

1. Bevezetés

1.1 A sejtmozgás szerepe

A sejtmozgás az élő szervezetek olyan alapjelensége, amely gyakorlatilag minden sejtre jellemző életének, differenciációjának valamely szakaszában. Központi szerepet játszik a szervezet kialakulásában és egészséges működésében, és számos kóros folyamat vezethető vissza a sejt migráció genetikai vagy szabályozási zavaraira. Így a jelenség alapvető mechanizmusainak mélyebb megértése, a benne részt vevő biokémiai molekulák felderítése és vizsgálata terápiás lehetőségekhez, szövetmanipulációs technológiákhoz segítheti hozzá az orvostudományt.

A soksejtű élőlények szervezetét különböző szerepeket betöltő sejtek építik fel. Egy sejt későbbi sorsának, funkciójának eldőlése, a differenciáció, az embrionális fejlődés során fokozatosan történik, és alapvetően a sejt környezetéből érkező jelzésekre adott (genetikailag programozott) válasz határozza meg. Sok sejt típus esetén a differenciáció egyik meghatározó lépése a gasztruláció, amely folyamat során a sejtek együttesen az embrió belseje felé vándorolnak, ahol kialakítják a középső csíralemezt, a mezodermát. Ezután nagyobb, összekapcsolódó sejt csoportok vándorolnak az embrió különböző részeire, ahol végső differenciálódásuk több lépésben végbemegy. Ennek a bonyolult és összehangolt migrációs programnak valamely komponensében történt meghibásodás gyakran végzetes lehet az embrió számára (Szabó, 2004).

Egyes sejt típusok képviselői a kifejlett szervezetben is folyamatosan vándorolnak. Ilyenek például a szövetregeneráció és az immunválaszok kialakításában fontos szerepet játszó leukociták, melyek kemotaktikus ingerek hatására a vér- illetve nyirokkeringésből a sérült vagy fertőzött szövetek felé vándorolnak. A leukociták migrációs készségének lecsökkenése súlyos fertőzések, gyulladások kialakulásához vezethet (Lauffenburger, 1996). Más típusú szöveteket felépítő sejtek kevésbé motilisak, habár bizonyos körülmények között, például szövetkárosodás során meginduló szövetjavító folyamatok, sebgyógyulás esetén mozgásuk aktiválható. A bőrsérülések esetén aktiválódó hámsejteknél figyelhető meg, hogy a sejtek vándorlása során sejt-sejt kapcsolataik nem szakadnak fel, a sejtek csoportokban maradnak és összehangoltan működnek. Ennek köszönhetően kiterjedt sérüléseket is viszonylag rövid idő alatt képesek újra beborítani (Szabó, 2004).

Malignus tumorsejtek fokozott motilitásuk miatt keletkezési helyükről a környező

szövetekbe vándorolnak, és a keringési rendszert kihasználva a test távoli részeibe is eljuthatnak. A jelenség hátterében a sejtmozgás szabályozórendszerének kóros működése áll. A sejteket körülvevő fehérjeállomány, az extracelluláris mátrix (ECM) lebontásáért felelős, előrehaladást segítő enzimek fokozott termelése is megfigyelhető (Hegedüs, 2006).

1.2 Aktinpolimerizáció és membránkitüremkedések

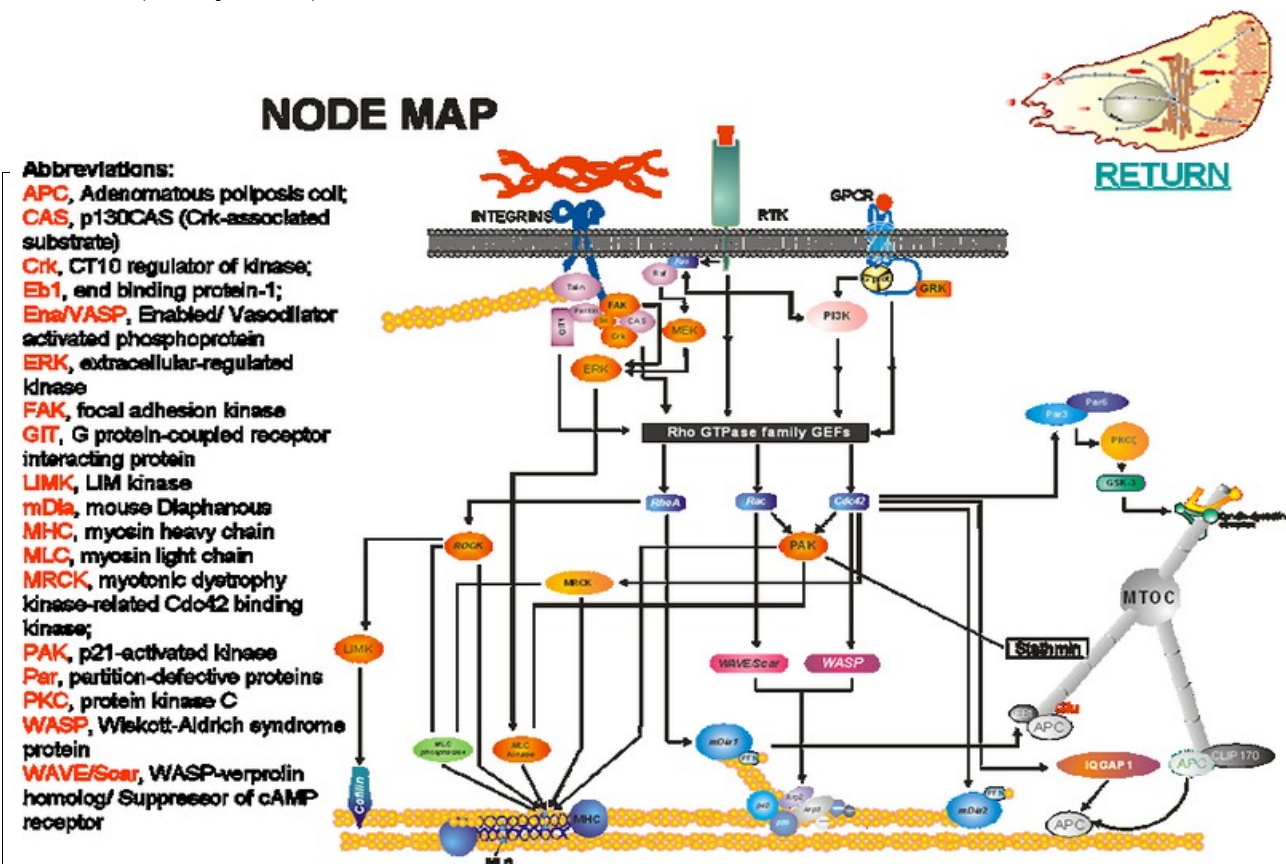
A migráció tehát a sejt típusától, belső állapotától, differenciációjának fokától és rá ható környezeti ingerektől függően különböző formákban nyilvánulhat meg. A szervezet szöveteiben, az extracelluláris mátrixban vagy annak felületéhez tapadva a sejtek amöboid jellegű mozgással haladnak. Az amöboid mozgás során a sejt felszínén állábak (pszeudopodiumok) alakulnak ki a sejt elején. Ezek az állábak a citoplazmának olyan kitüremkedései, melyekben sejtorganellumok nem találhatóak, viszont nagyon gazdagok aktinfilamentumokban és aktinkötő fehérjékben, melyek a sejt váz egyik fő komponensét, a mikrofilamentum-rendszert alkotják. A aktinfilamentumok aktinfehérjéből felépülő hosszú rugalmas fonalak, melyek a plazmamembrán közelében háromdimenziós hálózatot alkotnak, a hálózat bizonyos pontjai a membránhoz rögzülnek.

A sejtmembrán előremozdulását az aktinfilamentumok polimerizációja okozza. A filamentumokat alkotó F-aktin gyorsan növekvő plusz-vége a plazmamembrán felé irányul és képes G-aktin monomerek beépítésére, így a szál hosszának növelésére. Ha a G-aktin koncentráció elég nagy, a depolimerizáció lassú, és a filamentumok stabilak. A membrán mechanikai ellenállásának legyőzéséhez szükséges energiát a szálban ébredő rugalmas energia szolgáltatja, ugyanis a polimerizáció a plusz-végen csak akkor történhet meg, ha a szál a termikus fluktuációk hatására meghajlik és elegendő helyet hoz létre a monomer asszociációjához (Ridley, 2003).

Az állábak kétdimenziós felületen leggyakrabban megfigyelhető formája a széles és lapos lamellipodium, illetve a hosszú, vékony filopodium. A lamellipodiumban az összekapcsolódó filamentumok sűrű hálót alkotnak, továbbá a G-aktin monomer asszociációja nem csak a szál végén jöhet létre, hanem a sejtmembrán közelében az Arp2/3 fehérjekomplex asszociációja után a szál oldalán is új ág jelenhet meg. Ezáltal a polimerizáció sok helyen folyhat egyszerre, a létrejövő jellegzetes kefeszerű struktúra a sejtmembrán nagy felületét mozdíthatja előre. A filopodiumokban ezzel szemben nem ágaznak el a filamentumok, hanem hosszú, párhuzamos kötegekbe rendeződnek. Filopodiumok folyamatosan alakulnak ki és húzódnak vissza a sejt mozgás irányába eső végén, és elsősorban a sejt lokális környezetének felderítésére szolgálnak (Lauffenburger, 1996).

1.3 A sejtpolarizáció

Az aktinpolimerizációt és a sejtváz többi komponensének a átalakítását számos párhuzamos biokémiai folyamat eredményezi (1. ábra). Ezek vezérlését elsősorban az Rho család tagjai (Rac, Rho, Cdc42) végzik, melyek kis méretű GTP-áz fehérjék. Ezeket egyfajta molekuláris kapcsolónak tekinthetjük: GTP-kötött állapotban aktíválnak számos, hozzájuk kapcsolódó enzimet, míg GDP kötött állapotukban inaktívak. A Rac a lamellipodiumképződést serkenti a WASP/WAVE komplex aktiválásával, mely elősegíti az Arp2/3 asszociációját az aktinfilamentumhoz. A Cdc42 a filopodiumok kialakulását segíti elő. A Rho pedig a ROCK (Rho-függő kináz) közvetítésével a miozin aktivitását szabályzó könnyű láncának állapotát állítja be, a citoszol összehúzódását idézve elő. Ezen szabályzó molekulák aktivitása a sejten belül nem egyenletes: míg az aktív Rac a sejt elejében, az aktív Rho a sejt hátsó részén található. Bizonyos sejtekben kimutatható, hogy az Rho és a Rac egymás aktivitását gátolják, ami megakadályozza az álláb kialakulását a sejt oldalsó és hátsó részeiben (Ridley, 2003).



