

# Modelování chování chemotaktických buněk v bludištích

Alžběta Prášilová<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Bioinformatika, Praha, Česká republika*

<sup>\*</sup>*alzbeta.prasilova@seznam.cz*

## Abstrakt

Buňky potřebují migrovat přes dlouhé vzdálenosti, používají na to proces zvaný chemotaxe. Chemotaxe je cílený pohyb buněk reagujících na gradienty látek v prostředí. Na dlouhé vzdálenosti mohou však být gradienty téměř nedetekovatelné. Buňky toto překonávají vytvářením lokálních gradientů rozkladem atraktantu. Chemotaxe a samovytvářené gradienty dovolují buňkám navigovat složité trasy s vysokou účinností. V této práci je představen multiagentní buněčný model simulující rozkládající a nerozkládající buňky v bludištích. Při analýze byla prokázána schopnost modelu simulovat samovytvářené gradienty a výsledky byly konzistentní s článkem Tweedy et al., 2020<sup>1</sup>.

## 1 Úvod

Buňky potřebují migrovat přes dlouhé vzdálenosti, jak už během běžného embryonálního vývoje, tak i v průběhu onemocnění. Úspěšně navigují složitými a větvenými cestami, kterými by samy od sebe nebyly schopny projít. Na to využívají proces zvaný chemotaxe. Chemotaxe je cílený pohyb buněk reagujících na gradienty látek v prostředí. Příkladem buněk používajících chemotaxi k pohybu jsou například neutrofily extravazující do infikované tkáně, zárodečné buňky migrující embryonální dermis či metastáze glioblastomu skrz bílou hmotu mozku. Chemotaktické buňky detekují gradienty atraktantů pomocí rozdílů v obsazenosti receptorů. Dokážou rozlišit rozdíly o 1 %, což usnadňuje navigaci na krátké vzdálenosti. Nicméně, nad 0,5 až 1 mm mohou gradienty být nedetekovatelné. Buňky toto překonávají vytvářením místních gradientů rozkladem atraktantů, což zajišťuje účinnou chemotaxi. Samovytvářené gradienty udržují koncentraci atraktantu na nedonasycené úrovni a umožňují buňkám pružně a přesně reagovat na změny gradientu a směřovat svůj pohyb tak, aby dosáhl požadovaného cíle či místa.

## 2 Matematický model

V této práci je představen matematický model, který využívá chemotaxi a samo-vytvářené gradienty atraktantu pro simulaci chování buněk. Na základě již existujícího modelu, (*H-model*)<sup>1</sup> byly přizpůsobeny a konfigurovány parametry a funkce, aby lépe odpovídaly konkrétním výzkumným cílům. Tato adaptace umožňuje zkoumat rozdíly v dynamice pohybu buněk využívajících samovytvářené gradienty a má za cíl otestovat hypotézu, že buňky tohoto typu jsou v navigaci prostorem úspěšnější než-li ty, co tak nečiní.

Úpravou a adaptací modelu na tuto problematiku lze získat zajímavé poznatky o jeho bližším fungování a získat hlubší porozumění o chování buněk za různých podmínek chemotaxe. Podrobnější popis modelu je k nahlédnutí v části 5.1.

## 3 Výsledky

První část analýzy modelu spočívala v optimalizaci parametrů, jež je podrobněji popsána v části 5.3. Další část experimentů měla za cíl otestovat hypotézu<sup>2</sup>, že buňky rozkládající atraktant a tím si vytvářející lokální gradient, nacházejí v bludišti zdroj atraktantu rychleji než ty, co ho nerozkládají. V experimentech byla použita jako metrika k ohodnocení rychlosti počet kroků simulace, za který došla buňka až ke zdrojové buňce vypouštěcí atraktant. Jejich setkání bylo v modelu sprostředkováno pomocí reakce jejich receptorů a následné změny stavu zdrojové buňky.

