

Aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Informatik
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Meinhard Kieser
Sektion Medizinische Informatik

Entwurf und Realisierung eines computergestützten Systems zur *in silico* Modellierung und Simulation von Epithelgeweben

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doctor scientiarum humanarum
an der
Medizinischen Fakultät Heidelberg
der
Ruprecht-Karls-Universität

vorgelegt von
Thomas Sütterlin
aus Titisee-Neustadt
2015

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Herzog

Doktorvater: Prof. Dr. Hartmut Dickhaus

„Wer hohe Türme bauen will,
muß lange am Fundament verweilen.“

Anton Bruckner

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	ix
Tabellenverzeichnis	xi
Abkürzungsverzeichnis	xiii
1 Einleitung	1
1.1 Motivation	2
1.2 Zielsetzung.....	4
1.3 Aufbau der vorliegenden Arbeit	4
2 Grundlagen und Stand der Forschung	7
2.1 Grundlagen	7
2.1.1 Systembiologie	7
2.1.2 Multiskalierte Modellierung biologischer Systeme	9
2.1.3 Multiagentensysteme und -modelle	12
2.1.4 Die humane Epidermis <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> und <i>in silico</i>	14
2.2 Stand der Forschung.....	20
2.2.1 Zellmodelle in multizellulären Gewebesimulationen.....	20
2.2.2 Modellstandards in der Systembiologie.....	24
2.2.3 Modellierungs- und Simulationssysteme.....	27
3 Entwickeltes computergestütztes Modellierungs- und Simulationssystem	31
3.1 Systemkonzeption	31
3.1.1 Anwenderzielgruppe und Systemanforderungen	32
3.1.2 Modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur.....	33
3.1.3 Automatische Abbildung räumlicher und zeitlicher Skalen	38
3.1.4 Mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept.....	40
3.2 EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform	44
3.2.1 Grafisches Modellierungssystem – EPISIM Modeller	44
3.2.2 Simulationsumgebung – EPISIM Simulator.....	56
3.3 Technische Systemrealisierung.....	66
3.3.1 Systemaufbau und verwendete Softwaresysteme, -bibliotheken sowie -frameworks	66
3.3.2 Automatische Codeerzeugung aus grafischen Zellverhaltensmodellen	75
3.3.3 Generelles Datenmodell der multiskalierten Gewebesimulation.....	82
3.3.4 Ablauf eines Simulationsschritts	85
3.4 Systemevaluation.....	87
3.4.1 Gebrauchstauglichkeit des Systems.....	87
3.4.2 Evaluation des EPISIM Code Generators.....	89
3.4.3 EPISIM im Vergleich mit anderen Systemen.....	92

3.4.4	Flexibilität des entwickelten Systems.....	100
3.5	Zusammenfassung.....	103
4	Entwickelte zellbasierte <i>in silico</i> Modelle	105
4.1	Basismodelle für den Austausch und die Diffusion-Reaktion von Stoffen	105
4.1.1	Zell-Zell-Kommunikation und Stofftransport.....	106
4.1.2	Extrazelluläre Diffusionsfelder	108
4.2	Biomechanische Modelle.....	115
4.2.1	Gitterfreies Zell-Zentrumsmodell	115
4.2.2	Gitterbasiertes Zellmodell.....	123
4.3	Modell der humanen epidermalen Homöostase.....	132
4.3.1	Zellverhaltensmodell Keratinozyt.....	133
4.3.2	Zellzyklusmodelle	136
4.3.3	Multiskaliertes Zelldifferenzierungsmodell	143
4.4	Modell der Reepithelialisierung in akuten epidermalen Wunden.....	144
4.4.1	Genereller Modellaufbau	146
4.4.2	Erweiterung des gitterfreien biomechanischen Modells	147
4.4.3	Zellverhaltensmodell Keratinozyt.....	150
4.4.4	Zellproliferation und -zyklus.....	152
4.5	Generisches Chemotaxis-Modell	155
4.6	Bakterien-Makrophagen-Modell	157
4.7	T-Zell-Migrationsmodell.....	160
4.8	Zusammenfassung.....	162
5	Simulationsergebnisse der entwickelten <i>in silico</i> Modelle	165
5.1	Simulation der humanen epidermalen Homöostase.....	165
5.1.1	Epidermale <i>in silico</i> Gewebemorphologie.....	167
5.1.2	Zellzahlen und Gewebekinetik vor und nach Erreichen der Homöostase.....	173
5.1.3	Transepidermaler Ca ²⁺ -Gradient und Ausbildung der epidermalen Barriere	180
5.1.4	Simulation der Zellzyklusmodelle	185
5.2	Simulation der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden.....	191
5.3	Simulation des generischen Chemotaxis-Modells.....	194
5.4	Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells	198
5.5	Simulation der chemotaktischen T-Zell-Migration.....	203
5.6	Zusammenfassung.....	206
6	Diskussion	209
7	Zusammenfassung	225
	Literaturverzeichnis	229
	Eigene Veröffentlichungen	255
	Anhänge	259

Anhang A – EMF-Modelle des Grafischen Modellierungssystems	259
Anhang B – Konventioneller versus optimierter Code	264
Anhang C – Konfiguration und multiparallele Ausführung der Simulationsumgebung.....	266
Anhang D – Quellcode-Umfang der verschiedenen Modellierungs- und Simulationssysteme	268
Anhang E – Parameter(-werte) der zellbasierten <i>in silico</i> Modelle	270

Abbildungsverzeichnis

1.1 Itchō Hanabusa (1652–1724): Blinde Mönche untersuchen einen Elefanten	1
2.1 Der systembiologische Ansatz als iterativer Prozess.....	8
2.2 Organisationsebenen in der Biologie und assoziierte räumliche sowie zeitliche Skalen.....	10
2.3 Schematischer Aufbau humaner Haut und horizontale Stratifizierung der Epidermis.....	15
2.4 Schematische Darstellung diskreter räumlicher Zellmodelle.....	21
3.1 Selbsteinschätzung von fächerübergreifenden Kenntnissen unter Biologen u. Informatikern	32
3.2 Modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur.....	36
3.3 Automatische Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen	39
3.4 Mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept.....	41
3.5 Grafisches Modellierungssystem EPISIM Modeller.....	45
3.6 Grafische Simulationsumgebung EPISIM Simulator.....	57
3.7 Struktureller Aufbau eines gespeicherten Gewebesimulationszustands.....	65
3.8 Komponentenbasierter Aufbau der EPISIM Plattform.....	68
3.9 Ablauf der automatischen Codeerzeugung als UML-Aktivitätsdiagramm	77
3.10 Technische Realisierung des Codeerzeugungsprozesses.....	78
3.11 Vergleich der Rechenzeit von konventionellem versus optimiertem Code	82
3.12 Datenmodell einer multiskalierten Gewebesimulation als UML Klassendiagramm.....	83
3.13 Ablauf eines Simulationsschritts als UML-Aktivitätsdiagramm	85
3.14 Simulation der Zellen innerhalb des Ablaufs eines Simulationsschritts	86
3.15 Generiertes Zellverhaltensmodell in Form eines Binärbaums	90
3.16 Rechenzeit der generierten Zellverhaltensmodelle	92
4.1 Extrazellulärer Raum für 2D und 3D Simulationen.....	111
4.2 Gitterfreies auf Ellipsen bzw. Ellipsoiden basierendes biomechanisches Modell.....	117
4.3 Sigmoidale Dämpfungskurve.....	121
4.4 Zweidimensionaler gitterfreier Raum mit periodischen Randbedingungen.....	123
4.5 Gitterbasiertes biomechanisches Modell.....	124
4.6 Zweidimensionaler gitterbasierter Raum mit periodischen Randbedingungen.....	131
4.7 Top-Level-Modell des Keratinozyten-Zellverhaltensmodells	133
4.8 Grafisches Zellverhaltensmodell eines Keratinozyten der humanen <i>in silico</i> Epidermis	134
4.9 Submodell Diffusion und transepidermaler Wasserfluss	136
4.10 Sägezahnfunktion als Zellzyklusmodell.....	137
4.11 Submodell Zellzyklusphasen und DNA Replikation	137
4.12 Submodell Mitose und Zellteilung.....	138
4.13 Schematische Darstellung von Tysons Zellzyklusmodell	139
4.14 SBML-basierte semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell	140
4.15 Optimierung der Simulationszeit von importierten SBML-Modellen	141
4.16 Manuelle semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell.....	142
4.17 Multiskaliertes Zelldifferenzierungsmodell.....	143
4.18 Schematische Darstellung des <i>in silico</i> Reepithelialisierungsmodells	145

4.19	Erweitertes gitterfreies Zell-Zentrumsmodell	147
4.20	Top-Level-Modell und Keratinozyten-Modell der Reepithelialisierung akuter Wunden	149
4.21	Submodell der Differenzierung basaler Zellen zu frühen suprabasalen Zellen.....	150
4.22	Submodell der differenzierungsabhängigen Zelladhäsion	151
4.23	Zellzyklus- und Proliferationsmodell basaler Zellen	153
4.24	Mitose- und Zellteilungsmodell basaler Zellen.....	154
4.25	Generisches Chemotaxis-Modell	156
4.26	Bakterien-Makrophagen-Modell.....	158
4.27	Submodell Aktivierung von Makrophagen	159
4.28	Stochastisches T-Zell-Migrationsmodell.....	161
5.1	Simulierte Basalmembranformen der <i>in silico</i> Epidermis.....	166
5.2	Gewebemorphologie der zwei- und dreidimensionalen <i>in silico</i> Epidermis	168
5.3	Verteilung der Zahl an Nachbarzellen in der 2D und 3D <i>in silico</i> Epidermis	169
5.4	Zellmigration in der 2D Simulation der <i>in silico</i> Epidermis	171
5.5	Zellmigration in der 3D Simulation der <i>in silico</i> Epidermis.	172
5.6	Durchschnittliche relative Zellzahlen der 2D <i>in silico</i> Epidermis und Abweichung der 3D Simulation	174
5.7	Durchschnittliche relative Zellzahlen in Abhängigkeit von der Basalmembranform	176
5.8	Durchschnittliche absolute Zellzahl der 2D und 3D <i>in silico</i> Epidermis.....	177
5.9	Gewebekinetik der 2D und 3D <i>in silico</i> Epidermis	178
5.10	Calcium- und Lipid-Gradient der 2D <i>in silico</i> Epidermis	179
5.11	Calcium- und Lipid-Gradient der 3D <i>in silico</i> Epidermis	180
5.12	Entstehung des Ca^{2+} -Gradienten im zeitlichen Verlauf.	181
5.13	Entstehung des Lipid-Gradienten im zeitlichen Verlauf.....	182
5.14	Quantitative Charakterisierung der Gradienten mittels logistischer Regression	183
5.15	Verteilung von Calcium, Lamellarkörpern und Lipiden nach Differenzierung der Keratinozyten.....	185
5.16	Mitogen-Level in einer Stammzelle im zeitlichen Verlauf.	185
5.17	Relativer DNA-Gehalt im zeitlichen Verlauf und als Verteilung im Gewebe.....	186
5.18	Multiskalierte Simulation des Zellzyklus in Stamm- und TA-Zellen	188
5.19	Optimierung der Rechenzeit der multiskalierten Epidermis-Simulation.....	189
5.20	Simulation von Tysons-Zellzyklusmodell mit dem Runge-Kutta-Verfahren.	190
5.21	Simulation der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden.....	192
5.22	Gegenüberstellung des <i>in silico</i> und <i>in vitro</i> Reepithelialisierungsverlaufs.....	193
5.23	Zellmigration in einem zweidimensionalen chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten	195
5.24	Zellmigration in einem dreidimensionalen chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten	196
5.25	Finale Stoffkonzentrationsgradienten und Verdopplungszeit der Zellpopulation.....	197
5.26	Zeitlicher Verlauf der Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells	199
5.27	Durchschnittliche Distanz und Migrationsgeschwindigkeit von Bakterie und Makrophage	201
5.28	Durchschnittliche Distanz und Migrationsgeschwindigkeit von Bakterie und Makrophage II.....	202
5.29	Initiale Simulationsbedingungen des T-Zell-Migrations-Modells.....	204
5.30	Ergebnisse der verschiedenen Simulationsläufe des T-Zell-Migrationsmodells	205
A.1	UML-Klassendiagramm des EMF-Modells des SBML-Modell-Editors	259
A.2	UML-Klassendiagramm des EMF-Modells der Funktionsbibliothek.....	260
A.3	UML-Klassendiagramm des EMF-Modells des grafischen Modell-Editors	261
A.4	UML-Klassendiagramm des EMF-Modells der Modellparameter-Verwaltung.....	262

Tabellenverzeichnis

2.1 Etablierte (Modell-)Standards in der Systembiologie.....	25
2.2 Chronologie der Veröffentlichung computergestützter Modellierungs- und Simulationssysteme.....	29
3.1 Modellparametertypen eines grafischen Zellenverhaltensmodells.....	47
3.2 Elemente der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache.....	50
3.3 Funktionsbibliothek des GMS.....	53
3.4 Datenauswertungsalgorithmen der SE mit eindimensionalem Ergebnistyp.....	59
3.5 Datenauswertungsalgorithmen der SE mit mehrdimensionalem Ergebnistyp.....	60
3.6 Generierte Zellverhaltensmodelle zur Evaluation des EPISIM Code Generators.....	91
3.7 Gegenüberstellung ausgewählter Modellierungs- und Simulationssysteme auf Systemebene.....	95
3.8 Gegenüberstellung ausgewählter Modellierungs- und Simulationssysteme auf Modellebene.....	99
5.1 Homöostatische Gewebedicke der <i>in silico</i> Epidermis.....	167
5.2 Werte der Regressionsparameter des logistischen Modells der Calcium- und Lipid-Gradienten.....	184
B.1 Java-Aufzählungstyp <i>CellType</i>	264
B.2 Java-Klasse <i>CellOpt</i> in Form von optimiertem Code.....	264
B.3 Java-Klasse <i>Cell</i> in Form von konventionellem Code.....	265
C.1 Standardkonfigurationsdatei des EPISIM Simulator.....	266
C.2 PBS-Skript zur parallelen Durchführung multipler Gewebesimulationen.....	267
D.1 Gegenüberstellung der KSLOC verschiedener Modellierungs- und Simulationssysteme.....	268
E.1 Globale Gewebeparameter des <i>in silico</i> Modells der epidermalen Homöostase.....	270
E.2 Lokale Modellparameter des <i>in silico</i> Modells der epidermalen Homöostase.....	271
E.3 Parameter des gitterfreien Zellmodells (Modell der epidermalen Homöostase).....	272
E.4 Globale Gewebeparameter des <i>in silico</i> Reepithelialisierungsmodells.....	273
E.5 Lokale Modellparameter des <i>in silico</i> Reepithelialisierungsmodells.....	274
E.6 Parameter der MKK des gitterfreien Zellmodells (Reepithelialisierungsmodell).....	275
E.7 Parameter des gitterfreien Zellmodells (Reepithelialisierungsmodell).....	276
E.8 Globale (Gewebe-)Parameter des generischen Chemotaxis-Modells.....	277
E.9 Lokale Modellparameter des generischen Chemotaxis-Modells.....	277
E.10 Parameter des gitterbasierten Zellmodells (Generisches Chemotaxis-Modell).....	278
E.11 Globale (Gewebe-)Parameter des Bakterien-Makrophagen-Modells.....	279
E.12 Lokale Modellparameter Bakterien-Makrophagen-Modells.....	280
E.13 Veränderte Parameter des biomechanischen Zellmodells (Bakterien-Makrophagen-Modell).....	280
E.14 Globale (Gewebe-)Parameter des T-Zell-Migrationsmodells.....	281
E.15 Lokale Modellparameter des T-Zell-Migrationsmodells.....	281
E.16 Veränderte Parameter des gitterbasierten Zellmodells (T-Zell-Migrationsmodell).....	282

Abkürzungsverzeichnis

- ABM** agentenbasierte Modellierung bzw. agentenbasierte Modelle
- A.U.** arbitrary units (dt. willkürliche Einheiten)
- BC** basal cells (dt. basale Zellen)
- BMb** Basalmembran
- BM** biomechanisches Modell (engl. biomechanical model)
- BMP** biomechanical model parameter (dt. Parameter des biomechanischen Modells)
- BRW** biased random walk (dt. beeinflusste Zufallsbewegung)
- CBM** cell behavioral model (dt. Zellverhaltensmodell)
- CD4** cluster of differentiation 4
- CD8** cluster of differentiation 8
- CMS** computergestütztes Modellierungs- und Simulationssystem
- CP** cell property (dt. Zelleigenschaft)
- CSF** colony-stimulating factor
- CT** cell type (dt. Zelltyp)
- CXCL** Chemokin Ligand der CXC Familie
- DAA** Datenauswertungsalgorithmus
- DAV** Datenauswertungsvorschrift
- DAZ** Datenauswertungszyklus
- DEK** dynamische externe Komponenten
- DF** extracellular diffusion field (dt. extrazelluläres Diffusionsfeld)
- DL** cell differentiation level (dt. Zelldifferenzierungsgrad)
- DSL** domain specific language (dt. domänenspezifische Sprache)
- EMF** Eclipse Modeling Framework
- ECM** extracellular matrix (dt. extrazelluläre Matrix)
- EET** extending epidermal tongue (dt. Zellmigrationszunge)
- ESBC** early suprabasal cells (dt. frühe suprabasale Zellen)
- ESM** extending shield mechanism (neu postulierter Reepithelialisierungsmechanismus)
- FACS** fluorescence-activated cell sorting (dt. Durchflusszytometrie)
- FDC** fast dividing cells (dt. Zellen mit hoher proliferativer Aktivität)
- GEF** Graphical Editing Framework
- GPD** grafisches Prozessdiagramm
- GMS** graphical modeling system (dt. grafisches Modellierungssystem)
- HKEZ** humane korneale Epithelzellen
- JAR** Java Archive
- LK** Lamellarkörper
- MAS** Multiagentensystem

- MKK** Modell-Konnektor-Komponente
- MKK-R** Parameter der MKK mit Lesezugriff
- MKK-RW** Parameter der MKK mit Schreib- u. Lesezugriff
- MZR** multizellulärer Raum
- ODE** ordinary differential equation (dt. Gewöhnliche Differentialgleichung)
- PRB** periodische Randbedingungen
- QSM** quantitatives subzelluläres Modell
- SBC** suprabasal cells (dt. suprabasale Zellen)
- SBML** Systems Biology Markup Language
- SB** Stratum basale
- SC** Stratum corneum
- SE** simulation environment (dt. Simulationsumgebung)
- SG** Stratum granulosum
- SSp** Stratum spinosum
- SiSt** simulation step (dt. Simulationsschritt)
- SLOC** Source Lines Of Code (dt. Quelltextzeilen ohne Leerzeilen und Kommentare)
- XMI** XML Metadata Interchange
- XML** Extensible Markup Language
- XSL** Extensible Stylesheet Language
- XSLT** XSL Transformation
- ZO** zonula occludens
- ZZV** Zell-Zell-Verbindung
- 2D** zweidimensional
- 3D** dreidimensional

1 Einleitung

Betrachtet man die Welt, dann bemüht man seine Sinne, seinen Geist und stützt sich im Falle der (Natur-)Wissenschaft nicht selten auf an die Hand gegebene Hilfsmittel, die die menschliche Erkenntnis unterstützen und deren Reichweite erweitern. Die Beschränkungen, denen die menschliche Erkenntnis unterliegen kann, treten in dem Bild der blinden Mönche zutage (Abbildung 1.1), die zu begreifen versuchen, um was für ein Tier es sich bei einem Elefanten handelt. Jeder der Mönche konzentriert sich bei seiner Untersuchung auf einen anderen Körperteil des Elefanten, was zwangsläufig zu verschiedenen Auffassungen und Schlussfolgerungen in Bezug auf das Untersuchungsobjekt führt. Man kann dies als sinnbildlich für die limitierte experimentelle Ergründbarkeit der Natur betrachten, bei der die Zahl der gleichzeitig erfassbaren Eigenschaften in der Regel begrenzt ist.

Gleichzeitig kann dieses Bild auch in Analogie zum reduktionistischen Forschungsansatz gesehen werden, der versucht, das gesamtheitliche Wesen eines komplexen Systems durch die isolierte Untersuchung seiner Komponenten zu erklären (Noble 2008; Bruggeman und Westerhoff 2007). Schon im Jahre 1860 vertritt der Biologe Thomas H. Huxley die Ansicht, dass das Auftreten neuer Eigenschaften eines Ganzen nicht aus der Kenntnis seiner Komponenten geschlossen werden könne (Huxley 1860; Dietel und Schäfer 2008). 140 Jahre später verbreitet sich mit der Systembiologie und dem mit ihr verbundenen Forschungsansatz eine Gegenposition zur reduktio-



Abbildung 1.1: Itchō Hanabusa (1652–1724): „Blinde Mönche untersuchen einen Elefanten“¹.

nistischen Herangehensweise (Agrawal 1999; Kitano 2000, 2002b). Die Systembiologie strebt die Identifizierung und das Verständnis der Interaktionen der Komponenten eines komplexen biologischen Systems an, um dadurch das (emergente) globale Systemverhalten zu verstehen (Hood und Perlmutter 2004; Wolkenhauer 2014). Ein Wesensmerkmal der Systembiologie ist die theoretische Modellbildung auf der Grundlage experimenteller Daten (Kitano 2002a). Ziel ist es, zu *in silico* Modellen mit prädiktivem Charakter zu gelangen (Butcher et al. 2004; Di Ventura et al. 2006).

Dies wiederum führt auf die anfangs erwähnten Hilfsmittel und deren Bedeutung in der Naturwissenschaft zurück. Neben der (Weiter-)Entwicklung von experimentellen Methoden und benötigter Labortechnik wird seit Beginn der breiteren Wahrnehmung der Systembiologie die Entwicklung von computerbasierten Werkzeugen zur Erstellung und Simulation von *in silico* Modellen als essentieller Erfolgsfaktor hervorgehoben (Kitano 2000, 2002b). Hieraus und aus der Be-

¹ Die Abbildung ist in der Library of Congress der Vereinigten Staaten von Amerika ohne Veröffentlichungsbeschränkungen verfügbar (ID: cph.3g08725).

deutung des systembiologischen Ansatzes als Erkenntnisrahmen leitet sich die konkrete Motivation der vorliegenden Arbeit her, auf die im Folgenden eingegangen wird.

1.1 Motivation

Als zentrale Motivation der Systembiologie heben manche Autoren nicht nur die Schaffung prädiktiver *in silico* Modelle im Allgemeinen, sondern deren Relevanz mit Blick auf medizinische, klinische und therapeutische Fragestellungen im Speziellen hervor (Kitano 2002a; Butcher et al. 2004; Hood und Perlmutter 2004; Ideker 2004). Das Stadium und der Verlauf von Krankheiten wie bspw. Krebs werden im klinischen Alltag meist auf Basis der Histologie und damit anhand morphologischer Parameter auf Gewebeebene diagnostiziert und beurteilt (Dietel und Schäfer 2008). Ferner hat im Jahre 2003 der Molekularbiologe und Nobelpreisträger Sydney Brenner die Zelle und nicht das Genom als das richtige Abstraktionsniveau für biologische Forschung bezeichnet (Noble 2008). Er sieht in der Zelle die *basic unit of life* (z.d.t. grundlegende Einheit des Lebens) (Walker und Southgate 2009), die den Ausgangspunkt für einen *Middle-Out*-Forschungsansatz bilden sollte, der von ihr ausgehend Ebenen niedrigerer und höherer struktureller Komplexität einschließt (Kohl et al. 2010). Ein weiterer, im Bereich der Systembiologie prominenter, Vertreter dieser Sichtweise ist Denis Noble, der, bezogen auf die biologischen Organisationsebenen, keine privilegierte Kausalitätsebene sieht. Vielmehr seien die funktionellen Prozesse und damit die Homöostase eines komplexen biologischen Organismus immer eine Konsequenz der Vorwärtsschleifen und Rückkopplungen über die biologischen Organisationsebenen hinweg (Noble 2008, 2012). *Multiskalierte systembiologische in silico Modelle* sind dadurch gekennzeichnet, dass sie mehr als eine biologische Organisationsebene umspannen (Dada und

Mendes 2011; Walker und Southgate 2009), und somit der Forderung Brenners und Nobles nach ganzheitlicher Betrachtung eines hinreichend komplexen biologischen Systems Rechnung tragen. Mit multiskalierten Modellen kann eine Brücke von der Subzell- zur Zell- bis hin zur Gewebe- oder sogar Organebene geschlagen werden, was für das Ziel, *in silico* Modelle mit medizinischer Relevanz zu schaffen, auf der Basis der zuvor angeführten Argumente als grundlegend betrachtet werden kann.

Methodisch lässt sich für multiskalierte Modelle, die die (emergente) Dynamik der funktionellen Kopplungen über die biologischen Organisationsebenen hinweg im Blick haben, der *zellbasierte oder agentenbasierte Modellierungsansatz* hervorheben. Die Stärke dieses Ansatzes liegt in der Reproduktion oder Vorhersage komplexen globalen Systemverhaltens von bspw. Geweben, das ein emergentes Resultat der auf der Grundlage eines vergleichsweise einfachen Regelwerks lokal (inter-)agierenden diskreten (Zell-)Agenten ist (Dada und Mendes 2011). Dem gegenüber stoßen kontinuierliche Modellierungsansätze mit gewöhnlichen oder partiellen Differentialgleichungen bei wachsender Zahl an Parametern oder bei steigender Heterogenität in der betrachteten Zellpopulation an ihre Grenzen (Hwang et al. 2009; Merelli et al. 2007). Mit Blick auf die Definition des Regelwerks für die (Zell-)Agenten kann die vergleichsweise intuitive Vorgehensweise in Bezug auf die Formalisierung und Zusammenführung biologischen Wissens, experimenteller Beobachtungen und das Testen von Hypothesen hervorgehoben werden (An 2008). Dies motiviert die Festlegung des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten *computergestützten Modellierungs- und Simulationssystems (CMS)* auf einen zell- und damit agentenbasierten Modellierungs- und Simulationsansatz.

Die *Schaffung eines CMS* per se wird zum einen durch die zuvor dargelegte Relevanz der Erstellung prädiktiver multiskalierter *in silico* Modelle motiviert. Zum anderen motiviert sich diese aus

dem Aufbau und der Zusammensetzung solcher Modelle. Multiskalierte *in silico* Modelle hinreichender Komplexität zeichnen sich durch die Abbildung einer Vielzahl von biologischen Prozessen aus, die auf unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Skalen angesiedelt sind und meist in Teilmodellen abgebildet werden, die semantisch zu verknüpfen sind (Walpole et al. 2013; Dada und Mendes 2011; Walker und Southgate 2009; Southern et al. 2007). Dies wiederum macht meist die Nutzung unterschiedlicher Modellierungs- und Simulationsansätze für die entsprechenden Teilmodelle des multiskalierten *in silico* Modells erforderlich (Ghosh et al. 2011).

Die Modellerstellung und auch die Modellsimulation erfordern nicht unerhebliche technische Kompetenz mit Blick auf Programmiersprachen und bei größeren Projekten auch Software Engineering. Darüber hinaus sind einschlägige Kenntnisse in biophysikalischer bzw. biochemischer Modellierung, Mathematik im Allgemeinen sowie numerischen Lösungsverfahren im Besonderen erforderlich. Dies schränkt den Zugang zu multiskalierter *in silico* Modellierung für einen Personenkreis mit einem, fachlich gesehen, biologischen Schwerpunkt ein. Ferner bieten ad hoc-Realisierungen multiskalierter Modelle meist nur eine eingeschränkte Reproduzierbarkeit der Simulationsergebnisse und die Implementierungen der verwendeten Algorithmen und Methoden sind meist nicht wiederverwendbar. Dies motiviert die *Bereitstellung von einschlägigen CMS*, die die technische Komplexität und teilweise auch die methodische Komplexität der Erstellung und Simulation multiskalierter *in silico* Modelle von der biologischen Modellkomplexität trennen. Auf diese Art soll die multiskalierte Modellierung biologischer Systeme einem breiteren Personenkreis zugänglich und die Modelle bzw. Simulationsergebnisse reproduzierbarer gemacht werden. Die Schaffung solcher CMS wird seit Jahren wiederkehrend in der Literatur gefordert, was die vorliegende Arbeit von Beginn an kontinuierlich

neu motiviert hat (Fisher und Henzinger 2007; Klauschen et al. 2007; Hunt et al. 2008; Walker und Southgate 2009; Hunt et al. 2011; Dada und Mendes 2011; Wolkenhauer et al. 2014). Eine in diesem Zusammenhang besonders prägnante Feststellung sei an dieser Stelle wörtlich zitiert:

„Availability of suitable modelling frameworks and simulation environments will likely be the most important factor in the wider adoption of multi-scale modelling in systems biology.“ (Dada und Mendes 2011)

(dt. Die Verfügbarkeit von geeigneten Modellierungsframeworks und Simulationsumgebungen wird wahrscheinlich der wichtigste Faktor für die weitergehende Verbreitung multiskalierter Modellierung in der Systembiologie sein.)

Neben der Verfügbarkeit wird an anderer Stelle auch die Benutzerfreundlichkeit der CMS als bedeutend hervorgehoben (Fisher und Henzinger 2007).

Es versteht sich von selbst, dass der Entwurf und die Realisierung eines für beliebige biologische Systeme und Fragestellungen universell einsetzbaren CMS im Rahmen einer einzelnen Arbeit nicht durchführbar sind. Aus diesem Grund fokussiert sich die vorliegende Arbeit auf ein CMS für Epithelgewebe. Diese sind in nahezu allen Bereichen des menschlichen Körpers vorzufinden und gerade in der Onkologie von großer Bedeutung (Blanpain 2013). Das National Cancer Institute beziffert den Anteil der Krebserkrankungen, die ihren Ursprung in epithelialen Geweben haben, mit 80 bis 90 Prozent². Mit Blick auf die Epithelgewebe ist die Epidermis im Forschungskontext, in dem die vorliegende Arbeit entstanden ist, von besonderem Interesse. Sie bildet die Grenze und Barriere zwischen den beiden Systemen Körper bzw. Umwelt und erfüllt in

² Quelle: *SEER Training: Cancer Classification*, URL: <http://training.seer.cancer.gov/disease/categories/classification.html> [Stand 04.12.2014, 11:00]

diesem Zusammenhang eine Reihe protektiver Funktionen (Feingold und Elias 2014). Die epidermale Homöostase und damit die epidermale Barriere wie auch die Heilung akuter Wunden sind mittels gewebeübergreifender rückgekoppelter Prozesse reguliert. *In silico* Modelle können in diesem Zusammenhang die nichtintuitive Dynamik dieser Rückkopplungen offenlegen und erklären (Tanaka und Ono 2013). Darüber hinaus können *in silico* Modelle der Epidermis langfristig jene Lücken schließen, die durch gesetzliche, experimentelle oder ethische Grenzen entstehen³.

1.2 Zielsetzung

Die übergeordnete Zielsetzung dieser Arbeit bilden, wie im Titel der Arbeit zusammenfassend formuliert, der *Entwurf und die Realisierung eines computergestützten Modellierungs- und Simulationssystems* (CMS). Dieses CMS soll die zellbasierte multiskalierte *in silico* Modellierung und Simulation von Epithelgeweben als multizelluläres biologisches System ermöglichen. Beim Systementwurf soll, neben der Gebrauchstauglichkeit und Erweiterbarkeit, vor allem die *Benutzerfreundlichkeit* im Vordergrund stehen, um so einem Anwenderkreis mit geringer technischer Vorbildung gerecht zu werden. Das CMS soll für alle gängigen Betriebssysteme zur Verfügung stehen und als lauffähiges Endanwender-Softwaresystem einfach zu installieren sein. Des Weiteren werden mit der vorliegenden Arbeit die folgenden konkreten Ziele verfolgt:

1. Konzeption und Realisierung einer grafischen Modellierungssprache und -umgebung, mit der das Verhalten von Zellen in einem multizellulären Kontext diskret modelliert werden kann.

2. Anbindung der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache und damit der Zellmodellebene an die subzelluläre Modellebene und die Gewebemodellebene über die Bereitstellung entsprechender Schnittstellen und ggf. Modelle, um so die Erstellung multiskalierter zellbasierter Gewebemodelle zu ermöglichen.
3. Realisierung und Bereitstellung von diskreten Zellmodellen, mit denen die Zellen eines Gewebes räumlich und biomechanisch zwei- wie dreidimensional repräsentiert werden können. Dies setzt die Schaffung einer methodischen und technischen Infrastruktur voraus, die die Repräsentation des multizellulären Raums wie des mit ihm assoziierten extrazellulären Raums ermöglicht.
4. Entwurf und Realisierung einer multiagentenbasierten Simulationsumgebung für die zellbasierten multiskalierten Gewebemodelle, die neben der Modellsimulation die zielgerichtete Auswertung der Simulationsdaten ermöglicht.
5. Demonstration und Evaluation des Systems anhand der Erstellung und Simulation von *in silico* Modellen für forschungsrelevante Fragestellungen im Kontext humaner epidermalen Homöostase und Wundheilung.

1.3 Aufbau der vorliegenden Arbeit

Der Aufbau der vorliegenden Arbeit gliedert sich wie folgt:

In *Kapitel 2* wird zunächst auf relevante Grundlagen mit Blick auf die wissenschaftliche Disziplin, in die das entwickelte CMS eingebracht wird, das relevante methodische Spektrum und die Epidermis als biologischer Hauptanwendungsbereich des CMS eingegangen. Im zweiten Teil dieses Kapitels wird der Stand der Forschung

³ Näheres hierzu s. Abschn. 2.1.4.

hinsichtlich der existierenden diskreten Zellmodelle, der etablierten systembiologischen Modellstandards und schließlich der publizierten vergleichbaren CMS dargelegt. Hier wird sowohl die Ausgangslage zu Beginn der Entwicklung des CMS als auch die chronologische Entwicklung bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt dargestellt.

In *Kapitel 3* wird das entwickelte CMS vorgestellt. Zunächst werden die konzeptionellen Überlegungen bzw. die dem CMS zugrunde liegenden entwickelten Konzepte erläutert. Die EPISIM Plattform entspricht der Realisierung des CMS aus Anwendersicht. Sie gliedert sich in das grafische Modellierungssystem und die Simulationsumgebung. Die Möglichkeiten und Funktionen beider Teilsysteme werden eingehend beschrieben. Auf die wichtigsten Aspekte der technischen Realisierung des Systems wird im folgenden Abschnitt des Kapitels eingegangen. Die Systemevaluation beschließt das Kapitel. In diesem Abschnitt werden die Gebrauchstauglichkeit, die Flexibilität und die Qualität der technischen Kernkomponente des CMS untersucht. Schließlich wird das entwickelte CMS den einschlägigen CMS vergleichend gegenübergestellt, die von anderen wissenschaftlichen Gruppen zeitlich parallel entwickelt und veröffentlicht wurden.

Kapitel 4 widmet sich der (formalen) Beschreibung der *in silico* Modelle, die für das und mit dem CMS erstellt worden sind. Das Kapitel beginnt mit den Basismodellen, die für die Simulationsumgebung entwickelt und in dieselbe integriert wurden. Mit diesen Modellen wird Zell-Zell-Kommunikation und inter- sowie extrazellu-

lärer Stofftransport abgebildet. Diese Basismodelle können über die entsprechenden Schnittstellen des grafischen Modellierungssystems in Zellverhaltensmodellen verwendet werden. Zellverhaltensmodelle sind wiederum an biomechanische Modelle gekoppelt, die ebenfalls für die Simulationsumgebung entwickelt wurden. Auf die zwei- und dreidimensionalen gitterbasierten sowie gitterfreien biomechanischen Zellmodelle wird im Anschluss an die Basismodelle eingegangen. In der Folge widmet sich das Kapitel den mit dem CMS realisierten Anwendungsfällen in Sachen (multiskalierter) zellbasierter *in silico* (Gewebe-) Modellierung. Dies sind im Wesentlichen ein Modell der humanen epidermalen Homöostase, ein Modell der Reepithelialisierung in akuten epidermalen Wunden und ein T-Zell-Migrationsmodell.

In *Kapitel 5* werden die Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle dargestellt und damit neben den Ergebnissen auch die Möglichkeiten der Simulationsumgebung illustriert. Die Namensgebung der Abschnitte, in die sich dieses Kapitel gliedert, ist an die Namensgebung der entsprechenden Abschnitte in Kapitel 4 angelehnt, um eine möglichst einfache Zuordnung von *in silico* Modell und *in silico* Simulation zu ermöglichen.

Abschließend werden die Ergebnisse dieser Arbeit diskutiert und zusammengefasst. Eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse findet sich auch am Ende der Kapitel 3 bis 5.

2 Grundlagen und Stand der Forschung

Dieses Kapitel gibt einen Überblick über die Grundlagen und den relevanten Stand der Forschung im Zusammenhang mit dieser Arbeit. Der Grundlagenteil charakterisiert den wissenschaftlichen Bereich, in den das entwickelte computergestützte Modellierungs- und Simulationssystem (CMS) eingebracht wird, die wichtigsten methodischen Ansätze, auf denen das CMS gründet, und das biologische Hauptanwendungsgebiet des CMS. Der Stand der Forschung wird mit Blick auf vergleichbare computergestützte Systeme, die verwendeten Zellmodelle im Kontext multizellulärer Modellierung und existierende Modellstandards dargelegt.

2.1 Grundlagen

In diesem Abschnitt wird auf die wichtigsten Grundlagen hinsichtlich der Entwicklung des CMS mit Epithelgeweben als Anwendungsfokus eingegangen. Das CMS wurde für den relativ jungen wissenschaftlichen Bereich der Systembiologie entwickelt, in welchem der *in silico* Modellierung und Simulation von biologischen Systemen eine zentrale Rolle zukommt. Daher wird zunächst die Systembiologie als solche und der ihr zugrunde liegende Forschungsansatz charakterisiert. Die Erstellung und Simulation multiskalierter zellbasierter Gewebemodelle ist eines der formulierten Ziele mit Blick auf das bereitzustellende methodische Anwendungsspektrum des CMS. Aus diesem Grund werden die in diesem Kontext vorherrschenden Ansätze zur Entwicklung von Modellen behandelt, die mehrere biologische Skalen berücksichtigen und semantisch miteinander verbinden. Zentraler methodischer Ansatz des CMS ist die zellbasierte und damit multiagen-

tenbasierte Modellierung von Geweben, in denen die Zellen als diskrete räumliche Objekte repräsentiert sind. Daher werden die Eigenschaften von Multiagentensystemen und -modellen im Allgemeinen und mit Fokus auf die Anwendung im Bereich der Biologie dargelegt. Schließlich bilden Grundlagen zur humanen Epidermis, die das biologische Hauptanwendungsgebiet des CMS darstellt, den Abschluss dieses Abschnitts.

2.1.1 Systembiologie

Die Systembiologie ist um die Jahrtausendwende in das Bewusstsein einer weiten naturwissenschaftlichen Gemeinschaft getreten (Agrawal 1999; Kitano 2000, 2002a, 2002b) und hat in den darauf folgenden fünfzehn Jahren weltweit rapide Verbreitung im Bereich Forschung und Lehre gefunden (Noble 2010; Kohl et al. 2010). In der Literatur wird die Systembiologie dabei seltener als grundständige wissenschaftliche Disziplin, sondern vielmehr als wissenschaftlicher Ansatz im Bereich der Biowissenschaften gesehen (Kitano 2002b; Ideker 2004; Hood und Perlmutter 2004; Kohl et al. 2010; Wolkenhauer 2014). Die Systembiologie als Ansatz stellt eine Gegenposition zum reduktionistischen Ansatz dar, der versucht, komplexe Systeme als Gesamtheit durch die isolierte Betrachtung seiner Komponenten zu erklären (Bruggeman und Westerhoff 2007). Sie versucht vielmehr die Beziehungen und Interaktionen der Komponenten eines biologischen Systems zu identifizieren und zu verstehen, um dadurch zu einem Verständnis des (emergenten) globalen Systemverhaltens zu gelangen (Hood und Perlmutter 2004; Wolkenhauer 2014).

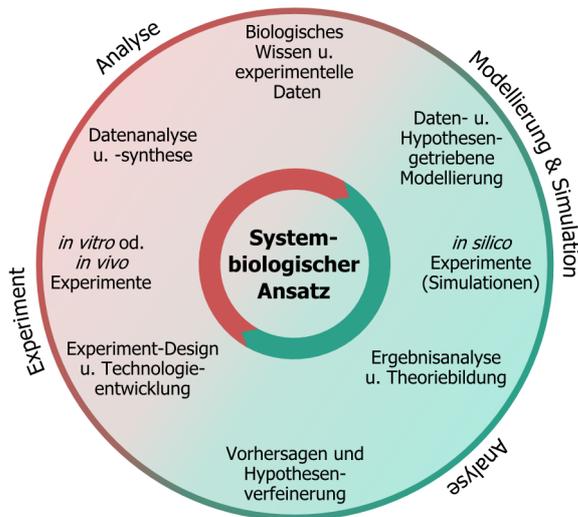


Abbildung 2.1: Der systembiologische Ansatz als iterativer Prozess. Die Systembiologie lässt sich in die beiden Bereiche Experiment und *in silico* Modellierung bzw. Simulation gliedern. Basierend auf den aus Experimenten gewonnenen Daten werden zusammen mit dem verfügbaren biologischen Wissen Hypothesen abgeleitet und *in silico* Modelle erstellt. Die Ergebnisse der Modellsimulation können zum Verwerfen des Modells oder zur Verfeinerung der zugrunde liegenden Hypothesen führen. Modellvorhersagen und die Verfeinerung der Hypothesen können die Planung und Durchführung neuer Experimente erforderlich machen (Abb. verändert nach Kitano 2002a).

Der Ansatz, die Biologie ganzheitlich zu betrachten und zu verstehen, ist nicht neu. Der Physiologe Claude Bernard wird aufgrund seiner Arbeiten zur inneren Homöostase biologischer Organismen in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts von manchen als erster Systembiologe gewürdigt (Buchman 2002; Noble 2008). Auch der Biologe Thomas H. Huxley bemerkt zur selben Zeit, dass das Auftreten neuer Eigenschaften eines Ganzen nicht zwangsläufig aus der Kenntnis seiner Komponenten erschlossen werden könne (Dietel und Schäfer 2008). Zum Durchbruch der Systembiologie hat nach Ansicht einiger Autoren die zunehmende Verfügbarkeit von Hochdurchsatztechnologien geführt, die enorme Mengen von experimentellen Daten erzeugen, aus denen

Information und schließlich biologisches sowie medizinisches Wissen gewonnen werden soll (Ideker 2004; Di Ventura et al. 2006). Als ein wichtiger Stimulus für den Durchbruch wird in diesem Zusammenhang das Human Genome Project und die damit assoziierte genetische Revolution gesehen (Ahn et al. 2006), die auch mehr als zehn Jahre nach dem Ende des Projekts noch hinter den Erwartungen zurückbleibt (Collins 2010).

Unterstützt durch experimentelle, theoretische und computerbasierte Techniken ist die Integration von biologischen Daten und Wissen in theoretische und vor allem berechenbare Modelle eines der wesentlichen Ziele der Systembiologie (Kitano 2002a; Hood und Perlmutter 2004). Abbildung 2.1 zeigt den systembiologischen Ansatz als iterativen Prozess nach Kitano (Kitano 2002a). Deutlich werden die dem Ansatz immanenten Pole *Experiment* und *Modellierung bzw. Simulation*. Diese Pole bedingen nicht unwesentlich die Interdisziplinarität der Systembiologie, die Wissenschaftler u.a. aus Biologie, Chemie, Physik, Mathematik, Informatik, aber auch aus den Ingenieurwissenschaften zusammenbringt. Aufbauend auf den zur Verfügung stehenden technischen Möglichkeiten, werden *in vitro* bzw. *in vivo* Experimente am oder mit dem biologischen System von Interesse durchgeführt. Nach Analyse und Synthese der gewonnenen experimentellen Daten werden vor dem Hintergrund des verfügbaren biologischen Wissens datengetriebenen Hypothesen abgeleitet. Diese wiederum bilden die Grundlage für die Erstellung von berechenbaren Modellen, die *in silico* simuliert werden. Nach der Analyse der Simulationsergebnisse können, je nach Übereinstimmung mit der biologischen Datenlage, Theorien gebildet, das Modell verworfen oder die dem Modell zugrundeliegenden Hypothesen verfeinert werden. Neue Experimente können durch die Vorhersagen eines soliden, validierten Modells oder durch die mit Bezug auf die Verfeinerung der Hypothesen un-

vollständige Datenlage stimuliert werden. Als Ziel dieses iterativen Prozesses und der Systembiologie als solcher wird häufig die Erstellung validierter Modelle mit prädiktivem Charakter genannt (Agrawal 1999; Kitano 2002a; Butcher et al. 2004; Di Ventura et al. 2006). Manche Autoren stellen die Entwicklung prädiktiver Modelle von Krankheiten, die modellgetriebene Entwicklung neuer Arzneimittel bzw. die direkte medizinische Anwendbarkeit der Modelle im klinischen Alltag als Ziel in den Vordergrund (Kitano 2002a; Butcher et al. 2004; Ideker 2004; Hood und Perlmutter 2004). Hierzu ist zu bemerken, dass die Systemmedizin als Weiterentwicklung der Systembiologie gegenwärtig an Bedeutung gewinnt (Wolkenhauer 2014; Wolkenhauer et al. 2014; Friend und Ideker 2011).

Der Fortschritt und damit der Erfolg der Systembiologie hängt nicht unwesentlich von der Entwicklung und Weiterentwicklung experimenteller Methoden und Techniken zur Durchführung und Auswertung der Experimente ab (s. Abbildung 2.1). Jedoch wird seit Beginn der Verbreitung der Systembiologie die ebenfalls große Bedeutung der Entwicklung computerbasierter Werkzeuge zur Erstellung und Simulation von *in silico* Modellen als Erfolgsfaktor hervorgehoben (Kitano 2000, 2002b; Walker und Southgate 2009; Hunt et al. 2011; Dada und Mendes 2011; Wolkenhauer et al. 2014). Hierauf gründet wesentlich die Motivation der Konzeption und Realisierung eines CMS, wie es im Rahmen dieser Arbeit geschehen ist (s. Abschn. 1.1).

2.1.2 Multiskalierte Modellierung biologischer Systeme

Im vorigen Abschnitt ist bereits darauf eingegangen worden, dass die mit dem *Human Genome Project* (Lander et al. 2001) verknüpften hohen Erwartungen an die Entschlüsselung des „menschlichen Codes“ und die daraus ableitbaren medizinischen Anwendungen mit Blick auf Hei-

lung, Vermeidung oder Therapie von Krankheiten nicht erfüllt wurden (Collins 2010). Im Jahre 2003 äußerte sich der der Nobelpreisträger Sydney Brenner⁴ wie folgt:

„*I believe very strongly that the fundamental unit, the correct level of abstraction, is the cell and not the genome*“ (Noble 2008)

Brenner legt die Zelle als grundlegende Einheit des Lebens (engl. *basic unit of life*) nahe (Walker und Southgate 2009), was in Bezug auf die Ausrichtung der Forschung unterschiedliche Deutungen zulässt. Mit Blick auf die systembiologische Forschung lässt sich unterstellen, dass die mehrheitliche Auslegung jene war, dass eine einzelne Zelle und deren intrazelluläre Vorgänge den Schwerpunkt der experimentellen und theoretischen Arbeiten bilden sollte. Gestützt wird diese These durch die Zahl der verfügbaren Software-Pakete, die den Modellstandard Systems Biology Markup Language (SBML)⁵ unterstützen. Diese liegt bei mehr als zweihundert (Hucka und Le Novère 2010). Dem gegenüber ist die Zahl der computergestützten Systeme, die die *in silico* Modellierung und Simulation von multizellulären Systemen erlauben, vergleichsweise gering (s. Abschn. 2.2.3). Die andere mögliche Deutung von Brenners Äußerung, die in Denis Noble einen prominenten Vertreter findet, ist die, dass die Zelle den Ausgangspunkt für einen *Middle-Out*-Ansatz bildet, der Ebenen höherer und niedrigerer struktureller Komplexität berücksichtigt (Kohl et al. 2010). Noble selbst vertrat wiederholt die Ansicht, dass es in der Biologie keine privilegierte

⁴ Sydney Brenner erhielt im Jahre 2002 den Medizin-Nobelpreis für seine Entdeckungen auf dem Gebiet der genetischen Regulierung und der Organentwicklung. (Quelle: The Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2002 - Press Release, URL: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2002/press.html, [Stand 14.02.2015, 16:33])

⁵ Näheres zu diesem Standard für biochemische Reaktionsnetzwerke s. Abschn. 2.2.2.

2 Grundlagen und Stand der Forschung

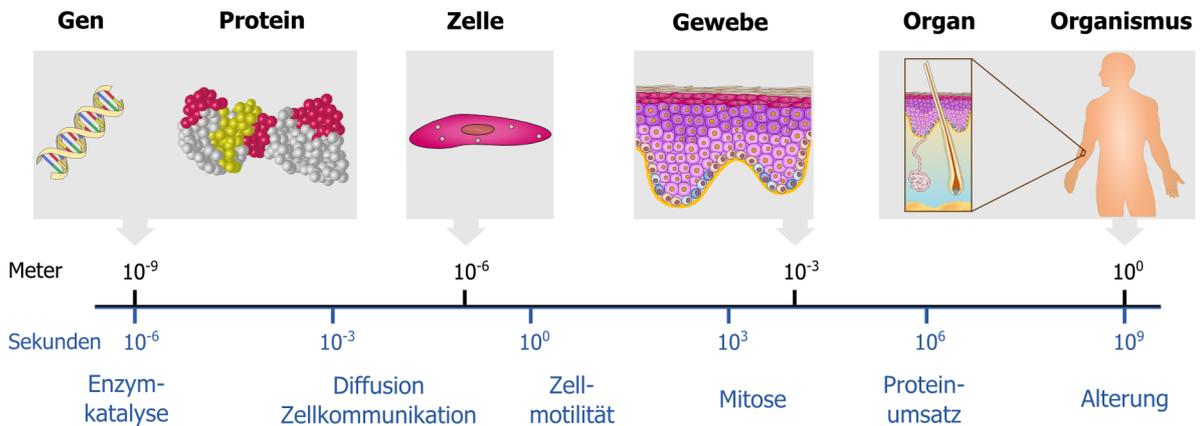


Abbildung 2.2: Organisationsebenen in der Biologie und assoziierte räumliche sowie zeitliche Skalen. Dargestellt sind die wesentlichen Organisationsebenen der Biologie vom Gen über die Zelle bis hin zum Organ bzw. Organismus und deren räumliche Skalen. Ferner sind relevante biologische Prozesse der jeweiligen Organisationsebene und die assoziierten zeitlichen Skalen angegeben. (Noble 2008; Dada und Mendes 2011)

Kausalitätsebene gibt und dass die funktionellen Prozesse und damit die Homöostase eines biologischen Organismus immer eine Konsequenz der Vorwärtsschleifen und Rückkopplungen über die biologischen Organisationsebenen hinweg sind (Noble 2008, 2012).

An dieser Stelle setzen multiskalierte Modelle an, die ein biologisches System entsprechender Komplexität über mehrere *Organisationsebenen* hinweg abbilden. Diese reichen, wie in Abbildung 2.2 dargestellt, vom Gen über die Zelle bis hin zum Organ und Organismus. Die biologische Organisationsebene bedingt die *räumliche Skala* von Relevanz, wobei sich die verschiedenen Skalen meist um mehrere Größenordnungen unterscheiden. Dies gilt auch für die *zeitlichen Skalen* der mit einer Organisationsebene assoziierten biologischen Prozesse, die von der Enzymkatalyse über die Mitose bis hin zu Alterung reichen (Noble 2008; Dada und Mendes 2011). An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass Abbildung 2.2 nur jene Organisationsebenen wiedergibt, die im Regelfall im Kontext multiskalierter Modellierung von Bedeutung sind. Vollständigere Darstellungen beginnen bspw. auf der Quantum-Ebene und schließen über der Ebene des Organismus noch die Umwelt mit ein (Southern et al. 2007).

Für den Begriff *multiskaliertes Modell* existiert keine allgemein anerkannte Definition. Jedoch werden in der Literatur übereinstimmend die beiden folgenden Wesenszüge eines multiskalieren Modells genannt (Walpole et al. 2013; Dada und Mendes 2011; Deisboeck et al. 2011; Walker und Southgate 2009; Meier-Schellersheim et al. 2009):

- Ein multiskaliertes Modell berücksichtigt und definiert explizit mehr als eine der biologischen Organisationsebenen.
- Ein multiskaliertes Modell bildet mehr als eine räumliche und / oder zeitliche Skala ab.

Zwar werden i.d.R. in multiskalieren Modellen Organisationsebenen über und unter der Zelle, die oft als zentrales Abstraktionsniveau dient, berücksichtigt. Dennoch gibt es auch multiskalierte Modellierungsansätze, die sich rein auf die intrazelluläre Ebene konzentrieren und die dem Modell zugrunde liegende Hierarchie ausgehend von Molekülen über Stoffwechselwege bis einschließlich der Signalwege definieren (Bajikar und Janes 2012).

In Bezug auf das *methodische Spektrum*, das im Bereich der Erstellung von multiskalieren Mo-

dellen zum Einsatz kommt, ist eine Zweiteilung in *kontinuierliche* und *diskrete* Ansätze festzustellen (Walpole et al. 2013; Dada und Mendes 2011; Meier-Schellersheim et al. 2009; Southern et al. 2007). Die kontinuierlichen Ansätze bilden das biologische System auf den verschiedenen Organisationsebenen i.d.R. mit (gewöhnlichen) Differentialgleichungen ab (Walpole et al. 2013; Meier-Schellersheim et al. 2009). Diesen Ansatz findet man häufig im Bereich der Pharmakokinetik, wo Organe oder der ganze Organismus als Hierarchie von monolithischen Kompartimenten abgebildet werden. Von Interesse ist hier meist der Transport von Wirkstoffen, Hormonen oder auch Nährstoffen über die biologischen Skalen hinweg (Nyman et al. 2011; Rowland et al. 2011). Bei den *diskreten Methoden* ist besonders die agentenbasierte Modellierung (s. Abschn. 2.1.3) hervorzuheben. Häufig werden in multiskalierten Modellen die Zellen diskret durch Agenten repräsentiert. Jedoch gibt es auch Ansätze, in denen eine Hierarchie von Agenten angenommen wird. Hier können einzelne Agenten sowohl Molekülen als auch Zellen entsprechen (Walker und Southgate 2009; Dada und Mendes 2011). Auf der Intra- und Subzellebene wird mit zustandsbasierten Methoden wie endlichen Zustandsautomaten oder Markow-Ketten gearbeitet (Walpole et al. 2013). Ferner sind auf dieser Organisationsebene die verschiedenen Netze wie Petri-Netze, Bayessche Netze oder Boolesche Netze als Modellansatz zu nennen (Bajikar und Janes 2012). Auf Subzellebene findet man jedoch häufig kontinuierliche Modelle, die auf Differentialgleichungen beruhen (Walpole et al. 2013; Dada und Mendes 2011; Meier-Schellersheim et al. 2009; Southern et al. 2007).

Ein multiskaliertes Modell beruht gewöhnlich weder auf rein kontinuierlichen noch auf rein diskreten Ansätzen. Vielmehr ist ein multiskaliertes Modell eine *hybride Komposition* aus verschiedenen *modularen Teilmodellen*, die für sich stehend entweder diskreter oder kontinuierlicher

Natur sind (Walpole et al. 2013; Bajikar und Janes 2012; Deisboeck et al. 2011; Hunt et al. 2011; Walker und Southgate 2009; Meier-Schellersheim et al. 2009; Stolarska et al. 2009). Besonders häufig werden in multiskalierten Modellen agentenbasierte Zellmodelle semantisch an ein kontinuierliches subzelluläres Modell und / oder an ein kontinuierliches extrazelluläres Feld eines diffusiven Stoffs gekoppelt (Hunt et al. 2011; Deisboeck et al. 2011; Walker und Southgate 2009). Die besondere Herausforderung stellt dabei die Realisierung der *semantischen Kopplung* der Teilmodelle dar, die meist auf unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Skalen angesiedelt sind und somit eine Abbildung dieser Skalen aufeinander erforderlich machen (Southern et al. 2007; Dada und Mendes 2011).

In der Literatur existiert eine Reihe von multiskalierten Modellen, die die zuvor beschriebene Modellarchitektur bestehend aus agentenbasiertem Zellmodell und kontinuierlichen intra- oder extrazellulären Modellen umsetzen. Exemplarisch seien hier multiskalierte Tumormodelle (Tang et al. 2014; Deisboeck et al. 2011; Ramis-Conde et al. 2008), ein Modell des Darmepithels (van Leeuwen et al. 2009) und ein multiskaliertes Modell der Epidermis (Adra et al. 2010) angeführt⁶. Große Forschungskonsortien, wie das deutsche Virtual Liver Netzwerk (Drasdo et al. 2014), das Human Brain Project (The Lancet Neurology 2014) oder die Physiome Projekte (Bassingthwaighte 2010; Bassingthwaighte und Chizeck 2008), widmen sich gegenwärtig der Erstellung von multiskalierten Modellen ganzer humaner Organe und des menschlichen Organismus als Ganzem.

⁶ Weitere Beispiele für konkrete multiskalierte Modelle können u.a. der Übersichtsarbeit von Dada et al. entnommen werden (Dada und Mendes 2011).

2.1.3 Multiagentensysteme und -modelle

Ein grundlegendes konzeptionelles Element des entwickelten CMS ist die Annahme der Zelle als zentrale biologische Einheit und damit als zentrale Modelleinheit innerhalb eines multizellulären Gewebemodells. Mit dem grafischen Modellierungssystem (GMS) werden diskrete deterministische oder diskrete stochastische Regeln definiert, die das Zellverhalten bestimmen. Die Zahl möglicher Zellverhalten ist mit Zellteilung, Migration, Apoptose, Nekrose und Differenzierung naturgemäß begrenzt⁷ (Hwang et al. 2009; Cickovski et al. 2007). Ein solches grafisches Zellverhaltensmodell wird dann mit der entwickelten multiagentenbasierten Simulationsumgebung simuliert. Aus diesem Grund wird im Folgenden auf die relevanten Wesensmerkmale eines Multiagentensystems eingegangen.

Ein Multiagentensystem besteht aus einem Kollektiv autonomer Einheiten (Agenten), die auf der Grundlage ihres eigenen Zustands, dem für sie definierten Regelwerk sowie der lokalen Wahrnehmung ihrer unmittelbaren Umwelt Entscheidungen treffen und entsprechend agieren bzw. mit anderen Einheiten interagieren (Dada und Mendes 2011; Kim et al. 2010; Hwang et al. 2009; Chavali et al. 2008; Merelli et al. 2007; Bonabeau 2002). Die Ereignisse bzw. Entscheidungen sowie die Zeitschritte in einem Multiagentensystem sind diskret (An 2008; Railsback et al. 2006). Agenten sind i.d.R. nicht in eine statische Umgebung eingebettet, können mobil sein, verhalten sich asynchron und aktualisieren ihren inneren Zustand (weitgehend) unabhängig vom Zustand anderer Agenten (Chavali et al. 2008). Multiagentensysteme besitzen die Fähig-

keit zur Selbstorganisation, d.h. aus dem vergleichsweise einfachen Regelwerk und den danach lokal agierenden und interagierenden Agenten resultiert ein global komplexes, emergentes Systemverhalten, das sich nicht unmittelbar auf das einfache Regelwerk der Agenten zurückführen lässt (Dada und Mendes 2011). Woolridge fasst die Eigenschaften von Agenten eines Multiagentensystems in den drei folgenden Kernpunkten zusammen (Wooldridge 2009):

1. *Autonomie*: Agenten handeln selbstbestimmt und unterliegen, abgesehen von ihrem inneren Zustand, ihrem Regelwerk und der Wahrnehmung ihrer Umgebung, keinen weiteren Einflüssen.
2. *Lokale Sicht*: Ein Agent kennt nur seine unmittelbare Umgebung. Sein Zustand und damit sein Wissen über das Gesamtsystem sind auf diese Umgebung begrenzt bzw. hängen von dieser ab. Kein Agent besitzt globales Wissen.
3. *Dezentralisierung*: Es gibt keinen globalen Agenten, der die anderen Agenten steuert, kontrolliert oder sie in irgendeiner Form beeinflusst.

Multiagentensysteme und multiagentenbasierte Simulation sind auch außerhalb der Biologie weit verbreitet. Exemplarisch seien als Anwendungsgebiete die Simulation menschlicher Bewegung im Straßenverkehr oder in Gebäuden, Handel (-simulationen) am Aktienmarkt und Forschung im Bereich der Sozialwissenschaften genannt (Luke 2005; Bonabeau 2002).

Im Bereich der (System-)Biologie findet man neben dem Begriff *agentenbasierte Modellierung* (ABM⁸) auch häufig den Begriff *individuenbasierte Modellierung* (Dada und Mendes 2011; Chavali

⁷ Die Veränderung biomechanischer Eigenschaften und der Zellmorphologie wird an dieser Stelle als Teil der angegebenen Zellverhalten betrachtet. Die Zellkommunikation und die Prozesse Sekretion und Absorption können als Folge der Zelldifferenzierung im erweiterten Sinn gesehen werden.

⁸ ABM wird hier synonym für agentenbasierte Modellierung und für agentenbasierte Modelle gebraucht.

et al. 2008). Frühe agentenbasierte Modelle mit biologischem Bezug sind bereits Mitte der 1990er Jahre entstanden (bspw. Numaoka 1996). Gegenüber ABM stoßen kontinuierliche Modellierungsansätze mit gewöhnlichen oder partiellen Differentialgleichungen bei wachsender Zahl an Parametern oder bei steigender Heterogenität in der betrachteten Zellpopulation an ihre Grenzen (Hwang et al. 2009; Merelli et al. 2007). Darüber hinaus ist es bei kontinuierlichen Modellen deutlich schwerer, beobachtetes Zellverhalten in Bezug zu Modellannahmen und Modellparametern zu setzen (Murray et al. 2009; Roose et al. 2007). In diesem Zusammenhang kann der vergleichsweise intuitive Charakter von ABM in Bezug auf die Formalisierung und Zusammenführung biologischen Wissens, experimenteller Beobachtungen und das einfache Testen von Hypothesen hervorgehoben werden (An 2008). Manche sehen aufgrund dieser Eigenschaften in ABM auch die Grundlage für eine direktere Zusammenarbeit und einen direkteren Austausch zwischen Biologen und (theoretischen) Modellierern (Holcombe et al. 2012).

In ABM werden nicht nur Zellen als Agenten modelliert, wenngleich dies die häufigste Anwendung darstellt. Es existieren auch hierarchische ABMs, in denen bspw. Moleküle und Zellen auf verschiedenen Ebenen des Gesamtmodells jeweils als Agenten repräsentiert werden (Dada und Mendes 2011). ABMs und multizelluläre Modellierung finden innerhalb der Systembiologie zunehmend Verbreitung. An dieser Stelle soll jedoch kein Überblick über ABMs gegeben werden. Es sei auf entsprechende Übersichtsarbeiten zu diesem Thema verwiesen (Azuaje 2011; Holcombe et al. 2012; Dada und Mendes 2011; Walker und Southgate 2009). Auf ABMs der Epidermis wird in Abschn. 2.1.4 eingegangen.

Es gibt eine Reihe von einschlägigen Software-Frameworks⁹ für die Erstellung und Simulation von ABMs (Railsback et al. 2006). Im Bereich der Systembiologie treten im Wesentlichen die Software-Frameworks FLAME¹⁰ (Coakley et al. 2012), NetLogo¹¹ (Sklar 2007) und MASON¹² (Luke 2005) in Erscheinung. Keines dieser Software-Frameworks ist dezidiert auf den Bereich (System-)Biologie festgelegt oder bietet eine eigene domänenspezifische Sprache an, die zur Erstellung der Modelle genutzt werden kann und sich an biologischen Termini orientiert. Vielmehr werden Modelle in der Allzweck-Programmiersprache codiert, in der auch das entsprechende Software-Framework entwickelt wurde. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Simulationsumgebung nutzt MASON in unterschiedlichen Bereichen. Hierauf wird in Abschn. 3.3.1 im Detail eingegangen.

Wie zuvor beschrieben, handeln die Agenten eines Multiagentensystems autonom auf der Basis ihres Zustands, der Wahrnehmung ihrer lokalen Umwelt und ihrem (diskreten) Regelwerk. Der Kern der Erstellung eines ABM liegt somit im Wesentlichen in der Definition des internen Regelwerks eines Agenten. Es ist auffallend, dass in der Literatur dieses Regelwerk meist mit Prozessdiagrammen veranschaulicht wird. Die konkrete Umsetzung dieser Regeln im ABM geschieht jedoch mittels manueller Codierung in einer Allzweck-Programmiersprache (Corradini et al.

⁹ Software-Frameworks grenzen sich gegenüber Software-Bibliotheken dadurch ab, dass sie dem Anwender den Kontrollfluss vorgeben, in den dieser eigenen Code einbringen kann. Software-Bibliotheken hingegen werden im Code des Anwenders im Kontext des anwenderseitig vorgegebenen Kontrollflusses verwendet.

¹⁰ ABMs unter Verwendung von FLAME (Li et al. 2013; Holcombe et al. 2012; Adra et al. 2010; Sun et al. 2009).

¹¹ ABMs unter Verwendung von NetLogo (Tokarski et al. 2012; Weatherhead et al. 2011; An 2008; Chavali et al. 2008).

¹² ABMs unter Verwendung von MASON (Grabe und Neuber 2005; Grant et al. 2006; Kim et al. 2009b, 2010).

2005; Grant et al. 2006; Gerlee und Anderson 2007; van Leeuwen et al. 2009; Kim et al. 2009a; Macklin et al. 2012; Tokarski et al. 2012; Figueredo et al. 2013). Corradini et al. haben 2005 vorgeschlagen, das Verhalten der Agenten und die zugrunde liegenden Regeln mit den Mitteln der Unified Modeling Language (UML) zu formalisieren (Corradini et al. 2005), was perspektivisch die automatische Erzeugung von Code ermöglichte, da es hierfür im Bereich des Software Engineering eine Reihe von Methoden und Werkzeugen gibt¹³. Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte grafische Modellierungssystem greift den Vorschlag von Corradini et al. auf und ersetzt die UML durch eine eigene grafische domänenspezifische Sprache, da die UML als Modellierungssprache auf den Bereich Softwareentwicklung zugeschnitten ist (s. Abschn. 3.2.1).

2.1.4 Die humane Epidermis *in vivo*, *in vitro* und *in silico*

Die humane Epidermis als biologisches System stellt für das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte computergestützte Modellierungs- und Simulationssystem den Hauptanwendungsbereich dar. Im Weiteren wird auf die wichtigsten Grundlagen zur humanen Epidermis *in vivo* und *in vitro* eingegangen, die einen Bezug zu den in Abschn. 4.3 und Abschn. 4.4 vorgestellten und als Teil dieser Arbeit entstandenen Modellen aufweisen. Der letzte Teil dieses Abschnitts hat die diesbezüglich relevanten *in silico* Modelle zum Gegenstand.

Die humane Epidermis *in vivo*

Aufbau humaner Haut Die Haut stellt mit ca. 2 m² und einem Gewichtsanteil von 16% des Körpergewichts das flächenmäßig größte und

¹³ Aufbauend auf UML-Diagrammen sind beispielsweise Teile des grafischen Modellierungssystems konzipiert und mit einem entsprechenden Code-Generator partiell realisiert worden (näheres s. Abschn. 3.1.4).

eines der schwersten Organe des Menschen dar (Hwa et al. 2011; Arking 2006). Die Haut bildet die Grenzschicht zwischen Umwelt und Körper und schützt diesen vor dem Verlust von Wasser und löslichen Stoffen (Kirschner und Brandner 2012; Brandner et al. 2010). Darüber hinaus stellt die Haut eine effektive Barriere gegen UV-Strahlung, Pathogene, chemische Substanzen und mechanische Einwirkungen dar (Brandner et al. 2010; Menon 2002). Schließlich nimmt die Haut als sensorisches Organ über Nervenzellen Druck, Temperatur, Vibration und Schmerz wahr (Chuong et al. 2002).

Der Aufbau der humanen Haut¹⁴ lässt sich grob in Cutis und Subcutis gliedern. Die aus Bindegewebe und Fett bestehende Subcutis bildet den Übergang der Haut zu den darunterliegenden Muskeln und Sehnen (Litjens et al. 2006). Die Cutis gliedert sich in Dermis und Epidermis (Abbildung 2.3). Die weitgehend azelluläre Dermis ist ein fibroelastisches Bindegewebe, das Fibroblasten eingebettet in u.a. Kollagen enthält (Celli et al. 2010; Amsden und Goosen 1995). Die Dermis ist mit der Epidermis durch die Basalmembran verbunden. Die Epidermis selbst ist ein mehrschichtiges verhornendes Plattenepithel, dessen Zellpopulation zu 90% aus Keratinozyten besteht¹⁵. Die horizontale Stratifizierung der Epidermis besteht, wie Abbildung 2.3¹⁶ dargestellt, von basal nach apikal aus dem *Stratum basale*, dem *Stratum spinosum*, dem *Stratum granulosum*

¹⁴ Es wird hier nur der grobe Aufbau, wie in Abbildung 2.3 dargestellt, geschildert. Für eine detaillierte Darstellung sei auf einschlägige Literatur verwiesen (bspw. Fuchs und Raghavan 2002; Amsden und Goosen 1995).

¹⁵ Auf die verbleibenden 10% der Zellpopulation, die bspw. aus Melanozyten besteht, wird hier nicht näher eingegangen, da die im Rahmen dieser Arbeit realisierten *in silico* Modelle mit Bezug zur Epidermis (s. Abschn. 4.3 u. 4.4) nur die Keratinozyten berücksichtigen.

¹⁶ Die Farbgebung der Zellen ist an jene des *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase angepasst (s. Abschn. 5.1).

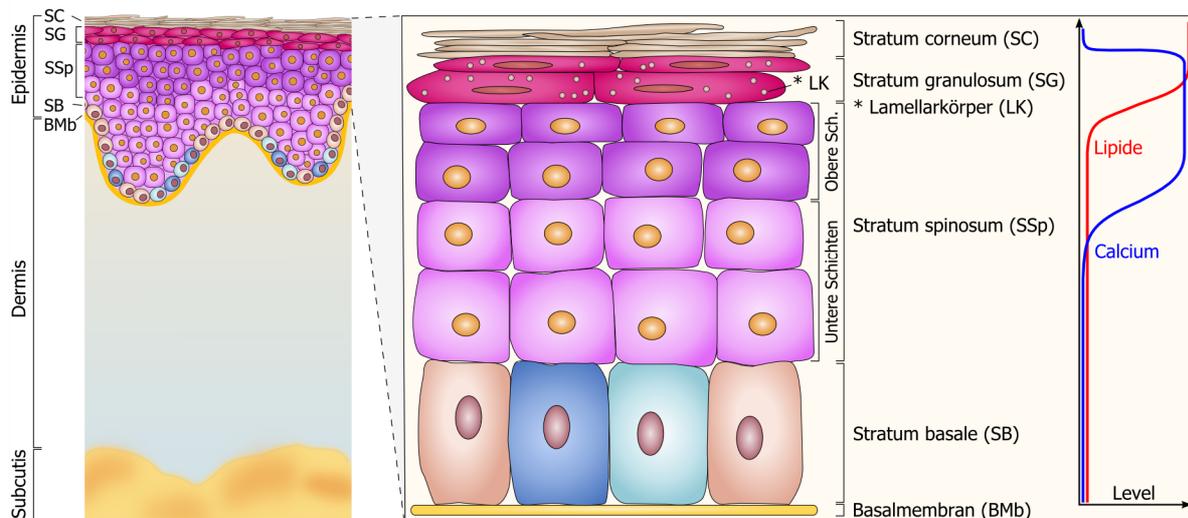


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau humaner Haut und horizontale Stratifizierung der Epidermis. Die humane Haut gliedert sich in Subcutis und Cutis, wobei letztere aus Dermis und Epidermis besteht, welche durch die Basalmembran miteinander verbunden sind. Das aus einer Einzelzellschicht bestehende *Stratum basale* beherbergt die proliferativen Stamm- und Transit Amplifying (TA)-Zellen (Fuchs und Raghavan 2002). In apikaler Richtung schließt sich daran das *Stratum spinosum* an, dessen Zellen in den unteren Schichten in frühe und in den oberen Schichten in späte Spinosum-Zellen unterteilt werden können (Fuchs und Byrne 1994). Über dem *Stratum spinosum* befindet sich das *Stratum granulosum*, dessen Zellen bereits eine deutlich abgeflachte Morphologie aufweisen. Granulosum-Zellen produzieren Lamellarkörper, die Lipide und Enzyme enthalten. Sie geben deren Inhalt über Exozytose in den extrazellulären Raum ab (Candi et al. 2005). Die Korneozyten, die aus abgestorbenen Keratinozyten hervorgehen, bilden mit dem *Stratum corneum* die äußerste Schicht der Epidermis, die im direkten Kontakt mit der Umwelt steht. Das *Stratum corneum* bildet die eigentliche physikalische, chemische und mechanische Barriere der Epidermis (Haake et al. 2001). Ein wesentlicher Bestandteil dieser Barriere sind die Lipide, deren Konzentration im *Stratum granulosum* ansteigt und ihr Maximum im *Stratum corneum* erreicht (Elias 2004). Der transepidermale Ca^{2+} -Gradient ist hingegen durch niedrige Ca^{2+} -Konzentrationen im *Stratum basale* und den unteren Schichten des *Stratum spinosum* charakterisiert. Die Ca^{2+} -Konzentration steigt in den oberen Schichten des *Stratum spinosum* an, wird im *Stratum granulosum* maximal und fällt im Übergang zum *Stratum corneum* stark ab (Celli et al. 2010).

und schließlich der äußersten Schicht, dem *Stratum corneum*¹⁷ (Fuchs und Raghavan 2002).

Epidermale Proliferation, Differenzierung und Barriere Das aus einer Einzelzellschicht bestehende *Stratum basale* beherbergt die proliferative Zellpopulation der Epidermis (Fuchs und Raghavan 2002). Traditionell wird davon ausgegangen, dass sich diese proliferative Zellpopulation aus Stammzellen und Transit Amplifying

(TA)-Zellen zusammensetzt¹⁸ (Fuchs 1990a; Fuchs und Byrne 1994). Stammzellen teilen sich asymmetrisch in eine Stamm- und eine TA-Zelle. Letztere wiederum teilen sich asymmetrisch in eine TA-Zelle und eine postmitotische basale Zelle (Potten 1981). TA-Zellen besitzen ein begrenztes proliferatives Potential und ihre Diffe-

¹⁷ Genannt sind hier nur die vier generell vorhandenen Schichten der Epidermis. Das *Stratum lucidum* wurde bewusst nicht erwähnt und in Abbildung 2.3 nicht berücksichtigt.

¹⁸ Neuere Arbeiten legen die Existenz einer einzigen homogenen proliferativen Zellpopulation nahe (Clayton et al. 2007), im Modell der humanen epidermalen Homöostase wird jedoch die traditionelle Sichtweise abgebildet (s. Abschn. 5.1).

renzung setzt nach wenigen Zellzyklen¹⁹ ein (Fuchs 1990b, 2008). Die Angaben über die Länge eines Zellzyklus variieren. In den im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Zellzyklusmodellen wird eine Zellzykluslänge von 60 Stunden angenommen (Dover und Potten 1983; Castelijns et al. 1998). Es wird ferner davon ausgegangen, dass die Proliferation im *Stratum basale* die Triebfeder der passiven gerichteten Zellmigration der Keratinozyten in apikaler Richtung ist (Candi et al. 2005; Mitrani 1983). Das Zellwachstum und die anschließende Zellteilung erzeugen einen biomechanischen Stimulus, der zur Verdrängung basaler Zellen aus dem basalen Kompartiment führt. Verlässt eine Zelle das *Stratum basale*, differenziert sie zu einer Spinosum-Zelle, aus denen das *Stratum spinosum* besteht. Innerhalb des *Stratum spinosum* können in den unteren Schichten frühe und in den oberen Schichten späte Spinosum-Zellen unterschieden werden (Fuchs und Byrne 1994). Auf ihrer Wanderung durch das *Stratum spinosum* nehmen Spinosum-Zellen eine lateral elongierte Form an und differenzieren schließlich zu Granulosum-Zellen, die ihren Namen aufgrund ihres granulären Zytoplasmas haben (Koehler et al. 2011). Die Granulosum-Zellen flachen durch Dehydration immer weiter ab, verlieren ihren Zellkern und differenzieren terminal zu Korneozyten, die das *Stratum corneum* bilden (Eckhart et al. 2013). Diese äußerste Schicht der Epidermis kann noch in *Stratum compactum* und *Stratum disjunctum* untergliedert werden. Schließlich gehen Korneozyten der äußersten Zellschicht des *Stratum disjunctum*, die den unmittelbaren Übergang zwischen Körper und Umwelt darstellen, durch Abschilferung verloren (Voegeli und Rawlings 2012).

Granulosum-Zellen bilden Lamellarkörper, die verschiedene Lipide wie Phospholipide und Cholesterol enthalten, welche Vorstufen der endgültigen

Barriere-Lipide darstellen (Odland und Holbrook 1981; Candi et al. 2005). Am Übergang zum *Stratum corneum* geben Granulosum-Zellen über Exozytose den Inhalt der Lamellarkörper in den extrazellulären Raum ab, wo sie durch die ebenfalls abgegebenen Enzyme zur finalen Lipid-Matrix der epidermalen Barriere umgebaut werden (Candi et al. 2005). Nach dem Brick-and-Mortar-Modell (z. dt. Ziegelstein-und-Mörtel-Modell) setzt sich die epidermale Barriere aus den Korneozyten als Ziegelsteinen und den Lipiden als Mörtel zusammen, die so eine nahezu impermeable Schicht bilden (Elias 2004, 1983). Das *Stratum corneum* entspricht damit der eigentlichen physikalischen, chemischen und mechanischen Barriere der Epidermis (Haake et al. 2001), jedoch besitzt auch die darunterliegende vitale Epidermis Barriereigenschaften.

Die *Tight-Junction*-Proteine (dt. dichte Verbindung), die vorwiegend im *Stratum granulosum* exprimiert werden, bilden eine, verglichen mit dem *Stratum corneum*, zwar weniger effektive, aber doch nachweisbare Barriere mit Einfluss auf die Diffusion von Wasser und löslichen Stoffen (Baroni et al. 2012; Kirschner et al. 2013).

Abschließend soll nochmals auf die Differenzierung von Keratinozyten eingegangen werden, die über alle Schichten der vitalen Epidermis hinweg global durch den transepidermalen Ca^{2+} -Gradient beeinflusst wird. Dieser ist durch niedrige Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum basale*, ansteigender Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum spinosum* und maximale Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum granulosum* charakterisiert (s. Abbildung 2.3). Beim Übergang vom *Stratum granulosum* zum *Stratum corneum* fällt die Ca^{2+} -Konzentration stark ab (Celli et al. 2010; Menon 2002; Elias et al. 2002a; Mauro et al. 1998). Die Entstehung und Aufrechterhaltung des transepidermalen Ca^{2+} -Gradienten ist immer noch Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion. Die vorherrschende Hypothese ist, dass der transepidermale Wasserfluss in apikaler Richtung mittels

¹⁹ Es wird von vier bis fünf Zellzyklen ausgegangen (Fuchs 2008).

Advektion einen gerichteten Fluss von Ca^{2+} -Ionen erzeugt. Aufgrund der epidermalen Barriere, die sich mit Blick auf Ca^{2+} -Ionen effektiver als bei Wasser zeigt, entsteht die hohe Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum granulosum* (Ahn et al. 1999; Elias et al. 2002a). Eine alternative Hypothese sieht jedoch ein elektrisches Potential in der vitalen Epidermis als Ursache für die Entstehung des Ca^{2+} -Gradienten (Denda und Kumazawa 2002). Die lokale Ca^{2+} -Konzentration und damit der Ca^{2+} -Gradient beeinflusst die Differenzierung der Keratinozyten, die damit verbundene Stratifizierung der Epidermis sowie die Ausbildung von Zell-Zell-Verbindungen. Darüber hinaus hängen die Aktivierung verschiedener Enzyme und die Ausbildung der epidermalen Barriere von der Ca^{2+} -Konzentration ab (Celli et al. 2010; Verdier-Sévrain und Bonté 2007; Fuchs 1990a).

Epidermale Homöostase und Selbsterneuerung Die epidermale Homöostase wird durch die fein abgestimmte Balance von Proliferation, Differenzierung, Kornifizierung und schließlich Desquamation aufrechterhalten (Blanpain und Fuchs 2006). Die transepidermalen Wasser- und Ca^{2+} -Gradienten übernehmen hierbei eine wichtige regulatorische Funktion, da transientser Wasser- oder Ca^{2+} -Verlust Signalwirkung besitzen und an die zuvor genannten Prozesse der epidermalen Homöostase rückgekoppelt sind. Es wurde gezeigt, dass erhöhter transepidermaler Wasserfluss zu erhöhter DNA-Synthese und Proliferation führt (Denda et al. 1998; Proksch et al. 1991). Eine niedrige extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum granulosum* führt zu erhöhter Exozytose von Lamellarkörpern und zu erhöhter Lipidsynthese mit direkter Wirkung auf die epidermale Barriere (Voegeli und Rawlings 2012; Ahn et al. 1999).

Die Epidermis unterliegt in Homöostase einer kontinuierlichen Regeneration bzw. Erneuerung (engl. *turnover*). Die Erneuerung der Epidermis geht von den proliferierenden Stamm- und TA-Zellen aus, die kontinuierlich neue Zellen bereitstellen (Potten 1974). Der Anteil proliferierender

Zellen, bezogen auf die Gesamtzahl basaler Zellen, wird Wachstumsfraktion genannt und liegt unter 20% (Heenen et al. 1998). Angaben für die Erneuerungszeit (engl. *turnover time*) der Epidermis, die der Dauer einer kompletten Selbsterneuerung entspricht, schwanken für die vitale Epidermis zwischen 14 und 45 Tagen (Hoath und Leahy 2003; Halprin 1972; Weinstein und Van Scott 1965). Die Erneuerungszeit des *Stratum corneum* liegt in einem Bereich von 12 bis 18 Tagen (Lindwall et al. 2006; Takahashi et al. 1987).

Zellverbindungen Die Zell-Zell-Verbindungen und die Zell-Matrix-Verbindungen in der Epidermis lassen sich in die folgenden drei Kategorien einteilen:

1. Zell-Zell-Kanäle (engl. *gap junctions*)
2. Adhärenz-Verbindungen (engl. *adherens junctions*)
3. Undurchlässige Verbindungen (engl. *tight junctions*)

Die *gap junctions* ermöglichen den Austausch von Ionen und Molekülen zwischen Zellen und damit direkte Zell-Zell-Kommunikation (Proksch et al. 2008).

Bei den *adherens junctions* sind die Ca^{2+} -abhängigen Cadherine als wichtige Klasse von Transmembranproteinen zu nennen, die direkt an das Zytoskelett einer Zelle gekoppelt sind. Die Cadherine benötigen Ca^{2+} , um Verbindungen zu benachbarten Zellen etablieren zu können (Proksch et al. 2008; Gumbiner 1996). Zu dieser Klasse von Zellverbindungen gehört bspw. E-Cadherin, das ubiquitär in der vitalen Epidermis exprimiert ist (Brandner et al. 2010). Im Kontext der Adhärenz-Verbindungen sind auch die Desmosomen zu nennen, die das Netzwerk aus Intermediärfilamenten von Zelle zu Zelle verbinden und so für die Verteilung der Zug- und Scherkräfte in der Haut sorgen (Brandner et al. 2010; Gumbiner 1996; Fuchs und Byrne 1994). Wich-

tige Vertreter der Desmosomen sind die Desmogleine und Desmocolline, die als Transmembranproteine ebenfalls zur Familie der Cadherine gehören (Gumbiner 1996; Fuchs und Byrne 1994). Basale Keratinozyten sind über Hemidesmosomen, deren Morphologie halbierten Desmosomen entspricht, mit der Basalmembran verbunden (Green und Jones 1996; Fuchs und Byrne 1994). Im Zusammenhang mit den durch die Hemidesmosomen erzeugten Zell-Matrix-Verbindungen sind die Integrine zu nennen, die letztlich die Verbindung zwischen Hemidesmosom und Basalmembran herstellen, indem sie an adhäsive Proteine wie Laminine binden (Egles et al. 2010). Desmosomen werden im *Stratum corneum* in Corneodesmosomen umgewandelt, die eine höhere mechanische Stabilität aufweisen (Rawlings und Voegeli 2013). Corneodesmosomen sind in den unteren Zellschichten des *Stratum corneum* überall auf der Zelloberfläche zu finden. In den höheren Zellschichten findet man sie vorwiegend lateral, da sie dort durch die ebenfalls lateral exprimierten *tight junctions* besser vor enzymatischem Abbau geschützt werden (Rawlings und Voegeli 2013; Voegeli und Rawlings 2012; Brandner et al. 2010). Der zunehmende Abbau der Corneodesmosomen in den höheren Zellschichten des *Stratum corneum* führt letztlich zur Desquamierung der Keratinozyten (Candi et al. 2005).

Die *tight junctions* treten vorwiegend im *Stratum granulosum* auf und tragen dort, wie bereits im vorigen Abschnitt erwähnt, zur Ausbildung und Aufrechterhaltung der epidermalen Barriere bei (Niessen 2007; Furuse et al. 2002). Wichtige *tight-junction*-Vertreter sind Occludin, Claudine und Zonula Occludens (ZO) Proteine (Kirschner und Brandner 2012; Brandner et al. 2002). Einige *tight junctions* wie bspw. Claudin-1 bleiben auch im *Stratum corneum* erhalten (Hafttek et al. 2011).

Vom mechanischen Standpunkt aus betrachtet, besitzen suprabasale Zellen untereinander

mechanisch wesentlich stabilere Zell-Zell-Verbindungen als basale Zellen. Die Desmosomen basaler Zellen sind kleiner (Green und Simpson 2007) und durch die niedrige Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum basale* zusätzlich destabilisiert (Menon 2002; Proksch et al. 2008). Suprabasale Zellen weisen jedoch größere Desmosomen auf (Green und Simpson 2007), die aufgrund der höheren suprabasalen Ca^{2+} -Konzentration stabiler sind (Moll et al. 2008; Proksch et al. 2008; Niessen 2007; Menon 2002). In den höheren suprabasalen Schichten kommen die *tight junctions* im *Stratum granulosum* und die mechanisch stabilen Corneodesmosomen im *Stratum corneum* hinzu (Rawlings und Voegeli 2013; Niessen 2007).

Die humane Epidermis *in vitro*

Epidermale *in vitro* Modelle sind seit Jahrzehnten wesentlicher Bestandteil der einschlägigen Grundlagenforschung. Die Erzeugung einer Epidermis *in vitro* erfordert die Isolierung und Anzucht von Keratinozyten. Pionierarbeit im Bereich der organotypischen 3D *in vitro* Modelle leisteten Bell et al., die mit luftexponierten Keratinozyten auf einem dermalen Äquivalent, das aus Kollagen und eingebetteten Fibroblasten bestand, erstmals eine terminal differenzierte Epidermis erzeugen konnten (Bell et al. 1981). Im Laufe der Jahre sind *in vitro* Hautmodelle für verschiedene Fragestellungen entwickelt worden. Diese reichen von grundlegenden Studien auf dem Gebiet der epidermalen Differenzierung (Maas-Szabowski et al. 2000), der Toxikologie (Auxenfans et al. 2009), der Reepithelialisierung im dermalen Kontext Wundheilung (Safferling et al. 2013; Harrison et al. 2006) bis hin zur Erforschung von Krankheiten wie Psoriasis (Barker et al. 2004). Mit der stufenweisen Einschränkung von Tierversuchen für kosmetische Inhaltsstoffe und deren endgültigem Verbot durch die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) im Jahr 2013 gewannen *in vitro* Haut-

modelle bzw. Vollhautkulturen zusätzlich an Bedeutung (OECD 2014).

In vitro Hautmodelle sind kommerziell verfügbar. Die Firma Henkel bietet mit dem Phenion® Full-Thickness Skin Model ein entsprechendes Produkt an (Ackermann et al. 2010). Ein weiterer Anbieter ist die Firma MatTek, deren *in vitro* Modell EpiDermFT™ für die Etablierung eines standardisierten Wundmodells²⁰ genutzt wurde (Safferling et al. 2013). Die epidermale Zellpopulation von EpiDermFT™ besteht ausschließlich aus Keratinozyten. Die Basalmembran weist, im Gegensatz zur *in vivo* Epidermis, keine Reteleisten auf. Das dermale Äquivalent besteht aus humanen dermalen Fibroblasten, die in ein Kollagen-Gel eingebettet sind (Hayden et al. 2009).

Die humane Epidermis *in silico*

Die Erstellung und Simulation von *in silico* Modellen der humanen Epidermis bietet vielfältige Möglichkeiten. Zunächst erlauben Modelle der epidermalen Homöostase, die ihr zugrunde liegenden regulatorischen Mechanismen zu studieren. *In silico* Modelle können in diesem Zusammenhang nichtintuitive Dynamik der in dieser Regulation enthaltenen Rückkopplungen offenbaren (Tanaka und Ono 2013). Ferner sind bei der Haut als Organ, das die Grenze und Barriere zwischen den beiden Systemen Körper und Umwelt bildet (Feingold und Elias 2014), die Erforschung von Umwelteinflüssen wie UV-Strahlung bzw. die Wirkung von auf die Haut applizierten kosmetischen bzw. medizinischen Substanzen von besonderem Interesse. In diesem Zusammenhang können *in silico* Modelle jene Lücken füllen, die durch experimentelle oder ethische Grenzen entstehen. So erfordern bspw. die schwächere epidermale Barriere und die größere Sensitivität der

Haut bei Neugeborenen spezialisierte und intensiv getestete Hautpflegeprodukte. Aus ethischen Gründen ist die Forschung in diesem Bereich jedoch auf nichtinvasive experimentelle Methoden beschränkt (Stamatas et al. 2011). Invasive Experimente werden durch Tiermodelle und *in vitro* Hautkulturen ermöglicht. Tiere weisen jedoch natürlicherweise eine schwächere epidermale Barriere und Unterschiede in der Homöostase auf (Hanson et al. 2002). Hingegen haben *in vitro* Hautmodelle basierend auf humanen Keratinozyten eine begrenzte Lebensspanne, was die Untersuchung von längerfristigen Prozessen bzw. Effekten einschränkt (Monteiro-Riviere et al. 1997).

Die existierenden *in silico* Modelle der humanen Epidermis lassen sich auf der Grundlage des verwendeten methodischen Ansatzes in die beiden folgenden Kategorien einteilen:

1. *Kontinuums- und Kompartimentmodelle*: Bei diesem Ansatz wird die Epidermis als einzelnes homogenes Kompartiment oder Menge statisch angeordneter Kompartimente betrachtet.
2. *Diskrete zellbasierte Modelle*: Die Epidermis wird hier meist mit einem multiagentenbasierten Modell abgebildet, in dem die individuellen Zellen mit variabler Lokalisation räumlich explizit repräsentiert werden.

Ersteren Ansatz findet man häufig im Bereich der Pharmakokinetik. Die Modelle beschränken sich meist auf die Abbildung von Transportprozessen durch das *Stratum corneum* als einzige im Modell repräsentierte Schicht der Epidermis (Anissimov et al. 2013; Xiao und Imhof 2012; Couto et al. 2014). Andere Kontinuumsmodelle beschreiben Transportprozesse in oder die Erneuerung der vitalen Epidermis mit gewöhnlichen oder partiellen Differentialgleichungen (Gandolfi et al. 2013; Adams et al. 2012; Cornelissen et al. 2007). Bei den Transportprozessen bildet die Entstehung des transepidermalen Ca^{2+} -Gradienten einen Schwer-

²⁰ Auf Basis der experimentellen Ergebnisse, die mit diesem *in vitro* Wundmodell gewonnen wurden, ist das *in silico* Modell der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden aus Abschn. 4.4 entstanden.

punkt (Adams et al. 2012; Cornelissen et al. 2007). Auch die Heilung akuter Wunden wird mit diesem methodischen Ansatz als rein mathematisches Modell abgebildet (Menon et al. 2012; Menke et al. 2009; Dale et al. 1995).

Frühe diskrete zellbasierte Modelle bildeten das Wachstum der Epidermis mittels vertikal gestapelter Tetradecaeder ab (Honda et al. 1979; Honda und Oshibe 1984). Mit einem gitterbasierten Zellmodell haben Mitrani et al. die Bewegung von Keratinozyten in apikaler Richtung als proliferationsgetriebene passive Migration identifiziert (Mitrani 1983). Das erste gitterfreie Modell der Epidermis hatte die Prozesse Proliferation und Differenzierung im Fokus, jedoch ohne den Ca^{2+} -Gradienten oder die Entstehung der epidermalen Barriere zu berücksichtigen (Stekel et al. 1995). Darauf folgten Modelle des Wachstums epithelialer Monoschichten (Walker et al. 2004b, 2004a) und dreidimensionaler epithelialer Zellpopulationen (Galle et al. 2005). Grabe et al. haben 2005 ein zweidimensionales Modell der humanen epidermalen Homöostase veröffentlicht, das sowohl die Proliferation und Differenzierung von Keratinozyten abbildet, als auch die Ausbildung der epidermalen Barriere berücksichtigt, so dass der charakteristische transepidermale Ca^{2+} -Gradient mit dem Modell reproduziert werden konnte (Grabe und Neuber 2005). Dreidimensionale Modelle der epidermalen Homöostase sind in der Folgezeit entstanden (Schaller und Meyer-Hermann 2007; Adra et al. 2010). Schließlich sind neben der epidermalen Homöostase morphologische Veränderungen der Haut und bekannte Charakteristika der Erkrankung Psoriasis *in silico* modelliert worden (Grabe und Neuber 2007; Weatherhead et al. 2011).

2.2 Stand der Forschung

In diesem Abschnitt wird der relevante Stand der Forschung mit Blick auf die Entwicklung eines CMS zur Erstellung multiskalierter multizellulärer Gewebemodelle und -simulationen dargelegt. In einem multizellulären Gewebemodell werden die einzelnen Zellen des Gewebes durch ein entsprechendes diskretes Zellmodell räumlich repräsentiert. Dieses Zellmodell bestimmt neben der Zellmorphologie die biomechanischen Eigenschaften einer Zelle. Aus diesem Grund wird zunächst auf die wesentlichen diskreten Zellmodelle eingegangen, die gegenwärtig in multizellulären Gewebesimulationen verwendet werden. In den beiden darauf folgenden Abschnitten, die die etablierten systembiologischen Modellstandards und vergleichbare andere CMS zum Gegenstand haben, wird ein zeitlicher Spagat vollzogen. Die Konzeption und Realisierung des CMS der vorliegenden Arbeit hat im Jahre 2006 ihren Ursprung. Somit muss der Stand der Forschung aus damaliger Sicht dargestellt werden, damit die vollzogenen konzeptionellen und methodischen Entscheidungen in Bezug auf das CMS nachvollziehbar werden. Gleichzeitig wird in den beiden zuvor erwähnten Abschnitten auch die Entwicklung der vergangenen Jahre und der Stand der Forschung zum gegenwärtigen Zeitpunkt dargestellt.

2.2.1 Zellmodelle in multizellulären Gewebesimulationen

Wie bei den *in silico* Modellen der humanen Epidermis (s. Abschn. 2.1.4) gilt es ganz generell zwischen zwei grundlegenden Gewebemodellierungsansätzen zu unterscheiden (Swat et al. 2012):

1. *Kontinuumsmodelle*, in denen Zellen nicht als individuelle Objekte modelliert werden. Das Gewebe und dessen Zellen werden bei diesem Ansatz mittels Differentialgleichun-

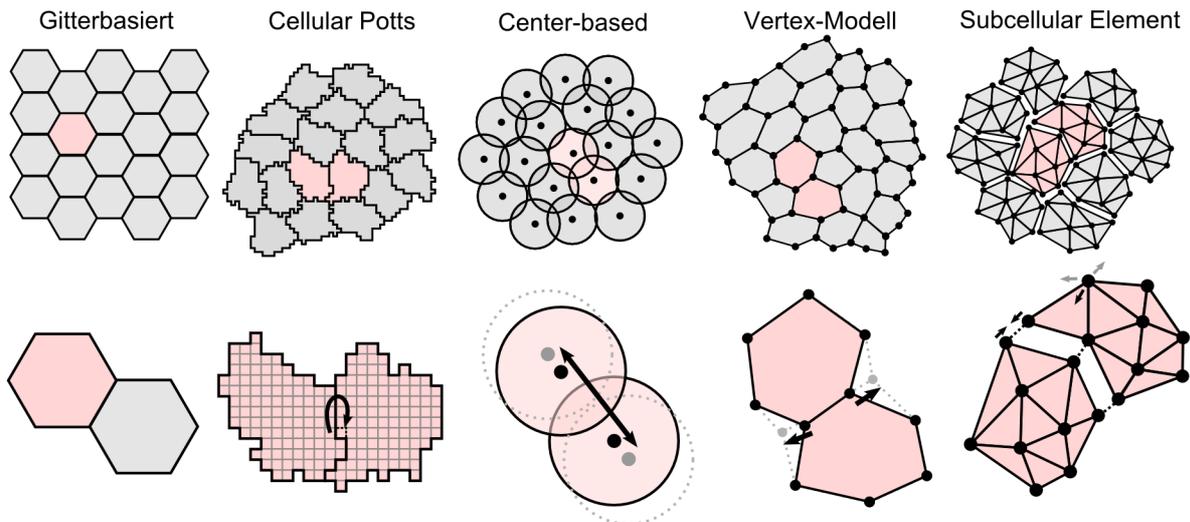


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung diskreter räumlicher Zellmodelle. In einem klassischen gitterbasierten Zellmodell wird eine Gitterzelle immer von nur einer Zelle des Gewebes belegt. Größe und Form der Gitterzelle bestimmen die Zellmorphologie. Im Cellular Potts Modell besteht eine einzelne Zelle aus einer Menge von Gitterzellen. Die Zugehörigkeit einer Gitterzelle zu einer Zelle oder einer anderen abgebildeten räumlichen Struktur ergibt sich aus der Minimierung der effektiven Energie, die auf Basis der Energiefunktion *Hamiltonian* berechnet wird und in den Metropolis-Algorithmus eingeht. Im Zellzentrum-Modell (engl. Center-based) werden Zellen meist durch Kreise bzw. Kugeln repräsentiert, die je nach paarweiser Lokalisation anziehende oder abstoßende Kräfte aufeinander ausüben. Basierend auf diesen Kräften wird die Verschiebung des Massemittelpunkts der Zellen berechnet. Im Vertex-Modell besitzen Zellen eine polygone Morphologie und werden durch eine Menge von Eckpunkten (engl. vertex) repräsentiert, die sie sich mit benachbarten Zellen teilen. Die Zellform ergibt sich aus der Minimierung der an einem Vertex anliegenden Kraft, die sich u.a. auf der Grundlage der angestrebten Zellgröße berechnet. Im Subcellular Element Modell werden Zellen in eine wählbare Zahl von interagierenden subzellulären Elementen unterteilt, die hier als Punkte in Erscheinung treten. Physikalische Interaktion der subzellulären Elemente findet sowohl innerhalb einer Zelle als auch zwischen Zellen statt.

gen oder Integro-Differentialgleichungen beschrieben (bspw. Byrne und Drasdo 2009; Adams et al. 2012; Drasdo 2005). Dieser Ansatz findet Anwendung, wenn von großen homogenen Zellpopulationen ausgegangen wird und von globalen Effekten, die durch lokale Interaktionen von heterogenen Zellen entstehen, abstrahiert werden kann bzw. soll (Merelli et al. 2007).

2. *Diskrete Modelle*, in denen das modellierte Gewebe aus diskreten individuell räumlich

repräsentierten Zellen besteht (s. Abbildung 2.4).²¹

Die *diskreten Modelle* werden an dieser Stelle eingehender betrachtet, da der multiagentenbasierte Simulationsansatz der Simulationsumgebung des entwickelten CMS eine diskrete Repräsentation von Zellen zur Durchführung einer multizellulären Gewebesimulation erfordert (s. Abschn. 3.1.2). Diskrete Gewebemodelle lassen sich in *gitterbasierte Zellmodelle* und *gitterfreie Zellmodelle* untergliedern. In gitterbasierten Modellen wird die Zellform entweder durch eine

²¹ Zu diskreten Zellmodellen existiert eine Reihe von Übersichtsarbeiten. (Fletcher et al. 2014; Pathmanathan et al. 2009; Drasdo 2003)

einzelne Gitterzelle oder durch eine Menge von Gitterzellen räumlich repräsentiert.

Gitterbasiertes Zellmodell In einem klassischen gitterbasierten Modell wird eine Gitterzelle von genau einer Zelle des simulierten Gewebes bzw. biologischen Systems belegt. Dieser Ansatz findet Verwendung, wenn von morphologischen Unterschieden zwischen den Zellen abstrahiert werden kann. Die Größe und damit die Morphologie aller Zellen ist durch die Größe und Form der Gitterzelle vorgegeben (siehe bspw. Kim et al. 2010; Gerlee und Anderson 2007; Dormann und Deutsch 2002; Loeffler et al. 1987). Im zweidimensionalen Fall können verschiedene Gitterformen angenommen werden (z.B. kartesisch oder hexagonal). Im dreidimensionalen Fall findet man meist kartesische Gitter vor. Im Rahmen dieser Arbeit ist aufbauend auf den Arbeiten von Fong et al. ein zwei- wie dreidimensionales gitterbasiertes Zellmodell entwickelt worden (Fong et al. 2010). Dieses Modell stellt insofern einen Sonderfall dar, als dass Zellen hier entweder eine oder zwei Gitterzellen belegen können (Näheres s. Abschn. 4.2.2).

Cellular Potts Modell Zu den gitterbasierten Zellmodellen gehört auch das Cellular Potts Modell oder Glazier-Graner-Modell (Graner und Glazier 1992), in dem Zellen aus einer geschlossenen Menge von Gitterzellen bestehen. Dies erlaubt die Annahme und Simulation von komplexeren Morphologien. Dabei sind Gitterzellen nicht notwendigerweise einzelnen biologischen Zellen zugeordnet. Vielmehr können andere morphologische Strukturen des modellierten biologischen Systems wie Blutgefäße oder extrazelluläre Matrix durch eine Menge von Gitterzellen abgebildet werden (Shirinifard et al. 2009). Im Weiteren wird der einfacheren Beschreibung wegen davon ausgegangen, dass die mit dem Cellular Potts Modell abgebildeten biologischen Elemente, wie in Abbildung 2.4 dargestellt, ausschließlich Zellen entsprechen. Die Zuordnung einer Gitterzelle zu einer biologischen Zelle bzw.

die Veränderung dieser Zuordnung ergibt sich auf Basis der effektiven Energie, die für jede Zelle berechnet wird. Zellen streben eine minimale effektive Energie an. Grundlage der Berechnung ist die Energiefunktion oder *Hamiltonian*, in die das für eine Zelle definierte Volumen bzw. die definierte Fläche, die Adhäsion mit benachbarten Zellen und optional bspw. ein Term für Chemotaxis eingeht (Swat et al. 2009). Die berechnete effektive Energie ist wiederum Eingabeparameter für den Metropolis-Algorithmus (Metropolis et al. 1953), der letztlich entscheidet, ob eine konkrete Gitterzelle bei einer Zelle verbleibt oder einer anderen zugeordnet wird. Abschließend bleibt zu erwähnen, dass das Cellular Potts Modell in einer Vielzahl von Anwendungsgebieten im Bereich der systembiologischen Modellierung zum Einsatz kommt. Je nach Anwendung werden die Terme der *Hamiltonian* angepasst oder erweitert, so dass sich diesbezüglich in der Literatur eine gewisse Heterogenität findet (Dias et al. 2014; Marée et al. 2012; Scianna und Preziosi 2012; Köhn-Luque et al. 2011; Starruß et al. 2007; Merks und Glazier 2005).

Die drei wesentlichen in der Literatur vertretenen *gitterfreien Modelle* sind das Center-based Modell (z.d.t. Zellzentrummodell), das Vertex-Modell und das Subcellular-Element-Modell. Allen gitterfreien Modellen ist gemein, dass im theoretischen Modell keine Diskretisierung des Raums angenommen wird und die die Zellmorphologie bestimmenden Elemente sich frei im Raum bewegen können.

Center-based Modell Im Zell-Zentrummodell ist das (geometrische) räumliche Zellobjekt, das die Morphologie abbildet, vorgegeben. In den meisten Modellen sind dies Kreise bzw. Kugeln (Adra et al. 2010; Schaller und Meyer-Hermann 2007; Galle et al. 2005; Walker et al. 2004b; Drasdo et al. 1995). Weniger verbreitet sind Ellipsen bzw. Ellipsoide (Dallon 2007; Dallon und Othmer 2004). Zwischen benachbarten Zellen werden auf Basis der Distanz der Mas-

senmittelpunkte dieser Zellen anziehende (Zelladhäsion) bzw. abstoßende Kräfte (Druck) berechnet. In einem Zellzentrummodell wirken alle auf das räumliche Zellobjekt ausgeübten Kräfte letztlich auf dessen Massenmittelpunkt (Drasdo 2007; Dallon 2007). Da in den meisten multizellulären Gewebemodellen das räumliche Zellobjekt einem homogenen Körper entspricht, ist der Massenmittelpunkt gleichzeitig auch der geometrische Schwerpunkt des räumlichen Zellobjekts. Der geometrische Schwerpunkt, im Weiteren Zellzentrum genannt, und damit die Position der Zelle, werden auf der Grundlage der wirkenden Kräfte im Raum verschoben. Die Berechnung der Kräfte variiert je nach Modell. Eine Möglichkeit der Kraftberechnung ist die Annahme, dass die Zellzentren mit mechanischen Federn verbunden sind, die entweder ausgelenkt oder komprimiert werden (van Leeuwen et al. 2009; Pathmanathan et al. 2009). Eine andere Form der Kraftberechnung basiert auf den sich ergebenden Kontaktflächen zwischen unmittelbar benachbarten Zellen (Pathmanathan et al. 2009). Häufig findet hier das Johnson-Kendall-Roberts-Modell (Johnson et al. 1971) Anwendung, mit dem die Kontaktfläche zwischen viskoelastischen Kugeln berechnet wird (Höhme et al. 2010; Schaller und Meyer-Hermann 2007; Galle et al. 2005; Drasdo und Höhme 2005). Dieses Modell ist jedoch nicht ohne weiteres auf Zellen mit ellipsoider Form übertragbar, so dass die Kontaktflächen in diesem Fall i.d.R. approximiert werden (Dallon und Othmer 2004; Palsson und Othmer 2000). Eine weitere Alternative zur Berechnung der Kontaktflächen ist die Einteilung des multizellulären Raums in Voronoi-Regionen auf Basis der Zellzentren. Eine Voronoi-Region bzw. das entsprechende Voronoi-Polygon entspricht hier einer Zelle (Schaller und Meyer-Hermann 2005; Pathmanathan et al. 2009). Bei der Verwendung von Voronoi-Polygonen als räumliches Zellobjekt ergibt sich aus der Positionsänderung des Zell-

zentrums eine veränderte Zellmorphologie (Honda et al. 2004, 2000).

Mit Blick auf die multizelluläre *in silico* Modellierung und Simulation der humanen Epidermis lässt sich feststellen, dass hier überwiegend auf ein Zell-Zentrummodell mit kreis- oder kugelförmigen Zellen zurückgegriffen wird²² (Stekel et al. 1995; Grabe und Neuber 2005, 2007; Schaller und Meyer-Hermann 2007; Sun et al. 2009; Adra et al. 2010; Li et al. 2013).

Vertex-Modell Eine Zelle besteht im Vertex-Modell aus einer Menge von Eckpunkten (engl. vertex), die sie sich mit benachbarten Zellen teilt und die ihre polygone Form bestimmen. Vertex-Modelle werden häufig genutzt, um Einzelzellschichten in der Ebene oder auf gekrümmten Oberflächen zu simulieren (Fletcher et al. 2014). Unter Verwendung eines entsprechend geeigneten Optimierungsverfahrens, wie dem Verfahren der konjugierten Gradienten, wird die Minimierung der an einem Eckpunkt anliegenden Kraft vorgenommen. Die Kraft wird u.a. auf Basis der optimalen Zellfläche und des angestrebten Zellumfangs aller Zellen berechnet, die sich einen Eckpunkt teilen (Farhadifar et al. 2007). Die Zahl der Eckpunkte, die einer Zelle zugeordnet sind, ist variabel. Veränderungen ergeben sich in diesem Zusammenhang durch sogenannte T-Transitionen (Nagai und Honda 2009; Fletcher et al. 2014). Neben der Modellierung und Simulation von Pflanzengewebe (Merks et al. 2011) ist das eigentliche Hauptanwendungsgebiet des Vertex-Modells die epitheliale Morphogenese (Fletcher et al. 2014; Staple et al. 2010; Landsberg et al. 2009; Farhadifar et al. 2007).

Subcellular Element Modell Verglichen mit den zuvor beschriebenen diskreten Zellmodellen ist das Subcellular Element Modell noch am wenigsten verbreitet und sei hier der Vollständigkeit

²² Eine Ausnahme ist das Modell von Weatherhead et al., in dem ein gitterbasiertes Zellmodell angenommen wird (Weatherhead et al. 2011).

wegen erwähnt. Mit ihm lassen sich komplexe dreidimensionale Morphologien realisieren (Sandersius und Newman 2008). Eine Zelle wird hier in subzelluläre Elemente wählbarer Zahl untergliedert, die in Abbildung 2.4 als Punkte in Erscheinung treten, im Modell jedoch ein Volumen besitzen. Diese subzellulären Elemente interagieren mit den umliegenden subzellulären Elementen der Zelle und denjenigen benachbarter Zellen²³ auf der Grundlage des angenommenen biophysikalischen Modells. Für weitere Details zu diesem Modell sei auf die Literatur verwiesen (Newman 2005; Sandersius und Newman 2008).

2.2.2 Modellstandards in der Systembiologie

Die Systembiologie und damit der systembiologische Ansatz haben, wie in Abschn. 2.1.1 dargestellt, in den letzten 15 Jahren weltweit Verbreitung gefunden. Da die theoretische Modellbildung ein zentrales Element des systembiologischen Ansatzes darstellt, sind im Zuge der Verbreitung eine Reihe von Standards für *in silico* Modelle und Simulationen entwickelt worden, die sich in der einschlägigen wissenschaftlichen Gemeinschaft etablieren konnten. Mit Blick auf die Konzeption und Realisierung eines CMS ist daher zu untersuchen, welche Standards für multiskalierte multizelluläre *in silico* Modelle und Simulationen existieren. Ganz generell und damit auch im Bereich der Entwicklung von wissenschaftlicher Software gilt die Maßgabe, sofern möglich, auf standardisierte Eingabe- und Ausgabeformate zu setzen (Baxter et al. 2006; Deisboeck et al. 2011). Die Verwendung von Standards trägt u.a. dazu bei, die Verlässlichkeit und die Reproduzierbarkeit der Modellsimulationsergebnisse zu erhöhen (Mirams et al. 2013). Hucka et al., die mit der SBML einen der wich-

tigsten etablierten Modellstandards entwickelt haben, fassen die Vorteile eines Modellstandards wie folgt zusammen (Hucka et al. 2004):

- Verschiedene CMS, die den entsprechenden Standard unterstützen, können auf derselben standardisierten Modellrepräsentation arbeiten, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse und langfristig auch die Qualität der CMS erhöht.
- Anwender werden durch die Verwendung von standardisierten Formaten nicht auf die Nutzung eines CMS festgelegt und können je nach Anwendungsfall auf die i.d.R. unterschiedlichen Stärken und Möglichkeiten der CMS zurückgreifen und Modelle mit Anwendern anderer CMS austauschen.
- Die Testbarkeit und Wiederverwendbarkeit publizierter Modelle, die in einem standardisierten Format verfügbar gemacht werden, wird erhöht.
- Wenn die Entwicklung eines CMS eingestellt wird, bleiben die mit dem CMS erstellten Modelle weiterhin verwendbar.

Blickt man nun auf die vorhandenen etablierten Modellstandards in der Systembiologie, dann lassen sich diese in drei wesentliche Kategorien einteilen (Ghosh et al. 2011):

1. Standards für Modellrepräsentation
2. Standards für Modellannotation
3. Standards für Modellsimulationsergebnisse

Tabelle 2.1 führt die wichtigsten Standards auf und ordnet sie den entsprechenden Kategorien zu. Es wird an dieser Stelle keine vollständige Darstellung der verfügbaren Standards oder eines einzelnen Standards angestrebt. Vielmehr sei diesbezüglich auf entsprechende Übersichtsarbeiten verwiesen (Brazma et al. 2006; Ghosh et al. 2011). Die Auflistung der Standards macht deut-

²³ Dies ist in Abbildung 2.4 als Verbindung zwischen den Elementen dargestellt.

Tabelle 2.1: Etablierte (Modell-)Standards in der Systembiologie.

Standard	Kategorie	Anwendungsbereich	Referenz
BioPAX (Biological Pathway Exchange)	Modellrepräsentation	biologische Reaktions-, Signal- und Stoffwechselwege molekulare und genregulatorische Netzwerke	Demir et al. 2010
CellML (Cell Markup Language)	Modellrepräsentation	mathematische Modelle (mit biologischem Bezug)	Garny et al. 2008
FieldML (Field Markup Language)	Modellrepräsentation	multivariate Felder (modelliert mit der Finite-Elemente-Methode)	Britten et al. 2013
MIASE (Minimal Information About a Simulation Experiment)	Modellsimulationsergebnisse	Beschreibung einer (numerischen) Simulation eines mathematischen Modells und deren Ergebnisse zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit und Interpretierbarkeit	Waltemath et al. 2011a
MIRIAM (Minimum Information Requested In the Annotation of biochemical Models)	Modellannotation	Annotation von quantitativen biochemischen Modellen zur Verbesserung von deren Wiederverwendbarkeit	Le Novère et al. 2005
SBGN (The Systems Biology Graphical Notation)	Modellrepräsentation	grafische Modellnotation von biochemischen Reaktionen und Interaktionen	Le Novère et al. 2009
SBML (Systems Biology Markup Language)	Modellrepräsentation	quantitative Modelle biochemischer Reaktionen und regulatorischer Netzwerke	Hucka et al. 2003
SBRML (Systems Biology Results Markup Language)	Modellsimulationsergebnisse	Assoziation von experimentellen Ergebnissen und Modellen Archivierung und Austausch von Ergebnissen der Modellsimulation	Dada et al. 2010
SED-ML (Simulation Experiment Description Markup Language)	Modellsimulationsergebnisse	standardisierte Erfassung des kompletten Ablaufs einer Modellsimulation	Waltemath et al. 2011b

lich, dass multizelluläre und / oder multiskalierte *in silico* Modellierung und Simulation von keinem Standard abgedeckt werden²⁴. Ghosh et al. stellten im Jahr 2011 fest, dass es keinen allge-

²⁴ Auch die Standards SBRML und SED-ML erweisen sich bei näherer Betrachtung aufgrund der Unterstützung eines zu eingengen methodischen Modellspektrums als nicht geeignet.

mein akzeptierten Standard zur Erstellung und Simulation von physiologischen Modellen gibt, die mehrere biologische Organisationsebenen umspannen.

Als Gründe hierfür führen sie die Vielfalt an zu berücksichtigenden biologischen Prozessen an, die jeweils auf unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Skalen angesiedelt sind. Ferner erforderte die *in silico* Abbildung dieser Prozesse wie-

derum eine Vielfalt von Modellierungs- und Simulationstechniken (Ghosh et al. 2011). Für multizelluläre multiskalierte *in silico* Modelle und Simulationen gilt dies im Allgemeinen, wie es für physiologische Modelle im Speziellen gilt.

Für die Entwicklung eines Standards gilt der Bottom-Up-Ansatz als erfolgversprechend. Hier wird nicht wie beim Top-Down-Ansatz ein Standard unilateral vorgegeben. Vielmehr wird dieser von der Anwendergemeinschaft und somit der Gruppe jener entworfen, die ihn als Entwickler in den CMS umzusetzen haben (Brazma et al. 2006). Ein Beispiel für den Top-Down-Ansatz ist *MultiCellXML*, ein Standard der von Paul Macklin vorgeschlagen wurde und sich aus den Arbeiten von Macklin et al. abgeleitet hat (Macklin et al. 2012). Dieser Standard ist jedoch in seiner Entstehung als *ad hoc* Standard zu betrachten und ist aufgrund seines mangelnden Reifegrads in Sachen Allgemeingültigkeit von keinem der in Abschn. 2.2.3 aufgeführten CMS adaptiert worden. Ein Beispiel für den Bottom-Up-Ansatz ist hingegen die *Cell Behavior Ontology* (CBO), die als Ontologie die Beschreibung von Objekten, Prozessen und Objekt-Prozess-Verbindungen in multizellulären Experimenten, Modellen und Simulationen erlaubt (Sluka et al. 2014). Die CBO ist u.a. das Ergebnis von sechs weltweit abgehaltenen, mehrtägigen Arbeitstreffen²⁵, in denen potentielle Anwender der CBO ihre Ansprüche an dieselbe ermittelt und formalisiert haben (Sluka et al. 2014). Die CBO ist eine Modellbeschreibungssprache, mit der die modellierte Biologie repräsentiert werden kann. Der nächste Schritt wäre, sie zu einer Modellbeschreibungssprache zu erweitern, in der auch die Modellierungsmethoden abgebildet werden können (Sluka et al. 2014).

²⁵ Eines dieser Arbeitstreffen ist im Rahmen der Entwicklung des CMS der vorliegenden Arbeit in Heidelberg organisiert worden. Dieses fand vom 01.-02.09.2011 im Rahmen der International Conference on Systems Biology (ICSB) statt.

Mit Blick auf die Konzeption des CMS der vorliegenden Arbeit lässt sich feststellen, dass zum Zeitpunkt der Konzeption und auch überwiegend zur Zeit der Realisierung kein Standard und auch kein entsprechender Vorschlag für multiskalierte multizelluläre *in silico* Modelle und Simulationen existierte. Auch zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist trotz MultiCellXML und CBO noch kein allgemein akzeptierter und ausgereifter Standard vorhanden. In Ermangelung dessen ist im Rahmen dieser Arbeit ein *ad hoc* Standard für Gewebesimulationszustände entwickelt worden (s. Abschn. 3.2.2), der sich an der konzipierten modularen multiskalierten Gewebemodellarchitektur des CMS orientiert (s. Abschn. 3.1.2).

Abschließend wird kurz auf die SBML eingegangen, da im entwickelten CMS dieser Standard genutzt wird, um quantitative subzelluläre Modelle semantisch mit grafischen Zellverhaltensmodellen zu multiskalierten multizellulären Gewebemodellen zu verbinden (s. Abschn. 3.1.2 u. 3.2.1). Dieser XML-basierte Standard, mit dem Modelle von biochemischen Reaktionsnetzwerken repräsentiert werden können (Hucka et al. 2003), ist aufgrund seiner großen Verbreitung ausgewählt worden (Hucka und Le Novère 2010). Folgende Größen bzw. Komponenten eines SBML-basierten Modells können in einem grafischen Zellverhaltensmodell, das mit dem entwickelten grafischen Modellierungssystem erstellt wird, referenziert werden²⁶:

- *Species*: Eine chemische Substanz, die Bestandteil einer Reaktion (engl. *Reaction*) ist. Beispiele hierfür sind Ionen (z.B. Calcium-Ionen) oder Moleküle wie Adenosintriphosphat.
- *Reaction*: Definition einer Transformation bzw. eines Transport- oder Bindungsprozesses.

²⁶ Die Definitionen von *Species*, *Reaction* und *Parameter* sind sinngemäß von Hucka et al. übernommen worden (Hucka et al. 2003).

ses (typischerweise eine chemische Reaktion), die/der die Quantität eines oder mehrerer Modellelemente des Typs *Species* verändert.

- *Parameter*: Symbolischer Name eines numerischen Werts. Der Definitionsbereich eines Parameters kann *global* oder *lokal* sein. Der Definitionsbereich lokaler Parameter beschränkt sich auf ein einzelnes Element des Typs *Reaction*, während der Definitionsbereich globaler Parameter sich über das gesamte Modell erstreckt.

Mit der Unterstützung des SBML-Standards wird ein Zugang zu dem Potential frei verfügbarer Modelle in öffentlichen Datenbanken wie der BioModels-Datenbank erschlossen (Le Novère et al. 2006; Chelliah et al. 2014). Aus diesem Grund haben auch andere CMS, die zeitlich parallel zu dem ihm Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS entstanden sind, sukzessive eine Unterstützung für den SBML-Standard eingeführt (s. Abschn. 3.4.3).

2.2.3 Modellierungs- und Simulationssysteme

In diesem Abschnitt wird auf die CMS eingegangen, die neben dem ihm Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS existieren. Es handelt sich hierbei um jene CMS, die einen vergleichbaren Anwendungsrahmen haben, nämlich die diskrete Modellierung und (agentenbasierte) Simulation multizellulärer biologischer Systeme. Mit der Betrachtung der verfügbaren anderen CMS soll der relevante Stand der Forschung dargelegt werden. An dieser Stelle ist jedoch festzuhalten, dass das Jahr 2006 die Ausgangslage darstellt, die als Basis für konzeptionelle Entscheidungen für den Entwurf und die Realisierung des CMS der vorliegenden Arbeit diente. Im Folgenden wird deutlich werden, dass dieses CMS in einem Zeitraum entwickelt worden ist, in dem viele Parallelentwicklungen stattgefunden haben, die an dieser

Stelle nicht ausgeblendet werden sollen. Aus diesem Grund wird als Stand der Forschung die Ausgangslage und die chronologische Entwicklung bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt geschildert.

Im Rahmen der Diplomarbeit von Simone Huber ist eine Verfügbarkeitsstudie mit Blick auf Modellierungswerkzeuge durchgeführt worden, ohne dass diese Werkzeuge einen speziellen Bezug zu systembiologischer *in silico* Modellierung aufweisen sollten (Huber 2006). Die Einschlusskriterien waren die beiden folgenden:

1. Die Modellerstellung soll mit einer grafischen Modellierungssprache erfolgen.
2. Das Werkzeug soll die diskrete Modellierung von endlichen Zustandsautomaten unterstützen.

Basierend auf diesen Kriterien sind die Werkzeuge *HyVisual* (Lee und Zheng 2005) und *MATLAB* in Verbindung mit *SIMULINK* sowie *Stateflow*²⁷ als mögliche Modellierungswerkzeuge ermittelt worden. Bei *HyVisual* handelt es sich um ein Werkzeug aus dem akademischen Umfeld, während *MATLAB* kommerziell vertrieben wird. Beide Werkzeuge sind anhand der folgenden Kriterien näher auf ihre Eignung überprüft worden: (i.) Benutzerfreundlichkeit, (ii.) Plattformunabhängigkeit, (iii.) Automatische Codeerzeugung, (iv.) Lizenzmodell, (v.) Anwenderunterstützung seitens der Entwickler, (vi.) Unterstützung standardisierter Formate wie bspw. SBML, (vii.) Erstellung hierarchisch strukturierter Modelle und (viii.) direkte grafische Simulation des Modells. Für die genaue Beurteilung der beiden

²⁷ Bei *MATLAB*, *SIMULINK* und *Stateflow* handelt es sich um kommerzielle Produkte der Firma MathWorks®.

Webseiten:

<http://de.mathworks.com/products/simulink>

<http://de.mathworks.com>

<http://de.mathworks.com/products/stateflow>

[Stand 02.12.2014, 10:00].

Modellierungswerkzeuge hinsichtlich dieser Kriterien sei auf die Arbeit von Simone Huber verwiesen (Huber 2006). Zusammenfassend sei festgehalten, dass die Codeerzeugung von *HyVisual* in einem experimentellen Stadium, die Anwenderunterstützung seitens der Entwickler mangelhaft und die Unterstützung von standardisierten Formaten nicht vorhanden war. Aus diesem Grund ist *HyVisual* letztlich nicht als Modellierungswerkzeug in Betracht gezogen worden. Die Lizenzierung von *MATLAB* mit den Erweiterungen *SIMULINK* und *Stateflow* hingegen verursacht hohe Kosten, besitzt Einschränkungen bei der Codeerzeugung und der resultierende Code ist hinsichtlich Recheneffizienz nicht für eine multizelluläre agentenbasierte Simulation geeignet (Huber 2006). Basierend auf den Ergebnissen dieser Verfügbarkeitsstudie ist die Entscheidung für die weitgehende Eigenentwicklung eines CMS, deren Realisierung den Namen *EPISIM Plattform* trägt, gefällt worden.

Zum Zeitpunkt des Entwicklungsbeginns war mit *CompuCell3D* bereits ein einschlägiges CMS veröffentlicht (Izaguirre et al. 2004). Einschlusskriterium im Rahmen der durchgeführten Verfügbarkeitsstudie war jedoch, dass das System die grafische Modellierung²⁸ von Zellverhalten erlauben soll. Aus diesem Grund ist *CompuCell3D* nicht in Betracht gezogen worden.

In den letzten Jahren sind eine Reihe von CMS entstanden, die (multiskalierte) Modellierung und Simulation von multizellulären biologischen Systemen erlauben. Tabelle 2.2 führt diese Systeme in chronologischer Reihenfolge auf. Berücksichtigt wurden jene CMS, die sich noch in aktiver (Weiter-)Entwicklung befinden. Ferner war ein Kriterium, dass der Anwendungsfokus eines CMS bei diskreter multizellulärer Modellie-

rung und zell- bzw. agentenbasierter Simulation eines biologischen Systems liegen muss. Einige Systeme sind aufgrund der zuvor genannten Kriterien nicht in die Auflistung aufgenommen worden. Dies sind das *Multiscale Systems Immunology Framework* (MSI) (Mitha et al. 2008), da bei diesem seit längerer Zeit keine Projektaktivität festzustellen war. Das gilt auch für das System *GemCell* (Amir-Kroll et al. 2008), das zusätzlich nicht öffentlich verfügbar ist. Das System *Many-Cell* erlaubt zwar hierarchische agentenbasierte Modellierung (Dada und Mendes 2012), die Agenten selbst besitzen jedoch eine statische Lokalisation und es wird im Gegensatz zu den anderen Systemen keines der in Abschn. 2.2.1 beschriebenen diskreten Zellmodelle direkt unterstützt. *OpenAlea* ermöglicht die Modellierung und Simulation von Pflanzen, verfolgt in Teilen einen grafischen Modellierungsansatz, bedient sich aber Formalismen, wie bspw. L-Systemen, in denen Zellen nicht als diskretes Objekt repräsentiert sind (Pradal et al. 2008). Schließlich ist noch das System *Simmune* zu nennen, mit dem Reaktionsnetzwerke regelbasiert modelliert werden können. Diese Netzwerke werden unter Verwendung von dynamischen Zellgeometrien simuliert, was eine detaillierte räumliche und zeitliche Auflösung von bspw. Zellkommunikation zwischen mehreren Zellen erlaubt. Die Ermöglichung einer multizellulären Simulation mit einer größeren Anzahl von Zellen wird von diesem System jedoch nicht angestrebt (Angermann et al. 2012).

Jedes der in Tabelle 2.2 aufgeführten CMS besitzt eine individuelle Ausrichtung und Alleinstellungsmerkmale. Für jedes dieser Systeme ist ein solches angegeben. Grundsätzlich lassen sich die Systeme in Endanwender-Softwaresysteme und in Frameworks einteilen. Endanwender-Softwaresysteme haben eher die Benutzerfreundlichkeit im Blick, während Frameworks, die meist ein Programmiergerüst darstellen, ein möglichst hohes Maß an Flexibilität anstreben. Hierauf wird in

²⁸ Auf grafische Zellverhaltensmodellierung im Allgemeinen und den Mehrwert von grafischen Modellen gegenüber textuell repräsentierten Modellen wird in Abschn. 3.1.2 näher eingegangen.

Tabelle 2.2: Chronologie der Veröffentlichung computergestützter Modellierungs- und Simulationssysteme. Berücksichtigt sind in dieser Auflistung jene Systeme, die auf Basis eines diskreten Zellmodells die Modellierung und Simulation multizellulärer Systeme unter Annahme einer dynamischen Zelllokalisierung erlauben. Eine aktive (Weiter-)Entwicklung des Systems zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist eine weitere Voraussetzung.

System	Institution	Alleinstellungsmerkmal	Erste Publikation
CompuCell3D	Biocomplexity Institute, Universität Indiana	vielfältige methodische und algorithmische Unterstützung des Cellular Potts Zellmodells	Izaguirre et al. 2004
(Cell-based) Chaste	Mathematisches Institut, Universität Oxford	Bereitstellung einer Vielzahl von diskreten Zellmodellen	Pitt-Francis et al. 2008
EPISIM Plattform	Hamamatsu TIGA Center, Universität Heidelberg	grafische multiskalierte Modellierung von Zellverhalten und automatische Erzeugung lauffähiger agentenbasierter Gewebesimulationen	Sütterlin et al. 2009
CellSys	Interdisziplinäres Zentrum für Bioinformatik, Universität Leipzig	biophysikalische Modellierung mit dem Center-based Zellmodell	Höhme und Drasdo 2010
VirtualLeaf	Mathematisches Institut, Universität Leiden	Modellierung von Pflanzengewebe	Merks et al. 2011
Morpheus	Zentrum für Informationsdienste und Hochleistungsrechnen, Technische Universität Dresden	textuelle multiskalierte Modellierungssprache mit domänenspezifischem Sprachdesign	Starruß et al. 2014
biocellion	Institute for Systems Biology, Seattle	verteilte, parallele Berechnung agentenbasierter Simulationen mit sehr großer Zellzahl auf einem Hochleistungsrechner	Kang et al. 2014

Abschn. 3.4.4 näher eingegangen, der sich der Flexibilität der *EPISIM Plattform*, des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS, widmet. In Abschn. 3.4.3 wird eine vergleichende Gegenüberstellung des entwickelten CMS mit ausgewählten anderen Systemen vorgenommen.

In diese Gegenüberstellung konnte das System *biocellion* nicht mit aufgenommen werden, da dieses erst seit kürzerer Zeit verfügbar ist (Kang et al. 2014). Aus diesem Grund sei an dieser Stelle kurz auf das System eingegangen. Bei *biocellion* handelt es sich im Wesentlichen um ein Framework, bestehend aus Bibliotheken in der Programmiersprache C++.

Als einziges Zellmodell wird ein einfaches Zell-Zentrumsmodell angeboten, in dem Zellen morphologisch als Kugeln oder Zylinder repräsentiert werden. Die große Stärke von *biocellion* ist die automatische Verteilung einer einzigen agentenbasierten Simulation auf verschiedene Knoten eines Hochleistungsrechners. Dies erlaubt die Simulation von sehr großen multizellulären Systemen. Die hierfür bereitgestellten Schnittstellen orientieren sich jedoch nicht an biologischen Termini. Das System ist auf Anwender mit sehr guten Programmierkenntnissen ausgelegt, was es wesentlich von dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS unterscheidet.

3 Entwickeltes computergestütztes Modellierungs- und Simulationssystem

Den Kern dieser Arbeit bilden der Entwurf und die Realisierung eines computergestützten Modellierungs- und Simulationssystems (CMS). Dieses CMS soll die *in silico* Modellierung und Simulation von multizellulären biologischen Systemen, insbesondere von Epithelgeweben, nicht nur ermöglichen, sondern aus Anwendersicht vereinfachen und effizienter gestalten. Das CMS selbst, dessen Konzeption und technische Realisierung sowie schließlich die Systemevaluation sind Gegenstand dieses Kapitels. Die für das CMS entwickelten *in silico* Modelle sowie jene Modelle, die als Anwendungsfall unter Einsatz des CMS entwickelt worden sind, werden in Kapitel 4 behandelt.

Der Anwendungsbereich des CMS liegt allgemein im Bereich der *in silico* Modellierung und Simulation von *multizellulären biologischen Systemen*. Ein Anwendungsschwerpunkt bildet die Erstellung von multizellulären *in silico* Gewebemodellen bzw. -simulationen. Aus diesem Grund werden im Folgenden die Termini (*multizelluläres*) *Gewebemodell* bzw. (*multizelluläre*) *Gewebesimulation* aus Gründen der sprachlichen Vereinfachung und Vereinheitlichung verwendet, ohne dass hierdurch eine Festlegung des CMS auf diese Modell- bzw. Simulationsform zum Ausdruck gebracht werden soll²⁹. Vielmehr trägt die Wahl dieser Termini der Entwicklungshistorie des

²⁹ Ein beispielhafter Anwendungsfall des CMS zur Erstellung eines multizellulären *in silico* Modells, bei dem es sich nicht um ein Gewebemodell handelt, stellt das in Abschn. 4.6 beschriebene Bakterien-Makrophagen-Modell dar. Die Ergebnisse der Simulation dieses Modells sind Gegenstand von Abschn. 5.4.

CMS Rechnung, die in der *in silico* Modellierung und Simulation von Geweben ihren Ursprung hat.

3.1 Systemkonzeption

Die gesamtheitliche Konzeption des CMS wird in diesem Abschnitt in ihren wesentlichen Zügen dargestellt. Dies umfasst zunächst die Charakterisierung der Anwenderzielgruppe und den daraus resultierenden Anforderungen an das CMS. Daran schließt sich die modulare Modellarchitektur an, die allen mit dem CMS realisierten *in silico* Modellen zugrunde liegt und als Teil dieser Arbeit für multiskalierte (Gewebe-)Modelle entwickelt worden ist. Diese Modellarchitektur wiederum baut auf dem entwickelten Konzept der automatischen Abbildung verschiedener räumlicher und zeitlicher Modellskalen auf. Schließlich wird das erarbeitete mehrstufige, modellgetriebene Systementwicklungskonzept beschrieben, das grundlegend für die Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit des Spektrums an *in silico* Modellen ist, die mit dem CMS realisiert werden können.

Neben diesen vier Bereichen der Systemkonzeption, die sich auf das CMS in seiner Gesamtheit beziehen, sind eine Reihe technischer Konzepte entweder entwickelt oder übernommen und schließlich zur Anwendung gebracht worden. Diese technischen Konzepte finden jedoch immer nur in einzelnen Komponenten des CMS Anwendung, so dass sie nicht Gegenstand dieses Abschnitts sondern von Abschnitt 3.3 sind, der die technische Systemrealisierung behandelt.

3.1.1 Anwenderzielgruppe und Systemanforderungen

Der Anwendungsbereich des CMS erstreckt sich im Kern auf das Gebiet der Systembiologie. Diese vergleichsweise junge wissenschaftliche Disziplin lässt sich grob in experimentelle sowie theoretische Systembiologie gliedern und zeichnet sich durch ein hohes Maß an Interdisziplinarität aus (s. Abschn. 2.1.1). Der fachliche Hintergrund potentieller Anwender des CMS erstreckt sich daher von der Medizin, Biologie bzw. Biochemie, bis hin zur Physik, Mathematik und letztlich Informatik. Die *Anwenderzielgruppe* des CMS bilden in erster Linie Biologen, (Bio-)Chemiker Mediziner und in gewissem Maße auch Physiker. Diese Zielgruppe bedingt die Annahme von *keinen oder geringen Programmierkenntnissen* der CMS-Anwender. Unter Programmierkenntnissen wird an dieser Stelle nicht nur die Fähigkeit des Codierens von Algorithmen

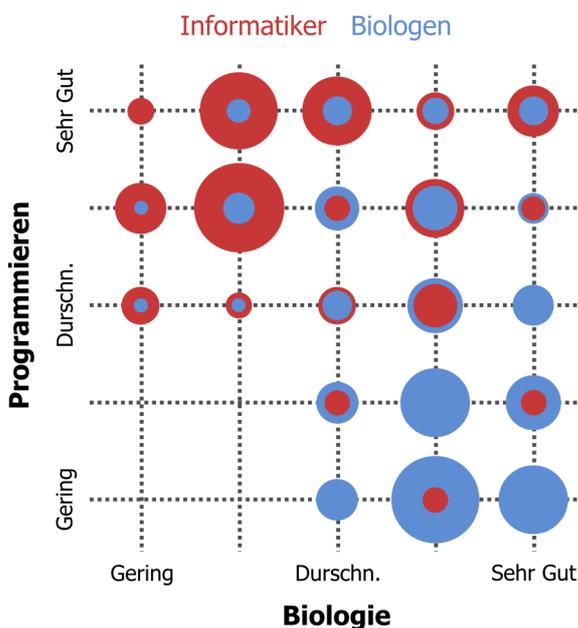


Abbildung 3.1: Selbsteinschätzung von fächerübergreifenden Kenntnissen unter Biologen u. Informatikern. Die Größe der Kreise ist proportional zum Prozentsatz der Häufigkeit einer gewählten Antwortkombination, wobei Biologen in blau und Informatiker in rot erscheinen (Abbildung nach Cardona und Tomancak 2012).

in einer Programmiersprache, sondern vielmehr auch Kenntnisse in zeitgemäßen Softwarearchitekturen und Methoden aus dem Bereich des Softwareengineering verstanden. Cardona et al. haben 2012 eine Online-Umfrage durchgeführt, in der Biologen und Informatiker aufgerufen waren, bezüglich ihrer Kenntnisse in Biologie und ihrer Programmierfähigkeiten eine Selbsteinschätzung auf einer Skala von 1 (gering) bis 5 (sehr gut) abzugeben (Cardona und Tomancak 2012). Die Ergebnisse dieser Umfrage, an der sich anonym 245 Biologen und 57 Informatiker beteiligt haben, sind in Abbildung 3.1 dargestellt. Es gibt zwar eine gewisse Zahl von Biologen, die ihre Programmierfähigkeiten als durchschnittlich, gut oder sogar sehr gut einschätzen, wie es auch Informatiker mit vergleichbarer Einschätzung in Bezug auf ihre Kenntnisse in Bereich der Biologie gibt. Im Wesentlichen sind aber Kompetenz in Biologie und Programmierung negativ korreliert (Cardona und Tomancak 2012).

Die Teilnehmerzahl an zuvor genannter Umfrage ist relativ gering und bezogen auf die beiden Gruppen ungleich verteilt. Ferner ist die Selbsteinschätzung, die in der Umfrage zum Ausdruck gebracht wird, schwierig zu objektivieren. Nichtsdestotrotz ist es auf der Grundlage der Umfrageergebnisse legitim zu sagen, dass das CMS, wenn es Biologen in die Anwenderzielgruppe mit einschließt, nur geringe oder bestenfalls keine Programmierkenntnisse voraussetzen sollte. Hieraus ergeben sich unmittelbar sowie mittelbar eine Reihe von Systemanforderungen:

- Trennung von Modellkomplexität und der Komplexität der technischen Umsetzung
- Realisation des CMS als lauffähiges Endanwender-Softwaresystem
- Einfache Installierbarkeit und Bedienbarkeit
- Plattformunabhängige Verfügbarkeit

Die Trennung von Modellkomplexität und der Komplexität deren technischer Umsetzung, d.h. Codierung in einer Programmiersprache, ist die Kernanforderung an das CMS. Multizelluläre systembiologische Modelle bestehen, insbesondere wenn sie mehrere biologische Skalen abbilden, aus einem Zusammenschluss von verschiedenen Modellen bzw. Methoden aus den Bereichen Mathematik, (Bio-)Physik, Biochemie, Biologie und auch Informatik. Die Erzeugung einer lauffähigen Simulation eines solchen komplexen Modells ist nicht minder komplex, gerade wenn die Rechenzeit ein limitierender Faktor ist. Eine Abstraktion von der technischen Komplexität bei der Modellerstellung ermöglicht im Idealfall einen direkten Wissens- bzw. Hypothesentransfer in ein unmittelbar simulierbares Modell, ohne dass zunächst eine Vermittlung des Wissens oder einer Hypothese an Dritte stattzufinden hat.