1. ábra A Sejtmozgást szabályzó biokémiai folyamatok. Forrás: <http://cmckb.cellmigration.org>.

A sejtek aktív mozgásához tehát szükséges a sejt polarizációja, vagyis egy jól elhatárolható elülső és hátsó rész kialakulása. Ez az elkülönülés leginkább a szabályozásában részt vevő molekulák koncentráció-különbségeiben nyilvánul meg. A polarizáció kiváltását a környezetből érkező ingerek (a sejt felszíni receptorok nem egyenletes aktiválódása) hatására ismerjük: az extracelluláris térben diffúzióval terjedő, vagy az extracelluláris mátrixban kötött kemoattraktánsok a sejtmembrán receptoraihoz kapcsolódva egy képesek a polarizációt serkenteni az adott irányban. Az is kimutatható, hogy a sejtek képesek érzékelni környezetük mechanikai sajátosságait, és arrafelé mozdulnak el, amerre az őket körülvevő mátrix rugalmasabb, puhább (Even-Ram, 2005).

Természetesen, az 1. ábra is lényegesen egyszerűsített olyan értelemben, hogy a Rho család aktivitását a citoszkeletonban végbemenő folyamatok is szabályozzák pozitív és negatív visszacsatolásokon keresztül. A WASP/WAVE komplex, például, más fehérjékkel együtt szabályozza a Rac és Cdc42 aktivitását. Ezek a visszacsatolások kulcsfontosságúak a mozgás irányának és perzisztenciájának kialakításában.

1.4 A sejtmozgás folyamata

A migráció során az előrenyomuló állabaknak le kell tapadniuk az extracelluláris mátrix szubsztráthoz, amit elsősorban membránba ágyazott mátrixreceptorok, főleg az integrin család tagjai közvetítenek. Az integrinek egy α és β alegységből álló heterodimer transzmembránfehérjék, melyek extracelluláris doménje az ECM komponenseihez, citoplazmikus doménje az aktinfilamentumokhoz rögzül. Az integrinek a sejt és környezete közti jelátviteli folyamatokban is fontos szerepet játszanak, ugyanis a mátrixfehérjékhez való kötődés konformációs változást hoz létre a fehérjén, amely például a fent bemutatott GTP-áz fehérjék aktivációjához vezet. Emellett az integrinek aktivációját, kötődésének erősségét a citoplazmában lejátszódó folyamatok szabályozzák. Aktivált integrinek nagyobb koncentrációban találhatóak a sejt elején, ahol ovális alakzatban (a fokális adhéziós korongban) aggregálódnak.

A lekötődés után és az aktinváz stabilizálódása után a passzív sejttest előrehúzása következik. A húzóerők kifejtésében elsősorban az aktinfilamentumok motorfehérjéi, a miozin család tagjai, főként a miozin II játszanak fontos szerepet. A miozin II dimer formában fordul elő és egy nagy méretű feji (nehéz lánc, MHC) és hosszú, vékony farki részre (könnyű lánc, MLC) tagolható. A feji részek az aktinfilamentumokhoz rögzülhetnek, majd ATP hidrolízise közben konformációváltáson mennek keresztül, így elhajlanak és elfordulnak, miközben elmozdítják az aktinvázat. Ezután disszociálnak az aktinról, majd a folyamat ismétlődik. A farki végek képesek

egymással összekapcsolódva nagy méretű miozin-kötegeket létrehozni, melyek aktinfilamentumok közé ékelődve képesek a szálakat egymás felé húzni. Ezeket az aktinból és miozinból álló kötegeket stressz-rostoknak nevezik. A miozin működésének szabályozásában fontos szerepet játszik a kalcium-koncentráció. Megfigyelhető a mozgás során a sejt elején lecsökkent kalcium-koncentráció, mely a hátsó részeiben végig magas szinten marad, amiből feltételezhető, hogy a sejt belsejében ébredő húzóerő a hátsó részben a legnagyobb.

Mikroszkópos technológiák segítségével lehetőség nyílik a sejt által a kitapadási fehérjekomplexen keresztül a környezetre kifejtett erők kvantitatív meghatározására. Az eljárás alapja, hogy a sejtek mozgásának környezetét szolgáló poliakrilamid gélbe fluoreszcens mikrogöngyöket ültetnek, és elemzik a göngyök elmozdulásának mértékét és irányát, miközben a sejt elhalad a környezetükben. Az elmozdulásból lehet következtetni a sejt szubsztrátra kifejtett erejére. 3T3 fibroblaszt sejtekkel végzett kísérletek során kimutatták, hogy a legnagyobb erők a lamellipodiumban születnek, de időnként megjelentek erős erőhatások a sejt oldalsó részein is, ennek valószínűleg a környezet feltérképezésében és az optimális mozgásirány megtalálásában van szerepe. A sejt hátsó részeiben a húzóerő általában kicsi. Az is megfigyelhető, hogy a még a mozgásirány megváltozása előtt bekövetkezik a változás a környezetre kifejtett erőkben (Munevar, 2001).

A sejtest előremozdulása után a hátsó részben fel kell bomolnia a membránt a mátrix fehérjéihez rögzítő kötésnek. Sokszor ez az integrinek membránból történő kiszakadásával, vagy membrándarabok hátrahagyásával történik. Az adhézió felbontásában, az integrinek inaktiválásában azonban kinázok és foszfatázok is részt vesznek. A magas kalcium-koncentráció szintén elősegítheti a kötések felbontását.

1.5 Az extracelluláris mátrix

Az extracelluláris mátrix tehát számos módon képes befolyásolni a sejtmozgás mechanizmusait. Az ECM azonban nem csak a sejtmigráció közegeként értelmezendő. A sejtek szinte minden életjelenségét befolyásolhatja, szerepet játszik a szövetdifferenciációban, a sejtek fenotípusának fenntartásában is.

Az ECM termeléséért és lebontásáért a benne élő sejtek felelősek. Mennyisége, összetétele, szerkezete fajoként, szövetenként és az egyed életkorától függően változatos lehet. Főleg glikoproteinekből (fehérjék szénhidrát oldalláncokkal) épül fel, ahol a fehérjerostok közötti kovalens keresztkötések révén térbeli hálót hoz létre a sejtközötti térben. Szervetlen anyagokkal

(víz, ionok) is kémiai kölcsönhatásban állhat, és közvetlenül vagy közvetetten kapcsolódhat a sejtekhez.

Az ECM két legfontosabb strukturális (szerkezeti) összetevője a kollagén és az elasztin. A kollagének hosszú, három fehérjeláncból összekapcsolódó helikális szerkezetű molekulák, a gerincesek szervezének legnagyobb mennyiségben előforduló fehérjéi. A kollagénmolekulák fibrillumokba és kollagénrostokba tömörülve nagy szakítószilárdságú szövetet tudnak létrehozni, például bőr-, porc-, csontszövetet. Lazább, kevésbé kötegelt változata alkotja a különböző szövetek közti határfelületet borító vékony lamina basalist, és a vastagabb, hám-kötőszövet határon található membrana basalist. Az elasztin nyújtható rostokat és lemezeket képez, így a szövetek rugalmasságát növeli. Kötőszövetben, simaizomszövetben található nagyobb mennyiségben. Bár bizonyos kollagénekhez is rögzülhetnek glikozilált oldalláncok, az ECM gyakran tartalmaz szénhidrátokban gazdag glükózaminoglikánok és proteoglikánok is. Ezek a glikoproteinek olyan multiadhéziós mátrixfehérjék, amelyek fontos szerepet játszanak a sejtadhézióban vagy az ECM különböző komponensei összekötésében. Ilyenek például a 'nektin' molekulák, a fibronektin, elasztonektin, vitronektin vagy a lamina basalishez való kötődést elősegítő laminin és nidogén.

Az ECM-ben vándorló szöveti sejtek nem képesek áthatolni a sűrű térhálón, ezért azt enzimek segítségével le kell bontaniuk maguk előtt. A szöveti sejtek ismert mátrixbontó enzimjei a mátrix metalloproteázok (MMP). Ezek a sejt felszínéhez kötött, vagy a sejtközötti térben szabadon diffundáló molekulák. A membránhoz rögzült proteázokat többnyire mátrixadhéziós molekulák kötik, így ezek is főleg a fokális adhéziós korongban koncentrálnak. A hasítás a szálon néhány mikrométerrel az adhézió helye után történik, ez biztosítja, hogy a proteolízis ne szakítsa le a megkötött szubsztrátot a környező térhálóról. A elhasított szál továbbra is a felszínhez rögzül míg a sejt előrehalad, így a mozgás irányával párhuzamosan áll be. A sejt mögött ezáltal egy párhuzamosan orientált szálaból álló ösvény alakul ki. Különösen a nagy sűrűségű mátrixban való migráció során figyelhető meg, hogy a sejtek alacsony proteolitikus aktivitás mellett ezeken a nyomvonalakon közlekednek (Friedl, 2008).

1.6 Sejtaggregátumok

A sejtek nem csak az ECM környezethez, hanem egymáshoz is képesek kapcsolódni. A sejt-sejt kapcsolatok egyik fajtáját a cadherin családba tartozó sejtadhéziós fehérjék teszik lehetővé. Ezek a molekulák a plazmamembrán speciális fehérjéi, amelyek a sejten belül a sejtvázhoz horgonyzódnak, a sejten kívül pedig általában egy más sejt felszín hasonló molekuláikhoz

kapcsolódnak (homofil kötés). Működésükben hasonlítanak a receptor-ligandum sémához, de egy homofil kötés esetén a sejtadhéziós molekula így egyszerre lehet ligandum és receptor is. A kötés által kiváltott konformációváltozások általában a sejtvázas átrendeződéséhez, és jelátviteli kinázok aktiválódásához vezetnek. (Gumbiner, 2005).

