Mathematische Modellierung in der Systembiologie

Beispiel einer Simulation der desmoplastischen Stromareaktion

Problemstellung

Anhand einer Simulation soll exemplarisch untersucht werden, in welcher Weise Haptotaxis und Chemotaxis als gerichtete Migrationsimpulse das histologische Bild einer DSR auf ein mittelgradig differenziertes Plattenepithelkarzinom prägen, wenn hierbei der Einfluss von Entzündungszellen wie Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen unberücksichtigt bleibt [4].

Um quantitativ zu beschreiben, in welcher Weise Bindegewebe Tumorzellverbände umsäumen kann, lassen sich prinzipiell Systeme gekoppelter, nichtlinearer partieller Differentialgleichungen nutzen [9, 12]. Simulationsergebnisse, die auf derartigen Gleichungen beruhen, können jedoch nicht in Form von künstlichen histologischen Schnittpräparaten dargestellt werden, da vornehmlich gemittelte Größen erzeugt werden. Aus diesem Grund wird ein eigenständiges mathematisches Modell zur Beschreibung einer DSR entwickelt. Der Aufbau dieses Modells unterstützt neben der bisher üblichen Darstellung eine zusätzliche histomorphologisch konforme Visualisierung, anhand derer ein direkter Vergleich der Simulationsergebnisse mit realen histologischen

Schnittpräparaten möglich ist. Dies geschieht unter anderem, um einen Einsatz des mathematischen Modells im Rahmen von Operationssimulationen in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie vorbereiten zu können.

Material und Methoden

Mathematisches Modell – grundlegende Definitionen und Voraussetzungen

Die Simulation wird auf dem räumlichen Areal $\Omega \in \mathbb{R}^d$ umgesetzt. In der aktuellen Studie wird ausschließlich der zweidimensionale Fall betrachtet ($d=2$), weil dies eine bessere Vergleichbarkeit mit histologischen Schnittpräparaten erlaubt.

In das vorliegende mathematische Modell gehen die geometrischen Repräsentationen von Tumorgewebe und Mesenchym in Form von Polygonzügen ein. Als gerichtete Impulse auf das Migrationsverhalten der Zellen werden ausschließlich Chemotaxis und Haptotaxis angenommen. Die Modellierung der Attraktantenverteilung erfolgt mittels einer Diffusionsgleichung mit geeigneten Rand- und Anfangsdaten. In diesem Zusammenhang wird die vereinfachende Annahme

gemacht, dass das Tumorgewebe den Attraktanten produziert und in die extrazelluläre Matrix (ECM) abgibt, wo er sich durch Diffusion verbreiten kann.

Die Obermenge faserbildender Zellen [3] wird im Zusammenhang mit dem vorliegenden mathematischen Modell genau dann vereinfachend „Fibroblasten“ oder „Zellen“ und die Obermenge der von ihnen produzierten filiformen Aggregate [7] „Kollagen“ bzw. „Kollagenfasern“ oder „Fasern“ genannt, wenn sie prinzipiell an der Ausbildung einer typischen desmoplastischen Stromareaktion beteiligt sein können. Das Kollagenfasergeflecht wird auflösungsbedingt nicht als miteinander verwobene Molekülketten, sondern als Vektorfeld modelliert. Zur Reduktion der Komplexität erfolgt insgesamt keine Differenzierung nach den jeweiligen Teilmengen von Zellen und Fasern. Ebenso wird unter Vernachlässigung weiterer Differenzierungen das Plattenepithelkarzinom der Einfachheit halber als „Tumor“ bezeichnet. Im vorgestellten Modell werden die Tumorrepräsentanten jeweils als immobile und nichtexpansive räumliche Strukturen betrachtet. Neben dem Tumor können im betrachteten Gebiet auch chemotaktische stumme Objekte enthalten

Abb. 1 ▶ Typische Trajektorie bei der simulierten Zellwanderung. Die gepunktete Linie stellt den Zellpfad dar, der aus den stochastischen Differentialgleichungen resultiert. Die durchgezogene schwarze Linie ist das Ergebnis der Filterung bzw. Glättung des Trajektorienverlaufs

Abb. 2 ▲ Grafische Darstellung der Gewichtsfunktion im 2-dimensionalen Fall, wenn eine Ellipse als Approximation an die Zellgestalt verwendet wird

sein, die für Fibroblasten undurchdringliche Barrieren darstellen.

