



Universiteit
Leiden
The Netherlands

High-throughput simulation studies of angiogenesis - Reverse engineering the role of tip cells and pericytes in vascular development
Palm, M.M.

Citation

Palm, M. M. (2014, September 30). *High-throughput simulation studies of angiogenesis - Reverse engineering the role of tip cells and pericytes in vascular development*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/28967>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/28967>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/28967> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Palm, Margaretha Maria (Margriet)

Title: High-throughput simulation studies of angiogenesis - Reverse engineering the role of tip cells and pericytes in vascular development

Issue Date: 2014-09-30

Samenvatting

Angiogenese is het proces waarbij nieuwe bloedvaten ontstaan uit bestaande bloedvaten doordat een bloedvat in tweeën splitst of doordat er nieuwe zijtakken, zogenaamde *spruiten*, ontstaan. De spruiten die ontstaan in het laatste geval, genaamd spruitvormende angiogenese, vertakken en vormen verbindingen met andere spruiten en zo ontstaat een netwerk van bloedvaten. Bij dit proces zijn zowel de endotheelcellen uit de binnenste laag van het bloedvat als de daarom heen liggende perivasculaire cellen betrokken. Het collectieve gedrag van deze cellen leidt tot de vorming van spruiten en de daaropvolgende ontwikkeling van netwerken. De cellen betrokken bij angiogenese verschillen in gedrag en vorm en dit heeft invloed op het collectieve gedrag. Daarnaast kunnen de cellen elkaars gedrag beïnvloeden via diffunderende en membraangebonden signaalmoleculen. Dit proefschrift analyseert het samenspel tussen cellen van verschillende types, die verschillen in gedrag en vorm, tijdens angiogenese.

Om het samenspel tussen cellen tijdens angiogenese te onderzoeken maken we gebruik van cel-gebaseerde computermodellen die gebaseerd zijn op het *cellular Potts* model. In deze modellen wordt het gedrag en de vorm van de cellen voorgeschreven en simulaties laten zien hoe de cellen zich organiseren tot een weefsel, zoals spruiten of netwerken van bloedvaten. Door verschillend gedrag voor te schrijven voor een subset van de cellen kunnen deze modellen gebruikt worden om het samenspel tussen verschillende celtypes te bestuderen. Omdat de correcte parameterwaardes niet altijd bekend zijn is het noodzakelijk om simulaties uit te voeren met uiteenlopende parameterwaardes. Hiervoor hebben we een *high-throughput* simulatie protocol opgesteld, beschreven in hoofdstuk 5, dat het opzetten van simulatiescripts, het uitvoeren van de simulaties op een computercluster, en het analyseren van de resultaten automatiseerd. Gebruikmakende van dit protocol kunnen we uiteenlopende hypothesen met betrekking tot de rol van verschillen in celgedrag in angiogenese testen en zo nieuwe hypothesen ontwikkelen die daarna in het laboratorium getest kunnen worden.

In hoofdstuk 2 hebben we de rol van langwerpige cellen in angiogenese onderzocht. In eerdere simulatiestudies werd, naar aanleiding van *in vitro* observaties, aangenomen dat cellen netwerken vormen omdat ze elkaar aantrek-

ken via een autocriene chemoattractant. Dit mechanisme resulteert echter in de vorming van celclusters, tenzij er een extra mechanisme is dat ervoor zorgt dat de cellen zich organiseren in spruiten. Één van deze mechanismes is het langwerpig worden van de cellen. Om te begrijpen waarom juist langwerpige cellen netwerken vormen hebben we het collectieve gedrag van de langwerpige cellen onderzocht in afwezigheid van een chemoattractant. Uit onze simulaties bleek dat langwerpige cellen een netwerk vormen, mits deze cellen enigszins aan elkaar plakken. Tijdens dit proces lijnen de cellen uit langs hun lange cellen en vormen celclusters. Terwijl een losse cel gemakkelijk kan roteren, is de rotatie van cellen in een groot cluster beperkt. Doordat de clusters blijven groeien neemt de dynamiek van de patroonontwikkeling af totdat er een quasi-statisch patroon ontstaat. Alhoewel dit patroon zich heel langzaam blijft ontwikkelen naar de evenwichtsconfiguratie, één cluster bestaande uit groepjes uitgelijnde cellen, wordt dit evenwicht nooit bereikt; dit fenomeen wordt *arrested dynamics* genoemd. Wanneer de cellen wel een chemoattractant afgeven ontstaat er een netwerk dat blijft evolueren, wat suggereert dat een netwerk het ware evenwicht is van dat model.

