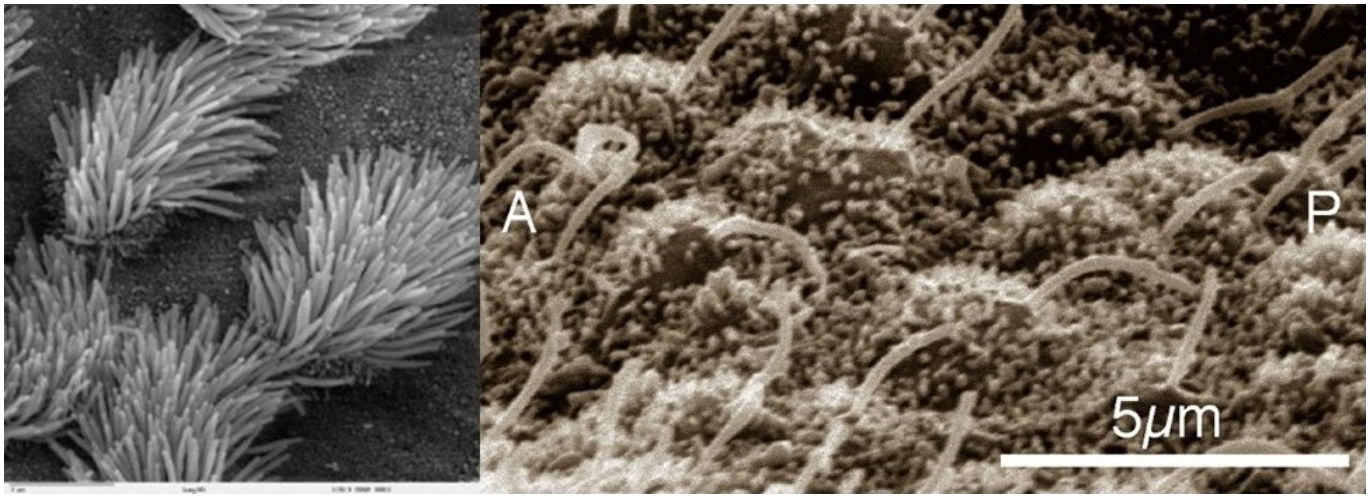
Orgaanplaatsing door stromingen in embryo’s

Het menselijk lichaam is aan de buitenkant symmetrisch, maar onze organen zijn juist op asymmetrische wijze in ons lichaam geplaatst. De alvleesklier en het hart zitten links, terwijl de galblaas en het grootste gedeelte van de lever juist rechts zitten. Biologen hebben vastgesteld dat deze asymmetrische plaatsing van de organen voor de geboorte in een vroeg ontwikkelingsstadium plaatsvindt. Dit proces wordt aangestuurd door vloeistofstromen die gecreëerd worden door cilia, trilharen die aan een cel vastzitten.

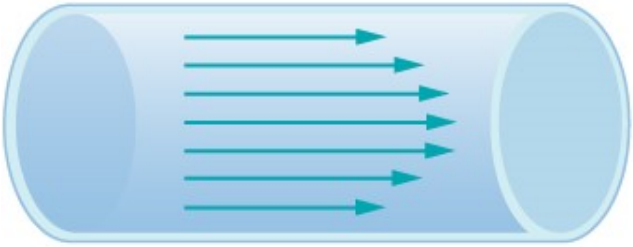


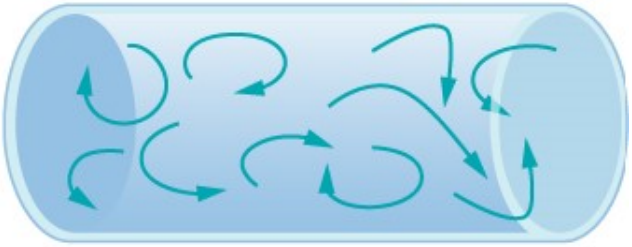
Afbeelding 1. Cilia. Elektronenmicroscopie-afbeelding van de cilia in de longen (links) en in de node van een muizenembryo (rechts). Afbeelding links: Charles Daghlian. Afbeelding rechts: PLOS Biology.

Cilia zijn een soort bewegende haartjes die aan de buitenkant uit een cel steken. Veel verschillende soorten cellen hebben cilia, en in het algemeen zorgen ze voor transport van vloeistof of deeltjes. De bekendste functie van cilia is het schoonhouden van onze luchtwegen. De cellen aan het oppervlak van je luchtpijp zijn bedekt met cilia die slijm en andere ongewenste dingen van je luchtpijp naar je mond bewegen — zie afbeelding 1 links.