Setzt man bei den Anwendern geringe oder keine Programmierkenntnisse voraus, dann kommt für das CMS als Systemtyp nur ein lauffähiges Endanwender-Softwaresystem in Frage. Eine Alternative wäre die Realisierung des CMS als Framework. Dieser Systemtyp liefert jedoch lediglich ein Programmiergerüst und setzt dezidierte und meist tiefergehende Kenntnisse einer Programmiersprache voraus, was ihn vor dem Hintergrund der Anwenderzielgruppe ausschließt. Ferner sollte das CMS einfach zu installieren sein. Dies bedeutet, dass alle vom CMS benötigten Komponenten in lauffähiger Form in einem einzigen Installationspaket bereitgestellt werden, das sich in einem einzelnen, in sich abgeschlossenen Vorgang auf dem System des Anwenders installieren lässt. Eine einfache und intuitive Bedienbarkeit des CMS ist nur durch eine grafische Benutzeroberfläche zu realisieren, die sowohl die Modellerstellung als auch Modellsimulation unterstützt bzw. ermöglicht. Das CMS als Softwaresystem sollte nach Möglichkeit keine Vorgaben bzgl. der Hardware- wie Softwareplattform des Computersystems des Anwenders ma-

chen. Durch die Unterstützung sämtlicher zeitgemäßer Hardware und Betriebssysteme wird ein breiter Anwenderkreis erreicht und heterogenen Systempräferenzen Rechnung getragen.

Eine weitere wichtige Systemanforderung ist die *Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit* des CMS, um neue Modelle bzw. Modellierungsansätze berücksichtigen zu können, ohne dass hierfür gravierende Änderungen am CMS als solchem notwendig werden. Diese Systemanforderung ergibt sich nicht aus der Anwenderzielgruppe, sondern vielmehr aus dem Anwendungsbereich. Daher liegt in Bezug auf die Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit des CMS der Fokus auf der Einfachheit der Realisierung aus Sicht des Systembereitstellers bzw. Anwendern mit einem gewissen Maß an Programmiererfahrung.

3.1.2 Modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur

Für das CMS ist eine modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur³⁰ entwickelt worden, die den mit dem CMS realisierten bzw. realisierbaren *in silico* Modellen und Simulationen zugrunde liegt. Diese schränkt jedoch das vom CMS abgedeckte Modellspektrum nicht auf Gewebemodelle im strengen Sinn ein. Vielmehr entspricht sie einer Architektur für *in silico* Modelle von multizellulären biologischen Systemen. Die Komplexität der Entwicklung einer solchen Modellarchitektur ist in der Vereinigung der beiden Eigenschaften *Modularität* und *Multiskalierung* begründet. Die Teilmodelle eines (Gewebe-)Modells sollen dynamisch aneinander gekoppelt sein, um die Austauschbarkeit einzelner Teilmodelle zu ermöglichen. Wie in Abschn. 2.1.2 näher ausgeführt, stellt eine solche semantische Kopplung von Teilmodellen, die auf verschiedenen räumlichen wie zeitlichen Skalen

³⁰ Diese Namensgebung ist gewählt worden, da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf Gewebemodellen liegt.

angesiedelt sind, die besondere Herausforderung dar (Southern et al. 2007; Dada und Mendes 2011). Die entwickelte Modellarchitektur, die im Weiteren mit Blick auf die beiden zuvor genannten Kerneigenschaften differenziert dargestellt wird, vereinigt grafische Zellverhaltensmodelle mit diskreten biomechanischen Zellmodellen sowie quantitativen subzellulären Modellen. Hierfür ist das Konzept der Modell-Konnektor-Komponenten (MKK) eingeführt worden, die ihm Rahmen der multizellulären, agentenbasierten Simulation eines (Gewebe-)Modells die semantische Kopplung der Teilmodelle realisieren.

Modulare in silico Modellarchitektur

Als erste wichtige Eigenschaft der Gewebemodellarchitektur ist deren *Modularität* hervorzuheben. Bei komplexen Softwaresystemen ist ein modularer Aufbau heute Standard, um ein möglichst hohes Maß an Erweiterbarkeit, Anpassbarkeit, Wartbarkeit und nicht zuletzt Wiederverwendbarkeit in Bezug auf einzelne Module des Gesamtsystems, aber auch auf das System als Ganzes zu erreichen (Baxter et al. 2006). Voraussetzung hierfür ist, dass die einzelnen Module des Systems in sich abgeschlossen und untereinander möglichst lose gekoppelt sind. Aus diesem Grund ist, insbesondere um ein möglichst hohes Maß an Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit zu erreichen, das CMS von Beginn an modular aufgebaut worden (s. Abschn. 3.3.1). Der Wert eines solchen Aufbaus wird auch von anderen einschlägigen Modellierungs- und Simulationssystemen wie bspw. *CellSys* (Höhme und Drasdo 2010) oder *CompuCell3D* (Swat et al. 2009) hervorgehoben und in der Systemarchitektur berücksichtigt.

Auch im Bereich der Erstellung systembiologischer *in silico* Modelle gewinnt die Modularität von Modellen bzw. deren Modularisierung aufgrund der zunehmenden Modellkomplexität an Bedeutung. Zur Bewältigung komplexer, umfangreicher *in silico* Modelle wird deren Dekomposition in überschaubare, handhabbare Mo-

delleinheiten vorgeschlagen (Mirschel et al. 2009; Galle et al. 2009; Holcombe et al. 2012). Die Notwendigkeit von Modell-Modularität kann auch als Konsequenz naturgegebener, biologischer Modularität gesehen werden, die u.a. durch die Zelle als zentrales räumliches Kompartiment konstituiert wird (Kitano 2002a). Ferner lassen sich die Vorteile in Bezug auf Anpassbarkeit, Erweiterbarkeit und auch Wiederverwendbarkeit von modularen Softwaresystemen auch bei modular gestalteten systembiologischen Modellen feststellen (Corradini et al. 2005; van Leeuwen et al. 2009). Die Erstellung und Simulation dieser modularen Modelle ist durch entsprechende computerbasierte Systeme zu unterstützen, die die Komplexität der technischen Umsetzung und semantischen Integration modularer Modelle zu einem Gesamtmodell vor dem Modellersteller verbergen (Merks et al. 2006).

Wie in Abbildung 3.2 dargestellt, ist ein modulares Gewebemodell im Rahmen der für das CMS entwickelten Modellarchitektur in die folgenden vier Bereiche gegliedert:

- Extrazelluläre Diffusionsfelder (DFs)
- Biomechanisches Modell (BM)
- Zellverhaltensmodell (CBM)
- Quantitative subzelluläre Modelle (QSMs, auch: SBML-Modell)

Von diesen vier Bereichen sind das BM und das CBM verbindlicher Bestandteil eines jeden mit dem CMS realisierten *in silico* Modells. QSMs und DFs sind hingegen optional. Alle Modellbereiche (Teilmodelle) werden im unmittelbar nachfolgenden Abschnitt im Detail beschrieben. Die einzelnen Teilmodelle aus den vier oben genannten Bereichen werden durch MKKs semantisch verknüpft und zu einem Gesamtmodell integriert. Das entwickelte MKK-Konzept und dessen technische Realisierung werden eingehend in Abschn. 3.3.2 beschrieben. Die semantische

Integration der Teilmodelle zu einem Gesamtmodell, d.h. die Abbildung der unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Modellskalen aufeinander, ist Gegenstand von Abschn. 3.1.3. Die dynamische und flexible Kopplung von Teilmodellen durch MKKs zu einem Gesamtmodell erlaubt das einfache Austauschen eines Teilmodells gegen ein anderes bzw. dessen Wiederverwendung in einem anderen Modellkontext. Beispiele hierfür finden sich in Kapitel 4.

Multiskalierte zellbasierte *in silico* Modelle

Die Komplexität biologischer Systeme kann *in silico* nur mit multiskalierten Modellen umfassend abgebildet werden. Ein multiskaliertes Modell setzt sich aus Teilmodellen zusammen, die auf unterschiedlichen biologischen Organisationsebenen³¹ anzusiedeln sind und die sich i.d.R. bezüglich ihrer zeitlichen und räumlichen Skalen unterscheiden (Dada und Mendes 2011). Die vier Modellbereiche / Teilmodelle der *multiskalierten* Gewebemodellarchitektur umfassen die Subzellebene, die Zellebene und schließlich die Gewebeebene. Auf der zuletzt genannten Ebene sind die *extrazellulären Diffusionsfelder* anzusiedeln, die mit dem in Abschn. 4.1.2 beschriebenen Modell repräsentiert und gewebeübergreifend simuliert werden. Der Raum, in dem die kontinuierlichen Diffusionsfelder simuliert werden, ist dem Raum, in dem die Zellen diskret repräsentiert sind, überlagert. Eine vergleichbare Modellabstraktion bzgl. der Kombination von kontinuierlichen Feldern mit räumlich diskret modellierten Zellen findet sich in der Literatur (bspw. Tokarski et al. 2012; Macklin et al. 2012) sowie bei anderen Modellierungs- und Simulationssystemen (Swat et al. 2012; Mitha et al. 2008; Starruß et al. 2014). Mit extrazellulären Diffusionsfeldern und dem ihnen zugrundeliegenden Reaktions-Diffusions-Modell lässt sich bspw.

zellübergreifende Kommunikation über molekulare Stoffe wie Zytokine abbilden.

Ebenfalls auf der Gewebeebene anzusiedeln sind die *biomechanischen Modelle* (BM), die alle biophysikalischen Eigenschaften und die räumliche Repräsentationsform von Zellen im Rahmen eines Gewebemodells umfassen. Ein BM bildet Kräfte wie Abstoßung, Kompression oder Adhäsion ab, die sich aus der Interaktion der einzelnen Zellen ergeben. Diese Kräfte wiederum beeinflussen die räumliche Positionierung und, je nach Modell, die Morphologie einer Zelle. BMs werden von der Simulationsumgebung des CMS angeboten und können dynamisch an ein grafisches Zellverhaltensmodell gekoppelt werden. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten biomechanischen Modelle sind Gegenstand von Abschn. 4.2³².

Die *grafischen Zellverhaltensmodelle* (CBMs) bilden im Wesentlichen die dynamischen Aspekte eines *zellbasierten Gewebemodells* auf Zellebene ab. An dieser Stelle ist herauszustellen, dass die entwickelte Modellarchitektur von einer expliziten und diskreten räumlichen Repräsentation von Zellen ausgeht. Ferner wird ein Gewebe als multizelluläres System mit einem *multiagentenbasierten Ansatz* modelliert bzw. simuliert (Näheres s. Abschn. 2.1.3). Eine Zelle entspricht hierbei einem Agenten und das Verhalten bzw. der Zustand einer Zelle wird aus den lokalen Einflüssen der unmittelbaren Zellumgebung und dem CBM bestimmt, das u.a. die Reaktion auf diese Einflüsse modelliert. Die methodische Festlegung auf den multiagentenbasierten Ansatz ist aufgrund seiner Stärke in Bezug auf die Modellierung und Simulation von komplexem globalem Systemverhalten auf der Grundlage von vergleichsweise

³¹ Näheres zu den unterschiedlichen biologischen Organisationsebenen findet sich in Abschn. 2.1.2.

³² Das Spektrum an BMs der Simulationsumgebung kann beliebig erweitert werden. Die Modellierungsumgebung des CMS ist jedoch für die Erstellung von grafischen Zellverhaltensmodellen konzipiert worden, die an vorgefertigte BMs gekoppelt werden. Die Erstellung von BMs ist daher im strengen Sinn nicht Bestandteil des Modellierungsprozesses.

EPISIM - Modulare multiskalierte Modellarchitektur

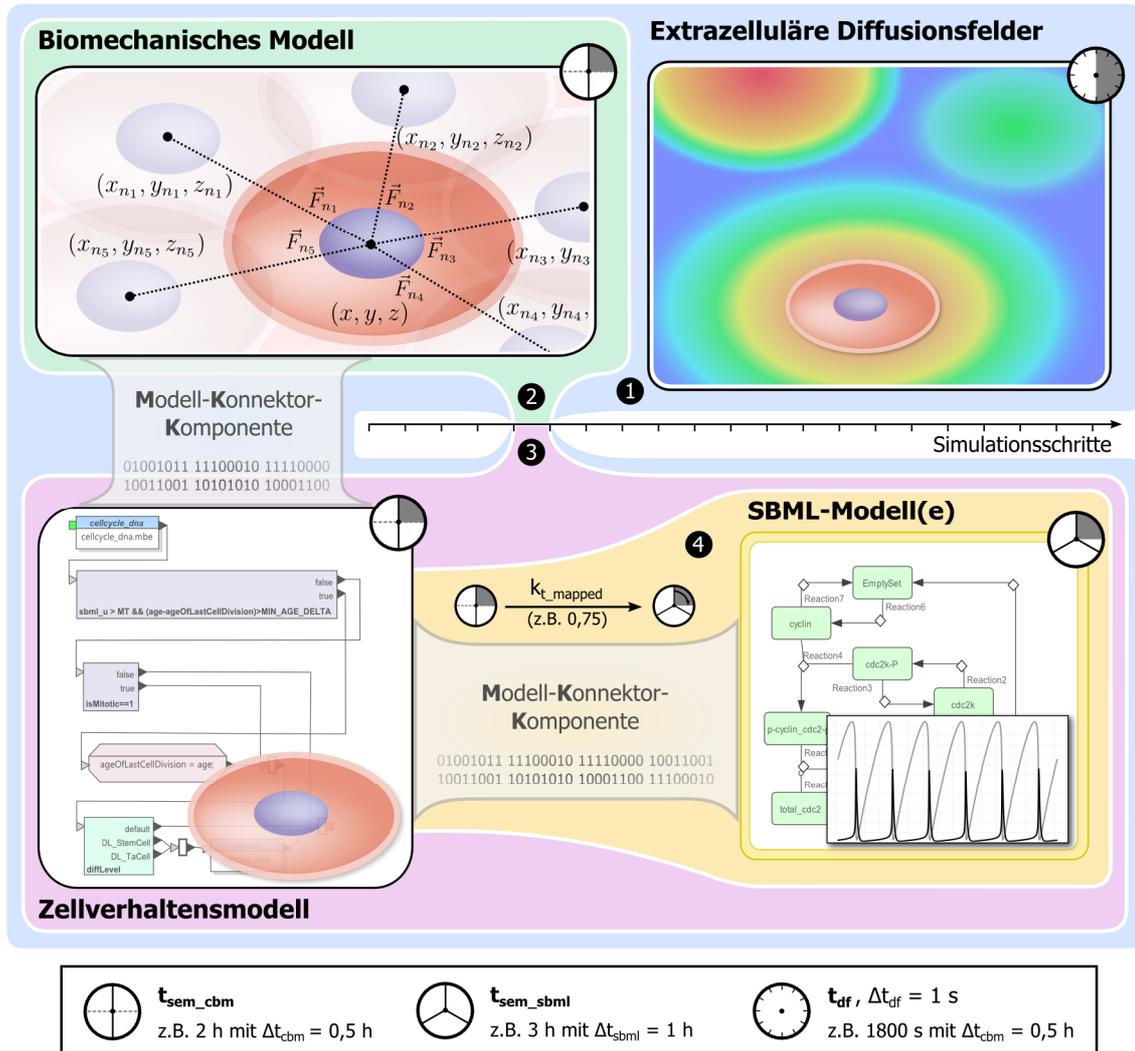


Abbildung 3.2: Modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur. Die extrazellulären Diffusionsfelder und das biomechanische Modell bilden die Gewebeebe eines multiskalierten zellbasierten Gewebemodells ab. Das Zellverhaltensmodell ist auf der Zellebene und SBML-Modell(e) auf der subzellulären Ebene anzusiedeln. Während biomechanisches Modell und Zellverhaltensmodell dieselbe diskrete Zeitskala zugrunde liegen kann, entspricht die Zeitskala des kontinuierlichen Reaktions-Diffusions-Modells der extrazellulären Diffusionsfelder einem Zeitintervall von einer Sekunde. Die Zeitskala von SBML-Modellen variiert je nach Modell.

einfachen lokalen Interaktionen gewählt worden. Ferner lassen sich mit ihm Zustandsänderungen von Zellen auf der Grundlage des sie umgebenden Mikromilieus explizit repräsentieren und untersuchen (Merelli et al. 2007).

Im Rahmen der entwickelten multiskalierten Modellarchitektur können in ein Zellverhaltens-

modell *quantitative subzelluläre Modelle* semantisch integriert werden. Solche auf der subzellulären Ebene angesiedelten Modelle entsprechen häufig biochemischen Reaktionsnetzwerken oder genregulatorischen Netzwerken.

Ein im Bereich der Systembiologie weit verbreiteter Standard, mit dem solche Modelle repräsentieren

tiert werden können, ist die Systems Biology Markup Language (SBML) (Hucka et al. 2003). Alternativ hierzu existieren u.a. noch die Standards CellML (Garny et al. 2008) und FieldML (Christie et al. 2009). Aufgrund der Verbreitung und der Unterstützung durch mehr als zweihundert verschiedene Softwarepakete (Hucka und Le Novère 2010) ist jedoch die SBML als Standard für die Schnittstelle des CMS ausgewählt worden, über die QSMs in ein CBM semantisch integriert werden können. QSMs können mit Softwaresystemen wie CellDesigner (Funahashi et al. 2003) oder COPASI (Hoops et al. 2006) erstellt und im SBML-Standard gespeichert werden. Darüber hinaus existieren Datenbanken wie BioModels (Le Novère et al. 2006; Chelliah et al. 2014), in denen publizierte und validierte Modelle im SBML-Format zur freien Verwendung angeboten werden. Das CMS ermöglicht die dynamische semantische Kopplung (Integration) eines SBML-Modells an (in) ein CBM und umgekehrt. Die hierfür notwendige MKK wird automatisch vom CMS erzeugt (Näheres s. Abschn. 3.2.1 u. 3.3.2). SBML-Modellen liegen oft gewöhnliche Differentialgleichungen zugrunde (bspw. Tyson 1991; Schilling et al. 2009). Diese können auch ohne Nutzung der SBML-Schnittstelle in ein CBM integriert und während der Simulation des Modells numerisch gelöst werden³³. Die seitens des CMS intendierte Methode zur semantischen Integration subzellulärer Modelle stellt jedoch die SBML-Schnittstelle dar.

Grafische Zellverhaltensmodelle

Ein zentrales konzeptionelles Element der multi-skalierten Gewebemodellarchitektur und dem CMS als solchem ist die grafische Modellierung von Zellverhalten in einem multizellulären Kontext. Ein grafisches CBM bildet dabei das aus den lokalen Einflüssen der unmittelbaren Zellumgebung und dem Zustand der Zelle resultierende

biologische Verhalten ab. Lokale äußere Einflüsse können einer mechanischen Interaktion einer Zelle mit ihren Nachbarzellen auf der Basis des BM und lokalen molekularen Konzentrationen in extrazellulären Diffusionsfeldern (DF) entsprechen. Auch innerhalb eines CBM können Zellen mit ihrer direkten Umgebung bspw. in Form von gerichtetem Stoffaustausch interagieren. Ein CBM bildet die lokale Sicht einer Zelle auf das multizelluläre Gesamtsystem ab. Dies resultiert aus dem multiagentenbasierten Modellierungs- und Simulationsansatz, auf dem das CMS aufbaut. Aus dieser lokalen Sicht heraus kann sich der Zustand einer Zelle aufgrund äußerer Einflüsse bspw. in Form eines Übergangs in ein anderes Differenzierungsstadium ändern. Das auf die lokale Zellumgebung wirkende Zellverhalten kann einerseits eine Reaktion auf äußere Einflüsse (bspw. Sekretion von Zytokinen als Ergebnis der Aktivierung einer Signaltransduktionskaskade) oder auch ein Ergebnis des CBMs als solchem sein (bspw. Zellteilung).

Das Zellverhalten, resultierend aus der lokalen Sicht einer einzelnen Zelle, wird universal für alle Zellen des betrachteten multizellulären Systems unter Verwendung der Schnittstelle zu BM, DF und SBML-Modellen mit *grafischen Prozessdiagrammen* modelliert. Dies wird durch die grafische Modellierungsumgebung des CMS ermöglicht und unterstützt (s. Abschn. 3.2.1). Ein einzelnes Prozessdiagramm besteht aus einem Start- und einem Endknoten, einer Menge von Aktionen sowie Verbindungen bzw. Verzweigungen zwischen diesen Aktionen³⁴. Allgemein gesprochen kann eine Aktion einer Zellzustandsänderung oder einer Interaktion mit der Zellumgebung entsprechen. Verzweigungen können deterministischer oder stochastischer Natur sein.

³³ Ein Beispiel hierfür findet sich in Abschn. 4.3.2.

³⁴ Die zur Erstellung eines grafischen Zellverhaltensmodells zur Verfügung stehenden Modellelemente, Modellparametertypen und möglichen Aktionen sind im Detail in Abschn. 3.2.1 beschrieben.

Damit lassen sich mit den grafischen Prozessdiagrammen sowohl endliche Zustandsautomaten als auch Markow-Ketten modellieren. Auch hybride Modelle, bestehend aus deterministischen und stochastischen Elementen, sind möglich. Ferner können die grafischen Prozessdiagramme hierarchisch strukturiert sein, d.h. ein Prozessdiagramm kann auf ein (Unter-)Prozessdiagramm verweisen. Die in einem grafischen Prozessdiagramm verwendeten Modellparameter können entweder globalen Gewebeparametern, die für alle Zellen eines multizellulären Gewebemodells den gleichen Wert haben, oder lokalen Zellparametern entsprechen, die eine zellindividuelle Wertebelegung zum Zeitpunkt der Gewebesimulation aufweisen. Globale wie lokale Modellparameter werden mit der Modellierungsumgebung des CMS definiert. Eine Ausnahme bilden die Parameter, die Bestandteil der Schnittstelle des BM oder eines semantisch integrierten SBML-Modells sind. Das CMS bietet eine Reihe von vordefinierten Funktionen an, mit denen Aktionen definiert werden können (bspw. Veranlassung der Zellteilung). Ein CBM besteht i.d.R. aus mehreren hierarchisch strukturierten grafischen Prozessdiagrammen, zusammengesetzt aus den zuvor beschriebenen Elementen.

Die Modellelemente der grafischen Prozessdiagramme sowie die zur Verfügung stehenden Modellparametertypen und vordefinierten Funktionen bilden eine *grafische domänenspezifische Sprache*, die im Weiteren als (grafische) *Zellverhaltensmodellierungssprache* bezeichnet wird. Andere Modellierungs- und Simulationsumgebungen, die parallel zu dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS entstanden sind, haben sich für die Bereitstellung einer textbasierten domänenspezifischen Sprache zur Modellierung von Zellverhalten entschieden (Swat et al. 2012; Starruß et al. 2014). Der hier verfolgte grafische Ansatz ist dem textbasierten Ansatz aufgrund seines veranschaulichenden Charakters vorgezogen worden. Mit grafischen Prozessdiagrammen kann zum einen

Zellverhalten modelliert, aber zum anderen auch veranschaulicht werden. Dies macht Zellverhaltensmodelle und die dahinterstehenden Modellideen im Vergleich zu einer textbasierten Modellrepräsentationsform intuitiver zugänglich. Gestützt wird diese These durch publizierte systembiologische Modelle, bei denen die Umsetzung des Modells nicht auf Prozessdiagrammen beruht, das Modell als solches jedoch im Rahmen der Publikation mit einem grafischen Prozessdiagramm veranschaulicht worden ist (Corradini et al. 2005; Grant et al. 2006; Gerlee und Anderson 2007; van Leeuwen et al. 2009; Kim et al. 2009a; Macklin et al. 2012; Tokarski et al. 2012; Figueredo et al. 2013). Die in der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache erstellten Modelle werden durch das CMS automatisch in eine lauffähige, multiagentenbasierte Gewebesimulation überführt. Das dahinterstehende Konzept ist Gegenstand von Abschn. 3.1.4. Die technische Ausgestaltung dieses Konzepts wird in Abschn. 3.3.2 beschrieben.

3.1.3 Automatische Abbildung räumlicher und zeitlicher Skalen

Die Teilmodelle aus den vier Bereichen der multiskalierten zellbasierten Gewebemodellarchitektur sind teilw. auf unterschiedlichen räumlichen bzw. zeitlichen Skalen angesiedelt. Als Teil dieser Arbeit ist das Konzept der *Bereitstellung sowie automatischen Erzeugung von MKKs* für die Abbildung und damit semantische Integration dieser verschiedenen Modellskalen entwickelt worden. Alle vier Teilmodelle werden direkt bzw. indirekt mittels einer MKK semantisch miteinander verbunden³⁵. Diese MKKs realisieren während der multiagentenbasierten Simulation eines Gewe-

³⁵ In Abbildung 3.2 sind zwei der drei MKKs dargestellt. Die extrazellulären Diffusionsfelder sind ebenfalls mit einer MKK mit biomechanischem Modell und Zellverhaltensmodell verbunden.

bemodells neben dem bidirektionalen Datenaustausch zwischen den Teilmodellen auch die automatische Abbildung der Modellskalen. Die Abbildung unterschiedlicher räumlicher Skalen ist gegenwärtig nur zwischen BM, in dem die Zellen räumlich modelliert werden, und extrazellulären DF notwendig. Diese Abbildung ist in Abschn. 4.1.2 formal beschrieben. Aus diesem Grund widmet sich dieser Abschnitt im Weiteren ausschließlich der Abbildung unterschiedlicher zeitlicher Skalen mit Blick auf die Teilmodelle.

Das zellbasierte Gewebemodell als Multiagenten-System ist zeitdiskret. Zeit entspricht dem Systemtakt und jeder Taktschritt des Multiagenten-Systems entspricht einem Simulationsschritt. In den im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Modellen entspricht ein Simulationsschritt des Multiagenten-Systems immer einem Simulationsschritt im CBM sowie BM. Somit sind BM und CBM immer auf derselben zeitlichen Skala angesiedelt. Die äquivalenten zeitlichen Skalen von CBM und BM sind jedoch kein konzeptionell vorgesehenes Element. Vielmehr ist es denkbar, dass auch hier eine automatische Abbildung unterschiedlicher zeitlicher Skalen zum Tragen

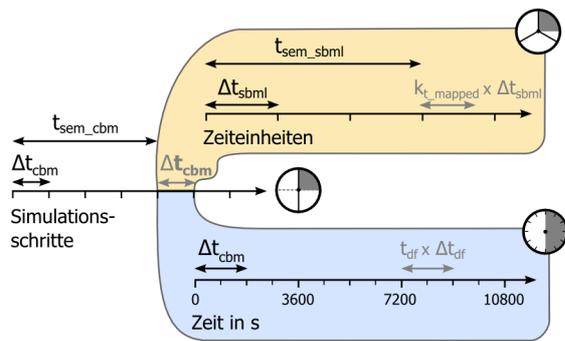


Abbildung 3.3: Automatische Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen. Ein Simulationsschritt des multiagentenbasierten Gewebemodells entspricht einem Simulationsschritt im Zellverhaltensmodell und im biomechanischen Modell. Die mit einem Simulationsschritt assoziierte Realzeit wird im Fall der Diffusionsfelder auf Sekunden und im Fall der SBML-Modelle auf die jeweilige Zeitskala eines konkreten Modells abgebildet.

kommt. Aufgrund der momentanen Äquivalenz der Zeitskalen von BM und CBM wird im Folgenden nur die Abbildung der Zeitskalen von CBM und SBML-Modellen bzw. CBM und DFs betrachtet.

Die Zeitskala des CBM ergibt sich aus dem atomaren Zeitintervall Δt_{cbm} , das der Realzeit entspricht, die aus Modellsicht zwischen zwei Simulationsschritten vergeht. Das Zeitintervall Δt_{cbm} wird *nicht explizit* im Modell definiert. Vielmehr ist dieses *implizit* durch die Skalierung der Modellparameter des CBM definiert. Abbildung 3.3 zeigt die Abbildung von Δt_{cbm} auf die Zeitskalen der DFs und der SBML-Modelle. Die DFs werden auf einer Zeitskala von Sekunden ($\Delta t_{\text{df}} = 1 \text{ s}$) simuliert. In der Definition eines DF ist somit anzugeben, wie vielen Sekunden Δt_{cbm} entspricht. Bei $\Delta t_{\text{cbm}} = 0,5 \text{ h}$ entspräche dies einer pro Simulationsschritt zu simulierenden Realzeit von 1.800 Sekunden ($t_{\text{df}} = 1800$).

SBML-Modelle entsprechen meist dynamischen Systemen mit kontinuierlicher Zeit. Die Zeitskala bei dieser Art von Modellen bewegt sich häufig im Bereich von Sekunden oder Minuten (s. Abschn. 2.1.2). An dieser Stelle entspricht Δt_{sbml} einem vollständigen Zeitintervall im Sinne dieser Zeitskala (1 s od. 1 min etc.). Für jedes SBML-Modell, das mit dem CMS in ein CBM semantisch integriert worden ist, sind die zwei Parameter $k_{\text{t_mapped}}$ und n_{points} individuell zu definieren.

$$\frac{k_{\text{t_mapped}} \times \Delta t_{\text{sbml}}}{t_{\text{sem_sbml}}} = \frac{\Delta t_{\text{cbm}}}{t_{\text{sem_cbm}}} \quad (2.1)$$

$$\Delta t_{\text{point}} = \frac{t_{\text{mapped}} \times \Delta t_{\text{sbml}}}{n_{\text{points}}} \quad (2.2)$$

Der Parameter $k_{\text{t_mapped}}$ entspricht dem Zeitabklingkoeffizienten. Zur Berechnung desselben werden die beiden semantisch äquivalenten Zeiten $t_{\text{sem_cbm}}$ und $t_{\text{sem_sbml}}$ benötigt.

Gemeint ist an dieser Stelle die zeitliche Äquivalenz der biologischen Semantik der Modelle,

die nicht notwendigerweise einer 1:1-Abbildung entspricht. Ein konkretes Modellbeispiel hierfür findet sich in Abschn. 4.3.2. In Abbildung 3.2 und Abbildung 3.3 ist diese Zeitabbildung anhand eines abstrakten Beispiels illustriert. Ausgehend von dem Grundgedanken der Wiederverwendung bereits existierender Modelle sei folgendes Szenario skizziert: SBML-Modell M gibt einen konkreten biologischen Prozess P in einem biologischen Organismus O_1 wieder, der innerhalb von drei Stunden einmal vollständig abläuft. Für das SBML-Modell M ist somit $t_{\text{sem_sbml}} = 3 \text{ h}$ bei $\Delta t_{\text{sbml}} = 1 \text{ h}$. Dieses SBML-Modell M soll nun in einem CBM mit $\Delta t_{\text{cbm}} = 0,5 \text{ h}$ wiederverwendet werden. Das CBM bezieht sich jedoch nicht auf den biologischen Organismus O_1 sondern auf den Organismus O_2 , in dem dieses Modell ebenfalls valide ist. Im Organismus O_2 läuft jedoch derselbe Prozess P in zwei Stunden einmal vollständig ab, so dass $t_{\text{sem_cbm}} = 2 \text{ h}$ wäre.

Als Konsequenz ergibt sich schließlich der Zeitabbildungskoeffizient $k_{t_mapped} = 0,75$. Diese Form der Zeitabbildung ermöglicht die Wiederverwendung von SBML-Modellen aus einem anderen biologischen Kontext ohne die Notwendigkeit der Reparametrisierung.

Der Parameter n_{points} definiert die Zahl an Datenpunkten für ein konkretes SBML-Modell pro Simulationsschritt, die zur Simulation des Zeitintervalls $k_{t_mapped} \times \Delta t_{\text{sbml}}$ berechnet werden. Aus diesem Parameter ergibt sich das Zeitintervall Δt_{point} zwischen zwei Datenpunkten. Dieses Zeitintervall muss hinreichend klein sein, damit die numerische Integration des SBML-Modells stabil ist. Der Parameter n_{points} ist durch den Anwender des CMS vor dem Hintergrund der zeitlichen Dynamik eines konkreten SBML-Modells zu wählen.

3.1.4 Mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept

Hinter dem CMS, das in Abschn. 3.2 im Detail vorgestellt wird, steht ein mehrstufiges, modellgetriebenes Systementwicklungskonzept, das als Teil dieser Arbeit entworfen worden ist. Dieses Systementwicklungskonzept ist neben der in Abschn. 3.1.2 dargestellten Gewebemodellarchitektur die zweite konzeptionelle Säule des Entwurfs des CMS. Das grundlegende Ziel, das mit diesem Systementwicklungskonzept verfolgt wird, ist *die (teil-)automatische Erzeugung von lauffähigen Softwarekomponenten*³⁶ für die Erstellung und die Simulation eines systembiologischen Modells *auf der Basis von grafischen Modellen*. Die Nutzung von grafischen Modellen zur Definition und Erzeugung dieser Softwarekomponenten dient zunächst der Abstraktion von deren technischer Realisierung. Diese Abstraktion sowie die *Trennung von Modellkomplexität und technischer Komplexität* ist eine der primären Herausforderungen, die mit dieser Arbeit angegangen worden sind, und zugleich eines der primären Entwicklungsziele des CMS mit Blick auf die Anwenderzielgruppe, die in Abschn. 3.1.1 charakterisiert worden ist. Ferner wird dem identifizierten Bedarf an computergestützten Systemen, die Biologen oder allg. Anwendern mit geringen Programmierkenntnissen die Modellerstellung und Modellsimulation ermöglichen, Rechnung getragen (bspw. Fisher und Henzinger 2007; Dada und Mendes 2011; Germain et al. 2011). Im Folgenden soll das *modellgetriebene* und *mehrstufige* Systementwicklungskonzept, das in Abbildung 3.4

³⁶ Softwarekomponenten entsprechen in sich abgeschlossenen Einheiten eines Software-Systems mit limitiertem Funktionsumfang. Softwarekomponenten verfügen über klar definierte Schnittstellen, mittels derer sie allg. genutzt bzw. in ein bestehendes Software-System integriert oder zu einem neuen Software-System zusammengestellt werden können (Koziol 2010).

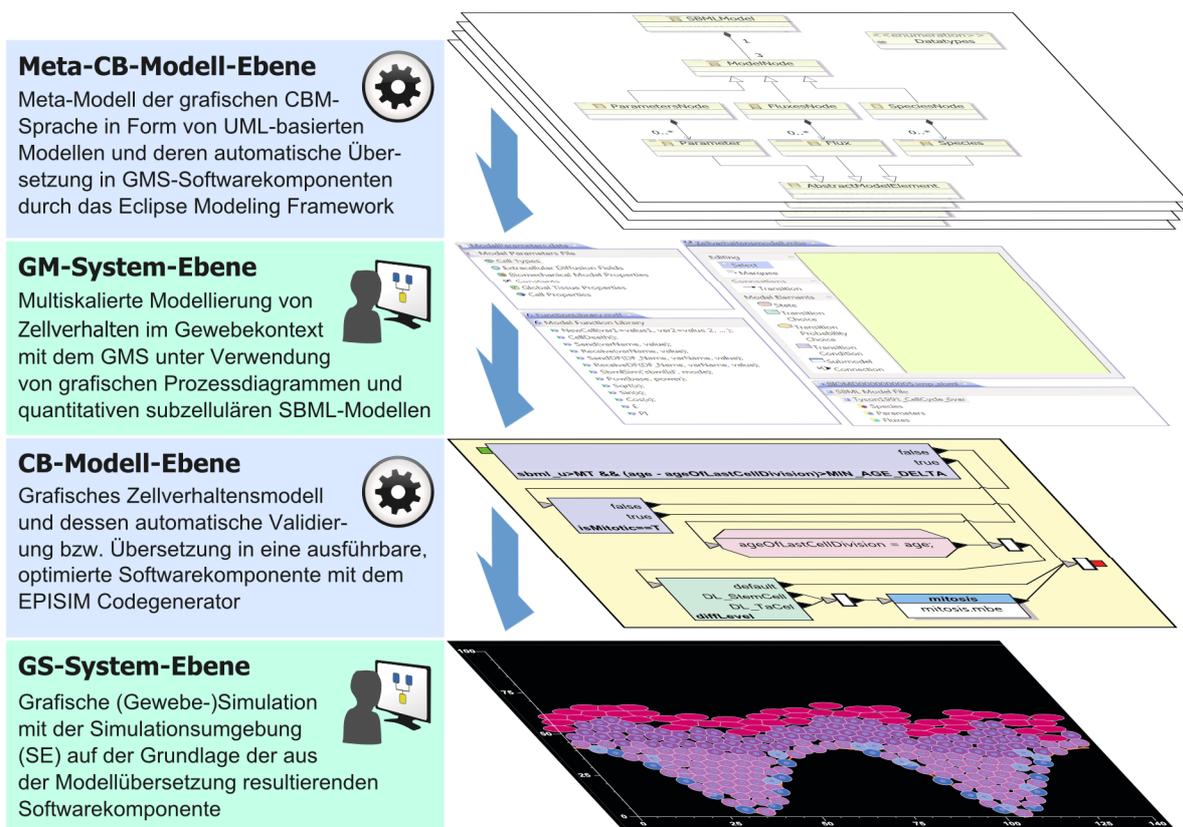


Abbildung 3.4: Mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept. In diesem Konzept werden zwei Modell- sowie zwei Systemebenen unterschieden, die einen mehrstufigen, modellgetriebenen Systementwicklungsprozess bilden. Auf der *Meta-CB-Modell-Ebene* werden die Komponenten des grafischen Modellierungssystems (GMS) modelliert, mit denen grafische Zellverhaltensmodelle (CBM) erzeugt werden können. Diese Komponenten bilden die *GM-System-Ebene* und werden automatisch zu erheblichen Teilen aus den grafischen Modellen erzeugt. Die CBMs entsprechen der *CB-Modell-Ebene*. Aus diesen wird automatisch eine lauffähige Softwarekomponente erzeugt, die für eine multiagentenbasierte Simulation des Gewebemodells benötigt wird, das aus dem CBM resultiert. Zusammen mit der Simulationsumgebung (SE) und den von ihr angebotenen Basismodellen und biomechanischen Modellen entspricht diese Softwarekomponente des CBMs der *GS-System-Ebene*.

visualisiert ist, hinsichtlich seiner beiden wesentlichen Attribute näher ausgeführt werden.

Modellgetriebene Systementwicklung

Im Rahmen einer modellgetriebenen Systementwicklung werden die statischen wie dynamischen Eigenschaften eines Software-Systems mit (meist grafischen) Modellen definiert und formalisiert (Domínguez et al. 2012). Aus diesen Modellen wird der Programmcode zu Teilen oder vollständig in einem automatisierten Prozess generiert. Gascueña et al. formulieren die Vorzüge der mo-

dellgetriebenen Entwicklung eines Software-Systems in vier Punkten (Gascueña et al. 2012):

1. Mehr Zeit kann in die Definition und Analyse der Modelle investiert werden.
2. Zeit für die Codierung des Software-Systems wird reduziert, da der Code teilw. oder vollständig generiert wird.
3. Die Qualität des entwickelten Software-Systems wird verbessert, da generierter Code i.d.R. fehlerfrei ist.

4. Produktivität erhöht sich, da die Zeit für die Codierung reduziert wird.

Insbesondere Punkt eins und drei skizzieren maßgebliche Gründe für die Wahl eines modellgetriebenen Ansatzes bei der Entwicklung des CMS. Die vier wesentlichen Komponenten des grafischen Modellierungssystems (GMS) sind mit grafischen Modellen entworfen worden. Der Code der Komponenten kann aus diesen Modellen zu erheblichen Teilen vollautomatisch erzeugt werden. Die so erzeugten Komponenten des GMS wiederum ermöglichen ihrerseits die Erzeugung von grafischen CBM. Wie in Abschn. 3.1.2 beschrieben, kommt den CBMs im Kontext der entwickelten modularen Gewebemodellarchitektur neben den biomechanischen Modellen eine zentrale Rolle zu. Die CBMs definieren ganz wesentlich die dynamischen Eigenschaften eines Gewebemodells und bestimmen somit das (lokale) Verhalten der Zellagenten in der multiagentenbasierten Gewebesimulation. Aus den grafischen CBMs wird vollautomatisch eine lauffähige Softwarekomponente, die für eine solche Simulation benötigt wird, durch das GMS erzeugt. So betrachtet ermöglicht das CMS durch das GMS die modellgetriebene Entwicklung von Softwarekomponenten für eine multiagentenbasierte Gewebesimulation. Dem Anwender wird durch diesen grafischen Ansatz ermöglicht, sich auf die Modellerstellung zu fokussieren, da die Erzeugung von lauffähigem Code vollautomatisch erfolgt. Ferner ist dieser Code vom GMS hinsichtlich Rechenzeit optimiert und auch bei umfangreichen Modellen fehlerfrei (s. Abschn. 3.3.2 u. 3.4.2). Der Ansatz entspricht der Weiterentwicklung des 2005 von Corradini et al. vorgestellten Konzepts, in dem das biologische Modell hinter der multiagentenbasierten Simulation zwar mit grafischen Diagrammen³⁷ formalisiert wird, der

Code aber zu weiten Teilen immer noch manuell erstellt werden muss (Corradini et al. 2005).

Die Definition (und Erzeugung) von lauffähigen Software-Systemen aus grafischen Modellen wird auch *grafische Programmierung* genannt. Die grafischen Modelle ersetzen in diesem Zusammenhang den herkömmlichen, textuellen Programmcode, der (im Verborgenen) automatisch erzeugt wird (Bjorkander 2000). Grafische Programmierung erlaubt zu weiten Teilen die Abstraktion von der konkreten technischen Realisierung eines Software-Systems. Hierdurch wird die Teilhabe oder Übernahme der Systementwicklung durch Personen (Anwender) ermöglicht, die keine einschlägigen Kenntnisse aus der Domäne der technischen Realisierung des Systems besitzen (Seward und Zied 2004). Aus diesem Grund stellt das GMS zur Modellerstellung eine grafische, domänenspezifische Sprache (DSL) bereit (s. Abschn. 3.2.1), die sich an einem Anwenderkreis mit keinen oder geringen Programmierkenntnissen richtet. Mit dieser grafischen Sprache können systembiologische, zellbasierte Gewebemodelle erzeugt werden, ohne sich mit der technischen Realisierung der Gewebesimulation basierend auf diesem Modell auseinandersetzen zu müssen.

Mehrstufige Systementwicklung

In dem entworfenen Systementwicklungskonzept (s. Abbildung 3.4) werden zwei Modell- sowie zwei Systemebenen unterschieden, die einen mehrstufigen, modellgetriebenen Systementwicklungsprozess definieren, wobei eine Modell- und eine Systemebene jeweils eine Stufe definieren.

Auf der Meta-Zellverhaltensmodell-Ebene (*Meta-CB-Modell-Ebene*) werden die vier wesentlichen Komponenten des GMS, die die Erstellung von grafischen Zellverhaltensmodellen (CBMs) ermöglichen, mit Modellen, basierend auf der Unified Modeling Language (UML), definiert. Aus diesen Modellen können mittels der Systeme-

³⁷ Bei Corradini et al. dient die Unified Modeling Language (UML) als grafische Modellierungssprache.

mentwicklungsumgebung Eclipse und dem Eclipse Modeling Framework (EMF)³⁸ automatisch zunächst sogen. Core-Modelle und aus diesen der Code der Softwarekomponenten zu weiten Teilen erzeugt werden (Näheres hierzu s. Abschn. 3.3.1). Die vier so erzeugten Softwarekomponenten ermöglichen: (i.) die Erzeugung von grafischen Prozessdiagrammen, (ii.) die Definition und Verwaltung der Modellparameter, (iii.) den Zugriff auf vordefinierte Funktionen und (iv.) den Zugriff auf die zentralen Parameter der importierten SBML-basierten subzellulären Modelle (SBML-Modelle). Wie in Abschn. 3.1.2 dargestellt, bilden die Modellelemente der grafischen Prozessdiagramme, die zur Verfügung stehenden Modellparameter(-typen) und vordefinierten Funktionen eine (grafische) Zellverhaltensmodellierungssprache. Die UML-Modelle der Meta-CB-Modell-Ebene entsprechen dem Modell dieser Sprache und somit einem Meta-Zellverhaltensmodell. Die UML-Diagramme, die die Zellverhaltensmodellierungssprache definieren, sind Bestandteil von Anhang A. Erweiterungen und Anpassungen an der Zellverhaltensmodellierungssprache werden über entsprechende Veränderungen am grafischen Meta-Modell realisiert. Die notwendigen Änderungen am Code der vier Softwarekomponenten zur grafischen CBM-Erstellung werden weitgehend automatisch vorgenommen. Dies ermöglicht eine effiziente und flexible Realisierung von neuen Anforderungen an die Zellverhaltensmodellierungssprache.

Aus den grafischen UML-Modellen der Meta-CB-Modell-Ebene konstituiert sich die *GM-System-Ebene*. Sie besteht aus dem GMS im Allgemeinen und den vier zuvor beschriebenen Softwarekomponenten des GMS im Besonderen, da diese mit dem EMF weitgehend automatisch aus den UML-Modellen erzeugt werden und den

Kern des GMS bilden. Das GMS ermöglicht wiederum die Erstellung sowie Validierung von grafischen Zellverhaltensmodellen. Diese Zellverhaltensmodelle (CBMs) entsprechen der *CB-Modell-Ebene*. Im Kontext der entwickelten modularen Gewebemodellarchitektur (s. Abschn. 3.1.2) ist ein CBM mit einem BM semantisch verknüpft. Ferner können DFs und SBML-Modelle semantisch in ein CBM integriert werden. Die Verknüpfung mit einem der von der Simulationsumgebung bereitgestellten BMs sowie die semantische Integration von SBML-Modellen und DFs wird ebenfalls mit dem GMS realisiert. Alle Teilmodelle bilden durch die semantische Verknüpfung ein multiskaliertes zellbasiertes Gewebemodell. Die technische Umsetzung dieses Modells als lauffähige multiagentenbasierte Gewebesimulation (GS) erfolgt mit dem Code-Generator, der eigens für das GMS entwickelt worden ist (s. Abschn. 3.3.2). Dieser übersetzt die grafischen Modelle der CB-Modellebene und das daraus resultierende Gewebemodell in eine lauffähige Softwarekomponente, die zusammen mit der Simulationsumgebung (SE) die *GS-System-Ebene* bildet. Die SE erlaubt auf Basis dieser Softwarekomponente die Durchführung einer multiagentenbasierten Gewebesimulation sowie die zielgerichtete Vorverarbeitung und Analyse der Simulationsergebnisse.

Die beiden vorgestellten Systemebenen entsprechen in ihrer Gesamtheit dem CMS. Jede dieser Systemebenen besitzt eine übergeordnete Modellebene, aus der Teile der darunterliegenden Systemebene automatisch erzeugt werden. Jede Modellebene erlaubt die Abstraktion von der technischen Realisierung der entsprechenden Systemebene. Dies wiederum erlaubt eine effiziente und flexible Anpassung und Erweiterung der Systemebenen. Dem Anwender des CMS stellen sich nur die beiden Systemebenen sowie die CB-Modell-Ebene dar. Die Realisierung dieser beiden Systemebenen, die den Softwaresystemen EPISIM Modeller und EPISIM Simulator ent-

³⁸ Das EMF ermöglicht die modellgetriebene Entwicklung von Software-Systemen und ist vielseitig einsetzbar (bspw. Gascueña et al. 2012; Paige und Varró 2012).

sprechen, ist Gegenstand der Abschnitte 3.2 und 3.3.

3.2 EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform

Die EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform (EPISIM Plattform) repräsentiert die Realisierung des in Abschnitt 3.1 vorgestellten Konzepts des ihm Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS. Im Folgenden soll auf die EPISIM Plattform und die von ihr angebotenen Funktionen zur Erstellung, Simulation und Ergebnis-Analyse eines multiskalierten zellbasierten Gewebemodells eingegangen werden. Dabei soll die Sicht des Anwenders auf die Plattform mit ihrem Funktionsangebot im Fokus der Betrachtungen stehen. Die technische Realisierung der EPISIM Plattform ist Gegenstand von Abschnitt 3.3.

Das CMS gliedert sich in das grafische Modellierungssystem und die Simulationsumgebung. Analog besteht die EPISIM Plattform aus den beiden Endanwender-Softwaresystemen EPISIM Modeller³⁹ und EPISIM Simulator⁴⁰. Diese sind frei verfügbar und werden auf der Webseite

<http://www.tiga.uni-hd.de/episim.html>

zum Download angeboten. Die EPISIM Plattform unterstützt die Betriebssysteme *Windows*, *Linux* und *Mac OS X*⁴¹. Die Installation von GMS und SE wird im Falle des Betriebssystems *Windows* vom grafischen Installationsassistenten unterstützt, der durch den Installationsvorgang führt. Für *Windows* wird eine ausführbare Installationsdatei bereitgestellt. Für *Linux* und *Mac OS X* wird eine Archivdatei angeboten, die nach dem Download lediglich entpackt werden muss.

³⁹ Der EPISIM Modeller entspricht dem GMS.

⁴⁰ Der EPISIM Simulator entspricht der SE.

⁴¹ Die genauen Versionen der unterstützten Betriebssysteme sind auf genannter Webseite angegeben.

3.2.1 Grafisches Modellierungssystem – EPISIM Modeller

Vier grafische Editoren bilden den Kern der Benutzeroberfläche des GMS (Abbildung 3.5) und des Systems als solchem:

1. Verwaltung der Modellparameter
2. Grafischer Editor zur Erstellung von Zellverhaltensmodellen
3. Editor für den Zugriff auf die Funktionsbibliothek
4. SBML-Modell-Editor für den Zugriff auf importierte, quantitative, subzelluläre Modelle (QSMs)

Diese Editoren sind entsprechend des modellgetriebenen Systementwicklungskonzepts unter Verwendung des Eclipse Modeling Frameworks erstellt worden (s. Abschn. 3.1.4). Näheres zu deren technischer Realisierung findet sich ferner in Abschnitt 3.3.1.

Neben diesen Editoren bietet das GMS einen Projekt-Navigator, der die Erstellung und Verwaltung verschiedener Modell-Projekte unterstützt. Ein Modell-Projekt entspricht in der Regel einem in sich abgeschlossenen (multiskalierten) Zellverhaltensmodell. Hierbei umfasst der Begriff Zellverhaltensmodell die Modellparameter, die u.U. importierten QSMs und die grafischen Prozessdiagramme, mit denen das Zellverhalten modelliert wird. Aus Gründen der verständlicheren Formulierung soll jedoch im Folgenden unter der Erstellung eines grafischen Zellverhaltensmodells die Erstellung eines grafischen Prozessdiagramms (GPD), das Zellverhalten abbildet, verstanden werden. Zellverhalten umfasst hier das biologische Verhalten einer individuellen Zelle in einem multizellulären Kontext. Dass zur Modellierung von Zellverhalten Modellparameter definiert und verwendet werden, wird im Folgenden nicht gesondert erwähnt.

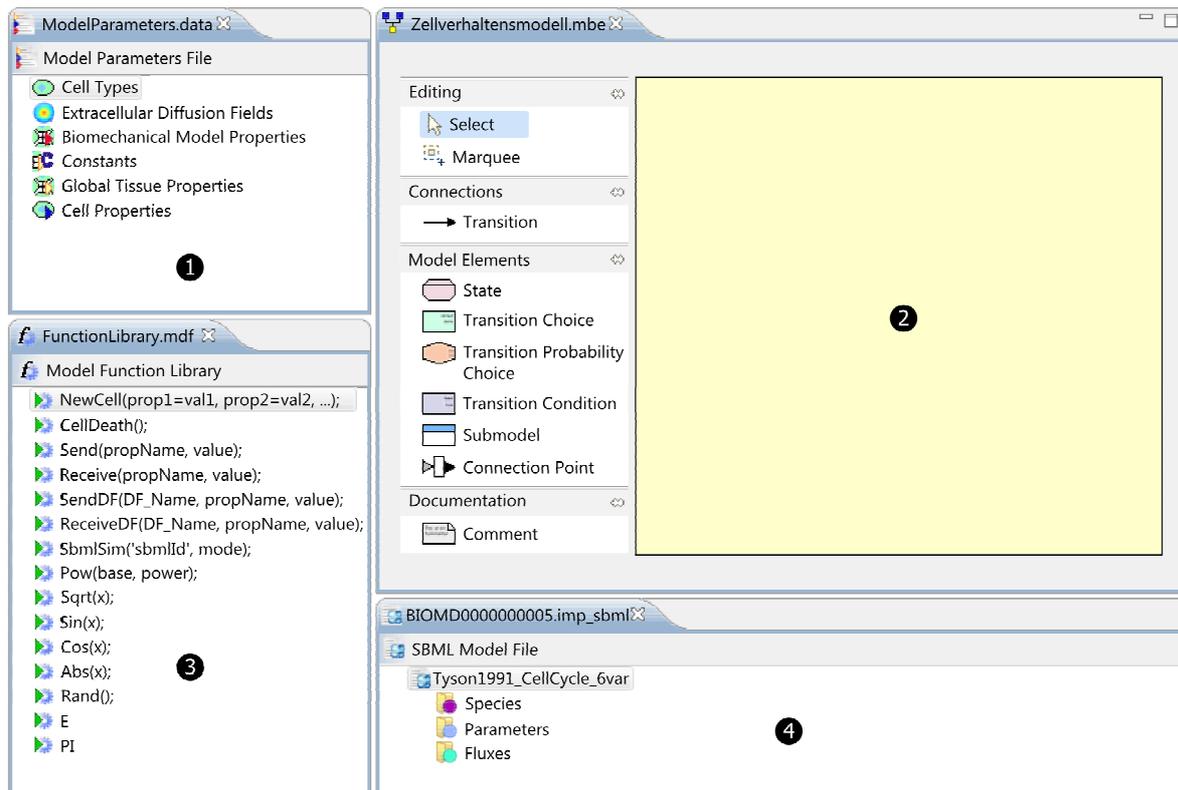


Abbildung 3.5: Grafisches Modellierungssystem EPISIM Modeller. Den Kern des grafischen Modellierungssystems bilden die vier Editoren: (1) Verwaltung der Modellparameter, (2) Grafischer Modelleditor für Zellverhaltensmodelle, (3) Funktionsbibliothek und (4) SBML-Modell-Editor.

In einem Modell-Projekt befinden sich immer eine *Modellparameter-Datei* und die *Funktionsbibliothek-Datei*, die seitens des GMS angelegt werden. Darüber kann eine beliebige Anzahl an *Modell-Dateien* (*EPISIM Modeller Model*) erzeugt werden. Jede dieser Modell-Dateien entspricht entweder einem kompletten grafischen CBM oder einem Submodell, das einen in sich abgeschlossenen funktionalen Aspekt des Gesamtmodells abdeckt. Schließlich kann ein Modell-Projekt eine beliebige Anzahl an SBML-basierten, importierten QSMS enthalten.

Zusätzlich bietet das GMS Funktionen zum automatischen Import, zur automatischen Validierung und zur automatischen Übersetzung von (Zellverhaltens-) Modellen. Auf diese Funktionen wird nach eingehender Betrachtung der Möglichkeiten der vier zentralen Editoren eingegangen.

Verwaltung der Modellparameter

Alle Parameter eines grafischen CBM werden in einer zentralen Modellparameter-Datei (*ModelParameters.data*) gespeichert. Wenn man extrazelluläre Diffusionsfelder als komplexe Modellparameter auffasst, werden innerhalb eines CBM sechs Modellparametertypen unterschieden, die in Tabelle 3.1 eingehend beschrieben sind. Die hierarchische Struktur der Modellparameter-Datei und damit auch der Modellparameter ergibt sich aus dem UML-Klassendiagramm des EMF-Modells des Editors in Abbildung A.4 im Anhang A (Näheres s. Abschn. 3.1.4).

Bezogen auf das CBM lassen sich die Modellparametertypen in die Kategorien *global* und *lokal* unterteilen.

Lokale Parameter Parameter eines lokalen Modellparametertyps werden auf Zellebene in-

stanziert, so dass jede Zelle einer zellbasierten Gewebesimulation eine individuelle Wertebelegung für die Parameter dieses Typs aufweisen kann. Lokale Modellparametertypen sind:

- Cell Properties
- Biomechanical Model Properties

Da Parameter eines lokalen Modellparametertyps zellindividuell sind, können deren Werte innerhalb eines grafischen CBM verändert werden. Für Biomechanical Model Properties muss einschränkend bemerkt werden, dass dies ausschließlich für Parameter möglich ist, die entweder nur eine Eingabe- bzw. eine Eingabe- u. Ausgabegröße des mit dem CBM verknüpften biomechanischen Modells sind (Näheres s. Abschn. 3.3.2 – Modell-Konnektor-Komponenten). Für Cell Properties können optional ein Minimal- bzw. ein Maximalwert definiert werden. Zur Simulationszeit wird seitens der SE die Einhaltung dieser Unter- bzw. Obergrenze für einen Parameter dieses Typs bei jeder Zuweisung eines neuen Werts überprüft und sichergestellt. Eine Referenzierung des Minimal- bzw. Maximalwerts innerhalb des CBM ist durch das Anhängen Suffix *_max* bzw. *_min* an den Parameternamen möglich.

Globale Parameter Den lokalen Modellparametertypen stehen die globalen Modellparametertypen gegenüber. Einen globalen Modellparametertyp zeichnet aus, dass er auf Gewebeebene instanziiert wird. Bei einem Parameter dieses Typs beziehen sich alle Zellen einer Gewebesimulation auf dieselbe Parameterinstanz und somit auf denselben Wert. Aus diesem Grund können diese Parameter nicht innerhalb eines CBM verändert werden, da sich die Veränderung des Parameterwerts durch eine individuelle Zelle auf das Verhalten aller Zellen des simulierten Gewebes auswirkt. Globale Modellparametertypen sind:

- Cell Types / Differentiation Levels
- Constants
- Global Tissue Properties

Die Mehrheit der globalen Modellparameter eines CBMs sind in der Regel vom Typ *Global Tissue Property*. Einem Spezialfall dieses Typs entspricht der Modellparametertyp *Constant*, der sich von Global Tissue Properties lediglich dadurch unterscheidet, dass sein in der Modellparameter-Datei festgelegter Wert zur Simulationszeit nicht verändert werden kann. Im Gegensatz dazu kann der Wert von Global Tissue Properties zu Beginn oder während einer Gewebesimulation mittels der SE verändert werden.

Wiederum einen Spezialfall eines Modellparameters vom Typ *Constant* stellen die Modellparametertypen *Cell Type* und *Differentiation Level* dar. Parameter dieses Typs besitzen keinen Wert, sondern lediglich einen Namen. Dabei ist ein Parameter vom Typ *Differentiation Level* immer einem vom Typ *Cell Type* hierarchisch untergeordnet. Jedes CBM besitzt verbindlich ein Cell Property namens *cellType* bzw. eines namens *diffLevel*. Ein Modellparameter des Typs *Cell Type* kann entsprechend nur der Cell Property *cellType* zugewiesen werden. Analog gilt dies für den Modellparametertyp *Differentiation Level* und die Cell Property *diffLevel*. Beide Cell Properties ermöglichen die Differenzierung des Zellverhaltens nach Zelltyp und Differenzierungsgrad innerhalb eines CBM. CellTypes und Differentiation Levels übernehmen die Funktion von Bezeichnern, mit deren Hilfe die verschiedenen Zellen in einer multizellulären Gewebesimulation und in dem damit in Verbindung stehenden Modell unterschieden werden können. Eine tiefere biologische Semantik liegt einem Zelltyp oder einem Differenzierungsgrad innerhalb eines CBM nicht zugrunde. Diese ergibt sich erst durch die Verwendung im Modell.

Tabelle 3.1: Modellparametertypen eines grafischen Zellenverhaltensmodells. Die Mehrheit der Modellparametertypen ist komplex, d.h. ihnen kann bzw. muss eine Menge von konkreten Parameterwerten zugeordnet werden. In einem CBM kann jeweils eine beliebige Anzahl von Modellparametern eines bestimmten Modellparametertyps definiert werden. Ein Modellparametertyp kann die Festlegung eines der folgenden Datentypen erfordern: (i.) Ganzzahl (int), (ii.) Gleitkommazahl (double) oder (iii.) Boolescher Wert (boolean).

Modell-parametertyp	Zugeordnete Parameterwerte	Beschreibung
Cell Type	Name	Einem Zelltyp können eine beliebige Anzahl an Differenzierungsgraden untergeordnet werden. Ein Zelltyp kann nur der Zelleigenschaft <i>cellType</i> , die jede Zelle notwendigerweise besitzt, zugewiesen werden. Jeder Zelle muss ein Zelltyp zugewiesen werden.
Differentiation Level	Name	Ein Differenzierungsgrad kann nur der Zelleigenschaft <i>diffLevel</i> zugewiesen werden, die ebenfalls für jede Zelle definiert ist. Einer Zelle muss nicht zwingend ein Differenzierungsgrad zugewiesen werden.
Extracellular Diffusion Field	Name Default Concentration, Maximum Concentration, Minimum Concentration, Diffusion Coefficient, Degradation Coefficient, Lattice Spacing in Mikron, Delta Time in Seconds per Iteration, Number of Iterations per CBM Sim Step	Ein extrazelluläres Diffusionsfeld simuliert die sich aus Diffusion, Sekretion, Absorption und Abbau ergebende räumliche Verteilung eines Stoffes in einem extrazellulären Raum. Jedes Diffusionsfeld besitzt eine Standard-, eine Maximal- und eine Minimalkonzentration des Stoffes ohne vorgegebene Einheit. Das Feld wird mit der Standardkonzentration initialisiert. Die lokale Einhaltung der Maximal- bzw. Minimalkonzentration bei Sekretions- und Absorptionsprozessen der Zellen wird seitens der SE sichergestellt. Ferner zu definieren sind der Diffusionskoeffizient D in m^2/s und der Zerfalls- bzw. Abbaukoeffizient in s^{-1} . Die räumliche Auflösung des Simulationsgitters Δ_{lat} wird in μm festgelegt. Die Abbildung von CBM-Simulationsschritten auf Sekunden erfolgt einerseits über die Festlegung der Anzahl an Iterationen, die pro CBM-Simulationsschritt für das Diffusionsfeld berechnet werden sollen, und andererseits über die einer solchen Iteration zugeordneten Zeitspanne in s . Näheres siehe Abschn. 4.1.2.
Global Tissue Property	Name, Data Type, Value	Globale Gewebeeigenschaften repräsentieren Modellparameter, auf deren Werte sich alle Zellen einer Gewebesimulation beziehen. Eine einzelne Zelle kann solch einen Wert nicht verändern. Als Konsequenz hieraus können globale Gewebeparameter nicht innerhalb eines CBM verändert, sondern lediglich referenziert werden. Globale Gewebeparameter können in der SE vor oder während der Simulation interaktiv verändert werden.
Constant	Name, Data Type, Value	Konstanten entsprechen globalen Gewebeparametern mit konstantem Wert. GMS und SE stellen sicher, dass diese Werte nicht verändert werden können.
Cell Property	Name, Data Type, Default, Maximum, Minimum	Zelleigenschaften repräsentieren Modellparameter, die in jeder Zelle der Gewebesimulation mit individuellen Werten belegt werden können. Zelleigenschaften besitzen einen Standardwert. Ferner kann optional ein Maximal- und ein Minimalwert festgelegt werden.
Biomechanical Model Property	Name, Data Type, Default	Die Parameter des biomechanischen Modells sind fest vorgegebene Zelleigenschaften und entsprechen den Eingabe- bzw. Ausgabegrößen des biomechanischen Modells, mit dem das Zellverhaltensmodell mittels des GMS verknüpft worden ist. Für jeden dieser Parameter ist individuell festgelegt, ob er nur referenziert oder auch verändert werden kann.

Extrazelluläres Diffusionsfeld Streng genommen ist ein DF, das durch einen Modellparameter des Typs *Extracellular Diffusion Field* repräsentiert wird, weder ganz in die Kategorie lokale noch ganz in die Kategorie globale Parameter einzuordnen. Ein DF ist insofern global, als dass es den gesamten Simulationsraum und damit das gesamte simulierte Gewebe durchdringt (s. Abschn. 4.1.2). Die Bezugnahme auf ein DF innerhalb eines CBM ist jedoch lokal, da eine Zelle nur jenen Teil eines DF wahrnehmen kann, der sich mit ihr räumlich überschneidet. In der Modellparameter-Datei wird ein DF definiert und konfiguriert (s. Tabelle 3.1). Bezug genommen wird auf ein DF in einem CBM mit den Funktionen *SendDF* bzw. *ReceiveDF* der Funktionsbibliothek (s. Tabelle 3.3).

Automatische Namensraumüberwachung

Eine automatische Überwachung der Validität des Namensraums des kompletten Zellverhaltensmodells ist zur Unterstützung des Anwenders realisiert worden. Der Namensraum entspricht der Menge aller Parameternamen, die in der Modellparameter-Datei definiert sind. Eine Grundanforderung an diesen Namensraum ist seine Konfliktfreiheit, d.h. die Eindeutigkeit eines jeden Parameternamens. Bei der Definition eines Modellparameters beliebigen Typs werden die Eindeutigkeit des Parameternamens und die Einhaltung der Namensregeln für diesen Modellparameter typ automatisch überprüft. Namensraumkonflikte werden automatisch durch das Anhängen einer Nummer als Suffix an den neu definierten Parameternamen gelöst. Als Nummer wird initial die 1 gewählt. Erzeugt das Anhängen dieses Suffix einen neuen Namensraumkonflikt, wird die Nummer schrittweise um eins inkrementiert bis ein Suffix gefunden worden ist, das keinen Namensraumkonflikt hervorruft.

Zweiter Bereich der automatischen Namensraumüberwachung ist die Sicherstellung der Einhaltung folgender Namensregeln:

- Name eines Parameters des Typs *Cell Type* beginnt immer mit dem Präfix *CT_*.
- Name eines Parameters des Typs *Differentiation Level* beginnt immer mit dem Präfix *DL_*.
- Name eines extrazellulären Diffusionsfelds beginnt immer mit dem Präfix *DF_*.
- Name eines Parameters des Typs *Constant* besteht ausschließlich aus Großbuchstaben.
- Erster Buchstabe des Namens eines Parameters des Typs *Global Tissue Property* oder *Cell Property* ist immer ein Kleinbuchstabe.
- Kein Parametername beginnt mit dem geschützten Präfix *n_* bzw. endet mit den geschützten Suffix *_max* oder *_min*.

Die Parameternamen werden automatisch korrigiert, wenn eine oder mehrere Namensregeln verletzt werden. Automatische Korrekturen werden in für den Anwender transparenter Weise vorgenommen. Die vorgeschriebenen Suffixe bzw. Schreibweisen von Parameternamen haben technische Gründe⁴² und dienen gleichzeitig der besseren Unterscheidbarkeit der Parameter verschiedenen Typs innerhalb eines GPD. Auf das geschützte Präfix bzw. die geschützten Suffix wird im unmittelbar folgenden Abschnitt näher eingegangen.

Grafischer Editor zur Erstellung von Zellverhaltensmodellen

Zellverhalten wird mittels des GMS und dem hierfür entwickelten grafischen Editor in Form von GPD modelliert. Ein *komplettes Zellverhaltensmodell* formalisiert das Verhalten aller Zellen bzw. Zelltypen des modellierten Gewebes oder

⁴² Die automatische Modellvalidierung und -übersetzung bedient sich eines LL(k)-Parsers, in dessen Grammatik diese Annahmen erforderlich waren.

allg. des multizellulären Systems. Solch ein komplettes Zellverhaltensmodell besitzt i.d.R. eine hierarchische Struktur und setzt sich aus mehreren Submodellen zusammen. Jedes dieser Submodelle deckt einen in sich abgeschlossenen (biologisch-)funktionalen Aspekt des Gesamtmodells ab und wird in einer eigenen Modell-Datei innerhalb eines Modell-Projekts gespeichert. Jedes Submodell entspricht einem validen GPD, das mit Hilfe der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Zellverhaltensmodellierungssprache erstellt worden ist. Die grafischen Elemente der Zellverhaltensmodellierungssprache sind in Tabelle 3.2 aufgeführt und beschrieben. Das Meta-Modell dieser grafischen Modellierungssprache, dargestellt in Abbildung A.3 im Anhang A, entspricht dem EMF-Modell des grafischen Modelleditors. Dieses Meta-Modell stellt die formale Beschreibung der möglichen Transitionen zwischen den grafischen Modellelementen dar.

Mit Ausnahme der Modellelemente *Edge* bzw. *Comment* besitzen alle Modellelemente genau einen Eingang (engl. *input port*) und einen oder mehrere Ausgänge (engl. *output ports*). Diese Modellelemente entsprechen den Modellknoten (engl. *model nodes*) des GPD. Genau ein Modellknoten entspricht dem *Startelement* des GPD. Das Startelement entspricht dem Einstiegspunkt in ein GPD. Aus diesem Grund wird der Eingang des Startelements blockiert und kann mit keiner eingehenden Transition verbunden werden. Analog entspricht genau ein Modellelement dem terminalen *Endelement* des GPD bei dem alle Ausgänge blockiert sind. Um ein valides GPD zu erhalten sind vom Anwender das Start- und das Endelement zu bestimmen.

Die funktionalen Modellelemente⁴³ eines GPD lassen sich wie folgt kategorisieren:

- Verzweigung
(Transition Condition, Transition Choice, Transition Probability Choice)
- Vereinigung
(Connection Point)
- Zellzustandsänderung
(State, Edge)

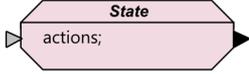
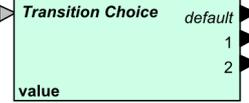
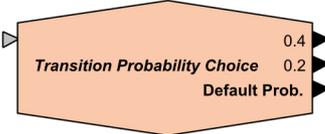
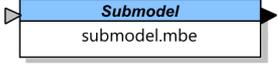
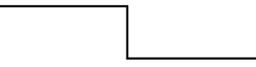
Verzweigung Ein Modellelement der Kategorie Verzweigung besitzt einen Eingang und mindestens zwei Ausgänge. Mit dem Modellelement *Transition Condition* lässt sich eine *dichotome Verzweigung* auf der Grundlage eines Booleschen Ausdrucks realisieren. Zur Formulierung desselben können sämtliche Modellparameter sowie die gängigen Booleschen und relationalen Operatoren verwendet werden. Mit einer *Transition Choice*, die mindestens zwei Ausgänge besitzt, kann eine *wertebasierte Verzweigung* realisiert werden. Verzweigt wird auf der Grundlage eines Modellparameterwerts oder des Ergebnisses eines arithmetischen Ausdrucks bestehend aus Modellparametern. Das *Transition Probability Choice* Element erlaubt die stochastische Verzweigung auf der Grundlage von beliebigen Raten, die den Ausgängen zugeordnet sind. Zur Simulationszeit werden die Raten automatisch in Wahrscheinlichkeiten umgerechnet, mit denen einer der Ausgänge in einem Zufallsexperiment gewählt wird. Bei n Ausgängen ($n > 1$), denen numerische Werte in Form von Raten $R_i > 0$ ($i = 1 \dots n$) zugeordnet sind, besitzt Ausgang i die Wahrscheinlichkeit $P(X = i)$, gewählt zu werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass Ausgang i in einem SiSt das Ergebnis des einstufigen Zufallsexperiments ist, berechnet sich wie folgt:

$$P(X = i) = \frac{R_i}{\sum_{j=1}^n R_j + R_{\text{def}}} \quad (2.3)$$

⁴³ Das Modellelement *Comment* ist in diesem Sinne kein funktionales Modellelement eines GPD und nur insofern Bestandteil des Modells, als dass es dem Anwender dazu

dient, die Modellsemantik zu dokumentieren bzw. zu erläutern.

Tabelle 3.2: Elemente der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache. Jedes Modellelement besitzt genau einen Eingang und einen oder mehrere Ausgänge (dargestellt durch kleine Dreiecke).

Modellelement	Symbol	Beschreibung
State		Erlaubt die Definition einer Menge von Aktionen, die bei Erreichen dieses Modellelements zur Simulationszeit sequentiell ausgeführt werden. Eine Aktion kann die (numerische) Modifikation einer Zelleigenschaft oder den Aufruf einer vordefinierten Funktion für z.B. Zellteilung, Sekretion bzw. Absorption etc. umfassen.
Transition Choice		Verzweigung auf der Grundlage des Werts einer Zelleigenschaft, eines globalen Gewebeparameters oder allg. eines mathematischen Ausdrucks (<i>value</i>). Das Modellelement erlaubt die Definition einer beliebigen Anzahl an Ausgängen, die während der Simulation entsprechend des ihnen zugeordneten Werts gewählt werden. Der Ausgang <i>default</i> wird gewählt, wenn <i>value</i> keinem der Werte eines der anderen Ausgänge entspricht.
Transition Probability Choice		Verzweigung auf Basis von Raten, die einem Ausgang zugeordnet sind. Es kann eine beliebige Zahl von Ausgängen definiert werden. Die Raten werden zur Simulationszeit in Wahrscheinlichkeiten, mit der einer der Ausgänge auf der Grundlage eines Zufallsexperiments ausgewählt wird, umgerechnet.
Transition Condition		Binäre Verzweigung auf der Grundlage der Auswertung eines Booleschen Ausdrucks (<i>condition</i>)
Submodel		Referenziert ein Submodell und erlaubt damit die Implementierung einer hierarchischen Modellstruktur. Das Gesamtmodell kann auf eine beliebige Anzahl von Modelldateien verteilt werden. Semantisch bildet jedes Submodell einen in sich abgeschlossenen funktionellen Aspekt des Gesamtmodells ab.
Connection Point		Der Eingang eines Modellelements kann nur mit genau einem Ausgang eines anderen Modellelements verbunden werden. Die Ausnahme bildet der Eingang des Modellelements Connection Point, der die Vereinigung mehrerer Transitionen zu einer einzigen ermöglicht.
Edge		Verbindet einen Ausgang eines Modellelements mit dem Eingang eines anderen Modellelements und etabliert damit eine Transition zwischen denselben.
Comment		Erlaubt die Platzierung von Erläuterungen oder Kommentaren zur Modellsemantik innerhalb des Modells.

Optional kann einem Modellelement diesen Typs ein Standardausgang hinzugefügt werden, dem automatisch die Rate R_{def} zugeordnet ist. In Gleichung (2.3) ist $R_{\text{def}} = 0$, wenn der Standardausgang nicht hinzugefügt worden ist. Andernfalls gilt:

$$R_{\text{def}} = \begin{cases} 1 - \sum_{j=1}^n R_j & \text{für } \sum_{j=1}^n R_j < 1 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (2.4)$$

Dem Standardausgang kommt somit nur eine Bedeutung zu, wenn die Summe der Raten der anderen Ausgänge kleiner als eins ist.

Vereinigung Der Eingang eines Modellelements kann mit genau einem Ausgang eines anderen Modellelements mittels des Modellelements *Edge* verbunden sein. Das Modellelement bildet an dieser Stelle eine Ausnahme. Mit seinem Eingang kann eine beliebige Anzahl von Ausgängen von nicht notwendigerweise verschiedenen Modellelementen verbunden sein. Somit erlaubt dieses Modellelement die grafische Vereinigung mehrerer Transitionen zu einer einzigen.

Zellzustandsänderung Der Begriff *Zellzustand* beschränkt sich im Rahmen eines CBM nicht auf die makroskopischen biologischen Zellzustände bzw. -prozesse *Proliferation*, *Differenzierung*, *Migration* sowie *Zelltod* (Hwang et al. 2009) und den damit zusammenhängenden zellulären Eigenschaften wie bspw. die Änderung der Zellpolarität. Vielmehr wird dieser Begriff genereller und abstrakter interpretiert. Der Zustand einer Zelle entspricht bei n zellindividuellen Modellparametern einem n -Tupel bestehend aus den Werten dieser Parameter. Somit entspricht jede Werteveränderung eines zellindividuellen Parameters einer Zellzustandsänderung.

Die Modellierung von Zellzustandsänderungen mit biologischer Semantik, bspw. ausgelöst durch biochemische Prozesse wie das Aktivieren einer Signaltransduktionskaskade (Miller-Jensen et al. 2007), ist sicherlich ein zentraler Anwendungsfall für grafische CBMs. Jedoch muss nicht jede Zellzustandsänderung einen unmittelbaren Zusam-

menhang mit der Änderung des biologischen Zellzustands aufweisen. Die Veränderung des Zellzustands im abstrakteren Sinne erfordert die Definition einer *Aktion*. Das Modellelement *State* erlaubt die Definition einer beliebigen Anzahl von Aktionen, die jede für sich eine Änderung des Zellzustands bedeutet. Eine einzelne Aktion kann einer Transition und damit einem Modellelement des Typs *Edge* zugewiesen werden.

Definition von Aktionen Eine vollständige Aktion besteht entweder aus der *Zuweisung eines neuen Werts* an einen zellindividuellen Modellparameter⁴⁴ oder dem *Aufruf einer Funktion*⁴⁵ aus der Funktionsbibliothek. Der Wert, der einem zellindividuellen Modellparameter zugewiesen wird, kann das Ergebnis eines komplexen arithmetischen Ausdrucks sein, in dem alle globalen und lokalen Modellparameter vertreten sein können, die einem numerischen Wert entsprechen. Ferner können die mathematischen Funktionen / Konstanten der Funktionsbibliothek (Tabelle 3.3, Nr. 8–15) Bestandteil eines arithmetischen Ausdrucks sein.

Definition iterativer Prozesse Innerhalb eines GPD ist die Definition iterativer Prozesse nur mit Einschränkungen vorgesehen. Das explizite Definieren von Zyklen innerhalb eines Modellgraphen wird seitens des GMS automatisch unterbunden, um Endlosschleifen vorzubeugen, die zum Zeitpunkt der Modellerstellung nur bedingt absehbar sind. Einen vordefinierten iterativen Prozess bieten die Funktionen *Send* und *Receive* der Funktionsbibliothek, die die Modellierung von Zell-Zell-Kommunikation bzw. gerichtetem

⁴⁴ In Frage kommen die lokalen Modellparameter des Typs Cell Property und des Typs Biomechanical Model Property, sofern letztere Eingabegrößen des biomechanischen Modells sind.

⁴⁵ Lediglich der Aufruf der Funktionen 1–7 der Funktionsbibliothek (s. Tabelle 3.3) entspricht einer vollständigen Aktion. Die übrigen Funktionen können nur im Zusammenhang mit einer Wertzuweisung eine vollständige Aktion bilden.

Stoffaustausch mit den unmittelbar angrenzenden Nachbarzellen ermöglichen (Näheres s. Abschn. 4.1.1).

In Booleschen und arithmetischen Ausdrücken kann der Wert der zellindividuellen Modellparameter aller Nachbarzellen lesend referenziert werden. Dies geschieht durch Voranstellen des Präfix *n_* vor den Parameternamen. Eine solche Bezugnahme erfordert die iterative Ausführung von Teilen eines konkreten GPD. Diese Iteration wird zur Simulationszeit automatisch erzeugt. Konkret bedeutet dies, dass, wenn in einem funktionalen Modellelement eines GPD der Wert eines zellindividuellen Parameters der Nachbarzellen referenziert wird, von diesem Modellelement an der verbleibende Rest des GPD bei *N* Nachbarzellen *N*-mal innerhalb eines Simulationsschritts durchlaufen wird. Konkrete Beispiele hierfür finden sich in Abschnitt 4.3.1 und 4.4.4.

Funktionsbibliothek

Die flexibel erweiterbare Funktionsbibliothek des GMS stellt Funktionen zur Verfügung, die zur Definition von Aktionen bzw. Booleschen und arithmetischen Ausdrücken herangezogen werden können. Die gegenwärtig vom GMS angebotenen Funktionen sind in Tabelle 3.3 eingehend beschrieben.

Die Funktionen 1–7 in Tabelle 3 entsprechen einer vollständigen Aktion, so dass diese nur im Zusammenhang mit einem Modellelement des Typs *State* bzw. *Edge* verwendet werden können. Den *Send(DF)*- und *Receive(DF)*-Funktionen (3–7) liegen Basismodelle der SE zugrunde, die bei Bedarf flexibel ausgetauscht werden könnten. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten und verwendeten Basismodelle sind Gegenstand von Abschnitt 4.1.1 bzw. Abschnitt 4.1.2.

Die mathematischen Funktionen / Konstanten (8–15) können innerhalb eines Booleschen bzw. arithmetischen Ausdrucks Verwendung finden. Somit können diese nicht nur im Rahmen einer Zellzustandsänderung durch eine Aktion, sondern auch in den verzweigenden Modellelemen-

ten des Typs *Transition Condition* bzw. *Transition Choice* zum Einsatz kommen.

SBML-Modell-Editor

QSMs, die im Bereich der Systembiologie verbreiteten Modellstandard SBML vorliegen (Hucka et al. 2003, 2004), können mit dem GMS importiert und semantisch in ein CBM integriert werden. Zu diesem Zweck werden die aus einem CBM semantisch referenzierbaren Größen des SBML-basierten QSMs (SBML-Modell) während des Import-Vorgangs extrahiert und in einer separaten Datei gespeichert, die mit dem SBML-Modell-Editor des GMS geöffnet werden kann⁴⁶.

Die in einem SBML-Modell definierten *Reactions* werden im SBML-Modell-Editor als *Fluxes* aufgeführt⁴⁷, weil nur der während der Simulation von einer Reaktion erzeugte molekulare Fluss referenziert werden kann. *Species*, *Parameters* und *Reactions* eines importierten SBML-Modells zählen zu den zellindividuellen Modellparametern eines CBM und können innerhalb eines GPD in Booleschen wie arithmetischen Ausdrücken über ihren Namen lesend referenziert werden. Ferner kann *Species* und *Parameters* in einer Aktion ein neuer Wert zugewiesen werden. Diesen kann darüber hinaus im SBML-Modell-Editor ein Initialwert zugewiesen werden, der von dem in der originalen SBML-Modell-Datei, die für die Zeitverlauf-Simulation (engl. *time course simulation*) verwendet wird, abweicht. Es kann eine beliebige Anzahl an SBML-Modellen importiert und in ein CBM semantisch integriert werden.

⁴⁶ Konkret sind dies die definierten *Species*, *Parameters* und *Reactions*. Näheres zu diesen Größen eines SBML-Modells und zum SBML-Standard selbst siehe Abschn. 2.2.2.

⁴⁷ Diese Namensgebung ist in Anlehnung an eine entsprechende Namensgebung in COPASI erfolgt. Siehe hierzu auch COPASI *Reactions*. *Reactions*, URL: <http://www.copasi.org/tiki-index.php?page=OD.Reactions> [Stand 26.01.2014, 14:05].

Tabelle 3.3: Funktionsbibliothek des GMS. Die in der Bibliothek enthaltenen Funktionen können u.a. in Form einer *Aktion* im Modellelement *State* bzw. *Edge* aufgerufen werden. Die Funktionen 3–7 verändern den Wert eines Modellparameters des Typs *Cell Property* (CP).

Nr.	Funktionsname	Beschreibung
1	NewCell(<i>prop1=val1, prop2=val2, ...</i>)	Veranlasst die Teilung einer Zelle. Der Tochterzelle können initiale Werte für deren Zelleigenschaften übergeben werden.
2	CellDeath()	Leitet Zelltod ein. Die betroffene Zelle wird aus der Gewebesimulation entfernt.
3	Send(<i>propName, value</i>)	Senden der Menge <i>value</i> der CP <i>propName</i> an die Nachbarzellen. Das Modell, das dieser Funktion zugrunde liegt, ist in Abschnitt 4.1.1 beschrieben.
4	Receive(<i>propName, value</i>)	Anfordern der Menge <i>value</i> der CP <i>propName</i> von den Nachbarzellen. Das Modell, das dieser Funktion zugrunde liegt, ist in Abschnitt 4.1.1 beschrieben.
5	SendDF(<i>DF_Name, propName, value</i>)	Sekretion von Menge <i>value</i> des Stoffs (CP) <i>propName</i> im Rahmen der Simulation des extrazellulären Diffusionsfelds <i>DF_Name</i> . Das Modell, das dieser Funktion zugrunde liegt ist, in Abschnitt 4.1.2 beschrieben.
6	ReceiveDF(<i>DF_Name, propName, value</i>)	Absorption der Menge <i>value</i> des Stoffs (CP) <i>propName</i> im Rahmen der Simulation des extrazellulären Diffusionsfelds <i>DF_Name</i> . Das Modell, das dieser Funktion zugrunde liegt, ist in Abschnitt 4.1.2 beschrieben.
7	SbmlSim('sbmlId', <i>mode</i>)	Startet oder stoppt die Simulation eines importierten SBML-basierten, subzellulären Modells <i>sbmlId</i> . Das Starten oder Stoppen der SBML-Modell-Simulation geschieht im Rahmen einer Gewebesimulation zellbezogen und nicht global.

8	Pow(<i>base, power</i>)	Berechnet für die Basis <i>b</i> und den Exponenten <i>p</i> die Potenz b^p .
9	Sqrt(<i>x</i>)	Berechnet die Quadratwurzel \sqrt{x} .
10	Sin(<i>x</i>)	Berechnet $\sin(x)$.
11	Cos(<i>x</i>)	Berechnet $\cos(x)$.
12	Abs(<i>x</i>)	Berechnet $ x $.
13	Rand()	Entspricht der Realisierung einer stetigen Zufallsvariablen <i>Z</i> , die auf dem halboffenen Intervall $[0, 1)$ gleichverteilt ist.
14	E	Eulersche Zahl <i>e</i>
15	PI	Zahl π

Die quantitative zellindividuelle Zeitverlauf-Simulation eines konkreten SBML-Modells wird im Rahmen der multiagentenbasierten Gewebesimulation von COPASI⁴⁸ (Hoops et al. 2006) übernommen. Diese Simulation erfolgt mit der originalen SBML-Modell-Datei und nicht mit jener, die während des Import-Vorgangs für den SBML-Modell-Editor des GMS erzeugt worden ist (näheres s. Abschn. 3.3.1). Die Zeitverlauf-Simulation kann individuell für jedes importierte SBML-Modell über den SBML-Modell Editor konfiguriert werden. Definiert werden kann:

- *Absolute Error Tolerance*: absolute Fehlertoleranz (Parameter des deterministischen LSODA-Integrators)
- *Relative Error Tolerance*: relative Fehlertoleranz (s.o.)
- *No Of Time Units Per Simstep*: Abbildung der Zeitskala eines Simulationsschritts der Gewebesimulation auf die Zeitskala eines SBML-Modells (s. Parameter k_{t_mapped} in Abschn. 3.1.3)
- *No Of Points Per CBM Simstep*: Anzahl zu berechnender Datenpunkte pro Simulationsschritt der Gewebesimulation (s. Parameter Δt_{point} in Abschn. 3.1.3)

Modellimport

Das GMS bietet drei Möglichkeiten externe Modelle zu importieren und in ein CBM zu integrieren:

1. Import (Export) von EPISIM-Modell-Projekten
2. Import von biomechanischen Modellen
3. Import von SBML-Modellen

Der Import bzw. Export eines ganzen *EPISIM-Modell-Projekts* erlaubt den Austausch von kompletten CBMs zwischen den Anwendern der EPISIM Plattform.

Import von biomechanischen Modellen Dieser Vorgang entspricht streng genommen nicht dem Import eines ganzen BM, sondern lediglich der Verknüpfung von CBM und BM über die BM-Modell-Konnektor-Komponente (Näheres zur technischen Umsetzung s. Abschn. 3.3.1). Durch die Auswahl eines der zur Verfügung stehenden BMs (s. Abschn. 4.2) wird die Verknüpfung von CBM und BM automatisch realisiert. Die von einem BM angebotenen Eingabe- und Ausgabegrößen, die von einem CBM referenziert werden können, werden nach erfolgreicher Verknüpfung in der Modellparameter-Datei gespeichert und sind unter *Biomechanical Model Properties* aufgeführt.

Standardmäßig ist jedes CBM zunächst mit dem zweidimensionalen gitterfreien BM der SE verknüpft (s. Abschn. 4.2.1). Bei der Verknüpfung mit einem anderen BM werden die Parameter des zuvor verknüpften Modells aus der Modellparameter-Datei entfernt und durch die neuen ersetzt.

Import von SBML-Modellen Der Import eines SBML-basierten QSM gliedert sich in fünf Schritte:

1. Einlesen der SBML-Modell-Datei
2. Extraktion aller *Species*, *Reactions* und *Parameters* (SBML-Modell-Elemente)
3. Konvertierung *lokaler Parameters* in *globale Parameters*
4. Automatische Auflösung von Namensraumkonflikten
5. Speicherung der extrahierten SBML-Modell-Elemente in einer separaten Datei, die mit dem SBML-Modell-Editor kompatibel ist.

⁴⁸ Für die Zeitverlauf-Simulation eines SBML-Modells wird der von COPASI angebotene deterministische LSODA-Integrator (Petzold 1983) verwendet.

Lokale Parameter werden in globale Parameter konvertiert, damit sie aus einem CBM heraus referenziert werden können. Generell ist dies jedoch nur für SBML-Modell-Elemente möglich, die, bezogen auf ein komplettes SBML-Modell und die Gesamtheit aller importierten SBML-Modelle, einen eindeutigen Namen besitzen. Da sich der Definitionsbereich eines lokalen Parameters auf ein SBML-Modell-Element des Typs *Reaction* beschränkt, ist die Möglichkeit von mehreren lokalen Parameters mit demselben Namen innerhalb eines SBML-Modells gegeben. Im Fall eines Namenskonflikts bei der Konvertierung von lokalen in globale Parameters, bezogen auf ein SBML-Modell, wird ein numerisches Suffix an den Namen angehängt. Bei der Extraktion der SBML-Modell-Elemente wird dem Namen jedes Elements das Präfix *sbml_* vorangestellt, um diese im grafischen CBM kenntlich zu machen und von den anderen Modellparametern namentlich abzugrenzen.

Während des Import-Vorgangs werden Namensraumkonflikte mit anderen bereits importierten SBML-Modellen automatisch detektiert und behoben, was ebenfalls durch Anhängen eines numerischen Suffix geschieht⁴⁹. Dies ermöglicht bspw. den Import unterschiedlicher Versionen desselben oder eines ähnlichen SBML-Modells. Die originalen Namen in der SBML-Modell-Datei bleiben erhalten. Diese wird lediglich verändert, wenn lokale in globale Parameters konvertiert werden müssen.

Modellvalidierung und -übersetzung

Das GMS unterstützt durch die entwickelte automatische Modellvalidierung den Anwender in der Erstellung valider grafischer CBMs, die erfolgreich in ausführbaren Code übersetzt werden

können. Die automatische Modellvalidierung umfasst die Modelleigenschaften:

- Vollständigkeit
- Eindeutigkeit
- Zyklentreiheit
- Syntaktische Korrektheit
- Semantische Korrektheit von Zuweisungen

Vollständigkeit Ein CBM ist vollständig, wenn die Eingänge eines jeden Modellelements mit einem Ausgang eines anderen Modellelements verbunden sind⁵⁰. Darüber hinaus muss in jedem Modellelement des Typs *State* mindestens eine Aktion, in jedem Modellelement des Typs *Transition Condition* eine Boolescher Ausdruck und in jedem Modellelement des Typs *Transition Choice* eine numerisch auswertbarer Ausdruck⁵¹ definiert sein. Zusätzlich müssen bei den Modellelementen des Typs *Transition Choice* und *Transition Probability Choice* an jedem Ausgang gültige numerische Werte definiert oder referenziert werden. Schließlich muss in jedem grafischen Prozessdiagramm des CBM genau ein Modellelement als Startelement und genau ein Modellelement als terminales Endelement bestimmt sein. Ein Modellelement kann gleichzeitig Start- und Endelement sein, sofern dieses das einzige Modellelement des grafischen Prozessdiagramms ist.

Eindeutigkeit Jede Transition zwischen Modellelementen muss insofern eindeutig sein, als dass ein Ausgang eines Modellelements immer mit genau einem Eingang eines anderen Mo-

⁴⁹ Die Erzeugung des numerischen Suffix geschieht analog zur automatischen Namensraumüberwachung in der Modellparameter-Verwaltung.

⁵⁰ Ausgenommen sind hiervon das Start- und das Endelement eines GDP.

⁵¹ Dies kann ein arithmetischer Ausdruck, bestehend aus numerischen Modellparametern, oder ein einzelner numerischer Modellparameter sein.

dellelements verbunden ist⁵². Zusätzlich muss der Namensraum des kompletten (multiskalierten) CBM konfliktfrei sein, d.h. jeder Modellparameter muss einen eindeutigen Namen besitzen. Dies schließt die Namen der Elemente von u.U. importierten SBML-Modellen mit ein.

Zyklenfreiheit Ein grafisches Prozessdiagramm eines CBM darf keine Zyklen enthalten. Die explizite Definition von Iterationen innerhalb eines Simulationsschritts ist untersagt, um Endlosschleifen vorzubeugen.

Syntaktische Korrektheit Die Syntax aller definierten arithmetischen und Booleschen Ausdrücke in einem CBM muss korrekt sein. Dies schließt eine korrekte Schreibweise aller Modellparameter und Funktionsnamen ein. Ferner muss der Aufruf einer Funktion aus der Funktionsbibliothek eine korrekte Syntax aufweisen.

Semantische Korrektheit von Zuweisungen Die Zuweisung eines neuen Modellparameterwerts innerhalb eines CBMs ist nur dann semantisch korrekt, wenn es sich um einen zellindividuellen und damit lokalen Modellparameter handelt. Dies trifft auf alle Modellparameter des Typs *Cell Property* zu⁵³ und auf jene des Typs *Biomechanical Model Property*, die schreibend referenziert werden dürfen, da sie eine Eingabegröße des BMs sind. Schließlich kann den SBML-Modell-Elementen *Species* und *Parameters* innerhalb eines CBMs ein neuer Wert zugewiesen werden.

Die Modelleigenschaften Eindeutigkeit und Zyklenfreiheit werden in Echtzeit durch das GMS überwacht. Alle weiteren Eigenschaften eines validen CBM werden nach explizitem Aufruf der automatischen Modellvalidierung durch den Anwender bzw. im Rahmen der automatischen Modellübersetzung überprüft. Der Anwen-

der erhält als Ergebnis des Validierungsprozesses einen Übersichtsdialog angezeigt, in dem alle Verstöße gegen einzuhaltende Modelleigenschaften (sofern vorhanden) aufgeführt sind.

Modellübersetzung Die automatische Übersetzung des grafischen CBM in ausführbaren Code erfolgt nach der Modellerstellung durch anwenderseitige Ausführung des Codeerzeugungsprozesses (s. Abschn. 3.3.2). Dieser wird jedoch nur gestartet, wenn die automatische Modellvalidierung erfolgreich verlaufen ist. Ist dies der Fall, ist durch den Anwender aus den erstellten grafischen Prozessdiagrammen des CBMs jenes zu wählen, das dem *Top-Level-Modell* entspricht. Das Top-Level-Modell bildet den Einstiegspunkt in das CBM zu Beginn eines jeden Simulationsschritts. Ausgehend vom gewählten Top-Level-Modell bestimmt das GMS automatisch alle grafischen Prozessdiagramme, die über ein Modellelement des Typs *Submodel* im Top-Level-Modell selbst oder in einem der Submodelle desselben referenziert werden. Mit der Wahl des Top-Level-Modells lassen sich unterschiedliche Modellhierarchien, bestehend aus grafischen Prozessdiagrammen, und damit auch unterschiedliche CBMs erzeugen. Das Ergebnis des Codeerzeugungsprozesses ist eine Modellsimulationsdatei, die von der Simulationsumgebung geladen werden kann.

3.2.2 Simulationsumgebung – EPISIM Simulator

Die (grafische) Simulationsumgebung übernimmt im Rahmen des entwickelten CMS die multiagentenbasierte Simulation eines mit dem grafischen Modellierungssystem erstellten, zellbasierten und potentiell multiskalierten Gewebemodells. Zu diesem Zweck bietet die SE eine Reihe von Basismodellen (s. Abschn. 4.1), die mit dem Aufruf entsprechender Funktionen der Funktionsbibliothek des GMS in ein grafisches CBM eingebracht werden können. Darüber hinaus

⁵² Umgekehrt gilt dies im Fall des Modellelements *Connection Point* nicht, da dieses die Vereinigung mehrerer eingehender Transitionen ermöglicht.

⁵³ Eine direkte Wertzuweisung an Modellparameter dieses Typs von benachbarten Zellen über das Präfix *n_* ist nicht gestattet.

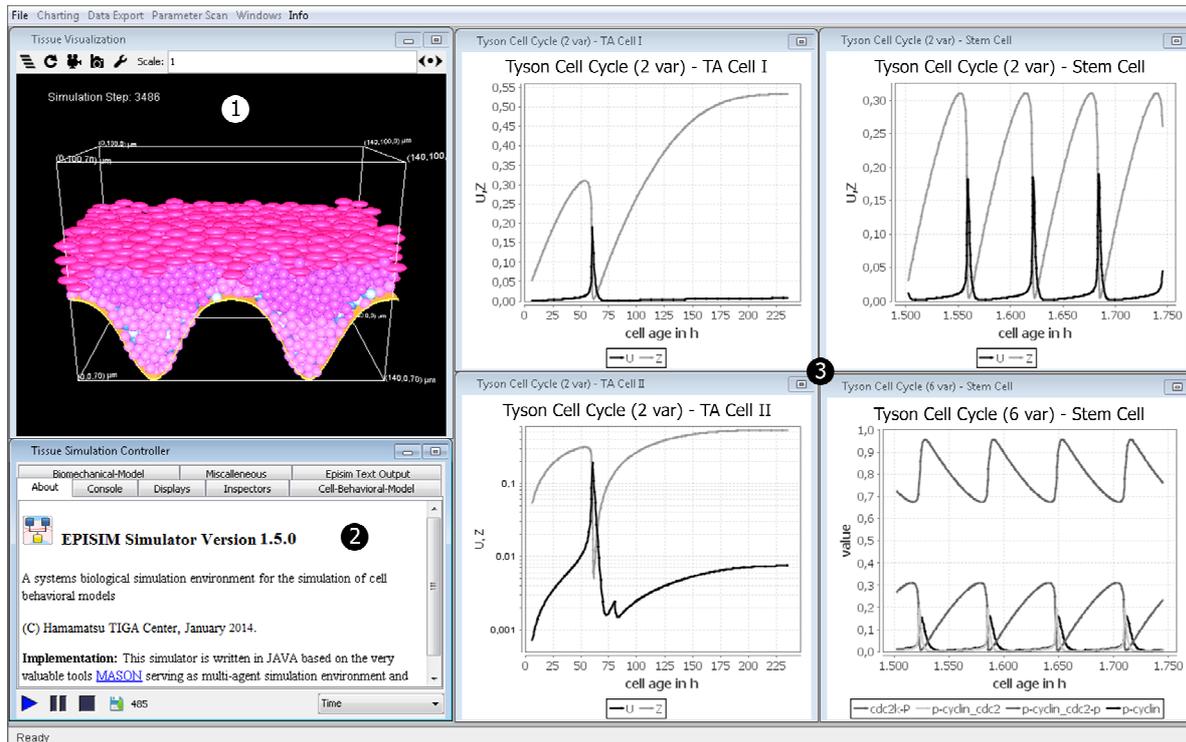


Abbildung 3.6: Grafische Simulationsumgebung EPISIM Simulator. Die grafische Benutzeroberfläche zur Durchführung einer Gewebesimulation besteht im Wesentlichen aus drei Komponenten: (1) Gewebevisualisierung, (2) Simulationssteuerung und (3) Echtzeitsimulationsdatenauswertung mit Diagrammen.

stellt die SE ein erweiterbares Angebot, bestehend aus zwei- wie dreidimensionalen biomechanischen Modellen (BMs), zur Verfügung. Eines dieser BMs ist mit dem CBM semantisch zu verknüpfen, um ein Gewebemodell in Sinne der modularen Modellarchitektur (s. Abschn. 3.1.2) zu erhalten. Standardmäßig ist jedes CBM mit dem gitterfreien zweidimensionalen BM verknüpft, das in Abschnitt 4.2.1 beschrieben ist. Mittels des GMS kann die semantische Verknüpfung mit einem der anderen BM erfolgen. Neben der Durchführung der reinen Modellsimulation können mit der SE in Echtzeit das simulierte Gewebe visualisiert und die Simulationsergebnisse zielorientiert ausgewertet werden.

Der Standardanwendungsfall der SE ist deren Nutzung über die bereitgestellte grafische Benutzeroberfläche und die Durchführung einer (interaktiven) grafischen Gewebesimulation. Jedoch ist

auch eine Nutzung ohne grafische Benutzeroberfläche über die Konfigurations- und Konsolenschnittstelle der SE möglich. Die Erstellung von Datenauswertungskomponenten für ein konkretes Gewebemodell ermöglicht die gezielte Auswertung und Vorverarbeitung der Simulationsdaten. Schließlich kann in einem beliebigen Simulationsschritt i ein Gewebesimulationszustand gespeichert werden, auf dessen Grundlage die Simulation zu einem späteren Zeitpunkt ab Simulationsschritt $i + 1$ weitergeführt werden kann.

Simulationsdurchführung mit grafischer Benutzeroberfläche

Ausgangspunkt der Simulationsdurchführung ist i.d.R. das Laden einer *Modellsimulationsdatei*, die zuvor mit dem GMS erstellt worden ist. Anschließend können vor dem Starten der Gewebesimulation je eine Datenauswertungskomponente des Typs *Diagramme* und des Typs *Daten-*

export erstellt oder geladen werden (s. Abschn. *Erstellung von Datenauswertungskomponenten*). Abbildung 3.6 zeigt die grafische Benutzeroberfläche der SE während der Simulation eines in diesem Fall multiskalierten Gewebemodells⁵⁴. Die geladene Datenauswertungskomponente des Typs *Diagramme* visualisiert in Echtzeit die Simulation des Zellzyklusmodells zweier ausgewählter Zellen des Gewebes (Abbildung 3.6[3]).

Das Gewebe selbst wird in einem eigenen interaktiven Fenster visualisiert (Abbildung 3.6[1]). Mit Hilfe des *Tissue Visualization*-Fensters kann eine Gewebesimulation in beliebiger Vergrößerung und im dreidimensionalen Fall aus beliebigem Blickwinkel dargestellt werden. Die Einfärbung der Zellen kann im CBM flexibel angepasst und mit biologischer Semantik versehen werden. Bei dreidimensionalen Geweben kann eine *xy*-, *xz*- oder eine *yz*-Querschnittsebene durch das Gewebe an beliebiger Position berechnet und angezeigt werden. Schließlich wird das Festhalten des Simulationsverlaufs als Film bzw. der Export der Gewebevisualisierung eines einzelnen Simulationsschritts als Bilddatei unterstützt. Die Simulation der extrazellulären Diffusionsfelder eines Gewebemodells können (sofern vorhanden) als Überblendung über das Gewebe im zweidimensionalen Fall und als Querschnittsebene durch das Diffusionsfeld im dreidimensionalen Fall dargestellt werden⁵⁵.

Die interaktive Steuerung der Simulation erfolgt über den *Tissue Simulation Controller* (Abbildung 3.6[2]). Mit diesem kann darüber hinaus für einen Simulationsschritt ein Gewebesimulationszustand gespeichert werden. Über den entsprechenden Reiter können sämtliche globale Parameter des Zellverhaltensmodells und des biomechanischen Modells während oder im Vorfeld der Simulation verändert werden.

⁵⁴ Zu sehen ist das Modell der humanen epidermalen Homöostase (s. Abschn. 4.3 und Abschn. 5.1).

⁵⁵ Beispiele hierfür sind Abbildung 5.23 bis Abbildung 5.26.

Schließlich können, bevor die Simulation gestartet wird, für jedes extrazelluläre Diffusionsfeld die über das GMS erstellte Konfiguration angepasst bzw. die Randbedingungen des Diffusionsfelds (s. Abschn. 4.1.2) festgelegt werden.

Erstellung von Datenauswertungskomponenten

Datenauswertungskomponenten ermöglichen die zielgerichtete Extraktion und Vorverarbeitung der für eine (systembiologische) Fragestellung relevanten Simulationsdaten. Die Erstellung derselben erfolgt ausschließlich über die grafische Benutzeroberfläche der SE. Es werden zwei Typen von Datenauswertungskomponenten unterschieden:

1. Diagramme
2. Datenexport(e)

Eine Datenauswertungskomponente wird für eine geladene Modellsimulationsdatei und damit für ein konkretes Gewebemodell erstellt. Diese wird nach ihrer Erstellung in einer Datei gespeichert, so dass für ein Gewebemodell eine beliebige Anzahl von Datenauswertungskomponenten eines Typs erstellt werden kann. Jedoch kann durch die SE je nur eine jeden Typs simultan geladen und ausgeführt werden. Eine Datenauswertungskomponente, gleich welchen Typs, entspricht einer Softwarekomponente, deren Quellcode von der SE automatisch erzeugt, in ausführbaren Code übersetzt und anschließend dynamisch an das simulierte Gewebemodell gekoppelt wird. Hierdurch lassen sich Laufzeitvorteile erzielen und die für die Datenauswertung benötigte Rechenzeit minimieren (s. Abschn. 3.3.1).

Diagramme Eine Datenauswertungskomponente des Typs *Diagramme* entspricht einer Sammlung einer beliebigen Zahl von zwei- bzw. dreidimensionalen Diagrammen, die, sofern die SE mit grafischer Benutzeroberfläche ausgeführt wird, je in einem eigenen internen Fenster ange-

Tabelle 3.4: Datenauswertungsalgorithmen der SE mit eindimensionalem Ergebnistyp (1-Tupel). Die bereitgestellten Algorithmen liefern Daten über das simulierte Gewebe als Ganzes oder einzelne Zellen. In Klammern ist mit *DAV* gekennzeichnet, ob die Definition einer Datenauswertungsvorschrift erforderlich ist. Der Buchstabe *B* kennzeichnet Algorithmen, die durch Angabe einer zu erfüllenden Bedingung die Einschränkung der in die Datenauswertung einzubeziehenden Zellen erlauben. Mit *P* wird deutlich gemacht, ob seitens des Algorithmus die Definition von Parametern verlangt wird.

Name	Beschreibung
Cell Counter (- / B / -)	Anzahl der Zellen im simulierten Gewebe
Cell Death Counter (- / B / P)	Anzahl der Zellen im simulierten Gewebe, die entweder seit Beginn der Simulation oder seit dem letzten DAZ abgestorben sind.
Computation Time per Simulation Step (- / B / P)	Dauer eines Simulationsschritts in Millisekunden multipliziert mit einem frei wählbaren Skalierungsfaktor
Development of the Arithmetic Mean Cell Counter (- / B / -)	Entwicklung des arithmetischen Mittels bezogen auf die Zahl der Zellen, die die definierte Bedingung erfüllen, über die DAZs hinweg. Dabei ist cell_count_1 die Zahl der Zellen, die die Bedingung beim ersten DAZ erfüllt haben. Für Datenauswertungszyklus n ergibt sich als Ergebnis: $(\text{cell_count}_1 + \dots + \text{cell_count}_n)/n$.
Development of the Median Cell Counter (- / C / -)	Berechnung der Entwicklung des Median analog zum Algorithmus <i>Development of the Arithmetic Mean Cell Counter</i>
Mean Value Calculator (DAV / C / -)	Berechnung des arithmetischen Mittels aus den Ergebnissen der definierten, einzelzellbasierten DAV auf der Grundlage der Zahl der in die Berechnung einbezogenen Zellen
Simulation Step Number (- / - / -)	Nummer des aktuellen Simulationsschritts
Simulation Time (- / - / P)	Berechnung der simulierten Realzeit durch die Multiplikation der Simulationsschrittnummer mit einem frei wählbaren Skalierungsfaktor
Single Cell Observer (DAV / B / P)	Ergebnis der definierten, einzelzellbasierten DAV einer zufällig ausgewählten Zelle. Eine ausgewählte Zelle wird bis zu deren Absterben oder bis zur Nichterfüllung der definierten Bedingung beobachtet. Falls eine Bedingung definiert wurde, die die zufällig ausgewählte Zelle erfüllen muss, kann festgelegt werden, ob diese Bedingung nur initial bei der Auswahl oder bei jedem DAZ geprüft wird.
Sum Calculator (DAV / B / -)	Berechnung der Summe aus den Ergebnissen der definierten, einzelzellbasierten DAV für die in die Berechnung einbezogenen Zellen

zeigt werden (Abbildung 3.6[3]). Zweidimensionale Diagramme sind hierbei der Regelfall. Dreidimensionale Diagramme können lediglich für die Visualisierung von extrazellulären Diffusionsfeldern⁵⁶ bzw. von Querschnittsebenen durch

dieselben definiert werden. Im Wesentlichen dienen Diagramme in diesem Kontext der Echtzeitanalyse der Simulationsdaten. Für zweidimensionale Diagramme kann der Anwender flexibel festlegen, welche Daten auf der x- bzw. auf der y-Achse aufgetragen werden. Für jedes Diagramm kann individuell ein *Datenauswertungszyklus* (DAZ) in Simulationsschritten definiert werden. Mit diesem wird die Häufigkeit der Simulations-

⁵⁶ Ein Beispiel für die von diesen Diagrammen erzeugte Ausgabe ist in Abbildung 5.30 (unten) dargestellt.

Tabelle 3.5: Datenauswertungsalgorithmen der SE mit mehrdimensionalem Ergebnistyp. Die bereitgestellten Algorithmen liefern Daten über das simulierte Gewebe als Ganzes oder einzelne Zellen. In Klammern ist mit *DAV* gekennzeichnet, ob die Definition einer Datenauswertungsvorschrift erforderlich ist. Der Buchstabe *B* kennzeichnet Algorithmen, die durch Angabe einer zu erfüllenden Bedingung die Einschränkung der in die Datenauswertung einzubeziehenden Zellen erlauben. Mit *P* wird deutlich gemacht, ob seitens des Algorithmus die Definition von Parametern verlangt wird.

Name	Ergebnistyp	Beschreibung
Cell-Set Values (DAV / B / -)	n-Tupel	Ergebnisse der definierten, einzelzellbasierten DAV aller Zellen, die in die Berechnung einbezogen worden sind.
Gradient Calculator (- / B / -)	2-Tupel-Liste	Berechnet entlang der y-Achse für Gewebesimulationen einen Gradienten auf der Basis einer definierten, einzelzellbasierten DAV.
Histogramm (DAV / B / P)	Histogramm	Histogramm auf der Basis der Ergebnisse der definierten, einzelzellbasierten DAV. Es werden jene Ergebnisse in die Berechnung des Histogramms einbezogen, die im festzulegenden Intervall $[\min, \max]$ liegen. Ferner ist die Anzahl der Klassen gleicher Breite, in die dieses Intervall unterteilt werden soll, zu definieren.
Histogramm Averaged (DAV / B / P)	Histogramm	Histogramm, das sich aus der Mittelung der Histogramme, die nach Algorithmus <i>Histogramm</i> für jeden DAZ berechnet wurden, ergibt.

datenauswertung vorgegeben. Ferner kann ein Intervall in Simulationsschritten angegeben werden, in dem ein Diagramm als Bilddatei gespeichert wird.

Datenexport Eine Datenauswertungskomponente des Typs Datenexport ermöglicht die *post hoc* Analyse vorverarbeiteter Simulationsdaten mit einschlägigen Werkzeugen und Methoden außerhalb der EPISIM Plattform. Eine Komponente dieses Typs entspricht einer Sammlung von Datenexporten, von denen jeder in eine eigene CSV-Datei⁵⁷ geleitet wird. Eine CSV-Datei entspricht in diesem Zusammenhang einer Wertetabelle. Die Simulationsdaten, die in einer solchen Tabelle in den einzelnen Spalten von der SE gespeichert werden sollen, können flexibel vom Anwender festgelegt werden. Für jeden einzelnen Datenexport kann wie für ein Diagramm ein Datenauswertungszyklus definiert werden.

⁵⁷ Eine CSV (Comma-Separated Values)-Datei entspricht einer Textdatei, in der die einzelnen Werte durch Kommata oder Semikola getrennt sind (auch andere Trennzeichen werden je nach Software unterstützt). In diesem Format lassen sich auf einfachem Wege Wertetabellen speichern.

Datenauswertungsalgorithmus Simulationsdaten werden mittels eines von der SE bereitgestellten Datenauswertungsalgorithmus (DAA) extrahiert und u.U. vorverarbeitet. Datenauswertungsalgorithmen sind dynamische externe Komponenten (s. Abschn. 3.3.1), die nach dem Start der SE eingelesen werden. Dies ermöglicht das Hinzufügen bzw. das Entfernen von Datenauswertungsalgorithmen, ohne dass die SE neu kompiliert bzw. installiert werden müsste. Ein neuer Algorithmus ist vergleichsweise einfach zu erstellen bzw. zu implementieren, so dass ein Anwender mit einem überschaubaren Maß an Programmierfahrung eigene Datenauswertungsalgorithmen erzeugen kann. Diese gliedern sich nach ihrem Ergebnistyp in zwei Gruppen:

1. eindimensionaler Ergebnistyp
(s. Tabelle 3.4)
2. mehrdimensionaler Ergebnistyp
(s. Tabelle 3.5)

In den oben genannten Tabellen sind die momentan verfügbaren DAAs des jeweiligen Typs aufgeführt und beschrieben. Die Ergebnisse der

Datenauswertungsalgorithmen mit eindimensionalem Ergebnistyp können auf der Achse eines Diagramms aufgetragen bzw. in einer Spalte eines konkreten Datenexports gespeichert werden. Bei den mehrdimensionalen Ergebnistypen wird in 2-Tupel, n-Tupel ($n > 2$) und Histogramme unterschieden. Deren Verwendbarkeit in einem Diagramm bzw. Datenexport ist verglichen mit den Datenauswertungsalgorithmen eindimensionaler Ergebnistypen weniger flexibel⁵⁸.

Ein DAA kann vom Anwender die Definition einer oder mehrerer der folgenden Eingabegrößen verlangen:

- Datenauswertungsvorschrift (DAV)
- Bedingung (B)
- Numerische bzw. Boolesche Parameter (P)

Eine DAV ermöglicht die Vorverarbeitung der Simulationsdaten auf Einzelzellebene. Dies bedeutet, dass eine DAV separat auf jede Zelle des simulierten Gewebes angewendet wird. Die einfachste DAV besteht aus einem einzelnen lokalen oder globalen Parameter des multiskalierten Gewebemodells. Im grafischen Editor zur Erstellung einer DAV werden sämtliche lokale u. globale Parameter des biomechanischen Modells, des Zellverhaltensmodells und der u.U. semantisch integrierten QSMs (SBML-Modelle) verfügbar gemacht. DAVs, die eine Vorverarbeitung der Simulationsdaten vornehmen, bestehen aus arithmetischen Ausdrücken, die sich aus den globalen und lokalen Parametern zusammensetzen.

⁵⁸ In einem Diagramm bzw. einem Datenexport können DAAs mit ein- und mehrdimensionalem Ergebnistyp nicht kombiniert werden. Ferner sind DAAs mit n-Tupel-Ergebnistyp Datenexporten vorbehalten. Pro Diagramm bzw. pro Datenexport und somit pro CSV-Datei kann nur ein DAA mit mehrdimensionalem Ergebnistyp verwendet werden.

Ermöglicht ein DAA die Angabe einer *Bedingung* (B), dann kann die Zahl der Zellen, die in die Datenauswertung einbezogen werden, auf jene beschränkt werden, die die definierte Bedingung erfüllen. Diese besteht aus einem Booleschen Ausdruck, der mit den gängigen Booleschen und relationalen Operatoren aus den lokalen und globalen Parametern des Gewebemodells gebildet werden kann. Das ermöglicht bspw. die Selektion einer Teilmenge der Zellen, auf die eine DAV angewendet wird.

Ein DAA erfordert die Angabe von weiteren numerischen oder Booleschen Parametern (P), wenn diese der Parametrisierung des Algorithmus selbst dienen. Das einfachste Beispiel hierfür ist der DAA *Simulation Time*, bei dem der anzugebende numerische Parameter dem Konvertierungsfaktor von Simulationsschritten in Realzeit bezogen auf ein Gewebemodell entspricht.

Simulationsdurchführung ohne grafische Benutzeroberfläche

Die SE bietet mit der *Konfigurationsschnittstelle* und der *Konsolenschnittstelle* die Möglichkeit, Einstellungen an der Umgebung bzw. Parametrisierungen der Modelle vorzunehmen. Beide Schnittstellen erwarten Textdateien im Java-Properties-Format, einem einfachen Dateiformat, in dem jede Zeile (ausgenommen Kommentare oder Leerzeilen) einem Schlüssel-Wert-Paar entspricht. Schlüssel und Wert werden im Falle der SE durch Doppelpunkt getrennt. Beide Schnittstellen, insbesondere die Konsolenschnittstelle, sind entwickelt worden, um die SE als reine Konsolenanwendung auf Rechnern zu betreiben, die keine grafische Ein- bzw. Ausgabe erlauben. Dies sind i.d.R. Server-Umgebungen oder Rechencluster.

Konfigurationsschnittstelle An der SE können unter Verwendung der Konfigurationsschnittstelle eine Reihe von Einstellungen vorgenommen werden, die an dieser Stelle nicht einzeln aufgeführt werden sollen. Die Standardkonfigurationsdatei der SE nebst Erläuterung der

einzelnen Einstellungsmöglichkeiten findet sich in Anhang C. Beispielhaft sei genannt, dass über diese Datei die grafische Benutzeroberfläche der SE ein- bzw. ausgeschaltet werden kann. Auch die nach dem Start der SE zu ladende Modellsimulationsdatei und die Anzahl zu simulierender Schritte können festgelegt werden.

Konsolenschnittstelle Beim Start der SE über die Konsole können optional eine Reihe von Parametern definiert werden, die von der Konsolenschnittstelle eingelesen werden. Die wichtigsten sind:

- *-id <ID>*: Alphanumerische Kennung der Simulationsausführung, die an den Namen aller Ausgabedateien angehängt wird.
- *-cb <Pfad>*: Pfad zur Java-Properties-Datei zur Parametrisierung des Zellverhaltensmodells
- *-bm <Pfad>*: Pfad zur Java-Properties-Datei zur Parametrisierung des biomechanischen Modells
- *-ef <Pfad>*: Verzeichnis, in das die Datenexporte umgelenkt werden sollen.
- *-cf <Pfad>*: Pfad zu einer alternativen Konfigurationsdatei, die statt der Standarddatei der SE geladen werden soll.

Über die Parameter *-cb* sowie *-bm* bzw. die entsprechenden Java-Properties-Dateien können die initialen Werte der globalen Parameter des CBM und des BM gesetzt werden. Jede Zeile der zu erzeugenden Java-Properties-Dateien entspricht dem einfachen Schema:

<Parametername> : <Parameterwert>

Die Erzeugung solcher Dateien wird von der SE mit einem Assistenzdialog unterstützt. Mit diesem kann man bspw. für einen Parameter-Scan eine beliebige Anzahl dieser Dateien automatisch erstellen lassen, indem man für konkrete globale Parameter den Start- und Endwert sowie die

Schrittweite angibt. Die Dateien können aufgrund des einfachen Formats vom Anwender selbst erzeugt werden. Dies kann erforderlich sein, wenn, bezogen auf den multidimensionalen Parameterraum des Gewebemodells, komplexere Sampling-Methoden⁵⁹ zum Einsatz kommen sollen. Pro gestarteter SE-Instanz bzw. gestarteter Modellsimulation kann einer der mit einer Sampling-Methode gewonnenen Parametersätze für BM und CBM verwendet werden. Für eine hohe Zahl von Parametersätzen ist die sequentielle Abarbeitung derselben in einem zeiteffektiven Rahmen nicht möglich, insbesondere dann nicht, wenn die Durchführung einer einzelnen Gewebemodellsimulation zeitaufwändig ist. Die parallele konsolenbasierte Ausführung mehrerer SE-Instanzen auf einem Rechencluster bietet sich in diesem Fall an.

Parallelisierte Durchführung einer multiagentenbasierten Gewebesimulation

Die SE nutzt die Parallelisierungsmöglichkeiten moderner Rechner, deren Hauptprozessor i.d.R. zwei oder mehr Kerne besitzt, insofern, als dass die Gewebevisualisierung, die Aktualisierung der Benutzeroberfläche sowie die Simulation des Gewebemodells parallel berechnet werden. Innerhalb der Gewebemodellsimulation werden die extrazellulären Diffusionsfelder (sofern vorhanden) parallel simuliert und auf die verfügbaren Kerne verteilt.

Eine größere Herausforderung stellt die Parallelisierung der multiagentenbasierten Gewebesimulation als solcher, in der jede Zelle einem Agenten entspricht, dar. Der Zeitgewinn durch die parallele Simulation der einzelnen Zellagenten wird stark von den semantischen Abhängigkeiten der Agenten untereinander geprägt. Anders formuliert ist der Zeitgewinn im Allgemeinen umso geringer, je stärker der interne Zustand eines

⁵⁹ Beispielhaft sei als Sampling-Methode an dieser Stelle das *latin hypercube sampling* genannt (McKay et al. 1979).

Zellagenten vom Zustand anderer Zellagenten abhängt (D'Souza et al. 2009). Dieser interne Zustand entspricht im Falle eines multiskalierten Gewebemodells dem Zustand der BM- und CBM-Instanz eines Zellagenten. Es ist möglich, für ein konkretes multiagentenbasiertes Modell eine zeiteffektive Parallelisierung gezielt zu entwickeln und zu implementieren. Die modellunabhängige Generalisierung des Parallelisierungsansatzes ist jedoch meist nicht ohne weiteres möglich (Massaioli et al. 2005). Technisch gesehen sind große Teile eines Gewebemodells zur Entwicklungszeit der SE noch nicht bekannt und werden erst zur Laufzeit der SE dynamisch eingebunden. Aus diesem Grund ist der zeitliche Nutzen der Parallelisierung nicht abzusehen, so dass bei der Entwicklung der SE kein Schwerpunkt auf die Parallelisierung der multiagentenbasierten Simulation gelegt worden ist. Die einzelnen Zellagenten werden daher in zufälliger Reihenfolge sequentiell simuliert (s. Abschn. 0).

Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, kann die SE konsolenbasiert und wegen der plattformunabhängigen Realisierung (s. Abschn. 3.3.1) problemlos und ohne erneute Kompilation auf einem Rechencluster, auf denen oft UNIX-basierte Betriebssysteme zum Einsatz kommen, ausgeführt werden. Ein Rechencluster ermöglicht die parallele Ausführung einer größeren Anzahl von SE-Instanzen, die entweder unterschiedliche Gewebemodelle oder dasselbe Gewebemodell mit unterschiedlicher Parametrisierung simulieren. Unter Nutzung der Konsolenschnittstelle lassen sich so zeiteffektive Parameterscans durchführen. Im Anhang C befindet sich ein Beispielskript für die parallele Durchführung von 10 Gewebesimulationen auf einem Rechencluster, auf dem das *Portable Batch System* (PBS) zur Verteilung der Rechenaufträge (engl. Jobs) auf die einzelnen Rechenknoten zum Einsatz kommt. Diese kann als skalierbare Schablone für die Durchführung von parallelen Gewebesimulationen dienen.

Gewebesimulationszustand

Die SE bietet dem Anwender die Möglichkeit, den vollständigen Zustand einer multiskalierten Gewebesimulation zu einem beliebigen Simulationsschritt in einem textbasierten Format zu speichern. Das Speichern bzw. Laden eines Gewebesimulationszustands bietet im Zusammenhang mit der SE folgende Möglichkeiten:

- (Abschnittweise) Archivierung eines Simulationsverlaufs oder eines Simulationsergebnisses
- Austausch von Simulationsergebnissen zwischen verschiedenen Anwendern der EPISIM Plattform
- Initialisierung einer neuen Gewebesimulation

Die SE kann eine Gewebesimulation, deren Zustand im Simulationsschritt i gespeichert worden ist, zu einem späteren Zeitpunkt unter Verwendung des eingelesenen Gewebesimulationszustands nahtlos mit Simulationsschritt $i + 1$ fortsetzen. Dies eröffnet bei einem komplexen Gewebemodell bspw. die Möglichkeit, die n Simulationsschritte, die benötigt werden bis dieses einen stabilen Zustand erreicht, nur einmal zu berechnen, um dann ausgehend von einem gespeicherten Gewebesimulationszustand, das Modell in verschiedenen Simulationsläufen weitergehend zu untersuchen. Dies kann je nach Modell zu einer signifikanten Einsparung an Rechenzeit führen. Ferner kann durch das Speichern von Gewebesimulationszuständen die Durchführung von redundanten identischen Simulationsläufen reduziert und damit aufzuwendende Rechenzeit eingespart werden.

Für die Speicherung von Gewebesimulationszuständen ist in Ermangelung eines existierenden Standards für multizelluläre Gewebemodelle / -simulationen (s. Abschn. 2.2.2) ein ad hoc-Standard für die SE entwickelt worden, der sich an der eingeführten modularen Gewebemodellar-

chitektur (s. Abschn. 3.1.2) orientiert. Der strukturelle Aufbau dieses XML⁶⁰-basierten Dateiformats ist in Abbildung 3.7 illustriert. Diese Darstellungsform ist der formalen Darstellung des ad hoc-Standards als XML-Schema⁶¹ vorgezogen worden, um die Parallelen zur Modellarchitektur eingängiger herausstellen zu können.

Aufbau Gewebesimulationszustand Der grobe Aufbau eines Gewebesimulationszustands gliedert sich in die drei Bereiche *Dateikopf*, *globale Gewebedaten* und *zellbasierte Gewebedaten*. Im Dateikopf werden allgemeine Informationen gespeichert. Essentielle Angaben sind hier der Pfad zur Modellsimulationsdatei und die Nummer des Simulationsschritts, nach dem der Gewebesimulationszustand gespeichert worden ist (Abbildung 3.7[1]).

Die *globalen Gewebedaten* umfassen in jedem Fall die Werte der globalen Parameter des Zellverhaltensmodells und des biomechanischen Modells. Ist eine (Basal-)Membran Bestandteil des Modells, dann wird die Parametrisierung des mathematischen Modells, das der Membran zugrunde liegt, gespeichert. Entspricht die Membran importierten räumlichen Daten (s. Abschn. 3.3.3), dann sind die entsprechenden Pixel- bzw. Voxeldaten in diesem Bereich gespeichert. Die extrazellulären Diffusionsfelder, sofern vorhanden, sind ebenfalls Bestandteil der globalen Gewebedaten. Bei diesen wird die Wertebelegung jeder Gitterzelle des extrazellulären Raums separat gespeichert. Schließlich werden die Parameter der Kategorie *Verschiedenes* (mehrheitlich Visualisierungseinstellungen) ebenfalls als globale Gewebeparameter gespeichert (Abbildung 3.7[2]).

⁶⁰ Die Spezifikation des Standards der Extensible Markup Language (XML) ist in der verwendeten Version 1.0 verfügbar unter: *Namespaces in XML 1.0 (Third Edition)*, URL: <http://www.w3.org/TR/xml-names/> [Stand 24.01.2014, 11:00].

⁶¹ Näheres zum XML-Schema-Standard in: *W3C-XML Schema Current Status*, URL: <http://www.w3.org/standards/techs/xmlschema> [Stand 13.02.2014, 18:00].

Der dritte und größte Bereich eines Gewebesimulationszustands umfasst die *zellbasierten Gewebedaten*. Hier zeigt sich der strukturelle Aufbau der Gewebemodellarchitektur am stärksten. Jeder individuelle Zustand der n Zellen eines simulierten Gewebes nach Simulationsschritt i (hier: $i = 100$, Abbildung 3.7[1]) wird in einem eigenen XML-Element namens *cell* gespeichert. Jeder Zellzustand gliedert sich in die Blöcke *Zellverhaltensmodell* und *biomechanisches Modell*. Innerhalb dieser Blöcke sind die Werte der lokalen und damit zellindividuellen Modellparameter gespeichert.

Sind QSMs in ein Zellverhaltensmodell semantisch integriert worden, dann enthält der Block, der den Zustand des CBM einer Zelle abbildet, einen Unterblock, der seinerseits den Zustand der SBML-Modell-Konnektor-Komponente (SBML-MKK) abbildet. Die SBML-MKK ermöglicht die semantische Verknüpfung zwischen CBM sowie QSMs und speichert den Zustand eines SBML-Modells, das einem QSM zugrunde liegt (Näheres zur SBML-MKK s. Abschn. 3.3.2). Der zellindividuelle Zustand jedes SBML-Modells und der entsprechenden Modellkomponenten ist dem XML-Element *sbmlModelStates* untergeordnet.

Simulationsinitialisierung Mit einem Gewebesimulationszustand kann nicht nur eine bereits begonnene Simulation wiederhergestellt und fortgeführt werden. Vielmehr kann eine XML-Datei, die den ad hoc-Standard der SE abbildet, vom Anwender selbst erzeugt werden, um eine neue Simulation zu initialisieren. Es werden daher zwei Möglichkeiten der Simulationsinitialisierung auf der Grundlage einer Gewebesimulationszustands unterschieden:

1. *Komplette Initialisierung* mit vollständigem Gewebesimulationszustand
2. *Partielle Initialisierung* mit unvollständigem Gewebesimulationszustand

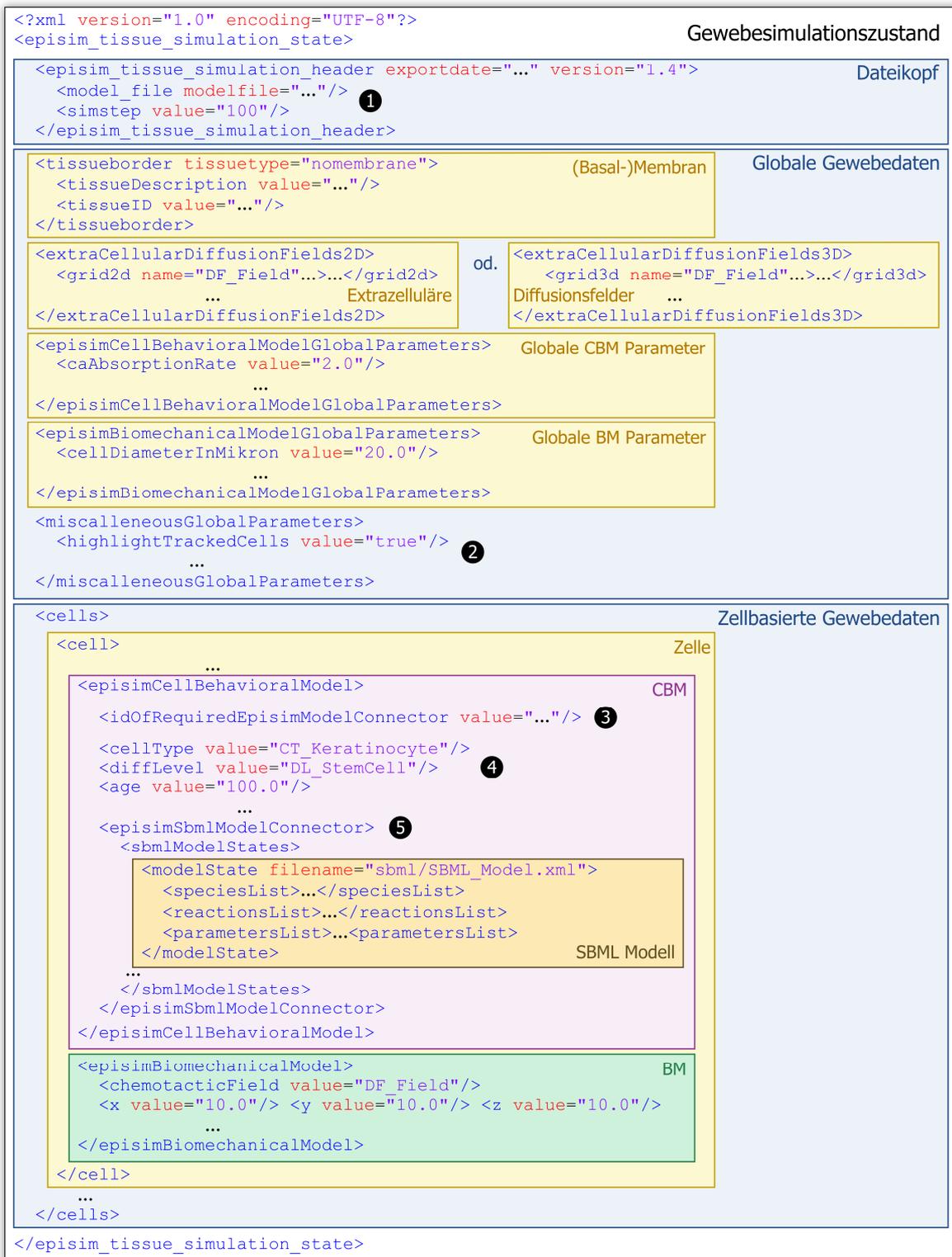


Abbildung 3.7: Struktureller Aufbau eines gespeicherten Gewebesimulationszustands. Dieser gliedert sich in den Dateikopf, die globalen Gewebedaten, zu denen neben den globalen Modellparametern auch die extrazellulären Diffusionsfelder zählen, und die zellbasierten Gewebedaten, die den Zellzustand jeder Zelle des simulierten Gewebes umfassen.

Ein Gewebezustand ist *vollständig*, wenn die Wertbelegung sämtlicher lokaler und globaler Parameter aller Teilmodelle eines multiskalierten zellbasierten Gewebemodells durch diesen abgebildet wird. Dies schließt die extrazellulären Diffusionsfelder als komplexe globale Parameter mit ein. Ein vollständiger Gewebesimulationszustand ist die Voraussetzung für die Wiederaufnahme und nahtlose Fortsetzung einer zu einem früheren Zeitpunkt begonnenen Gewebesimulation. Dieser wird i.d.R. mit der SE gespeichert, wenngleich ein solcher prinzipiell vom Anwender auch außerhalb der SE erzeugt werden kann.

Mit einem *unvollständigen* Gewebesimulationszustand kann der Anwender eigene Ausgangsszenarien für die multizelluläre Gewebesimulation definieren, die in dieser Form von keiner der verfügbaren Initialisierungskomponenten der von der SE angebotenen biomechanischen Modelle abgedeckt werden (s. Abschn. 3.3.2).

Ein minimaler unvollständiger Gewebesimulationszustand besteht aus dem Dateikopf mit dem Verweis auf die zu ladende Modellsimulationsdatei und der Definition von mindestens einer Zelle in Form eines XML-Elements *cell* innerhalb des XML-Elements *cells*. Alles Weitere ist optional⁶². Dies bezieht sich auch auf die Blöcke CBM und BM innerhalb einer Zelldefinition. Alle globalen und lokalen Modellparameter, deren Wert nicht in einem geladenen unvollständigen Gewebesimulationszustand definiert ist, behalten ihren Standardwert. Die korrekte *Wertdefinition* folgt dem Schema:

```
<parametername value="parameterwert">
```

Die korrekte Schreibweise des Parameternamens⁶³ und die Angabe eines gültigen Werts werden

⁶² Die Wohlgeformtheit (engl. well-formed) eines Gewebesimulationszustands im Sinne des XML-Standards ist jedoch eine Grundvoraussetzung für das erfolgreiche Laden durch die SE.

⁶³ Die Groß- und Kleinschreibung des Parameternamens ist nicht zu berücksichtigen.

vorausgesetzt. Bei unkorrektem Parameternamen oder ungültigem Wert wird die Wertdefinition ignoriert.

3.3 Technische Systemrealisierung

Die EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform entspricht der technischen Realisierung des in Abschnitt 3.1 dargestellten Konzepts des computergestützten Modellierungs- und Simulationssystems. Aufgrund des mittlerweile erheblichen Systemumfangs (s. Anhang D), ist eine umfassende Darstellung der technischen Systemrealisierung im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Vielmehr werden die wichtigsten Aspekte herausgegriffen und eingehend beschrieben. Abschn. 3.3.1 widmet sich dem modularen Aufbau des CMS und den verwendeten Softwaresystemen bzw. -bibliotheken. Die automatische Erzeugung von ausführbarem Code aus grafischen Zellverhaltensmodellen, eine zentrale Komponente des Systemkonzepts, ist Gegenstand von Abschn. 3.3.2. Das generelle Datenmodell, das jeder multiskalierten Gewebesimulation, die mit dem entwickelten CMS realisiert wurde, zugrunde liegt, wird formal in Abschn. 3.3.3 beschrieben. Schließlich ist der Ablauf eines Simulationsschritts der multiagentenbasierten Gewebesimulation, insbesondere die zeitliche Abfolge der Simulation der einzelnen Teilmodelle, der Fokus von Abschn. 0.

3.3.1 Systemaufbau und verwendete Softwaresysteme, -bibliotheken sowie -frameworks

Eine zentrale Anforderung an die technische Realisierung des CMS und damit an die EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform war und ist die flexible Einsetzbarkeit auf allen gängigen Betriebssystemen. Dies setzt nicht nur die Lauffähigkeit der EPISIM Plattform auf dem jeweiligen Betriebssystem voraus, sondern auch

die Lauffähigkeit des Codes, der von dem GMS aus den grafischen CBMs erzeugt wird. Ferner soll ein einmal erzeugter Modellcode auf allen Betriebssystemen ohne erneute Erzeugung aus dem grafischen Modell lauffähig sein. Aus diesem Grund wird ein möglichst hohes Maß an Unabhängigkeit vom Betriebssystem (Plattform) angestrebt. Um dies zu erreichen, ist die Allzweck-Programmiersprache Java⁶⁴ als technologische Basis der gesamten EPISIM Plattform gewählt worden. Diese stellt die zum gegenwärtigen Zeitpunkt und in den vergangenen Jahren konstant am weitesten verbreitete, plattformunabhängige Programmiersprache⁶⁵ dar, woraus ein zufriedenstellend hohes Maß an Zukunftsfähigkeit dieser Sprache geschlossen werden kann. Alle weiteren Softwaresysteme, -bibliotheken oder -frameworks, die in der EPISIM Plattform Verwendung finden, sind daher mehrheitlich Java-basiert.

Die EPISIM Plattform ist streng komponentenbasiert aufgebaut und nach Konzepten der des komponentenbasierten Softwareentwicklung (engl. *component-based software engineering*) realisiert worden. Eine Softwarekomponente deckt ein in sich abgeschlossenes funktionales Spektrum ab, das über die definierte Schnittstelle der Komponente in möglichst flexiblem Zusammenhang nutzbar ist (Heineman et al. 2004; Koziolok 2010). Dies ermöglicht eine effizientere Wartung und Erweiterung des komponentenbasierten Gesamtsystems. Ferner bietet dieser Ansatz die Möglichkeit, einzelne Softwarekomponenten zur Laufzeit des Systems dynamisch auszutauschen. Der Aufbau der EPISIM Plattform soll anhand ihrer Softwarekomponenten und deren hierarchischer Gliederung veranschaulicht werden. Eine

umfassende formale Darstellung der Systemarchitektur ist aufgrund der Größe (s. Abschn. 3.4.3) und damit einhergehenden architektonischen Komplexität des Systems im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Aus diesem Grund ist eine schematische Darstellungsform gewählt worden (Abbildung 3.8). Die EPISIM Plattform setzt sich aus drei Kernbestandteilen zusammen:

1. EPISIM Modeller – GMS
2. EPISIM Simulator – SE
3. Dynamische externe Komponenten (DEKs)

Bei dem GMS wie der SE handelt es sich um unabhängig voneinander installierbare Endanwender-Softwaresysteme (s. Abschn. 3.2), die ihrerseits in interne Softwarekomponenten gegliedert sind, aus denen sich der vom Anwender nutzbare Funktionsumfang zusammensetzt. Interne Softwarekomponenten sind fester Bestandteil einer Installation des GMS bzw. der SE. DEKs hingegen werden flexibel zur Laufzeit von GMS oder SE erzeugt, eingelesen, eingebunden, ausgeführt oder ausgetauscht.

Systemaufbau des grafischen Modellierungssystems

Die internen Softwarekomponenten des EPISIM Modeller gliedern sich in die vier Bereiche:

1. Benutzeroberfläche
2. Modellimport
3. Modellvalidierung
4. Modellübersetzung

⁶⁴ Frei verfügbar unter: <http://java.oracle.com>
[Stand 18.01.2014, 10:30].

