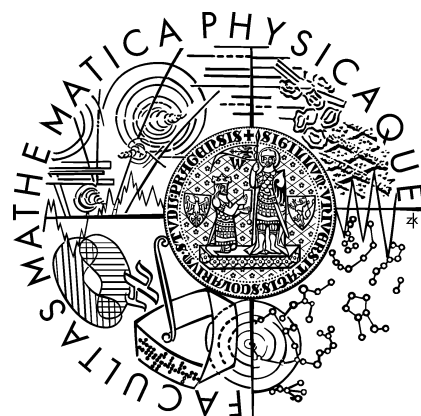


Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Jakub Rajšl

Počítačové simulace soustavy dělicích se buněk na rozhraní dvou orgánů

Katedra aplikované matematiky

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Tomáš Bílý
Studijní program: Obecná Informatika

2009

Děkuji Mgr. Tomáši Bílému za vedení mé práce a doc. Zdeňkovi Hedrlínovi za pořádání seminářů, které mě vedly k napsání této práce.

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci napsal samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce a jejím zveřejňováním.

V Praze dne 10. prosince 2009

Jakub Rajšl

Obsah

1	Preludium	6
2	Přírodní inspirace	7
2.1	Biologická inspirace	7
2.2	Fyzikální inspirace	9
2.3	Chemická inspirace	9
3	Model	11
3.1	Prostředí	11
3.2	Chemické reakce a látky	11
3.3	Molekulová difuze	12
3.4	Buňka	12
3.4.1	Membrána a tvar	12
3.4.2	Zygotický graf	13
3.4.3	Pohyb	14
3.4.4	Dělení a zánik	15
3.4.5	Mutace	16
4	Uživatelská dokumentace	17
4.1	Uživatelské rozhraní	17
4.2	Ovládání v menu	20
4.3	Vytváření vlastních simulací	21
5	Simulace	22
5.1	Vyrovnávání hladin přes membránu	22
5.2	Odolávání buňky před stresem	23
5.3	Zlikvidování viru	23
5.4	Vstřebávání živin	23
5.5	Rakovina	25
5.6	Buněčná diferenciacce	27
6	Závěr	31

Literatura	32
A Programátorské poznámky	33
A.1 Hardwarové a softwarové nároky	33
A.2 Použité prostředky	33
A.3 Knihovny	34
A.4 Representace modelu buňky	34
A.5 Krok simulace	35
A.6 Soubory Simulací	35
B Obsah přiloženého CD-ROM	36

Název práce: Počítačové simulace soustavy dělících se buněk na rozhraní dvou orgánů

Autor: Jakub Rajšl

Katedra: Katedra aplikované matematiky

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Tomáš Bílý

e-mail vedoucího: tomby@kam.mff.cuni.cz

Abstrakt: Cílem práce je vytvoření virtuální počítačové laboratoře, ve které bude možno simulovat a analyzovat chování soustavy dělících se buněk na rozhraní dvou prostředí. Takové rozhraní je popsáno soustavou pevně se držících buněk, jejíž stěny budou interagovat s okolím. V závislosti na distribuci látek v okolí takovýchto stěn se budou buňky dělit. Simulace samotné by měly předvést několik projevů takovýchto dělení.

Klíčová slova: buňka, simulace, virtuální laboratoř

Title: Computer simulations of cell dividing system on the organ boundary

Author: Jakub Rajšl

Department: Department of Applied Mathematics

Supervisor: Mgr. Tomáš Bílý

Supervisor's e-mail address: tomby@kam.mff.cuni.cz

Abstract: The aim of the project is to create a virtual computer labs, in which it will be possible to simulate and analyze the behavior of the system dividing cells at the interface of two environments. This interface is described with a set of firmly attached cells, the wall will interact with the surroundings. Depending on the distribution of substances in the vicinity of such walls are cells divide. The simulation itself should present a few expressions such division.

Keywords: cell, simulation, virtual lab

Kapitola 1

Preludium

Cílem této práce je vytvořit simulaci činnosti živých buněk v závislosti na pravidlech popisujících produkci chemických látek těchto buněk. Bude nás zajímat, jak se buňky dělí, hynou, produkují látky do svého prostředí.

Chceme-li pochopit chování systému buněk (nebo jakéhokoliv jiného systému entit), musíme si nejprve udělat představu ve své mysli. Ovšem při takové složitosti, jakou je soustava buněk, musíme značně zjednodušit doposud pozorované okolnosti. Matematický model, který nabízím ve své práci, je právě takovým zjednodušením. Vytvoříme tak simulační představový program, kde můžeme pozorováním zažít a tím pádem i pochopit zákonitosti, které v modelu platí.

Zážitek samotný je tou nejpodstatnější formou poznání, a proto si musíme uvědomit nutnost popření hranic poznání formou rozumu. V našem modelu (potažmo programu) máme možnost se vcítit do role buňky. Vytvoříme způsob, soubor pravidel, jak by se samotná buňka mohla chovat, a posléze při spuštění simulaci provedeme pozorování, která mohou vést ke správné zkušenosti, takto vyšlé z naší představy. Zkoumání samotné vychází čistě z náhodných pokusů, kde se snažíme buňce vstřípnit cestu kroky simulace. Nejde tedy klasický přístup člověka-vědce, kterému je dovoleno pouze pozorovat a na základě vypořezovaného, uvádět závěry. V naší práci se budeme snažit vymyslet, vyprodukovat, příčiny takového pozorování. Role pozorovatele zde bude vymezena na nutnost existence takového programu a zjišťování důsledků. My se budeme snažit vžít do role buňky, budeme se snažit projektovat naše představy do jednoduchého modelu, který si ovšem klade ambice na to, být pak v celém systému složitým.

Kapitola 2

Přírodní inspirace

V druhé kapitole proberme obecná pozorování a vyvození důsledků, které nás vedly k našemu modelu. Podívejme se na zobecnění chemických reakcí, molekulovou difuzi a buňky samotné.

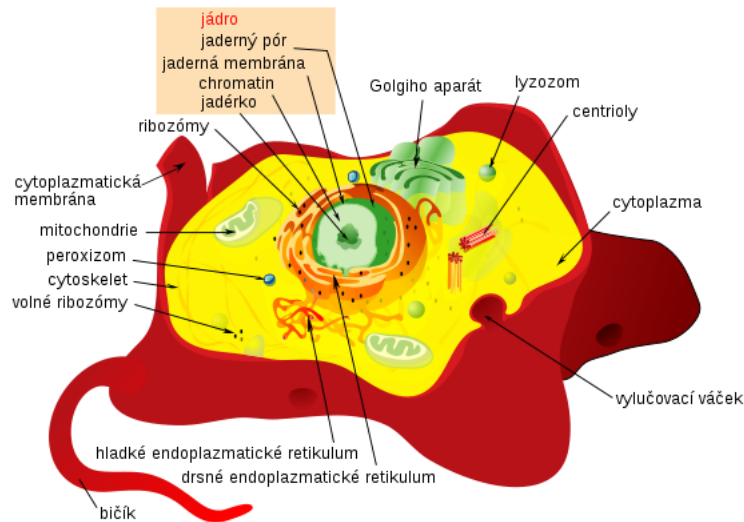
2.1 Biologická inspirace

Buňka je základní stavební a funkční jednotka těl organismů, nikoliv však těch nebuněčných, jako jsou viry, viroidy a virusoidy (ty se v našem prostředí vyskytnou případně jako chemické látky). Buňky jsou obklopené membránou a uvnitř obsahují koncentrovaný roztok různých látek (cytoplazmu). Obvykle obsahují genetický materiál a jsou schopné se dělit. Pro podrobnější zájem mohu odkázat na [3]. My se budeme zabývat buňkou čistě *eukaryotní* (oproti prokaryotě).

Eukaryotickou buňku mají veškeré organismy náležející do domény či nadříše Eukaryota, tedy veškeří prvoci, živočichové, rostliny a houby. Nicméně jejich buňky se mezi sebou navzájem ještě dále liší. Pro lepší představu se podívejte na obrázek¹ 2.1. Eukaryotické buňky jsou oproti prokaryotickým buňkám evolučně vyspělejší, jejich složitější vnitřní struktura jim umožňuje stavbu a výživu výrazně větších buněk a je také předpokladem pro výraznější mezibuněčnou spolupráci potřebnou u mnohobuněčných organismů. Vyznačují se těmito strukturami:

- Právě Jádru (karyon) je vždy přítomné. Je ohraničeno dvojitou membránou a uvnitř je uchovávána genetická informace ve formě DNA.
- Eukaryotická buňka je obvykle výrazně větší než buňka prokaryotická
- Endoplazmatické retikulum, Golgiho komplex, vakuoly a ostatní endozomální struktury, vytváří obvykle vnitřní systém membrán, kterým je buňka dále členěna a umožňuje jí lepší organizaci složitějších životních pochodů.