### 3.1 Varianty labyrintů

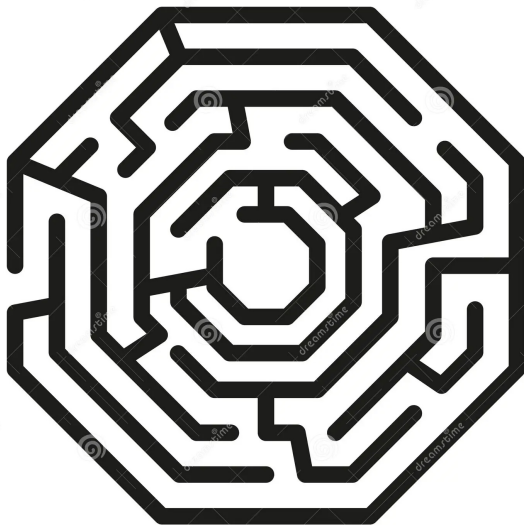
Pro analýzu modelu a otestování hypotézy byla zvolena 3 různá bludiště. První a nejjednodušší struktura bludiště (viz obrázek 1, označena jako `snake_maze`, byla z části použita i pro optimalizaci parametrů. Druhý typ labyrintů (viz obrázek 2) byl označen jako `round_maze`, je podstatně složitější než `snake_maze` a vyznačuje se tím, že zdrojová buňka je v něm umístěna doprostřed. Poslední experiment byl proveden v bludišti označeném jako `square_maze` (viz obrázek 3).

### 3.2 Experimenty

První experiment proběhl v `snake_maze`. V rámci dodatečné optimalizace parametru množství vypuštěné



**Obrázek 1: Nejjednodušší struktura:** Tvar nejednoduššího bludiště použitý k prvnímu experimentu, označen jako `snake_maze`.

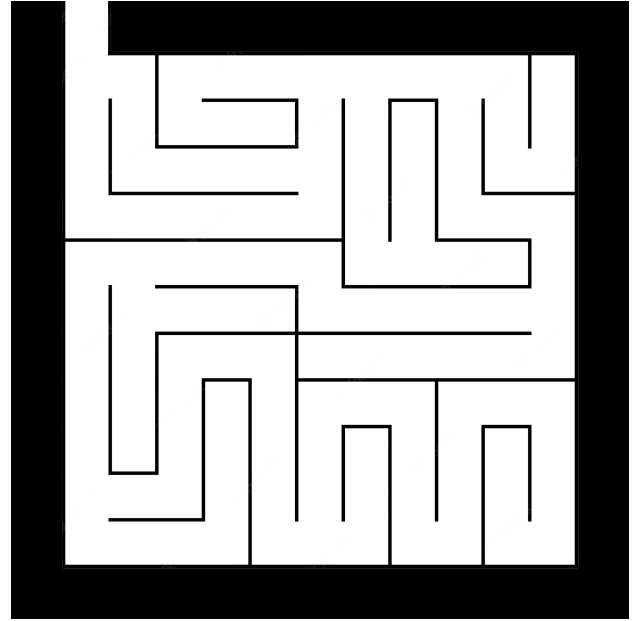


**Obrázek 2: Druhý typ labyrintu:** Druhý typ labyrintu se zdrojovou buňkou uprostřed, označen jako `round_maze`.

látky buňkou do prostředí (parametr `prod_v`, viz tabulka 2) byla analýza prováděna pro 130 simulací. Model byl u `snake_maze` velmi citlivý na změny parametrů a obecně výsledky prvního experimentu se zdají být více či méně nejednoznačné. Podrobnější výsledky a přesné nastavení při dodatečné optimalizaci parametrů je dostupné v githubovém repozitáři<sup>3</sup>. Zprůměrované výsledky všech simulací v `snake_maze` s různými parametry jsou zobrazeny pomocí boxplotu na obrázku 4. Boxplot pro 20 simulací se stejnými parametry (viz sekce 5.4) jako ostatní experimenty je na obrázku 5. Příklad vizualizace simulace v `snake_maze` je vidět na obrázku 8.

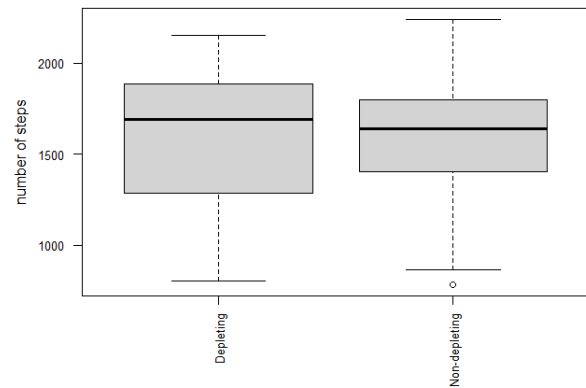
Druhý experiment byl prováděn v `round_maze`. Bylo spuštěno celkem 20 simulací, jejichž výsledky jsou zobrazeny pomocí boxplotu na obrázku 6. Z boxplotu je vidět, že buňky rozkládající atraktant došly ke zdrojové buňce dříve než ty, co ho nerozkládají. Příklad vizualizace simulace v `snake_maze` je vidět na obrázku 9.

