

Konrad-Zuse-Zentrum
für Informationstechnik Berlin

Takustraße 7
D-14195 Berlin-Dahlem
Germany

KRISTIN MEISEL UND SUSANNA RÖBLITZ

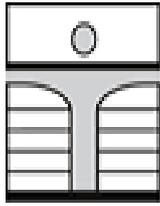
Mathematische Modellierung der Knochenremodellierung

Herausgegeben vom
Konrad-Zuse-Zentrum für Informationstechnik Berlin
Takustraße 7
D-14195 Berlin-Dahlem

Telefon: 030-84185-0
Telefax: 030-84185-125

e-mail: bibliothek@zib.de
URL: <http://www.zib.de>

ZIB-Report (Print) ISSN 1438-0064
ZIB-Report (Internet) ISSN 2192-7782



HOCHSCHULE ZITTAU/GÖRLITZ

University of Applied Sciences

Diplomarbeit

Mathematische Modellierung der Knochenremodellierung

Hochschulbetreuer:

Prof. Dr. F. Pietschmann, HS Zittau/Görlitz

Angefertigt im Zuse-Institut Berlin

In der Arbeitsgruppe

Mathematische Systembiologie

Unter der Betreuung von Dr. S. Röblitz

Vorgelegt von Kristin Meisel

Studiengang Biomathematik, Seminargruppe NAd08

Zittau, Oktober 2012

1 Kurzreferat

Knochenremodellierung beinhaltet den Auf- und Abbau der Knochenmasse durch die verschiedenen Knochenzellen und findet fast überall, auch am Skelett Erwachsener, statt. Für die Erneuerung der Knochensubstanz sind die Osteoblasten zuständig. Sie ersetzen exakt die Menge der Knochenmasse, welche zuvor durch Osteoklasten abgebaut wurde. Störungen dieses, durch viele Faktoren beeinflussten Prozesses führen zu pathologischen Veränderungen, beispielsweise zu Osteoporose oder Arthritis.

Auf der Grundlage analysierter publizierter Modelle wurde ein Modell entwickelt, welches den Einfluss einiger dieser Faktoren realistisch abbildet. Auf diese Weise kann die Wirkung von basalem PTH, des RANKL-OPG-Systems(RANKL: Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, OPG: Osteoprotegerin) und des Estradiols auf den Knochenstoffwechsel am vorgestellten System untersucht werden.

Außerdem wurde durch Estradiolmangel hervorgerufene Osteoporose und der kurative Effekt von synthetischen Medikamenten wie Estradiol oder intermittierend verabreichtem PTH modelliert.

Mit der Parameterschätzung anhand des Gauß-Newton-Verfahrens wird des Weiteren eine Methode vorgestellt, die es ermöglicht, mathematische Modelle bestmöglich durch Variation der Parameterwerte an experimentelle Daten anzupassen. Das am Zuse-Institut Berlin entwickelte Softwarepaket POEM wendet diesen Algorithmus an und wird ebenfalls erläutert.

Inhaltsverzeichnis

1	Kurzreferat	I
	Abkürzungsverzeichnis	IV
	Abbildungsverzeichnis	VI
	Tabellenverzeichnis	VIII
2	Einleitung	1
3	Knochenremodellierung	2
3.1	Allgemeines	2
3.2	Parathormon PTH	4
3.3	RANKL und OPG	5
3.4	Östrogene und Androgene	5
3.5	Vitamin D	6
4	Vergleich ausgewählter publizierter Modelle	7
4.1	Komarova et al.	7
4.2	Akchurin et al.	10
4.3	FU Projektseminar	12
4.4	Lemaire et al.	13
4.5	Kroll et al.	15
5	Modellierung des Knochenstoffwechsels	16
5.1	Änderung und Analyse des Modells zur Osteoklastendynamik von Akchurin et al.	16
5.2	Erstellung und Analyse eines Modells unter Einbezug des Parathormons	20
5.3	RANKL und OPG	25
5.4	Einfluss von Estradiol auf den Knochenstoffwechsel	30
5.5	Einfluss von intermittierend gegebenem PTH	36

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	III
6 Parameterschätzung	40
6.1 Parameteridentifizierung in Differentialgleichungen	40
6.1.1 Problemformulierung	40
6.2 Gauß-Newton-Methode für nichtlineare kleinste-Quadrate-Probleme	41
6.2.1 Verfahren	41
6.2.2 Konvergenz	44
6.2.3 Aufbau, Berechnung und Analyse der Sensivitätsmatrix . .	44
6.3 Parameterschätzung mit POEM	47
7 Zusammenfassung	56