¹Převzato z http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Animal_cell_structure_cs.svg



Obrázek 2.1: Schéma živočišné buňky

- Semiautonomní organely jsou organely, které zřejmě vznikly symbiotickou fúzí s původní buňkou, proto jsou odděleny od okolní cytoplazmy dvěma membránami. Udílí jí nové schopnosti, které jsou pak nezbytné pro život vícebuněčných organismů. Mitochondrie jsou přítomny ve většině eukaryotických buněk a dávají jim schopnost získávat energii dýcháním, plastidy se vyskytují jen u některých eukaryot (např. u rostlin) a některé jejich typy (jmenovitě chloroplasty umožňují rostlinám fotosyntézu).
- Cytoskelet tvořený aktinovými mikrofilamenty (mikrovlákny), mikrotubuly udržuje její tvar a tvoří „kolejnice“ pro cílený pohyb čehokoliv uvnitř buněk.
- Má-li bičíky nebo brvy, pak jsou eukaryotického typu
- Má eukaryotický typ ribozomů

Rostliny i živočichové mají eukaryotickou buňku, ale mezi buňkou rostlinnou a živočišnou existují značné rozdíly. Živočišným buňkám chybí celulózní buněčná stěna a během diferenciacce se nezvětšují. Živočišné buňky bývají zpravidla velmi malé, do 20 mikrometrů. Mívají zpravidla jen jedno jádro, ale jsou i výjimky (buňky v játrech, v chrupavkách - obsahují makronukleus a mikronukleus. Buňky, které odbourávají kostní tkáň (takzvané osteoklasty) mají až 100 jader. V živočišných tkáních známe i mnohojaderné útvary, které vznikají buď dělením jádra, přičemž se nedělí cytoplazma (plazmodium) nebo splynutím více buněk v jediný útvar (syncytium, např. srdeční tkáň). Na druhou stranu červené krvinky člověka jsou zcela bezjaderné. Jádro je většinou uloženo přibližně v centru buňky. Výjimky tvoří pouze buňky, v nichž se hromadí rezervní látky, u nichž jsou organely obvykle u kraje.

Eukaryoty nejsou věčné a je nutné, aby se v zájmu zachování druhu obnovovaly. Prochází přitom něčím, čemu se říká **buněčný cyklus**. Obvykle platí, že se při dělení z jedné buňky mateřské stávají dvě dceřiné, při reprodukční době 15–30 minut může z jedné buňky teoreticky za 24 hodin vzniknout 4722 triliónů buněk (viz. [2]). U eukaryotických organismů se vyvinulo **mitotické** a **meiotické** dělení. Mitóza slouží k dělení vegetativních buněk na dvě, meióza (redukční dělení²) slouží k vytváření pohlavních buněk u pohlavně se rozmnožujících organismů.

V buňkách probíhá velké množství chemických reakcí, díky nimž dochází k přeměnám látek, tedy metabolismu. Skladné procesy se označují jako anabolické, rozkladné jsou tzv. katabolické. Obvykle jsou metabolické dráhy řízeny enzymaticky, tzn. pomocí látek, které katalyzují tyto reakce.

2.2 Fyzikální inspirace

Veškeré látky mají tendenci přecházet z prostředí se svou vyšší koncentrací do prostředí s nižší koncentrací. Přírozenou vlastností látek je, že pokud se její částice mohou pohybovat (molekuly v nehybném roztoku se pohybují na základě Brownova pohybu), tak se rozptylují do celého prostoru, kterého mohou dosáhnout a postupně ve všech jeho částech vyrovnají svou koncentraci. Říkáme, že látky difundují (viz. [2]).

Máme štěstí, že difuze je matematicky podchytitelný chemický jev a je modelovatelný výpočty. Difuzi popisuje první Fickův zákon, který říká, že rychlost difuze je dána látkovým množstvím látky, která projde za časovou jednotku určitou plochou. Tedy:

$$J = -D\nabla C$$

kde J je hustota toku, $\nabla(c)$ je gradient koncentrace, D je difuzní koeficient.

V úvahu připadlo i modelování osmotických jevů (možnost namodelovat prasknutí buněk, deformace), nakonec jsme ovšem takové modelování vypustili.

2.3 Chemická inspirace

V roztoku (což naše prostředí je) dochází nejen k molekulové difuzi, ale i k reakcím, které přeměňují jeden typ molekul na druhý za vzniku či úbytku energie. Chemická reakce je proces vedoucí za vhodných podmínek ke změně chemické struktury chemických látek. Látky, které do reakce vstupují nazýváme, **reaktanty**, látky z reakce vystupující jsou **produkty**. Při tomto procesu dochází ke změnám v rozmístění elektronové hustoty v molekule, zjednodušeně řečeno do-

²Redukuje se počet chromozomů

chází k zániku a vzniku chemických vazeb. Chemické reakce popisujeme pomocí chemických rovnic.

My se v takovém případě musíme ovšem oprostít od mnohých složitostí. Nebudeme přemýšlet, zda se jedná o syntézu, analýzu či nějaký jiný další druh reakcí. Nebylo by to výpočetně únosné a hlavně takové přemýšlení by jistě přesáhlo hranice možností této práce. Budeme se soustředit jen na reakce typu $A + B \rightarrow AB$, resp. abychom mohli následně porozumět našemu modelu, reakce typu $V + A \rightarrow X$.³

³Proč takové označení, dozvíme se v následujícím textu.

Kapitola 3

Model

V této kapitole popíšeme model našeho uspořádání buňky, buněčné laboratoře, chemických reakcí a látek.

3.1 Prostředí

Nosným prvkem našeho simulování je diskretní model prostředí obsahující jednotlivá políčka (krychle) 3D mřížky. Každé takové políčko v sobě nese informaci o obsazenosti buňkou či množství jednotlivých látek, které se tam nachází. Sousednost políček je možná pouze kolmo na stěnu políčka, nikoliv diagonálně. Okolí políčka je právě seznam takových sousedů. Látky jsou schopné se rozlévat po svém prostředí pomocí molekulové difúze. Náš model difundování není schopen proniknout skrze buňku. Mechanismus takového pronikání je popsán v modelu buňky (3.4). Pro pokročilejší putování látek by bylo zajímavé vytvořit adaptivní prostředí, kde by velikost políčka byla proměnná, a tak by mezi buňkami mohly vzniknout „kanálky,“ které by umožňovaly putování látek mezi buňkami. Rozhodl jsem se však proti takové variantě.

3.2 Chemické reakce a látky

Namodelovat veškeré možné chemické reakce se záhy ukázalo jako nejen nemožné, ale i zcela zbytečné. Nutností však jest, abychom veškeré látky byly schopni od sebe rozlišit a jistým způsobem vykonávat reakce mezi nimi. Na řadu tedy přišel již zažitý model tzv. VAXů¹. Tedy model, kde zachytáváme jen reakce typu $V + A \rightarrow X$, kde V a A jsou látky, které do reakce vstupují a X je látka vzniklá. Ostatní látky do reakce nevstupují. K bližší specifikaci ještě doplníme množství

¹Pojem byl zaveden na našich přednáškách s panem docentem Hedrlínem.

takto reagujících látek a množství látky vzniklé. Vzniká nám tak vlastně šestice (v, v_m, a, a_m, x, x_m) , kde v, a, x jsou dané látky a index m značí zmíněné množství. Tato šestice je v našem modelu natolik univerzální, že ji použijeme nejen v u modelování reakcí v prostředí, ale i modelu buňky. V programu budou mít látky přiřazené jméno a barvu pro možnost pozorování a odlišení.

Chceme-li v takovém modelu například nastavit samovolné ubývání látky z prostředí či neutralizace látek za vzniku látky pro simulaci nezajímavé, pak nastavením nulového množství u látky X jsme na správně cestě.

3.3 Molekulová difuze

V kapitole 2.2 jsme se zmínili o molekulové difuzi fungující v našem uzavřeném prostředí. V naší mřížce probíhá difuze pro jedno políčko s veškerými jeho sousedy. Při hlubším zamyšlení a s odkazem na [5] dospějeme hodnoty koncentrace po jednom simulačním kroku v jednom políčku

$$C_x^{t+1} = C_x^t - \frac{1}{2n} \sum_{i \in N} (C_x^t - C_i^t)$$

kde N je množinu indexů sousedních políček a n je rozměr prostoru. Dokážeme se vyhnout iteraci (za stavu, kdy všichni sousedé mají koncentraci látky rovnou nule) při upravě koeficientu na $\frac{1}{2n+1}$, tzn. že výsledný vztah je posléze

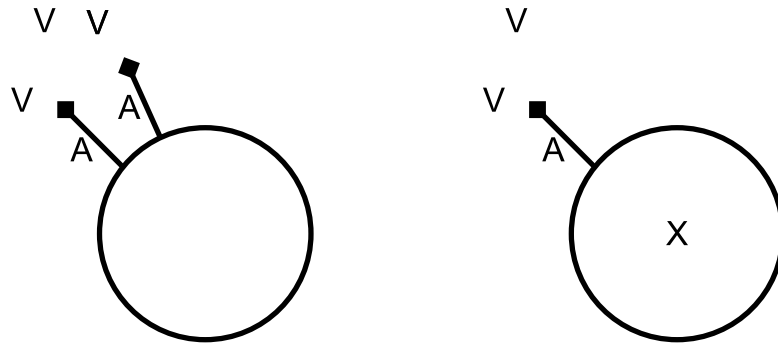
$$C_x^{t+1} = C_x^t - \frac{1}{2n+1} \sum_{i \in N} (C_x^t - C_i^t)$$

3.4 Buňka

Přicházíme k nejzajímavější a zároveň nejdůležitější kapitole, a to k samotnému modelování buňky. Model buňky nebude popisovat veškeré aspekty buňky, ostatně, ani to neměl v úmyslu, přesto však žádejme více než ve Hře života [6]. Vytvoříme soustavu pravidel, které jsou oproti reálnému světu velmi zjednodušena. Na druhou stranu si kladme ambice popsat jakýkoliv druh buňky. Systém pravidel zde popsaný vlastně nahrazuje informaci, která by mohla být schována v jádře ve formě DNA.