A sejtek belső komplexitása ellenére, meglepő módon, egyszerű (ECM-et nem tartalmazó) mesterséges sejtaggregátumok viselkedése nagyon hasonló egy viszkózus (esetleg nem Newtoni) folyadékcsepp által mutatott jelenségekkel. A folyadékszerű viselkedés lényege, hogy az egymáshoz kapcsolódó elemek könnyen elmozduljanak, így csökkentve a testben ható nyíróerőket. A folyadékok esetében az alkotóelemek molekulák, a köztül lévő kölcsönhatások főleg van der Waals-típusú erők, míg a mozgást a termikus fluktuáció biztosítja. Sejtcsoportosulások esetén a rendszer alkotóelemei élő sejtek, melyek egymással különböző sejt-sejt kapcsolatokon keresztül, főként a cadherin fehérjecsald közvetítésével létesítenek kötődést, és elmozdulásukat a sejt amöboid mozgása okozza.

Ezt a párhuzamot több kísérleti eredmény és elméleti modell is alátámasztja. Szuszpenzióba helyezett szövetfragmentumok szabályos gömb alakot vesznek fel, csakúgy, mint a folyadékcseppek. Az embriogenezis során bizonyos szövettípusok a folyékony anyagokra emlékeztető módon terjednek szét más szövetek felületén. Szintén megfigyelhető jelenség, hogy két különböző szövetből származó sejtek homogén elegyében az idő múlásával szétválnak a különböző sejtek, az egyik sejt-típus képviselői a keverék belsejében összecsoportosulnak, míg a másik sejt-típus egyenletesen körbeveszi ezt az aggregátumot. Ugyanez a mechanizmus játszódik le nem keveredő folyadékok elegyében is, a nagyobb felületi feszültségű folyadék kiválik a kisebb felületi feszültségű belsejében. Folyadékok esetében mikrogravitációs környezetben elvégezve a kísérleteket azt tapasztalták, hogy az összekapcsolódó domének nagysága az idővel egyenes arányban növekszik, az arányossági tényező a folyadékok felületi feszültségének különbségétől, és viszkozitásának különbségétől függ. A kísérletben ugyanilyen kapcsolatot találtak a különböző sejt-típusok szétválogatódása során is a domének nagysága és az idő között (Beysens, 2000).

Sejtaggregátumok esetében tehát a viszkozitás és a felületi feszültség szövettípusra jellemző fizikai mennyiség. Ez a felületi feszültség kísérletileg meghatározható. Az eljárás során a megfelelően előkészített gömb alakú szövetdarabot két párhuzamos lemez közé helyezik, majd a lemezeket összenyomják. Az aggregátumra gyakorolt erőhatás egy időben konstans értékhez tartó csökkenő görbe. Az összenyomás kezdeti szakaszában tehát a sejtaggregátumban rugalmas erők is ébrednek, így az rövid időskálán az elasztikus szilárd anyagokhoz hasonlítható (Forgacs, 1998). Hosszú időskálán (percek alatt) a rugalmas feszültségek eltűnnek, és miután beállt az egyensúlyi állapot, az aggregátum alakjából és a rá gyakorolt erőhatásból a Young-Laplace-egyenlet

segítségével a felületi feszültség értéke kiszámítható. A mérések során arra a megállapításokra jutottak, hogy a felületi feszültség értéke független az aggregátum nagyságától és a rá gyakorolt erőhatástól, ugyanúgy, mint folyadékok esetében (Foty, 1996).

A jelenségek ezek körét a differenciális adhézió hipotézis (DAH) segítségével magyarázhatjuk. Folyadékok esetén megállapítható, hogy a felületi feszültség a komponensek között ébredő összetartó erővel arányos. A DAH feltételezi ugyanezt sejtaggregátumok esetében is, tehát a szövet felületi feszültsége arányos a sejtekfelületén lévő cadherinsűrűséggel. Ezt az összefüggést kísérletileg sikerült igazolni L929 sejtek (Foty, 2005) és humán agytumrok sejtjei esetében (Hegedüs, 2006).

1.7 A sejtek Potts modellje

Az élő szervezeteket sok sejt egymással bonyolult módon kölcsönható rendszere alakítja ki, az általa mutatott jelenségek vizsgálata, értelmezése, esetleg befolyásolása kiemelt fontosságú a biológia és az orvostudomány számára. Láttuk, hogy már egyes sejtek mozgásának jellegét is külső és belső hatások együttesen alakítják ki, és a mozgás mechanikájában számos biokémiai folyamat vesz részt. Ennek ellenére, egyszerű mesterséges soksejtes rendszerek (pl. sejtaggregátumok) mégis elég egyszerű és megjósolható módon viselkednek. Ez a rendszer összetettsége ellenére megfigyelhető egyszerű viselkedés motiválja a biológiai rendszerek működését egyedi sejtek szintjén leíró elméleti modellek felállítását.

Az elméleti biológiában régóta használnak modelleket a sejtek térbeli szerveződésének (sebgyógyulás, a csont- és porcképződés, az érhálózatképződés) megértéséhez. A sejteket a felállított modellek egy része mint differenciálegyenletek részecskesűrűségeit, másik része pedig pontszerű, egymással kölcsönható részecskéként ábrázolta. Az elmúlt évtizedben elterjedtek a sejteket alakokkal rendelkező, kiterjedt objektumokként ábrázoló modellek is, az első ilyen egy módosított Potts modell (cellular Potts model, CPM) volt.

Az elméleti modellek alapjait mindig olyan empirikusan alátámasztható megfigyelések képezik, melyek a vizsgált jelenséget (a modellező szerint) nagy mértékben meghatározzák. A sejtaggregátumok viselkedésére bevezetett CPM a következő alapfeltevésekre támaszkodik:

(CPM1) A sejtek mozgása stochasztikus módon, alakjuk megváltozásán keresztül valósul meg.

(CPM2) A differenciális adhézió hipotézis értelmében a sejteknek a sejtípustól függő felületi feszültségük van, ez szabályozza a sejteket elválasztó határfelületek illetve a szabad

sejtfelszínek mozgását.

(CPM3) A sejtek térfogata (vagy kétdimenziós vetületük területe) egy sejtípustól függő érték körül fluktuál.

A CPM-ben a sejtek mozgásterére egy rácsot feszítünk ki, a sejtek ezeket a cellákat foglalhatják el. A sejtek konfigurációit a rácspontokban értelmezett $n+1$ állapotú Potts-spin (σ) határozza meg: a sejtek azonosítószáma megegyezik a Potts-spin állapotával. A hagyományos Potts modelltől eltérően itt megköveteljük, hogy az egyes domének a rács egyszeresen összefüggő tartományát alkossák. Kivételt képez az a tartomány, amely a sejtmentes térfogatot/területet reprezentálja. Minden sejtnak van továbbá egy a felületi feszültség értékét és nyugalmi méretét meghatározó típusa (τ).

A szimuláció során sejteket helyezünk el a rendelkezésre álló térben, majd a rendszer állapotát folyamatosan frissítjük. Ezt egy Metropolis Monte-Carlo típusú szimuláció biztosítja, tehát véletlenszerűen kiválasztjuk a rács egy pontját, és az ott található spin értéket megkíséreljük átmásolni a rácspont véletlenszerűen választott szomszédjába. Az a rácspontból b -be vivő másolás valószínűsége egy, a konfigurációkhoz rendelt u célfüggvény megváltozásától függ:

$$\ln p(a \rightarrow b) = \min [0, -\Delta u(a \rightarrow b)] \quad (1)$$

Az u célfüggvény tehát a rendszer aktuális állapotához rendelt értéket határoz meg, ha az elemi lépés során az u értéke növekszik, akkor a lépés valószínűsége csökken. Ezáltal a rendszer az u minimalizálásának irányába fejlődik.

A konfigurációkat jellemző célfüggvényt úgy választjuk meg, hogy az összhangban legyen a modell (CPM2) és (CPM3) tulajdonságaival. Az irodalomban elterjedt szokásos választása (N a sejtek száma):

$$u = \sum_{\langle x, x' \rangle} J_{\sigma(x), \sigma(x')} + \lambda \sum_{i=1}^N \delta A_i^2 \quad (2)$$

A célfüggvény első tagja a sejthatárok hosszát adja meg, típusok szerint súlyozva: az összegzést az x, x' szomszédos cellapárokra végezzük. Az $N+1$ dimenziós J mátrix (i,j) pozíciójában az i és j sejtek közös sejthatárát jellemző, a mérhető felületi feszültségkülönbségből származó, az elemi lépés valószínűségét csökkentő érték található. Homogén sejtpopulációban az alábbi alakban írható fel, amennyiben a sejtmentes területet a 0 állapot jelöli:

$$J_{i,j} = \begin{cases} 0, & \text{ha } i = j \\ \alpha, & \text{ha } ij > 0 \text{ és } i \neq j \\ \beta, & \text{ha } ij = 0 \text{ és } i \neq j \end{cases} \quad (3)$$

Az α és β paraméterek határozzák meg a sejtfelszín fluktuációinak nagyságát és a sejtheadhézió erősségét. Arányuktól függ a homogén sejtcsoport kötöttségének mértéke is: ha $\alpha < 2\beta$, a sejtek nem távolodnak el egymástól, fordított esetben szétszóródnak a megfelelő méretű területen. Ugyanis ha egy l hosszúságú sejt-sejt határt szétválasztunk, akkor egy $2l$ hosszúságú szabad felszín jön létre. Az eredeti állapot $l\alpha$, a végállapot $2l\beta$ járulékot ad a célfüggvényhez, tehát ha $\alpha > 2\beta$, akkor a szétvált állapot, ha $\alpha < 2\beta$, az eredeti, kötődött állapot a kedvezőbb.

A célfüggvény második tagja a (CPM3) feltevés gyakorlati megvalósulása. A δA_i mennyiség az i sejt alapértelmezett méretétől való eltérését adja meg, míg λ a terület fluktuációit és összenyomhatóságát határozza meg.

Az eredeti CPM segítségével jól érthetőek olyan jelenségek, melyeket főként a sejt-sejt adhéziós kapcsolatok határoznak meg. Segítségével sikeresen modellezték például a különböző sejtípusok szétválogatódását (Glazier, 1993). Az alacsony sűrűségű vagy gyenge sejtheadhézióval rendelkező konfigurációkban azonban a sejtheadhézió jelentősége lecsökken. Az eredeti modell a magányos sejtek vándorlását sem teszi lehetővé. A kemoattraktánsok bevezetésével kibővített modellt különböző fejlődésbiológiai jelenségek (morfogenezis) szimulálására használták (Izaguirre, 2004; Merks, 2008).