⁶⁵ Grundlage dieser Aussage ist der TIOBE-Index seit dem Jahr 2006 aus: *TIOBE Software: Tiobe Index. TIOBE Index for January 2014*, URL: <http://www.tiobe.com/index.php/content/paperinfo/tpci/indin.html> [Stand 18.01.2014, 10:30].

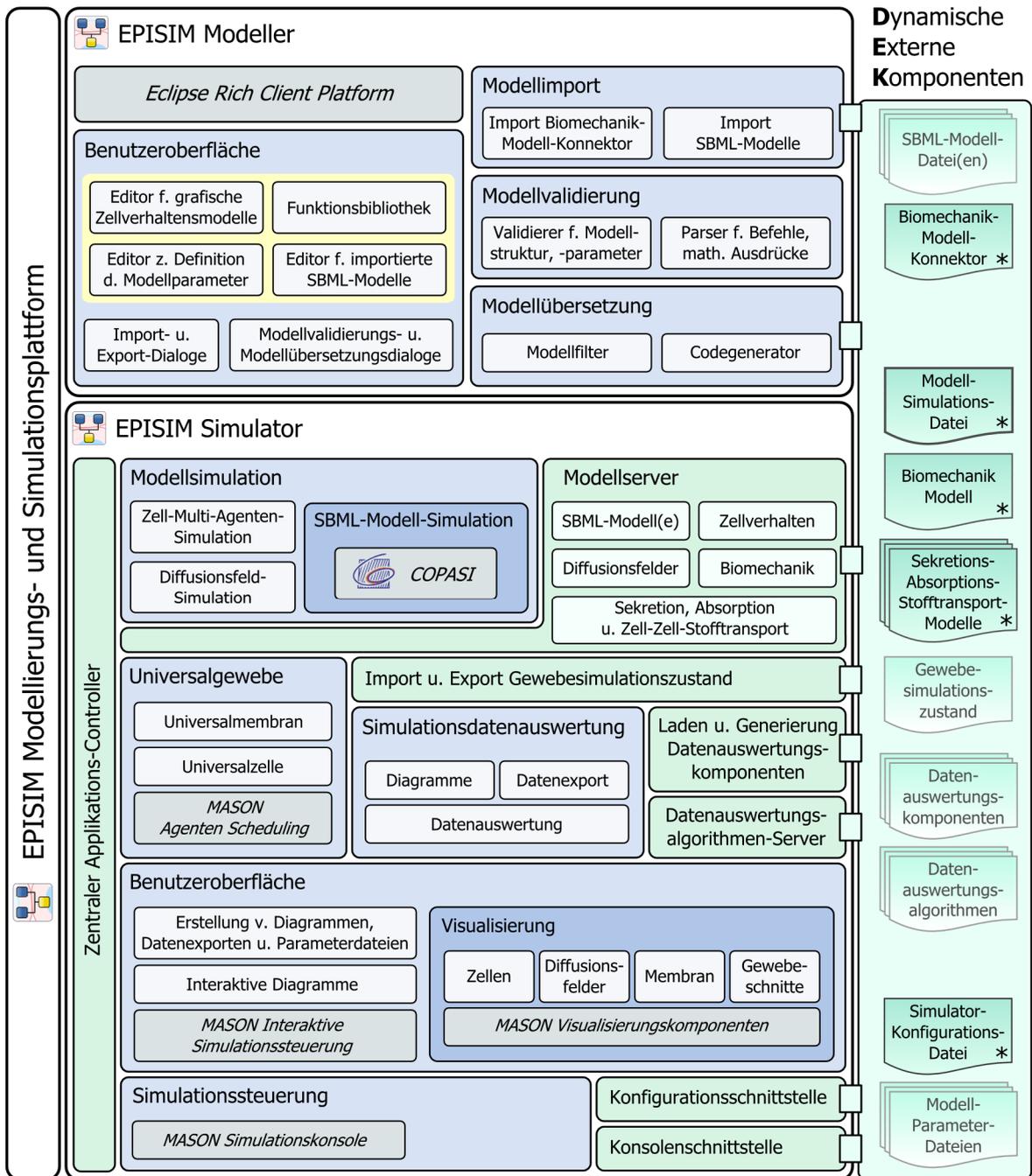


Abbildung 3.8: Komponentenbasierter Aufbau der EPISIM Plattform. EPISIM gliedert sich in die wesentlichen Bestandteile EPISIM Modeller, EPISIM Simulator und DEKs. EPISIM Modeller und EPISIM Simulator sind unabhängig voneinander installierbare Endanwender-Softwaresysteme, die ihrerseits (austauschbare) DEKs dynamisch einbinden oder einlesen. Der EPISIM Modeller wie Simulator entsprechen einem Zusammenschluss von Softwarekomponenten mit klar definiertem Funktionsumfang. Frei verfügbare Komponenten, die übernommen und integriert wurden, sind grau hinterlegt. Um ein zellbasiertes Gewebemodell simulieren zu können, benötigt der EPISIM Simulator zwingend eine Reihe von DEKs. Diese sind mit einem Stern gekennzeichnet. Die internen Simulator-Komponenten, die DEKs einbinden, sind grün hinterlegt.

Die Softwarekomponenten dieser vier Bereiche nutzen die *Eclipse Rich Client Platform (RCP)*⁶⁶ als technologische Basis. Die Eclipse RCP ist ihrerseits Bestandteil von Eclipse⁶⁷, das gemeinhin Bekanntheit als Entwicklungsumgebung für Java-basierte Softwareanwendungen erlangt hat. Eclipse ist ebenfalls komponentenbasiert aus sogenannten Plugins aufgebaut. Der Funktionsumfang von Eclipse kann dynamisch über das Hinzufügen aber auch Entfernen von Plugins verändert werden. Der minimale Kern an Plugins, der für eine lauffähige Eclipse Version benötigt wird, entspricht der Eclipse RCP. Auf dieser aufbauend können mit eigenen Plugins komplexe Softwareanwendungen mit reduziertem Entwicklungsaufwand erzeugt werden. Ein Softwaresystem aus dem Bereich der Bio- bzw. Chemoinformatik, das ebenfalls auf der Eclipse RCP aufbaut, ist *Bioclipse*, mit dem sich u.a. chemische Verbindungen analysieren lassen (Spjuth et al. 2007).

Nicht nur der reduzierte Entwicklungsaufwand für komplexe Anwendungen, sondern auch die breite und nachhaltige Unterstützung der Entwicklung eigener Plugins spricht für die Wahl der Eclipse RCP als technologische Basis. Primär ist an dieser Stelle das *Eclipse Modeling Framework (EMF)*⁶⁸ zu nennen, mit dessen Codegenerator auf der Grundlage von Instanzen des Meta-Modells *Ecore* (EMF-Modell) grafische Editoren in Form von Plugins für die Eclipse RCP teilautomatisch erzeugt werden können. Dieser modellgetriebene Entwicklungsansatz für grafische Editoren, die ihrerseits das Erstellen von systembiologischen Modellen zum Ziel haben, ermöglicht die flexible Anpassung derselben an neue

(systembiologische) Modellanforderungen mit geringem Aufwand (Näheres hierzu s. Abschn. 3.1.4).

Benutzeroberfläche Die Softwarekomponenten der Benutzeroberfläche des GMS, die in Abbildung 3.8 gelb hinterlegt sind, entsprechen Eclipse Plugins, die mit dem EMF erzeugt worden sind. Jedes dieser Plugins entspricht einem Editor, mit dem Bereiche eines CBM verwaltet bzw. erstellt werden können. Jeder Editor besteht aus der grafischen Benutzeroberfläche und der Verwaltung (bspw. Speicherung) der von ihm dargestellten Daten. Der Editor *Funktionsbibliothek* bietet Zugriff auf die vordefinierten Funktionen, die in einem CBM zum Einsatz kommen können. Mit dem *Editor für importierte SBML-Modelle* werden die Eingabe- und Ausgabegrößen eines importierten, SBML-basierten QSMs dargestellt und damit zugreifbar. Sämtliche Modellparameter eines CBM können mit dem dafür vorgesehenen *Editor zur Definition der Modellparameter* definiert und verwaltet werden (Näheres zu den zuvor genannten Editoren s. Abschn. 3.2.1).

Mit dem EMF kann lediglich ein Standardeditor für die Verwaltung von hierarchisch strukturierten, komplexen Daten erzeugt werden. Aus diesem Grund kam für die Realisierung des *Editoren für grafische Zellverhaltensmodelle* neben dem EMF das *Eclipse Graphical Modeling Framework (GMF)*⁶⁹ und vor allem das *Graphical Editing Framework (GEF)*⁷⁰ zum Einsatz. Mit GMF und vor allem GEF lassen sich Editoren zur Erstellung von grafischen Modellen realisieren. Das GEF ist die Grundlage der Modellelemente der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache, aus denen im Editor ein (Teil-)CBM erstellt werden kann (s. Abschn. 3.2.1). Die Kombinationsregeln für

⁶⁶ Die Eclipse Rich Client Platform ist frei verfügbar unter: <http://www.eclipse.org/home/categories/rcp.php> [Stand 18.01.2014, 17:30].

⁶⁷ Die Entwicklungsumgebung Eclipse ist frei verfügbar unter: <http://www.eclipse.org> [Stand 18.01.2014, 17:30].

⁶⁸ Das Eclipse Modeling Framework ist frei verfügbar unter: <http://www.eclipse.org/modeling/emf/> [Stand 18.01.2014, 17:30].

⁶⁹ Das Eclipse Graphical Modeling Framework ist frei verfügbar unter: <http://eclipse.org/gmf-tooling> [Stand 18.01.2014, 17:30].

⁷⁰ Das Eclipse Graphical Editing Framework ist frei verfügbar unter: <http://www.eclipse.org/gef> [Stand 18.01.2014, 17:30].

diese Modellelemente sind im EMF-Modell des Editors definiert. Aus diesem wird auch die Datenverwaltung, die dem Editor zugrunde liegt, mit dem EMF generiert. Die *EMF-Modelle* aller vier Editoren finden sich im Anhang A.

Keine grundständigen Eclipse Plugins sind die grafischen Dialoge, mit denen die Softwarekomponenten des Modellimports, der Modellvalidierung und der Modellübersetzung genutzt werden können. Diese sind in zwei separaten Softwarekomponenten realisiert, die über das Plugin, das den Editor zur Erstellung des grafischen CBMs umfasst, eingebunden werden.

Modellimport Der Bereich Modellimport umfasst zwei Softwarekomponenten, mit denen ein grafisches CBM mit einem BM bzw. mit SBML-basierten QSMs zu einem multiskalierten Gewebemodell semantisch verbunden werden kann. Die semantische Kopplung an ein BM erfolgt über den Import der DEK *Biomechanik-Modell-Konnektor*. Für jedes BM, das von der SE bereitgehalten wird, existiert eine solche MKK. Beim Import wird ausgelesen, welche reinen Eingabe-, welche reinen Ausgabe- und welche Eingabe-Ausgabe-Größen das BM aufweist. Diese werden automatisch mit den entsprechenden Zugriffsrechten in die Modellparameterdatei des CBM integriert und über den entsprechenden Editor zugänglich.

Für den Import eines SBML-basierten QSM wird die SBML-Datei mit Hilfe der Java-basierten Bibliothek *JSBML*⁷¹ (Dräger et al. 2011) eingelesen. Dabei werden die *Species*, *Parameters* und (*Reaction*) *Fluxes* des Modells extrahiert und in einer separaten Datei gespeichert, die dem entsprechenden Editor als Eingabeformat dient. Die originale SBML-Modell-Datei bleibt hierbei unverändert. Eine Kopie derselben wird im Projektverzeichnis des Modellprojekts, das das

CBM enthält, abgelegt. Der Import bzw. Export ganzer Modellprojekte, die mit dem GMS erstellt wurden, erfolgt mit Hilfe bereits vorhandener Softwarekomponenten der Eclipse RCP.

Modellvalidierung Das GMS unterstützt die Erstellung syntaktisch korrekter CBMs durch deren automatische Validierung teilweise in Echtzeit während der Modellerstellung selbst oder nach Aufruf der Modellvalidierung über die Benutzeroberfläche (Näheres zur Modellvalidierung s. Abschn. 3.2.1). Dieser Bereich des GMS besteht aus zwei Softwarekomponenten. Die erste übernimmt die Validierung der Struktur eines grafischen CBM und der Namensgebung der Modellparameter. Im Zusammenhang mit der Validierung der Modellstruktur kommt die Graphen-Bibliothek *JGraphT*⁷² zum Einsatz, mit deren Hilfe das CBM beim Erstellen einer Transition zwischen Modellelementen auf Zyklen geprüft wird. Die zweite Softwarekomponente übernimmt die syntaktische und partiell auch semantische Validierung sämtlicher Befehle bzw. mathematischer Ausdrücke, die in einem CBM definiert worden sind. Dies geschieht mittels eines LL(k)-Parsers der mit dem *Java Compiler Compiler (JavaCC)*⁷³ erzeugt worden ist. JavaCC erlaubt das automatische Generieren des Parser-Codes auf der Basis einer gegebenen Grammatik (Copeland 2007). Diese Grammatik ist als Teil dieser Arbeit für die grafische Zellverhaltensmodellierungssprache entwickelt worden.

Modellübersetzung Die automatische Übersetzung von grafischen CBMs wird von zwei Softwarekomponenten, die zusammen den EPI-SIM Codegenerator bilden, übernommen. Die erste der beiden Komponenten übernimmt die Filterung der Modelldateien während die zweite

⁷¹ Die Java-Bibliothek JSBML ist frei verfügbar unter: <http://sbml.org/Software/JSBML> [Stand 18.01.2014, 18:45].

⁷² Die Graphen-Bibliothek JGraphT ist frei verfügbar unter: <http://jgrapht.org> [Stand 19.01.2014, 10:00].

⁷³ Der Java Compiler Compiler ist als Eclipse Plugin frei verfügbar unter: <http://eclipse-javacc.sourceforge.net> [Stand 19.01.2014, 10:00].

aus den gefilterten Modelldateien zunächst Java-Quellcode und anschließend ausführbaren Java-Byte-Code erzeugt, der in Form einer Modell-Simulations-Datei von der SE geladen werden kann (Näheres zur automatischen Codeerzeugung findet sich in Abschn. 3.3.2).

Systemaufbau der Simulationsumgebung

Die grafische SE, mit der die zellbasierten, multi-skalierten Gewebemodelle, die mit Hilfe des GMS erstellt wurden, geladen und simuliert werden können, gliedert sich in die sechs wesentlichen Bereiche:

1. Modellserver und DEKs
2. Modellsimulation
3. Universalgewebe / Zellagenten
4. Simulationsdatenauswertung
5. Benutzeroberfläche
6. Simulationssteuerung

Die Kommunikation dieser Bereiche untereinander bzw. der Softwarekomponenten, aus denen sie bestehen, läuft über den zentralen Applikations-Controller (Abbildung 3.8), der eine lose Kopplung der einzelnen Bereiche gewährleistet.

Eine wesentliche technische Grundlage der SE, insbesondere des Bereichs multiagentenbasierte Gewebesimulation und -visualisierung, ist das Framework MASON⁷⁴ (Multi Agent Simulation of Neighborhoods), das rein Java-basierte Softwarekomponenten zur Verfügung stellt (Luke 2005). MASON hat in der Vergangenheit im Bereich der (System-)Biologie mehrfach Anwendung bei der Erstellung hart kodierter multizellulärer Simulationen gefunden (Grabe und Neuber 2005; Grant et al. 2006; Kim et al. 2009b, 2010),

⁷⁴ Das Framework MASON ist frei verfügbar unter: <http://cs.gmu.edu/~eclab/projects/mason/> [Stand 19.01.2014, 11:00]

ohne jedoch auf diesen Bereich festgelegt zu sein. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte SE nutzt MASON in unterschiedlichen Bereichen, worauf im Folgenden noch im Detail eingegangen wird.

Die zweite wesentliche technologische Grundlage der SE ist die Software COPASI (COmplex PAthway Simulator)⁷⁵, mit der die SBML-basierten QSMs simuliert werden (Hoops et al. 2006). COPASI ist ein Endanwender-Softwaresystem zur Modellierung, Simulation und Analyse biochemischer Netzwerke. COPASI unterstützt alle gängigen Betriebssysteme und kann über die Java-Sprachanbindung innerhalb eines Java-basierten Softwaresystems genutzt werden. Die Nutzbarkeit von COPASI über eine Sprachanbindung im Rahmen einer hart kodierten, multiskalierten Gewebesimulation ist am Beispiel der Simulation des TGF- β 1 (transforming growth factor)-Signalwegs im Kontext epidermaler Wundheilung gezeigt worden (Sun et al. 2009). SBML-basierte Modelle werden von COPASI umfassend unterstützt. Wegen der Nutzbarkeit über die Sprachanbindung, der Unterstützung des SBML-Standards und der kontinuierlichen Weiterentwicklung von COPASI als multizentrisches Projekt in den vergangenen Jahren ist die Integration in die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten SE erfolgt. Zwar wird nur ein Bruchteil der von COPASI bereitgestellten Funktionen benötigt, jedoch wird aufgrund der Kontinuität in der Vergangenheit auf zukünftige robuste Unterstützung des sich stetig weiterentwickelnden SBML-Modell-Standards geschlossen.

Modellserver und DEKs Der Modellserver ist die Komponente der SE, die ihre flexible Nutzung zur Simulation unterschiedlicher multiskalierter Gewebemodelle ermöglicht. Sämtliche Modelle, die durch ihre semantische Integration ein multiskaliertes, zellbasiertes Gewebemodell

⁷⁵ Die Software COPASI ist frei verfügbar unter: <http://www.copasi.org> [Stand 19.01.2014, 10:00]

bilden, liegen als DEKs vor, die erst zur Laufzeit der SE durch den Modellserver eingebunden werden. Der Modellserver selbst gliedert sich in fünf individuelle Softwarekomponenten (s. Abbildung 3.8), die jede für sich die Einbindung eines Modelltyps ermöglicht. Zentraler Ausgangspunkt dieser dynamischen Modelleinbindung in die SE ist das Laden einer Modell-Simulations-Datei durch den Anwender. Diese enthält die ausführbare Version des CBM, u.U. die SBML-Modell-Datei(en) der semantisch integrierten QSMs sowie die Definitionen der extrazellulären Diffusionsfelder.

Die Softwarekomponente für die Einbindung des BM ermittelt auf der Grundlage des eingebundenen Zellverhaltensmodells das einzubindende BM. Dies geschieht über den zugehörigen Biomechanik-Modell-Konnektor, dessen Spezifikation und damit auch dessen eindeutige Kennung (ID) über das GMS bei der Erstellung eines CBM importiert worden ist. Die ID des benötigten Biomechanik-Modell-Konnektors wird automatisch aus dem CBM ausgelesen und anschließend das erforderliche BM eingebunden (Näheres zu den entwickelten BMs s. Abschn. 4.2).

Die DF werden von der zugehörigen Softwarekomponente auf der Basis der in der Modell-Simulations-Datei enthaltenen Definitionen erstellt und als entsprechende Datenstruktur, die einen zwei- oder dreidimensionalen extrazellulären Raum repräsentiert, bereitgehalten (näheres s. Abschn. 4.1.2).

Die einzubindenden Basismodelle für Sekretion, Absorption oder interzellulären Stofftransport bzw. -austausch (s. Abschn. 4.1.1 u. Abschn. 4.1.2) sind in der Simulator-Konfigurations-Datei festgelegt.

Modellsimulation Die Komponente Modellsimulation der SE gliedert sich in drei individuelle Softwarekomponenten. Die Simulation der DFs erfolgt durch numerische Integration der Reaktions-Diffusions-Gleichung mit dem expliziten Euler-Verfahren und durch die anschließende

Anwendung des Basismodells für Absorption bzw. Sekretion (s. Abschn. 4.1.2). Die Softwarekomponente, die die Zell-Agenten simuliert, übernimmt die Simulation des CBM und des BM. Die Simulation der SBML-basierten QSMs erfolgt durch eine eigene Softwarekomponente, die in ihrem Kern den deterministischen LSO-DA-Integrator (Petzold 1983) von COPASI für die Zeitverlauf-Simulation eines individuellen QSMs nutzt. Der Ablauf eines Simulations-schritts wird in Abschn. 0 formal dargestellt.

Universalgewebe Das *Universalgewebe* entspricht mehr einem komplexen Datentyp als einer Softwarekomponente. Weitere zentrale komplexe Datentypen sind die *Universalzelle*, deren Instanzen die Agenten in der multiagentenbasierten Simulation repräsentieren, und die *Universalmembran*. Diese komplexen Datentypen sind Bestandteil des generellen Datenmodells, das jeder mit dem CMS realisierten multiskalierten Gewebesimulation zugrunde liegt (s. Abschn. 3.3.3). Die Erzeugung und Abarbeitung der Simulationssequenz, d.h. der Reihenfolge, in der die einzelnen Zellagenten simuliert werden, übernimmt die *Agenten-Scheduling*-Softwarekomponente des Frameworks MASON.

Simulationsdatenauswertung Die SE erlaubt die zielorientierte Echtzeitauswertung der Simulationsdaten, die aus der Simulation eines Gewebemodells hervorgehen (s. Abschn. 3.2.2). Der Bereich *Simulationsdatenauswertung* wird von drei Softwarekomponenten übernommen. Die Softwarekomponente *Datenauswertung* berechnet auf der Grundlage des vom Anwender gewählten *Datenauswertungsalgorithmus* und der geladenen *Datenwertungskomponente* die Daten von Interesse. Diese werden je nach Datenauswertungskomponente für die Darstellung in einem Diagramm oder den Export in eine Datei durch die Softwarekomponente *Diagramme* bzw. *Datenexport* aufbereitet.

Eine Datenauswertungskomponente entspricht entweder einer Sammlung von anzuzeigenden

Diagrammen oder einer Sammlung von Dateien, in denen die vorverarbeiteten Simulationsergebnisse von Interesse gespeichert werden. Es kann passend zu einem geladenen Gewebemodell je eine Datenauswertungskomponente des Typs *Diagramm* und des Typs *Datenexport* geladen werden. Die Auswertung der Simulationsdaten findet in vom Anwender definierten Intervallen im Anschluss an einen Modellsimulationsschritt statt (s. Abschn. 0).

Eine Datenauswertungskomponente wird vom Anwender interaktiv definiert, deren Code von der SE automatisch generiert bzw. in ausführbaren Code übersetzt und als DEK gespeichert. Dieses Vorgehen hat den Vorteil, dass die Datenauswertungskomponente speziell für ein geladenes Gewebemodell kompiliert werden kann, was einen zeiteffizienteren Zugriff auf die Simulationsdaten ermöglicht. Ferner kann die SE flexibel und ohne Neuinstallation um neue Datenauswertungsalgorithmen ergänzt werden, da diese als DEK durch den *Datenauswertungsalgorithmen-Server* nach dem Start der SE geladen und verfügbar gemacht werden.

Benutzeroberfläche Die SE kann zwar auch ohne grafische Benutzeroberfläche betrieben werden, dennoch stellt diese die beabsichtigte Standardinteraktionsfläche mit dem Anwender dar. Gesteuert wird eine Gewebesimulation mit der grafischen Benutzeroberfläche der *interaktiven Simulationssteuerung* des Frameworks MASON. Diese erlaubt das Starten, Stoppen, Pausieren sowie das schrittweise Ausführen einer Gewebesimulation. Ferner können mit ihr sämtliche globalen Parameter des Gewebemodells zur Simulationszeit interaktiv verändert werden. Hinzugefügt worden sind die Möglichkeiten, nach einem Simulationsschritt den Zustand einer Gewebesimulation zu speichern sowie zu Beginn einer Gewebesimulation die Konfiguration eines DF nebst Randbedingungen zu verändern.

Eine weitere Softwarekomponente stellt die Dialoge zur interaktiven Definition und automa-

tischen Generierung von Datenauswertungskomponenten in Form von Diagrammen oder Datenexporten zur Verfügung. Ferner werden Dialoge zur Zusammenstellung und Generierung von Modell-Parameter-Dateien bereitgestellt, die u.a. bei der Durchführung eines systematischen Modellparameterscans Verwendung finden können (Näheres s. Abschn. 3.2.2).

Wenn eine Datenauswertungskomponente des Typs *Diagramm* geladen worden ist, dann werden die in ihr enthaltenen Diagramme in der Benutzeroberfläche durch die Softwarekomponente *Interaktive Diagramme* angezeigt. Die zweidimensionalen Diagramme basieren auf der Java-Bibliothek *JFreeChart*⁷⁶ und bieten vielerlei Interaktionsmöglichkeiten, wie bspw. das Abspeichern von Diagrammen als Bilddateien oder die dynamische Veränderung der Achsenskalierung. Dreidimensionale Diagramme von extrazellulären Diffusionsfeldern nutzen die Java-Bibliothek *JZY3D*⁷⁷.

Die Hauptkomponente der Benutzeroberfläche ist die *Visualisierung* der Gewebesimulation. Die Softwarekomponenten zur Visualisierung der individuellen Zellen, der Diffusionsfelder etc. bauen auf den von MASON bereitgestellten Visualisierungskomponenten auf. Die Visualisierung von zweidimensionalen Gewebesimulationen geschieht mit Java-Bordmitteln. Für die Visualisierung von dreidimensionalen Gewebesimulationen wird eine spezielle Java3D-Version⁷⁸ verwendet, die auf JOGL⁷⁹, der Java-Sprachanbindung der 3D-Grafik-Programmier-

⁷⁶ Die Java-Bibliothek *JFreeChart* ist frei verfügbar unter: <http://www.jfree.org/jfreechart> [Stand 20.01.2014, 13:31].

⁷⁷ Die Java-Bibliothek *JZY3D* ist frei verfügbar unter: <http://jzy3d.org> [Stand 20.01.2014, 13:30].

⁷⁸ Diese spezielle Java3D-Version ist frei verfügbar unter: <http://jogamp.org/deployment/java3d/> [Stand 20.01.2014, 13:30].

⁷⁹ JOGL ist frei verfügbar unter: <http://jogamp.org/jogl> [Stand 20.01.2014, 13:30].

schnittstelle OpenGL⁸⁰, basiert. In einer dreidimensionalen Gewebesimulation werden Diffusionsfelder als Querschnitt durch das Diffusionsfeld an einer vom Anwender wählbaren Position visualisiert. Ferner können Querschnitte durch das dreidimensionale Gewebe in Form von Gewebeschnitten dargestellt werden.

Simulationssteuerung Die Gewebesimulation kann nicht nur mittels der grafischen Benutzeroberfläche gesteuert werden. Mittels der Simulationssteuerung, die auf der *MASON Simulationskonsole* aufbaut, kann die SE auch als Konsolenprogramm ohne grafische Benutzeroberfläche betrieben werden. Dies macht bspw. den Einsatz auf einem Rechencluster möglich. Über die Konfigurationsschnittstelle, die die Simulator-Konfigurationsdatei einliest, kann der SE mitgeteilt werden, welche Modell-Simulations-Datei, welche Basismodelle und welche Datenauswertungskomponenten geladen werden sollen (Näheres z. Simulator-Konfigurationsdatei s. Abschn. 3.2.2). Über die Konsolenschnittstelle kann eine Kennung für die Ausführung einer Gewebesimulation vergeben werden, die in den Namen aller Ausgabedateien (Diagrammabbildungen, Datenexporte u. Simulationsfilme) integriert wird. Ferner werden über sie die einzulesenden Modell-Parameter-Dateien festgelegt.

Dynamische externe Komponenten

Das eingeführte Konzept der DEKs ist der dritte Kernbestandteil der EPISIM Modellierungs- und Simulationsplattform. Ihnen ist gemeinsam, dass sie alle erst zur Laufzeit des GMS oder der SE eingelesen oder eingebunden werden. DEKs verleihen insbesondere der SE Flexibilität und Erweiterbarkeit. Manche DEKs werden automatisch mit dem GMS oder der SE generiert:

- Modell-Simulations-Datei (GMS)
- Gewebesimulationszustand (SE)
- Biomechanik-Modell-Konnektor (SE)
- Gewebesimulationszustand (SE)
- Datenauswertungskomponenten (SE)
- Modell-Parameter-Dateien (SE)

DEKs können einer Softwarekomponente, die dynamisch eingebunden bzw. gegen eine andere ausgetauscht werden kann, oder einer Datei, deren Daten lediglich eingelesen werden, entsprechen. Die DEKs, die für die Simulation eines zellbasierten Gewebemodells zwingend benötigt werden, sind in Abbildung 3.8 mit einem Stern gekennzeichnet. An dieser Stelle gilt es zu bemerken, dass von der SE mehr als ein biomechanisches Modell mit entsprechendem Konnektor als DEKs bereitgehalten werden (s. Abschn. 4.2). In Zusammenhang mit einem konkreten Zellverhaltensmodell wird jedoch immer nur eines davon durch die SE geladen.

Die benötigte Modell-Simulations-Datei ist das Ergebnis des automatischen Codeerzeugungsprozesses, der grafische Zellverhaltensmodelle in ausführbaren Simulationscode übersetzt (s. Abschn. 3.3.2). Sie entspricht als DEK einer Softwarekomponente, die das ausführbare, u.U. multiskalierte Zellverhaltensmodell nebst Modell-Konnektor-Komponenten bereitstellt. Gleichzeitig entspricht diese DEK aber auch einer Datei, da sie im Falle semantisch integrierter QSMs auch die SBML-Modell-Dateien enthält.

Die Sekretions-, Absorptions- u. Stofftransport-Modelle sowie die Datenauswertungsalgorithmen werden ebenfalls durch die SE bereitgestellt, können jedoch flexibel erweitert bzw. ausgetauscht werden, ohne dass hierfür eine Neuinstallation der SE erforderlich wäre. Die Simulator-Konfigurations-Datei ist ebenfalls fester Bestandteil der SE. Hierbei handelt es sich um eine Textdatei (Java-Properties-Datei), die vom An-

⁸⁰ Die plattformunabhängige 3D-Grafik-Programmierschnittstelle OpenGL ist näher beschrieben unter: *OpenGL - The Industry Standard for High Performance Graphics*, URL: <http://www.opengl.org> [Stand 20.01.2014, 13:30].

wender mittels eines Texteditors modifiziert werden kann (s. Abschn. 3.2.2).

Versionen der verwendeten Softwaresysteme, -bibliotheken und -frameworks

Die in der technischen Realisierung der EPISIM Plattform zur Anwendung gebrachten Softwaresysteme, -bibliotheken und -frameworks (Fremdkomponenten) anderer Anbieter sind sämtlich frei verfügbar. Bei der Auswahl derselben ist großer Wert auf Zukunftsfähigkeit in Sachen Weiterentwicklung und Fehlerbeseitigung durch den jeweiligen Anbieter gelegt worden. Die EPISIM Plattform wird regelmäßig aktualisiert, so dass i.d.R. immer die neueste Version einer Fremdkomponente verwendet wird. Aus diesem Grund ist auf die Angabe einer Versionsnummer verzichtet worden. Bei manchen Fremdkomponenten sind die Versionszyklen so kurz, dass die Gültigkeit einer im Text angegebenen Versionsnummer zeitlich sehr begrenzt wäre. Ferner werden keine Fremdkomponenten eingesetzt, bei denen eine Abhängigkeit der Lauffähigkeit der EPISIM Plattform von einer speziellen Versionsnummer derselben existierte.

3.3.2 Automatische Codeerzeugung aus grafischen Zellverhaltensmodellen

Ein Kernelement des entwickelten CMS bildet die vollautomatische Übersetzung von grafischen Zellverhaltensmodellen (CBMs) in ausführbaren optimierten Simulationscode. Realisiert wird dies durch den EPISIM Codegenerator, der als Teil dieser Arbeit für das GMS entwickelt wurde. Neben der Übersetzung der CBMs, erzeugt der Codegenerator auch automatisch den Code für die MKK, die die semantische Integration von CBM- und SBML-basierten QSMs im Rahmen der zellbasierten Gewebesimulation realisiert. Zunächst wird im Folgenden auf den Codeerzeugungsprozess und dessen technische Umsetzung eingegangen. Nachfolgend wird der Funktions-

umfang der automatisch generierten QSM-MKK beschrieben. Schließlich werden die Optimierungen, die bei der Codeerzeugung mit Blick auf die Minimierung der Simulationsrechenzeit vorgenommen werden, erläutert.

Codeerzeugungsprozess

Der Codeerzeugungsprozess, in dem grafische Zellverhaltensmodelle (CBMs) in ausführbaren Simulationscode übersetzt werden, ist weitgehend unabhängig von seiner technischen Realisierung konzipiert worden. Grundlage der Konzeption ist die Technik *Templates and Filtering* (Stahl und Voelter 2006), mit der eine flexible Adaption des Prozesses an verschiedene Codeausgabeformate möglich ist. Der Codeerzeugungsprozess ist in Abbildung 3.9 formal als Aktivitätsdiagramm dargestellt. Aktivitätsdiagramme sind Bestandteil der *Unified Modeling Language* (UML)⁸¹ und ermöglichen die formale Spezifikation von (softwaretechnischen) Prozessen. Die technische Umsetzung dieses Prozesses, insbesondere die daran beteiligten Datenformate und Dateien, sind wiederum Gegenstand von Abbildung 3.10. Die Farben der Objektknoten in Abbildung 3.9 verweisen auf die entsprechenden Dateien in Abbildung 3.10, die mit derselben Farbe hinterlegt sind.

Zu Beginn des Codeerzeugungsprozesses wird das zu übersetzende CBM gefiltert (*Filtering*). Herausgefiltert werden jene Informationen, die für die Erzeugung von Quellcode nicht benötigt werden. Ein CBM gliedert sich in das grafische Hauptmodell, die grafischen Submodelle sowie die Modellparameter. Das Hauptmodell des CBM wird durch den Anwender mittels des GMS festgelegt. Das Hauptmodell ist der Einstiegspunkt in das CBM bei jedem Simulations-

⁸¹ Die Spezifikation des UML-Standards in der Version 2.2 ist verfügbar unter: *Unified Modeling Language™ (UML®)*, URL: <http://www.omg.org/spec/UML> [Stand 22.01.2014, 9:15].

schritt. Das GMS ermittelt ausgehend vom Hauptmodell sämtliche Submodelle, die direkt im Hauptmodell selbst oder indirekt in einem Submodell referenziert werden. Aus den grafischen Modellen werden im Filterungsschritt bspw. die Positionskordinaten der Modellelemente oder vom Anwender im grafischen Modell platzierte Kommentare herausgefiltert. Die Filterung der Modellparameter umfasst u.a. das Löschen der Kommentare zur (physikalischen) Einheit eines Modellparameters. Im Anschluss an die Filterung werden Hauptmodell und Submodelle zu einem monolithischen CBM zusammengeführt.

Das monolithische CBM wird mit Hilfe von *Code-Templates* in Modell-Quellcode übersetzt. Für jedes Modellelement der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache existiert genau ein Template, das dessen Übersetzung in Quellcode beschreibt. Analog wird für die Modellparameter Quellcode erzeugt. Zusätzlich zu den Code-Templates wird hier noch die Biomechanik-Modell-Konnektor-Spezifikation benötigt. Diese enthält Meta-Informationen über die Eingabe- und Ausgabeparameter des BM, an das das CBM gekoppelt ist. Sind SBML-basierte QSMs importiert und in das CBM semantisch integriert worden, wird nach dem gleichen Prinzip für jedes QSM mit dem entsprechenden Template MKK-Quellcode erzeugt.

Nach der Erzeugung des Quellcodes wird das CBM in ein ausführbares, zellbasiertes Gewebemodell nebst zugehöriger Gewebeparameterkomponente, die den zentralen Zugriff auf die globalen Gewebeparameter für alle Zellen der späteren Simulation ermöglicht, übersetzt. Abschließend wird ein Modellarchiv erstellt, das sämtlichen ausführbaren Code und die originalen SBML-Modell-Dateien der u.U. integrierten QSMs enthält. Dieses Modellarchiv entspricht der Modellsimulationsdatei, die von der SE geladen und simuliert werden kann.

Die technische Umsetzung des Codeerzeugungsprozesses soll im Wesentlichen anhand der beteiligten Datenformate bzw. Dateien veranschaulicht werden (Abbildung 3.10). Ein grafisches Zellverhaltensmodell liegt als Datei mit der Endung *.mbe* vor. In dieser Datei ist das grafische Modell im offenen Standard XML-Metadata-Interchange (XMI⁸²) gespeichert. Diesen Standard verwenden sämtliche (grafischen) Editoren, die mit Hilfe des Eclipse Modeling Framework (EMF) erstellt wurden (Näheres siehe Abschn. 3.3.1). Somit wird auch für die Dateien, die die importierten SBML-basierten QSMs enthalten (*.imp_sbml*), und die Modellparameterdatei (*.data*) der XMI-Standard verwendet. In diesen XMI-basierten Dateien sind neben den modellrelevanten Daten sämtliche Informationen enthalten, die ein Editor benötigt, um die in der Datei enthaltenen Modelldaten darzustellen.

Diese Zusatzinformationen, die nur für die Darstellung relevant sind bzw. vom Anwender eingebrachten Kommentaren zu Modellparametern oder zum Modell selbst entsprechen, werden in einem initialen Schritt herausgefiltert (Abbildung 3.10 [1]). Die verbleibenden Daten werden im offenen Standard Extensible Markup Language (XML) gespeichert. Hierbei werden die gefilterten Daten von importierten SBML-basierten QSMs direkt in der Datei des vom Anwender gewählten Hauptmodells gespeichert. An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass beim Import eines SBML-basierten Modells nicht das komplette Modell, sondern nur die zugreifbaren quantitativen Modellgrößen (s. Abschn. 3.2.1) in einer *imp_sbml*-Datei gespeichert werden. Damit ist nach dem Filterungsschritt lediglich die Modelldatenschnittstelle der SBML-basierten Modelle in der Datei des Hauptmodells enthalten.

⁸² Die Spezifikation des XMI-Standards Version 2.1 ist verfügbar unter: *XML Metadata Interchange (XMI)*[®], URL: <http://www.omg.org/spec/XMI> [Stand 24.01.2014, 11:00].

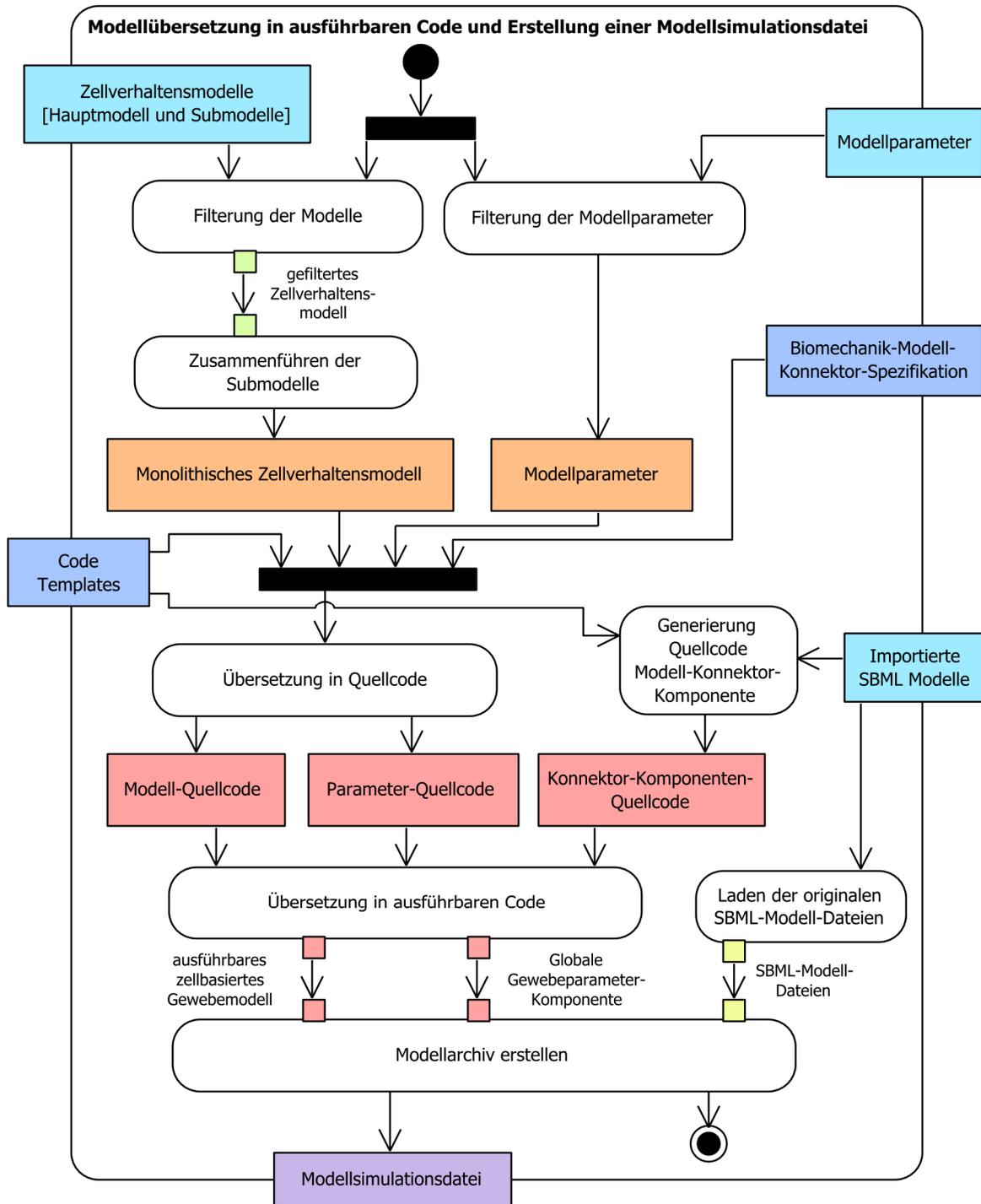


Abbildung 3.9: Ablauf der automatischen Codeerzeugung als UML-Aktivitätsdiagramm. Im ersten Schritt wird aus den grafischen Zellverhaltensmodellen und aus den Modellparametern jene Information herausgefiltert, die für die Codegenerierung benötigt werden. Im zweiten Schritt werden die Zellverhaltensmodelle (Hauptmodell und referenzierte Submodelle) zu einem monolithischen Zellverhaltensmodell zusammengeführt. Im dritten Schritt wird auf der Grundlage des monolithischen Zellverhaltensmodells, der Modellparameter und der u.U. importierten SBML-basierten Modelle der Quellcode erzeugt und in ausführbaren Code übersetzt. Dieser ausführbare Code wird zusammen mit den SBML-Modell-Dateien in der Modellsimulationsdatei gespeichert, die anschließend von der SE geladen werden kann.

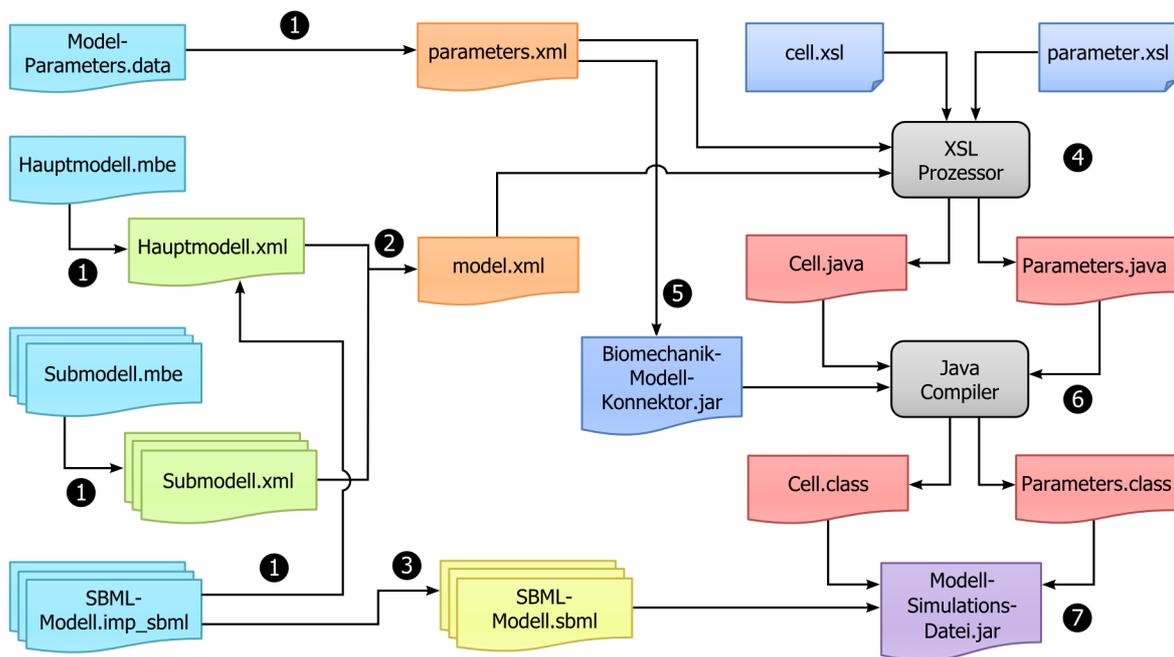


Abbildung 3.10: Technische Realisierung des Codeerzeugungsprozesses. (1) Erzeugung von gefilterten Modell- und Modellparameterdateien, die nur die Informationen enthalten, die für die Codeerzeugung benötigt werden. (2) Erstellen einer monolithischen Zellverhaltensmodelldatei. (3) Laden der originalen SBML-Modelldateien der integrierten QSMs. (4) Erzeugung von Java-Quellcode (Java-Klassen) aus den XML-basierten Modelldateien und den Code-Templates. (5, 6) Kompilierung der Java-Klassen gegen den verknüpften Biomechanik-Modell-Konnektor und Erzeugung von ausführbarem Java-Byte-Code. (7) Speicherung der ausführbaren Java-Klassen und der SBML-Modell-Dateien in einer Modell-Simulations-Datei in Form eines Java Archivs.

Hauptmodell und Submodelle werden nach der Filterung in eine monolithische Zellverhaltensmodelldatei zusammengeführt (Abbildung 3.10 [2]). Anschließend werden die originalen SBML-Modell-Dateien der QSMs geladen, die das komplette QSM enthalten und für die Simulation benötigt werden (Abbildung 3.10 [3]).

Die Code-Templates liegen im Standard Extensible Stylesheet Language (XSL⁸³) vor und beschreiben die Übersetzung der XML-Dateien in Java-Quellcode. Aus der Datei *model.xml* wird unter Verwendung der Code-Templates in der

Datei *cell.xsl* und dem Standard-Java-XSL-Prozessor die Java-Klasse *Cell(.java)* erzeugt. Analog wird die Gewebeparameterkomponente generiert, die durch die Java-Klasse *Parameters(.java)* repräsentiert wird (Abbildung 3.10 [4]). In der multiagentenbasierten Gewebesimulation erhält jede Zelle (vertreten durch einen Software-Agenten) eine individuelle Instanz der Klasse *Cell* und damit des CBM. Lediglich die globalen Gewebeparameter werden zentral in einer einzigen Instanz der Klasse *Parameters* verwaltet, über die die Zellen der Gewebesimulation Zugriff auf dieselben erhalten. Auch die Konfigurationen der definierten extrazellulären Diffusionsfelder werden in dieser Klasse verwaltet.

Zur Übersetzung der automatisch erzeugten Java-Klassen in ausführbaren Java-Byte-Code wird die als Java Archive (JAR) vorliegende Bio-

⁸³ Die Spezifikation des XSL-Standards Version 1.1 ist verfügbar unter: *Extensible Stylesheet Language (XSL) Version 1.1*, URL: <http://www.w3.org/TR/xsl/> [Stand 24.01.2014, 11:00].

mechanik-Modell-Konnektor-Komponente benötigt, gegen die die Klassen kompiliert werden (Abbildung 3.10 [5], [6]). Diese JARs können mit der SE für eines der zur Verfügung stehenden BMs automatisch generiert werden. Beim Verknüpfen von grafischem CBM mit einem BM wird das zugehörige JAR automatisch in das Projektverzeichnis kopiert, so dass eine automatische Bereitstellung desselben bei der Codeerzeugung seitens des GMS erfolgen kann.

Abschließend werden die ausführbaren Java-Klassen zusammen mit den SBML-Modell-Dateien der QSMs in einer JAR-Datei gespeichert (Abbildung 3.10 [7]). Diese Modellsimulationsdatei entspricht einer Softwarekomponente, die dynamisch zur Laufzeit der SE in eine multi-skalierte, multiagentenbasierte Gewebesimulation eingebunden und innerhalb derselben ausgeführt werden kann.

Modell-Konnektor-Komponenten

Die MKK nehmen in der modularen multiskalierten Modellarchitektur eine zentrale Stellung ein, da erst durch sie aus den einzelnen Modellen der verschiedenen Modellebenen ein semantisch integriertes, zellbasiertes Gewebemodell entsteht, das in einer multiagentenbasierten Simulation zur Anwendung gebracht werden kann (s. Abschn. 3.1.2).

Die MKK, die ein CBM und ein BM miteinander verbindet, übernimmt hierbei lediglich die Funktion einer Datenschnittstelle, die den Schreib-/Lesezugriff auf die Ein- und Ausgabeparameter eines BM aus einem CBM heraus ermöglicht und somit einen bidirektionalen Datenfluss zwischen CBM und BM realisiert. Die MKK-Spezifikation der seitens eines BM bereitzustellenden MKK enthält Meta-Informationen über die BM-Parameter. In ihr ist definiert, welche Parameter reine Eingabe-, reine Ausgabe- oder Eingabe-Ausgabe-Größen sind. Auf der Grundlage der MKK-Spezifikation kontrolliert das GMS den vom Anwender beabsichtigten Zugriff auf die BM-Parameter in einem grafischen CBM im

Rahmen der automatischen Modellvalidierung. Die MKK-Spezifikation ist Bestandteil der für die Verknüpfung von CBM und BM benötigten JAR-Datei (Abbildung 3.10 [5]). Beides, MKK-Spezifikation wie JAR-Datei inklusive aller benötigten Java-Klassen, kann automatisch mit der SE generiert und mit dem GMS importiert werden. Bei diesem Generierungsvorgang wird über die SE in der MKK-Spezifikation ein Verweis auf eine einfache Java-Klasse gespeichert, die die Funktion einer Initialisierungskomponente übernimmt. Diese Klasse erzeugt die initial in der Simulation vorhandenen Zellen und deren räumliche Anordnung. Somit ist es möglich, dass für ein BM mehrere MKKs zur Verfügung stehen, die sich lediglich im Verweis auf verschiedene Initialisierungskomponenten unterscheiden.

Die Funktionen der MKK, die CBM und SBML-basierte QSMs semantisch miteinander verknüpft, sind umfangreicher und gehen über die Realisierung des reinen Modelldatenaustauschs während der Simulation hinaus:

Abbildung der Zeitskalen (engl. *time mapping*) Die multiagentenbasierte Gewebesimulation als getaktetes System und die Zeitverlauf-Simulation der QSMs bewegen sich meist auf unterschiedlichen zeitlichen Skalen. Die MKK bildet diese Zeitskalen individuell für jedes semantisch integrierte QSM aufeinander ab (Näheres hierzu s. Abschn. 3.1.3).

Verwaltung der SBML-Modell-Zustände Aus technischen Gründen und aus Gründen der Zeiteffizienz wird mittels COPASI von der SE nur eine Instanz eines SBML-basierten QSM (SBML-Modell) geladen. Diese SBML-Modell-Instanz wird für die Zeitverlauf-Simulation des QSMs aller Zellen der Gewebesimulation verwendet. Aus diesem Grund muss der individuelle Zustand eines SBML-Modells nach der Zeitverlauf-Simulation nach einem Simulationsschritt der Gewebesimulation für jede einzelne Zelle separat gespeichert werden. Diese SBML-Modell-Zustände werden durch eine hierfür entworfene

Datenstruktur abgebildet und erlangen durch diese Persistenz. Die MKK verwaltet die SBML-Modell-Zustände aller semantisch integrierten QSMs für alle Zellen der Gewebesimulation und macht diese beim Speichern eines Gewebesimulationszustands verfügbar (s. Abschn. 3.2.2). Ferner kann für eine konkrete Zelle die Zeitverlauf-Simulation mittels der Funktion *SbmlSim* des GMS ein- und ausgeschaltet werden (s. Abschn. 3.2.1). Ob für eine bestimmte Zelle in einem Simulationsschritt eine Zeitverlauf-Simulation für ein bestimmtes QSM durchzuführen ist oder nicht, wird ebenfalls im SBML-Modell-Zustand gespeichert.

Initialisierung der Zeitverlauf-Simulation Auf der Grundlage eines SBML-Modell-Zustands wird die Zeitverlauf-Simulation eines bestimmten QSM für eine bestimmte Zelle zu Beginn eines Simulationsschritts durch die MKK initialisiert. Beispielsweise wird im Simulationsschritt n einer Gewebesimulation, die aus m zu simulierenden Zellen besteht, die Zeitverlauf-Simulation eines QSM mit dem SBML-Simulations-Zustand des Simulationsschritts $n - 1$ initialisiert. In jedem Simulationsschritt werden somit m individuelle Zeitverlauf-Simulationen von ein und demselben QSM durchgeführt.

Abbildung der eindeutigen Namen auf die originalen Namen Beim Import eines SBML-basierten QSM werden für die originalen Namen der im Modell enthaltenen *Species*, *Reactions* und *Parameters* eindeutige Namen generiert (Näheres s. Abschn. 3.2.1). Für die Zeitverlauf-Simulation eines QSM wird jedoch die originale SBML-Modell-Datei mit den originalen Namen der zuvor genannten Modellentitäten verwendet. Die MKK bildet aus diesem Grund die eindeutigen Namen, die im grafischen CBM referenziert werden, bei der Initialisierung einer konkreten Zeitverlauf-Simulation wieder auf die originalen Namen ab. Diese Abbildung ist insofern bidirektional, als dass die Ergebnisse der Zeitverlauf-Simulation wieder den eindeutigen Namen im SBML-Modell-Zustand zugeordnet werden.

Zugriff auf Zeitverlauf-Simulationsdaten Wie die MKK des BM ermöglicht auch die MKK eines semantisch in ein CBM integrierten QSMs den Zugriff auf die Simulationsdaten. Der Wert einer *Reaction* des SBML-Modells kann aus einem CBM heraus jedoch nur lesend referenziert werden, während die Werte der *Species* und *Parameters* auch verändert werden können.

Minimierung der Rechenzeit durch optimierten Code

Die automatische Erzeugung von Quellcode aus grafischen CBM schafft Raum für eine Reihe von Codeoptimierungen, mit denen sich die Rechenzeit einer Gewebesimulation reduzieren lässt. Bei manuell codierten Modellen hängen die Korrektheit und die Rechenzeiteffizienz des resultierenden Codes von der Versiertheit des individuellen Programmierers ab. Ferner wächst der Umfang eines Modells und damit dessen Umsetzung in Code in der Regel stetig an, was die Aufrechterhaltung einer homogenen Codequalität zusätzlich erschwert. Bei automatisch erzeugtem Code müssen einmalig die eingesetzten Code-Templates in Sachen Korrektheit und Rechenzeiteffizienz verifiziert werden, um für Modelle nahezu beliebiger Größe homogen optimalen Code zu erzeugen.

Die syntaktische und insbesondere die semantische Korrektheit der Code-Templates, die im EPISIM Code Generator zum Einsatz kommen, ist indirekt mit *Unit-Tests* (Beck und Andres 2004) für den von ihnen erzeugten Java Source Code überprüft worden. Es ist somit sichergestellt, dass grafische CBMs korrekt in Java-Quellcode übersetzt werden. Ferner sind jene Daten- und Kontrollstrukturen der Programmiersprache Java (teilw. empirisch) ermittelt worden, die für den jeweiligen Einsatzzweck innerhalb des automatisch erzeugten Codes die größte Rechenzeiteffizienz aufweisen.

Bei der manuellen Codierung von Modellen ist man an die Einhaltung allgemein üblicher Programmierkonventionen wie bspw. die Datenkapselung gebunden, da sonst der resultierende Mo-

dellcode nicht eingängig verständlich, nicht wartbar und vor allem nicht flexibel erweiterbar wäre. Automatisch generierter Code muss jedoch weder eingängig verständlich noch wartbar sein, da die Korrektheit des Codes eine Grundvoraussetzung ist und manuelle Modifikation bzw. Erweiterung des Codes nicht stattfindet. Die Erweiterbarkeit des generierten Codes ergibt sich automatisch aus der Erweiterbarkeit des dem Code zugrundeliegenden grafischen CBM. Bei der automatischen Codeerzeugung durch den EPISIM Code Generator werden somit sämtliche Programmierkonventionen, die zu Lasten der Rechenzeit gehen, bewusst vernachlässigt. Die Anzahl an definierten Methoden bzw. Methodenaufrufen wird im generierten Code auf einem Minimum gehalten. In den automatisch erzeugten (internen) Methoden wird auf die Prüfung der Validität der übergebenen Methodenparameter sowie der Validität von Ergebnissen eines Methodenaufrufs verzichtet, da die Validität von Parametern wie Ergebnissen vorausgesetzt werden kann.

Zur quantitativen Illustration der möglichen Rechenzeitvorteile, die durch die Auswahl effizienter Daten- bzw. Kontrollstrukturen und die Vernachlässigung der Programmierkonventionen, insbesondere der Validitätsprüfungen, entstehen können, soll ein Codebeispiel dienen (s. Anhang B). In diesem Codebeispiel werden konventioneller Code und rechenzeitoptimierter Code, wie ihn der EPISIM Code Generator erzeugt, gegenübergestellt. Der Entwicklung dieses Codebeispiels liegt das folgende Szenario zugrunde:

Simuliert werden sollen Zellen, denen ein zweidimensionales biomechanisches Modell auf der Basis eines hexagonalen Gitters zugrunde liegt. Dieses hexagonale Gitter besitzt periodische Randbedingungen entlang beider Dimensionen. Ein solches im Rahmen dieser Arbeit entwickeltes biomechanisches Modell ist in Abschn. 4.2.2 beschrieben. Jede Gitterzelle des zweidimensionalen Raums sei mit einer Zelle besetzt, so dass jede Zelle von sechs benachbar-

ten Zellen umgeben ist. Es werden vier Zelltypen unterschieden, die gleichverteilt auftreten. Das Zellverhaltensmodell ist trivialer Natur, so dass in einem Simulationsschritt lediglich in Abhängigkeit vom Zelltyp der benachbarten Zelle ein bestimmter Modellparameter dieser Nachbarzelle modifiziert wird. Das Modell, das dieser Modifikation zugrunde liegt, ist ebenfalls trivial und entspricht der Addition eines Zufallswerts.

Die konventionelle Umsetzung dieses Szenarios findet sich im Codebeispiel in der Java-Klasse *Cell* während die optimierte Umsetzung der Java-Klasse *CellOpt* entspricht. Ein Simulationsschritt des Zellverhaltensmodells einer konkreten Zelle entspricht in beiden Klassen einem Aufruf der Methode *cbm*, der die benachbarten Zellen übergeben werden. In der konventionellen Umsetzung wird für die Übergabe der Nachbarzellen eine *Liste* und in der optimierten Umsetzung ein *Array* als Datenstruktur verwendet, um den Effekt, den das Modellschnittstellendesign auf die Rechenzeit haben kann, mit einzubeziehen. Auf eine weitergehende Diskussion der technischen Unterschiede zwischen konventionellem und optimiertem Code wird an dieser Stelle verzichtet, da dies zu sehr in die Tiefe der Spezifika der Programmiersprache Java führte. Hinweise auf die Unterschiede finden sich direkt im Code.

Abschließend soll auf die Ergebnisse der Rechenzeitevaluation von konventionell kodiertem und optimiert kodiertem Zellverhaltensmodell eingegangen werden, die im Diagramm in Abbildung 3.11 dargestellt sind. Die Anzahl an Simulationsschritten entspricht jeweils der Anzahl an Aufrufen der Methode *cbm* in der Java-Klasse *Cell* und der Java-Klasse *CellOpt*. Durch die Optimierungen konnte im simulierten (trivialen) Modell die Rechenzeit durchgängig mindestens um 58% reduziert werden. Bei 10^8 Simulationsschritten, was 10.000 Simulationsschritten für 10.000 Zellen entspricht, konnte die Rechenzeit von über

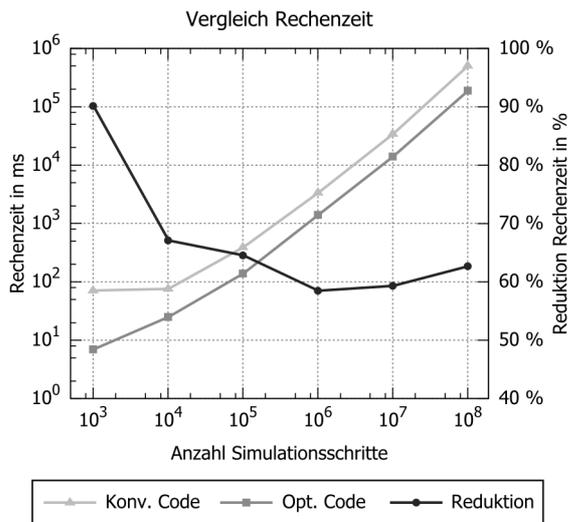


Abbildung 3.11: Vergleich der Rechenzeit von konventionellem versus optimiertem Code. Es zeigen sich signifikante Rechenzeitunterschiede zwischen konventionell und optimiert codiertem Zellverhaltensmodell. Die Reduktion der Rechenzeit durch die Optimierung beträgt im simulierten Modell mindestens 58 %.

acht Minuten (504 Sekunden) auf knapp mehr als drei Minuten (188 Sekunden) gesenkt werden. Dies veranschaulicht das mögliche Zeiteinsparungspotential, das sich bei der Simulation von komplexen Modellen durch optimierten Code ergibt und ist zugleich ein Argument für die automatische Erzeugung von optimiertem Code aus grafischen Zellverhaltensmodellen. Eine weitergehende Evaluation des EPISIM Code Generators als solchem findet sich in Abschn. 3.4. Ferner ist dort der Rechner charakterisiert, der für sämtliche Rechenzeitmessungen verwendet wurde.

3.3.3 Generelles Datenmodell der multiskalierten Gewebesimulation

Jeder mit dem CMS realisierten, multiskalierten Gewebesimulation liegt ein einheitliches generelles Datenmodell zugrunde. Dieses Datenmodell ist das Resultat der Abbildung multiskalierter biologischer Gewebemodelle auf die technische Realisierung der zellbasierten Gewebesimulation dieser Modelle, die durch das CMS realisiert wird. Das erarbeitete Datenmodell wird unter Verwendung der UML, dem verbreitetsten Modellierungsstandard im Bereich der objektorientierten Programmierung, formal dargestellt. Abbildung 3.12 zeigt das generelle Datenmodell als UML-Klassendiagramm, das sich auf die Klassen beschränkt, die einen Bezug zu dem zugrunde liegenden biologischen Modell aufweisen. Ferner ist aus Gründen der Darstellbarkeit auf die Angabe der Datenfelder und Methoden innerhalb der Klassen verzichtet worden. Aus Gründen der Verständlichkeit sind sprechende Klassennamen gewählt worden, die an die Stelle der eher technischen Namen treten, die für die konkreten Java-Klassen im tatsächlichen Quellcode gewählt wurden.

Das Datenmodell als solches gliedert sich in die drei Modellebenen:

1. Gewebeebene,
2. Zellebene und
3. Subzellebene.

Gewebeebene

Auf der Gewebeebene sind die globalen Gewebeparameter angesiedelt. Diese untergliedern sich in die globalen Parameter des biomechanischen Modells, abgebildet durch die Klasse *GlobaleBiomechanikparameter*, und die globalen Parameter des Zellverhaltensmodells, repräsentiert durch die Klasse *GlobaleZellverhaltensparameter*. Optional kann ein Gewebemodell eine Membran

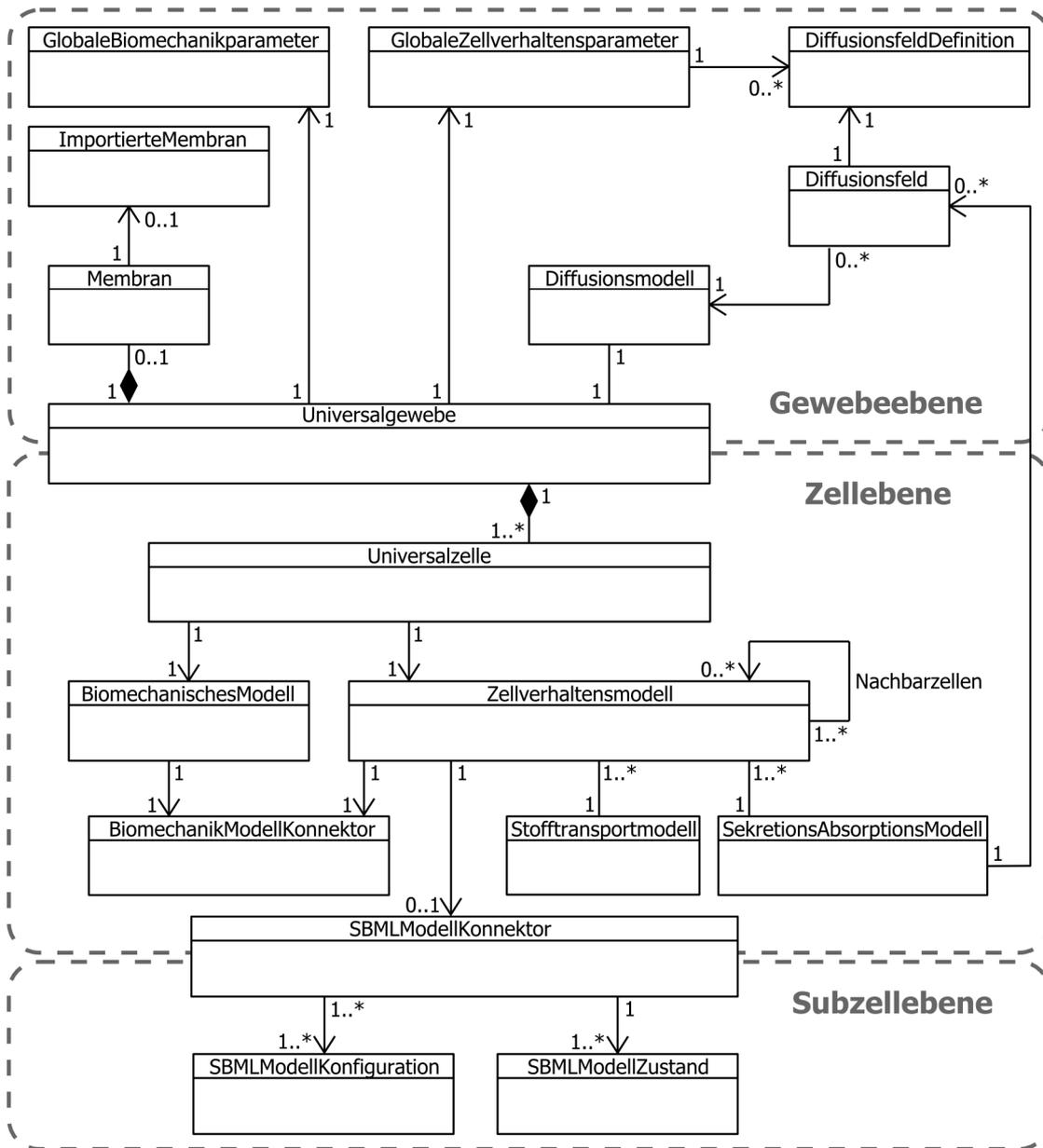


Abbildung 3.12: Datenmodell einer multiskalierten Gewebesimulation als UML Klassendiagramm. Das Datenmodell gliedert sich in die Gewebeebene, die Zellebene und die Subzelebene. Im Klassendiagramm sind all jene Klassen berücksichtigt, die einen Bezug zum zugrunde liegenden biologischen Gewebemodell aufweisen.

enthalten, die entweder ein räumliches Trennelement zwischen Zellen bildet oder als Oberfläche die Funktion einer (unteren) räumlichen Gewebegrenze übernimmt. Ein Anwendungsfall einer solchen Membran ist die Basalmembran als untere Begrenzung der Epidermis (siehe Abschn. 5.1.1). Die Form einer konkreten Membran kann durch ein mathematisches Modell oder durch importierte räumliche Daten einer real existenten Membran vorgegeben werden. Die SE bietet bisher eine Schnittstelle für den Import von Pixeldaten einer 2D-Basalmembran, die aus histologischen Schnitten mittels Bildverarbeitung segmentiert wurde. Diese Pixeldaten werden durch eine Instanz der Klasse *ImportierteMembran* repräsentiert.

Extrazelluläre DF sind ebenfalls Bestandteil der Gewebeebe. Diese werden mittels des GMS definiert (s. Abschn. 3.2.1) und treten im Rahmen des Datenmodells als komplexe globale Zellverhaltensparameter in Form von Instanzen der Klasse *DiffusionsfeldDefinition* in Erscheinung. Eine solche Instanz ist wiederum die Grundlage für die Erzeugung und Parametrisierung eines DF innerhalb der Gewebesimulation. Sie gibt ferner die räumliche Auflösung des dem DF zugeordneten extrazellulären Raums vor. Dieser wird durch eine Instanz der Klasse *Diffusionsfeld* repräsentiert. Der Simulation eines DF liegt ein Diffusionsmodell zugrunde (siehe Abschn. 4.1.2). In Abhängigkeit von der räumlichen Dimensionalität des biomechanischen Modells entspricht eine Instanz der Klasse *DiffusionsModell* entweder der zwei- oder der dreidimensionalen Realisierung des Diffusionsmodells. Zusammenfassend besteht ein DF somit aus der Diffusionsfelddefinition, dem Diffusionsmodell und dem extrazellulären Raum.

Zellebene

Das Bindeglied zwischen der Gewebeebe und der Zellebene bildet die Klasse *Universalgewebe*, von der in jeder Gewebesimulation nur eine Instanz existiert. In dieser werden alle Zellen der multizellulären Gewebesimulation verwaltet, die

ihre Instanzen der Klasse *Universalzelle* sind. Instanzen dieser Klasse wiederum repräsentieren die Agenten der multiagentenbasierten Gewebesimulation. Jede Zelle und damit jeder Agent besitzt seine eigene Instanz des BM und des CBM. Diese beiden Modelle sind über die Biomechanik-MKK semantisch miteinander verwoben. Eine Instanz der Klasse *BiomechanikModellKonnektor* entspricht der technischen Realisierung dieser MKK und ermöglicht den bidirektionalen Datenfluss zwischen beiden Modellen. Eine Instanz des CBM hat Zugriff auf die CBM-Instanzen aller unmittelbar benachbarten Zellen. Die entsprechenden Verweise auf die Nachbarzellen werden jeder CBM-Instanz durch die SE vor jedem Simulationsschritt übergeben. Jede CBM-Instanz besitzt Zugriff auf die allen Zellen gemeinsame Instanz des Stofftransportmodells (s. Abschn. 4.1.1) und des Sekretions- bzw. Absorptionsmodells (s. Abschn. 4.1.2), die die Grundlage der entsprechenden Funktionen der Funktionsbibliothek des GMS bilden (s. Abschn. 3.2.1). Die Instanz des Sekretions- bzw. Absorptionsmodells hat wiederum Zugriff auf alle DF der Gewebesimulation.

Subzellebene

Die SBML-MKK bildet die Schnittstelle zwischen der Zellebene und der Subzellebene, sofern in einem Zellverhaltensmodell SBML-basierte QSMs semantisch integriert sind. Jeder Instanz des Zellverhaltensmodells und somit jeder Zelle der Gewebesimulation ist eine eigene Instanz der SBML-MKK zugeordnet. Diese wiederum übernimmt eine Reihe von Aufgaben, die in Abschn. 3.3.2 näher beschrieben werden. Im Rahmen des generellen Datenmodells verwaltet die SBML-MKK den Zustand jedes semantisch integrierten QSMs. Solch ein Zustand entspricht einer Instanz der Klasse *SBMLModellZustand* und umfasst die numerischen Werte aller *Species*, *Parameters* und *Reactions* des zugrundeliegenden QSMs. Das QSM selbst wird u.a. aus Gründen der Recheneffizienz über die SBML-Schnittstelle von

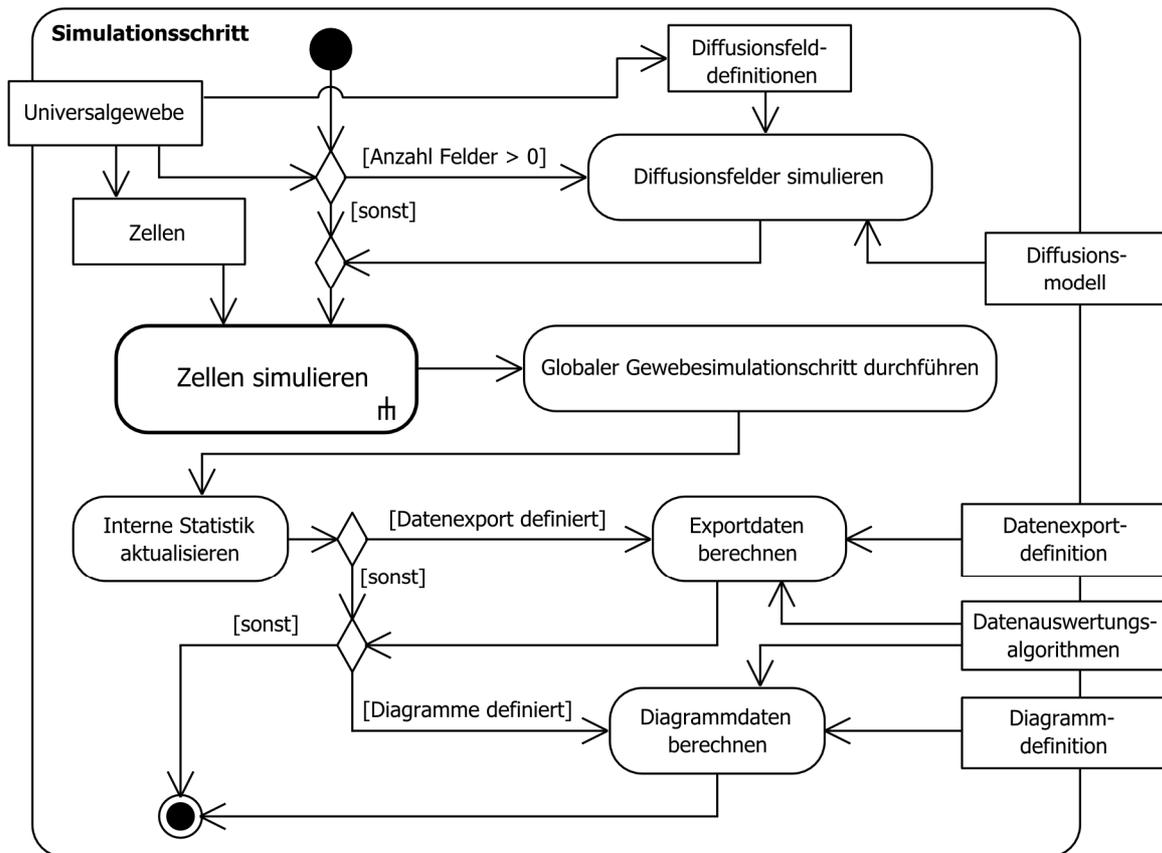


Abbildung 3.13: Ablauf eines Simulationsschritts als UML-Aktivitätsdiagramm. Jeder Simulationsschritt gliedert sich in die fünf Abschnitte: (i.) Simulation der Diffusionsfelder, (ii.) Simulation der Zellen, (iii.) globaler Gewebesimulationsschritt, (iv.) Aktualisierung interner statistischer Daten und (v.) Simulationsdatenauswertung.

COPASI (siehe auch Abschn. 3.3.2) nur ein einziges Mal geladen. Die Instanz der Klasse *SBMLModellZustand* dient der zellspezifischen Parametrisierung des QSM für die Zeitverlauf-Simulation desselben, die von COPASI durchgeführt wird. Ferner dient die Instanz der Klasse *SBMLModellKonfiguration* der QSM-spezifischen Parametrisierung des Simulators, der COPASI intern die Zeitverlauf-Simulation des QSM durchführt. Die Ergebnisse dieser Simulation werden als aktualisierte Instanz der Klasse *SBMLModellZustand* auf zellulärer Ebene durch die SBML-MKK verfügbar gemacht.

3.3.4 Ablauf eines Simulationsschritts

Eine multiagentenbasierte Gewebesimulation, die durch die SE realisiert wird, ist ein getaktetes System, dessen Takt keinen explizit definierten Realzeitbezug aufweist (s. Abschn. 3.1.3). Jeder Systemtakt entspricht lediglich einem Simulationsschritt der Gewebesimulation. Ein multiskaliertes Gewebemodell besteht aus verschiedenen Teilmodellen, die ihrerseits auf verschiedenen biologischen Skalen anzusiedeln sind und deren Simulation eine unterschiedliche zeitliche Auflösung erfordert. Darüber hinaus sind diese Teilmodelle semantisch miteinander verwoben, so dass auch die Reihenfolge, in der diese Teilmodelle simuliert werden, näher zu betrachten ist.

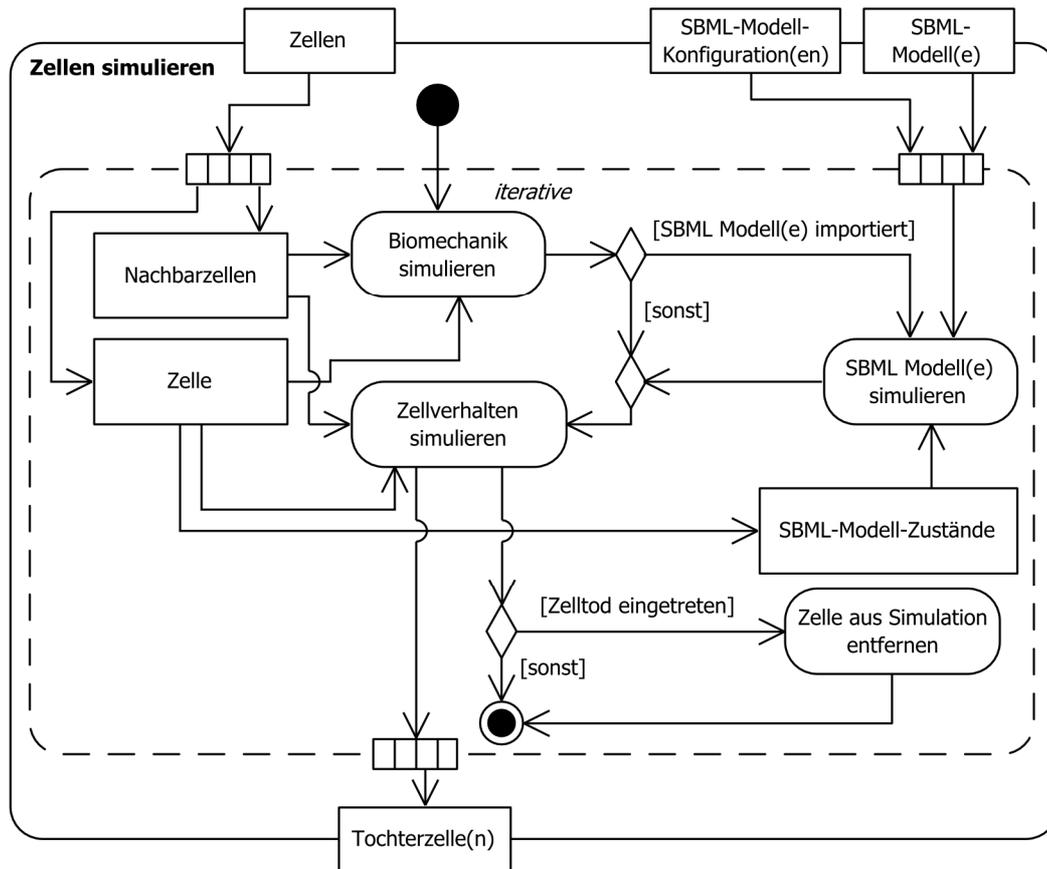


Abbildung 3.14: Simulation der Zellen innerhalb des Ablaufs eines Simulationsschritts. Die Zellen werden sequentiell in zufälliger Reihenfolge simuliert. Zunächst erfolgt die Simulation des biomechanischen Modells. Im Anschluss daran werden, sofern vorhanden, die SBML-basierten QSMs simuliert. Zuletzt erfolgt die Simulation des Zellverhaltensmodells.

Im Folgenden wird der Ablauf eines Simulationsschritts und der damit verbundenen Simulation aller Teilmodelle des multiskalierten Gewebemodells formal dargestellt.

Abbildung 3.13 zeigt den globalen Ablauf eines Simulationsschritts als Aktivitätsdiagramm. Dieses wird durch das Unteraktivitätsdiagramm in Abbildung 3.14 ergänzt, welches den Ablauf der Simulation aller Zellagenten im Detail zeigt. Zentraler Eingabeparameter eines Simulationsschritts ist das Universalgewebe. Dieses stellt wiederum, sofern vorhanden, die Definitionen der DF bereit. Sind DFs definiert, so werden zunächst die DF auf der Grundlage des Diffusionsmodells simuliert. Im Anschluss hieran werden die Zellen des Universalgewebes und somit die

Zellagenten simuliert. Daran anschließend wird ein *globaler Gewebesimulationsschritt* durchgeführt. Hierbei handelt es sich um eine Schnittstelle der SE, die entwickelt wurde, um globale Operationen auf allen Zellagenten im Anschluss an deren Simulation zu ermöglichen. Gegenwärtig existiert hierfür kein Anwendungsfall, da in einem agentenbasierten Simulationsansatz im strengen Sinn solche globalen Operationen nicht vorgesehen sind. Diese Schnittstelle erhöht jedoch die Erweiterbarkeit der SE bezüglich biomechanischer Modelle, die solche Operationen benötigen. Beispielfhaft seien an dieser Stelle Vertexbasierte Zellmodelle genannt (bspw. Honda und Eguchi 1980; Weliky und Oster 1990; Farhadifar et al. 2007a; Nagai und Honda 2009).

Mit dem globalen Gewebesimulationsschritt ist die Simulation des multiskalierten Gewebemodells abgeschlossen. Es folgt die Aktualisierung der SE-internen Statistik, die der Simulationsdatenauswertungskomponente der SE Zugriff auf die Zellzahlen des simulierten Gewebes aufschlüsselt nach Zelltypen und Differenzierungsstufen bietet. Ferner ist in dieser Statistik die Zahl der durch Zellteilung neu hinzugekommenen und der durch Zelltod ausgeschiedenen Zellen enthalten. Wenn ein Datenexport definiert worden ist, dann werden für diesen im Anschluss an die Aktualisierung der Statistik die entsprechend zu exportierenden Simulationsdaten mit den dafür ausgewählten Datenauswertungsalgorithmen berechnet. Ein analoger Vorgang stellt die Berechnung der Diagrammdaten für die definierten und in der SE angezeigten Diagramme dar. Dieser wird im Anschluss an den Datenexport ausgeführt und schließt den Ablauf eines Simulationsschritts ab.

Ablauf der Zellsimulation

Der formale Ablauf der Simulation aller Zellen innerhalb eines Simulationsschritts (siehe Abbildung 3.14) besitzt als zentralen Eingabeparameter alle Zellen und damit alle Agenten des simulierten Gewebes. Weitere Eingabeparameter sind, sofern vorhanden, die in das Zellverhaltensmodell semantisch integrierten, SBML-basierten QSMs und deren Konfigurationen. Bei der Simulation der Zellen handelt es sich um einen iterativen Prozess, in dem alle Zellen in zufälliger Reihenfolge sequentiell simuliert werden. Zu Beginn jedes Iterationsschritts werden der zu simulierenden Zelle deren direkt angrenzenden Nachbarzellen von der SE bereitgestellt. Zunächst wird dann das biomechanische Modell simuliert. Wenn QSMs vorhanden sind, werden diese im Anschluss an die Biomechanik auf der Grundlage der zellindividuellen SBML-Modell-Zustände der QSMs simuliert. Final erfolgt die Simulation des Zellverhaltensmodells auf der Grundlage der Ergebnisse der vorangegangenen Simulation der

Biomechanik und der QSMs. Eine Zelle wird unmittelbar aus der Gewebesimulation entfernt, sofern sich dies aus der Simulation des Zellverhaltensmodells ergibt. Ausgabeparameter des gesamten iterativen Prozesses sind sämtliche Tochterzellen, die aus der Simulation des Zellverhaltensmodells einer jeden Zelle hervorgegangen sind. Diese werden durch die SE in die Simulation integriert und beim nächsten Simulationsschritt erstmals berücksichtigt.

3.4 Systemevaluation

Eine Evaluation des entwickelten CMS ist unter verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführt worden. In erster Linie ist in diesem Zusammenhang die Evaluation der *Gebrauchstauglichkeit* des entwickelten Systems zu nennen. Auf technischer Ebene ist eine systematische *Evaluation des EPI-SIM Code Generators* (s. Abschn. 3.3.2) als Kernkomponente des entwickelten Systems durchgeführt worden. Ein gegenüberstellender Vergleich des entwickelten CMS mit den wesentlichen Alternativsystemen im Bereich Modellierung und Simulation multizellulärer Systeme zeigt Parallelen und Alleinstellungsmerkmale auf. Schließlich wird auf die Flexibilität des CMS, insbesondere mit Blick auf die generelle Anpassbarkeit bzw. Erweiterbarkeit, sowie die mögliche Ankopplung an andere Systeme eingegangen.

3.4.1 Gebrauchstauglichkeit des Systems

Die Gebrauchstauglichkeit eines Produkts bzw. Systems ist nach DIN EN ISO 9241-11 als Ausmaß definiert, in dem dieses durch bestimmte Anwender in einem bestimmten Nutzungskontext genutzt werden kann, um bestimmte Ziele

effektiv, effizient und mit Zufriedenheit zu erreichen⁸⁴.

Die Gebrauchstauglichkeit des entwickelten CMS im weiteren Sinne wird durch die (multi-skalierten) zellbasierten *in silico* Gewebemodelle gezeigt, die mit dem CMS realisiert (s. Kapitel 4), simuliert und untersucht (s. Kapitel 5) worden sind. Eine systematische anwenderbezogene Evaluation der Gebrauchstauglichkeit nach der zuvor genannten Norm im strengen Sinne erfordert Anwender, die mit dem CMS ein systembiologisches Modell mit angemessen hoher Komplexität realisieren und simulieren. Die Realisierung eines solchen Modells wiederum verlangte eingehende Kenntnis der vom CMS angebotenen Methoden und Modelle seitens des Anwenders. Aufgrund der zuvor genannten Voraussetzungen und dem mit ihnen einhergehenden zeitlichen Aufwand aus Anwendersicht ist das Erreichen einer hinreichend großen Anwenderzahl, die für aussagekräftige und belastbare Evaluationsergebnisse grundlegend wäre, im Rahmen der vorliegenden Arbeit unrealisierbar geblieben.

Dennoch ging mit der Systementwicklung auch der Gebrauch des Systems durch verschiedene Anwender einher, deren Feedback unmittelbar in den Entwicklungsprozess einbezogen worden ist. In einer frühen Phase der Systementwicklung ist von Frau Dr. Adamzik im Rahmen ihrer medizinischen Dissertation mit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache des CMS die Entstehung eines malignen Melanoms vor dem Hintergrund der involvierten Signaltransduktionswege grafisch formalisiert und partiell modelliert worden (Adamzik 2011). Diese Arbeit führte zu einer Revision der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache. Als wesentli-

che Neuerung ist die stochastische Verzweigung eingeführt worden (s. Abschn. 3.2.1).

Ferner ist das CMS regelmäßig, jedoch in begrenztem zeitlichem Rahmen, in Lehrveranstaltungen zur Durchführung von Übungen zur Modellierung und Simulation von multizellulären Systemen eingesetzt worden. Je nach Lehrveranstaltung hatten die Studierenden schwerpunktmäßig einen informatischen oder einen (system-) biologischen Hintergrund. Aufgrund der Kürze der Übungseinheiten ist eine tiefgehende Einarbeitung der Studierenden in das CMS und die dahinterstehende Methodik nicht möglich gewesen. Der Einsatz des CMS beschränkte sich daher auf einfache Übungsbeispiele. Das Feedback der Studierenden bezüglich der Handhabung des CMS ist aufgrund des zuvor erwähnten engen zeitlichen Rahmens zwar nicht formal erfasst worden, jedoch sind die Rückmeldungen unmittelbar in den Systementwicklungsprozess eingeflossen. Eine Anregung seitens der Studierenden ist bspw. die Implementierung der Autovervollständigung bei der Definition von Aktionen in einem grafischen Zellverhaltensmodell gewesen.

Ein Beispiel für die Tauglichkeit des CMS im Rahmen kooperativer Modellerstellung und -simulation ist das in Abschnitt 4.7 vorgestellte T-Zell-Migrationsmodell, das in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Halama aus der Abteilung Medizinische Onkologie des Nationalen Zentrums für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg erstellt worden ist. Nach der Erstellung der initialen Modellversion und einer Einführung in das CMS ist die weitere Parametrisierung und Untersuchung des Modells und dessen Simulation von Dr. Halama durchgeführt worden. Die von ihm mit der SE erzeugten Simulationsergebnisse sind Gegenstand von Abschnitt 5.5.

In der jüngeren Vergangenheit kam das CMS im Rahmen von zwei Master-Arbeiten in der Vertiefungsrichtung Systembiologie im Studiengang Molecular Biosciences zum Einsatz. Die Arbeit von Emiliano Izquierdo widmete sich der

⁸⁴ Deutsches Institut für Normung: Ergonomische Anforderungen für Bürotätigkeiten mit Bildschirmgeräten Teil 11: Anforderungen an die Gebrauchstauglichkeit – Leitsätze (ISO 9241-11:1998). Berlin: Beuth, 1998.

systembiologischen Untersuchung und *in silico* Modellierung der Tumormikroumgebung von Lebermetastasen bei kolorektalem Primärtumor (Izquierdo Rangel 2014). Hierbei fand neben dem GMS zur Erstellung von Zellverhaltensmodellen insbesondere das gitterbasierte biomechanische Modell der SE (s. Abschn. 4.2.2) Anwendung. Die Arbeit von Erika Tsingos beschäftigte sich mit der Weiterentwicklung des *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase (Tsingos 2014). Ein Schwerpunkt war hier die Berücksichtigung des *Stratum corneum* als epidermales Gewebekompartiment und der mit ihm verbundenen Barrierefunktion. Beide Arbeiten trugen zur weiteren Verbesserung der Gebrauchstauglichkeit des Systems bei. Exemplarisch sei die flexiblere Parametrisierbarkeit der SE durch individuell generierte Konfigurationsdateien im Zusammenhang mit der Durchführung von Parameterscans auf einem Rechencluster genannt (s. Abschn. 3.2.2).

3.4.2 Evaluation des EPISIM Code Generators

Der Code Generator des GMS (EPISIM Code Generator) ist eine der Kernkomponenten des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS. Dieser ist mit Blick auf die folgenden Fragen systematisch evaluiert worden:

1. Ist der Code Generator in der Lage, (sehr) große CBMs in ausführbaren Java-Byte-Code zu übersetzen?
2. Wie entwickelt sich die Rechenzeit des generierten Codes bei ansteigender CBM-Größe?
3. Wie entwickelt sich die Rechenzeit des generierten Codes eines CBM bei steigender Zellzahl?

Die semantische Verifikation des von dem Code Generator erzeugten Java Codes ist nicht Be-

standteil der im Folgenden beschriebenen Evaluation. Jedoch ist eine solche Verifikation durchgeführt worden. Der Code Generator wendet bei der Übersetzung der Modelle die Technik *Templates and Filtering* (Stahl und Voelter 2006) an (Abschn. 3.3.2). Für jedes Modellelement der entwickelten grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache existiert ein *Template* für die Übersetzung desselben in Java Quellcode. Die syntaktisch und semantisch korrekte Übersetzung eines Modellelements hängt somit von der Korrektheit des dafür verantwortlichen Templates ab. Die Korrektheit der Templates ist indirekt mit *Unit-Tests* (Beck und Andres 2004) für den von ihnen erzeugten Java-Quellcode überprüft worden. Es ist somit sichergestellt, dass grafische CBMs korrekt in Java-Quellcode übersetzt werden.

Zur Beantwortung der drei zuvor gestellten Evaluationsfragen ist ein Generator für grafische CBMs entwickelt worden. Die von diesem Generator erzeugten CBMs bestehen exklusiv aus den Modellelementen *State*, *Condition* sowie *Submodel*. Diese Subgruppe von Modellelementen bestimmt, wie empirisch in einem Vorversuch ermittelt, wesentlich die Rechenzeit der CBM-Simulation. Die Struktur der Einzelmodelle, aus denen sich das gesamte generierte CBM zusammensetzt, gleicht der Struktur eines Binärbaums (Abbildung 3.15). In jedem Modellelement des Typs *State* sind zwei Aktionen definiert, die die Funktionen *Send* bzw. *Receive* der Funktionsbibliothek des GMS aufrufen. Diese beiden Funktionen repräsentieren die Basismodelle für Stofftransport und Zell-Zellkommunikation (siehe Abschn. 4.1.1). Diese sind, bezogen auf die Rechenzeit der CBM-Simulation, die Funktionen mit dem höchsten Rechenaufwand. Konkret wird in jedem Modellelement des Typs *State* abhängig vom intrazellulären Ca^{2+} -Level eine bestimmte Menge von Ca^{2+} -Ionen auf die Nachbarzellen verteilt bzw. von ihnen angefordert. Darüber hinaus liegt den generierten grafischen CBMs keine tiefere biologische Semantik zu-

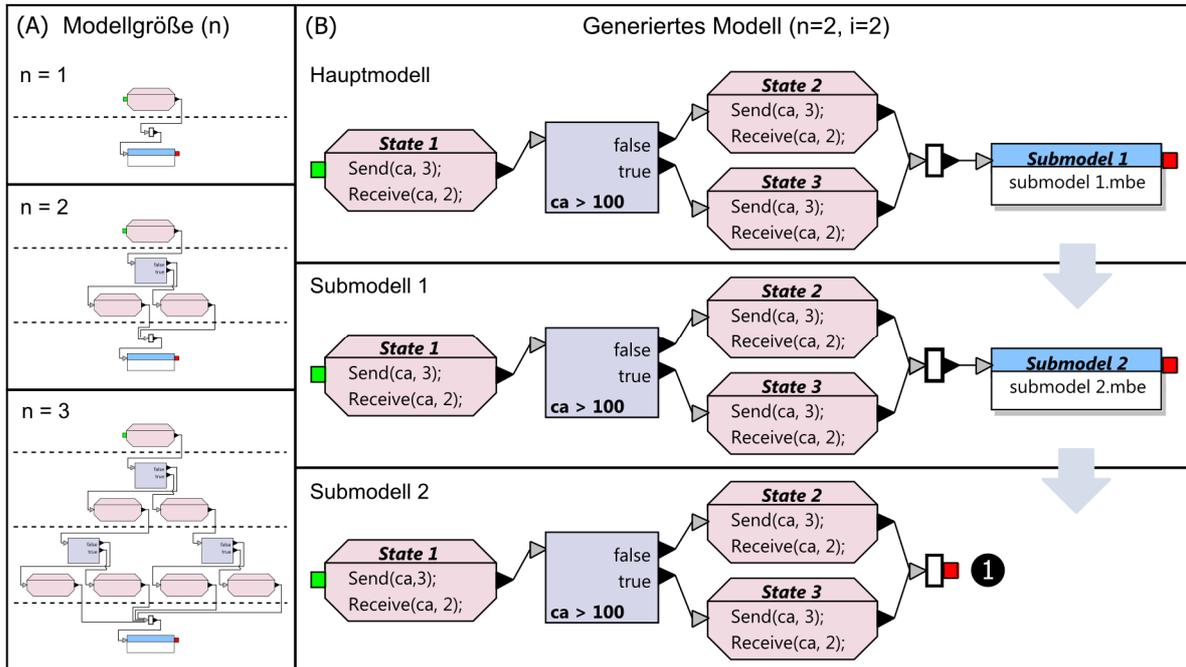


Abbildung 3.15: Generiertes Zellverhaltensmodell in Form eines Binärbaums. Das gesamte generierte CBM besteht aus einem Hauptmodell und i Submodellen mit der Struktur eines Binärbaums der Tiefe n . (A) Anwachsen des Hauptmodells bzw. der Submodelle für ansteigendes n . (B) Konkretes generiertes CBM ($n = 2, i = 2$). Das terminale Modellelement des Hauptmodells entspricht dem Aufruf von Submodell 1. Entsprechend wird am Ende von Submodell 1 das darauf folgende Submodell 2 aufgerufen. Submodell $i (= 2)$ enthält schließlich das terminale Modellelement (1) des Gesamt-CBM.

grunde. Ferner war das primäre Ziel bei der Entwicklung des CBM-Generators, jene Modellelemente und Funktionen in einer reproduzier- und skalierbaren Modellstruktur zu berücksichtigen, von denen die Rechenzeit der Simulation eines CBMs wesentlich abhängt.

Ein generiertes grafisches CBM besteht aus $i + 1$ Einzelmodellen, die sich in ein Hauptmodell und i Submodelle untergliedern (Abbildung 3.15 [B]). Jedes Einzelmodell besitzt die Struktur eines Binärbaums der Tiefe n (Abbildung 3.15 [A]). Abweichend von der eigentlichen Struktur eines Binärbaums besitzen alle Modellelemente des Typs *State*, die die Blattebene des Binärbaums bilden, eine Kante, die auf das terminale Modellelement des Einzelmodells verweist. Dieses terminale Modellelement ist im Falle des Hauptmodells bzw. der Submodelle 1 bis $i - 1$ der Aufruf des folgenden Submodells. Im Submodell i

wird auf das terminale Modellelement des generierten CBM verwiesen, das den Endpunkt eines Simulationsschritts bildet. Die Größe und damit die Komplexität eines generierten CBM lässt sich über die Anzahl an Modellelementen in einem Einzelmodell, die ein Resultat der Tiefe n des Binärbaums ist, und die Anzahl i von Submodellen skalieren. Die Gesamtzahl $t(i, n)$ an Modellelementen in einem generierten CBM ist

$$t(i, n) = (i + 1) * (2^{n+1} - 2^{n-1}) - 1 \quad (2.5)$$

Für die Evaluation des EPISIM Code Generators sind 12 grafische CBMs generiert worden, die in Tabelle 3.6, aufsteigend nach der Gesamtzahl an Modellelementen sortiert, aufgeführt sind. Diese generierten grafischen CBMs konnten mit dem EPISIM Code Generator erfolgreich in Java Quellcode und anschließend in ausführbaren Java Byte Code übersetzt werden. Die Zahl der aus

einem generierten grafischen CBM resultierenden *Source Lines Of Code* (SLOC), Java-Quellcodezeilen ohne Leerzeilen und Kommentare, sind in Tabelle 3.6 neben der Modellelementgesamtzahl aufgeführt. Damit wäre die erste Evaluationsfrage mit Blick auf die CBM-Größe, die vom EPISIM Code Generator übersetzt werden kann, beantwortet. Auch die sehr großen generierten CBMs ($n = 9$, $i = 100$) bzw. ($n = 9$, $i = 150$) konnten problemlos übersetzt werden. Ferner ist in der praktischen Anwendung der EPISIM Plattform nicht davon auszugehen, dass in naher Zukunft die CBM-Größe von 115.967 Modellelementen überschritten wird. Beispielsweise werden in den CBMs des Modells der humanen epidermalen Homöostase (Abschn. 4.3) insgesamt 78 Modellelemente und in den CBMs des Modells der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden 68 Modellelemente verwendet (s. Abschn. 4.4).

Zur systematischen Bestimmung der Rechenzeit des mit dem EPISIM Code Generator erzeugten ausführbaren Java-Byte-Codes ist ein Computerprogramm entwickelt worden, das diese für eine vorgegebene Zellzahl und ein ausführbares generiertes CBM ermittelt. Jede Zelle wird mit einer Instanz des betrachteten generierten CBMs versehen. Ferner werden jeder Zelle zehn Nachbarzellen zugeordnet. In jeder Zelle wird ein Simulationsschritt berechnet und die benötigte Rechenzeit für diesen Simulationsschritt in Millisekunden gemessen. Abbildung 3.15 (A) zeigt die gemessene Rechenzeit für eine konstante Zellzahl bei steigender Zahl an Modellelementen. Datengrundlage ist die Bestimmung der Rechenzeit aller zwölf generierten CBMs aus Tabelle 3.6 für jede der fünf definierten Zellzahlen. Abbildung 3.15 (B) zeigt hingegen die gemessene Rechenzeit bei konstanter Modellgröße und ansteigender Zellzahl. Die Rechenzeit wurde exemplarisch für fünf der zwölf generierten CBMs bestimmt (in Tabelle 3.6 grau hinterlegt).

Tabelle 3.6: Generierte Zellverhaltensmodelle zur Evaluation des EPISIM Code Generators.

n	i	Gesamtzahl Modellelemente	Source Lines of Code (SLOC)
6	0	95	835
6	1	191	1.463
9	0	767	5.091
6	10	1.055	7.115
9	1	1.535	9.975
6	50	4.895	32.235
9	10	8.447	53.931
6	100	9.695	63.635
6	150	14.495	95.035
9	50	39.167	249.291
9	100	77.567	493.491
9	150	115.967	737.691

In beiden Fällen (A) bzw. (B) wurden Regressionsgeraden durch die gemessenen Datenpunkte bestimmt. Für die Steigungen m dieser Regressionsgeraden gilt $0,84 \leq m \leq 1,13$. Dies macht wiederum die quasi-lineare Entwicklung der Rechenzeit in den beiden dargestellten Fällen deutlich und beantwortet gleichzeitig die beiden diesbezüglichen Evaluationsfragen. Die Recheneffizienz des aus den generierten grafischen CBMs erzeugten Codes ist auch ein Resultat der Optimierungen, die der EPISIM Code Generator bei der Codeerzeugung vornimmt (siehe Abschn. 3.3.2). Diese Optimierungen ermöglichen eine Einsparung von Rechenzeit, was bei großem Modellumfang bzw. großer Zellzahl zunehmend an Bedeutung gewinnt.

Die Evaluation des EPISIM Code Generators wurde auf einem Rechner mit Intel(R) Core(TM) 2 CPU (2.13 GHz, 1.06 GHz Front Side Bus, 2 MB Level 2 Cache, 4 GB RAM) durchgeführt. Dieser Rechner erzielte 18.121 MIPS (Millionen Instruktionen pro Sekunde) beim Dhrystone Benchmark der Arithmetisch-logischen Einheit (ALU) und 13.676 MFLOPS (Millionen Gleit-

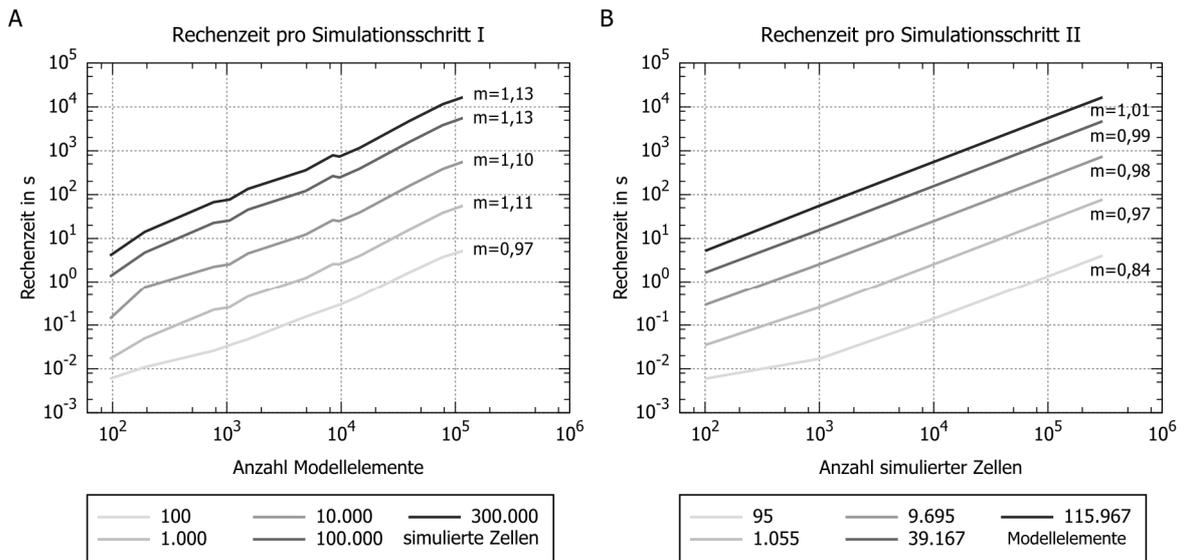


Abbildung 3.16: Rechenzeit der generierten Zellverhaltensmodelle. (A) Entwicklung der Rechenzeit bei konstanter Zellzahl und zunehmender Anzahl an Modellelementen. (B) Entwicklung der Rechenzeit bei konstanter Modellgröße und steigender Zellzahl. In beiden Fällen (A) u. (B) wird mit m die Steigung der Regressionsgeraden durch die gemessenen Datenpunkte bezeichnet. Diese Steigung ($m \approx 1$) macht die quasi-lineare Entwicklung der Rechenzeit in den beiden betrachteten Fällen deutlich.

kommaoperationen pro Sekunde) beim Whetstone Benchmark der Gleitkommaeinheit (FPU).

3.4.3 EPISIM im Vergleich mit anderen Systemen

Im Folgenden wird das entwickelte CMS und die EPISIM Plattform als dessen Realisierung den in Abschnitt 2.2.3 aufgeführten anderen einschlägigen Modellierungs- und Simulationssystemen vergleichend gegenübergestellt. Eine Quantifizierung des Umfangs der einzelnen Systeme⁸⁵ anhand der Zahl der Quelltextzeilen ihrer Realisierung findet sich in Anhang D.

Im Weiteren sollen folgende ausgewählte Modellierungs- und Simulationssysteme eingehender zunächst auf System- und anschließend auf Mo-

dellebene dem entwickelten CMS gegenübergestellt werden⁸⁶:

- CompuCell3D
- Morpheus
- Chaste

Das System *GemCell* (Amir-Kroll et al. 2008) ist nicht Bestandteil dieser Gegenüberstellung, da dieses System nicht öffentlich verfügbar gemacht worden ist. Zwar ist in einer unlängst erschienenen Publikation (Sadot et al. 2013), die unter Mitwirkung der Erstellerin des Systems, Hila Amir-Kroll, entstanden ist, die Verwendung von *GemCell* erwähnt worden. Jedoch ist in der Zeit zwischen 2008 und 2013 keine Aktivität in dem

⁸⁵ In diesem Vergleich sind jene Systeme enthalten, von denen der Quellcode entweder öffentlich ist oder zum Zweck dieser Quantifizierung zur Verfügung gestellt worden ist.

⁸⁶ Das Software-Framework Biocellion war zum Zeitpunkt der Abfassung dieses Abschnitts noch nicht veröffentlicht und wurde daher in der vergleichenden Gegenüberstellung nicht berücksichtigt (Kang et al. 2014). Auf Biocellion wird jedoch in Abschn. 2.2.3 kurz eingegangen.

Projekt festzustellen gewesen. Auch jetzt ist das System nicht öffentlich verfügbar.

Ebenfalls nicht in der Gegenüberstellung enthalten ist das *Multiscale Systems Immunology* (MSI) Framework (Mitha et al. 2008). Bei diesem Projekt ist, von der zuvor zitierten Publikation abgesehen, keine Aktivität zu verzeichnen⁸⁷. Aus diesem Grund und weil mit *Chaste* bereits ein System des Typs Framework in der Gegenüberstellung enthalten ist, hat das MSI Framework keine Berücksichtigung gefunden. Das Projekt von (Cell-based) Chaste besitzt im Gegensatz zu dem von MSI eine hohe Projekt- und Publikationsaktivität (s. bspw. Pitt-Francis et al. 2008, 2009; Osborne et al. 2010; Dunn et al. 2012; Mirams et al. 2013; Figueredo et al. 2013).

Schließlich sind die Systeme *CellSys* und *VirtualLeaf* nicht ausgewählt worden. Das System CellSys (Höhme und Drasdo 2010) stellt gegenwärtig eine grafische Benutzeroberfläche für ein konkretes Modell⁸⁸ bereit, das über die Oberfläche lediglich parametrisiert und anschließend simuliert werden kann. Weitere Möglichkeiten der Modellerstellung, wie bei den anderen ausgewählten Systemen, sind nicht gegeben. CellSys ist daher nicht berücksichtigt worden. Die Veröffentlichung einer weiterentwickelten Version dieses Systems, die mehr Möglichkeiten zur Erstellung eigener Modelle bieten soll, ist jedoch

angekündigt⁸⁹ (Hammad et al. 2014). Das System VirtualLeaf (Merks et al. 2011) bietet ebenfalls wie CellSys die Möglichkeit, das angebotene Modell über eine grafische Benutzeroberfläche zu parametrisieren. Die Erstellung eigener Modelle wird über eine Programmierschnittstelle ermöglicht, die den in der Allzweckprogrammiersprache C++ bereitzustellenden Modellcode einbindet. VirtualLeaf stellt sich als Mischung aus Framework und Endanwender-Softwaresystem dar, dessen Anwendungsfokus im Bereich der Pflanzenphysiologie liegt. VirtualLeaf ist nicht für die Gegenüberstellung in Betracht gezogen worden, da der Anwendungsbereich der anderen ausgewählten Systeme im Wesentlichen die Modellierung- und Simulation tierischer bzw. humaner multizellulärer Systeme umfasst.

Gegenüberstellung auf Systemebene

Die Gegenüberstellung auf Systemebene orientiert sich an den folgenden zentralen Fragen:

1. Um welchen Systemtyp handelt es sich und welcher Anwenderkreis wird angesprochen?
2. Wie wird mit dem System ein Modell erstellt und wie wird der Anwender bei der Modellerstellung systemseitig unterstützt?
3. Welchen Simulationsansatz verfolgt ein System bzw. welche Möglichkeiten der Darstellung und Auswertung der Simulationsergebnisse werden angeboten?

Jedes der in der Gegenüberstellung in Tabelle 3.7 enthaltenen Systeme besitzt Merkmale, die im Vergleich mit den anderen Systemen einzigartig sind und somit ein Alleinstellungsmerkmal darstellen. Dies ist im Falle von EPISIM bspw. die

⁸⁷ Die Weblinks, die zum Download des Systems auf dessen Webseite angeboten werden, sind seit Längerem ungültig: *Center for Computational Immunology, MSI: Multiscale Systems Immunology*, URL: <http://dulci.biostat.duke.edu/computationalimmunology/msi/index.html> [Stand: 12.03.2014, 7:30].

⁸⁸ Hierbei handelt es sich um ein Modell, mit dem das Wachstum von 2D Monozellschichten und 3D Zell-Sphäroiden simuliert werden kann. Die Freischaltung weiterer Modelle ist angekündigt: *Stefan Höhme. CellSys Software*, URL: <http://ms.izbi.uni-leipzig.de/index.php/software/cellsys2010> [Stand: 16.02.2015, 12:47]

⁸⁹ Siehe hierzu auch: *Activity Report 2012, Project-Team BANG, Nonlinear Analysis for Biology and Geophysical flows, INRIA Paris*. (Seite 5), URL: <http://raweb.inria.fr/rappportsactivite/RA2012/bang/bang.pdf> [Stand 12.03.2014, 8:00]

rein graphische Modellerstellung und automatische Codeerzeugung auf Basis der Modelle. Bei CompuCell3D sei beispielhaft die Vielzahl an Solver-Implementierungen für Reaktions-Diffusions-Modelle genannt. Morpheus hingegen bietet u.a. als einziges System eine automatische, parallele Ausführung von Simulationen eines Modells mit unterschiedlicher Parametrisierung über die grafische Benutzeroberfläche, die zeitgleich auch die Administration der parallelen Simulationsläufe ermöglicht. Schließlich zeichnet sich Chaste durch eine hohe Flexibilität aufgrund seines Framework-Charakters (s. auch Abschn. 3.4.4) und eine Vielzahl an gebotenen biomechanischen Modellen aus. Die Gegenüberstellung auf Systemebene zielt jedoch nicht darauf ab, diese teilw. sehr technischen Alleinstellungsmerkmale für jedes System in ihrer Gesamtheit abzubilden. Dies läge außerhalb des angestrebten Rahmens der Systemgegenüberstellung. Vielmehr dienen die drei zuvor formulierten Fragen der Schaffung einer möglichst objektiven Vergleichsebene auf einer höheren Abstraktionsstufe.

Das erste Vergleichskriterium ist der Systemtyp. Bei allen Systemen außer Chaste handelt es sich um Endanwender-Softwaresysteme. Ein solches ist nach der Installation auf dem Computersystem des Anwenders direkt lauffähig, ohne dass seitens des Anwenders weiterer Entwicklungsaufwand einzubringen wäre. Alle drei Systeme dieses Typs unterstützen je nach Betriebssystem die Installation durch eine Installationsroutine. Nach der Installation kann direkt mit der Modellerstellung begonnen werden, ohne dass weitere Einstellungen erforderlich wären. Bei Morpheus muss einschränkend erwähnt werden, dass je nach Betriebssystem die separate Installation zusätzlicher Software erforderlich ist⁹⁰. Bei

Chaste handelt es sich hingegen nicht um ein lauffähiges System, sondern um ein (Class) Framework, das ein Programmiergerüst in der Allzweck-Programmiersprache C++ in Form von Klassen und Methoden für die Modellerstellung und -simulation bereitstellt. Ein lauffähiges System entsteht erst durch die Erstellung eines Modells unter Verwendung von Chaste. Alle Systeme außer Chaste können über eine vom jeweiligen System eigens bereitgestellte grafische Benutzeroberfläche verwendet und bedient werden. Somit bildet Chaste mit Blick auf den angesprochenen Anwenderkreis eine Ausnahme unter den vergleichend gegenübergestellten Systemen. Chaste richtet sich an Anwender mit soliden C++-Kenntnissen, während die anderen Systeme eher Anwender mit geringen Programmierkenntnissen im Blick haben.

Das nächste Vergleichskriterium ist die Form der Erstellung eines Modells mit einem der Systeme und die Unterstützung des Anwenders bei der Modellerstellung. Zunächst ist festzustellen, dass die Trennung der Komplexität von Modellerstellung und technischer Umsetzung sowie von den drei Endanwender-Softwaresystemen in verschiedener Weise und unterschiedlich konsequent angegangen wird. Das Framework Chaste erlaubt keine Trennung von Modell und technischer Umsetzung des Modells und dessen Simulation, weil ein Modell direkt in der Allzweck-Programmiersprache C++ zu realisieren ist. Jedoch wird die Modellerstellung und das Erzeugen einer lauffähigen Simulation durch die bereitgestellten Klassen erleichtert und beschleunigt. Die Systeme CompuCell3D und Morpheus bieten für die Modellerstellung jeweils eine eigene, XML-basierte DSL an. Das Vokabular der jeweiligen DSL lehnt sich an die bereitgestellten (Modell-) Konzepte aus Mathematik, Physik, Biochemie und Biologie an, um so die Modellerstellung intuitiver zu gestalten.

⁹⁰ Siehe *Morpheus Download*,
URL: <http://imc.zih.tu-dresden.de/wiki/morpheus/doku.php?id=download:download>
[Stand 14.03.2014, 10:30].

Tabelle 3.7: Gegenüberstellung ausgewählter Modellierungs- und Simulationssysteme auf Systemebene. Die Klammern kennzeichnen eingeschränkte Unterstützung bzw. Bereitstellung.

	EPISIM Plattform	CompuCell3D	Morpheus	Chaste
Systemtyp	Endanwender-Softwaresystem	Endanwender-Softwaresystem	Endanwender-Softwaresystem	Framework
Grafische Benutzeroberfläche	Ja	Ja	Ja	Nein
Modellerstellung	Grafische Prozessdiagramme	DSL bzw. Python Skripte	DSL	C++
(Automatische) Semantische Modellintegration	Ja	(Ja)	Ja	Nein
Unterstützte systembiologische Standards	SBML	SBML	SBML	-----
Zellbasierte (multiagentenbasierte) Simulationsumgebung	Ja	Ja	Ja	(Ja)
Integrierte Gewebe- / Zellvisualisierung	Ja	Ja	(Ja)	(Ja)
Integrierte Simulationsdatenauswertung	Ja	(Ja)	(Ja)	Nein

Die jeweilige DSL ermöglicht die Codierung der Modelle auf einer höheren Abstraktionsebene als dies bei einer Allzweck-Programmiersprache der Fall wäre. Während bei Morpheus das komplette Modell in der DSL erstellt wird (Starruß et al. 2014), muss für CompuCell3D einschränkend erwähnt werden, dass nur die statischen, zeitinvarianten Teile eines Modells in der DSL erstellt werden können. Die dynamischen und damit zeitvarianten Teile des Modells müssen in der Allzweck-Skriptsprache Python unter Verwendung der von CompuCell3D bereitgestellten Schnittstelle programmiert werden (Andasari et al. 2012). EPISIM ermöglicht hingegen die rein grafische Erstellung von Modellen unter Einsatz von Prozessdiagrammen, die mit der entwickelten grafischen Modellierungssprache erzeugt werden (s. Abschn. 3.2.1). Der Modellcode und damit die technische Umsetzung des Modells und dessen Simulation werden automatisch aus dem grafischen Modell erzeugt.

EPISIM, CompuCell3D und Morpheus unterstützen die semantische Integration bzw. Ver-

knüpfung von zeitdiskreten und zeitkontinuierlichen Modellen. Die Abbildung der verschiedenen räumlichen und zeitlichen Modellskalen auf Gewebe-, Zell- und Subzellebene wird durch diese Systeme ermöglicht. Die Systeme unterscheiden sich jedoch im Grad der Automatisierung dieser semantischen Integration und damit im Grad der Unterstützung des Anwenders bei der Erstellung multiskalierter Modelle. Für EPISIM ist im Rahmen dieser Arbeit das Konzept der automatisch erzeugten MKK entwickelt worden (s. Abschn. 3.1.2), die die semantische Integration während der Modellsimulation automatisch übernehmen. So werden bspw. die räumlichen Zellobjekte auf extrazelluläre Diffusionsfelder automatisch abgebildet (Näheres s. Abschn. 4.1.2). Auch CompuCell3D und Morpheus bieten eine automatische Abbildung räumlicher und im Falle von Morpheus auch zeitlicher Skalen. Bei der Modellerstellung mit dem Framework Chaste ist eine semantische Integration verschiedener Teilmodelle eines multiskalierten Modells vom Anwender selbst bei der Modellcodierung zu realisieren.

Ein genereller Unterschied zwischen EPISIM und den beiden anderen Endanwender-Softwaresystemen wird in Bezug auf die semantische Modellintegration im Umgang mit QSMs deutlich. Diese sind meist zeitkontinuierlich und mittels gewöhnlichen Differentialgleichungen (ODEs) formuliert. Alle drei Systeme unterstützen den systembiologischen Modellstandard SBML (Hucka et al. 2003). Über diesen Standard lassen sich QSMs mit dem jeweiligen System in ein zellbasiertes Modell bzw. in eine multizelluläre Simulation semantisch integrieren. Bei CompuCell3D wird der Anwender direkt mit der technischen Realisierung dieser semantischen Integration konfrontiert, da diese durch ihn vollständig manuell bzw. teilw. durch Anpassung von Python-Code-Schablonen zu realisieren ist. In diesem Fall kann nicht von einer automatischen semantischen Integration gesprochen werden. Das System Morpheus hingegen konvertiert die SBML-Repräsentation eines QSM (SBML-Modell) in die eigene DSL, die auch die Definition von ODEs erlaubt. Simuliert wird ein SBML-Modell in Morpheus nicht auf der Basis der originalen SBML-Modell-Datei, sondern auf Basis der konvertierten, DSL-basierten Repräsentation. EPISIM erzeugt beim Import eines SBML-Modells den Code für eine MKK mit den in Abschn. 3.3.2 beschriebenen Funktionen. Für den Anwender bleibt diese MKK jedoch verborgen, da sie erst bei der Übersetzung des grafischen Modells, in dem das SBML-Modell semantisch referenziert worden ist, automatisch erzeugt wird. EPISIM bietet in diesem Zusammenhang als einziges System eine automatische Auflösung von Namensraumkonflikten, ohne hierfür die Modelldatei des semantisch integrierten SBML-Modells zu verändern. Ferner kann auf Basis dieser SBML-Modell-Datei ein Modell mit einem der zahlreichen hierfür zur Verfügung stehenden Werkzeuge (Hucka und Le Novère 2010) weiterentwickelt werden. EPISIM erlaubt die automatische Aktualisierung eines schon einmal importier-

ten SBML-Modells auf der Grundlage der veränderten SBML-Modell-Datei. Auch CompuCell3D verwendet die originale SBML-Modell-Datei für die spätere Simulation des Modells, so dass auch hier die Möglichkeit direkt an einem SBML-Modell weiterzuarbeiten gegeben ist. Bei Morpheus ist dies nicht möglich, da SBML-Modelle nur auf der Basis der Konvertierung in die eigene DSL unterstützt werden.

Alle Systeme bieten eine Simulationsumgebung für die zellbasierte Simulation der mit ihnen erstellten Modelle an. In allen Fällen entspricht diese Modellsimulation einer Multiagenten-Simulation. Mit Blick auf Chaste muss einschränkend erwähnt werden, dass keine lauffähige Simulationsumgebung, sondern nur ein Programmiergerüst für die Erstellung einer lauffähigen Simulation geboten wird. CompuCell3D wie EPISIM bieten eine in die Simulationsumgebung integrierte, interaktive Echtzeitvisualisierung des simulierten multizellulären Systems sowohl für zweidimensionale als auch für dreidimensionale Modelle. Morpheus bietet keine integrierte Gewebe- bzw. Zellvisualisierung. Im Falle einer zweidimensionalen Simulation werden in regelmäßigen Abständen Momentaufnahmen der Simulation mittels der externen Software Gnuplot statisch visualisiert und in einem separaten Fenster eingeblendet. Eine Echtzeitvisualisierung einer dreidimensionalen Simulation ist nicht möglich. Die für eine post hoc Visualisierung benötigten Daten werden von Morpheus exportiert. Mit diesen Daten kann nach Abschluss der Simulation mit entsprechenden Werkzeugen eine dreidimensionale Visualisierung erzeugt werden. Chaste bietet für die Zell- bzw. Gewebevisualisierung C++-Klassen, die vom Anwender zur Erstellung einer lauffähigen Visualisierung genutzt werden können. Alle Systeme außer Chaste bieten eine systemseitige Echtzeitauswertung der Simulationsdaten bzw. -ergebnisse. CompuCell3D bietet hier lediglich eine Python-Schnittstelle, über die man Simulationsergebnisse

in Echtzeit in Diagrammen anzeigen kann. Der Python-Code für diese Diagramme ist vom Anwender unter Nutzung einer Python-Diagramm-Bibliothek selbst zu erstellen. Morpheus erlaubt die Darstellung des zeitlichen Verlaufs von Modellparametern in Diagrammen. Es können auch einfache arithmetische Ausdrücke aus diesen Parametern gebildet und im Diagramm dargestellt werden. Für die Diagramme ist vom Anwender kein Code wie im Fall von CompuCell3D zu erstellen. Ferner kann der Zustand des kompletten Modells zu einem beliebigen Zeitpunkt für die post hoc Analyse gespeichert werden. Von allen Systemen bietet nur EPISIM umfangreiche systemseitige Möglichkeiten zur zielgerichteten Simulationsdatenauswertung⁹¹ ohne zusätzlichen Entwicklungsaufwand. Dies wird durch die automatische Erzeugung von Datenauswertungskomponenten, die interaktiven Diagrammen oder textbasierten Datenexporten entsprechen, realisiert (s. Abschn. 3.2.2). Für die Erstellung von Datenauswertungskomponenten werden von der EPISIM Simulationsumgebung grafische Assistenzdialoge und eine Bibliothek von Datenauswertungsalgorithmen, die eine zielgerichtete Selektion von Zellen auf der Grundlage von Booleschen Bedingungen erlauben, bereitgestellt. Die Codierung einer Datenauswertungskomponente erfolgt im Hintergrund automatisch durch die Simulationsumgebung.

Ferner erlaubt die EPISIM Simulationsumgebung die Speicherung eines Gewebesimulationszustands, der sowohl für die post hoc-Datenauswertung als auch für die komplette Wiederherstellung und Fortführung einer Simulation genutzt werden kann. Das Format eines solchen Gewebesimulationszustands entspricht einem XML-basierten ad hoc-Standard (s. Abschn. 3.2.2), der sich an der im Rahmen dieser Arbeit

entwickelten modularen Gewebemodellarchitektur (s. Abschn. 3.1.2) orientiert. Die Möglichkeit, Simulationszustände in einem standardisierten Format nicht nur zu speichern, sondern auf der Grundlage derselben auch wiederherzustellen, entspricht zumindest momentan einem Alleinstellungsmerkmal von EPISIM. CompuCell3D bietet eine ähnliche Funktion theoretisch auch (Cickovski et al. 2007), jedoch konnte diese in der aktuellen Systemversion nicht verwendet werden⁹². Ferner ist auf Grundlage der Literatur keine Aussage über das von CompuCell3D genutzte Datenformat für die Speicherung von Simulationszuständen möglich. Es kann daher keine Aussage darüber getroffen werden, ob es sich um ein rein technisches Format oder, wie bei EPISIM, um ein menschenlesbares Format handelt, dem systembiologische Modellsemantik zugrundliegt.

Gegenüberstellung auf Modellebene

Nach dem Vergleich auf Systemebene sollen EPISIM und die drei anderen ausgewählten Systeme auf Modellebene gegenübergestellt werden. Hier liegt der Fokus auf den von einem System angebotenen Zell-Modellen, mit denen Zellen in einem mit dem System erstellten multizellulären Modell räumlich repräsentiert werden können. Im Sinne der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten modularen Gewebemodellarchitektur entspricht dies den angebotenen biomechanischen Modellen (s. Abschn. 3.1.2). Ferner wird auf die über die biomechanischen Modelle hinausgehenden Modelle bzw. Modellformalismen eingegangen, die durch die Systeme unterstützt werden.

Als einziges System ist CompuCell3D vollständig auf ein biomechanisches Modell, das Cellular Potts Model (Graner und Glazier 1992),

⁹¹ Für CompuCell3D könnte diese vom Anwender selbst programmiert werden. Vorgefertigte Datenauswertungsalgorithmen werden jedoch nicht angeboten.

⁹² Zum Einsatz gekommen ist CompuCell3D Version 3.7.2, verfügbar unter: *SrcBin-CompuCell3D*, URL: <http://www.compuCell3d.org/SrcBin> [Stand 16.03.2014, 16:30].

festgelegt (s. Tabelle 3.8). Modelle, basierend auf gewöhnlichen Differentialgleichungen (ODEs), können über die SBML-Schnittstelle von CompuCell3D in ein konkretes zellbasiertes Modell semantisch integriert werden. Die Möglichkeit, ODEs mit diskreten Zell-Modellen semantisch zu verknüpfen, besteht bei allen vier Systemen. Dies gilt auch für Reaktions-Diffusions-Modelle, die im Zusammenhang mit einem diskreten Zell-Modell bspw. die Simulation von Chemotaxis erlauben. Zusätzlich unterstützt CompuCell3D als einziges System die semantische Integration von (Reaktions-Diffusions-)Advektions-Modellen in diskrete Zell-Modelle.

Die anderen Systeme, einschließlich EPISIM, stellen mehrere zellbasierte (biomechanische) Modelle zur Auswahl. Morpheus und Chaste bieten wie CompuCell3D die Möglichkeit, Zellen basierend auf dem Cellular Potts Modell zu repräsentieren. Bei Morpheus ist dieses Modell die einzige Möglichkeit, motile Zellen zu modellieren bzw. zu simulieren. Darüber hinaus können mit Morpheus zelluläre Automaten und eine Kombination von zellulären Automaten mit ODE Modellen (de Back et al. 2013a, 2013b), in Tabelle 3.8 und im Weiteren als gitterbasierte ODEs bezeichnet, realisiert werden. Im Kontext der Gegenüberstellung der Systeme auf Modellerebene wird unter einem Zellulären-Automaten-Modell ein gitterbasiertes Modell verstanden, in dem eine Zelle räumlich immer genau eine Gitterzelle des Zellulärraums einnimmt (bspw. Dormann und Deutsch 2002). Ergänzend sei jedoch erwähnt, dass auch ein Cellular Potts basiertes Zellmodell als zellulärer Automat aufgefasst werden kann, in dem eine Zelle räumlich mehrere Gitterzellen einnimmt (Galle et al. 2005).

Chaste bietet methodisch betrachtet die größte Bandbreite an Zellmodellen. Dies ist u.a. auch eine Konsequenz des Systemtyps Framework, zu dessen Vorteilen ein hohes Maß an Flexibilität und Erweiterbarkeit zählen. Als einziges System

bietet Chaste ein Vertex-basiertes Zellmodell (u.a. nach Honda und Eguchi 1980; Weliky und Oster 1990). Dies ist das einzige rein zweidimensionale Modell, das von einem der gegenübergestellten Systeme angeboten wird. Die Erweiterung dieses Modells auf die dritte Dimension ist jedoch angekündigt (Mirams et al. 2013). Schließlich können mit Chaste Zellen mit einem Zell-Zentrumsmodell repräsentiert werden, in dem Zellen räumlich Kreisen bzw. Kugeln entsprechen. Wahlweise können Zellen räumlich auch den Voronoi-Regionen entsprechen, die sich aus der Verteilung der Zellzentren im Raum ergeben (Osborne et al. 2010).

Mit dem von EPISIM bereitgestellten gitterbasierten biomechanischen Modell (s. Abschn. 4.2.2) lassen sich potentiell sowohl klassische zelluläre Automaten als auch gitterbasierte ODEs realisieren. Eine Besonderheit dieses gitterbasierten Zellmodells ist jedoch, nicht darauf reduziert zu sein, dass eine Zelle immer genau einer Gitterzelle entspricht. Ferner können Zellen, ausgehend vom Grundzustand, in dem sie räumlich eine Gitterzelle einnehmen, in den Zustand der Ausdehnung übergehen, in dem sie zwei Gitterzellen belegen. Im Zustand der Ausdehnung kann sich eine Zelle teilen oder migrieren.

Das ebenfalls von EPISIM bereitgestellte gitterfreie Zell-Zentrumsmodell (s. Abschn. 4.2.1) erlaubt die räumliche Repräsentation von Zellen sowohl als Kreise bzw. Kugeln als auch Ellipsen bzw. Ellipsoide. Letzteres stellt die Besonderheit dieses Modells dar, da in der Literatur Zellen in Zell-Zentrumsmodellen meist ausschließlich durch Kreise bzw. Kugeln repräsentiert werden können⁹³. Die Verwendung von Ellipsen bzw. Ellipsoiden bietet auf der Ebene der möglichen Zellmorphologie größere Flexibilität. Bei einer solchen räumlichen Repräsentation können je-

⁹³ Ein Beispiel hierfür ist das Zell-Zentrumsmodell genannt, das dem System CellSys zugrunde liegt (Höhme und Drasdo 2010).

Tabelle 3.8: Gegenüberstellung ausgewählter Modellierungs- und Simulationssysteme auf Modellebene. Für jedes zellbasierte (biomechanische) Modell eines Systems liegt eine zwei- und dreidimensionale Variante vor. Eine Ausnahme bildet das Vertex-Modell von Chaste, von dem nur eine zweidimensionale Version angeboten wird. Die Tabelle entspricht dem Stand vom 18.03.2014.

	EPISIM Plattform	CompuCell3D	Morpheus	Chaste
Zellbasierte (biomechanische) Modelle (2D u. 3D)	Zell-Zentrumsmodell Gitterbasiertes (biomechanisches) Modell Gitterbasierte ODEs Zelluläre Automaten ⁹⁴	Cellular Potts Modell	Cellular Potts Modell Gitterbasierte ODEs Zelluläre Automaten	Cellular Potts Modell Vertex-Modell (2D) Zelluläre Automaten Zell-Zentrumsmodell
Gewöhnliche Differentialgleichungen (ODE)	Ja	Ja	Ja	Ja
Reaktions-Diffusions-Modelle	Ja	Ja	Ja	Ja
(Reaktions-Diffusions-) Advektions-Modelle	Nein	Ja	Nein	Nein

doch Approximationen bei der Berechnung biophysikalischer Kräfte notwendig werden (Dallon und Othmer 2004). Dies träfe auch für das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Zellzentrumsmodell zu, wenn zukünftig eine Berücksichtigung der Zellkontaktflächen bspw. bei der Berechnung der Zell-Zell-Adhäsion eingeführt werden sollte.

Die biomechanischen Zellmodelle sind in der EPISIM-Simulationsumgebung als dynamische externe Komponenten realisiert (s. Abschn. 3.3.1), die vom System erst zur Laufzeit eingebunden werden. Dies ermöglicht die Erweiterung des Systems um weitere Zellmodelle, ohne dass

hierfür in hohem Maße Kenntnisse der technischen Realisierung des Systems erforderlich wären. Für CompuCell3D ist keine Schnittstelle dokumentiert, die zur Erweiterung genutzt werden könnte. Morpheus besitzt eine Plugin-Schnittstelle. Es wird seitens der Entwickler jedoch keine Aussage getroffen, welche Teile des Systems mit dieser Schnittstelle erweitert werden können⁹⁵. Die Erweiterbarkeit von Chaste ergibt sich aus der Tatsache, dass es sich bei dem System nicht um ein lauffähiges Endanwender-Softwaresystem, sondern um ein Framework handelt, dessen Quellcode beliebig veränderbar bzw. erweiterbar ist.

⁹⁴ Gitterbasierte ODEs (bspw. de Back et al. 2013a, 2013b) sowie klassische zelluläre Automaten können mit der EPISIM Plattform potentiell mittels des gitterbasierten biomechanischen Modells realisiert werden, weshalb diese Ansätze hier aus Gründen der Vollständigkeit aufgeführt werden. Beide Ansätze sind jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht zur Anwendung gekommen, so dass sie im Weiteren nicht näher dargestellt werden.

⁹⁵ Siehe *Morpheus Limitations*, URL: <http://imc.zih.tu-dresden.de/wiki/morpheus/doku.php?id=documentation:limitations> [Stand 18.03.2014, 15:30]

3.4.4 Flexibilität des entwickelten Systems

Die Flexibilität des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS wird im Folgenden sowohl in Bezug auf das Systemkonzept als auch auf dessen technische Realisierung diskutiert. Unter dem Begriff Flexibilität sind hier die Begriffe Übertragbarkeit, Anpassbarkeit, Erweiterbarkeit und schließlich Wiederverwendbarkeit subsummiert. Bevor jedoch auf die zuvor genannten Einzelaspekte der Flexibilität des CMS eingegangen wird, soll der Blick kurz auf die Flexibilität von Softwaresystemen im Allgemeinen gerichtet werden. Die Flexibilität von Softwaresystemen, die in gleichem Maße unter Anwendung von zeitgemäßen Methoden des Software Engineering entwickelt worden sind, hängt nicht unwesentlich vom Typ des Softwaresystems ab. Die in Abschn. 3.4.3 gegenübergestellten Softwaresysteme entsprechen entweder einem lauffähigen Endanwender-Softwaresystem oder einem Framework. Ein Endanwender-Softwaresystem kann mit einem Framework in Bezug auf dessen Flexibilität i.d.R. nicht konkurrieren. Dies ergibt sich aus dem Umstand, dass ein Framework nur ein Programmiergerüst darstellt, das für die Erstellung eigener lauffähiger Anwendungen genutzt werden kann. Ein Endanwender-Softwaresystem hingegen versagt sich dieses hohe Maß an Flexibilität zu Gunsten einer höheren Benutzerfreundlichkeit. Das Spannungsfeld zwischen hoher Flexibilität und hoher Benutzerfreundlichkeit ist in der Literatur als *Flexibility-Usability-Tradeoff* bekannt. Danach führt die Erhöhung der Flexibilität eines (Software-)Systems zu einer Abnahme von dessen Benutzerfreundlichkeit und umgekehrt (Lidwell et al. 2010 S. 102).

Bei der Konzeption und Realisierung des CMS ist ein hohes Maß an Benutzerfreundlichkeit angestrebt worden. Die Komplexität der technischen Realisierung eines zellbasierten Modells und dessen multizellulärer agentenbasierter Simulation wird durch das CMS vor dem Anwender

weitgehend verborgen. Zu diesem Zweck besitzt das CMS als Endanwender-Softwaresystem eine sehr umfangreiche grafische Benutzeroberfläche, die den Anwender in der Modellerstellung und -simulation (teilw. proaktiv) unterstützt. Jedoch ist auch der notwendigen Flexibilität eines CMS, das mit der Systembiologie in einem wissenschaftlichen Umfeld mit hoher Innovationsdichte zum Einsatz kommt, Rechnung getragen worden, um neue Anforderungen und Konzepte berücksichtigen zu können.

Übertragbarkeit Auf konzeptioneller Ebene ist in Bezug auf die Übertragbarkeit des CMS zunächst das Konzept der MKK zu nennen (s. Abschn. 3.1.2). Diese MKKs ermöglichen eine dynamische Kopplung verschiedener Einzelmodelle zu einem Gesamtmodell. MKKs übernehmen die Funktion eines Mediators, der eine automatische semantische Modellintegration realisiert, in der u.a. verschiedene räumliche und zeitliche Modellskalen aufeinander abgebildet werden. Zunehmend werden Modelle innerhalb von Projektkonsortien verteilt in verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelt⁹⁶ und müssen zu einem Gesamtmodell integriert werden. Das in dieser Arbeit vorgestellte und angewendete Konzept der automatisch erzeugten MKKs kann in diesem Zusammenhang zur Integration von Teilmodellen zu einem Gesamtmodell herangezogen werden. Auch die modellgetriebene Erzeugung einer domänenspezifischen (grafischen) Modellierungssprache zum Einen und die automatische Erzeugung einer lauffähigen multiagentenbasierten Simulation zum Anderen ist als Systementwicklungskonzept potentiell auf ähnlich geartete Fragestellungen übertragbar. Dies zeigt sich an der Arbeit von Gascueña et al., die unabhängig von

⁹⁶ Ein Beispiel hierfür ist das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderte Virtual Liver Netzwerk. Näheres siehe: *Virtual Liver: a major national initiative funded by the German Federal Ministry for Education and Research*, URL: <http://www.virtual-liver.de> [Stand 25.03.2014, 7:30].

dem im Rahmen dieser Arbeit entworfenen Systementwicklungsansatz, der in seinen Grundzügen 2009 veröffentlicht worden ist (Sütterlin et al. 2009), einen vergleichbaren Ansatz entwickelt haben (Gascueña et al. 2012). Mit Blick auf die technische Realisierung dieses Konzepts ist die automatische Erzeugung von optimiertem Code aus (grafischen) Modellen (s. Abschn. 3.3.2) als technisch übertragbares Element des entwickelten CMS zu nennen.

Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit Die Anpassbarkeit und Erweiterbarkeit des CMS werden gemeinsam diskutiert, da die Anpassung eines bestehenden Elements des Systems und die Erweiterung um ein vollständig neues Element hier sowohl auf konzeptioneller Ebene als auch auf der Ebene der technischen Realisierung des CMS nah beieinander liegen. Die Erweiterbarkeit der modularen multiskalierten Gewebemodellarchitektur lässt sich anhand ihrer inkrementellen Entstehung zeigen. Zunächst umfasste die Gewebemodellarchitektur grafische Zellverhaltensmodelle und biomechanische Modelle, die mit einer MKK semantisch verbunden worden sind. Diese Grundmodellarchitektur ist zunächst um die semantische Integration von QSMs in die grafischen Zellverhaltensmodelle auf der Grundlage des Modellstandards SBML erweitert worden. Schließlich sind als letztes Element die extrazellulären Diffusionsfelder hinzugekommen. Jeder Erweiterungsschritt konnte aufgrund des modularen Aufbaus der Gewebemodellarchitektur ohne wesentliche Veränderung der bereits existierenden Module realisiert werden.