3.4.1 Membrána a tvar

Buněčná membrána je vlastně jakýmsi rozhraním mezi buňkou a okolím. Aby buňka mohla zjistit, co se děje v jejím okolí, využívá k tomu receptorové molekuly.



Obrázek 3.1: Schématické znázornění průběhu pohlcování látek

Membrána tak určuje, co je uvnitř a co v ně buňky. Pro látky je v našem případě nepropustná. Jak se látka může dostat do těla buňky, popíšeme v sekci o zygoticím grafu.

Tvar buňky naše počítačová laboratoř simulovat nebude, i když by to jistě nebylo příliš složité, např. pomocí atraktoru (viz. kapitola 3.4.3).

3.4.2 Zygoticí graf

Pro popis zygoticího grafu² jsem částečně vycházel z [5]. Bavíme se zde o popisu pravidel, jak bude buňka reagovat se svým okolím a produkovat látky. Zygoticí graf je souhrnné označení pro takovou soustavu pravidel:

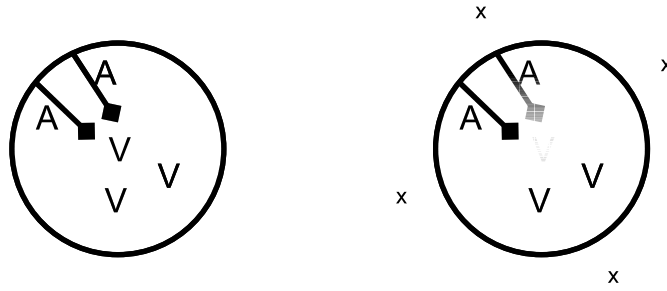
- Receptorový graf
- Produkční graf
- Grafy pro přírůstek receptorů
- Mutační graf

Receptorový graf popisuje situaci, kdy buňka ve svém okolí vidí látku V , na kterou má receptory druhu A , a tak generuje v jednom kroku v sobě látku X . Přichází tedy na řadu naše známá množina šestic (v, v_m, a, a_m, x, x_m) . Jak takový krok probíhá, znázorňuje obrázek 3.1, který i schématicky znázorňuje množství. Je to tak **jediná možná** cesta, jak může buňka ovlivňovat stav látek v sobě samotné na základě svého okolí, a tak změnit svůj stav, pomocí mechanismu **mutace**. Látka receptoru A ³ přichází na řadu až v kapitole o mutaci (3.4.5).

Produkční graf naopak modeluje stav, kdy buňka produkuje látky do svého okolí. Představme si (k tomu nám pomůže obrázek 3.2) jakési vnitřní receptory,

²Pojem zygoticí graf je z hlediska předchozích prací značně zavádějící, přesto z důvodu účelnosti jsem jej tak ponechal. Lepší by zřejmě byla „Zygoticí soustava pravidel v tabulce.“

³Pro mnohé simulace je zde redundantní a možná i matoucí, ale pro některé zajímavé momenty velmi podstatná.



Obrázek 3.2: Schématické znázornění produkování látek do okolí

kteří při zjištění látky V uvnitř buňky vylijí látku X nerovnoměrně do svého okolí. Nerovnoměrně proto, abychom mohli modelovat **vyrovnávání hladin** látek mezi membránami. Políčko obdrží množství látky nepřímo úměrné jejímu předchozímu stavu množství látky. Lze laicky říci, že tam kde je generované látky méně, se jí dostane po kroku simulace více. Opět z VAXového principu ubude dané množství receptorů a látek v buňce.

Grafy pro přírůstek receptorů popisují přírůstek receptorů na základě množství látek v buňce obsažené. Jedná se opět o soustavu čtveřic

$$(latka, mnozstvilatky, receptor, mnozstvireceptoru)$$

kdy při určitém množství dané látky v buňce obsažené vznikne dané množství receptorů. Rozlišujeme receptory pro receptorový a produkční graf.

3.4.3 Pohyb

Buňky se v prostředí pohybují pomocí bičků, proč tak dělají a jakým směrem se pohybují, způsobuje tzv. **atraktor**. V našem modelu se jedná o látku, kterou má buňka nejvíce ráda, tj. látku, na kterou má buňka nejvíce receptorů. Formálně atraktor a tedy určíme takto:

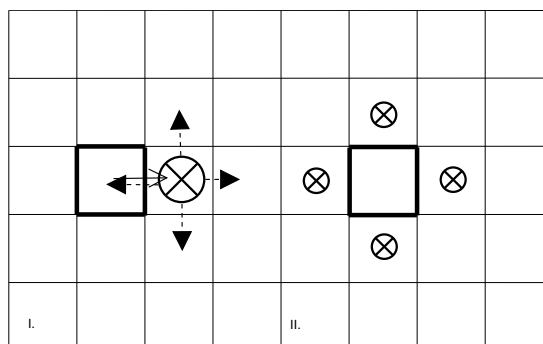
$$a = \max\{r \mid (r, n) \in RG \cup PG\}$$

kde RG a PG jsou množiny dvojic označující množství receptorů daných produkčních a receptorových grafů.

Buňka je v klidu do té doby, než přítomnost látky v sousedních políčkách bude vyšší než určitá hraniční mez, označme je např. α^4 . V ten moment se vydá ve směru látky. Jedná se o aktivní pohyb, ne pohyb donucený zvenku, například nějakým tlakem, či dokonce gravitací.

Co ovšem s látkami, které jsou na políčku, kam se chce buňka přemístit?

⁴V programu se optimální stal stav, kdy $\alpha = 0,05$.



Obrázek 3.3: Situace vytlačení látek mezi sousedy při pohybu buňky

Takové látky se difuzí přelijí, nebo chcete-li, je buňka rovnoměrně vytlačí do okolních políček, která nejsou obsažena buňkami (obrázek 3.3).

3.4.4 Dělení a zánik

Dalším z předpokladů zajímavosti našeho modelu je fakt, že buňky se musí dělit. Buňka se rozdělí na dvě buňky shodného typu. Látky v ní obsažené se distribuují mezi obě rovnoměrně. Zygotický graf zůstane nezměněn. K tomu, aby se buňka mohla rozdělit, však existují určité podmínky:

- Buňka přesáhne určité množství receptorů všech druhů

$$\#receptoru = \sum_{(r,n) \in RG \cup PG} n$$

kde RG a PG jsou množiny dvojic označující množství receptorů daných produkčních a receptorových grafů.

- V jejím okolí je dost místa na to, aby se nová buňka mohla umístit (tzn. není tam jiná buňka)

Počet receptorů na membráně bude v obou případech poloviční. Co je ovšem zajímavé je volba směru dělení. Existují různé možnosti:

- Směr dělení je náhodný
- Směr dělení určuje atraktor

My zkombinujeme oba dva přístupy, kdy při absenci atraktoru, se bude buňka dělit náhodným směrem, zatímco při jeho přítomnosti ve směru látky, kterou má nejraději.

Co se týče zániku buňky, vzpomeňme na mechanismus makrofága, což je bílá krvinka prolézající prostředím, likvidující staré či jinak nevhodné buňky. Proto, aby buňka mohla náležitě skonat, zavedeme do modelu jisté hranice, kdy se tak

stane. Jako nejvhodnější systém se jeví množství obsažených látek uvnitř buňky. Při nedostatku, či naopak přebytku určitých látek v ní, buňka zanikne a svůj kompletní obsah vylije do prostředí. Představme si to jako prasknutí membrány, takže látky se budou rozlévat standardní molekulovou difuzí.

3.4.5 Mutace

Abychom byli schopni změnit stav nějaké buňky, například při buněčné diferenciaci kmenových buněk či při rakovinovém bujení, zavedeme do našeho modelu mechanismus mutace. Celé to bude fungovat tak, že při překročení meze nějaké látky obsažené v buňce, buňka zapomene svůj předchozí zygotický graf a naučí se nový, od jiného typu buňky. Mutace je součástí mutačního grafu. Ten je součástí grafu zygotického, tedy při změně stavu buňka **zapomíná** mechanismus mutace předchozí buňky.

Co se ovšem stane s receptory a látkami v buňce obsažené. U látek je to jednoduché, jejich množství se nezmění, zatímco u receptorů přichází na řadu označení látky receptoru v receptorových a zygotických grafech. Zde se staré receptory rovnoměrně rozloží mezi nové, pokud mají stejnou látku receptoru (A). Ostatní zmizí, neb nejsou pro další modelování důležité.

Kapitola 4

Uživatelská dokumentace

Součástí bakalářské práce je aplikace, která slouží k vytváření simulací a demonstrací představ, vycházející z pravidel, která si uživatel nadefinuje. Program běží pod platformou Windows. K jeho spuštění z důvodu 3D zobrazování je nutnost mít nainstalované .NET 3.0 a vyšší. Porozumění ovládání takového programu vede k realizaci představ uživatele.

4.1 Uživatelské rozhraní

Při úspěšném spuštění aplikace se objeví okno 4.1. Vysvětlení následují.