Poslední bludiště bylo `square_maze`. Simulace byla



**Obrázek 3: Třetí typ labyrintu:** Struktura třetího typu bludiště, označen jako `square_maze`.

**Difference between attractant depletion in snake\_maze (all simulation:**

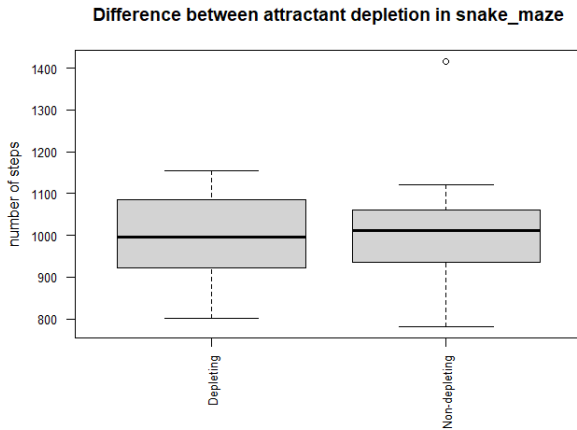


**Obrázek 4: Výsledky všech simulací v snake\_maze:** Boxplot zobrazující výsledky všech simulací prováděných v `snake_maze`. Výsledky jsou nekonzistentní s hypotézou z článku Tweedy et al., 2020<sup>2</sup>.

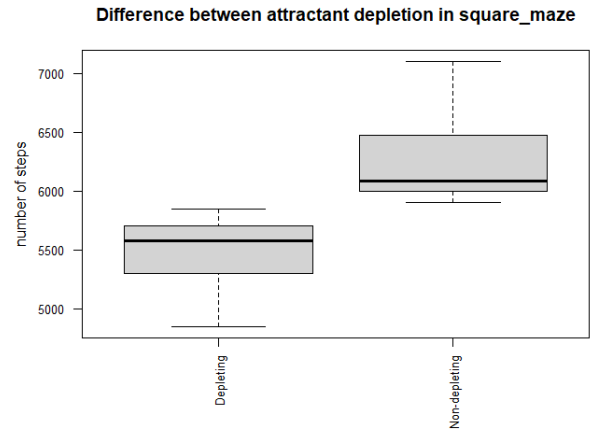
spuštěna celkem 20krát. výsledky z `square_maze` jsou pomocí boxplotu zobrazeny na obrázku 7. Výsledky simulací jsou konzistentní s článkem Tweedy et al., 2020<sup>2</sup> a potvrzují hypotézu, že buňky rozkládající atraktant navigují prostorem lépe než buňky, co ho nerozkládají. Příklad vizualizace simulace v `snake_maze` je vidět na obrázku 10.

## 4 Diskuze

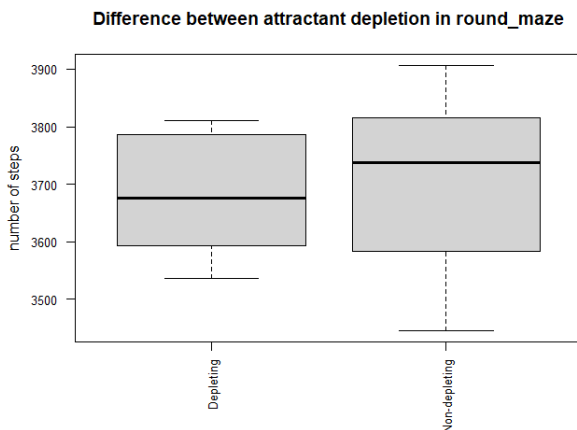
Navržený model dokázal ve většině případů potvrdit hypotézu<sup>2</sup>, že buňky rozkládající atraktant a tím si vytvářející lokální gradient, nacházejí v bludišti zdroj atraktantu rychleji než ty, co ho nerozkládají. Ukázalo se, že u složitějších labyrintů byl rozdíl v rychlosti jednoznačný, načež u jednoduššího designu bludiště byl model velmi citlivý na změny parametrů a výsledky



