



## بررسی تأثیر رویکرد آمیختگی بر ترویج تشکیل شبکه عروقی در مهندسی بافت

هومن صلواتی<sup>1</sup>، مجید سلطانی<sup>2\*</sup>، حسین بزم آرا<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی، تهران

2- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی، تهران

3- استادیار، مهندسی مکانیک، واحد پردیس دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

\* تهران، صندوق پستی 19395-1999، msoltani@kntu.ac.ir

### اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 30 دی 1394

پذیرش: 25 بهمن 1394

ارائه در سایت: 07 فروردین 1395

کلید واژگان:

فرآیند رگ‌زایی

مهندسی بافت

رویکرد آمیختگی

مدل سلولی پاتس

### چکیده

در طی چندین دهه اخیر، نیاز روزافزون انسان برای جایگزینی اعضا و بافت‌ها در بدن موجب شده است تا مهندسی بافت به‌عنوان یکی از حوزه‌های پیشرو در تحقیقات علمی مطرح شود. علی‌رغم دستاوردهای بی‌شمار در این حوزه، تاکنون تأثیر مهندسی بافت در کاربردهای بالینی محدود بوده است. یکی از اصلی‌ترین دلایل این محدودیت، عدم تأمین خون کافی برای بافت در مراحل اولیه پس از کاشت است. زمان‌بر بودن فرآیند رگ‌زایی موجب ناکافی بودن تشکیل عروق خونی و در نهایت مرگ سلول‌ها و از بین رفتن بافت می‌شود. در طی سال‌های اخیر، با اجرای رویکردی با نام آمیختگی، سعی شده است تا با جایگذاری یک شبکه عروقی پیش‌ساخته در سازه بافت، تشکیل شبکه خون‌رسانی در درون بافت تسهیل شود. در تحقیق پیش رو با توجه به طبیعت سلولی فرآیند رگ‌زایی، بر اساس یک مدل ریاضی مبتنی بر سلول، دینامیک فرآیند رگ‌زایی در سه مقیاس فراسلولی، سلولی و درون‌سلولی شبیه‌سازی شده است تا عملکرد رویکرد آمیختگی مورد آزمون قرار بگیرد. نتایج به‌دست‌آمده برتری استفاده از رویکرد آمیختگی نسبت به رویکرد رگ‌زایی برای تشکیل شبکه عروقی در مهندسی بافت را نشان می‌دهد. این مدل افزایش احتمال بازیابند جوانه مویرگ‌ها از طریق رویکرد آمیختگی را به اثبات می‌رساند که در نتیجه آن مقدمات جاری شدن خون در شبکه عروقی سریع‌تر طی می‌شود. علاوه بر این، مدل سلولی به‌گونه‌ای توسعه‌یافته است که اثرات ماتریس فراسلولی بر الگوی رگ‌زایی از طریق پدیده دوشاخه شدن نشان داده شود.

## Investigation on the effect of inosculation strategy on promoting vascularization in tissue engineering

Hooman Salavati<sup>1</sup>, Majid Soltani<sup>1\*</sup>, Hossein Bazmara<sup>2</sup>

1- Department of Mechanical Engineering, K. N. Toosi University of Technology, Tehran, Iran.

2- Department of Mechanical Engineering, Islamic Azad University Pardis Branch, Tehran, Iran.

\* P.O.B. 19395-1999 Tehran, Iran, msoltani@kntu.ac.ir

### ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper  
Received 20 January 2016  
Accepted 14 February 2016  
Available Online 26 March 2016

#### Keywords:

Angiogenesis Process  
Tissue Engineering  
Inosculation Strategy  
Cellular Potts Model

### ABSTRACT

Tissue engineering has been a rapidly growing field of research for several decades, driven by the human urgent need for tissue substitutes and transplantable organs. Considering the advancements, the clinical applications in the field of tissue engineering have been limited until now. The major reason toward this limitation is the lack of sufficient blood supply for the tissue in the earliest phase after implantation. Time-consuming process of angiogenesis leads to inadequate vascularization and finally, death of cells and destruction of tissue. During recent years, by implementing a strategy called Inosculation, attempts have been made to facilitate tissue vascularization by a preformed vasculature network within tissue structure. In the current research considering cellular nature of angiogenesis process, relying on a cell-based mathematical model, the effect of inosculation strategy is investigated through the dynamics of angiogenesis process with respect to extracellular, cellular and intracellular spatio-temporal scales. The results show the advantages of inosculation strategy over angiogenesis strategy in vascularization of tissue constructs. The model demonstrates the capability of inosculation strategy to improve the anastomosis probability, which provides the crucial requisite for the blood to flow through capillary network. Furthermore, the cellular model was developed in such a way that the effects of extracellular matrix on morphogenesis through branching phenomenon are illustrated.

### 1- مقدمه

زیستی امکان متحول کردن مراقبت‌های پزشکی در آینده را فراهم می‌سازد [1]. اصولاً توانایی بافت برای ترمیم آسیب‌های وارده، وابسته به وجود سیستم خون‌رسانی مناسب است. به جهت همین اهمیت، در طی دو دهه گذشته توجه خاصی به تکنیک‌های پزشکی و مهندسی جهت ترمیم و

مهندسی بافت حوزه‌ای است که به دلیل نیاز فوری به جایگزینی اعضا و بافت در مراکز بیمارستانی به سرعت در حال رشد است. در حقیقت، ساخت بافت‌های مصنوعی مشابه بافت‌های طبیعی به‌وسیله ادغام علوم مهندسی و

Please cite this article using:

H. Salavati, M. Soltani, H. Bazmara, Investigation on the effect of inosculation strategy on promoting vascularization in tissue engineering, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 16, No. 4, pp. 29-40, 2016 (in Persian)

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

H. Salavati, M. Soltani, H. Bazmara, Investigation on the effect of inosculation strategy on promoting vascularization in tissue engineering, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 16, No. 4, pp. 29-40, 2016 (in Persian)

شده را میسر سازد [6-8]. رویکرد آمیختگی به طور کامل مستقل از ضخامت بافت است، بنابراین امکان پیشرفت چشمگیری در بهره‌گیری از بافت‌های مهندسی‌شده در کاربردهای پزشکی را فراهم‌شده می‌کند.

رگ‌زایی به روند رشد عروق جدید خون از شبکه‌ی موجود رگ‌ها گفته می‌شود. رگ‌زایی علاوه بر مهندسی بافت، به‌عنوان عاملی مهم و ضروری در پیشرفت چندین پدیده زیستی، چه پدیده‌های معمول و چه پدیده‌های بیماری‌زا، از جمله رشد تومور و متاستاز<sup>7</sup> سرطان، و طیف وسیعی از بیماری‌های ایسکمیک<sup>8</sup> و التهابی نقش ایفا می‌کند.

رشد عروق جدید خونی در یک بافت کاشته شده پدیده‌ای پیچیده و پویا است. اولین مرحله در این پروسه، فعال کردن عروق بافت میزبان با استفاده از فاکتورهای رشد رگ‌زایی است [9]. این فاکتورها ممکن است توسط خود سلول‌های بافت میزبان در اثر آسیب و جراحی که در کاشت بافت ایجاد شده است یا عکس‌العمل التهابی نسبت به کاشت بافت، تولید شوند [4]. از طرف دیگر، ثابت‌شده است این امکان وجود دارد که بافت مصنوعی طوری ساخته شود که باوجود سیستم پروتئین رسانی مصنوعی یا انواع مختلف سلولی در ساختار بافت، توانایی آزاد کردن فاکتورهای رشد رگ‌زایی از درون خود بافت کاشته شده ایجاد شود [10]. در این مدل مقصود این است که با مدل‌سازی محاسباتی فرآیند آمیختگی، امکان تشکیل شبکه عروقی پیوسته بین شبکه پیش‌ساخته بافت میهمان و شبکه عروقی بافت میزبان سنجیده شود. همچنین، سرعت و سازگاری این رویکرد جهت عروق دار کردن بافت‌های مصنوعی نسبت به رویکرد رگ‌زایی مقایسه شود. از آنجا که مکانیزم زیستی درگیر در رویکرد آمیختگی، فرآیند رگ‌زایی است در ادامه پس‌زمینه‌های زیستی این فرآیند ذکر می‌شود.

روند شروع و تکامل رگ‌زایی شامل چندین قدم اساسی است که در چندین مقیاس مکانی و زمانی اتفاق می‌افتد [11]. مرحله نخست، شامل فعال‌سازی سلول‌های اندوتلیال و نشت پذیر شدن رگ والد<sup>9</sup> است. ثابت‌شده است که کمبود اکسیژن یا هایپوکسی<sup>10</sup> بزرگ‌ترین عامل آغاز رگ‌زایی در دوران جنینی و همچنین دوران بزرگسالی است [12]. در واقع رابطه‌ی نزدیکی بین کمبود اکسیژن و فعالیت فاکتورهای رگ‌زایی مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی<sup>11</sup> VEGF وجود دارد. هنگامی که سلول‌ها دچار کمبود اکسیژن شوند، فاکتورهای رگ‌زایی را تولید و آزاد می‌کنند. فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی از عمده‌ترین فاکتورهای رشد و تشکیل شبکه عروقی جدید<sup>12</sup> در طیف وسیعی از شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند و به همین علت بیشتر از سایر فاکتورهای رشد مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [13]. پس از کمبود اکسیژنی سلول‌ها، فاکتورهای رگ‌زایی در بافت مجاور پخش می‌شوند و به گیرنده‌هایی که روی سلول‌های اندوتلیال رگ‌های مجاور قرار دارد پیوند می‌خورند. متعاقباً، سلول‌های اندوتلیال توسط فاکتورهای رگ‌زایی فعال می‌گردند. فاکتورهای رگ‌زایی با این تحریک فنوتیپ<sup>13</sup> یا رخ‌مانه‌ی سلول‌های اندوتلیال را از ساکن به فعال تغییر می‌دهد که منجر به ترشح آنزیم‌هایی برای تخریب لایه محافظ دور خود می‌شود که راه تکثیر و مهاجرت را برای سلول‌های اندوتلیال فراهم می‌کند.

در مرحله دوم ضعیف سازی محلی غشای محافظ و ماتریس فراسلولی<sup>14</sup>

جایگزینی بافت و حتی تولید اعضای بدن شده است. انواع مختلف مواد زیستی و تکنیک‌های آماده‌سازی مختلف با بهره‌گیری از اصول علمی زیست‌شناسی، بیوشیمی و علم مواد در این حوزه به کار گرفته شد اما با همه‌ی این تلاش‌ها اهمیت نقش حیاتی خون‌رسانی آشکارتر شده است. این حساسیت به این دلیل است که بطور خاص، بقای سلول‌ها در سازه‌های مهندسی‌شده بافت، وابسته به تأسیس و توسعه سریع سیستم خون‌رسانی پس از کاشت بافت در بدن است. از دید زیستی، سلول‌های پستانداران برای حیات به اکسیژن و خوراک کافی نیاز دارند. بر همین اساس، سلول‌ها باید خوراک لازم را از خون و از طریق عروق خونی جذب کنند. تحقیقات نشان داده است که حداکثر فاصله نفوذ اکسیژن در بافت موجودات زنده بین 100 تا 200 میکرومتر است [2]. بنابراین سلول‌ها برای حیات و رشد باید در چنین فاصله‌ای از عروق قرار بگیرند. ارگان‌سیم‌های سلولی‌ای که خارج از این محدوده قرار می‌گیرند برای رشد و بقای خود باید رگ‌های خونی جدیدی را در اطراف خود به وجود بیاورند. رگ‌زایی<sup>1</sup> یا نو رگ‌زایی وظیفه خون‌رسانی را با ایجاد یک شبکه از رگ‌های کوچک و بزرگ انجام می‌دهد تا اکسیژن و خوراک به‌خوبی در همه جای بافت پخش شود. در حوزه مهندسی بافت، رشد رگ‌های جدید در بافت به دلیل نرخ پایین نفوذ عروق در داربست<sup>2</sup> پیچیده و دشوار است. این مسئله بطور کلی روند جایگزینی بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد که در نهایت باعث از بین رفتن بخش عظیمی از بافت‌های جاگذاری شده، به‌ویژه در بخش‌های میانی بافت‌های بزرگ‌تر سه‌بعدی، می‌شود [3]. به دلیل همین نقصان توسعه بحث مهندسی بافت در کاربردهای بالینی با مانعی بزرگ روبه‌رو شده است.