Das mehrstufige, modellgetriebene Systementwicklungskonzept (s. Abschn. 3.1.4) ist gezielt mit Blick auf die flexible Anpassbarkeit bzw. Erweiterbarkeit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache und damit auch des Spektrums der mit ihr realisierbaren systembiologischen Modelle erstellt worden. Im Laufe der Zeit ist das Meta-Modell der Zellverhaltensmodellierungssprache mehrfach angepasst und erweitert wor-

den. Ein Beispiel hierfür ist Bereitstellung neuer Funktionen in der Funktionsbibliothek (s. Abschn. 3.2.1)⁹⁷. Bestehende Funktionen sind in Bezug auf die von ihnen verlangten Parameter angepasst worden⁹⁸. Als neues grafisches Modellelement ist nachträglich die Verzweigung auf der Grundlage von Raten bzw. Wahrscheinlichkeiten eingeführt worden (*Transition Probability Choice*). Mit diesem Modellelement können stochastische bzw. hybride systembiologische Modelle realisiert werden. Die Einführung der extrazellulären Diffusionsfelder ist auf Ebene der Zellverhaltensmodellierungssprache mit der Einführung eines komplexen, gleichnamigen Modellparametertyps einhergegangen. Dieser entspricht der Definition bzw. Konfiguration eines extrazellulären Diffusionsfelds. Somit sind in allen drei Teilbereichen der Zellverhaltensmodellierungssprache (Modellfunktionen, Modellparameter und grafische Modellelemente) erfolgreich Anpassungen bzw. Erweiterungen unter Ausnutzung des modellgetriebenen Systementwicklungskonzepts vorgenommen worden.

Die Erweiterbarkeit und damit Anpassbarkeit der Simulationsumgebung im Allgemeinen und der von ihr angebotenen BMs im Speziellen ist durch das entwickelte Konzept der dynamischen externen Komponenten gegeben, die erst nach dem Systemstart der Simulationsumgebung geladen werden (s. Abschn. 3.3.1). Das vorhandene Spektrum an BMs wird von der Simulationsumgebung somit nach ihrem Start automatisch ermittelt. Vom gitterfreien BM (s. Abschn. 4.2.1)

⁹⁷ Die wesentlichen neuen Funktionen sind im Zusammenhang mit der Steuerung der Simulation von SBML-Modellen bzw. der Einbeziehung von extrazellulären Diffusionsfeldern (z.B. *SendDF* oder *ReceiveDF*) eingeführt worden.

⁹⁸ Ein Beispiel hierfür sind die Funktionen *Send* und *Receive*, die nunmehr ausschließlich für den interzellulären Stoffaustausch genutzt werden. In einer früheren Version sind diese Funktionen auch für die Modellierung von Sekretion und Absorption genutzt worden.

ist zunächst die zweidimensionale und anschließend darauf aufbauend die dreidimensionale Variante als DEK realisiert worden. Wiederum ist das gitterbasierte BM (s. Abschn. 4.2.2) mit derselben Vorgehensweise erst nach dem gitterbasierten BM entwickelt und als DEK bereitgestellt worden. Auch das Spektrum der angebotenen Datenauswertungsalgorithmen (s. Abschn. 3.2.2) und Basismodelle (s. Abschn. 4.1), die auch als DEKs vorliegen, ist ebenfalls kontinuierlich erweitert worden, ohne dass hierfür der Kern der Simulationsumgebung hätte angepasst oder neu übersetzt werden müssen.

Das Bindeglied zwischen dem grafischen Modellierungssystem und der Simulationsumgebung ist die automatische Codeerzeugung aus den (multiskalierten) grafischen Zellverhaltensmodellen (s. Abschn. 3.3.2). Im Zuge der Erweiterung und Anpassung der Zellverhaltensmodellierungssprache sind auch die Code-Templates der automatischen Codeerzeugung erweitert und angepasst worden. Die Anpassbarkeit der Codeerzeugung leitet zum Aspekt der Wiederverwendbarkeit von Komponenten des entwickelten CMS über, da durch die Anpassung der Codeerzeugung das grafische Modellierungssystem potentiell im Zusammenhang mit einer anderen Simulationsumgebung wiederverwendet werden kann.

Wiederverwendbarkeit Im Rahmen von Sütterlin et al. 2013 ist die seitens der Gutachter gestellte Frage diskutiert worden, inwieweit das entwickelte CMS als Ganzes oder Teile davon wiederverwendet werden können. Generell gilt zu bemerken, dass das CMS unter Einhaltung der im Bereich des Software-Engineering üblichen Konventionen mit Blick auf Wiederverwendbarkeit entwickelt worden ist. Die Java-basierte technische Realisierung der einzelnen Komponenten des Systems kann potentiell in anderen Java-basierten Anwendungen wiederverwendet werden. Diese Wiederverwendbarkeit auf Ebene von Java-Klassen bzw. -Komponenten ist bspw.

bei der Entwicklung der einzelnen biomechanischen Modelle zum Tragen gekommen.

Wie zuvor erwähnt, lässt sich jedoch auch die automatische Codeerzeugung (s. Abschn. 3.3.2) so anpassen, dass das grafische Modellierungssystem an eine andere Simulationsumgebung angebunden werden kann. Der gegenwärtig erzeugte Java-Code enthält keine Elemente, die sich direkt auf das verwendete Multiagenten-Framework MASON (Luke 2005) beziehen. Diese Unabhängigkeit von MASON ermöglicht die Verwendung des erzeugten Java-Codes im Zusammenhang mit einem anderen Java-basierten Multiagenten-Framework wie bspw. NetLogo (Sklar 2007). Darüber hinaus ist die automatische Codeerzeugung nicht auf die Allzweck-Programmiersprache festgelegt, da aus den grafischen Zellverhaltensmodellen nicht direkt Java-Code erzeugt wird. In einem Zwischenschritt wird zunächst eine von konkreten Programmiersprachen unabhängige, XML-basierte Modellrepräsentation erzeugt, aus der mit Hilfe der Code-Templates schließlich der Java-Code generiert wird. Durch den Austausch der Code-Templates kann die Übersetzung der grafischen Modelle in eine beliebige andere Sprache erreicht werden, sofern die Sprache in der Lage ist, die Semantik der grafischen Modelle abzubilden. Die Code-Templates liegen in separaten externen Dateien vor, die ohne Neukompilierung des grafischen Modellierungssystems ausgetauscht werden können. Daher wäre es möglich, dass das grafische Modellierungssystem an eines der in Abschn. 3.4.3 gegenübergestellten anderen Modellierungs- und insbesondere Simulationssysteme gekoppelt wird, indem es bspw. den von ihnen verlangten Code in der jeweiligen domänenspezifischen Sprache erzeugt. Eine Wiederverwendung des grafischen Modellierungssystems als Ganzes ist damit möglich.

3.5 Zusammenfassung

Den Kern der vorliegenden Arbeit bilden der *Entwurf und die Realisierung eines computergestützten Systems zur multiskalierten, zellbasierten Modellierung und Simulation von Geweben*, insbesondere von Epithelgeweben. Die *Anwenderzielgruppe* des CMS besitzt *keine oder nur geringfügige Programmierkenntnisse*, so dass eine Trennung von Modellkomplexität und der Komplexität der technischen Umsetzung des Modells und dessen Simulation erforderlich ist. Aus diesem Grund ist eine *modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur* entworfen worden, deren Hauptelement die grafische Modellierung von Zellverhalten mit Prozessdiagrammen (CBM) bildet. Grafische CBMs können dynamisch an eines von den vom CMS bereitgestellten biomechanischen Modellen gekoppelt und semantisch verknüpft werden. Das BM deckt die räumliche und biophysikalische Repräsentation einer Zelle ab. Durch diese Modularität können CBMs in zwei- wie dreidimensionale Gewebesimulationen eingebunden werden. In CBMs können QSMs, die im SBML-Standard vorliegen, semantisch integriert und so ein multiskaliertes CBM realisiert werden. Darüber hinaus kann aus CBMs heraus eine Interaktion mit extrazellulären Diffusionsfeldern mittels Sekretion und Absorption erfolgen. Alle Teilmodelle der modularen Gewebemodellarchitektur werden mit bereitgestellten oder automatisch vom CMS erzeugten Modell-Konnektor-Komponenten (MKKs), die ein konzeptionelles Kernelement der entwickelten Gewebemodellarchitektur darstellen, semantisch miteinander verbunden. Neben der Realisierung des Datenflusses zwischen den Teilmodellen übernehmen die MKKs die automatische Abbildung unterschiedlicher räumlicher und zeitlicher Skalen.

Hinter dem CMS als technischem System steht das als Teil dieser Arbeit entwickelte *mehrstufige modellgetriebene Systementwicklungskonzept*. Jede der beiden Stufen des Konzepts besteht aus einer

Modell- und einer Systemebene. Auf der ersten Stufe werden mittels grafischer Meta-Modelle Teile des GMS des CMS formal beschrieben und Kernkomponenten desselben für die Systemebene automatisiert erzeugt. Dies ermöglicht die flexible und effiziente Anpassung von bspw. der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache an neue Anforderungen. Auf der zweiten Stufe wird aus den vom Anwender erstellten grafischen CBMs automatisch lauffähiger Code für eine multiagentenbasierte multiskalierte Gewebesimulation erzeugt, die von der entwickelten SE des CMS durchgeführt wird und der zweiten Systemebene entspricht.

Das CMS entspricht in seiner *Realisierung* den beiden Endanwender-Softwaresystemen *EPISIM Modeller* und *EPISIM Simulator*. Das GMS erlaubt die Definition und Verwaltung sämtlicher Modellparameter, den Import und die semantische Integration von SBML-basierten QSMs, die Kopplung an ein konkretes BM und schließlich die Erstellung von deterministischen, stochastischen oder hybriden Zellverhaltensmodellen mit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache. Der Anwender wird durch das GMS in der Modellerstellung bspw. durch die automatische Modellvalidierung oder Namensraumüberwachung unterstützt. Der entwickelte *Codegenerator* erzeugt aus einem grafischen CBM optimierten ausführbaren Code, der in einer Modellarchiv-Datei gespeichert wird. Auf der Basis dieser Datei führt die SE eine (*multiskalierte*) *multiagentenbasierte Simulation* durch. Die SE bietet neben der grafischen *Visualisierung* des simulierten Gewebes die Möglichkeit, die Simulationsergebnisse zielgerichtet mit *Datenauswertungsalgorithmen* in Echtzeit vorzuverarbeiten und entweder für die post hoc-Analyse zu exportieren oder direkt in interaktiven Diagrammen darzustellen. Die komplette Gewebesimulation kann in einem *Gewebesimulationszustand* im entwickelten ad hoc-Standard abgespeichert und zu einem späteren Zeitpunkt weitergeführt werden. Gewebesimula-

tionszustände liegen in einem menschenlesbaren Format vor und definieren initiale Simulationsbedingungen, die vom Anwender flexibel angepasst werden können. Die multiparallele Ausführung von SE-Instanzen auf einem *Rechencluster* wird über die bereitgestellten Konsolen- und Konfigurationsschnittstellen ermöglicht.

Die *technische Systemrealisierung* verfolgt einen komponentenbasierten modularen Aufbau, um flexibel erweiterbar und in Teilen auch in anderem Kontext wiederverwendbar zu sein. Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang das entwickelte Konzept der *dynamischen externen Komponenten*, mit dem die modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur umgesetzt und die zielorientierte, effiziente Simulationsdatenauswertung ermöglicht wird. Die automatische Codeerzeugung aus grafischen Zellverhaltensmodellen wird mit Templates realisiert, die aus einer XML-basierten Modellrepräsentation, die von einer konkreten Programmiersprache unabhängig ist, hinsichtlich der Rechenzeit optimierten Java-Quellcode erzeugen.

Dieser *Code-Erzeugungsprozess* und der zu diesem Zweck entwickelte Code-Generator sind im Rahmen der *Systemevaluierung* auf ihre Tauglichkeit, sehr große grafische Modelle in ausführbaren Code zu übersetzen, geprüft worden. Es wurde gezeigt, dass auch sehr große Modelle ohne Probleme übersetzt werden können und die für die Simulation benötigte Rechenzeit linear sowohl mit der Zahl der simulierten Zellen als auch mit der Zahl der Modellelemente im grafischen Modell ansteigt.

Die *Gebrauchstauglichkeit* des Systems wird im Wesentlichen anhand der in Kapitel 4 beschriebenen konkreten Modellrealisierungen und den dazugehörigen Simulationsergebnissen (s. Kapitel 5) demonstriert. Ferner ist das System von Dritten im Rahmen von Masterarbeiten in der Vertiefungsrichtung Systembiologie des Studiengangs Molecular Biosciences, einer medizinischen Dissertation und von Vorlesungen in den Studiengängen Medizinische Informatik und Molecular Biosciences verwendet und auf der Grundlage der Rückmeldungen sukzessive verbessert worden. In der *vergleichenden Gegenüberstellung mit anderen CMS*, die zeitlich parallel in anderen Institutionen entwickelt worden sind, zeigt sich zunächst eine Zerteilung der verfügbaren CMS in Frameworks und Endanwender-Softwaresysteme. Frameworks streben ein hohes Maß an Flexibilität an und richten sich eher an Anwender mit soliden Programmierkenntnissen. Bei Endanwender-Softwaresystemen steht die Benutzerfreundlichkeit im Vordergrund. Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS gehört in letztere Kategorie und bietet, den anderen CMS gegenüber, einen vergleichbaren und mit Blick auf die Datenauswertung erweiterten Funktionsumfang. Darüber hinaus ist das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS das einzige, das die grafische Modellierung von Zellverhalten ermöglicht. Stellt man die CMS auf Modellebene gegenüber, so zeigen sich mit Blick auf die bereitgestellten diskreten Zellmodelle unterschiedliche Schwerpunkte. Das entwickelte CMS ist an dieser Stelle das einzige Endanwender-Softwaresystem, das sowohl gitterfreie als auch gitterbasierte Zellmodelle anbietet.

4 Entwickelte zellbasierte *in silico* Modelle

Als Teil dieser Arbeit sind eine Reihe zellbasierter *in silico* (Gewebe-)Modelle entwickelt, weiterentwickelt oder reproduziert worden. Jedes dieser Modelle ist eine Komposition aus modularen Submodellen. Es werden drei Klassen von Submodellen unterschieden:

1. Basismodelle für den Austausch und die Diffusion-Reaktion von Stoffen
2. Biomechanische Modelle (BM)
3. Multiskalierte grafische Zellverhaltensmodelle (CBM)
4. Quantitative subzelluläre Modelle (optional)

Das in Kapitel 3 eingeführte computergestützte Modellierungs- und Simulationssystem (CMS) liefert technisch betrachtet die methodische Infrastruktur für die Erstellung von Submodellen aller drei Klassen. Vom Standpunkt eines potentiellen CMS-Anwenders aus betrachtet, unterstützt das CMS die Erstellung und Simulation von zellbasierten *in silico* Gewebemodellen unter Verwendung der bereitgestellten Submodelle der ersten beiden Klassen und den eigenen (multiskalierten) CBMs, die mittels des grafischen Modellierungssystems (GMS) erstellt werden. Jedes zellbasierte *in silico* (Gewebe-)Modell besteht aus einem BM und einem CBM, die vermittels eines Modell-Konnektors semantisch verbunden werden (s. Abschn. 3.1.2). Optional können in ein CBM quantitative subzelluläre Modelle (QSM) aus externen Quellen über den Modellstandard Systems Biology Markup Language (SBML) (Hucka et al. 2003) semantisch integriert werden. Die semantische Integration geschieht unter Verwendung des GMS, das eine entsprechende Modell-

Konnektor-Komponente (MKK) generiert (s. Abschn. 3.3.2). In der Regel werden innerhalb eines CBMs ein oder mehrere Basismodelle verwendet, die über das GMS integriert werden können.

Initial werden in diesem Kapitel die Basismodelle vorgestellt, die für die SE entwickelt wurden. Anschließend werden die (weiter-)entwickelten BMs formal beschrieben. Es folgen CBMs, die unter Heranziehung eines dieser BMs und den Basismodellen zu konkreten (system-) biologischen Fragestellungen oder als illustrativer Anwendungsfall für das CMS entwickelt wurden. Die Simulationsergebnisse aller entwickelten *in silico* Modelle sind Gegenstand von Kapitel 5.

4.1 Basismodelle für den Austausch und die Diffusion-Reaktion von Stoffen

Unter Basismodellen werden im Kontext dieser Arbeit dynamisch erweiterbare bzw. austauschbare Modelle verstanden, die Bestandteil der Simulationsumgebung sind, die diese ihrerseits im Rahmen einer multizellulären Simulation als potentielle Komponente komplexerer multiskalierter Modelle zur Anwendung bringt. Als Teil dieser Arbeit sind Basismodelle für die Zell-Zell-Kommunikation bzw. den (un-)gerichteten Stofftransport zwischen benachbarten Zellen sowie für extrazelluläre Diffusionsfelder (DF), die von Zellen durch Sekretion bzw. Absorption von bspw. Zytokinen erzeugt werden, realisiert worden. Diese zellulären Prozesse sind in Form von parametrisierbaren Funktionen Bestandteil der Funktionsbibliothek des GMS (s. Abschn. 3.2.1).

$$\text{poss_send}(x, p_i(c)) = \begin{cases} \min(p_i(c) - \min p_i(c), x) & \text{für } \min(p_i(c) - \min p_i(c), x) > 0 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.1)$$

$$\text{neigh_receive}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j})) = \min\left(\left(\max p_i(c_{n_j}) - p_i(c_{n_j})\right), \frac{\text{poss_send}(x, p_i(c))}{N}\right) \quad (3.2)$$

$$\text{send}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n) = \begin{cases} \sum_{j=1}^N \text{neigh_receive}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j})) & \text{für } x \geq 0 \\ \text{receive}(|x|, p_i(c), \mathbf{c}_n) & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.3)$$

Diese Funktionen können aus einem CBM heraus aufgerufen werden. Die SE erlaubt das dynamische Austauschen eines Basismodells gegen ein anderes, sofern dies eine systembiologische Fragestellung erfordern sollte (s. Anhang C). Alle in Kapitel 4 vorgestellten CBMs verwenden jedoch die Realisierung der Modelle aus Abschn. 4.1.1 und 4.1.2.

4.1.1 Zell-Zell-Kommunikation und Stofftransport

Zell-Zell-Kommunikation oder, allgemeiner formuliert, Stofftransport zwischen miteinander in Kontakt stehenden Zellen, ist in der Regel essentieller Bestandteil eines CBM. Intrazelluläre Konzentrationen eines Stoffs (z.B. Ca^{2+}) werden innerhalb eines CBMs durch Zelleigenschaften (CP) repräsentiert, die einen numerischen Wert annehmen können. Diese CPs besitzen einen Standardwert. Optional kann eine numerische CP durch einen Maximal- und / oder einen Minimalwert beschränkt werden. Innerhalb eines CBM ist es möglich, dass eine Zelle den Wert einer CP ihrer Nachbarzellen lesend referenziert. Zur Modifikation des Wertes von CPs benachbarter Zellen werden in der Funktionsbibliothek des GMS die Funktionen *Send* und *Receive* bereitgestellt (s. Abschn. 3.2.1). Diese Modifikation eines CP-Werts benachbarter Zellen entspricht im Modell dem Stoffaustausch zwischen diesen Zellen.

Modell der Funktion Send

Allgemein formuliert verteilt die Funktion *Send* die Menge x eines Stoffs gleichmäßig auf die zum

Modellierungszeitpunkt unbekannt Anzahl N von Nachbarzellen. Die Zahl der Nachbarzellen ergibt sich für jede Zelle individuell erst während der multizellulären Simulation. Das mathematische Modell der Standardimplementierung der Funktion *Send* ist durch die Gleichungen (3.1) bis (3.3) beschrieben. Hierbei sei die Menge aller Nachbarzellen C_{neigh} mit $|C_{\text{neigh}}| = N$ und $N > 0$. Durch eine dem Funktionsaufruf vorgelagerte Bedingung kann C_{neigh} auf eine echte Teilmenge aller Nachbarzellen eingeschränkt werden. Für $N = 0$ bewirkt die Funktion keine Veränderung. Die N Elemente der Menge C_{neigh} bilden in zufälliger Reihenfolge die Komponenten des Vektors \mathbf{c}_n . Die Zelle, in deren CBM-Instanz während der Simulation der Aufruf der Funktion *Send* erfolgt, ist mit c bezeichnet. Die Bezeichnung der Nachbarzellen ist analog c_n . Ferner sei $p_i(c)$ der numerische Wert der CP i mit dem Maximum $\max p_i(c)$ und dem Minimum $\min p_i(c)$. Das Resultat der Funktion $\text{poss_send}(x, p_i(c))$ entspricht der Menge eines Stoffs, die von einer Zelle an die Nachbarzellen abgegeben werden kann, ohne dass das Minimum $\min p_i(c)$ unterschritten wird. Analog entspricht das Ergebnis der Funktion $\text{neigh_receive}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j}))$ der Menge desselben Stoffs, den eine Nachbarzelle aufnehmen kann, ohne das definierte Maximum der CP p_i zu überschreiten. Bei einer abzugebenden Gesamtmenge x eines Stoffs ist die tatsächlich an eine individuelle Nachbarzelle abgegebene Menge kleiner oder gleich x/N . Schließlich ist die tatsächlich abgegebene Gesamtmenge das Resultat der Funktion $\text{send}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n)$. Für negative Stoffmengen $x < 0$ kommt die Funktion $\text{receive}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n)$ zur Anwendung.

$$\text{poss_receive}(x, p_i(c)) = \begin{cases} \min(\max p_i(c) - p_i(c), x) & \text{für } \min(\max p_i(c) - p_i(c), x) > 0 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.4)$$

$$\text{neigh_send}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j})) = \min \left((p_i(c_{n_j}) - \min p_i(c_{n_j})), \frac{\text{poss_receive}(x, p_i(c))}{N} \right) \quad (3.5)$$

$$\text{receive}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n) = \begin{cases} \sum_{j=1}^N \text{neigh_send}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j})) & \text{für } x \geq 0 \\ \text{send}(|x|, p_i(c), \mathbf{c}_n) & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.6)$$

$$\text{neigh_receive}(x, p_i(c), p_i(c_n)) = \min \left((\max p_i(c_n) - p_i(c_n)), \text{poss_send}(x, p_i(c)) \right) \quad (3.7)$$

$$\text{send}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n) = \begin{cases} \text{neigh_receive}(x, p_i(c), p_i(c_n)) & \text{für } x \geq 0 \\ \text{receive}(|x|, p_i(c), \mathbf{c}_n) & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.8)$$

$$\text{neigh_send}(x, p_i(c), p_i(c_n)) = \min \left((p_i(c_n) - \min p_i(c_n)), \text{poss_receive}(x, p_i(c)) \right) \quad (3.9)$$

$$\text{receive}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n) = \begin{cases} \text{neigh_send}(x, p_i(c), p_i(c_n)) & \text{für } x \geq 0 \\ \text{send}(|x|, p_i(c), \mathbf{c}_n) & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.10)$$

Modell der Funktion Receive

Die Funktion *Receive* ermöglicht das Anfordern einer Gesamtmenge x eines Stoffs von den Nachbarzellen. Das mathematische Modell dieser Funktion ist durch die Gleichungen (3.4) bis (3.6) beschrieben, wobei sämtliche für die Beschreibung der Funktion *Send* vorgenommenen Definitionen analog gelten. Das Resultat der Funktion $\text{poss_receive}(x, p_i(c))$ entspricht der Menge eines Stoffs, den die Zelle aufnehmen kann, ohne das definierte Maximum zu überschreiten. Die Stoffmenge, die eine Nachbarzelle abgeben kann, ohne das definierte Minimum zu unterschreiten, entspricht dem Resultat der Funktion $\text{neigh_send}(x, p_i(c), p_i(c_{n_j}))$. Die letztlich aufgenommene Gesamtmenge ist das Ergebnis der Funktion $\text{receive}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n)$, wobei bei einer angeforderten Gesamtmenge von x keine Nachbarzelle mehr als x/N zur tatsächlich aufgenommenen Gesamtmenge beiträgt. Auch hier ist zu beachten, dass für negative Stoffmengen $x < 0$ die Funktion $\text{send}(x, p_i(c), \mathbf{c}_n)$ zur Anwendung kommt.

Aufruf von Send oder Receive innerhalb einer Iteration

Das Referenzieren des Werts einer CP von benachbarten Zellen hat das automatische Erzeugen einer Iteration über alle Nachbarzellen in jedem Simulationsschritt des CBM zur Folge. In diese Iteration werden ausgehend von dem Modellelement, in dem der CP-Wert einer Nachbarzelle referenziert wurde, bis zum terminalen Modellelement alle dazwischenliegenden Modellelemente eingeschlossen (s. Abschn. 3.2.1). Bei N Nachbarzellen kann somit ein Teil eines CBM N Mal durchlaufen werden. Wird innerhalb einer solchen automatisch erzeugten Iteration die Funktion *Send* oder *Receive* aufgerufen, hat dies zur Folge, dass Stoffaustausch nicht wie im regulären Fall mit allen Nachbarzellen, sondern nur mit jener Nachbarzelle stattfindet, die im aktuellen Iterationsschritt simulationsintern betrachtet wird. Ob ein Funktionsaufruf innerhalb einer Iteration erfolgt oder nicht, wird von der SE automatisch erkannt. Im Fall des Aufrufs aus einer Iteration heraus kommt für die Funktion *Send* die in den Gleichungen (3.7) und (3.8) definierte alternative Berechnung des tatsächlichen Stoffaus-

tauschs mit einer individuellen Nachbarzelle zum Tragen. Eine analoge Definition stellen die Gleichungen (3.9) und (3.10) für die Funktion *Receive* dar. Auch hier gilt, dass negative Stoffmengen jeweils den Aufruf der entgegengesetzten Funktion bezogen auf die Austauschrichtung zur Folge haben.

4.1.2 Extrazelluläre Diffusionsfelder

Das Verhalten von Zellen kann in erheblichem Maße von externen Faktoren in Form von Zytokinen oder Chemokinen abhängen. Beispielsweise stimuliert Interleukin 6 (IL-6) die Proliferation bei humanen Keratinozyten (Uchi et al. 2000), während colony stimulating factor-1 (CSF-1) die Migration von Makrophagen reguliert (Pixley 2012). Das Formylpeptid f-Met-Leu-Phe (fMLP) induziert als Attractant positive Chemotaxis bei Neutrophilen (Ku et al. 2012). Das Modellieren der Reaktion von Zellen auf externe Faktoren wird innerhalb eines CBM durch die Definition eines extrazellulären Felds, im Weiteren DF genannt, realisiert. Für jedes im CBM vorkommende Zytokin bzw. Chemokin ist mit dem grafischen Modellierungssystem ein separates extrazelluläres DF zu definieren (s. Abschn. 3.2.1). Mit den in der Funktionsbibliothek des GMS bereitgestellten Funktionen *SendDF* und *ReceiveDF* werden die zellulären Prozesse Sekretion und Absorption abgebildet, die im Zusammenwirken mit den für ein DF festgelegten Diffusionseigenschaften und der Simulation dieser Diffusion das Erzeugen von extrazellulären Zytokin- bzw. Chemokin-Gradienten ermöglichen. Solch ein Gradient kann bspw. im Fall der Simulation von Chemotaxis die Migrationsrichtung von Zellen bestimmen. Allgemein gesprochen repräsentiert ein DF die extrazelluläre Konzentration eines beliebigen Stoffs in räumlicher Auflösung und die Konzentrationsänderung dieses Stoffs über die Zeit.

Für jedes in einem CBM definierte extrazelluläre DF wird während der Simulation ein extrazellulärer Raum erzeugt. Jeder dieser Räume besitzt eine individuelle Diskretisierung in Pixel im Falle einer 2D Simulation bzw. Voxel bei 3D Simulationen (Abbildung 4.1). Ein extrazellulärer Raum wird mit dem multizellulären Raum (MZR), in dem die Zellen als räumliche Objekte simuliert werden, überlagert. Ein vergleichbarer Modellansatz für extrazelluläre Räume ist in der Simulationsumgebung CompuCell3D (Swat et al. 2009, 2012) und Multiscale Systems Immunology (Mitha et al. 2008) realisiert. Wenn nun eine Zelle mittels Sekretion oder Absorption mit einem bestimmten DF während der Simulation interagiert, wird das Objekt, das die Zelle im zellulären Raum in ihrer räumlichen Ausdehnung definiert, mit dem Raum des DF geschnitten. Die daraus resultierende Schnittfläche bzw. das Schnittvolumen beinhaltet die von der Zelle wahrgenommene extrazelluläre Konzentration eines Stoffes. Ferner wird die Konzentration im Bereich der Schnittfläche / des Schnittvolumens durch Sekretion bzw. Absorption verändert. Im Folgenden werden die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten und verwendeten Modelle der extrazellulären Räume, der räumlichen Zellobjekte, der Prozesse Sekretion sowie Absorption und der Diffusion eines Stoffs im extrazellulären Raum im Detail beschrieben.

Extrazellulärer Raum 3D

Ein einem DF zugeordneter dreidimensionaler extrazellulärer Raum wird durch ein dreidimensionales kartesisches Gitter L beschrieben und durch dieses diskretisiert (Saxton 2007). Die Kantenlänge Δ_{lat} einer Gitterzelle des Raums kann frei gewählt werden. Die Höhe h , die Breite w sowie die Tiefe l des Gitters L sind in Mikrometer definiert und werden durch die Maße des multizellulären Simulationsraums vorgegeben. Jede quaderförmige Zelle von L ist durch einen Vektor \mathbf{i} eindeutig indexiert. Ferner ist $\mathbf{r}(\mathbf{i})$ der

räumliche Ortsvektor einer Gitterzelle mit dem Indexvektor \mathbf{i} .

$$\mathbf{i} = \begin{pmatrix} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} \\ i_{\text{lay}} \end{pmatrix} \mathbf{u}. \mathbf{r}(\mathbf{i}) = \begin{pmatrix} (i_{\text{col}} + 0,5) \cdot \Delta_{\text{lat}} \\ (i_{\text{row}} + 0,5) \cdot \Delta_{\text{lat}} \\ (i_{\text{lay}} + 0,5) \cdot \Delta_{\text{lat}} \end{pmatrix} \quad (3.11)$$

Die oberen Indexgrenzen I_{col} , I_{row} und I_{lay} sind:

$$I_{\text{col}} = \frac{w}{\Delta_{\text{lat}}}, \quad I_{\text{row}} = \frac{h}{\Delta_{\text{lat}}}, \quad I_{\text{lay}} = \frac{l}{\Delta_{\text{lat}}} \quad (3.12)$$

Die Komponenten des Indexvektors \mathbf{i} einer Gitterzelle liegen somit innerhalb folgender Intervalle:

$$\begin{aligned} [0, I_{\text{col}}) &:= \{i_{\text{col}} \in \mathbb{N} \mid 0 \leq i_{\text{col}} < I_{\text{col}}\} \\ [0, I_{\text{row}}) &:= \{i_{\text{row}} \in \mathbb{N} \mid 0 \leq i_{\text{row}} < I_{\text{row}}\} \\ [0, I_{\text{lay}}) &:= \{i_{\text{lay}} \in \mathbb{N} \mid 0 \leq i_{\text{lay}} < I_{\text{lay}}\} \end{aligned} \quad (3.13)$$

Jeder Gitterzelle ist eine lokale Konzentration $C(\mathbf{i}, t)$ jenes Stoffs zugeordnet, der durch das DF und dem zugeordneten Raum extrazellulär repräsentiert wird. Für jedes DF sind in seiner Konfiguration eine minimale Stoffkonzentration C_{min} , eine initiale Stoffkonzentration (auch: Standardstoffkonzentration) C_{def} und eine maximale Stoffkonzentration C_{max} zu definieren. Die Einhaltung jeder der folgenden Ungleichungen wird durch das CMS sichergestellt:

$$\begin{aligned} 0 &\leq C_{\text{min}} \leq C_{\text{def}} \\ 0 &\leq C_{\text{def}} \leq C_{\text{max}} \end{aligned} \quad (3.14)$$

Wenn in der Definition des DF eine dieser Ungleichungen nicht eingehalten wird, wird dies automatisch korrigiert, indem direkt nach dem fehlerhaften Setzen eines Werts dieser für den Anwender transparent angepasst wird.

$$C_{\text{min}} < C(\mathbf{i}, t) \leq C_{\text{max}} \quad (3.15)$$

Die Einhaltung von Ungleichung (3.15) wird während der Simulation des DF durch die SE sichergestellt. Diesbezüglich sei auf die Gleichung (3.33) des Sekretionsmodells und (3.40) des Absorptionsmodells, die Bestandteil der SE sind, verwiesen.

Extrazellulärer Raum 2D

Der zweidimensionale extrazelluläre Raum wird analog zum dreidimensionalen Raum durch ein zweidimensionales kartesisches Gitter L beschrieben (Saxton 2007). Jede quadratische Gitterzelle besitzt die Kantenlänge Δ_{lat} in Mikrometer und wird durch den Vektor \mathbf{i} eindeutig indexiert. Analog zum dreidimensionalen Fall, definiert in (3.11), gilt:

$$\mathbf{i} = \begin{pmatrix} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} \end{pmatrix} \mathbf{u}. \mathbf{r}(\mathbf{i}) = \begin{pmatrix} (i_{\text{col}} + 0,5) \cdot \Delta_{\text{lat}} \\ (i_{\text{row}} + 0,5) \cdot \Delta_{\text{lat}} \end{pmatrix} \quad (3.16)$$

Die oberen Indexgrenzen I_{col} und I_{row} ergeben sich aus den beiden Raumdimensionen Breite w und Höhe h analog zu (3.12). Ferner liegen die beiden Komponenten i_{col} und i_{row} des Indexvektors \mathbf{i} in den in (3.13) definierten Intervallen. Schließlich gelten bezüglich der möglichen Stoffkonzentrationen die in (3.14) und (3.15) gegebenen Ungleichungen.

Randbedingungen extrazellulärer Räume

Für jede Dimension eines einem DF zugeordneten extrazellulären Raums können individuelle Randbedingungen definiert werden. Zur Wahl stehen:

1. Periodische Randbedingungen
2. Dirichlet-Randbedingungen
3. Neumann-Randbedingungen

Im Folgenden werden die Randbedingungen entlang der x -Achse betrachtet. Für die andere(n) Dimension(en) sind die entsprechenden Definitionen analog.

Gelten entlang der x -Achse periodische Randbedingungen, dann ist

$$C(\mathbf{i}_1, t) = C(\mathbf{i}_2, t) \quad (3.17)$$

sofern

$$\begin{aligned} & i_{\text{col}_1}, i_{\text{col}_2} \in [0, I_{\text{col}}) \\ \wedge & i_{\text{row}_1}, i_{\text{row}_2} \in \{0, I_{\text{row}}\} \\ \wedge & i_{\text{lay}_1}, i_{\text{lay}_2} \in [0, I_{\text{lay}}) \end{aligned} \quad (3.18)$$

Moleküle, die durch Diffusion das DF entlang der x-Achse verlassen, treten bei periodischen Randbedingungen somit auf der gegenüberliegenden Seite wieder in das DF ein.

Bei Dirichlet-Randbedingungen entlang der x-Achse ist für die Ränder des extrazellulären Raums und damit des DFs eine feste Konzentration definiert:

$$C(\mathbf{i}, t) = C_{\text{def}} \quad (3.19)$$

wenn

$$\begin{aligned} & i_{\text{col}} \in [0, I_{\text{col}}) \\ \wedge & i_{\text{row}} \in \{0, I_{\text{row}} - 1\} \\ \wedge & i_{\text{lay}} \in [0, I_{\text{lay}}) \end{aligned} \quad (3.20)$$

Den Effekt, den diese Randbedingung bei der Simulation des DF hervorruft, hängt von der Standardkonzentration C_{def} ab. Ist $C_{\text{def}} = 0$, dann kommt es entlang der x-Achse zu einem (starken) Ausströmen des Stoffs aus dem DF heraus. Ist jedoch die Standardkonzentration C_{def} größer als die mittlere Stoffkonzentration innerhalb des DF, dann entsprechen die Ränder entlang der x-Achse einer unendlichen Stoffquelle, aus der Diffusion in das DF hinein auftritt.

Bei Neumann-Randbedingungen wird ein konstanter Fluss ΔC_{const} definiert, der in einem DF für einen bestimmten Stoff entlang einer Achse an den Raumgrenzen auftritt. Im Folgenden werden die Fälle für gegenüberliegende Raumgrenzen unterschieden: Gelten entlang der x-Achse Neumann-Randbedingungen, dann ist

$$C(\mathbf{i}, t) = C \left(\left(\begin{array}{c} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} - 1 \\ i_{\text{lay}} \end{array} \right), t \right) - \Delta C_{\text{const}} \quad (3.21)$$

für den Fall, dass

$$\begin{aligned} & i_{\text{col}} \in [0, I_{\text{col}}) \\ \wedge & i_{\text{row}} = I_{\text{row}} - 1 \\ \wedge & i_{\text{lay}} \in [0, I_{\text{lay}}) \end{aligned} \quad (3.22)$$

bzw. auf der gegenüberliegenden Seite

$$C(\mathbf{i}, t) = C \left(\left(\begin{array}{c} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} + 1 \\ i_{\text{lay}} \end{array} \right), t \right) - \Delta C_{\text{const}} \quad (3.23)$$

wenn

$$\begin{aligned} & i_{\text{col}} \in [0, I_{\text{col}}) \\ \wedge & i_{\text{row}} = 0 \\ \wedge & i_{\text{lay}} \in [0, I_{\text{lay}}) \end{aligned} \quad (3.24)$$

Ein positiver Fluss $\Delta C_{\text{const}} > 0$ entspricht einem konstanten Ausströmen eines Stoffs aus dem DF, während ein negativer Fluss $\Delta C_{\text{const}} < 0$ einem konstanten Einströmen entspricht. Schließlich kann mit der Neumann-Randbedingung auch festgelegt werden, dass entlang einer Achse kein Fluss auftreten soll ($\Delta C_{\text{const}} = 0$).

Räumliche Zellobjekte und Schnittflächen- bzw. Schnittvolumenberechnung

Unter räumlichem Zellobjekt wird hier die Zelle in ihrer räumlichen Repräsentation und Ausdehnung verstanden. Wie in Abschn. 2.2.1 näher ausgeführt, existieren eine Reihe verschiedener räumlicher Repräsentationsformen für Zellen in einem multizellulären Modell. Das entwickelte CMS macht für die zu verwendende räumliche Repräsentation einer Zelle keine Vorgaben, jedoch werden in den in Abschn. 4.2 vorgestellten biomechanischen Modellen Zellen immer durch Ellipsen in 2D bzw. durch Ellipsoide in 3D repräsentiert. Das Modell für Sekretion bzw. Absorption benötigt als Eingabegröße die Schnittfläche bzw. das Schnittvolumen $O_{\text{lat-cell}}$ zwischen dem extrazellulären Raum und dem räumlichen Zellobjekt. $O_{\text{lat-cell}}$ ist eine Menge von Gitterzellen, die wiederum eine echte Teilmenge der Gitterzellen des extrazellulären Raums darstellt. Das Sekretions- bzw. Absorptionsmodell ist somit

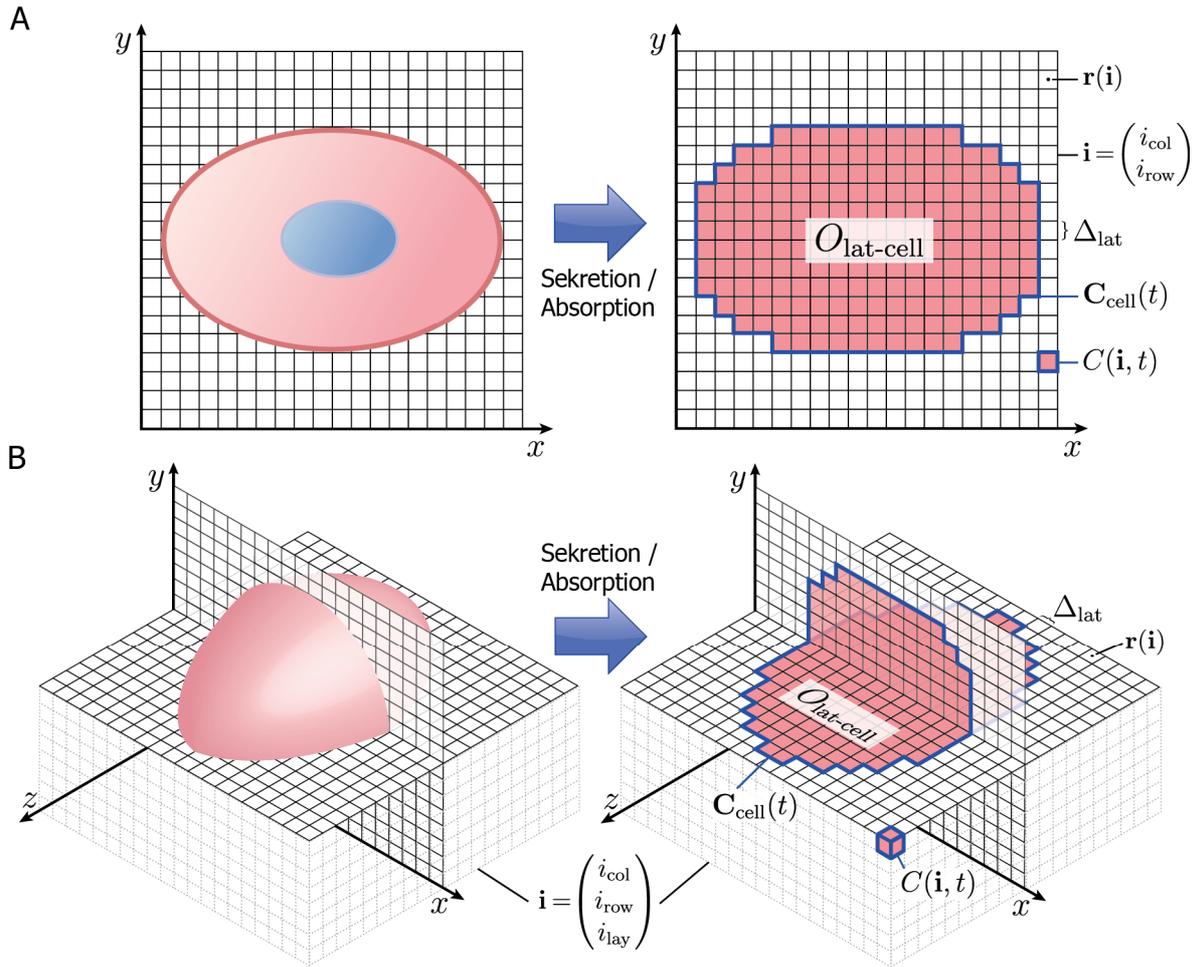


Abbildung 4.1: Extrazellulärer Raum für 2D und 3D Simulationen. (A) Die Schnittfläche $O_{\text{lat-cell}}$ zwischen Zelle und extrazellulärem DF bzw. (B) das Schnittvolumen $O_{\text{lat-cell}}$ im Falle einer 3D Simulation bilden die Teilmenge des DFs, mit dem die Zelle durch Sekretion oder Absorption eines Stoffes interagiert. In $O_{\text{lat-cell}}$ wird jedes von der räumlichen Repräsentation der Zelle tangierte oder eingeschlossene Pixel bzw. Voxel \mathbf{i} einbezogen. Die von der Zelle wahrgenommene extrazelluläre Konzentration ist die Summe der Komponenten des Vektors $\mathbf{C}_{\text{cell}}(t)$, der aus allen lokalen Einzelkonzentrationen $C(\mathbf{i}, t)$ der Pixel / Voxel, die in $O_{\text{lat-cell}}$ enthalten sind, besteht.

unabhängig von der räumlichen Repräsentation einer Zelle.

Im Folgenden wird nur die Berechnung von $O_{\text{lat-cell}}$ für Ellipsen bzw. Ellipsoide ausgeführt, da dies die ausschließlich vorkommenden räumlichen Zellobjekte im Rahmen dieser Arbeit sind. Eine frei orientierte Ellipse E mit Zentrum \mathbf{r}_c , Rotationsmatrix R und den Halbachsen a sowie b ist definiert durch:

$$E \equiv \{\mathbf{x} \mid (\mathbf{x} - \mathbf{r}_c)^T R M^2 R^T (\mathbf{x} - \mathbf{r}_c) \leq 1\},$$

$$R = \begin{pmatrix} \cos(\alpha) & -\sin(\alpha) \\ \sin(\alpha) & \cos(\alpha) \end{pmatrix}, M = \begin{pmatrix} \frac{1}{a} & 0 \\ 0 & \frac{1}{b} \end{pmatrix} \quad (3.25)$$

Die Menge der Gitterzellen $O_{\text{lat-cell}}$, die die Schnittfläche zwischen der Ellipse und dem zweidimensionalen kartesischen Gitter darstellt, ist folgendermaßen definiert:

$$O_{\text{lat-cell}} = \{\mathbf{i} \mid (\mathbf{r}(\mathbf{i}) - \mathbf{r}_c(t))^T \cdot R M^2 R^T \cdot (\mathbf{r}(\mathbf{i}) - \mathbf{r}_c(t)) \leq 1\} \quad (3.26)$$

Im dreidimensionalen Fall sei die Rotationsmatrix R_{xyz} eines frei orientierten Ellipsoiden:

$$\begin{aligned} R_x &= \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(\alpha) & -\sin(\alpha) \\ 0 & \sin(\alpha) & \cos(\alpha) \end{pmatrix}, \\ R_y &= \begin{pmatrix} \cos(\beta) & 0 & \sin(\beta) \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\beta) & 0 & \cos(\beta) \end{pmatrix}, \\ R_z &= \begin{pmatrix} \cos(\gamma) & -\sin(\gamma) & 0 \\ \sin(\gamma) & \cos(\gamma) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \\ R_{xyz} &= R_x \cdot R_y \cdot R_z \end{aligned} \quad (3.27)$$

Das Ellipsoid E mit den Halbachsen a , b und c ist somit folgendermaßen definiert:

$$E \equiv \{ \mathbf{x} \mid (\mathbf{x} - \mathbf{r}_c)^T R_{xyz} M^2 R_{xyz}^T (\mathbf{x} - \mathbf{r}_c) \leq 1 \},$$

$$M = \begin{pmatrix} \frac{1}{a} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{b} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{c} \end{pmatrix} \quad (3.29)$$

Die Menge der Gitterzellen $O_{\text{lat-cell}}$, die das Schnittvolumen zwischen Ellipsoid und dreidimensionalem kartesischem Gitter repräsentiert, ist schließlich:

$$O_{\text{lat-cell}} = \{ \mathbf{i} \mid (\mathbf{r}(\mathbf{i}) - \mathbf{r}_c(t))^T \cdot R_{xyz} M^2 R_{xyz}^T \cdot (\mathbf{r}(\mathbf{i}) - \mathbf{r}_c(t)) \leq 1 \} \quad (3.30)$$

Für die Bestimmung von $O_{\text{lat-cell}}$ werden im zweidimensionalen Fall für die Ellipse wie im dreidimensionalen Fall für den Ellipsoiden verlängerte Halbachsen a' , b' bzw. a' , b' , c' zugrunde gelegt:

$$a' = a + \frac{\Delta_{\text{lat}}}{2}, b' = b + \frac{\Delta_{\text{lat}}}{2}, c' = c + \frac{\Delta_{\text{lat}}}{2} \quad (3.31)$$

Somit werden in $O_{\text{lat-cell}}$ auch jene Gitterzellen eingeschlossen, die von dem Zellobjekt lediglich tangiert, aber nicht geschnitten werden.

Sekretionsmodell

Bei einer durch die Zelle c zu sekretierende Menge u eines Stoffs, der im CBM der i -ten Zelleigenschaft mit numerischem Wert $p_i(c)$ entspricht, verteilt das Sekretionsmodell die maximal mögliche Menge auf alle Gitterzellen in $O_{\text{lat-cell}}$, ohne dass in einer Gitterzelle die für das DF als Sättigungsgrenze definierte maximale Konzentration C_{max} überschritten wird. Es wird an dieser Stelle davon ausgegangen, dass die Bedingung $u \geq 0$ erfüllt ist. Andernfalls kommt das Absorptionsmodell zum Tragen.

Die Konzentrationen, die zum Zeitpunkt t unmittelbar vor der Sekretion eines Stoffs den Gitterzellen $\mathbf{i} \in O_{\text{lat-cell}}$ ($|O_{\text{lat-cell}}| = N$) zugeordnet sind, bilden in zufälliger Ordnung die N Komponenten des Vektors $\mathbf{C}_{\text{cell}}(t)$:

$$\mathbf{C}_{\text{cell}}(t) = \begin{pmatrix} C(\mathbf{i}_1, t) \\ C(\mathbf{i}_2, t) \\ \vdots \\ C(\mathbf{i}_N, t) \end{pmatrix} \quad (3.32)$$

Das Resultat der Funktion $^{\text{poss}}\text{sendDF}(u, p_i(c))$ mit $0 \leq ^{\text{poss}}\text{sendDF}(u, p_i(c)) \leq u$ entspricht bei einer vorgegebenen Menge u eines zu sekretierenden Stoffs jenem Anteil, der tatsächlich sekretiert werden kann, bevor die maximale Sättigung in der extrazellulären Umgebung erreicht wird.

$$^{\text{poss}}\text{sendDF}(u, p_i(c)) = \min \left(^{\text{poss}}\text{send}(u, p_i(c)), (C_{\text{max}} \cdot N - \text{sum}(\mathbf{C}_{\text{cell}}(t))) \right) \quad (3.33)$$

$$\text{mit} \quad \text{sum}(\mathbf{x}) = \sum_i x_i \quad (3.34)$$

Die Definition der Funktion $^{\text{poss}}\text{send}(u, p_i(c))$ entspricht der von (3.1). Das Ergebnis von $^{\text{lat}}\text{receiveDF}(u, \mathbf{i})$ ist die Stoffmenge, die einer Gitterzelle \mathbf{i} noch zugewiesen werden kann, bevor die maximale Konzentration erreicht ist.

$$\text{lat_receiveDF}(u, \mathbf{i}) = \min \left(u, C_{\max} - C(\mathbf{i}, t) \right) \quad (3.35)$$

Der Vektor \mathbf{U} enthalte die Verteilung der möglichen Menge $\text{poss_sendDF}(u, p_i(c))$ eines zu sekretierenden Stoffes auf die einzelnen Gitterzellen $\mathbf{i} \in O_{\text{lat-cell}}$. \mathbf{U} ist die Lösung des Optimierungsproblems:

$$\min_{\mathbf{U}} \left\| \begin{pmatrix} \text{lat_receiveDF}(U_1, \mathbf{i}_1) - \hat{u} \\ \text{lat_receiveDF}(U_2, \mathbf{i}_2) - \hat{u} \\ \vdots \\ \text{lat_receiveDF}(U_N, \mathbf{i}_N) - \hat{u} \end{pmatrix} \right\|^2 \quad (3.36)$$

unter den Nebenbedingungen:

$$\begin{aligned} \text{sum}(\mathbf{U}) &= \text{poss_sendDF}(u, p_i(c)) \\ \wedge \hat{u} &= \frac{\text{poss_sendDF}(u, p_i(c))}{N} \end{aligned} \quad (3.37)$$

Ferner entspricht dadurch \mathbf{U} der optimal gleichmäßigen Stoffverteilung auf die einzelnen Gitterzellen. Die Funktion $\text{sendDF}(u, p_i(c))$ ist schließlich die Realisierung von SendDF in der Funktionsbibliothek des GMS. Die Veränderung der extrazellulären Umgebung einer bestimmten Zelle c bezogen auf den Stoff p_i wird durch $\text{secrete}(u, p_i(c))$ zum Ausdruck gebracht.

$$\text{sendDF}(u, p_i(c)) = p_i(c) - \text{sum}(\mathbf{U}) \quad (3.38)$$

$$\text{secrete}(u, p_i(c)) \stackrel{\text{def}}{=} \mathbf{C}_{\text{cell}}(t) + \mathbf{U} \quad (3.39)$$

Absorptionsmodell

Das Absorptionsmodell entspricht im Wesentlichen der Inversion des Sekretionsmodells. Bei zu absorbierender Menge u eines Stoffes p_i durch die Zelle c entspricht $\text{poss_receiveDF}(u, p_i(c))$ der Stoffmenge, die tatsächlich absorbiert werden kann, ohne dass in den Gitterzellen $\mathbf{i} \in O_{\text{lat-cell}}$ die minimale Konzentration C_{\min} unterschritten wird.

$$\begin{aligned} \text{poss_receiveDF}(u, p_i(c)) &= \\ \min \left(\text{poss_receive}(u, p_i(c)), \right. & \quad (3.40) \\ \left. \text{sum}(\mathbf{C}_{\text{cell}}(t)) - C_{\min} \cdot N \right) & \end{aligned}$$

Die Funktion $\text{poss_receive}(u, p_i(c))$ ist wie in (3.4) definiert. Auch hier wird angenommen, dass die Bedingung $u \geq 0$ erfüllt ist. Ist dies nicht der Fall, kommt das Sekretionsmodell zur Anwendung. Das Resultat von $\text{lat_sendDF}(u, \mathbf{i})$ ist die Stoffmenge, die aus einer Gitterzelle \mathbf{i} entfernt werden kann, bevor die minimale Konzentration erreicht ist.

$$\text{lat_sendDF}(u, \mathbf{i}) = \min \left(u, C(\mathbf{i}, t) - C_{\min} \right) \quad (3.41)$$

Der Vektor \mathbf{U} enthalte wiederum die Verteilung der Stoffabsorption auf die einzelnen Gitterzellen $\mathbf{i} \in O_{\text{lat-cell}}$. \mathbf{U} ist die Lösung des Optimierungsproblems:

$$\min_{\mathbf{U}} \left\| \begin{pmatrix} \text{lat_sendDF}(U_1, \mathbf{i}_1) - \hat{u} \\ \text{lat_sendDF}(U_2, \mathbf{i}_2) - \hat{u} \\ \vdots \\ \text{lat_sendDF}(U_N, \mathbf{i}_N) - \hat{u} \end{pmatrix} \right\|^2 \quad (3.42)$$

unter den Nebenbedingungen:

$$\begin{aligned} \text{sum}(\mathbf{U}) &= \text{poss_receiveDF}(u, p_i(c)) \\ \wedge \hat{u} &= \frac{\text{poss_receiveDF}(u, p_i(c))}{N} \end{aligned} \quad (3.43)$$

Hier ist \mathbf{U} die optimal gleichmäßige Verteilung der Absorption auf die einzelnen Gitterzellen. Die Realisierung der Funktion ReceiveDF der Funktionsbibliothek des GMS ist durch $\text{receiveDF}(u, p_i(c))$ gegeben. Die durch Stoffabsorption verursachte Veränderung der extrazellulären Umgebung einer bestimmten Zelle c , bezogen auf den Stoff p_i , ist durch $\text{absorb}(u, p_i(c))$ formuliert.

$$\text{receiveDF}(u, p_i(c)) = p_i(c) + \text{sum}(\mathbf{U}) \quad (3.44)$$

$$\text{absorb}(u, p_i(c)) \stackrel{\text{def}}{=} \mathbf{C}_{\text{cell}}(t) - \mathbf{U} \quad (3.45)$$

Reaktions-Diffusions-Modell

Für jedes extrazelluläre DF, das in einem CBM definiert ist, wird vor jedem Simulationsschritt (SiSt) des CBM und BM mindestens ein Iterationsschritt des Reaktions-Diffusions-Modells simuliert. Simulationsschritte entsprechen dem Takt der Simulation und somit dem modellimpliziten Realzeitintervall, das nicht explizit für ein CBM festgelegt wird, da es sich aus dem CBM und den angenommenen Modellparametern ergibt (s. Abschn. 3.1.3). Für die Simulation des Reaktions-Diffusions-Modells ist jedoch erforderlich, die mit einem SiSt verbundene Realzeit in Sekunden anzugeben. Dieses Δt wird in der Definition eines extrazellulären DF festgelegt. Ferner ist die Anzahl der Iterationsschritte n anzugeben, die pro SiSt der gesamten multizellulären Simulation für das Reaktions-Diffusions-Modell simuliert werden sollen. Bei n Iterationsschritten ergibt sich für das Reaktions-Diffusions-Modell pro Simulationsschritt eine simulierte Gesamtzeit von $n \cdot \Delta t$ Sekunden. Das Reaktions-Diffusions-Modell ist sowohl für den zweidimensionalen als auch für den dreidimensionalen Fall durch folgende partielle Differentialgleichung gegeben:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C(\mathbf{i}, t)}{\partial t} = & D \nabla^2 C(\mathbf{i}, t) - k C(\mathbf{i}, t) \\ & + {}^{\text{lat}}\text{receiveDF}(s_{\text{sum}}, \mathbf{i}) \\ & - {}^{\text{lat}}\text{sendDF}(a_{\text{sum}}, \mathbf{i}) \end{aligned} \quad (3.46)$$

Der Term $D \nabla^2 C(\mathbf{i}, t)$ ergibt sich aus der Diffusionsgleichung nach dem zweiten Fick'schen Gesetz. Der Diffusionskoeffizient D ist in der Definition des DF in m^2/s anzugeben. Der zweite Term $k C(\mathbf{i}, t)$ repräsentiert den Zerfall bzw. den Abbau eines Stoffs im extrazellulären Raum und somit den Reaktionsteil des Modells. Der Zerfalls- bzw. Abbaukoeffizient k ist in s^{-1} definiert.

Der Term ${}^{\text{lat}}\text{receiveDF}(s_{\text{sum}}, \mathbf{i})$ beschreibt die einer Gitterzelle \mathbf{i} neue zugewiesene Stoffmenge s_{sum} durch Sekretion nicht einer individuellen Zelle, sondern aller Zellen, die diese Gitterzelle in einem SiSt in deren $O_{\text{lat-cell}}$ beinhalten. Somit

wird dieser Term nicht explizit in einem Iterationsschritt des Reaktions-Diffusions-Modells global berechnet. Er hat vielmehr eine veranschaulichende Stellvertreterfunktion für die individuelle Simulation des Sekretionsmodells für jede Zelle in der multizellulären Simulation, die in einem SiSt den dem DF zugeordneten Stoff sekretiert. Dies gilt analog für den Term ${}^{\text{lat}}\text{sendDF}(a_{\text{sum}}, \mathbf{i})$, der der aus einer Gitterzelle \mathbf{i} in einem SiSt absorbierten Gesamtmenge eines Stoffs entspricht. Da die Simulation von Stoffsekretion oder -absorption aus dem CBM heraus initiiert wird, findet in einem Iterationsschritt des Reaktions-Diffusions-Modells nur die Berechnung der ersten beiden Terme von Gleichung (3.46) statt.

In der Simulation eines Iterationsschritts des Reaktions-Diffusions-Modells wird zunächst die Diffusionsgleichung unter Verwendung des expliziten Euler-Verfahrens gelöst:

$$\frac{\partial C(\mathbf{i}, t)}{\partial t} = D \nabla^2 C(\mathbf{i}, t) \quad (3.47)$$

Die Diskretisierungsschrittweite ist durch das für das DF festgelegte Δt gegeben. Die Anfangsbedingungen bei SiSt 0 sind $C(\mathbf{i}, t) = C_{\text{def}}$ für alle Gitterzellen \mathbf{i} eines extrazellulären Raums. Von der aus der Lösung der Gleichung (3.47) resultierenden neuen Stoffkonzentration $C(\mathbf{i}, t + \Delta t)$ wird schließlich $\Delta t \cdot k \cdot C(\mathbf{i}, t + \Delta t)$ subtrahiert.

Die numerische Stabilität des expliziten Euler-Verfahrens, bezogen auf das Lösen von Gleichung (3.47), hängt von dem Einhalten der Courant-Friedrichs-Lewy-Bedingung (Courant et al. 1928) und damit von der Kantenlänge Δ_{lat} des kartesischen Gitters, dem Diffusionskoeffizienten D und dem gewählten Δt ab. Swat et al., die in dem System CompuCell3D mit denselben Modellannahmen extrazelluläre Diffusionsfelder simulieren, haben ermittelt, dass das Euler-Verfahren numerisch stabil ist, sofern gilt (Swat et al. 2012):

$$D \frac{\Delta t}{\Delta_{\text{lat}}^2} \leq 0,16 \quad (3.48)$$

Das Einhalten der Ungleichung wird von der SE geprüft. Im Falle des Nichteinhaltens, aufgrund bspw. eines großen Diffusionskoeffizienten, werden beim numerischen Lösen von Gleichung (3.47) automatisch n' Zwischeniterationsschritte für jeden der in der Definition des DF festgelegten n Iterationsschritte berechnet, so dass gilt:

$$D \frac{\Delta t / n'}{\Delta_{\text{lat}}^2} \leq 0,16 \quad (3.49)$$

4.2 Biomechanische Modelle

Innerhalb der modularen multiskalierten Modellarchitektur für zellbasierte Gewebemodelle (s. Abschn. 3.1.2), die im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde, bildet ein BM die räumlichen und biophysikalischen Aspekte des Gewebemodells ab (z.B. Zellmorphologie, -migration, -adhäsion oder -wachstum). Die mit Blick auf diese Aspekte existierenden Zellmodelle sind in Abschn. 2.2.1 näher beschrieben.

Im Rahmen dieser Arbeit sind ein gitterfreies BM (Abschn. 4.2.1) und ein gitterbasiertes BM (Abschn. 4.2.2) (weiter-)entwickelt worden. Von beiden Modellen wurde eine zweidimensionale und eine dreidimensionale Version realisiert. Diese Modelle sind in die Simulationsumgebung des CMS integriert worden und können dynamisch mittels den zur Verfügung gestellten Modell-Konnektor-Komponenten (MKKs) mit einem CBM semantisch verknüpft werden (s. Abschn. 3.1.2).

4.2.1 Gitterfreies Zell-Zentrummodell

Das entwickelte zwei- wie dreidimensionale gitterfreie BM geht auf das zweidimensionale Zell-Zentrummodell von Grabe et al. zurück, in dem Zellen mit Kreisen als räumliches Zellobjekt repräsentiert werden (Grabe und Neuber 2005). Zellen streben in diesem Modell eine optimale Distanz zu allen ihren Nachbarzellen an, so dass

sie diese lediglich tangieren und nicht überlappen. Im Falle von Zellüberlappungen und der damit verbundenen Unterschreitung der optimalen Distanz üben die betroffenen Zellen Druck aufeinander aus, um die optimale Distanz wiederherzustellen. Benachbarte Zellen in größerer Entfernung als die optimale Distanz, aber kleiner als die maximale Distanz, in der die Zelladhäsion als existent angenommen wird, ziehen einander an, um die Distanz zu verringern. Ein vergleichbares BM verwenden Smallwood et al. in ihrem zweidimensionalen bzw. dreidimensionalen Hautmodell (Li et al. 2013; Adra et al. 2010; Walker et al. 2004b). Dieses ebenfalls agentenbasierte Modell setzt jedoch für die multizelluläre Simulation einen globalen Physik-Agenten ohne biologischen Bezug voraus, der die Distanzen aller Zellen im Gewebe, die ebenfalls durch Agenten repräsentiert werden, optimiert. In der Regel ist es jedoch eine grundsätzliche Eigenschaft von Multiagentensystemen (MAS), dass es keinen globalen Agenten gibt, der andere Agenten steuert (Panait und Luke 2005). Ferner gilt in einem Multiagentensystem das Prinzip der Selbstorganisation (s. Abschn. 2.1.3).

Das im Rahmen dieser Arbeit weiterentwickelte gitterfreie BM optimiert Zell-Zell-Distanzen allein auf der Grundlage der lokalen Sicht der Zellagenten auf die unmittelbar benachbarten Zellen ohne Zuhilfenahme eines globalen Agenten. Die Equilibrierung der Zelldistanzen auf der Basis von gegenseitigem Druck bzw. gegenseitiger Anziehung ist ausgehend von Kreisen in der ursprünglichen BM Version auf Ellipsen im zweidimensionalen Fall bzw. Ellipsoide im dreidimensionalen Fall übertragen worden. Mit elliptischen bzw. ellipsoiden räumlichen Zellobjekten kann eine abgeflachte elongierte Zellmorphologie, wie man sie bspw. im *Stratum granulosum* der Epidermis vorfindet, besser repräsentiert werden. Ferner basiert die Anziehung benachbarter Zellen aufgrund von Zelladhäsion nun auf einem Federmodell. In diesem wird angenommen, dass die

Zentren der Zellen durch mechanische Federn mit linearer Federkonstante verbunden sind. Eine optimale Equilibrierung der Zelldistanzen innerhalb eines Simulationsschritts ist schematisch in Abbildung 4.2 dargestellt.

Die Zielgröße der Distanzequilibrierung ist, wie bereits erwähnt, die optimale Zelldistanz. Im Folgenden wird daher zunächst die Berechnung derselben für Ellipsoide bzw. Ellipsen ausgeführt. Im Anschluss daran wird die rekursive Berechnung der neuen Zellposition unter Berücksichtigung des Einflusses der unmittelbar benachbarten Zellen formal beschrieben. Ferner wird auf die Besonderheiten der Berechnung eingegangen, die sich aus dem multiagentenbasierten Simulationsansatz ergeben, in dem die Zell-Agenten sequenziell simuliert werden.

Optimale Zelldistanz 3D

In der dreidimensionalen Version des BM entsprechen die räumlichen Zellobjekte Ellipsoiden, deren Halbachsen a , b und c in Richtung der Einheitsbasisvektoren des kartesischen Koordinatensystems mit Standardbasis ausgerichtet sind. Entsprechend sind die Ortsvektoren der räumlichen Zellobjekte auch in kartesischen Koordinaten definiert $\mathbf{r} \equiv \mathbf{r}(x, y, z)$. Eine Drehung der Ellipsoide und somit der räumlichen Zellobjekte ist nicht Bestandteil des BM. Zur Berechnung der optimalen Distanz einer Zelle c mit Ortsvektor \mathbf{r}_c zu ihrer Nachbarzelle c_n mit Ortsvektor \mathbf{r}_n werden zunächst die Schnittpunkte S_c der Geraden durch $\overrightarrow{R_c R_n}$ und S_n der Geraden $\overrightarrow{R_n R_c}$ mit dem jeweiligen Ellipsoiden ermittelt. Die optimale Distanz zwischen beiden Ellipsoiden ist dann:

$$d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \left\| \overrightarrow{R_c S_c} \right\|_2 + \left\| \overrightarrow{R_n S_n} \right\|_2 \quad (3.50)$$

Ein Ellipsoid E ist gegeben durch:

$$E \equiv (\mathbf{x} - \mathbf{r})^T M^2 (\mathbf{x} - \mathbf{r}) = 1 \quad (3.51)$$

Die Matrix M entspricht der aus Definition (3.29).

Die Geraden g_c sowie g_n durch die Zentren der beiden Ellipsoide sind wie folgt definiert:

$$g_c : \mathbf{x}_c = \mathbf{r}_c + t_1 \cdot \hat{\mathbf{v}}_{cn} \quad (3.52)$$

$$\text{bzw. } g_n : \mathbf{x}_n = \mathbf{r}_n + t_2 \cdot \hat{\mathbf{v}}_{nc} \quad (3.53)$$

$$\text{mit } \hat{\mathbf{v}}_{cn} = \frac{1}{\|\mathbf{r}_n - \mathbf{r}_c\|_2} \cdot (\mathbf{r}_n - \mathbf{r}_c) \quad (3.54)$$

$$\text{und } \hat{\mathbf{v}}_{nc} = \frac{1}{\|\mathbf{r}_c - \mathbf{r}_n\|_2} \cdot (\mathbf{r}_c - \mathbf{r}_n) \quad (3.55)$$

Die Schnittpunkte S_c und S_n dieser Geraden mit dem jeweiligen Ellipsoiden erhält man nach Ermittlung des entsprechenden t_c bzw. t_n .

$$S_c = \mathbf{r}_c + t_c \cdot \hat{\mathbf{v}}_{cn} \quad (3.56)$$

$$\text{bzw. } S_n = \mathbf{r}_n + t_n \cdot \hat{\mathbf{v}}_{nc} \quad (3.57)$$

Die Berechnung von t_c sei im Folgenden exemplarisch ausgeführt:

$$\begin{aligned} & (\mathbf{x}_c - \mathbf{r}_c)^T M^2 (\mathbf{x}_c - \mathbf{r}_c) - 1 = 0 \\ \Leftrightarrow & (t_c \cdot \hat{\mathbf{v}}_{cn})^T M^2 (t_c \cdot \hat{\mathbf{v}}_{cn}) - 1 = 0 \quad (3.58) \\ \Leftrightarrow & t_c^2 \left(\frac{\hat{v}_{cn1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn2}^2}{b_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn3}^2}{c_c^2} \right) - 1 = 0 \end{aligned}$$

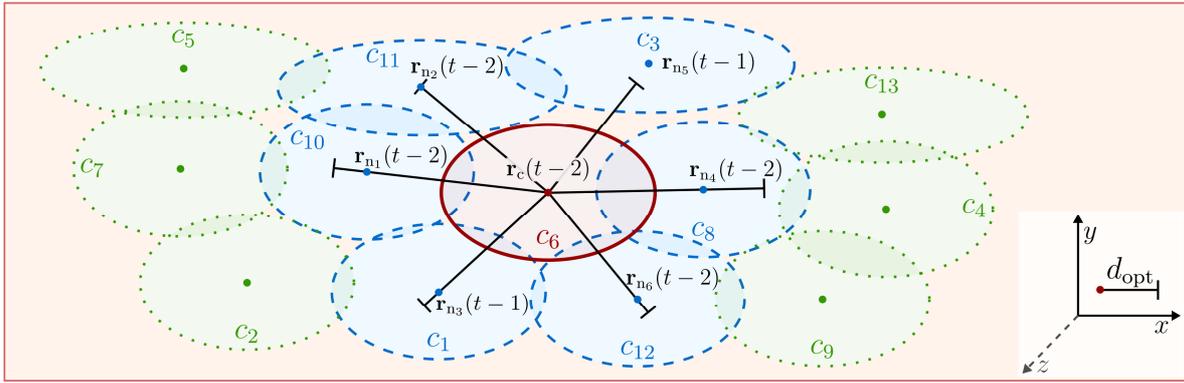
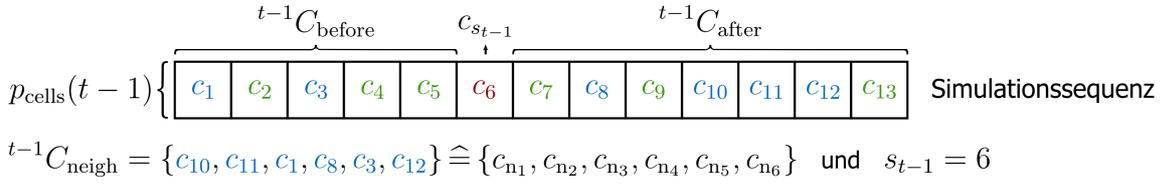
Nach Einsetzen der Geradengleichung in die Gleichung des Ellipsoiden (3.58) erhält man schließlich nach Umformung nach der Variablen t_c :

$$t_c = \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{cn1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn2}^2}{b_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn3}^2}{c_c^2} \right)}} \quad (3.59)$$

Die optimale Distanz zwischen zwei benachbarten räumlichen Zellobjekten repräsentiert durch Ellipsoide ist schließlich:

$$\begin{aligned} d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = & \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{cn}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{cn1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn2}^2}{b_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn3}^2}{c_c^2} \right)}} \right\|_2 \\ & + \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{nc}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{nc1}^2}{a_n^2} + \frac{\hat{v}_{nc2}^2}{b_n^2} + \frac{\hat{v}_{nc3}^2}{c_n^2} \right)}} \right\|_2 \quad (3.60) \end{aligned}$$

Simulationsschritt $t - 1$



Simulationsschritt t

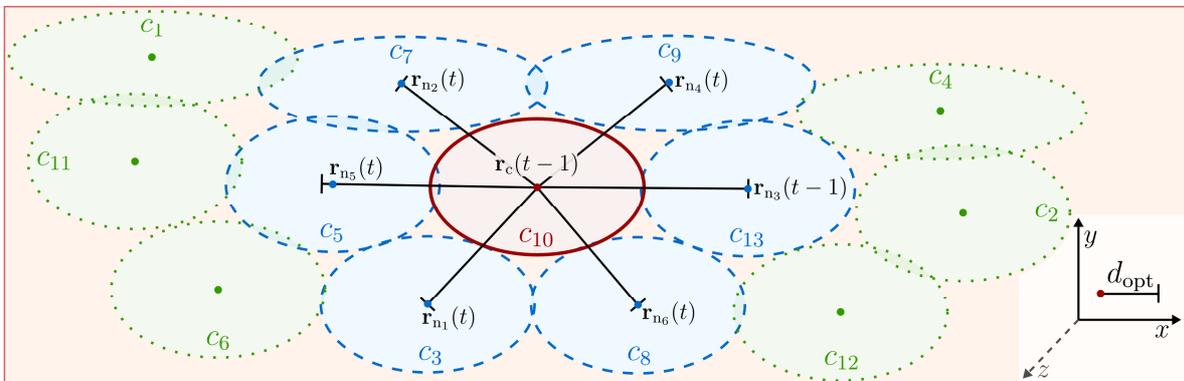
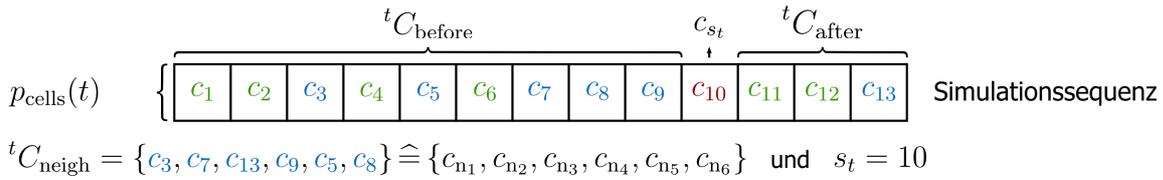


Abbildung 4.2: Gitterfreies, auf Ellipsen bzw. Ellipsoiden basierendes biomechanisches Modell. Die neue Zellposition im Simulationsschritt t (hier am Beispiel der Zelle c_{10}) wird rekursiv auf der Grundlage des vorherigen Simulationsschrittes (SiSt) $t - 1$ berechnet. Das Ziel bei der Berechnung der neuen Zellposition ist die Herstellung der optimalen Distanz d_{opt} zu allen benachbarten Zellen. Hierbei kann eine Zelle Druck auf die umliegenden Zellen ausüben, wenn die optimale Distanz unterschritten wird. Ferner kann, wie am Beispiel der benachbarten Zelle c_3 (SiSt $t - 1$) ersichtlich, die Distanz im Falle existierender Zelladhäsion verringert werden. Die Berechnung der neuen Position der einzelnen Zellen folgt der Simulationssequenz, die die Berechnungsreihenfolge vorgibt. Die Simulationssequenz wird vor jedem SiSt erzeugt und entspricht einer Zufallspermutation (p_{cells}) aller Zellen. Bei der Berechnung der neuen Position der Zelle c_{s_t} werden die Menge aller Zellen, bei denen die Berechnung im aktuellen SiSt bereits erfolgt ist (${}^t C_{\text{before}}$), und die Menge aller Zellen, bei denen die Berechnung noch zu erfolgen hat (${}^t C_{\text{after}}$), unterschieden.

Optimale Zelldistanz 2D

Die Berechnung der optimalen Distanz zweier benachbarter elliptischer Zellen, deren Halbachsen in Richtung der Einheitsbasisvektoren des zweidimensionalen kartesischen Koordinatensystems mit Standardbasis ausgerichtet sind, erfolgt analog zu der Berechnung der optimalen Distanz zweier Ellipsoide. Es werden die Schnittpunkte S_c und S_n der Geraden durch die Mittelpunkte zweier benachbarter Ellipsen und der Ellipsen selbst ermittelt. Die optimale Distanz zwischen diesen Ellipsen ist dann die Summe aus den Längen der beiden Geradenabschnitte $R_c S_c$ und $R_n S_n$:

$$d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{cn}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{cn1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{cn2}^2}{b_c^2}\right)}} \right\|_2 + \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{nc}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{nc1}^2}{a_n^2} + \frac{\hat{v}_{nc2}^2}{b_n^2}\right)}} \right\|_2 \quad (3.61)$$

Rekursive Berechnung der Zellposition

Die Position einer Zelle c zum SiSt t wird rekursiv auf der Grundlage der Zellposition im vorherigen SiSt $t - 1$ und des Drucks bzw. der Adhäsion der Nachbarzellen berechnet. Die übergeordnete Zielgröße bei der Berechnung einer neuen Zellposition ist die Herstellung der optimalen Distanz zu allen unmittelbar benachbarten Zellen (Abbildung 4.2). Dies wiederum entspricht einer Minimierung des Drucks durch bzw. auf die benachbarten Zellen. Ferner wird ggf. die Anziehungskraft, die auf die Zelle wegen Überschreitung der optimalen Distanz wirkt, minimiert. Aufgrund des Einflusses der benachbarten Zellen und der Tatsache, dass innerhalb der agentenbasierten multizellulären Simulation die einzelnen Zellen sequenziell simuliert werden, hängt die Berechnung der neuen Zellposition $\mathbf{r}_c(t)$ nicht nur von der vorherigen Zellposition $\mathbf{r}_c(t - 1)$, sondern auch von der Simulationssequenz des SiSt t ab. Im Folgenden werden daher zunächst die Definition einer Simulationssequenz, dann

der Rekursionsanfang der rekursiven Zellpositionsberechnung und schließlich die Berechnung selbst ausgeführt.

Simulationssequenz

Der Begriff Simulationssequenz wird hier in dem Sinn gebraucht, dass eine solche Sequenz der Reihenfolge entspricht, in der die Zellen, genauer deren BM- und CBM-Instanz, in einem bestimmten SiSt sequenziell simuliert werden (Abbildung 4.2). Der erste Simulationsschritt einer multizellulären Simulation sei $t_0 = 1$. Die Menge aller in der Simulation existierenden Zellen zum SiSt t ($t > 0$) ist ${}^t C_{\text{all}}$ und $p_{\text{cells}}(t)$ eine zufällige Permutation der ($n \geq 2$) Elemente von ${}^t C_{\text{all}}$.

$$p_{\text{cells}}(t) = (c_i)_{i=1}^n \quad (3.62)$$

Die Permutation $p_{\text{cells}}(t)$ ist gleichverteilt in dem Sinne, dass jede der $n!$ möglichen Permutationen die gleiche Wahrscheinlichkeit besitzt. I sei die Indexmenge der Permutation. Ferner sei c_{s_t} ($s_t \in I$) die Zelle der Simulationssequenz, deren neue Zellposition im SiSt t berechnet werden soll. Von dieser Zelle ausgehend kann die Simulationssequenz und damit auch die Menge aller Zellen ${}^t C_{\text{all}}$ in die beiden Teilmengen ${}^t C_{\text{before}}$ bzw. ${}^t C_{\text{after}}$ unterteilt werden.

$${}^t C_{\text{before}} = \{c_i \mid (i \in I) \wedge (i < s_t)\} \quad (3.63)$$

$${}^t C_{\text{after}} = \{c_i \mid (i \in I) \wedge (i > s_t)\} \quad (3.64)$$

Die Teilmenge ${}^t C_{\text{before}}$ ist dabei die Menge der Zellen, deren Simulation im SiSt t bereits erfolgt ist. Dementsprechend ist die Teilmenge ${}^t C_{\text{after}}$ die Menge der Zellen, deren Simulation im SiSt t noch zu erfolgen hat. Die Teilmengen ${}^{t-1} C_{\text{before}}$ und ${}^{t-1} C_{\text{after}}$ sind für den SiSt $t - 1$ und die betrachtete Zelle $c_{s_{t-1}}$ analog definiert. Es gelte für die weiteren Betrachtungen $c_{s_t} = c_{s_{t-1}}$, wobei nicht notwendigerweise s_t gleich s_{t-1} ist (Abbildung 4.2).

$$|s_t - s_{t-1}| \geq 0, |n - m| \geq 0 \quad (3.65)$$

Ferner gilt:

$$\left| |{}^t C_{\text{before}}| - |{}^{t-1} C_{\text{before}}| \right| \geq 0 \quad (3.66)$$

$$\left| |{}^t C_{\text{after}}| - |{}^{t-1} C_{\text{after}}| \right| \geq 0 \quad (3.67)$$

Hierbei ist m die Mächtigkeit der Menge ${}^{t-1} C_{\text{all}}$ und damit die Zellanzahl im SiSt $t - 1$.

Abschließend ist ${}^t C_{\text{neigh}}$ ($|{}^t C_{\text{neigh}}| = N$) die Menge der Nachbarzellen der Zelle c_{s_t} im SiSt t . Für den SiSt sei dies analog ${}^{t-1} C_{\text{neigh}}$ mit $|{}^{t-1} C_{\text{neigh}}| = M$.

Rekursionsanfang

Der Ortsvektor der Zelle c_{s_t} , die im Folgenden aus Gründen der Einfachheit mit c bezeichnet wird, ist $\mathbf{r}_c(t)$. Ferner ist $\mathbf{r}_{n_i}(t)$ der Ortsvektor der i -ten Nachbarzelle $c_{n_i} \in {}^t C_{\text{neigh}}$. Die Ortsvektoren der Zelle c sowie die ihrer Nachbarzellen c_{n_i} sind im SiSt 0 bzw. SiSt 1 identisch und entsprechen der Initialposition der Zelle(n) zu Beginn einer Gewebesimulation:

$$\mathbf{r}_c(0) = \mathbf{r}_c(1), \quad \mathbf{r}_{n_i}(0) = \mathbf{r}_{n_i}(1) \quad (3.68)$$

Die Menge aller Zellen ${}^0 C_{\text{all}}$ und damit auch die Teilmengen ${}^0 C_{\text{before}}$ und ${}^0 C_{\text{after}}$ entsprechen der leeren Menge:

$${}^0 C_{\text{all}} = {}^0 C_{\text{before}} = {}^0 C_{\text{after}} = \emptyset \quad (3.69)$$

Bei der Ermittlung der neuen Zellposition $\mathbf{r}_c(t)$ werden die drei Translationsvektoren $\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)$, $\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)$ und $\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)$ berechnet. Die Erläuterung dieser Vektoren sowie deren Berechnung ist Gegenstand der unmittelbar folgenden Unterkapitel. An dieser Stelle seien lediglich die Initialwerte dieser Vektoren im SiSt 0 definiert:

$$\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{ext}}(0) = \Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(0) = \Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(0) = \mathbf{0} \quad (3.70)$$

Berechnung des Zellbewegungsvektors

Der Zellbewegungsvektor $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ entspricht der Positionsänderung einer Zelle c , die unter der gegebenen Parametrisierung des BM die Herstellung der optimalen Distanz zu einer konkreten

Nachbarzelle c_n zur Folge hätte. Es wird ein Zellbewegungsvektor für jede Nachbarzelle der Zelle c im Rahmen der Bestimmung der Translationsvektoren $\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)$ und $\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)$ berechnet. Die Funktionsgleichung (3.75) definiert die Berechnung eines Zellbewegungsvektors $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$. Dabei ist

$$\mathbf{v}_{\text{nc}} = \mathbf{r}_c - \mathbf{r}_n \quad (3.71)$$

Bezogen auf die Distanz zweier Zellen zueinander und damit auch bei der Berechnung des Zellbewegungsvektors werden drei Fälle unterschieden:

1. Die optimale Distanz zweier Zellen ist signifikant unterschritten worden.
2. Die optimale Distanz ist überschritten worden, die maximale Zelladhäsionsdistanz jedoch nicht.
3. Es gibt entweder keine signifikante Abweichung von der optimalen Distanz oder die maximale Zelladhäsionsdistanz wurde überschritten.

Im ersten Fall üben die beiden Zellen Druck aufeinander aus, der im Rahmen dieses BM als skalare Größe $F_{\text{pr}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ in Erscheinung tritt, die gemäß Gleichung (3.73) berechnet wird. Hierbei wird die optimale Distanz der beiden betrachteten Zellen mit dem Faktor δ_{ol} ($0 < \delta_{\text{ol}} \leq 1$) multipliziert, mit dem sich die tolerierte Zell-Zell-Überlappung skalieren lässt. Über diesen Faktor kann in einfachem Rahmen auch die Elastizität einer Zelle Berücksichtigung finden. Die skalierte optimale Distanz wird zur tatsächlichen Euklidischen Distanz $\|\mathbf{v}_{\text{nc}}\|_2$ der beiden Zellen ins Verhältnis gesetzt. Eine diesem Verhältnis gemäße Abstoßung der benachbarten Zelle in Richtung $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ findet jedoch nur statt, wenn die Unterschreitung der optimalen Distanz signifikant ist (d.h. $h_{\text{col}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = 1$, s. Gl. (3.72)). Die Kollision und damit die Überlappung zweier Zellen wird als signifikant betrachtet, wenn die Unter-

$$h_{\text{col}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \begin{cases} 1 & \text{für } (\delta_{\text{ol}} \cdot d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) - \|\mathbf{v}_{\text{nc}}\|_2) > \delta_{\text{min}} \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.72)$$

$$F_{\text{pr}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \begin{cases} \frac{\delta_{\text{ol}} \cdot d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)}{\|\mathbf{v}_{\text{nc}}\|_2} & \text{für } \mathbf{r}_c \neq \mathbf{r}_n \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.73)$$

$$F_{\text{adh}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \begin{cases} \frac{d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)}{\|\mathbf{v}_{\text{nc}}\|_2} & \text{für } \mathbf{r}_c \neq \mathbf{r}_n \wedge \|\mathbf{v}_{\text{nc}}\|_2 < \delta_{\text{adh}} \cdot d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.74)$$

$$\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = \begin{cases} (F_{\text{pr}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) - 1) \cdot \mathbf{v}_{\text{nc}} & \text{für } F_{\text{pr}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) > 1 \wedge h_{\text{col}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) = 1 \\ -^{\text{adh}}k_{\text{cn}} (1 - F_{\text{adh}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)) \cdot \mathbf{v}_{\text{nc}} & \text{für } F_{\text{pr}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) < 1 \wedge F_{\text{adh}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n) > 0 \\ \mathbf{0} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.75)$$

schreitung der optimalen Distanz größer ist als der festzulegende Modellparameter δ_{min} .

Im zweiten Fall ist die Euklidische Distanz der beiden betrachteten Zellen größer als die optimale Distanz. Sofern sich diese Überschreitung im Rahmen der maximalen Zelladhäsionsdistanz $\delta_{\text{adh}} \cdot d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ bewegt, ziehen sich die beiden Zellen gegenseitig an. Diese Anziehung wird durch die skalare Größe $F_{\text{adh}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ in Gleichung (3.74) ausgedrückt. Die Stärke der Anziehung in Richtung $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ wird durch die Konstante $^{\text{adh}}k_{\text{cn}}$ skaliert, die als lineare Federkonstante der mechanischen Feder interpretiert werden kann (vgl. Loodts et al. 2006), die die Zentren \mathbf{r}_c und \mathbf{r}_n der beiden Zellen verbindet. Die Ruhelänge dieser Feder entspricht der optimalen Zelldistanz $d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$.

Im dritten Fall existiert entweder keine signifikante Abweichung von der optimalen Zelldistanz oder die beiden betrachteten Zellen sind zu weit voneinander entfernt, um Zellverbindungen und somit Zell-Zell-Adhäsion anzunehmen.

Berechnung der Translationsvektoren

Der Translationsvektor $\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)$ beschreibt die Positionsänderung der Zelle c_{s_t} im SiSt t , die sich aus der Summe von Abstoßung bzw. Anziehung durch die Nachbarzellen ergibt (Gleichung (3.77)). Dieser Vektor wird im Rahmen des agentenbasierten Simulationsansatzes nicht explizit für die Zelle c_{s_t} berechnet. Er ist vielmehr das Ergebnis, das aus der Simulation des BM der benach-

barten Zellen hervorgeht. Da die Berechnung einer neuen Zellposition innerhalb eines SiSt gemäß der Simulationssequenz dieses SiSt erfolgt, ist von der Zelle c_{s_t} aus betrachtet zwischen benachbarten Zellen, deren neue Zellposition bereits berechnet ist, und benachbarten Zellen, deren neue Zellposition noch zu berechnen ist, zu unterscheiden (Abbildung 4.2). Die bereits berechneten Zellen sind in der Menge ${}^t C_{\text{before}}$ und die noch zu berechnenden Zellen in der Menge ${}^t C_{\text{after}}$ enthalten. Die charakteristische Funktion dieser Mengen ist $\chi^{{}^t C_{\text{before}}}(c)$ bzw. $\chi^{{}^t C_{\text{after}}}(c)$. In die Berechnung von Translationsvektor $\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)$ gehen damit die Zellen ein, die im vorherigen SiSt $t-1$ nach der Berechnung der neuen Zellposition für die Zelle $c_{s_{t-1}}$ ($= c_{s_t}$) noch zu berechnen waren. Ferner finden jene Zellen Berücksichtigung, deren neue Zellposition im SiSt t bereits berechnet worden ist. Die Positionsänderung durch benachbarte Zellen wird durch Δ_{max} beschränkt. Der skalierte Translationsvektor $\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{ext}}(t)$ ist daher:

$$\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{ext}}(t) = \frac{\min(\Delta_{\text{max}}, |\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)|)}{|\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t)|} \cdot \Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t) \quad (3.76)$$

Der Translationsvektor $\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)$ entspricht der Positionsänderung, die die Zelle aktiv auf der Grundlage von $\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{ext}}(t)$ unternimmt. Der Einfluss der benachbarten Zellen auf diese aktive Positionsänderung kann über den BM Parameter λ_{push} skaliert werden. Ferner wird angenommen, dass die aktive Zellbewegung einen zufälligen

$$\Delta \mathbf{r}_{\text{ext}}(t) = - \sum_{i=1}^M \left(\chi^{t-1} c_{\text{after}}(c_{n_i}) \cdot \left(\mathbf{m}({}^a \mathbf{r}_{n_i}(t-1), \mathbf{r}_c(t-1)) + \mathbf{m}({}^r \mathbf{r}_{n_i}(t-1), \mathbf{r}_c(t-1)) \right) \right) \quad (3.77)$$

$$- \sum_{i=1}^N \left(\chi^{t} c_{\text{before}}(c_{n_i}) \cdot \left(\mathbf{m}({}^a \mathbf{r}_{n_i}(t), \mathbf{r}_c(t-1)) + \mathbf{m}({}^r \mathbf{r}_{n_i}(t), \mathbf{r}_c(t-1)) \right) \right)$$

$$\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t) = \sum_{i=1}^N \left(\chi^{t} c_{\text{before}}(c_{n_i}) \cdot \mathbf{m}({}^a \mathbf{r}_c(t), \mathbf{r}_{n_i}(t)) \right) + \sum_{i=1}^N \left(\chi^{t} c_{\text{after}}(c_{n_i}) \cdot \mathbf{m}({}^a \mathbf{r}_c(t), \mathbf{r}_{n_i}(t-1)) \right) \quad (3.78)$$

$$\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t) = \frac{D(\|\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)\|_2)}{\|\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)\|_2} \cdot \Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t) \quad \text{mit} \quad D(x) = \frac{\|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2}{1 + \exp\left(\frac{\lambda_{\text{ip}} \cdot \|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2 - x}{\lambda_{\text{sl}} \cdot \|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2}\right)} \quad (3.79)$$

Anteil besitzt, der in Analogie mit der Brownschen Bewegung gesehen werden kann (Schaller und Meyer-Hermann 2007). Der Einfluss der zufälligen Positionsänderung auf die aktive Zellbewegung wird mittels BM-Parameter λ_{rand} skaliert. Damit ergibt sich im dreidimensionalen Fall:

$$\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t) = \lambda_{\text{push}} \cdot \Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{ext}}(t) + \lambda_{\text{rand}} \cdot \begin{pmatrix} z_x \\ z_y \\ z_z \end{pmatrix} \quad (3.80)$$

Dabei sind z_x , z_y und z_z Realisierungen der stetigen Zufallsvariablen Z , die auf dem Intervall $[0, 0.5)$ gleichverteilt ist. Im zweidimensionalen Fall ist $\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)$ unter Verwendung von z_x und z_y analog definiert. Die vorläufige Zellposition nach der aktiven Zellbewegung ist damit:

$${}^a \mathbf{r}_c(t) = \mathbf{r}_c(t-1) + \Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t) \quad (3.81)$$

Auf der Grundlage dieser vorläufigen Position der Zelle c_{s_t} wird der Translationsvektor $\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)$ explizit berechnet (Gleichung (3.78)). Er bildet die Abstoßung bzw. die Anziehung durch die Nachbarzellen auf der Grundlage der Zellposition ${}^a \mathbf{r}_c(t)$ ab und entspricht der Reaktion der Umgebung auf die Positionsänderung. Die korrigierte Zellposition ${}^r \mathbf{r}_c(t)$ berücksichtigt sowohl die aktive Positionsänderung durch die Zelle selbst als auch die Positionsänderung, die sich als Reaktion auf Zellposition ${}^a \mathbf{r}_c(t)$ ergibt:

$${}^r \mathbf{r}_c(t) = \mathbf{b}_{\text{lb}}(\mathbf{r}_c(t-1) + \Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t) + \Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t)) \quad (3.82)$$

In Gleichung (3.82) geht jedoch nicht der Translationsvektor $\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)$, sondern der skalierte Translationsvektor $\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t)$ ein, um das multi-zelluläre Gewebe als Gesamtsystem zu stabilisieren und stark oszillierende Zellpositionen über mehrere SiSt hinweg zu vermeiden. Translationsvektor $\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t)$ entspricht hierbei einer gedämpften Reaktion auf Zellposition ${}^a \mathbf{r}_c(t)$ mit

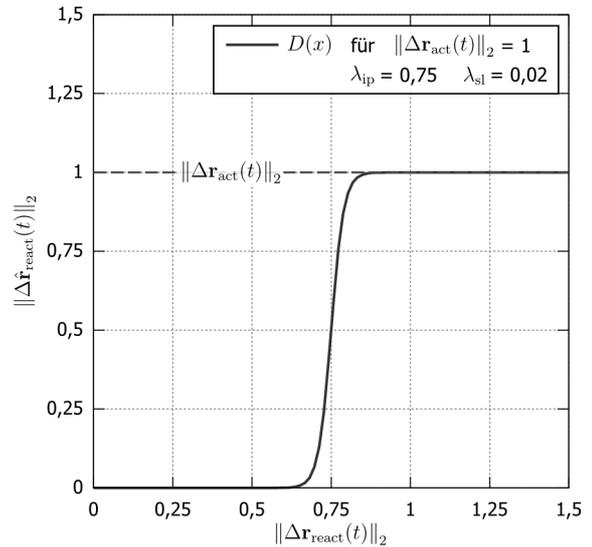


Abbildung 4.3: Sigmoidale Dämpfungskurve. Die aktive Zellpositionsänderung $\|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2$ wird stärker gewichtet, da kleine Werte von $\|\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)\|_2$ ignoriert werden.

$$\begin{aligned}
 h_{\text{col_all}}(t) = & \sum_{i=1}^N \left(\chi^{t C_{\text{before}}}(c_{n_i}) \cdot h_{\text{col}}(\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t), \mathbf{r}_{n_i}(t)) \right) \\
 & + \sum_{i=1}^N \left(\chi^{t C_{\text{after}}}(c_{n_i}) \cdot h_{\text{col}}(\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t), \mathbf{r}_{n_i}(t-1)) \right)
 \end{aligned} \tag{3.87}$$

einer Dämpfungskurve $D(x)$ in Form einer Sigmoidfunktion mit Steilheitsparameter λ_{sl} und Wendepunktparameter λ_{sl} (Abbildung 4.3). Der Betrag von Translationsvektor $\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t)$ ist somit durch $\|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2$ nach oben hin beschränkt. Kleine Werte von $\|\Delta \mathbf{r}_{\text{react}}(t)\|_2$ werden ignoriert und dadurch die aktive Zellpositionsänderung stärker gewichtet.

Generell gilt:

$$0 \leq \|\Delta \hat{\mathbf{r}}_{\text{react}}(t)\|_2 \leq \|\Delta \mathbf{r}_{\text{act}}(t)\|_2 \tag{3.83}$$

und

$${}^a \mathbf{r}_{n_i}(t) = \mathbf{r}_{n_i}(t) = \mathbf{0} \quad \text{für } c_{n_i} \in {}^t C_{\text{after}} \tag{3.84}$$

Die korrigierte Zellposition $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ berücksichtigt ferner, dass die Bewegungsrichtung entlang der y -Achse des kartesischen Koordinatensystems, das den MZR aufspannt, nach unten beschränkt ist. Diese Beschränkung ist im Fall des *in silico* Epidermis-Modells (s. Abschn. 4.3) die Basalmembran. Die y -Komponente von $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ wird im Falle des Unterschreitens der unteren Schranke im zweidimensionalen Fall wie folgt korrigiert:

$$\mathbf{b}_{\text{lb}}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \begin{pmatrix} x \\ \text{bm}(x) \end{pmatrix} & \text{für } y < \text{bm}(x) \\ \mathbf{r} & \text{sonst} \end{cases} \tag{3.85}$$

Im dreidimensionalen Fall entspricht dies:

$$\mathbf{b}_{\text{lb}}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \begin{pmatrix} x \\ \text{bm}(x, z) \\ z \end{pmatrix} & \text{für } y < \text{bm}(x, z) \\ \mathbf{r} & \text{sonst} \end{cases} \tag{3.86}$$

Die Funktion $\text{bm}(x)$ bzw. $\text{bm}(x, z)$ bildet die Funktionsargumente auf den minimalen y -Wert auf der Grundlage der Form der unteren Beschränkung (Basalmembran) ab. Die Umsetzung des gitterfreien BM in der SE erlaubt die dynami-

sche Einbindung unterschiedlicher (Oberflächen-)Formen für eine konkrete multizelluläre Gewebesimulation. Aus diesem Grund werden $\text{bm}(x)$ bzw. $\text{bm}(x, z)$ an dieser Stelle nicht näher beschrieben. Konkrete Basalmembranformen sind Bestandteil von Abschn. 5.1.1. Die Existenz einer unteren Beschränkung wird vom gitterfreien BM gegenwärtig vorausgesetzt. Das BM als solches baut jedoch nicht grundlegend auf dieser Voraussetzung auf, so dass der Wegfall der unteren Beschränkung keine größere Adaption des BM erfordert. In beiden der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Anwendungsfälle ist eine untere Beschränkung in Form einer Basalmembran enthalten (siehe auch: *Randbedingungen multizellulärer Raum*).

Berechnung der neuen Zellposition

Nach der Berechnung der Translationsvektoren, der vorläufigen Zellposition ${}^a \mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ und der korrigierten Zellposition $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ wird die neue Position $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ der Zelle c_{s_t} berechnet. Diese ist:

$$\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t) = \begin{cases} \mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t) & \text{für } h_{\text{col_all}}(t) = 0 \\ \mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t-1) & \text{sonst} \end{cases} \tag{3.88}$$

Die neue Zellposition entspricht der korrigierten Zellposition $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$, sofern diese Position kollisionsfrei ist. Kollisionsfrei bedeutet in diesem Zusammenhang, dass unter Einnahme der Zellposition $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t)$ die Zelle c_{s_t} die optimale Distanz zu keiner ihrer Nachbarzellen signifikant unterschreitet. Die ursprüngliche Zellposition $\mathbf{r}_{\mathbf{r}_c}(t-1)$ wird hingegen beibehalten, wenn mindestens eine Kollision ($h_{\text{col_all}}(t) > 0$) registriert wird.

Randbedingungen multizellulärer Raum

Das gitterfreie BM platziert sämtliche Zellen einer Gewebesimulation im selben gitterfreien MZR. Die Breite w , die Höhe h sowie im dreidimensionalen Fall die Tiefe l dieses Raums können frei gewählt werden und sind in Mikrometern definiert. Abbildung 4.4 (A) zeigt den MZR der zweidimensionalen Variante des BM. Für diesen sind in x -Richtung des ihm zugrunde liegenden kartesischen Koordinatensystems periodische Randbedingungen (PRB) definiert. Aufgrund der PRB gilt für die x -Komponente des Ortsvektors \mathbf{r} einer Zelle $x = x + w$, woraus folgt, dass $(0, 0) = (w, 0)$ bzw. $(0, h) = (w, h)$. Wie in Abbildung 4.4 (B) dargestellt, entspricht der zweidimensionale multizelluläre Raum der Mantelfläche eines Kreiszyinders mit Radius $r = \frac{1}{2\pi}w$. Die blau gefärbten Zellen sind daher die unmittelbaren Nachbarzellen der rot gefärbten Zelle.

In der dreidimensionalen Variante des BM sind zusätzlich zur x -Richtung auch in z -Richtung PRB definiert, so dass $x = x + w$ bzw. $z = z + l$.

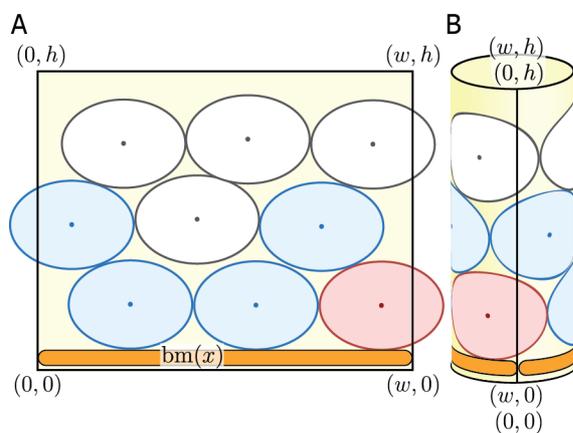


Abbildung 4.4: Zweidimensionaler gitterfreier Raum mit periodischen Randbedingungen. (A) Für den gitterfreien multizellulären Raum sind in x -Richtung PRB definiert, so dass die blauen Zellen die unmittelbare Nachbarschaft der roten Zelle bilden. (B) Aufgrund der PRB in x -Richtung entspricht der Raum der Mantelfläche eines Kreiszyinders.

In der zwei- wie in der dreidimensionalen Variante des BM ist der multizelluläre Raum in y -Richtung nach unten hin beschränkt (siehe auch: *Berechnung der Translationsvektoren*). Hierbei entspricht $\text{bm}(x)$ bzw. $\text{bm}(x, z)$ der minimalen y -Koordinate, die durch die (Oberflächen-)Form der unteren Beschränkung definiert wird. Diese Form entspricht nicht notwendigerweise, wie in Abbildung 4.4, einer Geraden bzw. einer Ebene im dreidimensionalen Fall. In den im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Anwendungsfällen für das gitterfreie BM entspricht die untere Beschränkung der Basalmembran einer *in silico* Epidermis (s. Abschn. 5.1.1).

4.2.2 Gitterbasiertes Zellmodell

Das gitterbasierte Zellmodell ist neben dem gitterfreien Zell-Zentrumsmodell das zweite BM, das für zwei- wie dreidimensionale multizelluläre Gewebesimulationen im Rahmen dieser Arbeit entwickelt und in die SE integriert wurde. Es baut auf dem von Fong et al. entwickelten zweidimensionalen Zellmodell auf, mit dem die Zellmigration im Kontext der Wundheilung einer Monoschicht humaner kornealer Epithelzellen (HKEZ) *in silico* reproduziert wurde (Fong et al. 2010). Im Rahmen ihrer Arbeit haben Fong et al. neben dem zuvor erwähnten *in silico* Modell ein *in vitro* Modell etabliert, mit dem man die Wundheilung der HKEZ-Monoschicht in Abhängigkeit von der Konzentration des Tripeptids Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD) in der extrazellulären Matrix untersuchen kann. Die betrachteten biologischen Parameter sind u.a. die Migrationsgeschwindigkeit der Zellen sowie die damit verbundene Verschiebung des Wundrands in zeitlicher Auflösung. In ihrem stochastischen *in silico* Modell unterscheiden Fong et al., wie in Abbildung 4.5 dargestellt, zwei grundlegende Zellzustände:

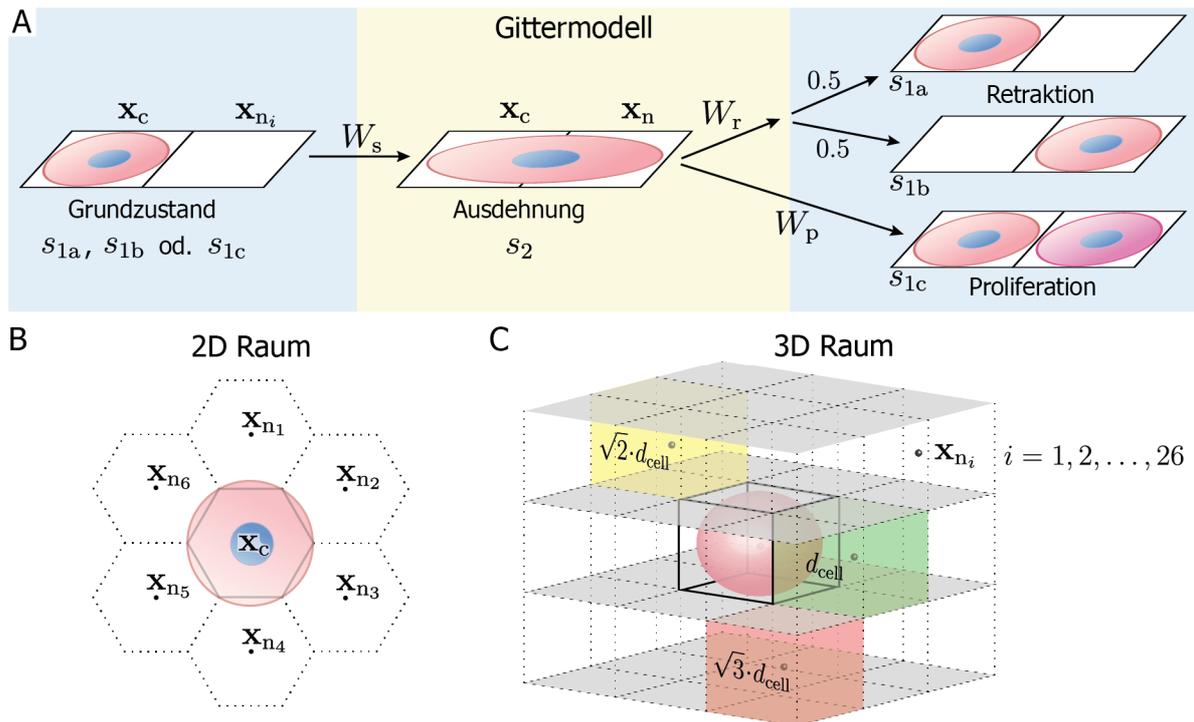


Abbildung 4.5: Gitterbasiertes biomechanisches Modell. (A) Zellen gehen mit der zeitlichen Rate W_s in den Zustand der Ausdehnung über, in dem sie zwei Gitterzellen belegen. Mit Rate W_r kehrt eine Zelle in den Grundzustand zurück, wobei zwischen Retraktion in die ursprüngliche Gitterzelle x_c sowie der Retraktion und damit Migration in die benachbarte Gitterzelle x_n unterschieden wird. Vom Zustand der Ausdehnung ausgehend, teilt sich eine Zelle mit Rate W_p . (B) In der zweidimensionalen Variante des Modells wird der Raum durch ein hexagonales Gitter repräsentiert. Der Durchmesser des Umkreises einer hexagonalen Gitterzelle entspricht dem Durchmesser d_{cell} einer Zelle im Grundzustand. (C) Im dreidimensionalen Fall entspricht der Raum einem kartesischen Gitter, in dem die Kantenlänge einer Gitterzelle dem Durchmesser der Zelle d_{cell} entspricht. Alle 26 unmittelbar angrenzenden Gitterzellen gelten als Nachbarzellen (Moore-Nachbarschaft). Die Position x_c einer Zelle im Grundzustand entspricht sowohl in 2D als auch in 3D dem Mittelpunkt x der entsprechenden Gitterzelle.

1. Zelle im Grundzustand (blau hinterlegt)
2. Zelle im Zustand der Ausdehnung (engl. spreading, gelb hinterlegt)

In Abhängigkeit von der RGD-Konzentration in der extrazellulären Matrix sind experimentell zeitlich aufgelöste Raten für den Übergang einer Zelle vom Grundzustand in den Zustand der Ausdehnung (W_s) sowie für die Rückkehr in den Grundzustand mittels Retraktion (W_r) oder Proliferation (W_p) ermittelt worden. Der extrazelluläre Modellparameter „RGD-Konzentration“ wird *in silico* über die Werte von W_s sowie W_r abgebildet. Es wurde angenommen, dass die

Proliferationsrate W_p unabhängig von der RGD-Konzentration ist. Sich zeitlich oder lokal dynamisch verändernde RGD-Konzentrationen können mit diesem Modell nicht abgebildet werden, da der extrazelluläre Raum nicht Bestandteil des Modells ist. Aus diesem Grund kann auch gerichtete Zellmigration in einem chemotaktischen Stoffgradienten nicht reproduziert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit ist das zweidimensionale Modell von Fong et al. zu einem generischen stochastischen zellbasierten (Chemotaxis-) Modell weiterentwickelt und als zwei- wie dreidimensionale Variante realisiert worden. Das Modell ist in der Lage unter Verwendung von

extrazellulären Diffusionsfeldern und den dafür bereitgestellten Basismodellen der SE (Abschn. 4.1.2) sowohl ungerichtete wie gerichtete Zellmigration in einer multiagentenbasierten Simulation zu reproduzieren. Ferner erlaubt das Modell eine dynamische Adjustierung der Ausdehnungs-, Retraktions- sowie Proliferationsraten auf der Basis extrazellulärer Stoffkonzentrationen (z.B. Zytokinkonzentrationen). Das generische Modell wird in CBM und BM aufgeteilt. Das CBM veranlasst Zellausdehnung, -retraktion und -teilung über die biomechanischen Modellparameter (BMPs), die die entsprechende MKK zugänglich macht. Die (stoffkonzentrationsabhängige) Auswahl einer freien benachbarten Gitterzelle im Falle der Zellausdehnung, die Auswahl der Gitterzelle im Falle von Zellretraktion sowie die räumliche Repräsentation einer Zelle als solches ist Bestandteil des BM. Wie beim gitterfreien BM kann ein CBM über die MKK dynamisch mit der zweidimensionalen sowie der dreidimensionalen Variante des gitterbasierten BM semantisch verknüpft werden. Das CBM kann hierbei ein rein stochastisches, ein rein mechanistisch-deterministisches oder ein hybrides Modell sein. Für die weitere formale Beschreibung des Gittermodells wird jedoch ein rein stochastisches CBM in Bezug auf die Veranlassung von Zellausdehnung, -retraktion und -teilung vorausgesetzt, da dies den im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Anwendungsfällen (s. Abschn. 4.5 – 4.7) entspricht.

Bestimmung der Übergangswahrscheinlichkeiten

Im Kontext des gitterbasierten Zellmodells sind Zustandsübergänge vom Grundzustand (s_{1a} , s_{1b} od. s_{1c}) in den Zustand der Ausdehnung (s_2) und umgekehrt diskret und geschehen innerhalb eines SiSt. In einem stochastischen CBM sind die zeitlichen Raten für Ausdehnung W_s , Retraktion W_r und Proliferation W_p durch die Zellmigrationsgeschwindigkeiten bzw. die Zellzyklusdauer im betrachteten biologischen System vorgegeben. Jedem CBM liegt eine atomare Realzeit pro SiSt

Δt_{cbm} zugrunde, die modellinhärent ist, d.h. nicht explizit als Modellparameter definiert wird, jedoch durch die gewählten Werte für definierte CBM-Parameter zum Ausdruck kommt (Näheres s. Abschn. 3.1.3). Nimmt man ein hinreichend kleines Δt_{cbm} an, können die Raten W_s , W_r und W_p den Übergangswahrscheinlichkeiten \hat{W}_s , \hat{W}_r und \hat{W}_p , bezogen auf die zuvor eingeführten Zellzustände, entsprechen. Dies ist der Fall, wenn gilt:

$$0 < W_s \leq 1 \text{ bzw. } 0 < (W_r + W_p) \leq 1 \quad (3.89)$$

Sind diese Bedingungen erfüllt, repräsentiert das Gesamtmodell, bestehend aus stochastischem CBM und gitterbasierten BM, eine zeitdiskrete, endliche Markow-Kette 1. Ordnung.

Der Zustandsraum dieser Markow-Kette sei $S = \{s_{1a}, s_{1b}, s_{1c}, s_2\}$ (siehe Abbildung 4.5). Ausgehend vom Zustand Ausdehnung s_2 kann in die drei Differenzierungen des Grundzustands, Originalzustand s_{1a} , Migration s_{1b} oder Proliferation/Zellteilung s_{1c} , übergegangen werden. Die Übergangsmatrix ist:

$$P = \begin{pmatrix} 1 - \hat{W}_s & 0 & 0 & \hat{W}_s \\ 0 & 1 - \hat{W}_s & 0 & \hat{W}_s \\ 0 & 0 & 1 - \hat{W}_s & \hat{W}_s \\ 0.5 \cdot \hat{W}_r & 0.5 \cdot \hat{W}_r & \hat{W}_p & 1 - \hat{W}_r - \hat{W}_p \end{pmatrix} \quad (3.90)$$

Die Proliferationsrate W_p kann auf der Grundlage einer bekannten Verdopplungszeit t_D der Zellpopulation bestimmt werden (Fong et al. 2010):

$$W_p = \frac{\ln 2}{t_D} (1 + W_r/W_s) \quad (3.91)$$

Dies gilt für $W_p \ll W_r, W_s$ bei einer geringen Zelldichte, da Zellen, nur wenn freie benachbarten Gitterzellen existieren, in den Zustand Ausdehnung übergehen können, der wiederum Voraussetzung für die Zellteilung ist. Eine höhere Zelldichte führt entsprechend zu einer höheren Verdopplungszeit t_D bei gleichem W_p . Gleichung (3.91) setzt die Raten W_r und W_s als bekannt

voraus. Diese Übergangswahrscheinlichkeiten beeinflussen neben der Verdopplungszeit auch die Zellmigrationsgeschwindigkeit V_{mig} . Diese wiederum kann, sofern sie bekannt ist, genutzt werden um W_r und W_s zu bestimmen. Die Voraussetzung ist hier ebenfalls die Annahme einer geringen Zelldichte und einer ebenfalls vergleichsweise geringen Proliferationsrate $W_p \ll W_r, W_s$. Ferner ist aufgrund der unterschiedlichen Gitterzellgeometrie die Berechnung im zwei- bzw. dreidimensionalen Fall verschieden.

Im zweidimensionalen Fall entspricht der Zelldurchmesser d_{cell} dem Durchmesser des Umkreises einer hexagonalen Gitterzelle x_c (Abbildung 4.5 (B)). Die Distanz der Mittelpunkte x_{n_i} der sechs benachbarten Gitterzellen beträgt dementsprechend $(\sqrt{3}/2)d_{\text{cell}}$. Ferner ist bei der Bestimmung W_r und W_s zu beachten, dass mindestens zwei SiSt für die Migration von einer Gitterzelle zur anderen benötigt werden. Außerdem tritt nur in der Hälfte der Fälle eine Retraktion in die benachbarte Gitterzelle und damit eine wirkliche Migration ein. Die Raten bei gegebener Migrationsgeschwindigkeit V_{mig} im zweidimensionalen Fall sind daher:

$$\begin{aligned} W_s = W_r &= \frac{2 \cdot 2}{\frac{\sqrt{3}}{2}} \cdot \frac{V_{\text{mig}} \Delta t_{\text{cbm}}}{d_{\text{cell}}} \\ &= \frac{8}{\sqrt{3}} \cdot \frac{V_{\text{mig}} \Delta t_{\text{cbm}}}{d_{\text{cell}}} \end{aligned} \quad (3.92)$$

Im dreidimensionalen Fall wird die Moore-Nachbarschaft verwendet, so dass eine Gitterzelle 26 benachbarte Gitterzellen hat (Abbildung 4.5 (C)). Es existieren drei mögliche Distanzen der Mittelpunkte x_{n_i} dieser benachbarten Gitterzellen zu der betrachteten Gitterzelle mit Mittelpunkt x_c :

1. Distanz d_{cell} der sechs benachbarten Gitterzellen der Von-Neumann-Nachbarschaft (Abbildung 4.5 (C, grün))
2. Distanz $\sqrt{2}d_{\text{cell}}$ der zwölf benachbarten Gitterzellen, die genau eine gemeinsame Kante

mit der betrachteten Gitterzelle aufweisen (Abbildung 4.5 (C, gelb)).

3. Distanz $\sqrt{3}d_{\text{cell}}$ der acht benachbarten Gitterzellen, die keine gemeinsame Kante mit der betrachteten Gitterzelle aufweisen (Abbildung 4.5 (C, gelb)).

Die durchschnittliche Distanz einer benachbarten Gitterzelle im dreidimensionalen Fall ist daher:

$$\bar{d}_{\text{mig}} d_{\text{cell}} \quad \text{mit} \quad \bar{d}_{\text{mig}} = \frac{6 + 12\sqrt{2} + 8\sqrt{3}}{26} \quad (3.93)$$

Daraus ergeben sich die folgenden Raten bei gegebener Migrationsgeschwindigkeit:

$$W_s = W_r = \frac{4V_{\text{mig}} \Delta t_{\text{cbm}}}{\bar{d}_{\text{mig}} d_{\text{cell}}}$$

Aus gegebenen, unter Umständen verschiedenen Raten W_r und W_s kann für geringe Zelldichten die zu erwartende Migrationsgeschwindigkeit berechnet werden. Bei insgesamt n simulierten Zellen seien n_1 Zellen im Grundzustand und n_2 Zellen im Zustand der Ausdehnung. Ferner wird angenommen, dass $0 \leq W_p \ll W_r, W_s$. Die Veränderung der Zahl der Zellen im Zustand der Ausdehnung über die Zeit ist unter Vernachlässigung von W_p :

$$\frac{\partial n_2}{\partial t} = W_s n_1 - W_r n_2 \approx 0 \quad (3.94)$$

Die Veränderung der Anzahl n_2 von Zellen im Zustand der Ausdehnung ist bei dem zu erwartenden Equilibrium der multizellulären Simulation unter den zuvor definierten Voraussetzungen ungefähr 0. Hieraus ergibt sich mit $n = n_1 + n_2$ folgende Herleitung für die Berechnung der Zahl der Zellen, die sich unter Annahme dieses Equilibriums im Zustand der Ausdehnung befinden:

$$\begin{aligned}
n_1 &= \left(\frac{W_r}{W_s}\right) n_2 \\
\Leftrightarrow n &= \left(1 + \frac{W_r}{W_s}\right) n_2 \\
\Leftrightarrow n_2 &= \frac{1}{1 + \frac{W_r}{W_s}} \cdot n
\end{aligned} \tag{3.95}$$

Die Rate, mit der eine Zelle im Zustand der Ausdehnung in die benachbarte Gitterzelle migriert, ist $0,5W_r$. Die zu erwartende Migrationsgeschwindigkeit im zweidimensionalen Fall ist daher:

$$V_{\text{mig}} = \frac{0,5W_r}{1 + \left(\frac{W_r}{W_s}\right)} \cdot \frac{\sqrt{3}d_{\text{cell}}}{2\Delta t_{\text{cbm}}} \tag{3.96}$$

Im dreidimensionalen Fall entspricht dies:

$$V_{\text{mig}} = \frac{0,5W_r}{1 + \left(\frac{W_r}{W_s}\right)} \cdot \frac{\bar{d}_{\text{mig}}d_{\text{cell}}}{\Delta t_{\text{cbm}}} \tag{3.97}$$

Es werden keine zeitlichen wie räumlichen Größeneinheiten vorgegeben, da diese von der Anwendung des BM in einem konkreten biologischen Zusammenhang abhängen und frei gewählt werden können.

Zell-Zell-Verbindungen

Die Zellen eines Gewebes bilden Zell-Zell-Verbindungen (ZZV) wie bspw. Cadherine oder Integrine aus, um dem Gewebe als solchem mechanische Stabilität zu verleihen und um die Kommunikation der Zellen untereinander zu ermöglichen. Die aus den ZZV resultierende Zelladhäsion verhindert die freie Bewegung von Zellen. Bei jeder Membranfluktuation bspw. aufgrund der Reorganisation des Zytoskeletts werden solche adhäsiven Verbindungen aufgehoben bzw. neu ausgebildet. Aktive Migration einer Zelle kann die Ursache für die Reorganisation des Zytoskeletts sein. Um nun Zelladhäsion und die hierdurch limitierte Fähigkeit einer Zelle, sich frei zu bewegen, in einem Modell abzubilden, haben

Beysens et al. in Bezug auf die freie Zellbewegung eine Referenzenergie in Analogie zur thermischen Energie $k_B T$ bspw. in Flüssigkeiten eingeführt und ermittelt (Beysens et al. 2000). Hierbei entspricht k_B der Boltzmann-Konstante und T der absoluten Temperatur. Diese von Drasdo et al. mit F_T bezeichnete Referenzenergie (Drasdo und Höhme 2005) liegt bei embryonalen Zellen im Bereich von $2-8 \times 10^{-15}$ J (Beysens et al. 2000). Sie (F_T) kann als Fähigkeit einer Zelle, die Zelladhäsion zu überwinden, um sich frei zu bewegen, interpretiert werden (Drasdo und Höhme 2005). Die Zelladhäsion wird in diesem Kontext als Wechselwirkungsenergie zwischen Zellen (engl. *cell-cell interaction energy*) repräsentiert. Fong et al. bezeichnen diese mit $\varepsilon_{\text{cell-cell}}$ und setzen diese ins Verhältnis zur Referenzenergie ($\varepsilon_{\text{cell-cell}}/F_T$), um ein Maß für die Stärke der Zelladhäsion zu erhalten.

Die Zelladhäsion und somit die ZZV zu den benachbarten Zellen fließen im gitterbasierten Zellmodell in die Berechnung der Übergangsrates W_r vom Zustand der Ausdehnung in den Grundzustand ein. Bei ν Nachbarzellen, zu denen nach der Retraktion keine unmittelbare Nachbarschaft mehr bestünde und zu denen entsprechend die ZZV gelöst werden müssten, ist diese $W_r \cdot \exp(-\varepsilon_{\text{cell-cell}}/F_T)^\nu$. Alternativ wird angenommen, dass eine Zelle nicht zu allen ν betroffenen Nachbarzellen die ZZV löst. Ferner wird eine dieser ν Nachbarzellen, die sich jedoch im Grundzustand befinden muss, in die Gitterzelle gezogen, von der sich die Zelle zurückzieht. Die hiervon betroffene Nachbarzelle befindet sich danach im Zustand der Ausdehnung.

In diesem Fall entspricht die Übergangsrates $W_r \cdot \exp(-\varepsilon_{\text{cell-cell}}/F_T)^{\nu-1}$. Für die HKEZ mit relativ schwachen ZZV wurde $\varepsilon_{\text{cell-cell}}/F_T = 0,7$ empirisch ermittelt (Fong et al. 2010).

Im gitterbasierten BM, das aufbauend auf dem Modell von Fong et al. entwickelt wurde, können die ZZV optional berücksichtigt werden. Der BM Parameter $\hat{\varepsilon}_{\text{cell-cell}} = \varepsilon_{\text{cell-cell}}/F_T$ erlaubt die

$$\widetilde{W}_r(\nu, \eta, b) = \begin{cases} W_r \cdot \exp(-\hat{\varepsilon}_{\text{cell-cell}})^\nu & \text{für } b = 0 \vee \nu = 0 \vee \eta = 0 \\ W_r \cdot \exp(-\hat{\varepsilon}_{\text{cell-cell}})^{\nu-1} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.98)$$

Anpassung des Modells an verschiedene Zelladhäsionsstärken. Darüber hinaus kann über die SE die Berücksichtigung der ZZV komplett deaktiviert werden, damit auch der Mechanismus des Ziehens einer benachbarten Zelle auf die bei Retraction frei werdende Gitterzelle explizit deaktiviert ist. Fong et al. treffen keine Aussage, in welcher Verteilung das Ziehen von Nachbarzellen bzw. das Lösen der ZZV zu allen ν Nachbarzellen auftritt. Es wird daher davon ausgegangen, dass diese beiden Ereignisse die gleiche Wahrscheinlichkeit besitzen. Aus diesem Grund wird die diskrete Zufallsvariable B eingeführt. B ist Bernoulli-verteilt und es gilt für die beiden möglichen Ereignisse $P(B = 0) = P(B = 1) = \frac{1}{2}$. Eine Realisierung dieser Zufallsvariablen sei b . Die von den ZZV abhängige Übergangswahrscheinlichkeit ist $\widetilde{W}_r(\nu, \eta, b)$ wie in (3.98) definiert, wobei sich von den ν Nachbarzellen, zu denen die ZZV gelöst werden müssten, η Zellen im Grundzustand befinden.

Ortsbezogene Ausdehnungs- und Retraktionswahrscheinlichkeit

Im Weiteren wird davon ausgegangen, dass die beiden Ungleichungen in (3.89) erfüllt sind und die Übergangsraten W_s , W_r bzw. W_p , insbesondere mit Blick auf Gleichung (3.98), den Übergangswahrscheinlichkeiten \hat{W}_s , \hat{W}_r sowie \hat{W}_p entsprechen. Die ortsbezogene Wahrscheinlichkeit, dass eine Zelle im Grundzustand, lokalisiert in der Gitterzelle mit Mittelpunkt \mathbf{x}_c , sich auf eine der M freien benachbarten Gitterzellen mit Mittelpunkten \mathbf{x}_{n_i} ausdehnt, ist:

$$P_{\text{spread}}(\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_{n_i}) = \frac{\hat{W}_s}{M} \quad (3.99)$$

Da keinerlei Beeinflussung oder Präferenz bei der Auswahl einer benachbarten Gitterzelle gegeben ist, hat jede der M in Frage kommenden freien

Gitterzellen die gleiche Selektionswahrscheinlichkeit. Betrachtet man die Zellretraction, so gilt es in Bezug auf die zu lösenden ZZV die beiden Möglichkeiten Retraction in die ursprüngliche Gitterzelle (Position \mathbf{x}_c) sowie Migration in die benachbarte Gitterzelle (Position \mathbf{x}_n) zu unterscheiden. Grundsätzlich haben beide Gitterzellen die gleiche Selektionswahrscheinlichkeit von 0,5. Diese wird mit der auf der Grundlage der ZZV gewichteten Übergangswahrscheinlichkeit multipliziert. Für das Verlassen des Zustands der Ausdehnung und die Migration in die benachbarte Gitterzelle ergibt sich somit folgende Wahrscheinlichkeit:

$$P_{\text{retract}}(\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_n) = \frac{\widetilde{W}_r(\nu_{\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_n}, \eta_{\mathbf{x}_c}, b)}{2} \quad (3.100)$$

Hierbei ist $\nu_{\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_n}$ die Anzahl der Nachbarzellen, zu denen die ZZV im Fall von Zellmigration von Position \mathbf{x}_c nach Position \mathbf{x}_n gelöst werden müssten. Von diesen $\nu_{\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_n}$ Zellen befinden sich $\eta_{\mathbf{x}_c}$ im Grundzustand. Analog definiert ist die Wahrscheinlichkeit für das Verlassen des Zustands der Ausdehnung vermittels Retraction in die ursprüngliche Gitterzelle:

$$P_{\text{retract}}(\mathbf{x}_n \rightarrow \mathbf{x}_c) = \frac{\widetilde{W}_r(\nu_{\mathbf{x}_n \rightarrow \mathbf{x}_c}, \eta_{\mathbf{x}_n}, b)}{2} \quad (3.101)$$

Chemotaktische Beeinflussung der Zellmigration

Betrachtet man eine einzelne Zelle bzw. eine Zelle ohne ZZV, dann wird sich diese Zelle in einer Simulation des gitterbasierten BM, gekoppelt an ein entsprechendes stochastisches CBM, zufällig und ungerichtet bewegen. Diese Zellbewegung genügt den Bedingungen eines *Random Walk* (Codling et al. 2008), bei dem die neue Position einer Zelle lediglich von der aktuellen Position abhängt und keine bevorzugte Migrationsrichtung existiert. Diese Art der ungerichteten

zufälligen Zellbewegung für vereinzelte Zellen kann experimentell nachgewiesen werden (bspw. Mombach und Glazier 1996; Miller et al. 2003) und hat daher einen unmittelbaren Realitätsbezug. Die ZZV geben zwar keine bevorzugte Ausdehnungs-, jedoch eine bevorzugte Retraktionsrichtung vor. In diesem Fall spricht man von einem *Biased Random Walk* (BRW). Einem BRW entspricht auch die gerichtete Bewegung einer Zelle (bspw. eines Lymphozyten) in einem Stoffkonzentrationsgradienten (Alt 1980). Die Berücksichtigung von Chemotaxis im gitterbasierten BM wird durch die in Abschn. 4.1.2 eingeführten DF ermöglicht. Ein DF ist Bestandteil der Modellparameterdefinition eines CBM (s. Abschn. 3.2.1). Über das CBM kann die BM-Instanz einer Zelle an ein DF gekoppelt werden. Dem BMP *chemotacticField* wird hierzu der Name des entsprechenden DF zugewiesen. Dies ermöglicht eine individuelle Kopplung an ein (individuelles) DF für jede Zelle einer multizellulären Gewebesimulation. In Verbindung mit dem DF, an das die BM-Instanz einer Zelle gekoppelt wurde, entspricht $\bar{C}(\mathbf{x}, t)$ der durchschnittlichen Konzentration eines Stoffs bezogen auf die Zellfläche oder das Zellvolumen. Das räumliche Zellobjekt, das diese Fläche bzw. dieses Volumen einnimmt, befindet sich dementsprechend im SiSt t an der Position \mathbf{x} . Das gitterbasierte BM greift bei der Ermittlung von $\bar{C}(\mathbf{x}, t)$ auf die Schnittflächen- bzw. Schnittvolumenberechnung ($O_{\text{lat-cell}}$) der DF-Basismodelle der SE zurück (Abschn. 4.1.2). Die durchschnittliche Konzentration für ein räumliches Zellobjekt mit Ortsvektor $\mathbf{r}_c(t) = \mathbf{x}$ ist definiert als

$$\bar{C}(\mathbf{x}, t) = \frac{\text{sum}(\mathbf{C}_{\text{cell}}(t))}{N} \quad (3.102)$$

Die Definition von $\text{sum}(\mathbf{x})$ entspricht der aus (3.34). Vektor $\mathbf{C}_{\text{cell}}(t)$ mit N Vektorkomponenten entspricht dem Vektor aus (3.32).

Im Falle eines Zustandsübergangs einer Zelle vom Grundzustand in den Zustand der Ausdehnung wird für jede der M freien benachbarten

Gitterzellen mit Mittelpunkten \mathbf{x}_{n_i} ($i = 1 \dots M$) auf der Grundlage des angekoppelten DF ein stoffkonzentrationsabhängiges Gewicht $\omega_s(\mathbf{x}_{n_i}, t)$ berechnet. Benachbarte Gitterzellen, die, verglichen mit der durchschnittlichen Stoffkonzentration $\bar{C}(\mathbf{x}_c, t)$ an der gegenwärtigen Zellposition, eine höhere durchschnittliche Stoffkonzentration $\bar{C}(\mathbf{x}_{n_i}, t)$ aufweisen, erhalten ein höheres Gewicht. Die Differenz der beiden durchschnittlichen Stoffkonzentrationen wird ins Verhältnis zur effektiven maximalen Stoffkonzentration $C_{\text{max-eff}}(t)$ des DF gesetzt:

$$C_{\text{max-eff}}(t) = \begin{cases} \max_i C(\mathbf{i}, t) & \text{für } C_{\text{max}} = \infty \\ C_{\text{max}} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.103)$$

Für ein DF kann optional eine maximal mögliche Stoffkonzentration C_{max} als Sättigungsgrenze definiert werden. Wenn C_{max} nicht explizit definiert wird, gilt $C_{\text{max}} = \infty$. In diesem Fall ist die effektive maximale Stoffkonzentration die höchste einer Gitterzelle i des extrazellulären Raums zugewiesene Stoffkonzentration. Somit entspricht $C_{\text{max-eff}}(t)$ im SiSt t der höchsten im DF vorkommenden Stoffkonzentration, sofern C_{max} nicht explizit definiert wurde, und andernfalls der maximal möglichen Stoffkonzentration. Der Einfluss des Stoffkonzentrationsgradienten auf das Gewicht $\omega_s(\mathbf{x}_{n_i}, t)$ und damit auf die Ausdehnungsrichtung der Zelle kann über den Parameter λ_{chem} skaliert werden. Die stoffkonzentrationsabhängige Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Zelle an der Position \mathbf{x}_c in die benachbarte Gitterzelle i mit Mittelpunkt \mathbf{x}_{n_i} ausdehnt, ist schließlich

$$P_{\text{spread}}(\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_{n_i}) = \hat{W}_s * \frac{\omega_s(\mathbf{x}_{n_i}, t)}{\sum_{j=1}^M \omega_s(\mathbf{x}_{n_j}, t)} \quad (3.104)$$

Befindet sich eine Zelle im Zustand der Ausdehnung, dann kann sie sich im Falle der Retraktion und des damit verbundenen Übergangs in den Grundzustand entweder in die ursprüngliche Gitterzelle mit Mittelpunkt \mathbf{x}_c oder in die benachbarte Gitterzelle mit Mittelpunkt \mathbf{x}_n zurück-

$$\omega_s(\mathbf{x}_{n_i}, t) = \begin{cases} \frac{1}{M} + \frac{\lambda_{\text{chem}} (\bar{C}(\mathbf{x}_{n_i}, t) - \bar{C}(\mathbf{x}_c, t))}{C_{\text{max-eff}}(t)} & \text{für } \lambda_{\text{chem}} (\bar{C}(\mathbf{x}_{n_i}, t) - \bar{C}(\mathbf{x}_c, t)) > 0 \\ \frac{1}{M} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.106)$$

$$\omega_r(\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, t) = \begin{cases} \frac{1}{2} + \frac{\lambda_{\text{chem}} (\bar{C}(\mathbf{x}_1, t) - \bar{C}(\mathbf{x}_2, t))}{C_{\text{max-eff}}(t)} & \text{für } \lambda_{\text{chem}} (\bar{C}(\mathbf{x}_1, t) - \bar{C}(\mathbf{x}_2, t)) > 0 \\ \frac{1}{2} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.107)$$

ziehen. Auch die beiden möglichen Retraktionsrichtungen werden analog zu den Ausdehnungsrichtungen bei chemotaktischer Beeinflussung der Zellmigrationsrichtung mit entsprechenden stoffkonzentrationsabhängigen Gewichten versehen. Die Retraktion an die ursprüngliche Zellposition erhält das Gewicht $\omega_r(\mathbf{x}_c, \mathbf{x}_n, t)$ und die Migration in die benachbarte Gitterzelle entsprechend das Gewicht $\omega_r(\mathbf{x}_n, \mathbf{x}_c, t)$. Der Einfluss des Stoffkonzentrationsgradienten auf die Gewichte der Retraktionsrichtungen lässt sich ebenfalls über den Parameter λ_{chem} skalieren (Gleichung (3.107)). Der Parameter λ_{chem} in den Gleichungen (3.106) und (3.107) ist äquivalent. Die gerichtete Zellbewegung im Stoffkonzentrationsgradienten (Chemotaxis), bestehend aus stoffkonzentrationsabhängiger Zellausdehnung und -retraktion, wird als Einheit betrachtet. Aus diesem Grund wird nur ein BMP Wert für λ_{chem} definiert. Betrachtet man nun die stoffkonzentrationsabhängige Wahrscheinlichkeit für die Zellretraktion, so ist diese allgemein für den Übergang von Gitterzelle \mathbf{x}_i zu Gitterzelle \mathbf{x}_j :

$$P_{\text{retract}}(\mathbf{x}_i \rightarrow \mathbf{x}_j) = \widetilde{W}_r(\nu_{\mathbf{x}_i \rightarrow \mathbf{x}_j}, \eta_{\mathbf{x}_i}, b) * \frac{\omega_r(\mathbf{x}_j, \mathbf{x}_i, t)}{\omega_r(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j, t) + \omega_r(\mathbf{x}_j, \mathbf{x}_i, t)} \quad (3.105)$$

Nach Gleichung (3.105) entspricht damit die stoffkonzentrationsabhängige Wahrscheinlichkeit für die Zellretraktion in die ursprüngliche Gitterzelle $P_{\text{retract}}(\mathbf{x}_n \rightarrow \mathbf{x}_c)$ und für die Migration in die benachbarte Gitterzelle $P_{\text{retract}}(\mathbf{x}_c \rightarrow \mathbf{x}_n)$.

Ist nun die Instanz des gitterbasierten BM einer Zelle an ein DF gekoppelt, dann entspricht die Zellbewegung unabhängig von der möglichen zusätzlichen Beeinflussung der Retraktionsrichtung durch die ZZV einem BRW, sofern innerhalb des DF ein Stoffkonzentrationsgradient existiert. Jedoch ist ein solcher Gradient in der Regel das Ergebnis von Stoffsekretion in das DF bzw. Stoffabsorption aus dem DF durch die Zellen einer multizellulären Gewebesimulation. Dies geschieht auf der Basis der in Abschn. 4.1.2 vorgestellten Modelle für diese zellulären Prozesse. Somit erzeugen die Zellen selbst innerhalb eines DF einen Stoffkonzentrationsgradienten, was sie in die Lage versetzt die Bewegungsrichtung anderer Zellen oder potentiell auch die eigene Bewegungsrichtung zu beeinflussen. Aus diesem Grund entspricht die Zellbewegung nicht einfach einem BRW, sondern einem *Reinforced Random Walk*, bei dem die Zelle die ihre Bewegung beeinflussende Umgebung selbst verändern kann (Codling et al. 2008; Davis 1990).

Bisher wurde nur der Fall *positiver Chemotaxis* betrachtet, bei dem die Zellbewegung hin zu einer höheren Stoffkonzentration gerichtet ist. In diesem Fall entspricht der Stoff des DF einem Attractant wie bspw. das Formylpeptid f-Met-Leu-Phe (fMLP) bei Neutrophilen (Ku et al. 2012). Mit dem entwickelten stochastischen gitterbasierten BM lässt sich jedoch auch auf einfachem Wege *negative Chemotaxis* berücksichtigen. Bei negativer Chemotaxis entspricht der Stoff des DF einem Repellent, der zu einer Zellbewegung hin zu einer niedrigeren Stoffkonzentration führt.

Ein Beispiel hierfür sind Neutrophile, die von einer hohen Interleukin-8 (IL-8)-Konzentration hin zu einer niedrigeren migrieren (Tharp et al. 2006). Den Ausschlag zwischen positiver und negativer Chemotaxis gibt der BMP λ_{chem} , für den positive Werte ($\lambda_{\text{chem}} > 0$) für positive Chemotaxis und negative Werte für negative Chemotaxis ($\lambda_{\text{chem}} < 0$) zu ermitteln bzw. zu definieren sind.

