

Aktuelle Forschung Medizintechnik – Latest Research
in Medical Engineering

RESEARCH

Tina Anne Schütz

Multiskalenmodellierung der Progression von Glioblastomen

Ein Ansatz unter der Berücksichtigung
molekularer und zellulärer Prozesse

 Springer Vieweg

Aktuelle Forschung Medizintechnik – Latest Research in Medical Engineering

Editor-in-Chief:

Th. M. Buzug, Lübeck, Deutschland

Unter den Zukunftstechnologien mit hohem Innovationspotenzial ist die Medizintechnik in Wissenschaft und Wirtschaft hervorragend aufgestellt, erzielt überdurchschnittliche Wachstumsraten und gilt als krisensichere Branche. Wesentliche Trends der Medizintechnik sind die Computerisierung, Miniaturisierung und Molekularisierung. Die Computerisierung stellt beispielsweise die Grundlage für die medizinische Bildgebung, Bildverarbeitung und bildgeführte Chirurgie dar. Die Miniaturisierung spielt bei intelligenten Implantaten, der minimalinvasiven Chirurgie, aber auch bei der Entwicklung von neuen nanostrukturierten Materialien eine wichtige Rolle in der Medizin. Die Molekularisierung ist unter anderem in der regenerativen Medizin, aber auch im Rahmen der sogenannten molekularen Bildgebung ein entscheidender Aspekt. Disziplinen übergreifend sind daher Querschnittstechnologien wie die Nano- und Mikrosystemtechnik, optische Technologien und Softwaresysteme von großem Interesse.

Diese Schriftenreihe für herausragende Dissertationen und Habilitationsschriften aus dem Themengebiet Medizintechnik spannt den Bogen vom Klinikingenieurwesen und der Medizinischen Informatik bis hin zur Medizinischen Physik, Biomedizintechnik und Medizinischen Ingenieurwissenschaft.

Editor-in-Chief:

Prof. Dr. Thorsten M. Buzug
Institut für Medizintechnik,
Universität zu Lübeck

Editorial Board:

Prof. Dr. Olaf Dössel
Institut für Biomedizinische Technik,
Karlsruhe Institute for Technology

Prof. Dr.-Ing. Tim C. Lüth
Micro Technology
and Medical Device Technology,
TU München

Prof. Dr. Heinz Handels
Institut für Medizinische Informatik,
Universität zu Lübeck

Prof. Dr. Dietrich Paulus
Institut für Computervisualistik,
Universität Koblenz-Landau

Prof. Dr.-Ing. Joachim Hornegger
Lehrstuhl für Mustererkennung,
Universität Erlangen-Nürnberg

Prof. Dr. Bernhard Preim
Institut für Simulation und Graphik,
Universität Magdeburg

Prof. Dr. Marc Kachelrieß
German Cancer Research
Center, Heidelberg

Prof. Dr.-Ing. Georg Schmitz
Lehrstuhl für Medizintechnik,
Universität Bochum

Prof. Dr. Edmund Koch,
Klinisches Sensoring und Monitoring,
TU Dresden

Tina Anne Schütz

Multiskalenmodellierung der Progression von Glioblastomen

Ein Ansatz unter der Berücksichtigung molekularer und zellulärer Prozesse

Tina Anne Schütz
Institut für Medizintechnik
Universität zu Lübeck
Lübeck, Deutschland

ISBN 978-3-658-07074-8
DOI 10.1007/978-3-658-07075-5

ISBN 978-3-658-07075-5 (eBook)

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer Vieweg

© Springer Fachmedien Wiesbaden 2015

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Springer Vieweg ist eine Marke von Springer DE. Springer DE ist Teil der Fachverlagsgruppe Springer Science+Business Media.
www.springer-vieweg.de

Vorwort des Reihenherausgebers

Das Werk *Multiskalenmodellierung der Progression von Glioblastomen - Ein Ansatz unter der Berücksichtigung molekularer und zellulärer Prozesse* von Dr. Tina Anne Schütz ist der 16. Band der Reihe exzellenter Dissertationen des Forschungsbereiches Medizintechnik im Springer Vieweg Verlag. Die Arbeit von Dr. Schütz wurde durch einen hochrangigen wissenschaftlichen Beirat dieser Reihe ausgewählt. Springer Vieweg verfolgt mit dieser Reihe das Ziel, für den Bereich Medizintechnik eine Plattform für junge Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zur Verfügung zu stellen, auf der ihre Ergebnisse schnell eine breite Öffentlichkeit erreichen.

Autorinnen und Autoren von Dissertationen mit exzellentem Ergebnis können sich bei Interesse an einer Veröffentlichung ihrer Arbeit in dieser Reihe direkt an den Herausgeber wenden:

Prof. Dr. Thorsten M. Buzug
Reihenherausgeber Medizintechnik

Institut für Medizintechnik
Universität zu Lübeck
Ratzeburger Allee 160
23562 Lübeck

Web: www.imt.uni-luebeck.de
Email: buzug@imt.uni-luebeck.de

Geleitwort

Das vorliegende Werk *Multiskalenmodellierung der Progression von Glioblastomen - Ein Ansatz unter der Berücksichtigung molekularer und zellulärer Prozesse* von Dr. Tina Anne Schütz fasst die Arbeiten einer Forschungsarbeit am Institut für Medizintechnik der Universität zu Lübeck zusammen. Es behandelt vor allem die Methoden der Modellierung von Zellen des menschlichen Gehirns auf molekularer Ebene insbesondere in pathologischen Zuständen. Die Dissertation ist eine grundlegende Arbeit zur phänomenologischen Vorhersage des Wachstumsverhaltens von primären Tumoren des Gehirns, speziell von Gliomen.

