

Análise de Simulações *in silico* do Crescimento de Tumores Malignos em Nível Celular

Arthur Passos¹, Halersson Paris Goes¹, Fernando Concatto¹

¹Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)
Caixa Postal 360 – CEP 88302-202 – Itajaí – SC – Brasil

{arthur.titel,halersson,fernandoconcatto}@gmail.com

Abstract. *Cancer is one of the leading causes of death in many countries around the world, and the number of new cases is predicted to increase significantly in the next few years. In this context, the mathematical modelling of the disease offers a platform for the development of experiments and the discovery of new knowledge about its behaviour through computational means, avoiding the need to employ organic materials. Thus, this work sought to investigate mathematical models of tumour growth, analyzing them with regards to their expressiveness as well as their ability to accurately represent the real phenomenon, taking into account the development of a simulator with limited complexity.*

Resumo. *O câncer é uma das principais causas de morte em diversos países, e prevê-se que o número de novos casos aumentará significativamente no futuro próximo. Neste contexto, a modelagem matemática da doença fornece uma plataforma para a realização de experimentações e a descoberta de novos conhecimentos quanto à seu comportamento através de meios computacionais, contornando a necessidade de utilização de materiais orgânicos. Assim, este trabalho buscou investigar modelos matemáticos de crescimento de tumores malignos, analisando-os tanto em relação à sua expressividade quanto à sua capacidade de representar fielmente o fenômeno real, levando em conta a construção de um simulador de complexidade limitada.*

1. Introdução

O grupo de doenças conhecido como câncer é caracterizado pelo crescimento desinibido de células anormais em um organismo, possuindo a capacidade de invadir o sistema circulatório e se espalhar para órgãos distantes. Diversos fatores podem causar o surgimento do câncer, incluindo tanto hábitos e o estilo de vida individual quanto características genéticas. Mundialmente, o câncer (também chamado de tumor maligno ou neoplasia) é a segunda causa mais frequente de morte, sendo responsável pelo falecimento de aproximadamente 9 milhões de indivíduos no ano de 2015 [World Health Organization 2017, American Cancer Society 2017].

Para uma melhor disseminação das características gerais do câncer, foram propostos seis aspectos biológicos que juntos formam o princípio da diversidade de doenças neoplásicas, sendo adquiridas progressivamente durante o desenvolvimento do tumor. Elas são denominadas da seguinte maneira [Hanahan and Weinberg 2011]:

- Autossuficiência em Sinais Estimuladores de Crescimento (*Sustaining Proliferative Signaling*): possuir controle sobre sinais proliferativos e aumentar a frequência com que estes sinais são liberados;

- Evasão de Supressores de Crescimento (*Evading Growth Suppressors*): capacidade de ignorar sistemas que regulam e limitam o crescimento celular, mesmo quando existe alguma anormalidade na célula ou em seus arredores;
- Resistência a Morte Celular (*Resisting Cell Death*): resistência a mecanismos naturais que resultam na morte programada das células quando as mesmas são danificadas.
- Potencial Ilimitado de Multiplicação (*Enabling Replicative Immortality*): ignorar o estado de senescência e crise que induz a célula a um estado não reprodutivo e morte celular, respectivamente.
- Indução da Angiogênese (*Inducing Angiogenesis*): capacidade de criar novos vasos sanguíneos a fim de aumentar o recebimento de nutrientes e oxigênio.
- Mecanismos de Invasão e Metástase (*Activating Invasion and Metastasis*): Propriedade metastática em um sub-grupo celular, permitindo que a doença se espalhe para outros órgãos do organismo, possivelmente distantes do original.

Um ciclo ideal para afirmações do desenvolvimento citado nas pesquisas, faz-se necessário observações fenomenológicas, na qual toda teoria relatada é alterada para experiências de consciência. Cientistas em medicina biológica optam por abordagens inofensivas, onde são realizadas testes *in vivo*, ou seja, ratos, embriões de frangos ou *in vitro*. Os resultados das experiências observáveis, tanto por meios biológicos, matemáticos ou físicos, podem gerar modelos à fins de descrever padrões de comportamento [Preziosi 2003].