0 základní menu

1 ikony pro spuštění a zastavování průběhu simulace

2 souřadnice pro vstříknutí látky do prostředí

3 druh látky a její množství

4 ikona pro potvrzení vstříknutí látky do prostředí

5 ikona pro znovuotevření souboru simulace

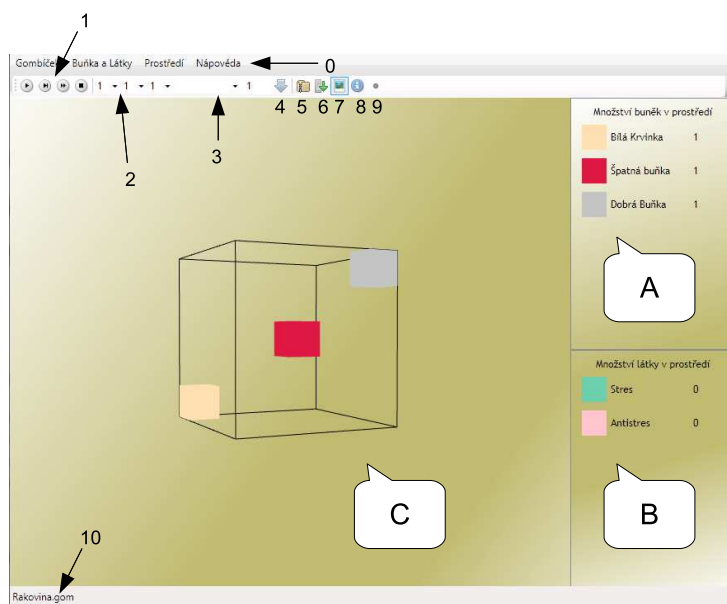
6 ikona pro reset pohledu při natáčení

7 ikona pro zapnutí/vypnutí vizualizace (slouží pro hladší průběh na slabších počítačích)

8 ikona pro informace o konkrétní simulaci

9 ikona pro zobrazení stavů buněk v prostředí

10 stavová lišta obsahující název simulace a číslo kroku simulace



Obrázek 4.1: Základní okno aplikace

A počty a názvy buněk v prostředí

B množství a typy látek v prostředí

C samotná vizualizace

Při nastavování chování buněk uvidíme okno podobné obrázku 4.2.

1 práh dělení označuje množství receptorů, kdy se buňka rozhodne rozdělit na dvě

2 zaškrťovací políčko označuje, zda je buňka schopna pohybu a dělení (při nezaškrtnutí bychom ji mohli označit za buňku membránového typu)

3 seznam výběru buněk

A zadání receptorového grafu

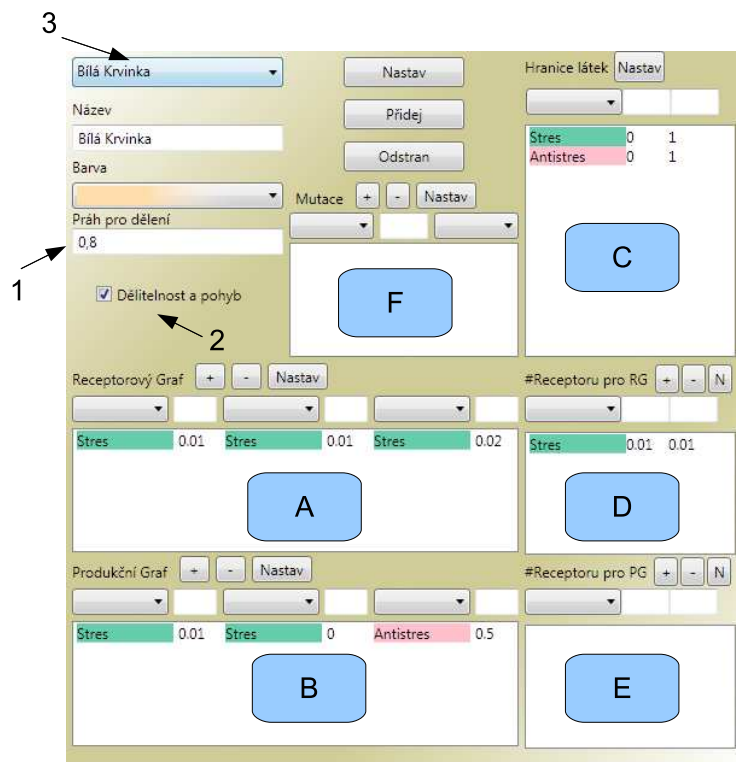
B zadání produkčního grafu

C zadání hranic životaschopnosti buňky

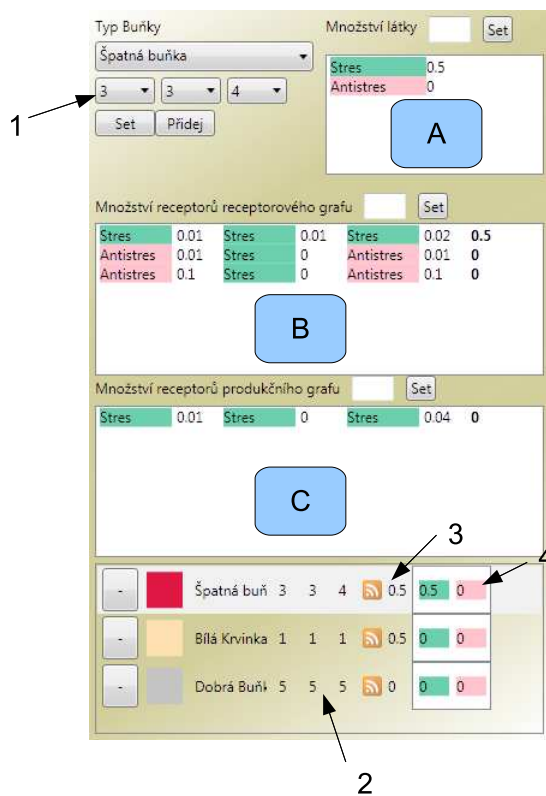
D,E produkování množství receptoru na základě látek obsažených v buňce (Pozor! Je nutné mít označený daný receptor v tabulkách **A** a **B**)

A zcela finálně z těch důležitých oken jsme u obrázku 4.3.

1 zadání souřadnic umístění buňky v prostředí



Obrázek 4.2: Okno pro nastavení chování buňky



Obrázek 4.3: Okno pro umístění buněk do prostředí

2 souřadnice umístěné buňky

3 celkový počet receptorů (pro pozorování, kdy se bude buňka dělit)

4 látky obsažené v buňce

A látky obsažené ve zvolené buňce

B,C počty jednotlivých receptorů (**tučná čísla**)

4.2 Ovládání v menu

Menu Soubor obsahuje:

- uložení Simulace
- nahrání již uložených simulací
- reset pohledu (totožná funkce s ikonou pro reset pohledu)
- ukončení programu

Menu Buňky a Látky:

- nastavení buňky umožní nastavení zygotických grafů u jednotlivých druhů buněk
- seznam látek otevírá okno, kde se pojmenovávají a barví látky, které posléze můžeme umisťovat do prostředí

Menu Prostředí:

- inicializace, kde se nastavuje velikost našeho uzavřeného prostoru
- látky v prostředí, kde je možné likvidovat jednotlivá zastoupení látek
- buňky v prostředí umožňují přidávat a ubírat buňky, nastavovat počty receptorů a látky v buňce obsažené
- VAXové reakce umožňují nastavení chemických reakcí v prostředí

V okně samotné vizualizace (3) máme možnost:

- zmáčknutím levého tlačítka myši táhnout prostředím
- zmáčknutím pravého tlačítka rotovat prostředím
- rotací kolečka zmenšovat a zvětšovat pohled na prostředí

V nápovědě objevíte zjednodušené principy této práce.

4.3 Vytváření vlastních simulací

Krom připravených simulací, které jsou umístěny CD, je možné si udělat své vlastní. Není to složité při pochopení našeho, přesto pro správné zadání vlastních simulací doporučuji následující postup zadávání:

1. vytvoření prostředí, jeho velikosti
2. zadání druhů látek do systému
3. vytvoření buněk, jejich zygotických grafů
4. samotné umístění buněk do prostředí, včetně počátečních množství receptorů
5. vstříknutí látek do prostředí
6. zadání VAXových reakcí
7. **uložení** - to je obzvláště důležité, abyste mohli měnit počáteční podmínky simulace
8. spuštění

Při nedodržení takového postupu uživatel bude muset pravděpodobně zadat mnohé znova.

Kapitola 5

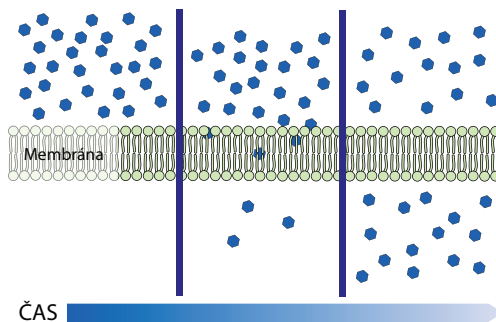
Simulace

V této kapitole si probereme některé možné případy, jež nás motivovaly k modelu, který práce představuje. Jejich správná interpretace nám budiž odměnou, že takový model splňuje podmínky, které jsme si položily.

