

Szegedi Tudományegyetem

Bolyai Intézet

ATP hullámok matematikai modellezése

TDK dolgozat

Készítette:
Régaisz Olivér
PTI BSc
3. évfolyam

Témavezető:
Dr. Röst Gergely
tanszékvezető
egyetemi docens

Szeged
2024

Tartalomjegyzék

1. Biológiai motiváció	3
2. Mikroszkópos felvételek	5
3. Kísérleti eredmények kvantitatív adatokká alakítása	7
3.1. Háttérzaj kiszűrése	7
3.2. Kezdőpont meghatározása	8
3.3. Homogenizálás	9
4. Megfigyelések	10
4.1. Koncentrikus heterogenitás	10
4.2. Hullámfront	11
4.3. Teljes intenzitás és maximális intenzitás dinamikája	12
5. Átlagtér modellek	14
6. Diffúziós térbeli modellek	17
6.1. Lineáris diffúzió	18
6.2. Fisher-KPP egyenlet	19
6.3. Nemlineáris diffúzió	21
6.4. Kombinált modellek	22
7. Modellillesztés és paraméterbecslés	23
7.1. Numerikus módszerek	23
7.2. Peremfeltételek problémája	25
7.3. Optimalizálás	27
7.4. Iteratív növekvő felbontás	29
7.5. Illesztett adatok	30
8. Kitekintés	35
8.1. Összevetés a kalcium hullámokkal	35
8.2. További fejlesztési lehetőségek	36
9. Összegzés, saját eredmények	37
9.1. Alkalmazott technológiák	38

1. fejezet

Biológiai motiváció

A sebgyógyulási folyamatok kritikus szerepet töltenek be az egészségünk megőrzésében, a sérülések illetve a műtétek utáni regenerációban. Ezek a folyamatok kiemelt orvostudományi jelentőséggel bírnak, melyet három fő pontba lehet összefoglalni.

Először is, a sebgyógyulási folyamatok szorosan összekapcsolódnak az immunrendszer működésével. Amikor egy személy sérülést szenved, az immunrendszer azonnal bekapcsolódik a sebgyógyulási folyamatba, hogy megvédje a testet a fertőzésektől és más káros hatásoktól. A gyulladásos fázis során sejtek és immunfaktorok aktiválódnak, hogy megtisztítsák a sérült területet és elpusztítsák a károsító anyagokat. Ezután a proliferációs fázisban új szövetek képződnek, amelyek helyreállítják a sérült területet. Végül a remodellezési fázis során a szövetek átalakulnak és erősödnek, hogy visszanyerjék eredeti állapotukat.

Másodszor, a sebgyógyulási folyamatok segítik a sebészeti beavatkozások utáni gyógyulást és a sebek zárt sebészi kezelését. Az orvosok és sebészek aktívan igyekeznek elősegíteni a sebgyógyulást és minimalizálni a hegeseledést. A megfelelő sebgyógyulás elengedhetetlen a műtéti beavatkozások utáni gyorsabb felépüléshez és a komplikációk minimalizálásához. Az orvosi gyakorlatban alkalmazott sebgyógyulási technikák és terápiák célja, hogy támogassák és optimalizálják ezt a folyamatot.

Harmadszor, a sebgyógyulási folyamatok megértése fontos szerepet játszik a krónikus sebek és sebgyógyulási zavarok kezelésében. Ezek gyakran súlyos egészségügyi problémákat okozhatnak, és jelentős negatív hatással lehetnek az életminőségre.

A sebgyógyulási folyamatok orvosi jelentősége tehát kiterjed az akut sérülésektől kezdve egészen a krónikus sebek kezeléséig, és hozzájárul az emberek egészségének és jólétének javításához. Az orvosok és kutatók folyamatosan dolgoznak azon, hogy minél jobban megértsék ezeket a folyamatokat és hatékony kezelési módszereket fejlesszenek ki.

A fehérvérsejtek feladata, hogy védekezzenek a fertőzéssel szemben és tisztítsák a sebet. Ebben a fázisban a legfontosabb az elhalt és nekrotikus szövetek eltávolítása, valamint a tisztulás elősegítése, a gyógyulást hátráltató baktériumok és toxinok eltávolítása. A sebmérettől függően ez a fázis néhány órától akár három napig is eltarthat.

A sebgyógyulás tehát egy rendkívül komplex folyamat. Ennek első lépése a sérülés észlelése, és a fehérvérsejteknek a seb helyszínére irányítása, hogy ott elláthassák feladatukat. Mindezt egy rendkívül bonyolult jelzőrendszer biztosítja, amelynek számos komponense van. Jelen dolgozat témája ezek közül az *ATP* (adenozin-trifoszfát) hullámok

kialakulásának és terjedésének vizsgálata. Kimutatták, hogy a sejtek mechanikus sebzésekor *ATP* szabadul fel [32], valamint hogy az *ATP* szerepet játszik a szövet regenerációjában [18], valamint a sérülést követő szisztematikus sebgyógyulási reakció kiváltásában [19].

A hámsejtek sebesülés helyétől már több milliméter távolságban is képesek érzékelni a sérülést, másodperceken belül. A megsérült sejtek citoplazmájában található molekulák, köztük az *ATP* is a sejtek közti térbe ürülnek, ami kemotaxist és kemokin termelést okoz. Az ilyen módon a sejtterbe került molekulákat "damage associated molecular patterns" (DAMPs)-nak, nevezik. Némelyik DAMP viselkedhet önmagában is migrációs jelként, de a legtöbb indirekt módon járul hozzá a kemotaxisához. Az *ATP* pontos szerepe nem ismert, lehet, hogy csak DAMP-ként funkcionál, lehet hogy stressz signal-ként illetve egyéb mechanizmus is elképzelhető. Az *ATP* sejthártyán keresztüli átáramlásában a Ca^{2+} is szerepet játszik [5].

Zebrahal lárvák farokuszonyának hámsejtjét gyakran vizsgálják a sebgyógyulás megértése céljából, mivel egy vékony, átlátszó dupla rétegű hámszövetet alkotnak. Ez lehetővé teszi az intravitális mikroszkópia használatát ennek segítségével nagy felbontás mellett megfigyelhetők az egyes sejtek és biológiai folyamatok az élő állatokban [7].

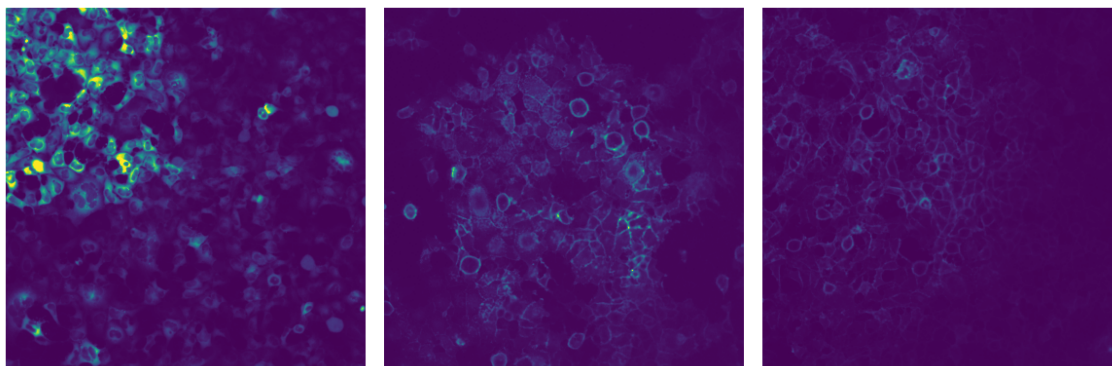
A Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ Enyedi Balázs vezette *HCEMM-SU Inflammatory Signaling* kutatócsoportjában laboratóriumi kísérletek során a világon egyedülálló felvételek készültek sejtek és szövetek sérülését követő biológiai folyamatokról. A kutatásunk célja ezen felvételek matematikai elemzése, biológiai paraméterek becslése, és biológiai hipotézisek vizsgálata matematikai modellezés segítségével. A sebgyógyulás során fontos szerepe van az *ATP* nevű molekulának, melynek hullámszerű terjedéséről készültek nagy felbontású videók. A terjedés pontos mechanizmusa még számos ponton feltáratlan. Összehasonlításképpen Ca^{2+} szignál hullámszerű terjedéséről is készültek felvételek, bár ezek mögött másfajta biológiai mechanizmus áll.

A kutatás során szükségünk volt a felvétel alapján a folyamat kezdő térbeli és időbeli pozíciójának a meghatározására, a háttérzaj eltávolítására, valamint a sejtter homogenizálására. Ezekhez algoritmusokat fejlesztettünk, így a felvételeket matematikailag értelmezhető, kvantitatív tér-idő dinamikává alakítottuk. Meghatároztuk a hullámfront terjedési sebességét, vizsgáltuk a teljes intenzitás és a maximális intenzitás dinamikáját átlagtérmodellek illesztésén keresztül. A térbeli terjedés vizsgálatához többféle alternatív matematikai modellt állítottunk fel reakció-diffúzió típusú parciális differenciálegyenletek formájában. Különös matematikai nehézséget okoz a nem-folytonos peremfeltétel, ami a kísérleti konfigurációból adódik. A paraméterbecsléseket többlépcsős optimalizálás segítségével végeztük. Végezetül összehasonlítottuk, hogy a különböző biológiai háttér-folyamatokat feltételező modellek közül melyik mennyire pontosan írta le a kísérletben tapasztaltakat.

2. fejezet

Mikroszkópos felvételek

A HCEMM kutatócsoportjában számos digitális mikroszkópos felvételt készítettek zeb-
rahal sejteken végzett kísérletekről, melyben az *ATP* molekulák (illetve néhány felvételen
kalcium ionok) terjedését vizsgálták hámsejtek között. Kutatásunkhoz ezeket a felvétele-
ket használtuk. A mikroszkóppal rövid időn belül, átlagosan 0.3 másodpercenként több
kép is készült, így egyfajta videón láthatók a sejtek a molekulák beadás előtti pillanattól
a vegyületek lebomlásáig. A folyamat átlagosan 105 képkocka alatt megy végbe. Kétféle
molekulát vizsgáltak a sejtek között: *ATP*-t, erről hét különböző videó készült, valamint
a Ca^{2+} -t, amiről három, tehát összesen 10 felvétel áll rendelkezésre. A Ca^{2+} -nál minden
esetben a felvétel bal-felső sarkánál sebeztek meg a sejteket, az *ATP*-nél négyszer ugyan-
ennél a saroknál, háromszor középen. A sebzés egy a felvételeken is látható nagyon kicsi
pont szerű tartományon történt.



2.1. ábra. Két *ATP* és egy Ca^{2+} felvétel egy-egy képkockája. Mivel csak egy csatornát használunk, egy képkocka valójában csak egy szürkeárnyaltos kép, mi ezt a látványosabb megjelenítés miatt kék és sárga közti színeket választottunk.

A felvételek 1024×1024 -es felbontással és eltérő (42 és 201 közötti) képkocka szám-
mal rendelkeznek. A Ca^{2+} esetében 1 csatorna áll rendelkezésre az *ATP*-nél kettő, azon-
ban az egyikben az intenzitásértékek a folyamat során nem változnak, így mindkét esetben
csak egy csatornát használunk. (A digitális képeknél különböző csatornák a különböző
mért értékek intenzitásait tartalmazzák, például egy RGB képnél a három alapszín mér-
jük, így ez háromcsatornás, míg egy szürkeárnyaltos kép egycsatornás.) A számunkra
érdekes csatorna az éppen vizsgált molekula sejtplazmában mért koncentrációját mutat-
ja. A sejt közti terekhez emiatt az alacsonyabb intenzitásértékek tartoznak, azonban sejten

belül a sejtmag és egyéb sejtszervecskék helyén is kevesebb a sejtplazma, így a felvétel ott is sötétebb. Az adatok nd2 kiterjesztésű állományokként állnak rendelkezésre, ezt a formátumot mikroszkóp felvételek veszteségmentes tárolására fejlesztették ki. A 2.1 ábrán példát láthatunk három különböző felvétel három különböző képkockájára.

A felvételeket tehát egy háromdimenziós tömbként tudjuk kezelni, ehhez vezessünk be néhány jelölést:

- $F \in \mathbb{R}^{t_{\text{end}} \times 1024 \times 1024}$ a mért adatokat tartalmazó tömb, ahol t_{end} az utolsó képkocka indexe;
- $F_t \in \mathbb{R}^{1024 \times 1024}$ a felvétel t -edik képkockáját jelenti ($t = 1, 2, \dots, t_{\text{end}}$);
- $F_{t,i,j} \in \mathbb{R}$ jelöli a t -edik képkocka (i, j) koordinátáján található értéket, tehát: $F_{t,i,j} = (F_t)_{i,j}$.

3. fejezet

Kísérleti eredmények kvantitatív adatokká alakítása

3.1. Háttérzaj kiszűrése

A sebzés előtt sem nulla a megfigyelt *ATP* mennyiség, ezért a könnyebb elemzés érdekében szeretnénk a kezdeti molekulamennyiséget kiszűrni. Első lépésben meghatározzuk a kezdőképkockát, aminek sorszámát t_{start} jelöli, ez alatt az első olyan képkockát értjük, amin sejtplazmában kimutatható a megnövekedett *ATP*. Az *ATP* növekedését könnyen mérhetjük pixelenként, az előző három képkocka azonos koordinátájú intenzitásértékeinek átlagát alapul véve. A teljes F_t képkockára vonatkozó növekedést a képkockát felépítő pixelekhez tartozó pixelenkénti növekedések négyzetes összegéből számítjuk. Majd válasszunk egy $k > 1$ küszöbszámot, és megkeressük az első olyan t képkockát, aminek az *ATP* növekedése legalább k -szorosa a közvetlen előző képkocka *ATP* növekedésének. Végül F_t -t fogjuk a kezdőképkockának nevezni. Kísérleti úton azt tapasztaltuk, hogy a $k = 1.15$ értéket mellett az algoritmus a felvételek megfelelő képkockáit jelölte meg. A t_{start} meghatározása formálisan:

$$t_{\text{start}} = \min_t \left\{ \sum_{\forall i,j} \left(F_{t,i,j} - \frac{1}{3} \sum_{\tilde{t}=t-3}^{t-1} F_{\tilde{t},i,j} \right)^2 > k \cdot \sum_{\forall i,j} \left(F_{t-1,i,j} - \frac{1}{3} \sum_{\tilde{t}=t-4}^{t-2} F_{\tilde{t},i,j} \right)^2 \right\}.$$

A kezdőképkockát felhasználva az alábbi módon távolítjuk el a háttér:

$$C_{t,i,j} = F_{t,i,j} - \frac{1}{3} \sum_{\tilde{t}=t_{\text{start}}-3}^{t_{\text{start}}-1} F_{\tilde{t},i,j} \text{ minden } t, i, j\text{-re.}$$

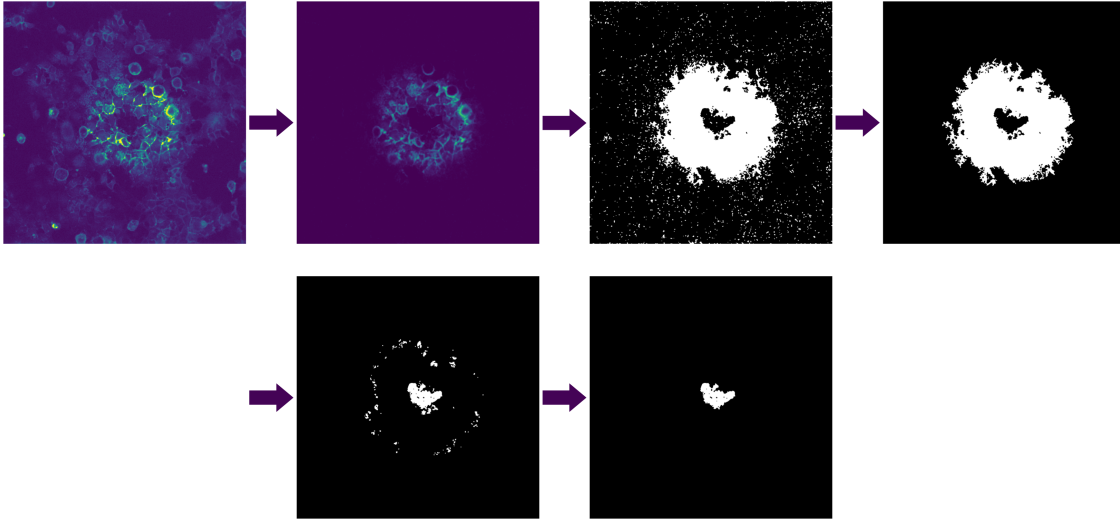
Ekkor C a háttér nélküli adatokat tartalmazza, az F -hez hasonló jelölésekkel:

- $C \in \mathbb{R}^{t_{\text{end}} \times 1024 \times 1024}$ az eltávolított háttérű adatokat tartalmazó tömb;
- $C_t \in \mathbb{R}^{1024 \times 1024}$ az eltávolított háttérű felvétel t -edik képkockáját jelenti ($t = 1, 2, \dots, t_{\text{end}}$);
- $C_{t,i,j}$ jelöli a C t -edik képkockájának (i, j) koordinátáján található értéket.