Migration der Fibroblasten

Die charakteristischen Größen, also die Position $\mathbf{X}^{(i)}(t) \in \mathbb{R}^d$ und Geschwindigkeit $\mathbf{V}^{(i)}(t) \in \mathbb{R}^d$ eines beliebigen Fibroblasten $i \in \{1, \dots, N\}$, $N \in \mathbb{N}$ zur Zeit t , werden als sogenannte diskrete Variablen aufgefasst, weil Zellen mit Ausnahme definierter impermeabler Zonen zu je-

dem Zeitpunkt prinzipiell jede Position in Ω einnehmen können. Da N Zellen betrachtet werden, muss für jede Zelle eine separate Gleichung erstellt und gelöst werden. Die Struktur dieser Gleichungssysteme ist jedoch für alle am Experiment beteiligten Objekte identisch. Zur Verdeutlichung werden bei der Formulierung der Gleichungen die charakteristischen Größen mit dem Zellindex $i \in \mathbb{N}$ versehen. Für die Ortsänderung (Formel 1) der i -ten Zelle zur Zeit t wird der übliche Zu-

sammenhang zwischen Geschwindigkeit und Weg, also

$$d\mathbf{X}^{(i)}(t) = \mathbf{V}^{(i)}(t)dt \quad (1)$$

angenommen. Die Geschwindigkeitsänderung $d\mathbf{V}^{(i)}(t)$ (Formel 2) ist durch eine stochastische Differentialgleichung beschrieben [5, 13]:

$$d\mathbf{V}^{(i)}(t) = \beta \mathbf{V}^{(i)}(t)dt + \Psi^{(i)} \cdot dt + \sqrt{\alpha} d\mathbf{W}^{(i)}(t), \quad (2)$$

wobei α eine positive und β eine negative Konstante darstellt. Die Geschwindigkeitsänderung hängt also von drei Termen ab. Der erste Term, $\beta \mathbf{V}^{(i)}(t)dt$, beschreibt die natürliche Reibung in der ECM. Da als äußere Impulse lediglich Chemo- und Haptotaxis wirksam sind, setzt sich der Gesamtimpuls Ψ aus der Summe der einzelnen Migrationsimpulse $\Psi = \Psi_{\text{chemo}} + \Psi_{\text{hapto}}$ zusammen. Der dritte Term, $\sqrt{\alpha} d\mathbf{W}^{(i)}(t)$, ist schließlich für die zufälligen Fluktuationen verantwortlich, wobei das Maß der Stochastizität durch den Koeffizienten α gesteuert wird. Die Größe $\mathbf{W}(t)$ ist ein Vektor, dessen Komponenten skalare Wiener-Prozesse darstellen [6].

Chemotaxis

Mit der Größe $a(\mathbf{x}, t)$ wird die Konzentration des Attraktanten an der Stelle $\mathbf{x} \in \Omega$ zur Zeit t bezeichnet. Zur Berechnung des chemosensitiven Impulsterms $\Psi_{\text{chemo}}^{(i)}$ der Zelle i muss der chemische Gradient ∇a an der Stelle $\mathbf{X}^{(i)}$ bekannt sein (Formel 3). Es wird die Annahme gemacht, dass sich der gerichtete Impuls proportional zum chemischen Gradienten ∇a an der Stelle $\mathbf{X}^{(i)}$ verhält [13]. Der Chemotaxisterm gestaltet sich somit folgendermaßen:

$$\Psi_{\text{chemo}}^{(i)} = \kappa_{\text{chemo}} \nabla a \sin |\varphi|/2. \quad (3)$$

Dabei bezeichnet die Konstante $\kappa_{\text{chemo}} \in \mathbb{R}^+$ die chemotaktische Aktivität. Die Größe φ ist definiert als der Winkel zwischen dem Geschwindigkeitsvektor $\mathbf{V}^{(i)}$ und dem Gradienten ∇a . Der Sinusterm $\sin |\varphi|/2$ bewirkt also, dass der Richtungsimpuls umso stärker wirkt, je mehr sich die momentane Bewegungsrichtung von der Gradientenrichtung unterscheidet.