5.1 Vyrovnávání hladin přes membránu

Jedním z nejzákladnějších požadavků naší práce je fakt, že jakýkoliv orgán je tvořen membránou, přes kterou pronikají látky. Aby však takový mechanismus odpovídal reálnému, musí být náš model schopen vyrovnávat hladinu látek přes membránu, která zvolené látky propouští (pro představu doporučuji obrázek¹ 5.1). Membrána je tenká struktura nebo materiál, která tvoří rozhraní mezi prostředími, která navzájem odděluje. Pro membrány je typická pružnost a obvykle také schopnost selektivní propustnosti pro některé látky z jednoho prostředí skrze membránu do druhého. Často funguje jako neprostupná bariéra, a to nejen vůči prostupnosti látek, ale třeba také el. nábojů, tj. el. proudu. Zjednodušené prostředí membrány nám právě nabízí simulace `VyrovnaniHladinPresMembranu.gom`.

¹Převzato z http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Scheme_simple_diffusion_in_cell_membrane-en.svg



Obrázek 5.1: Znázornění vyrovnání hladin látek přes membránu

V průběhu simulace nastane vyrovnaní hladin látek na obou stranách membrány na stejnou úroveň.

5.2 Odolávání buňky před stresem

Do prostředí (`Bunka-kyselina.gom`, `Bunka-malokyseliny.gom`) umístíme buňku, která je schopná do určité míry odolávat stresu (naš případ populisticky zoveme kyselinou). Pokusíme se odsimulovat dva případy, kdy buňka kyselině odolá a kdy jí naopak podlehne. Receptorový graf buňky bude v obou případech stejný. Buňka nejdříve nebude vědět, že daná kyselina je látkou špatnou, a tak se jí bude snažit přes receptory vstřebat. Poté, co jí dojdou receptory (nemá nastavené jejich přibývání na základě obsažené látky), buňka přestane kyselinu vstřebávat tak rychle, přesto vstřebávání bude pomalu pokračovat.

5.3 Zlikvidování viru

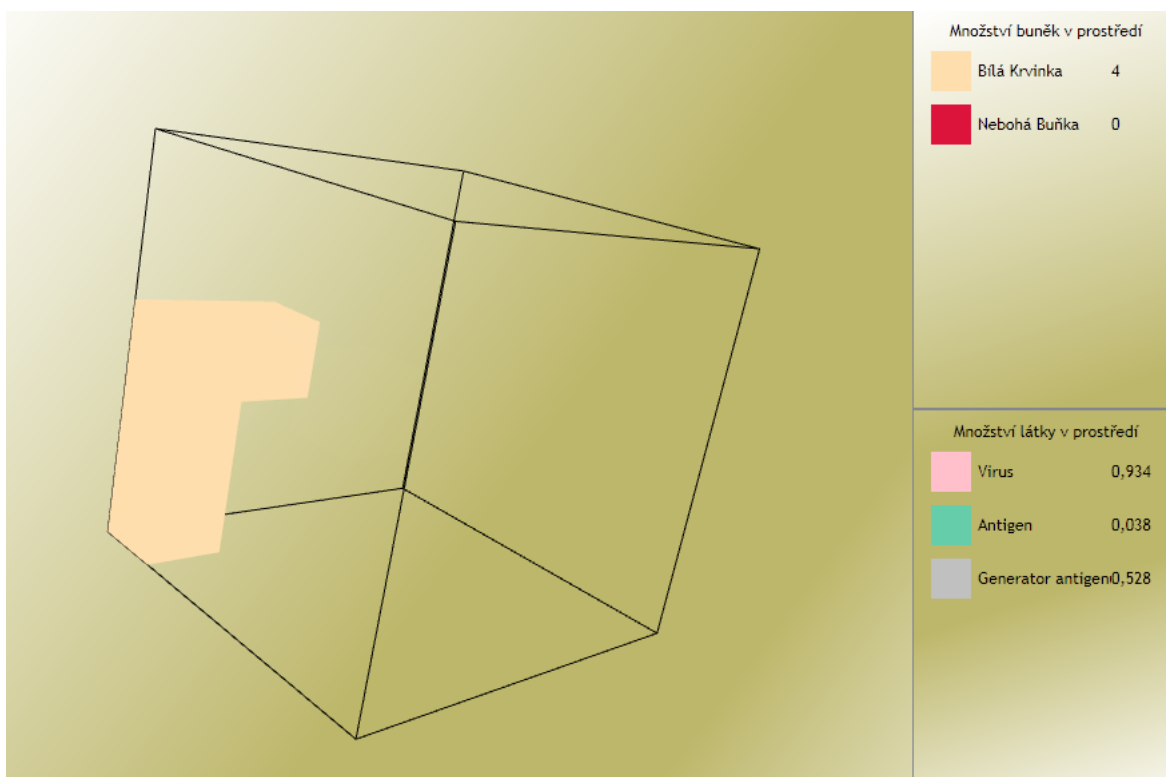
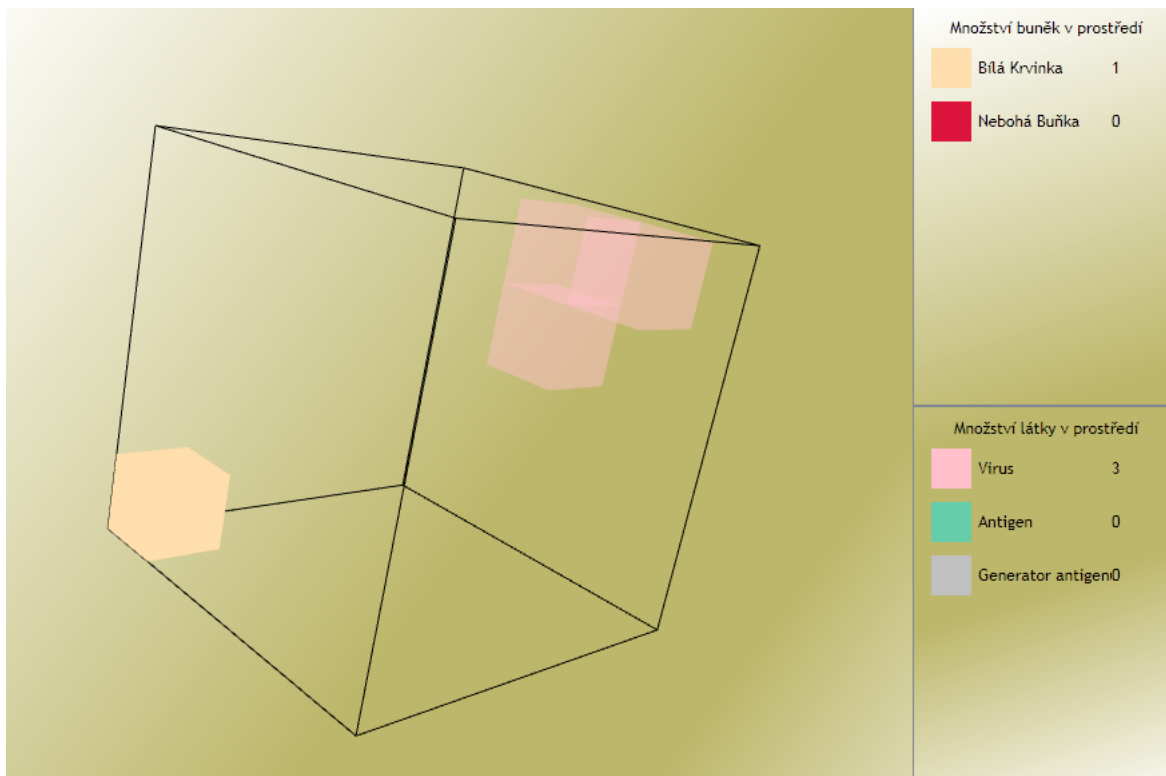
Bílá krvinka neboli leukocyt je krevní buňka, má schopnost ničit viry, bakterie, plísňe, cizorodé částice, nádorově změněné buňky a vůbec všechny organismu cizí materiály. Bílé krvinky jsou výkonnými buňkami imunitního systému.

V našem prostředí (`Virus-Bila Krvinka.gom`) máme takovou bílou krvinku (silně zjednodušený pohled, když vzpomeneme na leukocyty, makrofágy, neutorily a mnohé další typy bílých krvinek) a virus ve formě látky, která difunduje do prostředí. Při spatření (zachycení zygotickým grafem) začne bílá krvinka vypouštět do svého prostředí antigen, který virus zlikviduje. Obrázek 5.2 z naší laboratoře znázorňuje prvotní a pokročilou fázi simulace. Na počátku je virus vstříknut do prostředí a začíná difundovat do okolí. V průběhu difuze je zachycen bílou krvinkou, která se na základě svého zygotického grafu začíná dělit a vypouštět do prostředí antigen. Ten virus postupně likviduje². Jak je nastaveno chování bílé krvinky v naší simulaci odkazuje obrázek 5.3. Povšimněte například nastavení hranice látek minimálního množství viru v bílé krvince, kdy buňka zanikne, když jej má méně - při nepřítomnosti viru nemá důvod existovat.