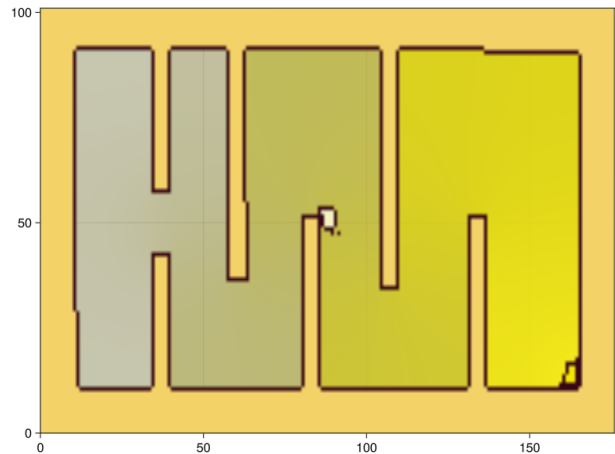
**Obrázek 5: Výsledky simulací v snake\_maze:** Boxplot zobrazující výsledky simulací prováděných v `snake_maze` se pevně danými parametry popsány v sekci 5.4. Výsledky jsou však nekonzistentní s hypotézou z článku Tweedy et al., 2020<sup>2</sup>.



**Obrázek 7: Výsledky simulací v square\_maze:** Simulace v `square_maze` přinesly výsledky konzistentní s článkem Tweedy et al., 2020<sup>2</sup>, tedy buňky rozkládající atraktant se ke zdrojové buňce dostaly dříve než ty, co ho nerozkládají.



**Obrázek 6: Výsledky simulací v round\_maze:** Simulace v `round_maze` se zdrojovou buňkou uprostřed přinesly výsledky konzistentní s článkem Tweedy et al., 2020<sup>2</sup>.



**Obrázek 8: Příklad simulace v snake\_maze:** Příklad vizuální formy simulace v `snake_maze`.

byly nejednoznačné až vyvracející výsledky článku Tweedy et al., 2020<sup>2</sup>. Tento výsledek může mít několik vysvětlení, může poukazovat na potenciálně nekonzistentní implementaci chemotaxe v *H-modelu*, nekompletně správné a obecně aplikovatelné výsledky článku Tweedy et al., 2020<sup>2</sup> nebo pravděpodobně nedostatečné prozkoumání prostoru parametrů a jejich neoptimální výběr. Prošetření tohoto problému by mohlo být zajímavé do dalších prací.

## 5 Metody

### 5.1 Popis modelu

Model je adaptací a konfigurací existujícího *H-modelu*<sup>1</sup> (popsán v sekci 5.1.4) implementovaného pomocí celulárního Pottsova modelu (CPM). CPM je model používaný ve výpočetní biologii a fyzice k simulaci chování a dynamiky buněk a tkání. Je zvláště užitečný pro modelování procesů, jako je migrace

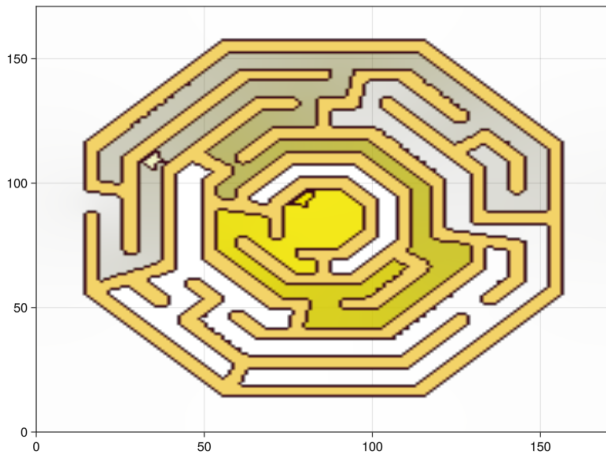
buněk, buněčná adheze a vývoj tkání. CPM využívá přístup založený na použití mřížky k reprezentaci biologického systému. Buňky nebo buněčné komponenty jsou obvykle reprezentovány spojenými soubory bodů v mřížce.

