

ISSN: 2658–5782

Номер 1

Январь–Март 2019

# МНОГОФАЗНЫЕ СИСТЕМЫ

[mfs.uimech.org](http://mfs.uimech.org)





## К вопросу о механизме клеточной миграции<sup>1</sup>

Рахимов А.А.\* , Ахметов А.Т.\*\* , Валиев А.А.\* , Данилко К.В.\*\*\* , Саметов С.П.\*\*\*\* , Хисматуллин Д.Б.\* ,\*\*\*\*\*

\*Институт механики им. Р.Р. Мавлютова УФИЦ РАН, Уфа

\*\*Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа

\*\*\*«Башкирский государственный медицинский университет», Уфа

\*\*\*\*ООО «РН-БашНИПинефть», Уфа

\*\*\*\*\*Тулеский университет, Новый Орлеан, Луизиана, США

В работе представлены экспериментальные и теоретические аспекты изучения миграции раковых клеток через узкие микроканалы при взаимодействии с химическим веществом – аттрактантом. Химические агенты вводились непосредственно из соответствующего отдельного резервуара посредством гидростатического напора. Наличие миграционных каналов разного размера позволило анализировать присущие клеткам миграционные способности. Экспериментальные исследования по миграции раковых клеток клеточных линий проводились с использованием микрофлюидной бинарной миграционной ячейки. Она состоит из двух камер глубиной 50 мкм, соединенных рядом узких микроканалов высотой 10 мкм. Камеры соединены с емкостями, из которых поступают раковые клетки и активирующие среды. Особенности модели являются плавные переходы из всех емкостей в микроканалы для предотвращения скопления микропузырьков и клеток, наличие ограничительного барьера между емкостью с хемоаттрактантом и питательной средой для уменьшения действия капиллярных сил, герметизация подводящих каналов и емкостей с клетками при помощи наклеенной сверху стеклянной пластинки. В серии экспериментов, проведенных в разработанной авторами миграционной микрофлюидной системе, выявлена способность эпителиоподобных клеток линии метастатического рака предстательной железы DU145 совершать миграции. Характер миграции зависит от ширины канала и расположения клеток в момент добавления химического агента. В более широких каналах клетки медленнее адгезируют и способны совершать катящиеся движения. В более узких каналах клетки распластаются по стеклу. В качестве основы для теоретического исследования клеточной миграции рассмотрена математическая модель концентрационно-капиллярного движения, которая представляет собой системы уравнений динамики несжимаемой вязкой жидкости, записанные по отдельности для содержимого клетки и для окружающей ее среды.

**Ключевые слова:** клеточная миграция, хемотаксис, микрожидкостные системы, моделирование биологических систем, рак предстательной железы

### 1. Введение

Несмотря на прогресс в разработке новых лекарственных средств и методов лечения, метаста-

тический рак остается неизлечимой болезнью и одной из основных причин смерти в мире [1]. Отличительной чертой процесса метастазирования является способность раковых клеток мигрировать из первичной опухоли в отдаленные участки тела. Для многих видов рака эта способность приобретает в результате эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП), когда клетки меняют свой фенотип с неинвазивного на высокоинвазивный (подвижный). В данный момент эффективных методов для оценки ЭМП и метастатического потенциала раковых клеток не существует, что затрудняет

<sup>1</sup>Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект №18-01-00779-а) и средств государственного бюджета по госзаданию №0246-2019-0052.

диагностику агрессивных форм рака [2]. С другой стороны, многие раковые больные пожилого возраста (например, больные раком предстательной железы, большинству которых за 60 лет) могут не выдержать агрессивного лечения, включающего хирургическое вмешательство, лучевую терапию и химиотерапию. Для таких больных важен анализ метастатического потенциала для определения соответствующих методов лечения — следует применять агрессивное лечение «последней надежды», более щадящую абляционную терапию или лечение вообще не требуется.

Одним из основных свойств живых клеток является их способность мигрировать из одной области пространства в другую в ответ на определенные стимулы. Клеточная миграция имеет важное значение для одноклеточных организмов (чтобы найти пищу или избежать опасности), а в многоклеточных организмах она является ключевой частью морфогенеза, заживления ран, иммунного ответа и метастазов рака. Этот тип движения является «активной миграцией», так как она управляется силами, которые генерирует сама клетка, что отличается от «пассивной миграции» циркулирующих клеток, вызываемой внешней гидродинамической силой.

Разработка вычислительной модели активной клеточной миграции совместно с микрофлюидными экспериментами [3] имеет фундаментальную научную значимость, в частности, для исследования механизмов активной миграции раковых клеток.

Ранее был разработан полностью трехмерный вычислительный алгоритм для опосредованной рецептором клеточной адгезии к эндотелию или к подложке, покрытой лигандом, в микрофлюидной проточной камере [4, 5]. Этот алгоритм, известный как VECAM (ViscoElastic Cell Adhesion Model), моделирует клетку как вязкоупругую жидкость, состоящую из двух фаз: ядра и цитоплазмы. Кроме того, VECAM отслеживает координаты каждой молекулы лиганда (молекулы рецептора распределены равномерно по субстрату) и использует кинетику одиночной связи на основе вероятностного подхода (метод Монте-Карло) для описания рецептор-лигандного взаимодействия. Было показано, что VECAM реалистично описывает изменения формы и скорости циркулирующих клеток во время их взаимодействия с воспаленным сосудистым эндотелием.