در طی سالیان گذشته، چندین نوآوری برای رگ دار<sup>3</sup> کردن بافت‌های کاشته شده در بدن ارائه‌شده‌اند که همگی بر اساس کنترل و نظارت بر کاشت سلول‌ها در داربست‌های سه‌بعدی در آزمایشگاه بودند [4]. با این وجود، اثبات‌شده است که حتی با بهره‌گیری از مزایای این نوآوری‌ها سرعت مهاجرت سلول‌های اندوتلیال<sup>4</sup> و رشد فیزیکی رگ‌های جدید به دلیل محدودیت فاصله پخش اکسیژن در بافت از حدود 5  $\mu\text{m/h}$  تجاوز نمی‌کند [1]. در این شرایط، سلول‌های بافت، به‌ویژه سلول‌های واقع‌شده در مرکز سازه بافت، برای بقا دچار مشکل می‌شوند.

در طی سال‌های اخیر، دو رویکرد اساسی برای رگ دار کردن بافت‌های مصنوعی مطرح بوده است (شکل شماره 1). اولین رویکرد برای ایجاد رگ‌های خون در بافت از طریق جوانه‌زنی<sup>5</sup> و نفوذ رگ‌های بافت میزبان در بافت جایگذاری شده است [4]. مکانیزم جلوبرنده این رویکرد، فرآیند رگ‌زایی است. از سوی دیگر، بر اساس فرآیند رگ‌زایی و با به‌کارگیری تکنیکی نوین در فناوری ساخت بافت، رویکرد جدیدی بر اساس ایجاد شبکه عروقی پیش‌ساخته در آزمایشگاه با نام آمیختگی<sup>6</sup> برای نو رگ‌زایی مطرح شد [5]. در این رویکرد، قبل از کاشت بافت، در آزمایشگاه شبکه‌ای از مجراهای عروقی در بافت تعبیه می‌شود. پس از زمان کاشت، این شبکه پیش‌ساخته می‌تواند با بهره‌گیری از فرآیند رگ‌زایی در زمان کوتاه‌تری و با احتمال بیشتری خون را به بافت موردنظر برساند. مزیت عمده این رویکرد در این است که شبکه پیش‌ساخته عروقی پس از کاشت بافت می‌تواند به‌راحتی و با سرعت به شبکه‌ی عروق بافت میزبان وصل شود و ایجاد شبکه خونی برای بافت کاشته

<sup>7</sup> Metastasis

<sup>8</sup> Ischemic

<sup>9</sup> Parent vessel

<sup>10</sup> Hypoxia

<sup>11</sup> Vascular endothelial growth factor

<sup>12</sup> Neovascularization

<sup>13</sup> Phenotype

<sup>14</sup> Extracellular matrix

<sup>1</sup> Angiogenesis

<sup>2</sup> Scaffold

<sup>3</sup> Vascularization

<sup>4</sup> Endothelial

<sup>5</sup> Sprouting

<sup>6</sup> Inosculation

جذب‌کننده) و همچنین سیگنال‌های مکانیکی ناشی از لمس‌آرایی<sup>3</sup> (مهاجرت جهت‌ی به‌سوی گرادیان چسبندگی) است [16]. موتور محرک شیمی‌آرایی عامل‌های رشدی مانند VEGF هستند. عوامل دیگری مثل فاکتورهای رشد متأثر از پلاکت‌ها نیز در شیمی‌آرایی نقش دارند. لمس‌آرایی موجب افزایش میل به مهاجرت سلول‌های اندوتلیال می‌شود. این مکانیسم در پاسخ به بند شدن اینتگرین<sup>4</sup> به اجزای ماتریس فراسلولی فعال می‌شود [17].

در فرآیند تکثیر، در طی مهاجرت سلول‌های اندوتلیال در یک زنجیره سلولی، سلول‌های تیپ جلودار حرکت این زنجیره به سمت منبع فاکتور رشد هستند [18]. پس‌ازاینکه جوانه اولیه در ماتریس فراسلولی به پیش‌تر رفت، مشاهدات نشان داده‌اند که چندین بار سر هر زنجیره سلولی و سلول‌های تیپ به چند شاخه تقسیم می‌شوند. جوانه‌های مجاور یکدیگر ممکن است در طی فرآیندی به نام بازپیوند<sup>5</sup> به هم دیگر متصل شوند و یک حلقه بسته را تشکیل دهند. اتصال دو جوانه به یکدیگر زمانی اتفاق می‌افتد که یا دو سلول تیپ به همدیگر متصل شوند و یا یک سلول تیپ به‌جایی عقب‌تر از مکان سلول تیپ جوانه‌ای دیگر، سلول‌های اندوتلیال، وصل شود. درنهایت و پس از بالغ شدن رگ‌های جوان، جریان خون در این شبکه به راه می‌افتد.

رگ‌زایی شامل پیچیدگی‌هایی در ماهیت خود است که شامل پدیده‌هایی در چندین مقیاس مکانی و زمانی است. علاوه بر این مطلب، برهمکنش‌های گوناگون و پیچیده‌ای بین خود سلول‌ها و بین سلول‌ها و ماتریس فراسلولی وجود دارد. دشواری در نظر گرفتن این تنوع مقیاسی، انجام آزمایش‌هایی جامع برای بررسی تمام برهمکنش‌های اثرگذار در پیشبرد پروسه رگ‌زایی را دچار مشکل می‌کند. اما به هر نحو، تاکنون نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش‌ها اطلاعاتی مفیدی در مقیاس‌های گوناگون به‌جا گذاشته است. با این وجود در اختیار داشتن یک سیستم جامع برای مطالعه مؤثر پدیده‌هایی مانند رگ‌زایی که همه جنبه‌های مختلف در مقیاس‌های زمانی و مکانی شامل شود لازم و حیاتی است. این چالش زمانی سخت‌تر می‌شود که بدانیم هر بخشی از اطلاعات و حقایقی که در اختیار محققان است، نتیجه پژوهش‌های گسترده گروه‌های تحقیقاتی مختلف در مسائل گوناگون است که به دست آوردن تصویری واضح از کلیت آن مدل‌سازی‌ها مانند قرار دادن صحیح قطعه‌های ریز یک جورچین در کنار یکدیگر است. در این میان، منطق ریاضی و شبیه‌سازی‌های محاسباتی، به عنوان ابزاری کلیدی می‌توانند این طیف گسترده داده‌ها را در یک مدل جامع به نمایش بگذارند و این داده‌ها را منسجم کنند.

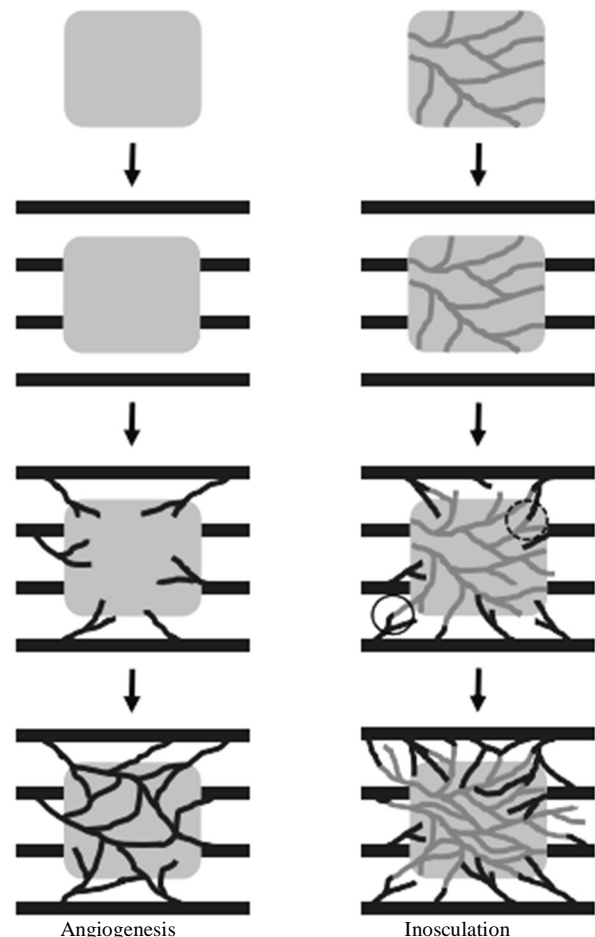
مدل‌های ریاضی و محاسباتی رگ‌زایی دانش‌پایه در مورد فرآیند تشکیل عروق و درک آسیب‌های ناشی از وجود یا عدم وجود رگ‌زایی را در اختیار می‌گذارد. این مدل‌ها همچنین با هدف تقویت و توسعه تحقیقات حوزه مهندسی پزشکی کاربردی توسعه‌یافته‌اند. در افق دید این مدل‌ها، یافتن درمان‌های نوین و روش‌های متناسب بالینی برای هدف منع یا تحریک رگ‌زایی قرار دارد. انگیزه و هدف این مدل‌ها یافتن داروهای مفید یا رویکرد ترکیب داروها و پیشرفت در مهندسی سازی بافت‌ها در خارج بدن<sup>6</sup> است.

مدل‌های ریاضی برای شبیه‌سازی سیستم‌های زیستی از جمله رگ‌زایی، به‌طور کلی به دو دسته مدل‌های پیوسته و گسسته تقسیم می‌شوند [19]. در مدل‌های پیوسته رفتار سیستم به‌صورت پیوسته و همگون دیده می‌شود و غالباً پارامتر چگالی، به‌عنوان مثال چگالی سلولی، از دیدگاه ماکرو برای بررسی

یا ECM آغاز می‌شود. این کار توسط پروتئاز<sup>1</sup>های ترشح‌شده از سلول‌های اندوتلیال صورت می‌گیرد. پروتئازها آنزیم‌هایی هستند که پروتئین‌ها را تجزیه می‌کنند. برای به وجود آمدن امکان مهاجرت باید از سه مانع بر سر راه خود عبور کنند. نخستین مانع غشای محافظ است که بین سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های بافت نرم قرار دارند. غشای محافظ لایه خارجی مویرگ‌های خونی را می‌پوشاند و این اعتقاد وجود دارد که پایداری رگ، نفوذناپذیری و مقاومت در برابر فشار هیدرولیک جریان خون از اثرات این لایه است [14]. مانع دوم ماده ژله مانند است که از رگ نشت می‌کند و مانع سوم ماتریس فراسلولی مجاور سلول هدف می‌باشد. هم‌زمان با برهم‌کنش سلول‌های اندوتلیال با ماتریس فراسلولی، ممکن است فاکتورهای رگ‌زایی متصل به ماتریس فراسلولی آزاد شوند، از این‌رو ضعیف‌سازی محلی غشای محافظ و غیره نه‌تنها امکان مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را فراهم می‌کند، بلکه با آزاد شدن فاکتورهای رشد مانند VEGF محرک‌های رگ‌زایی تقویت می‌شوند [15].

در مرحله پایانی، تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال اتفاق می‌افتد. تخریب ماتریس اطراف رگ، از جمله مانع‌های فیزیکی، به اندوتلیال‌ها اجازه می‌دهد که تکثیر شوند و مهاجرت کنند.

مهاجرت سلول‌های اندوتلیال در پاسخ به سیگنال‌های شیمیایی ناشی از شیمی‌آرایی<sup>2</sup> ( مهاجرت مستقیم در جهت گرادیان عامل شیمیایی



**Fig. 1** A schematic illustration of the two principal vascularization strategies in tissue constructs, Angiogenesis and Inosulation [1]

شکل 1 نمایی ساده از دو رویکرد اصلی تشکیل عروق خونی در سازه‌های بافت، رگ‌زایی و آمیختگی [1]

<sup>3</sup> Haptotaxis

<sup>4</sup> Integrin

<sup>5</sup> Anastomosis

<sup>6</sup> ex vivo

<sup>1</sup> Proteases

<sup>2</sup> Chemotaxis

رگ‌زایی را از طریق برهمکنش‌های ذاتی سلول‌ها شبیه‌سازی کنند. اخیراً، بزم‌آرا و همکاران [33,32] نیز با توسعه مدل بوئر و همکاران توانستند اثر جریان خون بر فرآیند رگ‌زایی را به دستاوردهای قبلی اضافه کنند. با این تفاسیر، تا کنون سیر توسعه مدل‌های رگ‌زایی متمایل به رگ‌زایی متأثر از تومور بوده است. در این پژوهش سعی شده است با اجماع دستاوردهای مدل‌های ذکرشده، توصیفی واقع‌گرایانه از فرآیند رگ‌زایی و تأثیر استراتژی آمیختگی در مهندسی بافت ارائه شود.