Randbedingungen multizellulärer Raum

Der multizelluläre Raum des gitterbasierten BM ist in seiner Ausdehnung begrenzt oder durch PRB quasi unendlich. Eine dieser beiden Möglichkeiten kann in der SE gewählt werden. Werden PRB angenommen, so gelten diese in alle Richtungen des zwei- bzw. dreidimensionalen Gitters, das dem MZR zugrunde liegt. Das Gitter besteht aus einer frei wählbaren Anzahl von Spalten I_{col} , Reihen I_{row} und im dreidimensionalen Fall Ebenen I_{lay} . Ferner ist der Zelldurchmesser d_{cell} in Mikrometer festzulegen. Jede Gitterzelle wird mit einem Vektor \mathbf{i} eindeutig indiziert (Abbildung 4.6 [A], links). Aus diesem Indexvektor \mathbf{i} lässt sich der Mittelpunkt \mathbf{x} einer Gitterzelle berechnen. Der zweidimensionalen Variante des BM liegt ein hexagonales Gitter als MZR zugrunde. Der Zelldurchmesser d_{cell} entspricht dem Durchmesser des Umkreises einer hexagonalen Gitterzelle. Somit ist der Mittelpunkt einer Gitterzelle:

$$\mathbf{x}(\mathbf{i}) = \begin{cases} \begin{pmatrix} d_{\text{cell}}(0,5 + 0,75i_{\text{col}}) \\ \frac{\sqrt{3}d_{\text{cell}}}{4}(1 + 2i_{\text{row}}) \end{pmatrix} & \text{für } \lfloor \frac{i_{\text{row}}}{2} \rfloor = \frac{i_{\text{row}}}{2} \\ \begin{pmatrix} d_{\text{cell}}(0,5 + 0,75i_{\text{col}}) \\ \frac{\sqrt{3}d_{\text{cell}}}{2}(1 + i_{\text{row}}) \end{pmatrix} & \text{sonst} \end{cases} \quad \text{mit } \mathbf{i} = \begin{pmatrix} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} \end{pmatrix} \quad (3.108)$$

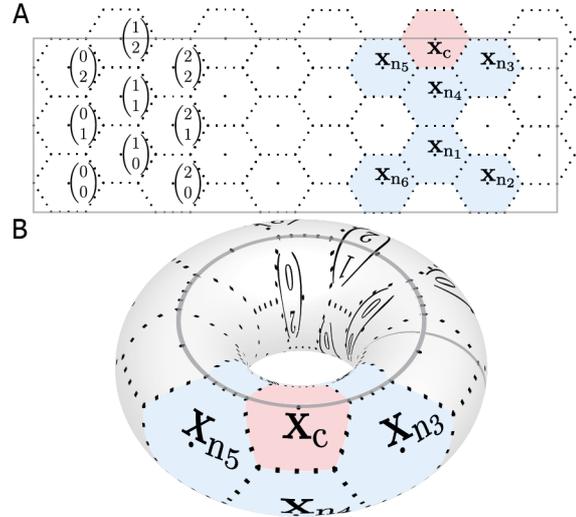


Abbildung 4.6: Zweidimensionaler gitterbasierter Raum mit periodischen Randbedingungen. (A) Die Gitterzellen werden mit einem Vektor \mathbf{i} eindeutig indiziert (links). Sind für den multizellulären Raum PRB definiert, bilden bspw. die blauen Gitterzellen die Nachbarschaft der roten Gitterzelle. (B) Topologisch betrachtet entspricht der zweidimensionale multizelluläre Raum mit PRB der Oberfläche eines Torus.

Die Breite w und die Höhe h des beschränkten MZR ohne PRB ist (Abbildung 4.6 [A], grauer Kasten):

$$w = \frac{d_{\text{cell}}}{2} \lceil 1,5 I_{\text{col}} \rceil \quad \text{bzw.} \quad h = \frac{\sqrt{3}d_{\text{cell}}}{2} I_{\text{row}} \quad (3.109)$$

Wenn für den zweidimensionalen multizellulären Raum PRB definiert sind, dann entspricht der Raum topologisch betrachtet der Oberfläche eines Torus (Abbildung 4.6 [B]).

Dem dreidimensionalen MZR liegt ein kartesisches Gitter mit Kantenlänge d_{cell} zugrunde. In diesem Fall ist der Mittelpunkt einer Gitterzelle

$$\mathbf{x}(\mathbf{i}) = \begin{pmatrix} d_{\text{cell}}(i_{\text{col}} + 0,5) \\ d_{\text{cell}}(i_{\text{row}} + 0,5) \\ d_{\text{cell}}(i_{\text{lay}} + 0,5) \end{pmatrix} \quad \text{mit } \mathbf{i} = \begin{pmatrix} i_{\text{col}} \\ i_{\text{row}} \\ i_{\text{lay}} \end{pmatrix} \quad (3.110)$$

Die Breite w , die Höhe h und die Tiefe l des beschränkten MZR ohne PRB ist entsprechend

$$w = d_{\text{cell}}I_{\text{col}}, \quad h = d_{\text{cell}}I_{\text{row}} \text{ u. } l = d_{\text{cell}}I_{\text{lay}} \quad (3.111)$$

Sind für den MZR des gitterbasierten BM periodische Randbedingungen definiert, dann gilt für die Komponenten des Indexvektors \mathbf{i} einer Gitterzelle $i_{\text{col}} = i_{\text{col}} + I_{\text{col}}$ bzw. $i_{\text{row}} = i_{\text{row}} + I_{\text{row}}$. In der dreidimensionalen Variante des BM gilt zusätzlich $i_{\text{lay}} = i_{\text{lay}} + I_{\text{lay}}$.

4.3 Modell der humanen epidermalen Homöostase

Das in diesem Abschnitt vorgestellte *in silico* Modell der humanen epidermalen Homöostase entspricht dem ersten realisierten Anwendungsfall des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS. Übergeordnetes Ziel dieses Anwendungsfalls ist die exakte Reproduktion des von Grabe et al. veröffentlichten *in silico* Modells der humanen Epidermis (Grabe und Neuber 2005) mittels des CMS, dessen Erweiterung auf eine dreidimensionale Gewebesimulation und eine eingehende Charakterisierung des Modells. Dieser Anwendungsfall besteht aus einem grafischen Zellverhaltensmodell für Keratinozyten, das auf Seiten der Biomechanik auf das gitterfreie biomechanische Zell-Zentrumsmodell (Abschn. 4.2.1) zurückgreift. Grafisches CBM und BM bilden in ihrer semantischen Verknüpfung das Gewebemodell⁹⁹ der humanen Epidermis. Die Ergebnisse der Gewebesimulationen auf der Grundlage dieses Modells sind Gegenstand von Abschnitt 5.1.

Im Detail sollen anhand dieses Anwendungsfalls die Eignung und die Möglichkeiten des entwickelten CMS mit Blick auf folgende Sachverhalte demonstriert werden:

1. Grafische Modellierung komplexen Zellverhaltens mittels der entwickelten Modellierungssprache
2. Realisierung multiskalierter grafischer Zellverhaltensmodelle mit dem GMS
3. Erstellung modularer, wiederverwendbarer Modellentitäten durch die Trennung von CBM und BM am Beispiel der dynamischen semantischen Kopplung von Keratinozyten-CBM an verschiedene biomechanische Modelle¹⁰⁰

Die oberste Modellhierarchieebene des grafischen Keratinozyten-Zellverhaltensmodells ist das Top-Level-Modell, das in Abbildung 4.7 dargestellt ist. Dieses bildet den Einstiegspunkt bei jedem Simulationsschritt der multiagentenbasierten Gewebesimulation. Von hier aus wird auf die erstellten Submodelle verzweigt. In diesem konkreten Top-Level-Modell wird für Zellen des einzigen in dem Modell vorkommenden Zelltyps (*CT_Keratinocyte*) zunächst das eigentliche Zellverhaltensmodell und anschließend das Modell, das einer konkreten Zelle je nach Farbmodus eine Farbe für die Zellvisualisierung zuweist, aufgerufen.

Alle in den Zellverhaltensmodellen (Abschn. 4.3.1–4.3.3) verwendeten globalen, lokalen und biomechanischen Modellparameter sind in den Tabellen E.1–E.3 im Anhang E aufgeführt. Allen Modellparametern liegt die Annahme zugrunde, dass ein Simulationsschritt einer atomaren Realzeit Δt_{cbm} von 0,5 h entspricht.

⁹⁹ Näheres zur modularen multiskalierten Gewebemodellarchitektur des CMS siehe Abschn. 3.1.2.

¹⁰⁰ Zur Anwendung kommen in diesem Zusammenhang das zwei- wie dreidimensionale gitterfreie biomechanische Zell-Zentrumsmodell (Abschn. 4.2.1).

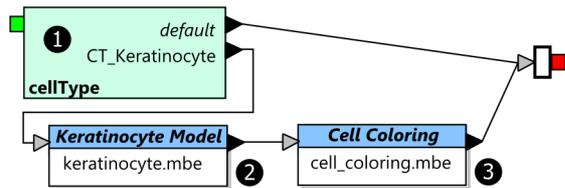


Abbildung 4.7: Top-Level-Modell des Keratinozyten-Zellverhaltensmodells. Das grafische Zellverhaltensmodell bildet exklusiv Keratinozyten ab (1). Im Top-Level-Modell werden für Zellen dieses Typs zunächst das eigentliche Zellverhaltensmodell (2) und anschließend das Zelleinfärbungsmodell (3) aufgerufen.

4.3.1 Zellverhaltensmodell Keratinozyt

Von den vier wesentlichen Schichten der humanen Epidermis (s. Abschn. 2.1.4) sind das *Stratum basale*, das *Stratum spinosum* und das *Stratum granulosum* im Modell abgebildet. Somit beschränkt sich dieses auf die vitale Epidermis. Das CMS setzt die Zuweisung eines Zelltyps und Differenzierungsgrads an jede Zelle einer Gewebesimulation voraus (s. Abschn. 3.2.1). Diese beiden Zelleigenschaften ermöglichen die Unterscheidung der Zellen innerhalb des Modells. Daher entspricht der Differenzierungsgrad eher einer möglichen Ausprägung eines konkreten Zelltyps als der Zelldifferenzierung im biologischen Sinn. Dem einzigen Zelltyp des Modells (*CT_Keratinocyte*) sind die folgenden Differenzierungsgrade zugeordnet:

- *Stammzelle*: Eine feste Zahl immortaler Stammzellen (*DL_StemCell*) wird zu Beginn der Simulation fix auf der Basalmembran platziert. Stammzellen befinden sich vorwiegend im unteren Teil der Reteleisten (Webb et al. 2004). Aus diesem Grund sind die möglichen Positionen einer Stammzelle auf

der Basalmembran durch eine minimale Tiefe innerhalb einer Reteleiste begrenzt.¹⁰¹

- *Transit-Amplifying (TA)-Zelle*: Neben den Stammzellen besteht die proliferative Zellpopulation der (*in silico*) Epidermis aus TA-Zellen (*DL_TaCell*). Die Entstehung und die Zellteilung von TA-Zellen im Modell sind in Abschn. 4.3.2 beschrieben.
- *Spinosum-Zelle*: Im Modell werden frühe (*DL_EarlySpiCell*) und späte Spinosum-Zellen (*DL_LateSpiCell*) unterschieden (Fuchs und Byrne 1994).
- *Granulosum-Zelle*: Die obersten Zellschichten der *in silico* Epidermis werden im Modell von den Granulosum-Zellen (*DL_GranuCell*) gebildet.

Abbildung 4.8 zeigt das grafische CBM eines Keratinozyten, das mit dem GMS erstellt worden ist. Innerhalb des CBM wird auf drei Submodelle verwiesen:

1. Zellzyklus (*Cell Cycle*)
2. Diffusion und transepidermaler Wasserfluss (*Diff. Waterflux*)
3. Zelldifferenzierung (*Differentiation*)

Die in diesem Kontext als Submodell zur Verfügung stehenden und dynamisch austauschbaren Zellzyklusmodelle sind Gegenstand von Abschn. 4.3.2. Das (multiskalierte) Zelldifferenzierungsmodell wird im darauf folgenden Abschn. 4.3.3 besprochen.

Alle Zellen durchlaufen zunächst das Zellzyklusmodell und haben bis auf die Stammzellen, die im Modell immortal sind, ein maximales Alter von 1000 h (*age_max*).

¹⁰¹ Als Standardwert sind mindestens 2% Differenz zur maximal möglichen Höhe auf der Basalmembran vorgegeben.

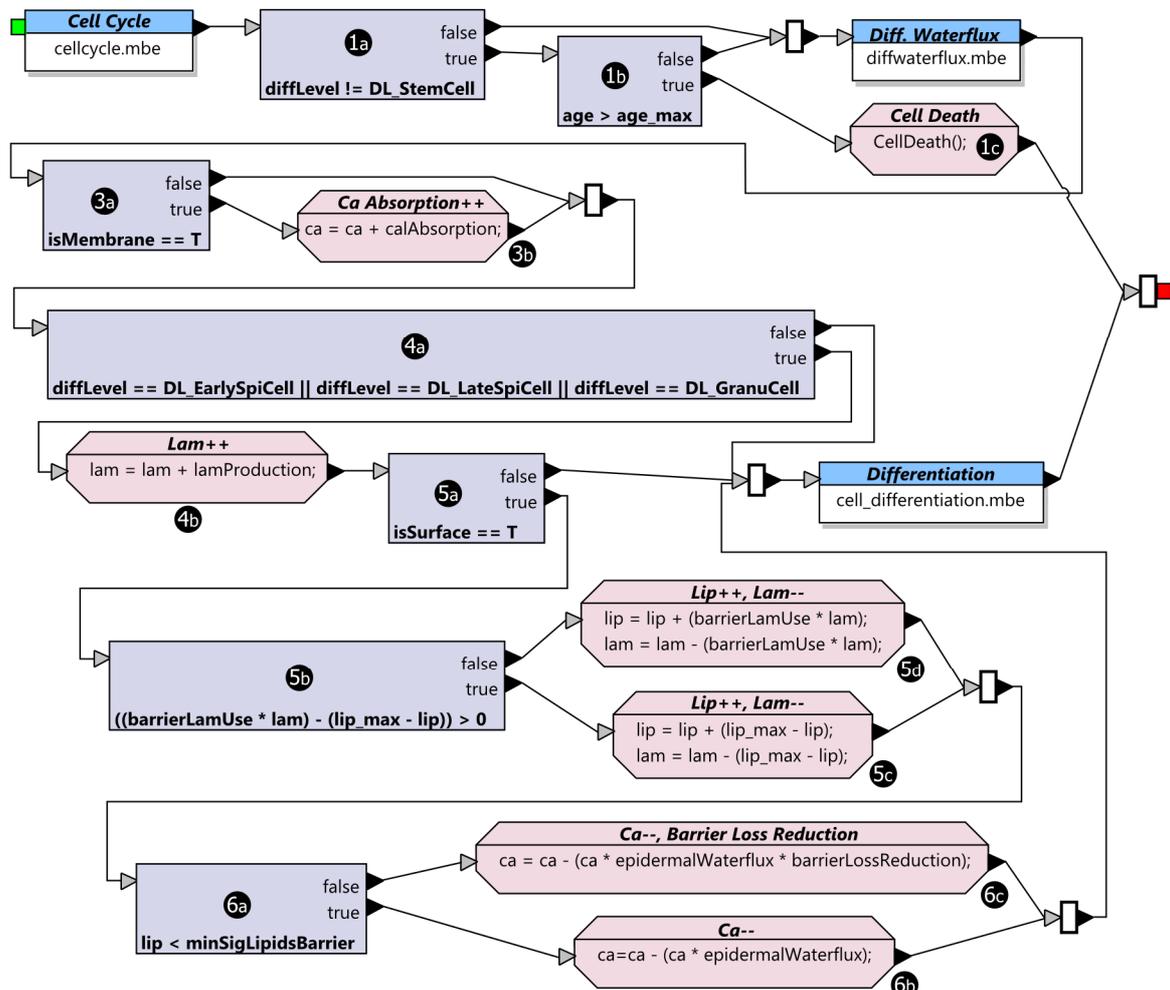


Abbildung 4.8: Grafisches Zellverhaltensmodell eines Keratinozyten der humanen *in silico* Epidermis. Nach dem Durchlaufen des Zellzyklusmodells wird für alle Zellen außer den immortalen Stammzellen (1a) geprüft, ob das maximale Zellalter erreicht worden ist (1b). Ist dies der Fall, wird für diese Zelle der Zelltod eingeleitet, der ein Entfernen dieser Zelle aus der Gewebesimulation zur Folge hat. Ist das maximale Zellalter nicht erreicht, wird das Submodell betreten, das Diffusion und transepidermalen Wasserfluss abbildet. Zellen, die im Kontakt mit der Basalmembran sind (3a), und somit zu den basalen Zellen zählen, nehmen Ca^{2+} -Ionen auf (3b). Hier wird die Dermis als infinite Quelle von Ca^{2+} -Ionen angenommen. Spinosum-Zellen und Granulosum-Zellen (4a) produzieren Lamellarkörper mit konstanter Rate (4b). Alle Oberflächenzellen, also jene, die in einem konkreten Simulationsschritt während der Gewebesimulation die äußerste Zellschicht bilden (5a), wandeln Lamellarkörper in Lipide um. Dies geschieht entweder prozentual (5b,d) oder durch Addition bzw. Subtraktion der Differenz von maximaler und vorhandener Lipidmenge (5b,c). Die epidermale Barriere wird im Modell durch Lipide repräsentiert. Wenn diese noch nicht ausreichend ausgebildet ist (6a), verlieren Oberflächenzellen proportional zum transepidermalen Wasserfluss Ca^{2+} -Ionen (6b). Bei ausreichend intakter Barriere wird der Ca^{2+} -Ionen Verlust um den den Lipiden zugewiesenen Barriere-Faktor vermindert (6c). Schließlich durchlaufen alle Zellen das Zelldifferenzierungs-Submodell.

Dieser Wert liegt im Rahmen von experimentell ermittelten Werten für die Erneuerungszeit (engl. turnover time) der Epidermis (Halprin 1972; Hoath und Leahy 2003).

Die Einführung eines maximalen Zellalters ist der Tatsache geschuldet, dass die Verhornung und Desquamation von lebenden Keratinozyten nicht Bestandteil des Modells sind. Letzterer Prozess wird durch die Einleitung des Zelltods beim Erreichen des maximalen Zellalters abgebildet (Abbildung 4.8 [1a–c]).

Die gesunde humane Epidermis weist einen charakteristischen Ca^{2+} -Ionen-Gradienten mit relativ niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen im *Stratum basale* und *Stratum spinosum* sowie einer vergleichsweise hohen Konzentration im *Stratum granulosum* auf (s. Abschn. 2.1.4). Ca^{2+} ist ein wichtiger regulatorischer Faktor im Zusammenhang mit der Differenzierung von Keratinozyten und dem Aufbau der epidermalen Barriere (Fuchs 1990a; Elias et al. 2002b; Celli et al. 2010). Im Modell wird nicht explizit zwischen intra- und extrazellulärem Ca^{2+} unterschieden. Da sich der Großteil der Ca^{2+} -Ionen in Zellorganellen wie dem Golgi-Apparat oder dem endoplasmatischen Retikulum befindet (Celli et al. 2010), wird auf dieser Modellabstraktionsebene von rein intrazellulärem Ca^{2+} ausgegangen. Ferner wird die Dermis, die ebenfalls im Modell nicht explizit repräsentiert wird, als infinite Ca^{2+} -Quelle angenommen, da in der Dermis eine gleichverteilte hohe Ca^{2+} -Konzentration vorherrscht (Celli et al. 2010). Auf der Grundlage dieser Annahme nehmen basale Zellen mit der konstanten Rate *calAbsorption* Ca^{2+} -Ionen auf (Abbildung 4.8 [3a,b]). Der weitere Ca^{2+} -Transport bzw. Austausch zwischen den Zellen ist Bestandteil des Submodells *Diff. Waterflux*.

Spinosum- und Granulosum-Zellen produzieren Lamellarkörper (Abbildung 4.8 [4a,b]), die u.a. verschiedene Lipid-Vorläufer enthalten (Odland und Holbrook 1981; Candi et al. 2005; Nishifuji und Yoon 2013). Nach dem Brick-and-

Mortar-Modell (z. dt. Ziegelstein-und-Mörtel-Modell) (Elias 1983, 2004) setzt sich die epidermale Barriere aus den Lipiden der Lamellarkörper als Mörtel und den Kerneozyten als Ziegelsteinen zusammen. Daher wandeln Zellen, die sich in einem konkreten SiSt der Gewebesimulation in der obersten Zellschicht befinden, Lamellarkörper in Lipide um, was der Freisetzung der Lipide in den Extrazellularraum des *Stratum granulosum* durch Exozytose entspricht (Abbildung 4.8 [5a–d]).

Solange die durch die Lipide repräsentierte epidermale Barriere sich noch nicht ausreichend ausgebildet hat (Grenzwert *minSigLipidsBarrier*), gehen an der Oberfläche der *in silico* Epidermis, d.h. bei den Zellen der obersten Zellschicht, Ca^{2+} -Ionen proportional zum transepidermalen Wasserfluss verloren. Bei intakter Barriere wird dieser Ca^{2+} -Verlust um den Barriere-Faktor *barrierLossReduction* vermindert. Der Verlust von Ca^{2+} -Ionen im Modell entspricht qualitativ dem starken Abfall der Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum corneum* (Voegeli und Rawlings 2012).

Diffusion und transepidermaler Wasserfluss

Die durch den transepidermalen Wasserfluss getriebene Advektion von Ca^{2+} -Ionen gilt in der Literatur, abgesehen von der Ca^{2+} -Diffusion, als wesentlicher Ca^{2+} -Transportmechanismus, der die Entstehung und Aufrechterhaltung des für die Epidermis charakteristischen Ca^{2+} -Gradienten ermöglicht (Menon et al. 1994; Ahn et al. 1999; Elias et al. 2002b). Die Abhängigkeit des Ca^{2+} -Gradienten vom gerichteten Ca^{2+} -Transport durch Advektion im Zusammenhang mit einer intakten epidermalen Barriere ist experimentell beobachtet worden. Das zielgerichtete Entfernen der Barriere führte zu einem erhöhten Wasserfluss und zu einem abrupten Abfall der Ca^{2+} -Konzentration im betroffenen Gewebeareal (Grubauer et al. 1989; Elias et al. 2002a).

Abbildung 4.9 zeigt die Umsetzung von Ca^{2+} -Diffusion und -Advektion mit den Mitteln der

grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache. An dieser Stelle kommt die Funktion *Receive* der Funktionsbibliothek des GMS (s. Abschn. 3.2.1) und das dahinterstehende Basismodell der Simulationsumgebung (s. Abschn. 4.1.1) zum Einsatz. Im ersten Schritt tauscht eine Zelle ungerichtet Ca^{2+} mit ihren Nachbarzellen aus, was die Diffusion von Ca^{2+} -Ionen abbildet (Abbildung 4.9 [2]). Die angenommene qualitative Diffusions- oder in diesem Fall besser Austauschkonstante *epidermalDiffusion* ist vergleichsweise niedrig gewählt, um der deutlich verlangsamten (anisotropen) Diffusion Rechnung zu tragen, die der Gewebe-Geometrie der Epidermis geschuldet ist (Le Bihan 1996). Im zweiten Schritt empfängt eine Zelle von den Nachbarzellen, die sich in einem konkreten Simulationsschritt in basaler Richtung befinden, Ca^{2+} -Ionen und Lamellarkörper proportional zum transepidermalen Wasserfluss (Abbildung 4.9 [3, 4]).

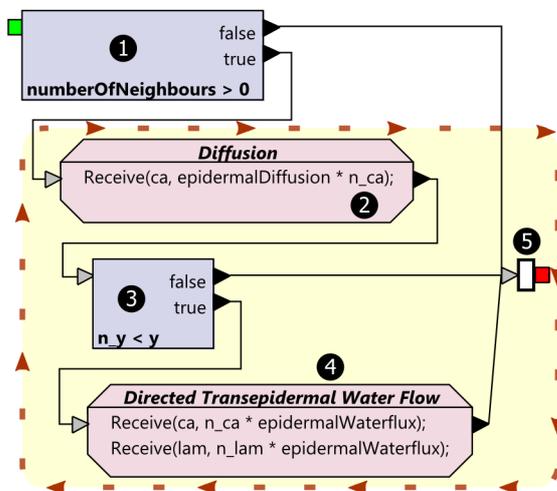


Abbildung 4.9: Submodell Diffusion und transepidermalen Wasserfluss. Zellen ohne Nachbarzellen durchlaufen dieses Modell unverändert (1, 5). Alle anderen empfangen von den Nachbarzellen Ca^{2+} (2). Dieser, bezogen auf die Position der Nachbarzellen, ungerichtete Transport bildet die Diffusion von Ca^{2+} -Ionen ab. Ferner findet in Bezug auf eine konkrete Zelle ein gerichteter Austausch von (3) Ca^{2+} -Ionen und Lamellarkörpern proportional zum epidermalen Wasserfluss statt (4).

Dieser ist durch die qualitative Größe *epidermalWaterflux* lediglich implizit im Modell enthalten. Dieses grafische CBM ist ein Beispiel für ein Modell, das die automatische Erzeugung einer Iteration über alle n Nachbarzellen in einem Simulationsschritt erfordert (Näheres s. Abschn. 3.2.1). Diese Iteration beginnt beim ersten Zugriff auf einen Zelleigenschaftswert einer benachbarten Zelle mit dem Präfix $n_$ (hier: n_{ca}) und beinhaltet alle nachfolgenden Modellelemente (Abbildung 4.9, gelb hinterlegter Bereich).

4.3.2 Zellzyklusmodelle

Im Rahmen dieser Arbeit sind verschiedene Modellrealisierungen des Keratinozyten-Zellzyklus entwickelt worden, um neben der reinen Reproduktion des Zellzyklusmodells von Grabe et al. (Grabe und Neuber 2005) das Potential des geschaffenen CMS, insbesondere des GMS, in folgender Hinsicht zu demonstrieren:

- Abbildung der Zellzyklusphasen mittels grafischer Prozessdiagramme (Sütterlin et al. 2009)
- Semantische Integration von SBML-basierten subzellulären Modellen in grafische CBMs (Sütterlin et al. 2013)
- Möglichkeit der manuellen Integration von diskreten und kontinuierlichen Modellen (Sütterlin et al. 2009)

Allen im Folgenden vorgestellten Zellzyklusmodellen ist gemein, dass sie von einer Zellzykluslänge von 60 h und damit 120 SiSt ausgehen (Dover und Potten 1983; Castelijn et al. 1998). In allen Zellzyklusmodellen wird von der traditionellen Annahme ausgegangen, dass sich die proliferative Zellpopulation der Epidermis aus Stammzellen und TA-Zellen zusammensetzt (Fuchs 1990a; Fuchs und Byrne 1994). Unabhängig vom Zellzyklusmodell wird Stammzellen zu Beginn der Gewebesimulation ein zufälliges

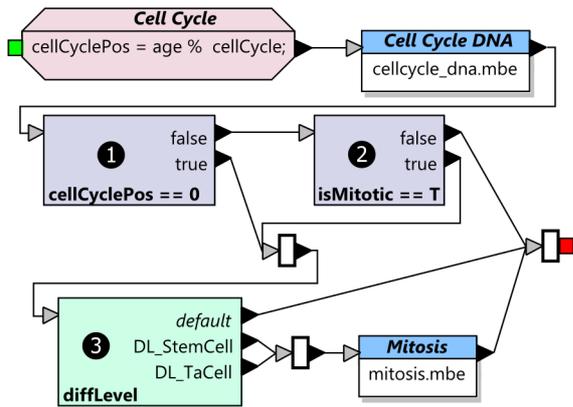


Abbildung 4.10: Sägezahnfunktion als Zellzyklusmodell. Wenn der Funktionswert der Sägezahnfunktion dem Wert 0 entspricht (1) oder im vorherigen SiSt die Zellteilung aufgeschoben worden ist (2), rufen Stammzellen und TA-Zellen (3) das Mitose-Submodell auf, das die Zellteilung abbildet.

Alter zu im Intervall einer Zellzykluslänge zugewiesen, um synchrone Zellteilung zu vermeiden.

Zellzyklus als Sägezahnfunktion

Bei Grabe et al. ist der Zellzyklus mit einer Sägezahnfunktion modelliert worden (Grabe und Neuber 2005; Tyson und Kauffman 1975), deren Wert ($cellCyclePos$) sich auf der Grundlage des Alters einer proliferierenden Zelle (age) und der Zellzykluslänge in SiSt ($cellCycle$) ergibt (Abbildung 4.10). Der Funktionswert $cellCyclePos$ entspricht bei der vorliegenden Parametrisierung alle 120 SiSt wieder dem Wert 0 (s. Abschn. 5.1.4), was bei Stammzellen und TA-Zellen die Zellteilung veranlasst, die ihrerseits im Submodell Modell *Mitosis* abgebildet ist. Stammzellen wird eine randomisierte Position innerhalb des Zellzyklus zugewiesen, um synchrone Zellteilung auszuschließen. Jede Zellzyklusmodellvariante

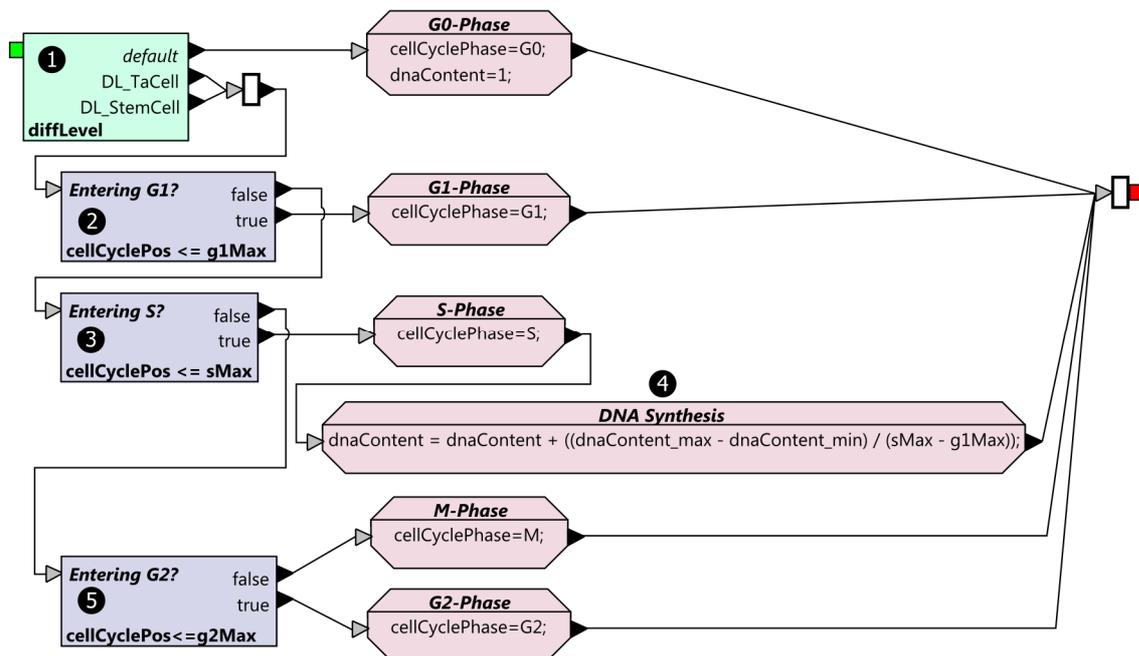


Abbildung 4.11: Submodell Zellzyklusphasen und DNA-Replikation. Stamm- und TA-Zellen (1) gehen in die jeweils nächste Zellzyklusphase über, wenn der Funktionswert $cellCyclePos$ der Sägezahnfunktion den jeweiligen Schwellenwert ($g1Max$, $sMax$, $g2Max$) erreicht. In der S-Phase verdoppelt sich der relative DNA-Gehalt einer Zelle linear über die gesamte Dauer der Zellzyklusphase (4).

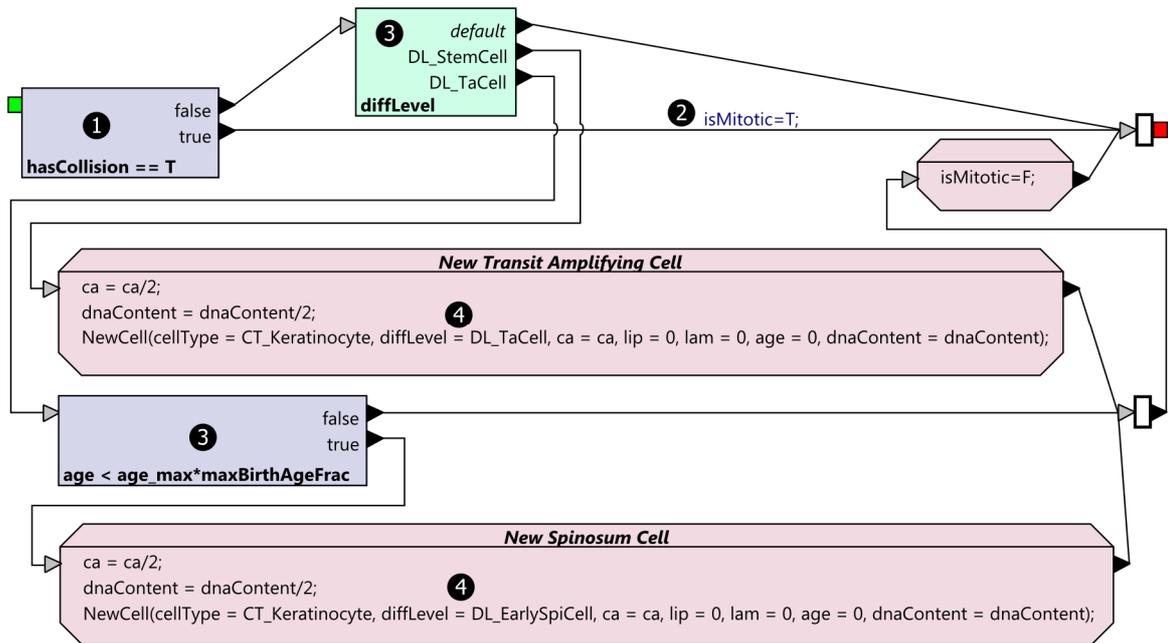


Abbildung 4.12: Submodell Mitose und Zellteilung. Im Falle hoher Zelldichten kann es zu signifikanten Kollisionen mit benachbarten Zellen kommen (1). Ist dies der Fall, wird die Zellteilung aufgeschoben und die Zelleigenschaft *isMitotic* auf T (*true*) gesetzt, was zum erneuten Aufruf des Submodells im folgenden SiSt führt. Stamm- wie TA-Zellen (3) teilen sich asymmetrisch in entweder eine Stamm- und TA-Zelle oder eine TA- und eine frühe Spinosum-Zelle (4). TA-Zellen haben ein begrenztes proliferatives Potential und teilen sich im Modell daher nur in den ersten 8% ihrer maximalen Lebenszeit (3). Bei der Zellteilung werden DNA und Ca^{2+} zu gleichen Teilen auf Mutter- und Tochterzelle verteilt.

liegt als separates Submodell vor und kann dynamisch in das Keratinozyten-CBM integriert bzw. gegen eine andere Variante ausgetauscht werden. Bei hoher Zelldichte in der unmittelbaren Zellumgebung wird die Zellteilung aufgeschoben (Zellzyklus-Arrest) und im darauf folgenden SiSt erneut das Mitose-Submodell aufgerufen. Dies wird durch die Zuweisung des Werts *T* (*true*) an die Zelleigenschaft *isMitotic* im Submodell *Mitosis* realisiert. Alle Zellen durchlaufen das Submodell *Cell Cycle DNA*, das den Zellzyklus in Zellzyklusphasen untergliedert und darauf aufbauend die Replikation der DNA abbildet.

Zellzyklusphasen und DNA-Replikation

Das Submodell *Cell Cycle DNA* (s. Abbildung 4.11) ist im Rahmen der ersten Veröffentlichung des CMS in das Zellzyklusmodell integriert worden, um zu illustrieren, wie der Zellzyklus poten-

tiell mit den Mitteln der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache in G1-, S-, G2- und M-Phase unterteilt werden kann (Sütterlin et al. 2009). Auf die Einführung der G1-, G2- und Metaphase-Kontrollpunkte ist in diesem Zusammenhang verzichtet worden. Alle nicht proliferierenden Zellen befinden sich in der G0-Phase und weisen einen relativen DNA-Gehalt (*dnaContent*) von eins auf. Stammzellen und TA-Zellen gehen in die jeweils nächste Zellzyklusphase über, wenn der Funktionswert der Sägezahnfunktion (*cellCyclePos*) den jeweiligen Schwellenwert (*g1Max*, *sMax*, *g2Max*) erreicht hat. Die Schwellenwerte sind so gewählt, dass sich folgende zeitliche Verteilung der 60 h eines kompletten Zellzyklus auf die einzelnen Phasen ergibt (Castelijns et al. 1998):

- G1-Phase – 35 h
- S-Phase – 10 h
- G2-Phase – 13,5 h
- M-Phase – 1,5 h

In der S-Phase findet die Replikation der DNA statt. Hier wird angenommen, dass sich der relative DNA-Gehalt linear über die komplette Dauer der S-Phase verdoppelt. Die aus diesem Modell resultierende Verteilung des relativen DNA-Gehalts pro Zelle, bezogen auf alle Zellen während der Gewebesimulation, ist Gegenstand von Abschn. 5.1.4.

Mitose und Zellteilung

Die Mitose und Zellteilung von Keratinozyten wird mit dem Submodell *Mitosis* abgebildet (Abbildung 4.12). Über den biomechanischen Parameter *hasCollision* besteht eine Rückkopplung zwischen den bereitgestellten gitterfreien biomechanischen Zellmodellen (Abschn. 4.2.1), die semantisch mit einem CBM verknüpft werden können, und dem Zellzyklusmodell. Im Fall einer hohen Zelldichte in der unmittelbaren Nachbarschaft einer Zelle und einer daraus resultierenden signifikanten Kollision mit einer Nachbarzelle werden Mitose und Zellteilung auf einen der folgenden SiSt verschoben. Die Zelle befindet sich dann im Zellzyklus-Arrest, was durch das entsprechende Setzen der Zelleigenschaft *isMitotic* dem jeweiligen Zellzyklusmodell signalisiert wird. Stamm- wie TA-Zellen teilen sich asymmetrisch in entweder eine Stamm- und TA- bzw. in eine TA- und eine Spinosum-Zelle. Vor der Zellteilung, die mit der Funktion *NewCell* der Funktionsbibliothek des GMS eingeleitet wird, werden Ca^{2+} und relativer DNA-Gehalt halbiert und der jeweils resultierende Wert der Tochterzelle als Initialwert zugewiesen. Dies entspricht der Verteilung von DNA und Ca^{2+} auf Mutter- und Tochterzelle zu gleichen Teilen. TA-Zellen haben ein limitiertes proliferatives Potential (Fuchs

1990b), so dass eine Zellteilung im Modell nur in den ersten 8 % (*maxBirthAgeFrac*) ihrer maximalen Lebenszeit möglich ist.

Tyson Zellzyklusmodell

Die Möglichkeit, quantitative subzelluläre Modelle, die im SBML-Standard vorliegen, semantisch mit dem GMS in ein grafisches Zellverhaltensmodell zu integrieren, wird anhand des bekannten Zellzyklusmodells von Tyson demonstriert (Tyson 1991). Auf dieses Modell wird auch bei der darauf folgenden Demonstration der manuellen Integration von diskreten und kontinuierlichen Modellen mittels GMS zurückgegriffen. Aus diesem Grund sei Tysons Modell, das in Abbildung 4.13 schematisch dargestellt ist, im Folgenden kurz beschrieben.

In Tysons Modell beginnt der Zellzyklus mit der *de novo* Synthese von Cyclin unter Annahme der Rate k_1 . Cyclin wird mit der Rate k_2 direkt wieder degradiert. Cyclin wird mit der Rate k_3 phosphoryliert und bildet zusammen mit der phosphorylierten Cyclin-abhängigen Kinase 2

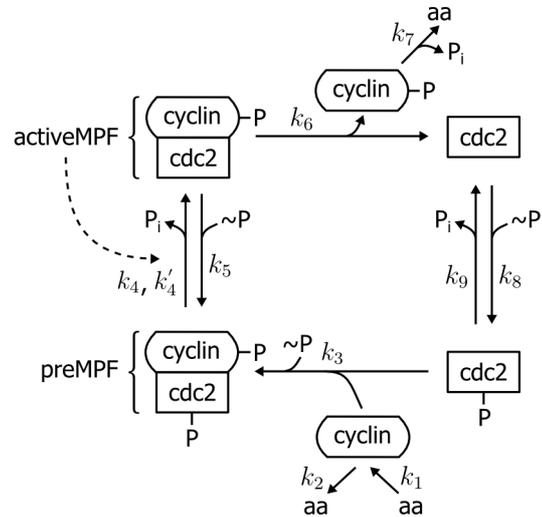


Abbildung 4.13: Schematische Darstellung von Tysons Zellzyklusmodell. Das Modell bildet den Zellzyklus mit der Synthese von Cyclin, der darauffolgenden Bildung des vorläufigen Maturation-promoting Factor (preMPF) zusammen mit der Cyclin-abhängigen Kinase (cdc2), der anschließenden Umwandlung von preMPF in aktives MPF (activeMPF) und schließlich dem Abbau von activeMPF ab (Abbildung nach Tyson 1991).

(*cdc2*) den vorläufigen Maturation-promoting factor (*preMPF*). Durch Dephosphorylierung von *cdc2* entsteht der aktive MPF (*activeMPF*) in einer autokatalytischen Reaktion (Raten k_4, k'_4). Die Zellteilung findet statt, wenn ausreichend *activeMPF* vorhanden ist. Dies geht mit einem plötzlichen Abfall der *activeMPF* Menge einher (Rate k_6). Cyclin wird anschließend degradiert und *cdc2* phosphoryliert. Tysons ursprüngliches Modell besteht aus sechs Variablen und damit sechs gewöhnlichen Differentialgleichungen. Das Modell kann jedoch auf die zwei Variablen

$$u = \frac{[\text{activeMPF}]}{[\text{CT}]}$$

$$z = \frac{[\text{cyclin}] + [\text{preMPF}]}{[\text{CT}]}$$

reduziert werden. Dabei gilt:

$$[\text{CT}] = [\text{cdc2}] + [\text{cdc2-P}] + [\text{preMPF}] + [\text{activeMPF}]$$

Das Differentialgleichungssystem besteht daher aus den beiden folgenden Differentialgleichungen:

$$\frac{du}{dt} = -(k_6 u) + k_4 (\alpha + u^2) z$$

$$\frac{dz}{dt} = \kappa - (\alpha + u^2) z \quad (3.112)$$

Die im Modell verwendeten Parameterwerte sind:

$$k_4 = 180$$

$$k'_4 = 0,018$$

$$k_6 = 1 \text{ od. } 2$$

$$\kappa = k_1 ([aa]/[\text{CT}]) = 0,015$$

$$\alpha = \left(\frac{k'_4}{k_4} \right)$$

Tysons Modell kann sich in drei verschiedenen Modi befinden, von denen die beiden folgenden im Weiteren von Bedeutung sind:

1. *Spontaneous Oscillator*: Das Modell ergibt oszillierend hohe und niedrige Mengen von

preMPF (in der Zwei-Variablen-Version: z) bzw. activeMPF (u).

2. *Excitable Switch*: Das Modell ergibt eine konstant niedrige Menge von activeMPF. Das System ist jedoch erregbar in dem Sinn, dass hinreichend große Störungen zu einer transienten Aktivierung von MPF führen, was sich in einer einzelnen Oszillation der activeMPF-Menge äußert (Näheres s. Abschn. 5.1.4).

Semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell

Wie zuvor bereits ausgeführt, bildet Tysons Zellzyklusmodell einen Anwendungsfall für die semantische Integration von quantitativen subzellulären Modellen, die im SBML-Standard vorliegen, in grafische CBMs. Gleichzeitig ist es jedoch auch ein Anwendungsfall für die seitens des CMS bereitgestellten Möglichkeiten, kontinuierliche und diskrete Modelle semantisch miteinander zu

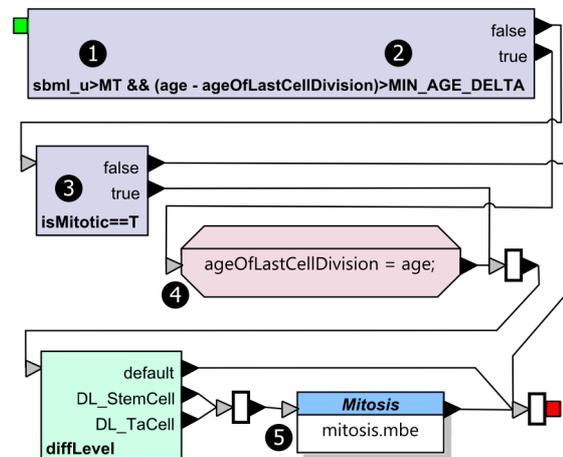


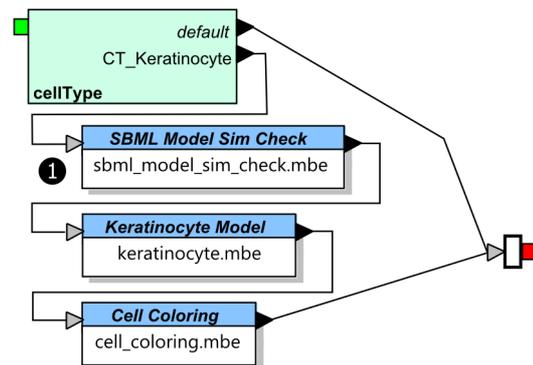
Abbildung 4.14: SBML-basierte semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell. Übersteigt die *activeMPF*-Menge den Schwellenwert *MT* und ist die minimale erforderliche Zeit zwischen zwei Zellteilungen vergangen (2), teilt sich eine Zelle. Vor dem Aufruf des Submodells *Mitosis* (5), das auch aufgerufen wird, wenn im vorigen SiSt die Zellteilung aufgeschoben worden ist (3), wird noch das Zellalter zum Zeitpunkt der Teilung in der Zelleigenschaft *ageOfLastCellDivision* gespeichert (4).

multiskalierten Modellen zu verbinden. Tysons Modell ist in der Datenbank *BioModels* frei verfügbar (Le Novère et al. 2006). Aus dieser Datenbank ist die 2-Variablen-Version von Tysons Modell im SBML-Format geladen und über die entsprechende Schnittstelle des GMS importiert worden. Die importierten Ein- und Ausgabegrößen eines SBML-Modells werden mit dem Präfix *sbml_* versehen¹⁰². Die Variable *u*, die für die *activeMPF*-Menge steht, wird daher in *sbml_u* umbenannt. Abbildung 4.14 zeigt das Zellzyklusmodell, in dem nicht eine Sägezahnfunktion, sondern die *activeMPF*-Menge die Zellteilung auslöst. Dies ist der Fall wenn diese über dem Schwellenwert *MT* liegt. Um konsekutive Zellteilungen in unmittelbar aufeinander folgenden SiSt zu vermeiden, ist eine Mindestzeitspanne *MIN_AGE_DELTA* definiert worden, die zwischen zwei Zellteilungen liegt. Eine Zelle ist in dieser Zeit sozusagen refraktär auf bezogen *activeMPF*. Das Submodell *Mitosis* entspricht dem in Abbildung 4.12 dargestellten und im entsprechenden Abschnitt besprochenen. Die semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell in ein grafisches CBM hat ein multiskaliertes Zellzyklusmodell zum Resultat, da die Zellverhaltensentscheidung in Bezug auf die Zellteilung auf zellulärer Ebene semantisch von dem quantitativen subzellulären Modell abhängt.

Tysons Zellzyklusmodell ist auch ein Anwendungsfall für die automatische Abbildung unterschiedlicher Zeitskalen der verschiedenen (Teil-) Modelle eines multiskalierten Gewebemodells, die seitens des CMS ermöglicht wird¹⁰³. Für jedes mit dem GMS importierte SBML-Modell ist der Zeitabbildungskoeffizient k_{t_mapped} nach Gleichung (2.1) zu bestimmen. Die Dauer eines Zell-

zyklus bei Keratinozyten beträgt 60 h (Castelijns et al. 1998). Dies entspricht der Zeit t_{sem_cbm} . Das atomare Zeitintervall Δt_{cbm} hat eine Länge von 0,5 h. Bei Tysons Zellzyklusmodell, wie es in der Datenbank BioModels vorgehalten wird, ist keine Zeitskala zugewiesen. In Tysons Publikation wird jedoch eine Zeitskala in Minuten angenommen (Tyson 1991). Hier soll jedoch eine Zeitskala in Stunden angenommen werden, womit sich $\Delta t_{sbml} = 1h$ ergibt. Mit der Standardparametrisierung des Modells im oszillierenden Modus erreicht die *activeMPF*-Menge alle 35 Zeiteinheiten (hier: Stunden) den Spitzenwert. Untersucht man, wann genau der Schwellenwert *MT* überschritten wird, erhält man $t_{sem_sbml} = 34,2 h$. Auf der Grundlage der zuvor genannten Werte ergibt sich der Zeitabbildungs-

Top-Level-Modell



Optimierung der Simulationsdauer

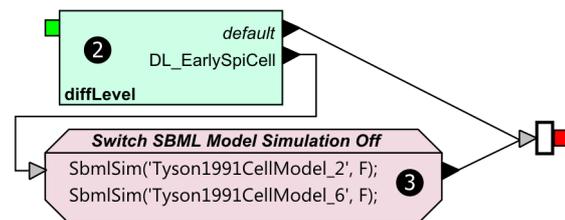


Abbildung 4.15: Optimierung der Simulationszeit von importierten SBML-Modellen. Zur Optimierung der Simulationszeit von Tysons Zellzyklusmodell ist vor dem Keratinozyten-CBM ein neues Submodell eingefügt worden (1). In diesem wird für jene Zellen, die zu frühen Spinozumzellen differenziert sind (2), die Simulation der Tyson-Zellzyklusmodelle mit der Funktion *SbmlSim* deaktiviert (3).

¹⁰² Näheres zu *Species*, *Parameters* und *Reactions*, aus denen SBML-basierte Modelle bestehen, findet sich in Abschn. 3.2.1.

¹⁰³ Die automatische Abbildung räumlicher und zeitlicher Skalen durch das CMS ist in Abschn. 3.1.3 eingehend beschrieben.

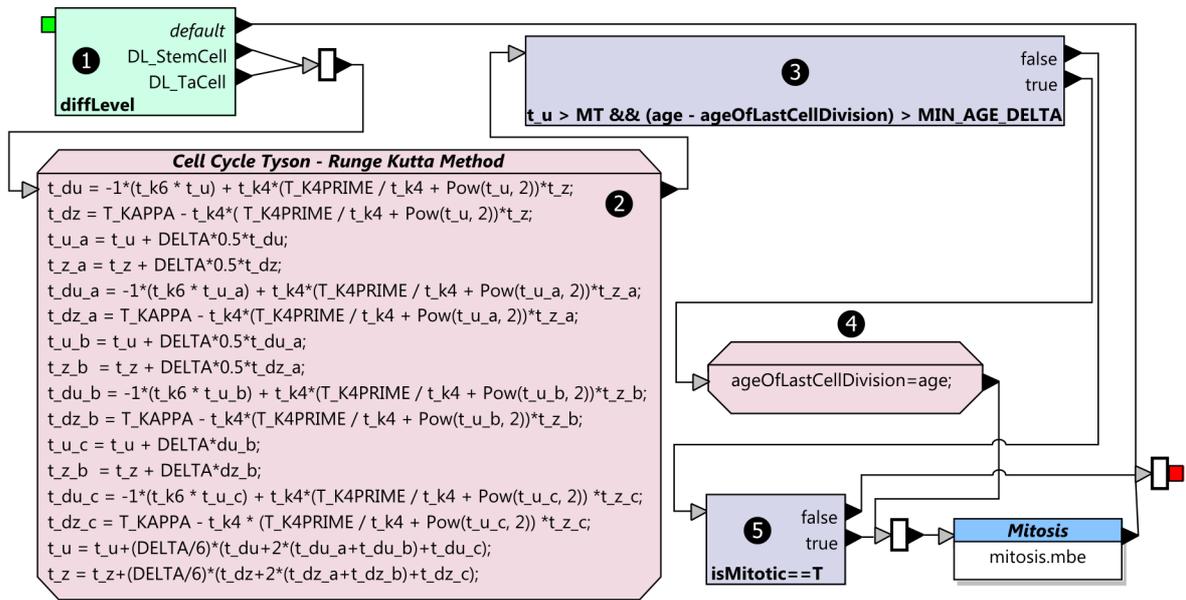


Abbildung 4.16: Manuelle semantische Integration von Tysons Zellzyklusmodell. Für Stamm- und TA Zellen (1) werden für die Differentialgleichungen aus Tysons Modell mittels des Runge-Kutta-Verfahrens 4. Ordnung numerisch gelöst (2). Die Schritte 3 bis 5 entsprechen denen in Abbildung 4.14.

koeffizient $k_{t_mapped} = 0,285$. Nach Gleichung (2.2) entspricht dies einem $\Delta t_{point} = 0,285$ h bei $n_{points} = 1$. Dieses Δt_{point} ist hinreichend klein für eine numerisch stabile Lösung der Differentialgleichungen aus Tysons Modell im Rahmen der Gewebemodellsimulation.

Eine numerische Lösung der Differentialgleichungen, die einem konkreten SBML-basierten quantitativen subzellulären Modell zugrunde liegen, wird für jeden Zell-Agenten der Gewebesimulation individuell berechnet. Abbildung 4.15 zeigt am Beispiel von Tysons Zellzyklusmodell, wie die hierfür erforderliche Rechenzeit potentiell reduziert und damit optimiert werden kann. Um den Unterschied in Bezug auf die Rechenzeit, der in Abschn. 5.1.4 dargestellt ist, deutlicher zu gestalten, ist neben der Zwei-Variablen-Version auch die Sechs-Variablen-Version von Tysons Modell importiert worden. Diese ist jedoch an keiner Stelle semantisch in das Keratinozyten-CBM integriert.

Ferner konnte durch das zusätzliche Importieren der zweiten Modellversion die automatische

Auflösung von Namensraumkonflikten durch das GMS positiv getestet werden. Zur Reduktion der Rechenzeit wird die Funktion *SbmlSim* des GMS genutzt, mit der sich die Simulation eines konkreten SBML-Modells für eine konkrete Zelle deaktivieren lässt. Hier wird die Simulation von Tysons Modell in allen differenzierten Zellen der *in silico* Epidermis deaktiviert. Dies geschieht bei der Differenzierung von TA-Zellen zu frühen Spinosum-Zellen.

Abbildung 4.16 zeigt am Beispiel der Zwei-Variablen-Version von Tysons Modell, wie quantitative und diskrete Modelle unter der Zuhilfenahme eines entsprechenden numerischen Lösungsverfahrens für Differentialgleichungen manuell semantisch integriert werden können. In diesem konkreten Beispiel werden die beiden Differentialgleichungen aus Tysons Modell mit dem Runge-Kutta-Verfahren 4. Ordnung (Runge 1895; Kutta 1901) innerhalb des grafischen Prozessdiagramms des Zellzyklusmodells gelöst (Abbildung 4.16 [2]). Die Abbildung der Zeitskalen wird über die Anpassung der Rate k_4 (hier:

t_{k4}) und der entsprechenden Wahl der Schrittweite $DELTA$ erreicht¹⁰⁴. Die nachfolgenden Elemente des Zellzyklusmodells entsprechen denen in Abbildung 4.14 mit dem Unterschied, dass hier $sbml_u$ der Zelleigenschaft t_u entspricht. Aus Abbildung 4.16 wird ersichtlich, dass es sich bei diesem Ansatz um einen wenig praktikablen Weg handelt, der sich nur bei kontinuierlichen Modellen mit einer geringen Anzahl von Parametern und Differentialgleichungen unter vertretbarem Aufwand realisieren lässt. An dieser Stelle soll lediglich die prinzipielle Machbarkeit demonstriert werden. Der seitens des CMS intendierte Weg der semantischen Integration solcher Modelle ist die Nutzung der SBML-Schnittstelle.

4.3.3 Multiskaliertes Zelldifferenzierungsmodell

Das multiskalierte Zellzyklusmodell ist ein Beispiel, wie quantitative subzelluläre Modelle Zellverhaltensentscheidungen auf zellulärer Ebene bewirken können. Das multiskalierte Zelldifferenzierungsmodell (Abbildung 4.17) hingegen demonstriert, wie Verhaltensveränderungen des Modells auf subzellulärer Ebene semantisch an Zellzustandsänderungen auf zellulärer Ebene gekoppelt werden können (hier: von Proliferation zu Differenzierung). Wie in Abschn. 4.3.2 ausgeführt, kann sich Tysons Zellzyklusmodell in zwei verschiedenen in diesem Kontext relevanten Modi befinden. Zwischen diesen Modi kann über den Modellparameter k_6 (hier: $sbml_k6$) gewechselt werden. Wenn das limitierte proliferative Potential von TA-Zellen (Fuchs 1990b) erschöpft ist, differenzieren diese zu frühen Spinosum-Zellen. In diesem Zusammenhang wird $sbml_k6$ der Wert 2 zugewiesen, was gleichbedeutend mit einer Modusänderung in Tysons Modell von

¹⁰⁴ Die Simulationsergebnisse dieses Modells sind in Abschn. 5.1.4 dargestellt und beschrieben.

Spontaneous Oscillator mit wiederkehrend hohen *activeMPF*-Mengen zu *Excitable Switch* mit einer konstant niedrigen *activeMPF*-Menge ist. Diese Verhaltensänderung auf subzellulärer Ebene bewirkt wiederum eine Verhaltensänderung auf zellulärer Ebene, da sich frühe Spinosum-Zellen wegen der konstant niedrigen *activeMPF*-Menge nicht mehr teilen, was dem Verhalten differenzierter Zellen entspricht.

Durch den transepidermalen Wasserfluss und die epidermale Barriere bildet sich in der (*in silico*) Epidermis ein vertikaler Ca^{2+} -Gradient aus, der lokale Ca^{2+} -Milieus erzeugt. Dieser Gra-

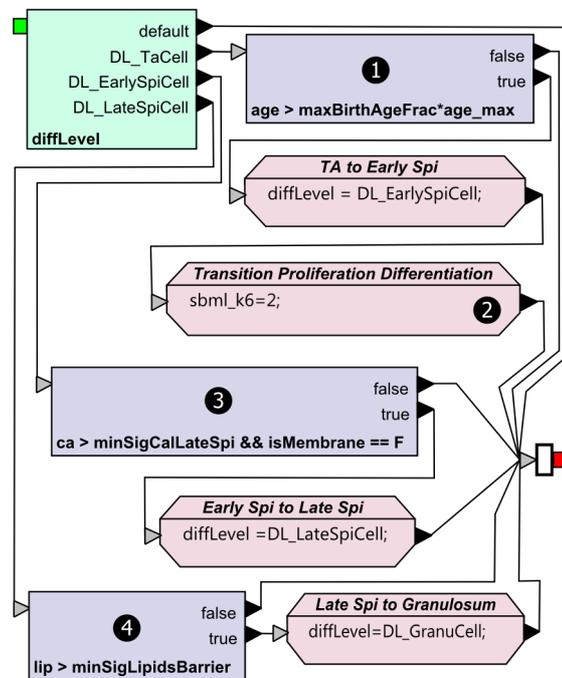


Abbildung 4.17: Multiskaliertes Zelldifferenzierungsmodell. Nachdem das proliferative Potential von TA-Zellen erschöpft ist (1), differenzieren diese zu frühen Spinosum-Zellen. Zu diesem Zeitpunkt wird in dieser Zelle eine Änderung des Modus von Tysons Zellzyklusmodell mittels des Parameters $sbml_k6$ von *Spontaneous Oscillator* zu *Excitable Switch* bewirkt (2). Frühe Spinosum-Zellen differenzieren in Abhängigkeit von der Ca^{2+} -Konzentration zu späten Spinosum-Zellen (3), die ihrerseits beim Erreichen einer minimalen signifikanten Lipidmenge zu Granulosum-Zellen differenzieren (4).

dient hat einen Einfluss auf die Differenzierung von Keratinozyten (Fuchs 1990a; Elias et al. 2002b). Im Modell differenzieren daher frühe Spinosum-Zellen zu späten Spinosum-Zellen, wenn sie ein Milieu mit hoher Ca^{2+} -Konzentration erreichen. Diese differenzieren ihrerseits zu Granulosum-Zellen, wenn sie eine minimal signifikante Menge an Lipiden produziert haben, die die epidermale Barriere bilden.

4.4 Modell der Reepithelialisierung in akuten epidermalen Wunden

Ein weiterer Anwendungsfall des entwickelten CMS ist ein *in silico* Modell, das im Rahmen eines breiter angelegten Forschungsprojekts entstanden ist. In diesem Projekt ist die Heilung von akuten epidermalen Wunden mit einem systembiologischen Forschungsansatz (s. Abschn. 2.1.1) untersucht und charakterisiert worden. Die beiden Schwerpunkte dieses Projekts bildeten:

- Die Signaltransduktion unter Wundheilungsbedingungen und die daran beteiligten Zytokine
- Der Mechanismus, auf dem die Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden basiert

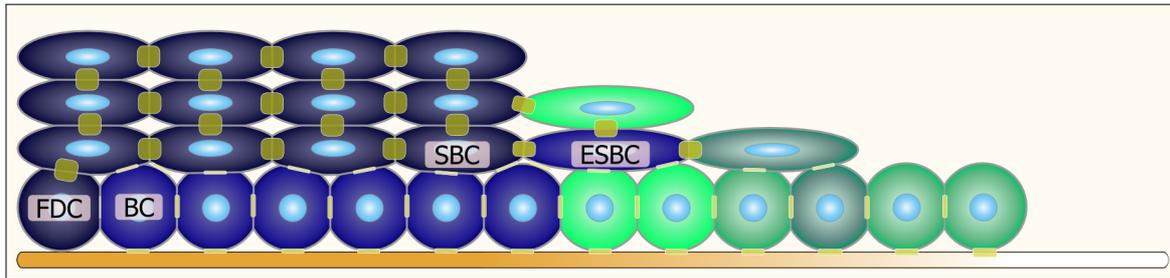
Auf der Basis von kommerziell erhältlichen Vollhautkulturen (Hayden et al. 2009) ist ein standardisiertes und reproduzierbares exzisionales *in vitro* Wundheilungsmodell etabliert worden. Mit diesem *in vitro* Modell lässt sich der Heilungsverlauf mit Blick auf die beiden zuvor genannten Schwerpunkte über einen Zeitraum von bis zu zehn Tagen untersuchen. Mit einer neu etablierten standardisierten Schneidemethode sind histologische Schnitte der Wunde angefertigt worden. Diese Schnitte sind automatisiert immunhistochemisch angefärbt und mit Hilfe virtueller Mikroskopie digitalisiert worden. Die hieraus resultierenden Bilder erlaubten die analyti-

sche Betrachtung der kompletten Wunde mittels hierfür entwickelter Bildverarbeitungsalgorithmen. Im Zusammenhang mit der Untersuchung des Reepithelialisierungsmechanismus ist am Ende dieser technischen Pipeline das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS zur Erstellung und Simulation eines qualitativen *in silico* Modells der Reepithelialisierung eingesetzt worden.

Aus diesem Grund soll an dieser Stelle kurz auf die Reepithelialisierung als Prozess und die in der Literatur diskutierten Mechanismen eingegangen werden. Die Reepithelialisierung von akuten epidermalen Wunden und die damit verbundene Wiederherstellung der dreidimensionalen Gewebemorphologie ist das Resultat der drei folgenden ineinander verschränkten zellulären Prozesse: (i.) Migration, (ii.) Proliferation und (iii.) Differenzierung (Gurtner et al. 2008; Werner und Grose 2003). In der Literatur existieren die beiden folgenden wesentlichen Theorien in Bezug auf die Reepithelialisierung von akuten Wunden:

1. *Leap-frog-Mechanismus*: Suprabasale Keratinozyten migrieren über die basalen Keratinozyten in die Wunde, bilden bzw. integrieren sich in die Migrationsfront und differenzieren beim Kontakt mit extrazellulärer Matrix zu Basalzellen (Paladini et al. 1996; Krawczyk 1971).
2. *Tractor-tread-Mechanismus*: Die Keratinozyten migrieren kollektiv als mehrschichtiges Epithel, sozusagen als Block, in das Wundareal (Woodley 1996; Radice 1980).

Mittels des etablierten *in vitro* Wundmodells und einer zweistufigen Fluoreszenzfärbung konnte die Migration der Keratinozyten des Wundrands zeitlich aufgelöst werden. Die erhaltenen experimentellen Ergebnisse stellen beide zuvor genannten Theorien in erheblichem Maße in Frage. Es wurde festgestellt, dass basale Keratinozyten aus dem unverwundeten Bereich unter dem mechanisch stabilen suprabasalen Kompartiment in das Wundareal migrieren und dort eine sich ausdeh-



Adhäsion	Fast Dividing Cell (FDC)	Basal Cell (BC)	Suprabasal Cell (SBC)	Early Suprabasal Cell (ESBC)	Basalmembrane (BM)
FDC	fixierte Pos.	1% —	90% ■	----	fixierte Pos.
BC	1% —	21% —	5% —	10% —	20 % - 45 % —
SBC	90% ■	5% —	90% ■	30% - 70% ■	----
ESBC	----	10% —	30% - 70% ■	40% - 80% ■	----
BM	fixierte Pos.	20 % - 45 % —	----	----	----

Abbildung 4.18: Schematische Darstellung des *in silico* Reepithelialisierungsmodells. Das Modell unterscheidet vier Ausprägungen von Keratinozyten: (i.) Fast Dividing Cells (FDC) mit hoher proliferativer Aktivität und fixer Position am Rand der simulierten Wunde. (ii.) Basal Cells (BC), basale Zellen, von denen die initial bei Simulationsbeginn vorhandenen Zellen grün eingefärbt sind. (iii.) Suprabasal Cells (SBC), die das initial vorhandene, mechanische stabile suprabasale Kompartiment der Epidermis bilden, (iv.) Early Suprabasal Cells (ESBC), basale Zellen, die angehoben wurden und zu neuen suprabasalen Zellen differenziert sind. Die qualitative Stärke der Adhäsion zwischen den Zellen der vier Kategorien untereinander und in Bezug zur Basalmembran ergibt sich aus der Adhäsionsmatrix, die die Adhäsionskoeffizienten enthält.

nende Zellmigrationszunge bilden (engl. *extending epidermal tongue*, EET). Hierbei entsteht die typische trianguläre Struktur der EET, die an der Migrationsfront aus einer Einzelzellschicht besteht und in Richtung Wundrand in ein mehrschichtiges Epithel übergeht. Mittels der zweistufigen Fluoreszenzfärbung konnte erkannt werden, dass am Übergangspunkt zum mehrschichtigen Epithel eine ursprünglich basale Zelle von einer darauffolgenden, ebenfalls basalen Zelle unterwandert und in das suprabasale Kompartiment angehoben worden sein musste. Aus diesem Grund wurde dieser Punkt als *Lifting-Point* bezeichnet. Die so neu entstandenen suprabasalen Zellen bilden stabile Zell-Zell-Verbindungen aus und schirmen die unter ihnen kollektiv migrierenden basalen Zellen ab. Aufgrund der sich in-

krementell ausdehnenden Abschirmung von basalen Zellen durch aus dem basalen Kompartiment angehobene suprabasale Zellen wurde dieser Reepithelialisierungsmechanismus *extending shield mechanism* (ESM) genannt.

Weitere Details bezüglich des experimentellen Aufbaus, durchgeführter Experimente, resultierender Daten und der Datenanalyse finden sich in der Publikation dieser Arbeit (Safferling et al. 2013) und in der Dissertation von Dr. Kai Safferling (Safferling 2013). Ferner sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass alle in Abschn. 4.4.1–4.4.4 verwendeten globalen, lokalen und biomechanischen Modellparameter in den Tabellen E.4 bis E.7 im Anhang E aufgeführt sind. Die Simulationsergebnisse des *in silico* Modells sind Gegenstand von Abschn. 5.2.

4.4.1 Genereller Modellaufbau

Wie zuvor ausgeführt, ist der postulierte Reepithelialisierungsmechanismus ESM mit einer zweistufigen Fluoreszenzfärbung auf der Basis histologischer Schnitte des *in vitro* Wundmodells identifiziert worden. Alle zwölf Stunden ist ein statisches Bild über den Fortgang der Reepithelialisierung erfasst worden. Diese zeitliche Auflösung war ausreichend zum Aufstellen der Hypothesen, die dem ESM zugrunde liegen. Jedoch existiert keine unmittelbare, zeitlich hochaufgelöste Beobachtung der angenommenen Zellmigration. Um die theoretische Plausibilität und Möglichkeit des ESM als Reepithelialisierungsmechanismus vom biomechanischen Standpunkt aus zu überprüfen, ist mittels des CMS ein qualitatives *in silico* Modell desselben erstellt worden. Dieses liefert als emergentes Ergebnis der Modellsimulation den Reepithelialisierungsverlauf einer akuten Wunde in beliebig hoher zeitlicher Auflösung.

Abbildung 4.18 zeigt schematisch den Aufbau des *in silico* Reepithelialisierungsmodells. Im Modell werden Keratinozyten in die folgenden vier Kategorien eingeteilt:

1. Fast Dividing Cells (FDC)
2. Basal Cells (BC)
3. Suprabasal Cells (SBC)
4. Early Suprabasal Cells (ESBC)

FDC besitzen eine hohe proliferative Aktivität und bilden die Aktivierung der basalen Keratinozyten im umliegenden intakten Gewebe nach der Verwundung ab. Sie erzeugen die *in vitro* beobachtete Proliferationswelle am ersten Tag nach dem Induzieren der Wunde. FDC sind basal am Rand des simulierten Gewebes lokalisiert und besitzen eine fixe Position, um basolaterale Verschiebungen zu verhindern und den mechanischen Widerstand der weitreichenderen intakten Wundumgebung zu simulieren.

Die initial zu Simulationsbeginn vorhandenen und auf der Basalmembran platzierten BC sind in Anlehnung an den experimentell verwendeten, grün fluoreszierenden Zelltracker entsprechend eingefärbt. Bei der Teilung dieser Zellen bekommen Mutter- und Tochterzelle ein dunkleres Grün zugewiesen, das sich mit jeder Zellteilung dem Blau der nach Simulationsbeginn aus der Teilung der FDC hervorgegangenen BC annähert.

SBC bilden das suprabasale, mechanisch stabile Kompartiment der Wundumgebung, das die darunterliegenden BC abschirmt. Schließlich entsprechen die ESBC basalen Zellen, die aus dem basalen Kompartiment in das suprabasale Kompartiment angehoben worden sind, was die Differenzierung zu ESBC zur Folge hat. Die Unterscheidung von SBC und ESBC ist vorgenommen worden, da, verglichen mit den suprabasalen Zellen des intakten Gewebes, die suprabasalen Zellen der Migrationszunge noch nicht ausdifferenziert sind, wie anhand des Differenzierungsmarkers Filaggrin experimentell ermittelt wurde (Safferling et al. 2013).

Die qualitative Stärke der Zell-Zell-Verbindungen und damit der Zell-Zell-Adhäsion kann der Matrix in Abbildung 4.18 entnommen werden. Diese enthält die Adhäsionskoeffizienten für die Zellen untereinander und der Zellen in Bezug auf die Basalmembran. Diese Koeffizienten kommen im erweiterten gitterfreien biomechanischen Modell (s. Abschn. 4.4.2) zum Tragen. Grundsätzlich besitzen suprabasale Zellen untereinander mechanisch wesentlich stabilere Zell-Zell-Verbindungen als basale Zellen. Basale Zellen besitzen kleinere Desmosomen (Green und Simpson 2007), die durch die niedrige Ca^{2+} -Konzentration im *Stratum basale* zusätzlich destabilisiert sind (Menon 2002; Proksch et al. 2008). Basale Zellen sind untereinander im Wesentlichen durch Adhärenz-Verbindungen wie E-Cadherin und P-Cadherin verbunden (Safferling et al. 2013), die verglichen mit Desmosomen und

Tight Junctions eine geringere mechanische Stabilität aufweisen. Suprabasale Zellen hingegen besitzen große Desmosomen (Green und Simpson 2007), die aufgrund der höheren suprabasalen Ca^{2+} -Konzentration und ihrer Bindung an die Intermediärfilamente Keratin 1 oder 10 mechanisch wesentlich stabiler sind (Moll et al. 2008; Proksch et al. 2008; Niessen 2007; Menon 2002). Hinzu kommt, dass bei allen suprabasalen Zellen des *in vitro* Modells das Tight Junction Protein Occludin nachgewiesen worden ist (Safferling et al. 2013). Auf der Grundlage dieser Fakten sind die qualitativen Adhäsionsfaktoren festgelegt worden. BC erhöhen die Adhäsion zu ihren Nachbarzellen nach deren Differenzierung zu ESBC graduell, ausgehend vom angegebenen Startwert.

Die Adhäsion von BC an die Basalmembran ist variabel und lokal verschieden. Es wird davon ausgegangen, dass im Wundareal die für die kollektive aktive Migration basaler Zellen benötigte extrazelluläre Matrix erst noch aufgebaut werden muss. Hierauf wird im folgenden Abschn. 4.4.2 im Detail eingegangen.

4.4.2 Erweiterung des gitterfreien biomechanischen Modells

Um den in Abschn. 4.4.2 beschriebenen Modell-
aufbau mit dem CMS abbilden zu können, ist das in Abschn. 4.2.1 beschriebene gitterfreie Zell-Zentrumsmodell um die Adhäsion basaler Zellen an der Basalmembran erweitert worden. In der ursprünglichen Modellvariante ist Adhäsion nur zwischen Zellen, aber nicht zwischen Zellen und einer Membran möglich. Wie in Abbildung 4.19 idealisiert dargestellt, wird im gitterfreien BM die Herstellung der optimalen Distanz d_{opt} zwischen Zellen von SiSt $t - 1$ zum folgenden SiSt t angestrebt. Gestört wird das Distanzequilibrium durch proliferierende Zellen, deren Tochterzellen

die räumliche Verdrängung umliegender Zellen verursachen. Überlappende Zellen, die die optimale Distanz unterschreiten, stoßen sich ab (F_{pr}), während sich Zellen anziehen, bei denen eine Überschreitung der optimalen Distanz im Rahmen der maximalen Zelladhäsionsdistanz vorliegt (F_{adh}). Die maximale Zelladhäsionsdistanz entspricht $\delta_{\text{adh}} \cdot d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ bei $\delta_{\text{adh}} = 1,25$. Unter Berücksichtigung der im Modell definierten unterschiedlichen Zellgrößen ergibt sich nie eine maximale Zelladhäsionsdistanz größer als $5 \mu\text{m}$. Diese Distanz kann von Keratinozyten bspw. durch die Bildung von Lamellipodien überbrückt werden, um Kontakt zu benachbarten Zellen herzustellen (Walker et al. 2004a; Adams et al. 1998). Um nun Zelladhäsion an der Basalmembran abbilden zu können, wird diese in der zweiwie dreidimensionalen Version des BM in Segmente

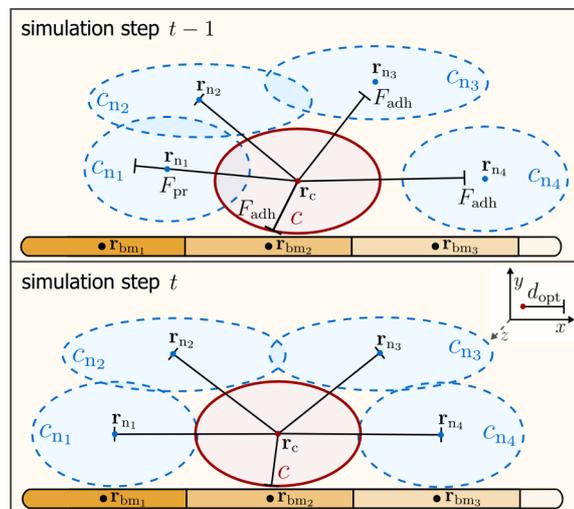


Abbildung 4.19: Erweitertes gitterfreies Zell-Zentrumsmodell. Zielgröße des biomechanischen Modells ist die Herstellung der optimalen Distanz zwischen Zellen sowie zwischen basalen Zellen und Basalmembran. Die Basalmembran wird in Segmente diskretisiert. Bezugspunkt für die Herstellung der optimalen Distanz zur Membran ist das Segmentzentrum. Jedes Segment besitzt einen individuellen effektiven Adhäsionskoeffizienten.

$$\text{adh} k'_{c\text{-bm}} = \begin{cases} \text{adh} k_{c\text{-bm}} \left(1 + \left(\left(\text{adh} k_{c\text{-bm}\text{-hi}} - 1 \right) \cdot \left(\frac{t_{c\text{-bm}}}{T_{c\text{-bm}}} \right) \right) \right) & \text{wenn } t_{c\text{-bm}} < T_{c\text{-bm}} \\ \text{adh} k_{c\text{-bm}} & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.113)$$

gleicher Länge bzw. Fläche diskretisiert. Die Größe eines Segments entspricht der räumlichen Ausdehnung der basalen Zellen des Modells (hier: 10 μm).

Der Bezugspunkt \mathbf{r}_{bm} eines Segments, zu dem eine optimale Distanz angestrebt wird, ist dessen Zentrum (siehe Abbildung 4.19). Analog zu den Gleichungen (3.60) und (3.61) entspricht die optimale Distanz im dreidimensionalen Fall

$$d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_{\text{bm}}) = \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{c\text{-bm}}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{c\text{-bm}1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{c\text{-bm}2}^2}{b_c^2} + \frac{\hat{v}_{c\text{-bm}3}^2}{c_c^2} \right)}} \right\|_2 \quad (3.114)$$

und im zweidimensionalen Fall

$$d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_{\text{bm}}) = \left\| \frac{\hat{\mathbf{v}}_{c\text{-bm}}}{\sqrt{\left(\frac{\hat{v}_{c\text{-bm}1}^2}{a_c^2} + \frac{\hat{v}_{c\text{-bm}2}^2}{b_c^2} \right)}} \right\|_2 \quad (3.115)$$

unter der Annahme, dass

$$\hat{\mathbf{v}}_{c\text{-bm}} = \frac{1}{\|\mathbf{r}_{\text{bm}} - \mathbf{r}_c\|_2} \cdot (\mathbf{r}_{\text{bm}} - \mathbf{r}_c) \quad (3.116)$$

Auf der Grundlage der optimalen Distanz $d_{\text{opt}}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_{\text{bm}})$ wird analog zum Zellbewegungsvektor $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_n)$ nach Gleichung (3.75) der Zellbewegungsvektor $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_{\text{bm}})$ berechnet, der der angestrebten Bewegung einer Zelle in Bezug auf ein konkretes Segment der Basalmembran entspricht. Der Adhäsionskoeffizient $\text{adh} k_{c\text{-cn}}$ aus Gleichung (3.75) skaliert die Stärke der Adhäsion zwischen Zellen und kann in diesem Kontext als qualitative lineare Federkonstante gesehen werden. Analog hierzu skaliert der Adhäsionskoeffizient $\text{adh} k_{c\text{-bm}}$ die Adhäsion zwischen einer Zelle und der Basalmembran. Ersetzt wird $\text{adh} k_{c\text{-cn}}$ in Gleichung (3.75) jedoch nicht durch den global für die gesamte Basalmembran geltenden Koeffizienten $\text{adh} k_{c\text{-bm}}$, sondern durch den effektiven

Adhäsionskoeffizienten $\text{adh} k'_{c\text{-bm}}$, der individuell für jedes Segment der Basalmembran berechnet wird. Dies ist erforderlich, da nicht davon ausgegangen werden kann, dass basale Zellen überall auf der Basalmembran gleich stark adhären. Ferner wird davon ausgegangen, dass im Wundareal die für die aktive Zellmigration benötigte extrazelluläre Matrix (ECM) fehlt und erst durch die Zellen aufgebaut werden muss. Experimentell konnte gezeigt werden, dass bei Keratinozyten das Blockieren der Bindung von Integrin- $\beta 4$ an Laminin-5 die laterale aktive Zellmigration erheblich behindert (Egles et al. 2010).

Aktive Migration ist jedoch auf der Grundlage des in Abschn. 4.2.1 beschriebenen gitterfreien Zell-Zentrumsmodells nicht möglich. Die Zellbewegung und damit -migration ist ein durch proliferierende Zellen getriebener, passiver Prozess. Will man nun im Rahmen dieses Modells eine gestörte bzw. verlangsamte aktive Migration aufgrund fehlender Binde- und damit Adhäsionsmöglichkeiten auf dem Zelluntergrund abbilden, ist man gezwungen, dies durch die Annahme einer erhöhten Adhäsion zu tun, die die passive Migration behindert. Konkret bedeutet dies, dass auf jenen Segmenten der Basalmembran, die im Wundareal lokalisiert sind, zunächst eine erhöhte Adhäsion der Zellen an die Basalmembran vorherrscht, die sich über die Zeit, in der dieses Segment in Kontakt mit basalen Zellen ist, verringert. Der effektive Adhäsionskoeffizient $\text{adh} k'_{c\text{-bm}}$ eines Segments der Basalmembran ergibt sich aus Gleichung (3.113). Dabei ist $\text{adh} k_{c\text{-bm}\text{-hi}} > 1$ der Faktor, mit dem der globale Adhäsionskoeffizient $\text{adh} k_{c\text{-bm}}$ multipliziert wird, wenn ein Segment noch mit keiner Zelle in Kontakt gewesen ist. Es gilt somit:

$$\text{adh} k_{c\text{-bm}} \leq \text{adh} k'_{c\text{-bm}} \leq \text{adh} k_{c\text{-bm}\text{-hi}} \cdot \text{adh} k_{c\text{-bm}}.$$

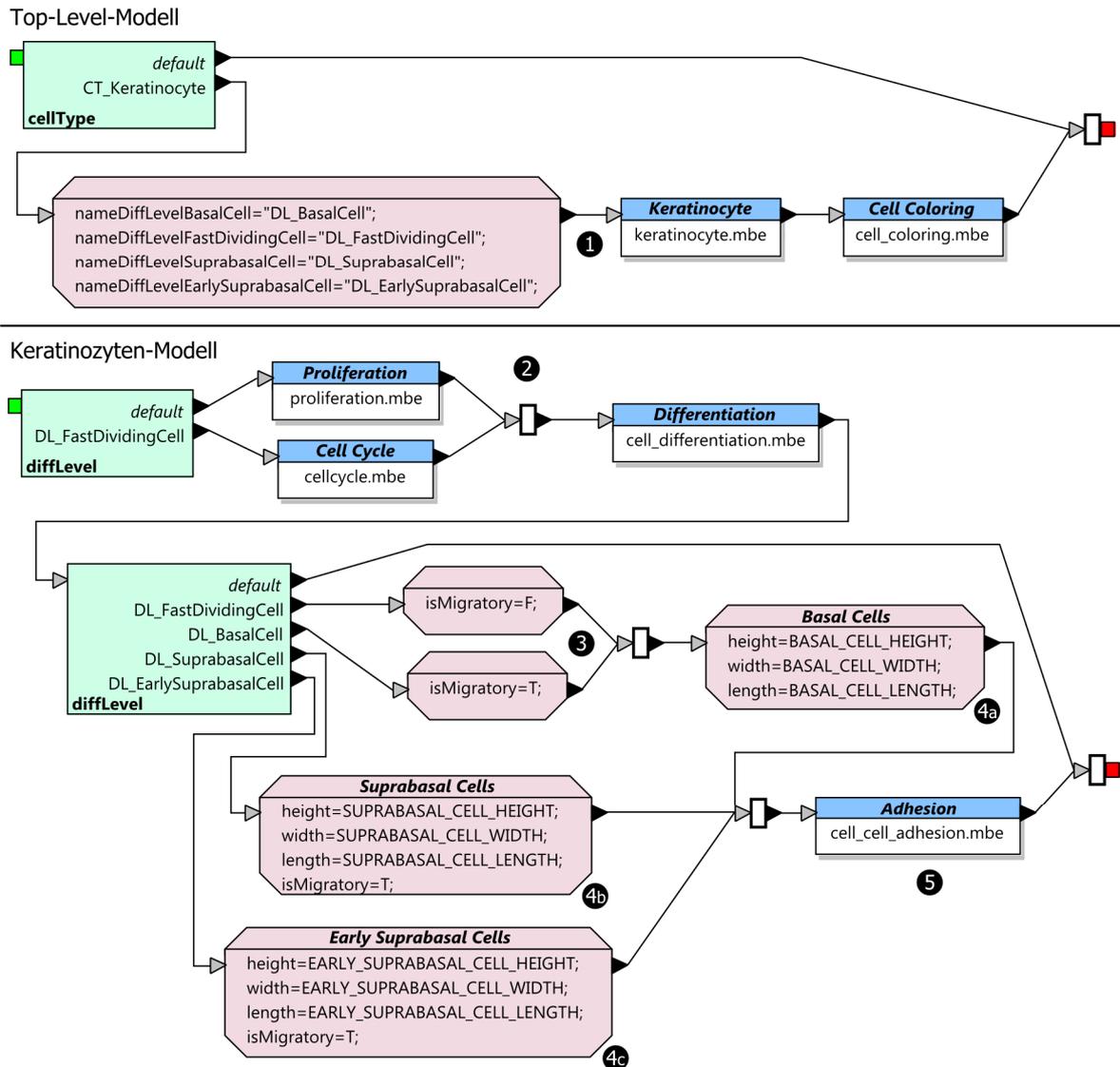


Abbildung 4.20: Top-Level-Modell und Keratinozyten-Modell der Reepithelialisierung akuter Wunden. Im Top-Level-Modell wird zunächst die Modell-Konnektor-Komponente des semantisch angebundenen biomechanischen Modells initialisiert (1). Anschließend wird das eigentliche Keratinozyten-Modell und darauf folgend das Zelleinfärbungsmodell aufgerufen. Der Zellzyklus und damit die Proliferation von Fast Dividing Cells und den übrigen (basalen) Zellen sind in verschiedenen Submodellen realisiert, die vor dem Zelldifferenzierungs-Submodell aufgerufen werden (2). FDC sind immobil und migrieren im Gegensatz zu den anderen basalen Zellen nicht (3). Alle Zellen werden auf die für sie definierte Zellmorphologie¹⁰⁵ abgebildet (4a-c), bevor das Submodell aufgerufen wird, in dem den Zellen ihr Zelladhäsionsprofil zugewiesen wird.

¹⁰⁵ Hier ist der dreidimensionale Fall dargestellt.

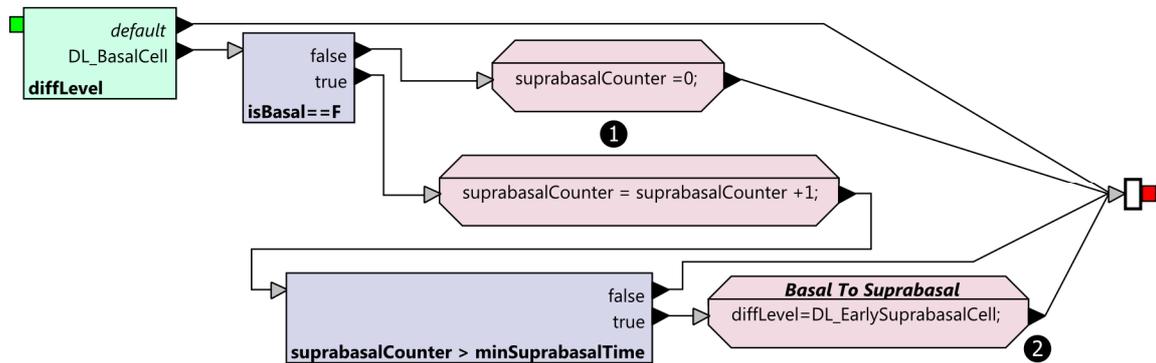


Abbildung 4.21: Submodell der Differenzierung basaler Zellen zu frühen suprabasalen Zellen. Wenn eine basale Zelle den Kontakt zur Basalmembran aufgrund mechanischer Verschiebung durch die Nachbarzellen verliert, wird die Zeit des Kontaktverlusts in Simulationsschritten erfasst (1). Überschreitet die Zeit die Mindestdauer *minSuprabasalTime*, differenziert diese Zelle zu einer ESBC.

In Abhängigkeit von der Zellkontaktzeit in SiSt $t_{\text{con_bm}}$, die für jedes Segment individuell erfasst wird, senkt sich die effektive Adhäsion auf den Wert der global geltenden Adhäsion ab. Die für diese Absenkung benötigte Zeit entspricht $T_{\text{con_bm}}$, was als die Zeit interpretiert werden kann, die Zellen für die Sezernierung und Deposition von bspw. Laminin-5 benötigen, um eine vollständig intakte ECM zu erzeugen.

Die Zunahme der Kontaktzeit eines individuellen Segments der Basalmembran wird in der Simulationsumgebung durch eine dunklere Einfärbung visuell zum Ausdruck gebracht (siehe auch Abbildung 4.19). Schließlich bleibt zu erwähnen, dass in der hier vorgestellten erweiterten Variante des gitterfreien biomechanischen Modells der aus der Zell-ECM-Adhäsion resultierende Bewegungsvektor $\mathbf{m}(\mathbf{r}_c, \mathbf{r}_{\text{bm}})$ als weiterer Summand in Gleichung (3.78) eingeht.

4.4.3 Zellverhaltensmodell Keratinozyt

Das Top-Level-Modell bildet in jedem Simulationsschritt den Einstiegspunkt in das grafische CBM eines Keratinozyten (Abbildung 4.20). Vor dem Aufruf des eigentlichen Keratinozyten-CBM wird zunächst die MKK initialisiert, über die das in Abschn. 4.4.2 beschriebene, erweiterte gitter-

freie BM semantisch an das CBM gekoppelt ist. Dies ist erforderlich, damit die BM-Instanz einer konkreten Zelle die Zelladhäsionsmatrix (Abbildung 4.18) auf die Nachbarzellen dieser Zelle abbilden kann. Schließlich wird das Zelleinfärbungsmodell aufgerufen, das Zellen die Farbe zuweist, mit der sie in der Visualisierung der Gewebesimulation in Erscheinung treten.

FDC und die übrigen BC besitzen unterschiedliche Modelle für Zellzyklus bzw. Proliferation (s. Abschn. 4.4.4). Nachdem diese durchlaufen worden sind, wird das Zelldifferenzierungsmodell aufgerufen. Final werden vor dem Erreichen des Zelladhäsion-Submodells zweierlei Parametrisierungen vorgenommen. Zunächst wird festgelegt, dass alle Zellen außer den FDC potentiell mobil sind und migrieren können (Abbildung 4.20 [3]). Darauf folgt die Zuweisung der Zellmorphologie in Abhängigkeit von den vier eingeführten Keratinozyten-Kategorien des Modells. Wenn sich hierdurch für eine Zelle aufgrund von bspw. Differenzierung eine Änderung der Morphologie ergibt, wird diese Veränderung der räumlichen Ausdehnung graduell über mehrere Simulationsschritte durch das BM an die neuen Werte angepasst. Die räumliche Ausdehnung der Zellellipsoide der unterschiedlichen

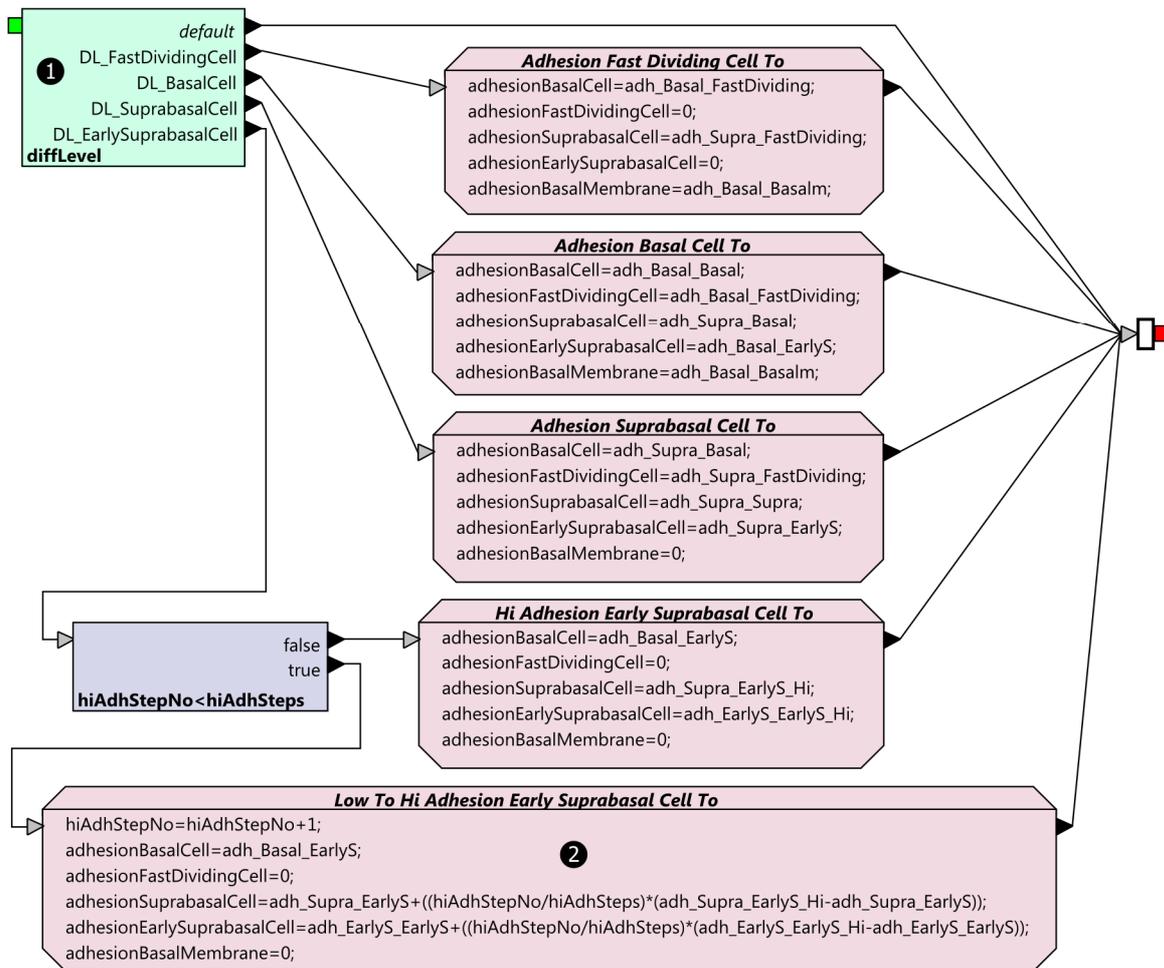


Abbildung 4.22: Submodell der differenzierungsabhängigen Zelladhäsion. Einem Keratinozyten wird je nach definierter Kategorie und damit in gewissem Sinne auch Differenzierung ein Adhäsionsprofil zugewiesen, das sich aus der Adhäsionsmatrix in Abbildung 4.18 ergibt (1). Bei der Differenzierung von basalen zu frühen suprabasalen Zellen wird das Adhäsionsprofil graduell über mehrere Simulationsschritte angepasst (2).

Keratinozyten-Kategorien ist empirisch auf der Basis histologischer Schnitte ermittelt worden.

Zelldifferenzierungsmodell

Das in Abbildung 4.21 dargestellte Zelldifferenzierungsmodell gestaltet sich vergleichsweise einfach, weil lediglich die Differenzierung von BC zu ESBC abgebildet werden muss. Verliert eine BC über einen signifikanten Zeitraum (*minSuprabasalTime*), bspw. aufgrund mechanischer Anheftung durch die benachbarten BC, den Kontakt

zur Basalmembran, differenziert diese BC irreversibel zu einer ESBC.

Zelladhäsionsmodell

Das Submodell, das Keratinozyten in Abhängigkeit von ihrer Differenzierung¹⁰⁶ ein Adhäsionsprofil zuweist, ist in Abbildung 4.22 dargestellt.

¹⁰⁶ Der Terminus Differenzierung bezieht sich hier nicht auf die tatsächliche Differenzierung von Keratinozyten im biologischen Sinn, sondern vielmehr auf die im *in silico* Modell eingeführten Keratinozyten-Kategorien.

Dieses Adhäsionsprofil enthält die qualitative mechanische Stabilität der Zell-Zell-Verbindungen in Abhängigkeit von der Differenzierung der benachbarten Zellen. Ferner wird über dieses Profil die Stärke der Adhäsion an die Basalmembran skaliert. Einer konkreten Zelle wird in diesem Zusammenhang der globale Adhäsionskoeffizient der Basalmembran zugewiesen. Der effektive Adhäsionskoeffizient wird in Bezug auf ein bestimmtes Basalmembransegment innerhalb des biomechanischen Modells berechnet (Näheres s. Abschn. 4.4.2). Das differenzierungsabhängige Adhäsionsprofil einer Zelle ergibt sich aus der Adhäsionsmatrix in Abbildung 4.22.

Mit Ausnahme der BC bleibt das Adhäsionsprofil bei allen Zellen konstant. Bei der Differenzierung von BC zu ESBC ändert sich das Adhäsionsprofil. Die mit der Differenzierung zur ESBC einhergehenden qualitativ stabileren Zell-Zell-Verbindungen zu anderen ESBC und SBC werden graduell über mehrere Simulationsschritte aufgebaut. Dies wird, ausgehend vom Startwert des Adhäsionskoeffizienten, über eine lineare Vergrößerung desselben bis zum Erreichen des finalen Werts abgebildet¹⁰⁷.

4.4.4 Zellproliferation und -zyklus

Die FDC bilden innerhalb des *in silico* Reepithelialisierungsmodells die im *in vitro* Wundmodell beobachtete, weitreichende Aktivierung der basalen Keratinozyten im intakten Gewebe ab. Diese Aktivierung des umliegenden Gewebes führt zu einer deutlich ausgeprägten Proliferationswelle (*engl. proliferative burst*) am ersten Tag, nachdem die Wunde induziert wurde. Damit leistet das basale Kompartiment der Wundumgebung einen erheblichen Beitrag in der initialen Phase der Reepithelialisierung, der u.a. zur Ausbildung der charakteristischen epidermalen Migrationszunge

führt. FDCs stehen somit stellvertretend für die erweiterte Wundumgebung und tragen entsprechend zur Reepithelialisierung durch die Erzeugung von basalen Tochterzellen (BC) bei.

Darüber hinaus ist experimentell über den Proliferationsmarker Ki-67 die Teilnahme von proliferierenden BC an der Migration nachgewiesen worden. Mitotische Ereignisse wurden über die Kollokalisierung von Ki-67 und p-Histon 3 detektiert. Auf diesem Weg ist festgestellt worden, dass sich Zellen auch in der Migrationsfront der Zellmigrationszunge teilen. Zusätzlich hat sich ab Tag drei nach Induzierung der Wunde der Fokus der proliferativen Aktivität vom umliegenden Gewebe in das Wundareal verlagert (Safferling et al. 2013; Safferling 2013).

Ausgehend von diesen experimentellen Ergebnissen sind für FDC und BC getrennte Modelle für Zellzyklus bzw. Proliferation erstellt worden. Im Falle der FDC handelt es sich um ein deterministisches Zellzyklusmodell, während für BC ein stochastisches Proliferationsmodell angenommen wird, in dem der Zellzyklus nicht explizit, sondern implizit abgebildet wird.

Deterministisches Zellzyklusmodell

Das deterministische Zellzyklusmodell der FDC (Abbildung 4.23) baut wie das entsprechende Zellzyklusmodell in Abschn. 4.3.2 auf einer Sägezahnfunktion auf (Tyson und Kauffman 1975). Der Funktionswert 0 führt zum Aufruf des Submodells *Mitosis*. Es werden zwei Zellzykluslängen unterschieden. Die erste, vergleichsweise kurze Zellzykluslänge *cellCycleBurst* wurde gewählt, um die experimentell beobachtete Proliferationswelle nach der Induzierung der Wunde zu erzeugen. Ab Tag drei nach der Verwundung (hier: *maxFastDividingCellProlifBurstAge*) wird für FDC ein längerer Zellzyklus *cellCycleNormal* angenommen, da sich die proliferative Aktivität in das

¹⁰⁷ Start- und Endwert sind ebenfalls in der Adhäsionsmatrix definiert.

4.4 Modell der Reepithelialisierung in akuten epidermalen Wunden

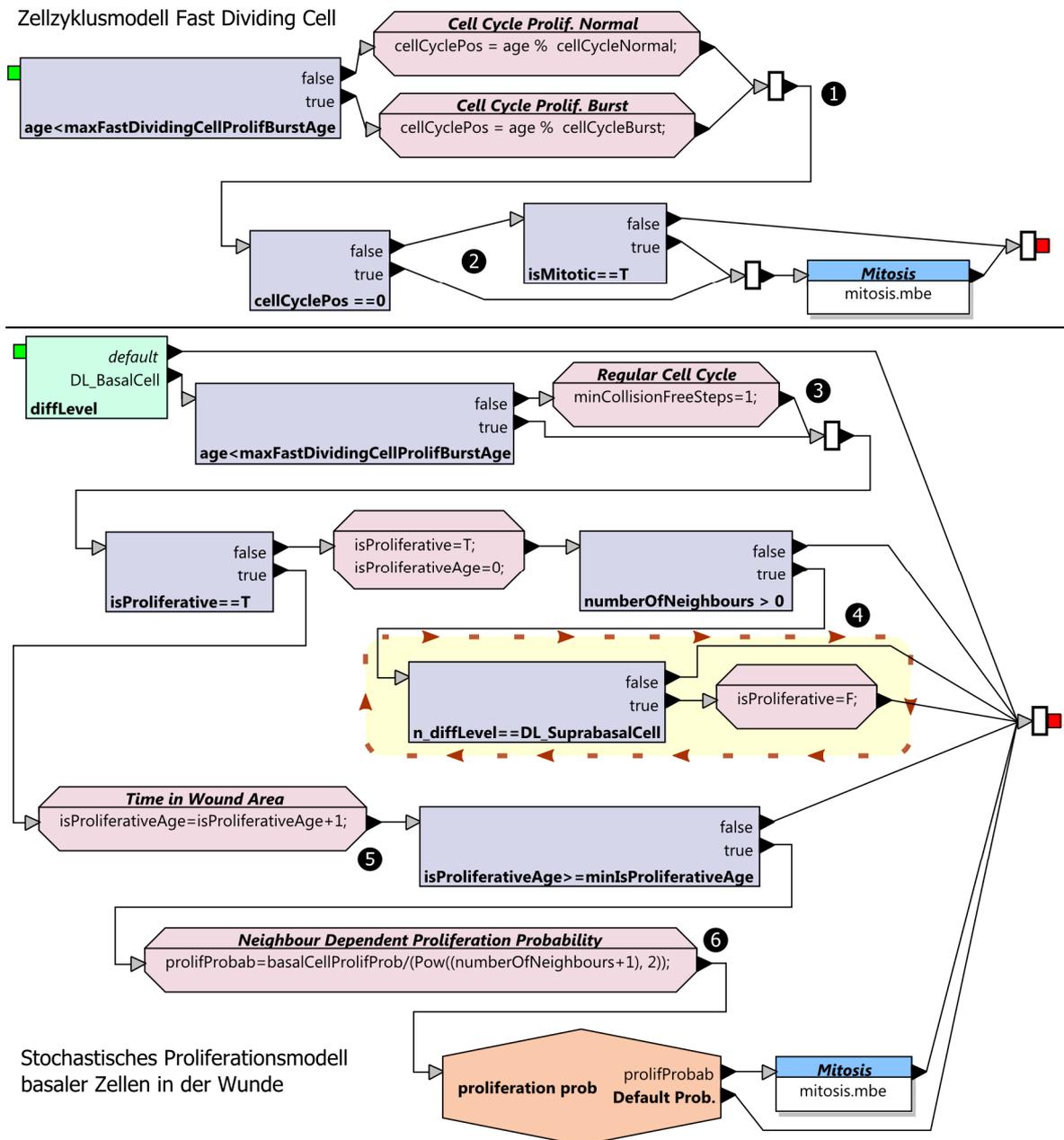


Abbildung 4.23: Zellzyklus- und Proliferationsmodell basaler Zellen. Fast Dividing Cells teilen sich in Abhängigkeit von der Reepithelialisierungsphase mit unterschiedlicher Geschwindigkeit. Das deterministische Zellzyklusmodell basiert wie das aus Abschn. 4.3.2 auf einer Sägezahnfunktion (1) und berücksichtigt die Aufschiebung der Zellteilung in einem vorherigen SiSt (2). Die übrigen BC teilen sich auf der Basis eines stochastischen Proliferationsmodells. Zunächst wird festgelegt, wie lange bei einer Zelle in Abhängigkeit von deren Alter keine Kollision mit einer Nachbarzelle aufgetreten sein muss, damit eine Zellteilung stattfinden kann (3). Da hier nur die Teilung der BC im Wundareal abgebildet werden soll, muss zunächst in einer automatisch vom CMS erzeugten Iteration festgestellt werden, ob sich die BC bereits im Wundareal befindet (4). Wenn die Mindestverweildauer im Wundareal erreicht ist (5), teilt sich eine Zelle in Abhängigkeit von der Zelldichte der Umgebung. Die geschieht mit der Wahrscheinlichkeit *basalCellProlifProb*, die sich entsprechend bei hoher Zahl an Nachbarzellen verringert (6).

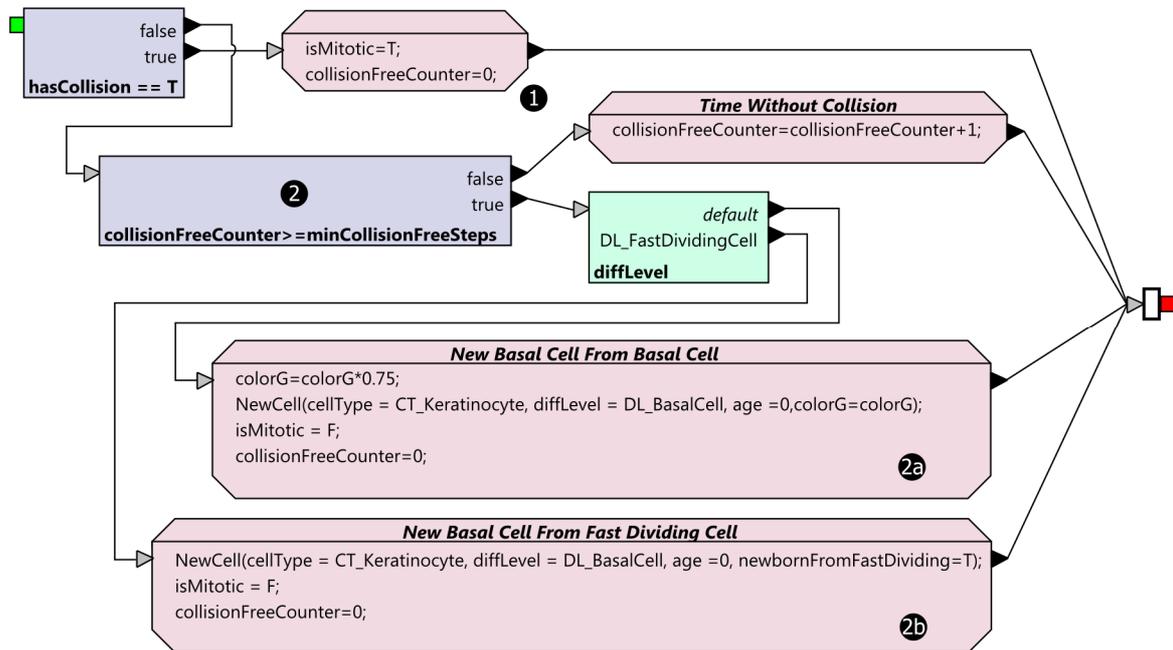


Abbildung 4.24: Mitose- und Zellteilungsmodell basaler Zellen. Zunächst wird unabhängig von der Kategorie der basalen Zelle festgestellt, ob eine signifikante Kollision mit einer benachbarten Zelle vorliegt. In diesem Fall befindet sich die Zelle im Zellzyklusarrest und der Zähler, der die Zahl kollisionsfreier SiSt erfasst, wird zurückgesetzt (1). Ist die Mindestdauer ohne Kollision mit benachbarten Zellen erreicht (2), teilt sich eine Fast Dividing Cell asymmetrisch in eine FDC und eine BC (2a). Proliferative BC teilen sich symmetrisch in zwei BC. Hierbei wird der Grünanteil der Zellfärbung auf Mutter- und Tochterzelle verteilt, so dass beide in einem etwas dunkleren als dem ursprünglichen Grün der Mutterzelle in Erscheinung treten (2b).

Wundareal verlagert und die FDC am Rand des simulierten Gewebes lokalisiert sind. Wie in dem in Abschn. 4.3.2 beschriebenen Modell wird auch hier berücksichtigt, dass sich eine Zelle im Zellzyklusarrest befinden kann, wenn im vorherigen SiSt die Zellteilung aufgeschoben werden musste (Abbildung 4.23 [2]), was zum erneuten Aufruf des Submodells *Mitosis* führt.

Stochastisches Proliferationsmodell

Die beobachtete Teilung von BC im Wundareal und die Verlagerung der proliferativen Aktivität ab Tag 3 nach Verwundung in diesen Bereich werden mittels eines stochastischen Proliferationsmodells abgebildet. Hierfür wird zunächst ermittelt, ob sich eine BC im Wundareal befindet. Indikator hierfür sind die Nachbarzellen. Ist eine BC nur von anderen BC und ESBC umgeben, beginnt diese BC zu proliferieren, sobald sie

die festgelegte Mindestzeit im Wundareal verbracht hat (Abbildung 4.23 [4, 5]).¹⁰⁸

Die Wahrscheinlichkeit für die Teilung einer BC berechnet sich auf der Grundlage einer Basiswahrscheinlichkeit (hier: 0,02) und der Zelldichte in der unmittelbaren Zellumgebung. Konkret bedeutet dies, dass sich die Wahrscheinlichkeit für ein mitotisches Ereignis in Abhängigkeit von der Zahl der Nachbarzellen einer BC, die quadratisch in die Berechnung eingeht, verringert (Abbildung 4.23 [6]). Abschließend sei erwähnt, dass die Zeit, die eine Zelle kollisionsfrei sein muss, bevor sie den Zustand des Zellzyklusarrests

¹⁰⁸ Die umgebungsabhängige Bestimmung der Lokalisation ist ein weiteres Beispiel für eine zur Simulationszeit durch das CMS erzeugte Iteration über alle Nachbarzellen und die in dieser Iteration enthaltenen Modellelemente (Abbildung 4.23 [4], gelb hinterlegter Bereich).

verlässt, skaliert werden kann (Abbildung 4.23 [3]). Dies spielt aber im Kontext des Reepithelialisierungsmodells nur eine geringe Rolle und ist lediglich aufgrund des Erhalts dieser Skalierungsmöglichkeit für zukünftige Modellanwendungen beibehalten worden.

Mitose- und Zellteilungsmodell

Der Aufruf des Submodells *Mitosis*, das sich FDC und BC, trotz unterschiedlicher Zellzyklus- bzw. Proliferationsmodelle teilen, führt zunächst zu einer Prüfung der Umgebungszelldichte (Abbildung 4.24). Über den Ausgabeparameter *hasCollision* des biomechanischen Modells wird signalisiert, ob eine signifikante Kollision mit einer benachbarten Zelle vorliegt. Ist dies der Fall, wird die Zellteilung aufgeschoben und die Zelle befindet sich im Zellzyklusarrest. Der Zähler, der der Erfassung der kollisionsfreien Zeit (in SiSt) einer konkreten Zelle dient, wird entsprechend zurückgesetzt (Abbildung 4.24 [1]). Liegt keine signifikante Kollision mit einer benachbarten Zelle vor und ist die Mindestdauer ohne Kollision erreicht, teilt sich eine FDC asymmetrisch in eine FDC und eine BC. Im Unterschied dazu teilt sich eine BC symmetrisch in zwei BCs.

Die initial zu Simulationsbeginn vorhandenen BCs werden in Anlehnung an den experimentell verwendeten Zelltracker, der entsprechend fluoresziert, grün eingefärbt (s. Abbildung 4.18). Auf der Basis der Grünfärbung der Mutterzelle wird ein dunkleres Grün für Mutter- und Tochterzelle berechnet und beiden Zellen zugewiesen. Dies bildet die experimentell beobachtete Abdunkelung des Zelltrackers durch Zellteilung und die damit einhergehende Verteilung der eingefärbten Zellbereiche auf Mutter- und Tochterzelle ab. In der Simulation des Modells erlaubt die Grünfärbung eine visuelle räumliche Verfolgung der Migration der initial vorhandenen BCs und deren Teilungshäufigkeit.

4.5 Generisches Chemotaxis-Modell

Als erster Anwendungsfall für das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte und in Abschn. 4.2.2 vorgestellte, gitterbasierte Zellmodell ist ein generisches stochastisches Chemotaxis-Modell erstellt worden (Abbildung 4.25). Das Submodell *Generic Cell Model* dieses grafischen CBM entspricht zusammen mit dem semantisch angekoppelten gitterbasierten BM einer zeitdiskreten, endlichen Markow-Kette 1. Ordnung. Das generische CBM abstrahiert, abgesehen von der Chemotaxis, von einem konkreten biologischen Kontext. Es soll als Schablone dienen, die mit Blick auf konkrete Fragestellungen angepasst und erweitert werden kann (s. Abschn. 4.6 u. 4.7). Das CBM ist sowohl an die zwei- wie dreidimensionale Variante des gitterbasierten Zellmodells gekoppelt und mit der Simulationsumgebung (SE) simuliert worden (s. Abschn. 5.3).

Die Werte der Modellparameter des generischen Chemotaxis-Modells sind in den Tabellen E.8 bis E.10 im Anhang E aufgeführt. Die Modellparameter wie auch die Parametrisierung des definierten extrazellulären Diffusionsfelds sind mit Fokus auf eine möglichst zeiteffiziente Simulation des Modells gewählt worden und müssen kontextbezogen angepasst werden.

Im Modell werden migrierende Zellen (*CT_Cell*) mit variabler und sekretorische Zellen (*CT_SecretionCell*) mit statischer Position unterschieden. Die sekretorischen Zellen bauen vermittels der Funktion *SendDF* des GMS und den dahinterstehenden Basismodellen der Simulationsumgebung (s. Abschn. 4.1.2) einen Stoffkonzentrationsgradienten auf (Abbildung 4.25 [2]). Dieser entspricht, bezogen auf die migrierenden Zellen, einem Chemo-Attractant, dessen Diffusion im DF¹⁰⁹ *DF_Chemokine* simuliert wird. Die

¹⁰⁹ Die einem DF zugrundeliegenden Modellannahmen und Modelle werden ausführlich in Abschn. 4.1.2 beschrieben.

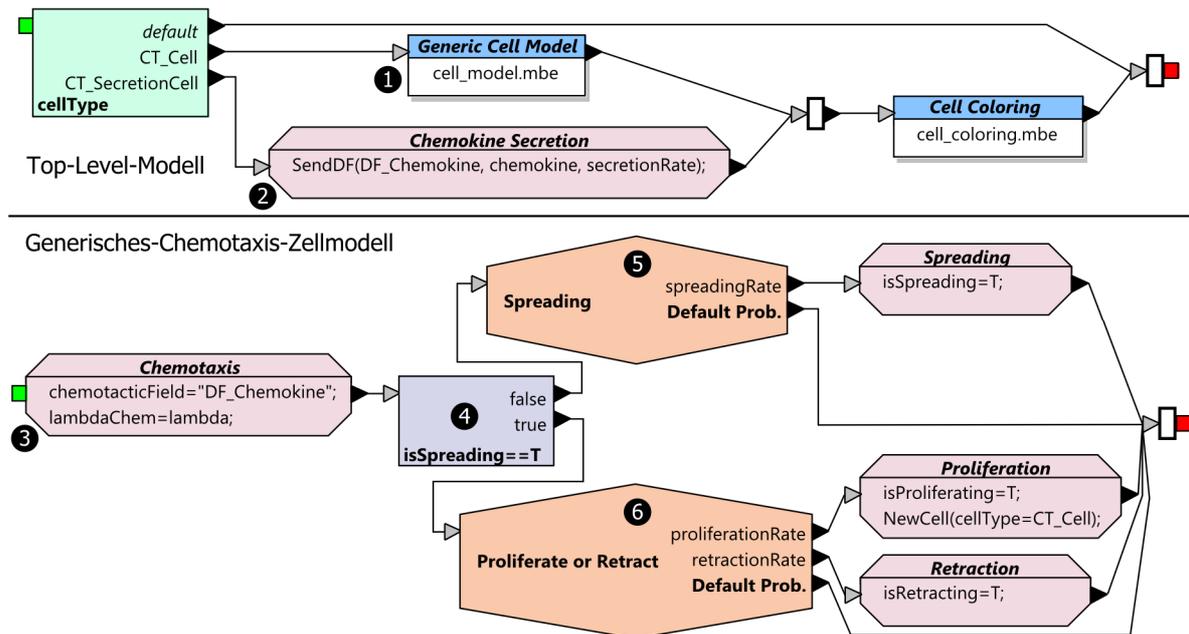


Abbildung 4.25: Generisches Chemotaxis-Modell. Das Verhalten der migrierenden Zellen ist im Submodell *Generic Cell Model* abgebildet (1). Die sekretorischen Zellen besitzen eine statische Position und bauen über die Zeit einen Stoffkonzentrationsgradienten über das extrazelluläre Diffusionsfeld *DF_Chemokine* auf (2). Das Migrationsverhalten einer Zelle des Typs *CT_Cell* wird an das Diffusionsfeld *DF_Chemokine* gekoppelt, dessen Stoffkonzentrationsgradient die Zellmigrationsrichtung im Sinne positiver Chemotaxis beeinflusst (3). Befindet sich eine Zelle dieses Typs im Grundzustand (4), geht sie mit der Wahrscheinlichkeit *spreadingRate* in den Zustand der Ausdehnung über (5). Ausgehend von diesem Zustand (4) teilt sich eine Zelle mit Wahrscheinlichkeit *proliferationRate* bzw. zieht sich mit Wahrscheinlichkeit *retractionRate* auf eine der beiden belegten Gitterzellen zurück (6).

Kopplung der migrierenden Zellen an das DF erfolgt über den Parameter *chemotacticField* des BM (Abbildung 4.25 [3]). Der Stoffkonzentrationsgradient im DF beeinflusst die Zellmigrationsrichtung, wie erwähnt, im Sinne positiver Chemotaxis, so dass eine Migration der Zellen in Richtung der sekretorischen Zellen zu erwarten ist.

Die Schritte 4 bis 6 in Abbildung 4.25 entsprechen der Umsetzung des in Abbildung 4.5 dargestellten stochastischen Modells mit den Mitteln der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache des entwickelten GMS.

Im Unterschied zu der Darstellung in Abbildung 4.5 haben die beiden von einer Zelle im Zustand der Ausdehnung belegten Gitterzellen nicht die gleiche Wahrscheinlichkeit, bei der Retraction der Zelle berücksichtigt zu werden. Für jede Gitterzelle wird, wie in Abschn. 4.2.2 beschrieben, ein stoffkonzentrationsabhängiges Gewicht auf Basis des angekoppelten extrazellulären DF berechnet. Im vorliegenden Modell wird jene Gitterzelle bevorzugt ausgewählt, die eine höhere Konzentration des Stoffs aufweist.

4.6 Bakterien-Makrophagen-Modell

Das Bakterien-Makrophagen-Modell ist der erste realisierte Spezialfall des generischen Chemotaxis-Zellmodells. Die Werte der verwendeten Modellparameter und die Parametrisierung der extrazellulären Diffusionsfelder sind in den Tabellen E.11 bis E.13 im Anhang E aufgeführt. Die Simulationsergebnisse sind Gegenstand von Abschn. 5.4.

Das Bakterien-Makrophagen-Modell ist mit Blick auf die Grundkonzeption und die Parametrisierung an ein Modell angelehnt, das als Anwendungsbeispiel von dem Modellierungs- und Simulationssystem CompuCell3D bereitgestellt wird (Swat et al. 2009). Wesentlicher inhaltlicher Unterschied zwischen den Realisierungen ist das zugrunde liegende Zellmodell. Während bei CompuCell3D das Cellular-Potts-Modell (s. Abschn. 2.2.1) verwendet wird, kommt hier das entwickelte gitterbasierte Zellmodell (s. Abschn. 4.2.2) zur Anwendung. Abgebildet wird in beiden Modellen die Verfolgung eines Bakteriums durch einen Makrophagen. Inspiriert ist das Modell durch das bekannte Video von David Rogers aus den 1950er Jahren, in dem ein neutrophiler Granulozyt ein Bakterium verfolgt, das scheinbar zu entkommen versucht (Hofkin 2010; Swat et al. 2009). Das Modell berücksichtigt in der Grundversion keine Unterschiede zwischen Makrophagen und Neutrophilen, so dass dieses auf dieser Abstraktionsebene als repräsentativ für beide Immunzelltypen betrachtet werden kann. Im Wesentlichen werden jene Mechanismen mittels des entwickelten CMS abgebildet, die zum Verfolgen einer Zelle durch eine zweite Zelle führen, vor der erstere wiederum zu entkommen versucht. Dies wird wie bei CompuCell3D mit zwei DF realisiert, von denen das eine zur Anziehung von Makrophagen und das andere zur Abstoßung von Bakterien führt. Die Verfolgung des Bakteriums durch den Makrophagen ist für sich betrach-

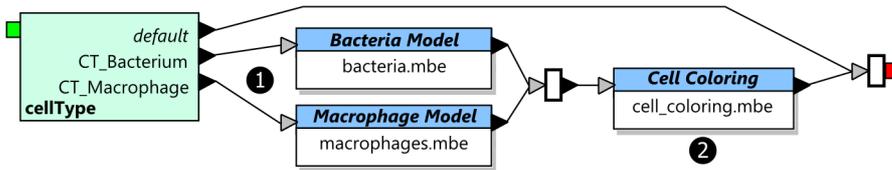
tet jedoch ein emergentes Ergebnis, das aus der Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells resultiert.

Im Gegensatz zum generischen Chemotaxis-Zellmodell befinden sich die Zellen, die mittels der DF die extrazellulären Stoffkonzentrationsgradienten aufbauen, nicht an einer statischen Position. Die Bewegung der migrierenden Zellen im generischen Chemotaxis-Zellmodell entspricht einem *Biased Random Walk*, bei dem die migrierenden Zellen den Gradienten nicht beeinflussen (Alt 1980). Beim Bakterien-Makrophagen-Modell hingegen entspricht die Zellbewegung einem *Reinforced Random Walk* (Codling et al. 2008; Davis 1990), bei dem die Zellen die sie beeinflussende Umgebung verändern¹¹⁰. Mit dem Bakterien-Makrophagen-Modell soll hauptsächlich die Abbildbarkeit dieser Form der Zellbewegung mittels des entwickelten CMS demonstriert werden.

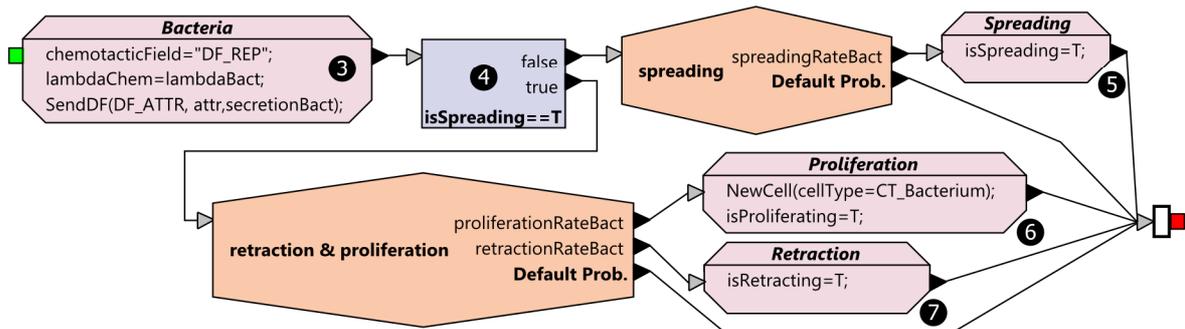
Abbildung 4.26 zeigt das Bakterien-Makrophagen-Modell in der Grundversion. Das Bakterien- wie das Makrophagen-Submodell ist, bezogen auf die Schritte 4 bis 7, eine direkte Adaption des generischen Chemotaxis-Zellmodells. Es sind lediglich die Wahrscheinlichkeiten für Ausdehnung, Retraktion sowie Proliferation angepasst worden. In der Grundversion sind die Ausdehnungs- und Retraktionswahrscheinlichkeiten so gewählt, dass die zu erwartende Migrationsgeschwindigkeit für Bakterien wie Makrophagen bei ca. 1,4 $\mu\text{m}/\text{min}$ liegt, wenn man von einem reinen *Random Walk* ohne Beeinflussung der Zellmigrationsrichtung ausgeht. Diese Geschwindigkeit liegt für Makrophagen in einem realen Bereich (Pixley 2012), für Bakterien ist diese Migrationsgeschwindigkeit jedoch deutlich zu niedrig. Diese wird in der

¹¹⁰ Im strengen Sinne trifft dies jedoch nur auf die erweiterte Version des Bakterien-Makrophagen-Modells zu, in dem Makrophagen das DF, das ihre Bewegungsrichtung beeinflusst, tatsächlich verändern.

Top-Level-Modell



Bakterien-Modell



Makrophagen-Modell

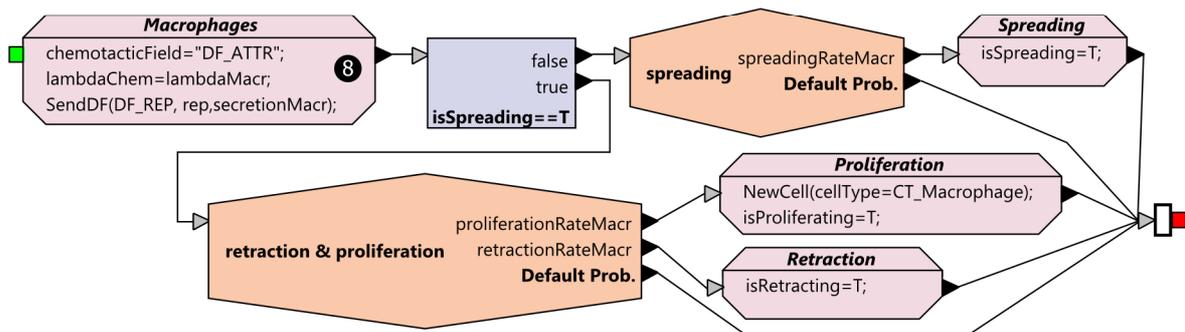


Abbildung 4.26: Bakterien-Makrophagen-Modell. Im Top-Level-Modell wird für Bakterien und Makrophagen auf die jeweiligen Submodelle verzweigt (1), um anschließend das Zelleinfärbungsmodell aufzurufen (2). Bakterien- wie Makrophagen-Modell sind bis auf die Wahrscheinlichkeiten für Ausdehnung, Retraktion und Proliferation in den Schritten 4 bis 7 identisch. Beide Modelle sind eine direkte Adaption des generischen Chemotaxis-Zellmodells aus Abbildung 4.25. Der wesentliche Unterschied zwischen den beiden Modellen besteht in den initialen Aktionen (3, 8). Die Zellmigrationsrichtung der Bakterien wird durch das Diffusionsfeld DF_REP beeinflusst (3), in das die Makrophagen einen Stoff sezernieren (8), der auf die Bakterien als Repellent wirkt. Analog besteht eine Beeinflussung der Zellmigrationsrichtung der Makrophagen durch das Diffusionsfeld DF_ATTR , in das die Bakterien einen Stoff sezernieren, der Makrophagen in seiner Funktion als Attractant anzieht.

erweiterten Version des Bakterien-Makrophagen-Modells angepasst. In der Grundversion des Modells ist aufgrund der anschaulicheren Demonstration (s. Abschn. 5.4) der Realisierbarkeit eines Verfolgungsmechanismus die Modellannahme gleicher Migrationsgeschwindigkeit beibehalten worden.

Der Verfolgungsmechanismus ist im Modell wie bei Swat et al. folgendermaßen realisiert

(Swat et al. 2009): Bakterien sezernieren einen Stoff, der als Attractant auf Makrophagen wirkt (Abbildung 4.26 [3]), während Makrophagen analog hierzu einen Stoff sezernieren, der als Repellent auf Bakterien wirkt (Abbildung 4.26 [8]). Ferner wird die Zellmigrationsrichtung der Bakterien durch das Diffusionsfeld DF_REP beeinflusst, dessen Stoffgradient durch die Makrophagen aufgebaut wird. Umgekehrt gilt dies für das

Makrophagen-Aktivierungsmodell

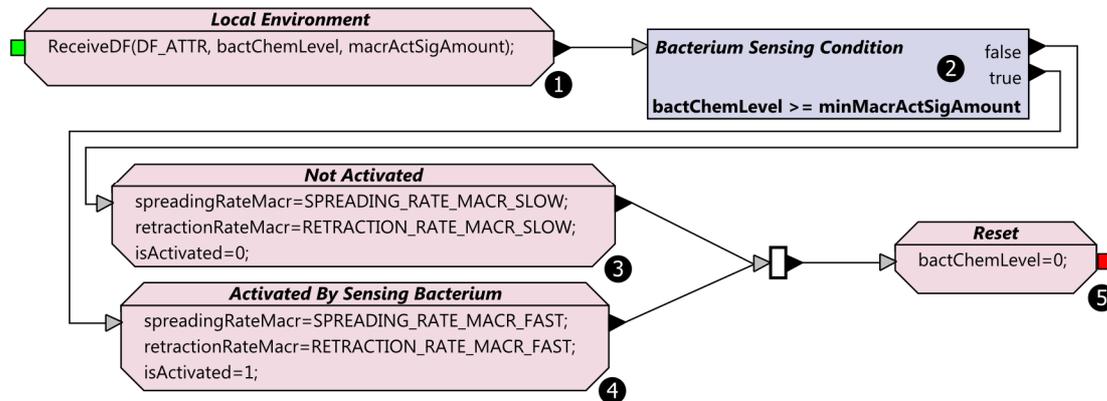


Abbildung 4.27: Submodell Aktivierung von Makrophagen. Ein Makrophage versucht die Menge *macrActSigAmount* des Stoffs des Diffusionsfelds *DF_ATTR* zu absorbieren. Gelingt ihm dies (2), so geht er in den aktivierten Zustand über, was zu erhöhter Migrationsgeschwindigkeit führt (4). Ausgehend vom aktivierten Zustand reduziert der Makrophage die Geschwindigkeit wieder, wenn die Mindeststoffkonzentration in der unmittelbaren Zellumgebung nicht ausreichend für die Aufrechterhaltung des aktivierten Zustands ist (3). Die tatsächlich absorbierte Stoffmenge wird der Zelleigenschaft *bactChemLevel* zugewiesen, die am Ende des Submodells zurückgesetzt wird (5).

Diffusionsfeld *DF_ATT* in Bezug auf Makrophagen. Positive Chemotaxis von Makrophagen in Bezug auf *DF_ATT* wird durch einen positiven Wert von *lambdaMacr* erreicht. Entsprechend wurde zum Erzeugen negativer Chemotaxis für Bakterien ein negatives *lambdaBact* gewählt. Die negative Chemotaxis in Bezug auf Bakterien ist in diesem Zusammenhang ein Hilfskonstrukt. Zwar kann bspw. das Bakterium *S. epidermidis* mittels des *antimicrobial peptide sensor* der Phagozytose durch neutrophile Granulozyten entgehen (Cheung et al. 2010), der scheinbare Versuch des Entkommens durch das Bakterium im erwähnten Video von David Rogers wird jedoch der Beeinflussung der Bewegungsrichtung durch thermische Energie zugeschrieben (Hofkin 2010). Aus diesem Grund ist die anziehende Wirkung des Stoffkonzentrationsgradienten des Diffusionsfelds *DF_ATTR* um Faktor zehn stärker gewichtet worden als die abstoßende Wirkung von *DF_REP*¹¹¹.

¹¹¹ Eine entsprechende Gewichtung findet sich auch bei Swat et al. (Swat et al. 2009).

Erweitertes Bakterien-Makrophagen Modell

In einer Erweiterung des Bakterien-Makrophagen-Modells ist die Ausdehnungs- bzw. Retraktionswahrscheinlichkeit der Bakterien angepasst worden, so dass eine Migrationsgeschwindigkeit von ca. 105 $\mu\text{m}/\text{min}$ bei einem Random Walk erwartet werden kann. Dies liegt in einem Bereich, der bei sich vergleichsweise langsam fortbewegenden Bakterien ohne Flagellum beobachtet worden ist (Dunker et al. 2010; Kendall 2001). Darüber hinaus dient die Erweiterung der Demonstration, wie mit den Mitteln des GMS eine Verhaltensänderung einer Zelle in Bezug auf einen sie umgebenden Stoffkonzentrationsgradienten abgebildet werden kann.

Als Beispiel für eine solche Verhaltensänderung dient hier die Aktivierung von Makrophagen durch *Colony-stimulating factor-1* (CSF-1), der eine Erhöhung von deren Migrationsgeschwindigkeit auf bis zu 10 $\mu\text{m}/\text{min}$ bewirkt (Pixley 2012). Die Makrophagen-Aktivierung ist in einem eigenen Submodell realisiert worden (Abbildung 4.27), das dem ersten Modellelement des Makrophagen-Modells in Abbildung 4.26

vorgesaltet wird. Im Submodell wird CSF-1 durch den von Bakterien sezernierten Stoff repräsentiert, dessen Ausbreitung und Zerfall durch das Diffusionsfeld *DF_ATTR* simuliert wird. Ein Makrophage prüft in jedem Simulationsschritt, ob in seiner unmittelbaren Zellumgebung eine signifikante Konzentration dieses Stoffs existiert (Abbildung 4.27 [1]). Dies geschieht mittels der Funktion *ReceiveDF*, mit der der Makrophage versucht, eine Mindestmenge *macrActSigAmount* des Stoffs zu absorbieren. Konnte diese Menge absorbiert werden, erhöht er seine Migrationsgeschwindigkeit durch Anpassung der Ausdehnungs- und Retraktionswahrscheinlichkeiten (Abbildung 4.27 [4]). Umgekehrt wird ausgehend vom aktivierten Zustand die Migrationsgeschwindigkeit verringert, wenn die absorbierte Stoffmenge unterhalb der definierten Mindestmenge liegt (Abbildung 4.27 [3]).

4.7 T-Zell-Migrationsmodell

Das T-Zell-Migrationsmodell ist in Zusammenarbeit mit Dr. Niels Halama vom Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg entstanden. Dr. Halama führte mit der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten SE die Simulationen des zuvor kooperativ erstellten Modells durch. Die in Abschn. 5.5 dargestellten und beschriebenen Ergebnisse der Modellsimulation sind durch Dr. Halama zur Verwendung in dieser Arbeit freundlicherweise zur Verfügung gestellt worden. Die Werte der in diesem Modell verwendeten Parameter finden sich in den Tabellen E.14 bis E.16 im Anhang E.

Der erweiterte Forschungskontext dieses Modells ist die systembiologische Untersuchung der invasiven Grenzregion zwischen Lebermetastasen und gesundem Lebergewebe (engl. *invasive*

margin) bei kolorektalem Primärtumor. Dabei liegt ein Fokus auf der Analyse der räumlichen Dichte und Verteilung von CD4⁺- (*cluster of differentiation* 4) und CD8⁺-positiven T-Lymphozyten in dieser Grenzregion, da diese Zellen, so ein Ergebnis der Forschungsarbeiten, eine tumorbegünstigende Rolle einnehmen können und damit von prognostischer Relevanz sind. Den Chemokin-Liganden CXCL9 bzw. CXCL10 der CXC-Chemokin-Familie ist eine Wirkung als Chemo-Attractor für T-Zellen experimentell nachgewiesen worden. Hierzu wurden T-Zellen auf einer Matrigel-Oberfläche aufgebracht, die einen entsprechenden CXCL9/CXCL10 Gradienten aufwies. Anschließend wurde die räumliche Verteilung der Zellen nach 48 Stunden erfasst.

Mit dem *in silico* T-Zell-Migrationsmodell sollte nun die Migration der T-Zellen in einem chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten über einen längeren Zeitraum simuliert werden. Ziel war die Ermittlung der aus der angenommenen Dichte der sekretorischen Zellen, die den Stoffkonzentrationsgradienten erzeugen, resultierende räumliche Verteilung der T-Zellen, die als emergentes Ergebnis aus der Modellsimulation hervorgeht.

Das in Abbildung 4.28 dargestellte Modell ist dem in Abschn. 4.5 beschriebenen generischen Chemotaxis-Modell sehr ähnlich. Auch hier wird eine stationäre, immotile Population sekretorischer Zellen angenommen, die den Chemokin-Gradienten aufbauen. Im Vergleich zum generischen Chemotaxis-Modell ist die räumliche Anordnung der migrierenden (T-)Zellen und der sekretorischen Zellen verschieden und der unmittelbaren Grenzschicht zwischen Lebermetastase und gesunder Leber nachempfunden. Ferner kann die Dichte der sekretorischen Zellen, die entlang dieser Grenzschicht positioniert sind,

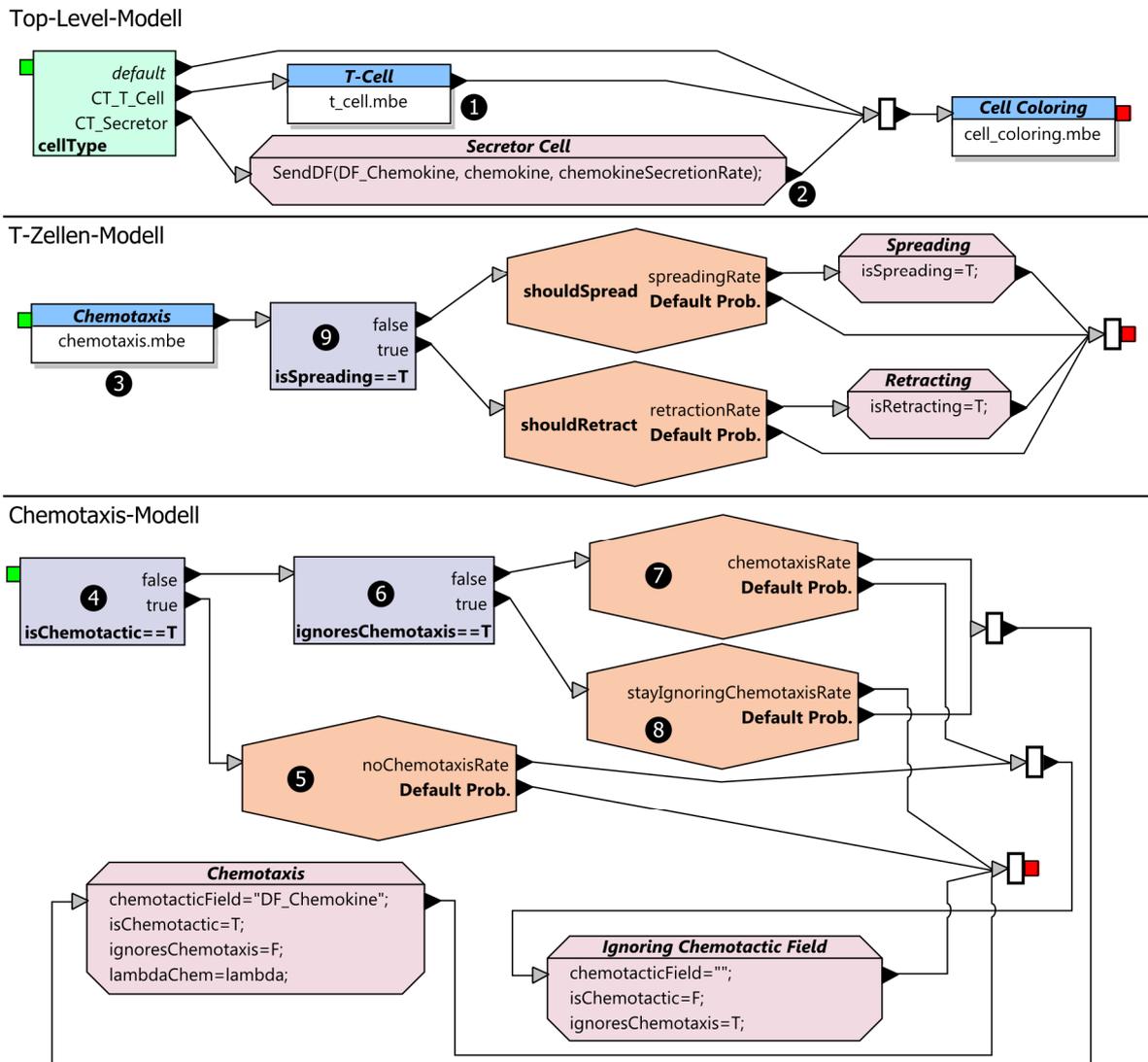


Abbildung 4.28: Stochastisches T-Zell-Migrationsmodell. Im Top-Level-Modell wird zwischen sekretorischen Zellen, die einen Chemokin-Gradienten durch Sezernierung eines entsprechenden Stoffs *chemokine* in das Diffusionsfeld *DF_Chemokine* aufbauen (2), und migrierenden T-Zellen unterschieden (1). Das T-Zell-Submodell entspricht ab Schritt 9 dem generischen Chemotaxis-Modell aus Abschn. 4.5, jedoch ohne Berücksichtigung von Zellproliferation. Die Chemotaxis von T-Zellen ist in einem eigenen Submodell realisiert worden (3). In diesem wird zunächst zwischen T-Zellen, die chemotaktische Zellmigration zeigen, und jenen, die das nicht tun, unterschieden (4). Die Zellen, die auf das chemotaktische Signal entsprechend mit gerichteter Zellmigration reagieren, gehen mit Wahrscheinlichkeit *noChemotaxisRate* dazu über, dieses zu ignorieren (5). T-Zellen, die nicht auf das chemotaktische Signal reagieren (4) und dieses ignorieren (6), bleiben mit Wahrscheinlichkeit *stayIgnoringChemotaxisRate* in diesem Zustand (8). Jene Zellen, die nicht auf das chemotaktische Signal reagieren und sich nicht im Zustand der *Chemotaxis-Ignorierung* befinden, reagieren mit Wahrscheinlichkeit *chemotaxisRate* fortan auf das vom Stoffkonzentrationsgradienten ausgehende Signal (7).

variiert werden¹¹². Die sekretorischen Zellen erzeugen über Sezernierung eines Chemokins in ein Diffusionsfeld einen Stoffkonzentrationsgradienten, auf den die Zellen mit positiver Chemotaxis reagieren (Abbildung 4.28 [2]).