1.8 Sejtek aktív mozgása a CPM-ben

Az aktív sejtmozgás lehetőségének kialakítását a legegyszerűbben és biológiailag releváns módon a sejtek belső polarizáltságának definiálása teszi lehetővé (Szabó, 2010). Az aktív mozgás bevezetésével az eredeti három (CPM1-3) szabályokhoz további kettő adódik.

(CPMa1) A sejtekhez hozzárendelünk egy vektort, mely a sejtek polarizáltságának irányát és nagyságát határozza meg. A vektor irányába eső konverziók preferáltabbak az eltérő irányba esőknél.

(CPMa2) A polarizáció-vektor egyfajta memóriaként működik: nagysága időben lecseng, azonban az elemi lépések növelik.

A fent megfogalmazott szabályok által a sejtek, ha ezt valamilyen hatás nem akadályozza meg, megközelítőleg a polarizáció-vektor irányába fognak elmozdulni. A (CPMa2) feltétel pozitív visszacsatolást hoz létre a mozgás iránya és a polarizáció között : ha a sejt a polarizáció-vektor irányába mozdul el, növeli a polarizáltság mértékét, ami felerősíti az ilyen irányú lépés valószínűségét.

Látható, hogy a fenti két feltételből származó lépési valószínűséget befolyásoló hatás nem származtatható a rendszer konfigurációjából, hiszen a polarizációvektor a rendszer történetétől függ. Az átmásolás valószínűségét ezért az alábbi módon tudjuk felírni:

$$\ln p(a \rightarrow b) = \min [0, -\Delta u(a \rightarrow b) + w_p(a \rightarrow b)] \quad (4)$$

A w_p függvény reprezentálja a sejtpolarizáció a -ból b -be másoló elemi lépésre gyakorolt hatását. Jelen esetben az alábbi képlettel írható fel:

$$w(a \rightarrow b) = P \cdot \sum_{k=\sigma(a), \sigma(b)} \frac{\Delta X_k(a \rightarrow b) \cdot \mathbf{p}_k}{|\mathbf{p}_k|}, \quad (5)$$

ahol P a polarizáció hatásának erősségével arányos paraméter, ΔX_k a k sejt tömegközéppontjának elmozdulását leíró vektor, \mathbf{p}_k a k sejt polarizáció-vektora. A polarizáció-vektor megváltozása elemi időlépésenként az alábbi módon írható le:

$$\Delta \mathbf{p}_k = -r \cdot \mathbf{p}_k + \Delta \mathbf{X}_k, \quad (6)$$

ahol r a vektor időegység alatti bomlásának rátája, ami a mozgás perzisztenciáját szabályozza.

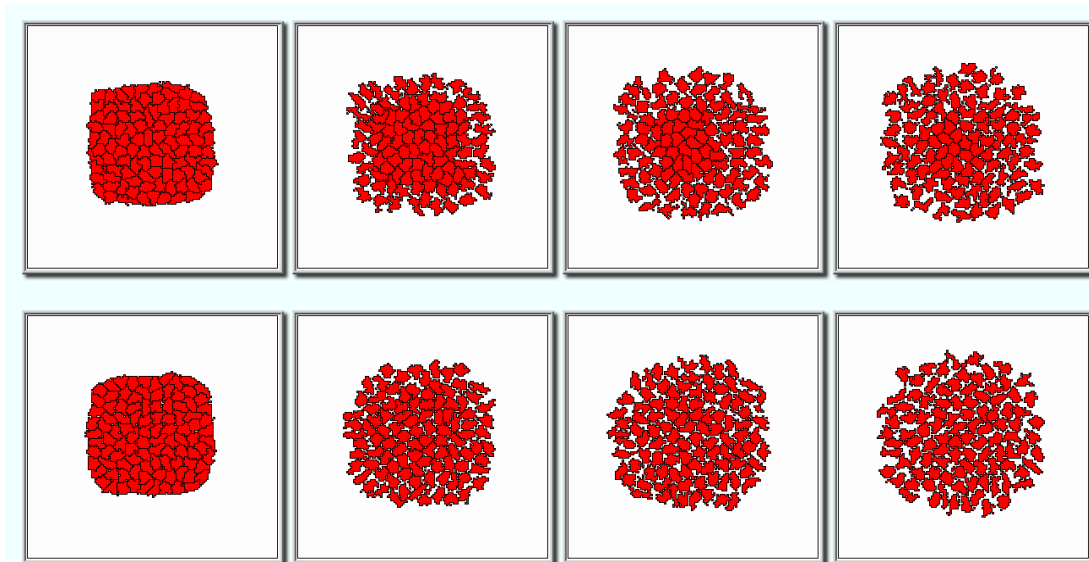
Mint korábban bemutattuk, a sejtmigráció irányának fenntartása a sejttestben kialakult jelátviteli fehérjék koncentráció-különbségén keresztül valósul meg. Az itt ismertetett kibővített CPM ezen mechanizmusokat foglalja össze egy egyszerű pozitív visszacsatolás formájában. A modell által jósolt perzisztens bolyongás nagyon jól leírja a sejtmozgás megfigyelt statisztikai tulajdonságait (Szabó, 2010).

2. Modell definíció

2.1 Sejtmentes terület nukleációja

Szakedolgozatom tárgya a sejtek és az ECM sejtmozgásban szerepet játszó kölcsönhatásainak vizsgálata, illetve az ennek vizsgálatát lehetővé tévő alkalmas modell kialakítása. Ehhez a 1.7 és 1.8 részekben ismertetett CPM modell szolgáltatja az alapot, amelyhez az alábbi kiegészítéseket tettük.

Az eredeti modell hiányossága, hogy a sejtek között nem lehetséges spontán szétválás, mivel az elemi lépés definíciója szerint csak akkor keletkezhet egy sejtmentes cella két érintkező sejt között, ha az már szomszédos sejtmentes területtel. A sejtmentes területek nukleációjának tiltása véleményünk szerint egy műtermék, amit nem támaszt alá semmilyen sejtbiológiai megfigyelés. A modell ezen tulajdonságának viszonylag kis szerep jut, ha konfluens (monolayer) sejteket vizsgálunk, de a felbomló aggregátumok modellezését jelentősen befolyásolhatja: az összecsoportosult sejtek szétszóródása az eredeti modellben mindig az aggregátum felszínén található sejtekkel kezdődik, és csak azok eltávolodása, illetve a sejtek közti rések kialakulása után volt lehetséges a következő réteg felszabadulása.



2. ábra Szétszóródó sejtaggregátum időbeli fejlődése a szimuláció során. A felső sorozatban a sejtmentes terület nukleációja tiltott, ezáltal sejtek szétválása csak a felszíni sejtréteg felszabadulása után lehetséges. Az alsó sorozatban sejtekkel körülzárt területen is megjelenhet sejtmentes terület, ezáltal az aggregátum felbomlása egyenletesen megy végbe.

A sejt-sejt kapcsolatok túlzott stabilitását eredményező elemi lépéshalmazt ezért kiegészítettük egy új lépéssel. A szimuláció során egy cella véletlenszerű kiválasztása után az újabb választás egyenlő valószínűséggel történik a cella állapotának valamelyik szomszédra történő másolása, vagy a sejtmentes állapot beszúrása között. A kiválasztott elemi lépés valószínűségét továbbra is az (1) kifejezés alapján határozzuk meg.

2.2 Az extracelluláris mátrix reprezentációja

A modellben ECM-t egy új tér bevezetésével ábrázoltuk. A sejtek mozgástere fölé egy újabb rácsot feszítünk ki, ahol a rácspontokba az adott helyen található mátrix-koncentrációt írjuk. A modellezni kívánt jelenségkörhöz illeszkedve az alábbi megszorításokat tettük:

(ECM1) A reprezentált mátrix egyetlen koncentráció értékkel leírható.

(ECM2) A koncentráció értéke sejtek által betöltött cellákban nulla.

(ECM3) A koncentráció értéke változatlan marad addig, amíg azt egy sejt meg nem változtatja oly módon, hogy a cellába lépve a koncentráció értékét nullára állítja.

(ECM4) Az ECM akadályozza a sejtek előrehaladását: egy ECM-et tartalmazó rácspont elfoglalásának valószínűsége az ECM koncentrációval arányosan lecsökken.

(ECM5) A sejt-ECM adhézió miatt az ECM-mel szomszédos rácspontok preferáltabbak.

Az (ECM3) szabály jelentős egyszerűsítés, kizárja a mátrix spontán átrendeződését, diffúzióját, vagy a lebontó enzimek hosszú távú diffúzióját. Ez azt is jelenti, hogy a mátrix értéke a cellában a szimuláció során két értéket vehet fel, nullát, illetve a kezdeti koncentráció értékét, továbbá azt, hogy a teljes térben található mátrix mennyisége monoton csökken. Az előrehaladáshoz a sejteknek le kell bontaniuk maguk előtt az ECM-et, ehhez proteáz enzimeket kell termelniük és a hasítás helyére juttatniuk. Ez a megfigyelés képezi az (ECM4) szabály empirikus alapját. Az (ECM5) feltétellel azt kívántuk reprezentálni, hogy ha a sejteknek lehetősége van a mátrixszal kölcsönhatásba kerülni, akkor jól ismert sejtadhéziós komplexekkel kötődik hozzá és a mátrixtól való spontán elszakadás kis valószínűséggel figyelhető meg.

A modellben tehát az elemi lépés megvalósulásának valószínűségét így írhatjuk fel:

$$\ln p(a \rightarrow b) = \min [0, -\Delta u(a \rightarrow b) + w_m(a \rightarrow b)], \quad (7)$$

ahol w_m az ECM elemi lépések valószínűségét befolyásoló hatását foglalja össze az alábbi módon:

$$w_m(a \rightarrow b) = -B \cdot \delta c(a \rightarrow b), \quad (8)$$

ahol B az egységnyi koncentrációjú ECM lebontásának nehézségével arányos paraméter, δc a konverziókban érintett cellák koncentráció-különbségét adja meg. A negatív előjel azt fejezi ki, hogy a lépés valószínűségét a mátrix lebontásának szükségessége csökkenti. Amennyiben az aktív mozgással kibővített CPM-et használjuk, a w_m értékéhez hozzáadjuk w_p -t is.