## 2- دامنه و هندسه مدل

ناحیه مورد بررسی در این مدل‌سازی، یک ناحیه مربعی به ضلع  $500 \mu\text{m}$  است که چهار رگ والد مجزا بر چهار ضلع آن واقع شده‌اند. در مرکز ناحیه یک سازه بافت قرارگرفته است که فرض شده است به‌تازگی در بافت میزبان جایگذاری شده است. بر مبنای رویکرد آمیختگی، یک شبکه پیش‌ساخته عروقی در این بافت مصنوعی تعبیه شده است. حدفاصل بین رگ‌های والد و بافت میهمان از ماتریس فراسلولی پر شده است. نمایی ساده از ناحیه مورد بررسی مدل در شکل 2 ارائه شده است.

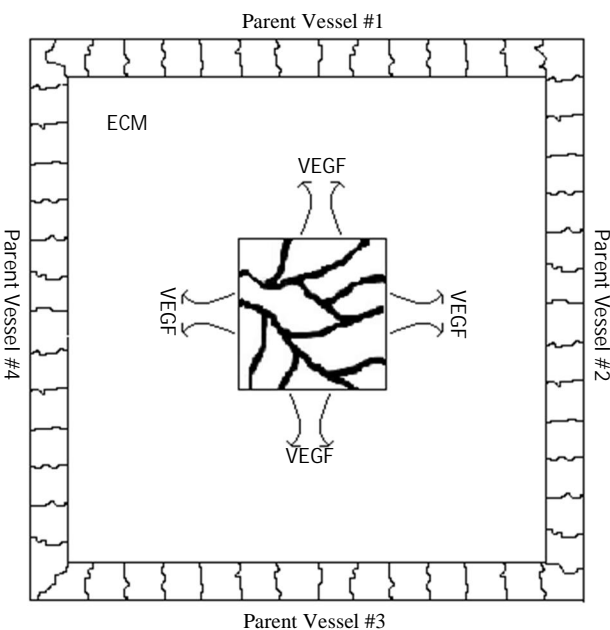
ماتریس فراسلولی محیطی است که بخش عمده آن از مایع میان بافتی<sup>3</sup> تشکیل شده است ولی اجزای دیگری آن از جمله فیبرهای ماتریس و سلول‌های بافت نقش اصلی را در فرآیند رگ‌زایی بر عهده دارند. تراکم این اجزا و نحوه قرار گرفتن آن‌ها، نقش مهمی در فرآیند رگ‌زایی دارد. با پخش فاکتورهای رشد و رسیدن آن به دیواره‌ی رگ‌های والد، تعدادی از سلول‌های اندوتلیال از رگ والد جدا شده و شروع به مهاجرت در جهت مثبت این گرادیان (به سمت منبع فاکتور رشد) می‌کنند. در نهایت زنجیره‌ای به هم پیوسته از این سلول‌ها تشکیل یک رگ جدید داده که پس از اتصال به یکدیگر جریان خون در آن برقرار می‌شود و با رسیدن این شاخه به سلول‌های

سیستم موردنظر قرار می‌گیرد [20]. همچنین پدیده نفوذ و پخش مواد شیمیایی، حرکت سیالات زیستی و فعل و انفعالات مکانیکی بافت نیز با استفاده از مدل‌های پیوسته قابل توصیف است. در طرف دیگر، مدل‌های گسسته یا مدل‌های مبتنی بر سلول رفتار هر جز را به صورت واحدی جداگانه بررسی می‌کنند [21]. در مجموع، هرکدام از مدل‌های ارائه شده دارای اشکالات و نواقصی می‌باشند. در مورد مدل‌های پیوسته، تغییرات سیستم در مقیاس‌هایی بزرگ‌تر از مقیاس سلولی مورد مطالعه قرار می‌گیرد، حال آنکه اساس فرآیند رگ‌زایی در مقیاس سلولی است. با این وجود مدل‌های پیوسته می‌توانند بخشی از مدل‌سازی رگ‌زایی مانند پدیده پخش فاکتور رشد یا چگالی عروق را شبیه‌سازی کنند.

برای رهایی از محدودیت مقیاس مدل‌های پیوسته، مدل‌های گسسته به عنوان جانشینی برای واقعی‌تر کردن مدل‌های محاسباتی به میدان آمدند. هدف مدل‌های گسسته تعیین کردن رفتار سیستم در مقیاس سلولی به جای متوسط متغیرهای پیوسته است. این رویکرد موجب می‌شود خصوصیات ماکروسکوپیکی همچون دوشاخه شدن<sup>1</sup> و تشکیل حلقه عروق نیز قابل بررسی شود. مدل‌های گسسته بر اساس تشریح پدیده‌ای سلول‌های منفرد با استفاده از دستگاهی از معادلات دیفرانسیل در فضای گسسته (برای مثال گره‌ها در یک شبکه) و یا با استفاده از الگوریتم‌های شرطی محاسباتی عمل می‌کنند. نسخه‌های متنوعی از مدل‌های گسسته وجود دارند. مدل ماشین سلولی، مدل مبتنی بر عامل، مدل مبتنی بر نیرو و مدل سلولی پاتس انواع مدل‌های کاربردی گسسته هستند. عملکرد این مدل‌ها تا حد زیادی با آنچه در طبیعت فرآیند رگ‌زایی اتفاق می‌افتد همساز است اما، نقطه ضعف این مدل‌ها در این است که بخشی از رفتارها و نتایج مدل به صورت مصنوعی به آن القا می‌شود. به عبارت دیگر، برخی از نتایج و رفتارها توسط خود مدل تولید نمی‌شود بلکه خروجی مدل از پیش تعیین شده است. در مدل پیش رو سعی شده است تا این نواقص تا حد زیادی برطرف شود. برای این مهم، لازم است مقیاس سلولی در مدل دیده شود تا هم برهمکنش‌های بین سلول‌ها و بین سلول و ماتریس فراسلولی در محاسبات وارد شود تا در نهایت، نتایج بر اساس آن‌ها از مدل خارج شود.

در ذکر کارهای پیشین باید توجه داشت که تاکنون تحقیقات انگشت‌شماری به طور خاص در حوزه مدل‌سازی محاسباتی رگ‌زایی در مهندسی بافت به انجام رسیده است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به کارهای پیرس و همکاران [22] و جبار زاده و آبرامز [23] اشاره کرد. با این وجود، شباهت مکانیزم‌ها در فرآیند رگ‌زایی متأثر از تومور<sup>2</sup> با فرآیند رگ‌زایی در بافت راه را برای درک و مطالعه بیشتر باز می‌کند. فاز عروقی تومور به قدری مورد توجه محققان بوده است که بیشتر مدل‌های ریاضیاتی و محاسباتی توسعه داده شده برای شبیه‌سازی رگ‌زایی متأثر از تومور بوده است.

از مهم‌ترین کارهای انجام شده در زمینه مطالعه فرآیند رگ‌زایی، می‌توان به کارهای استوکس و لافنیرگر [24]، ارمه و چاپلین [25]، اولسن و همکاران [26]، اندرسون و چاپلین [27]، لواین و همکاران [28]، پلانک و اسلیمین [29] اشاره کرد. بطور کلی بیشتر مدل‌های ذکرشده از این نظر نقص داشتند که یا به دلیل رویکرد پیوسته‌شان نتوانستند بازتولیدی واقع‌گرایانه از فرآیند رگ‌زایی داشته باشند و یا با استفاده از قواعدی پیش‌ساخته نتایج دلخواه را از مدل‌های گسسته خارج می‌کردند. در اواخر دهه گذشته میلادی، بوئر و همکاران [31,30] با تولید مدلی مبتنی بر سلول توانستند دینامیک واقعی



**Fig. 2** An illustration of model's geometry. Four parent vessels located at the four side of the domain and the tissue construct implanted in the center of domain

شکل 2 نمایی از هندسه مدل. چهار رگ والد در چهار سوی دامنه و سازه بافت در مرکز دامنه قرار دارد

<sup>3</sup> Interstitial fluid

<sup>1</sup> Branching

<sup>2</sup> Tumor-induced angiogenesis

(VEGF) در ناحیه مسئله است.  $D$  در این معادله ضریب پخش VEGF است که مقداری مثبت است و این گونه فرض شده است که در تمام ناحیه شبیه سازی همگن است و مقداری ثابت دارد. نرخ از بین رفتن فاکتور رشد در بافت،  $\lambda > 0$ ، نیز ثابت فرض شده است.  $B(x, y, V)$  تابعی است که مصرف فاکتور رشد توسط سلول های اندوتلیال را نشان می دهد. در واقع آنچه به عنوان مصرف فاکتور رشد توسط سلول های اندوتلیال تعبیر می شود، عبارت است از پیوستن فاکتور رشد به گیرنده های سطحی در سلول های اندوتلیال که موجب فعال شدن فعل و انفعالات در درون سلول می شود. حداکثر مقداری از VEGF در واحد زمان را که یک سلول اندوتلیال می تواند بارگیری و استفاده کند با  $\beta$  نشان می دهند. مقدار  $\beta$  در نظر گرفتن تعداد و عملکرد گیرنده های سطحی سلول های اندوتلیال محاسبه شده است و برابر با  $0.060 \text{ Pg/cell/h}$  (پیکوگرم به ازای هر سلول در هر ساعت) است [31].

در مقایسه با مقیاس زمانی مهاجرت و تکثیر سلول های اندوتلیال، جذب فاکتور رشد اندوتلیال عروقی توسط گیرنده های سطحی سلول های اندوتلیال بسیار پرسرعت است. بنابراین می توان فرض کرد که مقدار فاکتوری که یک سلول اندوتلیال می تواند جذب کند کمتر از مقدار غلظت موجود در محل قرارگیری سلول است و در نهایت می تواند مقداری برابر حداکثر فاکتور بارگیری شده توسط سلول اندوتلیال بگیرد. این فرض را می توان با تابع (2) به این شیوه بیان کرد:

$$B(x, y, V) = \begin{cases} (x, y) \in \text{Endothelial Cell} & \beta \text{ if } \beta \leq V \\ & V \text{ if } V \geq 0 \\ (x, y) \notin \text{Endothelial Cell} & 0 \end{cases} \quad (2)$$

در ابتدای شروع فرآیند رگ زایی، مقدار VEGF در بافت صفر است. با فرض اینکه سلول های سازه بافت پس از کم اکسیژن شدن شروع به ترشح مقداری معین VEGF می کنند، مقدار VEGF موجود در مرکز ناحیه مسئله به دست می آید. با در نظر گرفتن نرخ ثابتی برای از بین رفتن VEGF، می توان فرض کرد غلظت VEGF در مرزهای بافت کاشته شده پس از مدتی به مقدار ثابتی می رسد. از حل معادله (1) نیز این درستی این فرض آشکار می شود [30]. با این توضیح، شرایط مرزی و اولیه برای حل معادله (1) به صورت زیر هستند:

$$V(x, y, 0) = 0, \quad (3\text{-الف})$$

$$V(0, y, t) = V(L_1, y, t) = V(x, 0, t) = V(x, L_1, t) = 0 \quad (3\text{-ب})$$

$$V(L_2, y, t) = V(L_1 - L_2, y, t) = V(x, L_2, t) \\ = V(x, L_1 - L_2, t) = S \quad (3\text{-ج})$$

در معادله (3)،  $L_1$  طول ضلع ناحیه حل و  $L_2$  فاصله رگ های والد تا سازه بافت است.  $S$  مقدار غلظت موجود در مرزهای سازه بافت میهمان با بافت میزبان است. آنالیز ابعادی معادله (1) با توجه به مقیاس های مدل نشان می دهد که غلظت VEGF در بافت به سرعت به حالت پایایی می رسد، به علاوه نتایج حل معادله (3) نیز همین مطلب را نشان می دهد.

### 3-2- مقیاس بین سلولی

در مقیاس سلولی یا بین سلولی آنچه مهم است تعامل و برهمکنش هایی است که در ابعاد سلولی انجام می پذیرد. در فرآیند رگ زایی این فعل و انفعالات را می توان به دو دسته تقسیم کرد. اول، برهمکنش های بین سلول - سلول و دوم، برهمکنش های بین سلول و ماتریس فراسلولی. سلول های اندوتلیال در تعاملی دائم با یکدیگر و اجزای ماتریس فراسلولی، رفتار خود را در رشد و مهاجرت تنظیم می کنند.

مدل سازی صریح بافت همبند و ماتریس فراسلولی از ویژگی های این

کم اکسیژن، منبع خوراک و اکسیژن به صورت مستقیم برای بقا و رشد آن ها در اختیار خواهد بود.