Die mathematische und computergestützte Modellierung der Progression primärer Hirntumore ist ein viel untersuchter Gegenstand der aktuellen Forschung mit einer verhältnismäßig langen Vorgeschichte. In der vorliegenden Arbeit wird eine Simulationsumgebung für die Multiskalenmodellierung von Tumorwachstum auf molekularer und zellulärer Ebene und ein Analyse-Ansatz für die Simulationsergebnisse von Grund auf neu entwickelt. Glioblastoma multiforme (GBM) ist der aggressivste und im Erwachsenenalter am häufigsten auftretende primäre Gehirntumor. Mit Hilfe moderner multimodaler Standardtherapie, bestehend aus chirurgischer Entfernung, Strahlentherapie und Chemotherapie, kann häufig nur der Großteil des Tumors beseitigt werden. Aufgrund des infiltrierenden, diffusen Wachstums des Glioblastoms in das umliegende Gehirngewebe und einer effektiven Unterdrückung des Immunsystems, kann lediglich eine mittlere Überlebensdauer von etwas mehr als einem Jahr erreicht werden.

Ein mächtiges Werkzeug, um beispielsweise Hypothesen über den (patientenindividuellen) Verlauf der Tumorerkrankung zu testen und damit das Verständnis für die Krankheit zu mehren, stellt hierbei die mathematische und computergestützte Modellierung dar. Das Werk von Tina Anne Schütz wendet sich hierbei der Beschreibung von Prozessen auf der molekularen und zellulären Ebene zu.

Tina Anne Schütz befasst sich unter anderem mit der mathematischen Modellierung der Progression von Tumoren des zentralen Nervensystems insbesondere im Rahmen eines neuen Multiskalenmodells, das die frühe Phase der Progression

eines Glioblastoms, welches die aggressivste Form des Hirntumors beim Menschen darstellt, abbildet. Das Modell, das in diesem Werk dargestellt wird, stellt Prozesse auf der molekularen und mikroskopischen Ebene dar. Es soll dazu beitragen, Faktoren, die das Wachstum beeinflussen, zu identifizieren sowie Hinweise auf neue Therapieansätze zu liefern.

Das Werk von Tina Anne Schütz ist in vielerlei Hinsicht als herausragend zu beurteilen. Insgesamt wird in der vorliegenden Arbeit ein neues Multiskalenmodell zur Abbildung des Wachstums von Glioblastomen hergeleitet und exzellent diskutiert. Das Modell wird durch den Vergleich mit in-vitro-Daten validiert und ermöglicht Rückschlüsse für die Biologie und Medizin anhand durchgeführter Simulationen. Insbesondere liefert das Modell Hinweise auf neue prognostische Marker für die Progression von Glioblastomen und auf neue Therapieansätze.

Prof. Dr. Thorsten M. Buzug
Institut für Medizintechnik
Universität zu Lübeck

Danksagung

An dieser Stelle nehme ich die schöne Gelegenheit wahr, Danke zu sagen. Ich möchte all den Menschen und Institutionen danken, ohne die die erfolgreiche Entstehung dieser Dissertation nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thorsten M. Buzug für die Bereitstellung des spannenden Themas und die Betreuung während meiner Zeit am Institut für Medizintechnik der Universität zu Lübeck. Seine Hinweise waren wertvolle Inspirationen für die inhaltliche Ausrichtung meiner Arbeit und er hat mir die Möglichkeit gegeben, selbstbestimmt und eigenständig zu arbeiten. Außerdem danke ich Frau Priv.-Doz. Dr. Bärbel Kunze für die Bereitschaft, das Amt der Zweitgutachterin zu übernehmen, und für die Zeit, die sie sich genommen hat, um einer Mathematikerin Fragen im Bereich der Molekularbiologie verständlich zu beantworten.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Alfred Mertins für die Übernahme des Vorsitzes meiner Prüfungskommission sowie Herrn Prof. Dr. Dirk Petersen und Herrn Priv.-Doz. Dr. Jens Christian Claussen für die Betreuung im Rahmen des Doktorandenprogramms der Graduate School for Computing in Medicine and Life Sciences der Universität zu Lübeck. Der Graduate School for Computing in Medicine and Life Sciences danke ich für die finanzielle Unterstützung sowie für die Ermöglichung der Teilnahme an vielen interessanten Seminaren.

Meiner Mutter, meiner Schwester und Christian Schuft danke ich für das gründliche Korrektur-Lesen meiner Arbeit. Dank euch sind viele Sätze kürzer und verständlicher geworden.

Meinen Eltern, Ilona Rahsner-Schütz und Karl-Heinz Schütz, danke ich außerdem von Herzen für ihr Verständnis, ihren uneingeschränkten Rückhalt und ihre Liebe. Danke, dass ihr immer und überall für mich da seid. Lena Maren Schütz danke ich dafür, dass sie die beste Schwester ist, die man sich vorstellen kann: ehrlich und aufmunternd. Danke, dass du mich immer wieder überraschst.

Zu guter Letzt gilt mein Dank Christian Schuft. Danke, dass du stets an mich glaubst, mich liebevoll unterstützt und immer an meiner Seite stehst. Danke!