#### 5.1.1 Reprezentace mřížky

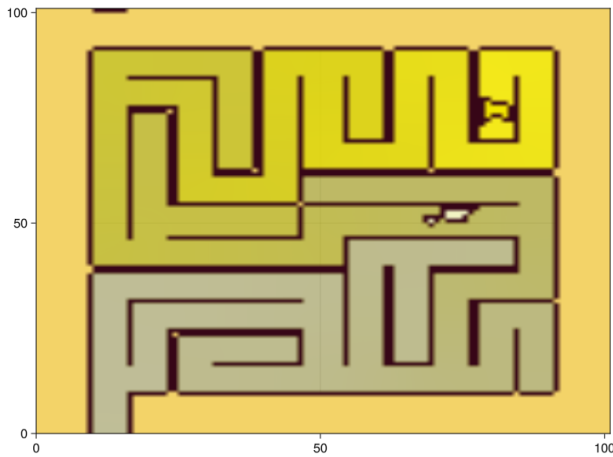
Každý bod mřížky odpovídá základní jednotce prostoru. Mřížka může být 2D nebo 3D, v závislosti na povaze modelovaného systému.

#### 5.1.2 Energie a Hamiltonian

CPM používá energetický přístup k modelování buněčného chování. Každé konfiguraci systému je přiřazena energie, Hamiltonian ( $H$ ) na základě interakcí a vlastností, jako je buněčná adheze, adheze buňky k substrátu a omezení objemu buňky.  $H$  reprezentuje celkovou energii systému.



Obrázek 9: Příklad simulace v `round_maze`: Příklad vizuální formy simulace v `round_maze`.



Obrázek 10: Příklad simulace v `square_maze`: Příklad vizuální formy simulace v `square_maze`.

### 5.1.3 Buňky

Buňky jsou charakterizovány parametry, jako je adheze buněk, objem buňky, povrchová plocha a další. Tyto parametry ovlivňují chování buněk v rámci modelu. Buňky mohou migrovat, měnit tvar, slučovat se nebo se dělit na základě  $H$  a příslušných parametrů. Pohyb a chování buněk jsou řízeny minimalizací celkové energie systému.

### 5.1.4 H-model

*H-model* je model biologické buňky a mezibuněčných interakcí. Je řízen sadou pravidel popisujících chování buňky v závislosti na aktuálním stavu a blízkém okolí buňky. Přistupuje k buňce jako nediferenciované, tedy zygotické, schopné přecházet ze stavů do stavů na základě jejího chování a okolí.

**Zygotický graf** popisuje dění uvnitř buňky. Je to multigraf a skládá se z tzv. produkčního, pohybového, receptorového a apoptotického grafu. Grafy dohromady shrnují pravidla v přecházení buněk mezi stavy. Tzv. *kumulační stav* popisuje a kvantifikuje aktuální

| Sekce                    | Popis   |
|--------------------------|---|
| <code>:vaxes</code>      | Definice látek figurujících v modelu (atraktant, receptory,...).            |
| <code>:reactions</code>  | Reakce a jejich pravidla (reakce mezi receptory, reakce receptoru na látku) |
| <code>:cells</code>      | Definice buněk v modelu   |
| <code>:rule_graph</code> | Popis zygotického grafu   |

Tabulka 1: Seznam a popis sekcí konfiguračního souboru k *H-modelu*.

| Parametr                           | Popis  |
|------------------------------------|--|
| $vaxes\_rule\_step \in \mathbb{N}$ | Šíření látek v protředí za jeden krok simulace                       |
| $k \in (0, 1)$                     | Reakční konstanta rozkladu atraktantu                                |
| $r \in \mathbb{N}_0$               | Počet receptorů na rozklad atraktantu                                |
| $D \in (0, 1)$                     | Koeficient difuze atraktantu   |
| $prod\_v \in \mathbb{N}_0$         | Množství látky produkované buňkou do prostoru za jeden krok simulace |

Tabulka 2: Seznam zkoumaných parametrů modelu.

stav buňky.

**Konfigurace modelu** je prováděna pomocí konfiguračních souborů. Obsahuje 4 hlavní sekce, které jsou popsány v tabulce 1.