Os atributos da pesquisa indicam referencias para soluções matemáticas de comportamentos aprofundados do problema, logo, o retrato matemático pode ser implementado para gerar modelos *in silico* do evento. Para que o modelo gerado seja aceitável, a modelagem deve ter um certo grau de refino e precisão, portanto, deve haver ciclos de comparações entre as simulações do modelo matemático com os experimentos realizados em laboratório. As simulações inversas precisam concordar com as propriedades qualitativas da solução, caso contrário, o código numérico não é suficientemente preciso e que o teor as previsões precisam concordar com as experiências, caso contrário, o modelo matemático não é satisfatório [Preziosi 2003].

O propósito da modelagem matemática está relacionada com a resolução do problemas. No final do modelo, busca-se um resultado que seja a solução do problema primário, que pode acarretar também em problemas secundários do objetivo principal. Dentre vários tipos de abordagem para a modelação matemática, a modelagem via equações diferenciais tem um dos papéis principais nos dias atuais, pois é facilmente observável as informações sobre a taxa de variação do evento, ela vem sendo utilizada desde o século XVII para modelar fenômenos reais com grau de precisão e fidelidade considerável para fundar métodos computacionais. Apesar dos modelos matemáticos apresentarem fatores favoráveis para a contribuição da resolução de um problema, existe, conseqüentemente, uma demanda mais detalhada do modelo, tais como maior números de parâmetros exigidos e coerência nos resultados obtidos, por isso há uma necessidade de controle entre a complexidade do modelo com a realidade do problema, tal como sua interpretação.

O processo de criação dos modelos matemáticos do câncer é extremamente complexo pois envolve o conhecimento de diferentes áreas de conhecimento, tais como biológicas, medicinais, matemáticos, Além de demandar um valor inicial mais próximo

do resultado real, no qual vem sendo um problema nos dias atuais.

Este artigo é estruturado da seguinte maneira: a Seção 2 apresenta alguns trabalhos relacionados a este, apontando algumas das abordagens discutidas na literatura; na sequência, a Seção 3 apresenta a metodologia adotada para a construção do simulador proposto neste trabalho, explorando detalhes da implementação computacional do mesmo; subsequentemente, a Seção 4 descreve e analisa os resultados obtidos através da utilização do simulador, relacionando-os com dados provenientes de outras investigações; por fim, a seção 5 discute sobre algumas conclusões extraídas a partir dos resultados coletados e da análise comparativa, além de comentar sobre os objetivos atingidos e sobre oportunidades para aprimoramentos.

2. Revisão bibliográfica

Um dos modelos adotados foi o modelo de Gompertz, no qual é denominado um modelo de serie temporal e função sigmoide (função matemática com forma de S), aonde o crescimento é mais lento no início e no final da curva. Diferente da função logística, que a borda da curva é simétrica no início e no fim, o modelo de Gompertz tem uma borda de curva maior no final do crescimento do que no início. Este modelo é utilizado por várias áreas que demandam um resultado parecido com exponenciais, tal como o crescimento do ser humano. A formulação para o modelo logístico consiste em

$$\frac{dy}{dt} = \lambda r \left(1 - \frac{y}{K}\right) \quad (1)$$

enquanto para o modelo de Gompertz, a equação de crescimento é definida como

$$\frac{dy}{dt} = -\lambda r \log \left(\frac{y}{K}\right) \quad (2)$$

onde r é a taxa de crescimento e K é o limite superior da variável dependente y . Para ambos os casos, é possível observar que quando $y \rightarrow K$, a mudança tenderá a 0.

Estudos feitos por [Cornil et al. 1991] avaliam os resultados da influência de fibroblastos dérmicos normais nas células de melanomas de humanos obtidos em diferentes estágios do progresso do tumor. Foi descoberto, por experimentos *in vitro*, que a maioria das linhas de melanomas derivadas do início do estágio da fase de crescimento radial ou metaestático são reprimidas por fibroblastos dérmicos normais, insinuando que o crescimento homeostático negativo ainda estão operantes nas células melanomas dos estágios iniciais da doença. Entretanto, cerca de 80% da células melanomas derivada da metástase já avançada, foram estimadas o crescimento consistente na presença de fibroblastos dérmicos. Logo, o conjuntos de resultados obtidos indicam que fibroblastos podem ter efeitos de crescimento antiéticos e inesperados em tumores.