Met een beter begrip van de rol van cellengte hebben we, in hoofdstuk 3, ons computermodel uitgebreid met pericyten. Dit zijn perivasculaire cellen die, onder andere, aanwezig zijn in de spruiten tijdens angiogenese in het netvlies en in tumoren. Om uit te vinden hoe pericyten bijdragen aan angiogenese hebben we getracht om observaties uit *in vitro* experimenten met endotheelcellen en pericyten te reproduceren met een computermodel. *In vitro* vormen endotheelcellen en pericyten netwerken die, in tegenstelling tot netwerken gevormd door enkel endotheelcellen, ineensorten in een celcluster. Uit dat cluster vormen zich later weer nieuwe spruiten. Om te testen of en hoe interactie tussen endotheelcellen en pericyten via chemoattractanten de *in vitro* patroonvorming kan veroorzaken hebben we een aantal modelvarianten getest die verschillen in welke cellen welke chemoattractanten afgeven. Hiervoor hebben we een model gemaakt met lange endotheelcellen en ronde pericyten die beide een eigen chemoattractant afgeven. Aan dit basismodel hebben we extra chemoattractanten voor beide celtypen toegevoegd. Welke cellen deze extra chemoattractanten afgeven verschilt per model variant. Wanneer pericyten een chemoattractant afgeven voor endotheelcellen en vice versa ontstaan er netwerken die ineensorten, zoals ook gebeurd in de *in vitro* experimenten. Met één aanpassing kan ook spruitvorming vanuit het celcluster gereproduceerd worden: Niet pericyten maar de endotheelcellen direct naast pericyten geven de chemoattractant voor endotheelcellen af. Deze resultaten suggereren dat interactie tussen pericyten en endotheelcellen, via chemoattractanten, het collectieve gedrag van deze cellen beïnvloedt en daardoor een rol kan spelen in angiogenese. Lopend onderzoek moet uitwijzen of deze interacties inderdaad een rol spelen in het collectieve

gedrag van endotheelcellen en pericyten tijdens angiogenese.

Het onderzoek gepresenteerd in hoofdstuk 4 heeft betrekking op de verschillen in twee suptypes van endotheelcellen: tipcellen die de spruiten leiden, en de stalkcellen die de tipcellen volgen en verlenging van de spruit mogelijk maken door celgroei. Alhoewel differentiatie van tipcellen en stalkcellen noodzakelijk is in *in vivo* angiogenese hebben computermodellen en *in vitro* studies laten zien dat netwerken ook kunnen vormen met één type endotheelcel. Om nieuwe inzichten te verkrijgen over hoe tipcellen kunnen bijdragen aan de vorming van bloedvaten hebben we een bestaand angiogenese model uitgebreid met tip- en stalkceldifferentiatie, zonder daarbij gebruik te maken van a priori aannames met betrekking tot het gedrag van beide celtypes. Door systematisch het gedrag van tipcellen te variëren hebben we gezocht naar eigenschappen waarvoor het gedrag van de gemodelleerde tipcellen overeenkomt met dat van echte tipcellen: tipcellen leiden spruiten en beïnvloeden de morfologie van de gevormde netwerken. Hieruit volgde de modelvoorspelling dat tipcellen minder aangetrokken zijn tot een autocriene chemoattractant dan stalkcellen. Deze voorspelling komt overeen met het expressiepatroon van de endotheelcel chemoattractant *Apelin*. We hebben de modelvoorspelling getest in een *in vitro* model van spruitvorming en dit model was inderdaad gevoelig voor *Apelin*.

In dit proefschrift hebben we interactie tussen cellen met verschillend gedrag tijdens angiogenese onderzocht. Met high-throughput simulatie-experimenten waarin we de interacties tussen endotheelcellen en pericyten via chemoattractanten variëren hebben we gevonden dat zulke interactie verantwoordelijk kunnen zijn voor de patronen die endotheelcellen en pericyten vormen in *in vitro* experimenten. Met een soortgelijke aanpak hebben we gezocht naar gedrag waarvoor de tipcellen in het computermodel zich gedragen zoals echte tipcellen. Op deze wijze hebben we gevonden dat de lage sensitiviteit van tipcellen voor *Apelin* ervoor kan zorgen dat zij spruiten leiden en de morfologie van het vasculaire netwerk beïnvloeden. Alles bij elkaar hebben we in dit proefschrift mogelijke rollen voor pericyten en tipcellen in angiogenese herleid door middel van high-throughput simulatie-experimenten.