Haptotaxis

Es wird von der Annahme ausgegangen, dass Fibroblasten bei Kontakt mit $\mathbf{f} \neq \mathbf{0}$ einen Impuls tangential zur mittleren Richtung der aus mathematischer Sicht apolaren Fasern erhalten und nach Ablenkung im stumpfen Winkel bevorzugt dem Faserverlauf bzw. dem Adhäsionsgradienten folgen [4]. Die Stärke des Richtungsimpulses der i -ten Zelle wird analog zum Chemotaxisimpuls (Formel 3) durch den Term

$$\Psi_{\text{hapto}}^{(i)} = \kappa_{\text{hapto}} \tilde{\mathbf{f}} \sin \left| \tilde{\phi} / 2 \right| \quad (4)$$

proportional zum mit $\sin \left| \tilde{\phi} / 2 \right|$ gewichteten Verlauf des berührten Fasergeflechtes gesetzt, wobei die Konstante $\kappa_{\text{hapto}} \in \mathbb{R}^+$ das Maß des Einflusses der Fasern auf den Kontaktleitungsimpuls beschreibt. Wegen der Apolarität der Fasern gilt in (Formel 5):

$$\tilde{\mathbf{f}}(\mathbf{X}(t), t) = \begin{cases} \mathbf{f}(\mathbf{X}(t), t), & \text{falls} \\ < \mathbf{f}(\mathbf{X}(t), t), \mathbf{V}(t) > \geq 0, \\ -\mathbf{f}(\mathbf{X}(t), t), & \text{sonst} \end{cases} \quad (5)$$
$$\tilde{\phi} = \cos^{-1} \left(\frac{< \tilde{\mathbf{f}}, \mathbf{V} >}{\|\tilde{\mathbf{f}}\| \|\mathbf{V}\|} \right)$$

Fibroblasten und Fasern

Das Fasermaterial ist als Vektorfeld $\mathbf{f}$ auf der Gesamtheit des betrachteten Gebiets Ω in Form einer Abbildung $\mathbf{f}: \Omega \times \mathbb{R}^+ \rightarrow \mathbb{R}^d$ definiert, weswegen $\mathbf{f}$ auch als sog. Kontinuumsvariable bezeichnet wird. Die Interpretation der durch $\mathbf{f}(\mathbf{x}, t)$ repräsentierten Informationen wird in Polarkoordinatendarstellung $\mathbf{f}(\mathbf{x}, t) = r(\mathbf{x}, t) \mathbf{n}(\mathbf{x}, t)$ offensichtlich: Der Radius $r(\mathbf{x}, t) = \|\mathbf{f}(\mathbf{x}, t)\|$ modelliert die mittlere Dichte und der Richtungsvektor $\mathbf{n}(\mathbf{x}, t) = \mathbf{f}(\mathbf{x}, t) / \|\mathbf{f}(\mathbf{x}, t)\|$ die mittlere Richtung des Fasermaterials an der Stelle $\mathbf{x}$ zur Zeit t [2]. Für r und $\mathbf{n}$ werden separate Interaktionsgleichungen formuliert.

Beeinflusst das Fasermaterial das Migrationsverhalten der Zellen über die Haptotaxis, werden umgekehrt Dichte und Ausrichtung der Fasern durch die Fibroblasten bei der Wanderung modifiziert. Die Verlaufsrichtung neu synthetisierter Fasern wird mit den Tangenten

Zusammenfassung · Abstract

Pathologe 2008 · [Suppl 2] 29:135–140 DOI 10.1007/s00292-008-1023-1
© Springer Medizin Verlag 2008

A. Groh · A.K. Louis · F. Weichert · T. Richards · M. Wagner

Mathematische Modellierung in der Systembiologie. Beispiel einer Simulation der desmoplastischen Stromareaktion