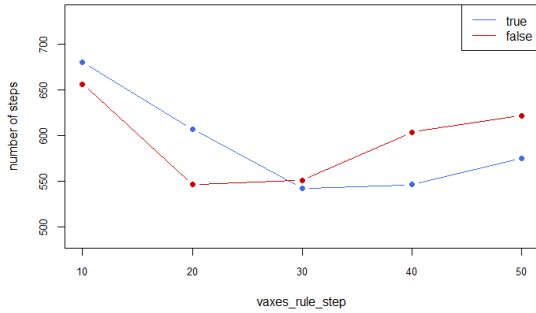
### 5.1.5 Vlastní adaptace H-modelu

V této práci byl *H-model* přizpůsoben ke zkoumání chování chemotaktických buněk a pozorování rozdílů mezi buňkami rozkládající atraktant a těmi, co tak nečiní. Experimenty byly prováděny v bludištích a uzavřených prostředích, bylo tedy nutné vytvořit definici nepropustné bariéry a způsob jak definovat tvar bludiště. Byla vytvořena funkce, která z načteného obrázku bludiště vyfiltrovala černé pixely a převedla je v nepropustnou bariéru v modelu. Pro jednotlivé experimenty byly použity 2 typy buněk - *rozkládající* a *nerozkládající*. Hlavní konfigurace modelu byla v rámci optimalizace a výběru parametrů, popsaného v sekci 5.3.

## 5.2 Analýza modelu

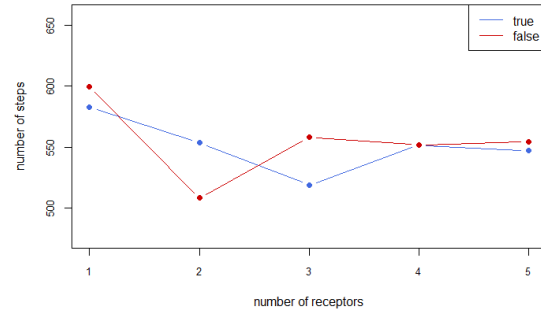
Veškeré zdrojové kódy implementace modelu a analýzy výsledků společně s výsledky experimentů a jejich podrobným nastavením jsou k nahlédnutí v githubovém repozitáři<sup>7</sup>. Model je naimplementován v jazyce Julia, v němž je naimplementován také zdrojový kód pro běh experimentů. Výsledky byly analyzovány za pomoci jazyka R v prostředí R-Studio.

Závislost počtu kroků simulace na rychlosti šíření látek vzhledem k buňkár



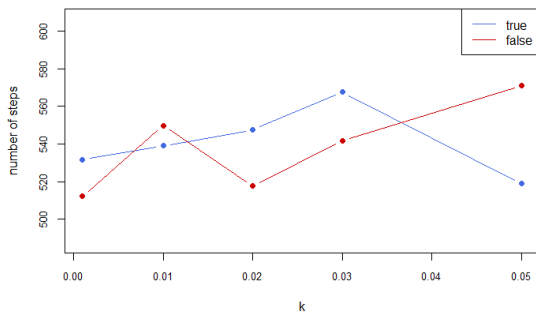
**Obrázek 11: Počet kroků simulace v závislosti na parametru ‘vaxes\_rule\_step’:** Počet kroků simulace je nižší pro buňky rozkládající atraktant (*true*) než pro ty, co tak nečiní (*false*), když je rychlost šíření látky za 1 krok simulace (paramter *vaxes\_rule\_step*) větší nebo rovno 30.

Závislost počtu kroků simulace na počtu receptorů na rozklad atraktantu



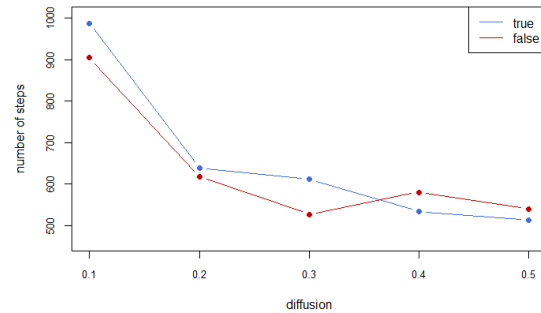
**Obrázek 13: Počet kroků simulace v závislosti na parametru ‘r’:** Počet kroků simulace je nižší pro buňky rozkládající atraktant (*true*) než pro ty, co tak nečiní (*false*), když je v rozmezí (1, 5) počet receptorů na rozklad atraktantu (parametr *r*) roven 1, 3 nebo 5.

Závislost počtu kroků simulace na reakční konstantě rozkladu atraktantu



**Obrázek 12: Počet kroků simulace v závislosti na parametru ‘k’:** Počet kroků simulace je nižší pro buňky rozkládající atraktant (*true*) než pro ty, co tak nečiní (*false*), když je v rozmezí (0.001, 0.5) reakční konstanta rozkladu atraktantu (parametr *k*) rovna 0.01 nebo 0.5.