برد نفوذ اکسیژن در بافت در حدود 100 میکرومتر است [2] و آزمایش ها نیز نشان داده اند که آغاز فرآیند رگ زایی در فاصله های بیشتر از این حد است [34]، بدین معنی که شرط لازم برای شروع فرآیند رگ زایی فاصله ای بیش از 100 میکرومتر بین ناحیه دچار کمبود اکسیژن و رگ های والد است. بنابراین در این مدل فاصله بین رگ والد و سازه بافت 200 میکرومتر در نظر گرفته شده است. با انتخاب این ابعاد برای مدل، دینامیک اصلی در برهمکنش بین سلول ها و بین ماتریس و سلول خواهد بود و از طرف دیگر فضای کافی نیز برای رشد جوانه و مشاهده پدیده های مثل دوشاخه شدن و بازپیوند نیز وجود خواهد داشت.

### 3- ساختار مدل

فرآیندهای اثرگذار در رگ زایی به طور طبیعی به سه طبقه بر اساس مقیاس های زمانی و مکانی تقسیم می شوند: مقیاس فراسلولی، مقیاس بین سلولی و مقیاس درون سلولی.

در مقیاس فراسلولی، فاکتورهای رگ زایی از طریق بافت همبند پخش می شوند. در مقیاس بین سلولی یا سلولی، سلول ها با یکدیگر و ماتریس فراسلولی برهمکنش دارند. در مقیاس درون سلولی، مسیرهای انتقال سیگنال ها درون هر سلول رفتار آن سلول را کنترل می کنند. در این فصل با توجه به این سه مرتبه از طریق شبیه سازی محیط فراسلولی و بین سلولی یک مدل مبتنی بر سلول برای مدل سازی فرآیند رگ زایی ارائه می شود. این مدل مبتنی بر سلول، یک مدل دوره<sup>1</sup> است. بدین معنی که از خواص مدل های پیوسته و گسسته به طور همزمان بهره می گیرد. در مقیاس فراسلولی، یک معادله دیفرانسیل جزئی پدیده پخش، جذب فاکتور رشد توسط سلول های اندوتلیال و فاسد شدن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی یا VEGF را شبیه سازی می کند. دینامیک مرتبه سلولی با استفاده از یک مدل شبکه گسسته مونت کارلو<sup>2</sup> یا مدل سلولی پاتس<sup>3</sup> در مدل سازی وارد می شود. مدل سلولی پاتس، مهاجرت، رشد، تکثیر و چسبندگی سلولی و همچنین برهمکنش سلول ها با ماتریس فراسلولی را در نظر می گیرد. با این معماری مدل، محیط های فراسلولی و سلولی به طور دائم بر هم اثر می گذارند.

### 3-1- مقیاس فراسلولی

بعد از کمبود اکسیژن در بافت، سلول ها شروع به ترشح فاکتورهای محرک رگ زایی می کنند. پخش VEGF در بافت موجب ایجاد گرادیان غلظت بین سازه بافت و رگ های والد می شود که در نهایت موجب تحریک سلول های اندوتلیال رگ ها می شود. VEGF از طریق بافت همبند<sup>4</sup> نفوذ می کند و توسط سلول های اندوتلیال جذب می شود. در صورت جذب نشدن VEGF توسط سلول های اندوتلیال، VEGF پس از مدت زمان معینی خاصیت خود را از دست می دهد و فاسد می شود. با توجه به هندسه ناحیه حل می توان پدیده پخش فاکتور رشد اندوتلیال عروقی را توسط یک معادله پخش با تغییراتی جزئی بیان کرد [30]:

$$\frac{\partial V}{\partial t} = D \nabla^2 V - \lambda V - B(x, y, V) \quad (1)$$

در معادله (1)،  $V = V(x, y, t)$  غلظت فاکتور رشد اندوتلیال عروقی

<sup>1</sup> Hybrid

<sup>2</sup> Monte Carlo

<sup>3</sup> Cellular Potts Model

<sup>4</sup> Stroma

مدل است. اجزای اصلی مؤثر ماتریس فراسلولی شامل فیبرهای ماتریس، مایع میان بافتی و سلول‌های بافت است که در کنار یکدیگر یک ساختار ناهمگن را ساخته‌اند. فیبرهای ماتریس نقش عمده‌ای را در فرآیند مهاجرت سلول‌های اندوتلیال بازی می‌کنند و سلول‌های بافت نیز نقش مهمی در تعیین الگوی شبکه عروقی ایفا می‌کنند. خواص این سلول‌ها تعیین‌کننده رفتار و خواص بافت است. در این تحقیق با در نظر گرفتن نتایج مطالعه تأثیرات اجزای ماتریس بر فرآیند رگ‌زایی [31]، تفاوت‌های اساسی در الگوی مهاجرت و ریخت‌زایی در صورت وجود یا عدم وجود برخی از این اجزا مانند سلول‌های بافت، مورد مطالعه و شبیه‌سازی قرار گرفته می‌گیرد. در این مدل فرض شده است که سلول‌های بافت بی‌حرکت هستند و اندازه آن‌ها حدوداً برابر با اندازه سلول‌های اندوتلیال است [35] و مانعی فیزیکی برای حرکت آزادانه سلول‌های اندوتلیال هستند. در نتیجه، سلول‌های بافت برای تصاحب فضا با دیگر سلول‌ها رقابت می‌کنند و در برابر مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال مقاومت می‌کنند. از سوی دیگر، ثابت شده است که فیبرهای ماتریس بسته به چگالی و توزیع‌شان در ماتریس فراسلولی بر ریخت‌زایی و رگ‌زایی تأثیر می‌گذارند [31].

فرآیند رشد رگ‌های جدید فرآیندی است که در آن سلول‌ها به عنوان واحدهایی مجزا، بدین معنی که هر کدام به تنهایی رفتار خود را مشخص می‌کنند، با یکدیگر و ماتریس اطراف خود تعامل و برهمکنش دارند. بر همین بنیان، در این تحقیق مدل سلولی پاتس به‌عنوان چارچوب اصلی برای شبیه‌سازی رفتار سلولی در نظر گرفته شده است تا برهمکنش‌های بین سلول‌های اندوتلیال و بین سلول‌های اندوتلیال و اجزای ماتریس فراسلولی در مدل در نظر گرفته شود. مدل سلولی پاتس مدلی است که بر مبنای اصول کمینه‌سازی انرژی کار می‌کند. در این مدل که توسط گلیریز و گرانت پایریزی شده است هر تغییر امکان‌پذیر باید به‌گونه‌ای به‌پیش رود که انرژی کل سیستم در اثر این فعالیت کاهش بیابد. در زمینه شبیه‌سازی پدیده‌های زیستی مدل سلولی پاتس تاکنون در زمینه‌های متنوعی از جمله تکثیر سلولی و رشد بافت [36]، رشد تومور غیر عروقی [37] و گسترش سرطان [38] مورد قرار گرفته است. ساختار این روش اجازه می‌دهد که المان‌های داخلی یک سیستم پیچیده مورد بررسی قرار بگیرد و با پیش‌بینی نحوه رفتار آن‌ها با یکدیگر، مشی کلی سیستم تعیین گردد. به عبارت دیگر در مدل پیش رو، اجزا و دینامیک میکروسکوپی سیستم را به‌عنوان ورودی مدل‌سازی در نظر می‌گیرد و در نهایت، علاوه بر شبیه‌سازی فرآیندهای بین سلولی، رفتار سیستم در مقیاس ماکروسکوپی را به عنوان خروجی تحویل دهد. در این تحقیق از این مدل برای شبیه‌سازی فرآیند رگ‌زایی و پدیده‌های اساسی آن توسعه یافته است.

در مدل سلولی پاتس، هر کدام از سلول‌ها و اجزای ماتریس فراسلولی شبکه در طول همه‌ی محاسبات، یک عدد منحصر به فرد اختصاص داده می‌شود. در مورد سلول‌های اندوتلیال چون این سلول‌های تکثیر می‌شوند به هر سلول جدید، عددی جدید نسبت داده می‌شود.  $\sigma$  نمایش‌دهنده این شماره‌ها است که برای سلول‌های بافت عدد سه، کل فیبرهای ماتریس عدد دو، برای مایع میان بافتی عدد یک و برای سازه بافت میهمان عدد صفر انتخاب می‌شود (شکل 4). لازم به ذکر است به دلیل عدم برهمکنش بین سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های سازه بافت تا رسیدن جوانه‌ها به شبکه پیش‌ساخته (پایان شبیه‌سازی)، برهمکنش‌های سلول‌های سازه بافت در مدل در نظر گرفته نشده است.

در مدل سلولی پاتس، بر پایه عکس‌العمل سلول‌ها به رخدادهای زیستی شیمیایی و مکانیکی، جمله‌هایی در فرم همیلتونین پاسخ سلول‌ها به هر یک از این رخدادهای را توصیف می‌کند. در این مدل چهار انرژی یا جمله همیلتونین رفتار سلولی را تنظیم و کنترل می‌کند. بخش نخست، انرژی چسبندگی سلول‌های به یکدیگر و اجزای ماتریس فراسلولی را توصیف می‌کند. بخش دوم، مربوط به انرژی لازم برای رشد سلول‌های اندوتلیال است. بخش سوم مربوط به مهاجرت سلول با استفاده از مکانیزم شیمی‌آرایی است. در نهایت انرژی لازم برای حفظ پیوستگی سلول‌ها در مدل اضافه می‌شود. در این چهارچوب هر نهاد یا وجودی یک حجم معین و شکلی قابل تغییر دارد و برای تصاحب جای بیشتر با سایر اعضا در رقابت است

چسبندگی سلولی از مهم‌ترین ویژگی‌های زیستی است که موجب پایداری و حفظ ساختارهای چند سلولی می‌شود. چسبندگی سلولی هسته اصلی بسیاری از فرآیندهای ریخت‌زا است که برهمکنش‌های بین سلول‌ها را کنترل می‌کند. مهاجرت سلولی و دسته‌بندی سلولی<sup>3</sup> مثال‌های از فرآیندهای مهم ریخت‌زا هستند که توسط چسبندگی کنترل می‌شوند. انرژی چسبندگی ناشی از پیوندهای هیدروژنی و یونی سلول‌ها است که موجب نگهداری

فرآیند رشد رگ‌های جدید فرآیندی است که در آن سلول‌ها به عنوان واحدهایی مجزا، بدین معنی که هر کدام به تنهایی رفتار خود را مشخص می‌کنند، با یکدیگر و ماتریس اطراف خود تعامل و برهمکنش دارند. بر همین بنیان، در این تحقیق مدل سلولی پاتس به‌عنوان چارچوب اصلی برای شبیه‌سازی رفتار سلولی در نظر گرفته شده است تا برهمکنش‌های بین سلول‌های اندوتلیال و بین سلول‌های اندوتلیال و اجزای ماتریس فراسلولی در مدل در نظر گرفته شود. مدل سلولی پاتس مدلی است که بر مبنای اصول کمینه‌سازی انرژی کار می‌کند. در این مدل که توسط گلیریز و گرانت پایریزی شده است هر تغییر امکان‌پذیر باید به‌گونه‌ای به‌پیش رود که انرژی کل سیستم در اثر این فعالیت کاهش بیابد. در زمینه شبیه‌سازی پدیده‌های زیستی مدل سلولی پاتس تاکنون در زمینه‌های متنوعی از جمله تکثیر سلولی و رشد بافت [36]، رشد تومور غیر عروقی [37] و گسترش سرطان [38] مورد قرار گرفته است. ساختار این روش اجازه می‌دهد که المان‌های داخلی یک سیستم پیچیده مورد بررسی قرار بگیرد و با پیش‌بینی نحوه رفتار آن‌ها با یکدیگر، مشی کلی سیستم تعیین گردد. به عبارت دیگر در مدل پیش رو، اجزا و دینامیک میکروسکوپی سیستم را به‌عنوان ورودی مدل‌سازی در نظر می‌گیرد و در نهایت، علاوه بر شبیه‌سازی فرآیندهای بین سلولی، رفتار سیستم در مقیاس ماکروسکوپی را به عنوان خروجی تحویل دهد. در این تحقیق از این مدل برای شبیه‌سازی فرآیند رگ‌زایی و پدیده‌های اساسی آن توسعه یافته است.