Kurzfassung

In dieser Arbeit wird ein neues Multiskalenmodell vorgestellt, das die frühe Phase der Progression eines Glioblastoms, welches die aggressivste Form des Hirntumors beim Menschen darstellt, abbildet. Das Modell stellt Prozesse auf der molekularen und mikroskopischen Ebene dar. Es soll dazu beitragen, Faktoren, die das Wachstum beeinflussen, zu identifizieren sowie Hinweise auf neue Therapieansätze zu liefern.

Um mehrere Skalen abzubilden, wird ein hybrides Modell auf der mikroskopischen Ebene mit dem Modell eines molekularen Interaktionsnetzwerkes gekoppelt. Einzelne Zellen stellen die Agenten eines agentenbasierten Modells dar. Das Modell des molekularen Interaktionsnetzwerkes in Form eines Systems nichtlinearer gewöhnlicher Differentialgleichungen wird in dieser Arbeit hergeleitet und bildet einen zuvor beschriebenen Glioblastom-relevanten Signalweg ab. Basierend auf der Auswertung der intrazellulären Molekülkonzentrationen werden die Zellzustände und -aktionen der einzelnen Agenten bestimmt. Außerdem wird in dieser Arbeit vorgestellt, wie das Multiskalenmodell um die Modellierung der Krebsstammzellhypothese erweitert werden kann.

Das Multiskalenmodell wird ausgewertet, indem zunächst das DGL-System theoretisch untersucht wird. Darauf aufbauend werden *In-silico*-Simulationen durchgeführt, um das Modell zu validieren und neue Daten zu gewinnen. Das Modell bildet wesentliche Eigenschaften lebender Systeme ab und die modellierten Zusammenhänge sind vergleichbar zu *In-vitro*-Ergebnissen. Die Simulationen zeigen neben einem realistischen Tumoraufbau, dass die Nährstoffbedingungen, in denen ein Tumor wächst, einen wesentlichen Einfluss auf die Aggressivität und Invasivität des Wachstums haben.

Neben der Glukosekonzentration haben viele weitere Parameter einen maßgeblichen Einfluss auf das Wachstum des simulierten Tumors. Hierbei sind vor allem die Reaktionskonstanten des molekularen Netzwerkes von Interesse. Um das Multiskalenmodell adäquat zu untersuchen, wird in dieser Arbeit des Weiteren eine

Sensitivitätsanalyse vorgestellt. Diese erstreckt sich ebenfalls über mehrere Modellierungsebenen und berücksichtigt erstmals verschiedene Nährstoffbedingungen.

Die Auswertung dieser Analyse zeigt, dass die Modifikationen einiger Parameter in einer ausgeprägten Verlangsamung der Ausbreitungsgeschwindigkeit oder der deutlichen Reduzierung des Volumens der jeweils simulierten Tumore resultiert. Diese Parameter sind somit geeignet, Vorhersagen zum Krankheitsverlauf zu treffen und könnten in Zukunft in Ergänzung zu bereits bekannten molekularen Indikatoren in die Prognose der Tumor-Progression einbezogen werden. Abschließend wird die Auswirkung der simultanen Modifikation zweier Parameter untersucht, die gezielt aus der Liste aller Parameter gewählt werden. Einige Kombinationen können daraufhin identifiziert werden, die einen Therapieerfolg simulieren, d. h. die zugehörigen *In-silico*-Experimente resultieren in kleineren, langsamer wachsenden Tumoren.

Insgesamt wird in der vorliegenden Arbeit ein neues Multiskalenmodell zur Abbildung des Wachstums von Glioblastomen hergeleitet und diskutiert. Das Modell kann durch den Vergleich mit *In-vitro*-Daten validiert werden und anhand durchgeführter Simulationen lassen sich Rückschlüsse für die Biologie und Medizin ziehen. Insbesondere liefert das Modell Hinweise auf neue prognostische Marker für die Progression von Glioblastomen und auf neue Therapieansätze.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Tumorwachstumsmodelle	4
1.2. Das Glioblastom-Multiskalenmodell dieser Arbeit	10
1.3. Gliederung der Arbeit und zugehörige Veröffentlichungen	12
2. Medizinische und biologische Modellgrundlagen	15
2.1. Maligne Tumore	15
2.1.1. Glioblastoma multiforme	19
2.2. Gene, Proteine und Zellsignale	23
2.2.1. Transkription und Translation	26
2.2.2. Regulierung zellulärer Funktionen und microRNAs	28
2.3. Steuerung des Zellphänotyps mittels microRNA-451	31
3. Modellierungsgrundlagen	35
3.1. Reaktionskinetik und gewöhnliche DGL	36
3.1.1. Reaktionen mit Modifikatoren	40
3.2. Rechnergestützte Modellierung	45
3.2.1. Agentenbasierte Modellierung	46
4. Multiskalenmodell	49
4.1. Molekulare Ebene	50
4.1.1. Das grundlegende Modell	50
4.1.2. Entdimensionalisierung	59
4.1.3. Modell-Vereinfachung und -Erweiterung	61
4.1.4. Das finale Modell	64
4.2. Mikroskopische Ebene	66
4.2.1. Definition der Agenten und ihrer Umgebung	68
4.2.2. Chemotaxis: Bewegung der Agenten in ihrer Umgebung	73
4.3. Kopplung der molekularen und mikroskopischen Ebenen	75
4.3.1. Bestimmung des neuen Zustandes eines Agenten	75
4.3.2. Der kombinierende Modell-Algorithmus	78
4.4. Stammzellen und Mutationen	79