3.2. Kezdőpont meghatározása

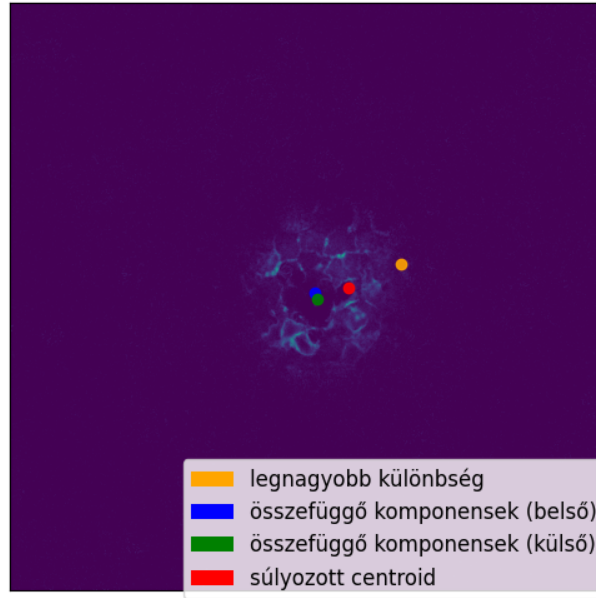
A folyamat kezdőhelye, $S = (i, j) \in \mathbb{R}^2$ alatt azt a pontot értjük ahol a sejtsérülés bekövetkezett. Ennek a meghatározása bonyolultabb, mivel ezen a ponton a lézer hatására eltűnik a sejtplazma, így a mikroszkóp nem tudja pontosan detektálni, hogy kezdetben hol növekedett meg a koncentráció. Ezért meg kell várnunk hogy a bejuttatott molekulák áterjedjenek a környező sejtekre, majd csak ez után tudjuk megbecsülni a kezdőpontot.

A kezdőkép kocka utáni képkockán, $C_{t_{\text{start}}+1}$ -en, az összefüggő komponenseket kihasználva határozzuk meg S -t. Első lépésében egy Gauss simítást hajtunk végre, majd küszöbölés segítségével kijelöljük a háttérnél nagyobb intenzitással rendelkező pixeleket így egy fekete-fehér képet állítunk elő. A Gauss simítás lényegében csak egy diszkrét konvolúciót jelent $C_{t_{\text{start}}+1}$ és egy Gaussgörbe között. A fekete-fehér képen végrehajtunk egy morfológiai szűrést és megkeressük a legnagyobb összefüggő komponenset. Egy lehetőség, hogy S értékének ennek a komponensnek a centroidját választjuk. Mivel a lézer elpusztítja a sejteket, a legnagyobb komponens belsejében lesz legalább egy viszonylag nagy lyuk. Egy másik lehetőség, hogy S legyen a legnagyobb belső lyuk centroidja. A módszer egymást követő lépéseit a 3.1 ábra mutatja.



3.1. ábra. Az összefüggő komponenseken alapuló módszerek lépései.

Egyszerűbb módszereket is kipróbáltunk S meghatározására. Az egyik az F felvétel $t_{\text{start}} + 1$ képkockájának azt a pixelét választja ami legjobban különbözik a háttértől, tehát $S = \max_{(i,j)} C_{t_{\text{start}}+1,i,j}$. Egy másik a $C_{t_{\text{start}}+1}$ képkocka súlyozott centroidját. Az algoritmusok összehasonlítását a 3.2 ábrán láthatjuk.



3.2. ábra. A különböző kezdő pontmeghatározó módszerek összehasonlítása az ATP-kozep-018 felvételen.

3.3. Homogenizálás

A homogenizálás lényege, hogy a mikroszkópos felvételeken a sejtek által alkotott inhomogén teret szeretnénk megszüntetni, kiegyenlíteni. Erre azért van szükség, mert ezáltal a folyamat könnyebben modellezhetővé válik, illetve a későbbiekben használt differenciálegyenletek homogén teret feltételeznek. A homogenizált felvétel, H kiszámításához kihasználjuk, hogy a felszabadult molekula a kezdőponttól minden irányba hasonló sebességgel terjed szét. Innen adódik az ötlet, hogy tekintsük C -t, majd S körüli koncentrikus, páronként diszjunkt körgyűrűk $\{A_k\}_{k=0}^{\infty}$ mentén aggregáljuk az intenzitásértékeket képkockaként. Több aggregátor függvényt is kipróbáltunk, melyek közül a legjobb a medián volt. Eszerint:

$$A_k = \{(i, j) \mid k \leq d((i, j), S) < k + 1\},$$

$$\hat{H}_{t,k} = \text{Med}(\{C_{t,i,j} \mid (i, j) \in A_k\}) \text{ minden } t, k\text{-ra}$$

és

$$H_{t,i,j} = \hat{H}_{t, \lfloor d((i,j), S) \rfloor} \text{ minden } t, i, j\text{-re.}$$

A szokásos jelöléseket használtuk ismét:

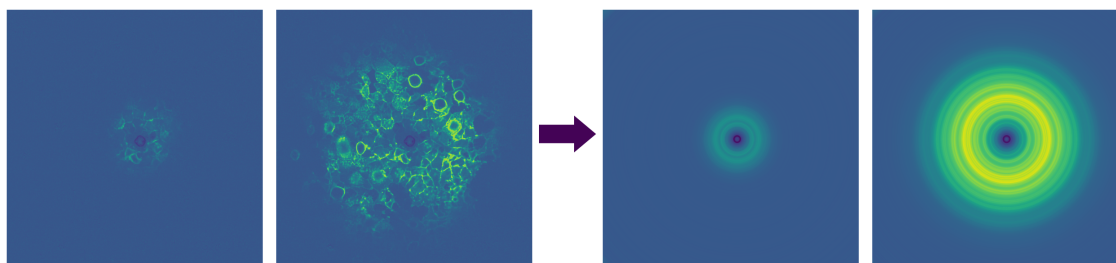
- $\hat{H}_{t,k} \in \mathbb{R}$ A t -edik képkocka k -adik körgyűrűjéhez tartozó intenzitásértéket jelöli;
- $H \in \mathbb{R}^{t_{\text{end}} \times 1024 \times 1024}$ a homogenizált adatok 3 dimenziós tömbjét jelenti;
- $H_{t,i,j}$ jelöli a H t -edik képkockájának (i, j) koordinátáján található értéket;
- $d : \mathbb{R}^2 \times \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ az euklideszi távolság függvény;
- $\lfloor \cdot \rfloor$ az egészrész függvény.

4. fejezet

Megfigyelések

4.1. Koncentrikus heterogenitás

Az intenzitásértékek a kezdőponttól kifelé haladva, az egyes körgyűrűk mentén gyakran monotonitást váltanak, azaz világosabb és sötétebb gyűrűk váltják egymást. Ezt a jelenséget koncentrikus heterogenitásnak neveztük el és szeretnénk csökkenteni, mivel a vizsgált parciális differenciálegyenletek megoldásaiban a terjedő hullámfrontok nem mutatnak gyűrűs szerkezetet. Azt tapasztaltuk, hogy ha a homogenizálás során rosszabb kezdőpont meghatározó algoritmust választunk, vagy medián helyett átlagot használunk "rosszabbodik" a jelenség. Homogenizálásra és az ebből származó koncentrikus heterogenitásra példát a 4.1 ábrán láthatunk.



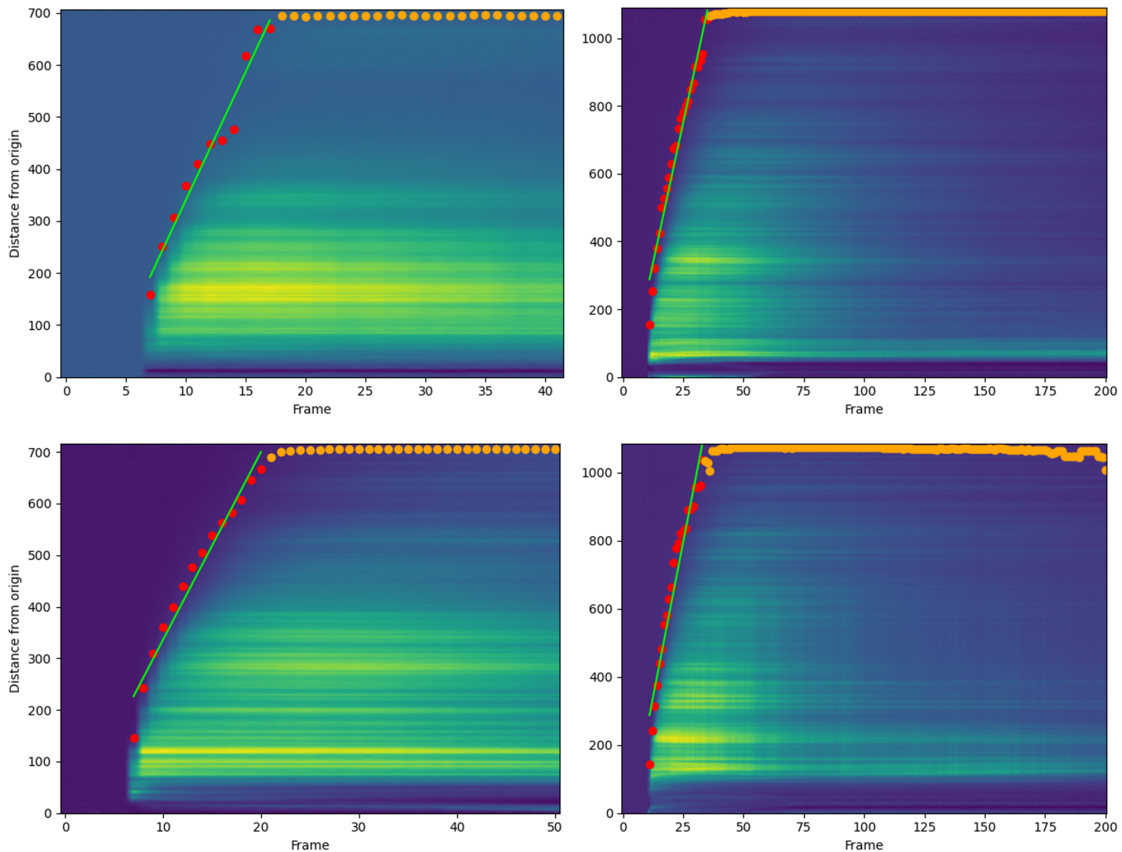
4.1. ábra. Az egyik mérés két képkockája a homogenizálás előtt és után.

A jelenséget a sejtszerkezetéből következően nem tudjuk teljesen megszüntetni, mivel bizonyos területeken egyáltalán nem találhatók sejtek, máshol pedig túl sűrűn helyezkednek el. Viszont a koncentrikus heterogenitás kialakulásának mérséklésére a homogenizálás továbbfejlesztése adna lehetőséget. Az algoritmus egy lehetséges javítása lenne, ha az első lépés előtt minden sejtet egy ponttal helyettesítenénk, melynek intenzitásértéke megegyezik az adott sejt átlagos intenzitásértékével, majd a pontokra egy kellően sima felszín illeszténénk és ezen a felszínen hajtánánk végre a homogenizálás többi lépését. Ekkor viszont sejtsegmentálásra lenne szükségünk, a legpontosabb eljárások természetesen (konvolúciós) neurális hálókra épülnek [1, 16]. Ehhez azonban nem áll rendelkezésünkre elegendő adat (csak 10 felvételünk van, és a neuronhálók lényegesen több példát igényelnek, valamint ezeknél a módszereknél gyakran szükséges a tanító adatok címkézése, azaz az egyes sejteket alkotó pixelek kijelölése a tanítás előtt). A klasszikus képfeldolgozó módszerek közül, a Watershed algoritmust használják még erre a célra [2, 6]

ezt általában akkor alkalmazzák ha a sejtek jól elkülönülnek, az egymáshoz közeli sejtek alig érintkeznek. A feladatot tovább nehezíti, hogy a felvételeken a sejtek elmozdulhatnak, illetve a kezdeti megsebesítéskor el is tűnnek, így bár próbálkoztunk a képfeldolgozó algoritmusok módosításával, végül nem alkalmaztunk sejtsegmentálást.

4.2. Hullámfront

A koncentrikus heterogenitás ellenére a hullámfront jól azonosítható volt.



4.2. ábra. A homogenizált mérések sugármenti profilja és a terjedés sebessége.

A felvételeken az ATP hullám a kezdőponttól szétterjed és H adott időben egy S körponti A_k körgyűrűjén található értékek definíció szerint megegyeznek. Tehát az adatokat ábrázolhatjuk két dimenzióban, ahol az (t, r) ponthoz rendeljük a t -edik képkocka A_r -adik gyűrűjéhez tartozó intenzitásértéket. A módszer egy másik (vizuálisabb) megfogalmazása, hogy a kezdőpont és a tőle legtávolabbi sarok közti szakasz menti intenzitásértékeket egymás mellé helyezzük, ahogy a 4.2 ábrán is látható. Az adatoknak ezt a kétdimenziós formáját az RTP mátrixszal jelöljük később.

