



Effect of Matrix Fiber Orientation under Fluid Flow on Endothelial Vasculogenesis using Cellular Potts Model

Abdi, Pooya¹ / Vahidi, Bahman^{2*}

¹ - Ph.D. in Biomedical Engineering, Department of Medical Technologies and Tissue Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST), University of Tehran, Tehran, Iran

² - Associate Professor, Department of Medical Technologies and Tissue Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST), University of Tehran, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

DOI: 10.22041/ijbme.2023.1998780.1835

Received: 20 March 2023

Revised: 26/6/2023 – 25/10/2023

Accepted: 25 October 2023

KEYWORDS

Cellular Potts Model
Angiogenesis
Extracellular Matrix
Fiber Orientation
Cellular Guidance

ABSTRACT

Topography of extracellular matrix plays a major role in many biological events including tissue healing, morphogenesis and growth. It is known that matrix constitution and mechanical properties are deciding factors in governing the fate of its inhabitant cells. Besides the direct mechanical cues, matrices also facilitate the release and uptake of certain chemicals and participate in cell-cell and cell-ECM crosstalk. Mechanical strains in the matrix are proved to direct endothelial cell migration and elongation leading to angiogenesis, and there is a consensus that matrix stiffness, fiber density and fiber orientation can enhance angiogenesis in the preferred direction of stiffness gradient. In this study, we specifically investigated the role of topography in guidance of endothelial self-reorganization prompted by the effect of fluid flow hindrance and facilitation in certain directions. We adopted our previous model of fluid flow guided angiogenesis for cellular responses. Lattice Boltzmann model of fluid flow was adopted and modified to study the effect of unidirectional and randomly oriented fibers. To study the effect of fiber orientation, we customized a previously proposed model of porosity in lattice Boltzmann to suit this purpose. This model could reproduce the effects of fiber orientations in matrix on endothelial migration and vasculogenesis. Simulations showed better confluency of formed lumens when prescribed flow is in the direction of fiber orientation. These results can have further implications in understanding endothelial complications in certain diseases as well as in tumor angiogenesis and metastasis.

***Corresponding Author**

Address: Department of Medical Technologies and Tissue Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies (FNST), University of Tehran, Tehran, Iran

Postal Code: 14395-1561

E-Mail: bahman.vahidi@ut.ac.ir

Tel: +98-21-86093021





اثر جهت‌گیری فیبرهای ماتریس خارج سلولی تحت جریان سیال بر رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال با استفاده از مدل سلولی پاتس

عبدی، پویا^۱ / وحیدی، بهمن^{۲*}

^۱ - دانشجوی مهندسی پزشکی، گروه فناوری‌های پزشکی و مهندسی بافت، دانشکده‌گان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشکده‌ی مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
^۲ - دانشیار، گروه فناوری‌های پزشکی و مهندسی بافت، دانشکده‌گان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشکده‌ی مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مشخصات مقاله

شناسه‌ی دیجیتال: 10.22041/ijbme.2023.1998780.1835

پذیرش: ۳ آبان ۱۴۰۲

بازنگری: ۱۴۰۲/۴/۵ - ۱۴۰۲/۸/۳

ثبت در سامانه: ۲۹ اسفند ۱۴۰۱

چکیده

واژه‌های کلیدی

توپوگرافی ماتریس خارج سلولی نقش مهمی در بسیاری از رویدادهای بیولوژیکی از جمله بهبود بافت، مورفوژنز و رشد دارد. مشخص شده است که ساختار ماتریس و خواص مکانیکی آن از جمله عوامل تعیین کننده در تعیین سرنوشت سلول‌های ساکن آن می‌باشند. علاوه بر عوامل مستقیم مکانیکی، ماتریس‌ها همچنین آزادسازی و جذب برخی مواد شیمیایی را تسهیل کرده و در برهم‌کنش‌های سلولی و سلول-ماتریس شرکت می‌کنند. ثابت شده است که کرنش‌های مکانیکی در ماتریس، مهاجرت و طویل شدن سلول‌های اندوتلیال را که منجر به رگ‌زایی می‌شود، هدایت می‌کند و اتفاق نظر وجود دارد که سفتی ماتریس، تراکم فیبر و جهت‌گیری فیبر می‌تواند رگ‌زایی را در جهت‌گرادیان سفتی افزایش دهد. در این مطالعه به طور خاص نقش توپوگرافی در هدایت خودسازماندهی سلول‌های اندوتلیال ناشی از اثر مانع در مقابل جریان مایع و تسهیل جابه‌جایی سلولی در جهت‌های خاص بررسی شده است. بدین منظور مدل رگ‌زایی هدایت شده با جریان مایع که پیش‌تر توسط نویسندگان مقاله‌ی حاضر ارائه شده برای پاسخ‌های سلولی انتخاب شده است. مدل شبکه‌ی بولتزنم جریان سیال برای مطالعه‌ی اثر الیاف یک طرفه و جهت‌گیری‌های تصادفی الیاف اتخاذ و اصلاح شده است. برای مطالعه‌ی اثر جهت‌گیری فیبر، یک مدل پیشنهادی قبلی از تخلخل در شبکه‌ی بولتزنم برای مطابقت با این هدف اصلاح و بهبود داده شده است. این مدل می‌تواند اثرات جهت‌گیری فیبر در ماتریس بر مهاجرت اندوتلیال و وسکولوژنز را بازتولید کند. شبیه‌سازی‌ها پیوستگی بهتر لومن‌های تشکیل شده را زمانی که جریان محلی در جهت فیبر باشد نشان داده است. این نتایج می‌تواند پیامدهای قابل مطالعه‌ای در درک نارسایی‌های سلول‌های اندوتلیال در برخی بیماری‌ها و همچنین در رگ‌زایی و متاستاز تومور داشته باشد.

*نویسنده‌ی مسئول

نشانی: گروه فناوری‌های پزشکی و مهندسی بافت، دانشکده‌گان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشکده‌ی مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
کد پستی: ۱۴۳۹۵-۱۵۶۱
پست الکترونیک: bahman.vahidi@ut.ac.ir
تلفن: ۹۸-۲۱-۸۶۰۹۳۰۲۱



۱- مقدمه

جایگیری تمام سلول‌های انسانی در ماتریس خارج سلولی (ECM) به این معنی است که این بسترها نقش عمده‌ای در برقراری ارتباط با ساکنان خود از طریق مسیرهای شیمیایی و فیزیکی دارند. از این رو خواص مکانیکی ماتریس می‌تواند سرنوشت و مسیرهایی را که هر سلول در طول عمر خود طی می‌کند را از طریق مکانیسمی به نام انتقال مکانیکی تعیین کند. اگر چه این پدیده شامل تمام سلول‌ها می‌شود اما برخی از سلول‌ها به دلیل عواقبی که در بسیاری از بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها دارند و همچنین مستعد بودن به محرک‌های مکانیکی به دلیل ماهیت عمل‌کردشان، در کانون توجه مطالعات قرار گرفته‌اند. سلول‌های اندوتلیال در هر دو دسته قرار می‌گیرند. اختلال عمل‌کرد اندوتلیال در بسیاری از شرایط پاتولوژیک از جمله رتینوپاتی دیابتی، آرتروز روماتوئید، رشد تومور و التهاب نقش مهمی دارد. همچنین هدف سلول‌های اندوتلیال این است که دیواره‌های داخلی رگ‌ها را بپوشانند و جریان خون را هدایت کنند که در واقع باید جریان خون را حس کرده و بر اساس آن واکنش نشان دهند.