5. Existenz- und Stabilitätsanalyse des DGL-Systems	83
5.1. Mathematische Grundlagen	84
5.2. Anwendung der Theorie auf das DGL-System (4.45) - (4.53)	88
5.2.1. Existenz, Eindeutigkeit und Stetigkeit einer Lösung	88
5.2.2. Berechnung der Gleichgewichte und deren Stabilität	89
5.2.3. Berechnung der Lyapunov-Exponenten und Schlussfolgerungen zur Stabilität	92
5.3. Diskussion	93
6. Auswertung des Multiskalenmodells	97
6.1. Molekulares Interaktionsnetzwerk	98
6.1.1. Ergebnisse	98
6.1.2. Diskussion	101
6.2. Verhalten des Multiskalenmodells	103
6.2.1. Ergebnisse	104
6.2.2. Diskussion	111
6.3. Einfluss der Krebsstammzellhypothese	116
6.3.1. Ergebnisse	117
6.3.2. Diskussion	125
7. Sensitivitätsanalyse des Multiskalenmodells	129
7.1. Grundlagen von Sensitivitätsanalysen	129
7.2. Multiskalen-Sensitivitätsanalyse erster Ordnung	132
7.2.1. Vorgehen	132
7.2.2. Ergebnisse	133
7.2.3. Diskussion	140
7.3. Erweiterung der Sensitivitätsanalyse erster Ordnung	143
7.3.1. Vorgehen	143
7.3.2. Ergebnisse	144
7.3.3. Diskussion	150
8. Zusammenfassung und Ausblick	153
8.1. Zusammenfassung	153
8.2. Ausblick	155
A. Details zur Stabilitätsanalyse	159
A.1. Berechnung der Gleichgewichtspunkte für die Analyse in Kapitel 5	159
A.2. Aufstellung der Jacobi-Matrix	162
B. Verzeichnis häufig verwendeter Abkürzungen	165
C. Verzeichnis häufig verwendeter Variablen	167
Literaturverzeichnis	169

Einleitung

In Deutschland erkranken jedes Jahr knapp 500 000 Menschen neu an Krebs (RKI u. GEKID 2012). Obwohl viele Therapien zur Behandlung bösartiger Tumore existieren, ist Krebs die zweithäufigste Todesursache in Deutschland mit einer steigenden Tendenz (Statistisches Bundesamt 2012). Einige Tumorentitäten sind gut therapierbar und können in vielen Fällen vollständig geheilt werden. Für maligne Melanome der Haut, Hoden- sowie Prostatakrebs liegt die 5-Jahres-Überlebensrate bei mehr als 90 % (RKI u. GEKID 2012). In solchen Fällen ist die Diagnose Krebs nicht mehr gezwungenermaßen ein Todesurteil. Andere Tumore, wie etwa Lungen-, Speiseröhren- oder Bauchspeicheldrüsenkrebs, lassen sich nur schlecht therapieren und die Patienten haben eine geringe Lebenserwartung. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt in diesen Fällen bei weniger als 20 % (RKI u. GEKID 2012).

Der letzten Kategorie lassen sich auch Glioblastome zuordnen. Glioblastome sind die häufigsten bösartigen Hirntumore bei Erwachsenen mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von nur 4,7 % (Dolecek et al. 2012). Das Gehirn ist das Schaltzentrum des menschlichen Körpers, das von einem starren Schädel umgeben ist. Deshalb führt ein aggressiv wachsender Hirntumor wie das Glioblastom zu sich schnell ausweitenden Funktionsstörungen im gesamten Körper. Die Symptome erstrecken sich von Kopfschmerzen bis hin zu neurologischen Ausfällen, wie Seh- oder Bewegungsstörungen (je nach Lokalisation des Tumors). Beispielhafte Magnetresonanztomographie-Aufnahmen eines Glioblastoms eines 48 Jahre alten Patienten, bei dem sich kognitive Störungen gezeigt haben, sind in Abbildung 1.1 dargestellt.

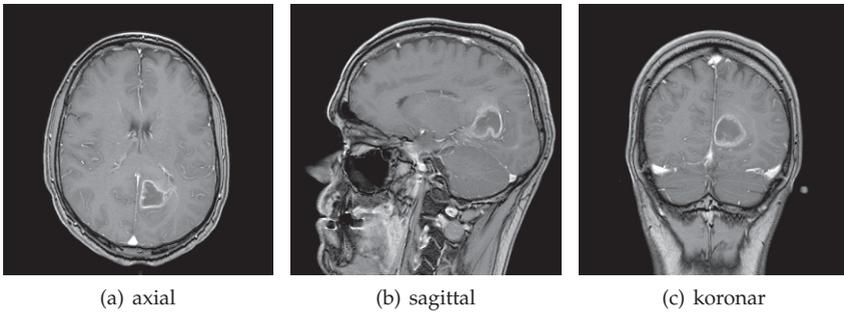


Abbildung 1.1.: T1-gewichtete Magnetresonanztomographie-Aufnahmen eines 48 Jahre alten, männlich Patienten mit einem Glioblastom im Corpus callosum und linken occipitalen Marklager mit Beteiligung des occipitalen Cortex.¹

Die Aggressivität des Glioblastoms zeigt sich unter anderem in einem stark infiltrierenden Wachstum, wobei einzelne Zellen in gesundes Gewebe eindringen. Des Weiteren zeichnen sich Glioblastome durch eine erhöhte Angiogeneserate aus, also durch das vermehrte Wachstum neuer Blutgefäße. Durch dieses Verhalten wird sichergestellt, dass die Versorgung mit Nährstoffen (Sauerstoff, Glukose, ...) in einem ausreichenden Maß gewährleistet wird. Eine ausreichende Versorgung mit Nährstoffen ist essentiell für das Überleben und Wachstum der einzelnen Tumorzellen und somit des gesamten Tumors.