Az (ECM5) szabályt a J mátrix megváltoztatásával valósítottuk meg:

$$J_{i,j} = \begin{cases} 0, & \text{ha } i = j \\ \alpha, & \text{ha } ij > 0 \text{ és } i \neq j \\ \beta - A \cdot \delta c, & \text{ha } ij = 0 \text{ és } i \neq j \end{cases}, \quad (9)$$

ahol A az adhézió mértékével arányos paraméter, δc a határfelületet képező cellák koncentráció-különbsége.

2.3 A modell implementációja

A modell implementációja egy C++ nyelven írt, objektumorientált, grafikus megjelenítésre és adatgyűjtésre alkalmas programcsomag. A cellák közti véletlenszerű választásokat egy randomszám-generátor biztosítja. A sejtek a programban spin, sejtípus és nyugalmi méret attribútumokkal rendelkező objektumok. A mozgásteret és a koncentrációteret egy-egy mátrix reprezentálja, melyekben a spinérték illetve a koncentráció értéke található. Rendelkezésre állnak továbbá a sejtek kezdeti eloszlását és a mátrix-koncentráció kezdeti értékét beállító függvények. Egyéb eljárások, függvények és adatok kapcsolódnak a grafikus megjelenítéshez, a teszteléshez és statisztikai jellegű adatok előállításához.

Az eredeti CPM illetve számos továbbfejlesztett változatának forráskódja elérhető a <http://soureforge.net/projects/tst> weboldalon. A modellt implementáló programot ezen források átalakításával és kibővítésével készítettük el.

3. Eredmények

A dolgozat tárgya a fent ismertetett, sejtmentes terület nukleációjával és mátrixreprezentációval kibővített, aktív mozgást opcionálisan tartalmazó CPM tulajdonságainak tanulmányozása és a kapcsolódó kísérleti eredményekkel való összevetése. Egyszerűsítésképpen a modellben homogén mátrixot tételezünk fel, ezáltal elsősorban az in vitro körülmények között, háromdimenziós kollagén gélben mesenchymális mozgást végző, sejtaggregátumokból elszakadt sejtekre koncentráltunk. Ilyen sejtekről részletes adataink vannak az agytumorsejtek in vitro invázióját vizsgáló kísérletekből (Hegedüs, 2006).

A szimulációkat homogén sejtpopulációban végeztük, ezáltal a sejtek adhézióját (felületi feszültségét) leíró paraméterek száma a modell definíciójánál tárgyalt okok miatt kettő, J_{11} és J_{10} . Ezek értékét csak a nemnegatív paramétertartományban vizsgáltuk. Figyelembe vesszük továbbá A és B értékeit, tehát a legegyszerűbb, ECM-et tartalmazó modell viselkedésének feltérképezése során összesen négy paraméter hatásait tanulmányoztuk.

3.1 Egyedi sejtek spontán mozgása ECM környezetben

A modell működésének feltérképezését a magányos sejtek mozgásának vizsgálatával kezdjük. Kezdő feltételként egyenletes ($c_0=1$) mátrixkoncentrációt választunk, és a rendszer közepén elhelyezünk egy sejtet. Ilyen rendszerben a sejt-sejt kölcsönhatást jellemző J_{11} paraméter nyilván nem befolyásolja a szimulációt.

Szimulációk tapasztalatai alapján az alábbi állításokat fogalmazhatjuk meg:

- A) Amennyiben az adhézió értéke nulla, tehát a sejt és az ECM között nem tud kötődés kialakulni, akkor a sejt a kezdeti helye körül véletlenszerű, bolyongó mozgást végez. A mozgás mértéke csökken, ha a J_{10} és a B paraméterek értékeit növeljük.
- B) Ha az A paraméter értéke negatív, a sejt véletlenszerű, ingadozó mozgást végez a kezdeti helye körül. Ezáltal egy kis méretű kiürített, ECM-mentes területet alakít ki maga körül, és a további mozgása során nagyobb valószínűséggel található ezen üres terület belsejében, mint annak széleinél. A kiürített terület kialakítása lassabb B növelésével, ezután B a mozgást

nem befolyásolja. A mozgás mértéke csökken J_{10} értékének növelésével.

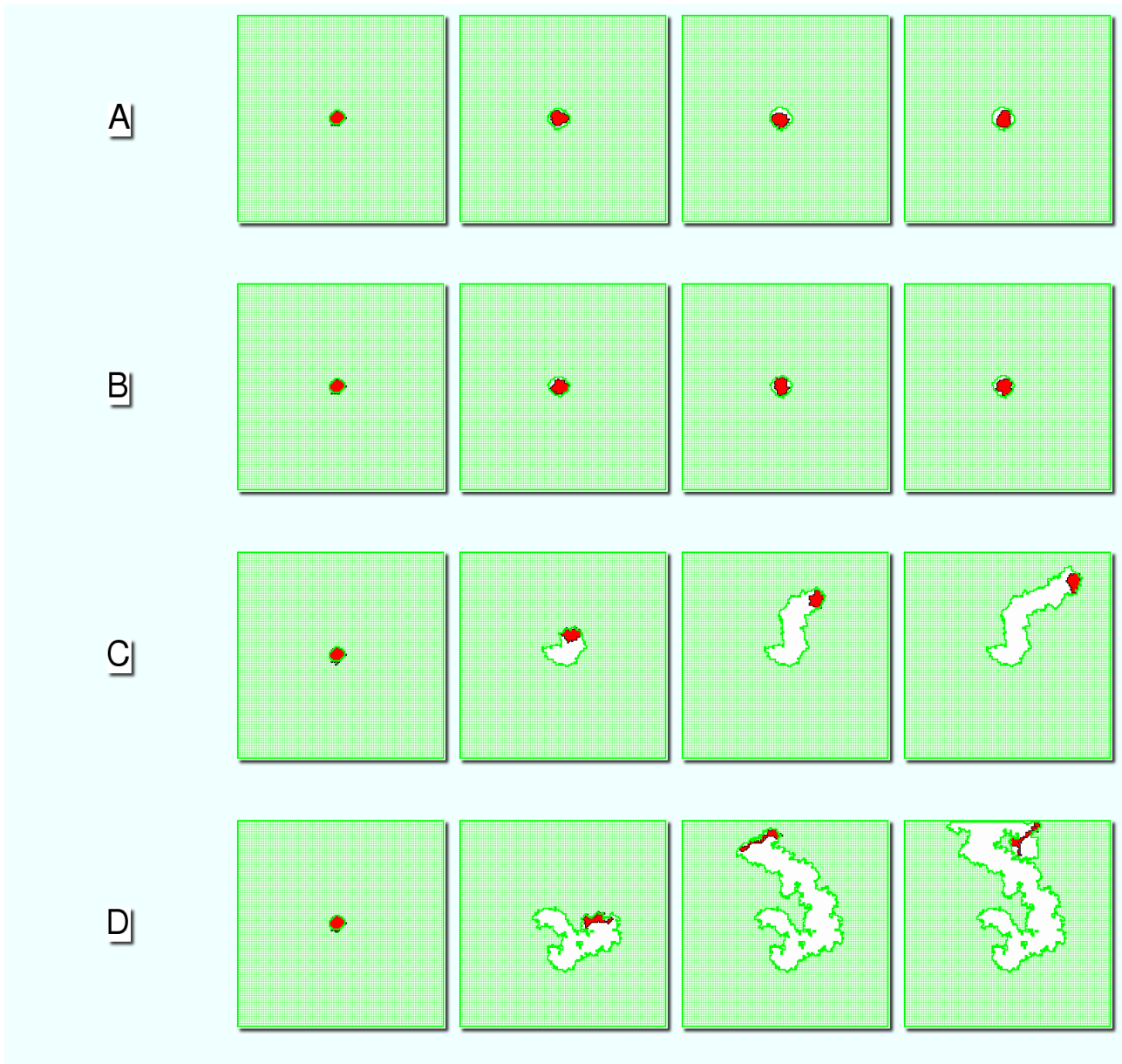
- C) Amennyiben az A értéke pozitív, és $J_{10}-A > 0$, akkor a sejt a kezdeti helyét elhagyva egy spontán választott irányban közel egyenletes sebességgel mozgást végez. A mozgás során a sejt alakja megközelítőleg gömbszerű marad, pályája véletlenszerűen kanyaroghat. A mozgás azonban mindig a sejt azon oldala felé történik, ahol felülete mátrixszal érintkezik. Ha a sejt kiürített, mátrixmentes területre érkezik, mozgása leáll. A mozgás sebessége csökken a B értékének növelésével és függ a J_{10} és A értékeitől.
- D) Ha az A paraméter pozitív és $J_{10} - A < 0$, akkor a sejt szintén a mátrix belseje felé kezd mozogni, azonban eközben alakja elnyúlt lesz a mozgás irányára közel merőlegesen. Az elnyúlt sejthalak oka az, hogy a sejtfelszín ilyenkor a lehető legnagyobb felületen igyekszik érintkezni a mátrixszal. A mozgás sebessége ingadozó: időnként lelassulás, megállás majd felgyorsulás figyelhető meg. Az átlagos sebesség csökken B növelésével és függ a J_{10} és A értékeitől.

Ezek a jelenségek alapvetően az (ECM5) feltétel következményei. A negatív értéke esetén a sejt és az ECM között taszítás lép fel, mivel a mátrix felszínétől való elszakadás a célfüggvényt A -val csökkenti felületegységként. A továbbiakban ezeket az eseteket nem vesszük figyelembe, mivel a modellezni kívánt probléma szempontjából nincs jelentőségük. Amennyiben A nulla, az eredeti CPM-hez csak a mátrix lebontásából származó, mozgást akadályozó hatás tevődik hozzá. Mivel az eredeti CPM-ben a magányos sejtek amúgy is képtelenek az aktív mozgásra, a bővített modell viselkedése is triviális.

