

UNIVERSITÄT LEIPZIG  
Fakultät für Mathematik und Informatik  
Institut für Informatik

Biomathematisches  
Modell der menschlichen Thrombopoese  
Diplomarbeit

Leipzig, Juli, 2006

vorgelegt von

Groß, Arnd

Studiengang Medizinische Informatik

Das Verständnis der Thrombopoese ist neben dem der Erythropoese und Granulopoese ein weiterer Schritt, der zu einem umfassenden Einblick in die menschliche Hämatopoese beitragen soll. Modelle können dieses Verständnis unterstützen, indem sie die komplexe Dynamik der Hämatopoese beschreiben oder das Systemverhalten nach Störungen quantifizieren, wie es zum Beispiel bei Chemotherapien auftritt und Therapievorhersagen ermöglichen. Daher soll in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe eines mathematischen Kompartimentmodells die Thrombopoese abgebildet werden.

Die Dynamik beteiligter Zellstufen wird durch Differentialgleichungen beschrieben. Betrachtet werden dabei die Zellstufen beziehungsweise die Kompartimente der pluripotenten Stammzellen, koloniebildende Einheiten der Megakaryozyten, Megakaryozyten, Thrombozyten und das Zytokin Thrombopoetin. Das Modell beschreibt biologische Vorgänge der Differenzierung und Amplifikation, die einen Übergang von der pluripotenten Stammzelle über die verschiedenen Zellstufen zu den Thrombozyten gewährleisten. Als wesentlicher Rückkopplungsmechanismus wird der des Wachstumsfaktors Thrombopoetin beschrieben, welches durch eine konstante Produktion, Stimulierung des Wachstums bestimmter Zellstufen und einem sowohl rezeptorspezifischem als auch rezeptorunspezifischem Abbau charakterisiert wird.

Beim Menschen liegen nur wenige Daten über die Dynamik des Knochenmarks und anschließenden Störungen der Thrombopoese vor. Andererseits sind aus Literatur und Studien größere Datenmengen zu peripheren Thrombozytenzahlen und Thrombopoetinspiegeln nach Störungen wie Chemotherapie oder Thrombopherese verfügbar. Es ist deshalb möglich, unbekannte Parameter des Modells (speziell zur Knochenmarksdynamik) aus den peripheren Daten zu schätzen. Dies erfolgt mit Evolutionsstrategien. Eine Datenextraktion aus grafischen Darstellungen wird durchgeführt, wenn keine Rohdaten verfügbar sind.

Das Modell zeigt eine gute Übereinstimmung mit medianen Thrombozytenverläufen und Thrombopoetinspiegeln unter vier verschiedenen Chemotherapien und nach Thrombopherese. Weiterhin zeigen die Schätzungen einiger physiologischer Parameter gute Übereinstimmung mit anderen Modellen, was die Konsistenz des vorgestellten Modells mit früheren Modellen bekräftigt.

Zukünftig ist geplant, das Modell so zu erweitern, daß sich weitere Chemotherapien simulieren lassen und eine Unterteilung nach Risikogruppen bei der Vorhersage ermöglicht wird.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zielstellung</b>	<b>1</b>
1.1. Motivation . . . . .	1
1.2. Problemstellung . . . . .	2
1.3. Ziele und Anwendung . . . . .	3
<b>2. Einleitung</b>	<b>4</b>
2.1. Biologische Grundlagen . . . . .	4
2.1.1. Blut . . . . .	4
2.1.2. Thrombopoese . . . . .	4
2.1.3. Chemotherapie . . . . .	8
2.1.4. Thrombopherese . . . . .	9
2.2. Grundlagen mathematischer Modelle . . . . .	9
<b>3. Modell der Thrombopoese</b>	<b>11</b>
3.1. Modellbildung . . . . .	11
3.2. Grundlagen . . . . .	12
3.3. Daten . . . . .	15
3.3.1. Thrombopoetin . . . . .	16
3.3.2. Chemotherapie . . . . .	16
3.3.3. Thrombopherese . . . . .	17
3.4. Struktur . . . . .	18
3.5. Modellannahmen . . . . .	19
3.5.1. Kompartimente . . . . .	19
3.5.2. Chemotherapie . . . . .	23
3.5.3. Thrombopherese . . . . .	24
<b>4. Technische Umsetzung</b>	<b>25</b>
4.1. Modellierung mit Matlab Simulink . . . . .	25
4.2. Datenanpassung mit Evolutionsstrategie . . . . .	25
4.3. Datenextraktion mit WinScale . . . . .	27

<b>5. Modellergebnisse</b>	<b>28</b>
5.1. Chemotherapie . . . . .	28
5.1.1. Zytokinspiegel . . . . .	28
5.1.2. Dynamik der Thrombopoese . . . . .	29
5.2. Thrombopherese . . . . .	35
5.2.1. Zytokinspiegel . . . . .	35
5.2.2. Dynamik der Thrombopoese . . . . .	35
5.3. Sensitivitätsanalyse . . . . .	38
5.4. Modellvorhersagen . . . . .	40
5.4.1. Thrombopoetinspiegel bekannter Chemotherapien . . . . .	40
5.4.2. Hypothetische Chemotherapiesysteme . . . . .	40
<b>6. Diskussion</b>	<b>45</b>
6.1. Vergleich mit früheren Modellarbeiten . . . . .	45
6.2. Allgemeine Anpassungsprobleme . . . . .	46
6.3. Chemotherapie . . . . .	47
6.4. Thrombopherese . . . . .	48
6.5. Modellvorhersagen . . . . .	49
6.6. Rezeptorspezifischer und -unspezifischer Abbau . . . . .	50
6.7. Ausblick . . . . .	51
<b>A. Anhang</b>	<b>52</b>
A.1. Modellgrundlagen . . . . .	52
A.2. Modellgleichungen . . . . .	55
A.2.1. Ungestörter Zustand . . . . .	55
A.2.2. Chemotherapie . . . . .	60
A.2.3. Thrombopherese . . . . .	60
A.3. Vektorgeometrie von WinScale . . . . .	60
<b>B. Parameter und deren Quellen</b>	<b>63</b>
B.1. Zytokinspiegel . . . . .	63
B.1.1. Loglineares Modell . . . . .	63
B.1.2. Differentialgleichungsmodell . . . . .	63
B.2. Dynamik der Thrombopoese . . . . .	64
B.2.1. Kompartimente . . . . .	64
B.2.2. Toxizitätsparameter . . . . .	65

<b>C. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>66</b>
C.1. Abkürzungen biologischer Begriffe . . . . .	66
C.2. Abkürzungen mathematischer Begriffe . . . . .	67
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>

# 1. Zielstellung

## 1.1. Motivation

Thrombozytopenie (starke Reduktion der Plättchenzahl im Blut) ist eine häufige Komplikation bei der Behandlung von Hämatologie- und Onkologiepatienten insbesondere bei zytotoxischen Chemotherapien. So traten zum Beispiel die Thrombopeniegrade 3 oder 4 (Plättchenzahl WHO Grad 3:  $\geq 25$  und  $< 50$ , Grad 4:  $< 25 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ) bei eskalierter BEACOPP Chemotherapie (Standard für Morbus Hodgkin im fortgeschrittenen Stadium) bei 70% der Patienten ([DFP<sup>+</sup>03]) und bei CHOP14 (Standard für aggressive Non-Hodgkin-Lymphome) bei 50,8% der älteren Patienten auf ([PTK<sup>+</sup>04]). Zudem ist die bei Multiagenten- oder bei intensivierten Therapien als Nebenwirkung auftretende Thrombopenie häufig dosislimitierend ([KB02], [WKR<sup>+</sup>03]), was möglicherweise zu schlechteren Ergebnissen der Therapie durch notwendige Dosisreduktion führt. Der Bedarf an Blutplättchen-Transfusionen steigt beständig (Vereinigte Staaten: 4 Millionen Einheiten 1982 und 8 Millionen Einheiten 1992 übertragen, [VRMBR<sup>+</sup>97]), um schwere Thrombozytopenien kontrollieren zu können. Verbunden ist dieser Anstieg auch mit Fortschritten bei Organ- und Knochenmarkstransplantationen oder Herzchirurgie. Obwohl solche Transfusionen das Risiko für therapiebedingte Spontanblutungen senken, steigt das Risiko für eine Übertragung bakterieller und viraler Erreger, Immunreaktionen oder anderer transfusionsbezogener Nebenwirkungen. Weiterhin tragen die Transfusionen zu beträchtlichen Kosten für das Gesundheitssystem und Unannehmlichkeiten für die Patienten bei. Der Bedarf an Blutreserven wächst außerdem ständig.

Deshalb ist es im Vorfeld von Therapien von Vorteil, die Dynamik der Thrombopoese nach Störungen zu verstehen, um z.B. einen Anstieg der Thrombozyten zu bewirken oder eine Thrombozytopenie zu verhindern, abzuschwächen oder rechtzeitig zu erkennen. Damit kann das Risiko für den Patienten und die Kosten reduziert werden. Weiterhin können Risikokollektive berücksichtigt und besonders behandelt werden.

Seit 1994 besteht die Möglichkeit zwei rekombinante Formen von Thrombopoetin, dem Wachstumsfaktor der Thrombopoese herzustellen, nämlich rhTPO (recombinant human thrombopoietin) und PEG-rHuMGDF (pegylated recombinant human megakaryocyte

growth and development factor). Aufgrund unerwünschter Nebenwirkungen wurde PEG-rHuMGDF 1998 in den Vereinigten Staaten wegen Sicherheitsbedenken aus klinischen Studien zurückgezogen. Es besteht Klärungsbedarf, ob die Anwendung von künstlich hergestelltem Thrombopoetin trotz aller positiven Einsatzmöglichkeiten ein zu großes Risiko darstellt ([KB02],[SBFL<sup>+</sup>02]).

Modelle, die die wesentlichen biologischen Vorgänge erfassen und die dazugehörigen experimentellen Daten erklären, können einen Beitrag für die klinische Forschung leisten, indem sie ein grundlegendes Verständnis ermöglichen, Vorhersagen zulassen und die Optimierung von Therapien unterstützen. Daher soll speziell für Chemotherapie und Thrombopherese ein Modell für den Menschen entwickelt werden.

## 1.2. Problemstellung

Ziel dieses Modells soll es sein, ein verständliches physiologisches und quantitatives Modell der Thrombopoese zu konstruieren. Dabei sind wesentliche Regulationsmechanismen, insbesondere thrombopoetinvermittelte, in Form eines Differentialgleichungsmodells zu beschreiben. Über bisher nicht oder wenig untersuchte biologische Effekte wie die Wirkung des Thrombopoetin auf verschiedene Zellstufen der thrombopoetischen Zellreihe werden Hypothesen formuliert. Diese sollen durch Konsistenz mit experimentellen Daten bekräftigt oder widerlegt werden.

Ausgehend von einem Thrombopoesemodell der Maus ([Kli01]) soll überprüft werden, ob die dort identifizierten Regulationsmechanismen auf den Menschen übertragbar sind. Dabei sollen jedoch entsprechend den damaligen Annahmen nicht die modellierten Regulationsmechanismen der Thrombopoese, sondern möglichst nur deren Parameter verändert werden. Außerdem wird geprüft, ob das entstandene Modell mit einem verfügbaren Parametersatz eines älteren Thrombopoese Modells ([Wic84]) konsistent ist. Insbesondere soll ein Kompartiment für die Milz im Modell vorgesehen werden, um die altersabhängige Thrombozyten-Umverteilung der Milz und peripheren Blut zu berücksichtigen ([Wic84], [FAK77]). Ferner soll geprüft werden, ob die Kompartimente (z.B. CFU-Mk oder Prothrombozyten) des Mausmodells zum Verständnis der Dynamik notwendig sind oder ob es genügt die Thrombopoetinregulation zu modifizieren. Falls diese Zellstufen zu berücksichtigen sind, ist die Wirkung des Thrombopoetin auf diese zu modellieren. Ebenso soll die Dynamik des Thrombopoetin analysiert werden.

### 1.3. Ziele und Anwendung

Ziel soll es sein, ein Modell zu konstruieren, das konsistent ist mit Chemotherapiedaten aus Studien und Daten aus der Literatur. Weiterhin soll sich das Modell dazu eignen, Chemotherapie und Thrombopherese als Störungen der Thrombopoese zu beschreiben.

Nach Abschluß der Modellarbeiten können durch Modellsimulationen Vorhersagen über Thrombozytenverläufe getroffen werden, um so beispielsweise das Risiko thrombozytopenischer Zustände für Patienten zu senken und zeit- und kosteneffizient zu arbeiten. Hierbei sollen perspektivisch Simulationen für unerprobte Therapieszenarien durchgeführt und die Knochenmarkstoxizitäten bestimmter Chemotherapien verglichen werden.

Insbesondere sind durch das Modell Vorhersagen über zu erwartende Thrombozytenverläufe im Rahmen von Chemotherapien zu treffen. Zu solchen Therapien zählen konventionelle Chemotherapien, die entweder schon etabliert oder noch in Entwicklung sind. Verwendet werden die im Modell formalisierten biologischen Kenntnisse und Hypothesen über Toxizitäten bestimmter Substanzen auf thrombopoetische Zellstufen. Damit besteht die Möglichkeit der Quantifizierung dieser Toxizitäten. Es ist ebenso möglich, die Thrombozytenerholung wie zum Beispiel bei Spendern nach Thrombopherese vorherzubestimmen.



## 2. Einleitung

### 2.1. Biologische Grundlagen

#### 2.1.1. Blut

Eine besondere Rolle im Organismus nimmt das Blut wahr, denn es übernimmt zahlreiche lebensnotwendige Aufgaben und läßt sich aufgrund seiner funktionell-morphologischen Eigenschaften als flüssiges Organ bezeichnen ([BR93]). Darüber hinaus verknüpft es in ständiger Zirkulation die übrigen Organe des Organismus miteinander. Zu den wichtigen zellulären Bestandteilen, die im Blutplasma schwimmen, zählen Erythrozyten, die den Gastransport ( $O_2$  und  $CO_2$ ) sicherstellen, Leukozyten, die die zelluläre Abwehr gewährleisten und Thrombozyten, die die Blutgerinnung sichern. Zum weiteren Aufgabenbereich des Blutes gehört der Transport von Stoffwechselprodukten und humoraler Substanzen, Wärmetransport, die Beteiligung an der humoralen Abwehr und die Aufrechterhaltung von Isotonie und Isohydrie. In dieser Arbeit sind im folgenden die Thrombozyten und deren Entstehung, die sogenannte Thrombo(zyto)poese von Interesse. In der Literatur ([BR93]) wird häufig zwischen der Megakaryopoese, der Entwicklung der Megakaryozyten, und der Thrombopoese, der Bildung der Blutplättchen, unterschieden. In der vorliegenden Arbeit wird unter Thrombopoese der Gesamtprozeß der Blutplättchenentstehung ausgehend von der pluripotenten Stammzelle verstanden.

#### 2.1.2. Thrombopoese

Beginnend bei der pluripotenten Stammzelle werden durch Mechanismen der Differentiation und Amplifikation verschiedene Zellstufen durchlaufen, die am Ende dieser Kette funktionsfähige Blutplättchen, die Thrombozyten, hervorbringen. Dargestellt wird dies in Abbildung 2.1. An der Regulation der Thrombopoese sind zahlreiche Zytokine beteiligt wie beispielsweise Interleukin 3 (IL-3), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 11 (IL-11), Granulozyten Makrophagen koloniestimulierender Faktor (GM-CSF), Megakaryozyten koloniestimulierender Faktor (Mk-CSF) und Thrombopoetin (TPO) ([BR93]). Jedoch zeigte sich in präklinischen Studien, daß Thrombopoetin als das wirksamste Zytokin

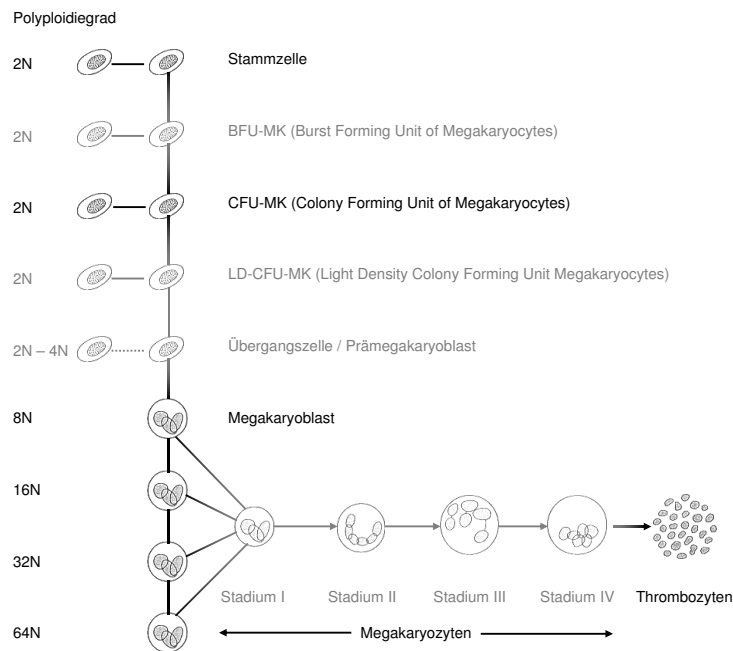


Abbildung 2.1.: Thrombopoese (modifiziert nach [BR93])

Die im Modell berücksichtigten Zellstufen und -stadien sind dunkel dargestellt

bezüglich der Thrombozytenerholung anzusehen ist ([WHL<sup>+</sup>01],[vG03]). Das beweisen auch weitere Studien ([IMT<sup>+</sup>96], [HKW<sup>+</sup>97]), in denen sich eine stark inverse Korrelation zwischen Thrombozyten- und Thrombopoetinkonzentration zeigt. Andere Zytokine hingegen wie IL-3, IL-6 oder IL-11 lassen hierbei keine direkte Korrelation und damit keinen zentralen Einfluß an der Thrombopoese erkennen. Nachfolgend wird die Entstehung der Thrombozyten aus den Vorläuferzellen und die Regulation durch den Wachstumsfaktor Thrombopoetin beschrieben.

### Megakaryozytäre Vorläuferzellen

Die Beschreibung ist weitestgehend entnommen von [BR93]. Der Ursprung jeder Zellreihe des Blutes liegt bei der hämatopoetischen Stammzelle im Knochenmark, einem Organ mit sehr hoher Proliferationsrate. Dabei wird die Entwicklung jeder Zellreihe durch ein komplexes Regulationsnetzwerk aus stimulierenden und hemmenden Wachstumsfaktoren gesteuert. Die genaue hierarchische Ordnung der Vorläuferzellen sowie die Festlegung einer einheitlichen Terminologie sind noch umstritten. Zudem sind die Differenzierungsvor-

gänge und Regulationsmechanismen noch nicht ausreichend verstanden beziehungsweise nur qualitativ erfaßt. Experimentelle Daten hierzu stammen aus in vitro- oder Tierexperimenten. Einig ist man sich weitestgehend (das sogenannte Stammzellkonzept) über die Existenz eines gemeinsamen Ursprungs der Zellen, nämlich dem der (omni-, toti-) pluripotenten Stammzelle, was theoretisch und experimentell belegt ist. Ausgezeichnet ist die pluripotente Stammzelle, die morphologisch nicht identifiziert werden kann, durch die Fähigkeit der Selbsterneuerung und Differenzierung.

Unter dem Einfluß von Wachstumsfaktoren differenziert dieser Typ Stammzellen wahrscheinlich zufällig in determinierte Stammzellen einer bestimmten Zellreihe des Blutes. Im Fall der Thrombopoese sind es die megakaryozytären Vorläuferzellen CFU-Mk (colony forming units of megakaryocytes), die sich bereits optisch erkennen lassen.

Das Bindeglied zu den morphologisch erkennbaren Megakaryozyten stellen die mononukleären, polyploiden (Vielfache des normalen, zweifachen Chromosomensatzes einer Zelle) Prämegakaryocytoblasten dar. Damit befindet sich hier der Übergang von einer reinen Zellteilungsphase zur Endomitosephase der Megakaryozyten. Die Endomitose, auch Endoreduplikation, bezeichnet den Vorgang, bei dem sich nur der Zellkern aber nicht das Zytoplasma teilt.

Die aus den Übergangszellen entstehenden Megakaryozyten lassen sich nach morphologischen Kriterien in vier Stadien einteilen. Die Megakaryoblasten (Stadium I) zeichnen sich durch einen kompakten, gelappten Kern aus. Außerdem ist ein beginnendes Demarkationsmembransystem (DMS) nachweisbar. Die Promegakaryozyten (Stadium II) besitzen einen hufeisenförmigen Kern und ein stärker ausgeprägtes DMS. Die granulären Megakaryozyten (Stadium III), charakterisiert als große Zellen mit multilobulärem Kern, sind mit 60 bis 70% die häufigste Subpopulation im Knochenmark. Der reife Megakaryozyt (Stadium IV) hingegen besitzt einen stark gelappten, aber kompakten Kern. Der Polyploidiegrad der Megakaryozyten ist nicht ausschlaggebend dafür, ob die DNA Synthese beendet wird und Blutplättchen gebildet werden. Megakaryozyten besitzen unter Normalbedingungen den 16fachen Chromosomensatz (16N, entspricht 8 Kernlappen) [Wic84],[Cor89],[SGM<sup>+</sup>01]) und eine Transitzeit von 6 Tagen ([Wic84], [MFI<sup>+</sup>99]).

### **Thrombozyten**

Die Thrombozyten oder auch Blutplättchen sind kleine kernlose Zytoplasmafragmente der Megakaryozyten, den Riesenzellen im Knochenmark. Über die Art und Weise der Thrombozytenbildung gibt es drei Hypothesen. Die erste Hypothese geht davon aus, daß das Plasma der Megakaryozyten durch das DMS aufgeteilt wird, danach Zytoplasmafortsätze entstehen, diese vom Blut in Thrombozyten fragmentiert werden und die

Blutplättchen in die Zirkulation gelangen. Nach der zweiten Hypothese zerfallen die Megakaryozyten im Knochenmark und bilden so Thrombozyten. Die letzte Hypothese jedoch beschreibt eine aktive Bewegung der Megakaryozyten in die Zirkulation. Die Megakaryozyten bleiben dabei in den Lungenkapillaren wie in einem Netz hängen und durch die Scherkräfte des vorbeiströmenden Blutes werden Thrombozyten abgeschnürt. So entstehen aus einem Megakaryozyt mehrere tausend Thrombozyten (rund 2000-3000 nach [BR93], 400 bis 8000 aus 10 Quellen mit Median 1400 nach [SL89]).

Die in der Literatur angegebenen Normalwerte für Thrombozyten sind stark abweichend, wahrscheinlich begründet durch die verwendete Zählmethode und der Auswahl des Patientenkollektivs. Weiterhin unterliegen die Thrombozytenwerte beim Erwachsenen starken physiologischen Schwankungen. Die Konzentration im peripheren Blut beträgt 150000 – 400000 Thrombozyten pro  $\mu\text{l}$  ([BR93], [SGM<sup>+</sup>01]). Der Durchmesser wird angegeben mit 1,5 – 3,5  $\mu\text{m}$ , das Volumen mit 5-10 fl ([BR93]) und die Lebensdauer mit rund 10 Tagen ([BR93], [SGM<sup>+</sup>01]). Ungefähr ein Drittel der Thrombozyten wird beim Menschen in der Milz gehalten ([FAK77]), wo diese bei Bedarf schnell ausgeschüttet werden können. Hauptsächlich finden sich junge Thrombozyten, die sogenannten Megathrombozyten, in der Milz.

### Thrombopoetin

Thrombopoetin (TPO) wird als das Zytokin betrachtet, daß die Megakaryopoese und Thrombopoese hauptsächlich reguliert. Dabei unterstützt es die Differenzierung und Proliferation der Stammzellen, Vorläuferzellen der Megakaryozyten und anderer Zelllinien im Zusammenwirken mit weiteren Zytokinen oder allein ([SBR<sup>+</sup>98]). Aus Tierexperimenten weiß man, daß es die Thrombozytenproduktion, die Anzahl der Endomitosen beziehungsweise die Größe und Anzahl von Megakaryozyten und deren Vorläufern enorm steigern kann ([Kau02]). Die Produktion von Thrombopoetin erfolgt in Leber, Niere, Knochenmarksstroma und zahlreichen anderen Geweben ([Kau03]). Unter Normalbedingungen ist die Produktion konstant, wobei diese durch die Leber dominiert wird ([TvdSVZ04],[JK04]). Die Plasmakonzentration hingegen wird hauptsächlich reguliert durch einen Abbau nach Bindung an Zellen, die einen entsprechenden Rezeptor, den c-Mpl Rezeptor (c-myeloproliferative leukemia virus, benannt nach der Entdeckung), exprimiert haben ([TvdSVZ04]). Belegen läßt sich das durch eine verlängerte Thrombopoetinhalbwertszeit bei c-Mpl Rezeptor knock-out Mäusen ([FGS<sup>+</sup>96]). Daher wird Thrombopoetin auch als c-Mpl Ligand bezeichnet. Zu Zellen mit c-Mpl Rezeptoren zählen Megakaryozyten und Thrombozyten ([vG03], [BLS<sup>+</sup>97]). Auch Chemotherapien, die einen starken Verlust an Megakaryozyten, Thrombozyten und damit von c-Mpl receptorausbildenden

den Zellen haben, führen zu hohen Thrombopoetinspiegeln ([ELFS99],[STN<sup>+</sup>98]). Diese Beobachtungen sprechen gegen die Hypothese, daß eine Regulierung des Thrombopoetinspiegels auf Genexpression-Level stattfindet. Denn in Tierexperimenten mit thrombozytopenischen Mäusen ([SWS96]) oder c-Mpl-Rezeptor knock-out Mäusen ([FGS<sup>+</sup>96]) waren keine erhöhten TPO mRNA Level trotz erhöhtem TPO-Spiegel feststellbar.