در مدل سلولی پاتس معیاری که به‌عنوان انرژی سیستم تعریف می‌شود که همیلتونین<sup>1</sup> نام دارد. برای هر پدیده بیومکانیکی و بیوشیمیایی شناخته‌شده در مقیاس سلولی یک انرژی معین تعریف می‌شود که با تغییرات در فعل‌وانفعالات سلولی آن انرژی‌ها نیز بسته به رفتار سیستم کاهش یا افزایش می‌یابند. مقدار همیلتونین احتمال رخ دادن تغییرات در سیستم را تعیین می‌کند. به‌عنوان مثال، افزایش حجم سلول و یا حرکت سلول به سمت گرادیان فاکتور رشد، باعث کاهش مقدار همیلتونین شده و در مقابل تغییرات غیرمحمتمل، مانند حرکت سلول در خلاف جهت گرادیان فاکتور رشد، باعث افزایش مقدار همیلتونین می‌شود. مدل سلولی پاتس با توجه به تغییرات

در مدل سلولی پاتس معیاری که به‌عنوان انرژی سیستم تعریف می‌شود که همیلتونین<sup>1</sup> نام دارد. برای هر پدیده بیومکانیکی و بیوشیمیایی شناخته‌شده در مقیاس سلولی یک انرژی معین تعریف می‌شود که با تغییرات در فعل‌وانفعالات سلولی آن انرژی‌ها نیز بسته به رفتار سیستم کاهش یا افزایش می‌یابند. مقدار همیلتونین احتمال رخ دادن تغییرات در سیستم را تعیین می‌کند. به‌عنوان مثال، افزایش حجم سلول و یا حرکت سلول به سمت گرادیان فاکتور رشد، باعث کاهش مقدار همیلتونین شده و در مقابل تغییرات غیرمحمتمل، مانند حرکت سلول در خلاف جهت گرادیان فاکتور رشد، باعث افزایش مقدار همیلتونین می‌شود. مدل سلولی پاتس با توجه به تغییرات

<sup>2</sup> Boltzman  
<sup>3</sup> Cell sorting

<sup>1</sup> Hamiltonian

حد رشد یک سلول، حجم هدف می‌گویند. پس از رسیدن حجم سلول در حال رشد به حجم هدف، در طی فرآیندهایی درون سلولی، سلول وارد چرخه تقسیم میتوز<sup>2</sup> می‌شود و به دو سلول مجزا تقسیم می‌شود. این حجم در محاسبات دو برابر حجم اولیه در نظر گرفته شده است.

با در نظر گرفتن طبیعت سیستم، هرگونه تفاوت حجم سلول با حجم هدف موجب مقدار انرژی ای را به انرژی کل اضافه می‌کند، به صورتی که رشد سلول تا رسیدن به حجم هدف تضمین شود. انرژی لازم برای فرآیند رشد سلولی یا قید حجم را با  $E_{\text{volume}}$  نشان می‌دهند و به صورت رابطه (5) تعریف می‌شود:

$$E_{\text{growth}} = \sum_{\text{cell}} \gamma_e (a_\sigma - A_\sigma^T)^2 \quad (5)$$

در معادله (5)،  $\gamma_e$  ثابت مقاومت سلول‌های اندوتلیال در مقابل تغییر حجم است که به عنوان الاستیسیته سلول‌های اندوتلیال تعریف می‌شود.  $a_\sigma$  حجم سلول و  $A_\sigma^T$  نیز حجم هدف سلول‌های اندوتلیال هستند. در این تحقیق فرض شده است که بدون هیچ نیروی خارجی دیگری و با خوراک کافی، سلول‌های اندوتلیال با استفاده از این انرژی تا رسیدن به دو برابر حجم اولیه خود رشد می‌کنند به حجم هدف می‌رسند.

جمله‌ی بعدی در انرژی کل مربوط به انرژی لازم برای مهاجرت سلول‌های اندوتلیال است. مهاجرت سلول‌های اندوتلیال اصلی‌ترین مرحله در فرآیند رگ‌زایی است. سه مکانیزم عمده در مهاجرت سلول‌های اندوتلیال نقش دارند. این سه مکانیزم شیمی‌آرایی، لمس‌آرایی و مکانیک‌آرایی<sup>3</sup> هستند. بطور کلی مهاجرت سلول‌های اندوتلیال در فرآیند رگ‌زایی ترکیبی از این سه مکانیزم است [16]. شیمی‌آرایی توسط فاکتورهای رشدی مانند VEGF و bFGF کنترل می‌شوند. لمس‌آرایی از اتصال بین اینتگرین و اجزای ماتریس فراسلولی مانند فیبرونکتین و کلاژن ایجاد می‌شود که جهت و گام مهاجرت لمس گونه را تعیین می‌کند [40]. سلول‌های اندوتلیال در لایه درون رگ‌های خونی قرار می‌گیرند. از این جهت، آن‌ها دائما در تماس با جریان خون هستند که موجب ساخته شدن مکانیزم سوم مهاجرت سلول‌های اندوتلیال می‌شود. مکانیک‌آرایی ربط مستقیمی به تنش برشی خون دارد و نقش مهمی در ملزومات مهاجرت از جمله چسبندگی به ماتریس فراسلولی داد [40]. با در نظر داشتن هدف این تحقیق که همان مدل‌سازی امکان اجرای رویکرد آمیختگی و اتصال عروق میزبان به شبکه از پیش ساخته است، تنها دو مکانیزم شیمی‌آرایی و لمس‌آرایی در این مدل در نظر گرفته شده‌اند.

لمس‌آرایی حرکت جهت‌دار سلول‌های را موجب می‌شود. این حرکت به وسیله اتصالات جانبی ناشی از چسبندگی سلولی کنترل می‌شود. از آنجایی که انرژی‌های چسبندگی متفاوتی بین اجزای مدل آمده است، مدل به صورت ذاتی انرژی مهاجرت ناشی از لمس‌آرایی را در خود دارد. این یکی از برتری‌های این مدل بر مدل‌های قبلی گسسته مانند کار چاپلین و همکاران [20] است.

شیمی‌آرایی اساسا توسط گرادیان VEGF به حرکت درمی‌آید، بنابراین یک نسبت ساده با گرادیان VEGF می‌تواند نشانگر سهم انرژی شیمی‌آرایی در انرژی کل باشد. با مطالعه پدیده شیمی‌آرایی می‌توان دریافت که سلول‌های اندوتلیال وادار می‌شوند در جهت افزایش غلظت یا گرادیان VEGF حرکت کنند و سرعت این حرکت رابطه مستقیمی با گرادیان VEGF دارد [30]. محیط ماتریس فراسلولی بسیار درهم تنیده و چسبناک<sup>4</sup>

سلول‌های و همتای چسبنده آن‌ها در کنار هم می‌شود [39]. نقش مکانیکی چسبندگی، فراهم کردن انرژی لازم برای اتکا محکم سلول به محیط اطرافشان است.

سلول‌های و اجزای ماتریس فراسلولی در برهمکنش با یکدیگر به صورت سطحی به یکدیگر می‌چسبند. اگر دو نوع سلول مجاور متفاوت را با  $\tau$  و  $\tau'$  نشان دهیم (مثلا دو سلول اندوتلیال یا سلول اندوتلیال و سلول بافت)،  $J_{\tau, \tau'}$  نشان‌دهنده قدرت چسبندگی بین این دو گونه است. انرژی چسبندگی در فرم همیلتونین را می‌توان به صورت رابطه (4) تعریف کرد [30]:

$$E_{\text{adhesion}} = \sum_{\text{site}} J_{\tau, \tau'} (1 - \delta_{\sigma, \sigma'}) \quad (4)$$

در معادله 4،  $J$  مقدار انرژی چسبندگی بین دو گونه  $\tau$  و  $\tau'$  است.  $\delta$  تابع دلتای کرونکر<sup>1</sup> و  $\sigma$  و  $\sigma'$  شماره دو شبکه مجاور در دامنه مسئله است. با توجه به وجود تابع دلتای کرونکر این انرژی فقط در سطح تماس سلول‌ها و در تماس با گونه‌های متفاوت با شماره‌هایی متفاوت وجود دارد. در صورتی که دو گونه مورد بررسی دارای یک شماره باشند یعنی هر دو شبکه متعلق به یک سلول باشند، تابع دلتای کرونکر برابر 1 شده و در نتیجه انرژی چسبندگی بین این دو گونه برابر صفر خواهد شد و اثری در انرژی کلی نمی‌گذارد و اساسا چسبندگی برای این دو گونه تعریف نمی‌شود. در صورتی که دو گونه مورد بررسی دارای شماره‌های متفاوتی باشند، به عنوان مثال متعلق به دو سلول اندوتلیال مجزا باشند، مقدار تابع دلتای کرونکر صفر شده و در نتیجه انرژی چسبندگی بین این دو گونه به انرژی کل سیستم افزوده می‌شود.

سلول‌ها برای رشد، تکثیر و تغییر شکلشان نیاز به نوعی انرژی دیگر دارند. با توجه به این حقیقت انرژی رشد سلولی تعریف می‌شود. هر سلول اندوتلیالی که توسط فاکتور رشد تحریک می‌شود، از این انرژی برای رشد بهره می‌گیرد. سلول‌های اندوتلیال در رشد خود محدودیت دارند. به بیشینه

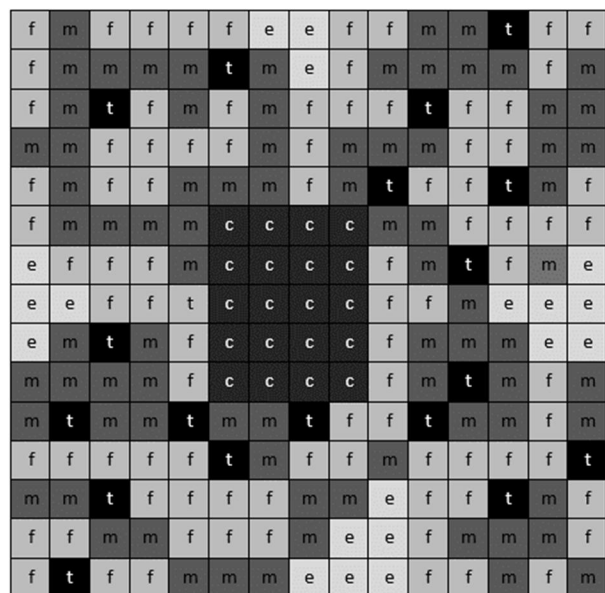


Fig. 3 A sample of the initial configuration in Potts model at the cellular scale. Tissue construct, matrix fibers, interstitial fluid, tissue cells and endothelial cells that are shown by c, m, f, t and e, respectively

شکل 3 نمونه‌ای از پیکربندی اولیه در مدل سلولی پاتس در مقیاس سلولی. سازه بافت، فیبرهای ماتریس، مایع میان بافتی، سلول‌های بافت و سلول‌های اندوتلیال به ترتیب با c, f, m, t و e نشان داده شده است

<sup>2</sup> Mitosis

<sup>3</sup> Mechanotaxis

<sup>4</sup> Viscous

<sup>1</sup> Kronecker delta

چند جوانه به یکدیگر گفته می‌شود. بر اساس قوانین دینامیک سیالات، خون برای جریان یافتن در یک رگ نیاز به یک ورودی و یک خروجی دارد که اختلاف فشار ناشی از بالادست و پایین‌دست جریان در رگ، خون را در این رگ جوان جاری کند. در دسته‌بندی سلول‌های اندوتلیال از سلول‌های تیپ یاد شد. این سلول‌ها در ذات خود دارای شرایط لازم برای اتصال جوانه‌ها به یکدیگر هستند. این سلول‌ها با گسترش شاخک‌های نازک و بلند روی سطح سلول‌های تیپ در اطراف، محیط اطراف خود را حس کرده و مهاجرت آن شاخه در بافت را به‌طوری هدایت می‌کند که در صورت امکان به شاخه‌های دیگر متصل شود [18]. بازپیوند فرآیندی است که در آن دو سلول تیپ به هم متصل می‌شوند و یا اینکه یک سلول تیپ و یک سلول ریشه به یکدیگر متصل می‌شوند. در فرآیند آمیختگی برای اتصال جوانه‌ها به یکدیگر راه بهینه‌تری وجود دارد. با حرکت سلول‌های تیپ به‌سوی شبکه پیش‌ساخته این احتمال وجود دارد که جوانه‌ها به شبکه پیش‌ساخته متصل شوند. این رخداد در واقع، شرایط لازم برای پدیده بازپیوند است که در زمان کمتر و با احتمال بیشتری نسبت به رویکرد رگ‌زایی، موجب جاری شدن خون در این شبکه می‌شود.