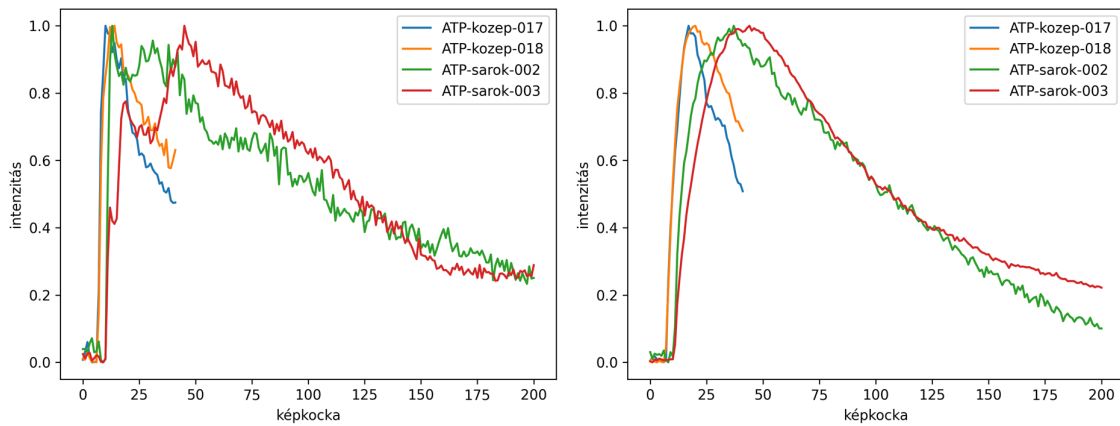
Majd RTP-t használva meghatározzuk, hogy az egyes időpontokban milyen messzire terjedt el a molekula, ehhez minden időpillanatban megkeressük a kezdőponttól legtávolabbi olyan pontot, ami világosabb a háttérnél. Ezeket a pontokat az ábrán piros-, illetve narancsszínekkel jelöltük, annak megfelelően, hogy az adott képkocka a kezdeti terjedésben részt vesz vagy sem. A piros pontokra egy egyenest illesztettünk, aminek a mere-

dekségével becslést adtunk a terjedési sebességre. Tehát egy nagyon egyszerű modellünk van: $mt + b$, ahol m és b a paraméterek t pedig az adott képkockát jelöli. A 4.1 táblázat magas R^2 értékei is megerősítik, hogy megfelelő a modellünk azaz az *ATP* egyenletes sebességgel terjedt szét. Az R^2 érték azt mutatja meg, hogy a modell mennyire illeszkedik jól az adatokhoz az egyszerű átlaghoz képest. A magasabb értékek jobb illeszkedést jelentenek, az 1-es érték pedig a tökéletes illeszkedést.

Felvétel	Hullám terjedés $mt + b$			Exponenciális csökkenés $ae^{-b(t-T_{\max})}$		
	m	b	R^2	a	b	R^2
Ca2-sarok-006	25.40	-84.22	0.92	0.41	0.75	0.97
Ca2-sarok-007	25.25	-104.71	0.77	0.23	0.09	0.85
Ca2-sarok-008	15.62	-71.73	0.60	0.02	0.01	0.26
ATP-kozep-010	36.43	-28.75	0.96	0.15	0.01	0.97
ATP-kozep-017	50.52	-216.75	0.95	0.07	0.03	0.97
ATP-kozep-018	49.34	-152.85	0.96	0.10	0.02	0.97
ATP-sarok-001	15.71	140.25	0.91	0.10	0.01	0.98
ATP-sarok-002	18.93	114.90	0.89	0.07	0.01	0.98
ATP-sarok-003	33.07	-75.45	0.97	0.14	0.01	0.99
ATP-sarok-004	36.38	-112.80	0.94	0.12	0.01	0.98

4.1. táblázat. A hullám terjedését jellemző lineáris és az *ATP* lebomlást jellemző exponenciális függvények paraméterei és R^2 értékei.

4.3. Teljes intenzitás és maximális intenzitás dinamikája



4.3. ábra. A maximális intenzitás (bal oldalon) és a teljes intenzitás időbeli változása különböző felvételeken.

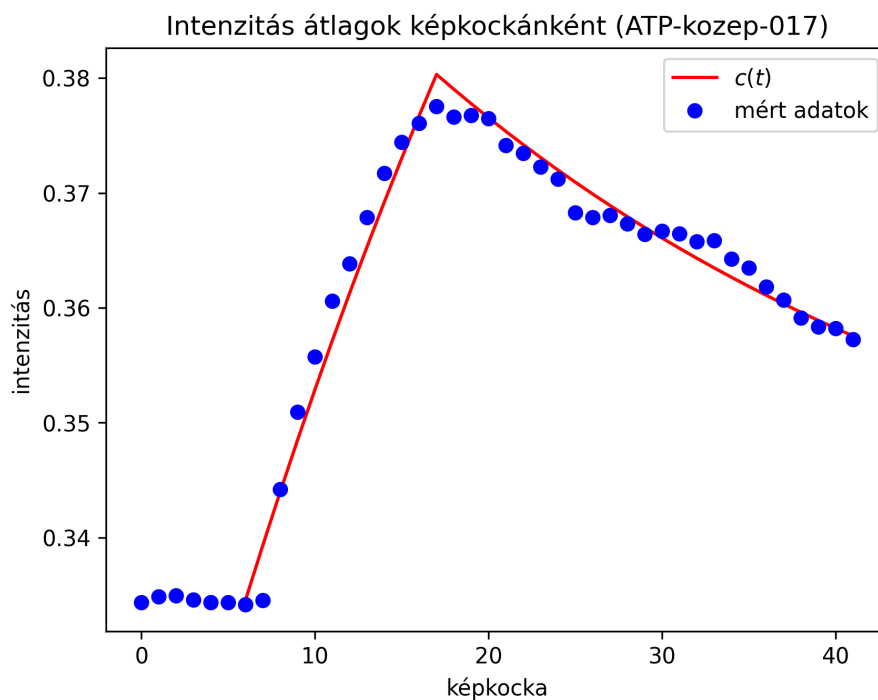
A felvétel elején felszabaduló extra *ATP* mennyiség egy idő után lebomlik. Vizsgáljuk meg a felvétel során az egyes képkockák összesített intenzitás mennyiségét. Majd

illesszünk hozzá egy exponenciálisan csökkenő függvényt, amit eltoltunk, úgy, hogy az a maximális intenzitáshoz tartozó képkockánál legyen egy: $ae^{-b(t-T_{\max})}$. A 4.1 táblázat exponenciális csökkenéshez tartozó R^2 oszlopa is megerősíti, hogy függvényünk jól modellezi a folyamatot.

Az ábrán a képkockánkénti maximális intenzitásérték is látható. Ez a legtöbb esetben nem sokkal a kezdő képkocka után veszi fel a maximumát. Néha azonban több sejt egymás felett helyezkedik el, például a 4.3 ábrán az ATP-kozep-003 esetében, ekkor a felvételen ezek intenzitásértéke összeadódik, ami egy fényesebb pontot eredményez.

5. fejezet

Átlagtér modellek



5.1. ábra. Az átlagos intenzitások és a hozzájuk illesztett modell.

Tekintsük, a képkockánkénti intenzitások átlagát, az 5.1 ábrán. Látható, hogy az átlagok, az *ATP* beadásának pillanatában, ami $t = t_{\text{start}}$ kezdtek el növekedni, de ez a növekedés egyre lassul, mindez T_{max} ideig tart, majd az átlagok csökkenni kezdenek, a csökkenés is hasonló módon egyre lassul. A viselkedést a megfelelő intervallumokon az alábbi közönséges differenciálegyenletekkel írhatjuk le:

$$c'(t) = \begin{cases} \alpha - \mu c(t) & \text{ha } t_{\text{start}} \leq t < t_{\text{start}} + T_{\text{max}} \\ -\mu c(t) & \text{ha } t_{\text{start}} + T_{\text{max}} \leq t \end{cases}.$$

Itt a következő jelöléseket használtuk:

- $c : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ egy t időpillanathoz az akkor mért átlag intenzitást rendeli,

- $\alpha, \mu \in \mathbb{R}$ paraméterek fejezik ki az *ATP* felszabadulást, illetve a lebomlási rátát.

Tudjuk továbbá, hogy a bejutott extra *ATP* mennyiség t_{start} -ban 0 és azt is szeretnénk, hogy c folytonos legyen, ezért adódik a következő két összekapcsolt kezdetiérték-probléma.

Az *ATP* felszabadulás fázisában, $t_{\text{start}} \leq t < t_{\text{start}} + T_{\text{max}}$ időintervallumon

$$c'(t) = \alpha - \mu c(t),$$

$$c(t_{\text{start}}) = 0.$$

Ennek az inhomogén lineáris egyenletnek a megoldása

$$c(t) = \frac{\alpha}{\mu} (1 - e^{-\mu(t-t_{\text{start}})}),$$

speciálisan $c(t_{\text{start}} + T_{\text{max}}) = \frac{\alpha}{\mu} (1 - e^{-\mu T_{\text{max}}})$. A $t = t_{\text{start}} + T_{\text{max}}$ időpont után már csak a lebomlás marad, így $t > t_{\text{start}} + T_{\text{max}}$ esetén

$$c'(t) = -\mu c(t),$$

aminek megoldása

$$c(t) = \frac{\alpha}{\mu} (1 - e^{-\mu T_{\text{max}}}) e^{-\mu(t-t_{\text{start}}-T_{\text{max}})}$$

A megoldásaikat összesítve, illetve korrigálva a t_{start} előtti átlagos háttérintenzitás értékkel ($\bar{c}$) kapjuk az alábbi részenként definiált, függvényt, amit az 5.1 ábrán is megtekinthetünk:

$$c(t) = \begin{cases} \frac{\alpha}{\mu} (1 - e^{-\mu(t-t_{\text{start}})}) + \bar{c} & \text{ha } t_{\text{start}} \leq t < t_{\text{start}} + T_{\text{max}} \\ \frac{\alpha}{\mu} (1 - e^{-\mu T_{\text{max}}}) e^{-\mu(t-t_{\text{start}}-T_{\text{max}})} + \bar{c} & \text{ha } t_{\text{start}} + T_{\text{max}} \leq t \end{cases}$$

Különböző felvételek esetében, a paraméterbecslést a legkisebb négyzetek módszerével végeztük, a paramétereket, illetve R^2 -et az 5.1 táblázat tartalmazza.

Felvétel	α	μ	R^2
Ca2-sarok-006	0.0766	0.0153	0.9706
Ca2-sarok-007	0.1052	0.0087	0.8936
Ca2-sarok-008	0.0137	0.0035	0.2706
ATP-kozep-010	0.0239	0.0073	0.8488
ATP-kozep-017	0.0287	0.0048	0.9703
ATP-kozep-018	0.0275	0.0069	0.8701
ATP-sarok-001	0.0111	0.0021	0.9254
ATP-sarok-002	0.0130	0.0023	0.8939
ATP-sarok-003	0.0123	0.0035	0.9202
ATP-sarok-004	0.0105	0.0034	0.8939

5.1. táblázat. Az α , μ és R^2 értékei különböző felvételeknél

6. fejezet

Diffúziós térbeli modellek

A diffúziós tér a felvételekkel ellentétben folytonos. Hogy modelleket állíthassunk fel, vesszünk be egy új függvényt, $c(t, x, y) : \mathbb{R}_0^+ \times \Omega \rightarrow \mathbb{R}$, ahol $\Omega \subset \mathbb{R}^2$. Ez a t idő és $(x, y) \in \Omega$ pozíció hármaskhoz rendeli az adott helyen található molekulakonzentráció mennyiségét. Olyan parciális differenciálegyenleteket (PDE-ket) fogunk vizsgálni, melyek, a molekulák koncentrációjának idő szerinti változására és térbeli diffúziójára adnak meg összefüggéseket, azaz ilyen általános alakúak:

$$c_t = F(\nabla^2 c, c). \quad (6.1)$$

Az alábbi jelöléseket alkalmazzuk:

- c_t a c függvény idő szerinti deriváltja. A parciális deriváltakat az alábbi módon fogjuk jelölni: $c_\xi := \frac{\partial c}{\partial \xi}$,
- $\nabla^2 c$ a Laplace operátor, ami $\nabla^2 c = c_{xx} + c_{yy}$ két térbeli dimenzió esetében.

A peremfeltételek jellemzően Dirichlet-: $c(t, x, y) = \Phi(x, y)$, ha $(x, y) \in \partial\Omega$, ahol $\partial\Omega$ jelöli a tartomány határát; vagy Neumann-típusúak: $\frac{\partial c}{\partial \mathbf{n}}(t, x, y) = \Psi(x, y)$, ha $(x, y) \in \partial\Omega$. Itt $\partial \mathbf{n}$ a normális irányú deriváltat jelöli, ami azt jelenti, hogy az érték változását a tartomány határára merőleges irányban vizsgáljuk. A problémánk különlegessége, hogy az ATP felszabadulási szakaszban más Neumann-feltételt fogunk használni, mint a lebomlási fázisban. Így a peremfeltételben szereplő Ψ a mi esetünkben időfüggő lesz.

A Laplace operátorra intuitívan tekinthetünk, úgy, mint a koncentráció adott $\hat{x}$ pont körüli r sugarú környezetben vett átlaga és a pontbeli értéke közti különbségre. Az operátor és az átlag kapcsolatának precízebb leírása a (6.2) egyenletben található, ennek bizonyítása [23]-ban olvasható.

$$\nabla^2 c(\hat{x}) = \frac{\frac{1}{\text{Vol}(B_r(\hat{x}))} \int_{B_r(\hat{x})} c(x) dx - c(\hat{x})}{r^2}, \quad \text{ahogy } r \rightarrow 0. \quad (6.2)$$

A használt jelölések:

- $B_r(\hat{x})$ az $\hat{x}$ pont körüli r sugarú gömb,
- $\text{Vol}(\cdot)$ a térfogat.