Hierzu muss die chemotaktische Zellmigration der T-Zellen zunächst aktiviert werden (Abbildung 4.28 [4-7]). Ist eine T-Zelle in diesem Sinn aktiviert, dann besteht eine 5%-Wahrscheinlichkeit, dass sie beginnt, das chemotaktische Signal zu ignorieren (Abbildung 4.28 [5]). T-Zellen, die diesen Zustand der *Chemotaxis-Ignorierung* einmal eingenommen haben, behalten diesen mit einer 80%-Wahrscheinlichkeit bei (Abbildung 4.28 [6,8]). Die zuvor genannten Wahrscheinlichkeiten entsprechen aus Literaturangaben abgeleiteten Schätzwerten (Franitza et al. 1999). Die Wahrscheinlichkeiten für Zellausdehnung und -retraktion, die ab Schritt 9 im Modell zum Tragen kommen (Abbildung 4.28 [9]), sind so gewählt, dass sich eine ungefähre Migrationsgeschwindigkeit für T-Zellen von 10 $\mu\text{m}/\text{min}$ ergibt (Katakai et al. 2013; Miller et al. 2003).

4.8 Zusammenfassung

Die als Teil dieser Arbeit entwickelten *in silico* Modelle gliedern sich in: (i.) Basismodelle für den Austausch und die Diffusion-Reaktion von Stoffen, (ii.) biomechanische Modelle und (iii.) (multiskalierte) multizelluläre (Gewebe-) Modelle. Letztere sind unter Verwendung der Basismodelle, je eines der biomechanischen Modelle und der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache sowie des entwickelten GMS realisiert worden.

Die *Basismodelle* sind dynamisch austauschbarer und erweiterbarer Bestandteil der entwickelten

SE. Diese Modelle werden über bereitgestellte Funktionen der Funktionsbibliothek des GMS in grafischen Zellverhaltensmodellen (CBMs) verwendet. Es sind Basismodelle für gerichteten *Stofftransport* und damit *Zell-Zell-Kommunikation* realisiert worden. Neben dem Stoffaustausch einer Zelle mit ihren unmittelbar benachbarten Zellen besitzt die Zelle die Möglichkeit, Stoffe zu absorbieren und zu sekretieren. Hierfür sind je ein Modell für zwei- wie dreidimensionale *extrazelluläre Räume*, ein *Sekretions- und Absorptionsmodell* sowie ein *Reaktions-Diffusions-Modell* realisiert worden. Mit letzterem wird die Diffusion und der Abbau / Zerfall eines Stoffs im extrazellulären Raum abgebildet und simuliert. Für extrazelluläre Räume können periodische, Dirichlet- und Neumann-Randbedingungen über die SE definiert werden.

Die entwickelten *biomechanischen Modelle* sind ebenfalls Bestandteil der SE, die so konzipiert ist, dass das Portfolio an BMs dynamisch erweitert werden kann. BMs werden über eine automatisch erzeugte MKK und das GMS semantisch mit einem CBM verbunden. Die Ein- und Ausgabeparameter eines BM werden so von einem CBM aus zugreifbar. Im Rahmen dieser Arbeit sind ein *gitterfreies* und ein *gitterbasiertes BM* entwickelt und jeweils eine zwei- wie dreidimensionale Variante desselben realisiert worden. Beim gitterfreien BM handelt es sich um ein *Zell-Zentrumsmodell*, in dem die Zellen durch Ellipsen bzw. Ellipsoide repräsentiert werden. Die zentralen Kräfte zwischen den Zellen sind in diesem Modell die Abstoßung im Falle hoher Zelldichte bzw. -überlappung und die Zell-Zell-Adhäsion. Die Zielgröße des Modells ist die Herbeiführung der optimalen Zelldistanz unter Berücksichtigung der zuvor genannten Kräfte. Das *gitterbasierte Zellmodell* ist aufbauend auf den Arbeiten von Fong et al. entstanden (Fong et al. 2010). Die Besonderheit dieses Modells ist, dass eine Zelle nicht nur eine, sondern im Zustand der Ausdehnung auch zwei Gitterzellen einnehmen kann.

¹¹² Die initiale räumliche Anordnung der Zellen ist in Abschn. 5.5 näher beschrieben.

Die Voraussetzung für Zellmigration sowie -teilung ist der Übergang einer Zelle aus dem Grundzustand in eben diesen Zustand der Ausdehnung. Das zweidimensionale Modell von Fong et al. mit einem hexagonalen Zellgitter ist auf den dreidimensionalen Fall mit einem kartesischen Zellgitter übertragen worden. Ferner ist das Modell um die *chemotaktische Beeinflussung der Zellmigration* durch extrazelluläre Stoffkonzentrationsgradienten erweitert worden.

Der erste realisierte Anwendungsfall für das entwickelte GMS unter Verwendung der zuvor beschriebenen Basismodelle und BMs ist die Reproduktion des von Grabe et al. veröffentlichten *Modells der humanen epidermalen Homöostase* (Grabe und Neuber 2005). Dieses Modell ist in der Lage die horizontale Stratifizierung der Epidermis in Homöostase auf Basis des emergent zur Simulationszeit entstehenden Ca^{2+} -Gradienten *in silico* zu reproduzieren. Das Modell ist mit dem GMS in hierarchisch miteinander verbundene Teilmodelle untergliedert worden, die das Verhalten eines Keratinozyten, dessen Zellzyklus, Differenzierung und Zellteilung sowie den transepidermalen Wasserfluss nebst damit assoziierten Fluss von Ca^{2+} -Ionen abbilden. Vom Zellzyklusmodell sind mehrere Varianten erstellt worden. Neben dem originalen Zellzyklusmodell sind dies multiskalierte Zellzyklusmodelle. Anhand Tysons Zellzyklusmodell (Tyson 1991) ist die Verwendung der SBML-Schnittstelle des GMS, die semantische Integration quantitativer subzellulärer Modelle in ein grafisches CBM und die (automatische) Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen der Modellebenen demonstriert worden. Ein weiteres Zellzyklusmodell zeigt die Möglichkeit der manuellen semantischen Integration kontinuierlicher Modelle in ein diskretes CBM unter Verwendung des Runge-Kutta-Verfahrens 4. Ordnung am Beispiel von Tysons Modell.

Das zweite entwickelte Gewebemodell ist ein qualitatives *in silico Modell der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden*. Dieses ist im Rahmen eines systembiologischen Forschungsprojekts

entstanden, in dem ein standardisiertes *in vitro* Wundmodell basierend auf 3D Vollhautkulturen etabliert wurde. Mit diesem *in vitro* Wundmodell ist dann die Reepithelialisierung der Wunde im zeitlichen Verlauf untersucht worden. Dies führte zur Postulierung eines neuen Reepithelialisierungsmechanismus, dessen theoretische Plausibilität mit dem entwickelten *in silico* Modell untermauert werden sollte. Dieses reproduziert den qualitativen Reepithelialisierungsverlauf in beliebiger zeitlicher Auflösung als emergentes Ergebnis der Modellsimulation (s. Abschn. 5.2). Im Rahmen der Modellerstellung ist das gitterfreie biomechanische Modell um die Zelladhäsion an der Basalmembran erweitert worden. Der generelle Modellaufbau orientiert sich an den experimentellen Ergebnissen. Im Wesentlichen besteht das CBM aus einem zelldifferenzierungsabhängigen Adhäsionsmodell, das eine qualitative Zell-Zell-Adhäsionsmatrix zur Grundlage hat, die sich aus der mechanischen Stabilität der Zell-Zell-Verbindungen basaler und suprabasaler Zellen ergibt. Neben dem Adhäsionsmodell wurde zudem ein deterministisches Zellzyklusmodell und ein stochastisches Proliferationsmodell für basale Zellen entwickelt.

Als erster Anwendungsfall für das *gitterbasierte BM* ist ein *generisches Chemotaxis-Modell* realisiert worden, das einer Markow-Kette 1. Ordnung entspricht. Dieses Modell dient als Schablone, die an konkrete Fragestellungen, die eine gerichtete Zellmigration in einem Stoffkonzentrationsgradienten im Blick haben, angepasst werden kann.

Das entwickelte *Bakterien-Makrophagen-Modell* ist die erste Adaption des generischen Chemotaxis-Modells. In letzterem Modell wird der Stoffkonzentrationsgradient, der die Zellmigration beeinflusst, von einer Population sekretorischer Zellen mit statischer Lokalisation aufgebaut. Im Bakterien-Makrophagen-Modell, in dem die Verfolgung eines Bakteriums durch einen Makrophagen abgebildet wird, ist die Stoffquelle motil. Makrophage wie Bakterium sekre-

tieren einen Stoff, für den neben einer Diffusions- auch eine Zerfallskonstante angenommen wird, so dass auch der Reaktionsterm der Reaktions-Diffusions-Gleichung zum Tragen kommt. Der vom Bakterium sekretierte Stoff hat anziehende Wirkung auf den Makrophagen, so dass dieser auf den vom sich bewegenden Bakterium erzeugten Stoffkonzentrationsgradienten mit positiver Chemotaxis reagiert. In einer Erweiterung des Bakterien-Makrophagen-Modells wird die Realisierung einer Zellzustandsänderung auf Basis extrazellulärer Stoffkonzentrationen demonstriert.

Schließlich ist als zweite Adaption des generischen Chemotaxis-Modells in Zusammenarbeit mit Dr. Niels Halama vom Nationalen Centrum

für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg ein *T-Zell-Migrationsmodell* entstanden. Dieses bildet die Migration von T-Zellen in der Grenzregion von Lebermetastase zu gesunder Leber bei kolorektalem Primärtumor ab. In der Grenzregion wird eine Population sekretorischer Zellen mit variabler Zelldichte angenommen. Diese Zellen sekretieren einen Chemo-Attractant für T-Zellen. Ein gewisser Prozentsatz der T-Zellen reagiert auf den sich ausbildenden Stoffkonzentrationsgradienten mit positiver Chemotaxis. Von Interesse war in diesem Kontext die sich während der Modellsimulation emergent ergebende räumliche Verteilung der T-Zellen in Abhängigkeit von der Zelldichte der sekretorischen Zellen.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

Dieses Kapitel umfasst die Simulationsergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten *in silico* (Gewebe-) Modelle. Die in Kapitel 4 vorgestellten grafischen Zellverhaltensmodelle sind Anwendungsfälle der angebotenen technischen und methodischen Infrastruktur des *grafischen Modellierungssystems* (GMS) des entwickelten *computergestützten Modellierungs- und Simulationssystems* (CMS). Die hier vorgestellten Ergebnisse sind Resultat der (multiskalierten) multiagentenbasierten Simulation dieser Modelle mit den Mitteln der entwickelten *Simulationsumgebung* (SE) dieses CMS.

Jede Modellsimulation ist für sich genommen ein Anwendungsfall der SE mit Blick auf die Möglichkeiten zur Gewebevisualisierung sowie Simulationsdatenextraktion, -datenvorverarbeitung und -datenexport. Die in diesem Kapitel abgebildeten *Gewebevisualisierungen* entstammen sämtlich einem direkten Bildexport aus der SE. Die *Diagramme* sind auf der Grundlage von mit der SE definierten und erzeugten *Datenexporten* erstellt worden. An dieser Stelle fanden die entwickelten und bereitgestellten *Datenauswertungsalgorithmen* Verwendung. Wiederholte Modellsimulationsläufe sind in größerer Zahl unter Nutzung der *Konfigurations-* und *Konsolenschnittstelle* der SE auf einem Rechencluster durchgeführt worden¹¹³.

¹¹³ In Abschn. 3.2.2 wird auf die Simulationsumgebung EPISIM Simulator und deren Möglichkeiten in Bezug auf die Durchführung und Auswertung von multiskalierten multiagentenbasierten (Gewebe-) Simulationen ausführlich eingegangen.

5.1 Simulation der humanen epidermalen Homöostase

Im Folgenden werden die Simulationsergebnisse des in Abschn. 4.3 beschriebenen *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase behandelt, das den ersten Anwendungsfall für das entwickelte CMS darstellt. Das Modell ist mit Blick auf die folgenden wesentlichen Ziele simuliert worden:

1. Reproduktion der Simulationsergebnisse des von Grabe et al. veröffentlichten zweidimensionalen Modells der epidermalen Homöostase mit dem CMS (Grabe und Neuber 2005)
2. Erweiterung dieses Modells von zwei auf drei Dimensionen durch Kopplung des grafischen Zellverhaltensmodells (CBM) an das dreidimensionale Zellzentrums-Modell der SE und Demonstration, dass CBMs wiederverwendet und CBM bzw. BM potentiell in loser Kopplung getrennt entwickelt und erstellt werden können.
3. Charakterisierung der Unterschiede zwischen 2D und 3D Modellsimulation in Bezug auf die sich ergebende epidermale Homöostase sowie Gewebekinetik
4. Untersuchung des Einschwingvorgangs des Modells in die Homöostase und sich ergebende homöostatische Unterschiede in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran der *in silico* Epidermis

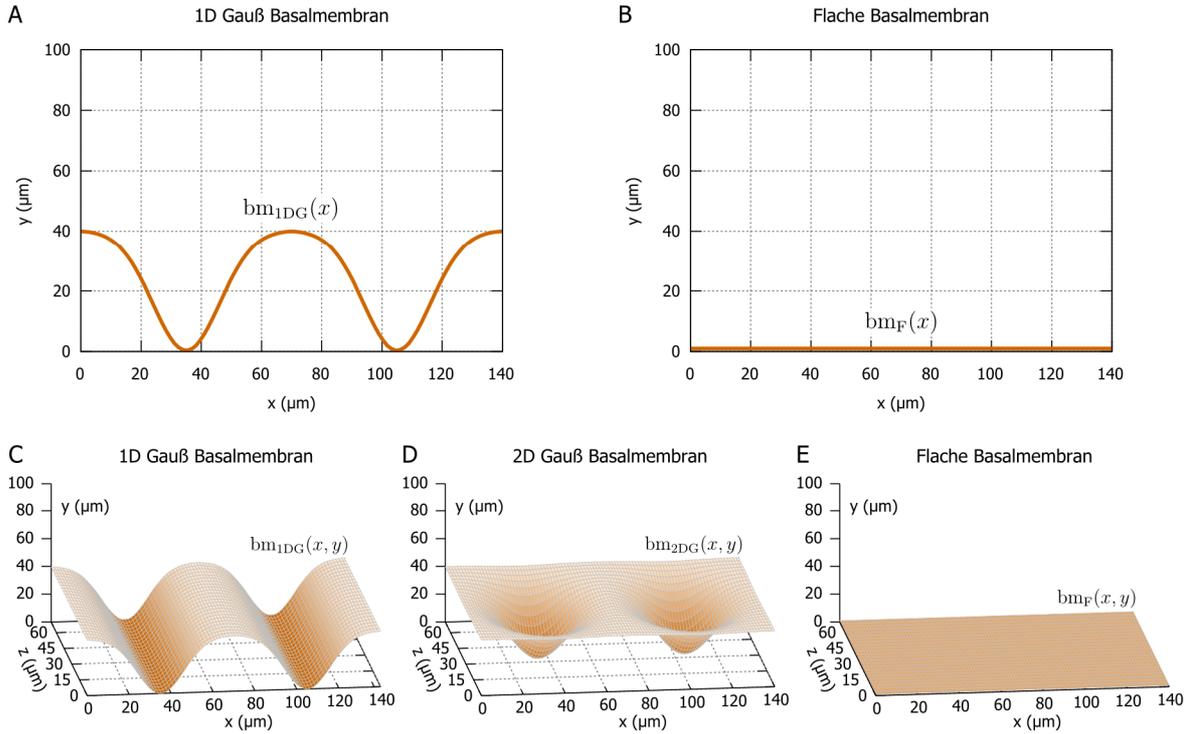


Abbildung 5.1: Simulierte Basalmembranformen der *in silico* Epidermis. Abbildung der Basalmembran und der Reteleisten durch eine eindimensionale Gauß-Funktion in der zweidimensionalen Simulation (A) und dreidimensionalen Simulation (C). Zweidimensionale (B) und dreidimensionale (E) Basalmembran ohne Reteleisten. (D) Modellierung der Reteleisten der dreidimensionalen Basalmembran mit einer zweidimensionalen Gauß-Funktion.

$$bm_{1DG}(x) = bm_{1DG}(x, y) = A - A \exp\left(-\left(x - \left\lfloor \frac{x}{P} \right\rfloor P - \frac{P}{2}\right)^2 \frac{1}{W}\right) \quad (4.1)$$

$$bm_{2DG}(x, y) = A - A \exp\left(-\left(\left(x - \left\lfloor \frac{x}{P} \right\rfloor P - \frac{P}{2}\right)^2 + \left(y - \left\lfloor \frac{y}{P} \right\rfloor P - \frac{P}{2}\right)^2\right) \frac{1}{W}\right) \quad (4.2)$$

$$bm_F(x) = bm_F(x, y) = 0 \quad (4.3)$$

5. Demonstration der Durchführbarkeit von multiskalierten multizellulären Gewebesimulationen und der damit verbundenen automatischen semantischen Modellintegration durch das entwickelte CMS am Beispiel der in Abschn. 4.3.2 vorgestellten multiskalierten Zellzyklusmodelle

Mit Blick auf das erste Ziel sind das Zellverhaltensmodell wie das biomechanische Modell mit den entsprechend von Grabe et al. verwendeten

Werten parametrisiert worden (Grabe und Neuber 2005). Die Parameterwerte sind in den Tabellen E.1 bis E.3 im Anhang E aufgeführt.

Basalmembranformen

Die Basalmembran dient im Rahmen des *in silico* Epidermis-Modells als untere Beschränkung der Zellbewegung in y-Richtung. Diese untere Grenze berechnet sich im zweidimensionalen Fall nach Gleichung (3.85) und im dreidimensionalen Fall nach Gleichung (3.86). In diese Gleichungen

geht die Funktion $bm(x)$ bzw. $bm(x, y)$ ein, die ein Modell der Basalmembranform darstellt. Abbildung 5.1 zeigt die mit Blick auf das vierte Ziel gewählten Basalmembranformen in 2D und 3D, die sich aus den Gleichungen (4.1) bis (4.3) ergeben (Parameterwerte siehe Tabelle E.3).

Die flache Basalmembranform wurde gewählt, weil die experimentell verwendeten *in vitro* Vollhautkulturen keine Reteleisten aufweisen (Hayden et al. 2009). Auf den verschieden geformten Basalmembranen werden zu Simulationsbeginn Stammzellen an fixen Positionen unter Einhaltung des Mindestabstands von zwei Zelldurchmessern platziert. Im Fall der Basalmembranen mit Reteleisten werden Stammzellen nur innerhalb derselben ab einer Mindstdifferenz von 2% zur Höhe des Plateaus der dermalen Papillen positioniert (Webb et al. 2004).

Simulationsdurchführung

Das in Abschn. 4.3 beschriebene grafische CBM der humanen epidermalen Homöostase ist unverändert¹¹⁴ an die zwei- und anschließend an die dreidimensionale Variante des gitterfreien Zell-Zentrumsmodell gekoppelt und mit dem GMS jeweils separat in ein Modellarchiv übersetzt worden. Diese beiden Modellarchive bildeten die Grundlage für die zwei- und dreidimensionale (multiskalierte) Gewebesimulation des Modells mit der SE unter Verwendung der zuvor beschriebenen unterschiedlichen Basalmembranformen. Insgesamt ist das Modell somit in fünf verschiedenen räumlichen Konfigurationen (zwei 2D und drei 3D Simulationen) für jeweils 10.000 Simulationsschritte simuliert worden, was einer Realzeit von 5.000 Stunden entspricht. Die in Abschnitten 5.1.1 bis 5.1.4 dargestellten Ergebnisse sind Resultat dieser Simulationsläufe, die je

nach Datenauswertung wiederholt durchgeführt wurden.

5.1.1 Epidermale *in silico* Gewebemorphologie

Die epidermale *in silico* Gewebemorphologie ist ein emergentes Ergebnis der multiagentenbasierten Modellsimulation und somit eine wesentliche komplexe Ausgabegröße des Gewebemodells als solches. Abbildung 5.2 zeigt die finale Gewebemorphologie der *in silico* Epidermis nach 10.000 Simulationsschritten (SiSt). Alle Simulationsläufe ergaben unabhängig von der Form der Basalmembran oder der Dimensionalität des multizellulären Raums die charakteristische horizontale Stratifizierung der Epidermis¹¹⁵. Qualitativ ergeben sich auf Basis desselben CBMs keine morphologischen Unterschiede zwischen 2D Gewebesimulation (Abbildung 5.2 [A, B]) und 3D Gewebesimulation (Abbildung 5.2 [C–E]). Ferner konnte die von Grabe et al. erhaltene 2D Gewebemorphologie (Grabe und Neuber 2005) mit dem CMS reproduziert werden (Abbildung 5.2 [A]).

Tabelle 5.1: Homöostatische Gewebedicke der *in silico* Epidermis. Die Gewebedicke entspricht dem 95%-Quantil der y -Koordinaten der betrachteten Zellen des Gewebes.

Simulationslauf – Form der Basalmembran	95%-Quantil der y -Koordinaten
Epidermis 2D – 1D Gauß	56 μm
Epidermis 2D – flach	38 μm
Epidermis 3D – 1D Gauß	55 μm
Epidermis 3D – 2D Gauß	62 μm
Epidermis 3D – flach	31 μm

¹¹⁴ Der einzige anzupassende Parameter war die Ca^{2+} -Absorption der basalen Zellen. Hierauf wird in Abschn. 5.1.2 näher eingegangen.

¹¹⁵ Näheres hierzu siehe Abschn. 2.1.4.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

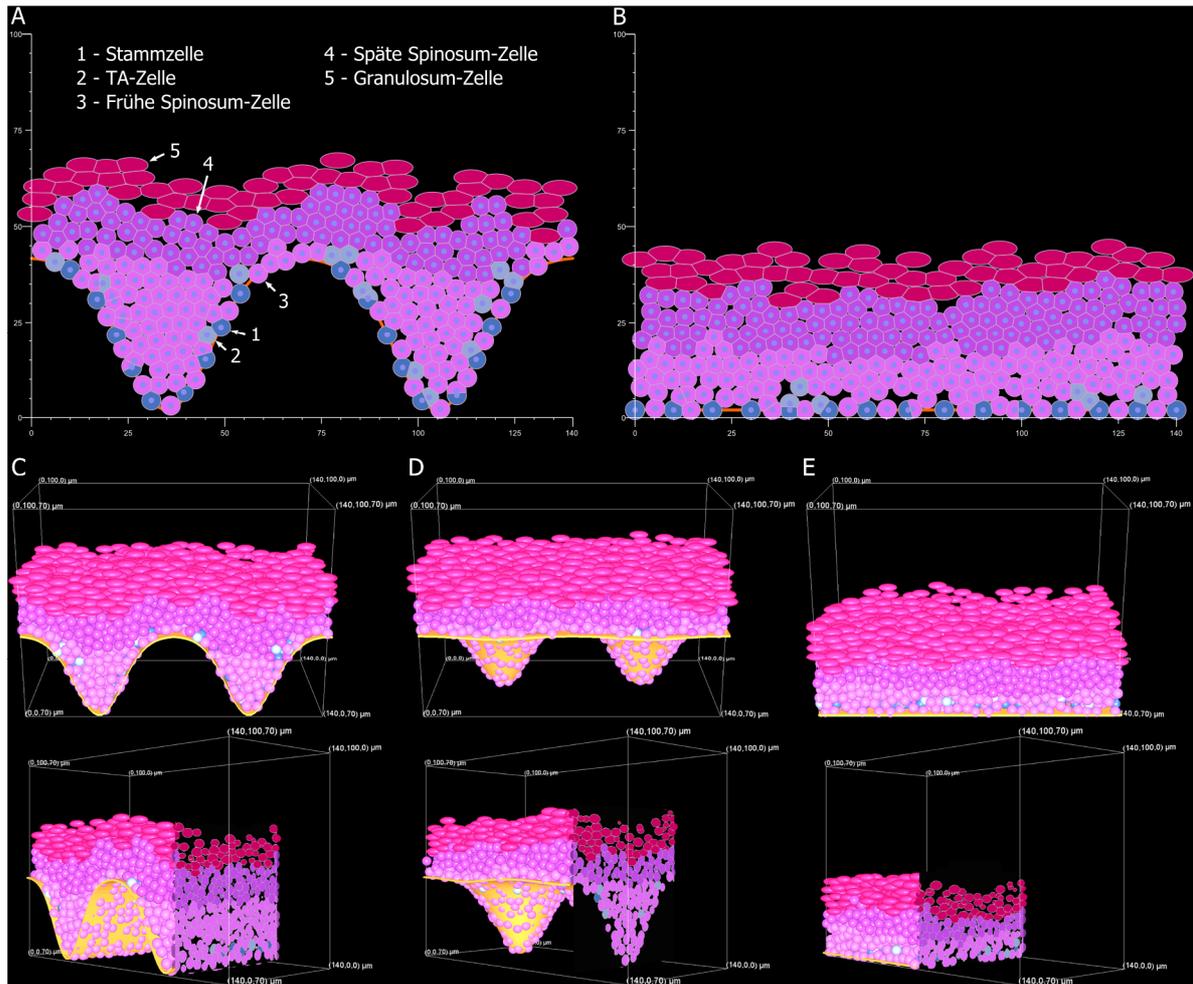


Abbildung 5.2: Gewebemorphologie der zwei- und dreidimensionalen *in silico* Epidermis. Die zweidimensionale (A, B) wie dreidimensionale (C–E) Gewebesimulation des *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase ergibt die charakteristische horizontale Stratifizierung der Epidermis. Stamm- und TA-Zellen sind basal lokalisiert. Über dem basalen Kompartiment gliedert sich das *Stratum spinosum* in frühe Spinosum-Zellen im unteren Bereich und späte Spinosum-Zellen im oberen Bereich. Das *Stratum granulosum* bildet in diesem Modell das oberste Kompartiment. Qualitativ ergeben sich bei verschiedenen geformten Basalmembranen keine Unterschiede hinsichtlich der Stratifizierung. Die resultierende Gewebedicke hängt jedoch vom Vorhandensein der Reteleisten ab.

Die homöostatische Gewebedicke der *in silico* Epidermis ist auf der Basis des 95%-Quantils der y-Koordinaten der Zellen ermittelt worden, die in Abschn. 5.1.3 in die Berechnung des Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten einbezogen wurden (Tabelle 5.1). Wesentliche Unterschiede zwischen den Gewebedicken der unterschiedlichen Simulationläufe ergaben sich nur in Abhängigkeit vom Vorhandensein der Reteleisten, jedoch nicht in Bezug auf die Dimensionalität der Simulation.

Bei den Simulationen unter Annahme einer Basalmembran mit Reteleisten (Abbildung 5.2 [A, C, D]) lagen die Gewebedicken in dem auf der Grundlage von Biopsien für die vitale Epidermis ermittelten Bereich von 60 μm bei 15 μm Standardabweichung (Bauer et al. 2001). Bei flacher Basalmembran ergab die Simulation Dicken, die im Rahmen der ca. 40 μm Gewebedicke der vitalen Epidermis bei *in vitro* Vollhautkultu-

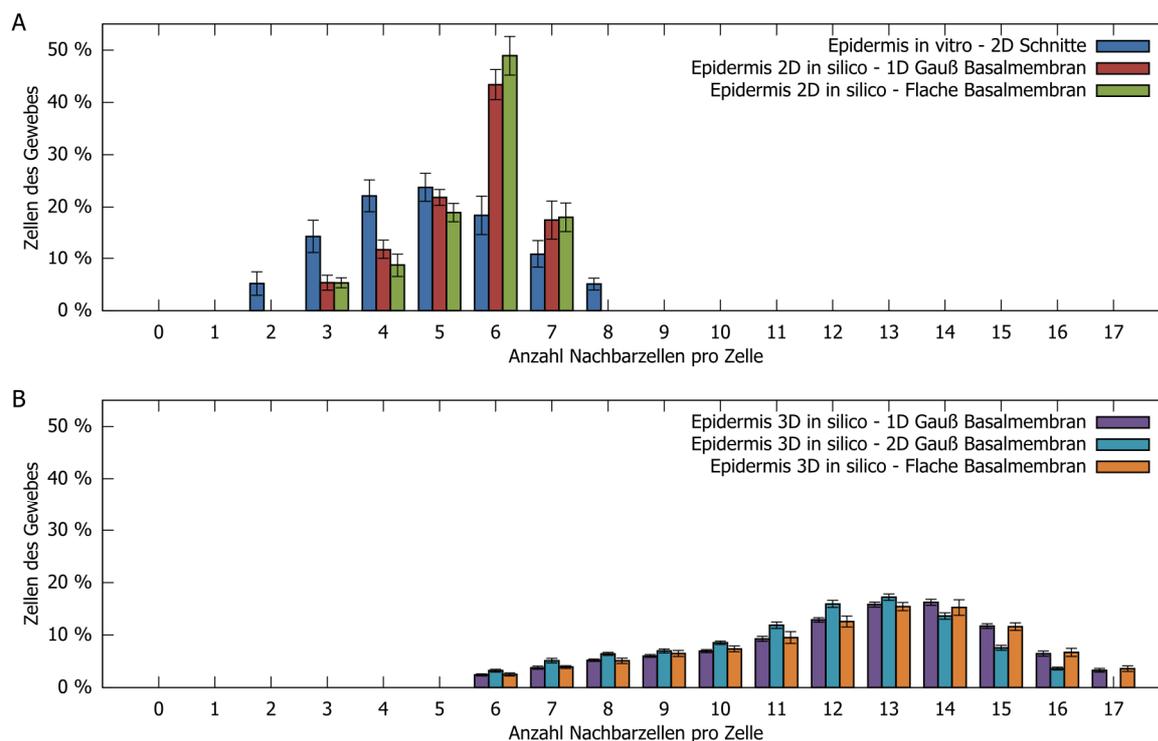


Abbildung 5.3: Verteilung der Zahl an Nachbarzellen in der 2D und 3D *in silico* Epidermis. (A) Es gibt keine nennenswerten Unterschiede in der Verteilung der Zahl an Nachbarzellen zwischen den beiden 2D Simulationsläufen. In Bezug auf die histologischen Schnitte von *in vitro* Vollhautkulturen ergibt sich eine Verschiebung von mehrheitlich sechs Nachbarn *in silico* zu mehrheitlich vier bis sechs Nachbarn *in vitro*. (B) Die Verteilung der Zahl an Nachbarzellen verschiebt sich bei den 3D Simulationsläufen im Vergleich zu den 2D Simulationsläufen signifikant. Hier liegt die Zahl an Nachbarn bei mehrheitlich 12 bis 14. Nennenswerte Unterschiede in der Verteilung in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran sind nicht festzustellen.

ren lagen (Hayden et al. 2009; Safferling et al. 2013).

Die Gewebemorphologie und damit die Stratifizierung der *in silico* Epidermis ist, wie zuvor erwähnt, ein emergentes Ergebnis der multiagentenbasierten Simulation. In diesem Kontext sollen die Kernaspekte der Entstehung und der stabilen Aufrechterhaltung der Morphologie mit Blick auf mögliche Unterschiede in Bezug auf Basalmembranform und Simulationsdimensionalität betrachtet werden. Diese sind:

- Differenzierung von frühen zu späten Spinosum-Zellen und die daraus resultierende Unterteilung des *Stratum spinosum*
- Verteilung der Zahl an Nachbarzellen

- Zellmigration als Resultat des gitterfreien Zell-Zentrumsmodells

Die Differenzierung von frühen zu späten Spinosum-Zellen ist der wesentlichste Einflussfaktor in Bezug auf die homöostatische Gewebedicke. Die Differenzierung der Spinosum-Zellen hängt unmittelbar vom transepidermalen Ca^{2+} -Gradienten ab. Frühe Spinosum-Zellen differenzieren zu späten, wenn sie eine Umgebung mit hoher Ca^{2+} -Konzentration erreichen. Somit bildet sich der Übergang von niedriger zu hoher Ca^{2+} -Konzentration direkt in der Gewebemorphologie ab. Eine quantitative Untersuchung des Ca^{2+} -Gradienten ist Gegenstand von Abschn. 5.1.3. Der transepidermale Ca^{2+} -Gradient ist *in silico* auch ein Resultat des Ca^{2+} -Austauschs der Zellen

untereinander (s. Abschn. 4.3.1). In diesem Zusammenhang ist die Zahl der Nachbarzellen bzw. Unterschiede in der Verteilung derselben als mögliche Einflussgröße zu berücksichtigen. Die Zellmigration wird betrachtet, um zu ermitteln, ob sich in unabhängig von der Basalmembranform die erwartete Migrationsrichtung von basal nach apikal einstellt.

Verteilung der Zahl an Nachbarzellen

In den für jede Basalmembranform in 2D und 3D durchgeführten Simulationsläufen ist die Verteilung der Zahl an Nachbarzellen ermittelt worden. Hierzu wurde mit der SE ab einschl. Simulationsschritt 5.000 alle 500 Simulationsschritte das entsprechende Histogramm exportiert. Abbildung 5.3 zeigt die Verteilung der Zahl an Nachbarzellen, die aus Mittelung der pro Simulationslauf exportierten elf Histogramme resultiert. Zunächst ist festzustellen, dass die Standardabweichungen relativ gering sind, was auf die Stabilität der Verteilung ab SiSt 5.000 hindeutet. Die vergleichsweise kleinere Standardabweichung bei den 3D Simulationsläufen lässt sich durch die höhere absolute Zellzahl in diesen Simulationen erklären.

Auf der Grundlage eines Datensatzes, der bei Forschungsarbeiten von Frau Dr. Thora Pommerencke im Rahmen ihrer Promotion entstanden ist, konnte eine Verteilung der Zahl an Nachbarzellen in digitalisierten histologischen Schnitten von *in vitro* Vollhautkulturen ermittelt werden (n=16 Bilder). Mittels hierfür entwickelter Bildverarbeitungsalgorithmen sind die Zellen der vitalen *in vitro* Epidermis segmentiert und die Zahl an Nachbarzellen pro Zelle bestimmt worden (Pommerencke 2012). Auch hier ergibt sich trotz der vergleichsweise geringen Anzahl von analysierten histologischen Schnitten eine stabile Verteilung (Abbildung 5.3 [A]). Im Vergleich zu den 2D Simulationsläufen, die untereinander keine wesentlichen Unterschiede in der Verteilung der Zahl an Nachbarzellen zeigen, verschiebt sich die mehrheitliche Zahl benachbarter Zellen

von sechs Nachbarn *in silico* zu vier bis sechs Nachbarn *in vitro*. Dies lässt sich durch die vergleichsweise reguläre Form der *in silico* Keratinozyten erklären.

Im Vergleich zu den 2D Simulationsläufen zeigen die 3D Simulationsläufe, die untereinander ebenfalls kaum abweichende Ergebnisse zeigen, eine andere Verteilung der Zahl an Nachbarzellen. Hier liegt die mehrheitliche Zahl an Nachbarn bei 12 bis 14 (Abbildung 5.3 [B]). Der Unterschied in der Verteilung von 2D und 3D ist zu erwarten gewesen. Die Verteilungen ergeben sich in gewissem Maß aus dem sogenannten *kissing number problem*, das darin besteht, wie viele Kreise bzw. Kugeln sich maximal aneinander legen lassen. Für Kreise liegt der bewiesene Wert bei 6 und für Kugeln bei 12 (Schütte und van der Waerden 1952; Leech 1956). Die Keratinozyten haben in der *in silico* Epidermis bis auf die Granulosum-Zellen eine reguläre kreis- bzw. kugelförmige Morphologie. Die Unterschiede zu den theoretisch bewiesenen Werten ergeben sich aus dem Umstand, dass die Granulosum-Zellen ellipsoid bzw. ellipsoid sind und den Zellen im biomechanischen Modell eine tolerierte Überlappung von bis zu 20% der optimalen Zelldistanz eingeräumt wird. Ein Einfluss der Zahl an Nachbarzellen auf den Ca^{2+} -Gradienten konnte bei diesem Modell nicht nachgewiesen werden, wengleich sich die Zahl gegenseitiger Ca^{2+} -Austauschprozesse auf Basis der Funktionen *Send* und *Receive* des grafischen Modellierungssystems von 2D zu 3D unterscheidet¹¹⁶.

Zellmigration

Die Gewebemorphologie der *in silico* Epidermis ist u.a. ein Resultat gerichteter Zellmigration auf Basis des gitterfreien Zell-Zentrumsmodells, das in der zwei- wie dreidimensionalen Variante an das grafische Zellverhaltensmodell der humanen

¹¹⁶ Die Basismodelle der SE, die diesen Funktionen zugrunde liegen, sind formal in Abschn. 4.1.1 beschrieben.

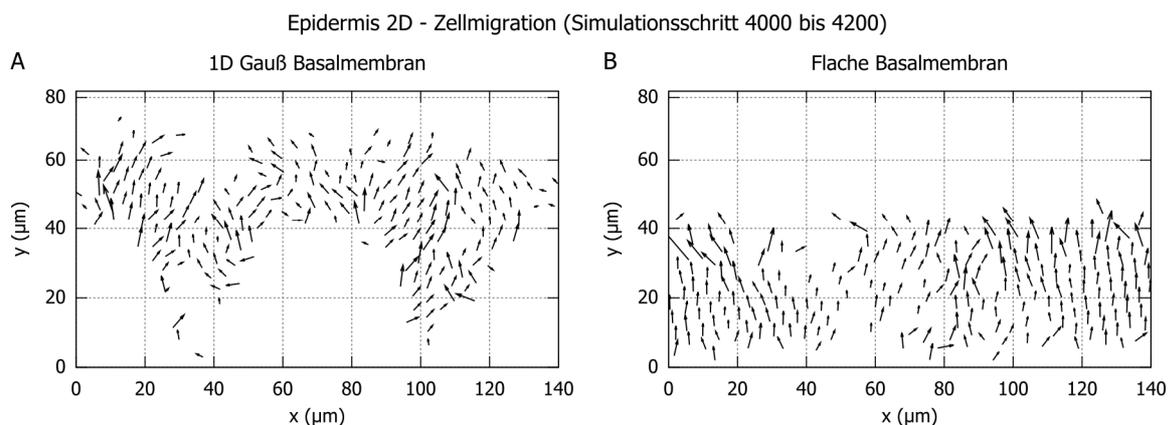


Abbildung 5.4: Zellmigration in der 2D Simulation der *in silico* Epidermis. Die in (A) und (B) dargestellten Vektorfelder zeigen eine gerichtete Migration der Keratinozyten in apikaler Richtung.

epidermalen Homöostase gekoppelt worden ist. Ausgehend von diesem Modell und der Lokalisation der proliferierenden Zellen im basalen Kompartiment ist eine passive gerichtete Zellmigration in apikaler Richtung zu erwarten, wie sie auch *in vitro* bzw. *in vivo* zu beobachten ist (Candi et al. 2005; Mitrani 1983). Die proliferierenden Zellen erzeugen durch Zellwachstum und anschließender Zellteilung einen biomechanischen Überdruck, der zur Verdrängung von anderen basalen Zellen führt, die ihrerseits das basale Kompartiment aufgrund dieses Drucks verlassen. Die passive Zellmigration in apikaler und, im Sinne der *in silico* Epidermis, in y-Richtung ist somit proliferationsgetrieben.

Um die Zellmigration darzustellen und etwaige Unterschiede zwischen 2D und 3D Simulation in Abhängigkeit von der Basalmembranform zu identifizieren, ist die Position der Keratinozyten der *in silico* Epidermis zellbezogen zum SiSt 4.000 und 4.200 exportiert worden.

Im Fall der 3D Simulation ist hierfür ein Intervall von 10 µm definiert worden, in dem die z- bzw. die y-Koordinate der Zellen zum SiSt 4.000 liegen musste, um in die Auswertung einbezogen zu werden. Vektorfelder sind auf Basis der Zellkoordinaten berechnet worden, die zu den beiden genannten Zeitpunkten exportiert worden sind. In der 2D Simulation der *in silico* Epidermis zeigt sich deutlich eine gerichtete Zellmigration in apikaler Richtung. Die Form der Basalmembran hat hierauf keinen globalen Einfluss. Lediglich in unmittelbarer Nähe der Basalmembran und damit der proliferierenden Zellen zeigen sich kleinere Unterschiede (Abbildung 5.4). Auch in der 3D Simulation ist in der betrachteten vertikalen Querschnittsebene eine gerichtete Zellmigration festzustellen (Abbildung 5.5), die nur in geringem Maße von der Form der Basalmembran beeinflusst wird. Hingegen zeigt sich in der horizontalen Querschnittsebene keine bevorzugte Zellmigrationsrichtung, was auch nicht zu erwarten war.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

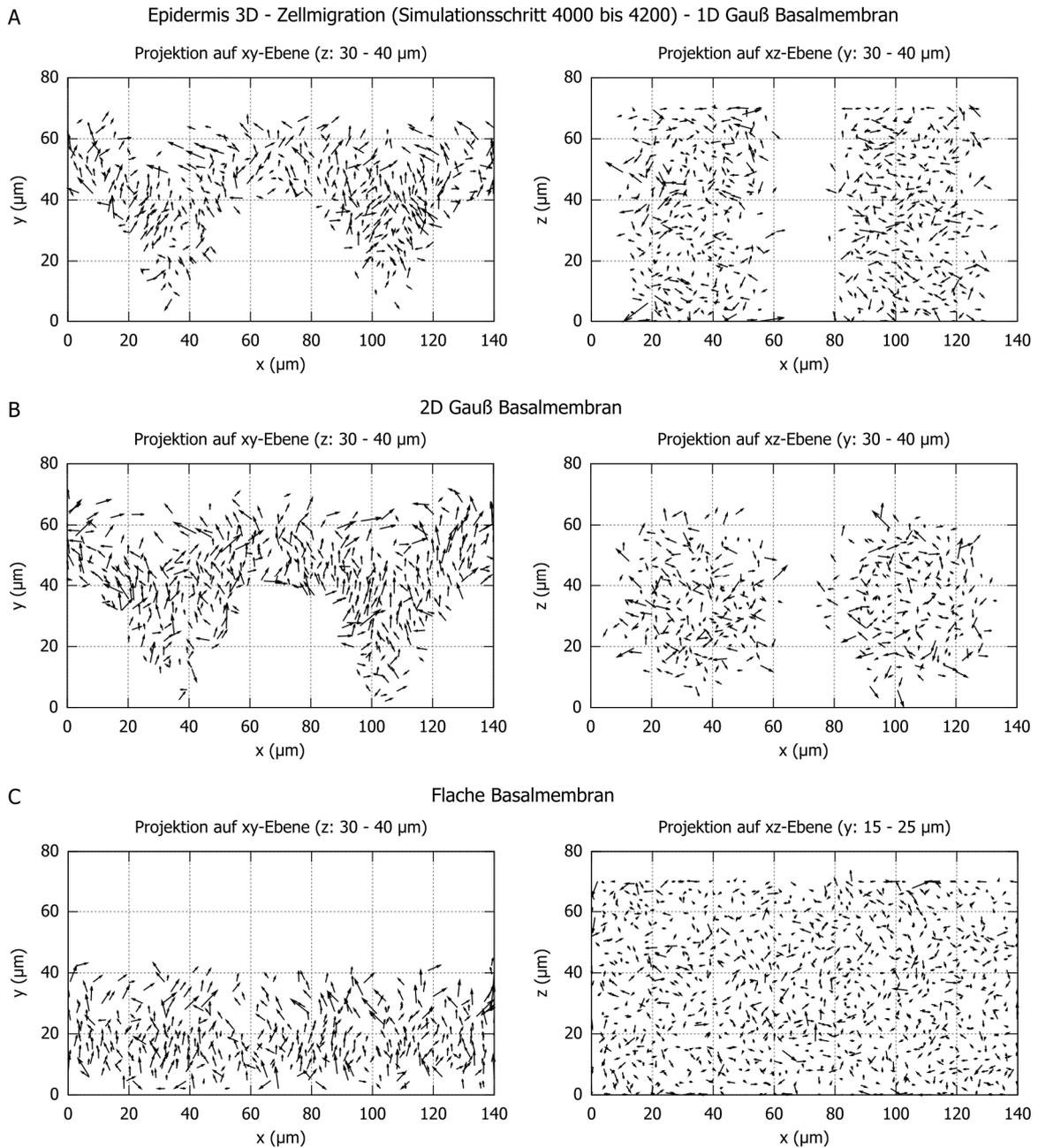


Abbildung 5.5: Zellmigration in der 3D Simulation der *in silico* Epidermis. Unabhängig von der Form der Basalmembran zeigt sich eine gerichtete Zellmigration in apikaler Richtung (A–C, links). In die Auswertung wurden jene Zellen einbezogen, deren z-Koordinate zum SiSt 4.000 im Intervall [30 μm , 40 μm] lag. Betrachtet man einen horizontalen Querschnitt durch die *in silico* Epidermis, lässt sich bei keiner der Basalmembranformen eine bevorzugte Zellmigrationsrichtung feststellen (A–C, rechts). In die Darstellung des Vektorfelds der Querschnittsebene sind jene Zellen einbezogen worden, deren y-Koordinate zum SiSt 4.000 im Intervall [15 μm , 25 μm] lag.

5.1.2 Zellzahlen und Gewebekinetik vor und nach Erreichen der Homöostase

Neben etwaiger Unterschiede zwischen 2D und 3D Simulationsläufen auf den verschieden geformten Basalmembranen erlaubt ein quantitativer Blick auf die sich im zeitlichen Verlauf ergebenden Zellzahlen einer Simulation eine Beurteilung der Stabilität derselben und eine Einschätzung, wann die *in silico* Epidermis die Homöostase erreicht. Die Zellzahlen sind hierbei immer getrennt für die im Modell definierten Differenzierungsgrade der Keratinozyten erfasst worden. Zunächst sind diese für die 2D Simulation des grafischen CBM für 1D Gauß und flache Basalmembran in zehn voneinander unabhängigen Simulationsläufen mit identischer Parametrisierung ermittelt worden. Ziel war es, festzustellen, ob einerseits die von Grabe et al. erhaltenen Zellzahlen mit dem CMS reproduziert werden können und andererseits, ob sich im Simulationsverlauf eine große Standardabweichung der mittleren Zellzahl auf Basis der zehn Simulationsläufe ergibt. Diese Standardabweichung ist ein Maß für die Stabilität der Simulationsergebnisse, die man aus der multiagentenbasierten Simulation des *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase erhält. Wie aus Abbildung 5.6 (A) hervorgeht, ist die Stabilität der Simulationsergebnisse, beurteilt anhand der relativen Zellzahlen, hoch. Zu sehen sind die Ergebnisse der Simulationsläufe unter Annahme der 1D Gauß Basalmembran. Bei den Simulationsläufen mit flacher Basalmembran ergab sich dasselbe Bild. Die durch Simulation des Modells erhaltenen relativen Zellzahlen auf flacher und 1D Gauß Basalmembran bilden die 2D-Referenzwerte, mit denen die relativen Zellzahlen, die man durch 3D Simulation des CBM erhält, verglichen werden. Schließlich bleibt festzuhalten, dass mit den in Abbildung 5.6 (A) dargestellten relativen Zellzahlen die von Grabe et al. erhaltenen Werte reproduziert werden konnten (Grabe und Neuber

2005), was die Frage der Reproduzierbarkeit der früheren Ergebnisse mit den Mitteln des CMS in diesem Zusammenhang positiv beantwortet.

Anpassung der Ca^{2+} -Absorption

Wie bereits eingangs von Abschnitt 5.1 erwähnt, ist eines der Ziele der vergleichenden Simulation von 2D und 3D *in silico* Epidermis die Demonstration, dass ein grafisches CBM potentiell unabhängig vom räumlichen Kontext entwickelt werden kann. In Abschnitt 5.1.1 ist dargestellt worden, dass auf der Grundlage ein- und desselben CBMs der humanen epidermalen Homöostase die charakteristische horizontale Stratifizierung der Epidermis Ergebnis der Simulation war. Hierauf hatte weder die Form der Basalmembran noch die Dimensionalität des multizellulären Raums einen wesentlichen Einfluss, so dass keine substantielle Anpassung des Modells erforderlich war.

Mit Blick auf die aus der 3D Simulation erhaltenen relativen Zellzahlen ergaben sich jedoch in Bezug auf die zuvor beschriebenen 2D-Referenzwerte signifikante Unterschiede bei frühen und späten Spinosum-Zellen. Dies kann durch die Menge an Ca^{2+} erklärt werden, das von der *in silico* Epidermis als Gesamtsystem über die basalen Zellen aufgenommen wird. Mehr Ca^{2+} ist in diesem Zusammenhang gleichbedeutend mit schnellerer Differenzierung von frühen zu späten Spinosum-Zellen. In einem dreidimensionalen multizellulären Raum ergeben sich im Vergleich zum zweidimensionalen Raum aufgrund des zusätzlichen Freiheitsgrads in der Zellbewegung mehr Kontaktmöglichkeiten mit der Basalmembran und damit eine höhere Zahl basaler Zellen, die Ca^{2+} absorbieren. Die Größe der zur Verfügung stehenden Kontaktfläche und damit die Zahl der Basalzellen hängen zusätzlich von der Form der Basalmembran ab. Um die relativen Zellzahlen der 3D-Simulationen an die 2D-Referenzen anzugleichen, musste eine korrigierte Ca^{2+} -Absorptionsrate in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran ermittelt werden.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

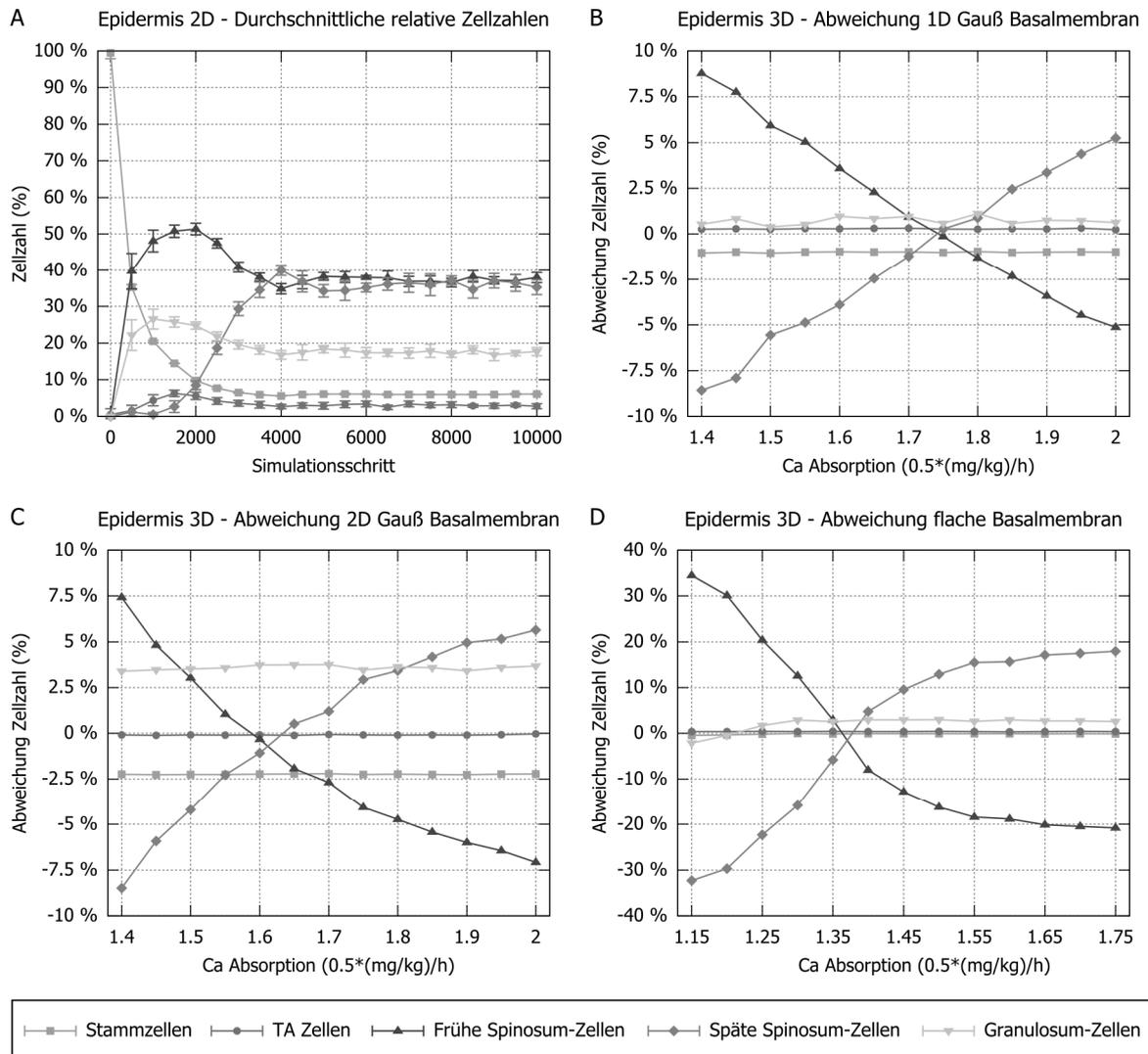


Abbildung 5.6: Durchschnittliche relative Zellzahlen der 2D *in silico* Epidermis und Abweichung der 3D Simulation. (A) Durchschnittliche relative Zellzahlen der 2D Simulation mit der 1D Gauß Basalmembran ermittelt in zehn unabhängigen Simulationsläufen identischer Parametrisierung. (B, C) Abweichung der relativen Zellzahlen der 3D Simulationsläufe unter Annahme von Basalmembranen mit Reteleisten in Abhängigkeit von der Ca^{2+} -Absorption basaler Zellen. Berechnet wurde die Abweichung für jeden der 3D Simulationsläufe mit unterschiedlicher Ca^{2+} -Absorptionsrate auf Basis der gemittelten relativen Zellzahlen von SiSt 4.000 bis 10.000. Die Abweichung bezieht sich auf den 2D-Referenzwert, der auf Basis der Daten aus (A) identisch berechnet wurde. (D) Abweichung der mittleren relativen Zellzahlen der 3D Simulation bei flacher Basalmembran. Den 2D-Referenzwert bildeten hier die gemittelten relativen Zellzahlen der entsprechend (A) durchgeführten Simulationsläufe mit flacher Basalmembran.

In diesem Kontext ist zunächst ein einzelner 2D-Referenzwert für jeden der definierten Differenzierungsgrade berechnet worden. Hierzu wurde das arithmetische Mittel der relativen Zellzahlen von SiSt 4.000 bis 10.000 der 2D Simulation mit 1D Gauß und flacher Basalmembran separat berechnet. Dasselbe wurde für die 3D Simulationen berechnet. Die Werte, basierend auf der 1D Gauß u. 2D Gauß Basalmembran der 3D Simulation, sind mit dem 2D-Referenzwert, basierend auf der 1D Gauß Basalmembran, verglichen worden. Im Fall der flachen Basalmembran ist der entsprechend zweite 2D-Referenzwert herangezogen worden. Für alle drei 3D-Basalmembranformen sind ausgehend von der originalen Ca^{2+} -Absorptionsrate¹¹⁷ Simulationsläufe mit einer Länge von 10.000 Simulationsschritten durchgeführt worden, wobei die Ca^{2+} -Absorptionsrate schrittweise reduziert worden ist (Abbildung 5.6 [B–D]). Auf diese Weise konnten die relativen Zellzahlen von frühen bzw. späten Spinosum-Zellen der jeweiligen 2D-Referenz angeglichen werden. In diesem Zusammenhang sind bei der *in silico* Epidermis mit flacher Basalmembran deutlich größere Veränderungen dieser relativen Zellzahlen in Abhängigkeit von der Ca^{2+} -Absorptionsrate festgestellt worden (Abbildung 5.6 [D]). Auf der Grundlage der zuvor beschriebenen Vorgehensweise sind die folgenden finalen Ca^{2+} -Absorptionsraten für die drei Basalmembranformen der 3D *in silico* Epidermis ermittelt worden:

- 1D Gauß Basalmembran: 1,75 (mg/kg)/0,5h
- 2D Gauß Basalmembran: 1,65 (mg/kg)/0,5h
- Flache Basalmembran: 1,375 (mg/kg)/0,5h

Alle weiteren 3D Simulationsergebnisse aus Abschn. 5.1 sind unter Verwendung dieser Ca^{2+} -

Absorptionsraten für die jeweilige Basalmembranform entstanden. Die Ca^{2+} -Absorption blieb der einzige anzupassende Parameter des CBMs. Alle weiteren konnten unverändert in 2D wie 3D Simulation bestehen bleiben.

Einschwingvorgang und Homöostase

Die Simulation des *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase beginnt unabhängig von Basalmembranform und Dimensionalität des multizellulären Raums mit einer Zellpopulation, die ausschließlich aus Stammzellen besteht¹¹⁸. Aus dieser initialen Zellpopulation ergibt sich im Laufe der multiagentenbasierten Modellsimulation die homöostatische *in silico* Epidermis als emergentes Resultat. Um den Zeitpunkt des Erreichens der Homöostase und damit die Dauer des Einschwingvorgangs des Modells zu bestimmen, ist folgende Vorgehensweise gewählt worden:

- Export der absoluten und Berechnung der relativen Zellzahlen in einem zeitlichen Abstand von 500 SiSt
- Berechnung des arithmetischen Mittels und der Standardabweichung für die Werte von SiSt x bis SiSt 10.000 ($1000 \leq x \leq 8000$)
- Darstellung der so berechneten 15 Mittelwerte und Standardabweichungen als zeitlicher Verlauf (Abbildung 5.7 [A–E])

Es zeigt sich, dass sich in nahezu allen fünf Simulationsläufen ab SiSt 3.500 stabile relative Zellzahlen ergeben, die sich in Abhängigkeit von der angenommenen Basalmembranform und der Dimensionalität der Simulation nur in geringem Maße unterscheiden. Auch die Standardabweichungen nehmen ab SiSt 3.500 nicht mehr signifikant ab.

¹¹⁷ Die originale Ca^{2+} -Absorptionsrate der 2D-Referenzen beträgt 2,0 (mg/kg)/0,5h.

¹¹⁸ Näheres zur räumlichen Lokalisation der Stammzellen auf der Basalmembran siehe Abschn. 5.1, Basalmembranformen.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

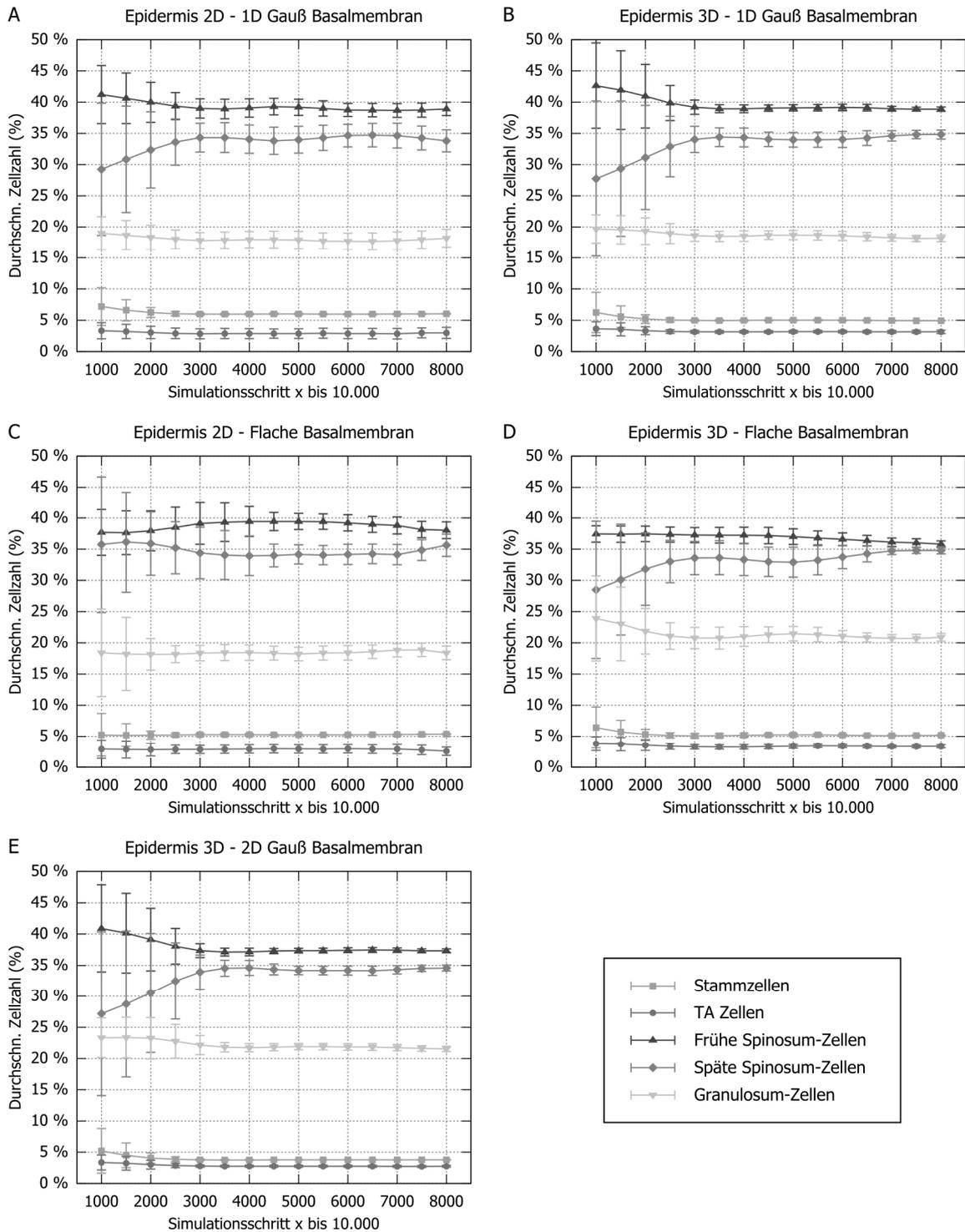


Abbildung 5.7: Durchschnittliche relative Zellzahlen in Abhängigkeit von der Basalmembranform. (A–E) Für jeden der fünf dargestellten Simulationsläufe sind alle 500 SiSt die absoluten Zellzahlen exportiert und die relativen Zellzahlen berechnet worden. Für diese relativen Zellzahlen sind ausgehend von SiSt x bis zum SiSt 10.000 das arithmetische Mittel und die Standardabweichung berechnet worden. Die Abnahme der Standardabweichung ist ein Maß für die Zunahme der Stabilität der relativen Zellzahlen ab diesem SiSt. Anhand dieser Stabilität lässt sich der Zeitpunkt des Erreichens der epidermalen Homöostase *in silico* abschätzen.

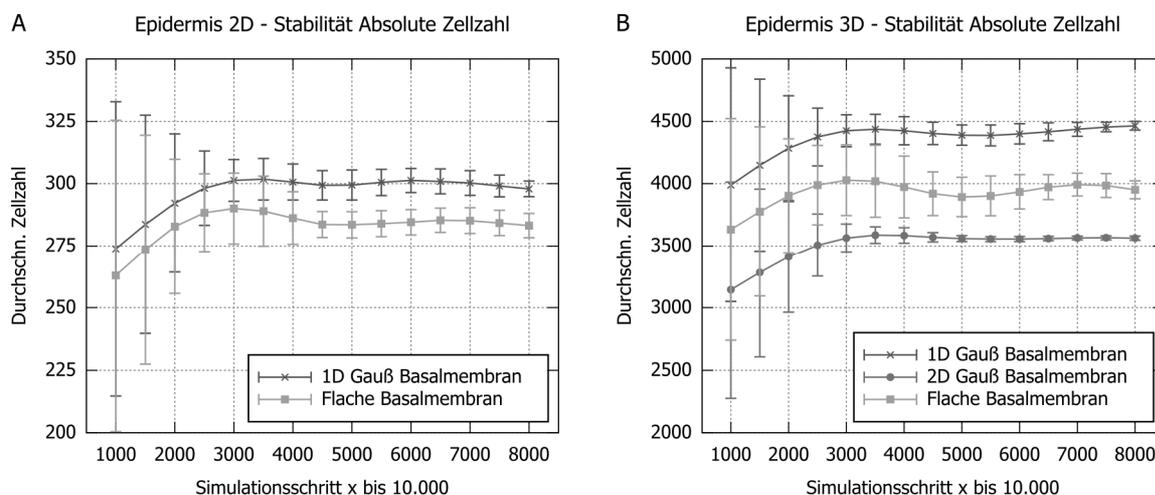


Abbildung 5.8: Durchschnittliche absolute Zellzahl der 2D und 3D *in silico* Epidermis. In den 5 dargestellten Simulationen ist alle 500 SiSt die Gesamtzellzahl der simulierten Epidermis exportiert worden. Auf der Grundlage dieser Werte sind ausgehend vom SiSt x arithmetische Mittel und Standardabweichungen berechnet worden. In der 2D Simulation (A) und der 3D Simulation (B) zeigen sich Unterschiede in den so erhaltenen Werten in Abhängigkeit von der zugrunde gelegten Form der Basalmembran.

Am instabilsten, bezogen auf die berechneten Maße, ist in 2D wie in 3D die Simulation unter Annahme einer flachen Basalmembran. Hier kann im zweidimensionalen Fall erst ab SiSt 4.500 von stabilen Werten gesprochen werden.

Mit Blick auf die absolute Zellzahl der *in silico* Epidermis im Gesamten zeigen sich in 2D und 3D unabhängig von der Form der Basalmembran stabile Werte bzw. Standardabweichungen ab SiSt 4.500 (Abbildung 5.8). Somit kann davon ausgegangen werden, dass unabhängig von der Form der Basalmembran und der Dimensionalität des multizellulären Raums die Homöostase ab SiSt 4.500 erreicht ist. Abschließend ist festzustellen, dass die Form der Basalmembran zwar nicht auf die relativen, dafür aber auf die absoluten Zellzahlen einen Einfluss ausübt. Dies ist zum einen auf die unterschiedliche räumliche Lage des Übergangs von niedriger zu hoher Ca^{2+} -Konzentration zu erklären (s. Abschn. 5.1.3). Zum anderen bieten die Unterschiede in der Größe der Wachstumsfraktion der *in silico* Epidermis in Abhängigkeit von der Basalmembranform eine Erklärung (s. Abbildung 5.9).

Gewebekinetik und Wachstumsfraktion

Ein wichtiger gewebekinetischer Parameter der Epidermis ist die Erneuerungszeit (engl. *turnover time*). Sie entspricht der Dauer, die die Epidermis benötigt, um sich einmal komplett selbst zu erneuern. Sie kann folgendermaßen berechnet werden (Iizuka et al. 1996):

$$T_{\text{turnover}} = \frac{n_{\text{total}} \cdot T_{\text{cell_cycle}}}{n_{\text{stem}} + n_{\text{TA}}} \quad (4.4)$$

Dabei entspricht n_{total} der Gesamtzellzahl des Gewebes, $T_{\text{cell_cycle}}$ der durchschn. Zellzykluslänge, n_{stem} der Zahl der Stammzellen und n_{TA} der Zahl der Transit Amplifying (TA)-Zellen. In die Erneuerungszeit geht somit die Wachstumsfraktion mit ein, die dem Verhältnis proliferierender Zellen ($n_{\text{stem}} + n_{\text{TA}}$) zur Gesamtzahl basaler Zellen entspricht. Die Erneuerungszeit der Epidermis liegt *in vivo* zwischen 672 und 1080 Stunden (Hoath und Leahy 2003), während die Wachstumsfraktion nicht größer als 20% wird (Heenen et al. 1998).

In Silico Gewebekinetik

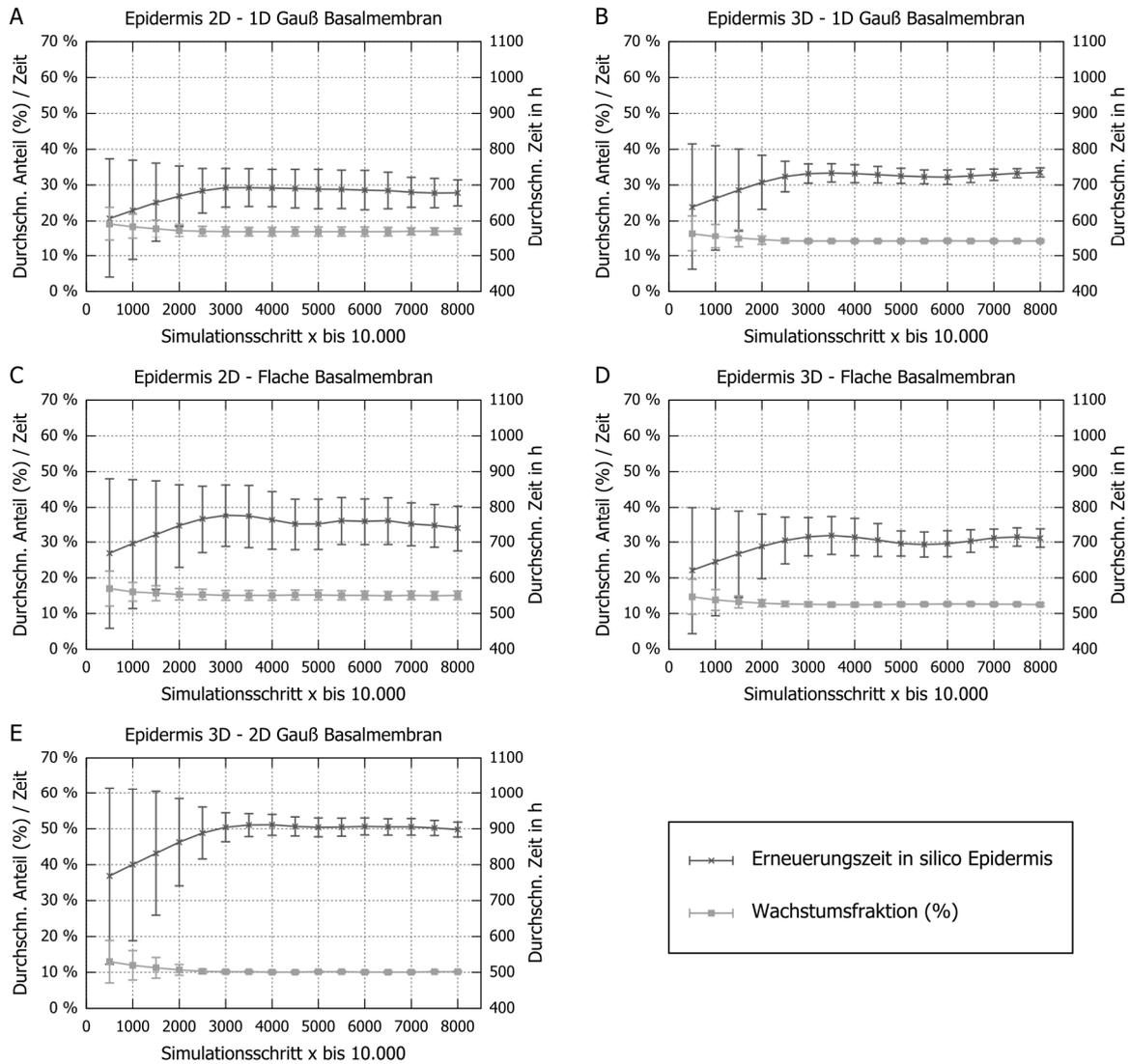


Abbildung 5.9: Gewebekinetik der 2D und 3D *in silico* Epidermis. (A–E) Berechnete durchschnittliche Erneuerungszeit und Wachstumsfraktion der fünf durchgeführten Simulationen mit unterschiedlichen Basalmembranformen. Die Erneuerungszeit entspricht der Dauer einer kompletten Selbsterneuerung der Epidermis. Alle 500 SiSt ist die Erneuerungszeit als Verhältnis von absoluter Zellzahl zur Zahl der proliferierenden Zellen multipliziert mit der Zellzyklusdauer berechnet worden (Iizuka et al. 1996). In gleichen zeitlichen Abständen ist die Wachstumsfraktion berechnet worden, die dem Anteil proliferierender Zellen mit Blick auf die Gesamtzahl basaler Zellen entspricht (Heenen et al. 1998). Basierend auf diesen Werten sind wiederum arithmetische Mittel und Standardabweichungen ausgehend von SiSt x bis SiSt 10.000 bestimmt worden.

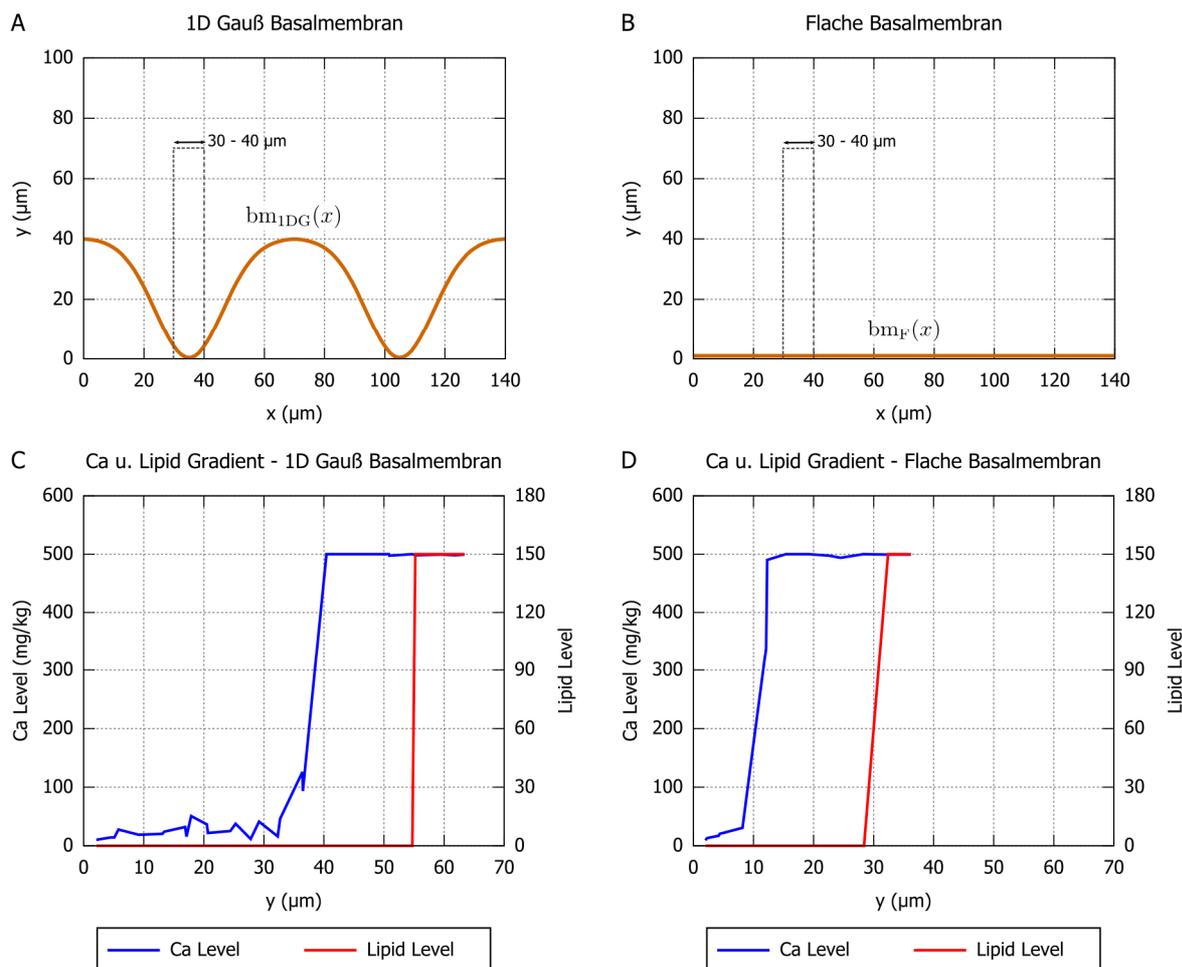


Abbildung 5.10: Calcium- und Lipid-Gradient der 2D *in silico* Epidermis. (A, B) Gewebeausschnitt, in dem der Ca^{2+} - und Lipid-Gradient bestimmt wird. (C, D) Der resultierende Ca^{2+} - und Lipid-Gradient (SiSt 5.000) weist unabhängig von der Form der Basalmembran eine sigmoide Form auf. Der Übergang von niedrigem Ca^{2+} - zu hohem Ca^{2+} -Level weist jedoch eine räumlich verschiedene Lokalisation auf. Dies gilt analog für den Lipid-Gradienten.

Die Werte für Erneuerungszeit und Wachstumsfraktion der *in silico* Epidermis liegen damit unabhängig von der Dimensionalität der Simulation und der Form der Basalmembran in einem realistischen Bereich (Abbildung 5.9)¹¹⁹. Die Werte von Grabe et al. konnten somit reproduziert werden.

Die höhere Erneuerungszeit der 2D Gauß Basalmembran im Vergleich mit den anderen Basalmembranformen ergibt sich aufgrund der niedrigeren Wachstumsfraktion (Abbildung 5.9 [E]). Die niedrigere Wachstumsfraktion ist wiederum Resultat der Lokalisationsbedingungen für Stammzellen (s. Abschn. 5.1).

¹¹⁹ Die in Abbildung 5.9 dargestellten Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mit derselben Vorgehensweise berechnet, die im vorherigen Abschnitt für die relativen und absoluten Zellzahlen verwendet wurde.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

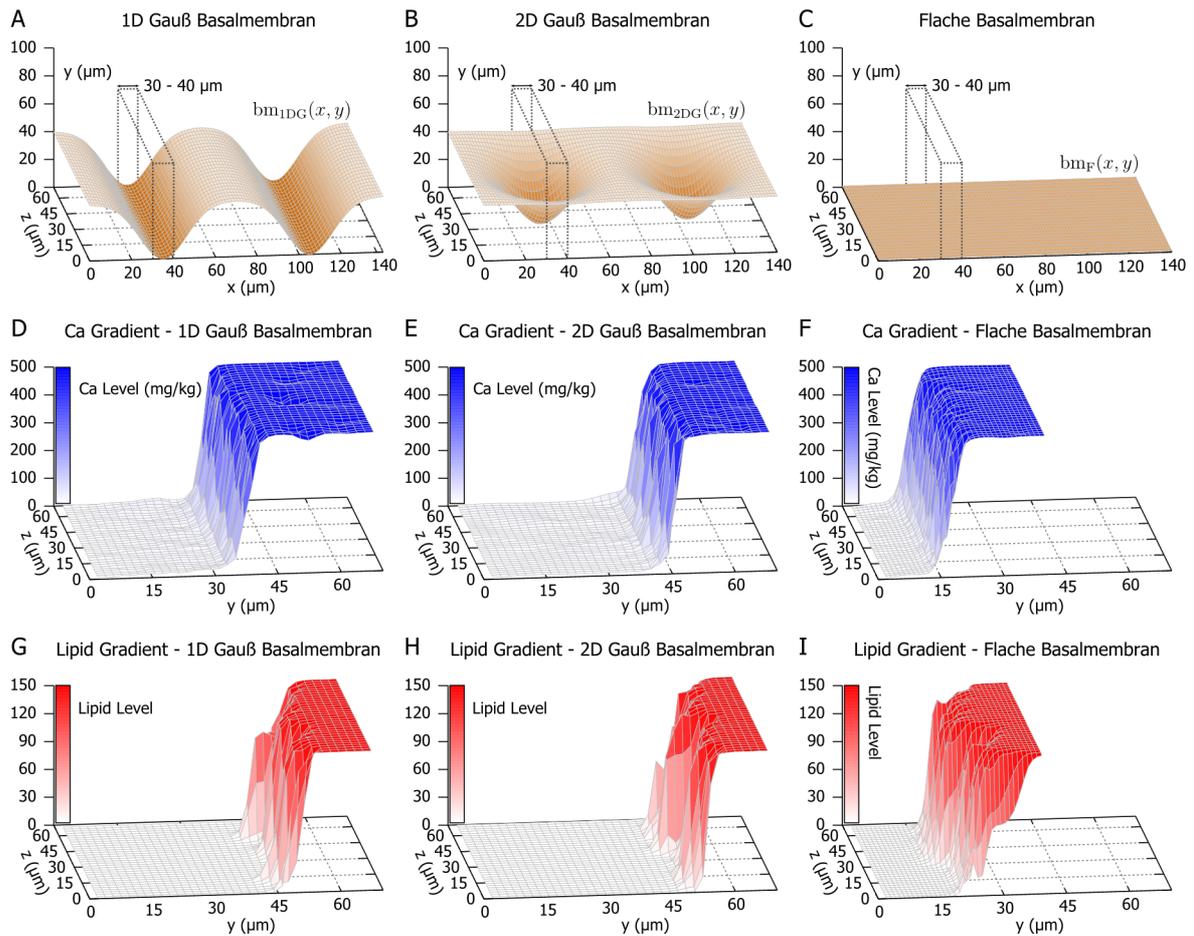


Abbildung 5.11: Calcium- und Lipid-Gradient der 3D *in silico* Epidermis. (A–C) Gewebeausschnitt, in dem der Ca^{2+} - und Lipid-Gradient bestimmt wird. (C–E) Der resultierende Ca^{2+} - und (G–I) Lipid-Gradient (SiSt 5.000) weist wie in der 2D Simulation unabhängig von der Form der Basalmembran eine sigmoidale Form auf. Der Übergang von niedrigem Ca^{2+} zu hohem Ca^{2+} -Level weist jedoch ebenfalls eine räumlich verschiedene Lokalisation auf. Dies gilt analog für den Lipid-Gradienten.

5.1.3 Transepidermaler Ca^{2+} -Gradient und Ausbildung der epidermalen Barriere

Der transepidermale Ca^{2+} -Gradient übt einen wesentlichen Einfluss auf die Differenzierung der Keratinozyten aus. In den basal gelegenen Schichten der Epidermis herrscht eine niedrige Ca^{2+} -Konzentration, die in apikaler Richtung ansteigt und ihr Maximum in den obersten Schichten der vitalen Epidermis erreicht. Der Ca^{2+} -Gradient ist ein emergentes Resultat der durch den transepi-

dermalen Wasserfluss getriebenen Advektion von Ca^{2+} -Ionen (Näheres s. Abschn. 2.1.4).

Im Modell wird nur das intrazelluläre Ca^{2+} -Level als qualitative Größe berücksichtigt (s. Abschn. 4.3.1). In Abhängigkeit vom Ca^{2+} -Level differenziert im Modell eine frühe zu einer späten Spinosum-Zelle, womit der Gradient einen direkten Einfluss auf die Schichtung des *Stratum spinosum* und damit auf die Gewebemorphologie der *in silico* Epidermis ausübt. Der Ca^{2+} -Gradient entsteht *in silico* aufgrund von gerichtetem Ca^{2+} -Austausch der Zellen untereinander und einem

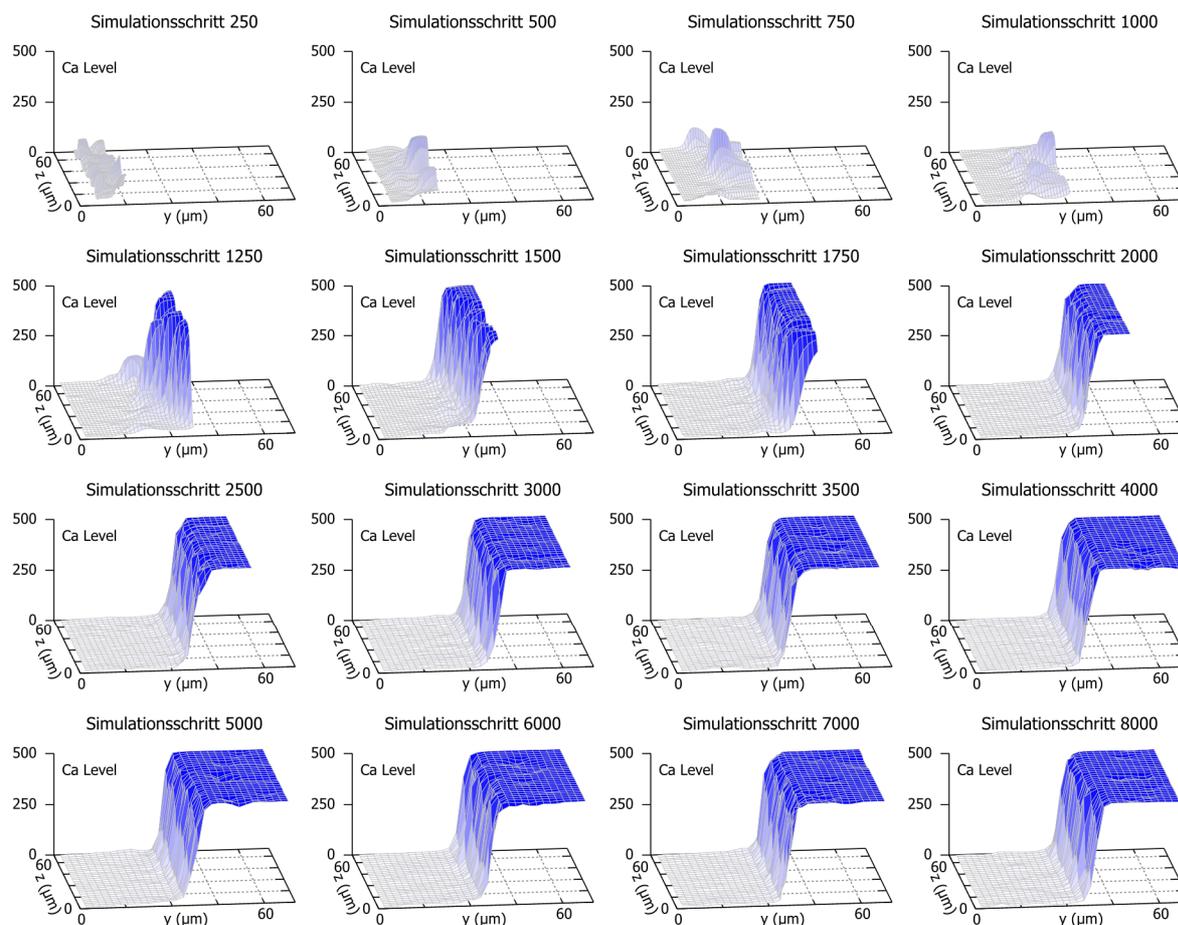


Abbildung 5.12: Entstehung des Ca^{2+} -Gradienten im zeitlichen Verlauf. Dargestellt ist der zeitliche Verlauf der Entstehung des Ca^{2+} -Gradienten in der 3D Simulation unter Annahme der 1D Gauß Basalmembranform. Ab Simulationsschritt 4.000 bleibt der Gradient stabil.

Ca^{2+} -Rückstau, verursacht durch die epidermale Barriere. Diese wird im Modell durch die Lipide im *Stratum granulosum* repräsentiert.

Für die 2D und 3D *in silico* Epidermis ist für alle Basalmembranformen der Ca^{2+} - und Lipidgradient berechnet worden. Die Berechnung ist auf der Grundlage des Ca^{2+} - und Lipid-Levels jener Zellen erfolgt, die zum Simulationsschritt 5.000 im definierten Gewebeausschnitt¹²⁰ lagen. Unabhängig von der Form der Basalmembran

¹²⁰ Die verwendeten Gewebeausschnitte sind für die jeweilige Basalmembranform in 2D in Abbildung 5.10 (A, B) und in 3D in Abbildung 5.11 (A-C) eingezeichnet.

und der Dimensionalität des multizellulären Raums ergaben sich Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten mit vergleichbarer sigmoidaler Form. Die räumliche Lokalisation des Übergangs von niedrigem zu hohem Ca^{2+} - und Lipid-Level hängt jedoch von der Basalmembranform ab. Dies wird im folgenden Abschnitt noch Gegenstand einer quantitativen Charakterisierung sein. Exemplarisch wird für die 3D *in silico* Epidermis mit einer 1D Gauß Basalmembran in Abbildung 5.12 die Entstehung des Ca^{2+} -Gradienten und in Abbildung 5.13 entsprechend die Entstehung des Lipid-Gradienten im zeitlichen Verlauf dargestellt. Ab Simulationsschritt 4.000 sind die Gradienten stabil.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

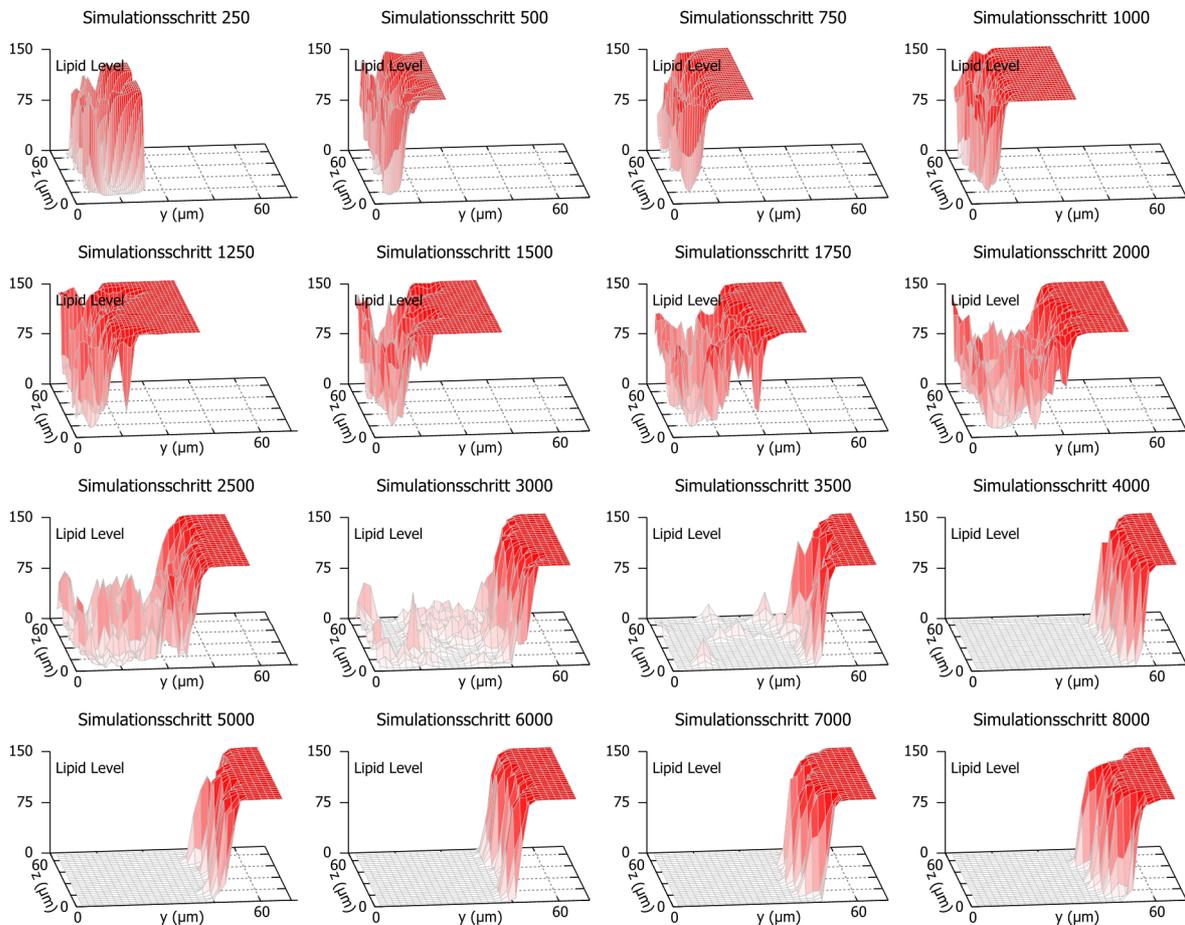


Abbildung 5.13: Entstehung des Lipid-Gradienten im zeitlichen Verlauf. Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Entstehung des Lipid-Gradienten in der 3D Simulation unter Annahme der 1D Gauß Basalmembranform. Ab Simulationsschritt 4.000 bleibt der Gradient weitgehend stabil.

Quantitative Charakterisierung der Gradienten

Die in Abbildung 5.10 bis Abbildung 5.13 dargestellten Simulationsdaten (SiSt 5.000) vermitteln einen Eindruck über die Form und die Entstehung der epidermalen Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran. Auffallend ist, dass die Form des Gradienten stabil bleibt, während sich die räumliche Lokalisation des Übergangs von niedrigem

zu hohem Level in y -Richtung verschiebt. Diese Verschiebung soll im Folgenden quantitativ charakterisiert werden. Hierzu werden die für die Berechnung der 2D und 3D Gradienten verwendeten Ca^{2+} - und Lipid-Level der einzelnen Zellen als Datenpunkte, die mit Blick auf den multizellulären Raum in y -Richtung aufgelöst sind, auf die zweidimensionale Ebene projiziert, die aus Ca^{2+} - oder Lipid-Level und der y -Achse des multizellulären Raums aufgespannt wird.

5.1 Simulation der humanen epidermalen Homöostase

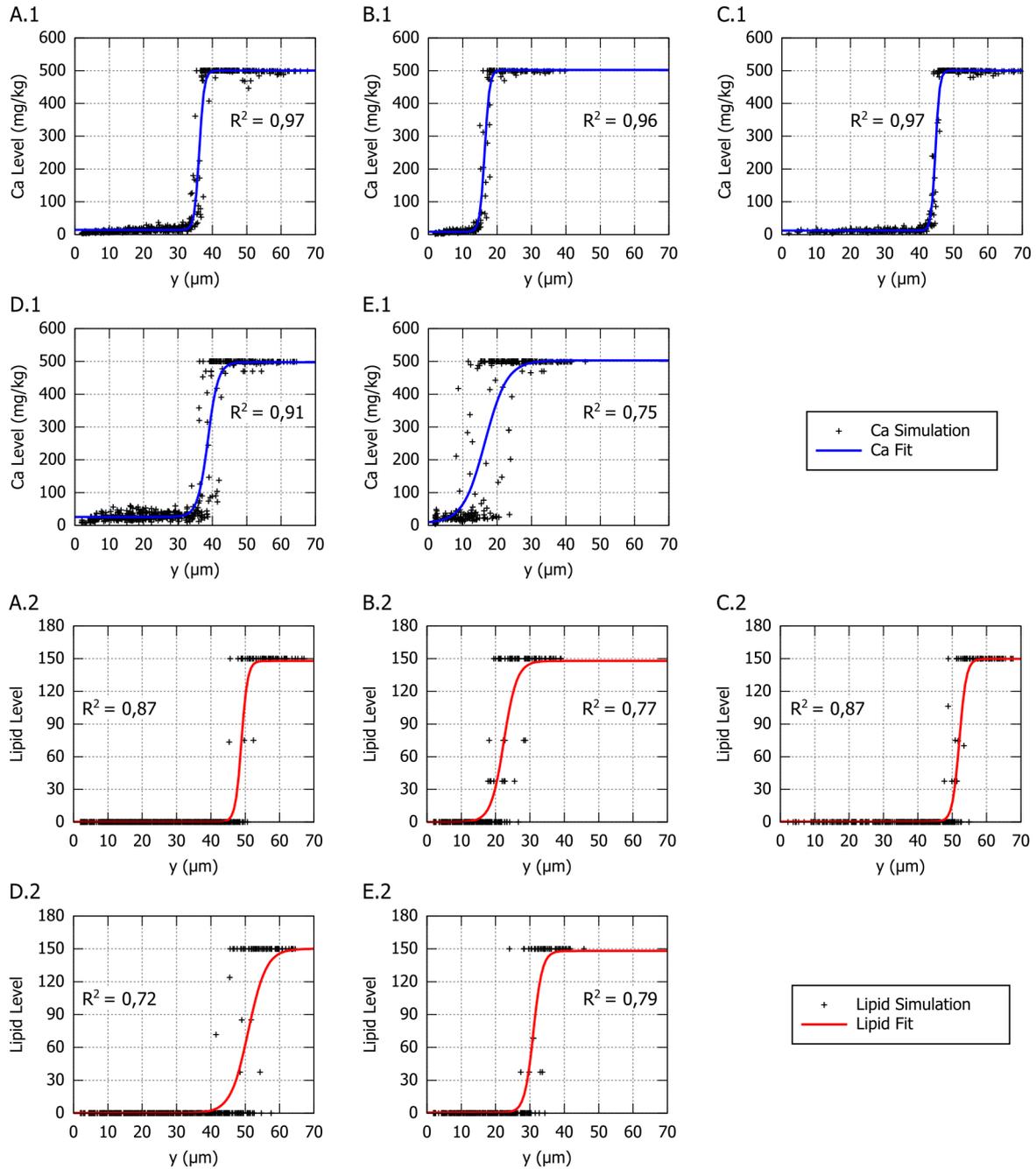


Abbildung 5.14: Quantitative Charakterisierung der Gradienten mittels logistischer Regression. Mit einem logistischen Modell sind Regressionskurven für die Ca^{2+} -Gradienten (A.1–E.1) und Lipid-Gradienten (A.2–E.2) bestimmt worden, die zum SiSt 5.000 der jeweiligen Simulation ermittelt wurden. Dargestellt sind die Regressionskurven für Ca^{2+} - und Lipid-Gradient aus folgenden Simulationsläufen: (A) 3D *in silico* Epidermis mit 1D Gauß Basalmembran, (B) 3D *in silico* Epidermis mit flacher Basalmembran, (C) 3D *in silico* Epidermis mit 2D Gauß Basalmembran, (D) 2D *in silico* Epidermis mit 1D Gauß Basalmembran und (E) 2D *in silico* Epidermis mit flacher Basalmembran. R^2 entspricht dem Determinationskoeffizienten.

Tabelle 5.2: Werte der Regressionsparameter des logistischen Modells der Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten. Aufgeführt sind die mittels logistischer Regression auf Basis des verwendeten Modells (4.5) ermittelten Parameterwerte für die unterschiedlichen Basalmembranformen. R^2 entspricht dem Determinationskoeffizienten.

Simulationslauf	Ca^{2+} -Gradienten					Lipid-Gradienten				
	A	B	C	D	R^2	A	B	C	D	R^2
Epidermis 3D – 1D Gauß	14,2	486,3	36,2	0,7	0,97	0,1	147,8	48,9	0,9	0,87
Epidermis 3D – flach	8,5	493,7	16,4	0,7	0,96	0,0	147,9	22,4	1,9	0,77
Epidermis 3D – 2D Gauß	12,1	488,6	44,7	0,6	0,97	0,4	149,4	52,1	1,0	0,87
Epidermis 2D – 1D Gauß	25,9	471,6	38,7	1,5	0,91	0,1	150,0	50,9	2,6	0,72
Epidermis 2D – flach	6,8	496,2	16,5	3,2	0,75	0,5	147,6	31,0	1,3	0,79

Auf Basis dieser Datenpunkte werden mittels logistischer Regression die Regressionsparameter des folgenden Modells bestimmt:

$$f(x) = A + \left(\frac{B}{1 + e^{\left(\frac{C-x}{D}\right)}} \right) \quad (4.5)$$

Der Parameter C kann in diesem Kontext als räumliche Lage des Übergangs von niedrigem zu hohem Ca^{2+} - bzw. Lipid-Level in Mikrometer betrachtet werden. Bezogen auf die Gewebemorphologie der *in silico* Epidermis entspricht dies der Grenzregion zwischen frühen und späten Spinosum-Zellen im *Stratum spinosum*. Parameter D hingegen ist ein Maß für die Steilheit dieses Übergangs, wobei die Steilheit für kleinere Parameterwerte zunimmt.

Abbildung 5.14 zeigt die ermittelten Regressionskurven für die Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten. Für die Ca^{2+} -Gradienten erhält man bis auf die 2D Simulation mit flacher Basalmembran vergleichsweise hohe Determinationskoeffizienten (Abbildung 5.14 [A.1–E.1]), was für die Güte der Regression spricht. Wie bereits in Abschn. 5.1.2 anhand der Zellzahlen und der Gewebekinetik dargestellt, ist die 2D Simulation mit flacher Basalmembran in sich am instabilsten, was sich auch auf die Form des Ca^{2+} -Gradienten niederschlägt. Insgesamt sind die Determinationskoeffizienten bei der Regression der Lipid-Gradienten niedriger (Abbildung 5.14 [A.1–E.1]). Dies

spricht für eine in sich weniger homogene Form des Lipid-Gradienten im Vergleich zum Ca^{2+} -Gradienten. Eine Erklärung hierfür ist, dass Zellen untereinander Ca^{2+} austauschen, was einen homogenisierenden Einfluss auf den Gradienten ausübt. Einen Lipid-Austausch zwischen den Zellen gibt es allerdings nicht.

Die durch logistische Regression erhaltenen Parameterwerte des Modells sind für alle zehn betrachteten Gradienten in Tabelle 5.2 aufgeführt. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung der räumlichen Lokalisation des Übergangs von niedrigen zu hohen Ca^{2+} -Level zwischen 2D und 3D *in silico* Epidermis bei äquivalent geformter Basalmembran. Die Form derselben übt einen wesentlichen Einfluss auf die Lokalisation des Übergangs aus und beeinflusst somit, wie bereits erwähnt, die Schichtung des *Stratum spinosum*. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei den Lipid-Gradienten, wenngleich hier die räumliche Lokalisation des Übergangs aus den zuvor bereits genannten Gründen nicht in dem Maße zwischen 2D und 3D Simulation übereinstimmt wie bei den Ca^{2+} -Gradienten. Die Steilheit aller Gradienten liegt in einem vergleichbaren Bereich. Ausnahme bilden hier die 2D Simulationen, die diesbezüglich eine größere Variabilität zeigen. Auch die Steilheit des Lipid-Gradienten bei der 3D *in silico* Epidermis mit flacher Basalmembran weicht in diesem Kontext ab. Bei dieser Regressi-

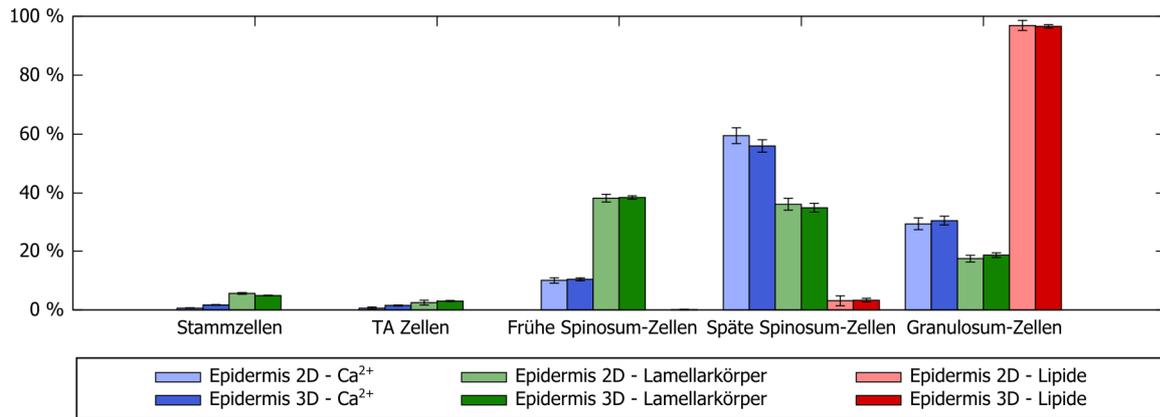


Abbildung 5.15: Verteilung von Ca^{2+} , Lamellarkörpern und Lipiden nach Differenzierung der Keratinozyten. Dargestellt ist die Verteilung in der 2D bzw. 3D *in silico* Epidermis mit 1D Gauß Basalmembran. Es zeigen sich keine wesentlichen Unterschiede in den Verteilungen mit Blick auf die Dimensionalität des multizellulären Raums. Ab SiSt 4.000 sind bis SiSt 10.000 alle 500 Schritte die Verteilungen exportiert worden. Basierend auf diesen Werten sind die dargestellten mittleren Verteilungen und die entsprechenden Standardabweichungen berechnet worden.

on konnte allerdings auch nur ein vergleichsweise geringer Determinationskoeffizient erzielt werden.

Verteilung nach Differenzierung der Keratinozyten

Die letzte vergleichende Betrachtung in Bezug auf die Unterschiede, bedingt durch Basalmembranformen und Dimensionalität des multizellulären Raums, widmet sich der Verteilung von Ca^{2+} , Lamellarkörpern und Lipiden in Abhängigkeit von der Differenzierung der Keratinozyten. Diese ist in allen fünf Simulationsläufen von SiSt 4.000 bis SiSt 10.000 alle 500 Schritte exportiert worden. Basierend auf diesen Werten ist die mittlere Verteilung über den zuvor genannten Simulationszeitraum bestimmt worden. Abbildung 5.15 zeigt exemplarisch die resultierenden mittleren Verteilungen der 2D bzw. 3D *in silico* Epidermis mit 1D Gauß Basalmembran. Es können keine Unterschiede in Abhängigkeit von der Dimensionalität des multizellulären Raums festgestellt werden. Die Verteilung ist in Anbetracht der geringen Standardabweichungen als stabil zu bezeichnen. Wesentliche Unterschiede in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran ergaben sich nicht.

5.1.4 Simulation der Zellzyklusmodelle

Im Rahmen dieser Arbeit sind für das CBM der humanen epidermalen Homöostase mehrere Zellzyklus-Submodelle realisiert worden (s. Abschn. 4.3.2). Diese Submodelle können dynamisch innerhalb des CBM ausgetauscht werden. Allen Zellzyklusmodellen ist gemein, dass sie bei

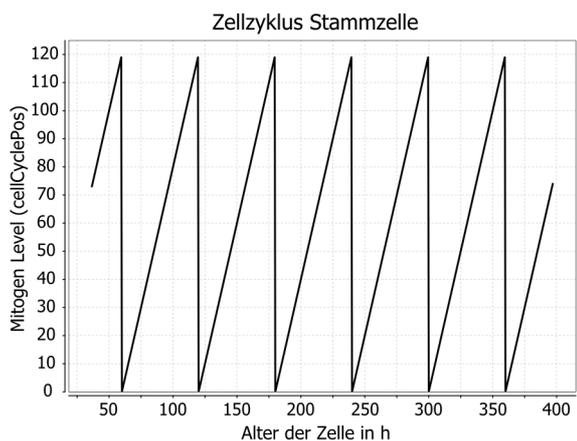


Abbildung 5.16: Mitogen-Level einer Stammzelle im zeitlichen Verlauf. Der die Zellteilung regulierende Mitogen-Level gleicht einer Sägezahnsschwingung. Die Zellteilung wird beim Abfallen des Mitogen-Niveaus auf den Wert 0 ausgelöst. Dargestellt sind somit sechs volle Zellzyklen.

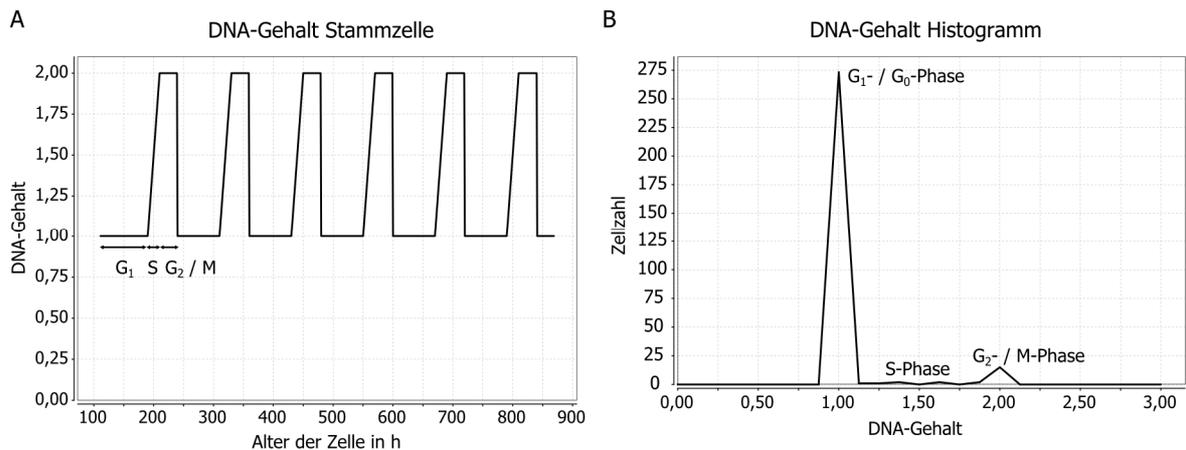


Abbildung 5.17: Relativer DNA-Gehalt im zeitlichen Verlauf und als Verteilung im Gewebe. (A) Entwicklung des relativen DNA-Gehalts einer Stammzelle im zeitlichen Verlauf. In der S-Phase verdoppelt sich der relative DNA-Gehalt linear. Dargestellt sind sechs volle Zellzyklen der Stammzelle. (B) Verteilung des relativen DNA-Gehalts in allen Zellen der 2D *in silico* Epidermis und die daraus hergeleitete Verteilung der Zellzyklusphasen.

proliferierenden Keratinozyten eine Zellzykluslänge von 60 Stunden zugrunde legen (Castelijns et al. 1998; Potten 1981). Dies entspricht 120 Simulationsschritten, da für das Gesamt-CBM ein atomares Zeitintervall von $\Delta t_{cbm} = 0,5$ h angenommen wird. Durch den Austausch eines Zellzyklusmodells gegen ein anderes waren keine Unterschiede bezüglich der Ergebnisse mit Blick auf die Gewebesimulation als Ganzes zu erwarten. Dennoch ist dies überprüft und die ursprüngliche Erwartung bestätigt worden. Die verschiedenen Zellzyklusmodelle sind nicht primär realisiert worden, um deren Einfluss auf den Simulationsergebnis zu erforschen. Vielmehr dienen sie als Anwendungsfälle, anhand derer das Potential des entwickelten GMS, seiner Zellverhaltensmodellierungssprache sowie der multiagentenbasierten SE im Allgemeinen demonstriert werden soll. Mit Bezug auf das GMS sind dies die automatische semantische Integration von SBML-basierten quantitativen subzellulären Modellen in CBMs und die Möglichkeit, kontinuierliche und diskrete Modelle rein mit den Mitteln des GMS zu realisieren. Hinsichtlich der SE soll die automatische semantische Integration der SBML-basierten Modelle in eine multiagentenbasierte Simulation

in ihrer tatsächlichen Anwendung gezeigt werden. Dies geschieht insbesondere mit Blick auf die automatische Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen der semantisch integrierten und kombinierten Modelle.

Um die zeitliche Dynamik der Zellzyklusmodelle darstellen zu können, muss während der Simulation ein zeitlich aufgelöster Blick auf die intrazellulären Veränderungen einer Zelle, konkret auf die Wertveränderungen ihrer individuellen Zelleigenschaften (CPs), geworfen werden können. Die SE bietet hierfür die Möglichkeit, auf der Grundlage einer Booleschen Bedingung eine Zelle zu selektieren und zu verfolgen. Dies ist für die Ermittlung und die Darstellung der nun folgenden Simulationsergebnisse genutzt worden.

Zellzyklus als Sägezahnfunktion

Das erste Zellzyklusmodell beruht auf der von Grabe et al. angenommenen und von Tyson inspirierten Sägezahnfunktion (Grabe und Neuber 2005; Tyson und Kauffman 1975), die die Veränderungen des intrazellulären Mitogen-Levels über die Zeit abbildet. Die Nullstellen dieser Funktion entsprechen den Zeitpunkten, an denen die Zellteilung stattfindet (s. Abschn. 4.3.2). Ausgehend vom Beginn der Gewebesimulation ist in

Abbildung 5.16 der Mitogen-Level einer Stammzelle über die Zeit dargestellt. Zu sehen sind sechs volle Zellzyklen und damit sechs Zellteilungen. Auffallend ist, dass nicht mit einem Mitogen-Level von 0 begonnen wird. Die Ursache hierfür ist die Zuweisung eines zufälligen Alters an Stammzellen zu Beginn der Simulation, wodurch synchronisierte Zellteilungen vermieden werden. Das zufällige Alter liegt im Bereich einer Zellzykluslänge in Simulationsschritten.

Das Zellzyklusmodell ist durch ein Submodell ergänzt worden (s. Abschn. 4.3.2), das den Zellzyklus in die existierenden Zellzyklusphasen einteilt. In der S-Phase verdoppelt sich der relative DNA-Gehalt linear. Dargestellt ist die zeitliche Dynamik des relativen DNA-Gehalts einer Stammzelle und die entsprechende Zuordnung der Zellzyklusphasen in Abbildung 5.17 [A]. Zu sehen sind hier ebenfalls sechs volle Zellzyklen. Abbildung 5.17 [B] zeigt hingegen die resultierende Verteilung des relativen DNA-Gehalts unter Berücksichtigung aller Zellen des Gewebes. Es zeigt sich die charakteristische Verteilung der Zellzyklusphasen, die man experimentell mit Durchflusszytometrie, insbesondere mittels *fluorescence-activated cell sorting* (FACS), erhalten würde (s. bspw. Zanet et al. 2010).

Multiskaliertes Zellzyklusmodell

Die Erstellung multiskalierter Zellverhaltensmodelle mit dem GMS ist anhand von Tysons Zellzyklusmodell (Tyson 1991) in Abschn. 4.3.2 behandelt worden. In diesem Zusammenhang ist die SBML-Schnittstelle des GMS zum Modellimport und zur automatischen semantischen Integration genutzt worden¹²¹. In der SE wird die Simulation SBML-basierter quantitativer subzellularer Modelle von der Software COPASI übernommen (Hoops et al. 2006), die zu diesem Zweck in die SE integriert worden ist. Für jedes

importierte SBML-basierte Modell und jede Zelle des simulierten Gewebes wird eine individuelle Zeitverlauf-Simulation durchgeführt.

Abbildung 5.18 zeigt diese Zeitverlauf-Simulation für die 2-Variablen-Version von Tysons Modell exemplarisch für eine Stammzelle und eine *Transit Amplifying* (TA)-Zelle der *in silico* Epidermis. Im Fall der Stammzelle befindet sich Tysons Modell im Modus *Spontaneous Oscillator*¹²², in dem sich oszillierend hohe und niedrige Mengen des aktiven *maturation promoting factor* (*activeMPF*, hier: U) abwechseln (Abbildung 5.18 [A]). Die Zellteilung einer Stammzelle findet bei der Überschreitung des Schwellenwerts *MT* statt, was alle 60 Stunden und somit alle 120 Simulationsschritte der Fall ist. Dieses Zeitintervall ist eine Konsequenz der funktionierenden automatischen Abbildung der Zeitskalen durch das entwickelte CMS. Die originale Parametrisierung von Tysons Modell, in der alle 35 Schritte ein Überschreiten von *MT* zu erwarten wäre, ist nämlich nicht verändert worden. Ein zweiter Aspekt, der aus Abbildung 5.18 [A (1)] hervorgeht, ist die funktionierende automatische Initialisierung der SBML-basierten Modelle durch die SE. Stammzellen bekommen zu Simulationsbeginn ein zufälliges Alter zugewiesen, um synchrone Zellteilungen auszuschließen. Bei der dargestellten Stammzelle liegt dieses zufällige Alter bei etwa 25 Stunden.

TA-Zellen differenzieren nach einer begrenzten Anzahl von Zellzyklen zu einer frühen Spinosum-Zelle. Dies entspricht auf Ebene von Tysons Modell einer Änderung des Modus von *Spontaneous Oscillator* zu *Excitable Switch*. In letzterem Modus ergibt das Modell gleichbleibend niedrige Konzentrationen von *activeMPF*, die unterhalb des Schwellenwerts *MT* liegen, so dass keine Zellteilungen mehr stattfinden.

¹²¹ Näheres zur semantischen Integration von SBML-basierten Modellen siehe Abschn. 3.1.2 und 3.2.1.

¹²² Die möglichen Modi von Tysons Modell sind im Abschn. 4.3.2 eingehend beschrieben.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

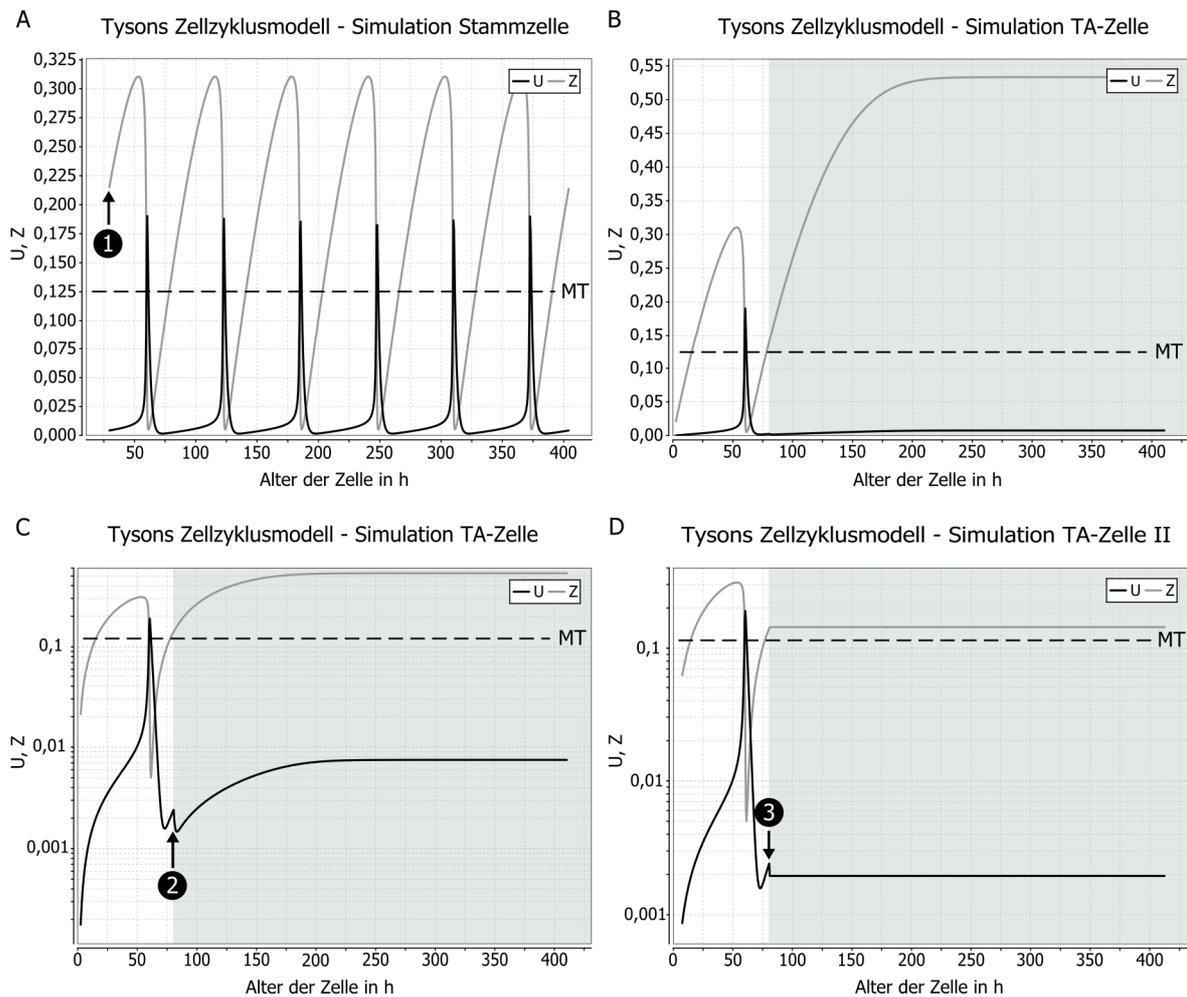


Abbildung 5.18: Multiskalierte Simulation des Zellzyklus in Stamm- und TA-Zellen. (A) In Stammzellen zeigt die Simulation von Tysons Modell spontane Oszillationen von hohen und niedrigen *activeMPF*-Mengen (hier: U). Die Zellteilung findet beim Erreichen des Schwellenwerts *MT* statt. Dies geschieht alle 60 Stunden. Tysons Modell wurde auf der Grundlage des zufälligen Alters, das einer Stammzelle zu Simulationsbeginn zugewiesen wird, entsprechend durch die Simulationsumgebung initialisiert (1). (B) Die Simulation von Tysons Modell in einer TA-Zelle zeigt den Übergang von Proliferation zu Differenzierung. Nach einem Zellzyklus differenziert eine TA-Zelle zu einer frühen Spinosum-Zelle. Bezogen auf Tysons Modell entspricht dies der Veränderung des Modus von *Spontaneous Oscillator* zu *Excitable Switch*. Tysons Modell ergibt in letzterem Modus konstant niedrige *activeMPF*-Mengen, die unterhalb des für Zellteilung zu erreichenden Schwellenwerts *MT* liegen (grau hinterlegter Bereich). (C) Darstellung der TA-Zelle aus (B) mit logarithmischer Ordinate, in der der Übergang von Proliferation zu Differenzierung und damit von TA-Zelle zu früher Spinosum-Zelle deutlicher wird (2). (D) Optimierung der Simulationszeit durch die Deaktivierung der Simulation von Tysons Modell in differenzierten Zellen (grau hinterlegter Bereich). Die Deaktivierung erfolgt hier nach einem Zellzyklus einer TA-Zelle zum Zeitpunkt ihrer Differenzierung zu einer frühen Spinosum-Zelle (3).

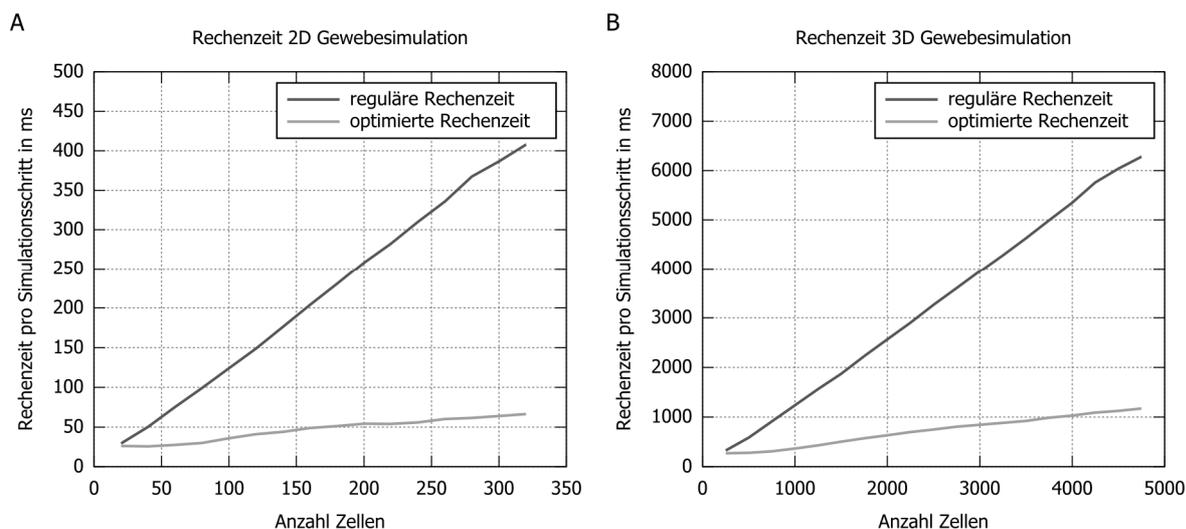


Abbildung 5.19: Optimierung der Rechenzeit der multiskalierten Epidermis-Simulation. Durch die Deaktivierung der Simulation der 2-Variablen- und 6-Variablen-Version von Tysons Zellzyklusmodell in differenzierten Zellen kann sowohl in der 2D (A) als auch der 3D Gewebesimulation die Rechenzeit pro Simulationsschritt signifikant reduziert werden. Im regulären wie optimierten Fall steigt die Rechenzeit linear mit der Zahl der Zellen im simulierten Gewebe an.

Die in Abbildung 5.18 [B] dargestellte TA-Zelle differenziert nach einem Zellzyklus. Die Modusänderung von Tysons Modell wird besonders in der Darstellung mit logarithmischer Ordinate deutlich (Abbildung 5.18 [C (2)]). Die Modusänderung für sich zeigt, wie im entwickelten multiskalierten Modell der humanen epidermalen Homöostase über das Zelldifferenzierungs-Submodell die zelluläre Modellebene mit der subzellulären Modellebene semantisch verbunden ist.

Mit der Funktion *SbmlSim* des GMS kann die Simulation eines importierten SBML-basierten Modells in einer konkreten Zelle deaktiviert werden. Dies ist genutzt worden, um die Rechenzeit der multiskalierten Gewebesimulation zu optimieren, indem in allen differenzierten Zellen die Simulation von Tysons Modell deaktiviert wird, da bei differenzierten Zellen dessen Semantik nicht mehr von Bedeutung ist (s. Abschn. 4.3.2). Diese Deaktivierung der Modellsimulation bei der Differenzierung einer TA-Zelle zu einer frühen Spinosum-Zelle ist im zeitlichen Verlauf in Abbildung 5.18 [D (3)] dargestellt.

Für die Simulation der 2D wie 3D *in silico* Epidermis ist der Einfluss dieser Deaktivierung auf die benötigte Rechenzeit in Abhängigkeit von der Größe des simulierten Gewebes untersucht worden. Um die Rechenlast zu erhöhen, ist zusätzlich zur 2-Variablen-Version von Tysons Modell noch die 6-Variablen Version mit dem GMS importiert worden. Auf die 6-Variablen-Version wird jedoch innerhalb des grafischen Zellverhaltensmodells der humanen epidermalen Homöostase an keiner Stelle semantisch Bezug genommen.

Die sich durch die vorgenommene Optimierung ergebenden Unterschiede mit Blick auf die Rechenzeit sind in Abbildung 5.19 dargestellt. Die Rechenzeit mit und ohne Optimierung steigt in der 2D wie 3D Simulation linear mit der Zahl der Zellen an. Die Optimierung zeigt einen deutlichen Effekt in Form signifikanter Reduktion benötigter Rechenzeit. Die deutliche Einsparung von Rechenzeit ist in der Tatsache begründet, dass in der (*in silico*) Epidermis, bezogen auf die Gesamtzellzahl, nur eine vergleichsweise geringe Zahl an Zellen proliferiert.

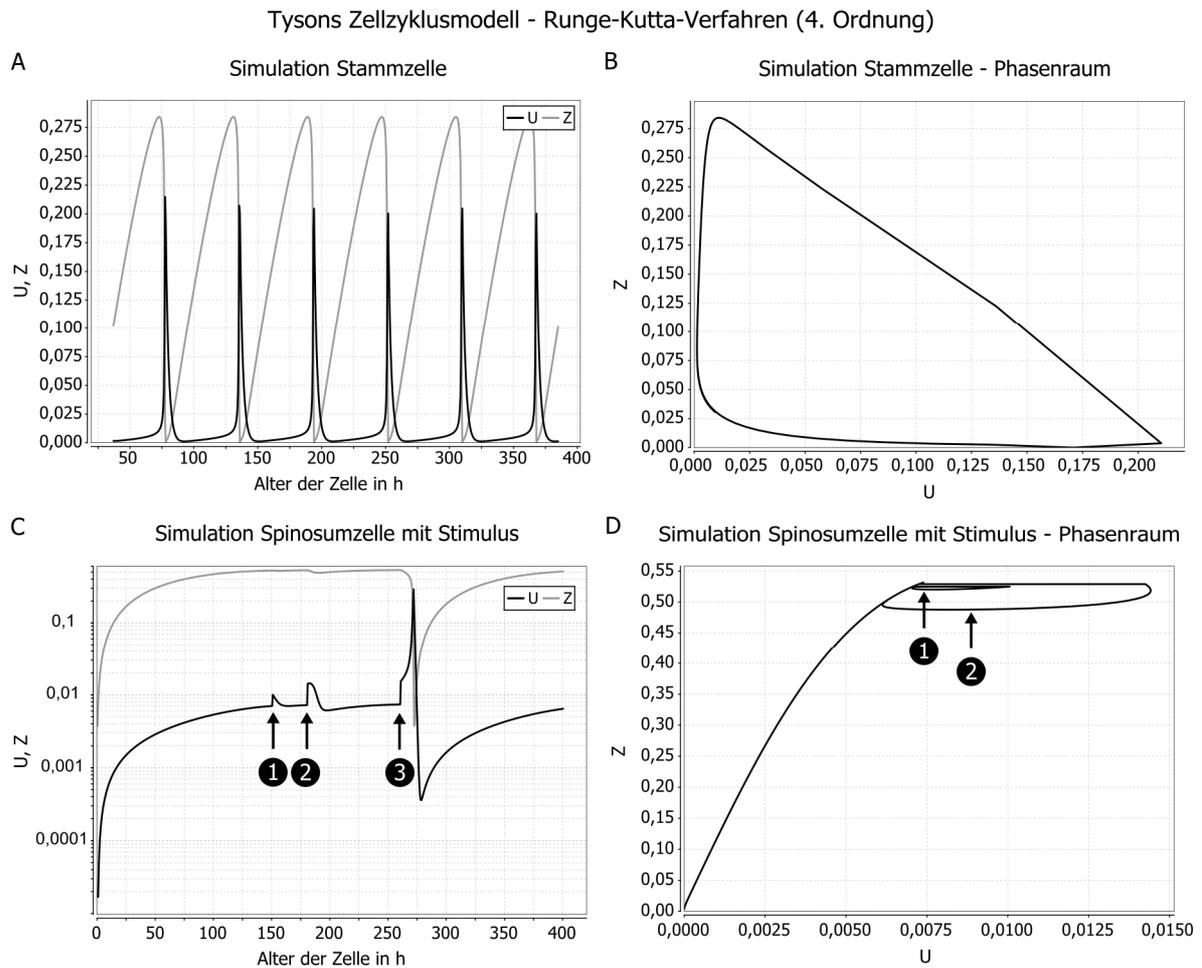


Abbildung 5.20: Simulation von Tysons Zellzyklusmodell mit dem Runge-Kutta-Verfahren. Simulation von Tysons Modell in einer Stammzelle im Modus *Spontaneous Oscillator* dargestellt als (A) Zeitreihe und (B) Grenzzyklus im Phasenraum. (C) Simulation von Tysons Modell in einer Spinosum-Zelle im Modus *Excitable Switch*. Die *activeMPF*-Menge bleibt stabil niedrig bei kleinen Stimuli (1,2). Ein hinreichend großer Stimulus hingegen (3) führt zu einem transienten Ausschlag der *activeMPF*-Menge. (D) Darstellung der Zeitreihe aus (C) im Phasenraum. Stimulus (2) und (3) entsprechen jenen in der Zeitreihe.

Dies wiederum bedeutet, dass nur in einer Minderheit der Zellen Tysons Modell tatsächlich simuliert wird.

Semantische Integration kontinuierlicher und diskreter Modelle

In Abschn. 4.3.2 ist ein weiteres Zellzyklus-Submodell vorgestellt worden, in dem beispielhaft gezeigt wird, dass kontinuierliche Modelle und deren Semantik mit den Mitteln des GMS manuell in diskrete grafische Zellverhaltensmo-

delle integriert werden können. Tysons Modell wird hier mit dem Runge-Kutta-Verfahren (4. Ordnung) numerisch integriert. Abbildung 5.20 zeigt die Simulation des Zellzyklus-Submodells in einer Stammzelle und einer Spinosum-Zelle. Die Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen ist hier manuell durch Anpassung der Modellparameter erfolgt. Die Simulation ist für das im Zellverhaltensmodell angenommene atomare Zeitintervall von $\Delta t_{cbm} = 0,5$ h numerisch stabil. Anhand der Modellsimulation in Spino-

sum-Zellen, bei denen sich Tysons Modell im Modus *Excitable Switch* befindet, ist die numerische Stabilität zusätzlich getestet worden. Hierzu sind während der Simulation über die SE verschieden starke Stimuli bezogen auf die *activeMPF*-Menge (hier: U) erzeugt worden (Abbildung 5.20[C, D]). Ein hinreichend großer Stimulus (3) führt zu einem transienten Ausschlag der *activeMPF*-Menge. Hiermit konnte das von Tyson publizierte Modellverhalten im Modus *Excitable Switch* mit dem CMS reproduziert werden (Tyson 1991).

5.2 Simulation der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden

Im Rahmen eines breiter angelegten Forschungsprojekts, das zum Ziel hatte, mit einem systembiologischen Ansatz die Heilung akuter epidermaler Wunden zu untersuchen und zu charakterisieren, ist ein neuer Mechanismus für die Reepithelialisierung der Wunde postuliert worden, der die bisherigen Erklärungsansätze in Frage stellt. Aus der experimentellen Datenlage ließ sich dieser Mechanismus, der *Extending Shield Mechanism* (ESM) genannt wurde, zwar herleiten, jedoch fehlte der Nachweis, dass dieser vom theoretischen Standpunkt her mit Blick auf die Biomechanik plausibel ist. Aus diesem Grund ist das in Abschn. 4.4 beschriebene qualitative *in silico* Modell des Reepithelialisierungsmechanismus mit dem entwickelten GMS realisiert worden. In diesem Modell ist ein besonderer Fokus auf die unterschiedlichen Zell-Zell-Verbindungen, die Adhäsion basaler Zellen an die Basalmembran und die damit verbundenen qualitativen mechanischen Eigenschaften gelegt worden¹²³.

¹²³ Eine differenzierte Einführung in das Forschungsprojekt als solchem, die existierenden Reepithelialisierungstheorien und den neuen Reepithelialisierungsmechanismus wird in

Das Ergebnis der Modellerstellung war ein grafisches CBM der Reepithelialisierung und ein erweitertes gitterfreies Zell-Zentrumsmodell auf Seiten der Biomechanik (BM) (s. Abschn. 4.4.2 bis 4.4.4). In diesem Abschnitt werden nun die Simulationsergebnisse dargestellt, die sich aus der Kopplung des CBM an die zwei- wie dreidimensionale Variante des BM ergaben. Es sind hierbei keine Anpassungen am CBM aufgrund der Dimensionalität des multizellulären Raums vorgenommen worden. Abbildung 5.21 gibt den zeitlichen Verlauf der Reepithelialisierung in 2D und 3D Simulation wieder. Abbildung 5.22 stellt den *in silico* dem *in vitro* Reepithialisierungsverlauf gegenüber.

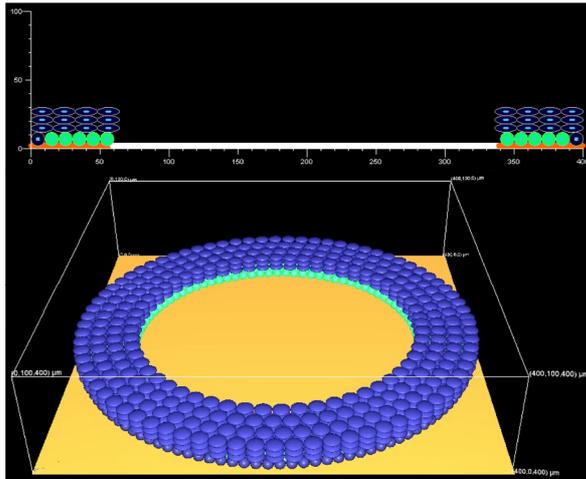
Die initialen Bedingungen sind in der 2D und 3D Simulation wie folgt: Basal werden am Rand des simulierten Gewebes *fast dividing cells* (FDCs) mit kurzem Zellzyklus platziert. Daran schließen sich in grüner Einfärbung die basalen Zellen (BC) des intakten Gewebes an. Darüber befinden sich suprabasale Zellen (SBC), die ein mechanisch stabiles Kompartiment bilden.

Es wird angenommen, dass im Wundareal die extrazelluläre Matrix fehlt, die für die aktive kollektive Migration von basalen Zellen benötigt wird. Dies wird in der 2D Simulation durch weiße Einfärbung der entsprechenden Segmente der Basalmembran zum Ausdruck gebracht. Die Kontaktzeit mit Zellen bestimmt die biomechanischen Eigenschaften eines solchen Segments im Wundareal mit Blick auf die Adhäsion basaler Zellen an der Basalmembran (Näheres hierzu s. Abschn. 4.4.2). In Abhängigkeit von dieser Kontaktzeit verändert sich während der Simulation die Einfärbung eines Segments der Basalmembran

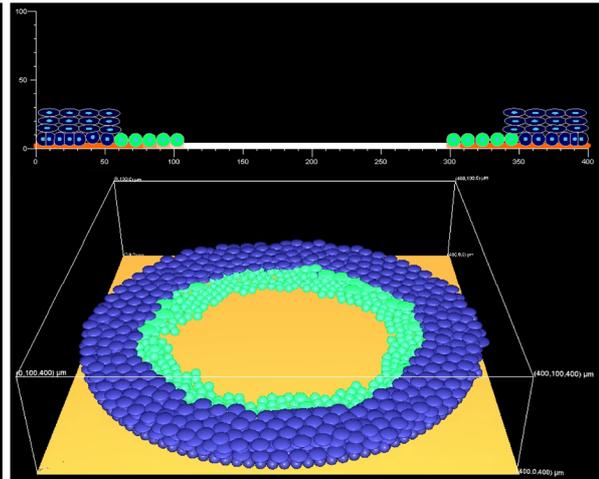
Abschn. 4.4 gegeben. Ferner wird in diesem Abschnitt der grundlegende Aufbau des *in silico* Modells, die generellen Modellannahmen und das Modell als solches ausführlich dargestellt.