سؤال اصلی در این الگوریتم این است که آیا امکان تغییر اجزای شبکه از یک نهاد به نهاد دیگر، به‌عنوان مثال تبدیل ناحیه اشغال‌شده توسط مایع میان بافتی به سلول اندوتلیال، وجود دارد یا خیر. شکل 4 نمایی از میدان حل را نشان می‌دهد. هر تغییری در این سیستم بر طبق یک الگوریتم ساده چندمرحله‌ای صورت می‌پذیرد:

- 1- به‌صورت تصادفی یکی از اجزای شبکه به مختصات  $(i, j)$  انتخاب می‌شود.
- 2- بسته به جزء انتخابی، در صورت وجود، همسایه‌های غیر هم نوع آن پیدا می‌شوند.
- 3- به‌صورت تصادفی یک جز همسایه غیر هم نوع،  $(i', j')$  انتخاب می‌شود.
- 4- انرژی کل ناشی از برهمکنش این دو جز محاسبه می‌شود.
- 5- با توجه به مقدار تغییر انرژی دو حالت متصور است:

1-1- انرژی سیستم کاهش یابد که بدین معنی است که تغییر پذیرفته می‌شود.

2-2- انرژی سیستم افزایش یابد که در این صورت، تغییر با احتمال زیر پذیرفته می‌شود:

$$P_{\text{acceptance}} = \exp\left(\frac{-\Delta E_{\text{total}}}{kT}\right), \quad \Delta E_{\text{total}} > 0 \quad (9)$$

در رابطه (9)،  $k$  ثابت بولتزمن و  $T$  با تعریف ترمودینامیکی دمای مؤثر است که تفسیر آن در این مدل نوسان غشای سلول‌ها است و معیاری از ناپایداری سیستم است. این مراحل باید به تعداد نقاط داخل شبکه انجام شود. به عبارت دیگر اگر شبکه به  $n$  ناحیه تقسیم شده باشد،  $n$  بار باید ناحیه‌های درون شبکه انتخاب‌شده و این الگوریتم روی آن‌ها اجرا شود. تعداد  $n$  تغییر در مدل یک گام مونت کارلو<sup>2</sup> MCS را نشان می‌دهند که مبنای زمانی مدل سلولی پاتس است. در پایان، مدل سلولی پاتس در طی زمان و با تکرارهای پی در پی مبتنی بر احتمال شماره شناسه اجزا شبکه را به‌روز می‌کند.

### 3-3- مقیاس درون سلولی

رخ‌مانه سلول حالتی از تعادل سلول است که رفتار آن سلول را مشخص

است و چون سلول‌های اندوتلیال بایستی از چنین محیطی عبور کنند، حرکت آن‌ها فرا میرا<sup>1</sup> می‌شود. این نوع حرکت موجب می‌شود که نیروی لازم برای حرکت سلول‌ها نسبت مستقیم با سرعت حرکت داشته باشد و نتیجتاً نیروی لازم برای حرکت نسبتی از گرادیان VEGF شود. با این تئوری، انرژی شیمی‌آرایی به‌صورت رابطه (6) استخراج می‌شود:

$$E_{\text{chemotaxis}} = \sum_{\text{site}} \chi_{\sigma} \Delta V \quad (6)$$

به‌طوری‌که،  $\chi_{\sigma}$  پتانسیل مؤثر شیمی‌آرایی و  $\Delta V$  گرادیان شیمیایی VEGF است. با توجه به اینکه پاسخ هر یک از رخ‌مانه‌های سلول‌های اندوتلیال با دیگرگونه‌ها متفاوت است، به‌عنوان مثال سرعت شیمی‌آرایی سلول‌های تیپ با ساقه تفاوت دارد. به همین دلیل برای هرکدام از این رخ‌مانه‌ها پتانسیل مؤثر شیمیایی اختصاصی‌ای در مدل تعریف می‌گردد.

این احتمال وجود دارد که در فرآیند حل مدل، با توجه به شبکه‌ای بودن مدل و این مطلب که هر سلول ممکن است از چندین شبکه تشکیل شود، قسمتی از یک سلول از بدنه اصلی سلول جدا شود. با مطالعه زیست‌شناسی سلولی می‌توان دریافت چنین اتفاقی در واقعیت اتفاق نمی‌افتد مگر آنکه سلول در حال مرگ باشد. جهت حفظ پیوستگی سلول‌ها، یک جمله دیگر به انرژی کل افزوده می‌شود که در صورت میل سلول به از هم‌گسیختگی، انرژی سیستم به طرز چشمگیری افزایش یابد و به این ترتیب تغییرات انرژی سیستم در جهت خلاف اعمال این تغییر باشد. انرژی پیوستگی سلولی به‌صورت رابطه (7) تعریف می‌شود:

$$E_{\text{continuity}} = \sum_{\text{cell}} \alpha (1 - \delta_{a_{\sigma}, a_{\sigma'}}) \quad (7)$$

در رابطه (7)،  $\alpha$  ثابت پیوستگی که مقدار آن در مقایسه با سایر ثابت‌ها در انرژی‌های دیگر، مانند ثابت چسبندگی، بسیار بزرگ‌تر است.  $\delta$  تابع دلتای کرونکر است. قبلاً اشاره شد که در پیکربندی مدل سلولی پاتس هر سلول ممکن است بیش از یک شبکه را اشغال کند، یعنی اندازه سلولی به‌طوری باشد که چندین شبکه را شامل شود. این انرژی یگانه بودن همه‌ی سلول‌ها را با این رویکرد کنترل می‌کند که در صورت جدا شدن بخشی از یک سلول انرژی سیستم به طرز چشمگیری زیاد شود تا احتمال این تغییر تا حد ممکن کم شود. در این الگوریتم، اندازه فعلی سلول اندوتلیال ( $a_{\sigma}$ ) با اندازه شبکه‌های پیوسته اشغال‌شده توسط همان سلول ( $a_{\sigma'}$ ) برابر نخواهد بود. در نتیجه  $1 - \delta_{a_{\sigma}, a_{\sigma'}} \neq 0$  و انرژی به سیستم وارد می‌شود.

با این تئوری، انرژی کل سیستم در این مرحله به‌صورت رابطه (8) خواهد بود:

$$E_{\text{total}} = E_{\text{adhesion}} + E_{\text{growth}} + E_{\text{chemotaxis}} + E_{\text{continuity}} \\ = \sum_{\text{site}} J_{\tau, \tau'} (1 - \delta_{\sigma, \sigma'}) + \sum_{\text{cell}} \gamma_e (a_{\sigma} - A_{\sigma}^T)^2 + \sum_{\text{site}} \chi_{\sigma} \Delta V \\ + \sum_{\text{cell}} \alpha (1 - \delta_{a_{\sigma}, a_{\sigma'}}) \quad (8)$$

در طی زمان فرآیند رگ‌زایی پدیده‌هایی رخ می‌دهند که برخی مثل دوشاخه شدن در اثر برهمکنش بین سلول‌های اندوتلیال و اجزای ماتریس فراسلولی هستند و برخی دیگر، مانند بازپیوند رفتارهایی هستند که در ذات فرآیند رگ‌زایی وجود دارند و از خواص سلول‌های اندوتلیال سرچشمه می‌گیرند.

بازپیوند جوانه‌ها یکی از پدیده‌های حیاتی در فرآیند رگ‌زایی و رگ دار کردن بافت، است. بازپیوند به تشکیل یک حلقه بسته از دو جوانه یا اتصال

<sup>2</sup> Monte Carlo Step

<sup>1</sup> Over damped



سلول‌های اندوتلیال در محیط ماتریس فراسلولی بازیابی می‌شود. توزیع مکانی جدید VEGF دوباره از رابطه (1) به دست می‌آید و تکرار همین چرخه تا اینکه گام‌های زمانی پایان یابد ادامه دارد.

#### 4- پارامترهای مدل

مقادیر پارامترهای جدول 1 از مراجع [31,30] گرفته شده است. در هر جایی که امکان‌پذیر بوده است پارامترها از داده‌های تجربی به دست آمده‌اند که اختصاصاً فقط شامل پارامترهای موجود در معادله 1 می‌شود.

برای نسبت دادن مقادیر باقی پارامترها، سعی شده است پارامترها به گونه‌ای مقداردهی شوند که مدل بتواند رفتار مشاهده شده طبیعی سیستم در طی فرآیند رگ‌زایی را شبیه‌سازی کند. برای تبدیل واحد زمانی گام مونت‌کارلو به واحد زمانی واقعی از زمان لازم برای تقسیم سلولی یک سلول اندوتلیال بهره گرفته شد. 18 ساعت طول می‌کشد که یک سلول اندوتلیال چرخه خود را طی کند [30] و با مقایسه این زمان با زمان تقسیم سلول در مدل، هر گام مونت‌کارلو تقریباً برابر یک ساعت است.

در بین اجزای ماتریس فراسلولی، فیبرهای ماتریس و سلول‌های بافت بر الگوی رگ‌زایی تأثیر می‌گذارند. در این تحقیق با توجه به بررسی اثر فیبرهای ماتریس بر روی الگوی آنژیوژنسیس در کارهای گذشته [31]، این جز ماتریس فراسلولی در شبیه‌سازی‌ها در نظر گرفته نشده است. در هر صورت وجود دیگر المان‌های ماتریس فراسلولی تأثیر چندانی در هدف این تحقیق ندارد زیرا عمده تأثیر این المان‌ها بر الگوی رگ‌زایی است. با این تفسیر، مقادیر نشان داده شده در جدول 1 صرفاً جهت درک بیشتر در مورد مفهوم چسبندگی بین سلولی است.

یکاهای مورد استفاده در جدول 1، بر مبنای فرمولاسیون ارائه شده‌اند، بدین معنی که مثلاً  $E$  در یکای پارامترها نشان‌گر واحد انرژی یا همپلتونین است. در جدول 1،  $conc.$  به‌عنوان نماد غلظت به کار برده شده است. لازم به ذکر است که منظور از pixel در جدول، المان‌های مربعی تشکیل‌دهنده میدان می‌باشد. در این تحقیق همه شبیه‌سازی‌ها از مجموعه پارامترها و فرضیاتی یکسان استفاده کرده‌اند.

#### 5- نتایج

در این بخش نتایج حاصل از مدل‌سازی رابطه (8) ارائه می‌گردد. در شکل 5، شش لحظه در طی فرآیند رگ‌زایی در محیطی همگن نشان داده شده است. نتایج به‌گونه‌ای ارائه شده‌اند (شکل 5 و 6) که تفاوت الگوی رگ‌زایی در اثر اجزای ماتریس فراسلولی مشخص شود. در قسمت دوم، نتایج حاصل از اضافه کردن برخی المان‌ها که ممانعت بیشتری در برابر مهاجرت آزادانه سلول‌های اندوتلیال و تأثیر آن‌ها بر الگوی رگ‌زایی به نمایش درآمده است.

#### 5-1- رشد و اتصال جوانه‌ها به سازه پیش‌ساخته

شبیه‌سازی با ده عدد سلول منفرد اندوتلیال جای گرفته در هر چهار طرف ناحیه حل شروع می‌شود. دریافت سیگنال از VEGF، سلول‌های اندوتلیال را برای مهاجرت به خط می‌کشد. پس از فعال شدن سلول‌های اندوتلیال، این سلول‌ها شروع به رشد، تکثیر و مهاجرت می‌کنند. الگوریتم حل بر اساس الگوریتم مونت‌کارلو است، بنابراین درصدی از تصادف و احتمال در هر بار اجرای مدل در نتایج وارد می‌شود که شامل کشیدگی سلول‌های، الگوی مهاجرت می‌باشد. نتایج نمونه طبق تئوری و معادله 8 برای شش گام مونت-کارلو در شکل 5 نمایش داده شده است.

1	2	1	1	1	1	5	5	1	1	2	2	3	1	1
1	2	2	2	3	5	5	1	2	2	2	2	2	1	2
1	2	3	1	2	1	5	1	1	1	3	1	1	2	2
2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	2	1	1	2	2
1	2	1	1	2	2	2	1	2	3	1	1	3	2	1
1	2	2	2	2	0	0	0	0	2	1	1	1	1	1
4	4	1	1	2	0	0	0	0	1	2	3	8	8	6
4	4	4	1	3	0	0	0	0	1	1	2	8	6	6
4	4	3	2	1	0	0	0	0	1	2	2	8	6	6
2	2	2	2	1	0	0	0	0	1	2	3	2	1	2
2	3	2	2	3	2	2	3	1	1	3	2	2	1	2
1	1	1	1	1	3	2	1	1	2	1	1	1	1	3
2	2	3	1	1	1	1	9	9	9	1	1	3	2	1
1	1	2	2	1	1	1	9	7	9	1	2	2	2	1
1	3	1	1	2	2	2	7	7	7	1	1	2	1	2

Fig. 4 Schematic results after few time steps. Endothelial cells (ECs) number 4 and 5 are growing and ECs number 6 and 7 after reaching target volume entered into mitosis cycle and create ECs number 8 and 9  
شکل 4 نمایی از میدان حل مسئله پس از چند گام زمانی. سلول‌های اندوتلیال شماره 4 و 5 در حال رشد هستند و سلول‌های اندوتلیال 6 و 7 پس از رشد و رسیدن به حجم هدف تقسیم سلولی انجام داده‌اند و سلول‌های اندوتلیال شماره 8 و 9 را به وجود آورده‌اند

می‌کند. این رفتار می‌تواند مهاجرت، رشد، مرگ و یا ساکن بودن سلول باشد که با توجه به سیگنال‌های محیطی تعیین می‌شود. با توجه به اینکه مدل‌سازی رخ‌مانه سلول‌ها با توجه به سیگنال‌های بیومکانیکی و بیوشیمیایی متنوع کار گسترده و دشواری است، در این تحقیق به‌صورت پیش‌فرض برای همه‌ی سلول‌ها یک دسته رخ‌مانه یکسان بر اساس نتایج کارهای بوئر و همکاران [31,30] و بزم‌آرا و همکاران [42,41] در نظر گرفته شده است. رخ‌مانه‌ها در حالتی در نظر گرفته شده است که با وجود سیگنال‌های مکانیکی و شیمیایی لازم، شرایط برای رگ‌زایی فراهم شده است.