Seit der künstlichen Herstellung von Thrombopoetin im Jahr 1994 stehen zwei rekombinante Varianten rhTPO (recombinant human thrombopoietin) und PEG-rHuMGDF (pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor) zur Verfügung. Jedoch traten in klinischen Studien (beispielsweise [LYX<sup>+</sup>01]) bei wenigen Personen neutralisierende Antikörper auf. Diese Antikörper bildeten sich gegen PEG-rHuMGDF, das mit endogenem Thrombopoetin reagierte. Dabei wurde die pharmakologische Wirkung beider aufgehoben und es folgte eine Thrombozytopenie. Aufgrund dieser Nebenwirkungen wurde PEG-rHuMGDF aus klinischen Studien in den Vereinigten Staaten 1998 zurückgezogen. Die Gründe für die Nebenwirkung von PEG-rHuMGDF im Gegensatz zu rhTPO könnten darin liegen, daß PEG-rHuMGDF gekürzt, nicht glykolisiert, pegyliert ist und subkutan appliziert wurde. Bisher sind keine Fälle bekannt, daß neutralisierende Antikörper bei intravenös applizierten rhTPO aufgetreten sind ([KB02]). Ähnliches zeigen auch Studien (zum Beispiel [SBFL<sup>+</sup>02]) über die Wirkung von PEG-rHuMGDF, bei denen keine Antikörper festgestellt wurden. Daher ist der Einsatz von rekombinantem Thrombopoetin, das damit verbundene Risiko aber auch die Vorteile weiterhin zu diskutieren.

### 2.1.3. Chemotherapie

Zur Behandlung von onkologischen Krankheiten werden verschiedene Therapien eingesetzt. Hierzu zählen beispielsweise operative Therapien, Strahlentherapie, Immuntherapie oder (konventionelle oder hochdosierte) Zytostatikatherapie. In dieser Arbeit ist es von Interesse zu verstehen, wie bestimmte Zytostatika im Rahmen einer konventionellen Chemotherapie wirken. Die Chemotherapie wird als Primärtherapie kurativ, adjuvant oder palliativ eingesetzt.

Zytostatika sind eine heterogene Gruppe von Substanzen, welche das Zellwachstum hemmen oder Zellen absterben lassen. Anhand der Art und Weise wie diese Substanzen auf Tumorzellen wirken, können diese in eine Vielfalt von Gruppen unterteilt werden. So gibt es beispielsweise

- Alkylantien wie Cyclophosphamid, die Alkylgruppen in die DNA einbauen und damit die Zellteilung verhindern und die Zellen zerstören.

- Anthrazykline wie Doxorubicin, die an die DNA binden, die Nukleinsäuresynthese hemmen und die Zellteilung blockieren.
- Vinca-Alkaloide wie Vincristin, die an das Protein Tubulin binden, die Ausbildung von Mikrotubuli hemmen und dadurch die Zellteilung unterbrechen.
- Epipodophyllotoxine wie Etoposid, die die Topoisomerase II inhibieren, die Zytokinese unterdrücken und die Zellen in das Stadium der Apoptose führen.

Jedoch zieht die Anwendung von Zytostatika zahlreiche Nachteile mit sich. Darunter fallen eine sehr heterogene Chemosensitivität bezüglich verschiedener Tumorentitäten, unspezifische Wirkung, geringe therapeutische Breite und zahlreiche dosislimitierende Nebenwirkungen wie Übelkeit, Myelo-, Neuro-, Kardio- oder Hämatotoxizität wie zum Beispiel Thrombopenie.

#### 2.1.4. Thrombopherese

Die Thrombopherese beschreibt den Vorgang, durch den Thrombozyten aus dem Blut eines Blutplättchenspenders extrahiert werden. Dies geschieht mit einer Zentrifuge, die das Blut in seine Bestandteile auftrennt und daraufhin einen kleinen Teil an Blutplättchen filtert. Auf diese Weise werden rund 5l Blut kontinuierlich verarbeitet und ca.  $4 \cdot 10^{11}$  Thrombozyten gefiltert ([DHK<sup>+</sup>98]).

Die gewonnenen Thrombozyten können später im klinischen Einsatz als Transfusionen zur Verfügung gestellt werden, um beispielsweise Spontanblutungen zu stoppen.

## 2.2. Grundlagen mathematischer Modelle

Einen Einblick zum Grundverständnis der Modellierung liefert die Veröffentlichung von [WLH<sup>+</sup>83]. Die darin gewonnen Erkenntnisse sind jedoch nicht nur auf die Hämatologie beschränkt, sondern finden ebenso Anwendung für die Modellierung anderer biologischer Systeme. Ziel ist es, die komplexen Regelmechanismen wie sie zum Beispiel bei der Blutbildung auftreten, durch möglichst einfache Gleichungssysteme quantitativ zu erfassen.

Die Beschreibung solcher Regelmechanismen erfolgt insbesondere bei zeitlich variablen Größen häufig mit einem Differentialgleichungssystem, das sowohl lineare Differentialgleichungen als auch solche mit Zeitverzögerung enthalten kann. Um ein physiologisches, d.h. biologisch interpretierbares System aufstellen zu können, werden jedoch biologische Informationen wie Zellzahlen in bestimmten Zuständen (Kompartiment), Aufenthaltsdauer und Anzahl der Teilungen unter Stimulation (minimal, im Normalzustand, maximal) benötigt. Informationen zu den Rückkopplungshormonen wie zum Beispiel die

Halbwertszeiten sind ebenso erforderlich. Darüber hinaus ist die Art des Abbaus der Zellen oder der Übergang von einem Zustand in den nächsten wesentlich, zum Beispiel ob der Abbau alters- oder zufallsabhängig erfolgt. Mithilfe dieser Informationen kann das biologische Wissen in eine mathematische Form überführt werden.

Dieses Vorgehen erlaubt eine Vielzahl von Anwendungen. So lassen sich zum Beispiel Experimente mit veränderten Anfangswerten der Zellzahlen durchführen, um die Auswirkungen auf die anderen Kompartimente und das weitere Systemverhalten zu beobachten. Oder es werden Experimente mit veränderten Umweltbedingungen bzw. Umweltparametern durchgeführt, die charakteristischerweise einen neuen Gleichgewichtszustand der Zellzahlen zu Folge haben.

Dabei soll die Übereinstimmung des Modells mit den experimentellen Daten ein Maß für die Qualität des Modells sein. So müssen vorhandene Daten reproduziert werden und die Anzahl der Kompartimente, in denen diese Daten abgebildet werden können, möglichst hoch sein. Bei wachsender Anzahl von Umwelteinflüssen sollten so wenig wie möglich Modellparameter geändert werden. Zudem sollen so viel wie möglich Modellparameter Interpretationen biologischer Größen sein und die Zahl der übrigen freien Parameter möglichst klein sein. Daher reduzieren solche freien Parameter den Wert des Modells, weil die Interpretation der Modelldaten verschoben wird auf die Interpretation spekulativer Modellparameter. Darüber hinaus sollten Modelle möglichst einfach sein und sich in ihrer Komplexität am biologischen Wissen orientieren. Modelle dienen dabei der Simulation einer Klasse von Experimenten und wiederum jedes Experiment aus dieser Klasse muß durch das Modell beschreibbar sein. Das bedeutet eine (eindeutige) Abbildung zwischen Modell und einer Menge von Experimenten.

Mathematische Modelle eignen sich daher für eine kompakte Zusammenstellung relevanter Regeleinflüsse in der Hämatologie. Denn es können Hypothesen über unbekannte Sachverhalte formuliert und deren Konsequenzen berechnet werden. Daraus kann auf richtige Hypothesen geschlossen und falsche verworfen werden. Weiterhin ist es möglich mit einem Modell Vorhersagen zu treffen, was in der Planung neuer Experimente und zur Optimierung von Versuchen Verwendung findet. Deshalb ist die Modellierung ein wichtiger Schritt zum Ordnen von medizinischem Wissen und Erarbeiten neuer Fragestellungen.

## 3. Modell der Thrombopoese

### 3.1. Modellbildung

Der Aufbau, die Anpassung und die Validierung des Modells umfassen fünf Schritte

1. Aus der Literatur wird das notwendige (biologische) Wissen entnommen, um ein Thrombopoesemodell zu entwickeln. Das schließt ältere Modelle (zum Beispiel [Kli01],[Wic84]) zu diesem Thema und zu anderen Zelllinien der Hämatopoese wie die Erythropoese ([Mey04]) und Granulopoese ([ESL04],[SEL04]) mit ein.

Daten von Experimenten, die das Modell erklären soll, werden aus Studien (Chemotherapie) beziehungsweise aus der Literatur (Thrombopherese) entnommen. Daten aus der Literatur werden mit dem entwickelten C++ Tool WinScale aus Diagrammen extrahiert, wenn keine Rohdaten vorhanden sind.

Über noch nicht ausreichend verstandene Mechanismen (Aufbau der Modellgleichungen) werden Hypothesen gebildet. Fehlende Parameterwerte (Anpassung der Modellgleichungen) werden mit Evolutionsstrategie ([Rec73]) geschätzt.

2. Die Pharmakokinetik von Thrombopoetin wird abgebildet. Dazu wird die Vorhersage der Zytokinspiegel von Patienten aus [ELFS99] an deren Thrombozytenwerte angepaßt. Dabei werden zwei Möglichkeiten untersucht. Einerseits wird die empirische loglineare Abhängigkeit von Thrombopoetin und Thrombozyten und andererseits eine Differentialgleichung zur Beschreibung der zeitlichen Dynamik des Zytokins untersucht. Das Ergebnis ist die Pharmakokinetik von Thrombopoetin und ein durch Evolutionsstrategie geschätzter Parametersatz.
3. Das vollständige Pharmakokinetik/Pharmakodynamik-Modell (PK/PD-Modell) bestehend aus den Kompartimenten der Stammzellen, CFU-Mk, Megakaryozyten, Thrombozyten und Thrombopoetin wird mit den Thrombozytenspiegeln aus der NHL-B Studie ([PTK<sup>+</sup>04]) aufgestellt. Insbesondere werden aufgrund des geringen Wissens über die CFU-Mk zahlreiche Hypothesen überprüft. Auch der Einfluß eines zusätzlichen Kompartiments, dem der Prothrombozyten wird untersucht. Das



Thrombopoetinkompartiment wird hierbei nicht verändert. Am Ende dieses Entwicklungsprozesses liegt ein Modell der Thrombopoese vor, das den Thrombozytenspiegel und die Wirkung von Chemotherapien (CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP21) simulieren kann.

4. Das aufgestellte Modell wird daraufhin geprüft, ob es ausreichend ist, um andere Störungen der Thrombopoese wie die Thrombophereose vorhersagen zu können. Dazu wird ein Pool aus Thrombozyten- und Thrombopoetinspiegeln ([WSW<sup>+</sup>01], [WFG<sup>+</sup>99], [DHK<sup>+</sup>98]) von Thrombozytenspendern mit den Vorhersagen des Modells verglichen.
5. Im letzten Schritt wird eine Sensitivitätsanalyse der Modellparameter durchgeführt. Weiterhin wird das Modell dazu verwendet, Vorhersagen über die Thrombopoetinspiegel der vier bekannten Chemotherapien und der Thrombozyten- und Thrombopoetinverläufe hypothetischer Chemotherapiesysteme zu treffen.

## 3.2. Grundlagen

### Differentialgleichungen der Modellkompartimente

Zur Beschreibung des Verhaltens der an der Thrombopoese beteiligten Zellstufen sollen Differentialgleichungen verwendet werden. Mit Hilfe solcher Gleichungen ist es für jede Zellstufe beziehungsweise Zellkompartiment möglich, die zeitliche Dynamik zu beschreiben. Unter einem Kompartiment versteht man ein räumlich oder auch nur funktionell abgegrenztes Gebilde, dem ein Gehalt (z.B. Zellzahl oder Konzentration) sowie eine einheitliche Kinetik zugeordnet ist. Die einfachste Form einer solchen linearen Gleichung für den Kompartimentinhalt  $C_i$  des Kompartiments  $i$  besteht aus dem Zustrom  $C_{i-1}^{\text{out}}$ , welcher gerade dem Abstrom der davor liegenden Zellstufe und dem eigenen durch eine bestimmte Transitzeit  $T_i$  festgelegten Abstrom  $C_i^{\text{out}}$  entspricht. Die Transitzeit ist definiert als der Erwartungswert der Aufenthaltszeit einer Zelle in der Zellstufe. Im weiteren wird es von Interesse sein, die relative Größe eines Kompartiments  $C_i^{\text{rel}}$  zu verwenden, die aus dem Quotienten der Kompartimentgröße und der Größe unter Normalbedingungen besteht.

### Aufspaltung der Amplifikation

Die einfache lineare Form einer Differentialgleichung genügt jedoch meist nicht, um die Kinetik eines Kompartiments ausreichend zu beschreiben. Denn es kann notwendig sein,

eine bestimmte auf die Zellstufe  $C_i$  wirkende Amplifikation  $A_i$  (Zellvermehrung durch Teilung) zu berücksichtigen. Die Amplifikation ist hierbei biologisch über die verschiedenen Altersstufen eines Zellkompartiments verteilt. Berücksichtigt man diese Gesamtamplifikation aber nur auf einer Altersstufe, so führt dies zu einer unrealistischen, sofortigen Änderung des Kompartiments und dessen Abstroms. Um aber eine verzögerte Reaktion des Systems auf Änderungen der Amplifikation zu erreichen, bedient man sich dem Aufspalten der Amplifikation (amplification splitting), das in [WL85], [SEL04] beschrieben und begründet ist. Man zerlegt hierbei die Gesamtamplifikation  $A_i$  in zwei multiplikative Anteile  $A_i^{\text{in}}$  und  $A_i^{\text{out}}$ , die auf den Ein- bzw. Ausstrom des Kompartiments aufmultipliziert werden.

## Z-Funktion

In einigen Kompartimenten kann zudem nicht von einer konstanten Amplifikation der zu modellierenden Zellen ausgegangen werden. Vielmehr wird diese beeinflusst durch ein Zytokin, das die Fähigkeit besitzt, die Amplifikation zu erhöhen oder zu verringern. Im Modell selbst wird das Zytokin Thrombopoetin zur Beschreibung dieses Einflusses herangezogen. Ähnliches gilt für die Transitzeit, denn diese kann ebenso durch die Konzentration des Wachstumsfaktors geregelt werden. Mathematisch läßt sich ein funktionaler Zusammenhang zwischen (relativer) Konzentration des Zytokins  $C_X^{\text{rel}}$  (Dosis, zum Beispiel  $X=\text{TPO}$ ) und dessen Wirkung mit Hilfe einer sogenannten Z-Funktion  $Z(C_X^{\text{rel}})$  beschreiben. Eine wesentliche Eigenschaft der Z-Funktion ist die Sättigungscharakteristik für hohe Dosen. Der Grund hierfür ist, daß ein biologisches System nicht unbegrenzt viel eines Stoffes produzieren oder abbauen kann oder eine Reifung nicht beliebig schnell abläuft und das System mit der Zeit erschöpft. Neben der Z-Funktion muß noch die inverse Z-Funktion  $Z^{\text{inv}}(C_X^{\text{rel}})$  untersucht werden. Denn im Gegensatz zur Amplifikation, die häufig durch eine monoton steigende Dosis-Wirkungs-Beziehung gekennzeichnet ist, gilt für die Transitzeit meist die Umkehrung. Wird nämlich die Transitzeit in einem Kompartiment durch ein Zytokin geregelt, so kann eine höhere Zytokinkonzentration eine kleiner werdende Transitzeit bedeuten. Hier gibt es ebenso eine Sättigungscharakteristik, die durch eine untere Schranke gekennzeichnet ist. Eine Eigenschaft der Z-Funktion und inversen Z-Funktion besteht darin, daß in Abhängigkeit von der relativen Zytokinmenge bestimmte, für diese Funktionen charakteristische Punkte durchlaufen werden. So beginnt der Funktionsgraph beider Funktionen in  $(0, Z_{\text{min}})$  bzw.  $(0, Z_{\text{max}})$ , durchquert den Normalwert  $(1, Z_{\text{nor}})$  und konvergiert im Grenzübergang gegen  $Z_{\text{max}}$  bzw.  $Z_{\text{min}}$ . Der Normalwert der Z-Funktion bei 1 ist erklärt durch den relativen Zytokinspiegel im Normalzustand. Ein Sensitivitätsparameter  $b$  beeinflusst den Anstieg des Funktionsgraphen

der Funktion beziehungsweise die Geschwindigkeit, in der die Sättigung erreicht wird. Die Zusammenhänge sind anhand der Abbildungen 3.1a und 3.1b verdeutlicht (Gleichungen siehe Anhang). Eine Möglichkeit, die inverse Z-Funktion zu bilden, besteht darin, die Werte von  $Z_{\min}$  und  $Z_{\max}$  der Z-Funktion zu vertauschen. Der sich daraus ergebende funktionale Zusammenhang ist äquivalent dem der inversen Z-Funktion.

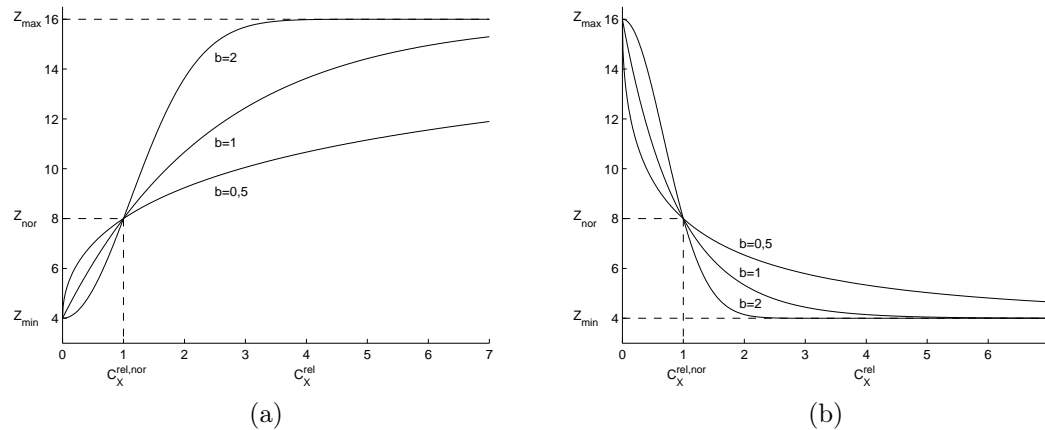


Abbildung 3.1.: Z-Funktion (a) und inverse Z-Funktion (b)  
Exemplarisch werden die Amplifikationsparameter  $(Z_{\min}, Z_{\text{nor}}, Z_{\max}) = (4, 8, 16)$  und  $b \in \{0,5; 1; 2\}$  verwendet

### Michaelis-Menten Kinetik

Ähnlich der Z-Funktion lässt sich eine Dosis-Wirkungs-Beziehung mit Sättigungscharakter auch anders beschreiben. Die Michaelis-Menten Kinetik  $M(d)$  stellt eine sehr einfache Möglichkeit dar, eine biologische Wirkung  $M$  in Abhängigkeit einer Dosis  $d$  zu beschreiben. Dieser Zusammenhang ist für die Beschreibung des spezifischen Thrombopoetinabbaus von Nutzen. Im Gegensatz zur Z-Funktion beginnt der Funktionsgraph der Michaelis-Menten Kinetik immer im Koordinatenursprung und konvergiert im Unendlichen gegen eine Schranke  $M_{\max}$ . Ein Sensitivitätsparameter  $M_k$  steuert dabei die Geschwindigkeit der Konvergenz. Die Abbildung 3.2 soll das veranschaulichen.

### Charakteristische Chemotherapiefunktion

Um die toxische Wirkung einer Chemotherapie auf eine bestimmte Zellstufe zu modellieren, verwendet man in der Differentialgleichung des betroffenen Kompartiments  $C_i$  einen zusätzlichen Abstrom  $C_i^{\text{kill}}$ . Dieser besteht aus dem Kompartiment  $C_i$ , das mit einer cha-

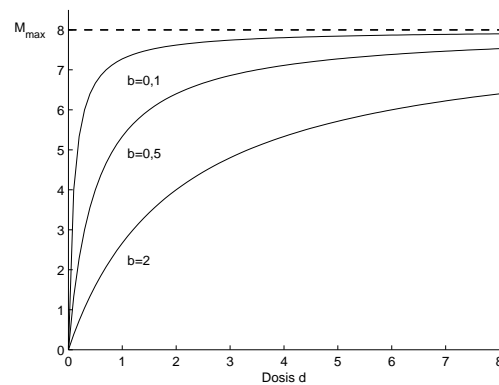


Abbildung 3.2.: Michaelis-Menten Kinetik

Beispielhaft werden die Parameter  $M_k \in \{0,1; 0,5; 2\}$  und  $M_{\max} = 8$  benutzt

rakteristischen Konstante  $k_i^{CX}$  für die Zellstufe  $i$  und Substanz  $CX$  der Chemotherapie gewichtet wird (Verlust erster Ordnung). Vereinfachend wird angenommen, daß der Einfluß der Chemotherapie auf das Kompartiment nicht länger als einen Tag anhält. Um dies zu erreichen, benutzt man die charakteristische Chemotherapiefunktion  $\Psi_i^{CX}$  ([SEL04]), die als dritter Faktor im Abstrom  $C_i^{\text{kill}}$  auftritt. Die Wirkung unterschiedlicher chemotoxischer Substanzen wird als unabhängig und additiv im Abstrom berücksichtigt.

### Fitnessfunktion

Zur Beurteilung der Güte der Anpassung des Modells an Daten (Fitness des Parametersatzes in der Evolutionsstrategie) findet die Summe der quadratischen Abweichungen  $f_{F1}(Y)$  der Modellvorhersagen  $y_i$  von den Daten  $Y(t_i)$  zu den Zeitpunkten  $t_i$  Verwendung. Das Ziel der Anpassung ist hierbei eine Simulationskurve die nahe am Mittelwert der Daten auf einer kartesischen Skala liegt. Eine Alternative besteht darin, die Fitnessfunktion als Summe der absoluten Abweichungen  $f_{F2}(Y)$  der Logarithmen der Vorhersagen  $y_i$  von den Daten  $Y(t_i)$  zu definieren. Diese Art der Definition hingegen, soll die Anpassung an eine Simulationskurve nahe am Median auf einer logarithmischen Skala ermöglichen. Das hat den Vorteil für Messungen unterschiedlicher Größenordnung wie bei den Thrombopoetinspiegeln eine bessere gemeinsame Anpassung zu erhalten.

### 3.3. Daten

Die verwendeten experimentellen Daten sollen einerseits der Anpassung noch unbekannter (biologischer) Parameter und andererseits der Validierung des Modells dienen. Die

Evolutionstrategie beschrieben in [Rec73] wird als Algorithmus zur Anpassung mehrparametrischer Optimierungsprobleme eingesetzt. Daten, die nur als Grafiken vorliegen, werden mit dem Tool WinScale extrahiert und in einen Datensatz überführt.

### 3.3.1. Thrombopoetin

Zur Untersuchung der Pharmakokinetik des Thrombopoetin werden die Thrombopoetinspiegel und Thrombozytenverläufe aus [ELFS99] nachfolgend beschriebener Patienten verwendet. Zudem wird die in der Publikation beschriebene empirische loglineare Abhängigkeit von Thrombopoetin und Thrombozyten im Modell angewendet.

	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Alter, Geschlecht	57, männlich	39, männlich	32, weiblich
Chemotherapie	CHOEP21	BEACOPP21 eskaliert	BEACOPP14

### 3.3.2. Chemotherapie

Um den Einfluß der Chemotherapie zu untersuchen, dienen Patientendaten der NHL-B Studie der Deutschen Studiengruppe Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome (DSHNHL) wie beispielsweise in [PTK<sup>+</sup>04] publiziert. Diese Studie wird am Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie (IMISE) biometrisch betreut und die Daten werden von der DSHNHL freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Diese umfassen die Thrombozytenspiegel von insgesamt 1475 Patienten im Alter zwischen 18 und 75 Jahren aus den Therapien CHOP14 (362 Patienten), CHOEP14 (374), CHOP21 (370) und CHOEP21 (369). Bestimmt wurden der mediane Thrombozytenspiegel und der dazugehörige Quartilsbereich für jeden Therapietag der 6 Zyklen zu den oben genannten 4 Armen. Nachfolgend ist das für jeden Zyklus identische Behandlungsprotokoll der Systeme dargestellt, das vom Modell in dieser Arbeit simuliert werden kann. Die CHOP $tt$  Protokolle mit einer Zyklusdauer von  $tt$  Tagen unterscheiden sich von den CHOEP $tt$  Protokollen nur dadurch, daß zusätzlich Etoposid am Tag 1-3 in jedem Zyklus verabreicht wird.