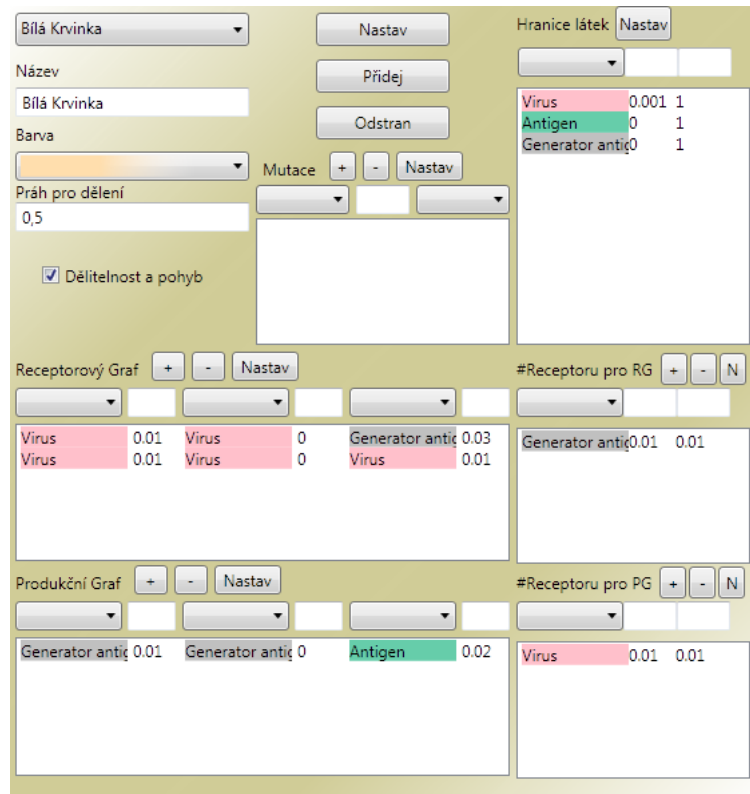
5.4 Vstřebávání živin

Simulace `VstrebavaniZivin.gom` nám ukazuje možnost vstřebávání živin putující v trávicí soustavě, stejně jako jakákoliv jiná konzumace látky, která proniká přes membránu a je potřebná na druhé straně. Simulace a obrázek 5.4 ukazují, jak

²Sledujte množství buněk a látek v prostředí.



Obrázek 5.2: Průběh zlikvidování viru

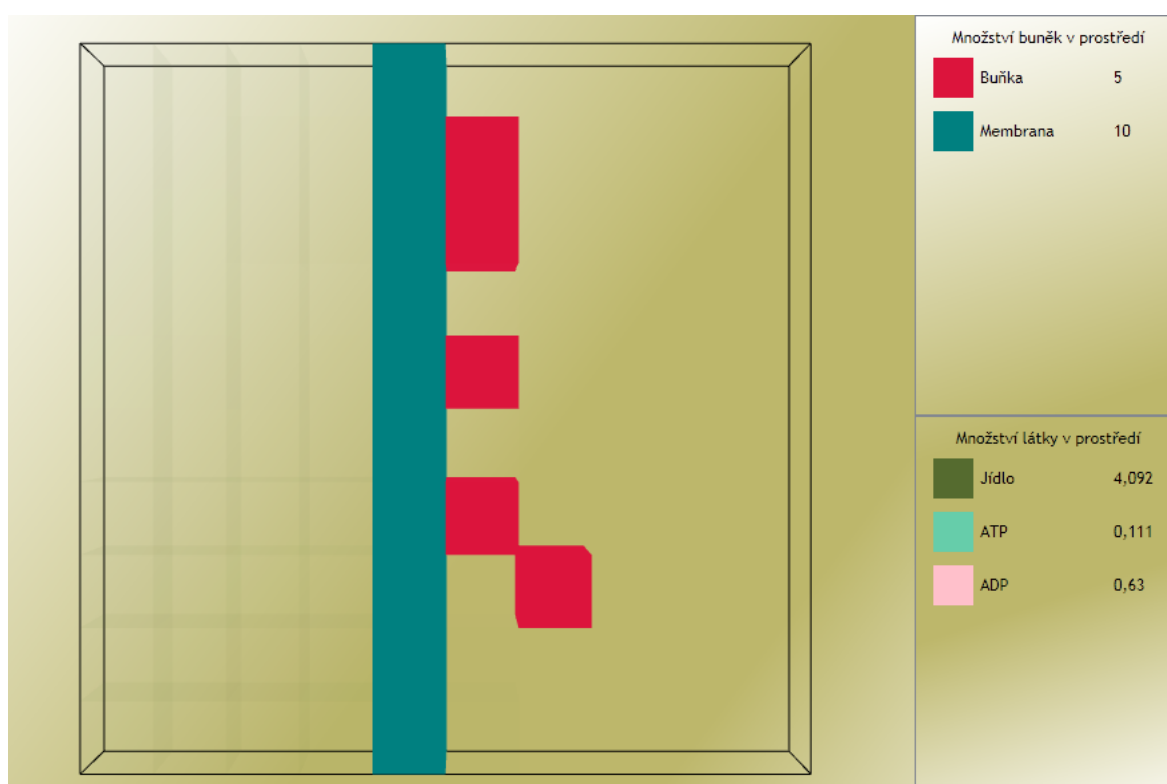
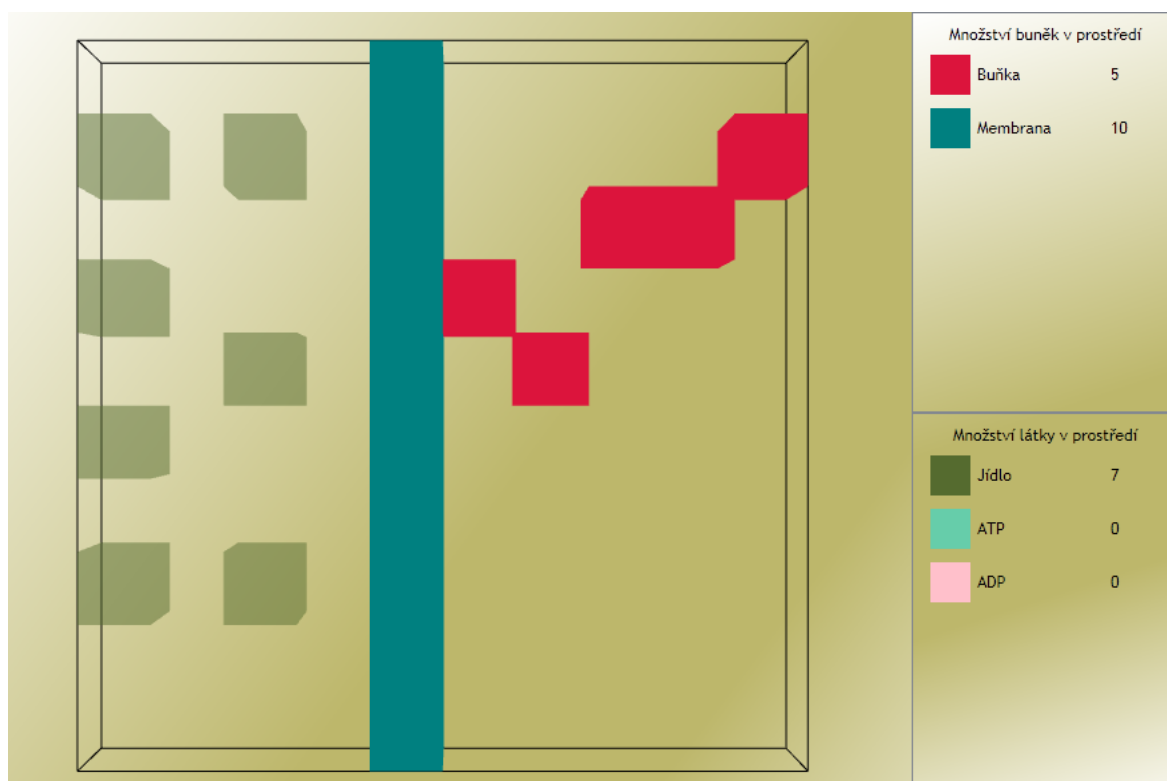


Obrázek 5.3: Nastavení zygotického grafu bílé krvinky

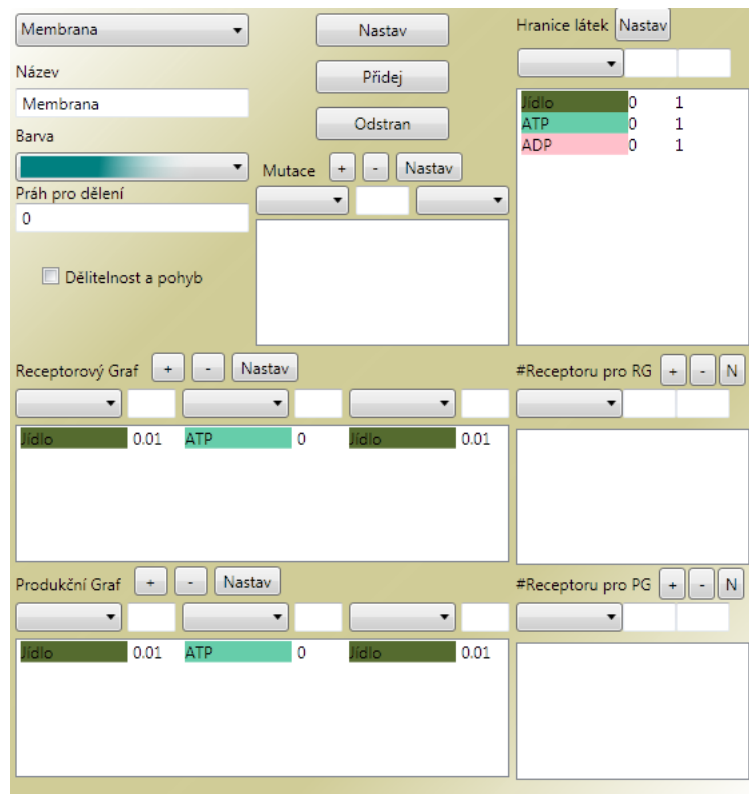
buňky putují směrem k membráně, i když tím vlastně zabrání pronikání potřebné látky skrze membránu. Živiny jsou postupně vstřebávány, při jejich deficitu buňka umírájí. V nastavení na obrázku 5.5 povšimněte dvou věcí: jednak receptorového a produkčního grafu, ale také nezaškrtnuté políčko „dělitelnost a pohyb,“ které nám udává stálost buněk membránového typu. Grafy nám udávají, že látka je membránou nejprve vstřebána a posléze na základě obsahu látek v buňce opět produkována do prostředí. Dělitelnost a pohyb je u membrány nežádoucí, tak je obě v našem případě zcela zakázáno. Ovšem pokud bychom nastavili membráně nějaké látkové meze, tak samozřejmě může odumřít - například na reakci na nějakou látku, kterou bude vstřebávat i když ta má negativní dopad.