Een specifieke groep embryonale cellen heeft ook cilia, namelijk de cellen in de zogeheten *node*. De node is een tijdelijke holte die zich vormt in een vroeg ontwikkelingsstadium van een embryo. De cilia in de node — zie afbeelding 1 rechts — draaien op een specifieke manier rond en zorgen ervoor dat vloeistof in de node van rechts naar links beweegt. Deze vloeistofstroom zorgt ervoor dat er een signaal wordt afgegeven dat leidt tot correcte orgaanplaatsing. Wetenschappers hebben dit kunnen vaststellen door de cilia van muizen en mensen met incorrecte orgaanplaatsing te bestuderen. In deze gevallen bewogen de cilia in de node niet, waardoor er geen vloeistofstroom van rechts naar links ontstond. Daarnaast hebben onderzoekers kunnen vaststellen dat gespiegelde orgaanplaatsing plaatsvond als de richting van de vloeistofstroom werd omgedraaid [1]. Deze bevindingen geven ons een goed kwalitatief beeld van de rol die cilia spelen bij orgaanplaatsing, maar om dit proces beter te begrijpen moeten we kwantitatief weten wat het effect is van vloeistofstromen in de node.

Op de kleine lengteschalen van cilia hebben vloeistofstromen specifieke eigenschappen en bewegen objecten in de vloeistof op een bijzondere manier. Het gedrag van vloeistofstromen wordt gekwantificeerd door het *Reynoldsgetal*. Het Reynoldsgetal geeft de verhouding tussen traagheid – het verschijnsel dat een voorwerp in dezelfde richting en met een constante snelheid blijft bewegen tenzij er een kracht op uitgeoefend wordt – en viscositeit – de stroperigheid van een vloeistof. Traagheid streeft ernaar een object in beweging te houden, terwijl viscositeit juist voor weerstand zorgt als een object zich door een vloeistof verplaatst. Hoe groter de viscositeit van de vloeistof, hoe meer weerstand een voorwerp ondervindt. Traagheid is sterker dan viscositeit als het Reynoldsgetal groter is dan 1. In dit geval zal een object nog voor langere tijd vooruit blijven bewegen zodra het voortduwen ervan stopt. Voor deze hoge waarden van het Reynoldsgetal kan de stroming erg chaotisch worden — *turbulente* stroming. Hierbij beweegt de vloeistof in wervels, zoals in afbeelding 2 rechts. Denk aan branding of snelstromende rivieren. Als het Reynoldsgetal kleiner dan 1 is, is viscositeit sterker dan de traagheid en beweegt de vloeistof altijd in mooie, rechte lagen. Dit heet *laminaire* stroming, te zien in afbeelding 2 links.

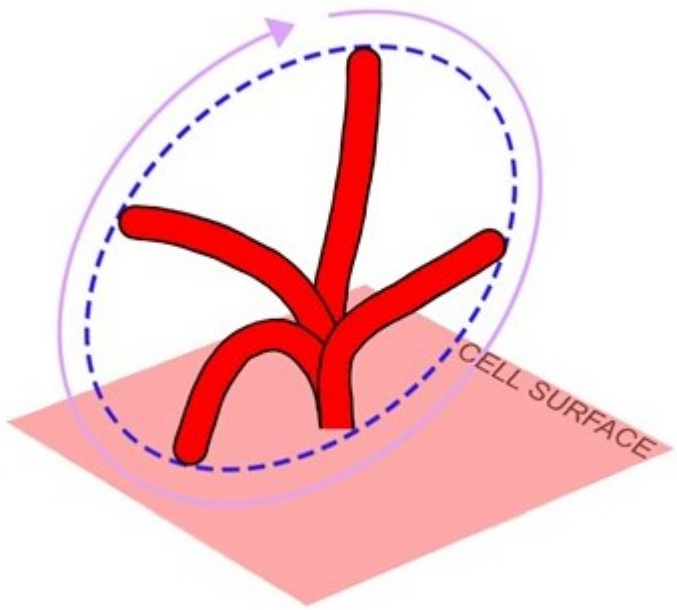




Afbeelding 2. Laminaire en turbulente stroming. Schematische weergave van laminaire vloeistofstroming (links) en turbulente vloeistofstroming (rechts). Afbeelding: University Physics Volume 1 (aangepast).