Ha A pozitív, a célfüggvény értéke minden egyes sejt-ECM felületegység után A -val csökken, tehát az ECM-mel szomszédos felszínét növelő elemi lépések nagyobb valószínűséggel következnek be: a sejt a mátrixra tapad. Ha a $J_{10} - A$ különbség negatív, a sejt ECM-mel határos felülete instabillá válik, alakja elnyúlt, vékony lesz. Ez a viselkedés nem plauzibilis (nem illeszkedik a sejtekről alkotott képünkhöz). A felület növekedését bizonyos mértékben kompenzálja, ha a B értéke nagy, azonban kiköthetjük, hogy A legfeljebb kis mértékben múlhatja felül J_{10} értékét.

Az $A > 0$ esetben megfigyelhető irányított sejtmozgás mechanizmusa a következő. Mivel az ECM koncentráció értéke csökken, a haladó sejt egy kiürített „alagutat” hagy maga mögött. A sejt ECM-mel szomszédos felületein a felületi feszültség (a célfüggvényben a felület hosszához rendelt büntetés mértéke) lecsökken, ezért a felület fluktuációi megnőnek. Ezt úgy is interpretálhatjuk, hogy a sejtmembrán a mátrixszal érintkező részekben jobban fodrozódik. Az ECM-mel borított területbe irányuló elemi lépések valószínűsége nagyobb lesz, mint a hasonló, de ECM-

mel nem borított üres területet foglaló elemi lépéseké. Ezen kívül a sejt ECM-mel borított cella mellől történő visszalépésének valószínűsége átlagosan kisebb, mint a hasonló, de mátrix belseje felé való lépésnek, mivel visszalépés esetén a sejt mellett egy koncentrációmentes kiürített tér keletkezik, amelynek szomszédsága a célfüggvényt növeli. Amennyiben a sejt-ECM határ fluktuációinak ezt az asszimetriáját megszüntetjük, tehát a sejtmentes terület növekedését eredményező elemi lépések során keletkező üres cellákba az ECM állapotát is átmásoljuk, az irányított sejtmozgás a modellből eltűnik.



3. ábra. Magányos sejt mozgásának módosítói ECM-környezetben. A: Az A értéke nulla, tehát az ECM és a sejt között nem alakul ki kölcsönhatás, a sejt véletlen bolyongást végez. B: Az A értéke negatív, tehát az ECM és a sejt között taszítás lép fel. Ekkor a sejt bolyongása egy kis méretű kiürített területre korlátozódik. C: Az A értéke pozitív, de kisebb J_{10} értékénél. A sejt spontán választott irányban mozgást végez, alakja megközelítőleg gömbszerű marad. D: Az A értéke pozitív és nagyobb J_{10} -nál. Ekkor a sejt alakja megközelítőleg a mozgás irányára merőlegesen elnyúlt lesz.

A mozgás B paraméterétől (az ECM-mel borított területekre lépés nehézségétől) való függése könnyen átlátható. Amennyiben a koncentráció értéke 1, a konverzió valószínűsége e^{-B} -vel arányosan csökken. Ha a B értéke negatív, azt jelenti, hogy az elemi lépést az ECM jelenléte megkönnyíti, aminek a modellezett probléma szempontjából nincs biológiai értelmezése.

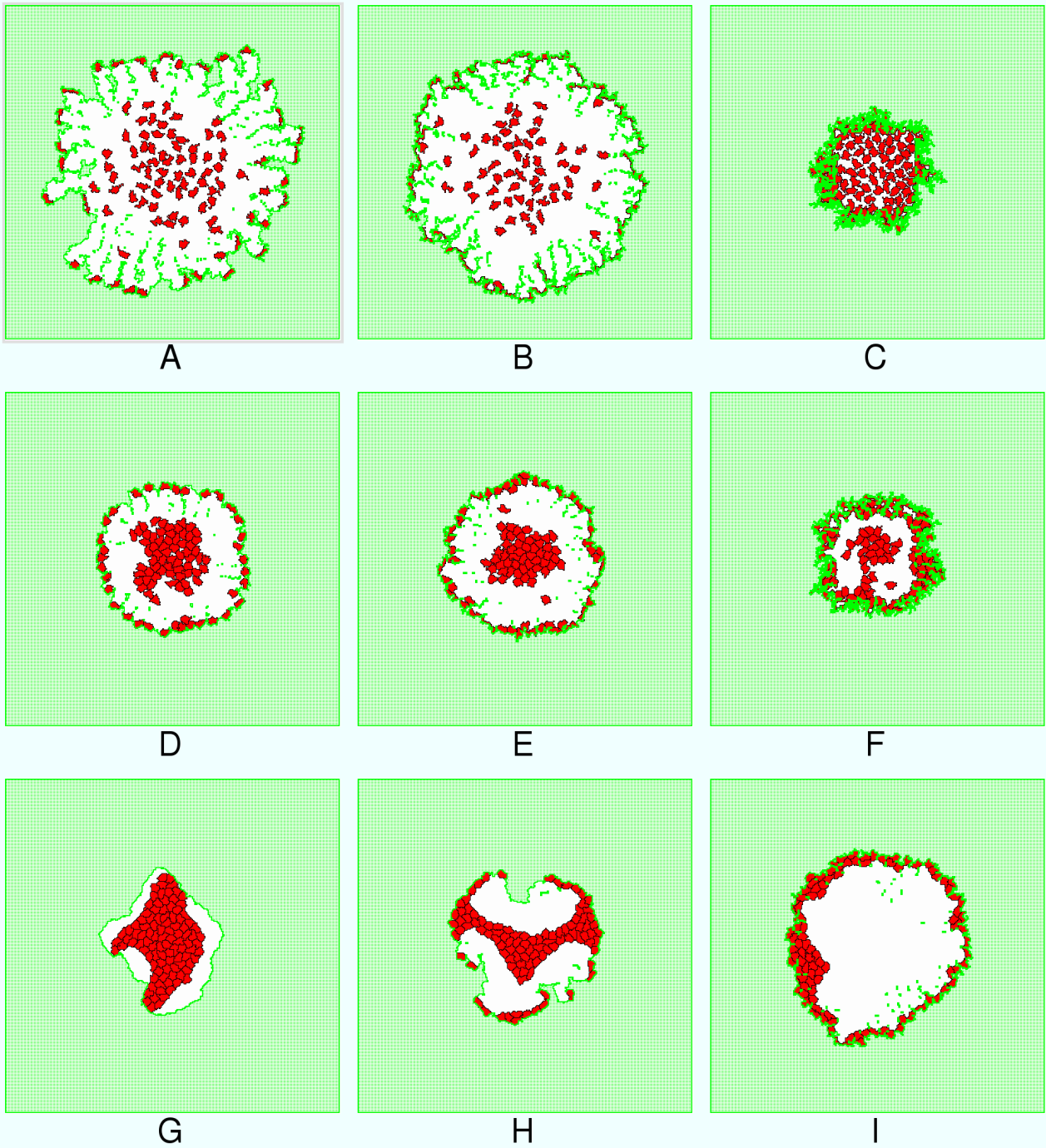
3.2 Aggregátumok sejtjeinek spontán mozgása ECM környezetben

Láttuk, hogy a modellben a sejtek kizárólag a mátrixszal való, általunk definiált szabályokon alapuló kölcsönhatása lehetővé teszi az irányított, perzisztens sejtmozgást. A több sejtből álló rendszerben ezeket a mozgásmintázatokat a sejt-sejt kölcsönhatások befolyásolhatják. A rendszer kollektív viselkedésére, térbeli eloszlására szintén nem következtethetünk a magányos sejtek által mutatott reakciókból, azonban megértésükhöz ezek képezhetik a kiindulási alapot.

A sejtaggregátumok az ECM általunk reprezentált formájával való kölcsönhatásának tanulmányozását tehát az alábbi szabályokra támaszkodva végezhetjük el.

- 1) A J_{11} értékét rögzítjük egy adott pozitív értékhez, mivel az 1.7 rész alapján a sejtcsoport kohézióját csak a J_{11} és J_{10} aránya szabja meg
- 2) A J_{10} , B és A értékeit csak a nemnegatív paramétertartományban vizsgáljuk.
- 3) Kikötjük, hogy A ne legyen sokkal nagyobb J_{10} -nál.
- 4) A modellt a lassú invázió (nagy B) határesetében vizsgáljuk: Ha a B értéke túl kicsi, az aggregátum legfelső rétege minden esetben igen gyorsan eltávolodik, és a hátrahagyott, diffúzív mozgást végző csoport nem tud kölcsönhatásba kerülni a mátrixszal, vagy az eltávolodott sejtekkel. Ennek kiküszöbölésére a B értékét mindig olyan nagynak választjuk meg, hogy a sejtek mozgását megfelelő mértékben lelassítsa.

A szimulációk alapján a következő kvalitatív megállapításokat tehetjük:



4. ábra. Aggregátum sejtjeinek spontán mozgása ECM környezetben. A szimuláció során J_{11} értéke minden esetben 1 volt.