	Substanz	Dosisierung	Applikation	Dosis und Zeit
C	Cyclophosphamid	mg/m <sup>2</sup> /Tag	i.v.	750, Tag 1
H	Doxorubicin	mg/m <sup>2</sup> /Tag	i.v.	50, Tag 1
O	Vincristin	mg/Tag	i.v.	2, Tag 1
E	Etoposid	mg/m <sup>2</sup> /Tag	i.v.	100, Tage 1-3
P	Prednison	mg/Tag	p.o.	100, Tage 1-5

Die Verteilung von insgesamt 7305 Therapiezyklen auf die Arme und Zyklen ist in folgender Tabelle dargestellt.

Chemotherapie	Messungen pro Zyklus					
	1	2	3	4	5	6
CHOP14	342	324	320	303	282	246
CHOEP14	358	336	322	312	298	266
CHOP21	348	320	311	290	275	231
CHOEP21	351	323	320	295	287	245
Gesamtanzahl pro Zyklus	1399	1303	1273	1200	1142	988

### 3.3.3. Thrombopherese

Zur Thrombopherese werden Daten aus den Publikationen [DHK<sup>+</sup>98], [WSW<sup>+</sup>01] und [WFG<sup>+</sup>99] entnommen. Dabei werden die Daten zu Thrombopoetinspiegel, Thrombozytenwert und die zugehörigen Standardabweichungen von Thrombozytenspendern aus diesen Quellen zu einem Pool zusammengefaßt, indem der Mittelwert der vorhandenen Meßwerte zu jedem Zeitpunkt bestimmt wird. Zur Berechnung der Gesamtstandardabweichung zu einem Zeitpunkt wird angenommen, daß die Mittelwerte der Messungen normalverteilt sind.

Quelle	Alter		Spenderanzahl		Tage nach Spende						
	Bereich	Median	weiblich	männlich	0	1	2	3	4	7	
[DHK <sup>+</sup> 98] Frauen*	21-44	26	12		•	•	•	•	•		
[DHK <sup>+</sup> 98] Männer*	21-44	26		11	•	•	•	•	•		
[WSW <sup>+</sup> 01]	25-54	34	5	7	•	•			•	•	
[WFG <sup>+</sup> 99]	19-58	30		21	•	•	•			•	
Gesamtspenderanzahl				56	56	56	44	23	35	33	

• Meßwert zum Zeitpunkt vorhanden

\* Altersangaben beziehen sich auf das Kollektiv aus Männer und Frauen

### 3.4. Struktur

Es besteht die Vorstellung, daß die an der Thrombopoese beteiligten Zellstufen, nämlich die der (pluripotenten) Stammzellen, koloniebildende Einheiten der Megakaryozyten (CFU-Mk), Megakaryozyten und Thrombozyten kaskadenartig durchlaufen werden. Das Modell wird deshalb durch nachfolgende Struktur beschrieben

- Im Knochenmark werden ausgehend von den pluripotenten Stammzellen durch Differenzierung die Zellen der CFU-Mk gebildet. Die Thrombopoetinkonzentration bewirkt hierbei eine Amplifikation der CFU-Mk, die durch Aufspaltung der Amplifikation (amplification splitting) in eine Ein- und Ausgangsamplifikation sowohl auf den Einstrom aus dem Stammzellkompartiment als auch auf den Ausstrom in das Megakaryozytenkompartiment aufmultipliziert wird. Bei den Megakaryozyten führt ein erhöhter Thrombopoetinspiegel zu einer Erhöhung der Masse, die wiederum multiplikativ mit dem Ein- und Ausstrom in das beziehungsweise aus dem Kompartiment berechnet wird. Zudem resultiert eine erhöhte Thrombopoetinkonzentration in einer verkürzten Transitzeit der Megakaryozyten. Zuletzt erfolgt eine Rückkopplung der Kompartimentgrößen der CFU-Mk und Megakaryozyten auf die Stammzellen, die den Bedarf des hämatopoetischen Systems repräsentiert (siehe Stammzellregulation in [WL85]).
- Der größere Anteil des Ausstroms des Megakaryozytenkompartiments führt in das Thrombozytenkompartiment der Milz, in dem hauptsächlich junge Thrombozyten gespeichert sind. Ausgehend von jedem Subkompartiment der Milz fließen Thrombozyten in die Subkompartimente gleichen biologischen Alters ins periphere Blut. Der Abbau dieser Thrombozyten erfolgt altersspezifisch, indem jeder Thrombozyt jedes Subkompartiment durchwandert und nach Verlassen des letzten Subkompartiments als abgebaut betrachtet wird.
- Der kleinere Anteil des Megakaryozytenausstroms hingegen gelangt direkt in das periphere Blut als Zirkulationsthrombozyten, die beim Durchlauf aller Subkompartimente altersspezifisch abgebaut werden.
- Die Produktion von Thrombopoetin erfolgt konstant, wobei es im peripheren Blut spezifisch und unspezifisch abgebaut wird. Der spezifische Abbau erfolgt abhängig von den Konzentrationen der Megakaryozytenmasse und der Thrombozyten im peripheren Blut.
- Die Substanzen der Chemotherapie, die über das periphere Blut alle Komparti-

mente erreichen, bewirken bei den Stammzellen, CFU-Mk und Megakaryozyten eine akute Zellvernichtung.

Die Abbildung 3.3 soll die Modellstruktur verdeutlichen.

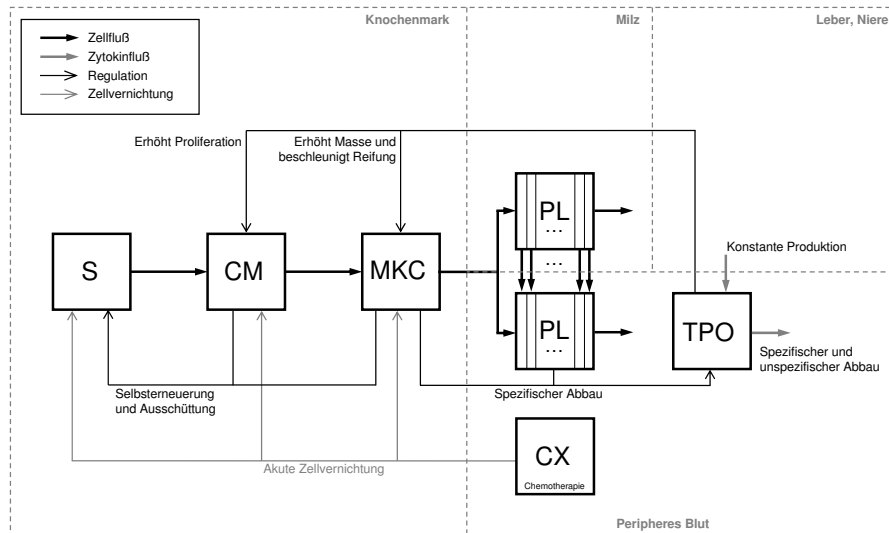


Abbildung 3.3.: Modellstruktur  
Überblick der Kompartimentstruktur des Thrombopoese-Modells

## 3.5. Modellannahmen

### 3.5.1. Kompartimente

Ausgehend von den biologischen Grundlagen und dem Vorwissen werden im folgenden die Annahmen für jedes Kompartiment des Modells dargestellt.

#### Stammzellkompartiment

Die Regulation für das Stammzellkompartiment wird aus dem Modell für die Granulopoese ([ESL04],[SEL04]) basierend auf den Überlegungen von [WL85] übernommen. Dort wurde festgelegt

- Der proliferative Anteil  $a$  von Stammzellen wird als Funktion mit folgenden Argumenten festgelegt

$$a = F(C_S^{\text{rel}}, C_E^{\text{rel}}, C_G^{\text{rel}}; a_{\text{min}}, a_{\text{nor}}, a_{\text{int}}, a_{\text{max}}, \omega_S, \omega_E, \omega_G)$$



Dabei wichten  $\omega_S = 1$ ,  $\omega_E = 0,3$  und  $\omega_G = 0,1$  die Stärke des Einflusses auf die Parameterfestlegung für das Stammzellkompartiment  $C_S$ , Erythrozytenkompartiment  $C_E$  und Granulozytenkompartiment  $C_G$ . Hingegen stellen  $a_{\min} = 0,01$ ,  $a_{\text{nor}} = 0,15$ ,  $a_{\text{int}} = 0,45$  und  $a_{\max} = 1$  die Parameter für den minimalen, normalen, intensivierten und maximalen proliferativen Anteil dar.

- Die Selbsterneuerungswahrscheinlichkeit  $p$  der Stammzellen wird reguliert durch den Bedarf des gesamten hämatopoetischen Knochenmarksystems. Die Wahrscheinlichkeit  $p$  wird dabei aufgefaßt als Funktion mit folgenden Parametern

$$p = F(C_S^{\text{rel}}, C_E^{\text{rel}}, C_G^{\text{rel}}; p_\delta, \vartheta_E, \vartheta_G)$$

Die Parameter  $\vartheta_E = -2$ ,  $\vartheta_G = -8$  wichten die dazugehörigen Kompartimente. Ferner ist definiert  $p_\delta = p_{\text{nor}} - p_{\min} = p_{\max} - p_{\text{nor}} = 0,1$  und beschreibt die Abweichung von der Erneuerungswahrscheinlichkeit  $p_{\text{nor}} = 0,5$  im Gleichgewicht.

- Anstatt einer Transitzeit  $T_S$  wird die Zellzykluszeit  $\tau_S = 8\text{h}$  der Stammzellen verwendet, um die zeitliche Dynamik der Zellteilungen zu beschreiben.
- Da es im reinen Thrombopoesemodell keine Kompartimente für Erythrozyten  $C_E$  und Granulozyten  $C_G$  gibt, muß für die Rückkopplung auf das Stammzellkompartiment eine andere Möglichkeit in Betracht gezogen werden. So wird stattdessen eine Rückkopplung des Knochenmarkpools bestehend aus der relativen Gesamtzahl von CFU-Mk und Megakaryozyten auf die Stammzellen benutzt.

### Kompartiment der koloniebildenden Einheiten der Megakaryozyten

Da genaue Angaben wie beispielsweise Transitzeit oder die Wirkung von Thrombopoetin auf diese Zellstufe für den Menschen noch nicht bekannt sind, wurde durch folgende Annahmen bei kleinstmöglicher Parameterzahl eine gute Anpassung der Modellvorhersage an die Chemotherapiedaten erreicht.

- Thrombopoetin bewirkt eine Amplifikation der CFU-Mk. Diese Amplifikation wird mit einer Z-Funktion  $A_{\text{CM}} = Z(C_{\text{TPO}}^{\text{rel}})$  modelliert. Die zugehörigen Parameter  $A_{\text{CM}}^{\min}$ ,  $A_{\text{CM}}^{\text{nor}}$ ,  $A_{\text{CM}}^{\max}$  der Minimal-, Normal-, Maximalamplifikation und der Sensitivitätsparameter  $b_{\text{CM}}^A$  werden durch Evolutionsstrategie ([Rec73]) geschätzt.
- Die CFU-Mk besitzen eine feste Transitzeit  $T_{\text{CM}}$ , die gleichfalls durch Evolutionsstrategie geschätzt wird.

### Megakaryozytenkompartiment

Basierend auf der Modellgleichung von [Wic84] wird die zeitliche Dynamik der Megakaryozytenmasse beschrieben. Ein Unterschied besteht darin, daß der Einstrom in dieses Kompartiment dem Ausstrom der CFU-Mk entspricht und nicht wie im älteren Modell dem der Stammzellen. Es wird angenommen

- Thrombopoetin bewirkt eine Amplifikation der Megakaryozyten, was mit einer Z-Funktion  $A_{\text{MKC}} = Z(C_{\text{TPO}}^{\text{rel}})$  beschrieben wird. Ausgehend davon, daß eine Zelle der CFU-Mk einen Ploidiegrad von  $2N$  und ein Megakaryozyt unter Normalbedingungen von  $16N$  besitzt, wird die Normalamplifikation von  $A_{\text{MKC}}^{\text{nor}} = 8$  abgeleitet. Nimmt man weiterhin an, daß bei fehlender Anregung ein Megakaryozyt eine Endomitose weniger beziehungsweise bei Anregung eine mehr ausführt ([Wic84]), werden die Minimal-  $A_{\text{MKC}}^{\text{min}} = 4$  und Maximalamplifikation  $A_{\text{MKC}}^{\text{max}} = 16$  bestimmt. Der Sensitivitätsparameter  $b_{\text{MKC}}^{\text{A}}$  wird angepaßt.
- Ein höherer beziehungsweise niedrigerer Thrombopoetinspiegel verkürzt beziehungsweise verlängert die Transitzeit  $T_{\text{MKC}}$  der Megakaryozyten. Dargestellt wird dieser Sachverhalt mit einer inversen Z-Funktion  $T_{\text{MKC}} = Z^{\text{inv}}(C_{\text{TPO}}^{\text{rel}})$ . Die Parameterwerte  $T_{\text{MKC}}^{\text{min}} = 96\text{h}$ ,  $T_{\text{MKC}}^{\text{nor}} = 144\text{h}$ ,  $T_{\text{MKC}}^{\text{max}} = 168\text{h}$  der Minimal-, Normal-, Maximalamplifikation werden aus der Arbeit ([Wic84]) übernommen und der Sensitivitätsparameter  $b_{\text{MKC}}^{\text{T}}$  geschätzt. Die Angaben entstehen aus der Überlegung, daß die normale Transitzeit  $6\text{d}=144\text{h}$  beträgt, unter Anregung durch Thrombopoetin um zwei Tage verkürzt und bei fehlender Stimulierung um einen Tag verlängert ist.
- Die Alterstruktur der Megakaryozyten wird vernachlässigt und angenommen, daß eine Zelle nach Durchlauf des Megakaryozytenkompartiments in Thrombozyten zerfällt.

### Thrombozytenkompartiment

Folgende Annahmen werden für dieses Kompartiment getroffen

- Das Verhältnis der Thrombozyten in der Milz (Kompartiment PLS) und Zirkulation (PLC) ist entsprechend der Menge enthaltener Blutplättchen als 1:2 zu modellieren. Weiterhin befinden sich in der Milz hauptsächlich junge Thrombozyten ([Wic84], [FAK77]). Diese Überlegung wird sich in der Berechnung der Flußkonstanten  $k_i^{\text{sc}}$  des Thrombozytenstroms von Milz in die Zirkulation im Subkompartiment  $i$  wiederfinden. Der Wert für den relativen Anteil  $g_1$  der Zirkulationsthrombozyten am

ersten Subkompartiment muß aufgrund von Randbedingungen größer als  $\frac{1}{3}$  und möglichst klein sein, weil junge Thrombozyten hauptsächlich in der Milz vertreten sind. Er wird deshalb auf den Wert  $g_1 = 0,34$  gesetzt. Der relative Anteil  $in$  des Einstroms der Megakaryozyten in die Zirkulation und entsprechend  $1 - in$  in die Milz muß durch Randbedingungen kleiner  $g_1$  sein und wird geschätzt.

- Die Kompartimente der Milz und Zirkulation werden in Subkompartimente unterteilt, die das biologische Alter der Thrombozyten widerspiegeln sollen. Die Anzahl  $n$  der Subkompartimente wird angepaßt. Weiterhin ist in [SEL04] dargestellt, daß für jedes Subkompartiment eine exponentialverteilte Transitzeit mit Erwartung  $T_{PL}^{sub}$  angenommen wird. Die Gesamttransitzeit ist dann gammaverteilt mit Erwartung  $T_{PL} = 240h$  und wird festgesetzt.
- Der Normalwert der Thrombozyten Spiegel für die Normierung der Modellergebnisse der Chemotherapie wird auf  $C_{PL}^{nor} = 275000/\mu l$  gesetzt (Mittelwert der Angaben aus [BR93], Median der Thrombozyten Spiegel vor Therapie aus NHL-B Studie: 265000/ $\mu l$ ).
- Gemessene Thrombozyten Spiegel beziehen sich auf das Zirkulationskompartiment.

### Thrombopoetinkompartiment

Zur Modellierung des Thrombopoetinkompartiments werden zwei verschiedene Möglichkeiten untersucht. Einerseits durch einen empirischen loglinearen Zusammenhang zwischen relativen Thrombopoetinspiegel und relativer Thrombozytenkonzentration wie er in [ELFS99] beschrieben ist. Andererseits wird eine Differentialgleichung zur Beschreibung der relativen Thrombopoetinkonzentration verwendet. In beiden Fällen sind keine Parameterwerte aus der Literatur bekannt, so daß diese durch Evolutionsstrategie geschätzt werden.

- Im ersten Fall besitzt die Gleichung nur einen freien Parameter  $k_{TPO}$  zur Beschreibung des Einflusses der Thrombozyten auf den Thrombopoetinspiegel.
- Im zweiten Fall sind fünf Parameter zu bestimmen. Diese Parameter umfassen die Produktionsrate  $\alpha$ , die Transitzeit  $T_{TPO}$  für den unspezifischen Abbau, den Sensitivitätsparameter  $K$  der Michael-Menten Kinetik und die Wichtungsfaktoren  $w_{MKC}$  der relativen Megakaryozytenmasse und  $w_{PL}$  des relativen Thrombozyten Spiegels für den Rezeptorspezifischen Abbau.

- Zur Bestimmung der Pharmakokinetik-Parameter des Thrombopoetin werden die gemessenen Thrombozytenwerte mit Hilfe einer Interpolationsfunktion stückweise linear abgebildet. Zusätzlich ist es notwendig, die relative Megakaryozytenmasse zu schätzen, für die keine Meßwerte vorliegen. Man nimmt dabei für die Megakaryozyten- und Thrombozytenverläufe eine zeitversetzte Dynamik mit Zeitverschiebung  $t_{MKC}$  an. Dieses Vorgehen ist jedoch nur für eine alleinige Vorhersage des Zytokinspiegels aus den Thrombozytenwerten (PK-Modell) relevant und wird im vollständigen PK/PD-Modell nicht benötigt.

### 3.5.2. Chemotherapie

Ähnlich den biologischen Annahmen eines etablierten Granulopoese-modells der Chemotherapie (vgl. [ESL04]) soll gelten

- Zytotoxische Substanzen führen zu einem sofortigen Abfall der Zellzahlen im betroffenen Knochenmarkskompartiment.
- Die Menge von Zellen, die pro Zeiteinheit eliminiert wird, ist proportional zur Zellzahl im Kompartiment. Ein Proportionalitätsfaktor  $k_i^{CX}$  (Toxizitätskoeffizient) charakterisiert dabei die Stärke der Toxizität. Dieser Koeffizient ist spezifisch für jede Zellstufe  $i$  und hängt ab vom Wirkstoff und der Dosis der chemotoxischen Substanz  $CX$ .
- Es wird kein eigenes Pharmakokinetikmodell für die zytotoxischen Substanzen und deren Metabolisierung verwendet. Stattdessen wird die Zellverlustrate in der Differentialgleichung in Verbindung mit der Charakteristischen Chemotherapiefunktion beschrieben. Der Zellverlust wird aufgrund der geringen Halbwertszeiten der zytotoxischen Substanzen auf 24 Stunden beschränkt und als konstant angenommen.
- Darüber hinaus wird kein verlängerter oder irreversibler Schaden an der hämatopoetischen Zelllinie betrachtet. Die Parameter der ungestörten Thrombopoese werden nicht verändert.
- Die Effekte unterschiedlicher Substanzen werden als unabhängig und additiv modelliert.
- Die Substanzen der Chemotherapien CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP21 wirken auf die Zellkompartimente der Stammzellen, CFU-Mk und Megakaryozyten. Für diese Kompartimente ist damit ein zusätzlicher Abstrom  $C_i^{kill}$  in den Differentialgleichungen zu berücksichtigen, der den Zellverlust quantifiziert.

In Analogie zum Granulopoesemodell ([SEL04]) wird angenommen, daß die auf die CFU-Mk wirkende Chemotoxizität näherungsweise der der Stammzellen entspricht. Deshalb werden speziell für das Thrombopoesemodell vier Toxizitätsparameter angepaßt, nämlich zwei Parameter für das Stammzell- und Megakaryozytenkompartiment:  $k_S^{\text{CHO}}$ ,  $k_{\text{MKC}}^{\text{CHO}}$  für die CHOP Therapie. Die CHOP Bestandteile werden hierbei den ersten Tag pro Zyklus verabreicht und als eine Substanzgruppe modelliert. Im Fall der CHOEP Therapie wird zusätzlich Etoposid eingesetzt (Tag 1-3 pro Zyklus), für welches zwei weitere Parameter  $k_S^{\text{E}}$ ,  $k_{\text{MKC}}^{\text{E}}$  benötigt werden.

### 3.5.3. Thrombopherese

- Es erfolgt keine Änderung des Modells (selbe Parameter, selbe Gleichungen)
- Der Startwert der zirkulierenden Thrombozyten ist verhältnismäßig auf den ersten gemessenen Thrombozytenpiegel abzusinken. Das heißt, daß der Quotient des Thrombozytenpiegels unmittelbar nach Thrombopherese und dem vorher gemessenen Normalpiegel gerade dem Startwert des relativen Thrombozytenkompartiments entspricht.
- Vereinfachend werden die Startwerte aller Subkompartimente zirkulierender Thrombozyten  $C_{\text{PLC}_i}(0)$  auf den gleichen Wert gesetzt.
- Weil aber der erste Thrombozytenmeßwert ebenso wie alle anderen Meßwerte mit einer Unsicherheit versehen ist, wird ein Korrekturfaktor  $k_0$  für den Startwert beziehungsweise die Startwerte eingeführt und angepaßt.

## 4. Technische Umsetzung

### 4.1. Modellierung mit Matlab Simulink

Das Modell wurde programmiert mit MATLAB Version 7.0.4.365 (Release 14) und der mitgelieferten SIMULINK Toolbox Version 6.2. Die numerische Integration des Differentialgleichungssystems erfolgt mit variabler Schrittweitensteuerung und der Methode von Adams (Option ode113) innerhalb von SIMULINK.

### 4.2. Datenanpassung mit Evolutionsstrategie

Zur Datenpassung soll die in [Rec73] beschriebene Methode der Evolutionsstrategie Verwendung finden. Die Idee besteht darin, die Prinzipien der biologischen Evolution zur Optimierung technischer Systeme zu verwenden. Es wird die Hypothese aufgestellt, daß die biologische Evolution eine optimale Strategie zur Anpassung von Lebewesen an ihre Umwelt bedeutet. Begründet wird dies durch die schnellere Umweltanpassung von Organismen mit verbesserten Vererbungsmechanismen. Sehr stark abstrahiert läßt sich dabei das Evolutionsgeschehen in zwei Stufen gliedern. Erstens die Erzeugung zufälliger Variationen eines Lebewesens und zweitens die Aussonderung der unvorteilhaften Varianten durch natürliche Auslese. Dabei werden folgende Parallelen gezogen

1. Der Genpool eines Lebewesens entspricht dem Parameterraum des technischen Systems
2. Der Genotyp ist mit einem bestimmten Parametersatz vergleichbar, der das konkrete Verhalten, den Phänotyp, des technischen Systems beschreibt.
3. Die Vitalität des Lebewesens in einer Umgebung soll korrespondieren mit der Qualität (Güte der Anpassung oder Fitness) des technischen Systems unter den vorgegebenen Randbedingungen (hier Simulationsszenarien).

Hinzu kommt die Überlegung, daß die Evolutionsstrategie schneller konvergiert, wenn die Mutationsschrittweiten selbständig in einem Lernprozess variiert werden.

Genau diese Prinzipien lassen sich für die Optimierung von Modellen verwenden, indem der 'Phänotyp' des Modells durch einen bestimmten Parametersatz festgelegt wird. Die Güte der Umweltanpassung des Modells, also die Anpassung an die Daten, hingegen wird durch eine Fitnessfunktion  $f_f$  ausgedrückt. Die maximale Fortschrittsgeschwindigkeit der Anpassung soll durch Vererbung und Mutation der Varianz jedes Parameters erreicht werden. Als Vererbungsmechanismus zum Erzeugen eines neuen Parametersatzes soll eine Zufallsfunktion  $Z_f$  zum Einsatz kommen, die ausgehend von den alten Parametern neue bestimmt.