Задачей настоящей работы является выявление потенциала миграционной активности клеток рака предстательной железы с использованием микрожидкостных устройств. В данной работе

представлены особенности разработки работающей миграционной камеры, методика проведения эксперимента и первые результаты с раковыми клетками линии DU145.

## 2. Клеточные культуры

В работе использовались клеточные линии PC-3 (полученные из костного метастаза пациента с IV стадией аденокарциномы предстательной железы) и DU145 (полученные из метастаза аденокарциномы предстательной железы в головной мозг). Обе линии клеток имеют эпителиальную морфологию и широко используются исследователями. Клетки культивировали в среде DMEM (Sigma, США) и RPMI 1640 (Gibco, США) 1:1 с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (Biowest, США) при температуре 37°C во влажной атмосфере в присутствии 5% CO<sub>2</sub>. Культуральную среду заменяли 2 раза в неделю. После достижения клетками 80% монослоя, клетки снимали с поверхности с помощью раствора трипсина 0,25%/ЭДТА 0,02% (Биолот, Россия), подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC20 (BioRad, США) и использовали для анализа.

### Миграционный анализ в камере Бойдена

Для подбора наиболее эффективного хемоаттрактанта для клеток предстательной железы были использованы рекомбинантные человеческие интерлейкин 8 (IL-8) и фактор роста гепатоцитов (HGF). Клетки линий PC-3 и DU145 однократно отмывали от остатков сыворотки фосфатно-солевым буфером (Панэко, Россия), добавляли среду DMEM/RPMI 1640 1:1 до получения суспензии с концентрацией 5x10<sup>5</sup> клеток/мл линий PC-3 и DU145. В 24-луночный планшет помещались вставки с нейлоновой мембраной, диаметр пор — 8 мкл (Falcon). В каждую вставку помещали подготовленную суспензию клеток объемом 100 мкл, после чего в лунку добавляли 400 мкл культуральной среды DMEM / RPMI 1640 1:1 с добавлением IL-8 (1 нг/мл) либо HGF (20 нг/мл), либо без цитокина. Клетки мигрировали 24 часа при температуре 37°C во влажной атмосфере в присутствии 5% CO<sub>2</sub>. После чего среду удаляли, внутреннюю часть нейлоновой мембраны вставки очищали от клеток и помещали вставку в лунку планшета с 400 мкл раствора МТТ 5 мг/мл на 4 часа. Колориметрический тест МТТ основан на способности оксидоредуктаз клетки превращать желтый тетразолиевый краситель — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид в нерастворимый пурпурный формазан. Раствор МТТ заменяли на диметилсульфоксид для растворения образовав-

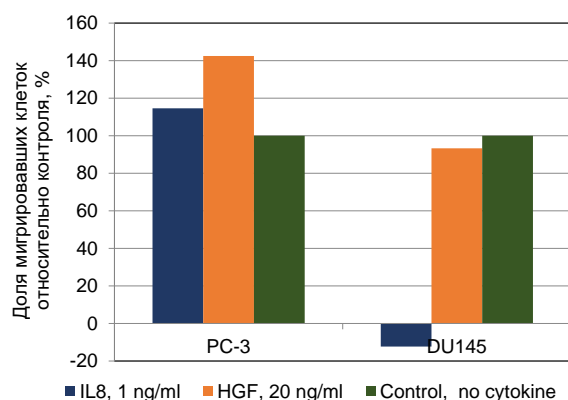


Рис. 1. Миграционная активность клеток линий PC-3 и DU145 по результатам МТТ-теста в присутствии IL-8 (1 нг/мл), HGF (20 нг/мл) и в отсутствии стимула

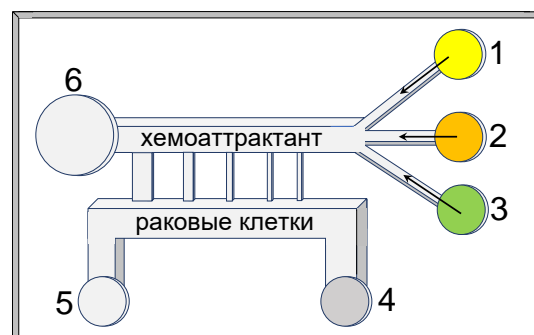


Рис. 2. Схематичное изображение миграционной камеры. 1, 2, 3, 4 – входные отверстия для хемоаттрактанта (1), питательной среды (2,3) и раковых клеток (4); 5, 6 – выходные отверстия

шихся кристаллов формазана. После чего вставки удаляли и регистрировали оптическую плотность раствора в каждой лунке при длине волны 530 нм и длине волны фонового поглощения 620 нм, используя мультипланшетный анализатор Spark 10M (Tecan, Австрия).

Предварительные эксперименты по миграции клеток линий PC-3 и DU145 рака предстательной железы в присутствии цитокинов IL8 и HGF в камере Бойдена представлены на (рис. 1).

Показано, что более активная миграция клеток обеих линий происходит в присутствии HGF в концентрации 20 нг/мл. Клетки линии PC-3 более активно мигрировали в присутствии HGF, в то время, как миграция клеток линии DU145 оказалась слабее по сравнению с контролем. IL8 подавляет миграцию клеток DU145 и слабо стимулирует ее для линии PC-3. HGF был использован для последующих экспериментов с линией DU145. В ходе дальнейших экспериментов планируется использовать также линию клеток PC-3 в присутствии градиента концентрации HGF.