A: $J_{10} = 0.25$ $A = 0.5$ $B = 5$

B: $J_{10} = 0.25$ $A = 1$ $B = 8$

C: $J_{10} = 0.25$ $A = 2$ $B = 17$

D: $J_{10} = 0.5$ $A = 0.5$ $B = 6$

E: $J_{10} = 0.5$ $A = 1$ $B = 9$

F: $J_{10} = 0.5$ $A = 2$ $B = 16$

G: $J_{10} = 1$ $A = 0.5$ $B = 5$

H: $J_{10} = 1$ $A = 1$ $B = 8$

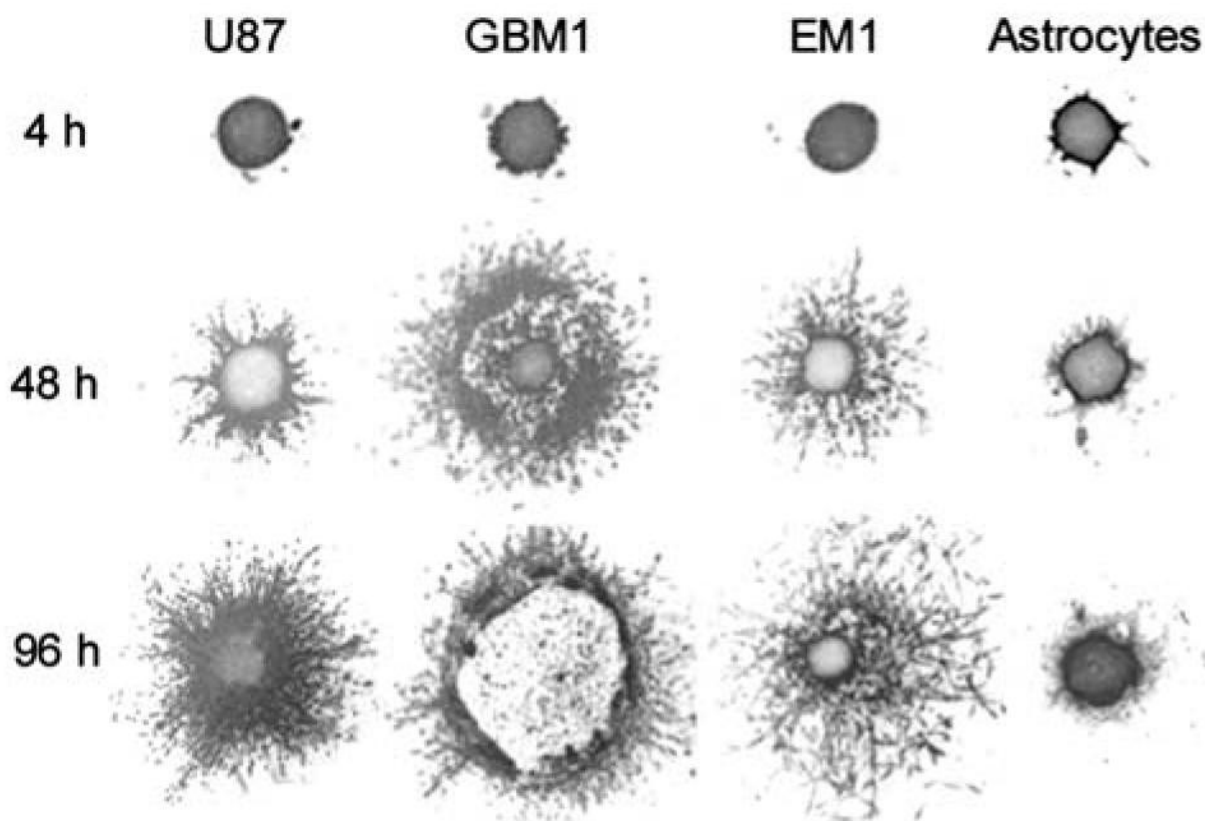
I: $J_{10} = 1$ $A = 2$ $B = 13$

- 1) Amennyiben $J_{11} < 2J_{10}$ és az $A < J_{11}$, a sejtcsoport jórészt szorosan kötött marad, maga körül kiürített teret hoz létre. Az aggregátum alakja deformálódhat, vastagabb nyúlványok jönnek létre, amelyek az ECM felületéhez tapadnak. Ha az A értékét növeljük, egyes elvékonyodott nyúlványdarabok le is szakadhatnak, az őket alkotó sejtek együttesen mozognak a mátrix belseje felé, a mozgás irányára közel merőleges vonalban húzódva szét. Esetenként nagyobb csoport maradhat hátra a mátrixmentes tartományban.
- 2) Ha $J_{11} < 2J_{10}$ és az $A > J_{11}$, az aggregátum belsejében a sejtek spontán szétválásának köszönhetően üreg jelenik meg, az aggregátum egy középponttól kifelé tartó táguló gyűrűt hozva létre. Az ECM-mentes üreg megjelenése időnként a felszínhez közel történik, ekkor a gyűrűben a sejtek eloszlása nem egyenletes, a gyűrű fel is szakadhat.
- 3) Ha J_{11} közel egyenlő $2J_{10}$ -val, az aggregátum felszínén található sejtréteg különálló sejtekre szétszakadozva táguló gyűrűt képez, míg a többi sejt a középpont körül többé-kevésbé szorosan kapcsolódva összecsoportosul. Az A növelésével a táguló frontban található sejtek alakja megnyúlik a sebességükre közel merőlegesen.
- 4) Ha $J_{11} > 2J_{10}$, a sejtek a 3) pontban leírt módon táguló gyűrűt hoznak létre, azonban a belső sejtaggregáció diffúzív mozgással szétszóródik.

A tapasztalt jelenségek megértéséhez az egyedi sejtekkel végzett vizsgálatból indulunk ki. Az ECM-mel érintkező sejtek a mátrix felületéhez tapadnak, és ha mozgásukat nem akadályozzák egyéb hatások, a mátrix belseje felé mozdulnak el. A 3) és 4) esetben a sejtdhézió nem elég jelentős az aggregátum összetartásához, ami ezáltal magányos sejtek csoportjára esik szét, melyek mozgásának jellege a fent leírt C) vagy A) mintázatot követi attól függően, hogy a sejt kezdetben érintkezett-e a mátrixszal (aggregátum felületén helyezkedett el), vagy nem érintkezett.

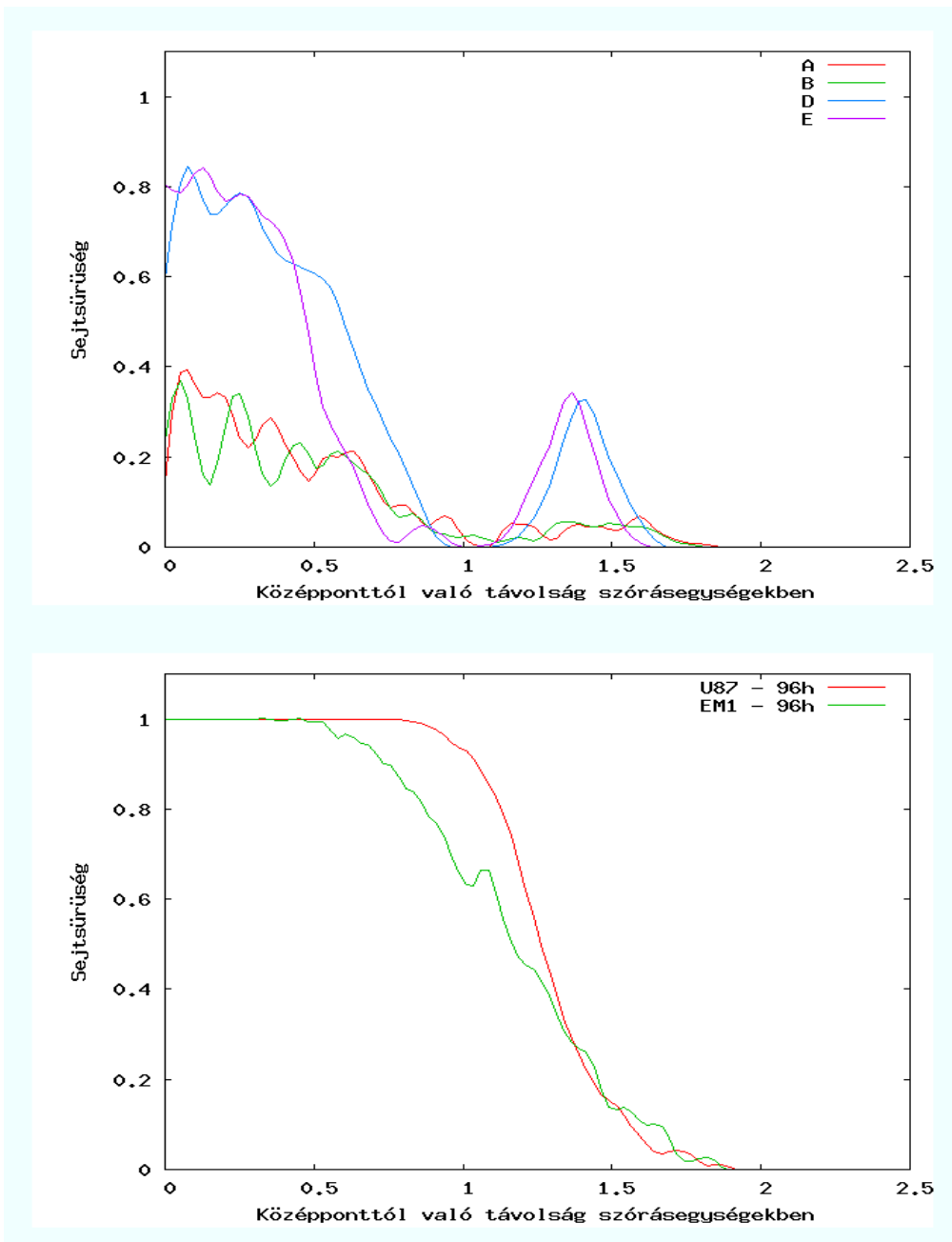
Az 1) és 2) pontban leírt mintázatok kialakulásában a sejt-sejt kapcsolatok is jelentősek. A két eset A és J_{11} arányában különbözik. A 2) esetben a sejt-ECM adhézió erőssége felülmúlja a sejt-sejt adhézió erősségét, így az üres terület keletkezésének valószínűsége az aggregátum belsejében nagyobb, míg az 1) esetben a sejtdhézió erősebb, a koncentrációmentes tér nagyobb valószínűséggel a sejtfelszín és a mátrix felszíne közt jön létre.

A 4. ábrán a szimulációk során kialakult, 1) - 4) pontokban tárgyalt mintázatok láthatók. Ezeket összehasonlítva az 5. ábrán látható humán agytumorsejtek háromdimenziós kollagénmátrixba történő inváziójának felvételeivel (Hegedűs, 2006) láthatjuk, hogy az időben táguló struktúrákat, a szimulációk, például a táguló gyűrű konfigurációt, az általunk javasolt egyszerű modell kielégítően megmagyarázza.