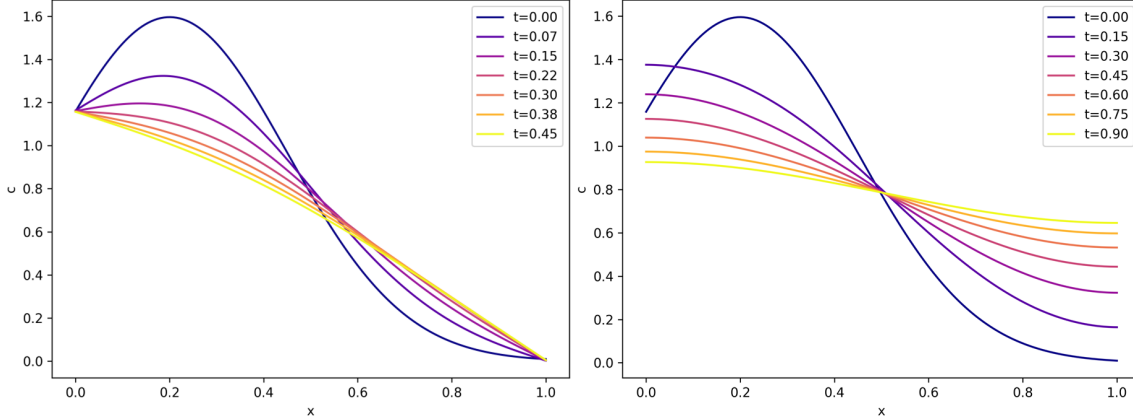
6.1. Lineáris diffúzió

Tekintsük a csak diffúziót tartalmazó egyenletet:

$$c_t = D \cdot \nabla^2 c \quad (6.3)$$

Ez az egyik legismertebb PDE, a hővezetés egyenlete (6.3) egyenlet, ezt eredetileg arra találták ki, hogy modellezzék egy testben a hő terjedését. Egy adott pont hőmérséklete az idő előrehaladtával, a környezete átlag hőmérsékletéhez tart, a változás irányát és sebességét a Laplace operátor által kapjuk. Fizikában minden anyagnak van egy rá jellemző hőkapacitása, amit az egyenletben a D (> 0) paraméter jelöl. Az egyenletnek sok alkalmazása ismert a kézenfekvő fizikai alkalmazásoktól egészen a pénzügyekig [9].

A (6.3) egyenleten látható, hogy lokális minimumokban c_t pozitív, illetve maximumokban negatív, így a megoldásfüggvény értéke az idő elteltével ezekben a pontokban nő, illetve csökken azaz a megoldás egy lineáris függvényhez fog tartani. Ha Neumann peremfeltételeket választunk (ennek a fizikai jelentése, hogy a test és környezet között nincs hőcserélődés) akkor a határfüggvény egy konstans függvény lesz. Különböző peremfeltételek melletti viselkedésre példát a 6.1 ábrán láthatunk. Vegyük észre, hogy az idő előrehaladtával minden pontban a függvény értéke közelebb kerül a pont körüli átlaghoz, így $\nabla^2 c$ abszolút értékben egyre csökken, azaz a megoldásban kialakuló hullámfront sebessége egyre lassul.



6.1. ábra. Az egydimenziós hőegyenlet megoldásfüggvényei a $[0, 1]$ intervallumon különböző időpillanatokban a $t = 0.00$ -val jelölt kezdetiértékek mellett. Baloldalon Dirichlet peremfeltételeket választottunk, melyek értéke a kezdetiérték adott végpontbeli értéke, jobboldalon Neumann peremfeltételeket használtunk.

Az egyenlet megoldásában megfigyelhető hullámjelenség a sejtekről készült felvételeken is látszik. Fontos eltérés azonban, hogy a hőegyenletben, a folyamat során a testben lévő összesített energiamennyiség (Neumann peremfeltételek mellett) állandó, a biológiai folyamat esetében azonban a sejtek lebontják a molekulákat, ezért az egyenletet kiegészítettük egy lebomlásért felelős taggal:

$$c_t = D \cdot \nabla^2 c - \mu c. \quad (6.4)$$

Természetesen csak akkor beszélhetünk lebomlásról, ha $\mu > 0$.

6.2. Fisher-KPP egyenlet

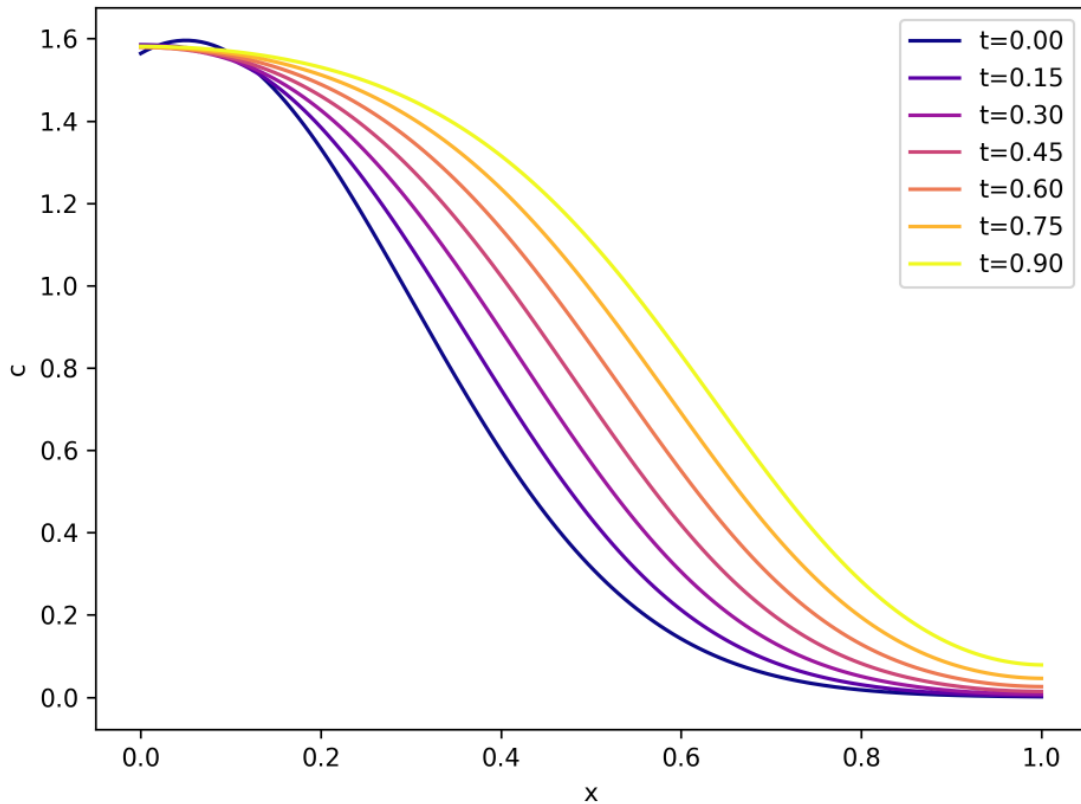
A (6.4) egyenlet stabil egyensúlyi helyzetben van, ha $c \equiv 0$, ami biológiailag nem helytálló, mert a sejtplazma alapesetben is tartalmazhat *ATP*-t. Azaz azt szeretnék, ha a konstans nullán kívül lenne egy másik egyensúlyi helyzet is. Ezt elérhetjük, ha a lebomlásért felelős tagot módosítjuk a következő módon:

$$c_t = D \cdot \nabla^2 c + \alpha c (\lambda - c) \quad (6.5)$$

Az egyenlet stabilitása miatt természetesen $D > 0$ és $\alpha > 0$, illetve mivel az *ATP* mennyiség nem lehet negatív ezért $\lambda > 0$.

A (6.5) egyenlet Fisher-KPP egyenletként is ismert, a nevét Fisherről és három szovjet matematikusról (Kolmogorov, Petrovsky és Piskunov) kapta, akik egymástól függetlenül, közel egyszerre fedezték fel. Eredetileg populációdinamikában és invazív fajok elterjedésének modellezésére használták, módosított változataival a populáció kihalását is lehet vizsgálni [11]. Sok területen alkalmazzák például a Parkinson-kór kialakulásánál szerepet játszó kártékony fehérjék terjedésénél is [28].

A Fisher-KPP egyenlet, ha a kezdetiérték az egyensúlyi pontokkal megegyező értékű konstansfüggvények ($c \equiv 0$ vagy $c \equiv \lambda$), akkor az időben előrehaladva is konstans marad a megoldás, nem alakul ki hullámfront [14]. Az is látszik, hogy egy pozitív konstans kezdetiértéket a $c \equiv \lambda$ egyensúlyi helyzet vonzani fogja.



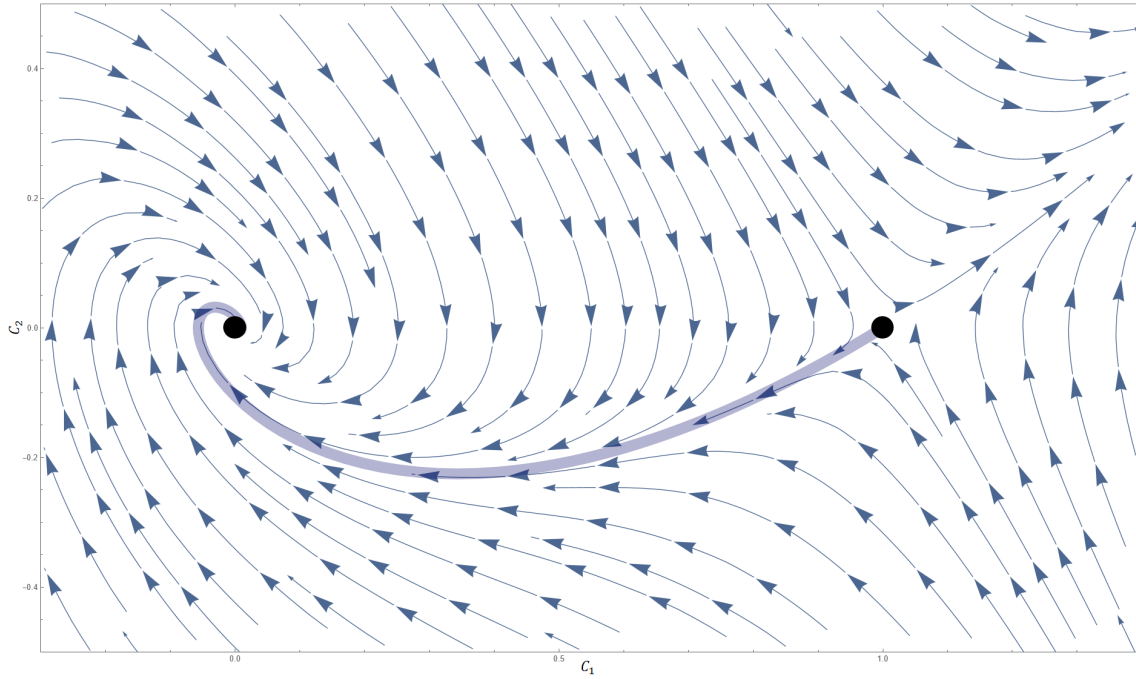
6.2. ábra. Az egydimenziós Fisher egyenlet megoldásfüggvényei $[0, 1]$ intervallumon különböző időpillanatokban a $t = 0.00$ -val jelölt kezdetiértékek mellett, Neumann peremfeltételek használatával. Az ábrán $\lambda = 1.57$.

Egyetlen térbeli dimenzió esetén, ha a kezdetiérték 0-tól egy adott $\bar{x}(> 0)$ pontig 1 lenne, majd $\bar{x}$ után 0, akkor (Neumann peremfeltételek) mellett ki fog alakulni a hullámfront és elkezd jobbra haladni. Ez a jobbra mozgás a 6.2 ábrán is látható. A kialakulása után a hullámfront alakja nem változik, így a megoldásfüggvények így néznek ki: $c(t, x) = C_1(x - kt)$, $k \in \mathbb{R}$. Ezt visszahelyettesítve a (6.5) egyenletbe, kapjuk:

$$-kC_1' = DC_1'' - \alpha C_1(\lambda - C_1).$$

Vezessünk be egy új függvényt $C_2 := C_1'$, ekkor:

$$\begin{cases} C_1' &= C_2 \\ C_2' &= -\frac{k}{D}C_2 - \frac{\alpha}{D}C_1(\lambda - C_1). \end{cases} \quad (6.6)$$



6.3. ábra. Az egydimenziós Fisher egyenlet fázisdiagramja a (6.6) egyenletek alapján. A paraméterek értékei: $k = D = \alpha = \lambda = 1$. A két egyensúlyi pontot $(C_1, C_2) = (0, 0)$, illetve $(1, 0)$ fekete körök jelzik, szürke színnel van feltüntetve a $(0.9999, 0)$ és a $(0, 0)$ közti út, ami az összekötő heteroklinikus pályát közelíti.

A 6.3 ábra fázis diagramjáról látszik, hogy a különböző k hullám sebességekhez létezik egy egyedi, jobbra haladó hullámfront az eredeti egyenlet megoldásterében, ami összeköti $c = 1$ -et $c = 0$ -val. Fisher-nek köszönhetően azt is tudjuk, hogy a hullámfront pontosan akkor monoton csökkenő, ha $k \geq 2\sqrt{\alpha D}$. Különböző monotonításokra is láthatunk példát a 6.3 ábrán. A mikroszkópos felvételeken nem figyeltünk meg oszcillációt, vagyis monoton csökkenő hullámfrontokat szeretnénk, szerencsére a 4.1 táblázatban kiszámolt terjedési sebességek nagyobbak voltak a megfelelő k -nál.

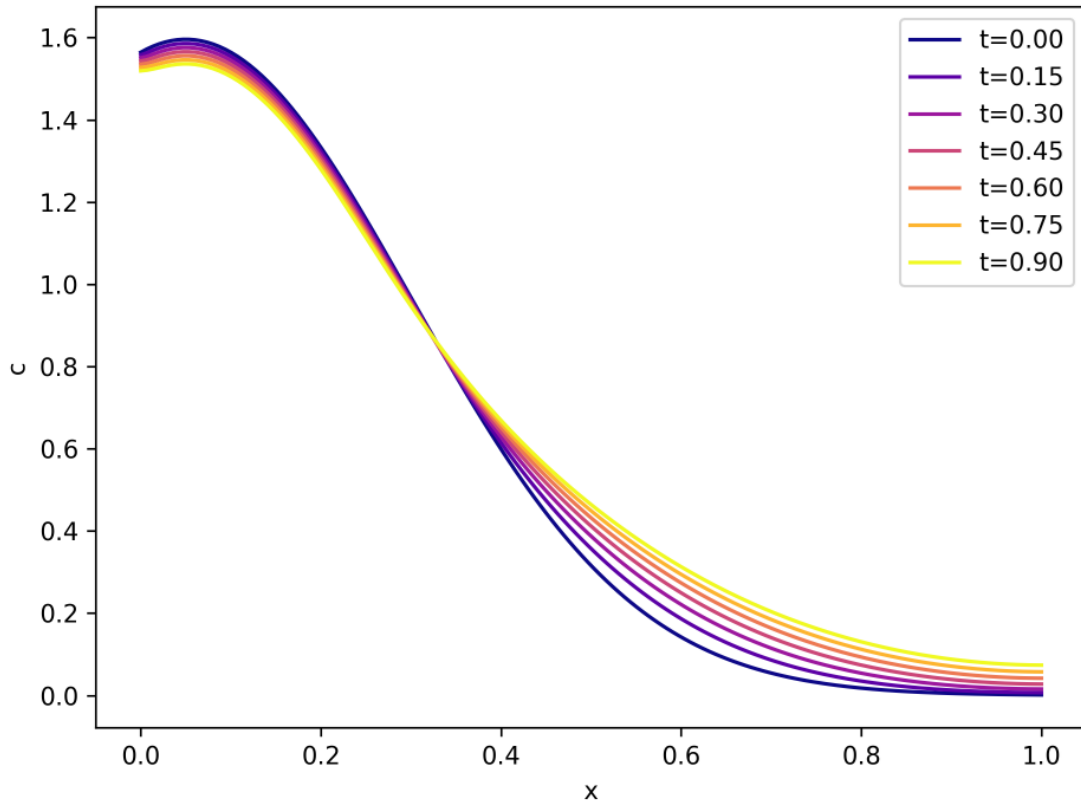
6.3. Nemlineáris diffúzió

A felvételeken megmaradnak gyakran a lokális maximumok "nem simulnak ki". Hogy ezt modellezni tudjuk módosítsunk a (6.4) egyenleten. A $\nabla^2 c$ együtthatóját kell c -től függővé tenni, azonban figyelve arra, hogy az új együttható minden c -re pozitív maradjon. Egy lehetőség a szigmoid görbe lineáris transzformáltjait használni. A szigmoid görbének sok alkalmazása ismert, például neurális hálókbán, a ReLU mellett az egyik elterjedtebb aktivációs függvény, a ChatGPT alapjául szolgáló transzformer architektúra bizonyos részeiben [4] is megtalálható. Végül az egyenlet a következőképpen módosul:

$$c_t = \frac{\gamma}{1 + e^{\beta - Dc}} \nabla^2 c - \mu c. \quad (6.7)$$

Nemlineáris diffúziót alkalmaznak biológiai folyamatoknál, például populációdinamikában [14], képfeldolgozásban [15] és pénzügyekben [31].