Изучение миграции раковых клеток линии DU145 проводилось в бинарной ячейке с градиентом концентрации хемоаттрактанта, образующимся за счет диффузионного процесса в ламинарном потоке.

### 3. Разработка и изготовление миграционной ячейки

При изучении биологических клеточных систем широко используются микрофлюидные устройства, изготавливаемые методом мягкой фотолитографии [3].

Для изучения миграционной активности раковых клеток была изготовлена бинарная мигра-

ционная камера по аналогии с микрофлюидной ячейкой для изучения хемотаксической миграции подвижных клеток, использовавшаяся в работе [6]. Схематический вид миграционной ячейки приведен на рис. 2, состоит она из двух камер высотой по 50 мкм, ряда соединяющих их перемычек высотой по 10 мкм и цилиндрических отверстий в пластине из полидиметилсилоксана (ПДМС) глубиной 5 мм и диаметром 3 мм. Во входные отверстия верхней камеры подаются питательная среда (отверстия 2, 3 на рис. 2) и хемоаттрактант — химическое вещество, привлекающее раковые клетки (отверстие 1). Отверстия круглой формы — емкости для подачи питательной среды и хемоаттрактанта, а также входное (4) и выходное (5) отверстия для суспензии, содержащей раковые клетки и питательную среду, и выходное накопительное отверстие (6) для постоянно вытекающих хемоаттрактанта и среды.

Для изготовления двухуровневой миграционной камеры были разработаны маски фотошаблона — векторные рисунки для распечатывания на принтере высокого разрешения: 1) маска фотошаблона миграционных каналов толщиной 10 мкм (рис. 3(а)); 2) маска фотошаблона с входным проточным и нижним непроточным каналом толщиной 50 мкм (рис. 3(б)). На основе первой маски изготовлен фотошаблон на поверхности предметного стекла, затем на него нанесен фоторезист слоем 50 мкм; далее, на основе второй маски — оставшаяся часть фотошаблона ячейки толщиной 50 мкм. На базе двухуровневого фотошаблона получена реплика в пластине из ПДМС, далее в ПДМС толщиной 5 мм сделаны отверстия диаметром 3 мм и он склеен с предметным стеклом. Микрокамера готова.

При проведении экспериментов с клетками обнаружился ряд методических трудностей, связан-

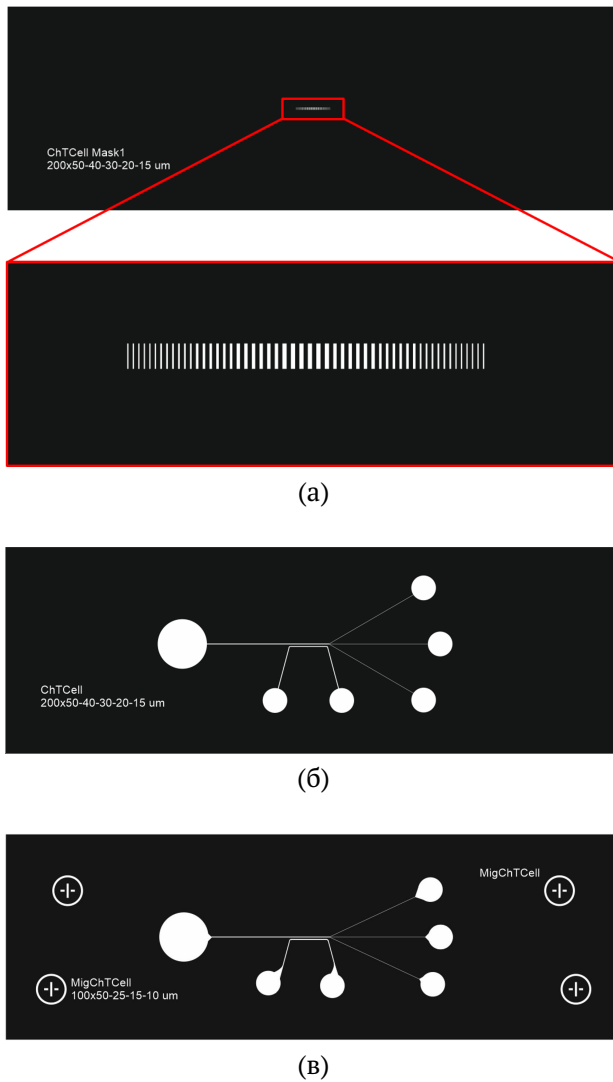


Рис. 3. Изображение масок для изготовления двух-уровневой миграционной камеры: (а) – система миграционных микроканалов. (6 каналов шириной 50 мкм и симметрично к ним с обеих сторон еще по 6 каналов шириной 40, 30, 20, 15 мкм, у всех длина 300 мкм, расстояние между ними по 50 мкм), (б) – подводящие каналы (ширина 100 мкм, расстояние между верхней и нижней камерами 200 мкм) и входные отверстия, (в) – маска для подводящих каналов с плавными переходами от входных и выходного отверстий

