSTEP,NP,IST
5 COMMON/LASX/IANSWE
6 C
7 C
8 NR=5
9 NW=6
10 C

```



```

12 WRITE(NW,100)
13 READ(NR,250) IANSWE
14 IF(IANSWE.EQ.1) GO TO 30
15 C
16 C INPUT (R ANTALET URSPRUNGSCELLER
17 WRITE(NW,210)
18 READ(NR,250) IURCEL
19 C
20 C F\RDELNING AV URSPRUNGSCELLER I X-VEKTORN
21 GF=ALF/(ALF+(1.-ALF))*(1.-BET)
22 TSUMM=0
23 C
24 C BERKNING AV CYKELTIDEN (TID I GO EJ MEDREKNAD)
25 DO 2 K=1,4
26 TSUMM=TSUMM+TMED(K)
27 NDCT=0
28 C
29 C HUVUDSLINGA BARJAR
30 DO 10 K=1,4
31 IFACK=NDCT+1
32 JFACK=NDCT+NDC(K)
33 C
34 C BERKNING AV SUMMAN I FAS K F\R PAR.1+----+PAR.NDC(K)+
35 +PAR.2+----+PAR.NDC(K)+PAR.NDC(K-1)+----+PAR.NDC(K)+
36 +PAR.NDC(K)=SUMSI
37 SUMSKI=0
38 SKI=0
39 I=0
40 DO 4 M=IFACK,JFACK
41 SKI=SKI+PAR(JFACK-I)
42 SUMSKI=SUMSKI+SKI
43 I=I+1
44 CONTINUE
45 C
46 C BERKNING AV X(I)-VERDNA I FAS K GENOM ATT TA
47 (PAR.1+----+PAR.NDC(K))/SUMSI MULTIPLICERAT MED
48 UPPREHLLSTIDEN F\R FAS K:S F\RHJLLANDE TILL CYKEL-
49 TIDEN OCH EN KONSTANT
50 SKI=0
51 I=0
52 DO 8 M=IFACK,JFACK
53 SKI=SKI+PAR(JFACK-I)
54 X(JFACK-I)=SKI/SUMSKI+TMED(K)/TSUMM*GF*FLOAT(IURCEL)
55 Y(JFACK-I)=X(JFACK-I)*E-12 X(JFACK-I)=0

```

```

57 CONTINUE
58 NDCT=NDCT+NDC(K)
59 CONTINUE
60 C
61 C MOTSVARANDE BERÄKNINGAR FÖR GO-FASEN MED UNDANTAG
62 C FRJN ATT TMED(K)/TSUMM*GF BYTS UT MOT 1-GF NCR
63 C X-VÄRDENA BERÄKNAS
64 C IFACK=NDCT+1
65 C JFACK=NDCT+NDC(5)
66 SUMSSI=0
67 SSI=0
68 I=0
69 DO 12 M=IFACK,JFACK
70 SSI=SSI+PAR(JFACK-I)
71 SUMSSI=SUMSSI+SSI
72 I=I+1
73 CONTINUE
74 SSI=0
75 I=0
76 DO 16 M=IFACK,JFACK
77 SSI=SSI+PAR(JFACK-I)
78 X(JFACK-I)=SSI/SUMSSI*(1.-GF)*FLOAT(IURCEL)
79 IF(X(JFACK-I).LT.1.E-12) X(JFACK-I)=0
80 I=I+1
81 CONTINUE
82 NDCT=NDCT+NDC(5)
83 C
84 C BESTÄM OM INNEHILLET I X-VEKTORN EFTER INITIALISERING
85 C MED URCELLER SKALL SKRIVAS UT
86 C WRITE(NW,290)
87 READ(NR,250) IWIUX
88 IF(IWIUX.EQ.1) WRITE(NW,602) IWIUX,(X(I),I=1,NDCT)
89 C
90 C ITERHOPP TILL HUVUDPROGRAM
91 C RETURN
92 C
93 C LÄSNING AV INITIALVÄRDEN FRJN FIL
94 30 READ(NR,500,ERR=55,END=55) (X(I),I=1,NDCT)
95 55 CONTINUE
96 C
97 C BESTÄM OM INNEHILLET I X-VEKTORN EFTER LÄSNING FRJN FIL
98 C SKALL SKRIVAS UT
99 WRITE(NW,400)
100 READ(NR,250) IWIUX

```