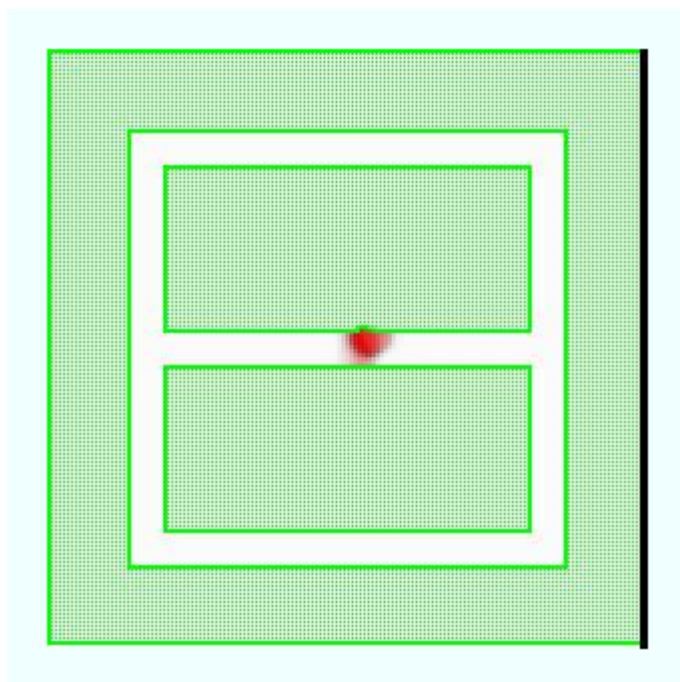


5. ábra Humán agytumorsejtek inváziója három dimenziós kollagén mátrixba. (Hegedűs, 2006)

Ugyanakkor, az aggregátumból kiszakadó sejtek mozgása a modellben nem egyezik a kísérletekben tapasztaltakkal. Ahogy a konfigurációk radiális sűrűségeloszlása is mutatja (6. ábra), a modellben az invazív sejtek egy jól elkülöníthetően magasabb sejtsűrűségű tartományban haladnak kifelé, míg a kísérletekben a sejtsűrűség egyenletesen csökken, és a sejtek nem szerveződnek egy táguló frontba. Valószínűsíthető, hogy ez a modell a vizsgált problémakört túl egyszerűsíti: elhanyagoltuk a sejtek aktív mozgását. Bár a sejtek képesek a mátrix inváziójára, nem homogén mátrix eloszlás esetén azonban képtelenek irányított mozgásra. Ennek bemutatására az ECM koncentrációtérben kialakítunk egy kiürített csatornákból álló alagútrendszert, és ebbe egy sejtet helyezünk el. Ahogy az 7. ábra mutatja, a sejt az alagút falára merőleges irányban próbál mozogni. Általános kísérleti tapasztalat azonban, hogy a sejtek egymás vagy maguk által kialakított ösvényekben, alagutakban nagyobb valószínűséggel közlekednek, mint a sűrű keresztkötések miatt sok proteolitikus hasítást követelő homogén mátrixban (Friedl, 2008). Ennek megfelelően, a modellszimulációkban az inhomogén mátrixeloszlást érző sejtpopuláció már nem mozog irányítottan kifelé, hanem sokkal lassabb, diffúzív mozgást végez az eredeti aggregátum környezetében.



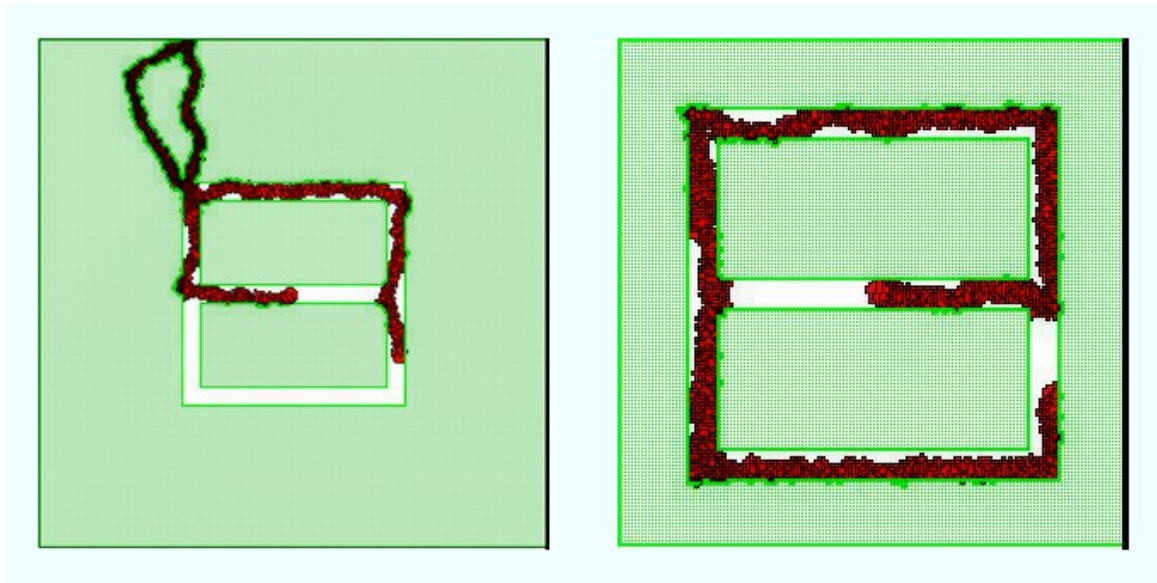
6. ábra A modell konfigurációinak és a tumorsejtek inváziójának radiális sűrűségeloszlása. A modell által generált konfigurációkban jól elkülöníthető csúcs látható a kifelé haladó front helyén, míg a kísérletekben a sűrűség egyenletesen csökken.



7. ábra Csatornarendszerbe helyezett aktív mozgásra nem képes sejt. A sejt az alagút falára merőleges irányban próbál mozogni. Az ábra átlag projekcióval készült a szimuláció során felvett képekből.

3.3 Egyedi sejtek aktív mozgása inhomogén ECM környezetben

Hogy az invazív sejtek mozgását jobban leíró modellt kapjunk, kiegészítettük a modellt az aktív sejtmozgást lehetővé tevő (CPMa1) és (CPMa2) szabályokkal. Amennyiben a alagúrendszerben az 1.8 részben bemutatott aktív mozgásra képes sejtet helyezünk el, az úgy tűnik kielégítő módon visszadja az elvárt viselkedést: részben a csatorna mentén mozog, azonban új alagút kialakítására is képes (8. ábra).



8. ábra Aktív mozgásra képes sejt csatornakövetése és új alagút kialakítása. A bal oldali ábra: $P = 5$, $r = 0.1$, $A = 1$. A jobb oldali ábra : $P = 3$, $r = 0.1$, $A = 0$. Az ábrák a szimulációban felvett képekből minimum projekcióval készültek.

3.4 Összefoglalás

A több sejtet tartalmazó, aktív mozgást és sejt-mátrix-kapcsolatokat is definiáló modell még további vizsgálatok tárgya. Összefoglalásképpen megállapíthatjuk, hogy a definiált modell sikeresen megmagyaráz bizonyos kísérleti tapasztalatokat, így a sejt-sejt adhéziótól függő, esetenként gyűrű alakú morfológiáját a tumorsejt-aggregátumoknak. Aktív sejtmozgással kiegészítve pedig plauzibilis viselkedést eredményez inhomogén ECM környezetben is.

4. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Czirók Andrásnak a szakdolgozat elkészítéséhez nyújtott segítségért és útmutatásért. Köszönettel tartozom továbbá Szabó Andrásnak, amiért felhasználhattam többek között a sejtpolarizációra vonatkozó programkódjait, és hogy segítségemre volt bármilyen felmerülő elméleti és gyakorlati kérdés megválaszolásában.

5. Irodalom

- D. A. Beysens, G. Forgacs and J. A. Glazier. *Cell sorting is analogous to phase ordering in fluids*. PNAS 97:9467-71, 2001.
- Sharona Even-Ram and Kenneth M. Yamada. *Cell migration in 3D matrix*. Curr. Opin. Cell Biol., 17:524-532, 2005.
- Gabor Forgacs, Ramsey A. Foty, Yinon Shafrir and Malcolm S. Steinberg. *Viscoelastic properties of living embryonic tissues: a quantitative study*. Biophys J, 74: 2227-2234, 1998.
- Ramsey A. Foty, Cathie M. Pfleger, Gabor Forgacs and Malcolm S. Steinberg. *Surface tensions of embryonic tissues predict their mutual envelopment behavior*. Development, 122: 1611-1620, 1996.
- Ramsey A. Foty and Malcolm S. Steinberg. *The differential adhesion hypothesis: a direct evaluation*. Dev. Biol, 278: 255-263, 2005.
- Peter Friedl and Katarina Wolf. *Tube travel: the role of proteases in individual and collective cancer cell invasion*. Cancer Res, 68: 7247-7249, 2008.
- James A. Glazier and Francois Graner. *Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells*. Pys. Rev. E, 47: 2128-2154, 1993.
- B. M. Gumbiner. *Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis*. Nat Rev Mol Cell Biol. 6:622-34, 2005.
- Balázs Hegedüs, Françoise Marga, Károly Jakab, Kathy L. Sharpe-Timms and Gabor Forgacs. *The interplay of cell-cell and cell-matrix interactions in the invasive properties of brain tumors*. Biophys J 91: 2708-2716, 2006.
- J. A. Izaguirre, R. Chaturvedi, C. Huang, T. Cickovski, J. Coffland, G. Thomas, G. Forgacs, M. Alber, G. Hentschel, S. A. Newman and J. A. Glazier. *CompuCell, a multi-model framework for simulation of morphogenesis*. Bioinformatics, 20: 1129-1137, 2004.
- Douglas A. Lauffenburger and Alan F. Horwitz. *Cell migration: A physically integrated molecular process*. Cell, 84: 359-369, 1996.

- Gargi Maheshwari and Douglas A. Lauffenburger. *Deconstructing (and reconstructing) cell migration*. *Microsc Res Tech*, 43: 358-368, 1998.
- Roeland M. H. Merks and Pieter Koolwijk. *Modeling morphogenesis in silico and in vitro: towards quantitative, predictive, cell-based modeling*. *Math. Model. Nat. Phenom.*, 3:1-3, 2008.
- Steven Munevar, Yu-li Wang and Micah Dembo. *Traction force microscopy of migrating normal and h-ras transformed 3t3 fibroblasts*. *Biophys J*, 80: 1744-1757, 2001.
- Anne J. Ridley, Martin A. Schwartz, Keith Burridge, Richard A. Firtel, Mark H. Ginsberg, Gary Borisy, J. Thomas Parsons and Alan Rick Horwitz. *Cell migration: Integrating Signals from Front to Back*. *Science*, 302: 1704-1709, 2003.
- A. Szabo, R. Unnep, E. Mehes, W. O. Twal, S. W. Argraves, Y. Cao and A. Czirok: *Collective cell motion in endothelial monolayers* (preprint)
- G. Szabó. *Sejtbiológia*. Medicina Kiadó, 2004.