Závislost počtu kroků simulace na koeficientu difuze látky



**Obrázek 14: Počet kroků simulace v závislosti na parametru ‘D’:** Počet kroků simulace (PKS) klesá s rostoucím koeficientem difuze (parameter *D*). PKS je nižší pro buňky rozkládající atraktant (*true*) než pro ty, co tak nečiní (*false*), když je difuzní koeficient (parametr *r*) větší nebo roven 0.4.

### 5.3 Výběr parametrů

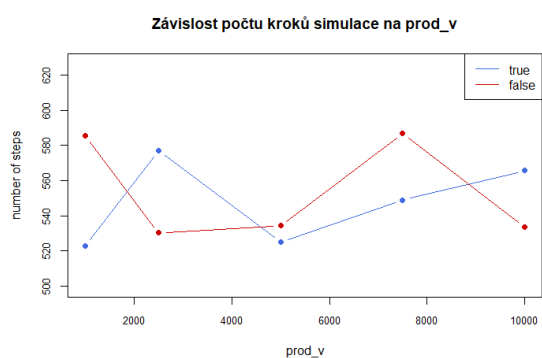
V rámci zkoumání a optimalizace parametrů byly vybrány pouze některé parametry, na které byl model experimentálně nejcitlivější. (viz. tabulka 2). Pro experimenty ve složitějších bludištích byly parametry vybrány. Pro ohodnocení kvality volby parametrů byl použit jako metrika počet kroků za který doputuje buňka ke zdroji atraktantu *var-0* (viz. část ??). Byl zkoumán vliv rychlosti šíření látek v prostředí za jeden krok simulace (parametr *vaxes\_rule\_step*), reakční konstanta rozkladu atraktantu (parametr *k*), počet receptorů na rozklad atraktantu (parametr *r*), koeficient difuze atraktantu (parametr *D*) a množství látky produkované buňkou do prostoru za jeden krok simulace (parametr *prod.v*), viz tabulka 2.

Pro každý z vybraných parametrů byla provedena analýza, která zahrnovala průzkum chování modelu a jeho ohodnocení výše popsanou metrikou. Vyhodnocení analýzy je znázorněno pomocí grafů 11, 12, 13, 14 a 15.

### 5.4 Popis experimentů

Hlavní část experimentů byla zaměřena na potvrzení hypotézy <sup>2</sup>, že buňky rozkládající atraktant a tím si vytvářející lokální gradient, nacházejí v bludišti zdroj atraktantu rychleji než ty, co ho nerozkládají. Experiment používal k ohodnocení rychlosti počet kroků simulace, za který došla buňka až ke zdrojové buňce vypouštěcí atraktant. Na základě optimalizace parametrů (viz. část 5.3) a předchozí zkušenosti, byly pro experimenty v bludištích pevně zvoleny následující hodnoty parametrů:

- *vaxes\_rule\_step* = 50
- *k* = 0.01
- *r* = 3
- *D* = 0.4
- *prod.v* = 10000



**Obrázek 15: Počet kroků simulace v závislosti na parametru ‘ $prod\_v$ ’:** Počet kroků simulace je nižší pro buňky rozkládající atraktant (*true*) než pro ty, co tak nečiní (*false*), když je v rozmezí (1000,10000) množství látky produkované buňkou do prostoru (parametr  $prod\_v$ ) roven 1000, 5000 nebo 7500.

## References

- [1] M. Bálek, V. Bednár, T. Bílý, and M. Karásek, in *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7 - 12, 2009, Munich, Germany*, edited by O. Dössel and W. C. Schlegel (Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010), 1957–1960, ISBN 978-3-642-03882-2.
- [2] L. Tweedy, P. A. Thomason, P. I. Paschke, K. Martin, L. M. Machesky, M. Zagnoni, and R. H. Insall, Seeing around corners: Cells solve mazes and respond at a distance using attractant breakdown, *Science* **369**, eaay9792 (2020), [arXiv:https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/science.aay9792](https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/science.aay9792).
- [3] Vector stock, <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/labyrinth-puzzle-maze-game-in-octagon-shape-vector-46525845>.
- [4] L. Claus, istock,

## Doplňkové materiály

Elektronická verze práce obsahuje doplňové materiály obsahující animace simulací. Elektronická verze práce je dostupná na adrese [https://github.com/prasilal/self\\_gen\\_gradient\\_model.git](https://github.com/prasilal/self_gen_gradient_model.git)