Der zur Parameteroptimierung benutzte Algorithmus in MATLAB wird weitestgehend aus den Arbeiten zum Granulopoesemodell ([SEL04]) übernommen und sieht formal wie folgt aus

1. Initialisiere den Elternparametersatz
  - a) Lege für jeden Parameter einen plausiblen Anfangswert fest
  - b) Setze die Varianz eines jeden Parameters auf einen plausiblen Anfangswert
2. Erzeuge  $n$  Kinderparametersätze, wobei für jeden Parameter jedes Kinderparametersatzes gelten soll
  - a) Würfele eine neue Varianz durch Veränderung der Varianz des Elternparameters mit einer bestimmten Schrittweite (feste Varianz der Varianz)
  - b) Würfele einen neuen Parameter durch Veränderung des Parameters der Eltern mit der eben gewürfelten Varianz
  - c) Überprüfe, ob der Parameter in einem Intervall gültiger Werte liegt, sonst gehe zu 2a zurück
3. Bestimme für jedes Kind die Fitness (Güte der zugehörigen Modellanpassung) durch Simulation
4. Das Kind mit der besten Fitness (kleinster Fitnesswert) wird zum Elter, wenn die Fitness besser ist, als die des Elters
5. Gehe zu 2 so oft, bis wenigstens  $m$  Generationen erzeugt wurden

Für die Initialisierung der Varianzen, Parameter,  $n$  und  $m$  gibt es keine festen Regeln, sondern handelt es sich vielmehr um Erfahrungswerte und dem Wissen, daß  $m$  mit der Parameteranzahl linear korreliert bei gleichem Fitnessanspruch.

### 4.3. Datenextraktion mit WinScale

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Datenextraktion aus Diagrammen das in C++ programmierte Tool WinScale entwickelt, das aus Grafiken Datenpunkte rückberechnet, für die keine Rohwerte verfügbar sind. Damit können alle Grafiken, die sich unter Microsoft Windows auf dem Bildschirm anzeigen lassen, verarbeitet werden. Dies kann dazu verwendet werden, die Meßwerte aus elektronisch verfügbaren Publikationen in der Simulationsumgebung zu benutzen. Hierzu genügt es, durch Klicken auf die Koordinatenachsen jeweils zwei Punkte und deren Koordinaten festzulegen. Für jeden weiteren Klick auf dem Bildschirm, wird dann durch Vektoroperationen ein Koordinatenpaar bezüglich der Achsenfestlegung berechnet. Denn durch vier Pixel auf dem Bildschirm wird ein Koordinatensystem bestimmt. Für einen beliebigen fünften Pixel, werden daraus die Koordinaten dieses Punktes bestimmt. Durch diese Berechnung in der Vektorebene ist es möglich, verzerrte und gedrehte Diagramme, wie sie zum Beispiel durch Einscannen entstehen, zu verwenden. Denn die Berechnungs- und Klickfehler sind sehr viel kleiner als durch Ablesen mit dem Auge oder unter Zuhilfenahme eines Lineals. Zudem wird mit Hilfe des Programms eine schnelle und komfortable Extraktion größerer Datenmengen unterstützt. Die Ausgabe der extrahierten Koordinaten, erfolgt in einem zweidimensionalen MATLAB-kompatiblen Array, um die Daten primär dort weiterzunutzen. Die Abbildung 4.1 zeigt einen Bildschirmausschnitt mit Diagramm und dem WinScale-Fenster. Die mathematischen Grundlagen sind im Anhang erläutert.

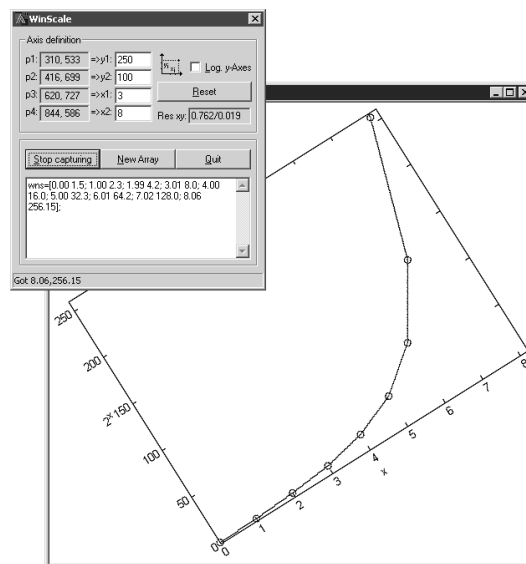


Abbildung 4.1.: WinScale und ein Beispieldiagramm



## 5. Modellergebnisse

### 5.1. Chemotherapie

Im ersten Schritt werden mit Hilfe einer großen Datensammlung von Patientendaten der Therapien CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP21 die noch unbekannt Parameter des Thrombopoese-modells bestimmt. Deshalb ist es zunächst erforderlich, die Pharmakokinetik des Thrombopoetin zu erfassen und die zugehörigen freien Parameter zu schätzen. Dies soll unter Zuhilfenahme von Daten zweier Patienten geschehen, für die sowohl die Thrombozyten- als auch die Thrombopoetinspiegel im zeitlichen Verlauf gemessen wurden.

#### 5.1.1. Zytokinspiegel

##### Loglineare Beziehung

Eine Möglichkeit die Pharmakokinetik des Thrombopoetin abzubilden, stellt die empirische Proportionalität zwischen den logarithmierten Thrombopoetinspiegeln und Thrombozyten dar ([ELFS99]). Die drei Grafiken der Abbildung 5.1 zeigen Einzelanpassungen des Einparametermodells dreier Patienten. Der dritte Patient nimmt aufgrund seiner Meßwerte eine Sonderstellung ein, was nach Rücksprache mit dem Autor im kritischen Therapieverlauf dieses Patienten begründet liegt. Daher wird der dritte Patient von der weiteren Betrachtung ausgeschlossen.

Die gleichzeitige Beschreibung der Thrombopoetinspiegel der beiden ersten Patienten mit einem Proportionalitätsfaktor ist allerdings unzureichend, wie man Abbildung 5.2 entnehmen kann. Daher soll eine Differentialgleichung für Thrombopoetin anstelle einer expliziten Abhängigkeit von den Thrombozyten benutzt werden.

##### Beschreibung mit Differentialgleichung

Bessere Ergebnisse für eine gemeinsame Anpassung der beiden Patienten erhält man mit einer mehrparametrischen Differentialgleichung. Im Gegensatz zur Gleichung mit expliziter Abhängigkeit des Thrombopoetinspiegels von den Thrombozyten wird der Einfluß

der Megakaryozyten mit betrachtet. Die Größen der relativen Thrombozytenzahl und der relativen Megakaryozytenmasse werden benötigt, um in der Differentialgleichung für das Thrombopoetin den spezifischen Abbau zu modellieren. In Abbildung 5.3 ist die gemeinsame Anpassung der beiden Patienten dargestellt. Die Differentialgleichung soll anstelle der expliziten Form für die Beschreibung der Pharmakokinetik des Thrombopoetin im Gesamtmodell eingesetzt werden. Denn unter Verwendung dieser Gleichung ist es möglich, den Thrombopoetinverlauf beider Patienten, der durch unterschiedlich starke Schwankungen gekennzeichnet ist, quantitativ genau abzubilden.

### 5.1.2. Dynamik der Thrombopoese

Im zweiten Schritt soll das Pharmakokinetikmodell und die damit bestimmten Parameter ohne Modifikationen in das vollständige PK/PD-Modell übernommen werden. So wird für das vollständige Modell die Thrombopoetin beschreibende Differentialgleichung aus dem Pharmakokinetikmodell mit den dort angepaßten Parametern verwendet. Zusätzlich werden noch einige für die Pharmakodynamik spezifische Parameter bestimmt, die größtenteils das CFU-Mk Kompartiment umfassen, für welche keine Parameterangaben in der Literatur zu finden sind (vgl. Kapitel 3.5). Die Abbildungen 5.4 und 5.5 zeigen den Vergleich der Modellsimulation mit den Patientendaten. Die Simulationen der Therapien mit Zweiwochenzyklus (CHOP14, CHOEP14) sind in den letzten Zyklen ungenau, wohingegen für die beiden Therapien mit Dreiwochenzyklus (CHOP21, CHOEP21) eine recht gute Übereinstimmung erreicht wurde.

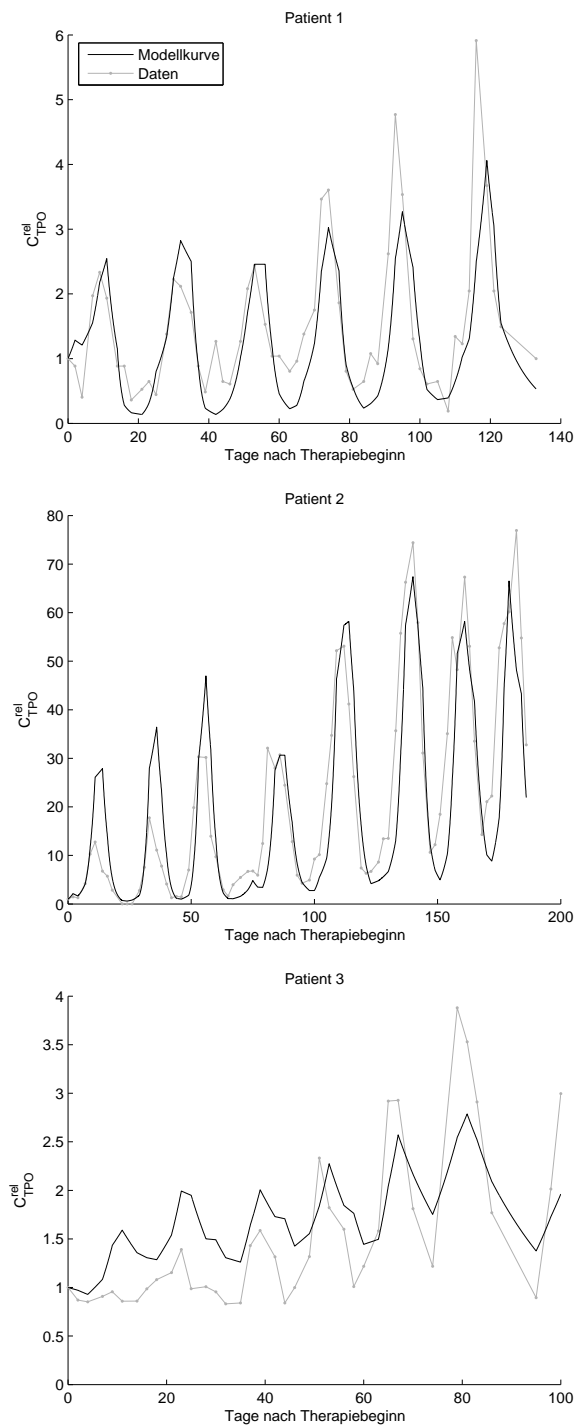


Abbildung 5.1.: Thrombopoetinverlauf nach Einzelanpassung  
Darstellung der loglinearen Abhängigkeit des Thrombopoetin von den Thrombozytenwerten dreier Patienten mit Hilfe jeweils eines Proportionalitätsfaktors

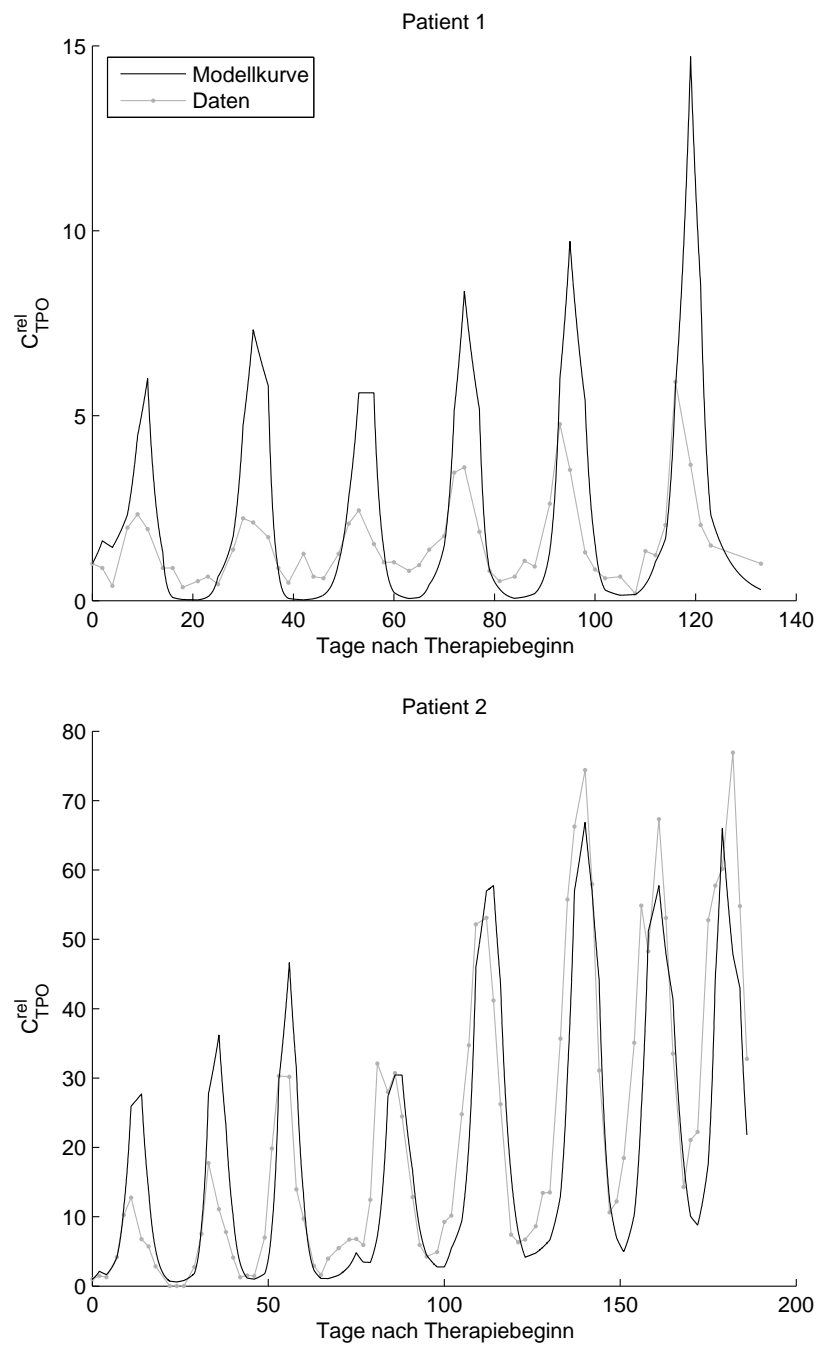


Abbildung 5.2.: Thrombopoetinverlauf nach gleichzeitiger Anpassung  
Darstellung der loglinearen Abhängigkeit des Thrombopoetin von den Thrombozytenwerten der ersten beiden Patienten mit Hilfe eines gemeinsamen Proportionalitätsfaktors

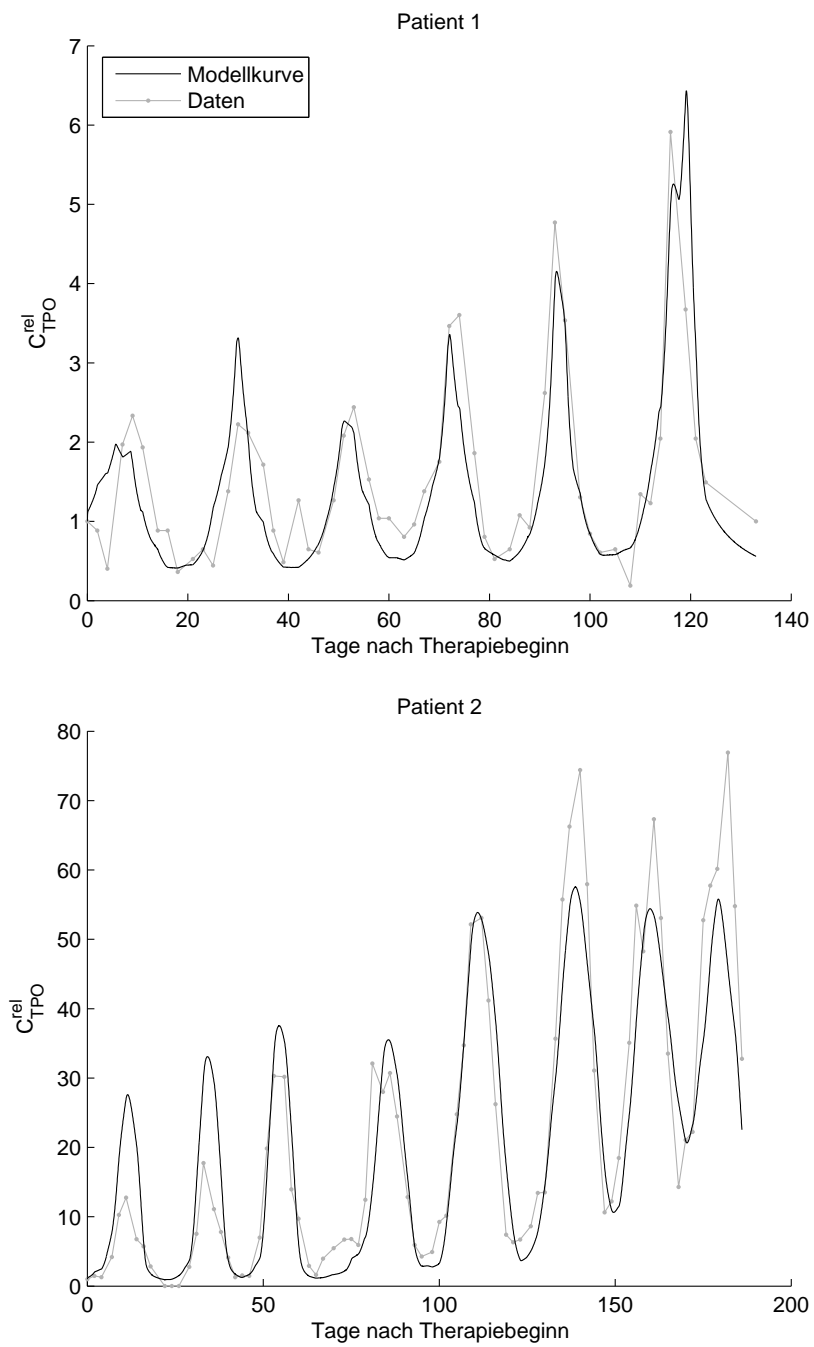


Abbildung 5.3.: Gemeinsame Anpassung des Thrombopoetinspiegels  
Darstellung der Abhängigkeit des Thrombopoetin von den Thrombozyten der ersten beiden Patienten mit Hilfe einer Differentialgleichung und eines gemeinsamen Parametersatzes

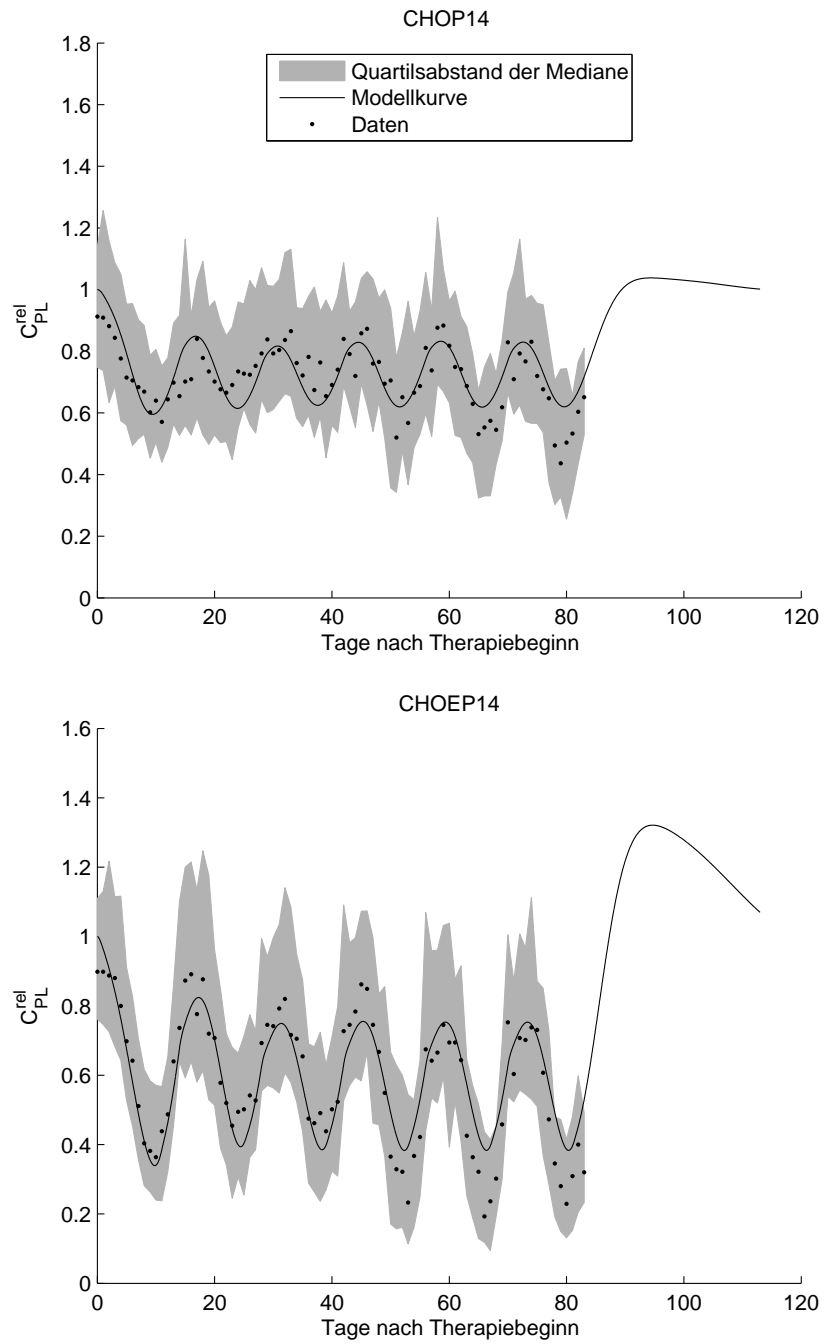


Abbildung 5.4.: Modellvorhersage der Therapien CHOP14 und CHOEP14

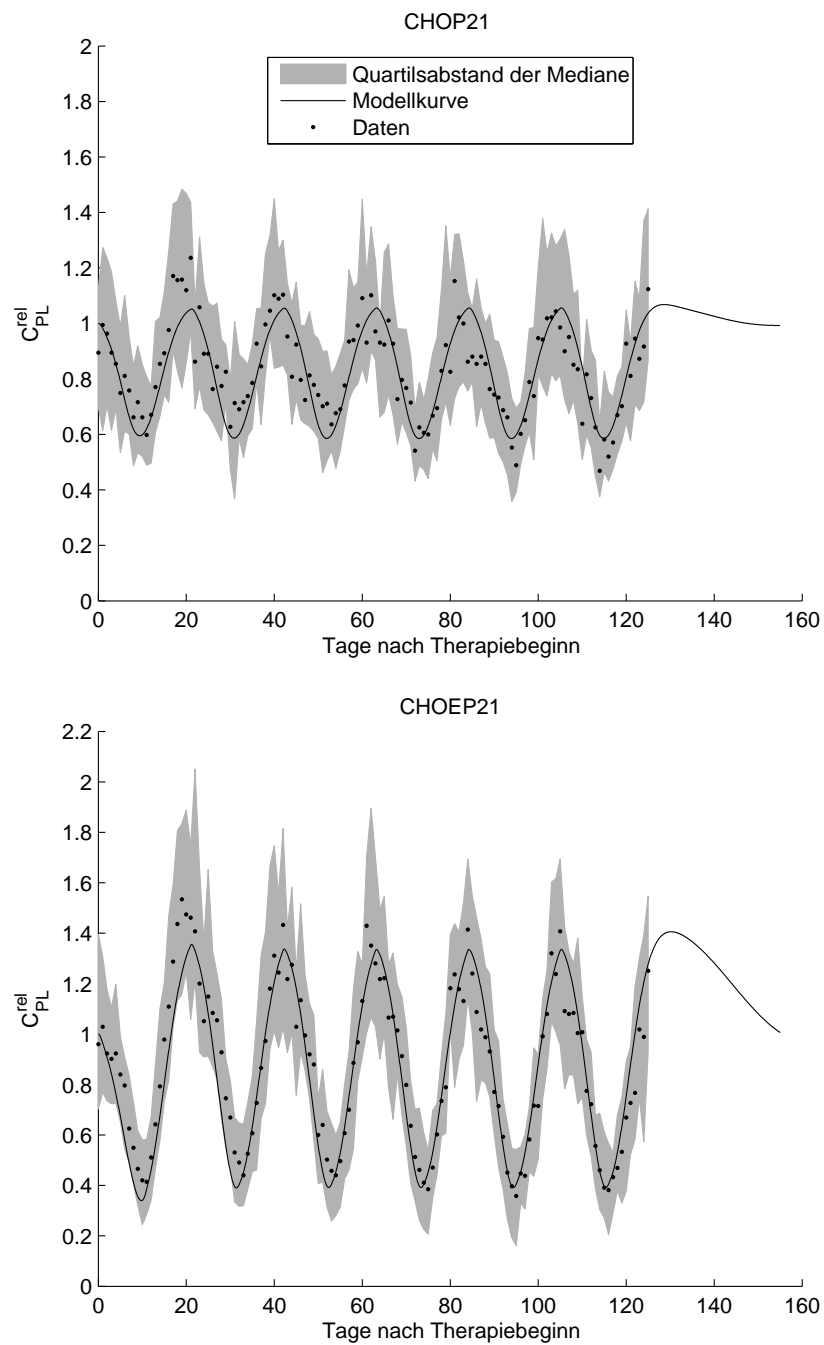


Abbildung 5.5.: Modellvorhersage der Therapien CHOP21 und CHOEP21

## 5.2. Thrombopherese

Die Thrombopherese ist dadurch charakterisiert, daß Spendern Thrombozyten entnommen werden und sich dadurch deren zirkulierender Thrombozytenspiegel nach der Spende auf ein bestimmtes Niveau absenkt. Dieses Niveau soll als Startwert für die Simulation herangezogen werden. Zunächst soll jedoch das pharmakokinetische Verhalten des Thrombopoetin untersucht werden.