Ein weiteres Kennzeichen von Glioblastomen ist die große Variabilität der Mutationsprofile der Tumorzellen. Aufgrund dieser setzen sich Glioblastome aus einer sehr heterogenen Tumorpopulation zusammen, die aus Tumorzellen mit unterschiedlichen intra- und interzellulären Fehlfunktionen besteht. Diese Störungen auf der molekularen Ebene haben große Auswirkungen für den Patienten, da sie beeinflussen, wie der Tumor wächst und auf Therapien anspricht. Der Erfolg von Therapien wird außerdem durch die Blut-Hirn-Schranke, Resistenzen von Krebsstammzellen sowie vielen weiteren Faktoren beeinflusst.

Die Behandlung eines Glioblastoms umfasst für gewöhnlich die Resektion des Tumors gefolgt von einer Kombination aus Strahlen- und Chemotherapie. Neben der Optimierung dieser Behandlungsmethoden wird aktuell außerdem an neuen Therapien geforscht, die spezifische, fehl-regulierte Proteine oder Moleküle in den Tumorzellen beeinflussen sollen. Dieses Forschungsfeld beschränkt sich nicht länger auf die klassischen Disziplinen Medizin, Biologie und Pharmazie. Stattdessen wurde erkannt, dass ein interdisziplinäres Umfeld zusätzliche Erfolgsaussichten

¹Die Bilder wurden freundlicherweise vom Institut für Neuroradiologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, zur Verfügung gestellt.

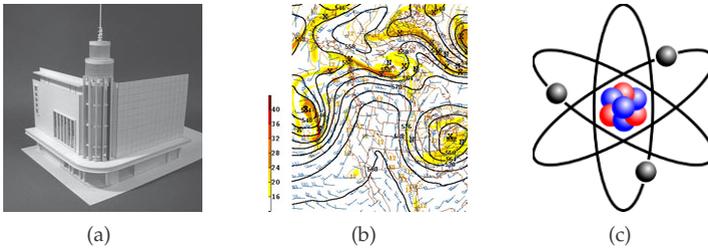


Abbildung 1.2.: Modelle (a) in der Architektur², (b) zur Wettervorhersage³ und (c) des Aufbaus von Atomen⁴.

bietet. So arbeiten schon heute Physiker, Informatiker und Ingenieure an der Optimierung von Strahlentherapien und die Analyse des genetischen Materials von Tumorzellen wäre ohne den Einsatz von Computern nicht möglich. Mathematische und rechnergestützte Modelle bieten eine weitere Möglichkeit, die Krebsforschung zu unterstützen.

Ein Modell ermöglicht es, Teile der Realität in Form (vereinfachter) Nachbildungen physisch oder virtuell zu untersuchen (vgl. Abbildung 1.2). Mittels Modellen können verschiedene Situationen simuliert werden, ohne dass diese in der Realität tatsächlich stattfinden. Durch die Anwendung von Modellierung können somit Ressourcen (Zeit, Material, Platz, ...) eingespart werden und ethisch nicht zu vertretende Experimente vermieden werden. Darüber hinaus ist eine gewisse Reproduzierbarkeit der Simulationsergebnisse sichergestellt, da die Ausgangssituation einzelner Simulationen klar definiert werden kann. In der Klasse der mathematischen und rechnergestützten Modellierung werden Prozesse mit mathematischen und semantischen Werkzeugen beschrieben. Auf diese Art werden virtuelle Modelle erzeugt, die in der Regel im Computer *in silico* simuliert werden.

Mathematische und rechnergestützte Modelle in der Medizin können zu einem besseren Verständnis von Krankheitsprozessen führen und Informationen zur Prognose des Krankheitsverlaufes beisteuern. Darüber hinaus können sie Hinweise zum Erfolg von Therapien liefern, Optimierungsmöglichkeiten existierender Behandlungen aufzeigen und einen Beitrag zur Entwicklung neuer Therapien leisten. Deshalb werden solche Modelle zunehmend in der Erforschung von Tumorprogression und -therapie angewendet.

Ein derartiges Modell, das die frühe Wachstumsphase eines Glioblastoms abbildet, wird in dieser Arbeit vorgestellt und auf seine Validität hin evaluiert. Ferner wird

²AC Studio/wikipedia/Cc-by-3.0

³NWS/wikipedia/gemeinfrei

⁴Halfdan/wikipedia/Cc-by-3.0

ausgehend von dem Modell analysiert, ob sich Ansatzpunkte für neue Therapien identifizieren lassen.