No trabalho de [Enderling and Chaplain 2014], foi realizada uma revisão geral sobre técnicas de modelagem matemática do crescimento de tumores malignos por meio de equações diferenciais, desde modelos simples e lineares até abordagens considerando difusão e equações diferenciais parciais. Segundo os autores, com corroboração fornecida por [Sachs et al. 2001], o modelo mais simples de crescimento de tumores malignos consiste em:

$$\frac{dy}{dt} = \lambda y, \quad y(0) = N \quad (3)$$

onde y é o número de células cancerígenas, N descreve a quantidade inicial de tais células e λ é um coeficiente constante que define a taxa de crescimento do tumor. Se o mesmo for positivo, haverá crescimento do tumor; caso contrário, o tumor tenderá ao desaparecimento.

Tal modelo, por ser linear, pode ser resolvido de maneira analítica, com sua solução possuindo a forma $y(t) = Ne^{rt}$. Entretanto, devido a sua simplicidade, este modelo não captura algumas características essenciais da doença, como a redução na velocidade de crescimento a partir de certo ponto ao longo de sua evolução ou a baixa taxa de crescimento em seus estágios iniciais. Portanto, modelos de crescimento não-lineares, como o logístico ou de Gompertz, podem ser utilizados para tratar destes aspectos; tais modelos são apresentados nas Equações 1 e 2, respectivamente, com y representando o número de células cancerígenas, r representando a taxa de crescimento do tumor e K indicando a quantidade máxima de células que o organismo é capaz de suportar.

2.1. Modelagem de tratamento

O câncer pode ser tratado por meio de técnicas locais, como cirurgias ou radioterapia, ou através de tratamentos sistêmicos, como quimioterapia e inibidores de angiogênese [Sanga et al. 2006]; no presente trabalho, a quimioterapia foi selecionada para aprofundamento, devido à sua ação não-localizada e simplicidade de modelagem.

Ainda no trabalho de [Enderling and Chaplain 2014], foi apresentada uma abordagem simples e direta para a inclusão de tratamento por quimioterapia, onde um termo da forma βy é subtraído da equação de quimioterapia, com β representando a intensidade do tratamento quimioterápico e y o número de células cancerígenas. Tal estratégia, apesar de bastante clara e intuitiva, assume que os efeitos da quimioterapia são constantes, sem levar em conta a periodicidade das doses.

Em contrapartida, em um estudo realizado por [Panetta 1996], uma estratégia de modelagem de quimioterapia por meio de pulsos foi proposta. Nesta abordagem, doses de quimioterapia são aplicadas de maneira periódica, instantaneamente eliminando uma fração das células cancerígenas do organismo. Apesar de também possuir simplificações significativas, este método contorna a característica constante da modelagem apresentada por [Enderling and Chaplain 2014]. A formulação do método, juntamente com outros detalhes do modelo, serão explorados a seguir, na Subseção 2.2.

2.2. Modelagem competitiva

Além de oferecer uma forma alternativa para a inclusão de tratamento por quimioterapia nos modelos de crescimento conhecidos, o trabalho de [Panetta 1996] aborda também o papel de células normais no processo de crescimento do tumor, levando em conta sua influência sobre a taxa de multiplicação de células cancerígenas e vice-versa. Sua estratégia de modelagem da quimioterapia, descrita anteriormente, também se aplica sobre as células normais, pois as mesmas também podem ser eliminadas com as doses da medicação, caracterizando um efeito colateral do tratamento quimioterápico.

A partir dos estudos de [Cornil et al. 1991], é possível verificar que células normais de fato impõem efeitos sobre a massa cancerígena, sendo capazes tanto de inibir quanto potencializar seu crescimento, fornecendo assim uma validação conceitual da modelagem proposta por [Panetta 1996]. O modelo completo, que leva em conta tanto a interação entre os diferentes tipos de células e o tratamento por quimioterapia, consiste no seguinte conjunto de equações:

$$\frac{ds}{dt} = r_1 s \left(1 - \frac{s}{K_1} - \lambda_1 c \right) \quad (4)$$

$$\frac{dc}{dt} = r_2 c \left(1 - \frac{c}{K_2} - \lambda_2 s \right) \quad (5)$$

$$s(np^+) = F_1(D)s(np^-) \quad (6)$$

$$c(np^+) = F_2(D)c(np^-) \quad (7)$$

onde as Equações 4 e 5 descrevem a mudança no número de células normais e cancerígenas (respectivamente) ao longo do tempo, enquanto as Equações 6 e 7 modelam a aplicação periódica de doses de quimioterapia.