A (6.7) egyenletből látszik, hogy $\nabla^2 c$ új együtthatója 0 és γ között van és szigorúan monoton, tehát az időben előrehaladva a megoldásfüggvények határértéke hasonlóan viselkedik a (6.4) egyenletnél tapasztaltakhoz. A 6.4 ábrán látható, hogy a nagyobb c értékek lassabban konvergálnak.



6.4. ábra. A (6.7) egyenlet megoldásfüggvényei, különböző időpillanatokban a $t = 0.00$ kezdetiértékből kiindulva, a $[0, 1]$ intervallumon. Az egyenlet megoldása során Neumann peremfeltételeket használtunk.

6.4. Kombinált modellek

A nemlineáris diffúzió jól megőrzi a lokális csúcsokat, a Fischer egyenlet pedig képes egyenletes sebességgel terjedő hullámokat modellezni, ezért kombináltuk a kettőt a következő szerint:

$$c_t = \phi (D_1 \cdot \nabla^2 c - \alpha c (\lambda - c)) + (1 - \phi) \left(\frac{\gamma}{1 + e^{\beta - D_2 c}} \nabla^2 c - \mu c \right), \quad (6.8)$$

ahol $\phi \in [0,1]$ egy homotópiás paraméter: $\phi = 0$ esetén a nemlineáris diffúzió egyenletét kapjuk lebomlással, $\phi = 1$ esetén a Fisher-KPP egyenletet, $0 < \phi < 1$ esetén pedig egy kevert modellt. A korábbi egyenletek egyéb kombinációira nincs szükség, hiszen ha a nemlineáris diffúzió paramétereit így választjuk meg: $\beta = 0$, $D_2 = 0$ és $\gamma = 2D$ (D a hőegyenletből jön), akkor pontosan a (6.4) egyenletet kapjuk.

7. fejezet

Modellillesztés és paraméterbecslés

A modellillesztéshez fontos, hogy meg tudjuk oldani az differenciálegyenleteket. Bár néhány tárgyalt PDE-nek bizonyos paraméterértékekre ismertek az analitikus megoldásai, mi az összes egyenletet numerikusan oldottuk meg. Ez kézenfekvő volt, hiszen a mért kezdetiértékek diszkrét, illetve a vizsgált numerikus eljárások első lépése is a tér diszkrétizálása. Ezért, ha ekvidisztánsan választottuk meg a numerikus módszer celláit, könnyen beállíthatjuk a mért adatokat kezdőértékeknek.

7.1. Numerikus módszerek

Az egyenleteket előre Euler és Runge-Kutta 45 módszerekkel oldottuk meg térbeli dimenzióra visszavezetve a $[t^*_{\text{start}}, t_{\text{end}}]$ idő- és $[0, L]$ térbeli intervallumokon. A dimenzió csökkentésről valamint L és t^*_{start} értékekről a későbbiekben lesz szó.

A módszerek bemenetként várnak egy c_t -re rendezett egyenletet, a kezdetiértéket és a peremfeltételeket. Az ilyen input hármasokat IVBCP-nek nevezzük. Mindkét eljárás a térbeli deriváltakat centrális másodrendű véges differenciákkal közelíti, c_t -t pedig az elsőrendű előre differenciahányadossal. Azaz az [10]-alapján az Euler módszert használva a módosított hőegyenletet (a (6.4) egyenlet) egy dimenzióban a következőképpen közelítjük:

$$\frac{c_j^{(n+1)} - c_j^{(n)}}{\Delta t} = D \frac{c_{j-1}^{(n)} - 2c_j^{(n)} + c_{j+1}^{(n)}}{(\Delta x)^2} - \mu c_j^{(n)}.$$

A jelöléseink az alábbiak:

- $c_j^{(n)}$ a diszkrétizált tér j -edik cellájának értékét jelöli az n -edik iterációban;
- $j = 0, 1, \dots, \frac{L}{\Delta x} = 2R$, a későbbiekben $R + 1$ -et az IVBCP felbontásának is nevezzük;
- $n = 0, 1, \dots, \frac{T_{\text{end}} - t^*_{\text{start}}}{\Delta t}$ az iterációk;
- $\Delta x (> 0)$ egy cella hosszát jelenti;
- $\Delta t (> 0)$ az időbeli lépés nagysága.

A fenti egyenlőséget átrendezve $c_j^{(n+1)}$ -re:

$$c_j^{(n+1)} = \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \left(c_{j-1}^{(n)} - 2c_j^{(n)} + c_{j+1}^{(n)} \right) - c_j^{(n)} (\Delta t\mu - 1). \quad (7.1)$$

Természetesen a tartomány szélein, a peremfeltételektől függően máshogy kell eljárunk. Ha tudjuk minden t -re, hogy $c(t, 0) = g_0(t)$, és $c(t, L) = g_L(t)$, azaz Dirichlet-feltételünk van:

$$c_0^{(n)} = g_0(n) \quad \text{és} \quad c_{2R}^{(n)} = g_L(n).$$

Neumann feltétel esetében pedig a deriváltat ismerjük a határon: $c_x(t, 0) = k_0(t)$ és $c_x(t, L) = k_L(t)$, ezeket szintén centrális véges differenciákkal közelítjük:

$$\frac{c_1^{(n)} - c_{-1}^{(n)}}{2\Delta x} = k_0(n) \quad \text{és} \quad \frac{c_{2R+1}^{(n)} - c_{2R-1}^{(n)}}{2\Delta x} = k_L(n).$$

Innen kapjuk, hogy:

$$c_{-1}^{(n)} = c_1^{(n)} - 2\Delta x k_0(n) \quad \text{és} \quad c_{2R+1}^{(n)} = c_{2R}^{(n)} + 2\Delta x k_L(n).$$

Ezeket visszahelyettesítve a (7.1) egyenletbe:

$$\begin{aligned} c_0^{(n+1)} &= 2 \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \left(c_1^{(n)} - c_0^{(n)} - \Delta x k(n) \right) - c_1^{(n)} (\Delta t\mu - 1) \\ c_{2R}^{(n+1)} &= 2 \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \left(c_{2R-1}^{(n)} - c_{2R}^{(n)} + \Delta x k(n) \right) - c_{2R}^{(n)} (\Delta t\mu - 1). \end{aligned}$$

A (7.1) egyenlet jobb oldalán az n -edik iterációt végrehajtva csak Δt nem ismert, ennek a megválasztása kritikus fontosságú: ha túl nagy, a módszer nem stabil, azaz az egymást követő iterációkban az addig összegyűlt hiba növekedni fog. Szerencsére Neumann stabilitási elemzéssel meghatározhatjuk Δt maximális értékét, [13] alapján első lépésként tegyük fel, hogy az n -edik iteráció minden cellájában a hiba abszolút értékben egy volt, majd nézzük meg, hogy milyen Δt -k esetén marad egy alatt. Azaz:

$$\left| \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} (e^{ik(x-\Delta x)} - 2e^{ikx} + e^{ik(x+\Delta x)}) - e^{ikx} (\Delta t\mu - 1) \right| < 1,$$

vagy ekvivalensen

$$\left| e^{ikx} \left[\frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} (e^{ik\Delta x} + e^{-ik\Delta x} - 2) + 1 - \Delta t\mu \right] \right| < 1.$$

Felhasználva, hogy $\sin^2 \theta = \left(\frac{e^{i\theta} - e^{-i\theta}}{2i} \right)^2 = \frac{e^{2i\theta} + e^{-2i\theta} - 2}{-4}$:

$$\begin{aligned} \left| -4 \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \sin^2 \frac{k\Delta x}{2} + 1 - \Delta t\mu \right| &< 1, \\ \left| \Delta t \left(\frac{4D}{(\Delta x)^2} \cdot \sin^2 \frac{k\Delta x}{2} + \mu \right) - 1 \right| &\leq \left| \Delta t \left(\frac{4D}{(\Delta x)^2} + \mu \right) - 1 \right| < 1. \end{aligned}$$

Innen kapjuk, hogy:

$$0 < \Delta t \left(\frac{4D}{(\Delta x)^2} + \mu \right) < 2.$$

Ezért tehát

$$\Delta t < \frac{2}{\frac{4D}{(\Delta x)^2} + \mu} \quad \text{ha} \quad \frac{4D}{(\Delta x)^2} + \mu > 0.$$

Hasonló módon a többi egyenletet is diszkretizálhatjuk, illetve megvizsgálható, hogy milyen Δt -k esetében lesz az algoritmus numerikusan stabil. A paraméterek értékeinek meghatározását optimalizálás segítségével végezzük, hogy ne a numerikus hibát optimalizáljuk, ehhez Δt -t egységesen kellően kicsire állítottuk.

A Runge-Kutta 45 módszert az [33]-ben található implementáció alapján ismertetjük. Első lépésként a megoldani kívánt parciális differenciálegyenletnek csak a jobb oldalát diszkretizáljuk, majd az így kapott közönséges differenciálegyenleten már tudjuk az explicit RK-45 eljárást alkalmazni. Ez azt jelenti, hogy

$$c_t(t, x) = D \frac{c(t, x - \Delta x) - 2c(t, x) + c(t, x + \Delta x)}{(\Delta x)^2} - \mu c(t, x).$$

Majd tekintsük a következő Euler lépéseket:

$$\begin{aligned} \alpha_j^{(n)} &= \Delta t \cdot c_t(n, c_j^{(n)}); \\ \beta_j^{(n)} &= \Delta t \cdot c_t\left(n + \frac{\Delta t}{2}, c_j^{(n)} + \frac{1}{2}\alpha_j^{(n)}\right); \\ \gamma_j^{(n)} &= \Delta t \cdot c_t\left(n + \frac{\Delta t}{2}, c_j^{(n)} + \frac{1}{2}\beta_j^{(n)}\right); \\ \delta_j^{(n)} &= \Delta t \cdot c_t(n + \Delta t, c_j^{(n)} + \gamma_j^{(n)}). \end{aligned}$$

Itt $\alpha_j^{(n)}$, $\beta_j^{(n)}$, $\gamma_j^{(n)}$ és $\delta_j^{(n)}$ a $c_j^{(n)}$ -hez hasonlóan n -edig iterációban jelentik az adott rácsokhoz tartozó j -edig cella értékét.

Végül az új iteráció meghatározásához vegyük ezek súlyozott átlagát:

$$c_j^{(n+1)} = \frac{\alpha_j^{(n)} + 2\beta_j^{(n)} + 2\gamma_j^{(n)} + \delta_j^{(n)}}{6} + c_j^{(n)}.$$

Az explicit Euler-módszer stabilitási elemzése során kapott Δt mellett természetesen ez az eljárás is stabil lesz, hiszen csak négy előre Euler lépés súlyozott átlagát vesszük és a hiba mindegyikben kellően alacsony. Persze azt is tudjuk hogy az iterációk alatt összegyűlő hiba $\mathcal{O}(\Delta t^4)$ szemben az Euler módszernél tapasztalt $\mathcal{O}(\Delta t)$ -vel, így az Euler módszer stabilitására adott feltétel itt valójában túl szigorú.

7.2. Peremfeltételek problémája

Az egyenletek numerikus megoldásához szükséges idő egyenesen arányos a diszkretizált tér pontjainak számával. A felvételeink 1024×1024 -es felbontásúak, ez túl sok számítás-hoz és emiatt hosszú futási időhöz vezet. Ezért csökkenteni szeretnénk a pontok számát. A homogenizálási eljárás definíció szerint a kezdőpont körüli szimmetriát eredményez, így

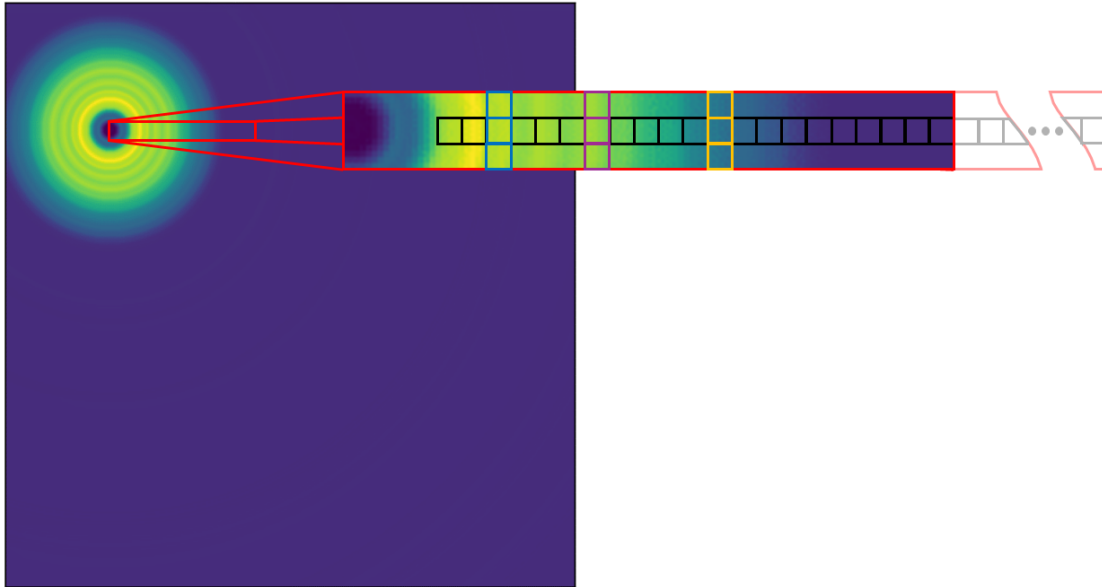
egy sugár mentén a kezdőponttól kellő, k_0 (> 0) távolságra, a sugárra merőleges rövid szakaszok mentén a homogenizált értékek azonosak azaz:

$$\lfloor d(S, (i, j)) \rfloor = \lfloor d(S, (i + \epsilon, j)) \rfloor \quad \text{minden} \quad |\epsilon| < f(k_0) \text{ esetén.}$$

Az alábbi jelöléseket alkalmazzuk:

- S a kezdőpont,
- $d : \mathbb{R} \times \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ az euklideszi távolságfüggvény,
- $\epsilon \in \mathbb{R}$ apró eltérés az első indexben,
- $\lfloor \cdot \rfloor$ a lefelé kerekítés, ami itt egy adott távolsághoz a hozzá tartozó A_i körgyűrű számát adja.