Zusammenfassung

Mithilfe eines neu entwickelten mathematischen Modells zur Ausbildung eines Kollagenfasergeflechts sollen Aussagen zur möglichen Bedeutung von Chemotaxis und Haptotaxis für die Histomorphologie einer desmoplastischen Stromareaktion (DSR) getroffen werden. Hierfür werden Fibroblasten als bewegliche diskrete Objekte aufgefasst, die durch ihre Position und Geschwindigkeit in Abhängigkeit von der Zeit charakterisiert sind. Die Migrationspfade werden als Trajektorien stochastischer Prozesse modelliert. Die Implementierung chemotaktischer Effekte setzt die Kenntnis der Konzentrationsverteilung des entsprechenden chemischen Stoffes im Gewebe voraus. Die Beschreibung der Attraktantenverteilung erfolgt mittels einer geeigneten Diffusionsgleichung, die nach Vorgabe von entsprechenden Anfangs- und Randdaten numerisch gelöst wird. Das Einschließen der Haptotaxis erfordert die Modellierung der extrazellulären Matrix (ECM).

Die Faserverteilung wird als Vektorfeld modelliert, welches sowohl Informationen über die Dichte als auch die Faserrichtung beinhaltet. Neu produzierte Fasern werden über gewöhnliche Differentialgleichungen mit dem Wanderungsverhalten der fibroblastären Zellen gekoppelt. Geeignete Visualisierungstechniken erlauben einen direkten Vergleich der Simulationsergebnisse mit den Ergebnissen realer Histomorphologie. Erste Vergleiche der computergenerierten Daten mit den realen Pendanten zeigen bereits gute Übereinstimmungen und qualifizieren das mathematische Modell als potenziell geeignete Methode zur Beschreibung und Vorhersage des Verlaufs einer DSR. Somit kann die Systembiologie an der Verbesserung der biomedizinischen Forschung entscheidend mitwirken.

Schlüsselwörter

Systembiologie · Fibroblasten · Zellmigration · Chemotaxis · Haptotaxis

Mathematical modelling in systems biology. Simulation of the desmoplastic stromal reaction as an example

Abstract

A mathematical model of collagen fiber mesh formation was created to evaluate the possible role of chemotaxis and haptotaxis in the histomorphology of a desmoplastic stromal reaction (DSR). Fibroblasts were mathematically interpreted as mobile discrete objects, characterized by their velocity and position, both dependent on time. This resulted in cell migration paths, commonly termed "trajectories" which are modulated as stochastic process. The implementation of chemotactic effects requires knowledge of the concentration and distribution of the appropriate chemical substance in the scenario. A simplistic model assumption allows the calculation of a numerical solution of the resulting diffusion equation. Adding haptotaxis necessitates the simulation of the extracellular matrix (ECM). The fiber distribution is mod-

eled as a vector field which contains information on both, fiber density and direction. The production of new fibers is based on ordinary differential equations coupled with the migratory behavior of the cells. Filters help smooth the trajectories. Appropriate visualization allows a direct comparison of the simulation results with histomorphology. Matches between computed data and their real counterparts indicate that the development of mathematical models is appropriate to describe and forecast the course of DSR. This makes systems biology a stepping stone to improving biomedical research.

Keywords

Systems biology · Fibroblasts · Cell migration · Chemotaxis · Haptotaxis

Abb. 3 ▲ Während die Attraktantenkonzentration durch die Fibroblasten nicht modifiziert wird, ist zur Darstellung von $\mathbf{f}$ die Information der diskreten Variablen auf Knoten des Gitters Ω_h zu projizieren. Dies geschieht durch die Auswertung der Gewichtsfunktion an den Gitterknoten erreicht. Umgekehrt erfolgt eine lineare Interpolation der Kontinuumsvariablen an den Stellen $\mathbf{X}^{(i)}$ [1]