علاوه بر عوامل شیمیایی مانند فاکتور رشد عروقی که مورفوژن اندوتلیال را در رگ‌زایی و وسکولوژن هدایت می‌کنند، یکی از جنبه‌های مورد مطالعه در زمینه مکانیک اندوتلیال اثر تنش برشی است. تنش‌های مکانیکی ناشی از ماتریس نیز به طور خاص مورد مطالعه قرار گرفته و در مورد تاثیر چگالی، ناهمگنی و سفتی ماتریس در تغییر پاسخ‌های اندوتلیال تحقیقات زیادی انجام شده است. این پاسخ‌ها شامل تنظیم اتصالات کانونی^۱ و کاهش سرعت مهاجرت روی ماتریس‌های سفت است. همچنین حدس زده می‌شود که تنش‌های موجود در ماتریس توسط سلول‌های اندوتلیال حس شده و باعث مهاجرت جهت‌دار و قطبی‌شدگی^۲ سلولی می‌شود.

در مدل‌های قبلی، اثر انتقال مکانیکی در شروع و هدایت رگ‌زایی و وسکولوژن^۱ و همچنین تاثیر توپوگرافی ماتریس بر مورفوژن عروق^۲ بررسی شده است. این مدل‌ها بر اساس بازخورد تنش-کرنش بین سلول‌ها و ماتریس تعریف شده به این معنی که حرکت سلول‌ها در ماتریس نیازمند تخریب برخی از قسمت‌های ماتریس توسط متالوپروتئازهای ماتریس^۳ ترشح شده توسط سلول‌ها و ایجاد اتصالات جدید سلول-ماتریس از طریق اینتگرین‌ها است. تنش‌های وارد شده توسط یک سلول

روی ماتریس توسط سلول‌های مجاور به عنوان نشانه‌هایی برای پاسخ‌های سلولی حس می‌شود. این فرایند به خودسازمان‌دهی مجدد یک کلنی از سلول‌ها به ساختارهای عروقی و شبکه‌ای منجر می‌شود. چگالی و جهت‌گیری الیاف در ماتریس می‌تواند ازدیاد طول و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را با همان مکانیسم هدایت کند [۲]. مدل‌های دیگری نیز برای شبیه‌سازی فرایندهای سطح سلولی ارائه شده است که از جمله‌ی این فرایندها می‌توان به تشکیل و جداسازی اتصالات کانونی، تولید نیروی کشش فعال و دوروتاکسی^۴ سلولی برای بازتولید سلول‌های سرطان سینه‌ی MCF-10A که روی ژل‌های کلاژن مهاجرت می‌کنند [۳] و اثر سفتی ماتریس بر مهاجرت هدایت شده‌ی سلول به سمت بسترهای سفت‌تر در یک مدل سه‌بعدی تشکیل فیلوپودیوم و اتصال به ماتریس [۴] اشاره کرد. یک مدل ترکیبی چندمقیاسی^۵ با هدف بررسی نقش اثرات سلول‌های غیرمحلّی بر سلول‌های بومی بر تشکیل تجمع در تومور و الگوهای مهاجرت آن پیشنهاد شده است. این مدل پیش‌بینی می‌کند که تجمع‌های سلول‌های اندوتلیال در تومور با فیبرهای غیرجهت‌دار تشکیل نمی‌شود در حالی که اگر فیبرها به صورت یک‌جبهه هم‌راستا باشند می‌توانند باعث تسهیل مهاجرت شوند. گزارش شده است که در تومور ساکن، سلول‌ها ابتدا به شکل‌های دایره‌ای یا نامنظم شکل گرفته و برآمدگی‌هایی ایجاد می‌کنند و سپس با دراز شدن و ایجاد کشیدگی رشته‌هایی را در جهت هم‌راستا با فیبرهای یک‌طرفه تشکیل می‌دهند [۵].

اگر چه این مدل‌ها می‌توانند مورفوژن عروقی و پاسخ‌های اندوتلیال را تا حد قابل قبولی بازتولید کنند اما این مکانیسم تنها یکی از محرک‌های بسیاری است که سلول‌ها دریافت می‌کنند. کموتاکسی^۶ (حرکت سلول به سمت گرادیان‌های شیمیایی بالاتر) نیز مکانیسم دیگری در این مفهوم بوده که به طور گسترده مورد مطالعه و مدل‌سازی قرار گرفته است. پیش‌تر مدلی از وسکولوژن توسط نویسندگان مقاله‌ی حاضر ارائه شده که توسط الگوهای جریان هدایت شده و نشان داده شده است که تنش برشی ناشی از سیال و تنش‌های عادی که توسط غشای سلول‌های اندوتلیال حس می‌شود می‌تواند رگ‌زایی، آناستوموز، بازجذب^۷ عروق و برخی از جنبه‌های دیگر عمل‌کرد اندوتلیال را بازتولید کند [۶]. در مطالعه‌ی حاضر از همان مدل رگ‌زایی برای بررسی اثر جهت‌گیری فیبر ماتریس بر رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال استفاده شده است.

^۱ Multi-Scale^۲ Chemotaxis^۳ Regression^۱ Focal Adhesion^۲ Polarization^۳ Matrix Metalloprotease^۴ Durotaxis

در این رابطه t_n و t_s به ترتیب تنش‌های نرمال و برشی روی سطح سلول، α و β ثابت‌های از پیش تعریف شده، $\text{Sig}(\cdot)$ تابع سیگموئیدی و thr یک آستانه‌ی ثابت است که اگر تنش نرمال از آن بالاتر باشد سلول‌ها ترجیح می‌دهند پیکسلی که در آن چنین تنشی وجود دارد را رها کنند. رابطه‌ی (۴) فقط برای سلول‌هایی اعمال شده که مورد تهاجم قرار گرفته و باید در مورد این که آیا می‌توانند این پیکسل را به طرف مهاجم واگذار کنند یا خیر تصمیم بگیرند. این رابطه بیان می‌کند که سلول‌هایی که مورد تهاجم قرار می‌گیرند در صورتی که تنش نرمال ناشی از سیال بالاتر از آستانه باشد و تنش‌های برشی روی همان پیکسل به اندازه‌ی کافی برای حفظ پیکسل بالا نباشد، تمایل بیش‌تری برای از دست دادن پیکسل مورد مناقشه دارند. در این‌جا شرط مورد هجوم واقع شدن و تلاش برای حفظ یک پیکسل خاص در رابطه‌ی (۴) به عنوان پاسخ غیرفعال سلولی شناخته می‌شود. پیش‌تر نشان داده شده که این پاسخ غیرفعال برای بازتولید بسیاری از رفتارهای سلول‌های اندوتلیال از جمله رگ‌زایی کافی است [۸]. اما در این مدل، پاسخ سلولی فعال دیگری به صورت رابطه‌ی (۵) معرفی می‌شود.

$$\Delta H_{flow}^{Active} = -\alpha \begin{cases} 3t_n & \text{if } t_n < thr \\ 0 & \text{if } t_n \geq thr \end{cases} \quad (5)$$

رابطه‌ی (۵) بیان می‌کند که احتمال تلاش یک سلول برای اشغال یک پیکسل جدید و افزایش حجم آن، اگر تنش نرمال در نوک مهاجم کم‌تر از حد آستانه باشد افزایش می‌یابد. این پاسخ فعال در کنار پاسخ غیرفعال (رابطه‌ی ۴) می‌تواند تشکیل سریع‌تر و پایدارتر لومن‌ها را با تشکیل پیوند سلولی بهتر در مرزهای لومن بازتولید کند. پارامتر دیگری که در مدل گنجانده شده مربوط به T (معروف به دما) در رابطه‌ی (۱) است. پارامتری به عنوان افزایش طول سلولی (طول شدگی) نیز در مدل به صورت رابطه‌ی (۶) تعریف شده است.

$$Elongation = (S_{cell} / V_{cell}) \quad (6)$$

بر این اساس پارامتر T در رابطه‌ی (۱) برای هر سلول با توجه به طول شدگی آن مطابق رابطه‌ی (۷) تغییر پیدا می‌کند.

$$T = T_0(V_{cell}/S_{cell}) \quad (7)$$

این دست‌کاری دمای سلول‌ها در مدل این امکان را فراهم می‌کند تا کاهش تحرک سلول‌های درازتر و یا گسترده‌تر که با تشکیل اتصالات سلول-ماتریس همراه است در مدل وارد شود.