1.1. Tumorwachstumsmodelle

Das Wachstum von Tumoren ist ein Vorgang, der sich über mehrere räumliche Ebenen erstreckt, wobei auf jeder Ebene unterschiedliche Prozesse relevant sind. Auf der *makroskopischen* Ebene wird der Tumor als Ganzes beschrieben, wie er beispielsweise auf Magnetresonanztomographie-Aufnahmen sichtbar ist. Auf der *mikroskopischen* Ebene steht die Interaktion von Tumorzellen mit ihrer Mikroumgebung und anderen Zellen im Vordergrund, wie sie etwa unter dem Mikroskop zu beobachten ist. Intrazelluläre Prozesse, wie Veränderungen der DNA oder Regulierungen von Signalen, sind hingegen Teil der *molekularen* Ebene. Den verschiedenen Prozessen entsprechend gibt es Modelle auf den unterschiedlichen Ebenen, die Teilaspekte des Tumorwachstums abbilden. Einige dieser Modellierungsansätze sollen an dieser Stelle kurz vorgestellt werden. Gute Übersichten finden sich u. a. in Materi u. Wishart (2007); Bellomo et al. (2008); Wang u. Deisboeck (2008); Byrne u. Drasdo (2009); Rejniak u. Anderson (2011).

Modellierung auf der makroskopischen Ebene Auf der makroskopischen Ebene wird ein Tumor meist in Form von (normalisierten) Tumorzelldichten beschrieben, die örtlich und zeitlich variieren, indem physikalische Gesetze und medizinische Beobachtungen abgebildet werden. Diese Modellbeschreibung basiert aus mathematischer Perspektive auf partiellen Differentialgleichungen. Viele Modelle für das Wachstum von Glioblastomen (Swanson et al. 2000; Murray 2002; Clatz et al. 2005) basieren auf einer Reaktions-Diffusions-Gleichung der Form

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (D(x)\nabla u) + S(u). \quad (1.1)$$

Hierbei ist u die Tumorzelldichte, D der Diffusionskoeffizient und S eine Wachstumsfunktion. Die Änderung der Tumorzelldichte wird durch Bewegung der Tumorzellen (beschrieben durch den Diffusionsterm) und Entstehung neuer Zellen (beschrieben durch den Reaktionsterm) verursacht. Mittels des Diffusionskoeffizienten D ist es möglich, verschiedene Formen der Diffusion abzubilden. So kann mittels eines anisotropen Diffusionstensors berücksichtigt werden, dass Zellbewegungen eher entlang von Nervenfasern erfolgen, und ein raumabhängiger Diffusionskoeffizient kann benutzt werden, um darzustellen, dass sich Zellen in weißer Hirnmasse schneller bewegen als in grauer. Durch die Wahl des Wachstumsterms $S(u)$ können verschiedene Formen des Wachstums modelliert werden. So beschreibt $S(u) = \rho \cdot u$

unbeschränktes Wachstum, während $S(u) = \rho \cdot u \cdot \ln(u_{max}/u)$ das *Gompertzsche* Wachstumsmodell (Laird 1964) umsetzt (mit der Netto-Wachstums-Rate $\rho \in \mathbb{R}^+$ und der maximalen Kapazität u_{max}).

Verschiedene weitere Effekte können in dieses allgemeine Wachstumsmodell integriert werden. Mechanische Wechselwirkungen in Form des Masseneffektes sind u. a. von Clatz et al. (2005); Hogeia et al. (2007); Becker et al. (2010a); Mang et al. (2012f) untersucht worden. Die Auswirkungen von Therapien können in Form eines negativen Terms ($-T(u)$) in das Modell aufgenommen werden. Dies wurde u. a. in Swanson et al. (2002); Rockne et al. (2008, 2009) diskutiert. Des Weiteren ist ein aktuelles Forschungsthema im Bereich makroskopischer Tumorwachstumsmodelle die Patientenindividualisierung, also die Schätzung patientenspezifischer Parameter oder die Vorhersage patientenindividueller Therapieergebnisse (Konukoglu et al. 2010; Rockne et al. 2010).

Modellierung auf der mikroskopischen Ebene Die Beschreibung des Tumors auf der makroskopischen Ebene in Form von Tumorzellichten impliziert eine Durchschnittsbildung. Individuelle zelluläre Prozesse (Zell-Zell- und Zell-Umgebungs-Interaktionen) werden vernachlässigt und es besteht keine Möglichkeit, Abläufe mit einer kleineren räumlichen Auflösung zu betrachten (Byrne u. Drasdo 2009).

Dieses Problem umgehen Modelle, die Tumorwachstum auf der mikroskopischen Ebene abbilden. Solche Modelle beschränken sich auf ein kleineres räumliches Gebiet und modellieren z. B. nicht das gesamte Gehirn sondern nur einen kleinen Ausschnitt oder *In-vitro*-Experimente. Dafür berücksichtigen sie mehr Details. Zumeist sind Modelle auf der mikroskopischen Ebene individuenbasiert, d. h. das Verhalten individueller Zellen wird abgebildet und untersucht. Hierdurch ergibt sich eine *diskrete* Beschreibung des Problems. Außerdem integrieren viele Tumorwachstumsmodelle auf der mikroskopischen Ebene zusätzliche Informationen zur Umgebung in Form von Konzentrationen oder Dichten. Diese werden überwiegend mit *kontinuierlichen* Formulierungen (z. B. partiellen Differentialgleichungen) abgebildet. Die Kombination der beiden Modellierungsansätze wird deshalb als *hybrides* Modell bezeichnet.