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

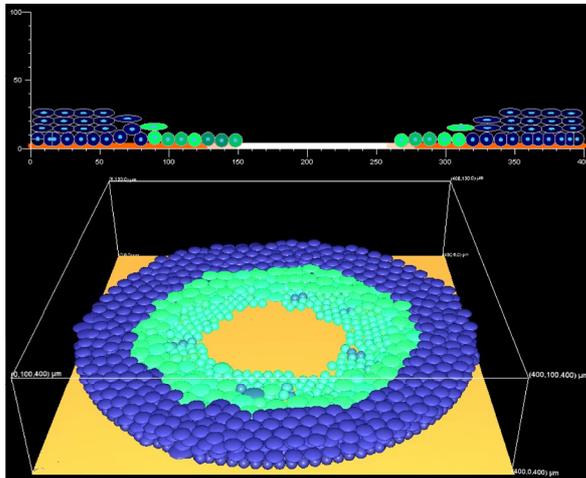
Tag 0



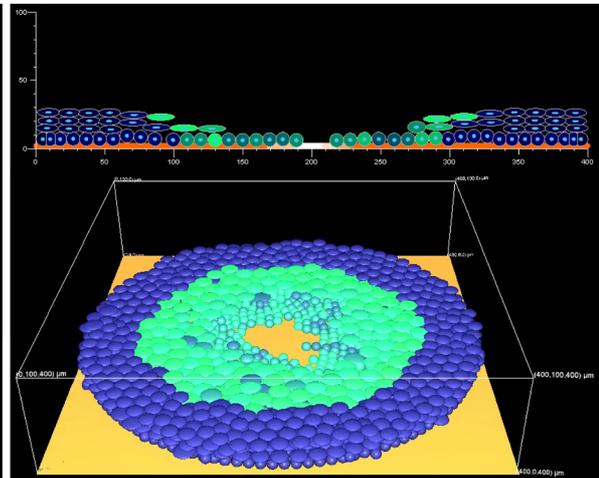
Tag 1



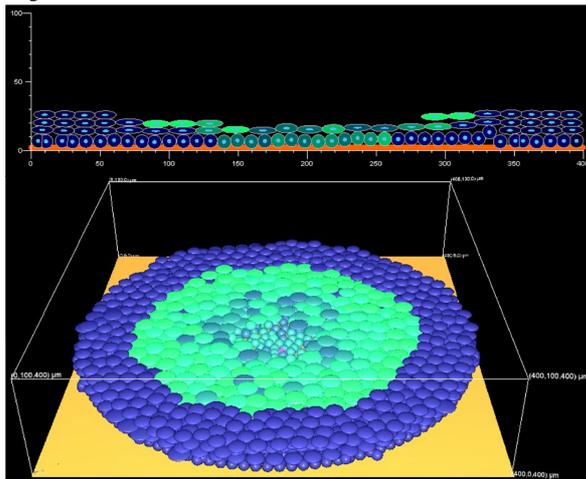
Tag 2



Tag 3



Tag 4



Tag 6

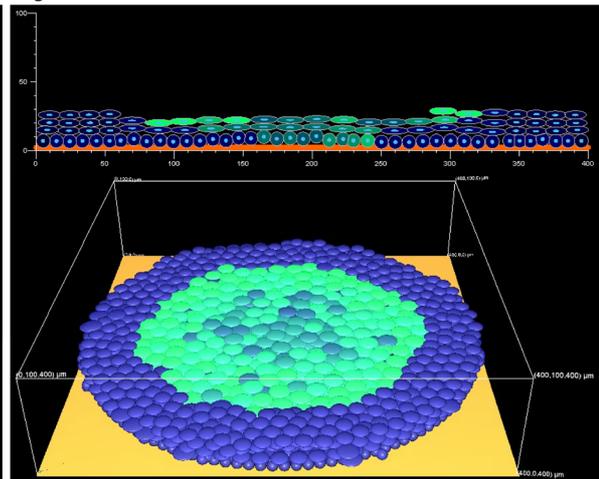


Abbildung 5.21: Simulation der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden. Die 2D wie 3D Simulationen ergaben mit Blick auf den zeitlichen Verlauf der Reepithelialisierung der Wunde übereinstimmende Ergebnisse. Die Proliferationswelle am Tag 1 nach Induzierung der Wunde sorgt für die Ausprägung der epidermalen Zellmigrationszunge, die am Tag 2 ihre charakteristische trianguläre Struktur erhält. Ab Tag 3 werden zunehmend basale Zellen in das suprabasale Kompartiment angehen. Ab Tag 4 ist das Wundareal, wie experimentell nachgewiesen, komplett von Zellen bedeckt.

5.2 Simulation der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden

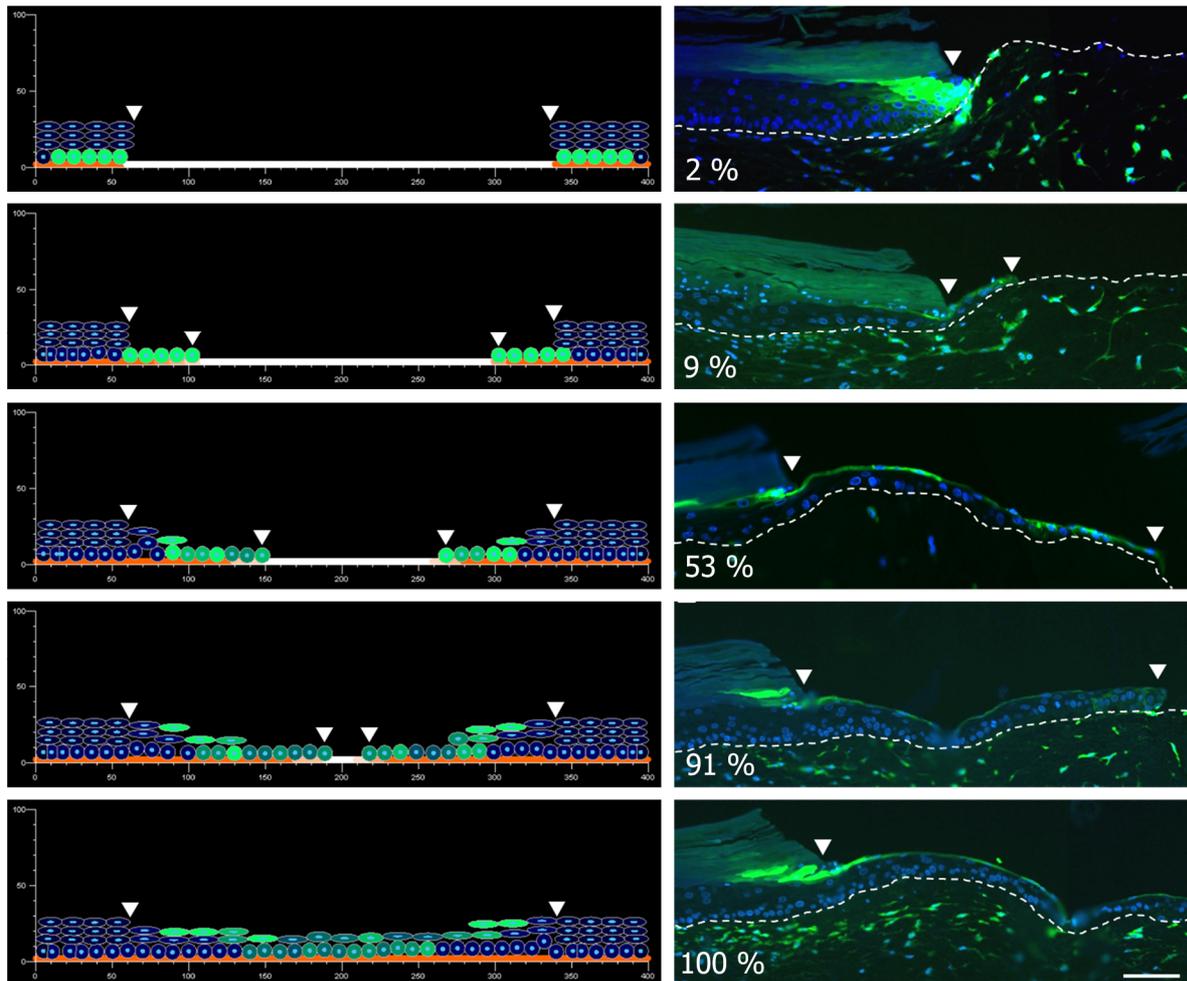


Abbildung 5.22: Gegenüberstellung des *in silico* und des *in vitro* Reepithelialisierungsverlaufs. Es herrscht eine qualitativ gute Übereinstimmung zwischen simulierter Reepithelialisierung und den histologischen Schnitten des *in vitro* Wundmodells in der jeweiligen Reepithelialisierungsphase. Ausgehend von der neu induzierten Wunde bildet sich eine Migrationszunge, die im weiteren Verlauf eine trianguläre morphologische Struktur erhält. Ursprünglich basale Zellen werden in das suprabasale Kompartiment angehoben, wo sie eine elongierte Zellform annehmen und zu frühen suprabasalen Zellen (ESBC) differenzieren. Die ESBC bilden eine sich inkrementell ausdehnende Abschirmung (engl. *extending shield*) für die darunter migrierenden basalen Zellen. Schließlich ist das komplette Wundareal von Zellen bedeckt und es bildet sich eine mehrschichtige Neopidermis.

hin zu einem dunklen Orange, das den vollständigen Aufbau extrazellulärer Matrix im entsprechenden Segment symbolisiert.

Die Grünfärbung der initial vorhandenen BC ist an den experimentell verwendeten Zelltracker angelehnt. Bei jeder Zellteilung einer solchen Zelle wird Mutter- und Tochterzelle ein entsprechend dunkleres Grün zugewiesen, was der experimentell beobachtbaren Abdunkelung des Zell-

trackers entspricht. Somit kann anhand der Grünfärbung der initial vorhandenen BC deren Teilungshäufigkeit im Wundareal abgeschätzt werden.

Ausgehend von diesen Simulationsbedingungen ergibt sich für die 2D und 3D Simulation übereinstimmend der folgende Reepithelialisierungsverlauf als emergentes Ergebnis:

Die von den FDC erzeugte Proliferationswelle erzeugt bis Tag 1 die Ausbildung der epidermalen Zellmigrationszunge, die an Tag 2 eine trianguläre morphologische Struktur erhält. Diese besteht aus einer Einzelzellschicht an der Migrationsfront und einer Mehrzellschicht in Richtung intaktes Gewebe. Diese trianguläre morphologische Struktur ergab sich durch das Anheben und damit mechanische Verdrängen von basalen Zellen in das suprabasale Kompartiment durch andere basale Zellen. Im suprabasalen Kompartiment nehmen diese Zellen eine elongierte Form an und differenzieren zu frühen suprabasalen Zellen. Ab Tag 2 sind im Wundareal erste mitotische Ereignisse zu beobachten, die ab Tag 3, wie auch im Experiment beobachtet, merklich zunehmen. Ferner werden ab Tag 3 zunehmend BC in das suprabasale Kompartiment angehoben, wo sie differenziert zu ESBC eine sich inkrementell ausdehnende Abschirmung für die unter ihnen kollektiv migrierenden BC bilden. Dies entspricht dem auf Basis der experimentellen Daten postulierten ESM.

Ab Tag 4 ist *in silico* entsprechend der *in vitro* Situation das komplette Wundareal von Zellen bedeckt. In der weiteren zeitlichen Folge, die in Abbildung 5.21 bis zum Tag 6 dargestellt ist, bildet sich eine mehrschichtige Neoepidermis. Abschließend kann festgehalten werden, dass mit dem qualitativen *in silico* Modell die *in vitro* beobachtete Reepithelialisierung von akuten epidermalen Wunden nebst postuliertem ESM reproduziert werden konnte. Somit konnte mittels des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CSM die Theorie des ESM untermauert werden.

5.3 Simulation des generischen Chemotaxis-Modells

Das in Abschn. 4.5 vorgestellte generische Chemotaxis-Modell ist als Schablone entwickelt worden, die auf konkrete Fragestellungen mit gerichteter Zellmigration in einem Stoffkonzentrationsgradienten angepasst werden kann. Durch die Kopplung dieser Modellschablone an die beiden seitens der SE bereitgestellten Varianten des gitterbasierten Zellmodells (s. Abschn. 4.2.2) ist ein zwei- wie dreidimensionales Chemotaxis-Modell erstellt worden. Die Simulation dieser beiden Modelle dient als Test- bzw. Anwendungsfall für die folgenden Komponenten des entwickelten CMS:

- Erweiterung des 2D und 3D gitterbasierten Zellmodells um die chemotaktische Beeinflussung der Zellmigration (s. Abschn. 4.2.2)
- Extrazelluläre Diffusionsfelder und die ihnen zugrunde liegende numerische Simulation des Reaktions-Diffusions-Modells (s. Abschn. 4.1.2)
- Sekretionsbasismodell der Simulationsumgebung (s. Abschn. 4.1.2)

In der Simulation beider Modelle wird im Zentrum des multizellulären Raums eine stationäre Population sekretorischer Zellen platziert. Diese sezernieren mit konstanter Rate einen Stoff in das extrazelluläre Diffusionsfeld, der auf die initial am oberen und unteren Rand des Raums platzierten migrierenden Zellen als Chemo-Attractant wirkt.

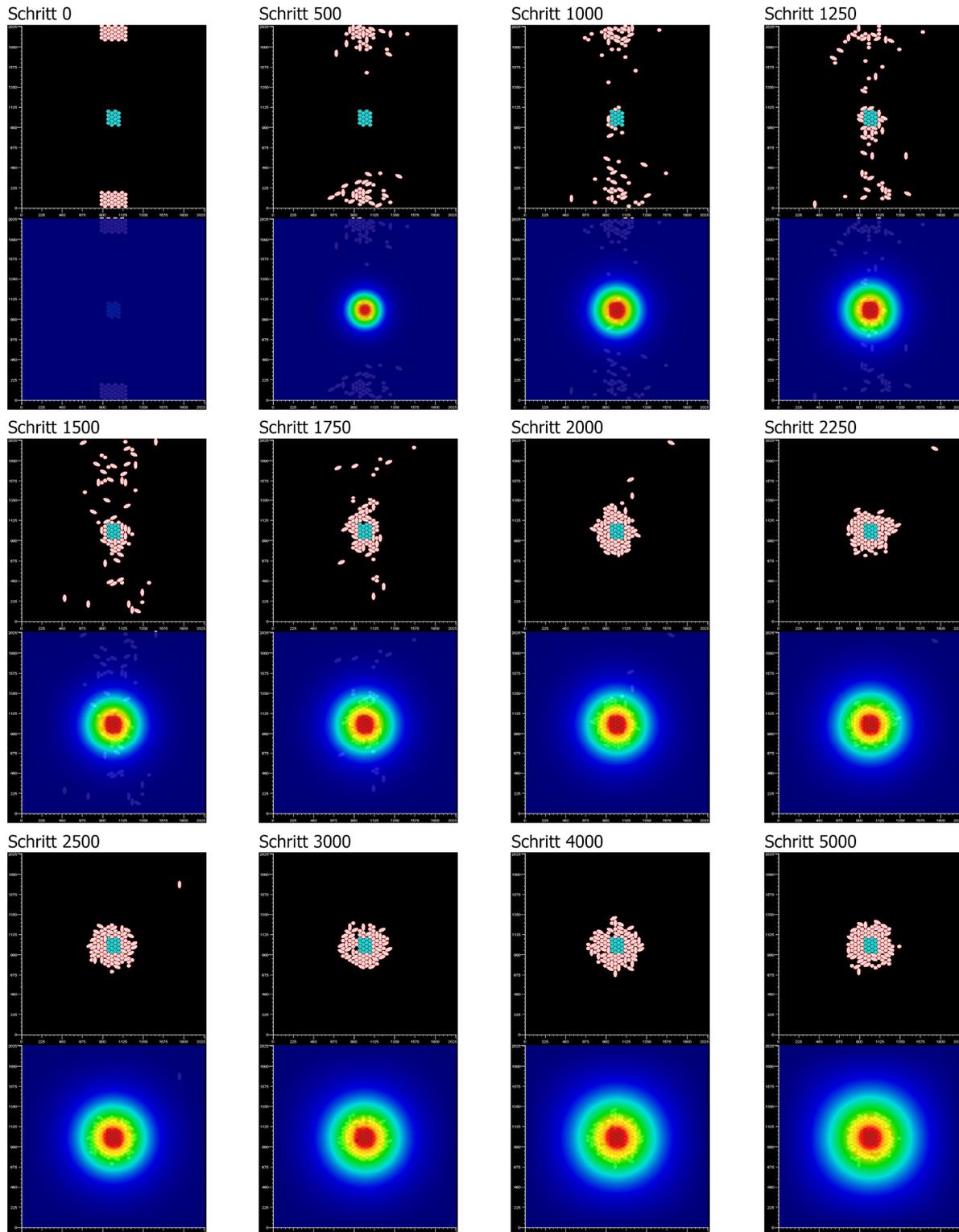


Abbildung 5.23: Zellmigration in einem zweidimensionalen chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten. Zellen migrieren im Sinne positiver Chemotaxis in Richtung der höheren Konzentration des Chemo-Attractants (oben: sekretorische Zellkolonie und migrierende Zellen, unten: Überblendung des Stoffkonzentrationsgradienten).

5 Simulationsergebnisse der entwickelten *in silico* Modelle

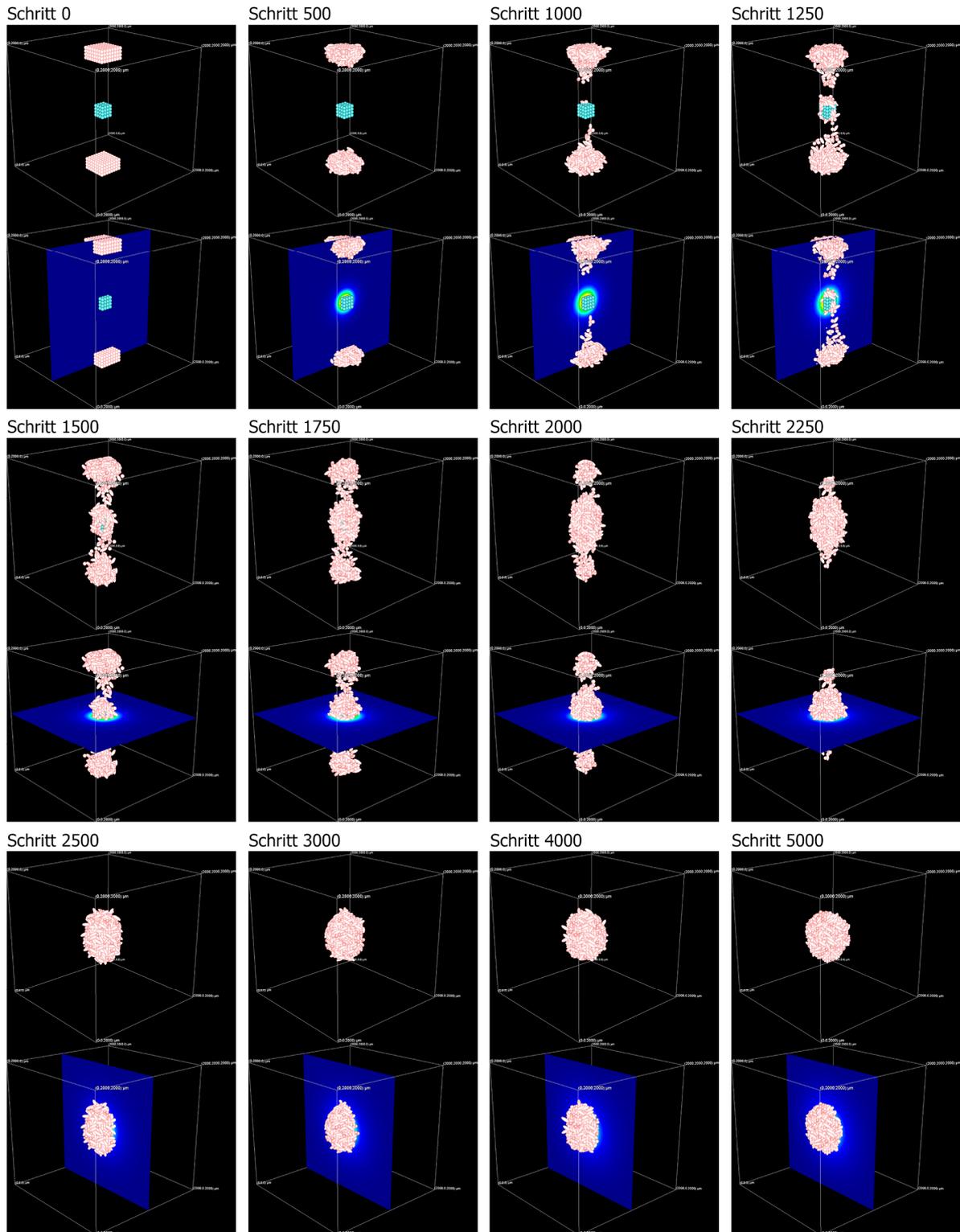
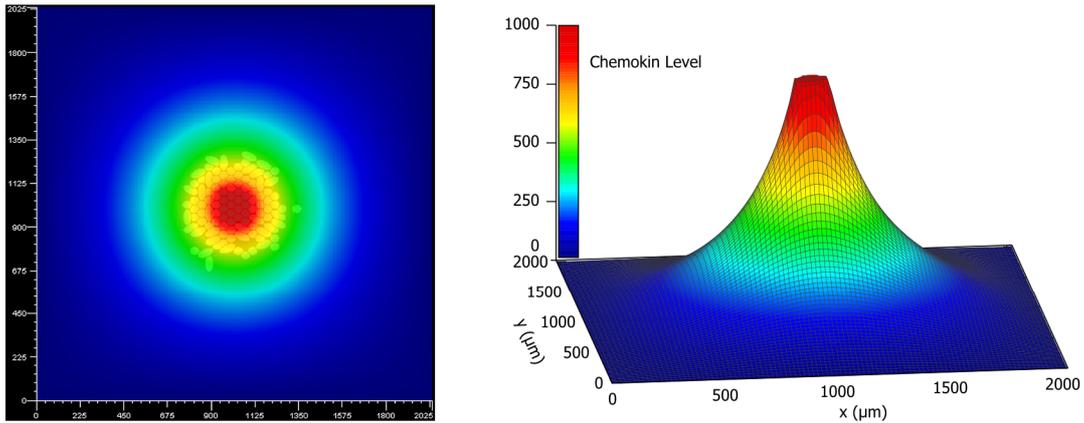


Abbildung 5.24: Zellmigration in einem dreidimensionalen chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten. Zellen migrieren wie in Abbildung 5.23 im Sinne positiver Chemotaxis in Richtung der höheren Konzentration des Chemo-Attraktants (oben: sekretorische Zellkolonie und migrierende Zellen, unten: Einblendung einer Querschnittsebene durch den Stoffkonzentrationsgradienten).

5.3 Simulation des generischen Chemotaxis-Modells

2D Chemokin Diffusionsfeld - Simulationsschritt 5000



3D Chemokin Diffusionsfeld - Simulationsschritt 5000

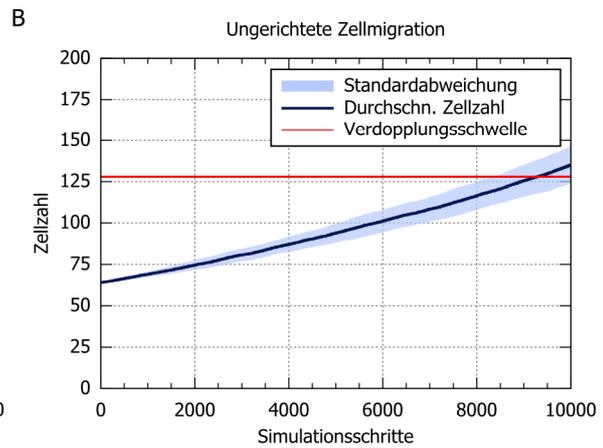
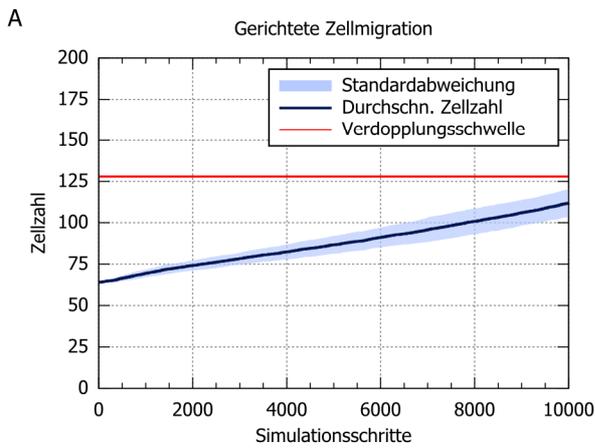
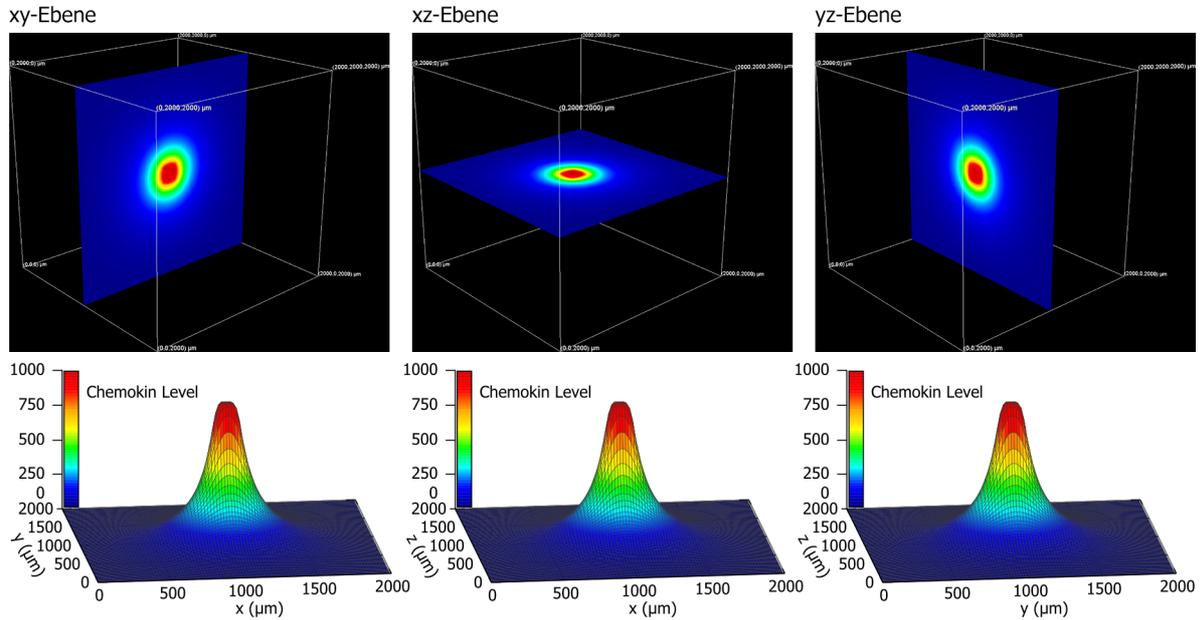


Abbildung 5.25: Finale Stoffkonzentrationsgradienten und Verdopplungszeit der Zellpopulation. Dargestellt sind die finalen Stoffkonzentrationsgradienten zum Simulationsschritt 5.000, die durch Sekretion des Chemo-Attractants und die Simulation der isotropen Diffusion entstanden sind. (A) Veränderung der Zellpopulationsgröße bei gerichteter und (B) ungerichteter Zellmigration.

Die zu erwartende Bewegung der migrierenden Zellen in Form von positiver Chemotaxis entspricht einem *Biased Random Walk*, da die migrierenden Zellen den Stoffkonzentrationsgradienten nicht beeinflussen (Alt 1980).

Der zeitliche Verlauf der Simulation des zwei- und dreidimensionalen Modells ist in Abbildung 5.23 und Abbildung 5.24 dargestellt. In beiden Fällen zeigt sich eine vergleichbare zeitliche Dynamik der gerichteten Zellmigration, die ab Simulationsschritt 1.000 deutlich als solche zu erkennen ist. Ab Simulationsschritt 2.500 hat sich um die Kolonie sekretorischer Zellen ein Zellcluster gebildet, das aus nahezu allen migrierenden Zellen besteht. Insbesondere im Fall der dreidimensionalen Simulation wird deutlich, wie die Form des Stoffkonzentrationsgradienten die Form des Zellclusters beeinflusst, die sich bis zum Simulationsschritt 5.000 zunehmend der Form einer Kugel annähert. Abbildung 5.25 zeigt die resultierenden Stoffkonzentrationsgradienten der 2D und 3D Simulation. Das Reaktions-Diffusions-Modell ist numerisch stabil und korrekt simuliert worden, so dass die Gradienten die erwartete Form aufweisen, die in der isotropen Diffusion des von den stationären sekretorischen Zellen sezernierten Stoffs begründet liegt.

Schließlich ist das zweidimensionale Chemotaxis-Modell genutzt worden, um die zeitliche Veränderung der Zellpopulationsgröße in Abhängigkeit von gerichteter und ungerichteter Zellmigration zu ermitteln. Um ungerichtete Zellmigration zu erhalten, ist vor Simulationsbeginn dem globalen Gewebeparameter des Modells *lamdaChem* der Wert 0 zugewiesen worden, was einer Deaktivierung der chemotaktischen Wirkung des Stoffkonzentrationsgradienten gleichkommt. Es sind jeweils 50 Simulationsläufe mit gerichteter und ungerichteter Zellmigration durchgeführt worden. Die theoretische Verdopplungszeit der Zellpopulation liegt nach Gleichung (3.91) bei den gewählten Wahrscheinlichkeiten für Ausdehnung, Retraktion und Proliferation bei 10.000 Simula-

tionsschritten. Auf der Grundlage der Daten der 50 Simulationsläufe ist die durchschnittliche Zellpopulationsgröße im zeitlichen Verlauf berechnet worden (Abbildung 5.25 [A, B]). Bei gerichteter Zellmigration zeigt sich eine höhere Verdopplungszeit, die in der sich hier deutlich stärker zeigenden Zellclusterbildung ihre Ursache hat. In einem Zellcluster ist die Wahrscheinlichkeit größer, dass in der Nachbarschaft einer Zelle, die nach der Simulation des stochastischen Zellverhaltensmodells in den Zustand der Ausdehnung übergehen sollte, keine freie Gitterzelle existiert. Bei ungerichteter Zellmigration wird die theoretische Verdopplungszeit unterschritten.

5.4 Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells

Als erste Konkretisierung des generischen Chemotaxis-Modells ist in Anlehnung an ein von Swat et al. veröffentlichtes Modellbeispiel für das Modellierungs- und Simulationssystem CompuCell3D (Swat et al. 2009) das Bakterien-Makrophagen-Modell entwickelt worden (Näheres s. Abschn. 4.6). Das Modell bildet im Kern die gerichtete Migration in einem Stoffkonzentrationsgradienten ab, bei dem die Stoffquelle nicht stationär, sondern beweglich ist, was einen wesentlichen Unterschied zum generischen Chemotaxis-Modell darstellt. Im Modell sezerniert das Bakterium in ein entsprechendes extrazelluläres Diffusionsfeld (DF) einen Stoff, der auf den Makrophagen als Chemo-Attractant wirkt. In geringerem Maße wirkt hingegen ein vom Makrophagen sezernierter Stoff in ein zweites DF als Chemo-Repellent auf das Bakterium.¹²⁴

¹²⁴ Näheres zu dieser Modellannahme und den damit verbundenen Hintergründen findet sich ebenfalls in Abschn. 4.6.

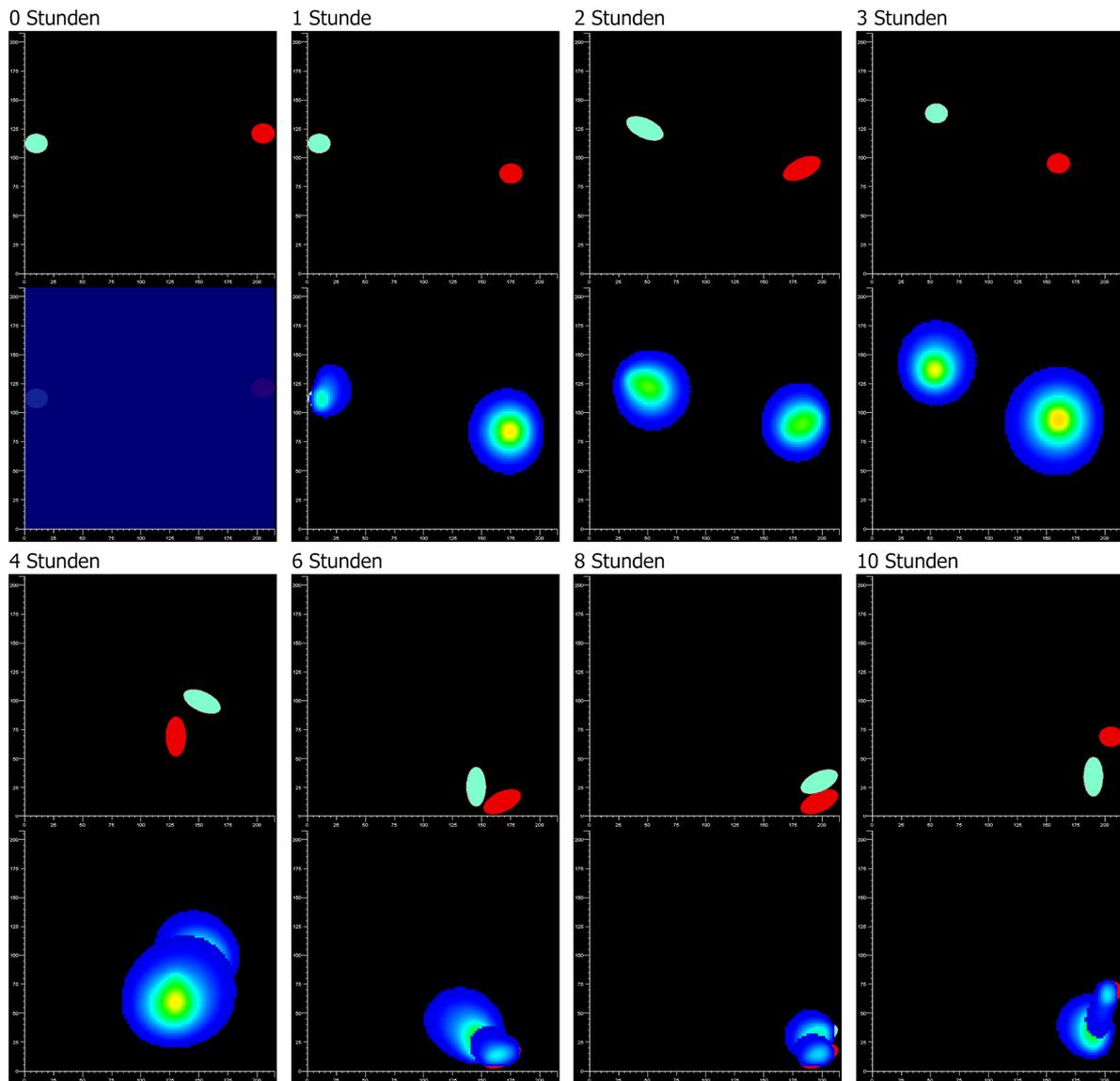


Abbildung 5.26: Zeitlicher Verlauf der Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells. Makrophage (grün) und Bakterium (rot) bewegen sich in den ersten beiden Stunden in zufälliger Richtung. Das Bakterium sezerniert einen Stoff, der auf den Makrophagen als Chemo-Attractant wirkt. Umgekehrt sezerniert der Makrophage einen Stoff, der in geringerem Maße auf das Bakterium die Wirkung eines Chemo-Repellent ausübt. Die hierdurch entstehenden Stoffkonzentrationsgradienten in den jeweiligen extrazellulären Diffusionsfeldern sind als Überblendung von Bakterium und Makrophage dargestellt. Ab Stunde 4 sind deutlich eine gerichtete Zellmigration und die Verfolgung des Bakteriums durch den Makrophagen zu erkennen.

Die Simulation dieses Modells hat eher veranschaulichenden Charakter und dient als Test- bzw. Anwendungsfall für:

- Extrazelluläre Diffusionsfelder und die ihnen zugrunde liegende numerische Simulation des Reaktions-Diffusions-Modells (s. Abschn. 4.1.2)
- Sekretions- und Absorptionsbasismodell der Simulationsumgebung (s. Abschn. 4.1.2)
- Zellzustandsänderungen auf der Basis extrazellulärer Stoffkonzentrationsgradienten

Im generischen Chemotaxis-Modell kam, bezogen auf das einem DF zugrunde liegenden Reaktions-Diffusions-Modell nur der Diffusionsteil der Reaktions-Diffusions-Gleichung zum Tragen. In den beiden DF des Bakterien-Makrophagen-Modells ist neben der Diffusionskonstante auch eine Zerfallskonstante für die sezernierten Stoffe definiert. Diese ist in Anlehnung an die von Swat et al. gewählten Werte bestimmt worden (Swat et al. 2009). Im erweiterten Bakterien-Makrophagen-Modell kommt über die Funktion *ReceiveDF* des GMS das dahinter stehende Absorptionsbasismodell der SE zur Anwendung. In diesem Zusammenhang wird die Abbildung einer Zellzustandsänderung auf der Grundlage einer von der Zelle wahrgenommenen extrazellulären Stoffkonzentration mit den Mitteln des CMS demonstriert.

In der Grundversion des Bakterien-Makrophagen-Modells wird zunächst angenommen, dass Bakterium wie Makrophage dieselbe Migrationsgeschwindigkeit besitzen. Die Wahrscheinlichkeiten für Ausdehnung und Retraktion sind so gewählt worden, dass diese bei einem reinem *Random Walk* bei ca. $1,4 \mu\text{m}/\text{min}$ liegt. Die vergleichsweise geringe Migrationsgeschwindigkeit in Bezug auf Bakterien ist angenommen worden, da zunächst im Wesentlichen der dem Modell zugrunde liegende Verfolgungsmechanismus einer motilen Stoffquelle durch eine Zelle de-

monstriert werden soll. Da auf biomechanischer Seite das gitterbasierte Modell verwendet wird, kann nur eine Zellpopulation mit äquivalenter Zellgröße- und form abgebildet werden (s. Abschn. 4.2.2). Aus diesem Grund ist vom deutlichen Größenunterschied zwischen Bakterium und Makrophage abstrahiert worden. Als Wert für den Zelldurchmesser wurde $20 \mu\text{m}$ gewählt, was in einem realistischen Bereich für Makrophagen liegt (Krombach et al. 1997). Abbildung 5.26 zeigt den zeitlichen Verlauf der Modellsimulation mit Blick auf die Lokalisation von Bakterium (rot) und Makrophage (grün) sowie die durch sie erzeugten Stoffkonzentrationsgradienten. Ab Tag 4 ist eine Verfolgung des Bakteriums durch den Makrophagen zu erkennen. Der Beginn der Verfolgung schlägt sich auch auf die Form des Stoffkonzentrationsgradienten nieder. Zu Beginn bewegen sich Bakterium wie Makrophage in einem lokal eher begrenzten Bereich, was zur Etablierung von lokal hohen Stoffkonzentrationen durch die Sezernierung des Chemo-Attractants bzw. des Chemo-Repellents führt (Abbildung 5.27 [E]). Mit Beginn der Verfolgung ändert sich die Lokalisation von Bakterium und Makrophage in zeitlich kurzen Abständen. Aufgrund der für die sezernierten Stoffe definierten Zerfallskonstanten können sich daher lokal keine hohen Konzentrationen in den extrazellulären Diffusionsfeldern ausbilden (Abbildung 5.27 [F]).

Für das stochastische Bakterien-Makrophagen-Modell sind in der Grundversion 50 individuelle Simulationsläufe durchgeführt worden, in denen alle 300 Simulationsschritte¹²⁵, die räumliche Distanz von Bakterium und Makrophage sowie deren Migrationsgeschwindigkeit auf Basis der Positionsänderungen exportiert worden sind. Die Daten eines Simulationslaufs sind durch Berechnung des ungewichteten gleitenden Mittelwerts

¹²⁵ Dies entspricht bei $\Delta t_{\text{cbm}} = 1 \text{ s}$ einer Realzeit von 5 min.

5.4 Simulation des Bakterien-Makrophagen-Modells

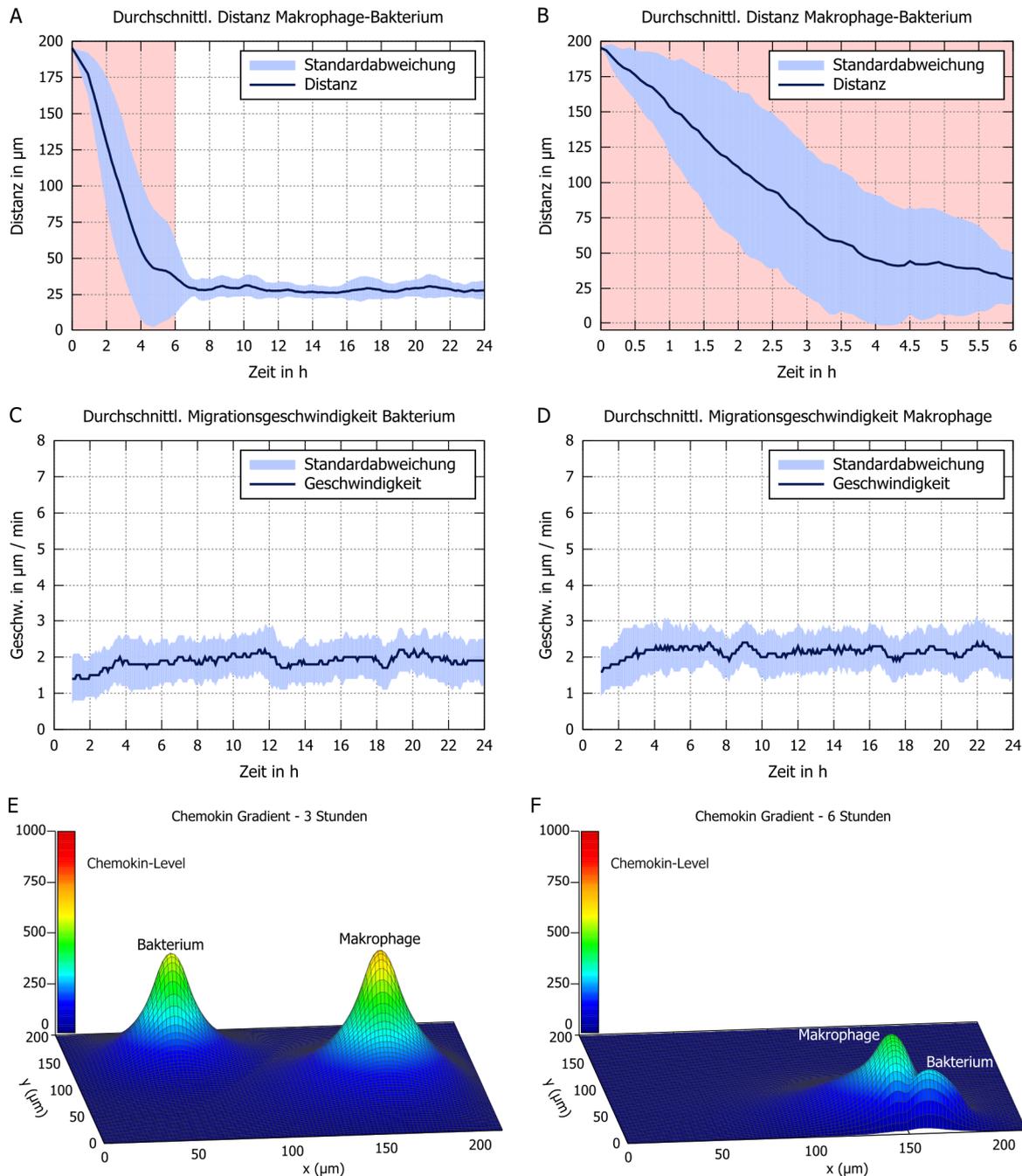


Abbildung 5.27: Durchschnittliche Distanz und Migrationsgeschwindigkeit von Bakterium und Makrophage. Für das stochastische Bakterien-Makrophagen-Modell sind 50 individuelle Simulationsläufe durchgeführt worden. Auf Basis dieser Daten, die mit gleitendem Mittelwert geglättet wurden, sind durchschnittliche Distanzen und Geschwindigkeiten berechnet worden. (A) Durchschnittliche Distanz in μm von Bakterium und Makrophage. (B) Zeitlich höher aufgelöste Darstellung der ersten 6 Stunden aus (A). Bis Stunde 4 nähert sich der Makrophage dem Bakterium an und verfolgt dieses im weiteren zeitlichen Verlauf. (C, D) Die durchschnittliche Geschwindigkeit von Bakterium und Makrophage liegt im erwarteten Bereich von mind. $1,4\mu\text{m}/\text{min}$. Die Geschwindigkeit in der Simulation liegt aufgrund der gerichteten Zellmigration über dem theoretisch berechneten Wert. (E) Stoffkonzentrationsgradienten erzeugt durch Bakterium und Makrophage. Durch die ungerichtete Migration in einem räumlich begrenzten Bereich entstehen lokale Maxima der sezernierten Stoffe. (F) Durch die Verfolgung des Bakteriums durch den Makrophagen und den damit verbundenen häufigen Wechseln der Zellposition ergeben sich aufgrund der definierten Zerfallsrate lokal keine höheren Konzentrationen der sezernierten Stoffe.

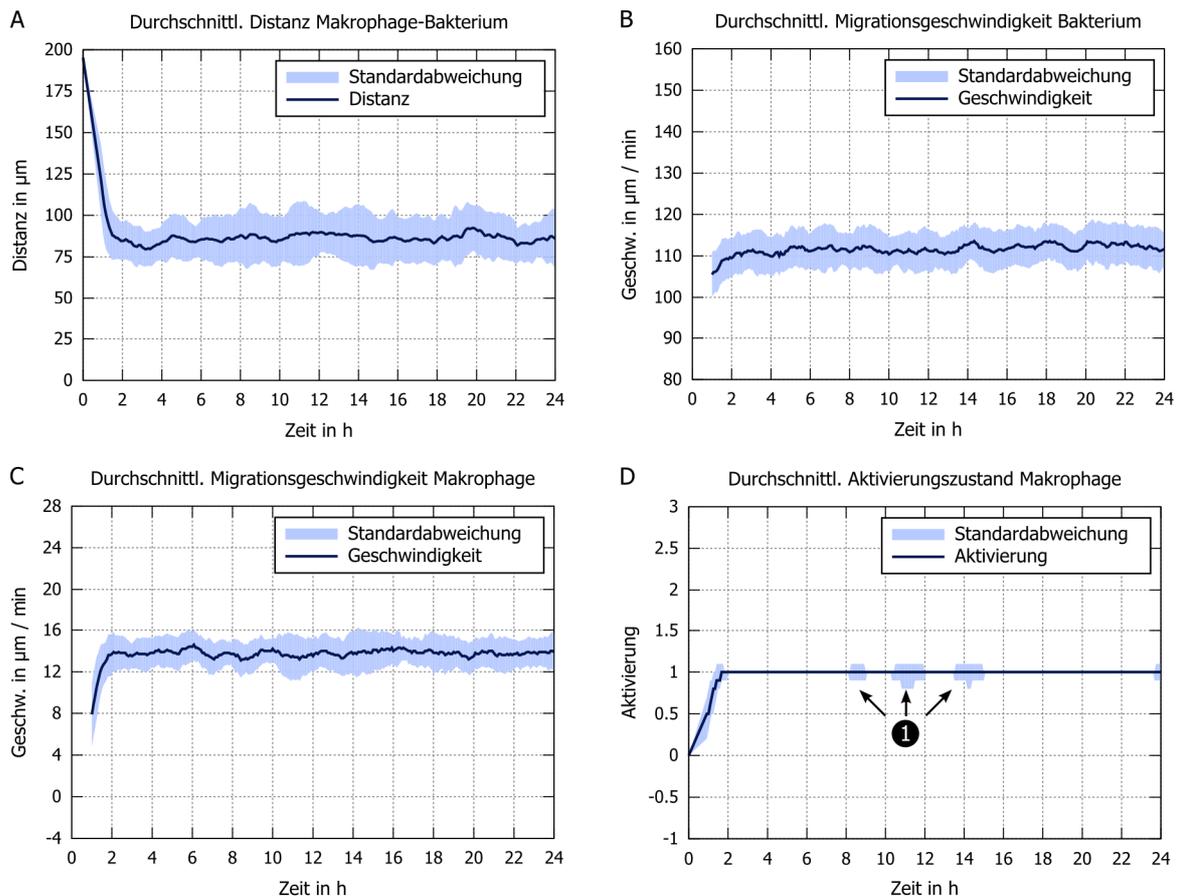


Abbildung 5.28: Durchschnittliche Distanz und Migrationsgeschwindigkeit von Bakterie und Makrophage II. Im erweiterten Bakterien-Makrophagen-Modell geht der Makrophage bei Wahrnehmung der Präsenz des Bakteriums in einen aktivierten Zustand über, in dem er seine Migrationsgeschwindigkeit erhöht. Für das erweiterte Modell sind, wie für dessen Grundversion, 50 individuelle Simulationsläufe durchgeführt und auf der Grundlage der geglätteten Ergebnisse Durchschnittswerte berechnet worden. (A) Durchschnittliche Distanz von Bakterium und Makrophage. (B) Durchschnittliche Geschwindigkeit des Bakteriums. (C) Durchschnittliche Geschwindigkeit des Makrophagen. (D) Durchschnittlicher Aktivierungszustand des Makrophagen. Dieser kann das Bakterium mit seiner vergleichsweise hohen Migrationsgeschwindigkeit nicht dauerhaft verfolgen, so dass er kurzzeitig den Zustand der Aktivierung wieder verlässt (1).

mit einer Fensterbreite von 12 geglättet worden. Basierend auf den geglätteten Daten wurde die durchschnittliche Distanz bzw. Geschwindigkeit bestimmt.

Die *Findungsphase*, in der Makrophage und Bakterium noch nicht in unmittelbarem Kontakt stehen, dauert im Mittel bis Stunde 4 (Abbildung 5.27 [A, B]). Danach bleiben beide Zellen konstant in Kontakt, was sich in einer mittleren Distanz ausdrückt, die nicht wesentlich über einem Zelldurchmesser liegt. Die mittlere Geschwindigkeit

von Bakterium wie Makrophage liegt leicht über dem berechneten Wert von $1,4 \mu\text{m}/\text{min}$, da ihre Zellbewegung einem *Biased Random Walk* entspricht.

Erweitertes Bakterien-Makrophagen-Modell

Mit dem erweiterten Bakterien-Makrophagen-Modell (s. Abschn. 4.6) wird ein Beispiel gegeben, wie eine Zustandsänderung einer Zelle auf Basis extrazellulärer Stoffkonzentrationen abge-

bildet werden kann. Eine solche ist mit Blick auf die gewebeübergreifende Zell-Zell-Kommunikation über bspw. Zytokine in der Modellbildung von wesentlicher Bedeutung. Wie bereits zuvor skizziert, versucht der Makrophage mittels der Funktion *ReceiveDF* und dem damit verbundenen Absorptionsmodell eine Mindestmenge des vom Bakterium sezernierten Chemo-Attractant aufzunehmen. Liegt die absorbierte Menge unterhalb der definierten Mindestmenge für die Aktivierung, bleibt die Migrationsgeschwindigkeit des Makrophagen bei $1,4 \mu\text{m}/\text{min}$. Wird die für die Aktivierung notwendige Mindestmenge absorbiert, geht der Makrophage in den aktivierten Zustand über, in dem seine Migrationsgeschwindigkeit bei $10 \mu\text{m}/\text{min}$ liegt. Diese Migrationsgeschwindigkeit liegt für aktivierte Makrophagen in einem realen Bereich. Die Aktivierung selbst hat bspw. in der Erhöhung der Migrationsgeschwindigkeit bei Aktivierung durch *Colony-stimulating factor-1* (CSF-1) seine biologische Entsprechung (Pixley 2012). Die Beibehaltung des aktivierten Zustands durch den Makrophagen hängt davon ab, ob in den folgenden Simulationsschritten weiterhin die für die Aktivierung erforderliche Mindestmenge absorbiert werden kann. Ist dies nicht der Fall, geht der Makrophage wieder in den inaktivierten Zustand mit der geringeren Migrationsgeschwindigkeit über. Für Bakterien wird in diesem Modell eine deutlich höhere Migrationsgeschwindigkeit von $105 \mu\text{m}/\text{min}$ angenommen, wie sie bei vergleichsweise langsamen Bakterien ohne Flagellum beobachtet worden ist (Dunker et al. 2010; Kendall 2001).

Wie für das Bakterien-Makrophagen-Modell in der Grundversion sind auch für die erweiterte Version 50 individuelle Simulationsläufe durchgeführt worden. Die exportierten 50 Geschwindigkeits- und Distanzdatenreihen sind durch Berechnung des ungewichteten gleitenden Mittelwerts mit einer Fensterbreite von 12 Datenpunkten geglättet worden. Dies gilt auch für den

exportierten Aktivierungszustand des Makrophagen. Auf Basis der geglätteten Daten sind arithmetisches Mittel und Standardabweichung bestimmt worden. Die erhaltenen durchschnittlichen Migrationsgeschwindigkeiten für Bakterium und Makrophage liegen wieder leicht über dem theoretisch berechneten Wert, da die Zellbewegung des Bakteriums einem *Biased Random Walk* und die des Makrophagen einem *Reinforced Random Walk* entspricht (Abbildung 5.28 [B, C]). Die Migrationsgeschwindigkeit des Makrophagen erhöht sich im Mittel innerhalb der ersten beiden Stunden auf die des aktivierten Zustands (Abbildung 5.28 [C]). Dies deckt sich mit der durchschnittlichen Zeitdauer für den Übergang in den aktivierten Zustand (Abbildung 5.28 [D]). Auffallend ist die mittlere Distanz zwischen Bakterium und Makrophage, die bei vier Zelldurchmessern liegt (Abbildung 5.28 [A]). Dies legt nahe, dass der Makrophage nicht in der Lage ist, ein Bakterium dauerhaft zu verfolgen, dessen Migrationsgeschwindigkeit um Faktor 10 höher ist. Gestützt wird dies durch den zwischenzeitlichen Übergang in den inaktivierten Zustand (Abbildung 5.28 [D(1)]).

5.5 Simulation der chemotaktischen T-Zell-Migration

Das T-Zell-Migrationsmodell (s. Abschn. 4.7), dessen Simulation Gegenstand dieses Abschnitts ist, wurde kooperativ mit Dr. Niels Halama vom Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg entwickelt. Dieser hat mit der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten SE verschiedene Modellsimulationen durchgeführt. Die Simulationsergebnisse sind durch ihn für die Verwendung im Rahmen dieser Arbeit freundlicherweise zur Verfügung gestellt worden. Das übergeordnete Interesse war die sich emergent ergebende räumliche Verteilung von T-Zellen in der Grenzregion zwischen gesunder Leber und

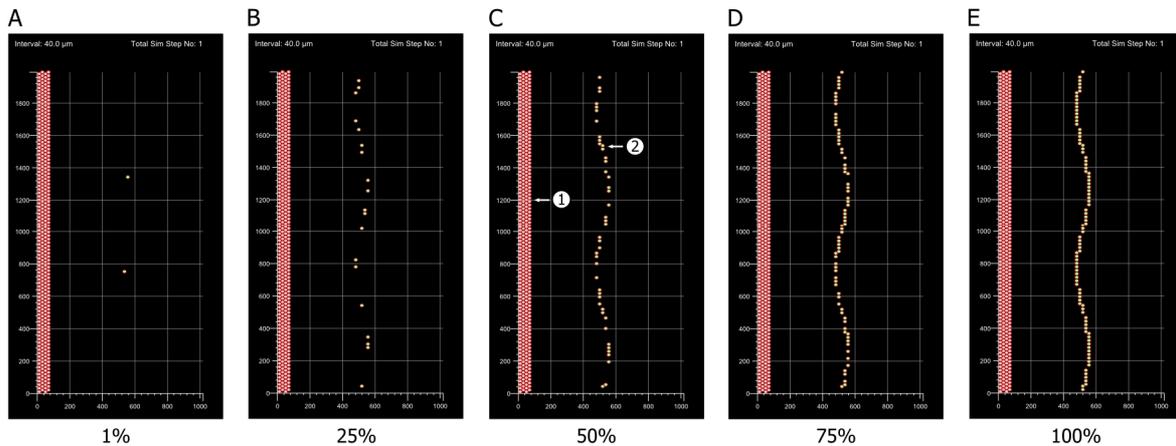


Abbildung 5.29: Initiale Simulationsbedingungen des T-Zell-Migrationsmodells. (1) Die T-Zellen werden am linken Rand des gitterbasierten multizellulären Raums platziert. (2) Im Zentrum dieses Raums befindet sich die Grenzregion zwischen gesunder Leber und Lebermetastase. Hier werden die sekretorischen Zellen entlang einer sinusförmigen Linie, die die Form der Grenzregion abbildet, unter Berücksichtigung der festgelegten Zelldichte zufällig verteilt.

Lebermetastase bei kolorektalem Primärtumor, wenn die Dichte der sekretorischen Zellen, die in dieser Grenzregion den chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten aufbauen, variiert¹²⁶.

Initiale Bedingungen und Simulationdurchführung

Zu Beginn der Simulation werden am linken Rand des gitterbasierten multizellulären Raums in den ersten vier Spalten T-Zellen mit einer räumlichen Dichte von 100% platziert (Abbildung 5.29). Dies entspricht bei der für den multizellulären Raum definierten Höhe von 2.000 µm und Breite von 1.000 µm einer T-Zell-Anzahl von 368. Im Zentrum werden entlang einer sinusförmigen Linie, die die Form der Grenzregion zwischen gesunder Leber und Lebermetastase abbildet, die sekretorischen Zellen platziert. Die Dichte der sekretorischen Zellen ist variabel und kann vor Beginn über die SE festgelegt werden. Unter Berücksichtigung dieser Zelldichte werden die sekretorischen Zellen zufällig entlang der vorge-

geben Linie platziert. Es sind Simulationläufe mit fünf unterschiedlichen räumlichen Dichten sekretorischer Zellen mit einer Länge von 15.000 Simulationsschritten durchgeführt worden. Dies entspricht bei einem atomaren Zeitintervall von $\Delta t_{\text{cbm}} = 1$ min einer Realzeit von 250 Stunden.

Simulationsergebnisse

Die Ergebnisse der Modellsimulationen sind in Abbildung 5.30 dargestellt. In Abhängigkeit von der Dichte der sekretorischen Zellen, die den chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten erzeugen (Abbildung 5.30 [unten]), ergeben sich nach 15.000 Simulationsschritten unterschiedliche räumliche T-Zell-Verteilungen. Diesen sind T-Zell-Verteilungen aus histologischen Schnitten der Grenzregion von gesunder Leber und Lebermetastase gegenübergestellt worden. Die histologischen Schnitte sind aus Biopsien angefertigt worden, in denen vergleichbare, für die T-Zell-Migration relevante¹²⁷ Chemokin-Konzentrationen gemessen wurden.

¹²⁶ Eine genauere Darstellung der Relevanz des Modells mit Blick auf den Forschungskontext wird in Abschn. 4.7 gegeben.

¹²⁷ Beispiele hierfür finden sich in Abschn. 4.7.

5.5 Simulation der chemotaktischen T-Zell-Migration

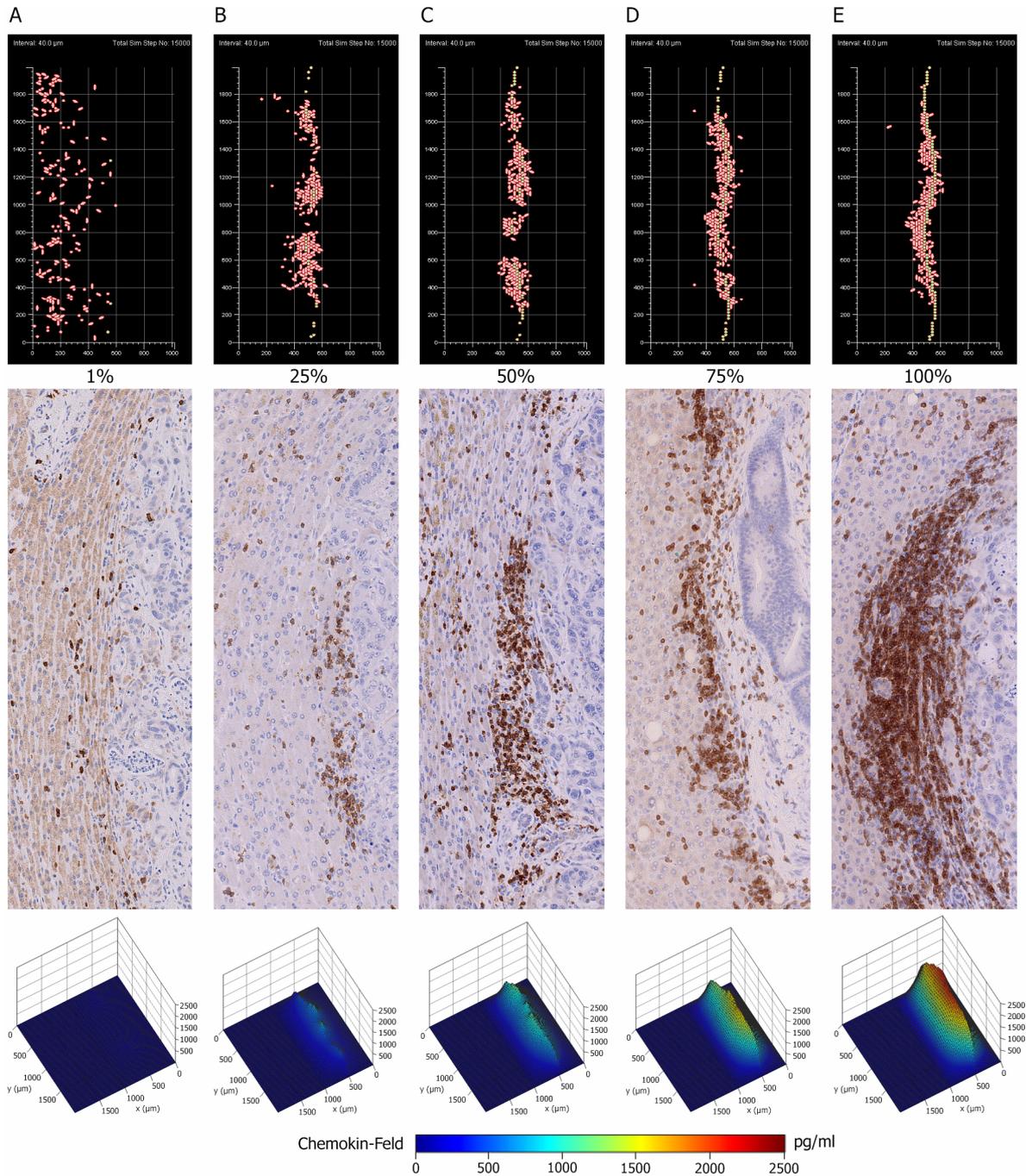


Abbildung 5.30: Ergebnisse der verschiedenen Simulationsläufe des T-Zell-Migrationsmodells. Dargestellt sind die finalen räumlichen Verteilungen der T-Zellen in Abhängigkeit von der Dichte der sekretorischen Zellen (oben), die sich auf Basis der chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten (unten) eingestellt haben. Die räumliche Verteilung *in silico* zeigt eine qualitativ gute Übereinstimmung mit histologischen Schnitten (Mitte) von Biopsien, in denen vergleichbare Chemokin-Konzentrationen gemessen wurden. Die T-Zellen sind hier braun angefärbt.

Es zeigt sich eine qualitativ gute Übereinstimmung zwischen Simulation und Histologie. Ausgehend von der festgestellten qualitativen Übereinstimmung, ist auf Basis der histologischen Schnittbilder und den Bildern, die mit der SE vom finalen Simulationszustand exportiert wurden, eine quantitative Untersuchung dieser Übereinstimmung durchgeführt worden. In diesem Kontext kam das *MosaicIA Plug-in* für die Software *ImageJ* zum Einsatz (Shivanandan et al. 2013; Helmuth et al. 2010). Zunächst sind in den histologischen Bildern und den Simulationsbildern die T-Zellen segmentiert worden. Anschließend wurde mit der zuvor genannten Software die Übereinstimmung der räumlichen Verteilung der Zellobjekte bei Histologie und Simulation quantitativ beurteilt. Der statistische Test¹²⁸, der zur Beurteilung der Signifikanz der Übereinstimmung der räumlichen Zellverteilung durchgeführt wurde, ergab in Abhängigkeit von der Dichte der sekretorischen Zellen folgende p-Werte:

- 1% Dichte – $p=0,589$
- 25% Dichte – $p<0,001$
- 50% Dichte – $p<0,001$
- 75% Dichte – $p<0,001$
- 100% Dichte – $p<0,001$

Die Nullhypothese war hier, dass es keine signifikante Übereinstimmung in den räumlichen Verteilungen der Zellen gibt ($\alpha = 0,05$). Mit Ausnahme der 1%-Dichte sekretorischer Zellen ergab sich somit immer eine statistisch signifikante Übereinstimmung der räumlichen Zellverteilungen zwischen Simulation und Histologie.

¹²⁸ Das statistische Testverfahren ist in der Publikation von Shivanandan et al. beschrieben (Shivanandan et al. 2013).

5.6 Zusammenfassung

Als erster Anwendungsfall für das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS ist das von Grabe et al. veröffentlichte 2D *Modell der humanen epidermalen Homöostase* reproduziert worden (Grabe und Neuber 2005). Die Simulation des Modells mit der entwickelten SE hatte zunächst die Reproduktion der Ergebnisse von Grabe et al. im Blick. Die 2D Gewebesimulation hat keine nennenswerten Unterschiede hinsichtlich *in silico* Gewebemorphologie, Gewebekinetik und der Verteilung der Zellen auf die einzelnen Schichten der Epidermis ergeben. In einem zweiten Schritt ist das grafische CBM an die 3D Version des gitterfreien Zell-Zentrumsmodells gekoppelt worden. Zum einen sollten die Unterschiede zwischen 2D und 3D Simulation und notwendige Anpassungen am CBM ermittelt werden, um in der 3D Simulation des Modells vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Zum anderen sollte der Einschwingvorgang und mögliche Unterschiede der Homöostase der 2D und 3D *in silico* Epidermis in Abhängigkeit von der Basalmembranform untersucht werden. Es ist festgestellt worden, dass es, relativ betrachtet, mehr basale Zellen in einer 3D als in einer 2D Gewebesimulation gibt. Basale Zellen sind im Modell der humanen epidermalen Homöostase für die Absorption von Ca^{2+} verantwortlich. Daher gelangt in 3D mehr Ca^{2+} in das Gewebe als Gesamtsystem als in 2D. Dies führt wiederum zu einer höheren Zahl an späten Spinosum-Zellen in 3D und damit zu einer anderen horizontalen Stratifizierung der *in silico* Epidermis. Nach einer separaten Anpassung der Ca^{2+} -Absorptionsrate für jede der angenommenen Basalmembranformen ist eine übereinstimmende Gewebemorphologie in Bezug auf die horizontale epidermale Stratifizierung in 2D und 3D und den damit verbundenen relativen Zellzahlen erzielt worden. Die sich emergent ergebenden Gewebedicken bei flacher Basalmembran und Basalmembran mit Reteleisten

unterschieden sich zwar, jedoch ergaben sich diesbezüglich in 2D und 3D vergleichbare Werte. Es ist ermittelt worden, dass die Verteilung der Zahl an unmittelbar benachbarten Zellen pro Zelle in 2D und 3D erwartungsgemäß stark voneinander abweicht. Ein Effekt auf die Gewebemhomöostase und -kinetik konnte allerdings nicht festgestellt werden. Ferner zeigen sich keine Unterschiede mit Blick auf die Gewebekinetik zwischen 2D und 3D in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran bei vergleichbar großer Wachstumsfraktion. Auch die Untersuchung der Zellmigration hat keine Unterschiede in Abhängigkeit von der Dimensionalität des multizellulären Raums oder der Form der Basalmembran ergeben. Es zeigte sich durchweg eine (passive) gerichtete Zellmigration ausgehend von der Basalmembran in apikaler Richtung.

Die Dauer des Einschwingvorgangs und damit der Zeitpunkt des Erreichens der Homöostase ist anhand der Stabilität der relativen Zellzahlen beurteilt worden. Dies hat ergeben, dass unabhängig von der Form der Basalmembran und der Dimensionalität des multizellulären Raums die Homöostase nach 4.500 Simulationsschritten erreicht wird¹²⁹. In diesem Zusammenhang ist auch die Ausbildung des transepidermalen Ca^{2+} -Gradienten und des Lipid-Gradienten betrachtet worden, was zur Bestätigung der zuvor genannten Dauer des Einschwingvorganges geführt hat. Eine quantitative Charakterisierung der Form des Ca^{2+} - wie Lipid-Gradienten mittels logistischer Regression ergab bei gleicher Basalmembranform keine signifikanten Unterschiede zwischen 2D und 3D Simulation. Die Form der Basalmembran hat jedoch einen Einfluss auf die räumliche Lage des Übergangs von niedriger zu hoher Ca^{2+} -Konzentration bzw. Lipid-Menge. Ferner wiesen

die Lipid-Gradienten untereinander eine höhere Heterogenität als die Ca^{2+} -Gradienten auf.

Anhand der Simulation der Zellzyklusmodelle konnten die Möglichkeiten der SE, interne Zustandsänderungen einer einzelnen Zelle zu erfassen und darzustellen, demonstriert werden. Das Zellzyklusmodell, in das Tysons Zellzyklusmodell (Tyson 1991) über die SBML-Schnittstelle des CMS integriert worden ist, zeigte Zellteilungen im Abstand von 60 Stunden. Dies wiederum ist das Resultat der erfolgreichen automatischen Abbildung der unterschiedlichen zeitlichen Skalen von Tysons Modell und CBM durch die SE. Anhand der Transit-Amplifying-Zellen konnte der Übergang von Proliferation zu Differenzierung und dessen Auswirkungen auf die Simulation von Tysons Modell gezeigt und so gleichzeitig eine semantische Rückkopplung über die biologischen Organisationsebenen hinweg demonstriert werden. Schließlich ergab die manuelle semantische Integration von Tysons kontinuierlichem Modell in ein diskretes CBM mit dem Runge-Kutta-Verfahren 4. Ordnung eine numerisch stabile Modellsimulation.

Die Simulation des *in silico Modells der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden* ist sowohl für 2D als auch für 3D *in silico* Wunden durchgeführt worden, was zu übereinstimmenden Ergebnissen führte. An Tag 1 hat sich eine Zellmigrationszunge ausgebildet, die an Tag 2 ihre trianguläre morphologische Struktur erhalten hat. Ab Tag 3 sind im Wundareal vermehrt mitotische Ereignisse festzustellen gewesen. Ab Tag 4 war das komplette Wundareal von Zellen bedeckt. In der zeitlichen Folge hat sich eine mehrschichtige Neoepidermis ausgebildet. Damit ist mit dem qualitativen *in silico* Modell die *in vitro* beobachtete Reepithelialisierung von akuten epidermalen Wunden und der in diesem Zusammenhang postulierte Reepithelialisierungsmechanismus in Form eines emergenten Resultats der Modellsimulation reproduziert worden.

¹²⁹ Die relativen Zellzahlen wiesen in den 2D wie 3D Simulationen mit flacher Basalmembran über die komplette Simulationsdauer die größte Instabilität auf.

Das *generische Chemotaxis-Modell* ist in 2D wie 3D als Testfall für die chemotaktische Erweiterung des gitterbasierten Zellmodells, für das den extrazellulären Diffusionsfeldern zugrunde liegende Reaktions-Diffusions-Modell und für das Sekretionsbasiertes Modell der SE simuliert worden. In der Simulation haben die migrierenden Zellen unabhängig von der Dimensionalität die erwartete gerichtete Zellbewegung in Form von positiver Chemotaxis gezeigt. Die Simulation der Diffusion des sekretierten Chemo-Attractants war numerisch stabil und zeigte die erwartete isotrope Stoffausbreitung nebst daraus resultierender Form des Stoffkonzentrationsgradienten. Die 2D und 3D Simulation hat eine übereinstimmende zeitliche Dynamik der gerichteten Migration der motilen Zellen hin zu der Population stationärer sekretorischer Zellen ergeben.

Mit der Simulation des *Bakterien-Makrophagen-Modells* konnte erfolgreich die Abbildung eines auf extrazellulären Stoffkonzentrationsgradienten beruhenden Verfolgungsmechanismus mit dem CMS demonstriert werden. Gleichzeitig ist mit dieser Simulation der Reaktionsteil

des Reaktions-Diffusions-Modells der extrazellulären Felder erfolgreich getestet worden. Dies gilt auch für das Sekretions- wie das Absorptionsbasiertes Modell der SE. Mit der Aktivierung des Makrophagen auf Basis der extrazellulären Konzentration des vom Bakterium sezernierten Chemo-Attractants ist eine Zellzustandsänderung, verursacht durch extrazelluläre Stoffe bzw. Faktoren, abgebildet und demonstriert worden.

Das *T-Zell-Migrationsmodell* bildet die gerichtete Migration von T-Zellen in einem Stoffkonzentrationsgradienten ab, der durch eine Population von sekretorischen Zellen aufgebaut wird, die in der Grenzregion zwischen gesunder Leber und Lebermetastase eines kolorektalen Primärtumors lokalisiert sind. In verschiedenen Simulationsläufen ist die räumliche Dichte der sekretorischen Zellen variiert und die sich emergent ergebende Verteilung der T-Zellen untersucht worden. Es konnte eine qualitativ wie quantitativ gute Übereinstimmung der aus der Simulation erhaltenen räumlichen T-Zell-Verteilungen und der in entsprechenden histologischen Schnitten von Biopsien festgestellt werden.

6 Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist ein computergestütztes System zur Modellierung und Simulation (CMS) von Epithelgeweben entworfen, realisiert, angewendet und evaluiert worden. Der Zuschnitt des Systems auf Epithelgewebe ergab sich aus deren Verbreitung über den menschlichen Organismus und u.a. aus deren Relevanz im Bereich der Onkologie (Blanpain 2013). Von den Epithelgeweben war und ist die humane Epidermis als Barriere zwischen Körper und Umwelt, deren Homöostase und die Heilung akuter epidermaler Wunden im Forschungskontext, in den diese Arbeit eingebettet ist, von besonderem Interesse (Grabe und Neuber 2005, 2007; Pommerencke et al. 2010; Safferling et al. 2013). Die wesentliche Motivation der Schaffung eines CMS zur zellbasierten multiskalierten Modellierung von Geweben gründet auf deren Bedeutung für die Schaffung prädiktiver *in silico* Modelle mit unmittelbarer medizinischer Relevanz (Butcher et al. 2004; Hood und Perlmutter 2004; Noble 2008; Kohl et al. 2010; Noble 2012). Darüber hinaus sind multiskalierte *in silico* Modelle strukturell durch eine größere Heterogenität an Modellierungs- und Simulationsansätzen geprägt. Dies wiederum erfordert weitreichende Erfahrung in den Bereichen biochemische sowie biophysikalische Modellierung, Mathematik, mit Blick auf numerische Lösungsverfahren, und Programmiersprachen zur technischen Umsetzung der (komplexen) Modelle und deren Simulation (Ghosh et al. 2011). Das erschwert den Zugang zu dieser Form der Modellierung für einen Personenkreis mit einem, fachlich gesehen, biologischen oder medizinischen Schwerpunkt. Die Ausgangslage der vorliegenden Arbeit bildet der Stand der Forschung im Jahr 2006. Eine in

dieser Zeit durchgeführte Verfügbarkeitsstudie ergab, dass es keine geeigneten existierenden computergestützten Systeme zur (grafischen) multiskalierten Modellierung von Zellverhalten in einem multizellulären Kontext gibt (Huber 2006). Auf dieser Grundlage ist die Entscheidung für die Neuentwicklung eines CMS getroffen worden. Diese wurde zusätzlich durch in der Literatur geforderte Schaffung von CMS zur Erstellung multiskalierter *in silico* Modelle motiviert, die bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt immer wieder erneuert und bekräftigt worden ist (Fisher und Henzinger 2007; Klauschen et al. 2007; Hunt et al. 2008; Walker und Southgate 2009; Hunt et al. 2011; Dada und Mendes 2011; Wolkenhauer et al. 2014). In den vergangenen Jahren sind, wie in Abschn. 2.2.3 eingehend dargestellt, zeitlich parallel eine Reihe von CMS mit vergleichbarer Ausrichtung entstanden und veröffentlicht worden, was ein weiterer Indikator der Relevanz solcher Systeme ist. Die in Abschn. 3.4.3 dargelegte Heterogenität der mittlerweile vorhandenen Systeme steht stellvertretend für die methodische Breite der multiskalierten Modellierung.

Im Weiteren wird der Beitrag, der mit der vorliegenden Arbeit zum sich stetig erweiternden Portfolio an CMS geleistet wurde, eingehend diskutiert. Zunächst wird auf die entwickelten Kernkonzepte hinter dem Systementwurf eingegangen, was zur Beleuchtung der Systemrealisierung überleitet. Daran schließt sich die Betrachtung der geschaffenen Modellinfrastruktur des CMS an, die aus den Basismodellen für Stoffaustausch und den biomechanischen Modellen besteht. Die bereitgestellte Modellinfrastruktur ergänzt die methodische Infrastruktur, die durch

den Systementwurf und dessen Realisierung verkörpert wird. Der Abschnitt Systemanwendung greift die mit dem CMS erstellten und simulierten *in silico* Modelle auf, die entweder im Kontext der Demonstration methodischer Möglichkeiten des Systems oder in Projekten mit unmittelbarem systembiologischem oder klinischem Forschungsbezug entstanden sind. Abschließend werden die Standardisierung von multiskalierten multizellulären Modellen und das entwickelte CMS im Vergleich mit den anderen verfügbaren Systemen diskutiert.

Systementwurf

Ein hohes Maß an Benutzerfreundlichkeit kann als Prämisse des Systementwurfs wie auch der Realisierung desselben betrachtet werden. Es wurde eine Anwenderzielgruppe anvisiert, die entweder keine oder nur geringfügige Programmierkenntnisse besitzt. Aus diesem Grund stand die Trennung der Modellkomplexität multiskalierter Modelle und der Komplexität der technischen Umsetzung von Modellerstellung und -simulation im Vordergrund, um so diesen Anwendern multiskalierte systembiologische Modellierung zugänglich zu machen. Der im Rahmen dieser Arbeit erstellte Systementwurf gliedert sich im Wesentlichen in die *modulare multiskalierte (Gewebe-)Modellarchitektur* (s. Abschn. 3.1.2), die allen mit dem CMS entwickelten (multiskalierten) multizellulären Modellen zugrunde liegt, und das *mehrstufige modellgetriebene Systementwicklungskonzept* (s. Abschn. 3.1.4).

Modulare multiskalierte (Gewebe-)Modellarchitektur Ein mit dem CMS erstelltes *multiskaliertes* Gewebemodell lässt sich in die vier Teilmodelle (i.) grafisches Zellverhaltensmodell (CBM), (ii.) biomechanisches Modell (BM), (iii.) extrazelluläre Diffusionsfelder (DF) und (iv.) SBML-basierte (Hucka et al. 2003, 2004) quantitative subzelluläre Modelle (SBML-Modelle) untergliedern. Die beiden letzten Teilmodelle sind hierbei optionaler Bestandteil eines Gewebemodells. Das BM bildet die morphologischen

und biomechanischen Eigenschaften einer Zelle ab. Hiermit wird das rein zellbasierte CBM semantisch mit der Gewebeebe verbunden, da das BM die Interaktion mit den benachbarten Zellen abbildet. Auf die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten BMs wird in einem späteren Abschnitt der Diskussion noch näher eingegangen. Mit einem DF kann die gewebeübergreifende Ausbreitung eines Stoffs, bspw. eines Zytokins, abgebildet und simuliert werden, so dass auch die DF, wie die BM, auf der Gewebemodellebene anzusiedeln sind. SBML-Modelle entsprechen der subzellulären Modellebene der Gewebemodellarchitektur. Ihnen liegen meist gewöhnliche Differentialgleichungen zugrunde (bspw. Tyson 1991; Schilling et al. 2009). Mit der semantischen Integration von SBML-Modellen in grafische CBMs können somit diskrete mit kontinuierlichen Modellierungsansätzen kombiniert werden. Der SBML-Standard ist aufgrund seiner großen Verbreitung als Schnittstelle zur subzellulären Modellierungsebene ausgewählt worden (Hucka und Le Novère 2010). Dem Anwender des entwickelten CMS steht damit die Möglichkeit offen, ein quantitatives subzelluläres Modell mit Werkzeugen wie COPASI (Hoops et al. 2006) oder CellDesigner (Funahashi et al. 2003) selbst zu erstellen, im SBML-Standard zu speichern und über das CMS semantisch in ein multizelluläres Gewebemodell zu integrieren. Darüber hinaus erschließt der SBML-Standard das Potential frei verfügbarer SBML-Modelle in Datenbanken wie BioModels (Le Novère et al. 2006; Chelliah et al. 2014) für die Nutzung in multizellulären Modellen über das CMS.

Das zentrale Element der Gewebemodellarchitektur sind die grafischen CBMs, die die zellbasierte Modellebene repräsentieren und die subzelluläre Modellebene mit der Gewebemodellebene verbinden. Aus Anwendersicht stellt sich die Modellerstellung mit dem CMS als Erstellung eines grafischen CBM unter Nutzung eines BM und der optionalen semantischen Integration von

SBML-Modellen und DFs dar. In CBMs wird das Verhalten einer Zelle in einem multizellulären Kontext mit einer hierfür entwickelten *grafischen domänenspezifischen Sprache* modelliert, die im Weiteren *Zellverhaltensmodellierungssprache* genannt wird. Mit den Elementen dieser Sprache können diskrete Zellverhaltensmodelle erstellt werden, die entweder rein deterministischer, rein stochastischer oder hybrider Natur sind. So lassen sich Konzepte wie endliche Zustandsautomaten oder Markow-Ketten zur Zellverhaltensmodellierung nutzen. Grafische Modellierungssprachen werden im systembiologischen Kontext auch von anderen Systemen eingesetzt. Im Fall von OpenAlea beschränkt sich der grafische Anteil der Sprache auf die Abbildung des Kontrollflusses zwischen textuell codierten Teilmodellen (Pradal et al. 2008). Im System Simmune können molekulare Interaktionen in intrazellulären Signalnetzwerken interaktiv und grafisch modelliert werden (Zhang et al. 2013). CBMs, die mit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache des CMS erstellt wurden, entsprechen strukturell Prozessdiagrammen. Diese Form der grafischen Modellierung wird auch für die Abbildung von biochemischen oder genregulatorischen Netzwerken genutzt (Funahashi et al. 2003; Kitano et al. 2005).

Bezogen auf ein agentenbasiertes Gewebemodell entspricht ein CBM dem Regelwerk, auf dessen Basis die (Zell-)Agenten lokal (inter-)agieren¹³⁰. Die grafische Modellierung dieses Regelwerks in biologischen multiagentenbasierten Modellen ist bereits von Corradini et al. vorgeschlagen worden (Corradini et al. 2005). Als grafische Modellierungssprache ist in deren Konzept jedoch die Unified Modeling Language (UML) verwendet worden. Einen vergleichbaren Ansatz, basierend auf Modellkonzepten aus der UML, haben Amir-Kroll et al. veröffentlicht

(Amir-Kroll et al. 2008). Bei der UML handelt es sich ebenfalls um eine grafische domänenspezifische Sprache, die jedoch auf die Anforderungen an eine solche im Bereich der Softwareentwicklung zugeschnitten ist. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte grafische Zellverhaltensmodellierungssprache ersetzt die UML durch Prozessdiagramme. Die Zellverhaltensmodellierungssprache wurde in Sachen Namensgebung und mit Blick auf die Definition der Modellparameter, den bereitgestellten Modellfunktionen und auch den zur Verfügung stehenden Modellelementen an die (system-)biologische Domäne angepasst. Dies ist aufgrund der Anwenderzielgruppe geschehen, die mit Konzepten der Softwareentwicklung nicht vertraut ist.

Grafische Prozessdiagramme sind als Modellform gewählt worden, da mit ihnen zum einen *Zellverhalten modelliert*, zum anderen aber *auch Zellverhalten veranschaulicht* werden kann. In grafischer Form ist das Modell als solches, verglichen mit textbasierten Modellrepräsentationsformen, intuitiver zugänglich. Gestützt wird diese These durch Publikationen, in denen systembiologische Modelle, insbesondere multiagentenbasierte Modelle, mit Prozessdiagrammen veranschaulicht werden, obwohl die eigentliche Umsetzung des Modells nicht unmittelbar auf Prozessdiagrammen beruht (Corradini et al. 2005; Grant et al. 2006; Gerlee und Anderson 2007; van Leeuwen et al. 2009; Kim et al. 2009a; Macklin et al. 2012; Tokarski et al. 2012; Figueredo et al. 2013). An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass das CMS und dessen grafische Zellverhaltensmodellierungssprache in einem frühen Stadium der Entwicklung im Rahmen einer medizinischen Dissertation zur (formalen) Veranschaulichung der Melanomentstehung genutzt worden ist (Adamzik 2011). Neben der Eignung zur Wissens- bzw. Informationsveranschaulichung weist dies auf die Gebrauchstauglichkeit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache aus Sicht von Medizinern hin, die

¹³⁰ Näheres zu multiagentenbasierter Modellierung s. Abschn. 2.1.3.

neben den (System-)Biologen die anvisierte Kernanwendergruppe des CMS bilden.

Die *Modularität der (Gewebe-)Modellarchitektur* und deren Untergliederung in vier Teilmodelle ist bereits zu Beginn dieses Abschnitts dargestellt worden. Um die zunehmende Komplexität und den größer werdenden Umfang von multiskalierten *in silico* Modellen bewältigen zu können, wird wiederkehrend die Dekomposition dieser Modelle in überschaubare, handhabbare Modelleinheiten vorgeschlagen (Mirschel et al. 2009; Galle et al. 2009; Holcombe et al. 2012; Neal et al. 2014). Ferner wird durch die Modelldekomposition die Anpassbarkeit und Wiederverwendbarkeit der Teilmodelle und auch eines (Gewebe-) Modells als Ganzem verbessert (Corradini et al. 2005; van Leeuwen et al. 2009). Die entwickelte modulare multiskalierte (Gewebe-)Modellarchitektur hat diesen Vorschlag von Beginn an aufgegriffen und bietet mit dem entwickelten *Konzept der Modell-Konnektor-Komponenten* (MKK) eine konkrete Lösung für die semantische Integration der Teilmodelle. Die MKKs werden automatisch vom CMS erzeugt, ermöglichen die semantische Bezug- und Einflussnahme der Teilmodelle aufeinander und realisieren eine automatische Abbildung unterschiedlicher räumlicher sowie zeitlicher Modellskalen (s. Abschn. 3.1.3). Aufgrund der Modularität und der dynamischen semantischen Kopplung der Teilmodelle durch die MKKs wird u.a. die *Wiederverwendung von CBMs* in Simulationen unterschiedlicher Dimensionalität ermöglicht. So konnte das CBM der humanen epidermalen Homöostase sowohl in einer zwei- wie dreidimensionalen Simulation der Epidermis verwendet werden. Angepasst wurde lediglich die Ca^{2+} -Absorption der basalen Zellen (s. Abschn. 4.3 u. 5.1). Beim CBM des generischen Chemotaxis-Modells unterscheidet sich in der zwei- und dreidimensionalen Variante nur die Rate, mit der die sekretorischen Zellen den Chemo-Attractant in das DF sezernieren (s. Ab-

schn. 4.5 u. 5.3). Das CBM der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden lieferte komplett ohne Anpassungen übereinstimmende Ergebnisse in beiden räumlichen Kontexten (s. Abschn. 4.4 u. 5.2). Wiederverwendung ist durch die Modellarchitektur auch auf Ebene der BM ermöglicht worden. Das gitterbasierte BM (s. Abschn. 4.2.2) kam ohne Anpassung im generischen Chemotaxis-Modell (s. Abschn. 4.5 u. 5.3), im Bakterien-Makrophagen-Modell (s. Abschn. 4.6 u. 5.4) und im T-Zell-Migrations-Modell (s. Abschn. 4.7 u. 5.5) zum Einsatz.

Mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept Neben der Anpassbarkeit, Flexibilität und Erweiterbarkeit des CMS im Allgemeinen sind die zuvor genannten Eigenschaften beim Entwurf des Systementwicklungskonzepts mit Blick auf die Zellverhaltensmodellierungssprache im Besonderen fokussiert worden. Darüber hinaus sollte dieses Konzept die anvisierte Trennung von Modellkomplexität und der technischen Komplexität der Modellerstellung und -simulation berücksichtigen sowie umsetzen. Das Systementwicklungskonzept besteht aus je *zwei Modell- und zwei Systemebenen* (s. Abbildung 3.4), von denen je eine Modell- und Systemebene in einer Stufe zusammengefasst werden. Die beiden Systemebenen entsprechen zusammengekommen dem entwickelten CMS. In der ersten Stufe und damit Modellebene wird mit den Mitteln der UML ein formales Modell der Zellverhaltensmodellierungssprache erstellt (s. Anhang A). Dieses Modell entspricht somit einem Meta-Zellverhaltensmodell. Aus diesem können mittels eines frei verfügbaren Generators weite Teile der Softwarekomponenten erzeugt werden, die die Zellverhaltensmodellierungssprache technisch in entsprechenden grafischen Editoren umsetzen. Diese Editoren sind Teil der ersten Systemebene, die durch das GMS des CMS gebildet wird. Das GMS ermöglicht die Erstellung von grafischen CBM, diese sind Teil der zweiten Stufe des Konzepts und zugleich die zweite Modellebene. Aus den CBM wird mittels eines hierfür im Rahmen

dieser Arbeit entwickelten Generators vollautomatisch optimierter, lauffähiger Code und eine Softwarekomponente im Form einer Modellarchiv-Datei erzeugt. Diese Datei kommt auf der zweiten Systemebene, die durch die multiagentenbasierte Simulationsumgebung (SE) des CMS gebildet wird, zur Anwendung. Durch dynamische Kopplung des in der Datei enthaltenen CBMs, das optional SBML-Modelle semantisch integrieren kann, an die übrigen Teilmodelle (u.a. BM, DF), die ihrerseits von der SE bereitgehalten werden, wird eine lauffähige multiskalierte multi-zelluläre (Gewebe-)Simulation erzeugt.

Jede der beiden Modellebenen ermöglicht mittels grafischer Modellierung die Abstraktion von der technischen Komplexität der darunterliegenden Systemebene, da diese (teil-)automatisiert erzeugt wird. Für die Zellverhaltensmodellierungssprache bedeutet dies, dass sie mit vergleichsweise überschaubarem Aufwand an neue Anforderungen angepasst werden kann, die sich u.a. aus der Verwendung des CMS ergeben. Ein Beispiel hierfür ist die Einführung eines neuen Modellelements, das stochastische Modellierung ermöglicht. Dieser Vorschlag kam im Rahmen einer Dissertation zur Melanomentstehung auf, bei der das GMS in einer frühen Phase der Entwicklung zur Wissensrepräsentation und -formalisierung eingesetzt worden ist (Adamzik 2011). In den mit dem CMS durchgeführten Masterarbeiten sind kleinere Adaptionswünsche, wie bspw. die Bereitstellung neuer Funktionen in der Funktionsbibliothek des GMS angeregt worden (Izquierdo Rangel 2014; Tsingos 2014).

Das entwickelte Systementwicklungskonzept ist implizit im Jahre 2009 und explizit im Jahre 2011 veröffentlicht worden (Sütterlin et al. 2009, 2011). Unabhängig davon haben Gascueña et al. zeitlich parallel ein vergleichbares mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept für die Entwicklung von Multiagentensystemen entwickelt und vorgestellt (Gascueña et al. 2012), was als Bestätigung des entwickelten Ansatzes

verstanden werden kann. Auf der ersten Modell- bzw. Systemebene werden von Gascueña et al. sogar dieselben Softwaretechniken wie bei dem hier vorgestellten Systementwicklungskonzept verwendet. Neben anderen Vorteilen modellgetriebener Systementwicklung nennen die Autoren zwei, die auch für das hier vorgestellte Konzept in besonderem Maße gelten (Gascueña et al. 2012):

- Mehr Zeit kann in die Definition und Analyse der Modelle investiert werden.
- Die Qualität des entwickelten Software-Systems wird verbessert, da automatisch erzeugter Code i.d.R. fehlerfrei ist.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass mit dem vorgestellten Systementwicklungskonzept der Vorschlag von Corradini et al., das Verhalten von Agenten in einer agentenbasierten Simulation mit biologischem Hintergrund grafisch zu formalisieren, weiterentwickelt worden ist. Die von ihnen verwendete und aus dem Bereich der Softwareentwicklung stammende UML ist durch eine an den Bedürfnissen der (system-)biologischen *in silico* Modellierung orientierte, eigenentwickelte Zellverhaltensmodellierungssprache ersetzt worden (Corradini et al. 2005). Darüber hinaus ist die vollautomatische Erzeugung einer rechenzeitoptimierten, lauffähigen Simulation aus den grafischen Modellen hinzugefügt worden.

Systemrealisierung

Die Realisierung des CMS und des dahinterstehenden Systementwurfs stellt sich dem Anwender als die beiden lauffähigen Endanwender-Softwaresysteme *EPISIM Modeller* (s. Abschn. 3.2.1) als grafischem Modellierungssystem (GMS) und *EPISIM Simulator* (s. Abschn. 3.2.2) als Simulationsumgebung dar, die zusammen die *EPISIM Plattform* bilden. GMS wie SE stehen, wie es Zielvorgabe war, für die Betriebssysteme Windows, Linux und Mac OS X zur Verfügung. Das Installationspaket von GMS wie SE beinhaltet sämtliche benötigten Komponenten in lauffä-

higem Format, so dass eine zusätzliche Installation oder gar Kompilierung von Drittsoftware durch den Anwender nicht erforderlich ist, was der Forderung der einfachen Installierbarkeit nachkommt. GMS wie SE werden über eine grafische Benutzeroberfläche interaktiv bedient. Sie bieten eine Vielzahl unterstützender Dialoge bspw. bei der Validierung eines CBM oder bei der Erstellung von Datenauswertungskomponenten für die Simulation des Modells, um so ein möglichst hohes Maß an Benutzerfreundlichkeit zu erreichen.

Die Kernpunkte der *technischen Systemrealisierung* sind in Abschn. 3.3 ausführlich beschrieben, wovon die beiden wichtigsten an dieser Stelle herausgegriffen werden sollen. Das eingeführte technische *Konzept der Dynamischen Externen Komponenten* (DEKs) ermöglicht eine flexible Erweiterbarkeit der SE und setzt die modulare multiskalierte Gewebemodellarchitektur technisch um (s. Abschn. 3.3.1). DEKs werden von der SE erst zur Laufzeit geladen und dynamisch eingebunden, was deren flexiblen Austausch oder das Hinzufügen neuer DEKs ermöglicht, ohne dass hierfür die SE verändert werden müsste. DEKs sind bspw. alle Modelle der im unmittelbar folgenden Abschnitt diskutierten Modellinfrastruktur der SE. Auch die mit der SE erzeugten Datenauswertungskomponenten zur zielgerichteten Vorverarbeitung, Darstellung und zum Export der Simulationsdaten samt der in diesem Kontext verwendeten Datenauswertungsalgorithmen sind DEKs. Schließlich entspricht die Modellarchiv-Datei einer DEK, die aus der Übersetzung der grafischen Zellverhaltensmodelle in ausführbaren Code resultiert. Diese wird dynamisch an die DEKs der Modellinfrastruktur gekoppelt, um das bereits zuvor beschriebene Maß an Flexibilität und Wiederverwendbarkeit von Zellverhaltensmodellen zu erreichen. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass durch DEKs die Modellinfrastruktur und das Portfolio an Datenauswertungsalgorithmen vergleichsweise

einfach erweitert werden kann. Ferner ermöglicht dieses Konzept die dynamische Einbindung von Zellverhaltensmodell und Datenauswertungskomponenten zur Laufzeit der SE.

Eine weitere wichtige Kernkomponente der technischen Systemrealisierung ist die automatische Erzeugung von lauffähigem, rechenzeitoptimiertem Code aus grafischen Zellverhaltensmodellen mit dem hierfür *entwickelten Code-Generator*. Während das GMS aus Anwendersicht die technische Umsetzung der Modellerstellung übernimmt, ermöglicht der Code-Generator die Abstraktion von der technischen Komplexität der Erstellung einer lauffähigen Modellsimulation. In Abschn. 3.3.2 wird quantitativ untersucht, wie sich mit generiertem Code, der nicht den gängigen Programmierkonventionen in Sachen Lesbarkeit, Erweiterbarkeit und Wartbarkeit unterliegt, Laufzeitvorteile gegenüber manuell erstelltem Code erzielen lassen. Der *Codeerzeugungsprozess* als solcher ist so gestaltet, dass eine möglichst einfache Übertragbarkeit bzw. Anpassbarkeit an andere Rahmenbedingungen wie bspw. die Übersetzung der Modelle in eine andere Programmiersprache möglich ist. Eine systematische *Evaluation des Code-Generators* hinsichtlich der Übersetzung großer grafischer Modelle und der Laufzeitentwicklung bei steigender Zellzahl ist Gegenstand von Abschn. 3.4.2. Wesentliches Ergebnis dieser Evaluation ist, dass mit dem Code-Generator auch sehr große grafische Modelle problemlos übersetzt werden können. Darüber hinaus wächst die Laufzeit des mit ihm erzeugten Codes linear mit ebenfalls linear steigender Zahl an Modellelementen bzw. Zellzahl an.

In Abschnitt 3.4.1 wird die *Gebrauchstauglichkeit* des entwickelten CMS ausführlich beleuchtet und diskutiert. Dasselbe gilt für die *Flexibilität* des CMS mit Blick auf die *Übertragbarkeit, Anpassbarkeit, Erweiterbarkeit* und *Wiederverwendbarkeit* des entwickelten Systementwurfs und den Softwarekomponenten seiner Realisierung (s. Abschn. 3.4.4). Aus diesen Gründen wird an

dieser Stelle auf eine eingehende Darstellung und Diskussion der zuvor genannten Systemeigenschaften verzichtet.

Modellinfrastruktur

Die vom CMS angebotene und seitens der SE technisch bereitgestellte Modellinfrastruktur gliedert sich in *Basismodelle* und *biomechanische Modelle*. Jedes einzelne Modell liegt, wie im vorherigen Abschnitt dargelegt, als DEK vor, die dynamisch nach dem Start der SE geladen wird. Somit ist die Modellinfrastruktur vergleichsweise einfach erweiterbar. Ferner ist technisch vorgesehen, dass für Basismodelle über das Setzen entsprechender Konfigurationsparameter in der SE eine andere Implementierung und damit ein anderes Modell hinterlegt werden kann. Somit ist das CMS als solches nicht auf die Basismodelle festgelegt, die im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurden. Dies gilt auch für die entwickelten und bereitgestellten biomechanischen Modelle.

Basismodelle Die Basismodelle gliedern sich in Modelle für Stoffaustausch bzw. Zell-Zell-Kommunikation, Sekretion, Absorption und Diffusion sowie Zerfall von Stoffen im extrazellulären Raum. Alle Basismodelle können über die entsprechenden Funktionen der Funktionsbibliothek oder über die Definition von DF im GMS semantisch in ein grafisches CBM eingebracht werden.

Die Modelle für *Stoffaustausch*, mit denen sich somit auch Zell-Zell-Kommunikation abbilden lässt, verteilen die aufzunehmende oder abzugebende Menge eines Stoffs je nach Modellkontext entweder gleichmäßig auf alle benachbarten Zellen oder ermöglichen Stoffaustausch mit einer einzigen konkreten Nachbarzelle (s. Abschn. 4.1.1). Auf Basis dieser vergleichsweise einfachen Modelle konnte der transepidermale Wasserfluss und die durch ihn erzeugte Advektion von Ca^{2+} -Ionen simuliert werden (s. Abschn. 5.1.3). Sogar die Diffusion von Zytokinen konnte mit diesen Modellen abgebildet werden, indem die Zellen des gitterbasierten BM als atomare Einheiten der

Diskretisierung des Raums, in dem die Diffusion stattfindet, angenommen wurden (Izquierdo Rangel 2014).

Für jedes der in einem CBM definierten *extrazellulären Diffusionsfelder* wird in der Simulation des Modells ein eigener extrazellulärer Raum erzeugt, der entweder aus einem zwei- oder dreidimensionalen Gitter besteht. In diesem Gitter wird die Diffusion bzw. der Zerfall eines Stoffs unter Anwendung der Reaktions-Diffusions-Gleichung (3.46) mit dem expliziten Euler-Verfahren unter Berücksichtigung der vom Anwender vorgegebenen Randbedingungen numerisch simuliert. Die extrazellulären Räume sind dem multizellulären Raum, in dem die Zellen räumlich repräsentiert sind, überlagert, so dass die Zellen in einem extrazellulären Raum nicht als räumliches Objekt existieren. Dies ist eine gängige Art der Kopplung von räumlich diskret repräsentierten Zellen an extrazelluläre kontinuierliche Felder im Bereich der multiskalierten agentenbasierten Modellierung (bspw. Tokarski et al. 2012; Macklin et al. 2012). Darüber hinaus wird dieser Modellansatz in anderen Modellierungs- und Simulationssystemen wie CompuCell3D (Swat et al. 2009), Morpheus (Starruß et al. 2014) oder dem Multiscale Systems Immunology Framework (Mitha et al. 2008) verwendet. Die entwickelte SE zeichnet sich hier durch die automatische Einhaltung der Courant-Friedrichs-Lewy-Bedingung (Courant et al. 1928) aus. Die numerische Stabilität der Simulation wird damit automatisch sichergestellt. Bei großen Diffusionskonstanten wird dadurch die Simulation eines DF notwendigerweise verlangsamt. Dem wird in der SE mit der Parallelisierung der Berechnung auf den zur Verfügung stehenden Prozessorkernen begegnet. CompuCell3D bietet aus diesem Grund alternative numerische Lösungsverfahren zum expliziten Euler-Verfahren an, die jedoch mit Blick auf die Flexibilität der Modellannahmen, wie räumlich verschiedener Diffusionskonstanten oder die Berücksichtigung von

Zellen als räumlichem Hindernis, Nachteile haben (Swat et al. 2009).

Das *Sekretions- bzw. Absorptionsmodell* (s. Abschn. 4.1.2) ermöglicht den Zellen die Interaktion mit einem DF. Die Modelle berechnen eine optimale Gleichverteilung der sekretierten Stoffmenge *auf* bzw. der zu absorbierenden Stoffmenge *von* der Schnittfläche oder dem Schnittvolumen einer Zelle mit dem extrazellulären Raum. In dieser Modellannahme kommt zum Ausdruck, dass die Zellen im extrazellulären Raum als räumliches Objekt nicht präsent sind. Hier ist die Bereitstellung einer Modellalternative als zukünftige Erweiterung des CMS angedacht, in der Zellen Stoffe über ihre Kontur bzw. ihre Oberfläche in den extrazellulären Raum abgeben. Dies macht jedoch die Berücksichtigung der Zellen in den extrazellulären Räumen als begrenzende Objekte für die Diffusion erforderlich, was je nach verwendetem Zellmodell die Berechnung aufwändiger macht und die Rechenzeit erhöht.

Biomechanische Modelle Im Rahmen dieser Arbeit sind ein *gitterfreies* und ein *gitterbasiertes* BM entwickelt und jeweils eine zwei- sowie dreidimensionale Variante realisiert worden. Diese BMs können über das GMS dynamisch an ein grafisches Zellverhaltensmodell gekoppelt werden.

Beim *gitterfreien BM* (s. Abschn. 4.2.1) handelt es sich um ein *Zell-Zentrumsmodell*, das auf dem von Grabe et al. entwickelten zweidimensionalen Modell aufbaut (Grabe und Neuber 2005). Die originale Modellversion verwendet eine kreisförmige Zellmorphologie zur Berechnung der optimalen Distanz zwischen den Zellen. Im Rahmen dieser Arbeit ist dies auf eine elliptische Zellmorphologie erweitert worden, um die irreguläre Form der Keratinozyten besser abbilden zu können. Ferner ist das zweidimensionale Modell auf die dritte Dimension unter Annahme einer ellipsoiden Zellmorphologie erweitert worden. Die berechneten Kräfte in diesem BM sind Druck und daraus resultierende Abstoßung benachbarter

Zellen im Falle einer hohen Zelldichte. Des Weiteren können unmittelbar benachbarte Zellen im Falle angenommener Zell-Zell-Adhäsion angezogen werden, sofern sie den hierfür definierten maximalen Zellabstand nicht überschreiten. Die Kräfte werden auf Basis eines qualitativen Federmodells berechnet. Die angenommene Feder zwischen den Zentren zweier benachbarter Zellen besitzt eine lineare Federkonstante und eine Ruhelänge, die der optimalen Zelldistanz entspricht. Die Zielgröße dieses BM ist somit die Herstellung der optimalen Zelldistanz der Zellen untereinander. Ein vergleichbares Modell verwenden Smallwood et al. in ihren zwei- wie dreidimensionalen *in silico* Epidermismodellen (Li et al. 2013; Adra et al. 2010; Walker et al. 2004b). Zur Herstellung der optimalen Zelldistanz wird in deren Modell jedoch die Einführung eines globalen *Physical Solver Agent* benötigt, der für alle Zellen des Gewebes die optimale Distanz berechnet. Dies widerspricht allerdings den Kerneigenschaften Autonomie, Lokale Sicht und Dezentralisierung eines Multiagentensystems (s. Abschn. 2.1.3). Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte gitterfreie BM kommt ohne dieses Hilfskonstrukt aus und setzt das Prinzip der Selbstorganisation eines Multiagentenmodells voll um. Ein weiterer Unterschied ist, dass das entwickelte BM nicht auf eine reguläre Zellmorphologie wie bei Smallwood et al. festgelegt ist. Verglichen mit dem Johnson-Kendall-Roberts (JKR)-Modell (Johnson et al. 1971), das im *in silico* Epidermismodell bei Schaller et al. verwendet wird (Schaller und Meyer-Hermann 2007), ist das entwickelte gitterfreie BM mit Blick auf die Biophysik qualitativer. Jedoch wird durch das JKR-Modell eine Einschränkung der Zellmorphologie auf Kugeln vorgegeben, was eine Abstraktion von der zunehmenden Abflachung der Keratinozyten auf ihrer Wanderung durch die Epidermis notwendig macht.

Das *gitterbasierte BM* (s. Abschn. 4.2.2) ist eine Weiterentwicklung des von Fong et al. vorge-

schlagenen zweidimensionalen Modells (Fong et al. 2010). Dieses ist im Rahmen dieser Arbeit auf die dritte Dimension erweitert worden. Das gitterbasierte BM stellt verglichen mit dem gitterfreien BM hinsichtlich der Modellierung von (aktiver) Zellmigration aus Anwendersicht die intuitiver verwendbare Alternative dar. Des Weiteren eignet sich dieses BM insbesondere für stochastische Zellverhaltensmodellierung. Eine Besonderheit des Modells ist, dass Zellen zwei Gitterzellen einnehmen können (/ müssen), bevor sie sich teilen bzw. sie migrieren. Das Modell ist dahingehend erweitert worden, dass die Zellmigration durch einen chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten in ihrer Richtung beeinflusst werden kann. Die Stoffkonzentrationsgradienten werden durch extrazelluläre DF realisiert, an die die Zellmigration einer einzelnen Zelle gekoppelt werden kann. Das Modell ist durch die Simulation des generischen Chemotaxis-Modells und des Bakterien-Makrophagen-Modells erfolgreich hinsichtlich der Abbildung verschiedener Chemotaxis-Varianten getestet worden (s. Abschn. 5.3 u. 5.4), was im unmittelbar folgenden Abschnitt noch eingehender diskutiert wird.

Systemanwendung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit fand das entwickelte CMS bei der Erstellung und Simulation einer Reihe (multiskalierter) (Gewebe-) Modelle Anwendung. Zum einen sind dies Anwendungsfälle, deren primäres Ziel die Demonstration und Evaluation¹³¹ der methodischen Möglichkeiten des CMS war. Zum anderen sind Modelle für konkrete Fragestellungen der systembiologischen und klinischen Forschung entwickelt, erstellt und simuliert worden.

¹³¹ Die Evaluation hatte den Vergleich von erwarteten und tatsächlichen Modellsimulationsergebnissen, die aus dem automatisch aus den grafischen Zellverhaltensmodellen erzeugten Code sowie aus den Basismodellen und den biomechanischen Modellen der Simulationsumgebung resultieren, im Blick.

Der erste Anwendungsfall zur Demonstration der methodischen Möglichkeiten des CMS war die Reproduktion des zweidimensionalen Modells der humanen epidermalen Homöostase (s. Abschn. 4.3) von Grabe et al. mit dem GMS und der Simulationsergebnisse (s. Abschn. 5.1) mit der SE, was in vollem Umfang möglich war (Grabe und Neuber 2005; Sütterlin et al. 2009). Mit der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache ist das ursprünglich monolithische Modell in die hierarchisch miteinander verbundenen Teilmolelle Zellverhalten Keratinozyt, Zellzyklus, Zellteilung, Zelldifferenzierung sowie transepidermaler Wasserfluss nebst damit verbundenem Fluss von Ca^{2+} -Ionen untergliedert worden. Diese hierarchische Modellstruktur hat den dynamischen Austausch von Teilmodellen ermöglicht, was im Falle des Zellzyklusmodells genutzt worden ist. Mit den entwickelten Zellzyklusmodellvarianten ist die automatische semantische Integration von SBML-basierten, quantitativen subzellulären Modellen (SBML-Modelle) in grafische CBMs und die Möglichkeit der manuellen Integration von kontinuierlichen Modellen in diskrete Zellverhaltensmodelle demonstriert worden. Zur Demonstration der semantischen Integration von SBML-Modellen ist Tysons Zellzyklusmodell aus der Datenbank Biomodels (Le Novère et al. 2006; Chelliah et al. 2014) geladen und mit dem GMS importiert worden. Im grafischen Zellzyklusmodell wird der semantische Bezug zu Tysons Modell hergestellt (s. Abschn. 4.3.2), der im Rahmen der multiskalierter Modellsimulation die Zellteilung auslöst (s. Abschn. 5.1.4), was der semantischen Verknüpfung der subzellulären mit der zellulären biologischen Organisationsebene entspricht. Eine semantische Kopplung in umgekehrter Richtung konnte mit dem multiskalierter Zelldifferenzierungsmodell realisiert werden (s. Abschn. 4.3.3). Hier löst die Differenzierung von Transit-Amplifying-Zellen zu Spinosum-Zellen eine Änderung des Modellverhaltens auf der subzellulären Ebene aus (s. Abschn. 5.1.4). In der

Summe betrachtet konnte gezeigt werden, dass Vorwärtsschleifen ausgehend von der subzellulären auf die zelluläre und umgekehrt Rückkopplungen von der zellulären auf die subzelluläre Organisationsebene abgebildet werden können. Mit der Simulation dieses multiskalierten Modells der humanen epidermalen Homöostase konnte wiederum die funktionierende Anbindung von COPASI (Hoops et al. 2006) an die SE zur Zeitverlauf-Simulation von SBML-Modellen in einer multizellulären Gewebesimulation und die automatische Abbildung der unterschiedlichen Zeitskalen der Modelle demonstriert werden. Aus der Simulation ging auf Basis von Tysons Modell, das mit den Originalparametern eine Zellzykluslänge von 35 Zeiteinheiten (hier: Stunden) ergibt, wie erwartet eine Zellzykluslänge von 60 Stunden hervor. Die Parameter von Tysons Modell mussten hierfür nicht angepasst werden. Von technischer Seite aus betrachtet, entsprach dies einer erfolgreichen Anwendung der geschaffenen Infrastruktur, die die Simulationszustände der SBML-Modell-Instanzen der einzelnen Zellen verwaltet, für COPASI bereitstellt bzw. auf Basis der von COPASI berechneten Simulationsergebnisse aktualisiert. Das entwickelte CMS war zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Anwendungsfalls (Sütterlin et al. 2013) das erste System, das eine automatische semantische Integration von SBML-Modellen in eine multizelluläre Gewebesimulation und die damit verbundene Abbildung der Zeitskalen ermöglichte.

Mit der Kopplung des CBM an das dreidimensionale gitterfreie BM ist das Modell der humanen epidermalen Homöostase auf die dritte Dimension erweitert worden. Es konnte gezeigt werden, dass CBMs potentiell unabhängig vom räumlichen Kontext entwickelt und sowohl in zwei- wie dreidimensionalen Modellsimulationen verwendet werden können. Die einzige vorzunehmende Anpassung am Modell war die Adjustierung der Absorptionsrate von Ca^{2+} -Ionen durch die basalen Zellen. An dieser Stelle muss in

Bezug auf die Wiederverwendbarkeit von CBMs unabhängig von der Dimensionalität des BM bemerkt werden, dass eine solche nur bei loser semantischer Kopplung an die diesbezüglichen Eigenschaften des BM funktioniert. Dies bedeutet, dass in dem Maße, in dem die semantische Bezugnahme auf Eingabe- bzw. Ausgabegrößen eines BM, deren Vorhandensein oder semantische Interpretation von der Dimensionalität des multizellulären Raums abhängt, zunimmt, die Wiederverwendbarkeit eines CBM verringert wird.

Nach Anpassung der Ca^{2+} -Absorptionsrate sind in der zwei- wie dreidimensionalen Modellsimulation bei gleicher Basalmembranform übereinstimmende Ergebnisse hinsichtlich Gewebemorphologie, relativer Zellzahlen, Gewebekinetik, Erreichen der Homöostase und Form der Ca^{2+} - und Lipid-Gradienten erzielt worden. Mit Blick auf die Unterschiede, die sich durch die Annahme der verschiedenen Basalmembranformen ergeben, lässt sich zunächst feststellen, dass deren Form die räumliche Lage des Übergangs von niedriger zu hoher Ca^{2+} -Konzentration bzw. Lipidmenge verschiebt (s. Abschn. 5.1.3). Hinzu kommt, dass die Stabilität der relativen Zellzahlen über die komplette 2D bzw. 3D Modellsimulation hinweg bei der Annahme einer flachen Basalmembran, wie man sie bspw. bei *in vitro* Vollhautkulturen vorfindet (Hayden et al. 2009), signifikant geringer ist. Zusätzlich reagiert die *in silico* Epidermis als Gesamtsystem bei flacher Basalmembran deutlich sensitiver auf Veränderungen an der Ca^{2+} -Absorptionsrate (s. Abschn. 5.1.2). Diese Ergebnisse können Ausgangspunkt für weitergehende zukünftige Untersuchungen sein, die im Kontext der Hautalterung, in deren Verlauf die Reteleisten abflachen und deren Zahl signifikant abnimmt, durchgeführt werden (Koehler et al. 2011; Sauer mann et al. 2002).

Die beiden weiteren Anwendungsfälle, die im Rahmen der Demonstration und Evaluation der methodischen Möglichkeiten des CMS entstanden, sind das *generische Chemotaxis-Modell* (s.

Abschn. 4.5) und, als erste Adaption dieser Modellschablone, das *Bakterien-Makrophagen-Modell* (s. Abschn. 4.6). Aus Modellperspektive sind dies zunächst Anwendungsfälle für die Möglichkeiten des GMS zur Erstellung stochastischer Zellverhaltensmodelle. Mit der Simulation dieser beiden Modelle die erfolgreiche Anwendung der Basismodelle für Sekretion, Absorption und Reaktion-Diffusion innerhalb eines und mit einem DF gezeigt werden (s. Abschn. 5.3 u. 5.4). Ferner konnten die Möglichkeiten der realisierten Erweiterung des gitterbasierten BM um die chemotaktische Beeinflussung der Zellmigration (s. Abschn. 4.2.2) erfolgreich im Zusammenhang mit Stoffkonzentrationsgradienten, basierend auf stationären und motilen Stoffquellen, demonstriert werden. Im Fall des Bakterien-Makrophagen-Modells ist ein Beispiel gegeben worden, wie Zellzustandsänderungen auf Basis extrazellulärer Stoffkonzentrationen abgebildet werden können. Schließlich ist deutlich zu machen, dass auch das Bakterien-Makrophagen-Modell Schablonenfunktion haben und in Fragestellungen mit vergleichbarem methodischem oder inhaltlichem Spektrum Anwendung finden kann (Hammerschmidt et al. 2014; Tokarski et al. 2012; Schuster et al. 2010).

Mit der Entwicklung, Erstellung und Simulation des *Modells der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden* konnte das CMS direkt in den aktuellen systembiologischen Forschungskontext eingebracht werden (s. Abschn. 4.4 u. 5.2). Auf Basis eines neu etablierten *in vitro* Wundmodells, das auf 3D Vollhautkulturen aufbaut, konnte die Reepithelialisierung in deren zeitlichen Verlauf anhand histologischer Schnitte der kompletten Wunde untersucht werden (Safferling et al. 2013). Aus den gewonnenen experimentellen Ergebnissen ist ein, bezogen auf die existierenden Theorien, neuer Reepithelialisierungsmechanismus abgeleitet und postuliert worden (s. Abschn. 4.4). Die zeitliche Auflösung der experimentellen Untersuchung des Reepithelialisie-

ungsverlaufs war jedoch begrenzt. Diese Lücke konnte mit der zeitlich hoch aufgelösten Simulation des auf der Grundlage der experimentellen Beobachtungen erstellten qualitativen *in silico* Reepithelialisierungsmodells ausgefüllt werden. In der zwei- wie dreidimensionalen Modellsimulation ist der postulierte Reepithelialisierungsmechanismus und der experimentell ermittelte zeitliche Verlauf übereinstimmend reproduziert worden, was die theoretische Plausibilität des Mechanismus als solchem untermauert. Das *in silico* Modell beruht im Kern auf Zell-Zell- und Zell-Matrix-Adhäsion, deren qualitative mechanische Stabilität von der Zelldifferenzierung abhängt. Das einzige weitere agentenbasierte, epidermale 3D Wundheilungsmodell basiert auf dem bereits zuvor diskutierten, auf kugelförmigen Zellen beruhenden biomechanischen Modell von Smallwood et al., das die Adhäsion ebenfalls nur qualitativ abbildet (Sun et al. 2009). Der Mechanismus, der zur Wiederherstellung der 3D Gewebearchitektur und damit zur Bildung der Neoepidermis führt, lag jedoch außerhalb des Fokus der zuvor zitierten Arbeit. Eine quantitative Weiterentwicklung des im Rahmen dieser Arbeit entstandenen *in silico* Reepithelialisierungsmodells wird in zukünftigen Projekten angestrebt.

Im klinischen Forschungskontext fand das CMS durch das *T-Zell-Migrationsmodell* Anwendung, das in Zusammenarbeit mit Dr. Niels Halama vom Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg entwickelt worden ist. Mit diesem Modell ist die chemotaktisch beeinflusste Migration von T-Zellen in einem Stoffkonzentrationsgradienten abgebildet worden, der von einer Population sekretorischer Zellen erzeugt wird, deren räumliche Dichte variiert werden kann (s. Abschn. 4.7). Simulationsläufe sind dabei für verschiedene räumliche Dichten von sekretorischen Zellen in der angenommenen Grenzregion zwischen gesunder Leber und Lebermetastase eines kolorektalen Primärtumors

durchgeführt worden. Die durch die Simulation erhaltene räumliche Verteilung der T-Zellen zeigte eine qualitativ wie quantitativ gute Übereinstimmung mit entsprechenden histologischen Schnitten von Biopsien aus der zuvor genannten Grenzregion (s. Abschn. 5.5). Mit dem *in silico* Modell und dessen Simulation konnte das entwickelte CMS Daten erzeugen, die die experimentell gewonnenen T-Zell-Migrationsdaten ergänzen. Diese Daten finden Eingang in eine sich in Vorbereitung befindende, größer angelegte Publikation¹³².

Abschließend soll im Kontext der Systemanwendung der Aspekt der Gebrauchstauglichkeit des entwickelten CMS im Allgemeinen und mit Blick auf die Nutzung des Systems durch Dritte im Besonderen aufgegriffen werden. Diese Systemeigenschaft wird eingehend in Abschnitt 3.4.1 beleuchtet und diskutiert, auf den an dieser Stelle verwiesen sei. Zusammenfassend lässt sich mit Blick auf die Nutzbarkeit des CMS durch Dritte festhalten, dass diese im Rahmen der Anfertigung von zwei Masterarbeiten im Bereich der Systembiologie (Izquierdo Rangel 2014; Tsingos 2014) und einer medizinischen Dissertation (Adamzik 2011) mit erfolgreichem Ausgang erprobt worden ist. Studierende der Studiengänge Medizinische Informatik und Molecular Biosciences (Schwerpunkt Systembiologie) konnten das CMS nach nur kurzer Einarbeitungszeit für die Bearbeitung von Übungsaufgaben im Kontext von Vorlesungen nutzen. Dies spricht für die Gebrauchstauglichkeit des entwickelten Systemkonzepts und dessen Realisierung aus Sicht der Anwenderzielgruppe.

¹³² Halama N, Zoernig I, Spille A, Kahlert C, Klupp F, Sütterlin T, Brand K, Krauss J, Lerchl T, Luckner-Minden C, Ulrich A, Koch M, Weitz J, Büchler MW, Zitvogel L, Herrmann T, Benner A, Wunder C, Springfeld C, Grabe N, Falk CS und Jaeger D. *Tumoral immune cell exploitation in colorectal cancer liver metastases can be targeted effectively by anti-CCR5 therapy in cancer patients.* (In Vorbereitung)

Modellstandards

Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS verwendet an vielen Stellen standardisierte Formate. Auf die Wesentlichen wird im Folgenden kurz eingegangen. Zunächst sind an dieser Stelle Formate zu nennen, die durch die im Rahmen der technischen Realisierung des CMS verwendeten Softwaresysteme, -bibliotheken oder -frameworks vorgegeben werden. Die standardisierten XML-basierten Formate der Dateien eines Modellierungsprojekts, die von den Editoren des GMS vorausgesetzt werden, ermöglichen den Austausch von einzelnen Zellverhaltensmodellen oder ganzen Modellierungsprojekten zwischen den Anwendern des CMS. Dies gilt auch für die Modellarchiv-Datei, die aus der Übersetzung der grafischen CBM in ausführbaren Code hervorgeht. Diese Datei entspricht dem JAR-Format. Dasselbe Format wird für die Dateien verwendet, in denen die mit der SE erzeugten Datenauswertungskomponenten gespeichert werden. Somit können auch Modellarchiv-Dateien und Datenauswertungskomponenten zwischen den Anwendern ausgetauscht werden. Das verwendete Dateiformat ermöglicht darüber hinaus die Einsicht des automatisch erzeugten Quellcodes, der aus der Übersetzung eines CBM resultiert bzw. der die Grundlage einer Datenauswertungskomponente ist. Zur Speicherung des kompletten Zustands der Simulation eines (multiskalierten) Gewebemodells zu einem bestimmten Zeitpunkt ist ein eigener ad hoc-Standard entwickelt worden (s. Abschn. 3.2.2)¹³³. Der Aufbau einer Datei in diesem XML-basierten und damit menschenlesbaren Standard bildet die modulare multiskalierte

¹³³ Dieser ad hoc-Standard ist mit dem Standard *MultiCellXML* vergleichbar, der von Macklin et al. vorgeschlagen wurde (Macklin et al. 2012). Beide Standards sind nicht ohne weiteres auf Modelle übertragbar, die mit anderen CMS bzw. unter Annahme einer abweichenden Modellstruktur erstellt wurden. Sie sind daher nur als begrenzt repräsentativ für multiskalierte multizelluläre Modelle im Allgemeinen zu betrachten.

Gewebemodellarchitektur (s. Abschn. 3.1.2) ab. Ein Gewebesimulationszustand kann genutzt werden, um eine pausierte Gewebesimulation zu einem späteren Zeitpunkt fortzusetzen. Ferner kann er als Ausgangspunkt für die Weiterführung einer Simulation mit veränderten Parametern dienen. Ein Gewebesimulationszustand muss nicht vollständig sein (s. Abschn. 3.2.2), so dass er für die Definition von initialen Simulationsbedingungen verwendet werden kann, die von den in einem Modell definierten Standardbedingungen abweichen.

Wünschenswert wäre ein allgemein akzeptierter und unterstützter Modellstandard, mit dem multiskalierte multizelluläre Modelle repräsentiert werden können. Ein solcher Standard ermöglichte den Austausch von Modellen, die mit verschiedenen einschlägigen CMS erstellt worden sind. Dies machte die CMS untereinander in Sachen Modellsimulation vergleichbarer und legte den Anwender nicht mehr auf die von einem konkreten CMS unterstützten bzw. angebotenen diskreten Zellmodelle fest. In Abschn. 2.2.2 wird auf die etablierten Modellstandards im Bereich der systembiologischen *in silico* Modellierung und Simulation eingegangen und dargelegt, dass ein Modellstandard, mit dem die zuvor genannten Modelle repräsentiert werden können, nicht existiert. Ghosh et al. führen dies auf die Vielzahl an Modellierungs- und Simulationstechniken zurück, die in multiskalierten Modellen zum Einsatz kommen (Ghosh et al. 2011). Die Komplexität der Entwicklung eines Standards lässt sich anhand der in multizellulären Modellen verwendeten diskreten Zellmodelle (s. Abschn. 2.2.1) gut veranschaulichen. Jedes dieser gitterbasierten wie gitterfreien Zellmodelle verwendet eine andere Repräsentationsform für die Morphologie einer Zelle. Dies reicht von einer einzigen Gitterzelle, über eine Menge von Gitterzellen oder Eckpunkten, bis hin zu konkreten geometrischen Objekten. Bisher ist noch keine Methode zur adäquaten Abbildung all dieser Repräsentationsformen auf-

einander veröffentlicht worden, was die Etablierung eines Standards erschwert. Eine weitere Herausforderung ist der Umgang mit zellmodell-spezifischen Parametern. Beispielsweise erfordert das Cellular-Potts-Modell (Graner und Glazier 1992) die Definition einer Temperatur, die in den Metropolis-Algorithmus (Metropolis et al. 1953) eingeht. Der Temperaturparameter wird in einem Zell-Zentrumsmodell, das auf dem Johnson-Kendall-Roberts-Modell (Johnson et al. 1971) beruht, nicht benötigt. In einem solchen Modell wird allerdings die Definition des Elastizitätsmoduls verlangt, der im Cellular-Potts-Modell keine Bedeutung hat. Die für einen Standard erforderliche und mit dem Beispiel skizzierte Abbildung der unterschiedlichen Parameterräume der Zellmodelle ist allerdings noch nicht hinreichend erforscht.

Mit der *Cell Behavioral Ontology* (CBO) ist in der jüngeren Vergangenheit ein Format veröffentlicht worden, mit dem Objekte, Prozesse und Objekt-Prozess-Verbindungen in multizellulären Experimenten, Modellen sowie Simulationen beschrieben werden können (Sluka et al. 2014). Die CBO ist u.a. in sechs mehrtägigen Arbeitstreffen der Entwickler von einschlägigen CMS entstanden, wovon eines im Rahmen dieser Arbeit organisiert und in Heidelberg durchgeführt worden ist¹³⁴. Einem Standard, mit dem multiskalierte multizelluläre Modelle repräsentiert und über den diese in einem CMS direkt simuliert werden können, entspricht die CBO allerdings (noch) nicht.

System im Vergleich

Bei Entwurf und Realisierung eines computergestützten Systems ist eine Designentscheidung im Spannungsfeld zwischen hoher Flexibilität und hoher Benutzerfreundlichkeit zu treffen. Dies ist

¹³⁴ Dieses Arbeitstreffen fand vom 01.-02.09.2011 im Rahmen der *International Conference on Systems Biology* (ICSB) statt.

in der Literatur als *Flexibility-Usability-Tradeoff* bekannt, wonach die Erhöhung der Flexibilität zu einer Abnahme der Benutzerfreundlichkeit und umgekehrt führt (Lidwell et al. 2010 S. 102). Besonders flexible Systeme wie bspw. Chaste (Pitt-Francis et al. 2008; Mirams et al. 2013) treten meist als Framework in Erscheinung, das sich als Programmiergerüst an Anwender mit soliden Kenntnissen der entsprechenden Programmiersprache richtet. Endanwender-Softwaresysteme haben dagegen die Benutzerfreundlichkeit im Fokus und entsprechen einer lauffähigen Software, die meist über eine vorgegebene grafische Benutzeroberfläche bedient wird, was zu Lasten der Flexibilität gehen kann. Das im Rahmen dieser Arbeit entworfene CMS bzw. die EPISIM Plattform¹³⁵ als Realisierung desselben ist solch ein Endanwender-Softwaresystem. Dieses ist mit der Zielvorgabe einer möglichst hohen Benutzerfreundlichkeit entwickelt worden¹³⁶. EPISIM (Sütterlin et al. 2009, 2013) wird in Abschn. 3.4.3 den anderen einschlägigen CMS, die zeitlich parallel entwickelt wurden, auf System- wie Modellebene vergleichend gegenübergestellt und diskutiert. Aus diesem Grund werden an dieser Stelle nur noch die Aspekte Modellerstellung und Unterstützung von Modellstandards mit Blick auf die beiden Systeme CompuCell3D (Izaguirre et al. 2004; Swat et al. 2012) und Morpheus (Starruß et al. 2014) diskutiert, die als Endanwender-Softwaresysteme mit EPISIM die größte Schnittmenge aufweisen.

Wie in den beiden anderen Systemen werden in EPISIM (multiskalierte) multizelluläre Modelle durch den Anwender mittels einer domänenspezifischen Sprache (DSL) erstellt, die auf den Anwendungsbereich systembiologischer *in silico*

Modellierung in Bezug auf Namensgebung und Sprachaufbau zugeschnitten ist. Mit der DSL wird die Trennung der Modellkomplexität von der technischen Komplexität der Modellsimulation angestrebt. EPISIM ist nach wie vor das einzige verfügbare CMS im Bereich multizellulärer Modellierung, das hierfür eine grafische DSL anbietet. CompuCell3D wie Morpheus stellen eine text- bzw. XML-basierte DSL bereit. Für CompuCell3D muss an dieser Stelle eine Einschränkung vorgenommen werden, da in seiner DSL nur die statischen, zeitinvarianten Teile eines Modells definiert werden können. Die dynamischen Modellbereiche müssen in der Allzweck-Skriptsprache Python unter Verwendung der von CompuCell3D definierten Schnittstelle codiert werden. Bei Morpheus wird hingegen das komplette Modell in der DSL erstellt. Somit sind EPISIM und Morpheus die beiden einzigen Systeme, die die Erstellung eines vollständigen multizellulären Modells in einer DSL erlauben. Stellt man beide Sprachen gegenüber, dann lässt sich feststellen, dass die Stärke der grafischen DSL von EPISIM insbesondere in deren veranschaulichendem Charakter und der intuitiven Definition von Kontrollflüssen innerhalb eines Modells liegt. Die DSL von Morpheus erlaubt hingegen eine komfortablere Definition von mathematischen Ausdrücken bzw. eine übersichtlichere Formulierung von rein mathematischen Modellen.

EPISIM (Sütterlin et al. 2013), Morpheus (Starruß et al. 2014) und CompuCell3D (Andasari et al. 2012) unterstützen die Systems Biology Markup Language (SBML) als einzigen Modellstandard (Hucka et al. 2003), über die sie eine semantische Integration von quantitativen subzellulären Modellen in zellbasierte Modelle ermöglichen, was meist einer semantischen Verknüpfung von zeitkontinuierlichen und zeitdiskreten Modellen entspricht. EPISIM bietet hier mit dem Konzept der automatisch erzeugten MKK (s. Abschn. 3.1.2) zugleich den höchsten Grad an Automatisierung und Flexibilität an. Bei

¹³⁵ Die EPISIM Plattform wird im Weiteren abgekürzt EPISIM genannt.

¹³⁶ Die dennoch vorhandene Flexibilität des entwickelten CMS wird in Abschn. 3.4.4 eingehend beleuchtet und diskutiert.

CompuCell3D muss das, was bei EPISIM der MKK entspricht, auf Basis einer bereitgestellten Code-Schablone in der Sprache Python manuell programmiert werden. Morpheus konvertiert SBML-basierte Modelle in die eigene DSL, so dass eine Weiterentwicklung oder Anpassung des Modells mit anderen Werkzeugen wie COPASI (Hoops et al. 2006) oder CellDesigner (Funahashi et al. 2003) nicht mehr möglich ist. Bei EPISIM verweist die MKK lediglich auf die semantisch integrierte, originale SBML-Datei, die auch in der multiskalierten (Gewebe-)Simulation verwendet wird. Ein erneutes Importieren desselben SBML-basierten Modells mit dem grafischen Modellierungssystem wird automatisch erkannt und die MKK entsprechend angepasst¹³⁷.

Optimalerweise wäre eine vergleichende, deskriptive Gegenüberstellung der verschiedenen CMS durch ein quantitatives Benchmarking auf Modell- sowie auf Systemebene zu komplettieren. Ein solches Benchmarking wird bspw. im Rahmen der Dream Challenges (Costello et al. 2014) für (systembiologische) Modelle und Algorithmen durchgeführt. Dies erforderte allerdings die gemeinschaftliche Zusammenarbeit der Entwickler der CMS. Ferner müsste die im vorherigen Abschnitt diskutierte Standardisierung der Repräsentation von multiskalierten multizellulären Modellen weiter fortgeschritten sein. Aus Anwendersicht wäre die Realisierung eines solchen Benchmarks allerdings wünschenswert, da ihm so die (problem- bzw. modellabhängige) Auswahl eines CMS erleichtert würde (In need of an upgrade. 2013).

Schlussfolgerung und Ausblick

Schlussfolgernd kann bilanziert werden, dass die eingangs formulierten Ziele (s. Abschn. 1.2) mit dem entworfenen und realisierten computerge-

stützten System zur *in silico* Modellierung und Simulation von Epithelgeweben erreicht worden sind. Mit der entwickelten modularen multiskalierten Gewebemodellarchitektur sowie dem mit ihr verbundenen Konzept der automatisch erzeugten Modell-Konnektor-Komponenten, dem vorgestellten mehrstufigen modellgetriebenen Systementwicklungskonzept und der technischen Realisierung der zuvor genannten Architektur nebst Konzepten ist ein relevanter Beitrag zur vereinfachten Erstellung und Simulation von multiskalierten multizellulären (Epithelgewebe-) Modellen geleistet worden.

Dieser Beitrag konnte in der einschlägigen Literatur mit Blick auf die grafische Erstellung sowie multiagentenbasierte Simulation von Zellverhaltensmodellen als Methode (Sütterlin et al. 2009), der dahinterstehenden technischen Konzepte (Sütterlin et al. 2011) und der multiskalierten Erweiterung der grafischen Zellverhaltensmodellierung durch die automatische semantische Integration SBML-basierter, quantitativer subzellulärer Modelle (Sütterlin et al. 2013) publiziert und auf diesem Wege in die wissenschaftliche Gemeinschaft eingebracht bzw. öffentlich gemacht werden. Schließlich sind die Möglichkeiten des CMS zur *in silico* Modellierung und Simulation der humanen epidermalen Homöostase umfassend dargestellt und veröffentlicht worden (Sütterlin und Grabe 2014).

Die technische Realisierung des entworfenen CMS, die als die beiden lauffähigen Endanwender-Softwaresysteme EPISIM Modeller (grafisches Modellierungssystem) und EPISIM Simulator (multiagentenbasierte Simulationsumgebung) in Erscheinung tritt, ist frei verfügbar gemacht worden. Des Weiteren sind die Möglichkeiten des CMS als solchem und der mit ihm geschaffenen methodischen Infrastruktur im Rahmen dieser Arbeit eingehend demonstriert worden. Damit ist u.a. gezeigt worden, dass das CMS trotz des entsprechenden Fokus nicht auf die *in silico* Modellierung und Simulation von Epithelgeweben fest-

¹³⁷ Für weitere Details zur Unterstützung von SBML-basierten Modellen durch die verschiedenen Systeme sei auf Abschn. 3.4.3 verwiesen.

gelegt ist. Schließlich konnte das entwickelte CMS mit dem mit ihm erstellten und simulierten *in silico* Modell der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden (Safferling et al. 2013) in die systembiologische sowie entsprechend mit dem T-Zell-Migrationsmodell in die klinische Forschung erfolgreich eingebracht werden.

Ausblickend sei erwähnt, dass das CMS in einem kooperativen Forschungsprojekt nachhaltig Anwendung finden wird, in dem das bestehende 3D *in silico* Modell der humanen epidermalen Homöostase u.a. um das *Stratum corneum* als strukturellem Kompartiment, um die explizite Abbildung eines Wasser- sowie pH-Gradienten und um deren Rückkopplungen auf die vitale Epidermis nebst epidermaler Barriere erweitert wird.

Mit Blick auf die Entwicklergemeinschaft der gegenwärtig verfügbaren CMS im Bereich multiskalierter multizellulärer Modellierung lässt sich eine schrittweise Annäherung in Sachen Zusammenführung der Stärken der einzelnen CMS feststellen. Als konkrete Idee steht gegenwärtig die Durchführung von Hackathons, gemeinsamen Codierungssitzungen, im Raum, aus denen ein Werkzeug zur Definition von initialen (räumlich aufgelösten) Simulationsbedingungen hervorgehen soll, das für alle CMS die hierfür benötigten Eingabeformate bereitstellt. Generell kann erwartet werden, dass in und durch Großprojekte(n), wie bspw. dem Virtual Liver Netzwerk (Drasdo et al. 2014), die Bedeutung der multiskalieren *in silico* Modellierung sowie der einschlägigen, bereits verfügbaren CMS wächst und unter Umständen zu einer weitergehenden Konsolidierung derselben führen wird.

7 Zusammenfassung

Die Entwicklung prädiktiver *in silico* Modelle mit unmittelbarer medizinischer Relevanz ist eines der wesentlichen Ziele der Systembiologie. Solche Modelle umspannen bei hinreichend komplexer Fragestellung mehrere biologische Organisationsebenen, um den meist vorhandenen Vorwärtsschleifen und Rückkopplungen der betrachteten funktionellen Prozesse des Organismus über diese Ebenen hinweg Rechnung zu tragen. Mit einem solchen, methodisch betrachtet, multiskalierten Modell, lässt sich eine semantische Brücke von der Subzell- zur Zell- bis hin zur Gewebe- oder sogar Organebene schlagen. Um die i.d.R. vielfältigen zu berücksichtigenden biologischen Prozessen auf unterschiedlichen räumlichen wie zeitlichen Skalen adäquat abzubilden, werden in multiskalierten Modellen eine Reihe unterschiedlicher Modellierungs- und Simulationsansätze kombiniert und semantisch miteinander verwoben. Dies erfordert nicht nur einschlägige Kenntnisse aus den Domänen Biologie und Medizin, sondern Erfahrung mit Methoden aus den Bereichen Biophysik, Biochemie, Mathematik und nicht zuletzt eine hohe technische Kompetenz in Sachen Programmierung sowie, bei größeren Projekten, Software Engineering. Diese *vielschichtige Komplexität multiskalierter Modelle* motiviert, wie auch wiederholt in der einschlägigen Literatur gefordert, die Bereitstellung von computergestützten Systemen zur Erstellung und Simulation derselben. Um diese an Bedeutung zunehmende Form der *in silico* Modellierung einem Personenkreis mit einem, fachlich gesehen, biologisch-medizinischen Schwerpunkt zugänglich zu machen, müssen solche Systeme die Komplexität der Modellerstellung insbesondere mit Blick auf die technische Umsetzung der Modellsimulation reduzieren.

Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Arbeit war daher der *Entwurf und die Realisierung eines computergestützten Systems zur (multiskalierten) in silico Modellierung und Simulation (CMS)* von Epithelgeweben. Die Fokussierung auf Epithelgewebe ist wegen deren Relevanz im Bereich der Onkologie und der Einbettung dieser Arbeit in einen Forschungskontext, der in der systembiologischen Erforschung der Epidermis seinen Schwerpunkt hat, vorgenommen worden. Neben der Gebrauchstauglichkeit, Flexibilität sowie Erweiterbarkeit soll insbesondere die *Benutzerfreundlichkeit* ein wesentliches Merkmal dieses Systems sein und eine Anwenderzielgruppe mit keinen oder nur geringfügigen Programmierkenntnissen im Fokus haben. Zu diesem Zweck sind neben verschiedenen Konzepten zur konkreten technischen Realisierung des Systems eine *modulare multiskalierte (Gewebe-)Modellarchitektur* und ein *mehrstufiges modellgetriebenes Systementwicklungskonzept* entworfen worden.