در این مدل اثر خواص فیزیکی ماتریس نه بر اساس تحریکات مستقیم مکانیکی (تنش‌ها، کرنش‌ها و سفتی مواد) بلکه به عنوان پیامدهای غیرمستقیم ناشی از مایعات میان‌بافتی در محیط سلول‌ها توصیف می‌شود. بر اساس این مدل تنظیم جریان سیال در انواع ماتریس‌های مختلف می‌تواند نقش عمده‌ای در الگوهای مختلف رگ‌زایی، وسکولوزنز و تشکیل لومن که در شرایط آزمایشگاهی دیده می‌شود داشته باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مدل سلولی پاتس

برای مدل‌سازی رفتارهای سلولی از مدل سلولی پاتس^۱ استفاده شده است. این مدل یک سیستم تصادفی آماری است و در آن شبکه‌ای از پیکسل‌هایی تعریف می‌شود که هر کدام از آن‌ها یا متعلق به یک سلول خاص و یا متعلق به پس‌زمینه (ماتریس) هستند. در این مدل یک تابع همیلتونی تعریف شده که سعی می‌شود با تغییر تصادفی سیستم این تابع به حداقل رسانده شود. به طور خاص در هر مرحله یک پیکسل تصادفی سعی می‌کند ویژگی‌های خود را به یک پیکسل همسایه کپی کند و این کار تنها با احتمال $P[\text{transition}]$ موفقیت‌آمیز است [۶].

$$Pr[\text{transition}] = \begin{cases} 1 & \text{if } \Delta H \leq 0 \\ \exp\left(\frac{-\Delta H}{T}\right) & \text{if } \Delta H > 0 \end{cases} \quad (1)$$

در این رابطه ΔH تابع انرژی همیلتونی بوده که مجموع بسیاری از توابع انرژی پایه‌ای‌تر است که از آن جمله می‌توان به توابع انرژی اتصال سلول، اتصال سلول-ماتریس، حجم سلول و انرژی‌های سطحی و به ویژه تنش‌های برشی سیال و نرمال که در مدل این مقاله نیز از آن استفاده شده اشاره کرد [۶]. این انرژی‌ها و پارامترهای انتخاب شده برای این مدل شامل رابطه‌ی (۲) برای اعمال محدودیت‌های حجمی برای هر سلول و رابطه‌ی (۳) برای اعمال محدودیت برای سطح غشای سلولی است [۶].

$$\Delta H_{Volume} = \lambda_{Volume} (V_{cell} - V_{target})^2 \quad (2)$$

$$\Delta H_{Surface} = \lambda_{Surface} (S_{cell} - S_{target})^2 \quad (3)$$

یک تابع انرژی جدید برای توصیف اتصالات سلول-ماتریس و سفتی یا چگالی آن‌ها در حضور تنش برشی و تنش‌های نرمال اعمال شده بر غشای سلولی به شکل زیر تعریف شده است [۸].

$$\Delta H_{flow}^{Passive} = -\alpha \begin{cases} t_n - thr & \text{if } t_n > thr \\ 0 & \text{if } t_n \leq thr \end{cases} + \beta (\text{Sig}(t_s) - 0.5) \quad (4)$$

^۱ Cellular Potts Model

۲-۲- روش شبکه‌ی بولتزمن

روش شبکه‌ی بولتزمن^۱ (LBM) فرم ساده‌سازی شده‌ی معادله‌ی جنبشی بولتزمن بوده که برای مدل‌سازی مزوسکوپی جریان سیال توسعه داده شده است. در این روش یک فضای دکارتی گسسته ایجاد شده که در آن هر گره از شبکه مجموعه‌ای از چگالی‌های فرضی از مولکول‌ها (f_i) را در خود جای داده که در یکی از مجموعه‌های گسسته شده از جهت‌های C_i به نام جهت‌های سرعت حرکت کرده و سیستم برای بازه‌های زمانی Δt به‌روزرسانی می‌شود. روند به‌روزرسانی سیستم توسط تعدادی از مراحل کنترل شده که f_i ‌های جدید را پس از هر مرحله‌ی زمانی از طریق برخی معادلات حاکم که بقای جرم، تکانه و انرژی را تضمین می‌کنند محاسبه می‌کند. شبکه‌ی D2Q9 یک شبکه‌ی دوبعدی بوده که در آن سرعت به ۹ بخش (یک گره ساکن به همراه جهت‌های مربوط به ۸ گره مجاور) گسسته‌سازی شده است. معادلات حاکم بر شبکه‌ی بولتزمن شامل دو مرحله‌ی اصلی پخش (جریان) و برخورد است [۷].

$$f_i(x + c_i \Delta t, t + \Delta t) - f_i(x, t) = -\Delta t (Q_i - S_i) \quad (۸)$$

مرحله‌ی پخش با رابطه‌ی (۸) کنترل شده که در آن Q_i عمل‌گر برخورد است که معمولاً توسط عمل‌گر BGK (رابطه‌ی ۹) تعریف می‌شود [۷].

$$Q_i = (f_i - f_i^{eq}) / \tau \quad (۹)$$

در این رابطه τ پارامتر ثابت زمانی و f_i^{eq} تابع توزیع چگالی‌ها در حالت تعادلی است [۷] که با رابطه‌ی (۱۰) تعریف می‌شود.

$$f_i^{eq}(\rho, u) = \frac{w_i \rho}{\rho_0} \left(1 + \frac{m}{k_B T} c_i \cdot u + \frac{m}{2\rho k_B T} \left(\frac{m}{k_B T} (c_i \cdot u)^2 - |u|^2 \right) \right) \quad (۱۰)$$

در این رابطه ρ چگالی ماکروسکوپی، u سرعت سیال و w_i پارامتر وزن مربوط به نوع گسسته‌سازی (در این جا D2Q9) است. همچنین S_i در رابطه‌ی (۸) معرف تابع منبع است که برای وارد کردن نیروهایی مانند گرانش و نفوذپذیری در سیستم تعریف می‌شود. در این مقاله از روش شبکه‌ی بولتزمن (LBM) برای شبیه‌سازی جریان در بافت ماتریس و بین سلول‌های اندوتلیال و محاسبه‌ی پارامترهای جریان مانند سرعت و تنش‌های برشی و نرمال استفاده شده است. برای این منظور طرح گسسته‌سازی D2Q9 اتخاذ شده است. اختلاف فشار به