Erre példát a 7.1 ábrán is láthatunk. Ezt a tulajdonságot ki tudjuk használni, ha a teret csak a sugár mentén diszkretizáljuk és alul valamint felül periodikus peremfeltételeket használunk. Az ábra nem teljesen pontos, valójában azt a sugarat választjuk ki ami a kezdőpont és a tőle legtávolabbi sarokpont között van, mivel ennek a sugárnak a leghosszabb a felvételen látható k_0 utáni része, ezt az értéket jelöljük R -rel. Az R hossz $724 - k_0$ és $1449 - k_0$ között lehet, tehát a várható futási időt ezredére csökkentettük. Az egyenlet térbeli kiterjedése R -el arányos azért L -t $R + r_0$ -nak választottuk.



7.1. ábra. Egy homogenizált felvétel egyik képkockája. Pirossal kijelöltük az egyik sugár menti szakasz körüli tartományt, amire rá is közelítettünk. A ráközelített részen kis négyzetek szimbolizálják a diszkretizált tér egyes celláit. Látható, hogy az azonos színű egymás alatti kis négyzetekben az értékek közel megegyeznek. Baloldalon halvány szín mutatja a felvétel szélein túlterjedő ATP modellezéséhez felvett extra tartományt.

A 7.1 ábra azt is mutatja, hogy a homogenizálás középpontjának közvetlen környezetében az intenzitásértékek alacsonyabbak a háttér intenzitásánál, ez azért van mert a folyamat elején az itt található sejtek megsemmisülnek, így az itt mért *ATP* mennyiség lecsökken. Ez a jelenség biológiai motivációt ad arra, hogy miért csak a k_0 pont utáni értékeket használjuk.

Az *ATP* hullám valójában a felvételek széleinél nem áll meg, hogy ezt modellezni tudjuk a diszkretizált sugár menti szakasz kezdőponttól távolabbi végére helyezzünk R darab újabb cellát és ezekben az új pontokban legyen a kezdetiérték felvétel háttérértékeinek az átlaga. A 7.1 ábrán a $0, 1, \dots, R$ cellák fekete, az $R + 1, R + 2, \dots, 2R$ cellák szürke kis négyzetekkel vannak jelölve. A kezdőponttól távolabbi szélén Neumann peremfeltételt választottunk, azaz itt már nem tud eltűnni az *ATP*.

Az IVBCP előállításához már csak a kezdőpont felőli oldalhoz tartozó peremfeltételt és a $0, 1, \dots, R$ cellákban használt kezdetiértéket kell meghatároznunk. A $c_i^{(0)}$, $i = 0, 1, \dots, R$ értékek a homogenizált felvétel egy adott képkockájának sugár menti értékei lesznek. Annak megfelelően, hogy a folyamat melyik fázisát / fázisait szeretnénk vizsgálni, két lehetőséget vizsgáltunk.

Ha csak a lebomlási fázis érdekel minket, akkor elegendő a $T_{\max}$ és az ezt követő képkockákkal foglalkozni. Ekkor kezdetiértékeket a $T_{\max}$ képkoca adatai alapján számolunk és baloldalon Dirichlet feltételt választottunk, aminek az értéke az itteni kezdetiérték, azaz: $\forall t > T_{\max} : c(t, 0) = \text{RTP}_{T_{\max}, k_0}$.

Ha a teljes folyamatot szeretnénk vizsgálni, számoljunk kezdetiértékeket a t_{start} képkoca alapján, mivel ekkor sebeztek meg a sejteket. A kísérlet felépítése miatt ekkor a sebből $T_{\max}$ ideig áramlik be az *ATP*, ezt követi a lebomlási fázis. Ezt úgy modelleztük, hogy időfüggő Neumann peremfeltételt választottunk, ami $T_{\max}$ előtt pozitív, utána 0:

$$c(t, 0) = \begin{cases} \frac{A}{\delta(T_{\max} - t_{\text{start}} + 1)} & \text{ha } t_{\text{start}} \leq t \leq T_{\max}, \\ 0 & \text{ha } t > T_{\max}. \end{cases}$$

Itt

- A a t_{start} képkoca leghosszabb sugár menti r_0 utáni pontjai és $T_{\max}$ képkoca ugyanilyen pontjai között vett pontonkénti különbség összege;
- δ a normalizálási faktor, az értéke minden IVBCP esetében meggyezik. Úgy választottunk meg, hogy a lebomlás nélküli diffúziós egyenlet megoldásfüggvénye alatti terület a $T_{\max}$ utáni képkockán a legközelebb legyen a mért adatok alatti területhez. Vagyis δ biztosítja, hogy a modellünkben is ugyanannyi *ATP* áramoljon be a baloldalon, mint a kísérlet során.

7.3. Optimalizálás

Hogy az egyes kezdetiérték-problémák paramétereit a mért adatokhoz tudjuk illeszteni, definiáljunk egy hibafüggvényt sugár menti profil RTP és az IVBCP megoldása között. Választhatunk például egy négyzetes hibafüggvényt:

$$\mathcal{L}(\text{RTP}, \text{IVBCP}, X) = \sum_{r=r_0}^R \sum_{t=t_{\text{start}}}^{t_{\text{end}}} (\text{RTP}_{t,r} - \text{solver}(\text{IVBCP}, X)_{t,r})^2.$$

A képletben az alábbi jelöléseket használtuk:

- $\mathcal{L}$ a hibafüggvény,
- $\text{RTP} \in \mathbb{R}^{(R+r_0) \times (t_{\text{end}} - t_{\text{start}}^* + 1)}$ a sugár menti mért adatokat tartalmazó 2D tömb,
- *solver* egy függvény, ami adott IVBCP X paraméterek melletti problémához a megfelelő időpillanatokban mintavételezett numerikus megoldást rendeli RTP-hez hasonló mátrixként,
- X IVBCP-beli PDE paraméterértékeinek tömbje,
- t_{start}^* a vizsgált fázisnak megfelelően t_{start} vagy T_{max} .

A feladatunk a differenciálegyenlet azon paramétereinek megkeresése amire a legkisebb lesz a hibafüggvény értéke, azaz:

$$\min_X \mathcal{L}(\text{RTP}, \text{IVBCP}, X).$$

Némelyik vizsgált optimalizálási eljárás működéséhez elengedhetetlen, hogy az X -beli paraméterek korlátozottak legyenek. Már a differenciálegyenletek is adnak korlátozásokat, de ezeket kiegészítettük további mesterséges megszorításokkal.

Több optimalizálási eljárást is kipróbáltunk. Kettő a Newton iteráción alapszik, ezek a Levenberg-Marquardt (másik nevén leastsq) [8] és az SLSQP [3]. Az elsőben a hibafüggvénynek négyzetesnek kell lennie, a másodikban elegendő ha csak kétszer differenciálható. Az $\mathcal{L}$ deriváltjait nem használó eljárások közül megnéztük Powell [25] algoritmust, ami csak iteratív módon egymás után Brent keresési eljárását használva próbálja beállítani a paraméter értékeket. Végül a szimplex módszeren alapuló COBYLA [24] optimalizálót is alkalmaztuk. Legjobbnak a Levenberg-Marquardt eljárás bizonyult, ami nem meglepő, hiszen ennek volt a legtöbb elvárása a célfüggvénnyel szemben, az egyes optimalizálók összehasonlítását a 7.1 táblázat tartalmazza.

Optimalizáló	szükséges iteráció	átlagos négyzetes hiba
Levenberg-Marquardt	26	0.0013
SLSQP	70	0.0033
COBYLA	316	0.0013
Powell	399	0.0013

7.1. táblázat. Különböző optimalizáló eljárások összehasonlítása, a Fisher egyenlet paramétereinek illesztése során, egy Ca^{2+} felvételhez

Természetesen $\mathcal{L}$ konvexitásáról nem tudunk semmit, így az optimalizálók valószínűleg csak lokális optimumokba jutottak el, ez magyarázza a 7.1 táblázatbeli különbségeket a hibafüggvényben. Azonkívül, hogy ugyanazon a pontból indított eltérő eljárások más-hova konvergálnak, adott eljárás különböző pontokból indítva szintén konvergálhat eltérő határértékekhez, ami ugyancsak arra utal, hogy az eljárások általában nem találnak globális optimumot. A legjobb paraméterek megtalálásához tehát a keresési térből bizonyos távolságonként mintavételezni kéne pontokat, majd ezen pontok mindegyikéből futtatni az optimalizáló algoritmust, azonban ez a keresési tér nagysága miatt nem praktikus.

7.4. Iteratíván növekvő felbontás

A 7.1 táblázat ez egyik leggyorsabban konvergáló IVBCP adatait mutatja, valójában egy átlagos probléma megoldása 112 iterációt igényelne a Levenberg-Marquardt optimalizálót használva. Mindegyik optimalizálási iterációban numerikusan meg kell oldanunk a differenciálegyenletet, ami az egységesen kellően kicsinek választott Δt mellett 3 millió numerikus iterációt jelent. Természetesen az egyes numerikus iterációkban $2R$ cella értéket kell meghatároznunk, ami várhatóan optimalizálási iterációnként 6.5 milliárd cella értékének meghatározását jelenti. Egy cella értéket kb. 300-900 CPU utasításból tudjuk kiszámolni, tehát optimalizálási iterációnként összesen 1.95×10^{12} CPU utasításra van szükség, ami egy 4 GHz-es processzor esetében 8 percet vesz igénybe. Ez az elméleti futási idő közel azonos az általunk tapasztaltakkal. Négy egyenlet paramétereit szeretnénk meghatározni, tíz különböző felvétel alapján számolva kezdetiértéket, attól függően hogy a folyamat mely szakaszaira vagyunk kíváncsiak kétféle peremfeltételünk lehet, az az összesen 80 IVBCP-n az optimalizáló várhatóan közel 50 napig futna.

Az 50 napos futási idő nyilván túl hosszú, de szerencsére, a leastsq optimalizáló ha egy lokális optimumhely közeléből indul, akkor kevés iteráció alatt képes ehhez az optimumhelyhez konvergálni. Innen adódik az ötlet, hogy először kevés cellát használva oldjuk meg az egyenletet, majd optimalizáljunk. Ha optimumba jutottunk, növeljük a felbontást és optimalizálunk újra az előző optimumhelyből indulva. A felbontás növeléseknél figyeljünk, hogy a térbeli kiterjedés (L értéke) ne változzon. Egy technikai apróság, hogy a felbontás növelés helyett, valójában mindig a legnagyobb felbontást mintavételezzük újra lineáris vagy köbös spline interpolációkkal. A 7.2 táblázatban láthatunk példát az új algoritmusra, vegyük észre, hogy a "drágább", nagyobb felbontások kevesebb iterációt igényelnek. A gyakorlatban a módszer 1 magos CPU-ra vetítve 7.5 napos futási időt eredményezett.

Felbontás (R)	iteráció	mse	D	α	λ
40	26	0.0012	0.0408	0.1220	0.3217
80	14	0.0013	0.3405	0.1176	0.3207
160	9	0.0012	0.0970	0.1220	0.3210
320	9	0.0012	0.0721	0.1216	0.3211
640	9	0.0013	0.0499	0.1217	0.3212
707	5	0.0013	0.0512	0.1216	0.3211

7.2. táblázat. A (6.5) egyenlet optimalizált paramétereit iteratíván növekvő felbontás alkalmazása mellett.

Az iteratív optimalizálás egy mellékhatása, hogy képes a direkt optimalizálásnál jobb optimumokat találni. Ez azért lehetséges, mivel a kisebb felbontások mellett simább a célfüggvény felülete, így alacsonyabb eséllyel "ragad be" az optimalizáló. A direkt és az iteratív optimalizálás összehasonlítását mutatja be a 7.3 táblázat, a számítási idő korlátosság miatt a direkt módszert csak paraméterfüggetlen Δt -k mellett futtattuk. Paraméterfüggetlen Δt -nél a Neumann stabilitási elemzést elvégezve minél nagyobb olyan értéket választottunk Δt -nek ami mellett stabil marad. A táblázat mutatja, hogy az iteratív módszer általában pontosabb a direkt módszernél, illetve az optimalizálás során konstans Δt használata

javasolt.

Felvétel	iteratív módszer fix Δt	iteratív módszer változó Δt	direkt módszer változó Δt
Ca2-sarok-006	0.0358	0.0371	0.0443
Ca2-sarok-007	0.0093	0.0097	0.0098
Ca2-sarok-008	0.1768	0.1771	0.1768
ATP-kozep-010	0.0446	0.0851	0.0447
ATP-kozep-017	0.0040	0.0042	0.0042
ATP-kozep-018	0.0025	0.0026	0.0026
ATP-sarok-001	0.0452	0.0452	0.0452
ATP-sarok-002	0.0657	0.0678	0.0683
ATP-sarok-003	0.1278	0.1277	0.1328
ATP-sarok-004	0.0354	0.0354	0.0354

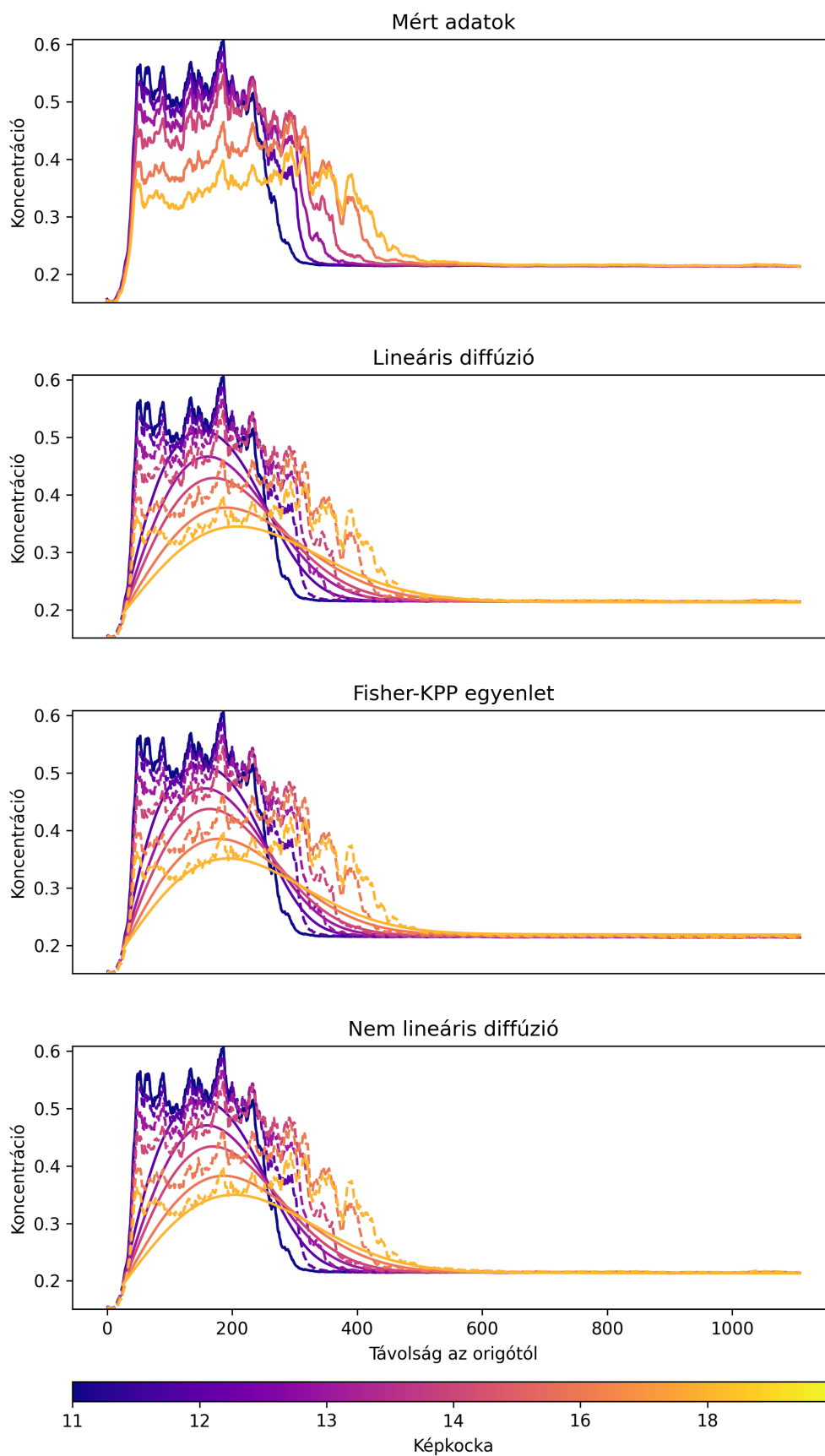
7.3. táblázat. A (6.4) egyenlet különböző módszerek által talált optimumbeli hibái