Den Kern der *Modellarchitektur* bildet die grafische Modellierung des Verhaltens von räumlich diskret repräsentierten Zellen in einem multizellulären Kontext. Hierfür ist eine grafische Modellierungssprache entwickelt worden, mit der Zellverhalten in Form von Prozessdiagrammen deterministisch, stochastisch oder hybrid modelliert werden kann. Ein grafisches Zellverhaltensmodell (CBM) ist dynamisch an ein seitens des CMS bereitgestelltes, wählbar zwei- oder dreidimensionales, biomechanisches Modell (BM) gekoppelt. Die dynamische Kopplung ermöglicht potentiell die Wiederverwendung von CBMs in unterschiedlichem räumlichem Kontext. Ein BM bildet die räumlichen und biophysikalischen Zelleigenschaften auf Basis eines der hierfür entwickelten diskreten Zellmodelle ab. Das BM verbindet das zellbasierte CBM mit der Gewebeebene, da über dieses ein (biomechanischer) semantischer Bezug

zu den benachbarten Zellen, bspw. durch Abbildung von Kontaktinhibition bei proliferierenden Zellen, und damit zur zellulären Mikroumgebung hergestellt wird. Ergänzt wird dieser wechselseitige Bezug von Zell- und Gewebemodellebene durch extrazelluläre Diffusionsfelder (DF), die ebenfalls modularer Bestandteil der Modellarchitektur sind. Mittels eines DF kann die Sekretion, Absorption, der Zerfall sowie die gewebeübergreifende Ausbreitung eines Stoffs abgebildet und simuliert werden, der im Modell einem Zytokin oder Chemokin entsprechen kann. Schließlich können quantitative subzelluläre Modelle (QSMs), die im weit verbreiteten Modellstandard Systems Biology Markup Language (SBML) vorliegen, semantisch in ein CBM integriert werden. Somit umfasst die modulare multiskalierte (Gewebe-)Modellarchitektur die Subzell-, die Zell- und die Gewebemodellebene. Die zuvor beschriebenen Teilmodelle CBM, BM, DF und QSM werden durch das entwickelte und realisierte Konzept der automatisch vom CMS erzeugten Modell-Konnektor-Komponenten (MKK) semantisch miteinander verbunden. Die MKKs übernehmen in diesem Kontext auch die Abbildung der unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Skalen der Teilmodelle.

Das *mehrstufige modellgetriebene Systementwicklungskonzept* ermöglicht auf der ersten Stufe die Formalisierung der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache als, ebenfalls grafisches, Meta-Modell derselben. Aus diesem Meta-Modell können Softwarekomponenten, die die grafische Zellverhaltensmodellierungssprache technisch realisieren, automatisch erzeugt werden, wodurch eine flexible und effiziente Anpassung an neue Anforderungen möglich wird. Auf der zweiten Stufe wird das Zellverhalten mit dieser grafischen Sprache unter semantischer Einbindung der zuvor beschriebenen modularen Bestandteile eines multiskalierten (Gewebe-)Modells abgebildet. Aus dem grafischen CBM wird mittels eines hierfür entwickelten Code-Generators lauffähiger, bezüglich Rechenzeit optimierter Code erzeugt, der dynamisch in eine multiagentenbasierte Simulation dieses Modells integriert wird.

Als *Realisierung* des zuvor skizzierten Entwurfs des CMS sind die beiden Endanwender-Softwaresysteme EPISIM Modeller als *grafisches Modellierungssystem* (GMS) und EPISIM Simulator als *Simulationsumgebung* (SE) entstanden. Mit dem GMS werden die (multiskalierten) grafischen CBMs erstellt, validiert, in lauffähigen optimierten Code übersetzt und in einer Modellarchiv-Datei gespeichert. Auf der Basis dieser Datei führt die SE eine multiagentenbasierte Simulation des Modells durch und bietet in diesem Zusammenhang die Möglichkeit, in Echtzeit das zwei- bzw. dreidimensionale Gewebe zu visualisieren und die Simulationsdaten zielgerichtet vorzuverarbeiten bzw. auszuwerten.

Für das CMS ist eine *Modellinfrastruktur* geschaffen worden, die sich in Basismodelle für die SE und in BMs gliedert. Für die SE sind Basismodelle für *Stoffaustausch* zwischen Zellen und damit *Zell-Zell-Kommunikation*, ein *Reaktions-Diffusions-Modell* für die extrazellulären DF und in diesem Zusammenhang ein *Sekretions-* bzw. *Absorptionsmodell* entwickelt worden. Diese Modelle können über entsprechende Funktionen im GMS in einem CBM verwendet werden. Ferner sind ein *gitterfreies* sowie ein *gitterbasiertes BM* entwickelt und jeweils eine zwei- wie dreidimensionale Variante realisiert worden. Beim gitterfreien BM handelt es sich um ein Zell-Zentrumsmodell, das die Annahme einer elliptischen bzw. ellipsoiden Zellmorphologie und die Berücksichtigung bzw. Parametrisierung der Kräfte Zelladhäsion und Zellabstoßung erlaubt. Das gitterbasierte BM ermöglicht hingegen die Abbildung einer gerichteten Zellmigration in einem extrazellulären Stoffkonzentrationsgradienten (Chemotaxis).

Das CMS ist anhand einer Reihe von Anwendungsfällen der methodischen Ansätze und der bereitgestellten Modellinfrastruktur evaluiert worden. Diese Evaluation umfasste sowohl die Demonstration der Möglichkeiten des CMS, die Erprobung von deren technischer Umsetzung als auch die Anwendung des CMS im Kontext von forschungsrelevanten Fragestellungen. Die methodische Eignung zur multiska-

lierten zellbasierten Modellierung von Geweben, insbesondere die diesbezügliche Eignung der grafischen Zellverhaltensmodellierungssprache, ist anhand des von Grabe et al. 2005 veröffentlichten, zweidimensionalen *in silico* Modells der humanen epidermalen Homöostase erfolgt. Das Modell sowie die Simulationsergebnisse konnten mit dem CMS in vollem Umfang reproduziert werden. Darüber hinaus ist das Modell auf die dritte Dimension erweitert worden, indem das CBM an das dreidimensionale gitterfreie BM gekoppelt wurde. Damit wurde demonstriert, dass CBMs potentiell in verschiedenen räumlichen Kontexten simuliert werden können, ohne dass hierfür, abgesehen von Anpassungen an Modellparametern, strukturelle Anpassungen am Modell als solchem notwendig sind. Die Unterschiede zwischen zwei- und dreidimensionaler Simulation des Modells in Abhängigkeit von der Form der Basalmembran sind unter Nutzung der entsprechenden Möglichkeiten der SE ausführlich charakterisiert und dargestellt worden. Ein wesentliches Ergebnis hiervon war die Feststellung, dass die Homöostase der *in silico* Epidermis bei einer Basalmembran mit Reteleisten stabiler ist als bei einer flachen Basalmembran, wie man sie bspw. bei *in vitro* Vollhautkulturen vorfindet. Anhand verschiedener realisierter Zellzyklusmodelle wurde die semantische Integration von quantitativen subzellulären Modellen in diskrete CBMs demonstriert. Tysons Zellzyklusmodell bildete in diesem Zusammenhang einen Anwendungsfall, mit dem erfolgreich die automatische Abbildung verschiedener zeitlicher Modellskalen durch das CMS gezeigt werden konnte. Mit einem qualitativen *in silico* Modell der Reepithelialisierung akuter epidermaler Wunden konnte das CMS direkt in den *systembiologischen Forschungskontext* eingebracht werden. In einem neu etablierten *in vitro* Wundmodell, basierend auf Vollhautkulturen, ist die Reepithelialisierung im zeitlichen Verlauf anhand von histologischen Schnitten der kompletten Wunde untersucht worden. Auf Basis der so gewonnenen experimentellen Ergebnisse ist ein neuer Reepithelialisierungsmechanismus abgeleitet und postuliert worden. Mit dem *in silico* Modell wurde dieser Reepithelialisierungsmechanismus in einer zwei- und dreidimensionalen Simulation übereinstimmend reproduziert, was die theoretische Plausibilität des Mechanismus als solchem im Kontext der Publikation der Ergebnisse untermauerte. Neben verschiedenen Anwendungsfällen mit Test- und Veranschaulichungscharakter konnte mit dem gitterbasierten BM unter kooperativem Einsatz des entwickelten CMS im *klinischen Forschungskontext* ein *T-Zell-Migrationsmodell* realisiert und simuliert werden. Abgebildet wurde die gerichtete Migration von T-Zellen in einem chemotaktischen Stoffkonzentrationsgradienten in der Grenzregion von gesunder Leber und Lebermetastase eines kolorektalen Primärtumors. Von Interesse war die sich ergebende räumliche Verteilung der T-Zellen in Abhängigkeit von der räumlichen Dichte sekretorischer Zellen in der Grenzregion, die den Stoffkonzentrationsgradienten erzeugen. Die Simulationsergebnisse zeigten eine quantitativ signifikante Übereinstimmung der räumlichen T-Zell-Verteilung in Gegenüberstellung mit entsprechenden histologischen Schnitten von Biopsien aus der zuvor beschriebenen Grenzregion. Neben den zuvor geschilderten Anwendungsfällen wird die Gebrauchstauglichkeit des CMS auch durch den erfolgreichen Einsatz desselben durch Dritte u.a. im Kontext der Anfertigung von Masterarbeiten im Bereich der Systembiologie und einer medizinischen Dissertation demonstriert. Auf der Grundlage der Anwenderrückmeldungen ist das CMS kontinuierlich verbessert worden.

Verschiedene im weiteren Sinne vergleichbare CMS sind zeitlich parallel in anderen Institutionen entstanden. Betrachtet man die Chronologie der Systempublizierung, dann kann festgestellt werden, dass das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte CMS zu den ersten veröffentlichten Systemen einer einschlägigen wissenschaftlichen Gemeinschaft gehört, die sich kontinuierlich erweitert. Stellt man die Systeme vergleichend gegenüber, dann ergibt sich eine Zweiteilung in Frameworks, die sich an Anwender mit vergleichsweise soliden Programmierkenntnissen richten, und Endanwender-Softwaresysteme,

wie das hier vorgestellte CMS. Unter den Endanwender-Softwaresystemen bietet dieses einen vergleichbaren Funktionsumfang mit Blick auf die bereitgestellte Modellinfrastruktur. Es ist jedoch das einzige mit einer grafischen Modellierungssprache, automatischer Codeerzeugung und weitreichenden Datenauswertungsmöglichkeiten in der Simulationsumgebung. Auch ist es das einzige, das eine automatische semantische Integration von SBML-basierten Modellen ohne Modellkonvertierung oder die Erfordernis manueller Codierung einer MKK zur Abbildung der zeitlichen Skalen bietet.

Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass mit dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten CMS ein relevanter Beitrag zur Vereinfachung der Erstellung multiskalierter multizellulärer (Gewebe-)Modelle geleistet werden konnte. Das CMS als solches, dessen methodische Infrastruktur sowie die durch es bereitgestellten Modelle konnten in forschungsrelevanten Fragestellungen erfolgreich zur Erstellung und Simulation von *in silico* Modellen eingebracht und publiziert werden. Ausblickend ist ein erweiterter Einsatz des CMS in Forschungsprojekten abzusehen. Beispielhaft sei hier die kooperative Weiterentwicklung des *in silico* Modells der Epidermis genannt, das um das *Stratum corneum* als strukturelles Kompartiment und die explizite Abbildung eines Wasser- sowie pH-Gradienten erweitert wird.

Literaturverzeichnis

- Ackermann K, Borgia SL, Korting HC, Mewes KR und Schäfer-Korting M (2010). The Phenion full-thickness skin model for percutaneous absorption testing. *Skin Pharmacol. Physiol.*, 23, 105–12.
- Adams CL, Chen YT, Smith SJ und Nelson WJ (1998). Mechanisms of epithelial cell-cell adhesion and cell compaction revealed by high-resolution tracking of E-cadherin-green fluorescent protein. *J. Cell Biol.*, 142, 1105–19.
- Adams MP, Mallet DG und Pettet GJ (2012). Active regulation of the epidermal calcium profile. *J. Theor. Biol.*, 301, 112–21.
- Adamzik KB (2011). Grundlagen einer systembiologischen Modellierung der Signaltransduktionswege des malignen Melanoms. *Dissertation. Medizinische Fakultät, Universität Hamburg.*
- Adra S, Sun T, MacNeil S, Holcombe M und Smallwood R (2010). Development of a three dimensional multiscale computational model of the human epidermis. *PLoS One*, 5, e8511.
- Agrawal A (1999). New institute to study systems biology. *Nat. Biotechnol.*, 17, 743–4.
- Ahn AC, Tewari M, Poon C-S und Phillips RS (2006). The limits of reductionism in medicine: could systems biology offer an alternative?. *PLoS Med.*, 3, e208.
- Ahn SK, Hwang SM, Jiang SJ, Choi EH und Lee SH (1999). The changes of epidermal calcium gradient and transitional cells after prolonged occlusion following tape stripping in the murine epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 113, 189–95.
- Alt W (1980). Biased random walk models for chemotaxis and related diffusion approximations. *J. Math. Biol.*, 177, 147–177.
- Amir-Kroll H, Sadot A, Cohen I und Harel D (2008). GemCell: A generic platform for modeling multi-cellular biological systems. *Theor. Comput. Sci.*, 391, 276–290.
- Amsden BG und Goosen MFA (1995). Transdermal delivery of peptide and protein drugs: An overview. *AIChE J.*, 41, 1972–1997.
- An G (2008). Introduction of an agent-based multi-scale modular architecture for dynamic knowledge representation of acute inflammation. *Theor. Biol. Med. Model.*, 5, 11.

- Andasari V, Roper RT, Swat MH und Chaplain M a. J (2012). Integrating intracellular dynamics using CompuCell3D and Bionetsolver: applications to multiscale modelling of cancer cell growth and invasion. *PLoS One*, 7, e33726.
- Angermann BR, Klauschen F, Garcia AD, Prustel T, Zhang F, Germain RN und Meier-Schellersheim M (2012). Computational modeling of cellular signaling processes embedded into dynamic spatial contexts. *Nat. Methods*, 9, 283–9.
- Anissimov YG, Jepps OG, Dancik Y und Roberts MS (2013). Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport processes. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65, 169–90.
- Arking R (2006). *The Biology of Aging - Observations & Principles*. 3. Aufl. Oxford University Press, New York.
- Auxenfans C, Fradette J, Lequeux C, Germain L, Kinikoglu B, Bechetoille N, Braye F, Auger FA und Damour O (2009). Evolution of three dimensional skin equivalent models reconstructed in vitro by tissue engineering. *Eur. J. Dermatol.*, 19, 107–13.
- Azuaje F (2011). Computational discrete models of tissue growth and regeneration. *Brief. Bioinform.*, 12, 64–77.
- De Back W, Zhou JX und Brusch L (2013a). On the role of lateral stabilization during early patterning in the pancreas. *J. R. Soc. Interface*, 10, 20120766.
- De Back W, Zimm R und Brusch L (2013b). Transdifferentiation of pancreatic cells by loss of contact-mediated signaling. *BMC Syst. Biol.*, 7, 77.
- Bajikar SS und Janes K a (2012). Multiscale models of cell signaling. *Ann. Biomed. Eng.*, 40, 2319–2327.
- Barker CL, McHale MT, Gillies AK, Waller J, Pearce DM, Osborne J, Hutchinson PE, Smith GM und Pringle JH (2004). The development and characterization of an in vitro model of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 123, 892–901.
- Baroni A, Buommino E, De Gregorio V, Ruocco E, Ruocco V und Wolf R (2012). Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clin. Dermatol.*, 30, 257–62.
- Bassingthwaighte JB und Chizeck HJ (2008). The Physiome Projects and Multiscale Modeling. *IEEE Signal Process. Mag.*, 25, 121–144.
- Bassingthwaighte JB (2010). Predictive Modeling and Integrative Physiology: The Physiome Projects. *Open Pacng. Electrophysiol. Ther. J.*, 3, 66–74.
- Bauer J, Bahmer FA, Wörl J, Neuhuber W, Schuler G und Fartasch M (2001). A strikingly constant ratio exists between Langerhans cells and other epidermal cells in human skin. A stereologic study

- using the optical disector method and the confocal laser scanning microscope. *J. Invest. Dermatol.*, 116, 313–318.
- Baxter SM, Day SW, Fetrow JS und Reisinger SJ (2006). Scientific software development is not an oxymoron. *PLoS Comput. Biol.*, 2, e87.
- Beck K und Andres C (2004). *Extreme Programming Explained: Embrace Change*. 2. Aufl. Addison-Wesley Professional, Reading, MA.
- Bell E, Ehrlich HP, Buttle DJ und Nakatsuji T (1981). Living tissue formed in vitro and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. *Science*, 211, 1052–4.
- Beysens DA, Forgacs G und Glazier JA (2000). Cell sorting is analogous to phase ordering in fluids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97, 9467–71.
- Le Bihan D (1996). Molecular diffusion, tissue microdynamics and microstructure. *NMR Biomed.*, 8, 375–86.
- Bjorkander M (2000). Graphical programming using UML and SDL. *Computer (Long. Beach. Calif.)*, 33, 30–35.
- Blanpain C und Fuchs E (2006). Epidermal stem cells of the skin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 22, 339–73.
- Blanpain C (2013). Tracing the cellular origin of cancer. *Nat. Cell Biol.*, 15, 126–34.
- Bonabeau E (2002). Agent-based modeling: methods and techniques for simulating human systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99 Suppl 3, 7280–7.
- Brandner JM, Kief S, Grund C, Rendl M, Houdek P, Kuhn C, Tschachler E, Franke WW und Moll I (2002). Organization and formation of the tight junction system in human epidermis and cultured keratinocytes. *Eur. J. Cell Biol.*, 81, 253–63.
- Brandner JM, Haftek M, Niessen CM, Brandner, Haftek und Niessen (2010). Adherens junctions, desmosomes and tight junctions in epidermal barrier function. *Open Dermatol. J.*, 4, 14–20.
- Brazma A, Krestyaninova M und Sarkans U (2006). Standards for systems biology. *Nat. Rev. Genet.*, 7, 593–605.
- Britten RD, Christie GR, Little C, Miller AK, Bradley C, Wu A, Yu T, Hunter P und Nielsen P (2013). FieldML, a proposed open standard for the Physiome project for mathematical model representation. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 51, 1191–207.
- Bruggeman FJ und Westerhoff H V (2007). The nature of systems biology. *Trends Microbiol.*, 15, 45–50.

- Buchman TG (2002). The community of the self. *Nature*, 420, 246–51.
- Butcher EC, Berg EL und Kunkel EJ (2004). Systems biology in drug discovery. *Nat. Biotechnol.*, 22, 1253–9.
- Byrne HM und Drasdo D (2009). Individual-based and continuum models of growing cell populations: a comparison. *J. Math. Biol.*, 58, 657–87.
- Candi E, Schmidt R und Melino G (2005). The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 6, 328–40.
- Cardona A und Tomancak P (2012). Current challenges in open-source bioimage informatics. *Nat. Methods*, 9, 661–5.
- Castelijns FA, Ezendam J, Latijnhouwers MA, Van Vlijmen-Willems IM, Zeeuw PL, Gerritsen MJ, Van de Kerkhof PC und Van Erp PE (1998). Epidermal cell kinetics by combining in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histochem. J.*, 30, 869–77.
- Celli A, Sanchez S, Behne M, Hazlett T, Gratton E und Mauro T (2010). The epidermal Ca(2+) gradient: Measurement using the phasor representation of fluorescent lifetime imaging. *Biophys. J.*, 98, 911–21.
- Chavali AK, Gianchandani EP, Tung KS, Lawrence MB, Peirce SM und Papin JA (2008). Characterizing emergent properties of immunological systems with multi-cellular rule-based computational modeling. *Trends Immunol.*, 29, 589–99.
- Chelliah V, Juty N, Ajmera I, Ali R, Dumousseau M, Glont M, Hucka M, Jalowicki G, Keating S, Knight-Schrijver V, Lloret-Villas A, Natarajan KN, Pettit J-B, Rodriguez N, Schubert M, Wimalaratne SM, Zhao Y, Hermjakob H, Le Novère N und Laibe C (2014). BioModels: ten-year anniversary. *Nucleic Acids Res.*, 24, 2122–3.
- Cheung GYC, Rigby K, Wang R, Queck SY, Braughton KR, Whitney AR, Teintze M, DeLeo FR und Otto M (2010). Staphylococcus epidermidis strategies to avoid killing by human neutrophils. *PLoS Pathog.*, 6, e1001133.
- Christie GR, Nielsen PMF, Blackett SA, Bradley CP und Hunter PJ (2009). FieldML: concepts and implementation. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 367, 1869–84.
- Chuong CM, Nickoloff BJ, Elias PM, Goldsmith LA, Macher E, Maderson PA, Sundberg JP, Tagami H, Plonka PM, Thestrup-Pederson K, Bernard BA, Schröder JM, Dotto P, Chang CM, Williams ML, Feingold KR, King LE, Kligman AM, Rees JL und Christophers E (2002). What is the „true“ function of skin?. *Exp. Dermatol.*, 11, 159–87.

- Cickovski T, Aras K, Alber MS, Izaguirre JA, Swat M, Glazier JA, Merks RMH, Glimm T, Hentschel HGE und Newman SA (2007). From Genes to Organisms Via the Cell A Problem-Solving Environment for Multicellular Development. *Comput. Sci. Eng.*, 9, 50–60.
- Clayton E, Doupé DP, Klein AM, Winton DJ, Simons BD und Jones PH (2007). A single type of progenitor cell maintains normal epidermis. *Nature*, 446, 185–9.
- Coakley S, Gheorghe M, Holcombe M, Chin S, Worth D und Greenough C (2012). Exploitation of High Performance Computing in the FLAME Agent-Based Simulation Framework. In, *2012 IEEE 14th International Conference on High Performance Computing and Communication & 2012 IEEE 9th International Conference on Embedded Software and Systems*. IEEE, S. 538–545.
- Codling EA, Plank MJ und Benhamou S (2008). Random walk models in biology. *J. R. Soc. Interface*, 5, 813–34.
- Collins F (2010). Has the revolution arrived?. *Nature*, 464, 674–5.
- Copeland T (2007). *Generating Parsers with JavaCC*. 2. Aufl. Centennial Books, Alexandria.
- Cornelissen LH, Oomens CWJ, Huyghe JM und Baaijens FPT (2007). Mechanisms that play a role in the maintenance of the calcium gradient in the epidermis. *Skin Res. Technol.*, 13, 369–76.
- Corradini F, Merelli E und Vita M (2005). A Multi-agent System for Modelling Carbohydrate Oxidation in Cell. In, Gervasi, O, Gavrilova, ML, Kumar, V, Laganà, A, Lee, HP, Mun, Y, Taniar, D und Tan, CJK (hrsg), *Computational Science and Its Applications – ICCSA 2005*, Lecture Notes in Computer Science. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 1264–1273.
- Costello JC, Heiser LM, Georgii E, Gönen M, Menden MP, Wang NJ, Bansal M, Ammad-Ud-Din M, Hintsanen P, Khan SA, Mpindi J-P, Kallioniemi O, Honkela A, Aittokallio T, Wennerberg K, Collins JJ, Gallahan D, Singer D, Saez-Rodriguez J, Kaski S, Gray JW und Stolovitzky G (2014). A community effort to assess and improve drug sensitivity prediction algorithms. *Nat. Biotechnol.*
- Courant R, Friedrichs K und Lewy H (1928). Über die partiellen Differenzgleichungen der mathematischen Physik. *Math. Ann.*, 100, 32–74.
- Couto A, Fernandes R, Cordeiro MNS, Reis SS, Ribeiro RT und Pessoa AM (2014). Dermic diffusion and stratum corneum: a state of the art review of mathematical models. *J. Control. Release*, 177, 74–83.
- D’Souza RM, Lysenko M, Marino S, Kirschner D, Souza RMD und Arbor A (2009). Data-parallel Algorithms for Agent-based Model Simulation of Tuberculosis on Graphics Processing Units. In, *Proceedings of the 2009 Spring Simulation Multiconference*, SpringSim ’09. Society for Computer Simulation International, San Diego, CA, USA, S. 21:1–21:12.

- Dada JO, Spasić I, Paton NW und Mendes P (2010). SBRML: a markup language for associating systems biology data with models. *Bioinformatics*, 26, 932–8.
- Dada JO und Mendes P (2011). Multi-scale modelling and simulation in systems biology. *Integr. Biol. (Camb)*, 3, 86–96.
- Dada JO und Mendes P (2012). ManyCell: A Multiscale Simulator for Cellular Systems. In, Gilbert, D und Heiner, M (hrsg), *Computational Methods in Systems Biology*. Springer, Berlin Heidelberg, S. 366–369.
- Dale P, Olsen L, Maini PK und Sherratt J (1995). Travelling waves in wound healing. *Forma*, 24–29.
- Dallon J und Othmer H (2004). How cellular movement determines the collective force generated by the Dictyostelium discoideum slug. *J. Theor. Biol.*, 231, 203–22.
- Dallon J (2007). Models with Lattice-free Center-based Cells Interacting with Continuum Environment Variables. In, Anderson, AA, Chaplain, MJ und Rejniak, K (hrsg), *Single-Cell-Based Models in Biology and Medicine*. Birkhäuser Basel, Basel, S. 197–219.
- Davis B (1990). Reinforced random walk. *Probab. Theory Relat. Fields*, 229, 203–229.
- Deisboeck TS, Wang Z, Macklin P und Cristini V (2011). Multiscale cancer modeling. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 13, 127–155.
- Demir E, Cary MP, Paley S, Fukuda K, Lemer C, Vastrik I, Wu G, D’Eustachio P, Schaefer C, Luciano J, Schacherer F, Martinez-Flores I, Hu Z, Jimenez-Jacinto V, Joshi-Tope G, Kandasamy K, Lopez-Fuentes AC, Mi H, Pichler E, Rodchenkov I, Splendiani A, Tkachev S, Zucker J, Gopinath G, Rajasimha H, Ramakrishnan R, Shah I, Syed M, Anwar N, Babur O, Blinov M, Brauner E, Corwin D, Donaldson S, Gibbons F, Goldberg R, Hornbeck P, Luna A, Murray-Rust P, Neumann E, Ruebenacker O, Reubenacker O, Samwald M, van Iersel M, Wimalaratne S, Allen K, Braun B, Whirl-Carrillo M, Cheung K-H, Dahlquist K, Finney A, Gillespie M, Glass E, Gong L, Haw R, Honig M, Hubaut O, Kane D, Krupa S, Kutmon M, Leonard J, Marks D, Merberg D, Petri V, Pico A, Ravenscroft D, Ren L, Shah N, Sunshine M, Tang R, Whaley R, Letovksy S, Buetow KH, Rzhetsky A, Schachter V, Sobral BS, Dogrusoz U, McWeeney S, Aladjem M, Birney E, Collado-Vides J, Goto S, Hucka M, Le Novère N, Maltsev N, Pandey A, Thomas P, Wingender E, Karp PD, Sander C und Bader GD (2010). The BioPAX community standard for pathway data sharing. *Nat. Biotechnol.*, 28, 935–42.
- Denda M, Sato J, Tsuchiya T, Elias PM und Feingold KR (1998). Low humidity stimulates epidermal DNA synthesis and amplifies the hyperproliferative response to barrier disruption: implication for seasonal exacerbations of inflammatory dermatoses. *J. Invest. Dermatol.*, 111, 873–8.
- Denda M und Kumazawa N (2002). Negative electric potential induces alteration of ion gradient and lamellar body secretion in the epidermis, and accelerates skin barrier recovery after barrier disruption. *J. Invest. Dermatol.*, 118, 65–72.

- Dias AS, de Almeida I, Belmonte JM, Glazier JA und Stern CD (2014). Somites without a clock. *Science*, 343, 791–5.
- Dietel M und Schäfer R (2008). Systems pathology--or how to solve the complex problem of predictive pathology. *Virchows Arch.*, 453, 309–12.
- Domínguez E, Pérez B, Rubio ÁL und Zapata MA (2012). A systematic review of code generation proposals from state machine specifications. *Inf. Softw. Technol.*, 54, 1045–1066.
- Dormann S und Deutsch A (2002). Modeling of self-organized avascular tumor growth with a hybrid cellular automaton. *In Silico Biol.*, 2, 393–406.
- Dover R und Potten CS (1983). Cell cycle kinetics of cultured human epidermal keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 80, 423–9.
- Dräger A, Rodriguez N, Dumousseau M, Dörr A, Wrzodek C, Le Novère N, Zell A und Hucka M (2011). JSBML: a flexible Java library for working with SBML. *Bioinformatics*, 27, 2167–8.
- Drasdo D, Kree R und McCaskill J (1995). Monte Carlo approach to tissue-cell populations. *Phys. Rev. E*, 52, 6635–6657.
- Drasdo D (2003). On Selected Individual-based Approaches to the Dynamics in Multicellular Systems. *Polym. Cell Dyn.*, 169–203.
- Drasdo D und Höhme S (2005). A single-cell-based model of tumor growth in vitro: monolayers and spheroids. *Phys. Biol.*, 2, 133–47.
- Drasdo D (2005). Coarse Graining In Simulated Cell Populations. *Adv. Complex Syst.*, 08, 319–363.
- Drasdo D (2007). Center-based single-cell models: An approach to multi-cellular organization based on a conceptual analogy to colloidal particles. In: Anderson, AA, Chaplain, MJ und Rejniak, K (hrsg), *Single-Cell-Based Models in Biology and Medicine*. Birkhäuser Basel, Basel, S. 171–196.
- Drasdo D, Bode J, Dahmen U, Dirsch O, Dooley S, Gebhardt R, Ghallab A, Godoy P, Häussinger D, Hammad S, Hoehme S, Holzhütter H-G, Klingmüller U, Kuepfer L, Timmer J, Zerial M und Hengstler JG (2014). The virtual liver: state of the art and future perspectives. *Arch. Toxicol.*, 1–5.
- Dunker R, Røy H und Jørgensen BB (2010). Temperature regulation of gliding motility in filamentous sulfur bacteria, *Beggiatoa* spp. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 73, 234–42.
- Dunn S-J, Appleton PL, Nelson SA, Näthke IS, Gavaghan DJ und Osborne JM (2012). A two-dimensional model of the colonic crypt accounting for the role of the basement membrane and pericyptal fibroblast sheath. *PLoS Comput. Biol.*, 8, e1002515.

- Eckhart L, Lippens S, Tschachler E und Declercq W (2013). Cell death by cornification. *Biochim. Biophys. Acta*, 1833, 3471–80.
- Egles C, Huet HA, Dogan F, Cho S, Dong S, Smith A, Knight EB, McLachlan KR und Garlick JA (2010). Integrin-blocking antibodies delay keratinocyte re-epithelialization in a human three-dimensional wound healing model. *PLoS One*, 5, e10528.
- Elias P, Ahn S, Brown B, Crumrine D und Feingold KR (2002a). Origin of the epidermal calcium gradient: regulation by barrier status and role of active vs passive mechanisms. *J. Invest. Dermatol.*, 119, 1269–74.
- Elias PM (1983). Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J. Invest. Dermatol.*, 80, 44s–9s.
- Elias PM, Ahn SK, Denda M, Brown BE, Crumrine D, Kimutai LK, Kömüves L, Lee SH und Feingold KR (2002b). Modulations in epidermal calcium regulate the expression of differentiation-specific markers. *J. Invest. Dermatol.*, 119, 1128–36.
- Elias PM (2004). The epidermal permeability barrier: from the early days at Harvard to emerging concepts. *J. Invest. Dermatol.*, 122, xxxvi–xxxix.
- Farhadifar R, Röper J-C, Aigouy B, Eaton S und Jülicher F (2007). The influence of cell mechanics, cell-cell interactions, and proliferation on epithelial packing. *Curr. Biol.*, 17, 2095–104.
- Feingold KR und Elias PM (2014). Role of lipids in the formation and maintenance of the cutaneous permeability barrier. *Biochim. Biophys. Acta*, 1841, 280–94.
- Figueredo GP, Joshi T V, Osborne JM, Byrne HM und Owen MR (2013). On-lattice agent-based simulation of populations of cells within the open-source Chaste framework. *Interface Focus*, 3, 20120081–20120081.
- Fisher J und Henzinger TA (2007). Executable cell biology. *Nat. Biotechnol.*, 25, 1239–49.
- Fletcher AG, Osterfield M, Baker RE und Shvartsman SY (2014). Vertex models of epithelial morphogenesis. *Biophys. J.*, 106, 2291–304.
- Fong E, Tzilil S und Tirrell DA (2010). Boundary crossing in epithelial wound healing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107, 19302–7.
- Franitza S, Alon R und Lider O (1999). Real-time analysis of integrin-mediated chemotactic migration of T lymphocytes within 3-D extracellular matrix-like gels. *J. Immunol. Methods*, 225, 9–25.
- Friend SH und Ideker T (2011). Point: Are we prepared for the future doctor visit?. *Nat. Biotechnol.*, 29, 215–8.
- Fuchs E (1990a). Epidermal differentiation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2, 1028–35.

- Fuchs E (1990b). Epidermal differentiation: the bare essentials. *J. Cell Biol.*, 111, 2807–14.
- Fuchs E und Byrne C (1994). The epidermis: rising to the surface. *Curr. Opin. Genet. & Dev.*
- Fuchs E und Raghavan S (2002). Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nat. Rev. Genet.*, 3, 199–209.
- Fuchs E (2008). Skin stem cells: rising to the surface. *J. Cell Biol.*, 180, 273–84.
- Funahashi A, Morohashi M, Kitano H und Tanimura N (2003). CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *BIOSILICO*, 1, 159–162.
- Furuse M, Hata M, Furuse K, Yoshida Y, Haratake A, Sugitani Y, Noda T, Kubo A und Tsukita S (2002). Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. *J. Cell Biol.*, 156, 1099–111.
- Galle J, Loeffler M und Drasdo D (2005). Modeling the effect of deregulated proliferation and apoptosis on the growth dynamics of epithelial cell populations in vitro. *Biophys. J.*, 88, 62–75.
- Galle J, Hoffmann M und Aust G (2009). From single cells to tissue architecture—a bottom-up approach to modelling the spatio-temporal organisation of complex multi-cellular systems. *J. Math. Biol.*, 58, 261–83.
- Gandolfi A, Iannelli M und Marinoschi G (2013). Time evolution for a model of epidermis growth. *J. Evol. Equations*, 13, 509–533.
- Garny A, Nickerson DP, Cooper J, Weber dos Santos R, Miller AK, McKeever S, Nielsen PMF und Hunter PJ (2008). CellML and associated tools and techniques. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 366, 3017–43.
- Gascueña JM, Navarro E und Fernández-Caballero A (2012). Model-driven engineering techniques for the development of multi-agent systems. *Eng. Appl. Artif. Intell.*, 25, 159–173.
- Gerlee P und Anderson ARA (2007). An evolutionary hybrid cellular automaton model of solid tumour growth. *J. Theor. Biol.*, 246, 583–603.
- Germain RN, Meier-Schellersheim M, Nita-Lazar A und Fraser IDC (2011). Systems biology in immunology: a computational modeling perspective. *Annu. Rev. Immunol.*, 29, 527–85.
- Ghosh S, Matsuoka Y, Asai Y, Hsin K-Y und Kitano H (2011). Software for systems biology: from tools to integrated platforms. *Nat. Rev. Genet.*, 12, 821–32.
- Grabe N und Neuber K (2005). A multicellular systems biology model predicts epidermal morphology, kinetics and Ca²⁺ flow. *Bioinformatics*, 21, 3541–7.

- Grabe N und Neuber K (2007). Simulating psoriasis by altering transit amplifying cells. *Bioinformatics*, 23, 1309–12.
- Graner F und Glazier JA (1992). Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model. *Phys. Rev. Lett.*, 69, 2013–2016.
- Grant MR, Mostov KE, Tlsty TD und Hunt CA (2006). Simulating properties of in vitro epithelial cell morphogenesis. *PLoS Comput. Biol.*, 2, e129.
- Green KJ und Jones JC (1996). Desmosomes and hemidesmosomes: structure and function of molecular components. *FASEB J.*, 10, 871–81.
- Green KJ und Simpson CL (2007). Desmosomes: new perspectives on a classic. *J. Invest. Dermatol.*, 127, 2499–515.
- Grubauer G, Elias PM und Feingold KR (1989). Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. *J. Lipid Res.*, 30, 323–33.
- Gumbiner BM (1996). Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell*, 84, 345–57.
- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y und Longaker MT (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453, 314–21.
- Haake A, Scott GA und Holbrook KA (2001). Structure and function of the skin: overview of the epidermis and dermis. In: Freinkel, RK und Woodley, DT (hrsg), *The Biology of the Skin*. The Parthenon Publishing Group, New York, S. 19–46.
- Haftak M, Callejon S, Sandjeu Y, Padois K, Falson F, Pirot F, Portes P, Demarne F und Jannin V (2011). Compartmentalization of the human stratum corneum by persistent tight junction-like structures. *Exp. Dermatol.*, 20, 617–21.
- Halprin KM (1972). Epidermal „turnover time“ - a re-examination. *Br. J. Dermatol.*, 86, 14–9.
- Hammad S, Hoehme S, Friebel A, von Recklinghausen I, Othman A, Begher-Tibbe B, Reif R, Godoy P, Johann T, Vartak A, Golka K, Bucur PO, Vibert E, Marchan R, Christ B, Dooley S, Meyer C, Ilkavets I, Dahmen U, Dirsch O, Böttger J, Gebhardt R, Drasdo D und Hengstler JG (2014). Protocols for staining of bile canalicular and sinusoidal networks of human, mouse and pig livers, three-dimensional reconstruction and quantification of tissue microarchitecture by image processing and analysis. *Arch. Toxicol.*, 88, 1161–83.
- Hammerschmidt K, Rose CJ, Kerr B und Rainey PB (2014). Life cycles, fitness decoupling and the evolution of multicellularity. *Nature*, 515, 75–79.

- Hanson KM, Behne MJ, Barry NP, Mauro TM, Gratton E und Clegg RM (2002). Two-photon fluorescence lifetime imaging of the skin stratum corneum pH gradient. *Biophys. J.*, 83, 1682–90.
- Harrison CA, Heaton MJ, Layton CM und Mac Neil S (2006). Use of an in vitro model of tissue-engineered human skin to study keratinocyte attachment and migration in the process of reepithelialization. *Wound Repair Regen.*, 14, 203–9.
- Hayden PJ, Petrali JP, Stolper G, Hamilton TA, Jackson GR, Wertz PW, Ito S, Smith WJ und Klausner M (2009). Microvesicating effects of sulfur mustard on an in vitro human skin model. *Toxicol. In Vitro*, 23, 1396–405.
- Heenen M, Thiriar S, Noël J-C und Galand P (1998). Ki-67 Immunostaining of Normal Human Epidermis: Comparison with ³H-Thymidine Labelling and PCNA Immunostaining. *Dermatology*, 197, 123–126.
- Heineman G, Loyall J und Schantz R (2004). Component Technology and QoS Management. In, Crnkovic, I, Stafford, J, Schmidt, H und Wallnau, K (hrsg), *Component-Based Software Engineering SE - 22*, Lecture Notes in Computer Science. Springer Berlin Heidelberg, S. 249–263.
- Helmuth JA, Paul G und Sbalzarini IF (2010). Beyond co-localization: inferring spatial interactions between sub-cellular structures from microscopy images. *BMC Bioinformatics*, 11, 372.
- Hoath SB und Leahy DG (2003). The organization of human epidermis: functional epidermal units and phi proportionality. *J. Invest. Dermatol.*, 121, 1440–6.
- Hofkin B V. (2010). *Living in a Microbial World*. 1. Aufl. Garland Science, New York.
- Höhme S und Drasdo D (2010). A cell-based simulation software for multi-cellular systems. *Bioinformatics*, 26, 2641–2.
- Höhme S, Brulport M, Bauer A, Bedawy E, Schormann W, Hermes M, Puppe V, Gebhardt R, Zellmer S, Schwarz M, Bockamp E, Timmel T, Hengstler JG und Drasdo D (2010). Prediction and validation of cell alignment along microvessels as order principle to restore tissue architecture in liver regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107, 10371–6.
- Holcombe M, Adra S, Bicak M, Chin S, Coakley S, Graham AI, Green J, Greenough C, Jackson D, Kiran M, MacNeil S, Maleki-Dizaji A, McMinn P, Pogson M, Poole R, Qwarnstrom E, Ratnieks F, Rolfe MD, Smallwood R, Sun T und Worth D (2012). Modelling complex biological systems using an agent-based approach. *Integr. Biol. (Camb)*, 4, 53–64.
- Honda H, Morita T und Tanabe A (1979). Establishment of epidermal cell columns in mammalian skin: computer simulation. *J. Theor. Biol.*, 81, 745–59.
- Honda H und Eguchi G (1980). How much does the cell boundary contract in a monolayered cell sheet?. *J. Theor. Biol.*, 84, 575–88.

- Honda H und Oshibe S (1984). A computer simulation of cell stacking for even thickness in mammalian epidermis. *J. Theor. Biol.*, 111, 625–33.
- Honda H, Tanemura M und Yoshida A (2000). Differentiation of wing epidermal scale cells in a butterfly under the lateral inhibition model-appearance of large cells in a polygonal pattern. *Acta Biotheor.*, 48, 121–36.
- Honda H, Tanemura M und Nagai T (2004). A three-dimensional vertex dynamics cell model of space-filling polyhedra simulating cell behavior in a cell aggregate. *J. Theor. Biol.*, 226, 439–53.
- Hood L und Perlmutter RM (2004). The impact of systems approaches on biological problems in drug discovery. *Nat. Biotechnol.*, 22, 1215–7.
- Hoops S, Sahle S, Gauges R, Lee C, Pahle J, Simus N, Singhal M, Xu L, Mendes P und Kummer U (2006). COPASI--a COMplex PATHway SIMulator. *Bioinformatics*, 22, 3067–74.
- Huber S (2006). Entwicklung eines graphischen Editors zur Erstellung zustandsorientierter multizellulärer Gewebemodelle. *Diplomarbeit. Studiengang Medizinische Informatik, Universität Heidelberg.*
- Hucka M, Finney A, Sauro HM, Bolouri H, Doyle JC, Kitano H, Arkin AP, Bornstein BJ, Bray D, Cornish-Bowden A, Cuellar AA, Dronov S, Gilles ED, Ginkel M, Gor V, Goryanin II, Hedley WJ, Hodgman TC, Hofmeyr J-H, Hunter PJ, Juty NS, Kasberger JL, Kremling A, Kummer U, Le Novère N, Loew LM, Lucio D, Mendes P, Minch E, Mjolsness ED, Nakayama Y, Nelson MR, Nielsen PF, Sakurada T, Schaff JC, Shapiro BE, Shimizu TS, Spence HD, Stelling J, Takahashi K, Tomita M, Wagner J und Wang J (2003). The systems biology markup language (SBML): a medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics*, 19, 524–31.
- Hucka M, Finney A, Bornstein BJ, Keating SM, Shapiro BE, Matthews J, Kovitz BL, Schilstra MJ, Funahashi A, Doyle JC und Kitano H (2004). Evolving a lingua franca and associated software infrastructure for computational systems biology: the Systems Biology Markup Language (SBML) project. *Syst. Biol. (Stevenage)*, 1, 41–53.
- Hucka M und Le Novère N (2010). Software that goes with the flow in systems biology. *BMC Biol.*, 8, 140.
- Hunt CA, Ropella GEP, Park S und Engelberg J (2008). Dichotomies between computational and mathematical models. *Nat. Biotechnol.*, 26, 737–8; author reply 738–9.
- Hunt CA, Ropella GEP, Lam TN und Gewitz AD (2011). Relational grounding facilitates development of scientifically useful multiscale models. *Theor. Biol. Med. Model.*, 8, 35.
- Huxley TH (1860). Darwin on the origin of species. *Westminster Rev.*, 17, 541–570.
- Hwa C, Bauer EA und Cohen DE (2011). Skin biology. *Dermatol. Ther.*, 24, 464–70.

- Hwang M, Garbey M, Berceci SA und Tran-Son-Tay R (2009). Rule-Based Simulation of Multi-Cellular Biological Systems-A Review of Modeling Techniques. *Cell. Mol. Bioeng.*, 2, 285–294.
- Ideker T (2004). Systems biology 101--what you need to know. *Nat. Biotechnol.*, 22, 473–5.
- Iizuka H, Ishida-Yamamoto A und Honda H (1996). Epidermal remodelling in psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 135, 433–8.
- Izaguirre JA, Chaturvedi R, Huang C, Cickovski T, Coffland J, Thomas G, Forgacs G, Alber M, Hentschel G, Newman SA und Glazier JA (2004). CompuCell, a multi-model framework for simulation of morphogenesis. *Bioinformatics*, 20, 1129–37.
- Izquierdo Rangel E (2014). Agent-based modelling of the tumor microenvironment. *Masterarbeit. Fakultät Biowissenschaften, Universität Heidelberg.*
- Johnson KL, Kendall K und Roberts AD (1971). Surface Energy and the Contact of Elastic Solids. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, 324, 301–313.
- Kang S, Kahan S, McDermott J, Flann N und Shmulevich I (2014). Biocellion: Accelerating Computer Simulation of Multicellular Biological System Models. *Bioinformatics*, 1–9.
- Katakai T, Habiro K und Kinashi T (2013). Dendritic cells regulate high-speed interstitial T cell migration in the lymph node via LFA-1/ICAM-1. *J. Immunol.*, 191, 1188–99.
- Kendall S (2001). Bacterial Chemotaxis. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Kim SHJ, Park S, Mostov K, Debnath J und Hunt CA (2009a). Computational investigation of epithelial cell dynamic phenotype in vitro. *Theor. Biol. Med. Model.*, 6, 8.
- Kim SHJ, Sheikh-Bahaei S und Hunt CA (2009b). Multi-Agent Simulation of Self-Organizing Behaviors of Alveolar Cells In Vitro. *Int. J. Intell. Control Syst.*, 14, 41–50.
- Kim SHJ, Matthay M a, Mostov K und Hunt CA (2010). Simulation of lung alveolar epithelial wound healing in vitro. *J. R. Soc. Interface*, 1157–1170.
- Kirschner N und Brandner JM (2012). Barriers and more: functions of tight junction proteins in the skin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1257, 158–66.
- Kirschner N, Rosenthal R, Furuse M, Moll I, Fromm M und Brandner JM (2013). Contribution of tight junction proteins to ion, macromolecule, and water barrier in keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 133, 1161–9.
- Kitano H (2000). Perspectives on systems biology. *New Gener. Comput.*, 18, 199–216.
- Kitano H (2002a). Computational systems biology. *Nature*, 420, 206–10.

- Kitano H (2002b). Systems biology: a brief overview. *Science*, 295, 1662–4.
- Kitano H, Funahashi A, Matsuoka Y und Oda K (2005). Using process diagrams for the graphical representation of biological networks. *Nat. Biotechnol.*, 23, 961–6.
- Klauschen F, Angermann BR und Meier-Schellersheim M (2007). Understanding diseases by mouse click: the promise and potential of computational approaches in Systems Biology. *Clin. Exp. Immunol.*, 149, 424–9.
- Koehler MJ, Zimmermann S, Springer S, Elsner P, König K und Kaatz M (2011). Keratinocyte morphology of human skin evaluated by in vivo multiphoton laser tomography. *Skin Res. Technol.*, 17, 479–86.
- Kohl P, Crampin EJ, Quinn TA und Noble D (2010). Systems biology: an approach. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 88, 25–33.
- Köhn-Luque A, de Back W, Starruss J, Mattiotti A, Deutsch A, Pérez-Pomares JM und Herrero MA (2011). Early embryonic vascular patterning by matrix-mediated paracrine signalling: a mathematical model study. *PLoS One*, 6, e24175.
- Koziol H (2010). Performance evaluation of component-based software systems: A survey. *Perform. Eval.*, 67, 634–658.
- Krawczyk WS (1971). A pattern of epidermal cell migration during wound healing. *J. Cell Biol.*, 49, 247–63.
- Krombach F, Münzing S, Allmeling AM, Gerlach JT, Behr J und Dörger M (1997). Cell size of alveolar macrophages: an interspecies comparison. *Environ. Health Perspect.*, 105 Suppl , 1261–3.
- Ku C-J, Wang Y, Weiner OD, Altschuler SJ und Wu LF (2012). Network crosstalk dynamically changes during neutrophil polarization. *Cell*, 149, 1073–83.
- Kutta W (1901). Beitrag zur näherungsweise Integration von Differentialgleichungen. *Zeitschrift für Math. und Phys.*, 46, 435–453.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczky J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrim J, Mesirov JP, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Graffham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin JC, Mungall A, Plumb R, Ross M, Shownkeen R, Sims S, Waterston RH, Wilson RK, Hillier LW, McPherson JD, Marra MA, Mardis ER, Fulton LA, Chinwalla AT, Pepin KH, Gish WR, Chissoe SL, Wendl MC, Delehaunty KD, Miner TL, Delehaunty A, Kramer

- JB, Cook LL, Fulton RS, Johnson DL, Minx PJ, Clifton SW, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng JF, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs RA, Muzny DM, Scherer SE, Bouck JB, Sodergren EJ, Worley KC, Rives CM, Gorrell JH, Metzker ML, Naylor SL, Kucherlapati RS, Nelson DL, Weinstock GM, Sakaki Y, Fujiiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissenbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Brottier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith DR, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee HM, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis RW, Federspiel NA, Abola AP, Proctor MJ, Myers RM, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox DR, Olson M V, Kaul R, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans GA, Athanasiou M, Schultz R, Roe BA, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie WR, de la Bastide M, Dedhia N, Blöcker H, Hornischer K, Nordsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey JA, Bateman A, Batzoglu S, Birney E, Bork P, Brown DG, Burge CB, Cerutti L, Chen HC, Church D, Clamp M, Copley RR, Doerks T, Eddy SR, Eichler EE, Furey TS, Galagan J, Gilbert JG, Harmon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hermjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson LS, Jones TA, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent WJ, Kitts P, Koonin E V, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe TM, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran J V, Mulder N, Pollara VJ, Ponting CP, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit AF, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf YI, Wolfe KH, Yang SP, Yeh RF, Collins F, Guyer MS, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand KA, Patrinos A, Morgan MJ, de Jong P, Catanese JJ, Osoegawa K, Shizuya H, Choi S, Chen YJ und Szustakowski J (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860–921.
- Landsberg KP, Farhadifar R, Ranft J, Umetsu D, Widmann TJ, Bittig T, Said A, Jülicher F und Dahmann C (2009). Increased cell bond tension governs cell sorting at the *Drosophila* anteroposterior compartment boundary. *Curr. Biol.*, 19, 1950–5.
- Lee EA und Zheng H (2005). Operational Semantics of Hybrid Systems. In: Morari, M und Thiele, L (hrsg), *Hybrid Systems: Computation and Control*, Lecture Notes in Computer Science. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 25–53.
- Leech J (1956). The Problem of the Thirteen Spheres. *Math. Gaz.*, 40, 22–23.
- Van Leeuwen IMM, Mirams GR, Walter A, Fletcher A, Murray P, Osborne J, Varma S, Young S, Cooper J, Doyle B, Pitt-Francis J, Momtahan L, Pathmanathan P, Whiteley JP, Chapman SJ, Gavaghan DJ, Jensen OE, King JR, Maini PK, Waters SL und Byrne HM (2009). An integrative computational model for intestinal tissue renewal. *Cell Prolif.*, 42, 617–36.
- Li X, Upadhyay AK, Bullock AJ, Dicolandrea T, Xu J, Binder RL, Robinson MK, Finlay DR, Mills KJ, Bascom CC, Kelling CK, Isfort RJ, Haycock JW, Macneil S und Smallwood RH (2013). Skin Stem Cell Hypotheses and Long Term Clone Survival - Explored Using Agent-based Modelling. *Sci. Rep.*, 3, 1904.

- Lidwell W, Holden K und Butler J (2010). *Universal Principles of Design*. 2. Aufl. Rockport Publishers, Beverly, Massachusetts.
- Lindwall G, Hsieh EA, Misell LM, Chai CM, Turner SM und Hellerstein MK (2006). Heavy water labeling of keratin as a non-invasive biomarker of skin turnover in vivo in rodents and humans. *J. Invest. Dermatol.*, 126, 841–8.
- Litjens SHM, de Pereda JM und Sonnenberg A (2006). Current insights into the formation and breakdown of hemidesmosomes. *Trends Cell Biol.*, 16, 376–83.
- Loeffler M, Potten CS und Wichmann HE (1987). Epidermal cell proliferation. II. A comprehensive mathematical model of cell proliferation and migration in the basal layer predicts some unusual properties of epidermal stem cells. *Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, 53, 286–300.
- Loodts J, Tijssens E, Wei C und E (2006). Micromechanics: simulating the elastic behavior of onion epidermis tissue. *J. texture*, 37, 16–34.
- Luke S (2005). MASON: A Multiagent Simulation Environment. *Simulation*, 81, 517–527.
- Maas-Szabowski N, Stark HJ und Fusenig NE (2000). Keratinocyte growth regulation in defined organotypic cultures through IL-1-induced keratinocyte growth factor expression in resting fibroblasts. *J. Invest. Dermatol.*, 114, 1075–84.
- Macklin P, Edgerton ME, Thompson AM und Cristini V (2012). Patient-calibrated agent-based modelling of ductal carcinoma in situ (DCIS): from microscopic measurements to macroscopic predictions of clinical progression. *J. Theor. Biol.*, 301, 122–40.
- Marée AFM, Grieneisen VA und Edelstein-Keshet L (2012). How cells integrate complex stimuli: the effect of feedback from phosphoinositides and cell shape on cell polarization and motility. *PLoS Comput. Biol.*, 8, e1002402.
- Massaioli F, Castiglione F und Bernaschi M (2005). OpenMP parallelization of agent-based models. *Parallel Comput.*, 31, 1066–1081.
- Mauro T, Bench G, Sidderas-Haddad E, Feingold K, Elias PM und Cullander C (1998). Acute barrier perturbation abolishes the Ca²⁺ and K⁺ gradients in murine epidermis: quantitative measurement using PIXE. *J. Invest. Dermatol.*, 111, 1198–201.
- McKay MD, Beckman RJ und Conover WJ (1979). A Comparison of Three Methods for Selecting Values of Input Variables in the Analysis of Output from a Computer Code. *Technometrics*, 21, 239.
- Meier-Schellersheim M, Fraser IDC und Klauschen F (2009). Multiscale modeling for biologists. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, 1, 4–14.

- Menke NB, Cain JW, Reynolds A, Chan DM, Segal RA, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF und Ward KR (2009). An in silico approach to the analysis of acute wound healing. *Wound Repair Regen.*, 18, 105–13.
- Menon GK, Price LF, Bommannan B, Elias PM und Feingold KR (1994). Selective obliteration of the epidermal calcium gradient leads to enhanced lamellar body secretion. *J. Invest. Dermatol.*, 102, 789–95.
- Menon GK (2002). New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54 Suppl 1, S3–17.
- Menon SN, Flegg JA, McCue SW, Schugart RC, Dawson RA und McElwain DLS (2012). Modelling the interaction of keratinocytes and fibroblasts during normal and abnormal wound healing processes. *Proc. Biol. Sci.*, 279, 3329–38.
- Merelli E, Armano G, Cannata N, Corradini F, D’Inverno M, Doms A, Lord P, Martin A, Milanesi L, Möller S, Schroeder M und Luck M (2007). Agents in bioinformatics, computational and systems biology. *Brief. Bioinform.*, 8, 45–59.
- Merks R und Glazier JA (2005). A cell-centered approach to developmental biology. *Phys. A Stat. Mech. its Appl.*, 352, 113–130.
- Merks RMH, Hoekstra AG, Kaandorp JA, Sloot PMA und Hogeweg P (2006). Problem-solving environments for biological morphogenesis. *Comput. Sci. Eng.*, 8, 61–72.
- Merks RMH, Guravage M, Inzé D und Beemster GTS (2011). VirtualLeaf: an open-source framework for cell-based modeling of plant tissue growth and development. *Plant Physiol.*, 155, 656–66.
- Metropolis N, Rosenbluth AW, Rosenbluth MN, Teller AH und Teller E (1953). Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. *J. Chem. Phys.*, 21, 1087.
- Miller MJ, Wei SH, Cahalan MD und Parker I (2003). Autonomous T cell trafficking examined in vivo with intravital two-photon microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 2604–9.
- Miller-Jensen K, Janes K a, Brugge JS und Lauffenburger DA (2007). Common effector processing mediates cell-specific responses to stimuli. *Nature*, 448, 604–8.
- Mirams GR, Arthurs CJ, Bernabeu MO, Bordas R, Cooper J, Corrias A, Davit Y, Dunn S-J, Fletcher AG, Harvey DG, Marsh ME, Osborne JM, Pathmanathan P, Pitt-Francis J, Southern J, Zenzemi N und Gavaghan DJ (2013). Chaste: an open source C++ library for computational physiology and biology. *PLoS Comput. Biol.*, 9, e1002970.
- Mirschel S, Steinmetz K, Rempel M, Ginkel M und Gilles ED (2009). PROMOT: modular modeling for systems biology. *Bioinformatics*, 25, 687–9.

- Mitha F, Lucas TA, Feng F, Kepler TB und Chan C (2008). The Multiscale Systems Immunology project: software for cell-based immunological simulation. *Source Code Biol. Med.*, 3, 6.
- Mitrani E (1983). Is upward basal cell movement independent of mitosis in the normal epidermis?. *Br. J. Dermatol.*, 109, 635–42.
- Moll R, Divo M und Langbein L (2008). The human keratins: biology and pathology. *Histochem. Cell Biol.*, 129, 705–33.
- Mombach J und Glazier JA (1996). Single cell motion in aggregates of embryonic cells. *Phys. Rev. Lett.*, 76, 3032–3035.
- Monteiro-Riviere NA, Inman AO, Snider TH, Blank JA und Hobson DW (1997). Comparison of an in vitro skin model to normal human skin for dermatological research. *Microsc. Res. Tech.*, 37, 172–9.
- Murray PJ, Edwards CM, Tindall MJ und Maini PK (2009). From a discrete to a continuum model of cell dynamics in one dimension. *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.*, 80, 031912.
- Nagai T und Honda H (2009). Computer simulation of wound closure in epithelial tissues: Cell–basal-lamina adhesion. *Phys. Rev. E*, 80.
- Neal ML, Cooling MT, Smith LP, Thompson CT, Sauro HM, Carlson BE, Cook DL und Gennari JH (2014). A reappraisal of how to build modular, reusable models of biological systems. *PLoS Comput. Biol.*, 10, e1003849.
- Newman TJ (2005). Modeling multicellular systems using subcellular elements. *Math. Biosci. Eng.*, 2, 613–24.
- Niessen CM (2007). Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function. *J. Invest. Dermatol.*, 127, 2525–32.
- Nishifuji K und Yoon JS (2013). The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. *Vet. Dermatol.*, 24, 60–72.e15–6.
- Noble D (2008). Claude Bernard, the first systems biologist, and the future of physiology. *Exp. Physiol.*, 93, 16–26.
- Noble D (2010). Biophysics and systems biology. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 368, 1125–39.
- Noble D (2012). A theory of biological relativity: no privileged level of causation. *Interface Focus*, 2, 55–64.
- Le Novère N, Finney A, Hucka M, Bhalla US, Campagne F, Collado-Vides J, Crampin EJ, Halstead M, Klipp E, Mendes P, Nielsen P, Sauro H, Shapiro B, Snoep JL, Spence HD und Wanner BL

- (2005). Minimum information requested in the annotation of biochemical models (MIRIAM). *Nat. Biotechnol.*, 23, 1509–15.
- Le Novère N, Bornstein B, Broicher A, Courtot M, Donizelli M, Dharuri H, Li L, Sauro H, Schilstra M, Shapiro B, Snoep JL und Hucka M (2006). BioModels Database: a free, centralized database of curated, published, quantitative kinetic models of biochemical and cellular systems. *Nucleic Acids Res.*, 34, D689–91.
- Le Novère N, Hucka M, Mi H, Moodie S, Schreiber F, Sorokin A, Demir E, Wegner K, Aladjem MI, Wimalaratne SM, Bergman FT, Gauges R, Ghazal P, Kawaji H, Li L, Matsuoka Y, Villéger A, Boyd SE, Calzone L, Courtot M, Dogrusoz U, Freeman TC, Funahashi A, Ghosh S, Jouraku A, Kim S, Kolpakov F, Luna A, Sahle S, Schmidt E, Watterson S, Wu G, Goryanin I, Kell DB, Sander C, Sauro H, Snoep JL, Kohn K und Kitano H (2009). The Systems Biology Graphical Notation. *Nat. Biotechnol.*, 27, 735–41.
- Numaoka C (1996). Bacterial Evolution Algorithm for Rapid Adaptation. In, *Proceedings of the 7th European Workshop on Modelling Autonomous Agents in a Multi-agent World: Agents Breaking Away*, MAAMAW '96. Springer-Verlag New York, Inc., Secaucus, NJ, USA, S. 139–148.
- Nyman E, Brännmark C, Palmér R, Brugård J, Nyström FH, Strålfors P und Cedersund G (2011). A hierarchical whole-body modeling approach elucidates the link between in Vitro insulin signaling and in Vivo glucose homeostasis. *J. Biol. Chem.*, 286, 26028–41.
- Odland GF und Holbrook K (1981). The lamellar granules of epidermis. *Curr. Probl. Dermatol.*, 9, 29–49.
- OECD (2014). Test No. 431: In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (Rhe) Test Method. OECD Publishing.
- Osborne JM, Walter A, Kershaw SK, Mirams GR, Fletcher AG, Pathmanathan P, Gavaghan DJ, Jensen OE, Maini PK und Byrne HM (2010). A hybrid approach to multi-scale modelling of cancer. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, 368, 5013–5028.
- Paige RF und Varró D (2012). Lessons learned from building model-driven development tools. *Softw. Syst. Model.*, 11, 527–539.
- Paladini RD, Takahashi K, Bravo NS und Coulombe PA (1996). Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16. *J. Cell Biol.*, 132, 381–97.
- Palsson E und Othmer H (2000). A model for individual and collective cell movement in *Dictyostelium discoideum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97, 10448–53.
- Panait L und Luke S (2005). Cooperative Multi-Agent Learning: The State of the Art. *Auton. Agent. Multi. Agent. Syst.*, 11, 387–434.

- Pathmanathan P, Cooper J, Fletcher A, Mirams G, Murray P, Osborne J, Pitt-Francis J, Walter A und Chapman SJ (2009). A computational study of discrete mechanical tissue models. *Phys. Biol.*, 6, 036001.
- Petzold L (1983). Automatic Selection of Methods for Solving Stiff and Nonstiff Systems of Ordinary Differential Equations. *SIAM J. Sci. Stat. Comput.*, 4, 136–148.
- Pitt-Francis J, Bernabeu MO, Cooper J, Garny A, Momtahan L, Osborne J, Pathmanathan P, Rodriguez B, Whiteley JP und Gavaghan DJ (2008). Chaste: using agile programming techniques to develop computational biology software. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 366, 3111–36.
- Pitt-Francis J, Pathmanathan P, Bernabeu MO, Bordas R, Cooper J, Fletcher AG, Mirams GR, Murray P, Osborne JM, Walter A, Chapman SJ, Garny A, van Leeuwen IMM, Maini PK, Rodríguez B, Waters SL, Whiteley JP, Byrne HM und Gavaghan DJ (2009). Chaste: A test-driven approach to software development for biological modelling. *Comput. Phys. Commun.*, 180, 2452–2471.
- Pixley FJ (2012). Macrophage Migration and Its Regulation by CSF-1. *Int. J. Cell Biol.*, 2012, 501962.
- Pommerencke T, Westphal K, Ernst C, Safferling K, Dickhaus H, Steinberg T, Tomakidi P und Grabe N (2010). Spatial quantification and classification of skin response following perturbation using organotypic skin cultures. *Bioinformatics*, 26, 2760–6.
- Pommerencke T (2012). Ein computergestütztes System zur quantitativen Charakterisierung der epithelialen Differenzierung und deren Veränderung bei Störung am Beispiel der Hautirritation. *Dissertation. Medizinische Fakultät, Universität Heidelberg.*
- Potten CS (1974). The epidermal proliferative unit: the possible role of the central basal cell. *Cell Tissue Kinet.*, 7, 77–88.
- Potten CS (1981). Cell replacement in epidermis (keratopoiesis) via discrete units of proliferation. *Int. Rev. Cytol.*, 69, 271–318.
- Pradal C, Dufour-Kowalski S, Boudon F, Fournier C und Godin C (2008). OpenAlea: a visual programming and component-based software platform for plant modelling. *Funct. Plant Biol.*, 35, 751–760.
- Proksch E, Feingold KR, Man MQ und Elias PM (1991). Barrier function regulates epidermal DNA synthesis. *J. Clin. Invest.*, 87, 1668–73.
- Proksch E, Brandner JM und Jensen J-M (2008). The skin: an indispensable barrier. *Exp. Dermatol.*, 17, 1063–72.
- Radice GP (1980). The spreading of epithelial cells during wound closure in *Xenopus* larvae. *Dev. Biol.*, 76, 26–46.

- Railsback SF, Lytinen SL und Jackson SK (2006). Agent-based Simulation Platforms: Review and Development Recommendations. *Simulation*, 82, 609–623.
- Ramis-Conde I, Drasdo D, Anderson ARA und Chaplain MAJ (2008). Modeling the influence of the E-cadherin-beta-catenin pathway in cancer cell invasion: a multiscale approach. *Biophys. J.*, 95, 155–65.
- Rawlings A V und Voegeli R (2013). Stratum corneum proteases and dry skin conditions. *Cell Tissue Res.*, 351, 217–35.
- Roose T, Chapman SJ und Maini PK (2007). Mathematical Models of Avascular Tumor Growth. *SIAM Rev.*, 49, 179–208.
- Rowland M, Peck C und Tucker G (2011). Physiologically-based pharmacokinetics in drug development and regulatory science. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 51, 45–73.
- Runge C (1895). Ueber die numerische Auflösung von Differentialgleichungen. *Math. Ann.*, 46, 167–178.
- Sadot A, Sarbu S, Kesseli J, Amir-Kroll H, Zhang W, Nykter M und Shmulevich I (2013). Information-theoretic analysis of the dynamics of an executable biological model. *PLoS One*, 8, e59303.
- Safferling K (2013). Analyse des Reepithelialisierungsmechanismus auf zellulärer Ebene mittels organotypischer in vitro Wundheilungsmodelle aus systembiologischer Perspektive. *Dissertation. Naturwissenschaftlich-Mathematische Gesamtfakultät, Universität Heidelberg.*
- Safferling K, Sütterlin T, Westphal K, Ernst C, Breuhahn K, James M, Jäger D, Halama N und Grabe N (2013). Wound healing revised: A novel reepithelialization mechanism revealed by in vitro and in silico models. *J. Cell Biol.*, 203, 691–709.
- Sandersius SA und Newman TJ (2008). Modeling cell rheology with the Subcellular Element Model. *Phys. Biol.*, 5, 015002.
- Sauermann K, Clemann S, Jaspers S, Gambichler T, Altmeyer P, Hoffmann K und Ennen J (2002). Age related changes of human skin investigated with histometric measurements by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res. Technol.*, 8, 52–6.
- Saxton MJ (2007). Modeling 2D and 3D diffusion. *Methods Mol. Biol.*, 400, 295–321.
- Schaller G und Meyer-Hermann M (2005). Multicellular tumor spheroid in an off-lattice Voronoi-Delaunay cell model. *Phys. Rev. E*, 71, 051910.
- Schaller G und Meyer-Hermann M (2007). A modelling approach towards epidermal homeostasis control. *J. Theor. Biol.*, 247, 554–73.

- Schilling M, Maiwald T, Hengl S, Winter D, Kreutz C, Kolch W, Lehmann WD, Timmer J und Klingmüller U (2009). Theoretical and experimental analysis links isoform-specific ERK signalling to cell fate decisions. *Mol. Syst. Biol.*, 5, 334.
- Schuster S, Kreft J-U, Brenner N, Wessely F, Theißen G, Ruppin E und Schroeter A (2010). Cooperation and cheating in microbial exoenzyme production - Theoretical analysis for biotechnological applications. *Biotechnol. J.*, 751–758.
- Schütte K und van der Waerden BL (1952). Das Problem der dreizehn Kugeln. *Math. Ann.*, 125, 325–334.
- Scianna M und Preziosi L (2012). Multiscale developments of the cellular potts model. *Multiscale Model. Simul.*, 10, 342–382.
- Seward D und Zied K (2004). Graphical Programming and the Development of Construction Robots. *Comput. Civ. Infrastruct. Eng.*, 19, 64–80.
- Shirinifard A, Gens JS, Zaitlen BL, Popławski NJ, Swat M und Glazier JA (2009). 3D multi-cell simulation of tumor growth and angiogenesis. *PLoS One*, 4, e7190.
- Shivanandan A, Radenovic A und Sbalzarini IF (2013). MosaicIA: an ImageJ/Fiji plugin for spatial pattern and interaction analysis. *BMC Bioinformatics*, 14, 349.
- Sklar E (2007). NetLogo, a multi-agent simulation environment. *Artif. Life*, 13, 303–11.
- Sluka JP, Shirinifard A, Swat M, Cosmanescu A, Heiland RW und Glazier JA (2014). The Cell Behavior Ontology: Describing the intrinsic biological behaviors of real and model cells seen as active agents. *Bioinformatics*, 1–8.
- Southern J, Pitt-Francis J, Whiteley J, Stokeley D, Kobashi H, Nobes R, Kadooka Y und Gavaghan D (2007). Multi-scale computational modelling in biology and physiology. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 96, 60–89.
- Spjuth O, Helmus T, Willighagen EL, Kuhn S, Eklund M, Wagener J, Murray-Rust P, Steinbeck C und Wikberg JES (2007). Bioclipse: an open source workbench for chemo- and bioinformatics. *BMC Bioinformatics*, 8, 59.
- Stahl T und Voelter M (2006). Model-Driven Software Development: Technology, Engineering, Management. 1. Aufl. Wiley, Chichester, West Sussex.
- Stamatas GN, Nikolovski J, Mack MC und Kollias N (2011). Infant skin physiology and development during the first years of life: a review of recent findings based on in vivo studies. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 33, 17–24.

- Staple DB, Farhadifar R, Röper J-C, Aigouy B, Eaton S und Jülicher F (2010). Mechanics and remodelling of cell packings in epithelia. *Eur. Phys. J. E. Soft Matter*, 33, 117–27.
- Starruß J, Bley T, Søgaaard-Andersen L und Deutsch A (2007). A New Mechanism for Collective Migration in *Myxococcus xanthus*. *J. Stat. Phys.*, 128, 269–286.
- Starruß J, de Back W, Brusch L und Deutsch A (2014). Morpheus: a user-friendly modeling environment for multiscale and multicellular systems biology. *Bioinformatics*, 1–2.
- Stekel D, Rashbass J und Williams ED (1995). A computer graphic simulation of squamous epithelium. *J. Theor. Biol.*, 175, 283–93.
- Stolarska MA, Kim Y und Othmer H (2009). Multi-scale models of cell and tissue dynamics. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 367, 3525–53.
- Sun T, Adra S, Smallwood R, Holcombe M und MacNeil S (2009). Exploring hypotheses of the actions of TGF-beta1 in epidermal wound healing using a 3D computational multiscale model of the human epidermis. *PLoS One*, 4, e8515.
- Sütterlin T, Huber S, Dickhaus H und Grabe N (2009). Modeling multi-cellular behavior in epidermal tissue homeostasis via finite state machines in multi-agent systems. *Bioinformatics*, 25, 2057–63.
- Sütterlin T, Dickhaus H und Grabe N (2011). Automated model-driven generation of software components for the simulation of epithelial tissues. In, *2011 1st Middle East Conference on Biomedical Engineering*. IEEE, S. 275–278.
- Sütterlin T, Kolb C, Dickhaus H, Jäger D und Grabe N (2013). Bridging the scales: semantic integration of quantitative SBML in graphical multi-cellular models and simulations with EPISIM and COPASI. *Bioinformatics*, 29, 223–9.
- Sütterlin T und Grabe N (2014). Graphical Multi-Scale Modeling of Epidermal Homeostasis with EPISIM. In, Querleux, B (hrsg), *Computational Biophysics of the Skin*. Pan Stanford Publishing, Singapore, S. 421–460.
- Swat MH, Hester SD, Balter AI, Heiland RW, Zaitlen BL und Glazier JA (2009). Multicell simulations of development and disease using the CompuCell3D simulation environment. *Methods Mol. Biol.*, 500, 361–428.
- Swat MH, Thomas GL, Belmonte JM, Shirinifard A, Hmeljak D und Glazier JA (2012). Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods Cell Biol.*, 110, 325–66.
- Takahashi M, Machida Y und Marks R (1987). Measurement of turnover time of stratum corneum using dansyl chloride fluorescence. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 331, 321–331.

- Tanaka RJ und Ono M (2013). Skin disease modeling from a mathematical perspective. *J. Invest. Dermatol.*, 133, 1472–8.
- Tang L, van de Ven AL, Guo D, Andasari V, Cristini V, Li KC und Zhou X (2014). Computational modeling of 3D tumor growth and angiogenesis for chemotherapy evaluation. *PLoS One*, 9, e83962.
- Tharp WG, Yadav R, Irimia D, Upadhyaya A, Samadani A, Hurtado O, Liu S, Munisamy S, Brainard DM, Mahon MJ, Nourshargh S, van Oudenaarden A, Toner MG und Poznansky MC (2006). Neutrophil chemorepulsion in defined interleukin-8 gradients in vitro and in vivo. *J. Leukoc. Biol.*, 79, 539–54.
- The Lancet Neurology (2014). The Human Brain Project: mutiny on the flagship. *Lancet. Neurol.*, 13, 855.
- Tokarski C, Hummert S, Mech F, Figge MT, Germerodt S, Schroeter A und Schuster S (2012). Agent-based modeling approach of immune defense against spores of opportunistic human pathogenic fungi. *Front. Microbiol.*, 3, 129.
- Tsingos E (2014). Agent-Based Modelling of Epidermal Homeostasis: Turnover, Differentiation, and Barrier Formation. *Masterarbeit. Fakultät Biowissenschaften, Universität Heidelberg.*
- Tyson J und Kauffman S (1975). Control of mitosis by a continuous biochemical oscillation: Synchronization; spatially inhomogeneous oscillations. *J. Math. Biol.*, 1, 289–310.
- Tyson JJ (1991). Modeling the cell division cycle: cdc2 and cyclin interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 88, 7328–32.
- Uchi H, Terao H, Koga T und Furue M (2000). Cytokines and chemokines in the epidermis. *J. Dermatol. Sci.*, 24 Suppl 1, S29–38.
- Di Ventura B, Lemerle C, Michalodimitrakis K und Serrano L (2006). From in vivo to in silico biology and back. *Nature*, 443, 527–33.
- Verdier-Sévrain S und Bonté F (2007). Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *J. Cosmet. Dermatol.*, 6, 75–82.
- Voegeli R und Rawlings A V (2012). Desquamation: It Is Almost All About Proteases. In, Lodén, M und Maibach, HI (hrsg), *Treatment of Dry Skin Syndrome*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 149–178.
- Walker DC, Hill G, Wood SM, Smallwood RH und Southgate J (2004a). Agent-Based Computational Modeling of Wounded Epithelial Cell Monolayers. *IEEE Trans. Nanobioscience*, 3, 153–163.

- Walker DC, Southgate J, Hill G, Holcombe M, Hose DR, Wood SM, Mac Neil S und Smallwood RH (2004b). The epitheliome: agent-based modelling of the social behaviour of cells. *Biosystems.*, 76, 89–100.
- Walker DC und Southgate J (2009). The virtual cell--a candidate co-ordinator for „middle-out“ modelling of biological systems. *Brief. Bioinform.*, 10, 450–61.
- Walpole J, Papin JA und Peirce SM (2013). Multiscale computational models of complex biological systems. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 15, 137–54.
- Waltemath D, Adams R, Beard DA, Bergmann FT, Bhalla US, Britten R, Chelliah V, Cooling MT, Cooper J, Crampin EJ, Garny A, Hoops S, Hucka M, Hunter P, Klipp E, Laibe C, Miller AK, Moraru I, Nickerson D, Nielsen P, Nikolski M, Sahle S, Sauro HM, Schmidt H, Snoep JL, Tolle D, Wolkenhauer O und Le Novère N (2011a). Minimum Information About a Simulation Experiment (MIASE). *PLoS Comput. Biol.*, 7, e1001122.
- Waltemath D, Adams R, Bergmann FT, Hucka M, Kolpakov F, Miller AK, Moraru II, Nickerson D, Sahle S, Snoep JL und Le Novère N (2011b). Reproducible computational biology experiments with SED-ML--the Simulation Experiment Description Markup Language. *BMC Syst. Biol.*, 5, 198.
- Weatherhead SC, Farr PM, Jamieson D, Hallinan JS, Lloyd JJ, Wipat A, Reynolds NJ und Material S (2011). Keratinocyte apoptosis in epidermal remodeling and clearance of psoriasis induced by UV radiation. *J. Invest. Dermatol.*, 131, 1916–26.
- Webb A, Li A und Kaur P (2004). Location and phenotype of human adult keratinocyte stem cells of the skin. *Differentiation.*, 72, 387–95.
- Weinstein GD und Van Scott EJ (1965). Autoradiographic analysis of turnover times of normal and psoriatic epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 45, 257–62.
- Weliky M und Oster G (1990). The mechanical basis of cell rearrangement. I. Epithelial morphogenesis during *Fundulus* epiboly. *Development*, 109, 373–86.
- Werner S und Grose R (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.*, 83, 835–70.
- Wolkenhauer O, Auffray C, Brass O, Clairambault J, Deutsch A, Drasdo D, Gervasio F, Preziosi L, Maini P, Marciniak-Czochra A, Kossow C, Kuepfer L, Rateitschak K, Ramis-Conde I, Ribba B, Schuppert A, Smallwood R, Stamatakos G, Winter F und Byrne H (2014). Enabling multiscale modeling in systems medicine. *Genome Med.*, 6, 21.
- Wolkenhauer O (2014). Why model?. *Front. Physiol.*, 5, 21.
- Woodley DT (1996). Reepithelialization. In: Clark, RAF (hrsg), *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. Plenum Press, New York, S. 339–354.

Wooldridge M (2009). *An Introduction to MultiAgent Systems*. 2nd Aufl. Wiley Publishing, Chichester, West Sussex.

Xiao P und Imhof RE (2012). Two dimensional finite element modelling for dynamic water diffusion through stratum corneum. *Int. J. Pharm.*, 435, 88–92.

Zanet J, Freije A, Ruiz M, Coulon V, Sanz JR, Chiesa J und Gandarillas A (2010). A mitosis block links active cell cycle with human epidermal differentiation and results in endoreplication. *PLoS One*, 5, e15701.

Zhang F, Angermann BR und Meier-Schellersheim M (2013). The Simmune Modeler visual interface for creating signaling networks based on bi-molecular interactions. *Bioinformatics*, 29, 1229–30.

In need of an upgrade. (2013). *Nat. Biotechnol.*, 31, 857.

Eigene Veröffentlichungen

Artikel in Peer-Review Zeitschriften

Sütterlin T, Kolb C, Dickhaus H, Jäger D und Grabe N (2013). Bridging the scales: semantic integration of quantitative SBML in graphical multi-cellular models and simulations with EPISIM and COPASI. *Bioinformatics*, 29, 223–9.

Safferling K, **Sütterlin T**, Westphal K, Ernst C, Breuhahn K, James M, Jäger D, Halama N und Grabe N (2013). Wound healing revised: A novel reepithelialization mechanism revealed by in vitro and in silico models. *J. Cell Biol.*, 203, 691–709.

Sütterlin T, Huber S, Dickhaus H und Grabe N (2009). Modeling multi-cellular behavior in epidermal tissue homeostasis via finite state machines in multi-agent systems. *Bioinformatics*, 25, 2057–63.

Buchkapitel

Sütterlin T und Grabe N (2014). Graphical Multi-Scale Modeling of Epidermal Homeostasis with EPISIM. In, Querleux B. (ed), *Computational Biophysics of the Skin*. Pan Stanford Publishing, Singapore, pp. 421–460.

Artikel in Tagungsbänden

Sütterlin T, Dickhaus H und Grabe N (2011). Automated model-driven generation of software components for the simulation of epithelial tissues. In, *2011 1st Middle East Conference on Biomedical Engineering*. IEEE, pp. 275–278.

Sütterlin T und Grabe N (2010). Efficient Modeling of the Spatial Dynamics of Tissues by Automated Transformation of Graphical Cell Behavioral Models into Multi-Agent Based Simulations. In, Hübner K, Johann T, Kummer U, and Levering J. (eds), *Proceedings of the 6th Workshop on Computation of Biochemical Pathways and Genetic Networks, BioQuant Heidelberg, Sept. 2010*. Logos Verlag, Berlin, pp. 89–98.

Vorträge auf Konferenzen

Sütterlin T, Safferling K, Halama N, Jäger D und Grabe N (2014). EPISIM Platform: Graphical multi-scale modeling and simulation of multicellular systems. *9th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology – ECMTB, Göteborg.*

Sütterlin T, Safferling K, Halama N, Jäger D und Grabe N (2014). EPISIM: A platform for multi-scale modeling and simulation of multicellular biological systems. *5th Conference on Systems Biology of Mammalian Cells – SBMC, Berlin.*

Sütterlin T, Dickhaus H und Grabe N (2011). Automated model-driven generation of software components for the simulation of epithelial tissues. *1st Middle East Conference on Biomedical Engineering, Sharjah.*

Sütterlin T, Dickhaus H und Grabe N (2008). Graphische Modellierung multizellulärer Systeme. *53. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie e.V. – GMDS, Stuttgart.*

Poster auf Konferenzen

Sütterlin T, Safferling K, Tsingos E, und Grabe N (2014). EPISIM: A user-friendly platform for multi-scale, multicellular modeling and simulation of biological systems. *German Conference On Bioinformatics – GCB, Bielefeld.*

Safferling K, **Sütterlin T**, Westphal K, Ernst C, Breuhahn K, James M, Jäger D, Halama N und Grabe N (2014). Wound healing revised: A novel reepithelialization mechanism revealed by in vitro and in silico models. *5th Conference on Systems Biology of Mammalian Cells – SBMC; Berlin.*

Sütterlin T, Dickhaus H, Grabe N (2012). Putting the pieces together: Enhancing Multi-Scale Modeling with Automated Semantic Model Integration. *4th Conference on Systems Biology of Mammalian Cells – SBMC, Leipzig.*

Sütterlin T, Dickhaus H, Grabe N (2011). Multi-Scale Tissue Modeling: Semantic Integration of SBML Models in Multi-Cellular Simulations using the EPISIM Platform. *12th International Conference on Systems Biology – ICSB, Heidelberg/Mannheim.*

Sütterlin T, Dickhaus H, Grabe N (2010). Integration of a flexible polygon cell shape model in the EPISIM multi-agent platform for modelling and simulation of epithelial tissue homeostasis. *11th International Conference on Systems Biology – ICSB, Edinburgh.*

Grabe N, Westphal K, Safferling K, Ernst C, **Sütterlin T**, Halama N (2010). Towards an Automated Platform for Researching the Homeostasis of Epithelial Tissue. *11th International Conference on Systems Biology – ICSB, Edinburgh.*

Sütterlin T, Dickhaus H, Grabe N (2010). Cell based tissue modelling by a polygon shape model in a multi-agent environment for the simulation of epidermal wound healing. *3rd Conference on Systems Biology of Mammalian Cells – SBMC; Freiburg*.

Sütterlin T, Dickhaus H, Grabe N (2009). Modeling and Simulation of Multi-Cellular Behavior in Epidermal Tissue Homeostasis. *Startup Conference Medical Informatics. Santiago de Chile*.

Pommerencke T, **Sütterlin T**, Dickhaus H, Grabe N (2008). Towards an automated platform for researching the homeostasis of epithelial tissue. *German Conference On Bioinformatics, Dresden*.

Anhänge

Anhang A – EMF-Modelle des Grafischen Modellierungssystems

Dieser Anhang umfasst die vier EMF-Modelle der vier grafischen Editoren, die den Kern des grafischen Modellierungssystems bilden. Dargestellt sind die EMF-Modelle als UML-Klassendiagramm. Diese

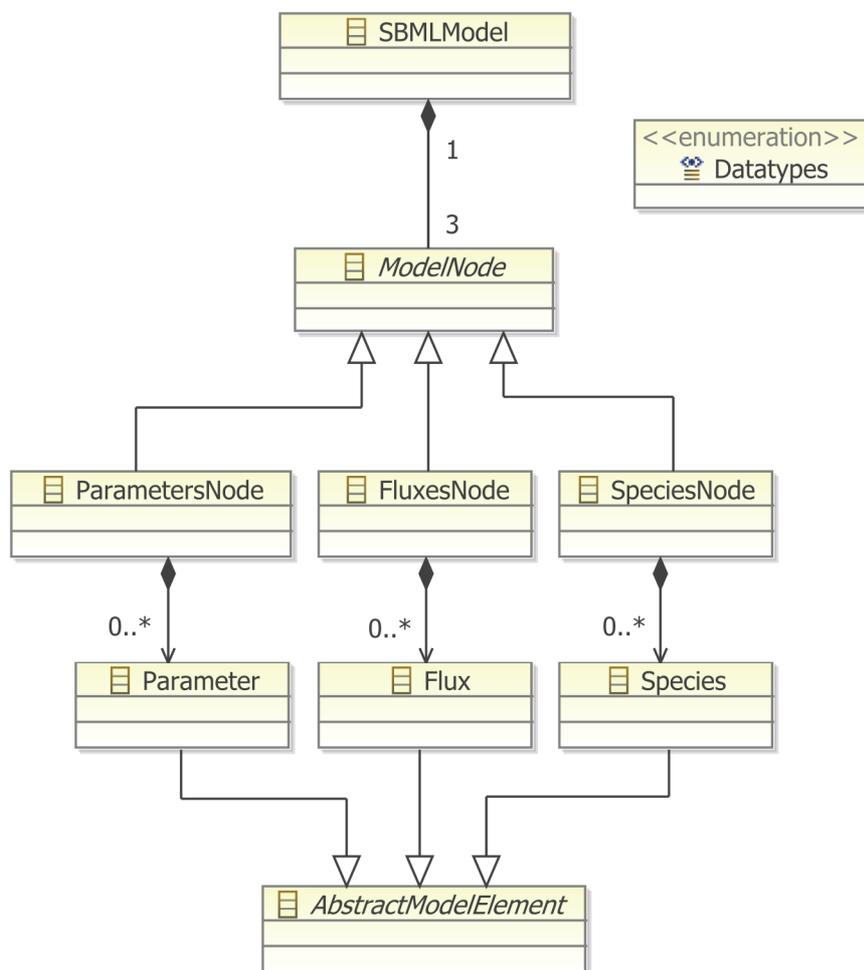


Abbildung A.1: UML-Klassendiagramm des EMF-Modells des SBML-Modell-Editors.

werden mit Hilfe der *Ecore-Tools*¹³⁸ für Eclipse in das tatsächliche EMF-Modell (auch: *Core-Modell*), das einer Instanz des EMF Meta-Modells *Ecore* entspricht, umgewandelt. Ausgehend von einem EMF-Modell können mit dem EMF-Code-Generator weite Teile des Quellcodes für die vier Editoren erzeugt werden.

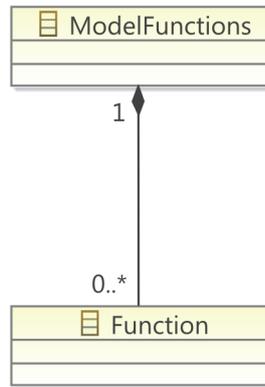


Abbildung A.2: UML-Klassendiagramm des EMF-Modells der Funktionsbibliothek.

¹³⁸ Die Ecore-Tools sind frei verfügbar unter: <http://www.eclipse.org/ecoretools/> [Stand 06.12.2014, 15:00]

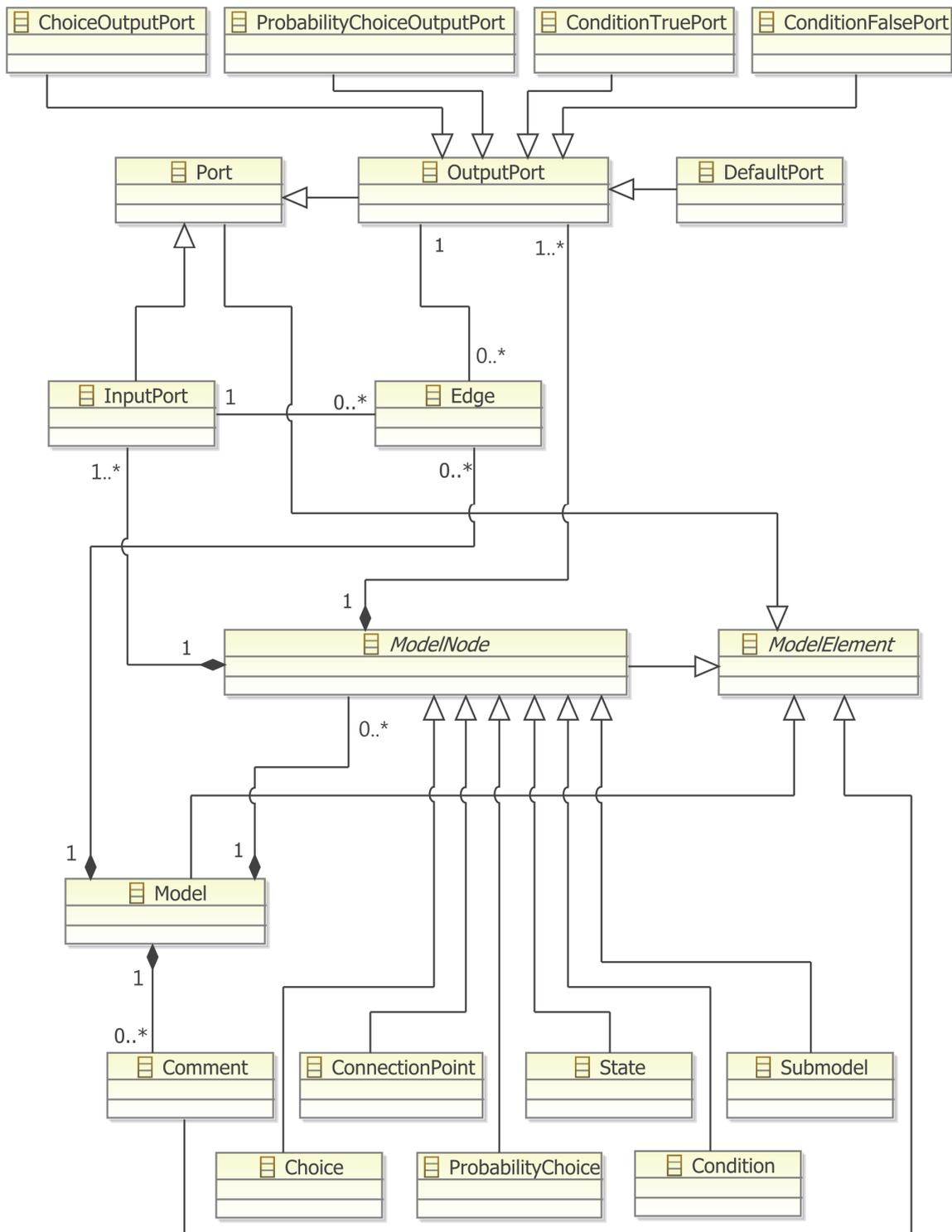


Abbildung A.3: UML-Klassendiagramm des EMF-Modells des grafischen Modell-Editors zur Erstellung von Zellverhaltensmodellen.

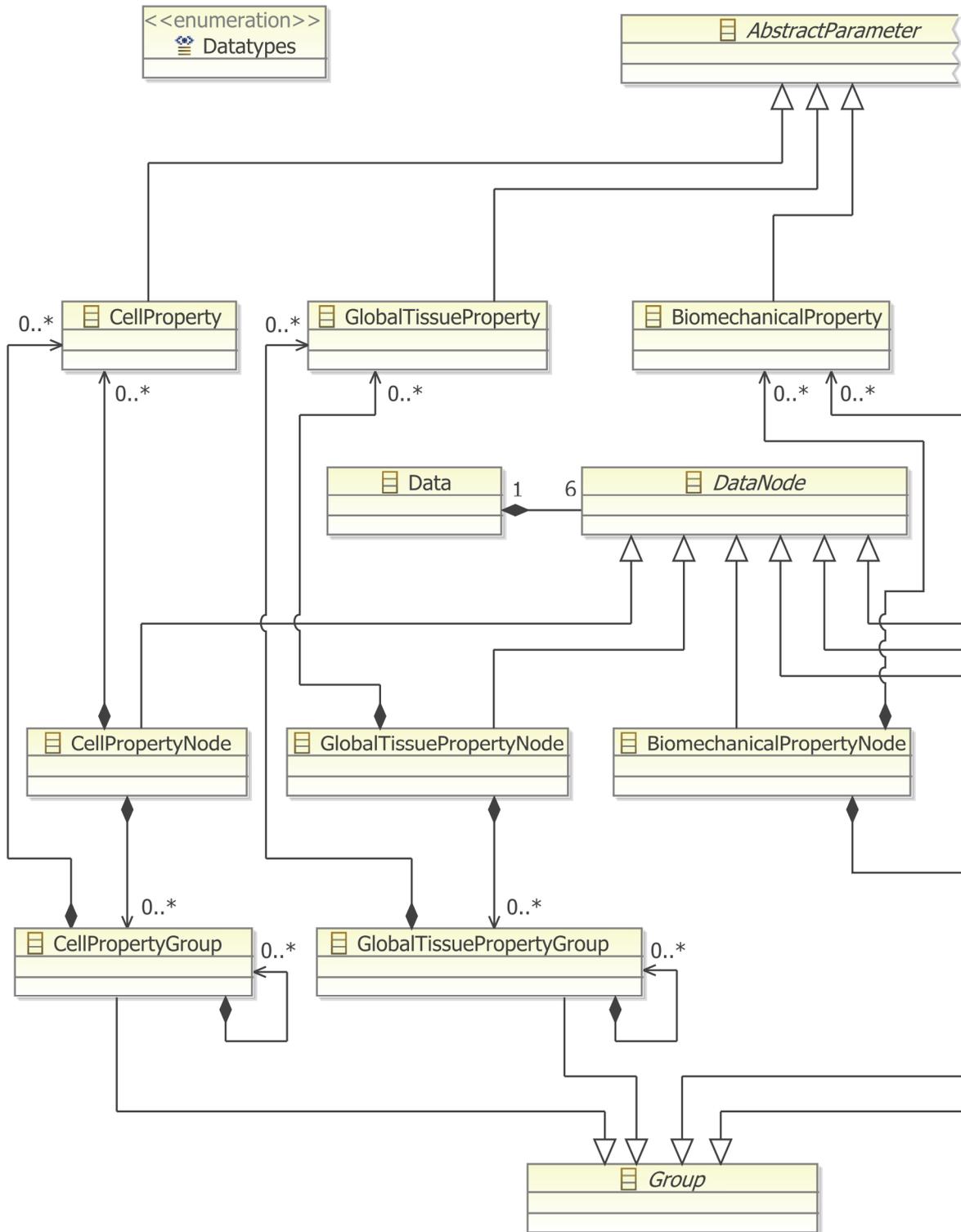
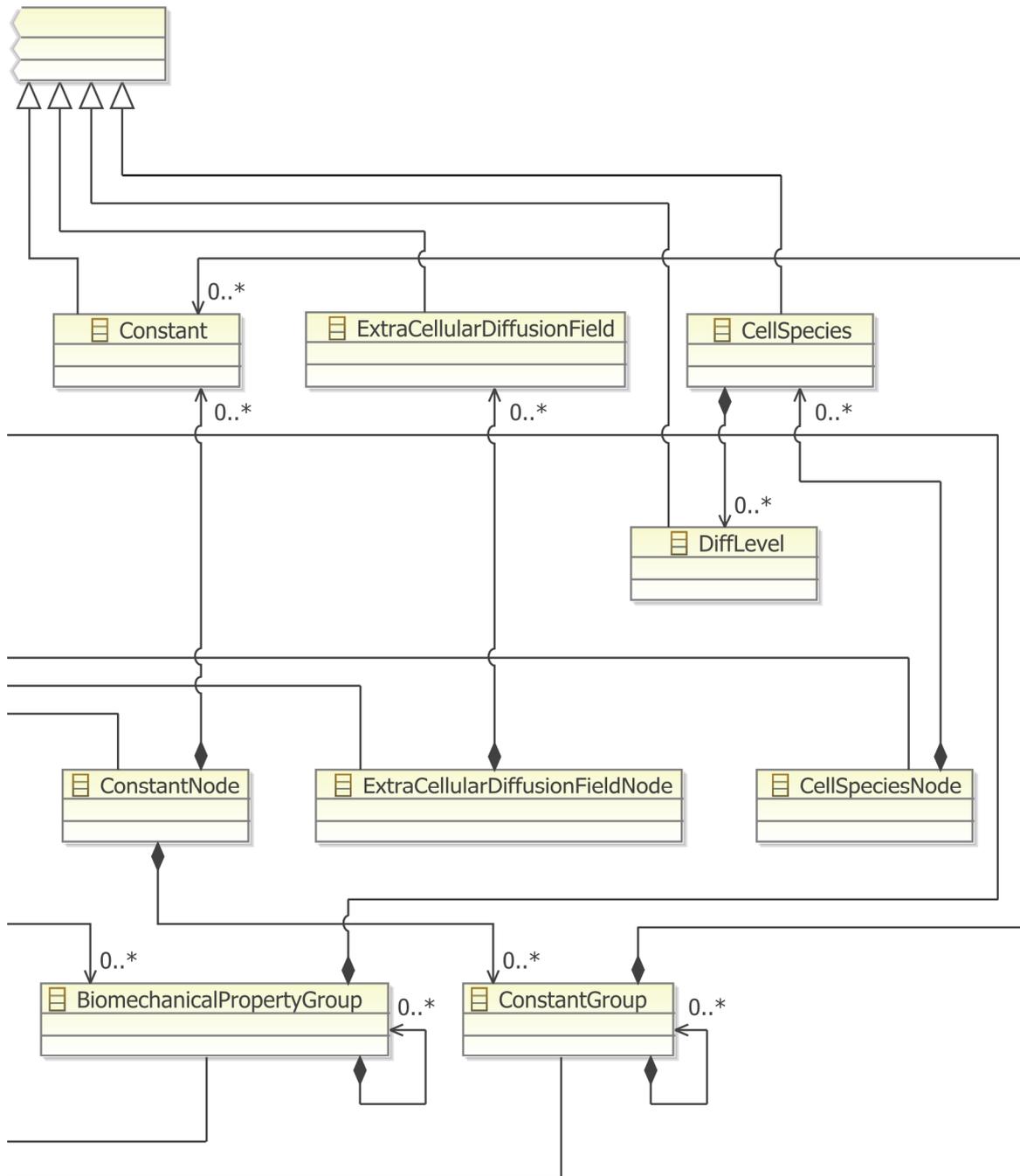


Abbildung A.4: UML-Klassendiagramm des EMF-Modells der Modellparameter-Verwaltung.



Anhang B – Konventioneller versus optimierter Code

Dieser Anhang umfasst den Quellcode des in Abschnitt 3.3.2 diskutierten Beispiels zur Minimierung der Rechenzeit durch optimierten Code.

Tabelle B.1: Java-Aufzählungstyp *CellType*.

```

1 public enum CellType {
2     A, B, C, D; //Zelltypen
3 }

```

Tabelle B.2: Java-Klasse *CellOpt* in Form von optimiertem Code.

```

1 public class CellOpt{
2
3     private Random random;
4     public CellType cellType;
5
6     public static final int P_A=0;
7     public static final int P_B=1;
8     public static final int P_C=2;
9     public static final int P_D=3;
10    // Verwendung eines Arrays zur Speicherung der Modellparameter
11    public double[] props = new double[]{2,3,4,5};
12
13    public CellOpt(CellType type){
14        this.cellType = type;
15        random = new Random(System.currentTimeMillis());
16    }
17    //Übergabe der benachbarten Zellen als Array
18    public void cbm(CellOpt[] nCells){
19        for(int i = 0; i < nCells.length; i++){
20            //direkter Zugriff auf eine benachbarte Zelle
21            switch(nCells[i].cellType){
22                //keine Vermeidung von Coderedundanz und direkter Zugriff auf Parameterwerte
23                //der Nachbarzellen
24                case A:{ nCells[i].props[CellOpt.P_A] += random.nextDouble(); }
25                break;
26                case B:{ nCells[i].props[CellOpt.P_B] += random.nextDouble(); }
27                break;
28                case C:{ nCells[i].props[CellOpt.P_C] += random.nextDouble(); }
29                break;
30                case D:{ nCells[i].props[CellOpt.P_D] += random.nextDouble(); }
31            }
32        }
33    }
34 }

```

Tabelle B.3: Java-Klasse *Cell* in Form von konventionellem Code.

```

1  public class Cell{
2
3      private Random random;
4      private CellType cellType;
5      public static final String PARAM_A="param_A";
6      public static final String PARAM_B="param_B";
7      public static final String PARAM_C="param_C";
8      public static final String PARAM_D="param_D";
9      // Verwendung einer HashMap zur Speicherung der Modellparameter
10     private HashMap<String, Double> paramMap = new HashMap<String, Double>();
11
12     public Cell(CellType type){
13         this.cellType = type;
14         random = new Random(System.currentTimeMillis());
15         paramMap.put(PARAM_A, 2d);
16         paramMap.put(PARAM_B, 3d);
17         paramMap.put(PARAM_C, 4d);
18         paramMap.put(PARAM_D, 5d);
19     }
20
21     public CellType getCellType() { return cellType; }
22
23     public double getProperty (String name){
24         //Validitätsprüfung des Parameters
25         if(name != null && this.paramMap != null && this.paramMap.containsKey(name))
26             return this.paramMap.get(name);
27         return Double.NaN;
28     }
29     public void setProperty (String name, double val){
30         //Validitätsprüfung des Parameters
31         if(name != null && this.paramMap != null && this.paramMap.containsKey(name))
32             this.paramMap.put(name, val);
33     }
34     //Auslagerung des Modells in eine eigene Methode zur Minimierung der Coderedundanz
35     private void model(Cell cell, String propName){
36         //Zugriff auf den Parameterwert der benachbarten Zelle über den Parameternamen
37         double propNeigh = cell.getProperty(propName);
38         //Validitätsprüfung des Parameters
39         if(!Double.isNaN(propNeigh)){
40             propNeigh += random.nextDouble();
41             cell.setProperty(propName, propNeigh);
42         }
43     }
44     //Übergabe der benachbarten Zellen als verkettete Liste
45     public void cbm(LinkedList<Cell> nCells){
46         for(int i= 0; i < nCells.size(); i++){
47             //direkter Zugriff auf ein Element der Liste ohne anschließende Speicherung in
48             //lokaler Variable und Verwendung der Kontrollstruktur if
49             if(nCells.get(i).getCellType()==CellType.A)
50                 model(nCells.get(i), Cell.PARAM_A);
51             else if(nCells.get(i).getCellType()==CellType.B)
52                 model(nCells.get(i), Cell.PARAM_B);
53             else if(nCells.get(i).getCellType()==CellType.C)
54                 model(nCells.get(i), Cell.PARAM_C);
55             else if(nCells.get(i).getCellType()==CellType.D)
56                 model(nCells.get(i), Cell.PARAM_D);
57         }
58     }
59 }

```

Anhang C – Konfiguration und multiparallele Ausführung der Simulationsumgebung

Mit Hilfe der Standardkonfigurationsdatei des EPISIM Simulator (Tabelle C.1) können eine Reihe von Einstellungen an der Simulationsumgebung vorgenommen werden. Jede Einstellungsmöglichkeit ist durch einen vorangestellten Kommentar erläutert.

Tabelle C.1: Standardkonfigurationsdatei des EPISIM Simulator.

1	<code>#Ein- bzw. Ausschalten der grafischen Benutzeroberfläche (on / off)</code>
2	<code>gui : on</code>
3	<code>#Festlegung der Standardtextausgabe (console / simulator)</code>
4	<code>standard.output : console</code>
5	<code>#Festlegung, ob Info-Mitteilungen in der Log-Datei gespeichert werden (on / off)</code>
6	<code>info.logging : on</code>
7	<code>#Festlegung der Standardausgabe für Fehlermeldungen(console / simulator)</code>
8	<code>exception.output : console</code>
9	<code>#Festlegung, ob Fehlermeldungen in der Log-Datei gespeichert werden (on / off)</code>
10	<code>exception.logging : on</code>
11	
12	<code>#Pfad zur Modellsimulationsdatei, die nach dem Start geladen werden soll (optional)</code>
13	<code>model.path : c:/beispieldatei.jar</code>
14	<code># Zu verwendende Implementierung der Basismodelle der Send / Receive Funktionen</code>
15	<code>model.sendreceive: sendreceive.StandardSendReceiveAlgorithm</code>
16	<code>#Festlegung, ob Zellen mit zufälligem Alter initialisiert werden (on / off)</code>
17	<code>model.cell.randomageinit : on</code>
18	
19	<code>#Festlegung, ob die Simulation nach dem Laden der Modellsimulationsdatei automatisch gestartet werden soll (on / off)</code>
20	<code>simulation.autostartandstop : on</code>
21	<code>#Festlegung der Anzahl an Schritten, die simuliert werden soll (optional)</code>
22	<code>simulation.steps.max : 10</code>
23	<code>#Anzahl an Millisekunden, nach denen sich die Simulationsumgebung nach abgeschlossener Simulation beendet</code>
24	<code>simulation.shutdown.waitms : 10000</code>
25	<code>#Standardpfad für die Speicherung von Gewebesimulationszuständen (optional)</code>
26	<code>simulation.snapshotpath:./</code>
27	
28	<code>#Pfad zur zu ladenden Datenauswertungskomponente des Typs Diagramme (optional)</code>
29	<code>charts.path : c:/beispieldiagramme.ecs</code>
30	<code>#Datenauswertungszyklus in Simulationsschritten für alle Diagramme (optional)</code>
31	<code>charts.updatefreq : 50</code>
32	<code>#Pfad unter dem die Bilddateien der Diagramme gespeichert werden sollen (optional)</code>
33	<code>charts.png.path : d:/</code>
34	<code>#Zeitlicher Abstand in Simulationsschritten, in denen Bilddateien gespeichert werden (optional)</code>
35	<code>charts.png.printfreq : 50</code>
36	
37	<code>#Pfad zur zu ladenden Datenauswertungskomponente des Typs Diagramme (optional)</code>
38	<code>dataexport.path : d:/beispieldatenexport.ede</code>
39	<code>#Datenauswertungszyklus in Simulationsschritten für alle Datenexporte (optional)</code>
40	<code>dataexport.updatefreq : 50</code>
41	
42	<code>#Festlegung, ob von jeder Bilddatei eine Kopie im Vektorbildformat SVG gespeichert wird (on / off)</code>
43	<code>image.svgcopy : on</code>
44	<code>#Pfad, unter dem die Filmdateien der Gewebevisualisierung gespeichert werden (optional)</code>
45	<code>movie.path : d:/beispielverzeichnis</code>
46	<code>#Anzahl der Frames pro Sekunde / Abspielgeschwindigkeit des Films (optional)</code>
47	<code>movie.frames.persecond : 30</code>
48	<code>#Anzahl der Frames pro Filmdatei (optional)</code>
49	<code>movie.frames.perfile :300</code>

Tabelle C.2 beinhaltet ein Skript, mit dem auf einem Rechencluster, auf dem das Portable Batch System (PBS) zum Einsatz kommt, eine bestimmte Anzahl, bspw. zehn, Gewebesimulationen parallel durchgeführt werden können. Es handelt sich in diesem Fall um zehn parallele Simulationen desselben Gewebemodells mit jeweils unterschiedlicher Parametrisierung. Die einzelnen Simulationen werden von eins bis zehn durchnummeriert. Die Umgebungsvariable `${PBS_ARRAYID}` steht für die konkrete Nummer einer konkreten Durchführung. EPISIM Simulator wird mit dem von ihm bereitgestellten Java Runtime Environment gestartet. Dem Startaufruf werden die Pfade zu den Dateien für die Parametrisierung des Gewebemodells übergeben (Zeile 30).

Tabelle C.2: PBS-Skript zur parallelen Durchführung multipler Gewebesimulationen.

```

1  #!/bin/sh
2  #Kennung des Rechenauftrags
3  #PBS -N episim_multi_scale_simulation
4
5  #Rechenzeit, die veranschlagt wird und reserviert werden soll
6  #PBS -l walltime=03:00:00
7
8  #Anzahl der parallelen Gewebesimulation, die durchgeführt werden sollen
9  #PBS -t 1-10
10
11 #Cluster-Knoten, auf dem die Simulationen ausgeführt werden sollen
12 #PBS -l nodes=cln080-int:ppn=1
13
14 # Bindet die Arbeitsumgebung eines konkreten Anwenders ein
15 #PBS -V
16
17 # E-Mail-Adresse des Anwenders
18 #PBS -M user@email-address.edu
19
20 # Der Anwender erhält eine E-Mail, wenn die Simulation beginnt (b), endet (e) od. #abbricht (a)
21 #PBS -m bea
22
23 # Definition des Dateipfads, unter dem Fehlermeldungen gespeichert werden
24 #PBS -e ./simulation-output/error/episim_pbs_job.err
25
26 # Definition des Dateipfads, unter dem Standardausgabe gespeichert wird
27 #PBS -o ./simulation-output/log/episim_pbs_job.log
28
29 # Starten einer konkreten Gewebesimulation mit der Nummer ${PBS_ARRAYID}
30 ./jre/bin/java -jar ./bin/Simulator.jar -id Simulation_Run_${PBS_ARRAYID}
    -bm ../simulation-input/biomechanicalmodel_${PBS_ARRAYID}.properties
    -cb ../simulation-input/cellbehavioralmodel_${PBS_ARRAYID}.properties

```

Anhang D – Quellcode-Umfang der verschiedenen Modellierungs- und Simulationssysteme

Im Folgenden wird die EPISIM Plattform den in Abschnitt 2.2.3 aufgeführten anderen einschlägigen Modellierungs- und Simulationssystemen mit Blick auf den Umfang des ihnen zugrundeliegenden Quellcodes vergleichend gegenübergestellt. Die Quantifizierung des Umfangs der einzelnen Systeme anhand der Zahl der Quelltextzeilen ihrer Realisierung ist ein Indikator für die Größe eines Softwareprojekts und dem damit einhergegangenen technischen Entwicklungsaufwand. Die Zahl der Quelltextzeilen ist in *Kilo Source Lines of Code* (KSLOC) in Tabelle D.1 für alle jene Systeme angegeben, deren Quellcode für die Auswertung zur Verfügung stand. Die angegebenen KSLOC sind übereinstimmend mit zwei verschiedenen Werkzeugen¹³⁹ für jedes System ermittelt worden. Alle Komponenten eines Systems, die zweifelsfrei keine Eigenentwicklung der Systembereitsteller darstellen, sind von der Auswertung ausgeschlossen worden. Beispielsweise ist das Multiagenten-Framework MASON (Luke 2005), das für die Entwicklung der Simulationsumgebung (EPISIM Simulator) genutzt worden ist, nicht im Systemumfang von 54 KSLOC inbegriffen. Eingeschlossen worden sind alle Quelltextdateien eines Systems, somit auch Skript- bzw. XML-Dateien. Dies gilt mangels Vergleichbarkeit jedoch nicht für die Modelldateien, die in der domänenspezifischen Modellierungssprache eines Systems vorliegen. Die angegebenen KSLOC entsprechen dem verfügbaren Entwicklungsstand eines Systems bis zum 10.04.2013. Die Angabe in KSLOC ist gewählt worden, da eine genauere Angabe aufgrund der Dynamik der individuellen Systeme mit Blick auf Weiter- und Neuentwicklungen wenig sinnvoll wäre.

Tabelle D.1: Gegenüberstellung der Kilo Source Lines of Code (KSLOC) verschiedener Modellierungs- und Simulationssysteme. Die Ermittlung der KSLOC ist für alle Systeme am 10.04.2013 durchgeführt worden, so dass die angegebenen Zahlen dem zu diesem Zeitpunkt verfügbaren Entwicklungsstand entsprechen.

System	KSLOC
Cell-based Chaste Framework	65
CompuCell 3D	104
EPISIM Plattform	105
davon:	
EPISIM Modeller	51
EPISIM Simulator	54
Morpheus	36
Multiscale Systems Immunology (MSI) Framework	30
VirtualLeaf	23

¹³⁹ Die KSLOC sind zunächst mit der Software *LocMetrics* (Version: Okt. 2007) ermittelt worden. Diese ist frei verfügbar unter: <http://www.locmetrics.com/> [Stand 09.04.2013, 15:35].

Für alle Systeme sind die KSLOC ein zweites Mal mit der Software *Universal Code Lines Counter* (Version: 1.1.5) ermittelt worden. Diese Software ist frei verfügbar unter:

<http://www.ab-tools.com/de/software/universalcodelinescounter/> [Stand 09.04.2013, 15:40].

Es zeigt sich, dass das entwickelte CMS (EPISIM Plattform) bezogen auf den eigenentwickelten technischen Systemumfang in einer Größenordnung mit CompuCell3D (Izaguirre et al. 2004; Swat et al. 2009; Andasari et al. 2012) liegt. Der Abstand des technischen Systemumfangs beider Systeme zu den anderen Systemen lässt sich einerseits durch den unterschiedlichen Entwicklungszeitraum (s. Abschn. 2.2.3) und andererseits, insbesondere im Falle der EPISIM Plattform, durch die umfangreiche grafische Benutzeroberfläche erklären.

Anhang E – Parameter(-werte) der zellbasierten *in silico* Modelle

Dieser Anhang enthält sämtliche Modellparameter, die in den in Kapitel 4 beschriebenen, zellbasierten *in silico* Modellen definiert sind bzw. zur Anwendung kommen (Abschn. 4.3 – 4.7). Die Parameter der biomechanischen Modelle sind mit einer kurzen Beschreibung versehen. Die Bedeutung der Parameter der grafischen Zellverhaltensmodelle erschließt sich aus dem Kontext ihrer Verwendung bzw. ist neben den Literaturangaben Bestandteil der Erläuterung eines grafischen Zellverhaltensmodells im jeweiligen Abschnitt in Kapitel 4.

Tabelle E.1: Globale Gewebeparameter des *in silico* Modells der epidermalen Homöostase. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Typ	Wert
CT_Keratinocyte	Cell Type	
DL_StemCell	Differentiation Level	
DL_TaCell	Differentiation Level	
DL_EarlySpiCell	Differentiation Level	
DL_LateSpiCell	Differentiation Level	
DL_GranuCell	Differentiation Level	
MT	Constant	0,125
MIN_AGE_DELTA	Constant	25 SiSt
DELTA	Constant	0,25 h
T_K4PRIME	Constant	0,018 h ⁻¹
T_KAPPA	Constant	0,015 h ⁻¹
cellCycle	Global Tissue Property	120 SiSt (60 h)
g1Max	Global Tissue Property	70 SiSt
sMax	Global Tissue Property	90 SiSt
g2Max	Global Tissue Property	117 SiSt
maxBirthAgeFrac	Global Tissue Property	0,08
minSigCalLateSpi	Global Tissue Property	250,0
minSigLipidsBarrier	Global Tissue Property	130,0
calAbsorption	Global Tissue Property	2,0 mg/kg/0,5h
epidermalWaterflux	Global Tissue Property	0,06
epidermalDiffusion	Global Tissue Property	1,0E-4
barrierLossReduction	Global Tissue Property	0,03
lamProduction	Global Tissue Property	10,0 (*0,5 h ⁻¹)
barrierLamUse	Global Tissue Property	0,5
τ_k4	Global Tissue Property	350.0 h ⁻¹
τ_k6	Global Tissue Property	1.0 h ⁻¹

Tabelle E.2: Lokale Modellparameter des *in silico* Modells der epidermalen Homöostase. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Standard	Min. / Max.
age	0 SiSt	0 / 2000 SiSt
ageOfLastCellDivision	0 SiSt	- / -
cellType	CT_Keratinocyte	- / -
diffLevel	DL_StemCell	- / -
numberOfNeighbours	0	- / -
isAlive	true	- / -
ca	0 (mg/kg)	0 (mg/kg) / 500 (mg/kg)
lip	0	0 / 150
lam	0	0 / 150
cellCyclePhase	0	- / -
cellCyclePos	0	- / -
dnaContent	1	1 / 2
isMitotic	false	- / -

Tabelle E.3: Parameter des gitterfreien Zellmodells (Modell der epidermalen Homöostase). Es sind, sofern vorhanden, sowohl die Parameterwerte des 2D als auch des 3D Modells angegeben. Boolesche Parameter haben das Attribut „Boolesch“. Parameter, die über die Modell-Konnektor-Komponente ausschließlich lesend zugegriffen werden können, haben das Attribut „MKK-R“. Ist auch schreibender Zugriff möglich, dann besitzen diese das Attribut „MKK-RW“.

Name	Wert 2D / 3D	Attribute	Beschreibung
Parameter Basalmembran 1D Gauß $bm_{1DG}(x)$	A= 40, P=70, W=250		Parameter der Gauß-Funktion, die der entsprechenden Basalmembranform zugrunde liegt.
Parameter Basalmembran 2D Gauß $bm_{2DG}(x, y)$	A= 40, P=70, W=350		Parameter der Gauß-Funktion, die der entsprechenden Basalmembranform zugrunde liegt.
CellOverlapFact (δ_{oi})	0,8 / 0,8		Anteil der optimalen Zelldistanz, die auch bei Überlappung der angenommenen Zellkörper eingehalten werden muss.
ExternalPush (λ_{push})	1,2 / 1,3		Skalierung der passiven Migration, induziert durch die Nachbarzellen.
MaxDisplacement (Δ_{max})	0,6 μm / 0,6 μm		Maximale Migrationsdistanz pro Simulationsschritt
MinOptDistDiff (δ_{min})	0,1 μm / 0,1 μm		Minimale als relevant betrachtete Abweichung von der optimalen Zelldistanz
Randomness (λ_{rand})	0,05 / 0,2		Einfluss der zufälligen Zellbewegung auf die Berechnung der Zellposition
ReactForceSlope (λ_{sl})	0,02 / 0,02		Steilheitsparameter der Sigmoidfunktion, nach der die Rückstoßbewegung gedämpft wird.
ReactForceInvPoint (λ_{ip})	0,75 / 0,75		Wendepunktparameter der zuvor genannten Sigmoidfunktion
CellWidth (2a)	9 μm / 9 μm (SG) 5 μm / 5 μm (sonst)		Länge der Achse 2a der Zellellipse bzw. des Zellellipsoiden bei Zellen des <i>Stratum granulosum</i> (SG) und der darunterliegenden Zellschichten
CellHeight (2b)	4 μm / 4 μm (SG) 5 μm / 5 μm (sonst)		Länge der Achse 2b der Zellellipse bzw. des Zellellipsoiden
CellLength (2c)	- / 7 μm (SG) - / 5 μm (sonst)		Länge der Achse 2c des Zellellipsoiden
hasCollision	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob es Kollisionen mit Nachbarzellen aufgrund hoher Zelldichte gibt.
isMembrane	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob Kontakt zur Basalmembran besteht.
isSurface	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob sich eine Zelle in der äußersten Zellschicht befindet.
x	var. / var.	MKK-R	X-Koordinate der Zellposition
y	var. / var.	MKK-R	Y-Koordinate der Zellposition
z	- / var.	MKK-R	Z-Koordinate der Zellposition

Tabelle E.4: Globale Gewebeparameter des *in silico* Reepithelialisierungsmodells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Typ	Wert
CT_Keratinocyte	Cell Type	
DL_FastDividingCell	Differentiation Level	
DL_BasalCell	Differentiation Level	
DL_EarlySuprabasalCell	Differentiation Level	
DL_SuprabasalCell	Differentiation Level	
BASAL_CELL_HEIGHT	Constant	10 μm
BASAL_CELL_WIDTH	Constant	10 μm
BASAL_CELL_LENGTH	Constant	10 μm
SUPRABASAL_CELL_HEIGHT	Constant	6 μm
SUPRABASAL_CELL_WIDTH	Constant	16 μm
SUPRABASAL_CELL_LENGTH	Constant	16 μm
EARLY_SUPRABASAL_CELL_HEIGHT	Constant	5 μm
EARLY_SUPRABASAL_CELL_WIDTH	Constant	20 μm
EARLY_SUPRABASAL_CELL_LENGTH	Constant	20 μm
adh_Basal_Basal	Global Tissue Property	0,21
adh_Basal_Basalm	Global Tissue Property	0,2
adh_Basal_FastDividing	Global Tissue Property	0,01
adh_Basal_EarlyS	Global Tissue Property	0,1
adh_EarlyS_EarlyS	Global Tissue Property	0,4
adh_EarlyS_EarlyS_Hi	Global Tissue Property	0,8
adh_Supra_Basal	Global Tissue Property	0,05
adh_Supra_FastDividing	Global Tissue Property	1,0
adh_Supra_EarlyS	Global Tissue Property	0,3
adh_Supra_EarlyS_Hi	Global Tissue Property	0,7
adh_Supra_Supra	Global Tissue Property	0,9
hiAdhSteps	Global Tissue Property	1.400 SiSt
basalCellProlifProb	Global Tissue Property	0,02
cellCycleBurst	Global Tissue Property	350 SiSt
cellCycleNormal	Global Tissue Property	2.100 SiSt
maxFastDividingCellProlifBurstAge	Global Tissue Property	6.500 SiSt
minSuprabasalTime	Global Tissue Property	100 SiSt
minIsProliferativeAge	Global Tissue Property	2.100 SiSt

Tabelle E.5: Lokale Modellparameter des *in silico* Reepithelialisierungsmodells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Standard	Min. / Max.
age	0 SiSt	- / -
cellType	CT_Keratinocyte	- / -
diffLevel	DL_FastDividingCell	- / -
numberOfNeighbours	0	- / -
isAlive	true	- / -
dnaContent	1,0	1,0 / 2,0
cellCyclePos	0	- / -
isMitotic	false	- / -
isProliferative	false	- / -
isProliferativeAge	0	- / -
prolifProbab	0	- / -
collisionFreeCounter	0	- / -
suprabasalCounter	0	- / -
newbornFromFastDividing	false	- / -
minCollisionFreeSteps	0	- / -
hiAdhStepNo	0	- / -

Tabelle E.6: Parameter der MKK des gitterfreien Zellmodells (Reepithelialisierungsmodell). Es sind, sofern vorhanden, sowohl die Parameterwerte des 2D als auch des 3D Modells angegeben. Boolesche Parameter haben das Attribut „Boolesch“. Parameter die über die Modell-Konnektor-Komponente ausschließlich lesend zugegriffen werden können, haben das Attribut „MKK-R“. Ist auch schreibender Zugriff möglich, dann besitzen diese das Attribut „MKK-RW“.

Name	Wert 2D / 3D	Attribute	Beschreibung
adhesionBasalCell	1,0 / 1,0	MKK-RW	Skalierung der Adhäsionskraft zwischen betrachteter Zelle und einer basalen Zelle
adhesionBasalMembrane	1,0 / 1,0	MKK-RW	Skalierung der Adhäsionskraft zwischen betrachteter Zelle und Basalmembran
adhesionFastDividingCell	1,0 / 1,0	MKK-RW	Skalierung der Adhäsionskraft zwischen betrachteter Zelle und einer sich schnell teilenden Zelle
adhesionEarlySuprabasalCell	1,0 / 1,0	MKK-RW	Skalierung der Adhäsionskraft zwischen betrachteter Zelle und einer frühen suprabasalen Zelle
adhesionSuprabasalCell	1,0 / 1,0	MKK-RW	Skalierung der Adhäsionskraft zwischen betrachteter Zelle und einer suprabasalen Zelle
nameDiffLevelBasalCell	var. / var.	MKK-RW	Name, der für basale Zellen im CBM vergeben worden ist
nameDiffLevelFastDividingCell	var. / var.	MKK-RW	Name, der für sich schnell teilende Zellen im CBM vergeben worden ist.
nameDiffLevelEarlySuprabasalCell	var. / var.	MKK-RW	Name, der für frühe suprabasale Zellen im CBM vergeben worden ist.
nameDiffLevelSuprabasalCell	var. / var.	MKK-RW	Name, der für suprabasale Zellen im CBM vergeben worden ist.
hasCollision	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob es Kollisionen mit Nachbarzellen aufgrund hoher Zelldichte gibt.
isBasal	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob Kontakt zur Basalmembran besteht.
isSurface	var. / var.	MKK-R, Boolesch	Erlaubt die Abfrage, ob sich eine Zelle in der äußersten Zellschicht befindet.
isMigratory	var. / var.	MKK-RW, Boolesch	Ermöglicht die Unterscheidung zwischen Zellen mit fixer und Zellen mit variabler Zellposition.
width (2a)	var. / var.	MKK-RW	Länge der Achse 2a der Zellellipse bzw. des Zellellipsoiden
height (2b)	var. / var.	MKK-RW	Länge der Achse 2b der Zellellipse bzw. des Zellellipsoiden
length (2c)	- / var.	MKK-RW	Länge der Achse 2c des Zellellipsoiden
x	var. / var.	MKK-R	X-Koordinate der Zellposition
y	var. / var.	MKK-R	Y-Koordinate der Zellposition
z	- / var.	MKK-R	Z-Koordinate der Zellposition

Tabelle E.7: Parameter des gitterfreien Zellmodells (Reepithelialisierungsmodell). Es sind, sofern vorhanden, sowohl die Parameterwerte des 2D als auch des 3D Modells angegeben. Boolesche Parameter haben das Attribut „Boolesch“.

Name	Wert 2D / 3D	Attribute	Beschreibung
CellOverlapFact (δ_{oi})	0,95 / 0,95		Anteil der optimalen Zelldistanz, die auch bei Überlappung der angenommenen Zellkörper eingehalten werden muss.
CellAdhesionFact (δ_{adh})	1,25 / 1,25		Faktor, mit dem auf Basis der optimalen Zelldistanz die maximale Distanz berechnet wird, in der unmittelbar benachbarte Zellen noch adhären.
(T_{con-bm})	1050 SiSt / 1050 SiSt		Dauer in Simulationsschritten, die ein Segment der Basalmembran in der Wunde in Kontakt mit Zellen gewesen sein muss, bevor diese unter Annahme der normalen und nicht der erhöhten Adhäsion migrieren können.
($^{adh}k_{c-bm-hi}$)	2,5 / 2,5		Faktor, mit dem die normale Adhäsion zur Basalmembran multipliziert wird, um das Fehlen von bspw. extrazellulärer Matrix abzubilden.
ExternalPush (λ_{push})	1,2 / 1,2		Skalierung der passiven Migration, induziert durch die Nachbarzellen.
MaxDisplacement (Δ_{max})	1,2 μm / 1,2 μm		Maximale Migrationsdistanz pro Simulationsschritt
MinOptDistDiff (δ_{min})	0,1 μm / 0,1 μm		Minimale als relevant betrachtete Abweichung von der optimalen Zelldistanz
Randomness (λ_{rand})	0,14 / 0,14		Einfluss der zufälligen Zellbewegung auf die Berechnung der Zellposition
ReactForceSlope (λ_{sl})	0,02 / 0,02		Steilheitsparameter der Sigmoidfunktion, nach der die Rückstoßbewegung gedämpft wird.
ReactForceInvPoint (λ_{ip})	0,75 / 0,75		Wendepunktparameter der zuvor genannten Sigmoidfunktion

Tabelle E.8: Globale (Gewebe-)Parameter des generischen Chemotaxis-Modells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Typ	Wert
CT_Cell	Cell Type	
CT_SecretionCell	Cell Type	
DF_Chemokine	Extracellular Diffusion Field	Default Concentration: 0 Maximum Concentration: 1000 Minimum Concentration: 0 Diffusion Coefficient: 5E-11 m ² /s Degradation Coefficient: 0 s ⁻¹ Lattice Spacing in Mikron: 10 µm Delta Time in Seconds per Iteration: 1s Number of Iterations per CBM Sim Step: 1
spreadingRate (W_s)	Global Tissue Property	0,15
proliferationRate (W_p)	Global Tissue Property	1,5E-4
retractionRate (W_r)	Global Tissue Property	0,174606
lambda (λ)	Global Tissue Property	100
secretionRate	Global Tissue Property	125 (2D Chemotaxis) / 1000 (3D Chemotaxis)

Tabelle E.9: Lokale Modellparameter des generischen Chemotaxis-Modells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Standard	Min. / Max.
age	0 SiSt	- / -
cellType	CT_Cell	- / -
diffLevel	-	- / -
numberOfNeighbours	0	- / -
isAlive	true	- / -
chemokine	1.0E9	0 / 1,0E9

Tabelle E.10: Parameter des gitterbasierten Zellmodells (Generisches Chemotaxis-Modell). Es sind, sofern vorhanden, sowohl die Parameterwerte des 2D als auch des 3D Modells angegeben. Boolesche Parameter haben das Attribut „Boolesch“. Parameter der MKK haben entsprechend entweder das Attribut „MKK-R“ oder „MKK-RW“.

Name	Wert 2D / 3D	Attribute	Beschreibung
NumberOfColumns	54 (2037,5 μm) / 40 (2000 μm)		Spaltenzahl (Breite) des Gitters
NumberOfRows	47 (2035,2 μm) / 40 (2000 μm)		Zeilenzahl (Höhe) des Gitters
NumberOfLayers	- / 40 (2000 μm)		Ebenenzahl (Tiefe) des Gitters
CellDiameter	50 μm / 50 μm		Durchmesser einer Zelle und somit die Größe einer Gitterzelle
FieldLocation (\mathbf{x}_c)	var. / var.	Vektor	Position einer Zelle im Gitter
SpreadingLocation (\mathbf{x}_n)	var. / var.	Vektor	Ausdehnungsposition einer Zelle
isSpreading	var. / var.	MKK-RW Boolesch	Variable, über die der Übergang einer Zelle in den Zustand der Ausdehnung eingeleitet werden kann.
isProliferating	var. / var.	MKK-RW Boolesch	Variable, über die dem biomechanischen Model signalisiert werden kann, dass sich eine Zelle teilt.
isRetracting	var. / var.	MKK-RW Boolesch	Variable, mit der bei einer Zelle im Zustand der Ausdehnung die Retraktion auf eine der beiden belegten Gitterzellen veranlasst werden kann.
cellCellInteractionEnergy ($\hat{\epsilon}_{\text{cell-cell}}$)	0,7 / 0,7	MKK-RW	Wechselwirkungsenergie; Skalierung der Stärke der Zell-Zell-Verbindungen und damit der Zell-Zell-Adhäsion
chemotacticField	var. / var.	MKK-RW	Name des extrazellulären Diffusionsfelds, das die Grundlage der Berechnung der gerichteten Bewegung einer Zelle (in einem Stoffkonzentrationsgradienten) bildet.
lambdaChem (λ)	var. / var.	MKK-RW	Skalierung der Stärke des Einflusses des Stoffkonzentrationsgradienten auf die Bewegungsrichtung einer Zelle

Tabelle E.11: Globale (Gewebe-)Parameter des Bakterien-Makrophagen-Modells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Typ	Wert
CT_Bacterium	Cell Type	
CT_Macrophage	Cell Type	
DF_ATTR	Extracellular Diffusion Field	Default Concentration: 0 Maximum Concentration: 1000 Minimum Concentration: 0 Diffusion Coefficient: $1E-12 \text{ m}^2/\text{s}$ Degradation Coefficient : $5.0E-4 \text{ s}^{-1}$ Lattice Spacing in Mikron: $2 \mu\text{m}$ Delta Time in Seconds per Iteration: 1s Number of Iterations per CBM Sim Step: 1
DF_REP	Extracellular Diffusion Field	Default Concentration: 0 Maximum Concentration: 1000 Minimum Concentration: 0 Diffusion Coefficient: $1E-12 \text{ m}^2/\text{s}$ Degradation Coefficient: $0,001 \text{ s}^{-1}$ Lattice Spacing in Mikron: $2 \mu\text{m}$ Delta Time in Seconds per Iteration: 1s Number of Iterations per CBM Sim Step: 1
SPREADING_RATE_MACR_SLOW	Constant	0,0053
RETRACTION_RATE_MACR_SLOW	Constant	0,0053
SPREADING_RATE_MACR_FAST	Constant	0,0334
RETRACTION_RATE_MACR_FAST	Constant	0,0334
spreadingRateBact	Global Tissue Property	0,0053 / 0,4
retractionRateBact	Global Tissue Property	0,0053 / 0,4
proliferationRateBact	Global Tissue Property	0
proliferationRateMacr	Global Tissue Property	0
lambdaBact	Global Tissue Property	-10
lambdaMacr	Global Tissue Property	100
secretionBact	Global Tissue Property	500
secretionMacr	Global Tissue Property	500
macrActSigAmount	Global Tissue Property	10
minMacrActSigAmount	Global Tissue Property	8

Tabelle E.12: Lokale Modellparameter des Bakterien-Makrophagen-Modells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Standard	Min. / Max.
age	0 SiSt	- / -
cellType	CT_Macrophage	- / -
diffLevel	-	- / -
numberOfNeighbours	0	- / -
isAlive	true	- / -
attr	1,0E10	1 / 1,0E10
rep	1,0E10	1 / 1,0E10
spreadingRateMacr	0,0053	- / -
retractionRateMacr	0,0053	- / -
bactChemLevel	0	- / -
isActivated	0	0 / 1

Tabelle E.13: Veränderte Parameter des gitterbasierten Zellmodells (Bakterien-Makrophagen-Modell).

Name	Wert	Beschreibung
NumberOfColumns	14 (215 μm)	Spaltenzahl (Breite) des Gitters
NumberOfRows	12 (207,8 μm)	Zeilenzahl (Höhe) des Gitters
CellDiameter	20 μm	Zelldurchmesser

Tabelle E.14: Globale (Gewebe-)Parameter des T-Zell-Migrationsmodells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Typ	Wert
CT_T_Cell	Cell Type	
CT_Secretor	Cell Type	
DF_Chemokine	Extracellular Diffusion Field	Default Concentration: 0 pg/ml Maximum Concentration: 2500 pg/ml Minimum Concentration: 0 pg/ml Diffusion Coefficient: 1E-12 m ² /s Degradation Coefficient : 0 s ⁻¹ Lattice Spacing in Mikron: 5 µm Delta Time in Seconds per Iteration: 60 s Number of Iterations per CBM Sim Step: 1
spreadingRate	Global Tissue Property	0,033
retractionRate	Global Tissue Property	0,033
chemotaxisRate	Global Tissue Property	0,95
noChemotaxisRate	Global Tissue Property	0,05
stayIgnoringChemotaxisRate	Global Tissue Property	0,8
chemokineSecretionRate	Global Tissue Property	500 pg/min
lambda	Global Tissue Property	1

Tabelle E.15: Lokale Modellparameter des T-Zell-Migrationsmodells. Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Standard	Min. / Max.
age	0 SiSt	- / -
cellType	CT_T_Cell	- / -
diffLevel	-	- / -
numberOfNeighbours	0	- / -
isAlive	true	- / -
chemokine	1,0E10	1 / 1,0E10
isChemotactic	false	- / -
ignoresChemotaxis	false	- / -

Tabelle E.16: Veränderte Parameter des gitterbasierten Zellmodells (T-Zell-Migrationsmodell). Parameter sind in A.U., sofern nicht anders angegeben.

Name	Wert	Beschreibung
NumberOfColumns	54 (1018,75 μm)	Spaltenzahl (Breite) des Gitters
NumberOfRows	92 (1991,9 μm)	Zeilenzahl (Höhe) des Gitters
CellDiameter	25 μm	Zelldurchmesser
cellCellInteractionEnergy ($\hat{\epsilon}_{\text{cell-cell}}$)	deaktiviert	Wechselwirkungsenergie (Zell-Zell-Verbindungen)

Lebenslauf

Name: Thomas Sütterlin
Geburtsdatum: 16. August 1980
Geburtsort: Titisee-Neustadt
Familienstand: ledig
Vater: Richard Rudolf Sütterlin
Mutter: Regina Elisabeth Sütterlin (geb. Singler)

Schul- und Universitätsbildung

1987–1991 Grundschule Todtnauberg
1991–2000 Gymnasium Schönau, Abschluss: Abitur (26.06.2000)
2001–2006 Studium Medizinische Informatik, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg /
HS Heilbronn, Abschluss: Dipl.-Inform. Med. (01.08.2006)

Zivildienst

2000–2001 Kurklinik Tannenhof, Todtnauberg

Beruflicher Werdegang

2006–2012 Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Institut für Medizinische Biometrie und Informatik,
Universitätsklinik Heidelberg
seit 2012 Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Abteilung Medizinische Onkologie,
Nationales Zentrum für Tumorerkrankungen (NCT), Universitätsklinik Heidelberg

Danksagung

Diese Arbeit ist über die komplette Zeit hinweg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Niels Grabe entstanden, dem ich an dieser Stelle für die generelle Unterstützung, die sehr gute Zusammenarbeit, die wissenschaftliche Betreuung und die stets kreativen Ideen mit Blick auf meine Arbeit danke. Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei ihm für die nicht selbstverständliche Geduld und das entgegengebrachte Vertrauen in der Zeit, die ich mit der Erstellung des Fundaments im Brucknerschen Sinn verbracht habe. Auch das in der jüngeren Vergangenheit gezeigte Verständnis verdient besondere Anerkennung.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Hartmut Dickhaus danke ich für die Übernahme der Betreuung dieser Arbeit und die wertvollen Hinweise, die zur Verbesserung derselben beitragen. Unabhängig von meiner wissenschaftlichen Arbeit bedanke ich mich bei ihm für die sehr gute Zusammenarbeit und die vielfältigen Erfahrungen, die ich im Rahmen des TEMPUS-Projekts, über das ich zur Wissenschaft kam, und den damit verbundenen Reisen sammeln durfte.

Ich möchte mich weiterhin bei all jenen bedanken, die als Akademiker im akademischen Umfeld trotz all der damit verbundenen Nachteile Software für die Wissenschaft entwickeln und frei zur Verfügung stellen.

Bei Walter de Back bedanke ich mich für die inspirierenden Gespräche und die Zusammenarbeit in der jüngsten Vergangenheit.

Ich bedanke mich bei allen Arbeitskolleginnen und -kollegen der vergangenen Jahre für die Zusammenarbeit. Jede(r) von Euch hat mich auf eigene Art inspiriert und bereichert.

Meinem Bruder Simon danke ich dafür, dass er sich mit professionell germanistischem Sachverstand in das „chinesische Zimmer“ begeben hat und die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens der Erstfassung dieser Arbeit übernahm.

Sophia und Dominik danke ich für das nicht weniger mühevollen Korrekturlesen der Zweitfassung dieser Arbeit, sowie deren wertvolle Hinweise und inhaltliche Anregungen, die zur Verbesserung der Arbeit beitragen.

Dominik und Florian danke ich für all die Weinabende, die nun schon länger nicht mehr stattfinden können und die ich immer noch sehr vermisse. Ich erinnere mich gerne an die Vielfalt unserer Gespräche, die oftmals angeregten (Nahost-)Diskussionen und an die stets guten Schlusssätze.

Bernd und Kai danke ich, neben allem Unerwähnten, für die kaffeeumrahmten Baustellenbesichtigungen, die immer eine willkommene Ablenkung und wertvolle kurze Auszeit waren.

Ganz besonders möchte ich mich bei jenen bedanken, die mich in den vergangenen Jahren im privaten Umfeld begleitet, ermuntert sowie vielschichtig unterstützt haben und für mich da waren. Von diesen gilt insbesondere jenen mein herzlichster Dank, die mein aus dieser Arbeit resultierendes, privates Ich ganz unmittelbar ertragen mussten.

Ein Dank, für den mir die Attribute mit hinreichend positiver Ausdruckskraft fehlen, gilt meinen Eltern, die mich, seit ich bin, in jeder ihnen möglichen Weise unterstützt haben und denen ich so vieles zu verdanken habe. Ihr wirkt durch mich in dieser Arbeit, bei deren Fertigstellung ihr in der jüngsten Vergangenheit in einer auch für Eltern nicht selbstverständlichen Bereitschaft für mich da wart.

Abschließend möchte ich noch einen ganz besonderen Dank anbringen: Liebe Sophia, du und ich, wir wissen, dass, gäbe es Dich nicht, diese und sehr viele der vorangehenden Zeilen noch immer nicht zu Papier gebracht wären.

Heidelberg, im Februar 2015