As equações de crescimento do modelo são do tipo logístico, com a inclusão do *termo de competição* (com os coeficientes λ_1 e λ_2) na porção direita das equações. A variável s caracteriza o número de células normais, enquanto c identifica o número de células cancerígenas. A presença do termo com o tipo de célula contrária em cada uma das duas equações concretiza a noção de competitividade no modelo.

Já as equações de tratamento, por sua vez, possuem algumas peculiaridades. O termo n consiste em uma variável auxiliar que representa o “índice” da dose, possuindo valor 1 para a primeira, 2 para a segunda e assim por diante, enquanto o parâmetro p define o período entre as doses. O produto destes dois termos define cada instante de tempo onde ocorrerá a aplicação da quimioterapia. Por exemplo, se $p = 0.5$, as doses ocorrerão quando $t \in \{0.5, 1.0, 1.5, \dots\}$. Por fim, D representa a intensidade da dose da medicação, possuindo o mesmo valor para ambas as equações, enquanto F_1 e F_2 são funções de entrada que especificam a resposta do organismo à dose em relação ao número de células normais e cancerígenas, respectivamente.

Neste trabalho, a modelagem de [Panetta 1996] foi selecionada para implementação e análise, devido à sua generalidade e semelhança em relação a abordagens relacionadas. A existência de parâmetros para o controle de cada uma de suas variáveis permite que algumas de suas características, como a competição entre células normais e cancerígenas, sejam completamente desativadas, favorecendo a comparação com modelos mais simples.

3. Metodologia

Para atingir os objetivos definidos neste trabalho, se fez necessária a construção de um simulador computacional capaz de receber como parâmetros de entrada as variáveis

do modelo adotado e gerar como saída um conjunto de triplas (s, c, t) , com s representando o número de células saudáveis, c representando o número de células cancerígenas (Equações 4 e 5) e t representando o tempo decorrido em dias (com $t_0 = 0$ e $t_n = T$ indicando os pontos de início e término da simulação, respectivamente). Assim, dois parâmetros adicionais de entrada s_0 e c_0 se tornam necessários para especificar as condições iniciais do sistema, caracterizando-o como um problema de valor inicial (P.V.I.). O intervalo de tempo entre dois registros é definido pela estratégia de resolução numérica do problema, descrita na Subseção 3.1.

Como foi descrito na Seção 2, o modelo adotado utiliza as Equações 6 e 7 para determinar a fração de células normais e cancerígenas sobreviventes após uma dose da medicação quimioterápica. Como escolhas para as funções F_1 e F_2 , [Berenbaum 1969] propõe duas funções exponenciais e uma hiperbólica, com base em extensivas análises a partir de dados de experimentos *in vivo*. Com o intuito de minimizar o número de parâmetros do modelo, a função exponencial $F(D) = e^{-\alpha D}$ será empregada tanto para F_1 e F_2 , pois a mesma demandará dois parâmetros adicionais α_1 e α_2 , enquanto as remanescentes demandariam quatro novos parâmetros.

3.1. Resolução das equações diferenciais

O sistema de equações diferenciais proposto por [Panetta 1996] para a modelagem do crescimento de tumores é composto por equações diferenciais ordinárias de primeira ordem não-lineares, devido à presença do expoente 2 nas variáveis dependentes, como pode ser verificado no termo $s(s/K_1)$ na Equação 4. Assim, se faz necessária a utilização de métodos numéricos para a aproximação de sua solução, pois a não-linearidade torna a resolução analítica inviável.

Diversas técnicas de resolução de equações diferenciais ordinárias estão disponíveis na literatura, possuindo diversos níveis de estabilidade, precisão e complexidade. Entre as estratégias mais eminentes, se encontram o Método de Euler e os Métodos de Runge–Kutta, que consistem em generalizações do primeiro e tipicamente apresentam desempenho superior; entretanto, tal superioridade é acompanhada de uma maior dificuldade de análise e implementação [Butcher 2016]. Como os objetivos deste trabalho incluem o desenvolvimento de um simulador do crescimento de tumores malignos visando facilidade de compreensão e codificação, o Método de Euler foi selecionado para solucionar aproximadamente o conjunto de equações diferenciais.