```

102 C
103 100 FORMAT(' SKALL INITIALVÄRDENA LISAS IN UTIFRÅN,EX.FRÅN FIL, MED) ADD
104 --KOMMANDO?(JA=1)')
105 210 FORMAT(' ANGE ANTALET (I HELTAL) URSPRUNGSCELLER VID START:')
106 250 FORMAT(' )
107 290 FORMAT(' SKALL INITIALVÄRDENA FRÅN FÖRDELNINGEN MED URCELLER SKRIVAS UT?
108 -(JA=1)')
109 400 FORMAT(' SKALL INITIALVÄRDENA FRÅN DATAEL SKRIVAS UT?(JA=1)')
110 500 FORMAT(5E15.5)
111 600 FORMAT(1H1,' IWFDE:',I2//('1H',10F10.6))
112 602 FORMAT(1H1,' IWIUX:',I2//('1H',10F10.6))
113 RETURN
114 END

```

```

GOL*CELL(1).RADCON
1 SUBROUTINE RADCON(H)
2 COMMON/XRAY/EXPD(30),EXPDO(5),IABT,IHFB(30),IBLH(30),FHITF(5)
3 COMMON/CONTR/NSTEP,NP,IST
4 C
5 C SUBROUTINEN LEVERERAR DATA OM BESTRÅLNINGEN TILL HUVUDPROGRAMET
6 C
7 NU=5
8 NR=5
9 NW=6
10 C

```

```

12 DO 20 K=1,NU
13 C
14 C INPUT IR EXPONENTEN DO I SINGELHIT -SINGELTARDET ERKVATIONEN
15 WRITE(NW,200) K
16 READ(NR,300) EXPDO(K)
17 CONTINUE
18 C
19 C BESTEM OM BESTRILNING SKALL SKE MED JIMNA INTERVALL
20 WRITE(NW,400)
21 READ(NR,1000) IBIJI
22 IF(IBIJI.EQ.1) GO TO 40
23 C
24 C BESTRILNING SKALL INTE SKE MED JIMNA INTERVALL
25 C
26 C BESTEM HUR MJNGA GINGER BESTRILNING SKALL G\RAS
27 WRITE(NW,500)
28 READ(NR,1000) IABT
29 C
30 C BESTEM VID VILKA TIDPUNKTER SOM BESTRILNING SKALL G\RAS
31 DO 30 N=1,IABT
32 WRITE(NW,600) N
33 READ(NR,300) TFB
34 C
35 C OMVANDLA TILL TIDSSTEG H
36 IHFB(N)=TFB/H+0.5
37 C
38 C BESTEM HUR LINGE BESTRILNINGEN SKALL PIGJ I TIMMAR
39 WRITE(NW,700) N
40 READ(NR,300) BLIT
41 C
42 C OMVANDLA TILL TIDSSTEG H
43 IBLIH(N)=BLIT/H+1.
44 C
45 C BESTEM HUR STOR DOSEN SKALL VARA
46 WRITE(NW,800) N
47 READ(NR,300) EXPD(N)
48 CONTINUE
49 RETURN
50 C
51 C BESTRILNINGEN SKALL SKE MED JIMNA INTERVALL
52 C
53 C BESTEM MED VILKA INTERVALL (I TIMMAR) SOM BESTRILNING SKALL SKE
54 WRITE(NW,900)
55 READ(NR,300) TMVB

```

```

57 C BERIKNA MED VILKA INTERVALL (I TIDSSTEGET H) SOM
58 C BESTRJLNING SKALL SKE
59 C INTDOS=TMVB/H+0.5
60 IF(INTDOS.EQ.0) INTDOS=1
61 C
62 C BERIKNA HUR MJNGA GJNGER BESTRJLNING SKALL G\RAS
63 IABT=NSTEP/INTDOS
64 C
65 DO 50 N=1,IABT
66 C
67 C BERIKNA VID VILKA TIDPUNKTER BESTRJLNING SKALL G\RAS
68 IHFB(N)=N*INTDOS
69 C
70 C BESTCM HUR LINGE BESTRJLNING SKALL P\GJ I TIMMAR
71 WRITE(NW,700) N
72 READ(NR,300) BLIT
73 C
74 C OMVANDLA TILL TIDSSTEG H
75 IBLIH(N)=BLIT/H+1.
76 C
77 C BESTCM HUR STOR DOSEN SKALL VARA
78 WRITE(NW,800) N
79 READ(NR,300) EXPD(N)
80 CONTINUE
81 C
82 C FORMAT(' ANGE EXPONENTEN DO F\R FAS NR:',I2,' (I DECIMALTAL)')
83 FORMAT(F8.4)
84 C
85 C FORMAT(' SKALL BESTRJLNING SKE MED J\MNA INTERVALL? (JA=1)')
86 C
87 C FORMAT(' ANGE ANTAL ICKE PERIODISKA BESTRJLNINGSTILLFILLEN (MAX.30
88 -)')
89 C
90 C FORMAT(' ANGE TIDRUNKT (TIMMAR I DECIMALTAL) F\R ICKE PERIODISK BE
91 -STRJLNING NR:',I2)
92 C
93 C FORMAT(' ANGE ANTAL TIMMAR (I DECIMALTAL) MELLAN VARJE BESTRJLNING
94 - (SIMULERINGSTIDEN/INTERVALLINGDEN.LE.30)')
95 C
96 C FORMAT(' )
97 C RETURN
98 C
99 C END

```

GOL*CELL(1).RAD