#### 4-3- پل بین مدل پیوسته و مدل گسسته

مدل پیوسته توزیع VEGF در ماتریس فراسلولی و مدل گسسته دینامیک سلولی را توصیف می‌کند. اطلاعات هر یک از این مدل‌ها در هر گام زمانی، شرایط اولیه مدل دیگر را ایجاد می‌کند تا یک سیستم کوپل برهمکنش‌های میان سلولی و فراسلولی را هم‌زمان نشان دهد. در زمان صفر، جواب حالت‌پایای رابطه (1) توزیع اولیه فاکتور رشد را در اختیار مدل گسسته سلولی می‌گذارد. در مدل گسسته، هر سلول اندوتلیال به‌صورت کاملاً مجزا از بقیه سلول‌ها به مقدار VEGF موجود واکنش نشان می‌دهد که آیا مقدار VEGF برای فعال شدن سلول کافی است یا خیر. برای فعال شدن سلول‌های اندوتلیال، VEGF باید در مقادیری بیش از حد آستانه<sup>1</sup>  $v_a$ ، در محیط وجود داشته باشد. پس از فعال شدن سلول‌های اندوتلیال، هر سلول به‌صورت انفرادی در مورد رخ‌مانه خود تصمیم می‌گیرد که آیا یک سلول تیپ است و وظیفه مهاجرت و تضعیف ماتریس فراسلولی را بر عهده دارد و یا یک سلول تکثیر شونده است. بعد از جلو رفتن فرآیند مدل گسسته در یک گام زمانی مونت‌کارلو، تابع مربوط به بارگیری فاکتور رشد یا  $B$  با توجه به توزیع جدید

<sup>1</sup> Threshold level

## 5-2- تأثیر ماتریس فراسلولی بر الگوی رگ‌زایی

یکی از پدیده‌های که در اثر برهمکنش‌های بین سلول‌های اندوتلیال و اجزای ماتریس فراسلولی به وجود می‌آید، دوشاخه شدن است. به‌طور کلی می‌توان ادعا کرد که هیچ دوشاخه شدن کاملی در محیط ماتریس فراسلولی همگن رخ نمی‌دهد (شکل 5). این امر به دلیل آن است که محیط، برخی از راهنماهای چسبیده خود مانند سلول‌های بافت یا فیبرهای ماتریس را به‌عنوان یک مانع فیزیکی در بر ندارد. در نتایج نمایش داده‌شده در شکل 6 با قرار دادن سلول‌های بافت بر سر راه مهاجرت سلول‌های اندوتلیال پدیده دوشاخه شدن ظاهر می‌شود. آزمایش‌ها نشان داده‌اند که دوشاخه شدن به جوانه در فاصله‌ای بین 20 تا 100 میکرومتر از رگ والد پدیدار می‌شود [30]. با دقت به شکل 6 می‌توان دریافت که در این مدل نیز پدیده دوشاخه شدن در چنین بازه‌ای رخ داده است.

## 6- بحث و نتیجه‌گیری

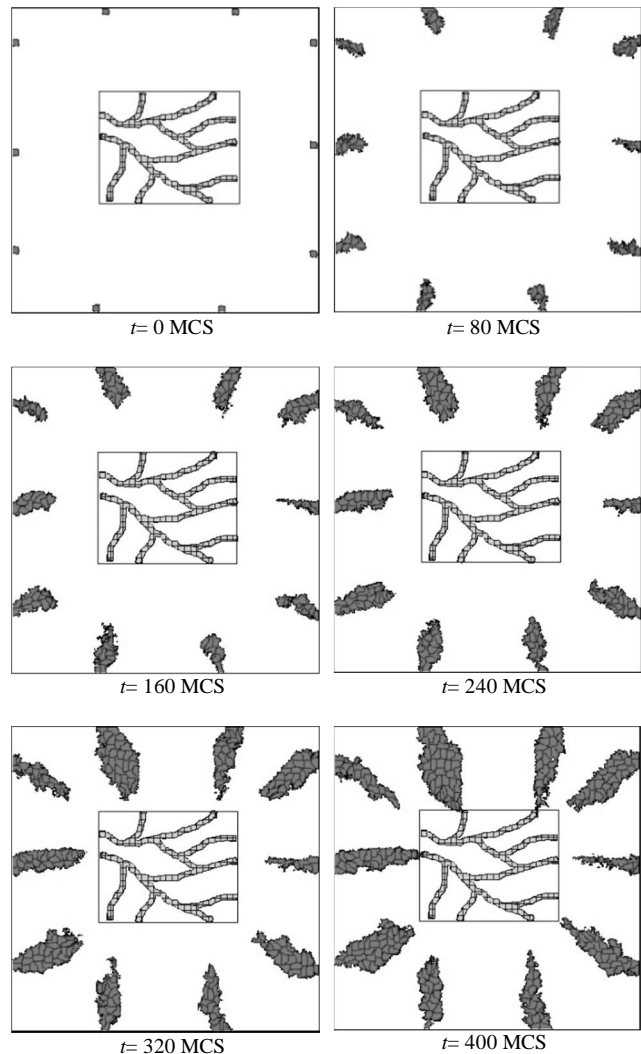
در حال حاضر شکی نیست که اصلی‌ترین پیش‌نیاز مهندسی بافت برای ورود به کاربردهای پزشکی، ابداع رویکردهای مؤثری است که تأمین خون لازم برای حیات سلول‌های بافت را تضمین کند. بر اساس همین اهمیت، روش‌های متنوعی برای توسعه‌ی رشد عروق خونی در سازه بافت پیشنهاد شده‌اند. با این وجود، با توجه به وقت‌گیر بودن فرآیند رگ‌زایی، جلوگیری از مرگ سلول‌های بافت‌های مصنوعی بزرگ به دلیل کم‌خونی کار دشواری است. تعبیه کردن شبکه عروقی پیش‌ساخته درون بافت و القای فرآیند آمیختگی دستاوردهای نوینی هستند که نوید یک راه بالقوه را برای حل این مشکل می‌دهند. با توجه به نتایج شبیه‌سازی‌ها، می‌توان تأیید کرد که در صورت قرارگیری و فعال شدن محرک‌های رگ‌زایی در سطح بافت کاشته شده، با تعبیه کردن شبکه پیش‌ساخته عروقی درون سازه بافت، می‌توان انتظار داشت که فرآیند رگ دار شدن بافت در زمان کمتر و با کیفیت بهتری انجام شود.

با توجه به نتایج، برتری جاگذاری شبکه پیش‌ساخته در درون سازه بافت را می‌توان در چند مورد خلاصه کرد. در ابتدا، با قرار دادن محرک‌های شیمیایی در نزدیکی ورودی‌های شبکه عروقی پیش‌ساخته، مسیر حرکت جوانه‌ها به سمت سازه بافت بهینه می‌شود. از طرف دیگر، در این رویکرد از آنجایی که یک شبکه عروقی در سازه بافت تعبیه شده است، مسیر رسیدن جوانه مویرگ‌ها از رگ‌های والد به عمق بافت کوتاه‌تر شده است که در عمل وقت بیشتری را در اختیار فرآیند رگ‌زایی قرار می‌دهد تا بافت را به‌خوبی رگ‌دار کند. به عنوان مثال با فرض بالغ بودن مویرگ‌ها، در استراتژی رگ-زایی مدت زمان لازم جهت رسیدن جریان خون به مرکز بافت در حدود 8 روز (180 گام مونت‌کارلو) بیشتر از رویکرد آمیختگی است. در نهایت، با احتمال‌تر شدن پدیده بازپیوند مویرگ‌ها و در نتیجه ایجاد حلقه بسته، احتمال ایجاد جریان خون در کل شبکه عروقی بالاتر می‌رود.

این مدل توانست که علاوه بر امکان‌سنجی بهبود تشکیل شبکه عروقی از طریق رویکرد آمیختگی، نقش ماتریس فراسلولی و اجزای آن بر روی الگوی رگ‌زایی را در قالب پدیده دوشاخه شدن به نمایش درآورد. با مقایسه نتایج حاصل از فرآیند رگ‌زایی و رشد جوانه‌ها با مدل‌های مشابه گذشته مانند تحقیقات بوئر و همکاران [30,31] و بزم‌آرا و همکاران [32,33,41,42] می‌توان اصالت و صحت نتایج را تأیید کرد.

در نهایت، با استفاده از دستاوردهای این تحقیق و مدل ارائه‌شده، در آینده می‌توان با اضافه کردن جزئیات بیشتری در مورد برهمکنش‌های بین

شکل 5 نشان می‌دهد که این مدل قادر است که جوانه‌زنی از رگ والد را به نمایش بگذارد و فرآیند آمیختگی را شبیه‌سازی کند. از برتری‌های رویکرد آمیختگی بر رویکرد رگ‌زایی می‌توان به این مورد اشاره کرد که در رویکرد آمیختگی احتمال و سرعت تشکیل حلقه بسته بیشتر است. به‌عنوان مثال در شکل 5 در لحظه  $t = 400$  MCS سه جوانه از سه رگ متفاوت به شبکه پیش‌ساخته متصل شده‌اند، بنابراین پدیده بازپیوند به وقوع پیوسته است. مسیر حرکت سلول‌های اندوتلیال به سمت منبع VEGF تقریباً به‌صورت یک خط صاف است. برای این الگو حرکت می‌توان دو دلیل ذکر کرد. اول، به دلیل اثر غالب شیمی‌آرایی در مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، سلول‌ها مجبورند که در مسیری بهینه حرکت کنند که گرادپان VEGF بیشتر است. از این گذشته، ماتریس فراسلولی نقش عمده‌ای در شکل‌گیری الگوی رگ‌زایی دارد، نبود مانع‌های فیزیکی نفوذناپذیر در برابر جوانه در حال رشد موجب شده است که راه مستقیم و کوتاه برای رسیدن به منبع فاکتور رشد باز باشد و عرض جوانه‌ها بیشتر شود. باید ذکر شود که طول زنجیره سلولی یا جوانه با توجه به رخ‌مانه‌های متفاوت سلول‌های اندوتلیال در طی فرآیند رگ‌زایی محدود می‌شود.



**Fig. 5** Results for equation 8 in the homogenous domain. At 400 MCS, Three sprouts are inoculated to the preformed network

شکل 5 نتایج حاصل از معادله 8 در محیط همگن. پس از گذشت 400 گام مونت-کارلو، سه جوانه به شبکه پیش‌ساخته متصل می‌شوند

7- مراجع

[1] M. W. Laschke, M. D. Menger, Vascularization in Tissue Engineering: Angiogenesis versus Inosculation, *European Surgical Research*, Vol. 48, No. 2, pp. 85-92, 2012.

[2] P. Carmeliet, R. K. Jain, Angiogenesis in cancer and other diseases, *Nature*, Vol. 407, No. 6801, pp. 249-278, 2000.

[3] M. Nomi, A. Atala, P. De Coppi, S. Soker, Principals of neovascularization for tissue engineering. *Molecular aspects of medicine*, Vol. 23, No. 6, pp. 463-483, 2002.

[4] M. W. Laschke, Y. Harder, M. Amon, I. Martin, J. Farhadi, A. Ring, N. Torio-Padron, R. Schramm, M. Rücker, D. Junker, JM. Häufel, Angiogenesis in tissue engineering: breathing life into constructed tissue substitutes, *Tissue Engineering*, Vol. 12, No. 8, pp. 2093-2104, 2006.