Abkürzungsverzeichnis

BMP2	Bone morphogenetic protein 2: gehört zur TGF β -Superfamilie der Proteine, induzieren Osteoblastendifferenzierung
BMU	Basic multicellular unit: funktionelle und strukturelle Einheit des Skeletts welche für den Remodellierungsprozess verantwortlich ist
GPCR	G-Protein coupled receptor: Proteinfamilie von transmembranen Rezeptoren, welche auf Moleküle außerhalb der Zelle reagieren und im inneren der Zelle einen Signalweg und somit Zellantworten einleiten
IGF-1	Insulin-like growth factor 1: Hormon mit bedeutender Rolle in der kindlichen Wachstumsphase und mit anabolischer Wirkung im Erwachsenenalter
IL	Interleukin: entzündungsfördernder Signalstoff
LIMEX	linear-implizites Euler-Verfahren mit Extrapolation für differentiell-algebraische Systeme; entwickelt am Zuse-Institut Berlin
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor: Zytokin, induziert die Differenzierung zu Makrophagen aus hämatopoetischen Stammzellen
NLSCON	nonlinear least-squares with constraints , Algorithmus für nichtlineare kleinste Quadrate-Probleme, entwickelt am Zuse-Institut Berlin
OPG	Osteoprotegerin: gehört zur Familie der Tumornekrosefaktoren, OPG bindet an RANKL und verhindert so dessen Wirkung
POEM	Parameter Optimization and Estimation Methods
PTH	Parathormon
PTH1R	PTH type 1-Rezeptor : auf Osteoblasten vorkommender GPC-Rezeptor
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B: Rezeptor auf der Oberfläche von Osteoklasten und deren Vorläuferzellen, reagiert auf RANKL und induziert die Differenzierung zu Osteoklasten und deren Proliferation
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand: gehört zur Familie der Tumornekrosefaktoren, Ligand auf der Oberfläche von Osteoblasten, aktiviert Osteoklasten

RTOL	Prescribed relative precision
TGF β	Transforming growth factor β : Zytokin mit Kontrolle über Zellproliferation und -differenzierung
TNF	Tumornekrosefaktor: Eine Gruppe von Zytokinen, welche die Apoptose induzieren kann
Wnt	Wnt-Signalweg: Netzwerk aus Proteinen, welche Signale von Rezeptoren zum Zellkern transportieren, wo die Genexpression beeinflusst wird

Abbildungsverzeichnis

4.1	Interaktionen und Gleichungen des Modells von Komarova et al. (2003)	7
4.2	Simulationsergebnisse des Modells von Komarova et al. (2003) . .	9
4.3	Interaktionen und Gleichungen des Modells von Komarova et al. (2005)	9
4.4	Interaktionen und Gleichungen des Modells von Akchurin et al. . .	11
4.5	Interaktionen und Gleichungen des im FU Projektseminar entwickelten Modells	13
4.6	Interaktionen im Modell von Lemaire et al.	14
4.7	Interaktionen im Modell von Kroll et al.	15
5.1	Geändertes Modell von Akchurin et al. unter Einbezug des Faktors F	16
5.2	Dynamik der Osteoklasten bei Variation der Parameter	19
5.3	Bifurkationsdiagramme für die Parameter k_8 und k_1	20
5.4	Modell von Akchurin ergänzt mit PTH-Dynamik	21
5.5	Dynamik des mit PTH erweiterten Systems von Akchurin bei Variation der Parameter	23
5.6	Hopfpunkte für die Veränderung von PTH	24
5.7	Entwicklung der Osteoblasten und der Osteoklasten nach Sprüngen des PTH-Wertes	24
5.8	Modell ergänzt mit dem Parameter R für RANKL	26
5.9	Mit Parameter R modifiziertes System bei Variation der Parameter	26
5.10	Modell ergänzt mit der Variable R für RANKL	27
5.11	System vor und nach der Berechnung der Anfangswerte auf dem Grenzyklus durch PERIOD	29
5.12	Verhalten der Osteoblasten, Osteoklasten und der Knochenmasse unter physiologischen Bedingungen	30
5.13	Modellierung von Estradiol	31
5.14	Veränderung der Knochenmasse bei Variation des Parameters E für Estradiol	32