5.5 Rakovina

Rakovina nebo též nádorové onemocnění je různorodá skupina chorob, jejichž společným rysem je to, že některá populace buněk se vymkne kontrole a začne *relativně autonomně růst*. Tento růst může být naprosto neškodný (např. bradavice), ale také může v poměrně krátké době postiženého zahubit (např. některé nádory krve - některé leukémie). Obvykle se považuje za projev zhoubnosti to, že nádor roste infiltrativně do okolí a je schopen se rozsévat po těle a zakládat vzdálená ložiska, tzv. metastázy; výjimku z tohoto pravidla představují maligní



Obrázek 5.4: Průběh simulace vstřebávání živin



Obrázek 5.5: Nastavení buňky membránového typu

nádory mozku, které jen vzácně zakládají metastázy.

Zde jsme čerpali pro název mutačního grafu a zároveň využili jeho potenciálu. Máme v prostředí (*Rakovina.gom*) 3 typy buněk: bílou krvinku, dobrou (zdravou) buňku, špatnou (rakovinou tvornou) buňku³. Rakovinová buňka začne produkovat do svého okolí stresovou látku, kterou se zároveň živí, množí se a napadá tak zdravou buňku. Bílá krvinka se tomu snaží zabránit a zlikvidovat rakovinou tvorné prvky.

5.6 Buněčná diferenciaci

Buněčná diferenciaci je představuje proces, jímž z nespecializované buňky (např. embryonální buňky, buňky kmenové) vzniká buňka strukturně i funkčně specializovaná (viz. obrázek⁴ 5.6). Tyto buňky souhrnně označujeme jako diferenciované buňky. I diferenciované buňky mohou procházet ještě hlubší diferenciací, rozsah jejich další možné specializace již je však silně omezen.

V mnohobuněčných organismech musí jednotlivé buňky obvykle plnit odlišné,

³Ovšem poznat rakovinovou buňku v reálném světě je nesmírně obtížné, jediným rozdílem je totiž mechanismus telomerázy, který způsobuje stárnutí a chrání chromozomy před poškozením při dělení. U rakovinových buněk je telomeráza velmi aktivní, jejich telomery se stále obnovují, a nádorová buňka je proto schopna dělit se neomezeně, nestárne.

⁴Převzato z http://www.makropulos.cz/bunecna_terapie.aspx

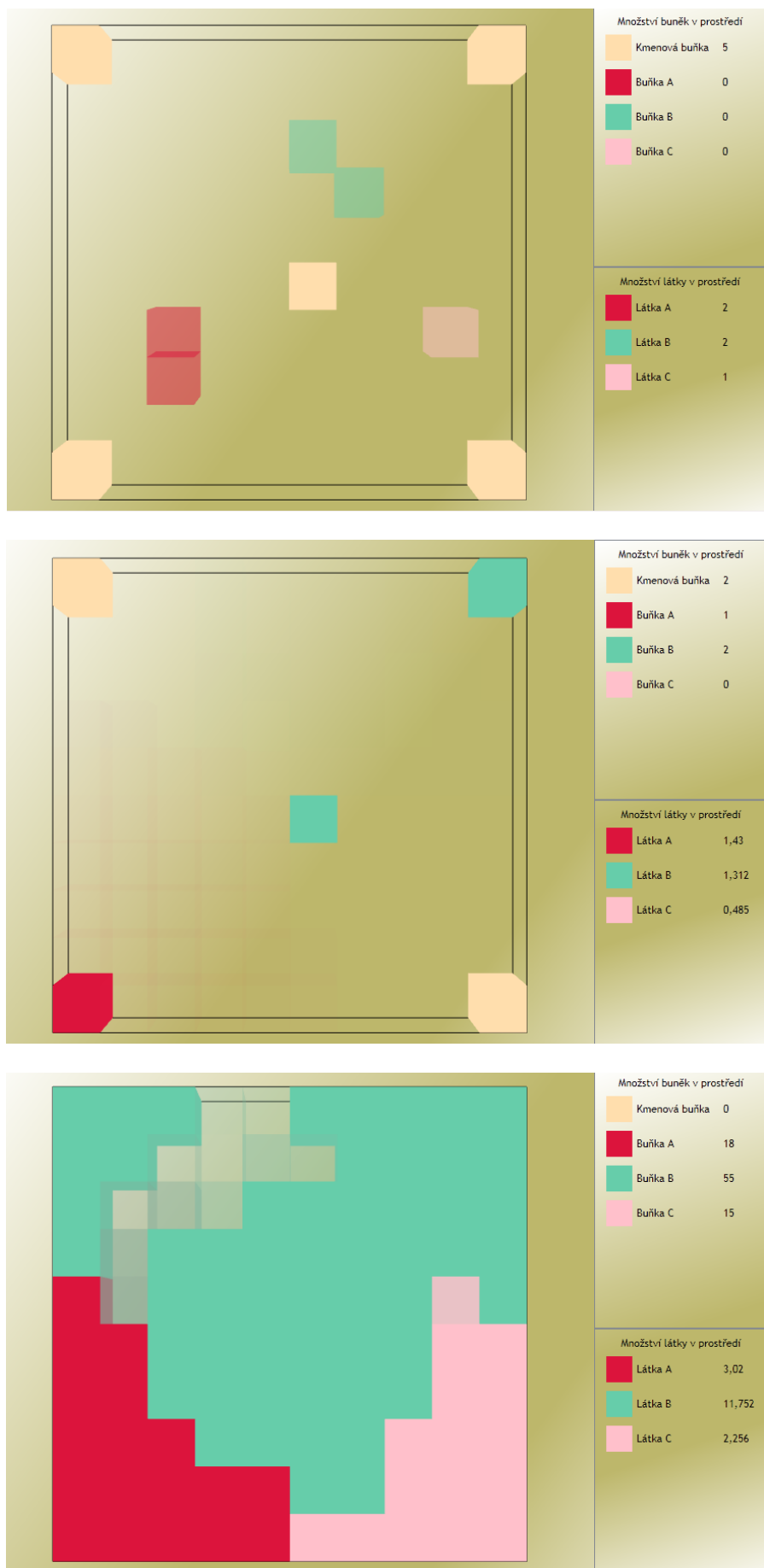


Obrázek 5.6: Diferenciace kmenových buněk

specifické úlohy, a proto se také významně liší ve své stavbě, velikosti i metabolismu. Například v těle člověka se nalézá na 200 různých typů buněk (např. buňky kůže vypadají jinak a fungují zcela jinak než neurony), přestože vznikly dělením z jediného oplozeného vajíčka. Všechny buňky v jednom organismu nesou stejnou genetickou informaci. Odlišné specializace je dosaženo jen tím, že je realizována v jednotlivých buňkách jen její část, tj. jsou aktivovány jen některé geny (označují se jako tzv. transkripční profil).

Buňky, které již jednou svou specializaci získaly, ji jen těžko ztrácejí a nemohou se specializovat na jiný typ buněk. Proces ztráty specializace se nazývá dediferenciace a je v současnosti předmětem intenzivního výzkumu. Nediferenciované buňky - v podobě kmenových buněk jsou potenciálně velmi významné v lékařství, dávají možnost dopěstování či opravy poškozených částí těla.

Soubor Ostrovny.com ukazuje právě takovou diferenciaci, kde má kmenová buňka nastavené v zygotickém grafu receptory na všechny typy možných látek a při překročení hranice dojde k naší modelové mutaci na specializovanou buňku. Pro lepší názornost tentokrát uvidíme tři obrázky (5.7) z průběhu simulace. Na začátku je zde 5 kmenových buněk, které ve svých mutačních grafech mají nastavený limit látek, při jejichž překročení buňky změní svůj typ. Buňky pak samotné začnou produkovat látku, kterou mají rády a začnou se množit na základě jejich zygotických grafů. Jak vypadá nastavení zygotického grafu kmenové buňky, zohledňuje obrázek 5.8. Zde hlavně věnujte pozornost mutačnímu a receptorovému grafu.