ных с капиллярными силами, со скоплением микропузырьков около ступенчатых сужений, с проявлением эффекта динамического запирания [7, 8] при течении дисперсных сред. Течение через ступенчатое сужение суспензии, содержащей раковые клетки в питательной среде, при переходе из входной емкости (рис. 1) в микроканал приводило к скопению клеток у входа перед сужением, что практически не позволяло клеткам достигнуть накопительного участка перед так называемой «лесенкой» — системой миграционных каналов. Наблюдаемый микроскопом участок охватывал только треть «лесенки». Капиллярное давление жидкостей во входных отверстиях для реагентов при диаметре 3 мм значительно превышает гидростатическое давление 5 мм водяного столба. Все перечисленное поставило авторов перед необходимостью несколько изменить первоначальную конструкцию миграционной камеры. Для предотвращения скопления микропузырьков и раковых клеток на входах в микроканалы цилиндрические формы емкостей в слое фоторезиста были заменены на емкости с плавными переходами (рис. 3(в)). Длину «лесенки» уменьшили для лучшей визуализации, большего охвата поля зрения микроскопа и получили 3 канала шириной 50 мкм и симметрично к ним с обеих сторон еще по 3 канала шириной 25, 15, 10 мкм, длину и расстояние между ними оставили такими же. Изображение изготовленной миграционной камеры представлено на рис. 4. В микрожидкостных устройствах стекло и ПДМС с репликацией каналов прозрачные, что позволяет использовать методы визуализации. Отверстия получены на завершающей стадии изготовления миграционной камеры, когда прямоугольный «отвердевший» ПДМС прокалывался специальным дыроколом перед «приклеиванием» к стеклу. Таким образом, высота этих емкостей соответствовала толщине слоя ПДМС, что составляло в среднем около 5 мм.

Для уменьшения влияния капиллярных сил принимались меры, чтобы над отверстиями не об-

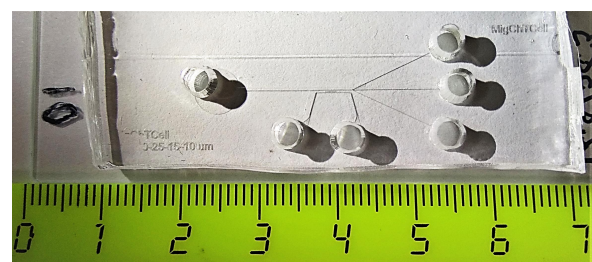


Рис. 4. Фотография миграционной камеры, вид сверху (в качестве масштаба приведена линейка)



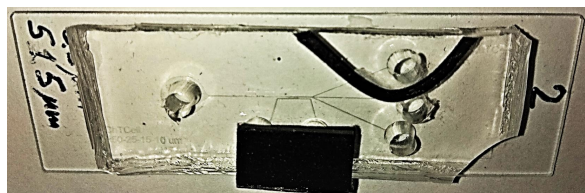


Рис. 5. Фотография бинарной ячейки, заполненной раковыми клетками, накопительный канал с входным и выходным отверстиями запечатан, емкость с хемоаттрактантом ограждена от емкостей с питательной средой

разовывались капиллярные мениски. Отверстие (емкость) для подачи хемоаттрактанта отгорожена от остальных ограничительным барьером (рис. 5) для того, чтобы жидкость разлилась по большей площади с целью уменьшения влияния капиллярных сил. После заполнения раковыми клетками нижней камеры, для предотвращения перетекания жидкости между сообщающимися емкостями, емкости с раковыми клетками (рис. 2, отверстия 4, 5) герметизировались путем приклеивания стеклянной пластины.

#### Методика подготовки миграционной камеры к проведению эксперимента по миграции клеток:

1. Буферный раствор шприцем объемом 1 мл подается в накопительную емкость (рис. 1) до заполнения всех цилиндрических емкостей, при этом все микроканалы заполняются жидкостью, весь воздух замещается жидкостью.
2. Жидкость выкачивается дозатором из всех емкостей до выравнивания уровня жидкости в 1 мм.
3. Суспензия из раковых клеток и питательной среды дозатором с концентрацией 1 млн клеток на 1 мл подается во входное отверстие для клеток.
4. Две емкости, заполненные раковыми клетками, заклеиваются стеклом.
5. Все емкости заполняются буферным раствором и помещаются в инкубатор на 2 часа.
6. Миграционная камера с клетками переносится на термостол микроскопа.
7. В открытых емкостях уровень откачивается до 1 мм.

8. Две емкости заполняются питательной средой, а оставшаяся емкость — хемоаттрактантом. Уровень жидкостей подается таким образом, чтобы жидкость разлилась по большей площади с целью уменьшения влияния капиллярных сил.

Заполненная миграционная ячейка используется для анализа движения раковых клеток в каналах сопоставимых с собственными размерами. Раковые клетки DU145 в медленном потоке в неактивном состоянии имеют сферическую форму диаметром 10 мкм. Поток, направленный от нижних емкостей (рис. 1, входное отверстие для клеток), наполненных суспензией раковых клеток, к остальным резервуарам, приводит к скоплению клеток перед миграционными каналами разной ширины. На выходе миграционных каналов («лесенки») диффузное хемоаттрактанта в питательную среду в ламинарном потоке приводит к образованию градиента концентрации поперек канала, который должен привести к активизации раковых клеток. Уникальность разработанной ячейки состоит в том, что в конструкции учтены тонкости, связанные с методикой ее эксплуатации при работе с раковыми клетками и хемоаттрактантом (введены плавные переходы, приняты меры для уменьшения роли капиллярных сил, найдено простое решение для герметизации подводных емкостей с раковыми клетками).

#### 4. Экспериментальные результаты по миграции клеток

За миграцией раковых клеток через микроканалы из проточной в непроточную камеры наблюдали с помощью микроскопа Zeiss Axio Observer.D1. Первая серия экспериментов с раковой линией DU145 и HGF для анализа характера и направленности миграции одиночных клеток в миграционной микрофлюидной системе показала два типа поведения клеток (рис. 6): «медленно прикрепляющиеся» со слабым изменением морфологии (рис. 6, K1) и «быстро прикрепляющиеся», которые значительно изменили морфологии в течение 1 часа выдержки в инкубаторе (рис. 6, K2).