### 5.2.1. Zytokinspiegel

Verwendet man für die Differentialgleichung des Thrombopoetinspiegels die anhand der zwei Patienten aus dem Modell mit Chemotherapie abgebildete Gleichung, erhält man den in Abbildung 5.6 dargestellten Kurvenverlauf, bei dem das initiale Maximum der Simulation durch die Daten nicht erklärt, aber auch nicht ausgeschlossen werden kann. Selbst eine eigene Anpassung der Gleichung an die Daten wie dargestellt in Abbildung 5.7, ermöglicht nicht den Verlauf der Simulationskurve durch alle Meßwerte.

### 5.2.2. Dynamik der Thrombopoese

Da sowohl das Pharmakokinetikmodell des Thrombopoetin als auch das Pharmakodynamikmodell der Chemotherapie eine gute Beschreibung der zugehörigen Daten ermöglicht, wird dieses Modell und die dort gefundenen Parameter zur Beschreibung der Thrombopherese benutzt. Wie alle Meßwerte unterliegt auch der erste Meßwert der Thrombozytenmessung einer großen Ungenauigkeit. Nach Anpassung dieses Startwertes und Verwendung der pharmakokinetischen und -dynamischen Parameter der Chemotherapie ergibt sich das in Abbildung 5.8 dargestellte Modellverhalten. Die Vorhersage liegt hierbei im Fehlerbereich der Meßwerte.



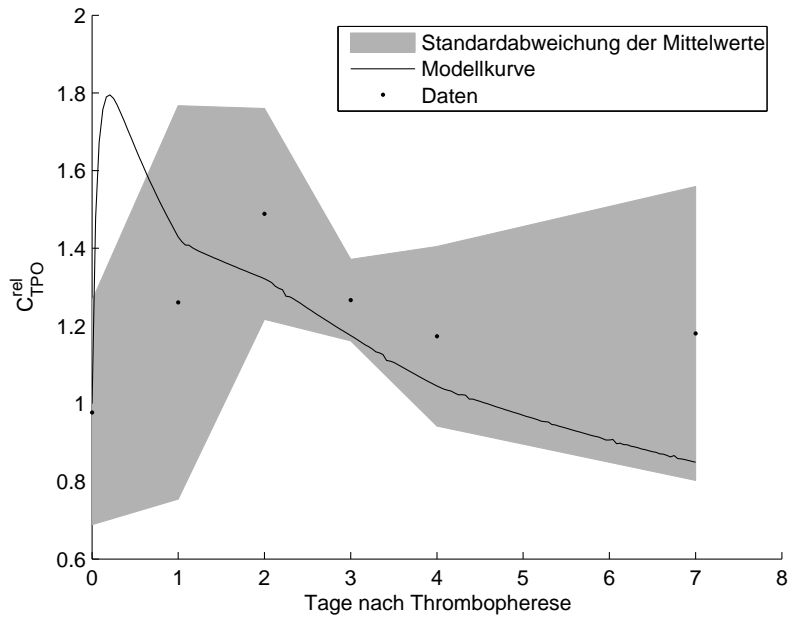


Abbildung 5.6.: Pharmakokinetiksimulation der Thrombophere mittels Parametersatz der Chemotherapie

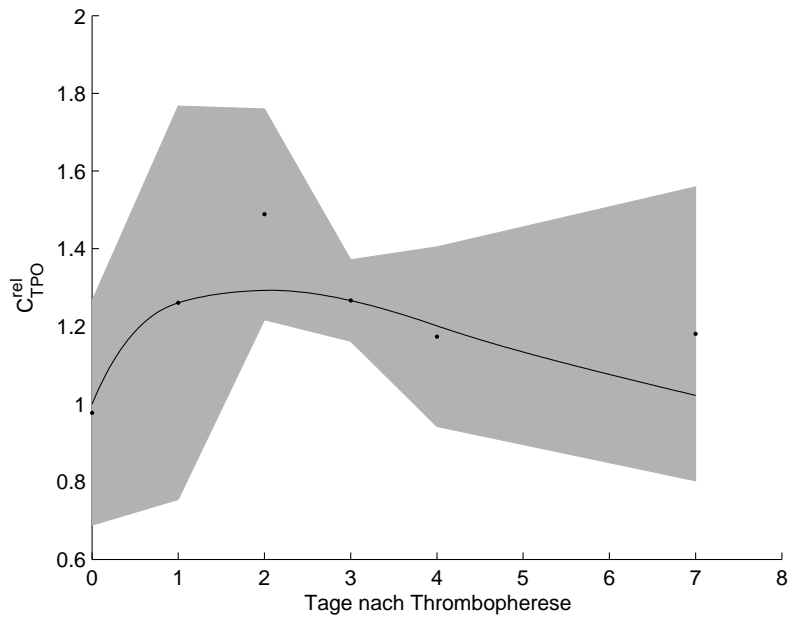


Abbildung 5.7.: Pharmakokinetiksimulation der Thrombophere nach Anpassung des Modells an die Daten

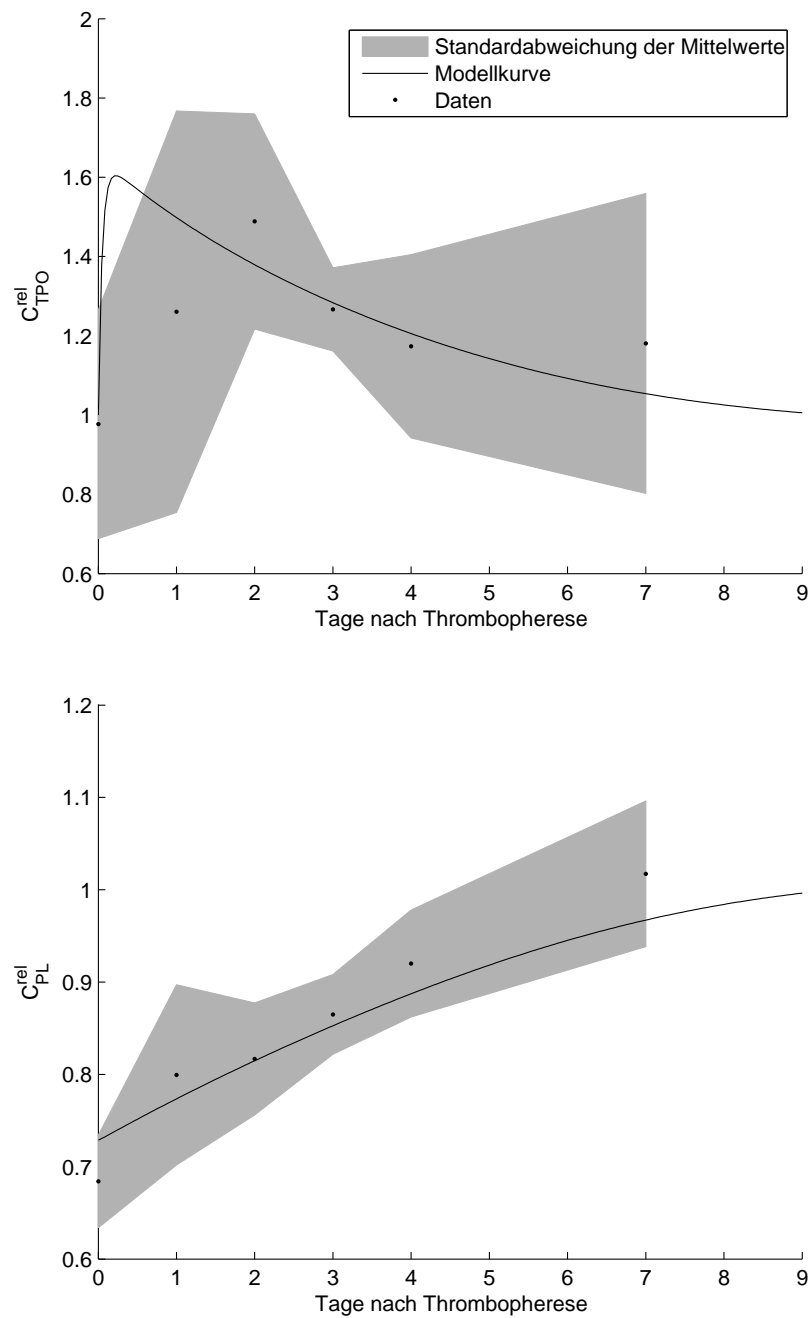


Abbildung 5.8.: Thrombopheresimulation mit dem Parametersatz der Chemotherapie  
Einzig der Startwert der Thrombozytenkurve wurde durch Anpassung nach oben verschoben

### 5.3. Sensitivitätsanalyse

Ziel der Sensitivitätsanalyse ist es zu entscheiden, welche Parameter besonders stark das Modellverhalten beeinflussen. So genügt bei bestimmten Parameterwerten eine geringfügige Änderung, um die Vorhersagefähigkeit des Modells, also die Güte des Modells bezüglich der Daten, sehr stark zu verschlechtern. Zur Überprüfung werden alle wichtigen Modellparameter unabhängig voneinander um 25% verkleinert beziehungsweise vergrößert und die relative Fitness des Modells bestimmt. Dies ist in Abbildung 5.9 veranschaulicht. Dabei werden die Parameter vom 0,75 bis 1,25fachen ihres Ausgangswertes mit einer Schrittweite von  $5 \cdot 10^{-3}$  durchlaufen. Eine Ausnahme bilden bestimmte Parameter, die aufgrund von Randbedingungen des Modells nicht so stark verkleinert beziehungsweise vergrößert werden dürfen. Für diese Parameter wurde die Modellfitness vom kleinst- bis zum größtmöglichen Parameterwert bestimmt und in der Abbildung gekennzeichnet. Hierzu zählen beispielsweise die Minimal-, Normal- und Maximalwerte der Z-Funktionen, die der Größe nach geordnet sein müssen. Nähern sich zudem diese Werte in ihrer Größe sehr stark an, wird das Modellverhalten sehr anfällig für kleine Änderungen, wie anhand der Amplifikationsparameter  $A_{CM}^{\min}(6)$ ,  $A_{CM}^{\text{nor}}(7)$  der CFU-Mk oder der Transitparameter  $T_{MKC}^{\text{nor}}(16)$ ,  $T_{MKC}^{\text{max}}(17)$  der Megakaryozyten im Diagramm zu sehen ist. Für das Thrombopoetin Kompartiment stellen sich die Produktionsrate  $\alpha(1)$ , die Michaelis-Menten Konstante  $K(3)$  und die Wichtungskonstante der Thrombozyten  $w_{PL}(5)$  des spezifischen Abbaus als empfindlich heraus. Neben den bereits genannten Amplifikationsparametern des CFU-Mk Kompartiments nimmt der dazugehörige Sensitivitätsparameter  $b_{CM}^A(9)$  eine wichtige Rolle ein. Im Thrombozytenkompartiment hingegen beeinflusst eine Änderung der Transitzeit  $T_{PL}(21)$  der Thrombozyten das Systemverhalten stark. Weiterhin stellen sich die Toxizitätsparameter  $k_S^{\text{CHO}}(22)$  und  $k_S^E(24)$ , die beide auf das Stammzellkompartiment wirken, als sensibel heraus. Denn ein schwacher Einfluß auf das Stammzellkompartiment hat zur Folge, daß sich dieses Kompartiment schnell erholen kann, was nur eine schwache toxische Wirkung auf das Gesamtsystem bedeutet. Umgekehrt erzielt eine zu große Stammzelltoxizität einen zu starken Abfall im Kompartiment und dadurch eine lange und schwere Störung der Thrombopoese im Gesamten.

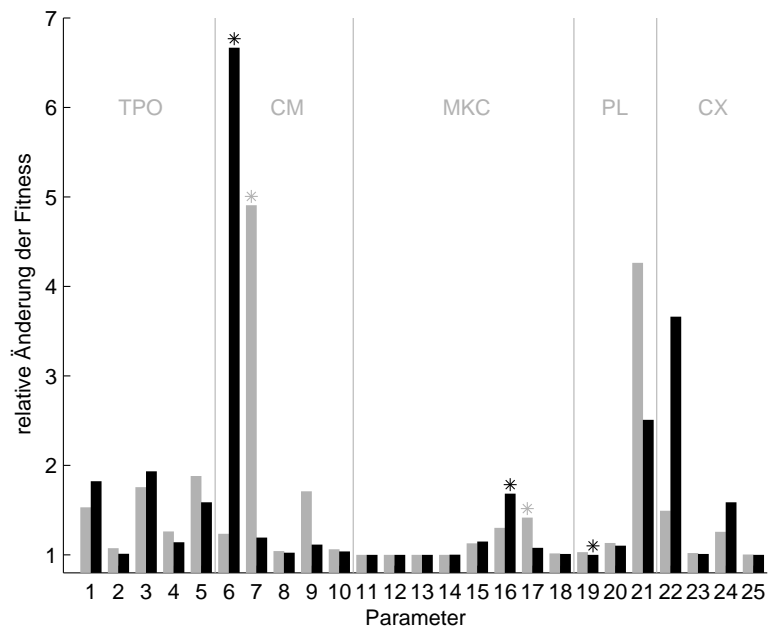


Abbildung 5.9.: Sensitivitätsanalyse des Thrombopoese-modells

Hellgraue Balken zeigen die relative Modellfitness für eine Verkleinerung des Parameterwertes um 25% und schwarze Balken für eine Vergrößerung um 25%. Eine Ausnahme bilden Balken für Parameter, die mit einem Stern gekennzeichnet sind, hier wird aufgrund von Randbedingungen des Modells die Fitness des kleinst- bzw. größtmöglichen Parameterwertes bestimmt

1	$\alpha$	frei	6	$A_{CM}^{\min}$	frei	11	$A_{MKC}^{\min}$	gesetzt	16	$T_{MKC}^{\text{nor}}$	gesetzt	21	$T_{PL}$	gesetzt
2	$T_{TPO}$	frei	7	$A_{CM}^{\text{nor}}$	frei	12	$A_{MKC}^{\text{nor}}$	gesetzt	17	$T_{MKC}^{\text{max}}$	gesetzt	22	$k_S^{\text{CHO}}$	frei
3	$K$	frei	8	$A_{CM}^{\text{max}}$	frei	13	$A_{MKC}^{\text{max}}$	gesetzt	18	$b_{MKC}^T$	frei	23	$k_{MKC}^{\text{CHO}}$	frei
4	$w_{MKC}$	frei	9	$b_{CM}^A$	frei	14	$b_{MKC}^A$	frei	19	$in$	frei	24	$k_S^E$	frei
5	$w_{PL}$	frei	10	$T_{CM}$	frei	15	$T_{MKC}^{\min}$	gesetzt	20	$n$	frei	25	$k_{MKC}^E$	frei

## 5.4. Modellvorhersagen

### 5.4.1. Thrombopoetinspiegel bekannter Chemotherapien

Zu den im Kapitel 5.1.2 simulierten Therapien CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP21 werden in den Abbildungen 5.10 und 5.11 Vorhersagen zum Thrombopoetinspiegel gemacht. Zu diesen Therapien sind nur Thrombozytenverläufe vorhanden, so daß ein Vergleich von Vorhersage und Thrombopoetinmeßwerten nicht möglich ist. Erkennbar ist das charakteristische Verhalten von Thrombopoetin zu den Thrombozytenzahlen, was sich durch einen umgekehrten Anstieg und Abfall der Kurven auszeichnet. Gleichzeitig bedeutet eine höhere Toxizität bezüglich der Thrombozyten ein höheres Maximum des TPO-Spiegels wie an den Therapien CHOEP14 und CHOEP21 erkennbar ist.

### 5.4.2. Hypothetische Chemotherapiesysteme

Aufbauend auf den bereits untersuchten Chemotherapiesystemen sollen zwei hypothetische Systeme untersucht werden, nämlich CHOP12 und CHOEP12. Als einziger Unterschied zu den vier anderen Therapien wird die Zyklendauer auf 12 Tage reduziert. In Abbildung 5.12 sind die Simulationskurven des Thrombozytenverlaufs und Thrombopoetinspiegels von CHOP12 abgebildet. Das Modellverhalten ähnelt dem von CHOP14. Hingegen zeigt die Simulation von CHOEP12 in Abbildung 5.13 ein ganz anderes Verhalten. Denn aufgrund der Zeitintensivierung und dem zusätzlich verabreichten Etoposid hat das System innerhalb eines Zyklus nicht genügend Zeit, sich zu erholen und zeigt eine sehr starke kumulative Toxizität.