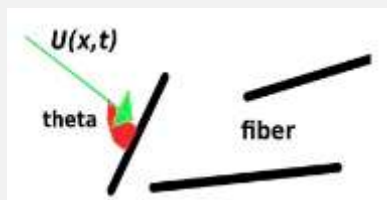
مرزهای ورودی (چپ) و خروجی (راست) اعمال شده و سایر مرزها به عنوان مرزهای جامد بدون لغزش تعریف شده است (شکل ۱). مدل اسپید و فلن^۲ با برخی تغییرات برای تعریف تورنوسیت^۳ در ماتریس [۹] اتخاذ شده است. این مدل با تعریف یک تابع منبع (S_i در رابطه‌ی ۸) به سادگی بیان می‌کند که با تغییر مقیاس سرعت در تابع توزیع تعادل در LBM توسط رابطه‌ی (۱۱) می‌توان تداخل را مدل‌سازی کرد.

$$U(x, t) = u(x, t) \times (1 - \beta \tau) \quad (۱۱)$$

در این رابطه τ ثابت زمانی در مدل و β ثابت تعیین‌کننده‌ی تداخل ماتریس است. برای مدل‌سازی آرایش و جهت‌گیری فیبر، این مدل با ترکیب کردن مقاومتی که هر میکروفیبر در جریان القا می‌کند اصلاح شده است (شکل ۱). با فرض این که هر فیبر منفرد در ماتریس، مقاومتی قابل مقایسه با بخش عمود بر جریان محلی دارد، مقاومت به صورت زیر تعریف می‌شود.

$$R = \text{dot}(U, L^T) / \|U\| \|L\| \quad (۱۲)$$

در این رابطه R مقاومت در مقابل جریان و U و L بردارهای سرعت محلی و جهت فیبر محلی است. سپس β در رابطه‌ی (۱۱) با این ضریب مقاومت تغییر مقیاس داده شده است.



شکل (۱) - جهت جریان محلی (U) که با یک فیبر زاویه‌ی θ ایجاد کرده است، مقاومتی که این فیبر منفرد نسبت به U موضعی ایجاد می‌کند با بخشی از جریان که عمود بر فیبر بوده مرتبط است (رابطه‌ی ۱۲)

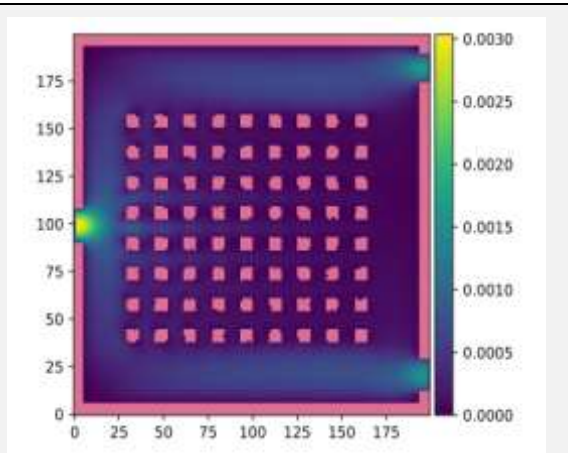
۲-۳- تعاریف مدل

در این مقاله از مدل پاتس سلولی برای مدل‌سازی سلول‌های اندوتلیال و از شبکه‌ی بولتزمن برای محاسبه‌ی پارامترهای جریان مورد نیاز برای مدل پاتس استفاده شده است (شکل ۲). بدین منظور از نرم‌افزار CompuCell3D برای پیاده‌سازی مدل پاتس استفاده شده و محاسبه‌ی جریان به روش شبکه‌ی بولتزمن به زبان پایتون کدنویسی شده است. در این مدل، جریان با یک ورودی و دو خروجی تحت اختلاف فشار ایجاد

^۱ Tortuosity

^۱ Lattice Boltzmann Method

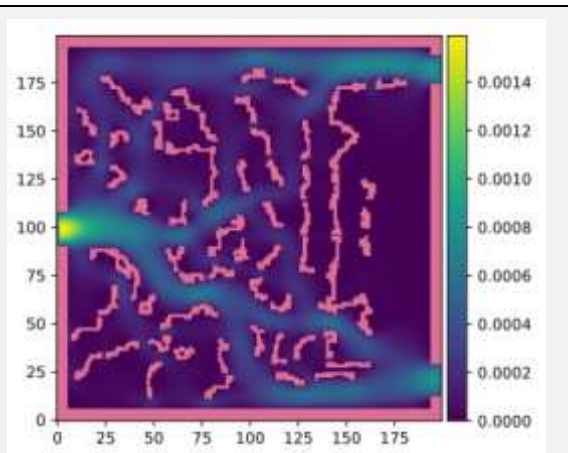
^۲ Spaid and Phelan



شکل (۳) - نمایش آرایش اولیه‌ی سلول‌ها، جریان از طریق مرز سمت چپ توسط یک گرادیان فشار به مدل وارد شده و از طریق دو خروجی در مرز سمت راست سیستم را ترک می‌کند، ماتریس کل دامنه‌ی داخل سیستم را پوشش می‌دهد، رنگ‌ها بزرگی سرعت جریان (m/s) را نشان می‌دهند

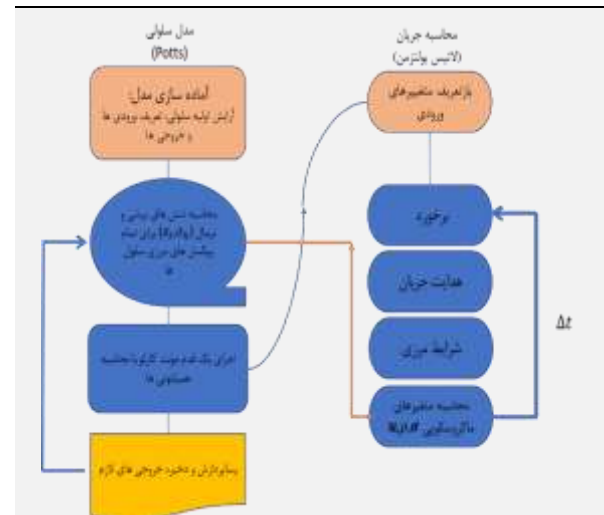
۳- نتایج

نتایج نشان داده است که جهت‌گیری فیبر بر مورفولوژی سلولی تاثیر قابل توجهی دارد. برای الیاف موازی با محور x ، تشکیل لومن در نزدیکی ورودی جریان و هم‌چنین انشعاب به لومن‌های کوچک‌تر در مسیر رسیدن به خروجی در سمت راست مدل قابل مشاهده بوده و ساختارهای شبکه مانند نیز آشکار است (شکل ۴). در تمام شکل‌های (۳) تا (۸) محورها تعداد پیکسل‌ها را در جهت‌های x و y نشان می‌دهند ($X=4x$ و $Y=4y$ μm). هم‌چنین سلول‌ها و مرزهای دیوار به رنگ صورتی و نوار کانتور نشان دهنده‌ی بزرگی سرعت $|u|$ بر حسب (m/s) است.