```
1 SUBROUTINE RAD
2 COMMON/STATE/X(5000),XHIT(5000),Y(8),YHIT(8),VY(6,6)
3 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NV,NDCT,H,TMED(5),IURDEL
4 COMMON/XRAY/EXPD(30),EXPDO(5),IABT,IHFB(30),IBLIH(30),FHITF(5)
5 C
6 C VID VARJE BESTRJLNING ANROPAS SUBROUTINEN OCH PLACERAR DEN
7 FRAKTION AV DE FRISKA CELLERNA SOM BLIR LETALT SKADADE I
8 EN VEKTOR XHIT SOM IR PARALLELL MED X-VEKTORN I TIDEN
9 C
10
```

MUS

```

12 C BERKNING AV TOTALA ANTALET TRICFFADE CELLER I VARJE FACK (NDCT
13 C STYCKEN FACK)
14 NDCT=0
15 DO 30 K=1,NU
16 IFACK=NDCT+1
17 JFACK=NDCT+NDC(K)
18 DO 20 I=IFACK,JFACK
19 XHIT(I)=FHITF(K)*(X(I)-XHIT(I))+XHIT(I)
20 NDCT=NDCT+NDC(K)
21 CONTINUE
22 C
23 RETURN
24 END

```

@PRT,S CELL,YEQCX,.OUTPUT,.CDEATH,.XPEQAX,.FIXA

```

GOL*CELL(1),YEQCX
1 SUBROUTINE YEQCX (X,Y)
2 DIMENSION X(1), Y(1)
3 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(S000),NDC(5),NU,NV,NDCT,H,TMED(5),IURDEL
4 C
5 C PARTIAL SUMS IN EACH COMPARTMENT AND TOTAL SUM
6 C
7 T5=0
8 IDC=0
9 C
10 C IDC RUNS ALONG DELAY CHAINS

```

```

12 S=0
13 DO 2 JDC=1,NDCI
14   IDC=IDC+1
15   2 S=S+X(IDC)
16   Y(ICD)=S
17   1 TS=TS+S
18   Y(NU+1)=TS
19   C
20   C OM TS [R NOLL S] [R M-INDEX OCH S-INDEX ODEFINIERADE OCH
21   C KAN INTE BERKNAS
22   IF (ABS(TS-0).LT.1.E-06) RETURN
23   Y(NU+2)=Y(1)/Y(NU+1)
24   Y(NU+3)=Y(3)/Y(NU+1)
25   RETURN
26   END

```

```

GOL*CELL(1).OUTPUT
1 SUBROUTINE OUTPUT(Y,DELHIT)
2 DIMENSION Y(1)
3 COMMON/CONTR/NSTEP,NP,IST
4 COMMON/PAR/ALF,BET,PAR(5000),NDC(5),NU,NY,NDCI,H,TMED(5),IUR DEL
5 DIMENSION YSKRIV(8)
6 C
7 C
8
9 NW=6
10 NU=5

```



```

12 T=FLOAT(IST-1)*H
13 C
14 C KOPIERA Y-VIRDENA TILL VEKTORN YSKRIV
15 C
16 C CELLANTALET I FASERNA M,G2,S,G1 KOPIERAS
17 DO 40 K=1,NU
18 YSKRIV(K)=Y(K)
19 C
20 C M-INDEX DCH S-INDEX KOPIERAS
21 DO 50 K=6,7
22 YSKRIV(K)=Y(K+1)
23 C
24 C TOTALA ANTALET CELLER I DE FEM FASERNA KOPIERAS
25 YSKRIV(8)=Y(6)
26 C
27 WRITE(NW,200) T,(YSKRIV(I),I=1,8),CELHIT
28 C
29 FORMAT(1H ,F7.2,5F15.2,2F10.6,F15.2,F14.2)
30 RETURN
31 END