Diskrete Modelle lassen sich im Wesentlichen in die Klasse der *gitterbasierten* oder die Klasse der *gitterfreien* Modelle einteilen (Rejniak u. Anderson 2011, vgl. Abbildung 1.3). In gitterbasierten Modellen wird das betrachtete Gebiet mit einem strukturierten Gitter (basierend auf Quadraten oder Hexagonen) diskretisiert. Je nach untersuchter Fragestellung übernimmt eine Gitterzelle unterschiedliche Funktionen. So kann eine Gitterzelle mehrere Zellen beinhalten (Basanta et al. 2008; Piotrowska u. Angus 2009), was jedoch erneut mit einer Durchschnittsbildung einhergeht. Am häufigsten vertreten sind Modelle mit einer Eins-zu-Eins-Korrespondenz von Gitterzellen und biologischen Zellen, d. h. eine Gitterzelle ist leer oder aber enthält

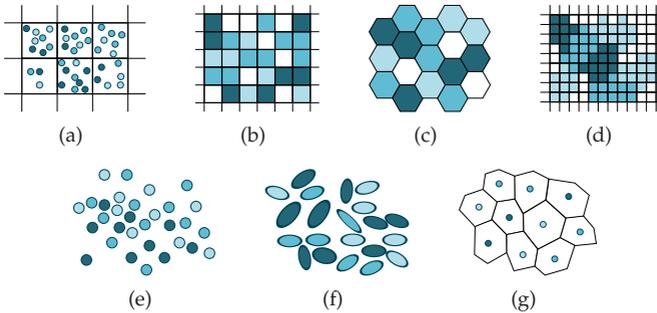


Abbildung 1.3.: Diskretisierung von Modellen der mikroskopischen Ebene. (a) - (d) stellen gitterbasierte Modellierungsansätze dar, (e)-(g) gitterfreie. In (a) befinden sich mehrere biologische Zellen in einer Gitterzelle, in (b) und (c) ist eine Eins-zu-Eins-Beziehung von biologischen Zellen und Gitterzellen für quadratische und hexagonale Gitter dargestellt. (d) zeigt ein zelluläres Potts-Modell, (e) und (f) kreis- und ellipsenförmige Zellen und (g) eine zellzentrierte Voronoi-Diskretisierung.

genau eine biologische Zelle (Dormann u. Deutsch 2002; Anderson 2005; Anderson et al. 2009; Bankhead et al. 2007; Gevertz u. Torquato 2009). Diese beiden Formen der gitterbasierten Modellierung werden meist durch zelluläre Automaten oder agentenbasierte Modelle umgesetzt. Soll die Form der Zelle zumindest annähernd abgebildet werden, so kommen zelluläre Potts-Modelle zum Einsatz, in denen eine biologische Zelle sich über mehrere Gitterzellen erstreckt (Stott et al. 1999; Rubenstein u. Kaufman 2008; Shirinifard et al. 2009; Poplawski et al. 2010).

Neben der Vernachlässigung der äußeren Form der biologischen Zellen sind in gitterbasierten Modellen auch die Bewegungs- und Kommunikationsmöglichkeiten der biologischen Zellen durch die beschränkte Anzahl der Nachbarn sehr eingeschränkt. Dieses Problem versuchen gitterfreie Modelle zu umgehen (Drasdo u. Hoehme 2005; Galle et al. 2005, 2006; Schaller u. Meyer-Hermann 2005; Ramis-Conde et al. 2009). In diesen Modellen werden Zellen durch Kreise, Ellipsen oder Polygone (bzw. deren dreidimensionale Repräsentanten) verkörpert. Für alle Zellen werden der Abstand zu den nächsten Nachbarn und einige biologische und biophysikalische Eigenschaften definiert. Dies erlaubt eine variabelere Gestaltung der Zellformen und -eigenschaften sowie eine realistischere Abbildung der Nachbarschaft.

Der Hauptschwerpunkt von Modellen auf der mikroskopischen Ebene liegt in der Untersuchung des Einflusses der Mikroumgebung (Nährstoffkonzentrationen, extrazelluläre Matrix, ...) auf das Tumorwachstum (Anderson et al. 2006; Gerlee u. Anderson 2009; Andasari et al. 2011; Jiao u. Torquato 2011). Ein weiterer Fokus

liegt auf der Modellierung von Angiogenese, also dem Wachstum neuer Blutgefäße, die den Tumor mit Nährstoffen versorgen (Anderson u. Chaplain 1998; Owen et al. 2009; Perfahl et al. 2011), und den Interaktionen der Tumorzellen mit dem Immunsystem (Lollini et al. 2006; Mallet u. De Pillis 2006; Kim u. Lee 2012). Außerdem werden die Auswirkungen von Therapien modelliert (Ribba et al. 2004; Enderling et al. 2009; Reis et al. 2009). Des Weiteren berücksichtigen einige Modelle die Krebsstammzellhypothese, derzufolge nur ein Teil aller Tumorzellen über ein unbeschränktes Replikationspotenzial verfügt (Sottoriva et al. 2010, 2013; Enderling u. Hahnfeldt 2011; Enderling et al. 2013).

Modellierung auf der molekularen Ebene Zelluläre Prozesse wie Migration und Proliferation werden zwar von der Mikroumgebung der Tumorzellen beeinflusst, doch findet die eigentliche Steuerung dieser Prozesse auf der Ebene von Genen und Proteinen statt. Modelle auf der mikroskopischen Ebene vereinfachen das Zellverhalten, indem der intrazelluläre Zustand ignoriert oder sehr stark abstrahiert wird. Demgegenüber wird mittels der Modellierung auf der molekularen Ebene anhand einer einzelnen Zelle versucht, krebsrelevante Gene zu identifizieren oder intrazelluläre Signalweiterleitungen zu untersuchen.