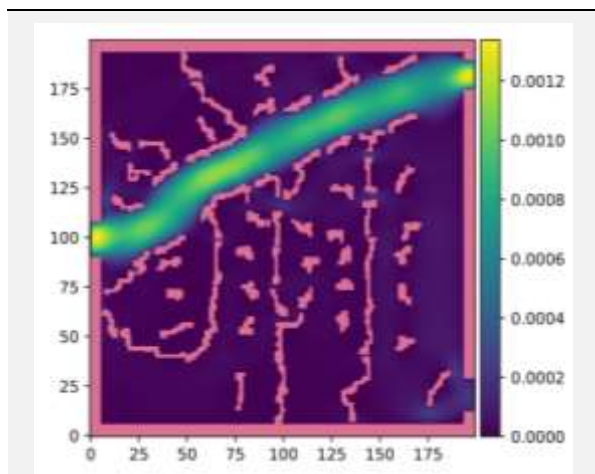
شکل (۴) - آرایش‌گیری سلول‌های اندوتلیال پس از ۶۰۰۰ MCS زمانی که تمام فیبرها با محور x موازی هستند، رنگ قرمز نشان دهنده‌ی محل‌های سلول‌ها و دیواره‌های محیط شبیه‌سازی است، سرعت جریان U (m/s) با طیف رنگی آبی تا زرد نمایش داده شده است

شده است (شکل ۳). سلول‌ها ابتدا در مرکز و با فاصله از هم قرار گرفته و تا رسیدن به یک جریان آرام صبر می‌شود. هر سلول اولیه از 6×6 پیکسل تشکیل شده که طول هر پیکسل معادل ۴ میکرون در نظر گرفته شده بنابراین طول یک سلول اولیه ۲۴ میکرون و طول و عرض محیط شبیه‌سازی ۸۰۰ میکرون (شبکه‌ی 200×200) است. چگالی سیال در شبکه‌ی بولتزمن در ورودی برابر با $1/0.002$ و چگالی سیال در خروجی برابر با $1/0$ تعریف شده است. با توجه به رابطه‌ی مستقیم چگالی سیال با فشار شبکه‌ی بولتزمن ($c_s=1/\sqrt{3}$, $p=\rho c_s^2$) و با فرض چگالی فیزیکی متوسط 1000 kg/m^3 برای سیال، اختلاف فشار واقعی (فیزیکی) ورودی و خروجی معادل $(1000 * 0.002^2 / 3) / 0.006$ Pa در طول ۸۰۰ میکرون است. این اختلاف فشار منجر به حداکثر سرعت جریان 3 mm/s برای آرایش اولیه‌ی سلولی در شروع شبیه‌سازی و با $\beta=0.005$ (رابطه‌ی ۱۱) شده است. سپس پاسخ‌های سلولی با اجرای مدل پاتس برای یک مرحله‌ی مونت‌کارلو مشاهده شده است. برای آرایش سلولی جدید روش بولتزمن دوباره اجرا شده تا یک جریان ثابت به دست آمده و این فرایند تکرار شده است (شکل ۲). برای مطالعه‌ی تاثیر جهت‌گیری فیبر، ۵ شبیه‌سازی با یک آرایش اولیه‌ی سلولی برای ۵ حالت جهت‌گیری فیبر شامل موازی با محور x (صفر درجه)، موازی با محور y (۹۰ درجه)، ۳۰ درجه، جهت‌گیری تصادفی کامل و فیبرهای تصادفی ولی تنها در جهات صفر یا ۹۰ درجه انجام شده است.

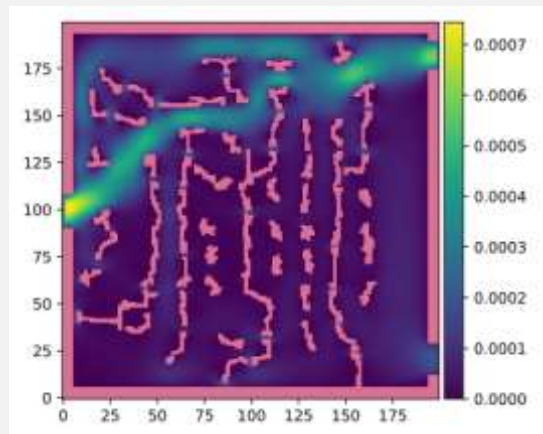


شکل (۲) - شماتیک عمل کرد مدل، در هر مرحله ابتدا جریان و پارامترهای جریان توسط روش LBM محاسبه شده و نتایج آن به مدل سلولی پاتس وارد شده تا محاسبات مربوط به انرژی انجام شود، پس از آن سلول‌ها به شکل تصادفی در جهتی که منجر به کاهش انرژی کل سیستم شود تغییر آرایش داده و محاسبات جریان برای آرایش جدید سلول‌ها انجام شده و این فرایند تکرار شده است

یکی دیگر از نتایج جالب توجه در این شبیه‌سازی، آرایش موازی سلول‌ها در جهت عمود بر جریان عمومی سیال است.



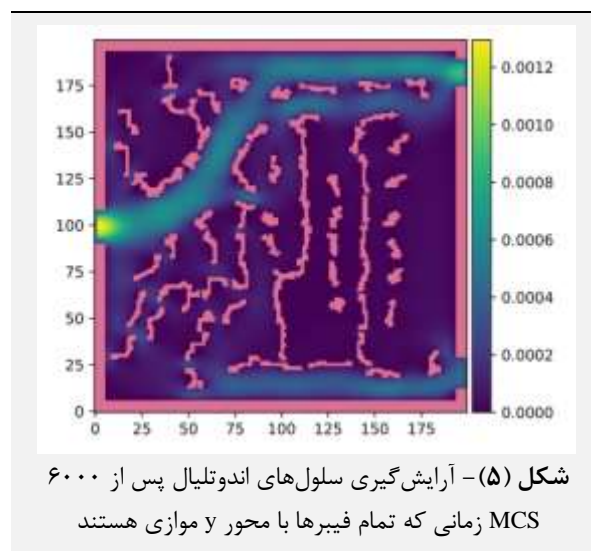
شکل (۶) - آرایش‌گیری سلول‌های اندوتلیال پس از ۹۰۰۰ MCS زمانی که تمام فیبرها در ۳۰ درجه جهت‌گیری کرده‌اند



شکل (۷) - آرایش‌گیری سلول‌های اندوتلیال پس از ۶۰۰۰ MCS با جهت‌گیری کامل فیبر تصادفی

در مدل دیگری از آرایش تصادفی فیبری، به هر گره شبکه یک فیبر تصادفی الصاق شده که به صورت تصادفی یا موازی و یا عمود بر محور x است. این پیکربندی فیبرها برای نشان دادن ماتریس‌های مش مانند انتخاب شده است. چنین شبکه‌ای باعث ایجاد بازآرایی موازی سلول‌ها در مدل شده که عمود بر جهت جریان بوده و هیچ لومنی تشکیل نشده است (شکل ۸). توجه داشته باشید که ساختارهای شبکه مانند که نشان‌گر رگ‌زایی بوده در تمام مدل‌های بالا در حوزه‌هایی با نرخ جریان بسیار پایین قابل مشاهده است. همچنین در نواحی با دبی بالاتر سیال، سلول‌ها در جهت جریان کشیده‌تر شده و در این مناطق تا زمانی که جریان مختل نشود، پایداری بیشتر (حرکت سلولی کم‌تر) و اتصالات سلولی محکم‌تر است.