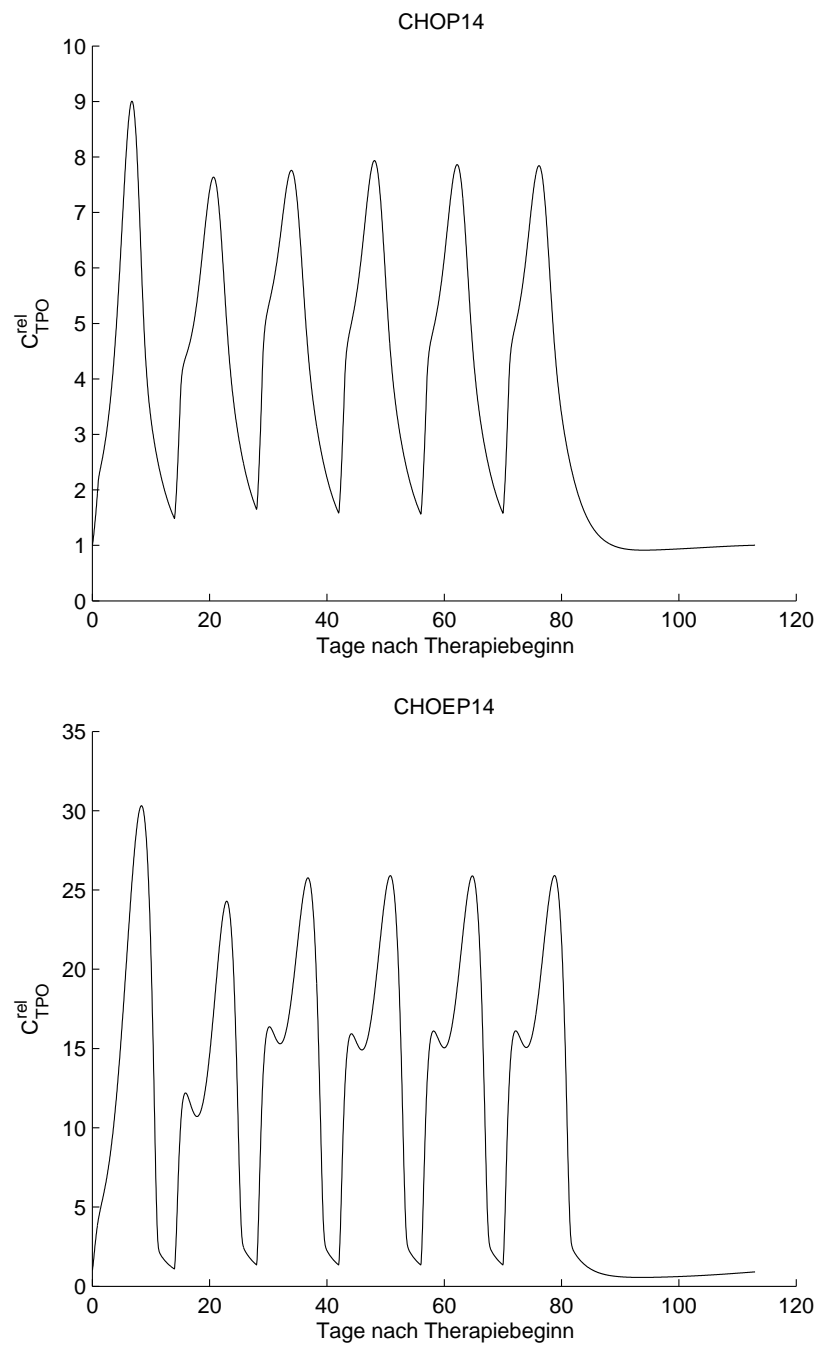


Abbildung 5.10.: Vorhersage des Thrombopoetinspiegels von CHOP14 und CHOEP14

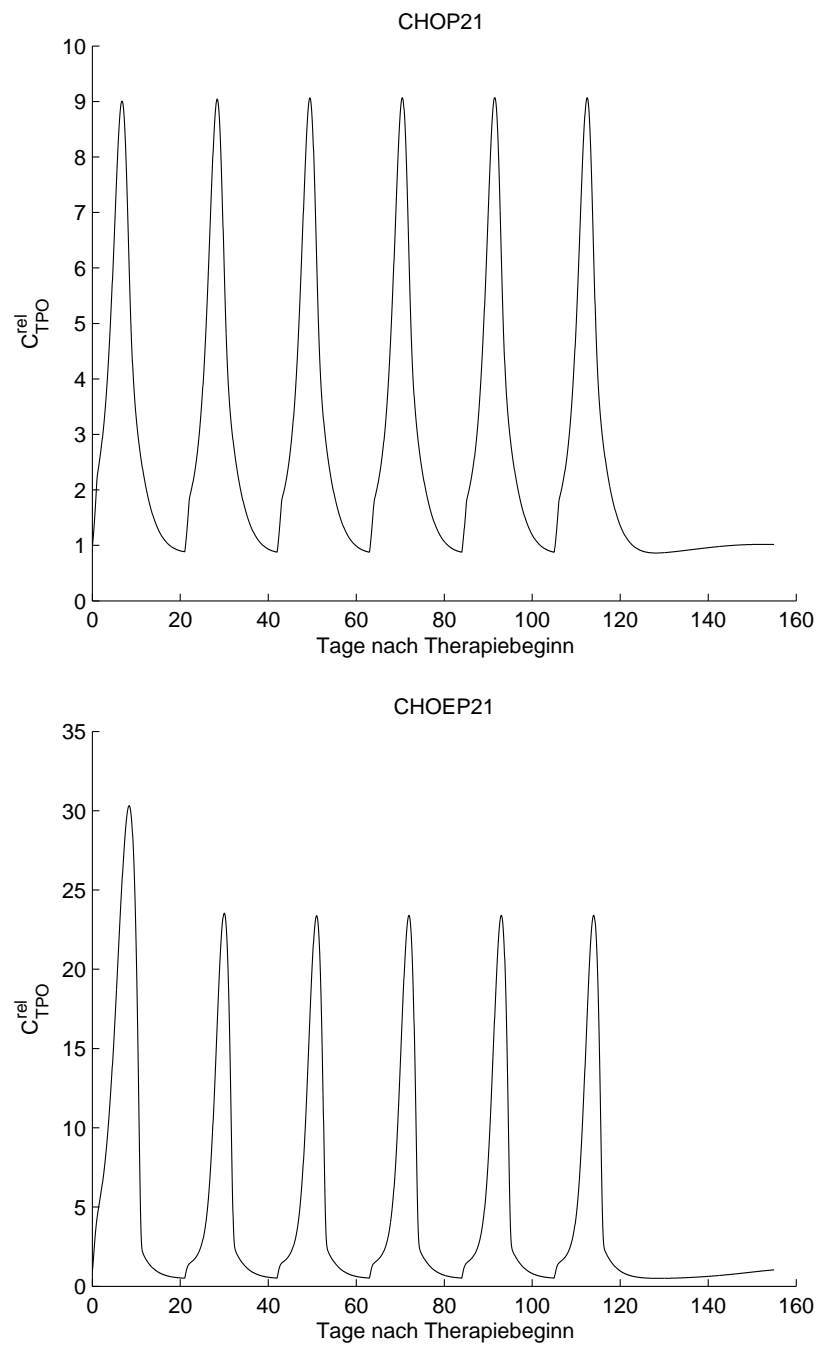


Abbildung 5.11.: Vorhersage des Thrombopoetinspiegels von CHOP21 und CHOEP21

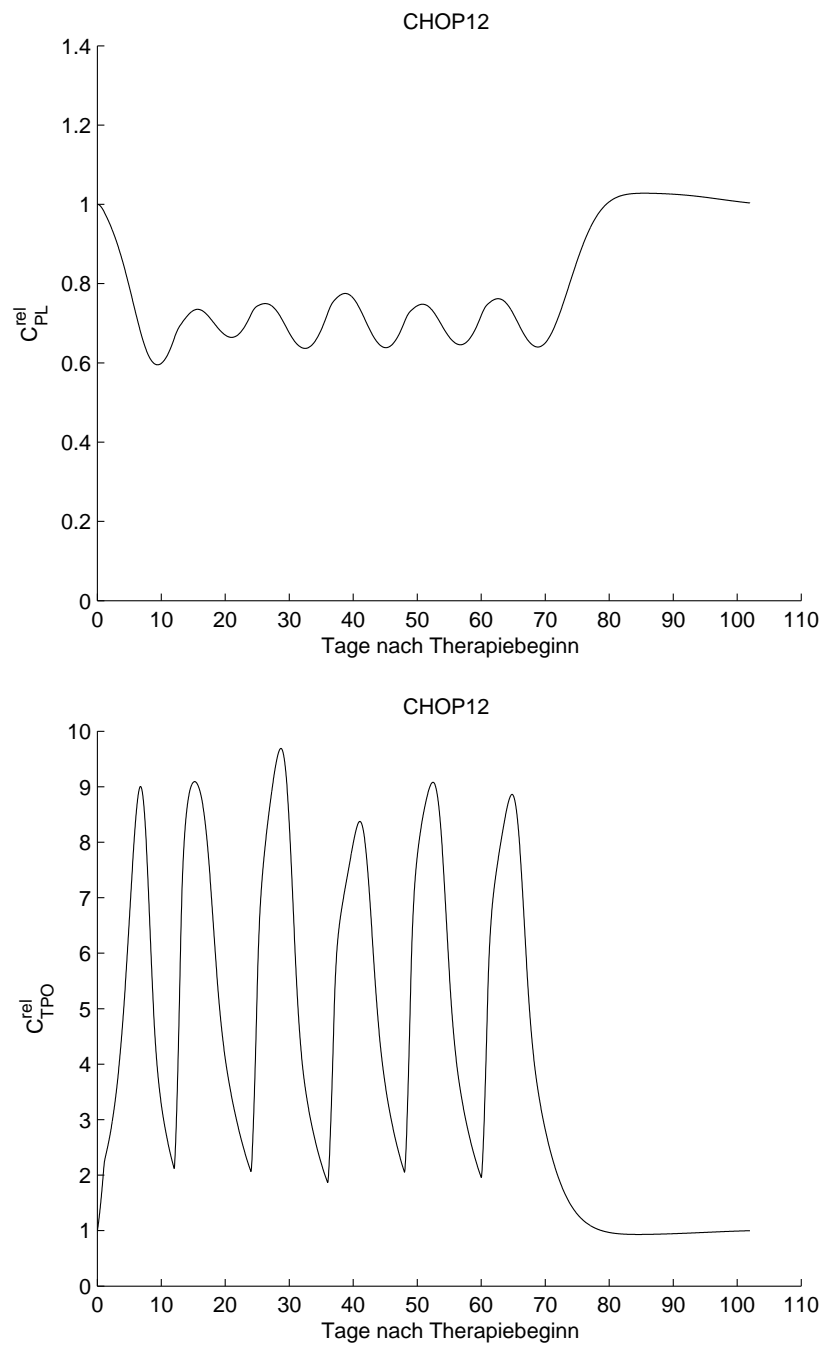


Abbildung 5.12.: Vorhersage der Therapie CHOP12

Die obere Abbildung zeigt den Thrombozytenverlauf und die untere Abbildung den Zytokinspiegel von Thrombopoetin während einer Therapie mit einer Zyklendauer von nur 12 Tagen



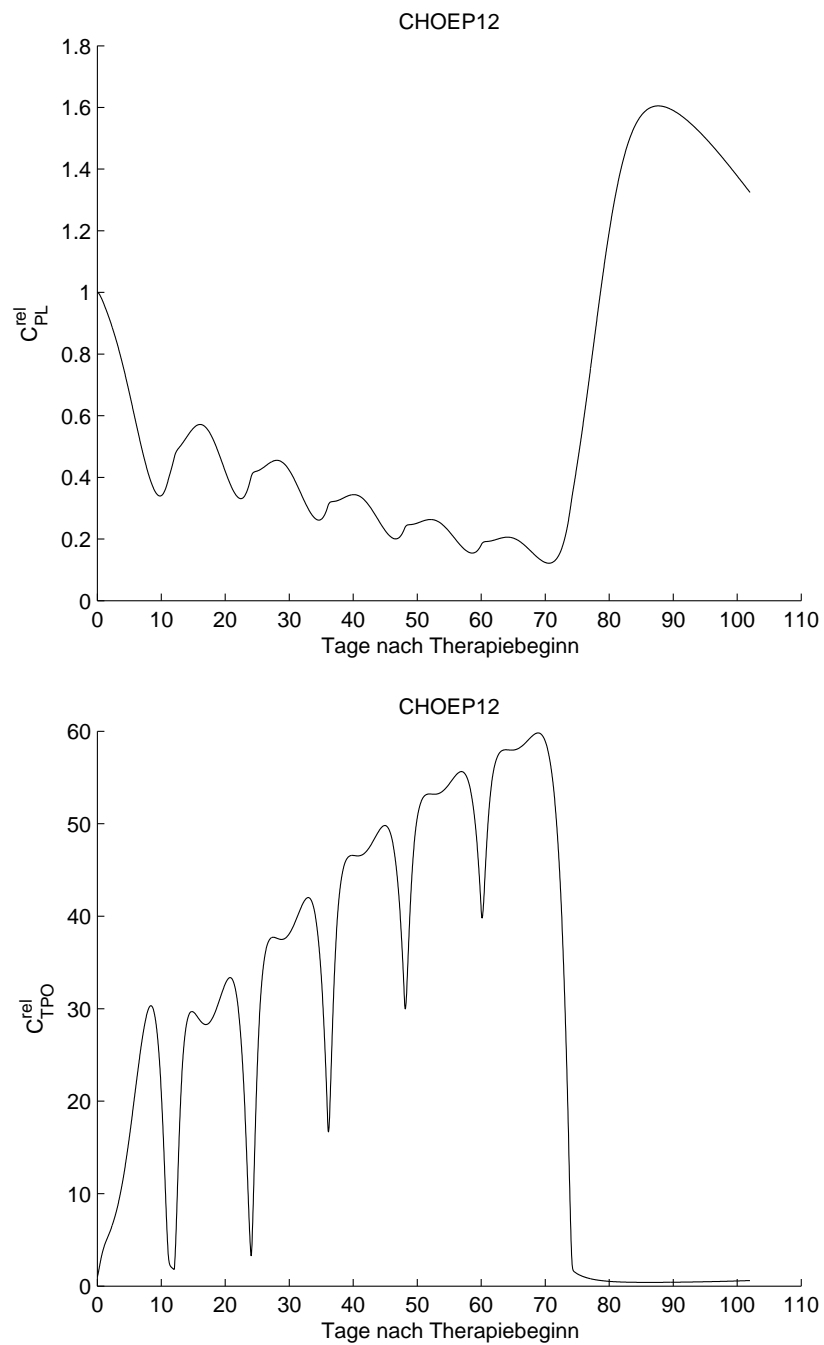


Abbildung 5.13.: Vorhersage der Therapie CHOEP12

Die obere Abbildung zeigt den Thrombozytenverlauf und die untere Abbildung den Zytokinspiegel von Thrombopoetin während einer Therapie mit einer Zyklendauer von 12 Tagen mit Etoposid

## 6. Diskussion

### 6.1. Vergleich mit früheren Modellarbeiten

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Zusammenfassung weiterer Modellarbeiten zur Thrombopoese.

Autor/ Gruppe	Referenzen	Konventionelle Chemotherapie	Hochdosis Chemotherapie	Klinische Daten (Mensch)
Wichmann	[Wic84]	Nein	Nein	Ja
Löffler et al.	[WLH <sup>+</sup> 83]			
Mackey Mahaffy et al.	[SMBM00]	Nein	Nein	Ja
Agur et al.	[SHI <sup>+</sup> 03]	Nein	Nein	Nein
Gruppe sowjetischer Wissenschaftler	[SL86]	Nein	Nein	Nein
Obeyesekere	[OBSK04]	Nein	Ja	Ja
Harker	[HRM <sup>+</sup> 00]	Nein	Nein	Ja
Diese Gruppe		Ja	Nein	Ja

Das in dieser Arbeit entwickelte Modell der Thrombopoese beim Menschen unter Chemotherapie soll frühere Arbeiten der Gruppe von Löffler zur menschlichen Erythropoese ([Mey04]) und Granulopoese ([ESL04], [SEL04]) ergänzen. Das Modell entstand durch Anlehnung an ein älteres Modell der Thrombopoese von Wichmann ([Wic84]), wobei zahlreiche Veränderungen gemacht wurden wie beispielsweise

- Auf Differentialgleichungen mit Zeitverschiebung wurde der Einfachheit wegen verzichtet.
- Das Stammzellkompartiment wird durch ein komplexeres System ähnlich dem neuerer Modellarbeiten (z.B. Granulopoese) beschrieben. Die Rückkopplung auf das Stammzellkompartiment erfolgt nicht durch den Wachstumsfaktor Thrombopoetin sondern über einen Pool von Knochenmarkszellen.

- Ein Kompartiment der CFU-Mk wird eingeführt.
- Die Umverteilung von Plättchen und Milz erfolgt ähnlich dem Modell von Wichmann, jedoch im Modell der vorliegenden Arbeit mit einer Vielzahl von Subkompartimenten, um den Altersprozeß zu simulieren.
- Der Thrombopoetinspiegel wird nicht allein durch den Thrombozytenspiegel sondern durch eine konstante Produktion und einen spezifischen Abbau von Thrombopoetin durch c-Mpl Rezeptoren auf Megakaryozyten und Thrombozyten reguliert.

Die Arbeitsgruppe um Mackey zeichnet sich durch eine Vielzahl von Modellen aus, die speziell zur Beschreibung hämatologischer Erkrankungen entwickelt wurden. Die Gruppe von Agur hingegen erarbeitete ein Modell zur Thrombopoese, dessen kritische Validierung mangels klinischer Daten bisher nicht möglich war. Zudem wurde der Einfluß von Chemotherapie in den Modellen beider Gruppen nicht berücksichtigt. Eine Arbeitsgruppe bestehend aus russischen Wissenschaftlern beschäftigt sich mit Modellierungsarbeiten, die Schäden durch Bestrahlung beim Menschen beschreiben, sich nicht auf klinische Daten stützen und Chemotherapie nicht einbeziehen. Das Modell von Obeyesekere ist komplex und beinhaltet viele Parameter, allerdings gibt es kaum klinische Daten zur Validierung. Zuletzt das Modell von Harker ist ein kombiniertes PK/PD-Modell für PEGrHu-MGDF, was jedoch den Einfluß von Chemotherapie nicht einbezieht.

Im Vergleich dazu besitzt das in dieser Arbeit vorgestellte Modell eine überschaubare Anzahl von Parametern, beschreibt den Einfluß konventioneller Chemotherapie und stützt sich auf einen umfangreichen Satz klinischer Daten. Weiterhin wird die Dynamik der Thrombozyten nach Chemotherapie und Thrombopherese im Rahmen eines Modells beschrieben.

## 6.2. Allgemeine Anpassungsprobleme

Während der Parameteranpassung mittels Evolutionsstrategie konnte nicht erreicht werden, daß mit unterschiedlichen Startwerten eines Parametersatzes die Anpassung gegen einen einheitlichen Parametersatz konvergierte. Das gilt sowohl für die pharmakokinetische als auch die pharmakodynamische Anpassung mehrparametrischer Modelle. Vielmehr gibt es verschiedene Parametersätze ähnlich guter Fitness. Zum einen ist ein Teil der Parameter nicht sensitiv, das heißt selbst große Änderungen dieser Parameter führen nur zu geringen Änderungen des Modellverhaltens. Aber auch sensitive Parameter können bei der Modellanpassung verschiedene Werte annehmen, wenn sich das Modell-

verhalten durch andere sensitive Parameter bis zu einem bestimmten Grad kompensieren läßt.

Durch zahlreiche Modellmodifikationen wurde versucht, die Übereinstimmung der Modellkurven mit den Daten zu verbessern. So wurden zum Beispiel eine thrombopoetinabhängige Transitzeit der CFU-Mk überprüft, das Verhalten bei Hinzunahme eines (thrombopoetinabhängigen) Prothrombozytenkompartiments untersucht, eigene Toxizitätsparameter für das CFU-Mk Kompartiment verwendet oder verschiedene Differentialgleichungen für das Thrombopoetin angepaßt. Diese Modifikationen führten trotz wachsender Parameterzahl nur zur geringfügigen Verbesserungen der Anpassung und wurden deswegen verworfen.

### 6.3. Chemotherapie

Beginnend mit dem empirischen Zusammenhang von Thrombopoetin- und Thrombozytenkonzentration in Form einer empirischen loglinearen Abhängigkeit ([ELFS99]) wird die Pharmakokinetik von Thrombopoetin beschrieben. Dabei wird eine einparametrische Gleichung unabhängig für jeden der drei Patienten aus dieser Publikation an die Thrombozyten- und Thrombopoetinmeßwerte angepaßt (Abbildung 5.1). Die Vorhersagen der ersten beiden Patienten ergeben eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. Eine gemeinsame Anpassung der Thrombopoetingleichung an den Thrombozytenverlauf der ersten beiden Patienten zeigt einen starkes Überschießen der Vorhersage beim ersten Patienten (Abbildung 5.2). Das zeigt, daß nur ein Parameter für die Beschreibung der heterogenen Thrombopoetinschwankungen zu wenig ist und die Pharmakokinetik mit der dazugehörigen Gleichung nicht ausreichend genau beschrieben werden kann. Daher erfolgt stattdessen eine gemeinsame Anpassung einer mehrparametrischen, physiologisch motivierten Differentialgleichung für Thrombopoetin an die Meßwerte der beiden Patienten (Abbildung 5.3). Hierdurch wird eine gute Übereinstimmung der Vorhersagen mit den Thrombopoetinspiegeln erzielt.

Unter Beibehaltung der Differentialgleichung und der Parameter zur Beschreibung der TPO-Kinetik werden die Differentialgleichungen des vollständigen Modells an die Daten der Therapien CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP21 angepaßt. Alle vier Vorhersagen für den Thrombozytenverlauf liegen hierbei im Quartilsbereich der Meßwerte. Die Simulationskurven der Therapien CHOP14 und CHOEP14 (Abbildung 5.4) sind in den letzten Zyklen ungenau, d.h. es gibt eine stärkere Abweichung vom Median als sonst. Andererseits sinken die Anzahl der Messungen in den höheren Zyklen. Die Modellkurven für CHOP21 und CHOEP21 (Abbildung 5.5) zeigen eine gute Übereinstimmung.

Der Sensitivitätsparameter  $b_{\text{MKC}}^{\text{A}} = 0,0466$  der Z-Funktion für die Amplifikation der Megakaryozytenmasse durch das Thrombopoetin ist klein. Das deutet darauf hin, daß die Amplifikation nur schwach um den Normalwert  $T_{\text{MKC}}^{\text{nor}} = 144\text{h}$  schwankt. Die in diesem Modell geschätzte Stammzelltoxizität ( $k_{\text{S}}^{\text{CHO}} = 0,1904$ ) der CHOP Therapien stimmt mit den Schätzungen des Granulopoesemodells ([SEL04]) (junge Patienten  $k_{\text{S}}^{\text{CHO}} = 0,1775$ , alte Patienten  $k_{\text{S}}^{\text{CHO}} = 0,1951$ ) überein. Im Thrombopoesemodell werden alte und junge Patienten nicht unterschieden. Eine Abweichung zeigt jedoch die Toxizitätskonstante für das Etoposid ( $k_{\text{S}}^{\text{E}} = 0,0396$ ) der CHOEP Therapien im Gegensatz zu den Werten des Granulopoesemodells (junge Patienten  $k_{\text{S}}^{\text{E}} = 0,003$ , alte Patienten  $k_{\text{S}}^{\text{E}} = 0,005$ ), die viel höher ausfällt, was zur klinischen Einschätzung paßt.

## 6.4. Thrombophere

Als erstes wurde das identifizierte PK-Modell für Thrombopoetin überprüft mittels Thrombozytenverlauf der Thrombophere. Obwohl zu jedem Zeitpunkt die Vorhersage im Fehlerbereich der Meßwerte (Standardabweichung der Mittelwerte) liegt, ergibt sich ein Verlauf der Simulationskurve (Abbildung 5.6), die qualitativ vom Verlauf der Meßwerte abweicht. Einerseits weist die Simulation ein Maximum in den ersten Stunden nach Thrombophere und nicht wie bei den Daten erst am Tag 2 auf. Dieses könnte jedoch physiologisch sein, wofür jedoch ein experimenteller Nachweis fehlt, da die erste und zweite Messung im Abstand von einem Tag durchgeführt wurden. Weiterhin fällt in den letzten Tagen die Simulationskurve ab, obwohl entsprechend der Meßwerte, der Thrombopoetinspiegel relativ erhöht und konstant bleibt. Gründe hierfür könnten die Vereinfachungen sein, die bei der Modellkonstruktion gemacht wurden, insbesondere die lineare Interpolation der Thrombozytenkurven. Die aus der Literatur entnommenen Thrombopheresedaten ([DHK<sup>+</sup>98], [WSW<sup>+</sup>01], [WFG<sup>+</sup>99]) sind dadurch gekennzeichnet, daß es nur wenige Messungen gibt (vier oder fünf pro Kollektiv) und diese mindestens einen Tag auseinander liegen. Außerdem weisen die Meßwerte eine große Streuung auf und die Anzahl der Messungen nimmt zum Ende hin ab. Selbst eine neue Anpassung der Pharmakokinetikparameter des Thrombopoetin erreicht keinen Verlauf der Simulationskurve durch alle Meßwerte (Abbildung 5.7), obwohl das initiale Maximum nicht mehr so groß ist. Das Maximum der Meßwerte am zweiten Tag bleibt ebenso unerreicht und auch das Abflachen der Simulationskurve in den letzten Tagen ist unverändert. Weiterhin hat die geschätzte Wichtungskonstante der Megakaryozyten  $w_{\text{MKC}}$  nach der Anpassung den Wert null, was jedoch nicht plausibel ist. Da diese neue Anpassung nicht zu einem besseren Ergebnis führt, wird der mittels Chemotherapiepatientendaten geschätzte Parametersatz

beibehalten und die pharmakodynamischen Parameter ebenso übernommen.

Thrombozyten sind nach Filtration im Rahmen der Thrombopherese nicht in ihrer funktionalen Integrität, in vivo Erholung oder Überleben gestört ([BPZH<sup>+</sup>90]). Deshalb kann ausgeschlossen werden, daß die verbleibenden Spenderthrombozyten durch die Filtration beim Thrombopheresevorgang (kurzzeitig) in ihrer Funktion eingeschränkt und damit die Abweichungen beim Verlauf des Thrombopoetinspiegels zum Beispiel durch verzögerten spezifischen Abbau entstanden sind. Weiterhin ist die Art und Weise der Messung des Thrombopoetinspiegel fehleranfällig. Solchen Messungen erfolgen mit einem sogenannten Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), das auf der Erkennung von biomolekularen Substanzen (Zytokine wie Thrombopoetin) mittels enzymatischer Farbreaktion basiert. Für die Messungen ist aber zu beachten ([FvdBR<sup>+</sup>97]), daß die TPO-Konzentration im Blutserum vielfach höher ist als im Plasma und die zu messenden Konzentrationen sehr stark interindividuell schwanken zum Beispiel aufgrund unterschiedlicher Thrombopoetinproduktion und -abbau eines Patienten. Weiterhin können Messungen relativ zu Referenz rhTPO Molekülen stark abweichend ausfallen, was in unterschiedlichen, herstellungsbedingten rhTPO Varianten begründet sein mag. Denn hierfür fehlen noch Standardisierungen. Ebenso kann die (untere) Meßwertgrenze eines ELISA zu Problemen führen, wenn diese beispielsweise höher liegt als der Normalspiegel eines Patienten.

Bei einer Simulation des vollständigen Modells erreicht man für eine Vorhersage der Thrombopherese eine gute Übereinstimmung. Denn zu allen Meßzeitpunkten liegt die Vorhersage im Fehlerbereich der Messungen des Thrombopoetin und der Thrombozyten (Abbildung 5.8). Da der erste Meßwert für die Initialisierung der Modellsimulation entscheidend ist und ebenfalls einem Fehler unterliegt wurde der Startwert durch Anpassung nach oben verschoben und für den Thrombozytenverlauf eine bessere Übereinstimmung der Simulationskurve mit dem Daten erreicht.

## 6.5. Modellvorhersagen

Die Meßwerte der Thrombopoetinspiegel der untersuchten Chemotherapien CHOP14, CHOEP14, CHOP21 und CHOEP12 sind nicht vorhanden, so daß deren Vorhersage in Kapitel 5.4.1 (Abbildungen 5.10, 5.11) nicht mit experimentellen Werten verglichen werden kann. Jedoch zeigt sich charakteristisch bei den CHOEP Therapien, daß die TPO-Schwankungen sehr viel größer als bei den dazugehörigen CHOP Therapien sind, was am stärkeren Absinken der Thrombozytenkurve liegt.

Die Vorhersagen des Thrombozyten- und Thrombopoetinverlauf von CHOP12 (Abbil-

dung 5.12) ähneln denen von CHOP14. Aufgrund der Zeitintensivierung ist die Chemotherapie mit 12 tägiger Zyklendauer leicht toxischer, was an dem etwas höheren Thrombopoetinspiegel in jedem Zyklus zu erkennen ist. Hingegen zeigen die Simulationskurven für CHOEP12 (Abbildung 5.13) aufgrund der Zeitintensivierung und dem zusätzlich applizierten Etoposid eine so große Toxizität, daß das zu einem Zusammenbrechen des Systems führt. Denn innerhalb eines Zyklus erschöpft das Thrombozytenkompartiment so stark, daß es sich bis zum darauf folgenden Zyklus nicht erholen kann und beständig abfällt.

## 6.6. Rezeptorspezifischer und -unspezifischer Abbau

Abschließend soll der von den relativen Größen des Thrombozyten- und Megakaryozytenkompartiment abhängende rezeptorspezifische Abbau des Thrombopoetin diskutiert werden. Durch gemeinsame Anpassung der Zytokinspiegel zweier Patienten aus [ELFS99] an deren Thrombozytenverlauf, wurden die Wichtungsfaktoren  $w_{PL} = 2,1069$  und  $w_{MKC} = 1,1564$  geschätzt. Die daraus resultierenden Anteile des Thrombozyten- und Megakaryozytenkompartiments am spezifischen Abbau verhalten sich damit wie 1,8:1.

Betrachtet man nun die in der Literatur verfügbaren Angaben, daß jeder Megakaryozyt rund 1400 Thrombozyten bildet ([SL89]), die Rezeptordichte pro Thrombozyt zu Megakaryozyt 30:48000 ist ([BLS<sup>+</sup>97]) und die Lebenszeit von Thrombozyten  $T_{PL}=240h$  und Megakaryozyten  $T_{MKC}=144h$  unter Normalbedingungen beträgt. Dann erhält man rechnerisch ein Verhältnis der relativen Kompartimentgrößen der Thrombozyten und Megakaryozyten am rezeptorspezifischen Abbau von 1,5:1. Das kommt dem mit dem Modell geschätzten Verhältnis nahe. Allerdings sind die aus verschiedenen Quellen zusammengefaßten Angaben in [SL89] zur Anzahl der gebildeten Thrombozyten sehr ungenau. Darüber hinaus ist das Verhältnis entstehender Thrombozyten gegenüber der Megakaryozytenanzahl im Modell nicht abgebildet. Denn einerseits gibt es nur ein Kompartiment für die Megakaryozytenmasse und andererseits ist im Ausstrom des Megakaryozytenkompartiments ein entsprechender Faktor nicht enthalten und auch nicht notwendig, da mit relativen Werten gearbeitet wird.

Das Verhältnis von rezeptorspezifischem zu -unspezifischen Abbau beträgt im Gleichgewicht ca. 74:1. Damit erfolgt der Abbau im Gleichgewicht entsprechend der biologischen Vorstellung hauptsächlich rezeptorspezifisch.

## **6.7. Ausblick**

Zukünftig ist geplant, das Modell so zu erweitern, daß sich noch andere Therapien simulieren lassen. Hierzu zählen konventionelle und hochdosierte Chemotherapien. Weiterhin sollen Vorhersagen für noch nicht etablierte Chemotherapien gemacht werden können, um im Voraus die zu erwartende Toxizität abschätzen zu können und zum Beispiel Zeitpläne auszuarbeiten. Andere Einsatzmöglichkeiten liegen im Vergleich der Thrombo- mit der Granulo- und Leukotoxizität einer Therapie mit dem Ziel, den schadhaften Einfluß auf die gesamte hämatologische Zelllinie zu beurteilen. Ebenso soll eine Simulation verschiedener Therapien unterteilt nach Risikogruppen ermöglicht werden.