[5] M. W. Laschke, B. Vollmar, M. D. Menger, Inosculation: connecting the life-sustaining pipelines, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, Vol. 15, No. 4, pp. 455-465, 2009.

[6] M. W. Laschke, M. Rücker, G. Jensen, C. Carvalho, R. Mülhaupt, NC. Gellrich, MD. Menger, Improvement of vascularization of PLGA scaffolds by inosculation of in situ-preformed functional blood vessels with the host microvasculature, *Annals of surgery*, Vol. 248, No. 6, pp. 939-948, 2008.

[7] B. R. Shepherd, H. Y. Chen, C. M. Smith, G. Gruionu, S. K. Williams, J. B. Hoying, Rapid perfusion and network remodeling in a microvascular construct after implantation, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, Vol. 24, No. 5, pp. 898-904, 2004.

[8] P. L. Tremblay, V. Hudon, F. Berthod, L. Germain, F. A. Auger, Inosculation of tissue-engineered capillaries with the host's vasculature in a reconstructed skin transplanted on mice, *American journal of transplantation*, Vol. 5, No. 5, pp. 1002-1010, 2005.

[9] P. Carmeliet, R. K. Jain, Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis, *Nature*, Vol. 473, No. 7347, pp. 298-307, 2011.

[10] P. Schumann, F. Tavassol, D. Lindhorst, C. Stuehmer, K. H. Bormann, A. Kampmann, R. Mülhaupt, M. W. Laschke, M. D. Menger, N. C. Gellrich, M. Rücker, Consequences of seeded cell type on vascularization of tissue engineering constructs in vivo, *Microvascular research*, Vol. 78, No. 2, pp. 180-190, 2009.

[11] J. Folkman, Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery?, *Nature reviews Drug discovery*. Vol. 6, No. 4, pp. 273-286, 2007.

[12] H. H. Marti, Angiogenesis—a self-adapting principle in hypoxia, *Mechanisms of Angiogenesis*, Vol. 94, No. 12, pp. 163-180, 2005.

[13] B. Beamer, C. Hettrich, J. Lane, Vascular endothelial growth factor: an essential component of angiogenesis and fracture healing, *HSS journal*, Vol. 6, No. 1, pp. 85-94, 2010.

[14] T. J. Ryan, Biochemical consequences of mechanical forces generated by distension and distortion, *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol. 21, No. 1, pp. 115-130, 1989.

[15] E. M. Conway, D. Collen, P. Carmeliet, Molecular mechanisms of blood vessel growth, *Cardiovascular research*, Vol. 49, No.3, pp.507-521, 2001.

[16] S. Li, N. F. Huang, S. Hsu, Mechanotransduction in endothelial cell migration, *Journal of cellular biochemistry*, Vol. 96, No. 6, pp. 1110-1126, 2005.

[17] R. L. Klemke, S. Cai, A.L. Giannini, P. J. Gallagher, P. de Lanerolle, D. A. Cheresh, Regulation of cell motility by mitogen-activated protein kinase, *The Journal of cell biology*, Vol. 137, No. 2, pp. 481-492, 1997.

[18] H. Gerhardt, M. Golding, M. Fruttiger, C. Ruhrberg, A. Lundkvist, A. Abramsson, M. Jeltsch, C. Mitchell, K. Alitalo, D. Shima, C. Betsholtz, VEGF guides filopodial sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia, *The Journal of cell biology*, Vol. 161, No. 6, pp. 1163-1177, 2003.

[19] N. V. Mantzaris, S. Webb, H. G. Othmer, Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis, *Journal of mathematical biology*, Vol. 49, No. 2, pp. 111-187, 2004.

[20] M. A. Chaplain, S. R. McDougall, A. R. A. Anderson, Mathematical Modeling Of Tumor-Induced Angiogenesis, *Annual Review of Biomedical Engineering*, Vol. 8, No. 7, pp. 233-257, 2006.

[21] S. M. Peirce, Computational and mathematical modeling of angiogenesis, *Microcirculation*, Vol. 15, No. 8, pp. 739-751, 2008.

[22] S. M. Peirce, E. J. Van Gieson, T. C. Skalak, Multicellular simulation predicts microvascular patterning and in silico tissue assembly, *The FASEB journal*, Vol. 18, No. 6, pp. 731-733, 2004.

[23] E. Jabbarzadeh, C. F. Abrams, Strategies to enhance capillary formation inside biomaterials: A computational study, *Tissue Engineering*, Vol. 13, No. 8, pp. 2073-2086, 2007.

[24] C. L. Stokes, D. A. Lauffenburger, Analysis of the roles of microvessel endothelial cell random motility and chemotaxis in angiogenesis, *Journal of theoretical biology*, Vol. 152, No. 3, pp. 377-403, 1991.

[25] M. E. Orme, M. A. Chaplain, A mathematical model of the first steps of tumor-related angiogenesis: capillary sprout formation and secondary branching, *Mathematical Medicine and Biology*, Vol. 13, No. 2, pp. 73-98, 1996.

[26] L. Olsen, J. A. Sherratt, P. K. Maini, F. Arnold, A mathematical model for the capillary endothelial cell-extracellular matrix interactions in wound-healing angiogenesis, *Mathematical Medicine and Biology*, Vol. 14, No. 4, pp. 261-281, 1997.

[27] A. Anderson, M. Chaplain, Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis, *Bulletin of mathematical biology*, Vol. 60, No. 5, pp. 857-899, 1998.

بافت میهمان و میزبان، راه شبیه‌سازی فرآیند کاشت بافت و شرایط پیش روی بافت در درون بدن را هموار کرد.

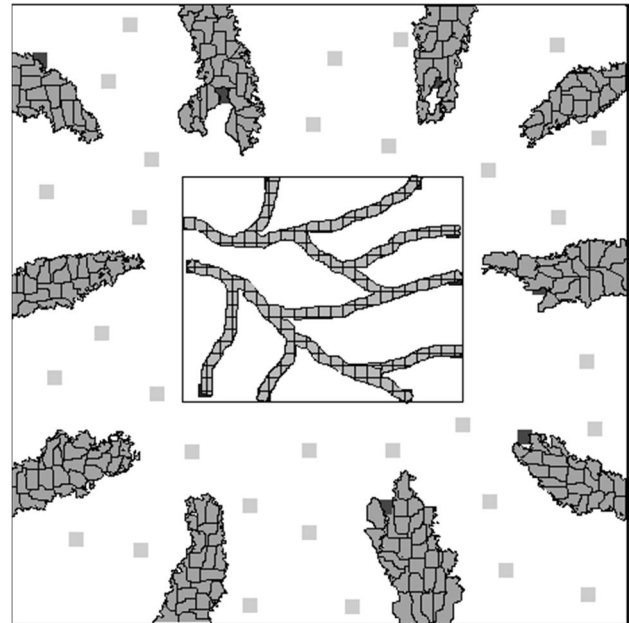


Fig. 6 After adding tissue cells into domain, the branching effect appears. The light gray squares are the tissue cells and the dark gray one are the intruding tissue cells

شکل 6 پس از اضافه کردن سلول‌های بافت به داخل ناحیه حل، پدیده دوشاخه شدن ظاهر می‌شود. مربع‌های خاکستری روشن سلول‌های بافت در مسیر هستند و مربع‌های خاکستری تیره سلول‌هایی هستند که با جوانه برخورد کرده‌اند.

جدول 1 مقادیر پارامترهای مدل.

Table 1 Values of model's parameters.

پارامتر	نشانه	ابعاد	مقدار
ابعاد ناحیه حل	$L_1$	L	500 $\mu$ m
فاصله رگ‌های والد تا سازه بافت	$L_2$	L	175 $\mu$ m
ضریب پخش VEGF	$D$	$L^2/T$	$1 \times 10^{-11} \mu m^2/s$
ضریب از بین رفتن VEGF	$\lambda$	$T^{-1}$	$1.8 \times 10^{-4} s^{-1}$
ضریب مصرف VEGF	$\beta$	M/cell/T	$1.66 \times 10^{-5} pg/EC/s$
منبع VEGF	$S$	M/L	0.035 pg/pixel
آستانه فعال‌سازی	$v_a$	M	0.0001pg
ضریب پیوستگی سلولی	$\alpha$	E	$10^9$
چسبندگی	$J$		
اندوتلیال - اندوتلیال	$J_{ee}$	E/L	30
اندوتلیال - ماتریس	$J_{em}$	E/L	66
اندوتلیال - سلول بافت	$J_{et}$	E/L	31
ماتریس - سلول بافت	$J_{mt}$	E/L	30
ماتریس - ماتریس	$J_{mm}$	E/L	85
سلول بافت - سلول بافت	$J_{tt}$	E/L	20
الاستیسیته سلول‌های اندوتلیال	$\gamma_e$	$E/L^4$	0.8
پتانسیل مؤثر شیمیایی	$\chi$		
سلول‌های تیب	$\chi_T$	E/conc.	$-1.61 \times 10^6$
سلول‌های ریشه	$\chi_S$	E/conc.	$-1.58 \times 10^6$
قدرت بازپیوند	$\psi$	$E/L^2$	1000
دمای بولتزمن	$kT$	E	2.5

- [36] P. Hogeweg, Evolving mechanisms of morphogenesis: on the interplay between differential adhesion and cell differentiation, *Journal of Theoretical Biology*, Vol. 203, No. 4, pp. 317-333, 2000.
- [37] Y. Jiang, J. Pjesivac-Grbovic, C. Cantrell, J. P. Freyer, A multiscale model for avascular tumor growth, *Biophysical journal*, Vol. 89, No. 6, pp. 3884-3894, 2005.
- [38] S. Turner, J. A. Sherratt, Intercellular adhesion and cancer invasion: A discrete simulation using the extended Potts model, *Journal of Theoretical Biology*, Vol. 216, No. 1, pp. 85-100, 2002.
- [39] J. L. Maître, C. P. Heisenberg, The role of adhesion energy in controlling cell-cell contacts, *Current opinion in cell biology*, Vol. 23, No. 5, pp. 508-514, 2011.
- [40] L. Lamallice, F. Le Boeuf, J. Huot, Endothelial cell migration during angiogenesis, *Circulation Research*, Vol. 100, No. 6, pp. 782-794, 2007.
- [41] H. Bazmara, M. Soltani, K. Raahemifar, M. Sefidgar, M. Bazargan, M. M. Naeenian, A. Elkamel, Activation of apoptotic signal in endothelial cells through intracellular signaling molecules blockade in tumor-induced angiogenesis, *BioMed research international*, Vol. 2015, Article ID. 908757, 12 pages, 2015.
- [42] H. Bazmara, M. Soltani, M. Sefidgar, M. Bazargan, M. M. Naeenian, A. Rahmim, Blood flow and endothelial cell phenotype regulation during sprouting angiogenesis, *Medical & biological engineering & computing*, pp. 1-12, 2015 [Epub ahead of print].
- [28] H. A. Levine, A. L. Tucker, M. Nilsen-Hamilton, A mathematical model for the role of cell signal transduction in the initiation and inhibition of angiogenesis, *Growth Factors*, Vol. 20, No. 4, pp. 155-175, 2002.
- [29] M. J. Plank and B. D. Sleeman, Lattice and non-lattice models of tumor angiogenesis, *Bulletin of mathematical biology*, Vol. 66, No. 6, pp. 1785-1819, 2004.
- [30] A. L. Bauer, T. L. Jackson, Y. Jiang, A cell-based model exhibiting branching and anastomosis during tumor-induced angiogenesis, *Biophysical journal*, Vol. 92, No. 9, pp. 3105-3121, 2007.
- [31] A. L. Bauer, T. L. Jackson, Y. Jiang, Topography of extracellular matrix mediates vascular morphogenesis and migration speeds in angiogenesis, *PLoS Computational Biology*, Vol. 5, No. 7, pp. 1-10, 2009.
- [32] H. Bazmara, M. Soltani, M. Sefidgar, M. Bazargan, M. M. Naeenian, A. Rahmim, The vital role of blood flow-induced proliferation and migration in capillary network formation in a multiscale model of angiogenesis, *PLoS One*, Vol. 10, No. 6, pp. 1-10, 2015.
- [33] H. Bazmara, M. Soltani, K. Raahemifar, M. Sefidgar, A mathematical cellular potts model for growth and migration of endothelial cells, *Biomath Communications*, Vol. 2, No. 1, pp. 1-10, 2015.
- [34] M. Fruttiger, Development of the retinal vasculature, *Angiogenesis*, Vol. 10, No. 2, pp. 77-88, 2007.
- [35] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of The Cell*, fourth edition, pp. 1066-1126, New York and London, Garland, 2002.