Interaktionen von Molekülen resultieren in Konzentrationsänderungen der beteiligten Moleküle, was innerhalb einer Zelle als Signal interpretiert wird. Diese Interaktionen werden in der Regel in Form von *molekularen Netzwerken* dargestellt, die z. B. beschreiben, welche Auswirkungen das Bilden von Proteinkomplexen oder die Phosphorylierung einzelner Proteine hat. Mithilfe der (verallgemeinerten) Massenwirkungskinetik (Schauer u. Heinrich 1983; Heinrich u. Schuster 1996) lassen sich diese Interaktionen in Form von gewöhnlichen Differentialgleichungen beschreiben: Bezeichnen x_1 und x_2 die Konzentrationen zweier verschiedener Moleküle, so ist eine typische Form der Gleichung für die zeitliche Änderung der Konzentration x_1

$$\frac{dx_1}{dt} = k^+ \cdot x_2 - k^- \cdot x_1$$

mit den Reaktionskonstanten k^+ und k^- . Ein vollständiges Netzwerk wird insgesamt durch ein gekoppeltes System (zum Teil nichtlinearer) gewöhnlicher Differentialgleichungen beschrieben.

Anhand molekularer Netzwerke wird meist untersucht, welche Auswirkungen die Veränderung eines oder mehrerer Parameter hat. So wurden in Alarcón et al. (2004) zwei einfache Signalnetzwerke zur Beschreibung des Zellzyklus von gesunden und Tumorzellen vorgestellt, die jeweils mit Hilfe von fünf nichtlinearen gekoppelten Differentialgleichungen beschrieben werden. Basierend auf diesen Netzwerken wurde untersucht, welche Auswirkungen Hypoxie (also eine Mangelversorgung

mit Sauerstoff) auf den Zellzyklus der beiden Zelltypen hat. Araujo et al. (2005) haben ein Netzwerk ausgehend von den Signalen des EGF-Rezeptors, der in vielen Tumorentitäten überexprimiert und in das Zellwachstum involviert ist, in Form von 23 gewöhnlichen Differentialgleichungen repräsentiert. Mithilfe dieser Gleichungen wurde simuliert, welche Folgen die Hemmung dreier beteiligter Phosphorylierungsreaktionen hat, die mittels Kinase-Inhibitoren erreicht werden könnte. Es existieren viele weitere Modelle für Tumorzellen, die auf molekularen Interaktionsnetzwerken basieren und unterschiedliche Aspekte untersuchen. Die Anzahl der beteiligten Moleküle kann hierbei sehr groß werden, so dass Modelle mit mehreren hundert Gleichungen existieren (vgl. u. a. Chen et al. 2009).

Liegt der Fokus der Modellierung auf Gen-Netzwerken, so werden Boole'sche Netzwerke vorgezogen, die keine Konzentrationen, sondern den Status eines Gens als *an-* oder *ausgeschaltet* beschreiben. Eine Anwendung liegt in der Identifizierung von Genen, bzw. deren Mutationen, die für die Entstehung eines Tumors verantwortlich gemacht werden können (Nagaraj u. Reverter 2011; Kumar et al. 2013). Zudem werden mittels Boole'scher Netzwerke krebisrelevante Gen-Interaktionen (Layek et al. 2011; Lin u. Khatri 2012) und microRNA-Netzwerke (Zhao u. Dong 2013) untersucht.

Einen weiteren Ansatz zur Identifikation von Genmutationen, die an der Entstehung von Tumoren beteiligt sind, stellen Monte-Carlo-Simulationen basierend auf Markov-Ketten dar (Tran et al. 2011; Vandin et al. 2012). Mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen wurde außerdem beispielsweise in Mayawala et al. (2005) die Bindung des Wachstumsfaktors EGF an den Rezeptor EGFR untersucht.

Multiskalenmodellierung Die verschiedenen bisher vorgestellten Modelle bilden unterschiedliche Aspekte ab, die relevant für das Wachstum von Tumoren sind. Sie beschränken sich dabei allerdings jeweils auf eine einzelne Modellierungsebene. Tumorwachstum ist jedoch ein Prozess, der sich – wie bereits gesehen – über mehrere Skalen erstreckt. Um eine umfassende Beschreibung des Wachstums von Tumoren zu erhalten, reicht es deshalb nicht aus, sich auf eine Modellierungsebene zu beschränken. Ein wesentlicher Schritt in Richtung einer vollständigeren Abbildung von Tumorwachstum liegt deshalb in der Multiskalenmodellierung. Modelle dieser Klasse decken zwei oder mehr Ebenen ab. Für gewöhnlich wird dabei jede Ebene durch ein einzelnes Modell beschrieben, wobei die einzelnen Modelle Informationen untereinander austauschen. Gute Übersichten zu Multiskalenmodellen zur Beschreibung von Tumorwachstum finden sich u. a. in Deisboeck et al. (2011) und Deisboeck u. Stamatakos (2011).

Die meisten Multiskalenansätze stellen eine Verknüpfung zwischen Modellen auf der molekularen Ebene und solchen auf der mikroskopischen Ebene her. Hierbei wird für jede einzelne Zelle ein molekulares Netzwerk (in Form eines Systems von