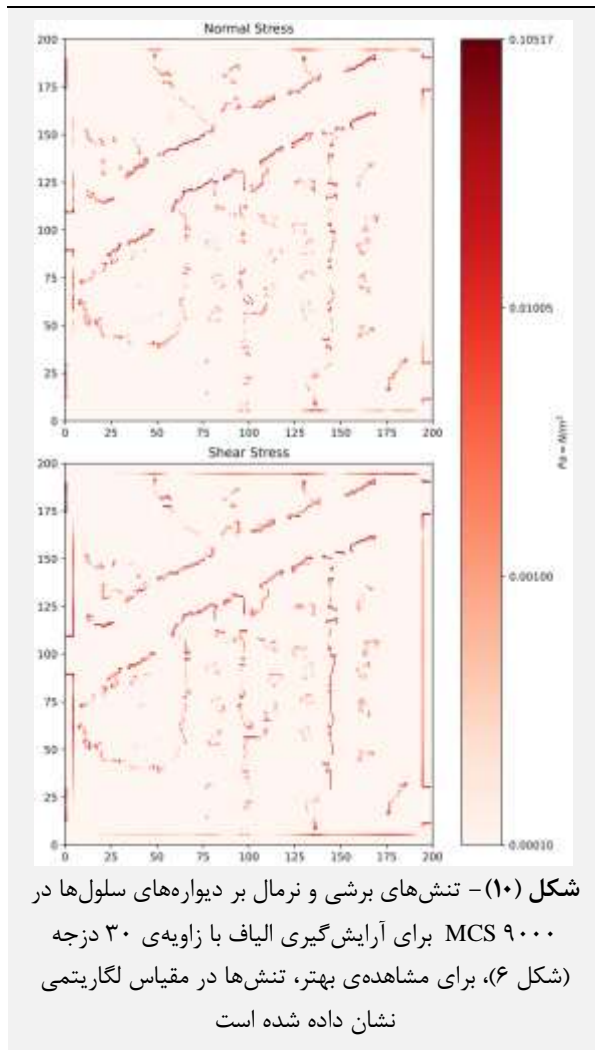
لومن هم‌چنین زمانی که الیاف عمود بر جریان ورودی قرار داشته نیز تشکیل شده است. از آن‌جا که جهت‌گیری عمودی فیبر، جریان را در جهت y تسهیل می‌کند، یک لومن رو به بالا در نزدیکی ورودی و به دنبال آن یک جریان مستقیم با شدت کم‌تر به سمت خروجی بالایی قابل مشاهده است (شکل ۵). در مقایسه با شکل (۴) این آرایش فیبری مجرای بهتری برای جریان تولید کرده است زیرا خروجی‌ها در قسمت‌های بالایی و پایینی مرز سمت راست انتخاب شده و جریان باید به آن‌ها برسد. به دلیل سد سلولی ایجاد شده در وسط مدل، جهت عمودی فیبر برای دور زدن مانع سلولی و رسیدن به یک خروجی کارآمدتر عمل کرده است.



شکل (۵) - آرایش‌گیری سلول‌های اندوتلیال پس از ۶۰۰۰ MCS زمانی که تمام فیبرها با محور y موازی هستند

بهترین تشکیل لومن در آرایش فیبری در جهت ۳۰ درجه بوده که در آن جریان تقریباً به طور مستقیم از ورودی به خروجی هدایت شده است (شکل ۶). در این مورد تشکیل لومن سریع بوده و در مرزهای لومن اتصالات سلولی بهتری ایجاد شده است. جهت‌گیری الیاف به عنوان یک مجرای مناسب برای هدایت موثر جریان به خروجی بالایی عمل می‌کند. جهت‌گیری الیاف با زاویه ۳۰ درجه، خروجی بالایی را برای هدایت جریان تقویت کرده و دسترسی جریان به خروجی پایین را سخت‌تر کرده و از این رو آرایش سلولی به دست آمده برای تشکیل لومن و هدایت جریان به خروجی بالا مورد انتظار است. هم‌چنین دو مورد از جهت‌گیری‌های تصادفی فیبر مورد مطالعه قرار گرفته است. در مورد اول، جهت‌گیری تصادفی کامل در سراسر ماتریس اتخاذ شده است (شکل ۷). اگر چه یک ساختار لومن مانند برای هدایت جریان تشکیل شده اما گسستگی و عدم اتصال سلولی در کناره‌های لومن کاملاً قابل مشاهده است.

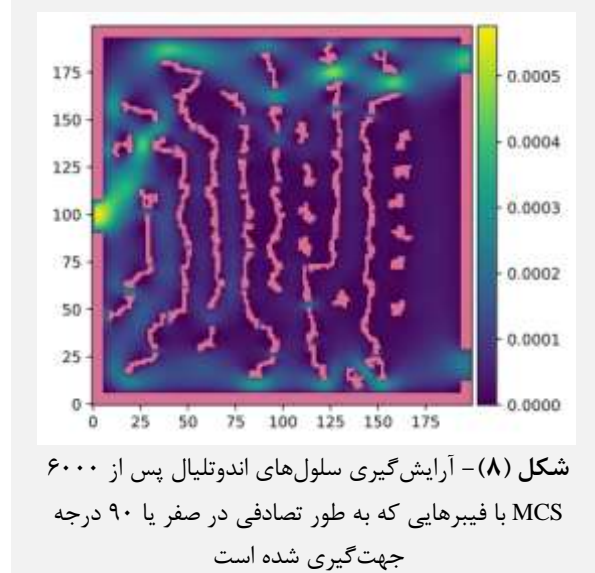
برای محاسبه‌ی t_n و t_s در روابط (۴) و (۵) نیز لازم است که تنش‌های برشی و نرمال در تمام مرزهای سلول‌ها هنگام شبیه‌سازی جریان محاسبه شده و به عنوان ورودی روش پاتس سلولی در این روابط به کار گرفته شود. نمونه‌ای از تنش‌های محاسبه شده‌ی مربوط به شبیه‌سازی شکل (۶) در شکل (۱۰) نشان داده شده است.



شکل (۱۰) - تنش‌های برشی و نرمال بر دیواره‌های سلول‌ها در MCS ۹۰۰۰ برای آرایش‌گیری الیاف با زاویه‌ی ۳۰ درجه (شکل ۶)، برای مشاهده‌ی بهتر، تنش‌ها در مقیاس لگاریتمی نشان داده شده است

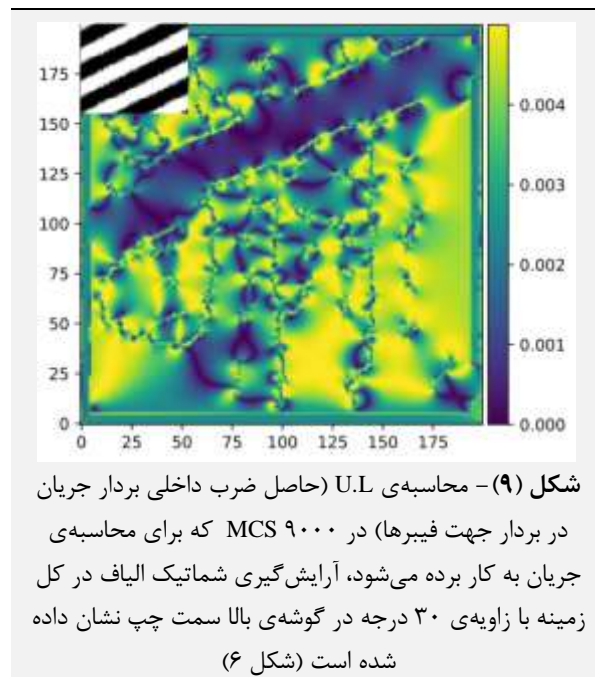
۴- بحث

توپوتاکسی^۱ یک مکانیسم ارائه شده‌ی جدید برای مهاجرت سلولی است که در آن سلول‌ها در پاسخ به نشانه‌های توپولوژیکی در ماتریس خارج سلولی که مسیر مهاجرت را دیکته می‌کند، قطبی شده و اسکلت سلولی خود را تغییر شکل می‌دهند [۱۰]. گفته می‌شود که ماهیت مورفوژنز درون‌تنی^۲ در بافت‌ها بسیار متفاوت از مورفوژنز برون‌تنی^۳ بوده که در آن سلول‌ها روی یک صفحه‌ی مسطح کشت می‌شوند و تفاوت‌های توپوگرافی در بافت‌های سه‌بعدی ممکن است بازیگر مهمی در