Клетки в момент добавления химического агента оказались в поперечных каналах близко к краю со стороны его введения. Активные движения клеток наблюдались в течение 20 минут с момента добавления HGF. «Медленно прикрепляющиеся» клетки (рис. 7, K1) в течение первых 15 минут активно смещались в направлении по градиенту концентрации HGF. В морфологии данных клеток можно заметить небольшие неровности их краев. После быстрого движения «медленно прикрепляющиеся»

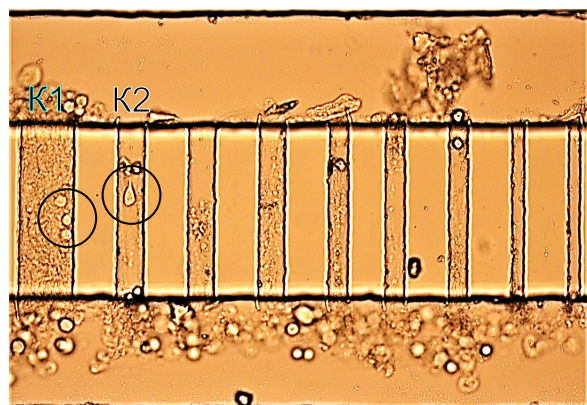


Рис. 6. Фотоизображение правой части миграционных каналов (увеличение  $\times 200$ ). Черные окружности выделяют активно подвижные клетки линии DU145 в канале шириной 50 мкм (K1) и канале шириной 20 мкм (K2)

еся» клетки остановились на расстоянии 110 мкм от входа в поперечные каналы миграционной микрофлюидной системы со стороны введения HGF. С 20-ой минуты наблюдался процесс адгезии округлых клеток к поверхности стекла. «Быстро прикрепляющиеся» клетки (рис. 7, K2) в течение 15 минут изменили морфологию, потеряли заметные псевдоподии, приобрели округлую форму и отделились от поверхности стекла. В течение следующих 5 минут данные клетки начали активное движение в направлении уменьшения градиента HGF и прикрепилась на расстоянии 90 мкм от входа в поперечные каналы миграционной микрофлюидной системы со стороны введения градиента химического вещества и быстро сформировали эпителиоподобную структуру, не выходя из поперечного канала, которая сохранялась с небольшими изменениями формы клетки до конца наблюдения (наблюдали в течении часа).

Таким образом, в данной серии экспериментов показана способность эпителиоподобных клеток линии метастатического рака предстательной железы DU145 совершать миграции в разработанной авторами миграционной микрофлюидной системе. Характер миграции зависит от ширины канала и расположения клеток в момент добавления химического агента. В более широких каналах клетки медленнее адгезируются и способны совершать быстрые катящиеся движения. В более узких каналах клетки быстрее расплываются по стеклу. Все подвижные клетки совершают активные движения до момента достижения определенного «положения», что зависит от концентрации HGF, который активно стимулирует миграцию клеток в первые 20 минут после введения в систему.

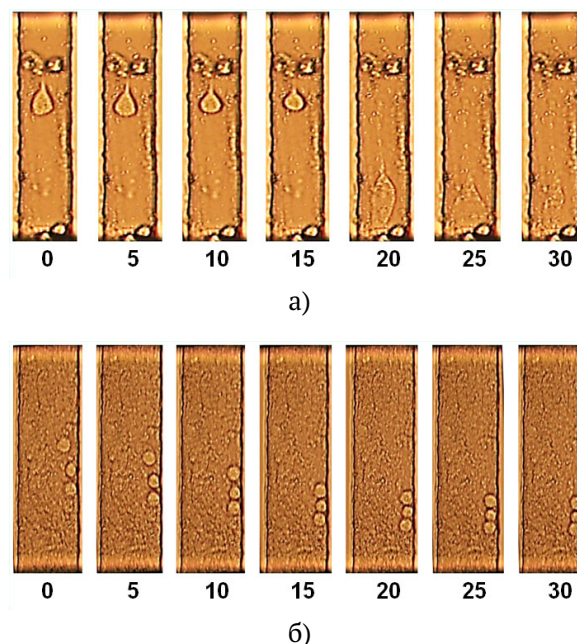


Рис. 7. Фотоизображения каналов K1 (а) и K2 (б) в зависимости от времени (время указано в минутах)

## 5. Математическая модель клеточной миграции

Для выявления механизмов клеточной миграции была рассмотрена задача о дрейфе капли вещества, соответствующего содержимому клетки, в окружающей ее вязкой жидкости с заданным градиентом концентрации поверхностно-активного реагента, имитирующего хемоаттрактант или некоторый питательный субстрат.

На основании результатов опытов [9–11] было установлено, что, как и в случае термокапиллярного дрейфа, концентрационно-капиллярное движение прямо пропорционально радиусу дисперсной частицы и градиенту поверхностного натяжения. Указанное обстоятельство дало основание для следующего утверждения — миграция клетки обусловлена формированием градиента поверхностного натяжения на границе с окружающей ее жидкостью: разность значений поверхностного натяжения вызывает перемещение прилежащего слоя жидкости, что и приводит к возникновению дрейфа частицы. Упомянутые опыты проводились с пузырьками воздуха различного диаметра, а роль поверхностно-активного вещества играли метанол или этанол. Это существенно упрощает изучение дрейфа пузырьков по сравнению с миграцией клетки, однако позволяет построить в первом приближении математическую модель движения

клетки в поле переменной концентрации хемоаттрактанта, выполняющего в данном случае роль поверхностно-активного вещества.