O Método de Euler consiste em uma estratégia simples e direta para a resolução de equações diferenciais ordinárias, sendo baseado em repetidas avaliações da função característica da equação diferencial. Dado um problema de valor inicial da forma

$$\frac{dy}{dt} = f(y), \quad y(t_0) = y_0 \quad (8)$$

com $f(y)$ representando uma função qualquer da variável y e y_0 indicando a condição inicial do problema, o Método de Euler pode ser formulado da seguinte maneira [Butcher 2016]:

$$y(t_{n+1}) = y(t_n) + hf(y(t_n)) \quad (9)$$

sendo que o parâmetro h representa o *tamanho do passo*, ou seja, o intervalo entre avaliações da função ($t_{n+1} - t_n$). Este parâmetro é responsável pela precisão do método; quanto mais reduzido for seu valor, menor será o erro em relação à solução exata da equação diferencial, porém maior será o esforço computacional necessário para efetuar a resolução do problema. No contexto deste trabalho, h representará também o intervalo entre a criação dos registros de saída pelo simulador.

3.2. Detalhamento do simulador

O simulador computacional descrito neste trabalho foi implementado utilizando a linguagem de programação JavaScript, incluindo também um módulo de interface gráfica desenvolvido com as linguagens de marcação HTML e CSS. Para realizar a atualização dinâmica da interface gráfica ao longo da simulação, a biblioteca *p5.js* foi empregada. Na ferramenta construída, células normais foram representadas por círculos de cor verde, enquanto células cancerígenas foram caracterizadas por círculos em tons de vermelho e preto.

A linguagem de programação JavaScript não oferece nenhum suporte para a execução de código de maneira paralela (*multithreaded*); portanto, os procedimentos de atualização das variáveis do modelo e o desenho das entidades gráficas devem obrigatoriamente ocorrer de modo serial, no mesmo contexto de execução. A biblioteca *p5.js* invoca continuamente uma função de nome *draw()*, a qual é definida pelo desenvolvedor, para atualizar o estado do programa e, por fim, a própria tela. O Algoritmo 1 apresenta o procedimento de atualização implementado neste trabalho.

Algoritmo 1: draw() - Atualização do Estado do Simulador

Entrada: s, c, h

```

1  $\Delta s \leftarrow h * crescimentoNormal(s, c)$  // Equação 4
2  $\Delta c \leftarrow h * crescimentoCancerigeno(c, s)$  // Equação 5
3 if  $t > n * p$  then
4    $(M_s, M_c) \leftarrow aplicarQuimioterapia(s, c)$  // Equações 6 e 7
5    $\Delta s \leftarrow \Delta s - M_s$ 
6    $\Delta c \leftarrow \Delta c - M_c$ 
7    $n \leftarrow n + 1$ 
8  $Z_s \leftarrow Z_s + \Delta s$ 
9  $Z_c \leftarrow Z_c + \Delta c$ 
10 atualizarCélulas(floor( $Z_s$ ), floor( $Z_c$ ))
11  $Z_s \leftarrow Z_s - floor(Z_s)$ 
12  $Z_c \leftarrow Z_c - floor(Z_c)$ 
13  $s \leftarrow s + \Delta s$ 
14  $c \leftarrow c + \Delta c$ 
15  $t \leftarrow t + h$ 
```

O Algoritmo 1 explicita as mudanças aplicadas sobre as variáveis do modelo, abstraindo as equações utilizadas pelo modelo (definidas na Seção 2). As primeiras duas e as últimas três instruções demonstram a aplicação do Método de Euler, com as mudanças nas

variáveis (Δs e Δc) sendo computadas no início para serem posteriormente adicionadas à quantidade total de células. As variáveis Z_s e Z_c , inicializadas com zero, são utilizadas para controlar a quantidade de células desenhadas; como tal procedimento exige a conversão dos deltas para valores inteiros, as partes fracionárias devem ser acumuladas para que eventualmente possam contribuir para a atualização do número de células. A função responsável por aplicar a quimioterapia recebe a quantidade de células normais e cancerígenas como entrada e retorna o número de células de ambos os tipos que foram mortas pela dose (M_s e M_c). Por fim, o procedimento de atualização do número de células aceita a mudança inteira do número de células por parâmetro e cria ou remove células do respectivo tipo, com base no sinal do valor recebido.