5.15	Verlauf der Knochenmasse, Osteoklasten und Osteoblasten bei normalem und vermindertem Östrogenlevel für 1000 Tage	34
5.16	Verlauf des synthetischen Estradiol mit den im Text definierten Parameterwerten	35
5.17	Einfluss von täglich Verabreichtem synthetischen Estradiol auf die Knochenremodellierung	36
5.18	Konzentrationsverlauf von täglich verabreichtem synthetischen PTH	37
5.19	Vergleich von unbehandelter Osteoporose und Osteoporose behandelt mit PTH (addiert zum Parameter PTH)	38
5.20	Vergleich von unbehandelter Osteoporose und Osteoporose behandelt mit PTH (Einfluss auf Osteoblastengnese)	39
6.1	Experimentelle Daten von Akchurin et al.	48
6.2	Ausgangssituation vor der Parameterschätzung	48
6.3	Sensitivitätsanalyse aller im System enthaltenen Parameter	50
6.4	Osteoklastenverlauf mit geschätzten Parametern an die Messpunkte angepasst	52
6.5	Alle Komponenten des Systems mit den geschätzten Parametern für einen Zeitraum von 50 Tagen	52
6.6	Ergebnis der Anpassung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9, k_{11}, m_0, oc_0$ und f_0	54
6.7	Ergebnis der Anpassung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9, k_{11}$ und oc_0	55

Tabellenverzeichnis

1	Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter k_1, k_5, k_6, k_9 und k_{11}	51
2	Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9,$ k_{11}, m_0, oc_0 und f_0	53
3	Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9,$ k_{11} und oc_0	54

2 Einleitung

Eine BMU (Basic multicellular unit) ist eine für den Remodellierungsprozess verantwortliche funktionelle und strukturelle Einheit des Skeletts. Sie beinhaltet alle Knochenzellen, Zytokine und andere Einflussfaktoren, die für die Erneuerung einer bestimmten Menge an Knochenmasse verantwortlich sind.

Solch eine BMU wird in der vorliegenden Arbeit mathematisch modelliert, indem der periodische Verlauf der Osteoblasten, der Osteoklasten und der Knochenmasse den experimentellen Daten angepasst wird. Bezogen wird sich hierbei auf Quellen, welche von 100-400 Osteoblasten und von 1-5 Osteoklasten pro BMU ausgehen [14, 15]. Unter Beibehaltung des Verhältnisses können diese Werte um ein Vielfaches vermehrt werden, wodurch lediglich ein größeres Areal an Knochenmasse betroffen ist. Für den Abbau des beschriebenen Areals benötigen die Osteoklasten zunächst ca. 3 Wochen, wogegen der Aufbau drei bis fünf Monate in Anspruch nimmt.

Am Prozess der Knochenremodellierung sind sehr viele komplexe Vorgänge und unterschiedliche Faktoren beteiligt. Diese regulieren nicht nur den Knochenstoffwechsel, sondern den Mineralienhaushalt des gesamten Organismus.

Initiiert wird der gesamte Vorgang durch einen Kalziummangel im Körper, welcher dazu führt, dass die Nebenschilddrüse mit der Sekretion des Parathormons PTH beginnt. Hierdurch stimulierte Osteoklasten beginnen mit dem Knochenabbau, bei welchem Kalzium freigesetzt wird. Des Weiteren induziert PTH die Bildung von RANKL und hemmt OPG. RANKL bewirkt an hämatopoetischen Zellen die Differenzierung zu Osteoklasten. OPG bindet an RANKL und macht es somit unwirksam.

Sobald genügend Osteoklasten vorhanden sind und ausreichend Knochengewebe abgebaut wurde, bewirken die Osteoklasten die Bildung von Osteoblasten, welche ohne das Vorhandensein von PTH die Produktion von OPG und somit die Hemmung von RANKL begünstigen.

Eine bedeutende, die Knochenremodellierung betreffende Krankheit ist die Osteoporose. Diese tritt fast ausschließlich bei Frauen nach Erreichen der Menopause, welche einen ausgeprägten Östrogenmangel mit sich bringt, auf. Estradiol, eines der wichtigsten Östrogene, beeinflusst den Knochenstoffwechsel durch Hemmung der OPG- und Förderung der RANKL-Produktion. Ist Estradiol nicht mehr ausreichend vorhanden, wird stetig mehr Knochen ab- als aufgebaut.