Движение жидкости под воздействием поверхностных сил впервые было рассмотрено итальянским ученым Марангони в конце XIX века. Появление этих сил обусловлено локальным изменением поверхностного натяжения, что связано, в основном, с возникновением неоднородного распределения температуры или концентрации вдоль поверхности жидкости. В обычных условиях градиенты температуры и концентрации на поверхности жидкости пренебрежимо малы по сравнению с более интенсивными изменениями, происходящими в объемной фазе под действием гравитационных сил. Однако при определенных условиях поверхностные силы могут преобладать над силами Архимеда. Например, необходимые условия могут возникать вблизи поверхности капель и пузырьков газа в жидкости. Эти условия имеют место и в невесомости. С точки зрения описания поведения клеток в окружающей ее среде нас, прежде всего, интересовало формирование градиентов поверхностного натяжения в капле жидкости, находящейся в другой вязкой жидкости. Полагаем, что жидкость, окружающая каплю, содержит некоторое количество вещества, влияющего на поверхностное натяжение, и распределенного в пространстве по определенному закону. Это вещество представляет собой некоторый питательный субстрат или аттрактант, в направлении возрастания концентрации которого клетка способна перемещаться.

По аналогии с термокапиллярной конвекцией [11] введем характерную величину скорости дрейфа капли:

$$U = \frac{R}{\mu} \Delta \sigma = \frac{R}{\mu} \frac{\partial \sigma}{\partial c} \Delta c,$$

где  $R$  — характерный радиус капли;  $\mu$  — вязкость среды, окружающей каплю;  $\sigma$  — коэффициент поверхностного натяжения;  $c$  — концентрация питательного субстрата и аттрактанта.

Рассмотрим движение клетки в поле с линейным изменением концентрации аттрактанта. Параметры окружающей клетку жидкости обозначим индексом «1», а осредненные параметры клетки — индексом «2». Градиент концентрации аттрактанта будем считать постоянным:  $\nabla c_1 = K$ .

Далее, учитывая влияние концентрации аттрактанта на коэффициент поверхностного натяжения клетки, можно определить тангенциальные напряжения, благодаря которым возникает концентрационно-капиллярная конвекция как внутри клетки, так и снаружи. Именно конвектив-

ные течения и приводят в движение клетку. Разложим коэффициент поверхностного натяжения  $\sigma$  в ряд, по концентрации сохранив только линейную часть этого разложения:

$$\sigma(c) = \sigma(c_0) - \left| \frac{d\sigma}{dc} \right| (c - c_0),$$

где  $c_0$  — фоновое значение концентрации.

Постановку задачи рассмотрим в осесимметричном приближении, коэффициенты диффузии  $D_i$  считаем постоянными, а движение — медленным и установившимся. Скорость клетки обозначим через  $u$ , а форму клетки будем считать сферической. Окружающая жидкость считается несжимаемой и покоящейся вдали от клетки, содержимое клетки представляет собой несжимаемую жидкость, а физико-химическими процессами внутри клетки на данном этапе пренебрежем. Запишем систему уравнений Навье–Стокса для расслоенного течения двух вязких жидкостей:

$$\rho_i \left[ \frac{\partial \vec{v}_i}{\partial t} + (\vec{v}_i \cdot \nabla) \vec{v}_i \right] = -\nabla p_i + \mu_i \Delta \vec{v}_i \quad (i = 1, 2),$$

где  $\vec{v}_i$  — вектор скорости жидкости, окружающей каплю ( $i = 1$ ) и жидкости, содержащейся в капле ( $i = 2$ );  $\rho$  — плотность;  $p$  — давление.

Условия несжимаемости жидкостей:

$$\nabla \vec{v}_i = 0 \quad (i = 1, 2).$$

Уравнения полей концентрации несжимаемых сред:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \vec{v}_i \cdot \nabla c_i = D_i \Delta c_i \quad (i = 1, 2).$$

На удалении от клетки:  $c_1 = Kz$ ,  $\Delta p_1 = 0$ ,  $\vec{v}_1 = 0$ .

Итак, невозмущенное движение будет определяться зависимостью  $z = ut$ . Тогда в каждый момент времени в сферической системе координат  $(\vec{r}, \theta, \varphi)$  относительно центра клетки будем иметь:

$$\begin{aligned} z &= z' + ut, \\ \vec{v}_i(\vec{r}, t) &= \vec{v}_i'(\vec{r}') + u, \\ c_i(\vec{r}, t) &= Kut + c_i'(\vec{r}') \quad (i = 1, 2), \end{aligned}$$

где  $r$  — расстояние от центра до рассматриваемой точки.

Перейдем к безразмерным переменным. С этой целью, исходя из соображений размерности и полагая при этом, что невозмущенный радиус клетки сферической формы равен  $R$ , введем характерные параметры для рассматриваемой задачи:

- длина —  $L = R$ ,  $[L] = m$ ;



- скорость —  $V = \left| \frac{\sigma}{c} \right| \frac{RK}{\mu}$ ,  $[V] = \text{м/с}$ ;
- давление —  $P = \left| \frac{\sigma}{c} \right| K$ ,  $[P] = \text{Н/м}^2$ ;
- приращение концентрации аттрактанта на масштабе характерной длины —  $C_0 = RK$ ,  $[C_0] = \text{моль}$ .