Voor heel kleine waarden van het Reynoldsgetal bewegen objecten in de vloeistof heel anders dan wij gewend zijn. In dit filmpje kan je goed zien welk effect dit heeft op objecten in de vloeistof. In een omgeving met een heel klein Reynoldsgetal zal een deeltje direct stilstaan als het niet meer voortgeduwd wordt, omdat traagheid nauwelijks een rol speelt. Daarnaast is er symmetrie in de tijd. Om dit goed te kunnen uitleggen bekijken we het voorbeeld van een video. In onze belevingswereld is er geen symmetrie in de tijd, en dat zorgt ervoor dat er een duidelijk verschil is tussen een video voor- of achteruit afspelen. Tijd loopt duidelijk maar in één richting, en de natuurkunde staat het niet toe om terug in de tijd te gaan. Als er symmetrie in de tijd is, kan je een video wél voor- of achteruit afspelen en zal dat niet uitmaken: beide richtingen zijn in overeenstemming met de natuurwetten.

Als dit laatste het geval is, kan je alleen nog maar zien dat je vooruit beweegt in de tijd als er duidelijke verschillen zijn tussen opeenvolgende bewegingen. Dat heeft als gevolg dat, in een omgeving met een laag Reynoldsgetal, symmetrische 'zwemslagen' geen beweging in de vloeistof teweeg kunnen brengen. Een symmetrische zwemslag is er een waarbij je met een bepaalde beweging je lichaam vervormt en vervolgens teruggaat naar je originele vorm door dezelfde beweging te maken in de tegenovergestelde richting. Een voorbeeld is met je benen op en neer gaan. Zo'n slag ziet er precies hetzelfde uit als je hem voor- of achteruit afspeelt en zal dus geen effect hebben als er symmetrie is in de tijd. Om bij heel kleine waardes van het Reynoldsgetal de vloeistof te laten bewegen, is het dus nodig om asymmetrische slagen te maken. Dat is precies het geval bij cilia. Om de symmetrie van hun slag te breken, draaien cilia in de node met de klok mee, onder een hoek van ongeveer 40° ten opzichte van het oppervlak van de cel — zie afbeelding 3. Het cilium ziet er op geen enkel moment van de slag hetzelfde uit en daardoor kan het de vloeistof in beweging brengen.



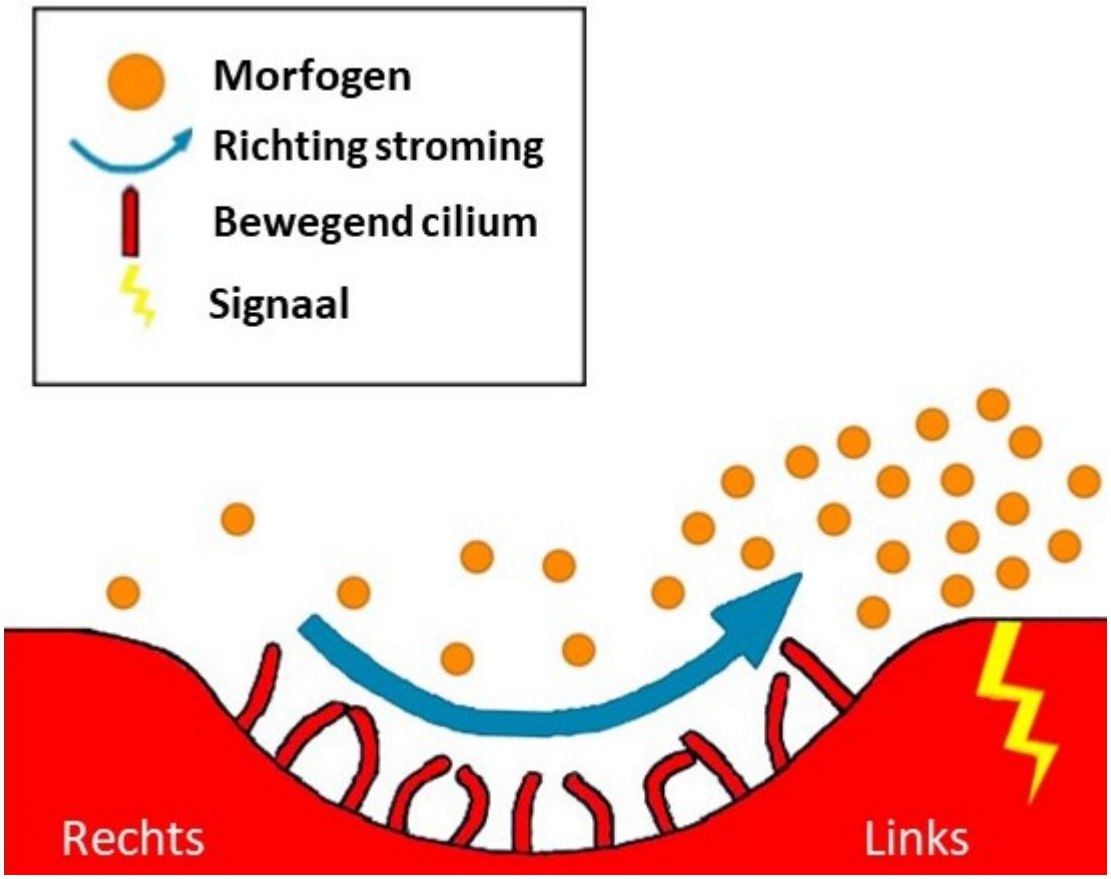
Afbeelding 3. Schematische tekening van de slag van een cilium in de node. Het cilium (rood) draait met de klok mee (paarse pijl) onder een hoek van 40° met het oppervalk van de cel (cell surface). Afbeelding aangepast van een afbeelding gemaakt door Maira Keiren voor de bachelor thesis van de auteur.