شکل (۸) - آرایش‌گیری سلول‌های اندوتلیال پس از ۶۰۰۰ MCS با فیبرهایی که به طور تصادفی در صفر یا ۹۰ درجه جهت‌گیری شده است

مطابق رابطه‌ی (۲) برای مدل‌سازی اثر آرایش فیبرها لازم است که مقاومت هر نقطه از ماتریس زمینه‌ای بر اساس جهت‌گیری فیبرهای آن در مقابل جریان متناسب با جهت جریان ارزیابی شده و در محاسبه‌ی جریان لحاظ شود. نمایی از محاسبه‌ی U.L یا سرعت جریان در راستای جهت فیبرها در هر نقطه از شبکه در شکل (۹) نشان داده شده است. گذردهی بالاتر در این تصویر (مربوط به شکل (۶) با آرایش فیبری ۳۰ درجه) با نقاط آبی‌تر مشخص شده که به معنی هم‌راستایی جهت جریان با آرایش فیبرها بوده و مقاومت بیش‌تر نیز با رنگ‌های زردتر در شکل قابل مشاهده است که به معنی عمود بودن جهت فیبرها با جهت جریان در آن نقطه می‌باشد.



شکل (۹) - محاسبه‌ی U.L (حاصل ضرب داخلی بردار جریان در بردار جهت فیبرها) در MCS ۹۰۰۰ که برای محاسبه‌ی جریان به کار برده می‌شود، آرایش‌گیری شماتیک الیاف در کل زمینه با زاویه‌ی ۳۰ درجه در گوشه‌ی بالا سمت چپ نشان داده شده است (شکل ۶)

^۲ In Vitro

^۱ Topotaxis

^۳ In Vivo

می‌دهد. مدل‌های مختلفی برای رگ‌زایی در تومورها ارائه شده که مهم‌ترین آن‌ها بر اساس کموتاکسی ناشی از کمبود اکسیژن در بافت است [۱۹]. این گزارش‌ها بر اهمیت مطالعات و مدل‌های پیش‌تر برای درک و توصیف رگ‌زایی هدایت شده با توپوگرافی در کنار سایر عوامل موثر، صحنه می‌گذارد.

اگر چه در شبیه‌سازی جهت‌گیری تصادفی، هیچ لومنی تشکیل نشده اما تشکیل جوانه‌ها و ساختارهای شبکه مانند ثابت و پایدار بوده در حالی که در مدل فیبرهای هم‌راستا با محور x ، تشکیل لومن‌ها ناپایدار و گذرا بوده است. دلیل اصلی این امر سرعت جریان کم‌تر در آن سیستم‌ها است که سهم کم‌تری در پاسخ و تحرک سلولی دارد. در میان جهت‌گیری‌های یک‌طرفه‌ی فیبر که منجر به سرعت‌های جریان مشابه می‌شود، پایدارترین آرایش سلولی در جهت ۳۰ درجه و کم‌ترین پایداری برای فیبرهای در جهت محور x بوده است. انتشار رو به جلوی جریان به سمت توده‌ی سلولی و به دنبال آن نیاز به حرکت در جهت y برای رسیدن به خروجی، الگوی جریان را غیرقابل پیش‌بینی کرده که پیامد آن غیرقابل پیش‌بینی بودن در پاسخ‌های سلولی و تغییر سریع‌تر در الگوی جریان است. این چرخه به آرایش ناپایدار سلولی در مدل فیبر هم‌راستا با محور x منجر می‌شود. با مقایسه‌ی جهت‌گیری‌های مختلف فیبر در مدل‌های مورد بررسی مشخص شده که تشکیل لومن زمانی که هم‌راستایی الیاف با جهت کلی مسیر جریان مطابقت دارد به بهترین شکل قابل مشاهده است. نامطلوب‌ترین شرایط زمانی است که الیاف عمود بر این مسیر قرار گرفته و حداکثر مقاومت را در برابر جریان ایجاد کنند. نتایج این مقاله با درک قبلی از اثرات جهت‌گیری فیبر که در سال‌های اخیر ارائه شده است مطابقت دارد. تجزیه و تحلیل ارائه شده در این تحقیق صرفاً بر اساس تاثیر تنش‌های برشی حس شده روی سطوح سلولی بوده (شکل ۱۰) و دیگر مکانیسم‌های کموتاکسیک و هاپتوتاکسیک درگیر در تشکیل جوانه‌ی جهت‌دار و لومن بررسی نشده است. پیشنهاد می‌شود که مدل‌های فراگیرتری برای ترکیب تمام این مکانیسم‌ها و تحلیل اهمیت و نقش هر بازیگر در وسکولوژن هدایت شده توسط ECM بر اساس داده‌های جامع ارائه شده توسط مطالعات درون و برون‌تنی اخیر ارائه و بررسی شود.

۵- نتیجه‌گیری

در این مطالعه تاثیر ساختار ماتریس و توپوگرافی آن از نظر جهت‌گیری محتوای فیبر آن بر مورفولوژی سلول‌های اندوتلیال بررسی شده است. مدل ارائه شده بر این ایده استوار است که سلول‌های اندوتلیال به طور مداوم مایعات موجود در محیط

فرایندهایی مثل مهاجم سلول‌های متاستاتیک و یا ترمیم زخم باشند [۱۱]. نشان داده شده که جهت‌گیری هم‌راستای رشته‌های کلاژن در ریزمحیط تومور متاستاتیک یک عامل کلیدی در مهاجرت و مهاجم سلول‌های تومور است در حالی که وجود موج‌هایی در آرایش فیبرهای ماتریس، سلول‌های تومور را دیپولاریزه کرده و مهاجرت آن‌ها را که از طریق سازمان‌دهی انقباضات اسکلت سلولی و تشکیل و بازجذب اتصالات سلولی انجام می‌شود کاهش می‌دهد [۱۲]. سلول‌های اندوتلیال مستعد پاسخ به محرک‌های مکانیکی و هیدرودینامیکی از ECM و جریان‌های میان‌بافتی هستند. فرضیه‌ی کلی این است که این سلول‌ها برای به حداقل رساندن کشش‌های مکانیکی و به حداکثر رساندن تنش‌های برشی اعمال شده توسط جریان سیال، بازآرایی و خودسازمان‌دهی کرده و این اثرات به صورت هم‌افزایی عمل می‌کند [۱۳]. تاثیر جهت‌گیری فیبر ماتریس بر رشد و مهاجم توموری به دلیل اهمیت و پیامدهای آن در مراقبت‌های پزشکی موضوع برخی از مدل‌های جدید برای توصیف این پدیده بوده است [۱۴].