Имеем также ввиду, что  $[\sigma] = \text{Н/м}$ ,  $[K] = \text{моль/м}$ ,  $[\mu_i] = \text{Па}\cdot\text{с}$ .

Считая режим обтекания клетки установившимся, получим следующие две системы уравнений в безразмерном виде, описывающие поведение каждой из фаз.

Для первой фазы — вне клетки:

$$\Psi(\vec{v}_1 \nabla) \vec{v}_1 = -\nabla p_1 + \Delta \vec{v}_1,$$

$$\nabla \vec{v}_1 = 0,$$

$$\Phi \Psi [(\vec{u} + \vec{v}_1) \nabla c_1] = \Delta c_1.$$

Для второй фазы — внутри клетки:

$$\bar{\rho} \Psi(\vec{v}_2 \nabla) \vec{v}_2 = -\nabla p_2 + \bar{\rho} \bar{\mu} \Delta \vec{v}_2,$$

$$\nabla \vec{v}_2 = 0,$$

$$\Phi \Psi [(\vec{u} + \vec{v}_2) \nabla c_2] = \bar{D} \Delta c_2;$$

где  $\Psi = \left| \frac{d\sigma}{dc} \right| \frac{KR^2}{\mu_1^2} \rho_1$ ;  $\bar{\rho} = \frac{\rho_2}{\rho_1}$ ;  $\bar{\mu} = \frac{\mu_2}{\mu_1}$ ;  $D = \frac{D_2}{D_1}$ ;  
 $\Phi = \frac{\mu_1}{D_1}$ .

Полученная система уравнений представляет собой математическую модель механизма генерации миграционных сил, в котором хемоаттрактант играет роль поверхностно-активного вещества.

## 6. Заключение

В приведенной серии экспериментов показана способность эпителиоподобных клеток линии метастатического рака предстательной железы DU145 совершать миграции в разработанной авторами миграционной микрофлюидной системе.

Уникальность полученных результатов обусловлена использованием разработанного нового метода, обладающего возможностью изучать не только миграционные особенности клеток, но и их деформацию, влияющую на перемещения в пространственно-стесненных условиях при воздействии разного типа химических реагентов.

Представленная система уравнений предназначена для определения условий возникновения скорости миграции клетки при заданном градиенте концентрации аттрактанта в окружающей жидкости и, таким образом, предложен новый механизм генерации миграционных сил.

## Список литературы

- [1] World Health Organization. Data and statistics. URL: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/cancer/data-and-statistics> (дата обращения 30.01.2019)
- [2] Zavadil J., Haley J., Kalluri R., Muthuswamy S.K., Thompson E. Epithelial-Mesenchymal Transition // *Cancer Research*. 2008. V. 68, No. 23. Pp. 9574–9577. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-2316
- [3] Ахметов А.Т., Рахимов А.А., Валиев А.А., Нигматзянова Р.Р. Течение эмульсий и крови в микроканалах различной конфигурации // *Труды Института механики им. Р.Р. Мавлютова Уфимского научного центра РАН*. Уфа: Нефтегазовое дело. 2014. Вып. 10. С. 19–26. DOI: 10.21662/uim2014.1.004
- [4] Khismatullin D.B., Truskey G.A. Three-dimensional numerical simulation of receptor-mediated leukocyte adhesion to surfaces: Effects of cell deformability and viscoelasticity // *Physics of Fluids*. 2005. V. 17, No. 3. P. 031505. DOI: 10.1063/1.1862635
- [5] Khismatullin D.B., Truskey G.A. Leukocyte rolling on P-selectin: a three-dimensional numerical study of the effect of cytoplasmic viscosity // *Biophysical journal*. 2012. V. 102, No. 8. Pp. 1757–1766. DOI: 10.1016/j.bpj.2012.03.018
- [6] Paul C.D., Hung W.C., Wirtz D., Konstantopoulos K. Engineered models of confined cell migration // *Annual review of biomedical engineering*. 2016. Vol. 18. Pp. 159–180. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040654
- [7] Akhmetov A.T., Mavletov M.V., Sametov S.P., Rakhimov A.A., Valiev A.A., Akhatov I.Sh. Dispersion Flow In Microchannels // *Proceedings of ASME 2012 International Mechanical Engineering Congress & Exposition*. IMECE2012. 2012. Houston. 8 p. DOI: 10.1115/IMECE2012-86618
- [8] Рахимов А.А., Ахметов А.Т. Экспериментальные исследования гидродинамических эффектов при течении обратных водоуглеводородных эмульсий в микроканалах // *Труды Института механики им. Р.Р. Мавлютова Уфимского научного центра РАН*. 2016. Т. 11, № 1. С. 30–37. DOI: 10.21662/uim2016.1.006
- [9] Young N.O., Goldstein J.S., Block M.J. The motion of bubbles in a vertical temperature gradient // *Journal of Fluid Mechanics*. 1959. V. 6, No. 3. Pp. 350–356. DOI: 10.1017/S0022112059000684
- [10] Братухин Ю.К. Термокапиллярный дрейф капельки вязкой жидкости // *Известия АН СССР. Механика жидкости и газа*. 1975. № 5. С. 156–161.
- [11] Братухин Ю.К., Зуев А.Л. Термокапиллярный дрейф пузырька воздуха в горизонтальной ячейке Хеле-Шоу // *Известия АН СССР. Механика жидкости и газа*. 1984. № 3. С. 62–67.