Het feit dat orgaanplaatsing bepaald wordt door laminaire vloeistofstromen in de node van embryo's is al langere tijd bekend. Men weet echter nog niet precies hoe deze vloeistofstromen ervoor zorgen dat er een signaal wordt afgegeven aan de cellen aan de linkerkant van de node, die vervolgens andere organen zullen vormen dan de cellen aan de rechterkant. Er zijn twee hypotheses: *chemosensing* en *mechanosensing*. Chemosensing betekent 'voelen door middel van chemische stoffen', en mechanosensing 'voelen door middel van mechanische veranderingen'. Er is ondersteunend bewijs voor beide hypotheses, maar tot op heden is nog steeds niet zeker welke van de twee hypotheses juist is. Laten we met de tot nu toe opgedane kennis wat uitgebreider kijken naar de hypotheses en de bewijzen voor beide.

Volgens de chemosensing-hypothese zorgen de vloeistofstromen in de node ervoor dat er meer morfogenen – speciale eiwitten die eigenschappen van cellen bepalen – aan de linkerkant van de node terechtkomen dan aan de rechterkant. Dit zorgt ervoor dat er een

hogere concentratie chemische stof is aan de linker- dan aan de rechterkant. Deze hogere concentratie leidt tot een signaal dat ervoor zorgt dat orgaanplaatsing goed verloopt — zie afbeelding 4. Om dit mogelijk te maken moet in de node *advectie* sterker zijn dan *diffusie*. Advectie is het proces waarbij deeltjes met de vloeistof mee bewegen. Bij diffusie bewegen de deeltjes juist op willekeurige wijze van een gebied met een hoge concentratie opgeloste stoffen naar een gebied met een lage concentratie. Diffusie zorgt er dus voor dat de concentratie van een opgeloste stof na verloop van tijd overal gelijk is. Een voorbeeld van diffusie is een druppel voedingskleurstof die zich verspreidt door water waardoor uiteindelijk het water overal dezelfde kleur krijgt. Het is dus essentieel voor de chemosensing-hypothese dat de laminaire stroming in de node sterker is dan de diffusie, want alleen op die manier kan er een verschil in concentratie ontstaan in de node.

Een van de bewijzen voor de chemosensing-hypothese is het bestaan van 'zakjes' gevuld met morfogenen in de node [2]. Door middel van computersimulaties van de stroming in de node hebben natuurkundigen aangetoond dat de vloeistofstroming sterk genoeg is om de zakjes met morfogenen te verplaatsen naar linkerkant van de node en een concentratie-verschil teweeg te brengen [3]. Het is echter niet duidelijk hoe deze zakjes open kunnen breken en de morfogenen kunnen afgeven, want het is bewezen dat de vloeistofstroom in de node zelf niet sterk genoeg is om dit teweeg te brengen [4].



Afbeelding 4. Chemosensing. De stroming die wordt gecreëerd door de cilia verplaatst morfogenen en zorgt voor een hogere concentratie aan de linkerkant van de node. Vertaalde versie van een afbeelding gemaakt door Maira Keiren voor de bachelor-scriptie van de auteur.