der Pfade migrierender Fibroblasten gekoppelt, die mit den Richtungen der Geschwindigkeitsvektoren übereinstimmen (Formel 1). Die Ausrichtung neuen Fasermaterials durch die Fibroblasten erfolgt metachron, sodass bei der Fasermodifikation die charakteristischen Größen einer Zelle eingehen, die um die Zeitspanne $\tau \in \mathbb{R}^+$ zurückliegen. Weiterhin wird die Annahme gemacht, dass die Fasern nicht exakt dem fluktuierenden Zellpfad folgen, sondern dass die neue Faserrichtung mit einer geglätteten Version $\tilde{\mathbf{X}}^{(i)}$ der Zelltrajektorie $\mathbf{X}^{(i)}$ assoziiert ist. Der Verlauf von $\tilde{\mathbf{X}}^{(i)}(t)$ kann gemäß dieser Modellannahme als Schwerpunktlinie des neu produzierten Fasermaterials interpretiert werden (Abb. 1).

Gemäß der Annahme, dass Änderungen von $\mathbf{f}$ nur in Bereichen stattfinden, die von der Zelle überschritten werden, wirkt der Einfluss der Zellen auf das Fasermaterial nur lokal. Dies führt zur Definition einer skalaren Gewichtsfunktion $\omega_i(\cdot, t) : \mathbb{R}^d \rightarrow [0, 1]$, welche die Informationen der Zellen auf Stellen $\mathbf{x} \in \Omega$ projiziert [1]. Sie spiegelt den Einfluss wider, den die i -te Zelle an einer Stelle $\mathbf{x}$ auf die Kontinuumsvariable $\mathbf{f}(\mathbf{x}, t)$ ausübt. Die Funktionswerte von ω_i liegen zwischen 0 und 1, je nachdem ob keine oder eine starke Modifikation an der Stelle $\mathbf{x}$ erfolgt. Die Gewichtsfunktion hängt dabei von der Morphologie der Zelle ab, da gewissermaßen eine Approximation an die Zellgestalt in die Darstellung eingeht. Des Weiteren gehen neben der erwähnten zeitlichen Verzögerung τ die mit einem Moving-Average-Filter geglätteten Orts-

und Geschwindigkeitsprozesse ein ([11]; Abb. 2).

Im zweidimensionalen Fall ist je eine skalare Gleichung für den Radius r und den Winkel θ zu erstellen, wenn $\theta \in [-\pi, \pi)$ den Winkel von $\mathbf{n}$ bezeichnet, also $\mathbf{n} = (\cos\theta, \sin\theta)$ gilt. Die Änderungsrate der Verlaufsrichtung (Formel 6) und der Dichte (Formel 7) der Fasern werden maßgeblich durch die Fibroblasten über den Vektor Φ und die Gewichtsfunktionen ω_i bestimmt [2]:

$$\frac{d\theta}{dt} = \kappa \|\Phi\| \sin(\gamma - \theta) \quad (6)$$

mit

$$\Phi(\mathbf{x}, t) = \sum_{i=1}^N \omega_i(\mathbf{x}, t) \frac{\pm \tilde{\mathbf{V}}^{(i)}(t - \tau)}{\|\tilde{\mathbf{V}}^{(i)}(t - \tau)\|}$$

Der Vektor Φ akkumuliert die gewichteten Beiträge der einzelnen Zellen zur Modifikation der Richtung des Faserfilzes an der Stelle $\mathbf{x}$ zur Zeit t , wobei gemäß der Modellannahmen nicht die Geschwindigkeitsprozesse $\mathbf{V}^{(i)}$ selbst, sondern ihre geglätteten Versionen $\tilde{\mathbf{V}}^{(i)}$ in die Berechnung eingehen. Es ist dabei zu beachten, dass aufgrund der Apolarität der Fasern die Vektoren $+\tilde{\mathbf{V}}$ und $-\tilde{\mathbf{V}}$ für das Fasermaterial denselben Impuls liefern. Um Auslöschungen zu vermeiden, ist das Vorzeichen der Einheitsvektoren entsprechend anzupassen (Formel 6). Sei nun γ der Winkel des Vektors Φ . Die Änderungsrate des Winkels θ wird schließlich sowohl proportional zu $\sin(\gamma - \theta)$ als auch zur Norm von Φ angenommen (Formel 6).