## To the issue of the mechanism of cell migration

Rakhimov A.A. \*, Akhmetov A.T.\*\*, Valiev A.A. \*, Danilko K.V.\*\*\*, Sametov S.P.\*\*\*\*, Khismatullin D.B. \*,\*\*\*\*\*

\*Mavlutov Institute of Mechanics, UFRS RAS, Ufa

\*\*Ufa State Petroleum Technological University, Ufa

\*\*\*Bashkir State Medical University, Ufa

\*\*\*\*LLC "RN-BashNIPIneft", Ufa

\*\*\*\*\*Tulane University, New Orleans, Louisiana, USA

The paper presents the experimental and theoretical aspects of studying the migration of cancer cells through narrow microchannels when interacting with a chemical substance – an attractant. Chemical agents were injected directly from the respective separate reservoir via hydrostatic head. The presence of migration channels of different sizes allowed us to analyze the migration abilities inherent in the cells. Experimental studies on the migration of cancer cell lines were carried out using a microfluidic binary migration cell. It consists of two chambers 50  $\mu\text{m}$  deep, connected by a series of narrow microchannels 10  $\mu\text{m}$  high. The chambers are connected to the tanks from which cancer cells and activating media come. The model features smooth transitions from all tanks to microchannels to prevent accumulation of microbubbles and cells, the presence of a restrictive barrier between a chemoattractant container and a nutrient medium to reduce the effect of capillary forces, sealing the supply channels and cells with cells using a glass plate glued on top. In a series of experiments, the ability of epithelial-like cells of the metastatic prostate cancer DU145 to migrate in the migration microfluidic system developed by us was revealed. The nature of migration depends on the width of the channel and the location of the cells at the time of adding the chemical agent. In wider channels, cells adhere more slowly and are able to perform rolling movements. In narrower channels, the cells are spread over the glass. The mathematical model of concentration-capillary movement, which is a system of equations of the dynamics of an incompressible viscous fluid, written separately for the cell contents and for its environment, is considered as the basis for a theoretical study of cell migration.

**Keywords:** cell migration, chemotaxis, microfluidic systems, biological systems modeling, prostate cancer

## References

- [1] World Health Organization. Data and statistics. URL: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/cancer/data-and-statistics> (accessed 30.01.2019)
- [2] Zavadil J., Haley J., Kalluri R., Muthuswamy S.K., Thompson E. Epithelial-Mesenchymal Transition // *Cancer Research*. 2008. V. 68, No. 23. Pp. 9574–9577. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-2316
- [3] Akhmetov A.T., Rakhimov A.A., Valiev A.A., Nigmatzyanova R.R. Emulsion and blood flow in microchannels of differently structure // *Proceedings of the Mavlyutov Institute of Mechanics*. 2014. V. 10. Pp. 19–26 (in Russian). DOI: 10.21662/uim2014.1.004
- [4] Khismatullin D.B., Truskey G.A. Three-dimensional numerical simulation of receptor-mediated leukocyte adhesion to surfaces: Effects of cell deformability and viscoelasticity // *Physics of Fluids*. 2005. V. 17, No. 3. P. 031505. DOI: 10.1063/1.1862635
- [5] Khismatullin D.B., Truskey G.A. Leukocyte rolling on P-selectin: a three-dimensional numerical study of the effect of cytoplasmic viscosity // *Biophysical Journal*. 2012. V. 102, No. 8. Pp. 1757–1766. DOI: 10.1016/j.bpj.2012.03.018
- [6] Paul C.D., Hung W.C., Wirtz D., Konstantopoulos K. Engineered models of confined cell migration // *Annual review of biomedical engineering*. 2016. Vol. 18. Pp. 159–180. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040654
- [7] Akhmetov A.T., Mavletov M.V., Sametov S.P., Rakhimov A.A., Valiev A.A., Akhatov I.Sh. Dispersion Flow In Microchannels // *Proceedings of ASME 2012 International Mechanical Engineering Congress & Exposition. IMECE2012*. 2012. Houston. 8 p. DOI: 10.1115/IMECE2012-86618
- [8] Rakhimov A.A., Akhmetov A.T. Experimental study of hydrodynamic effects in the inverse water hydrocarbon emulsions flow in microchannels // *Proceedings of the Mavlyutov Institute of Mechanics*. 2016. V. 11, No. 1. Pp. 30–37 (in Russian). DOI: 10.21662/uim2016.1.006

- [9] Young N.O., Goldstein J.S., Block M.J. The motion of bubbles in a vertical temperature gradient // *Journal of Fluid Mechanics*. 1959. V. 6, No. 3. Pp. 350–356.  
DOI: [10.1017/S0022112059000684](https://doi.org/10.1017/S0022112059000684)
- [10] Bratukhin Yu.K. [Thermocapillary drift of a viscous liquid droplet]. *Izvestiya AN SSSR. Mekhanika zhidkosti i gaza*. [News of the Academy of Sciences of the USSR. Fluid and gas mechanics]. 1975. No. 5. Pp. 156–161 (in Russian).
- [11] Bratukhin Yu.K., Zuev A.L. [Thermocapillary drift of an air bubble in a horizontal Hele-Shaw cell]. *Izvestiya AN SSSR. Mekhanika zhidkosti i gaza* [News of the Academy of Sciences of the USSR. Fluid and gas mechanics]. 1984. No. 3. Pp. 62–67 (in Russian).