3.3. Validação

Para verificar o nível de precisão do simulador proposto neste trabalho, foi realizada uma análise comparativa dos resultados gerados pelo sistema com o conjunto de experimentações *in vitro* efetuado por [Cornil et al. 1991], as quais envolveram o estudo do crescimento de células de melanoma e interações entre células normais e cancerígenas. O trabalho dos autores foi apresentado com mais detalhes na Seção 2; subsequentemente, na Seção 4, os dados obtidos pelo simulador descrito no presente artigo, juntamente com o conjunto de parâmetros utilizados como entrada, serão dispostos de maneira a facilitar a comparação com as observações de [Cornil et al. 1991].

Adicionalmente, com a intenção de avaliar a efetividade da aproximação do Método de Euler, o módulo de resolução de equações diferenciais do motor computacional *WolframAlpha* foi utilizado para obter resultados externos referentes às equações utilizadas neste trabalho. Para tal, foi necessário desconsiderar os fatores de competição, pois a ferramenta não oferece suporte para a resolução de sistemas de equações diferenciais; além disso, a quimioterapia também teve de ser eliminada deste teste, pois a ferramenta também não oferece uma forma de lidar com alterações periódicas na função.

4. Análise de resultados

Como mencionado anteriormente, o teste realizado para validar o simulador proposto foi baseado no experimento sem quimioterapia e sem competição realizado *in vitro* por [Cornil et al. 1991]. Os valores selecionados como *step* do método de Euler para todos os testes foram 0,01, 0,1 e 1. Os parâmetros utilizados foram $r_1 = 0.212$, $r_2 = 0.42$, $K_1 = 10^7$, $K_2 = 10^5$, $X(0) = 10^7$, $Y(0) = 5000$, $\lambda_1 = 0$ e $\lambda_2 = 0$ conforme proposto por [Cornil et al. 1991].

Testes adicionando quimioterapia e competição também foram realizados, trazendo resultados discrepantes na quantia de células em função do tempo. Os parâmetros utilizados foram os mesmos, diferindo apenas no $\lambda_1 = 0.000003$, $\lambda_2 = 0.0000002$, $D = 0.2$ e $p = 2$ que não constam na literatura citada, portanto foram estimados de forma arbitrária.

O primeiro teste realizado demonstra um valor bem próximo do estimado pela literatura citada, onde foi encontrado $Y(5) \cong 3000$, desta forma, assegurando a relevância do simulador.

Como esperado, existe uma grande diferença no crescimento das células cancerígenas quando aplicado a quimioterapia e levado em consideração a competição. Outro

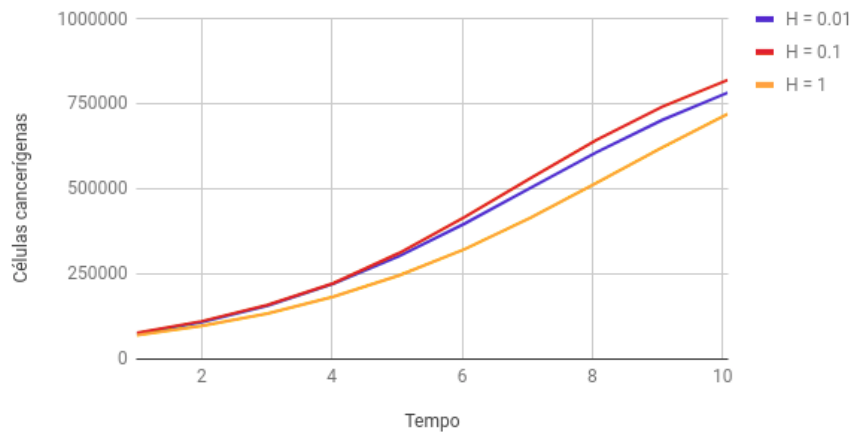


Figura 1. Crescimento de células cancerígenas sem competição e sem quimioterapia.