Da sich die Dichteänderung von f lediglich in Bereichen vollzieht, welche von den Zellen überschritten werden, ist die

Änderungsrate mit einem Faktor zu multiplizieren, der diese Lokalität widerspiegelt [2]:

$$\frac{dr}{dt} = (p_c - d_c r) \sum_{i=1}^N \omega_i(\mathbf{x}, t) \quad (7)$$

Ohne den Einfluss von Fibroblasten, also wenn die Summe der Gewichtsfunktionen verschwindet, findet keinerlei Dichteänderung statt (Formel 7).

Numerische Umsetzung

Eine numerische Umsetzung erfordert die Diskretisierung des räumlichen Gebiets Ω . Der Einfachheit halber wird in dieser Anwendung ein kartesisches Gitter Ω_h mit konstanter Schrittweite h gewählt, wobei für $\mathbf{f}$ und a dasselbe Ω_h zum Einsatz kommt (Abb. 3). Als Konsequenz der Diskretisierung sind die Kontinuumsvariablen nur an Gitterknoten definiert. Für die diskreten Variablen, etwa die Zelltrajektorien $\mathbf{X}^{(i)}$, trifft dies nicht zu (Abb. 3).

Eine numerische Integration der stochastischen Differentialgleichung (Formel 2) erfolgt mittels der Euler-Maruyama-Methode, die aufgrund des additiven Rauschterms die Konvergenzordnung eins besitzt [6]. Die restlichen gewöhnlichen Differentialgleichungen werden mit der expliziten Euler-Methode gelöst. Das betrachtete Zeitintervall $[0, T]$ wird sowohl bei der stochastischen als auch bei der deterministischen Integration mit der Schrittweite $\Delta t = T/M$ für ein $M \in \mathbb{N}$ äquidistant zerlegt. Entsprechende Zielgrößen werden an den Zeitpunkten $t_k = k\Delta t$, $k \in \{0, \dots, M\}$ approximiert. Zur Vermeidung von Rändern des Diffusionsgebiets in Ω wird die Annahme gemacht, dass a auch innerhalb des Tumors und des mesenchymalen Gewebes diffundiert, die Diffusionsrate jedoch sehr gering ist. So lässt sich eine Diffusionsgleichung auf Ω formulieren, bei welcher der Diffusionskoeffizient μ ortsabhängig ist (Formel 8):

$$a_t = \text{div}(\mu(\mathbf{x}) \text{grad}(a)), \quad \mathbf{x} \in \overset{\circ}{\Omega}, \quad t \in (0, T]. \quad (8)$$

Der ortsabhängige Diffusionskoeffizient μ nimmt zwei Werte $0 < \mu_1 < \mu_2$ an:

$$\mu(\mathbf{x}) = \begin{cases} \mu_1, & \text{falls } \mathbf{x} \text{ im Innern} \\ & \text{eines Tumors oder} \\ & \text{Mesenchyms liegt,} \\ \mu_2, & \text{sonst.} \end{cases}$$

Abb. 4 ▶ links Reales mittelgradig differenziertes Plattenepithelkarzinom; Objektivergrößerung: 4:1 (Ausschnitt); rechts Segmentierungsergebnis. Die dunkelgrau schraffierten Flächen stellen Tumorrepräsentanten, die hellgrauen Mesenchym dar. Das weiß belassene Gebiet ist die ECM, in welche für die Simulationen 210 Zellen randomisiert geimpft werden. Ihre Positionen sind durch Punkte gekennzeichnet

Abb. 5 ▶ Faserdichteverteilung der Auslassversuche.

Die Parameter sind mit Ausnahme der chemo- und haptotaktischen Sensitivitäten bei allen Versuchen identisch gesetzt: $h=0,01$; $\Delta t=2^{-3}$; $T=2688$; $\alpha=0,25$; $\beta=0,8$; $\tau=2^{-2}$; $d_c=0,044$; $p_c=0,064$; $\kappa=0,1$; $N_0=210$; $s=0,6$; Länge des Moving-Average-Filters $M=24$.