# A. Anhang

## A.1. Modellgrundlagen

### Differentialgleichungen der Modellkompartimente

Eine lineare Differentialgleichung eines Kompartiments  $C_i$  mit Zustrom  $C_{i-1}^{\text{out}}$  und einem durch die Transitzeit  $T_i$  festgelegten Abstrom  $C_i^{\text{out}}$  hat das Aussehen

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = C_{i-1}^{\text{out}} - \frac{C_i(t)}{T_i} \quad (\text{A.1})$$

$$C_i^{\text{out}} = \frac{C_i(t)}{T_i} \quad (\text{A.2})$$

Die relative Kompartimentgröße  $C_i^{\text{rel}}$  berechnet sich durch

$$C_i^{\text{rel}}(t) = \frac{C_i(t)}{C_i^{\text{nor}}} \quad (\text{A.3})$$

Der Normalwert  $C_i^{\text{nor}}$  entspricht dem Gleichgewichtspunkt eines autonomen Systems, so daß gilt

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = 0 \quad (\text{A.4})$$

### Aufspaltung der Amplifikation

Die Gesamtamplifikation  $A_i$  wird in zwei multiplikative Anteile  $A_i^{\text{in}}$  und  $A_i^{\text{out}}$  zerlegt

$$A_i(t) = A_i^{\text{in}}(t) A_i^{\text{out}}(t) \quad (\text{A.5})$$

Diese werden auf den Ein- und Ausstrom aufmultipliziert

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = A_i^{\text{in}}(t) C_{i-1}^{\text{out}} - \frac{C_i(t)}{T_i} \quad (\text{A.6})$$

$$C_i^{\text{out}} = A_i^{\text{out}}(t) \frac{C_i(t)}{T_i} \quad (\text{A.7})$$

Für die Teilamplifikationen soll gelten

$$A_i^{\text{in}}(t) = \begin{cases} \frac{A_i(t)-1}{\text{Id } A_i(t)} & \text{für } A_i(t) \neq 0, \quad A_i(t) \neq 1 \\ \ln 2 & \text{für } A_i(t) = 1 \\ 0 & \text{für } A_i(t) = 0 \end{cases} \quad (\text{A.8})$$

$$A_i^{\text{out}}(t) = \begin{cases} \frac{A_i(t)}{A_i^{\text{in}}(t)} & \text{für } A_i(t) \neq 0 \\ 0 & \text{für } A_i(t) = 0 \end{cases} \quad (\text{A.9})$$

## Z-Funktion

Die durch die relative Zytokinkonzentration  $C_X^{\text{rel}}$  bestimmte Z-Funktion  $Z(C_X^{\text{rel}})$  und inverse Z-Funktionen  $Z^{\text{inv}}(C_X^{\text{rel}})$  mit Minimalwert  $Z_{\text{min}}$ , Normalwert  $Z_{\text{nor}}$ , Maximalwert  $Z_{\text{max}}$  und Sensitivitätsparameter  $b$  sind definiert als

$$Z(C_X^{\text{rel}}) = Z_{\text{max}} - (Z_{\text{max}} - Z_{\text{min}}) \exp(-Z_1 C_X^{\text{rel}^b}) \quad (\text{A.10})$$

$$Z_1 = \ln \frac{Z_{\text{max}} - Z_{\text{min}}}{Z_{\text{max}} - Z_{\text{nor}}} \quad (\text{A.11})$$

$$Z^{\text{inv}}(C_X^{\text{rel}}) = Z_{\text{min}} + (Z_{\text{max}} - Z_{\text{min}}) \exp(-Z_2 C_X^{\text{rel}^b}) \quad (\text{A.12})$$

$$Z_2 = \ln \frac{Z_{\text{max}} - Z_{\text{min}}}{Z_{\text{nor}} - Z_{\text{min}}} \quad (\text{A.13})$$

## Michaelis-Menten Kinetik

Für die von einer Dosis  $d$  abhängenden Michaelis-Menten Kinetik  $M(d)$  mit der oberen Schranke  $M_{\text{max}}$  und Sensitivitätsparameter  $M_k$  gilt

$$M(d) = M_{\text{max}} \frac{d}{M_k + d} \quad (\text{A.14})$$

## Charakteristische Chemotherapiefunktion

Die Modellierung der Chemotherapie erfolgt mit einem zusätzlichen Abstrom  $C_i^{\text{kill}}$  bestehend aus dem Kompartiment  $C_i$ , der charakteristischen Konstante  $k_i^{CX}$  für die Zellstufe  $i$  und Substanz  $CX$  der Chemotherapie und der charakteristischen Chemotherapiefunktion  $\Psi_i^{CX}$

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = C_{i-1}^{\text{out}} - \frac{C_i(t)}{T_i} - k_i^{CX} \Psi_i^{CX}(t) C_i(t) \quad (\text{A.15})$$

$$C_i^{\text{kill}}(t) = k_i^{CX} \Psi_i^{CX}(t) C_i(t) \quad (\text{A.16})$$

Enthält die Menge  $\{t_j\} (j = 1, 2, \dots, M)$  alle Zeitpunkte der Gabe einer zytotoxischen Substanz  $CX$  in aufsteigender Ordnung ( $t_j \in \mathbb{N}$  in Tagen), ist die charakteristische Chemotherapiefunktion definiert als

$$\Psi_i^{CX}(t) = \begin{cases} 1 & \text{falls } \exists j : (t > t_j) \wedge (t - t_j \leq 1) \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (\text{A.17})$$

Für die Wirkung  $n$  unterschiedlicher chemotoxischer Substanzen mit den Koeffizienten  $k_{il}^{CX}$  ( $l = 1, 2, \dots, n$ ) und jeweils dazugehöriger charakteristischer Chemotherapiefunktionen  $\Psi_{il}^{CX}$  gilt

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = C_{i-1}^{\text{out}} - \frac{C_i(t)}{T_i} - \left( \sum_{l=1}^n k_{il}^{CX} \Psi_{il}^{CX} \right) C_i(t) \quad (\text{A.18})$$

$$C_i^{\text{kill}}(t) = \left( \sum_{l=1}^n k_{il}^{CX} \Psi_{il}^{CX} \right) C_i(t) \quad (\text{A.19})$$

### Fitnessfunktion

Sind  $Y(t) > 0$ ,  $t > 0$  die Modellvorhersage und  $y_i > 0$  die zum Zeitpunkt  $t_i > 0$  gemessenen  $n$  Versuchsergebnisse ( $i = 1, 2, \dots, n$ ), dann definiert man für die Fitnessfunktion die Summe der quadratischen Abweichungen der Vorhersage von den Daten

$$f_{\text{f1}}(Y) = \frac{1}{n} \sum_i^n (Y(t_i) - y_i)^2 \quad (\text{A.20})$$

Alternativ ist die Fitnessfunktion die Summe der absoluten Abweichungen der Logarithmen der Vorhersage von den Daten und wird beschrieben mit

$$f_{\text{f2}}(Y) = \frac{1}{n} \sum_i^n \text{abs}(\ln Y(t_i) - \ln y_i) \quad (\text{A.21})$$

### Zufallsfunktion

Die Zufallsfunktion  $Z_f(p)$  bestimmt für jeden Parameter  $p$  mit der Standardabweichung des Logarithmus  $\text{SD}(\log(p))$  einen neuen Parameter

$$Z_f(p) = p \exp(r \text{SD}(\log(p))) \quad r \text{ liefert standardnormalverteilte Zufallszahlen} \quad (\text{A.22})$$

## A.2. Modellgleichungen

### A.2.1. Ungestörter Zustand

#### Stammzellkompartiment

Die Differentialgleichung für das Stammzellkompartiment wird aus dem Stammzellmodell von [WL85] übernommen. So wird mit dem proliferativen Anteil  $a$ , der Selbsterneuerungswahrscheinlichkeit  $p$  und Zellzykluszeit  $\tau_S$  der Stammzellen festgelegt

$$\frac{dC_S}{dt} = (2p - 1) C_S \frac{a}{\tau_S} \quad (\text{A.23})$$

$$C_S^{\text{out}} = 2(1 - p) C_S \frac{a}{\tau_S} \quad (\text{A.24})$$

Anstatt einer Rückkopplung der Erythrozyten (E) und Granulozyten (G) auf die Stammzellen wird stattdessen eine Rückkopplung des Knochenmarkpools benutzt und es wird angenommen

$$C_E^{\text{rel}} = C_G^{\text{rel}} = \frac{C_{\text{CM}} + C_{\text{MKC}}}{C_{\text{CM}}^{\text{nor}} + C_{\text{MKC}}^{\text{nor}}} \quad (\text{A.25})$$

Für den Start- und dem Normalwert wird definiert

$$C_S(0) = C_S^{\text{nor}} = 1 \quad (\text{A.26})$$

$$C_S^{\text{out}}(0) = C_S^{\text{out,nor}} = 2(1 - p^{\text{nor}}) C_S^{\text{nor}} \frac{a_S^{\text{nor}}}{\tau_S} \quad (\text{A.27})$$

#### Kompartiment der koloniebildenden Einheiten der Megakaryozyten

Die Gleichungen für das CFU-Mk Kompartiment werden bestimmt durch die Gesamtamplifikation  $A_{\text{CM}}$  und Transitzeit  $T_{\text{CM}}$ . Hierbei wird  $A_{\text{CM}}^{\text{in}}$  beziehungsweise  $A_{\text{CM}}^{\text{out}}$  aus  $A_{\text{CM}}$  berechnet und als Eingangs- beziehungsweise Ausgangsamplifikation verwendet (Aufspaltung der Amplifikation).

$$\frac{dC_{\text{CM}}}{dt} = A_{\text{CM}}^{\text{in}} C_S^{\text{out}} - \frac{C_{\text{CM}}}{T_{\text{CM}}} \quad (\text{A.28})$$

$$C_{\text{CM}}^{\text{out}} = A_{\text{CM}}^{\text{out}} \frac{C_{\text{CM}}}{T_{\text{CM}}} \quad (\text{A.29})$$

Weiterhin setzt man für den Start- und den Normalwert

$$C_{\text{CM}}(0) = C_{\text{CM}}^{\text{nor}} = A_{\text{CM}}^{\text{in,nor}} T_{\text{CM}} C_S^{\text{out,nor}} \quad (\text{A.30})$$

$$C_{CM}^{\text{out,nor}} = A_{CM}^{\text{nor}} C_S^{\text{out,nor}} \quad (\text{A.31})$$

### Megakaryozytenkompartiment

Die Gleichungen für die Megakaryozytenmasse mit der sowohl thrombopoetinabhängigen Gesamtamplifikation  $A_{MKC} = A_{CM}^{\text{in}} A_{CM}^{\text{out}}$  als auch Transitzeit  $T_{MKC}$  sind nachfolgend dargestellt

$$\frac{dC_{MKC}}{dt} = A_{MKC}^{\text{in}} C_{CM}^{\text{out}} - \frac{C_{MKC}}{T_{MKC}} \quad (\text{A.32})$$

$$C_{MKC}^{\text{out}} = A_{MKC}^{\text{out}} \frac{C_{MKC}}{T_{MKC}} \quad (\text{A.33})$$

Als Start- und Normalwert wird verwendet

$$C_{MKC}(0) = C_{MKC}^{\text{nor}} = A_{MKC}^{\text{in,nor}} T_{MKC}^{\text{nor}} C_{CM}^{\text{out,nor}} \quad (\text{A.34})$$

$$C_{MKC}^{\text{out,nor}} = A_{MKC}^{\text{nor}} C_{CM}^{\text{out,nor}} \quad (\text{A.35})$$

### Thrombozytenkompartiment

Jedes der  $n$  Subkompartimente des Milz- (PLS) und Zirkulationskompartiments (PLC) besitzt eine exponentialverteilte Transitzeit mit Erwartung  $T_{PL}^{\text{sub}}$ . Die sich daraus ergebende Gesamttransitzeit ist gammaverteilt mit Erwartung  $T_{PL}$  ([SEL04]).

$$T_{PL}^{\text{sub}} = \frac{T_{PL}}{n} \quad (\text{A.36})$$

Mit dem relativen Anteil des Einstroms in die Zirkulation  $in$  und den Flußkonstanten  $k_i^{\text{sc}}$  des Thrombozytenstroms von Milz in die Zirkulation im Subkompartiment  $i$  soll für die Differentialgleichungen verwendet werden

$$\frac{dC_{PLC_1}}{dt} = in C_{MKC}^{\text{out}} - \frac{C_{PLC_1}}{T_{PL}^{\text{sub}}} + k_1^{\text{sc}} C_{PLS_1} \quad (\text{A.37})$$

$$\frac{dC_{PLS_1}}{dt} = (1 - in) C_{MKC}^{\text{out}} - \frac{C_{PLS_1}}{T_{PL}^{\text{sub}}} - k_1^{\text{sc}} C_{PLS_1} \quad (\text{A.38})$$

und für  $i = 2, 3, \dots, n$

$$\frac{dC_{PLC_i}}{dt} = C_{PLC_{i-1}}^{\text{out}} - \frac{C_{PLC_i}}{T_{PL}^{\text{sub}}} + k_i^{\text{sc}} C_{PLS_i} \quad (\text{A.39})$$

$$\frac{dC_{PLS_i}}{dt} = C_{PLS_{i-1}}^{\text{out}} - \frac{C_{PLS_i}}{T_{PL}^{\text{sub}}} - k_i^{\text{sc}} C_{PLS_i} \quad (\text{A.40})$$

Weiterhin entspricht durch die Zellalterung der Ausstrom eines Subkompartiments gerade dem Einstrom der nächsten Alterungsstufe und es wird definiert  $\forall i : 1 \leq i \leq n$

$$C_{\text{PLC}_i}^{\text{out}} = \frac{C_{\text{PLC}_i}}{T_{\text{PL}}^{\text{sub}}} \quad (\text{A.41})$$

$$C_{\text{PLS}_i}^{\text{out}} = \frac{C_{\text{PLS}_i}}{T_{\text{PL}}^{\text{sub}}} \quad (\text{A.42})$$

Die Start- und Normalwerte sind bestimmt mit

$$C_{\text{PLC}_1}(0) = C_{\text{PLC}_1}^{\text{nor}} = (in + k_1^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}) \frac{C_{\text{MKC}}^{\text{out,nor}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}}{1 + k_1^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}} \quad (\text{A.43})$$

$$C_{\text{PLS}_1}(0) = C_{\text{PLS}_1}^{\text{nor}} = (1 - in) \frac{C_{\text{MKC}}^{\text{out,nor}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}}{1 + k_1^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}} \quad (\text{A.44})$$

und für  $i = 2, 3, \dots, n$

$$C_{\text{PLC}_i}(0) = C_{\text{PLC}_i}^{\text{nor}} = C_{\text{PLC}_{i-1}}^{\text{nor}} + \frac{k_i^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}}{k_i^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}} + 1} C_{\text{PLS}_{i-1}}^{\text{nor}} \quad (\text{A.45})$$

$$C_{\text{PLS}_i}(0) = C_{\text{PLS}_i}^{\text{nor}} = \frac{C_{\text{PLS}_{i-1}}^{\text{nor}}}{k_i^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}} + 1} \quad (\text{A.46})$$

Für jede Altersstufe (Abbildung A.1) der Thrombozyten ist der Thrombozytenfluß  $k_i^{\text{sc}}$  im Gleichgewicht von Milz in die Zirkulation zu definieren. Dieser Zellfluß muß für jede Altersstufe festgelegt werden, um das Verhältnis 1:2 aller Milz- (relativer Anteil  $1 - q = \frac{1}{3}$ ) und Zirkulationsthrombozyten ( $q = \frac{2}{3}$ ) zu gewährleisten. Benutzt wird hierfür eine Funktion  $g(t)$ , die für jedes Alter  $t$  den Anteil der Thrombozyten in der Zirkulation beschreibt.

$$g(t) = 2(q - g_1) t + g_1 \quad (\text{A.47})$$

Ferner wird im Fall für  $n$  verschiedene Altersstufen definiert

$$g_i := g\left(\frac{i-1}{n-1}\right) \quad \text{für } i = 1, 2, \dots, n \quad (\text{A.48})$$

$$G_i := \frac{g_i}{1 - g_i} \quad (\text{A.49})$$

$$g_i = \frac{G_i}{G_i + 1}$$

So soll für die Verhältnisse der verschiedenen Altersstufen im Gleichgewicht gelten

$$\frac{C_{\text{PLC}_1}^{\text{nor}}}{C_{\text{PLS}_1}^{\text{nor}}} = G_1 = \frac{in + k_1^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}}}{1 - in} \quad (\text{A.50})$$

$$\frac{C_{\text{PLC}_i}^{\text{nor}}}{C_{\text{PLS}_i}^{\text{nor}}} = G_i = (k_i^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}} + 1) G_{i-1} + k_i^{\text{sc}} T_{\text{PL}}^{\text{sub}} \quad \text{für } i = 2, 3, \dots, n \quad (\text{A.51})$$

Aus diesen Gleichungen erhält man durch Umformungen die Flußkonstanten

$$k_1^{\text{sc}} = \frac{g_1 - in}{T_{\text{PL}}^{\text{sub}}(1 - g_1)} \quad (\text{A.52})$$

$$k_i^{\text{sc}} = \frac{G_i - G_{i-1}}{T_{\text{PL}}^{\text{sub}}(G_{i-1} + 1)} \quad \text{für } i = 2, 3, \dots, n \quad (\text{A.53})$$

Zu beachten sind die Randbedingungen, einerseits folgt aus Gleichung A.47

$$g_1 > \frac{1}{3} \quad (\text{A.54})$$

und aus A.52 mit  $k_1^{\text{sc}} > 0$

$$g_1 > in \quad (\text{A.55})$$

Das Kompartiment beobachtbarer Thrombozyten ist das der Zirkulation

$$C_{\text{PL}} := C_{\text{PLC}} \quad (\text{A.56})$$

### Thrombopoetinkompartiment

Die Gleichung zur Beschreibung des empirischen loglinearen Zusammenhang zwischen relativen Thrombopoetin Spiegel und relativer Thrombozytenkonzentration besitzt nur einen freien Parameter  $k_{\text{TPO}}$  und lautet

$$C_{\text{TPO}}^{\text{rel}} = \exp(k_{\text{TPO}}(C_{\text{PL}}^{\text{rel}} - 1)) \quad (\text{A.57})$$

Die Differentialgleichung hingegen beinhaltet als Parameter die Produktionsrate  $\alpha$ , die Transitzeit  $T_{\text{TPO}}$  des unspezifischen Abbaus, den Sensitivitätsparameter  $K$  der Michael-Menten Kinetik und die Wichtungsfaktoren  $w_{\text{MKC}}$  der relativen Megakaryozytenmasse

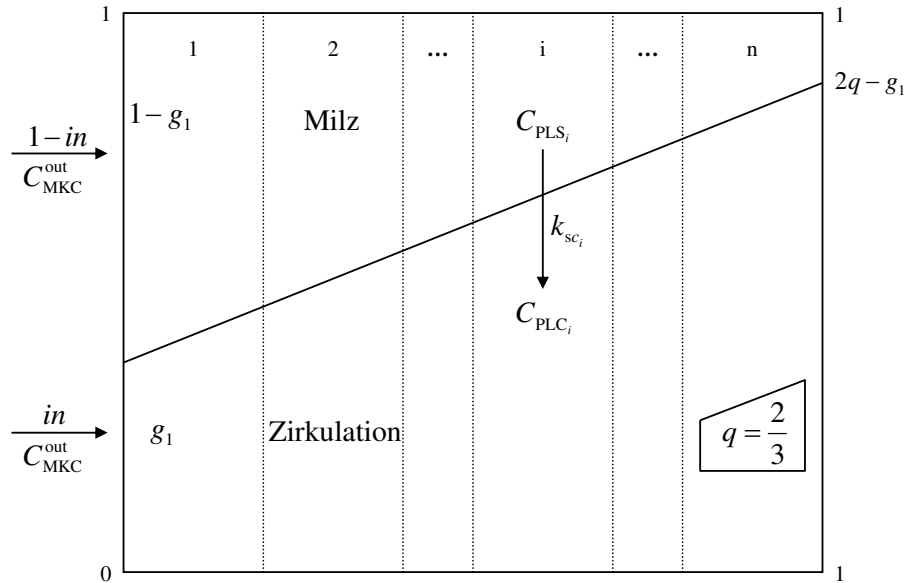


Abbildung A.1.: Aufbau der Thrombozytenkompartimente

Der relative Einstrom in beide Kompartimente wird reguliert durch  $in$ , der initiale Anteil der zirkulierenden Thrombozyten am ersten Subkompartiment wird durch  $g_1$  festgelegt und der Anteil der Zirkulationsthrombozyten aller Subkompartimente soll durch  $q$  beschrieben werden

und  $w_{PL}$  des relativen Thrombozyten spiegels für den spezifischen Abbau.

$$C_{TPO}^{rel} = \alpha - \frac{C_{TPO}^{rel}}{T_{TPO}} - (w_{MKC} C_{MKC}^{rel} + w_{PL} C_{PL}^{rel}) \frac{C_{TPO}^{rel}}{K + \gamma C_{TPO}^{rel}} \quad (A.58)$$

$$\gamma = \frac{w_{MKC} C_{MKC}^{rel,nor} + w_{PL} C_{PL}^{rel,nor}}{\alpha - \frac{1}{T_{TPO}}} - K \quad (A.59)$$

Diese Form der Beschreibung einer relativen Größe ermöglicht eine unabhängige Steuerung des Einstroms vom Abbau. Die Konstante  $\gamma$  muß fixiert sein, um  $C_{TPO}^{rel,nor} = 1$  zu erreichen. Deshalb sind der Start- und Normalwert festgelegt mit

$$C_{TPO}^{rel}(0) = C_{TPO}^{rel,nor} = 1 \quad (A.60)$$

Für die Bestimmung der Pharmakokinetik-Parameter des Thrombopoetin werden die gemessenen Thrombozytenwerte  $y_{PL}$  mit Hilfe einer (Matlab-internen) Interpolationsfunktion  $I$  stückweise linear abgebildet

$$C_{PL}^{rel}(t) := I(y_{PL}^{rel}, t) \quad (A.61)$$



Man schätzt die relative Megakaryozytenmasse, wenn es hierfür keine Meßwerte gibt unter Annahme einer zeitversetzten Dynamik zwischen Megakaryozyten- und Thrombozytenverlauf mit Zeitverschiebung  $t_{\text{MKC}}$

$$C_{\text{MKC}}^{\text{rel}}(t) := I(y_{\text{PL}}^{\text{rel}}, t - t_{\text{MKC}}) \quad (\text{A.62})$$

### A.2.2. Chemotherapie

Für die Kompartimente  $X \in \{\text{S}, \text{CM}, \text{MKC}\}$  der Stammzellen, CFU-Mk und Megakaryozyten ist ein Abstrom  $C_X^{\text{kill}}$  bei den Therapien CHOP14 und CHOP21 zu ergänzen

$$C_X^{\text{kill}} = k_X^{\text{CHO}} \Psi_X^{\text{CHO}} C_X \quad (\text{A.63})$$

Betrachtet man zusätzlich noch die Wirkung des Etoposid der Therapien CHOEP14 und CHOEP21, setzt man stattdessen

$$C_X^{\text{kill}} = (k_X^{\text{CHO}} \Psi_X^{\text{CHO}} + k_X^{\text{E}} \Psi_X^{\text{E}}) C_X \quad (\text{A.64})$$

Als Vereinfachung wird angenommen

$$k_{\text{CM}}^{\text{CHO}} := k_{\text{S}}^{\text{CHO}} \quad (\text{A.65})$$

$$k_{\text{CM}}^{\text{E}} := k_{\text{S}}^{\text{E}} \quad (\text{A.66})$$

### A.2.3. Thrombophere

Der Startwert der zirkulierenden Thrombozyten wird verhältnisgetreu auf den ersten gemessenen Thrombozyten Spiegel  $y_{\text{PL}}(t_0)$  mit Normalwert  $y_{\text{PL}}^{\text{nor}}$  unter Berücksichtigung eines Korrekturfaktors  $k_0$  abgesenkt. Vereinfachend werden die Startwerte aller Subkompartimente auf den gleichen Wert gesetzt

$$C_{\text{PLC}_i}(0) = k_0 \frac{y_{\text{PL}}(t_0)}{y_{\text{PL}}^{\text{nor}}} C_{\text{PLC}_i}^{\text{nor}} \quad \text{für } i = 1, 2, \dots, n \quad (\text{A.67})$$

## A.3. Vektorgeometrie von WinScale

Wie in Abbildung A.2 dargestellt, korrespondieren die Bildschirmpunkte  $p_1, p_2$  mit den Ordinaten  $y_2, y_1$  und  $p_3, p_4$  mit den Abszissen  $x_1, x_2$ . Die Vektoren  $\vec{a}$  und  $\vec{b}$  verlaufen