GOL*CELL(1),CDEATH
SUBROUTINE CDEATH
COMMON/STATE/X(5000),XHIT(5000),Y(8),YHIT(8),VY(5,6)
C
C SUBTRAHERA DE LETALT SKADADE CELLER SOM BEFINNER SIG I MITOSENS
C FIRSTA FACK FRIN DET TOTALA ANTALET CELLER SOM BEFINNER SIG
C I MITOSENS FIRSTA FACK
X(1)=X(1)-XHIT(1)
C
RETURN
END

```

```

GOL*CELL(1), XPEGAX
1  SUBROUTINE XPEGAX(X)
2  COMMON/CONN/U(5), Y(6)
3  DIMENSION X(1)
4  COMMON/PAR/ALF, BET, PAR(5000), NDC(5), NU, NY, NDCT, H, TMED(5), IURDEL
5  C
6  C   ICO: M, G2, S, G1, G0
7  C
8  C   SHIFT THE DELAYCHAINS ONE STEP
9  C
10  C

```

```

12 DO 1 ICO=1,NU
13 C
14 NDCI=NDC(ICO)
15 C
16 NDCI: LENGTH OF PHASE ICO
17 C
18 IDC=IDC+1
19 Y(ICO)=X(IDC)
20 IF(NDCI.LE.1)GO TO 1
21 DO 2 JDC=2,NDCI
22 IDC=IDC+1
23 X(IDC-1)=X(IDC)
24 CONTINUE
25 1 X(IDC)=0
26 C
27 C CALCULATING THE INPUTS TO EACH COMPARTMENT
28 **CONNECT**
29 C
30 Y(1)=2.*Y(1)
31 DO 21 INDEX=1,3
32 U(INDEX)=Y(INDEX+1)
33 U(4)=ALF*Y(1)+Y(5)
34 C
35 OM BET=1 GJR INGA CELLER IN I GO
36 BACKGO=1.-BET
37 IF(ABS(BACKGO).LT.1.E-07) BACKGO=0
38 U(5)=(1.-ALF)*BACKGO*Y(1)
39 C
40 C INSERT INPUTS INTO EACH DELAY CHAIN
41 C
42 IDC=0
43 DO 30 ICO=1,NU
44 NDCI=NDC(ICO)
45 DO 25 IDC=1,NDCI
46 IDC=IDC+1
47 X(IDC)=PAR(IDC)*U(ICO)+X(IDC)
48 25 CONTINUE
49 30 CONTINUE
50 RETURN
51 END

```

```

GOL*CELL(1).FIXA
1 REAL VEC(10)
2 C
3 C PROGRAMET KONVERTERAR OUTPUT-DATA FRJN CPROG TILL F/R IDPAC
4 C LESLIG FORM
5 100 READ(1,1000,ERR=100,END=500) VEC
6 WRITE(2,1001) VEC
7 GOTO 100
8 500 STOP
9 1000 FORMAT(1X,F7.2,5F15.2,2F10.6,F15.2,F14.2)
10 1001 FORMAT(3(4X,F14.6))

```

APRT,T CELL.

GOL*CELL(1)
FOR PARIN(25)
ELT CDEATH(2)
ELT RAD(6)
ELT RADCON(7)
FOR MAIN(28)
FOR YEQCX(8)
ELT CONTIN(1)
MAP TRAMS(4)
FOR XPEGAX(13)
FOR STATIN(25)
REL RAD
ELT XELDO(0)
ELT SIMDOY(2)
ELT SIMD2Y(1)
ELT SIMD4Y(1)
ELT SIMD6Y(1)
ELT SIMD8Y(1)
ELT SIMD10Y(1)
ELT SIMD14Y(1)
FOR PARINS(42)
REL PARINS
REL CONTIN
REL STATIN
REL RADCON
REL YEQCX
REL XPEGAX
REL CDEATH
REL OUTPUT

ELT FIXA(10)
REL FIXA
ABS FIXA
ELT TCHK2(2)
ELT DOCH(3)
ELT SIMD16Y(1)
ELT SIMD12Y(3)
SYM SIMO-D(0)
SYM SIM4-D(0)
SYM SIM8-D(0)
SYM SIM12-D(0)

FOR OUTPUT(15)
REL MAINN
ABS CPROG
ELT SUPBE(0)
ELT TUB1K(2)
ELT DOUB(1)
SYM SUPBEI-D(0)
ELT TJAMF(1)
ELT SJAMF(0)
SYM SJAMFI-D(0)
ELT TLEVK(0)
ELT SLEVK(1)
SYM SLEVKI-D(0)
FOR MAINN(36)

@RESUME