a Keine gerichteten Impulse. $\kappa_{\text{chemo}}=\kappa_{\text{hapto}}=0$.
b Chemosensitive Migration. $\kappa_{\text{chemo}}=500$, $\kappa_{\text{hapto}}=0$.
c Haptotaktische Migration. $\kappa_{\text{hapto}}=20$, $\kappa_{\text{chemo}}=0$.
d Beide gerichteten Impulse wirken. $\kappa_{\text{chemo}}=500$, $\kappa_{\text{hapto}}=20$

Als vereinfachte Anfangsbedingung wird $a_o(x)=1$ gesetzt, wenn x im Binnenraum eines Tumors ist, und sonst 0. Nach der Formulierung geeigneter Randbedingungen wird ein semiimplizites Verfahren eingesetzt, welches auf dem Crank-Nicholson-Verfahren basiert [14]. Nach hinreichend vielen Zeitschritten ist ein Quasi-Gleichgewichtszustand erreicht und die resultierende Attraktantenkonzentration wird als konstante Dichteverteilung in die Simulation aufgenommen.

Wandert ein Fibroblast über den Rand von Ω hinaus, endet die Simulation dieser Zelle. Gleichzeitig wird jedoch ein neuer Fibroblast randomisiert in der ECM platziert, was zu einer konstanten Anzahl an migrierenden Zellen im betrachteten Gebiet führt. Treffen Fibroblasten hingegen auf eine für sie impermeable räumliche Barriere, gleiten sie in stumpfem Winkel, tangential zum Rand der Struktur ab, wo-

bei ihre Geschwindigkeit um einen Faktor $s \in (0, 1)$ reduziert wird.

Simulationsszenario

Nach Standardprotokoll Hämatoxylin- und Eosin- (HE-)gefärbte histologische Schnittpräparate mittelgradig differenzierter Plattenepithelkarzinome wurden digitalisiert und mithilfe der prototypischen Software SeViSe [8] für die Simulation vorbereitet. Die resultierenden Polygonzüge legen die räumlichen Strukturen der vorliegenden Studie fest (Abb. 4).

Ergebnisse

Zur Verdeutlichung der Wirkung der gerichteten Impulse Chemotaxis und Haptotaxis auf den Verlauf der DSR werden Auslassversuche durchgeführt, d. h. die beiden Impulse abwechselnd bei der Si-

mulation vernachlässigt. Es ergeben sich vier Kombinationen von Experimenten, bei denen die restlichen Parameter und Setzungen identisch gewählt sind. Die jeweilige resultierende Dichte der Kollagenfasern r ist in Abb. 5 grafisch wiedergegeben. Sind keine gerichteten Impulse wirksam, so gleichen die Trajektorien einer Brown-Bewegung [6]. Entsprechend wird punktuell eine hohe Faserdichte erreicht (Abb. 5 a). Faserstrangbildungen, d. h. ein paralleler Verlauf mehrerer Fasern, sind nicht zu beobachten. Wirkt die Chemotaxis als einziger Richtungsimpuls, kommt es zu einer verstärkten Migration zu den Rändern der Tumorrepräsentanten, wo die Faserdichte entsprechend lokal erhöht wird (Abb. 5 b). Bei einer haptotaktisch beeinflussten Migration kommt es insgesamt zu einer deutlich erhöhten Translokation der Zellen (Abb. 5 c). Die Faserdichte zeigt nicht

Abb. 6 ◀ Geglättete Trajektorien und Endpositionen einiger Zellen der Studie aus Abb. 5d

mehr die Tendenz einer lokalen Maximumsbildung, sondern gestaltet sich über die Fläche der ECM besser verteilt. Eine Faserstrangbildung ist deutlich zu erkennen. Die **Abb. 5 d** zeigt schließlich die Charakteristiken einer DSR: Das Zusammenspiel von Chemo- und Haptotaxis bewirkt eine erhöhte Faserdichte im Umfeld der Tumoren. Lokal kann von einer Kapselbildung der Kollagenfasern gesprochen werden.

Neben der Faserdichte r können auch die geglätteten Ortstrajektorien grafisch ausgegeben werden (**Abb. 6**). Da die Faserrichtungen mit den Verläufen der Trajektorien gekoppelt sind, können Rückschlüsse auf die Faserrichtungen gezogen werden.