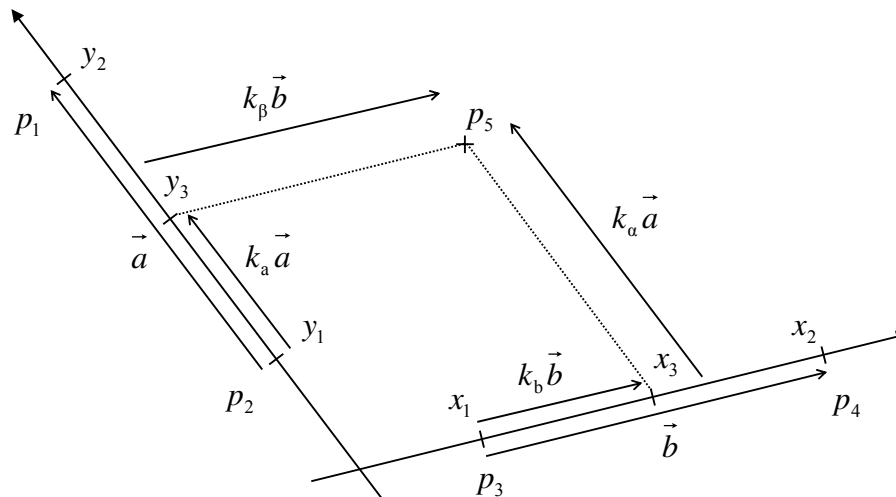


Abbildung A.2.: Vektorgeometrie von WinScale

Die Pixel  $p_1$  bis  $p_4$  spannen das Koordinatensystem mit den dazugehörigen Ordinaten  $y_2, y_1$  und Abszissen  $x_1, x_2$  auf dem Bildschirm auf. Für jedes  $p_5$  werden dadurch die Koordinaten  $x_3, y_3$  berechnet

dabei in Richtung der Ordinaten- und Abszissenachse. Das bedeutet

$$\vec{p}_i = \begin{pmatrix} p_{i1} \\ p_{i2} \end{pmatrix} \quad \text{für } i = 1, 2, \dots, 5 \quad p_{i1}, p_{i2} \in \mathbb{N} \quad (\text{A.68})$$

$$\vec{a} = \vec{p}_1 - \vec{p}_2 = \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \end{pmatrix} \quad a_1, a_2 \in \mathbb{Z} \quad (\text{A.69})$$

$$\vec{b} = \vec{p}_4 - \vec{p}_3 = \begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \end{pmatrix} \quad b_1, b_2 \in \mathbb{Z} \quad (\text{A.70})$$

Zu jedem Punkt  $p_5$  werden die Koordinaten  $x_3, y_3$  bestimmt, indem für jede Koordinatenachse der Schnittpunkt mit einer Gerade bestimmt wird, die parallel zur jeweils anderen Achse und durch  $p_5$  verläuft. Zu lösen sind hierfür zwei Gleichungssysteme

$$\vec{p}_2 + k_a \vec{a} = \vec{p}_5 - k_b \vec{b} \quad (\text{A.71})$$

$$\vec{p}_3 + k_b \vec{b} = \vec{p}_5 - k_a \vec{a} \quad (\text{A.72})$$

Aufzulösen sind dabei die Koeffizienten  $k_a$  und  $k_b$ , die die relative Länge der Vektoren  $\vec{a}$  und  $\vec{b}$  auf den Achsen bis zu den Schnittpunkten angeben

$$k_a = \frac{(p_{51} - p_{21}) b_2 - (p_{52} - p_{22}) b_1}{a_1 b_2 - a_2 b_1} \quad (\text{A.73})$$

$$k_b = \frac{(p_{51} - p_{31}) a_2 - (p_{52} - p_{32}) a_1}{a_2 b_1 - a_1 b_2} \quad (\text{A.74})$$

Wobei vorausgesetzt werden muß, daß  $a_1 b_2 \neq a_2 b_1 \leftrightarrow \vec{a}$  und  $\vec{b}$ , also beide Achsen, linear unabhängig sind. Gleichzeitig teilen oder erweitern diese Koeffizienten aber auch das Intervall der Ordinaten  $[y_1, y_2]$  und der Abszissen  $[x_1, x_2]$  und es lassen sich die gesuchten Koordinaten  $x_3, y_3$  ( $x_i, y_i \in \mathbb{R}$  für  $i = 1, 2, 3$ ) berechnen

$$y_3 = y_1 + k_a(y_2 - y_1) \quad (\text{A.75})$$

$$x_3 = x_1 + k_b(x_2 - x_1) \quad (\text{A.76})$$

Im Falle einer logarithmischen Achseneinteilung der Ordinatenachse muß  $y_3$  anders berechnet werden

$$\begin{aligned} y_3^{\log} &= 10^{(\log y_1 + k_a(\log y_2 - \log y_1))} \\ &= y_1 \left( \frac{y_2}{y_1} \right)^{k_a} \quad \text{für } y_1, y_2 > 0 \end{aligned} \quad (\text{A.77})$$

## B. Parameter und deren Quellen

### B.1. Zytokinspiegel

#### B.1.1. Loglineares Modell

Dargestellt sind die Thrombopoetinparameter der drei Patienten  $p_1$ ,  $p_2$ ,  $p_3$  und der Parameter der gemeinsamen Anpassung  $p_{12}$  der ersten beiden Patienten.

Parameter	Wert	Quelle
$k_{\text{TPO}}^{p_1}$	-2,4128	angepaßt
$k_{\text{TPO}}^{p_2}$	-4,6384	angepaßt
$k_{\text{TPO}}^{p_3}$	-1,1056	angepaßt
$k_{\text{TPO}}^{p_{12}}$	-4,6296	angepaßt

#### B.1.2. Differentialgleichungsmodell

Nachfolgend gehören der erste Parametersatz zur Anpassung des Thrombopoetinspiegel der Chemotherapiedaten an die gemessenen Thrombozytenwerte und der zweite Satz zur Anpassung des Zytokinspiegels an den Thrombozytenverlauf der Thrombopheresedaten.

Parameter	Wert	Quelle
$\alpha$	3,6886	angepaßt
$T_{\text{TPO}}$	20,3851h	angepaßt
$K$	0,3855	angepaßt
$w_{\text{MKC}}$	1,1564	angepaßt
$w_{\text{PL}}$	2,1069	angepaßt
$t_{\text{MKC}}$	129,6266h	angepaßt

Parameter	Wert	Quelle
$\alpha$	0,1105	angepaßt
$T_{\text{TPO}}$	24,7474h	angepaßt
$K$	0,2261	angepaßt
$w_{\text{MKC}}$	0	angepaßt
$w_{\text{PL}}$	0,2724	angepaßt
$t_{\text{MKC}}$	(123,9869h)	angepaßt

Da der Wichtungsfaktor für die Megakaryozyten null ist, ist der Wert der hypothetischen Zeitverschiebung  $t_{\text{MKC}}$  unbrauchbar.

## B.2. Dynamik der Thrombopoese

### B.2.1. Kompartimente

#### Stammzellkompartiment

Die Parameterwerte werden unverändert aus den Arbeiten von [WL85] übernommen.

Parameter	Wert	Quelle
$a_{\text{min}}$	0,01	[WL85]
$a_{\text{nor}}$	0,15	[WL85]
$a_{\text{int}}$	0,45	[WL85]
$a_{\text{max}}$	1	[WL85]
$p_{\delta}$	0,1	[WL85]
$\vartheta_{\text{E}}$	-2	[WL85]
$\vartheta_{\text{G}}$	-8	[WL85]
$\tau_{\text{S}}$	8h	[WL85]
$\omega_{\text{S}}$	1	[WL85]
$\omega_{\text{E}}$	0,3	[WL85]
$\omega_{\text{G}}$	0,1	[WL85]

**Kompartiment der CFU-Mk**

Parameter	Wert	Quelle
$A_{CM}^{\min}$	2,4208	angepaßt
$A_{CM}^{\text{nor}}$	2,6680	angepaßt
$A_{CM}^{\max}$	242,2250	angepaßt
$b_{CM}^A$	2,7358	angepaßt
$T_{CM}$	628,2748h	angepaßt

**Megakaryozytenkompartiment**

Parameter	Wert	Quelle
$A_{MKC}^{\min}$	4	[Wic84]
$A_{MKC}^{\text{nor}}$	8	[Wic84], [Cor89]
$A_{MKC}^{\max}$	16	[Wic84]
$b_{MKC}^A$	0,0466	angepaßt
$T_{MKC}^{\min}$	96h	[Wic84]
$T_{MKC}^{\text{nor}}$	144h	[Wic84], [MFI <sup>+</sup> 99]
$T_{MKC}^{\max}$	168h	[Wic84]
$b_{MKC}^T$	1,5033	angepaßt

**Thrombozytenkompartiment**

Parameter	Wert	Quelle
$g_1$	0,34	gesetzt
$in$	0,3348	angepaßt
$n$	7	angepaßt
$T_{PL}$	240h	[BR93],[SGM <sup>+</sup> 01]
$C_{PL}^{\text{nor}}$	275000/ $\mu$ l	[BR93],[SGM <sup>+</sup> 01]

**B.2.2. Toxizitätsparameter**

Parameter	Wert	Quelle
$k_S^{\text{CHO}}$	0,1904	angepaßt
$k_{MKC}^{\text{CHO}}$	0,0417	angepaßt
$k_S^E$	0,0396	angepaßt
$k_{MKC}^E$	0,1262	angepaßt

## C. Abkürzungsverzeichnis

### C.1. Abkürzungen biologischer Begriffe

Symbol	Bezeichnung
c-Mpl	c-myeloproliferativer Leukämievirus (c-myeloproliferative leukemia virus)
CFU	Koloniebildende Einheiten (colony forming unit)
CFU-Mk	Koloniebildende Einheiten der Megakaryozyten
CHOEP	Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (H), Vincristin (O), Etoposid (E), Prednison (P)
CM	Kurz für CFU-Mk
CSF	Koloniestimulierender Faktor (colony stimulating factor)
CX	Zytotoxische Substanzen (cytotoxic drugs)
G	Granulozyt
G-CSF	Granulozyten koloniestimulierender Faktor
GM-CSF	Granulozyten Makrophagen koloniestimulierender Faktor
DMS	Demarkationsmembransystem
E	Erythrozyt oder Etoposid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EPO	Erythropoetin
IL	Interleukin
Mk-CSF	Megakaryozyten koloniestimulierender Faktor
MKC	Megakaryozyten (megakaryocytes)
PEG-rHuMGDF	Pegylisierter rekombinanter menschlicher Wachstumsfaktor (pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor)
PL	Blutplättchen (platelets)
PLC	Blutplättchen (PL) in der Zirkulation (circulation)
PLS	Blutplättchen (PL) in der Milz (spleen)
rhTPO	Rekombinantes menschliches Thrombopoetin (recombinant human thrombopoietin)
S	Stammzelle
sc	Von der Milz in die Zirkulation (spleen to circulation)
TPO	Thrombopoetin

## C.2. Abkürzungen mathematischer Begriffe

Symbol	Bezeichnung
$a$	Proliferativer Anteil
$A$	Amplifikation
$b$	Sensitivitätsparameter
$C_i$	Zellzahlkonzentration im Kompartiment $i$
$f_i$	Fitnessfunktion
$g_1$	Relativer Anteil der Zirkulationsthrombozyten am ersten Subkompartiment der Thrombozyten
$in$	Relativer Einstrom in das Zirkulationskompartiment
$I$	Interpolationsfunktion
$K, k$	Konstante
$M$	Michaelis-Menten Funktion
MMK	Michaelis-Menten Kinetik
$p$	Wahrscheinlichkeit
$t$	Zeit oder Zeitdifferenz
$T$	Transit- oder Reifezeit
$w$	Wichtungskonstante
$Z$	Z-Funktion
$Z_f$	Zufallsfunktion
$\alpha$	Produktionsrate
$\vartheta$	Wichtungskonstante
$\tau$	Zellzykluszeit
$\Psi$	Charakteristische Chemotherapiefunktion
$\omega$	Wichtungskonstante



## Literaturverzeichnis

- [BLS<sup>+</sup>97] V.C. Broudy, N.L. Lin, D.F. Sabath, T. Papayannopoulou, and K. Kaushansky: Human Platelets Display High-Affinity Receptors for Thrombopoietin. *Blood*, 89(6):1896–1904, March 1997.
- [BPZH<sup>+</sup>90] M.E. Brecher, A.A. Pineda, V.W. Zylstra-Halling, S. Chowdhury, and L.A. Forstrom: In vivo viability and functional integrity of filtered platelets. *Transfusion*, 30:718–721, 1990.
- [BR93] H. Begemann und J. Rastetter: *Klinische Hämatologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York, 4. Auflage, 1993, ISBN 3-13-447204-X.
- [Cor89] L. Corash: The Relationship Between Megakaryocyte Ploidy and Platelet Volume. *Blood Cells*, 15:81–107, 1989.
- [DFP<sup>+</sup>03] V. Diehl, J. Franklin, M. Pfreundschuh, B. Lathan, U. Paulus, D. Hasenclever, H. Tesch, R. Herrmann, B. Dörken, H. K. Müller-Hermelink, E. Dühmke, and M. Löffler: Standard and Increased-Dose BEACOPP Chemotherapy Compared with COPP-ABVD for Advanced Hodgkin's Disease. *The New England Journal of Medicine*, 348(24):2386–95, June 2003.
- [DHK<sup>+</sup>98] M. Dettke, M. Hlousek, M. Kurz, G. Leitner, K. Roskopf, G. Stiegler, P. Stohlawetz, N. Worel, P. Hoecker, and S. Panzer: Increase in endogenous thrombopoietin in healthy donors after automated plateletpheresis. *Transfusion*, 38:449–453, May 1998.
- [ELFS99] C. Engel, M. Loeffler, H. Franke, and S. Schmitz: Endogenous thrombopoietin serum levels during multicyclic chemotherapy. *British Journal of Haematology*, 150:832–838, 1999.
- [ESL04] C. Engel, M. Scholz, and M. Loeffler: A computational model of human granulopoiesis to simulate the hematotoxic effects of multicycle polychemotherapy. *Blood*, 104(8):2323–2331, 2004.

- [FAK77] M. Freedman, N. Altszuler, and S. Karpatkin: Presence of a Nonsplenic Platelet Pool. *Blood*, 50(3):419–425, September 1977.
- [FGS<sup>+</sup>96] P.J. Fielder, A.L. Gurney, E. Stefanich, M. Marian, M.W. Moore, K. Carver-Moore, and F.J. de Sauvage: Regulation of Thrombopoietin Levels by c-mpl-Mediated Binding to Platelets. *Blood*, 87(6):2154–2161, March 1996.
- [FvdBR<sup>+</sup>97] C.C. Folman, A.E.G.K. von dem Borne, I.H.J.A.M. Rensink, W. Gerritsen, C.E. van der Schoot, M. de Haas, and L. Aarden: Sensitive Measurement of Thrombopoietin by a Monoclonal Antibody Based Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay. *Thrombosis and haemostasis*, 78:1262–1267, 1997.
- [HKW<sup>+</sup>97] F. Heits, D.M. Katschinski, U. Wilmsen, G.J. Wiedemann, and W. Jelkmann: Serum thrombopoietin and interleukin 6 concentrations in tumour patients and response to chemotherapy-induced thrombocytopenia. *European Journal of Hematology*, 59:53–58, 1997.
- [HRM<sup>+</sup>00] L.A. Harker, L.K. Roskos, U.M. Marzec, R.A. Carter, J.K. Cherry, B. Sundell, E.N. Cheung, D. Terry, and W. Sheridan: Effects of megakaryocyte growth and development factor on platelet production, platelet life span, and platelet function in healthy human volunteers. *Blood*, 95:2514–2522, 2000.
- [IMT<sup>+</sup>96] A. Ishida, Y. Miyakawa, R. Tanosaki, M. Wakui, H. Ueno, R. Watanabe, N. Awaya, T. Tahara, T. Kato, H. Miyazaki, A. Oda, M. Kizaki, S. Okamoto, and Y. Ikeda: Circulating endogenous thrombopoietin, interleukin-3, interleukin-6 and interleukin-11 levels in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *International Journal of Hematology*, 65:61–69, 1996.
- [JK04] F. Jin and W. Krzyzanski: Pharmacokinetic Model of Target-Mediated Disposition of Thrombopoietin. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 6(1):Article 9, 2004.
- [Kau02] Kenneth Kaushansky: Thrombopoietin: From Theory to Reality. *International Journal of Hematology*, 76:343–345, 2002.
- [Kau03] K. Kaushansky: Thrombopoietin: a tool for understanding thrombopoiesis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1:1587–1592, 2003.

- [KB02] D.J. Kuter and C.G. Begley: Recombinant human thrombopoietin: basic biology and evaluation of clinical studies. *Blood*, 100(10):3457–3469, November 2002.
- [Kli01] C. Kliem: Entwicklung eines mathematischen Kompartimentmodells zur Regulation der murinen Thrombopoese auf der Basis von Störungsmustern der thrombopoetischen Zellreihe. Dissertation, Universität Leipzig, 2001.
- [LYX<sup>+</sup>01] J. Li, C. Yang, Y. Xia, A. Bertino, J. Glaspy, M. Roberts, and D.J. Kuter: Thrombocytopenia caused by the development of antibodies to thrombopoietin. *Blood*, 98(12):3241–3248, December 2001.
- [Mey04] G. Meyer: Charakterisierung der zellkinetischen Wirkungen bei exogener Applikation von Erythropoetin auf die Erythropoese des Menschen mit Hilfe eines mathematischen Kompartimentmodells. Dissertation, Universität Leipzig, 2004.
- [MFI<sup>+</sup>99] M. Miyazaki, Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Yamakido, T. Kato, and H. Miyazaki: The Relationship Between Carboplatin AUC and Serum Thrombopoietin Kinetics in Patients with Lung Cancer. *Anticancer Research*, 19:667–670, 1999.
- [OBSK04] M.N. Obeyesekere, R.W. Berry, P.P. Spicer, and M. Korbling: A mathematical model of haematopoiesis as exemplified by CD34 cell mobilization into the peripheral blood. *Cell proliferation*, 37:279–294, 2004.
- [PTK<sup>+</sup>04] M. Pfreundschuh, L. Trümper, M. Klöss, R. Schmits, A.C. Feller, C. Rube, C. Rudolph, M. Reiser, D.K. Hossfeld, H. Eimermacher, D. Hasenclever, N. Schmitz, and M. Löffler: Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*, 104(3):634–641, August 2004.
- [Rec73] I. Rechenberg: Evolutionsstrategie, Optimierung technischer Systeme nach Prinzipien der biologischen Evolution, Band 15 der Reihe *problemata*. Friedrich Frommann Verlag (Günther Holzboog KG.), Stuttgart-Bad Cannstatt, 1973, ISBN 3-7728-0373-3.
- [SBFL<sup>+</sup>02] M.W. Schuster, R. Beveridge, D. Frei-Lahr, C.N. Abboud, S. Cruickshank, M. Macri, D. Menchaca, J. Holden, and E.K. Waller: The effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor

- (PEG-rHuMGDF) on platelet recovery in breast cancer patients undergoing autologous bone marrow transplantation. *Experimental Hematology*, 30:1044–1050, 2002.
- [SBR<sup>+</sup>98] L.F. Schipper, A. Brand, N.C.M. Reniers, C.J.M. Melief, R. Willemze, and W.E. Fibbe: Effects of thrombopoietin on the proliferation and differentiation of primitive and mature haemopoietic progenitor cells in cord blood. *British Journal of Haematology*, 101:425–435, 1998.
- [SEL04] M. Scholz, C. Engel, and M. Loeffler: Modelling Human Granulopoiesis under Polychemotherapy with G-CSF Support. *Journal of Mathematical Biology*, 50(4):397–493, 2004.
- [SGM<sup>+</sup>01] A. Schmitt, J. Guichard, J.M. Massé, N. Debili, and E.M. Cramer: Of mice and men: Comparison of the ultrastructure of megakaryocytes and platelets. *Experimental Hematology*, 29:1295–1302, 2001.
- [SHI<sup>+</sup>03] K. Skomorovski, H. Harpak, A. Ianovski, M. Vardi, T.P. Visser, S.C.C. Hartong, H.H.D.M. van Vliet, G. Wagemaker, and Z. Agur: New TPO treatment schedules of increased safety and efficacy: pre-clinical validation of a thrombopoiesis simulation model. *British Journal of Haematology*, 123:683–691, 2003.
- [SL86] V.A. Selivanov and V.N. Lanin: Mathematical model study of megakaryocytopoiesis. 1. The simulation model, cell steady-state distribution and the number of divisions in a proliferating population. *Ontogenez*, 17:270–277, 1986.
- [SL89] P.E. Stenberg and J. Levin: Mechanisms of Platelet Production. *Blood Cells*, 15:23–47, 1989.
- [SMBM00] M. Santillan, J.M. Mahaffy, J. Belair, and M.C. Mackey: Regulation of platelet production: the normal response to perturbation and cyclical platelet disease. *Journal of Theoretical Biology*, 206(4):585–603, 2000.
- [STN<sup>+</sup>98] K. Shinjo, A. Takeshita, S. Nakamura, K. Naitoh, M. Yanagi, T. Tobita, K. Ohnishi, and R. Ohno: Serum thrombopoietin levels in patients correlate inversely with platelet counts during chemotherapy-induced thrombocytopenia. *Leukemia*, 12:295–300, 1998.

- [SWS96] R. Stoffel, A. Wiestner, and R.C. Skoda: Thrombopoietin in Thrombocytopenic Mice: Evidence Against Regulation at the mRNA Level and for a Direct Regulatory Role of Platelets. *Blood*, 87(2):567–573, January 1996.
- [TvdSVZ04] M.R. Tijssen, C.E. van der Schoot, C. Voermans, and J.J. Zwaginga: The (patho)physiology of megakaryocytopoiesis: from thrombopoietin in diagnostics and therapy to ex vivo generated cellular products. *Vox Sanguinis*, 87:52–55, 2004.
- [vG03] C. van Geet: Thrombopoiesis: New Concepts. Presented to the General Assembly, June 2003.
- [VRMBR<sup>+</sup>97] S. Vadhan-Raj, L.J. Murray, C. Bueso-Ramos, S. Patel, S.P. Reddy, W.K. Hoots, T. Johnston, N.E. Papadopolous, W.N. Hittelman, D.A. Johnston, T.A. Yang, V.E. Paton, R.L. Cohen, S.D. Hellman, R.S. Bejamin, and H.E. Broxmeyer: Stimulation of Megakaryocyte and Platelet Production by a Single Dose of Recombinant Human Thrombopoietin in Patients with Cancer. *Annals of Internal Medicine*, 126(9):673–681, 1997.
- [WFG<sup>+</sup>99] V. Weisbach, H. Friedlein, A. Glaser, J. Zingsem, R. Zimmermann, and R. Eckstein: The influence of automated plateletpheresis on systemic levels of hematopoietic growth factors. *Transfusion*, 39:889–894, August 1999.
- [WHL<sup>+</sup>01] S.N. Wolff, R. Herzig, J. Lynch, S.G. Ericson, J.P. Greer, R. Stein, S. Goodman, M.C. Benyunes, M. Ashby, D.V. Jones Jr., and J. Fay: Recombinant human thrombopoietin (rhTPO) after autologous bone marrow transplantation: a phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study. *Bone Marrow Transplantation*, 27:261–268, 2001.
- [Wic84] H. E. Wichmann: *Regulationsmodelle und ihre Anwendung auf die Blutbildung*, Band 48 der Reihe Medizinische Informatik und Statistik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1984, ISBN 3-540-12892-1.
- [WKR<sup>+</sup>03] A. Wunderlich, M. Kloess, M. Reiser, C. Rudolph, L. Truemper, S. Bittner, H. Schmalenberg, R. Schmits, M. Pfreundschuh, and M. Loeffler: Practicability and acute haematological toxicity of 2- and 3-weekly CHOP and CHOEP chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results from the NHL-B trial of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Annals of Oncology*, 14:881–893, 2003.

- [WL85] H. E. Wichmann and M. Loeffler: *Mathematical Modeling of Cell Proliferation: Stem Cell Regulation in Hemopoiesis*. CRC Press, Boca Raton, 1985.
- [WLH<sup>+</sup>83] H. E. Wichmann, M. Löffler, P. Herkenrath, M.D. Gerhardt, C. Wesselborg und H. Wulff: *Mathematische Modelle in der Hämatologie*. *Klinische Wochenschrift*, 61:935–940, 1983.
- [WSW<sup>+</sup>01] T. Wagner, D.W.M. Schwartz, M. Winter, E. Kabrna, M. Kollars, I. Schwarzingler, G. Lanzer, W.R. Mayr, and K. Geissler: *Kinetics of CFU-Mk after automated plateletpheresis*. *Vox Sanguinis*, 81:167–171, 2001.

Ich versichere, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.