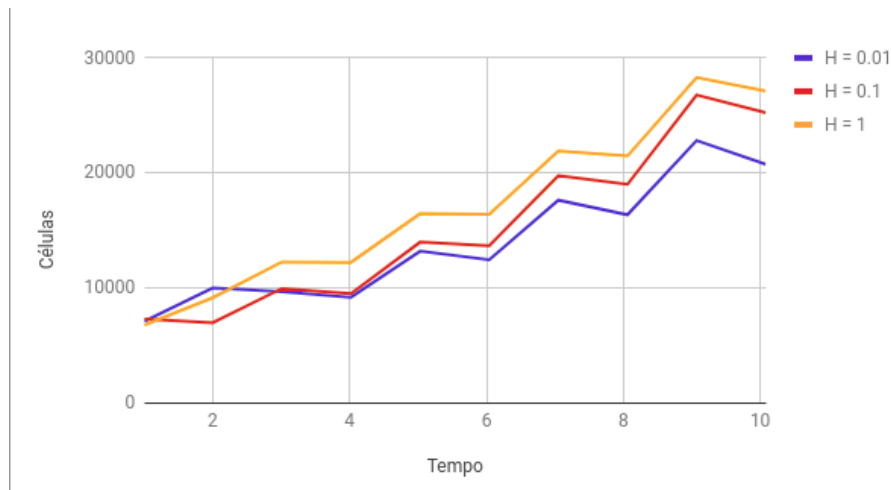


Figura 2. Crescimento de células cancerígenas com competição e com quimioterapia.

ponto relevante é que o modelo apresentado assume que as células morrem assim que a dose de quimioterapia é aplicada, dando um aspecto de escada no segundo gráfico.

5. Conclusões

Apesar do modelo simplificado apresentado neste artigo, houve o resultado esperado no qual gerou a simulação do tumor, logo, tendo em vista os aspectos observados, esta pesquisa teve como objetivo demonstrar graficamente o processo de crescimento de um tumor simplificado, pois como relatado no artigo, existem várias dificuldades relatadas e detalhes a serem considerados para uma solução mais refinada, tal como demonstrar funções específicas para a formação do modelo matemático que simula o resultado dos experimentos em laboratório. Também foi considerado a competição e a aplicação de quimioterapia nas células, podendo assim gerar tanto a morte das células saudáveis quanto das cancerígenas no momento da aplicação, que concede possíveis noções sobre a quantidade e comportamento das células após a aplicação. Os resultados obtidos pelos testes foram coerentes

com os testes realizados em [Cornil et al. 1991].

Este artigo, portanto, também auxilia em trabalhos futuros, pois por ser simplificado, os modelos são de fácil entendimento no qual possibilita terceiros a implementar soluções mais complexas e viáveis para possíveis trabalhos de conclusão de curso ou publicação de artigos científicos, onde o mesmo princípio de aprendizado foi utilizado por este artigo.

Referências

- American Cancer Society (2017). Cancer facts & figures 2017. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2017/cancer-facts-and-figures-2017.pdf>.
- Berenbaum, M. (1969). Dose-response curves for agents that impair cell reproductive integrity. a fundamental difference between dose-response curves of antimetabolites and those for radiation and alkylating agents. *British journal of cancer*, 23(2):426.
- Butcher, J. C. (2016). *Numerical methods for ordinary differential equations*. John Wiley & Sons.
- Cornil, I., Theodorescu, D., Man, S., Herlyn, M., Jambrosic, J., and Kerbel, R. (1991). Fibroblast cell interactions with human melanoma cells affect tumor cell growth as a function of tumor progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(14):6028–6032.
- Enderling, H. and Chaplain, M. A. J. (2014). Mathematical modeling of tumor growth and treatment. *Current pharmaceutical design*, 20(30):4934–4940.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5):646 – 674.
- Panetta, J. C. (1996). A mathematical model of periodically pulsed chemotherapy: tumor recurrence and metastasis in a competitive environment. *Bull. Math. Biol.*, 58(3):425–447.
- Preziosi, L. (2003). *Cancer modelling and simulation*. CRC Press.
- Sachs, R., Hlatky, L., and Hahnfeldt, P. (2001). Simple ode models of tumor growth and anti-angiogenic or radiation treatment. *Mathematical and Computer Modelling*, 33(12-13):1297–1305.
- Sanga, S., Sinek, J. P., Frieboes, H. B., Ferrari, M., Fruehauf, J. P., and Cristini, V. (2006). Mathematical modeling of cancer progression and response to chemotherapy. *Expert review of anticancer therapy*, 6(10):1361–1376.
- World Health Organization (2017). Cancer fact sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.