7.5. Illesztett adatok

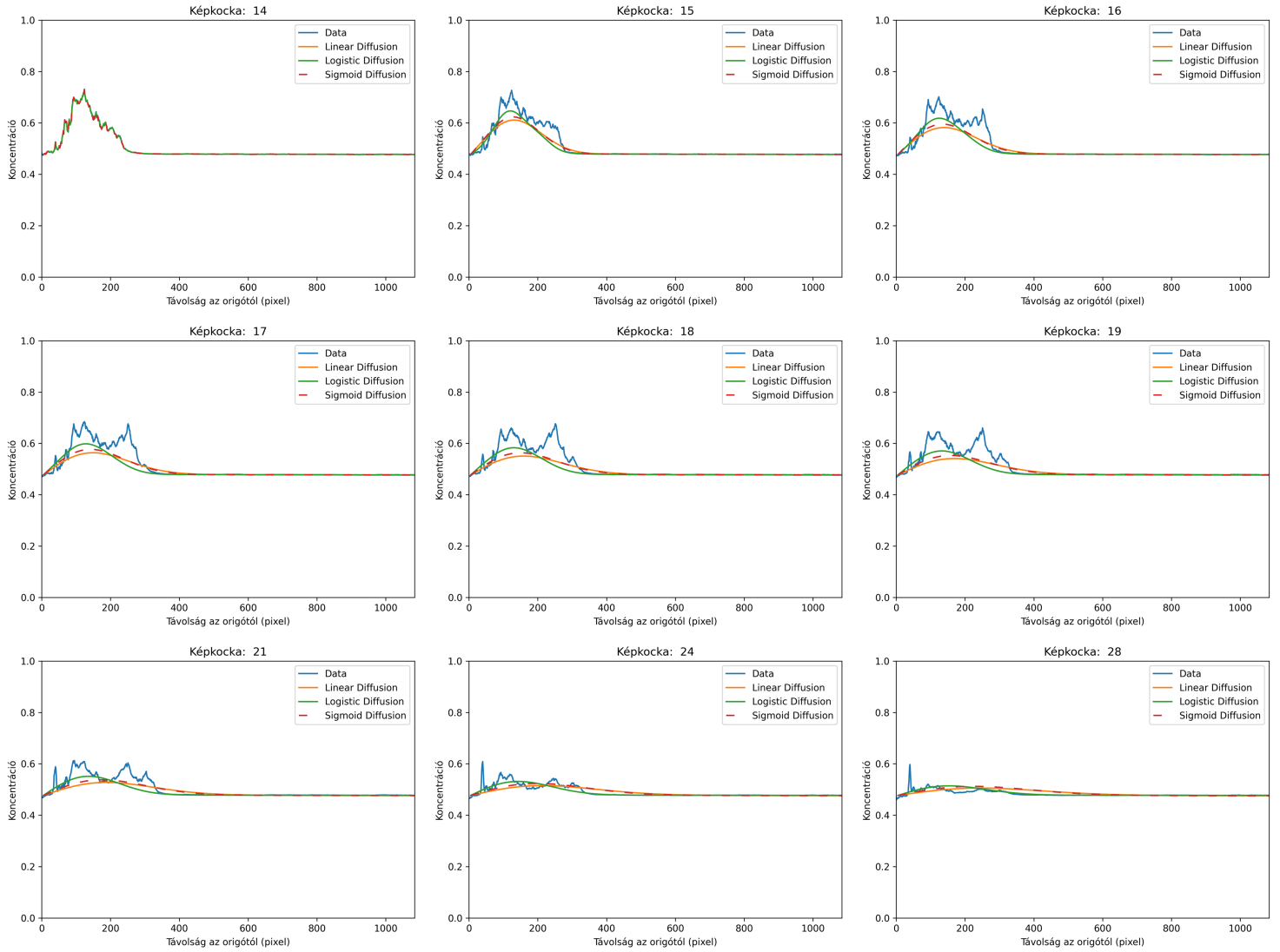
A 7.4 táblázat tartalmazza a különböző diffúziós térbeli modellek az optimálisnak vélt paraméterek melletti összehasonlításait a mért adatokkal. Optimalizálás során a (6.8) egyenletben a ϕ paraméter csak a $[0.1, 0.9]$ intervallumból vehetett fel értékeket. Valamint ebben, illetve a (6.7) egyenletben szereplő β is csak olyan értékeket vehetett fel, hogy a szigmoid függvény ne tolódjon el nagyon az origótól. Tehát a lokális optimumokon kívül a paraméterekre vonatkozó korlátozások is magyarázzák, hogy miért nem mindig a (6.8) egyenlet volt a legjobb.

Felvétel	Liferálási diff.	Fisher egyenlet	Nem lineáris diff.	Kombinált
Ca2-sarok-006	0.7749	0.8021	0.7652	0.8246
Ca2-sarok-007	0.6842	0.7736	0.7009	0.7822
Ca2-sarok-008	-1.9015	0.4995	-1.6988	0.898
ATP-kozep-010	-0.088	0.4235	0.5012	0.4992
ATP-kozep-017	0.8057	0.8892	0.8051	0.9367
ATP-kozep-018	0.9456	0.9641	0.9459	0.9726
ATP-sarok-001	0.4847	0.4745	0.5077	0.2237
ATP-sarok-002	0.3603	0.3792	0.3445	0.3786
ATP-sarok-003	0.0331	0.0997	0.0146	0.0855
ATP-sarok-004	0.6339	0.526	0.5943	0.628

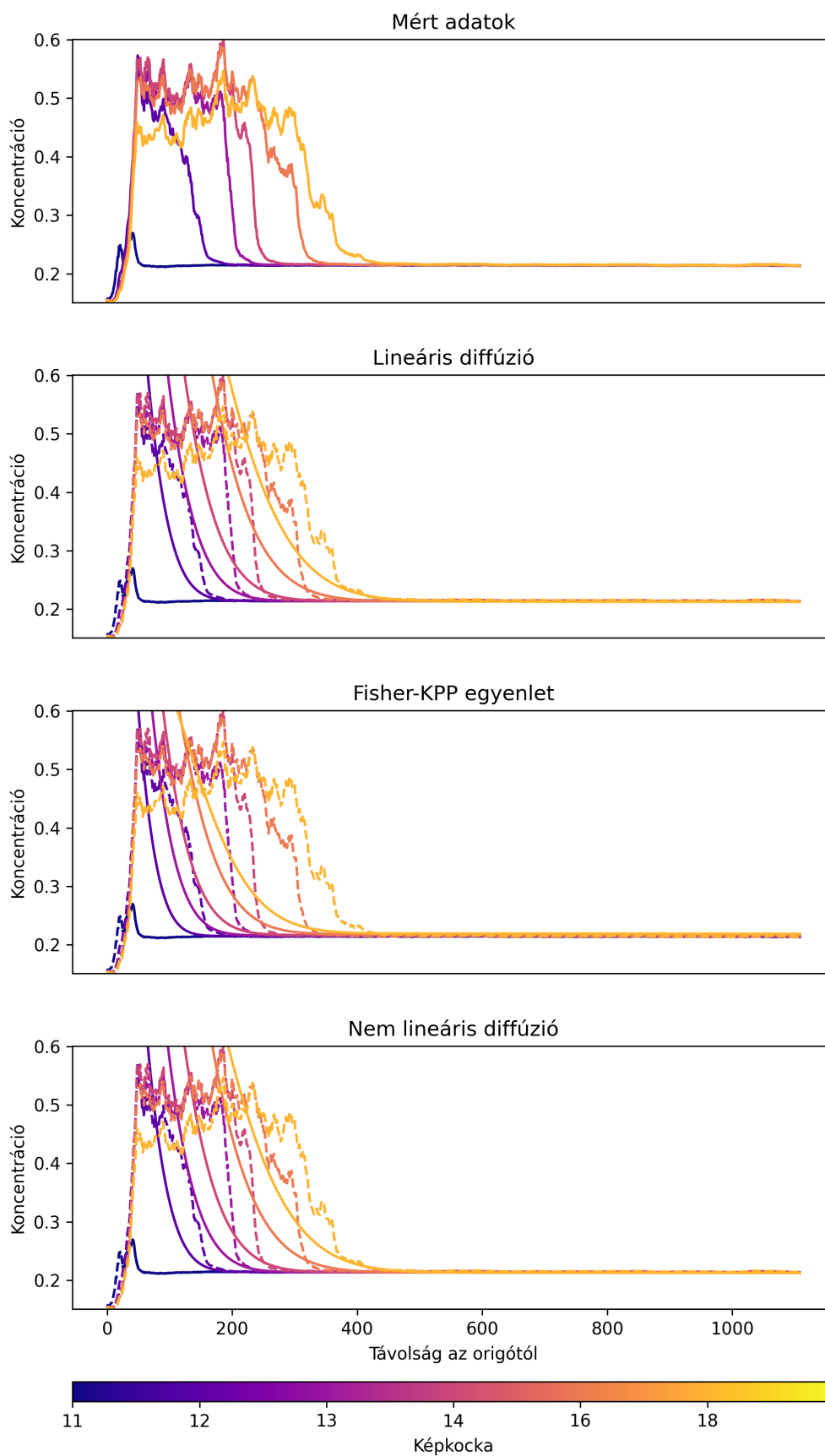
7.4. táblázat. A (6.4) Az adott felvételekhez illesztett diffúziós térbeli modellek R^2 értékeinek összehasonlítása. Az egyenletek csak a folyamat lebomlási fázisát modellezzik, tehát Dirichlet peremfeltételeket használtunk.



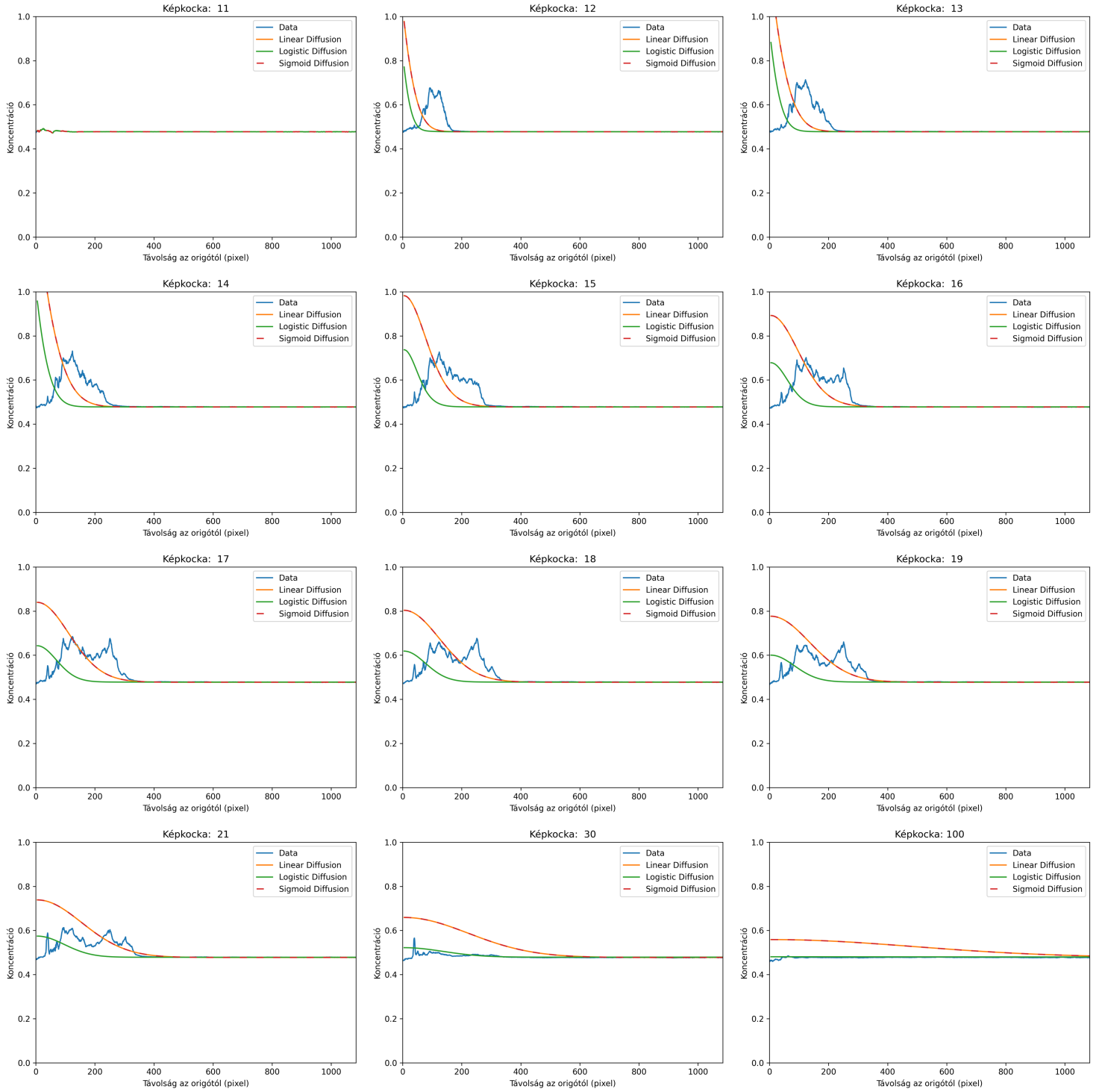
7.2. ábra. A Ca₂-sarok-006 felvétel első negyven képkockájához illesztett egyenletek megoldásai különböző időpontokban. Csak a folyamat lebomlási fázisát modelleztük.