Diskussion

Das vorgestellte neu entwickelte Modell erlaubt die Beschreibung des zeitlichen Verlaufs der wesentlichen Größen, die an der DSR beteiligt sind. Aufgrund der speziellen Formulierung der Zielgrößen ist eine grafische Ausgabe der berechneten Daten möglich. Visuelle Vergleiche der computergenerierten Daten mit den realen Pendanten zeigen bereits gute Übereinstimmungen. Wird in dieser Studie ausschließlich der zweidimensionale Fall betrachtet, so zeigen erste Experimente in drei Raumdimensionen ebenfalls vielversprechende Resultate. Aufgrund der unipotenten mathematischen Formulierung sind die entwickelten Algorithmen auch bei anderen biologischen Prozessen einsetzbar, bei denen Zellmigrationerscheinungen eine Rolle spielen, wie etwa bei der Wundheilung oder der Angiogenese.

Eine genauere Sensitivitätsanalyse der Parameter des Modells ist in Vorbereitung, um es beispielsweise mit kieferchirurgisch relevanten Daten [8] zusammenführen zu können.

Fazit für die Praxis

Mithilfe des mathematischen Modells kann der Einfluss von Chemo- und Haptotaxis auf die Pathogenese der DSR durch Computersimulationen untersucht werden. Die exemplarische Studie dieser Tumorreaktion legt nahe, dass vergleichbare Konzepte in Zukunft ihren Einsatz im Rahmen der pathologisch-anatomischen Grundlagenforschung finden können.

Korrespondenzadresse

A. Groh
Institut für Angewandte Mathematik,
Universität des Saarlandes,
Campus Saarbrücken Gebäude E1.1,
Postfach 151150, 66041 Saarbrücken
groh@num.uni-sb.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Dallon JC (2000) Numerical aspects of discrete and continuum hybrid models in cell biology. *Appl Numerical Math* 32: 137–159
2. Dallon JC, Sherratt JA, Maini PK (1999) Mathematical modelling of extracellular matrix dynamics using discrete cells: fiber orientation and tissue regeneration. *J Theor Biol* 199: 449–471
3. Desmouliere A, Guyot C, Gabbiani G (2004) The stroma reaction myofibroblast: a key player in the control of tumor cell behavior. *Int J Dev Biol* 48: 509–517

4. Dickinson RB, Tranquillo RT (1993) A stochastic model for adhesion-mediated cell random motility and haptotaxis. *J Math Biol* 31: 563–600
5. Ionides EL, Fang KS, Isseroff RR, Oster GF (2004) Stochastic models for cell motion and taxis. *J Math Biol* 48: 23–37
6. Kloeden PE, Platen E (1999) Numerical solution of stochastic differential equations. Applications of mathematics, stochastic modelling and applied probability. Number 23, 3rd edn. Springer, Berlin Heidelberg New York
7. Labat-Robert J, Bihari-Varga M, Robert L (1990) Extracellular matrix. *FEBS Lett* 268: 386–393
8. Landes CA, Weichert F, Geis P et al. (2006) Evaluation of two 3D virtual computer reconstructions for comparison of cleft lip and palate to normal fetal microanatomy. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 288: 248–262
9. Lubkin SR, Jackson T (2002) Multiphase mechanics of capsule formation in tumors. *J Biomech Eng* 124: 237–243
10. McCartney MD, Buck RC (1981) Comparison of the degree of contact guidance between tumor cells and normal cells in vitro. *Cancer Res* 41: 3046–3051
11. Oppenheim AV, Schäfer RW (1975) Digital signal processing. Prentice Hall, Upper Saddle River
12. Perumpanani AJ, Sherratt JA, Norbury J (1997) Mathematical modelling of capsule formation and multinodularity in benign tumour growth. *Nonlinearity* 10: 1599–1614
13. Stokes CL, Lauffenburger DA, Williams SK (1991) Migration of individual microvessel endothelial cells: stochastic model and parameter measurement. *J Cell Sci* 99: 419–430
14. Strikwerda JC (1989) Finite difference schemes and partial differential equations. Wardsworth and Brooke, Coles advanced books and software. Pacific Grove/CA