نشان داده شده که در محیط‌های کشت سه‌بعدی که رشته‌های کلاژن در آن به صورت هم‌راستا قرار گرفته است، سلول‌های اندوتلیال شبکه‌های عروقی با شاخه‌های ضخیم‌تر و هم‌جهت‌تر را ایجاد می‌کنند [۱۵]. مدل ارائه شده در این مقاله نتیجه‌ی مشابهی را به دلیل هدایت و جهت‌گیری اندوتلیال ناشی از میکروسایال پیش‌بینی کرده است. هم‌چنین مشخص شده است که سلول‌های اندوتلیال نیز رشته‌های ماتریس را ترشح کرده و در هنگام تشکیل جوانه‌ها آن‌ها را مجدداً مرتب و بازآرایی می‌کنند تا عمل کرد بهتری داشته باشند [۱۶]. در مطالعه‌ی دیگر نشان داده شده که بسترهای نرم با فیبرهای هم‌راستا، عمل کرد سلول‌های اندوتلیال را بهینه ساخته و سفتی سلول را کاهش می‌دهند در حالی که بسترهای سفت‌تر با فیبرهای هم‌راستا، عمل کرد بهینه‌ی سلول را کاهش و احتمال تبدیل اندوتلیال-مزاننشیمی را افزایش می‌دهند [۱۷]. توپوتاکسی در رگ‌زایی که توسط تومورهای بدخیم هدایت می‌شود نیز مهم است. نشان داده شده که گویچه‌های تومور باعث جهت‌گیری شعاعی شبکه‌ی فیبر کلاژن اطراف تا فاصله‌ی ۵ برابر شعاع خود شده که با رفتار مهاجرت سلول‌های تومور محلی مرتبط است. سلول‌های اندوتلیال عروق کوچک پس از قرار گرفتن در معرض شبکه‌ی فیبر کلاژن تومور به سمت گویچه‌های تومور مهاجرت می‌کنند [۱۸]. رگ‌زایی به سمت گویچه‌های تومور توانایی سلول‌های تومور برای به دست آوردن مواد مغذی و دریافت اکسیژن و هم‌چنین حمله به سایر بافت‌های دورتر را افزایش

- [7] Chen S, Doolen GD. Lattice Boltzmann method for fluid flows. *Annual review of fluid mechanics*. 1998 Jan; 30(1): 329-64.
- [8] Abdi P, Vahidi B. A vasculogenesis model based on flow-induced stresses on endothelial cells. *AIP Advances*. 2022 May 1; 12(5): 055306.
- [9] Spaid MA, Phelan Jr FR. Lattice Boltzmann methods for modeling microscale flow in fibrous porous media. *Physics of fluids*. 1997 Sep; 9(9): 2468-74.
- [10] Oakley C, Jaeger NA, Brunette DM. Sensitivity of fibroblasts and their cytoskeletons to substratum topographies: topographic guidance and topographic compensation by micromachined grooves of different dimensions. *Experimental cell research*. 1997 Aug 1; 234(2): 413-24.
- [11] Park J, Kim DH, Levchenko A. Topotaxis: a new mechanism of directed cell migration in topographic ECM gradients. *Biophysical journal*. 2018 Mar 27; 114(6): 1257-63.
- [12] Fischer RS, Sun X, Baird MA, Hourwitz MJ, Seo BR, Pasapera AM, Mehta SB, Losert W, Fischbach C, Fourkas JT, Waterman CM. Contractility, focal adhesion orientation, and stress fiber orientation drive cancer cell polarity and migration along wavy ECM substrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021 Jun 1; 118 (22): e2021135118.
- [13] Dessalles CA, Leclech C, Castagnino A, Barakat AI. Integration of substrate-and flow-derived stresses in endothelial cell mechanobiology. *Communications Biology*. 2021 Jun 21; 4(1): 1-5.
- [14] Azimzade Y, Saberi AA, Sahimi M. Regulation of migration of chemotactic tumor cells by the spatial distribution of collagen fiber orientation. *Physical Review E*. 2019 Jun 27; 99(6): 062414.
- [15] McCoy MG, Wei JM, Choi S, Goerger JP, Zipfel W, Fischbach C. Collagen fiber orientation regulates 3D vascular network formation and alignment. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2018 Jun 26; 4(8): 2967-76.
- [16] Du Y, Herath SC, Wang QG, Wang DA, Asada HH, Chen PC. Three-dimensional characterization of mechanical interactions between endothelial cells and extracellular matrix during angiogenic sprouting. *Scientific Reports*. 2016 Feb 23; 6(1): 1-4.
- [17] Yi B, Shen Y, Tang H, Wang X, Zhang Y. Stiffness of the aligned fibers affects structural and functional integrity of the oriented endothelial cells. *Acta biomaterialia*. 2020 May 1; 108: 237-49.
- [18] Balcioglu HE, van de Water B, Danen EH. Tumor-induced remote ECM network orientation steers angiogenesis. *Scientific reports*. 2016 Mar 2; 6(1): 1-2.
- [19] Roghani Yazdi, Mahdie, Nadia Naghavi, and Faride Sadat Hosseini. "Modeling and simulation of vascular tumor growth." *Iranian Journal of Biomedical Engineering* 9.2 (2015): 143-161.

پیرامونی خود را حس کرده و برای مطابقت با این جریان مایع به گونه‌ای خودسازمان‌دهی و آرایش‌گیری می‌کنند که تنش نرمال روی غشای خود را به حداقل رسانده و هم‌چنین تنش برشی را به حداکثر برسانند. با توجه به این که یکی از پیامدهای لیاف هم‌راستا هدایت حداکثر جریان در همان جهت و به حداکثر رساندن ممانعت در مقابل جریان در جهت عمود بوده، در این مقاله این اثرات روی پاسخ‌های سلولی با استفاده از مدل قبلی ارائه شده توسط نویسندگان مقاله بررسی شده است. این اولین مدلی است که اثر خواص فیزیکی ماتریس خارج سلولی را بر مهاجرت و ازدیاد طول سلول اندوتلیال، نه بر اساس حس محرک‌های مکانیکی ماتریس بلکه بر اساس انتقال مکانیکی ریزجریان‌های میان‌بافتی تولید شده در مجاورت سلول‌ها توصیف می‌کند. نتایج به دست آمده با مطالعات آزمایشگاهی قبلی و مدل‌های محاسباتی مطابقت دارد و مکانیسم جدیدی را در کنار کموتاکسی و دوروتاکسی پیشنهاد داده که از طریق آن رگ‌زایی ممکن است در ساختارهای بافت‌های غیرطبیعی مانند محیط اطراف تومور، زخم‌ها و التهابات تغییر یابد.

۶- مراجع

- [1] van Oers RF, Rens EG, LaValley DJ, Reinhart-King CA, Merks RM. Mechanical cell-matrix feedback explains pairwise and collective endothelial cell behavior in vitro. *PLoS computational biology*. 2014 Aug 14; 10 (8): e1003774.
- [2] JBauer AL, Jackson TL, Jiang Y. Topography of extracellular matrix mediates vascular morphogenesis and migration speeds in angiogenesis. *PLoS computational biology*. 2009 Jul 24; 5(7): e1000445.
- [3] Zheng Y, Nan H, Liu Y, Fan Q, Wang X, Liu R, Liu L, Ye F, Sun B, Jiao Y. Modeling cell migration regulated by cell extracellular-matrix micromechanical coupling. *Physical Review E*. 2019 Oct 11; 100(4): 043303.
- [4] Suveges S, Chamseddine I, Rejniak KA, Eftimie R, Trucu D. Collective Cell Migration in a Fibrous Environment: A Hybrid Multiscale Modelling Approach. *Frontiers in applied mathematics and statistics*. 2021 Jun 25; 7: 680029.
- [5] Kim MC, Silberberg YR, Abeyaratne R, Kamm RD, Asada HH. Computational modeling of three-dimensional ECM-rigidity sensing to guide directed cell migration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018 Jan 16; 115(3): E390-9.
- [6] Scianna M, Preziosi L. Multiscale developments of the cellular Potts model. *Multiscale Modeling & Simulation*. 2012; 10(2): 342-82.