7.3. ábra. A Ca₂-sarok-007 felvételhez illesztett egyenletek megoldásai különböző időpontokban. Az egyenletek csak a folyamat lebomlási fázisát modellezzik.



7.4. ábra. A Ca²⁺-sarok-006 felvételhez optimalizált egyenletek megoldásai. A folyamat lebomlási és keletkezési fázisát is modelleztük.



7.5. ábra. A Ca²⁺-sarok-007 felvételhez optimalizált egyenletek megoldásai. A folyamat lebomlási és keletkezési fázisát is modelleztük.

8. fejezet

Kitekintés

8.1. Összevetés a kalcium hullámokkal

A Ca^{2+} kisebb az ATP -nél, ezért könnyebben tud átjutni a sejthártyán, így kevesebb idő telik el aközött, hogy megjelenik a sejt környezetében az anyag és hogy látható lesz a mikroszkópos felvételeken a sejt plazmában. A citoplazmában az ATP másodpercek alatt bomlik le, a Ca^{2+} ezzel szemben milliszekundumok alatt eltűnhet a sejt plazmából. Ez az eltérő viselkedés az átlagtér modellek esetében is megfigyelhető, például Ca^{2+} felvételekhez általában kisebb R^2 értékek tartoznak, ahogy a 8.1 táblázat is mutatja.

Felvétel	R^2		
	Front sebesség	Logisztikus görbe	Exponenciális csökkenés
Ca2-sarok-006	0.9221	0.9706	0.9663
Ca2-sarok-007	0.7730	0.8936	0.8495
Ca2-sarok-008	0.5989	0.2706	0.2628
ATP-sarok-001	0.9149	0.9254	0.9842
ATP-sarok-002	0.8935	0.8939	0.9769
ATP-sarok-003	0.9661	0.9202	0.9948
ATP-sarok-004	0.9435	0.8939	0.9779
ATP-kozep-010	0.9582	0.8488	0.9709
ATP-kozep-017	0.9549	0.9703	0.9716
ATP-kozep-018	0.9643	0.8701	0.9706

8.1. táblázat. Különböző felvételek illeszkedése az átlagtér modellekre

A diffúziós térbeli modellek közül kettő, a (6.4) és a (6.7) egyenletekkel leírt lineáris és nem lineáris diffúzió rendelkezik könnyen interpretálható lebomlásért felelős, μ paraméterrel. A 8.2 táblázat alapján μ értéke pozitív a Ca^{2+} -ról készült felvételeknél, negatív azon ATP mérések esetében ahol a sejteket a megfigyelési tér közepénél sebeztek meg és közel nulla a többi felvételnél. Az összességében negatív ATP átlag arra utalhat, hogy a folyamat során a sejtek termelik ezt a molekulát. Ez választ ad a biológusok által felvetett egyik kérdésre, azt azonban tartsuk szem előtt, hogy a modellillesztésünk jelenleg nem tökéletes, illetve hogy csak 10 felvételt vizsgáltunk.

Felvétel	Lineáris diffúzió	Nem lineáris diffúzió	A két modell átlaga
Ca2-sarok-006	0.0026	0.0026	0.0026
Ca2-sarok-007	0.0008	0.0008	0.0008
Ca2-sarok-008	0.0043	0.0026	0.0034
<i>Ca2-sarok-átlag</i>	<i>0.0026</i>	<i>0.0020</i>	0.0023
ATP-kozep-010	-0.0190	-0.0189	-0.0190
ATP-kozep-017	-0.0009	-0.0013	-0.0011
ATP-kozep-018	-0.0012	-0.0013	-0.0013
<i>ATP-kozep-átlag</i>	<i>-0.0071</i>	<i>-0.0072</i>	-0.0071
ATP-sarok-001	-0.0003	-0.0002	-0.0002
ATP-sarok-002	0.0010	0.0008	0.0009
ATP-sarok-003	0.0003	0.0003	0.0003
ATP-sarok-004	0.0002	0.0002	0.0002
<i>ATP-sarok-átlag</i>	<i>0.0003</i>	<i>0.0003</i>	0.0003

8.2. táblázat. A (6.4) és a (6.7) egyenletek különböző μ paraméterértékeinek összehasonlítása. A modellillesztés során csak az folyamat lebomlási fázisát vizsgáltuk.

8.2. További fejlesztési lehetőségek

A növekvő felbontású optimalizáló jelenleg a felbontások között "elfelejti" a tippelt Hesse és Jacobi mátrixokat, ezek újraszámolása pár iterációt igénybe vesz. Az átméretezés során használt interpolációk a mátrixokra való hatásának analízisével tovább javítható az algoritmus.

A bal oldali Neumann peremfeltételek jelenleg csak szakaszonként definiált konstans függvények. Egyéb függvényeket is érdemes lehet megvizsgálni, esetleg az újabb függvények is tartalmazhatnak optimalizálandó paramétereket.

Az MSE-n kívül más hibafüggvényeket is ki lehet próbálni, például Huber vagy Log-Cosh veszteség függvényeket, ezek differenciálható függvényekkel közelítik az átlagos abszolút hibát, kevésbé érzékenyek a kiugróértékekre mint az MSE. Illetve súlyozott átlagokkal elérhetjük, hogy a felvétel bizonyos részei nagyobb hatással legyenek a hibára.

Próbálkoztunk sejtdektációval javítani a homogenizáláson. Bár a különálló sejtek szegmentálása nem volt sikeres, kipróbálhatnánk különböző módszereket a sejtek és sejt közti terek detektálására. Ennek segítségével lehetséges a homogenizáló eljárás továbbfejlesztése. Illetve, ha csak részlegesen képesek lennék sejteket detektálni, módosíthatnánk úgy az algoritmust, hogy egy sejthez tartozó minden pixel adott körgyűrűbe essen (tehát a körgyűrűk nem darabolják szét a sejteket).

Elképzelhető, hogy az ATP dinamikája túl komplex, így nem írható le az általunk vizsgált egyenletekkel. A SINDy algoritmust az adatok alapján dinamikus rendszerek automatikus előállítására találták ki. Az eljárás lényege, hogy a mért adatokat potenciálisan leíró bázisfüggvényeknek vesszük egy lineáris kombinációját figyelve arra hogy csak néhány domináns bázis függvényt válasszunk. A módszernek több alkalmazása is van, pl.: biológiai hálózatok metabolizmusának vizsgálatában.

9. fejezet

Összegzés, saját eredmények

A biológiai kísérletekben megfigyelt ATP hullámok modellezése kapcsán az alábbi saját eredmények születtek.

- Algoritmusokat fejlesztettünk a felvételek kezdő képkockájának és pozíciójának meghatározására.
- Kvantifikáltuk a felvételeket, és megalkottunk egy homogenizáló eljárást, amivel áttérhetünk a sejttérből a diffúziós térbe.
- Megmértük az *ATP* hullámfront terjedésének sebességét és bemutattuk, hogy a molekulák egyenletes sebességgel terjednek szét, illetve egy idő után exponenciálisan lebomlanak.
- Az átlagtér modellünk jól illeszkedett a folyamat két fázisához, ezek az *ATP* felszabadulása majd lebomlása.
- A homogenizálás szimmetriáját kihasználtuk a probléma egy térbeli dimenzióra való visszavezetéséhez, ami jelentősen alacsonyabb számítási igényű numerikus megoldást tett lehetővé.
- A homogenizált adatokhoz parciális differenciálegyenleteket illesztettünk, ahol időfüggő Neumann peremfeltételeket alkalmaztunk a folyamat két fázisának együttes modellezésére.
- Az optimalizálás során egy iteratív növekvő felbontáson alapuló eljárást alkalmaztunk, ami nemcsak a futási időt csökkentette, hanem a talált optimumokon is javított.
- A felvételekhez illesztett lineáris és nemlineáris diffúziós, illetve Fisher-KPP egyenletek paraméterbecslései alapján azt tapasztaltuk, hogy ezek a klasszikus modellek nem képesek jól megragadni az *ATP* terjedésének térbeli mintázatait.

Összeségében a felvételeket sikeresen kvantifikáltuk matematikai modellezésre alkalmas alakba. A folyamat globális jellemzői közül sikerült jól megragadni a teljes *ATP*-mennyiség dinamikáját, valamint a hullámfront sebességét. A részletesebb térbeli mintázatot azonban az alkalmazott modellek nem tudták reprodukálni, ehhez további kutatások szükségesek.

9.1. Alkalmazott technológiák

Az IVBCP-k megoldásához és az egyenletek paraméterillesztéséhez programot fejlesztettünk Python 3.12 nyelven, amely elérhető a GitHub-on. Sok szükséges funkciót a Python nyelv alapból nem támogat, ezeket külső könyvtárak segítségével érhetjük el, például .nd2 fájlok beolvasásához az *nd2* [17] könyvtárat használjuk. A PDE-ek implementációjához a *py-pde* [33] biztosít keretrendszert, ezek numerikus megoldásához a *NumPy*-t [22] és a *Numba*-t [21] vettük igénybe. Interpoláló és optimalizáló algoritmusokat a *SciPy* [29] és az *lmfit* [20] biztosított. A *scikit-image* [30] tartalmazta a használt képfeldolgozó eljárások megvalósításait. Ábrák készítéséhez a *Matplotlib*-et [12] használtuk, néhány ábrának interaktív megvalósítása is elérhető *Jupyter Notebook*-ok formájában, ehhez az *IPyWidgets* [27] és az *IPython* [26] csomagok kellettek. A Fisher-KPP egyenlet fázisportréja Wolfram Mathematica-ban készült.

A Python program elérhető itt: <https://github.com/0010/H-CEMM>.

Irodalomjegyzék

- [1] Shan E. Ahmed Raza és tsai., „MIMO-Net: A multi-input multi-output convolutional neural network for cell segmentation in fluorescence microscopy images”. *2017 IEEE 14th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2017)*. 2017. ápr., 337–340. old.
- [2] Soumen Biswas és Dibyendu Ghoshal, Blood Cell Detection Using Thresholding Estimation Based Watershed Transformation with Sobel Filter in Frequency Domain, *Procedia Computer Science* **89** (2016), 651–657. old.
- [3] Paul Boggs és Jon Tolle, Sequential Quadratic Programming, *Acta Numerica* **4** (1995), 1–51. old.
- [4] Kyunghyun Cho és tsai., Learning Phrase Representations using RNN Encoder-Decoder for Statistical Machine Translation (2014).
- [5] Balázs Enyedi és Philipp Niethammer, Mechanisms of epithelial wound detection, *Trends in Cell Biology* **25** (2015), 398–407. old.
- [6] Margarita Gamarra és tsai., Split and merge watershed: A two-step method for cell segmentation in fluorescence microscopy images, *Biomedical Signal Processing and Control* **53** (2019), 101575. old.
- [7] William J. Gault, Balázs Enyedi és Philipp Niethammer, Osmotic surveillance mediates rapid wound closure through nucleotide release, *Journal of Cell Biology* **207** (2014), 767–782. old.
- [8] Henri P Gavin, The Levenberg-Marquardt algorithm for nonlinear least squares curve-fitting problems, *Department of civil and environmental engineering, Duke University* **19** (2019).
- [9] R. K. Gazizov és N. H. Ibragimov, Lie Symmetry Analysis of Differential Equations in Finance, *Nonlinear Dynamics* **17** (1998), 387–407. old.
- [10] Christian Grossmann, *Numerical treatment of partial differential equations*, Springer, 2007.
- [11] Maud El-Hachem és tsai., Revisiting the Fisher–Kolmogorov–Petrovsky–Piskunov equation to interpret the spreading–extinction dichotomy, *Proceedings of the Royal Society A* **475** (2019), 20190378. old.
- [13] Eugene Isaacson és Herbert Bishop Keller, *Analysis of numerical methods*, Dover Publications, Inc., New York, 1994.
- [14] Murray J., *Mathematical Biology I: An Introduction*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2002.

- [15] Weickert J., Applications of Nonlinear Diffusion in Image Processing and Computer Vision, *Acta Mathematica Universitatis Comenianae* **70** (2001).
- [16] Sajith Kecheril Sadanandan és tsai., Automated Training of Deep Convolutional Neural Networks for Cell Segmentation, *Scientific Reports* **7** (2017).
- [23] Jeffrey S. Ovall, The Laplacian and Mean and Extreme Values, *The American Mathematical Monthly* **123** (2016), 287–291. old.
- [24] M. J. D. Powell, A Direct Search Optimization Method That Models the Objective and Constraint Functions by Linear Interpolation, *Advances in Optimization and Numerical Analysis* (1994), 51–67. old.
- [25] M. J. D. Powell, An efficient method for finding the minimum of a function of several variables without calculating derivatives, *The Computer Journal* **7** (1964), 155–162. old.
- [28] Prama Putra és tsai., Front propagation and arrival times in networks with application to neurodegenerative diseases, *SIAM Journal on Applied Mathematics* **83** (2023), 194–224. old.
- [31] Paul Wilmott, *Derivatives The theory and practice of financial engineering*, John Wiley & Sons, Chichester, 2000.

Szoftverjegyzék

- [12] J. D. Hunter *Matplotlib: A 2D graphics environment* (2007) verzió: 3.8.1
elérhető itt: <https://pypi.org/project/matplotlib/3.8.1/>.
- [17] Talley Lambert *nd2* (2021) verzió: 0.8.0
elérhető itt: <https://pypi.org/project/nd2/0.8.0>.
- [20] Matthew Newville és tsai. *LMFIT: Non-Linear Least-Square Minimization and Curve-Fitting for Python* (2011) verzió: 1.2.2
elérhető itt: <https://pypi.org/project/lmfit/1.2.2/>.
- [21] a Numba csapata *Numba: A Just-In-Time Compiler for Numerical Functions in Python* (2012) verzió: 0.59.0rc1
elérhető itt: <https://pypi.org/project/numba/0.59.0rc1/>.
- [22] a NumPy csapata *NumPy* (2006) verzió: 1.26.1
elérhető itt: <https://pypi.org/project/numpy/1.26.1/>.
- [26] a Project Jupyter csapat *IPython* (2006) verzió: 7.34.0
elérhető itt: <https://pypi.org/project/ipython/7.34.0/>.
- [27] a Project Jupyter csapat *ipywidgets: Interactive HTML Widgets* (2015) verzió: 8.1.1
elérhető itt: <https://pypi.org/project/ipywidgets/8.1.1/>.
- [29] a SciPy csapata *SciPy* (2001) verzió: 1.12
elérhető itt: <https://pypi.org/project/scipy/1.12.0/>.
- [30] Stéfan van der Walt és tsai. *scikit-image: Image processing in Python* (2014) verzió: 0.22.0
elérhető itt: <https://pypi.org/project/scikit-image/0.22.0/>.
- [33] David Zwicker *py-pde: A Python package for solving partial differential equations* (2020) verzió: 0.31.0
elérhető itt: <https://pypi.org/project/py-pde/0.31.0/>.