Volgens de mechanosensing-hypothese zijn sensorische cilia aan de randen van de node verantwoordelijk voor het voelen van de stroming — zie afbeelding 5. Sensorische cilia zijn een speciaal soort cilia die niet bewegen, maar juist signalen kunnen voelen en afgeven. Bijna alle soorten cellen hebben minstens één zo een cilium en biologen hebben vastgesteld dat er inderdaad sensorische cilia aan de randen van de node aanwezig zijn. Volgens de hypothese zouden deze cilia de vloeistofstroming voelen door middel van de *schuifspanning* die de stroming creëert op het oppervlak van de cel [5]. Schuifspanning is een kracht die ervoor zorgt dat een object vervormt zonder dat zijn volume verandert. Schuifspanning wordt opgewekt doordat in de node de vloeistof met een bepaalde snelheid beweegt, terwijl op het oppervlak van de node de snelheid van de vloeistof nul is, aangezien dat oppervlak zelf niet beweegt. Een eindje boven het oppervlak zal de stroming echter dezelfde snelheid hebben als de rest van de vloeistof. Dit betekent dat er een laag vloeistof dicht boven het oppervlak

is waarbij de snelheid van de vloeistof snel vermindert. Deze verandering in de snelheid zorgt voor schuifspanning op het oppervlak, op dezelfde manier als je schuifspanning creëert als je met je hand over een tafelblad wrijft. Hoe sneller de stroming, hoe groter de verandering in de snelheid bij het oppervlak, en des te groter de schuifspanning. Aangezien de stroming in de node sterker is aan de linker- dan aan de rechterkant, zal de schuifspanning links ook groter zijn dan rechts, en dit kan er mogelijk voor zorgen dat er aan de linkerkant van de node een signaal wordt afgegeven. Er is echter geen bewijs dat sensorische cilia in de node ook daadwerkelijk in staat zijn om schuifspanning te voelen.





Afbeelding 5. Mechanosensing. Niet bewegende, sensorische cilia aan de rand van de node voelen de stroming die gecreëerd wordt door de bewegende cilia in het midden van de node. Vertaalde versie van een afbeelding gemaakt door Maira Keiren voor de bachelor-scriptie van de auteur.

Wetenschappers zijn tot op de dag van vandaag bezig met het onderzoeken van welke van de twee hypotheses juist is. Veel onderzoekers denken dat het daadwerkelijke mechanisme voor orgaanplaatsing een combinatie is van chemo- en mechanosensing. Een mogelijk

mechanisme daarvoor is dat de stroming in de node zakjes met morfogenen naar links verplaatst en dat vervolgens de sensorische cilia deze openbreken. Ook hiervoor is echter helaas nog geen bewijs gevonden. Zelf heb ik mij over dit vraagstuk gebogen tijdens mijn bachelorondersoek door een computermodel te maken van 2 cilia, en de vloeistofstromen die deze creëren uit te rekenen en te bestuderen. Ik heb maar 2 cilia gebruikt voor mijn model omdat biologen hebben vastgesteld dat 2 werkende cilia genoeg zijn om de correcte orgaanplaatsing te bewerkstelligen [6]. Volgens mijn berekeningen was de chemosensing-hypothese aannemelijker dan mechanosensing, maar ook de combinatie van beide mechanismen lijkt mij een veelbelovende hypothese. Vanuit de natuurkunde hebben we nu een goed begrip van de vloeistofstromen in de node, dus nu is het tijd voor biologen om hierop verder te bouwen. Om een volledig begrip te krijgen van de processen in de node is het nodig om erachter te komen wat het signaal is dat zorgt voor asymmetrische orgaanplaatsing en wat sensorische cilia in de node wel of niet kunnen voelen. Om dit allemaal aan te tonen is nog veel interdisciplinair onderzoek nodig, waar genetici, natuurkundigen, biochemici én celbiologen bij betrokken zullen zijn.

Afbeelding voorpagina: via Wikiwijs.nl.

Referenties

[1] Nonaka, Shigenori, et al. "Determination of left–right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow." *Nature* 418.6893 (2002): 96-99.

[2] Hirokawa, Nobutaka, Yasushi Okada, and Yosuke Tanaka. "Fluid dynamic mechanism responsible for breaking the left-right symmetry of the human body: the nodal flow." *Annual review of fluid mechanics* 41 (2009): 53-72.

[3] Cartwright, Julyan HE, et al. "Embryonic nodal flow and the dynamics of nodal vesicular parcels." *Journal of The Royal Society Interface* 4.12 (2007): 49-56.

[4] Tanaka, Yosuke, Yasushi Okada, and Nobutaka Hirokawa. "FGF-induced vesicular release of Sonic hedgehog and retinoic acid in leftward nodal flow is critical for left–right determination." *Nature* 435.7039 (2005): 172-177.

[5] R. Ferreira, Rita, et al. "The cilium as a force sensor− myth versus reality." *Journal of Cell*

Science 132.14 (2019): jcs213496.

[6] Shinohara, Kyosuke, et al. "Two rotating cilia in the node cavity are sufficient to break left–right symmetry in the mouse embryo." *Nature communications* 3.1 (2012): 1-8.