Obrázek 5.7: Průběh simulace difreniace kmenových buněk

Kmenová buňka Nastav

Název Přidej

Kmenová buňka

Barva Odstran

Práh pro dělení Mutace + - Nastav

1

Dělitelnost a pohyb

Hranice látek Nastav

Látka A	0	1
Látka B	0	1
Látka C	0	1

Látka A	0.3	Buňka A
Látka B	0.3	Buňka B
Látka C	0.3	Buňka C

Receptorový Graf + - Nastav

Látka A	0.01	Látka A	0	Látka A	0.01
Látka B	0.01	Látka B	0	Látka B	0.01
Látka C	0.01	Látka C	0	Látka C	0.01

#Receptoru pro RG + - N

Produkční Graf + - Nastav

#Receptoru pro PG + - N

Obrázek 5.8: Nastavení kmenové buňky

Kapitola 6

Závěr

Na základě biologických motivací jsme vybudovali náš představový model a simulační program, který uživatelsky umožňuje projektovat volné představy jakéhokoliv uživatele. Vycházeli jsme již z hotových prací [4, 5], které vedly k právě představenému modelu. Chtěli jsme vytvořit jednoduchý model entit, který ovšem ve svém důsledku obsáhne složitější systémy. Dokázali jsme namodelovat vstřebávání látek skrze membránu, jež je sama buňkou, ukázali jsem neúspěšný boj bílé krvinky s rakovinotvornými buňkami, předvedli jsme buněčnou diferenciaci, a to na základě dá se říct, veskrze primitivní soustavy pravidel našeho modelu. Zhotovený program nám tak umožňuje simulovat různé situace, dokonce i situace, o kterých jsme se v této práci nezmiňovali.

Práce samotná nabízí široká rozšíření, například nemodeluje vznik tvaru buňky, buňka je zde pouze políčkem v prostředí. Typicky zajímavým příkladem pro důležitost tvaru je neuron, jehož výběžek (axon) se táhne daleko od těla neuronů. Hlavní funkce neuronu (přenos a zpravování vzruchů) již však náš model ke zpracování nabízí.

Literatura

- [1] 3D Programming for Windows by Charles Petzold. <http://www.charlespetzold.com/3D/>.
- [2] Wikipedie : otevřená encyklopedie - Buňka, Difuze. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Bu%C5%88ka>, <http://cs.wikipedia.org/wiki/Difuze>.
- [3] Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A.; aj.: *Základy Buněčné Biologie*. Ústí nad Labem: Espero Publishing, 2001, ISBN 80-902906-2-0, 740 s.
- [4] Bartáček, V.: *Simulace činnosti buněk v závislosti na jimi produkováných látkách*. Diplomová práce, MFF UK, 1999.
- [5] Bílý, T.: *Matematické modely soustavy dělících se buněk s přihlédnutím ke křivce*. Diplomová práce, MFF UK, 2004.
- [6] Gardner, M.: Mathematical Games. *Scientific American*, ročník 223, 1970: s. 120–123.

Příloha A

Programátorské poznámky

A.1 Hardwarové a softwarové nároky

Program běží pod platformou MS Windows XP a novější. Je poměrně malý (v řádech kB), ale potřebuje k běhu nainstalované .NET Framework 3.0 a vyšší. Byl plně odzkoušen na konfiguracích uvedených v tabulce A.1, minimální HW nároky však nebyly stanoveny. Doporučené rozlišení pro čitelné zobrazení jednotlivých formulářů je minimálně 1024 x 768.

A.2 Použité prostředky

Program byl vyvíjen v prostředí Microsoft Visual Studio 2008 v jazyku C# podle normy 3.0. Využívá prostředků .NET Framework 3.0 a vyšší, zejména Windows Presentation Foundation (WPF). To používá značkovací jazyk XAML pro vytvoření uživatelského prostředí. Technologie WPF je vestavěná do Windows Vista, Windows 7 a Windows Server 2008 a je stažitelná pro Windows XP a Windows Server 2003. Díky XAMLu jsou od sebe odděleny funkčnost a vzhled aplikace. Cílem WPF je sjednotit uživatelské rozhraní, 2D a 3D grafiku, vektorovou a rastrovou grafiku, animace, vázání dat a audio a video.

	PC	Acer TravelMate
Procesor	IntelCore 2 Duo / 2,4Ghz	Intel Celeron M 420 / 1.6 GHz
Paměť	2048 MB	1536 MB
Grafická karta	nVidia 7900	Mobile Intel® 940GML
Systém	Windows 7 (64bit)	Win XP (32bit)

Tabulka A.1: Odzkoušené konfigurace

A.3 Knihovny

Pro kreslení čar, které ve 3D variantě WPF zcela nepodporuje, je použita knihovna `Petzold.Media3D.dll` z rukou Charlese Petzolda [1]. Knihovna umožňuje mnohem větší šíři působností, tento benefit však v práci není použit. Této knihovně předcházela knihovna od vývojářů z Codeplexu, bohužel však neuvolňovala prostředky z paměti, a tak program i po relativně krátkém běhu postupně zaplnil celou paměť počítače a stal se neskonale pomalým.

A.4 Representace modelu buňky

Třída `Bunka` a `BunkavProstredi` jsou dva rozdílné přístupy. Třída `Bunka` slouží jako datový nosič pro zygotický graf a další informace, třída `BunkavProstredi` jako vykonavatel obecných metod. Samotná obsahuje v sobě odkaz právě na typ buňky, které v sobě nese. Objektové programování tak nabízí například velmi snadnou cestu při mutaci - změně typu buňky. Pouze se prohodí ukazatel typu buňky.

```
class Bunka {
    SolidColorBrush Barva //barva buňky pro vizualizaci v prostoru
    string Jmeno //název buňky
    SeznamReceptoru ReceptorovyGraf //seznam receptorů pro receptorový graf
    SeznamReceptoru ProdukcníGraf //seznam receptorů pro produkční graf
    SeznamGeneratoruReceptoru GrafproRG //seznam pro přidávání receptorů
    SeznamGeneratoruReceptoru GrafproPG
    SeznamLátkovychPrah PrahLatek //práh látek udává hranice existence buňky
    SeznamMutaci MutacniGraf //udává hranice obsažené látky, kdy buňka změní svůj typ
    na jiný
    double PrahDeleni //udává počet receptorů, po kterém se buňka rozdělí na dvě
    bool DelitelnostPohyb //udává, zda je buňka shopná se dělit a pohybovat
}

class BunkavProstredi {
    Bunka Typbunky //udává typ buňky
    Policko Polatko //pozice buňky v prostředí
    SeznamLatekvProstredi MnozstviLatek //seznam obsažených látek
    SeznamReceptoruvProstredi ReceptorovyGrafMnozstvi //konkrétní počty receptorů
    SeznamReceptoruvProstredi ProdukcníGrafMnozstvi
}
}
```

Metody buňky jsou popsány v sekci A.5 poněkud obecněji pro všechny buňky v prostředí.

Receptor vychází z našeho oblíbeného VAXového principu. Prostředí je uloženo ve třídě `Prostredi`, kde se udává jeho velikost, třídídimenzionální pole políček,

seznamy látek. Jeho hlavní metodou je provádění molekulové difuze.

Pro konkrétní implementaci samozřejmě doporučuji zdrojové kódy přiložené na CD a programátorskou dokumentaci vytvořenou programem Doxygen.

A.5 Krok simulace

Hlavním úkolem našeho modelu je provádět výpočty jednotlivých simulačních kroků. Každý jednotlivý krok simulace se skládá z následujících metod. Na pořadí metod veskrze nezáleží, kdybychom jej změnili, tak bychom maximálně docílili provedení procedury o krok později, což v našem měřítku není zcela podstatné. Jediná věc stojící za zmínku je přednost generování receptorů před produkcí látek do okolí.

```
prostredi.Koncentruj(); //probíhá molekulová difuze
bunkyvprostredi.Reaguj(); //spouštění receptorových grafů
bunkyvprostredi.Mnoz(); // buňky zjišťují svůj počet receptorů a případně se množí
bunkyvprostredi.Pohybuj(); //zjišťování atraktoru a pohyb
bunkyvprostredi.VytvarejReceptoryproPG(); //vytváření receptorů na základě obsažených
látek
bunkyvprostredi.VytvarejReceptoryproRG(); //vytváření receptorů na základě obsažených
látek
bunkyvprostredi.Produkuj(); //produkce látek do okolí
bunkyvprostredi.Mutuj(); //na základě obsažených se zjišťuje, zda buňka nezmění
svůj stav
prostredi.Vaxuj(); //probíhání chemických reakcí v prostředí
bunkyvprostredi.ZjistisiSmrt(); //zjišťování, zda buňka nezhyne na nedostatek či přebytek
látek v ní
```

A.6 Soubory Simulací

Všechny uložené simulace jsou ve formátu přípony *.gom. Původní snaha byla o čitelnost samotného souboru prostým okem jedince, s rostoucí nutností ukládat vícero informací jsem z takovýchto konání polevil. Soubor je sice v textové podobě, ale zvolené pořadí textu příliš nenapoví, oč se v konkrétních bodech jedná. Pořadí řádků je v takovém souboru důležité z důvodů postupného načítání do paměti a vytváření nových instancí jednotlivých tříd.

Příloha B

Obsah přiloženého CD-ROM

Přiložené CD-ROM obsahuje zdrojové kódy aplikace Gombíček 2, jednotlivé simulace, jeho dokumentaci a elektronickou podobu této práce. Adresáře obsahují:

- `text/` Textová podoba práce v PDF, PS a zdrojový kód v LyXu.
- `gombicek/bin` Spustitelná podoba simulačního programu pod platformou Microsoft Windows XP a vyšší.
- `gombicek/src` Zdrojové kódy simulačního programu.
- `gombicek/simulace` Jednotlivé simulace *.gom.
- `gombicek/doc` Dokumentace k programu.
- `net/` Microsoft .NET 3.0 nutný ke spuštění programu