3 Knochenremodellierung

3.1 Allgemeines

Das Knochengewebe ist eine dynamische lebende Struktur mit zahlreichen wichtigen Funktionen für den Gesamtorganismus. Zunächst bietet ein stabiles Skelett mechanischen Schutz für Organe und Muskeln. Darüber hinaus ist es der primäre Ort der Hämatopoese und leistet einen wichtigen Beitrag zu Mineralienhaushalt und Immunsystem des Körpers. Ein einzigartiges Gemisch aus lebenden Zellen in dreidimensionaler Struktur, gebildet aus stark vernetzten, vertikal und horizontal verbundenen Knochenbälkchen, macht dieses Gewebe aus [18].

Knochengewebe erhält seine Festigkeit durch die Eigenschaften der Interzellularsubstanz, der sogenannten Knochenmatrix. Diese besteht aus dem kollagenen Bindegewebe, Kalksalzen und Knochenzellen, welche als fester Bestandteil der Knochenmatrix als Osteozyten bezeichnet werden. Bevor die Osteozyten von weiteren Knochenzellen umschlossen und somit inaktiv werden, befinden sie sich im interstitiellen Raum und werden im teilungsfähigen Zustand Osteoblasten genannt [13]. Osteozyten bleiben über Zellfortsätze miteinander verbunden und bilden so ein Netzwerk [14].

Osteoblasten differenzieren aus Knochenmarkstromazellen und steuern den Auf- und Umbau der Knochenmatrix, indem sie Proteine der Knochengrundsubstanz (Osteoid) produzieren. Sie nehmen Kalzium und Phosphat auf und scheiden es in den interstitiellen Raum aus. Eine lokale Übersättigung der Substanzen entsteht, wodurch sie ausfallen. Kalziumphosphate und Kalziumkarbonate kristallisieren und mauern so die Osteoblasten ein [13, 14].

Osteoklasten lösen die Knochenmatrix wieder auf. Die großen mehrkernigen Zellen entstehen aus dem Knochenmark, nachdem bestimmte Zytokine die Differenzierung aus hämatopoetischen Vorläuferzellen initiiert haben. Aus den selben Vorläuferzellen entstehen ohne Einwirkung dieser Zytokine auch Makrophagen oder neutrophile Granulozyten.

Der Abbau durch Osteoklasten erfolgt durch Ansäuerung und Aktivierung von Hydrolasen. Ein bestimmter Abschnitt auf der Knochenoberfläche wird abgeschlossen und durch eine Protonenpumpe angesäuert. Durch diesen Vorgang wird Kalzium aus dem Knochen gelöst.

Kalzium ist im Knochen in riesigen Mengen vorhanden. Die extrazelluläre Konzentration ist im Vergleich bedeutend geringer und steuert verschiedenste Kör-

perfunktionen sehr sensitiv. Die intrazelluläre Konzentration ist dem gegenüber noch niedriger. Dies ist möglich durch das niedrige Löslichkeitsprodukt von Kalzium und Phosphat. Ein Großteil fällt als Kalziumphosphat ab, welches im Kochen häufig mit einem Hydroxyl-Ion als das gegen Säuren empfindliche Hydroxylapatit vorliegt [14].

Durch die hohe Anzahl komplexer Vorgänge wird somit neben dem Knochenstoffwechsel der Mineralienhaushalt des gesamten Organismus gesteuert.

An der Regulierung des Kalziumhaushaltes sind viele verschiedene Hormone beteiligt. Das Vitamin-D-Hormon resorbiert Kalzium aus dem Verdauungstrakt, wohingegen das Parathormon PTH und Kalzitinin die Regulierung des Kalziumhaushaltes im inneren Milieu übernehmen. PTH sorgt für die Gewinnung von Kalzium aus dem Knochenspeicher, Vitamin D sorgt für die Aufrechterhaltung der Konzentration. Des Weiteren regulieren die Vitamine A, B12 und C die Osteoblasten- und Osteoklastentätigkeit und die Sexualhormone Östrogen und Testosteron unterstützen den Knochenerhalt beim ausgewachsenen Menschen. Folge eines Östrogenmangels ist demnach häufig ein gestörtes Gleichgewicht von Knochenauf- und Knochenabbau (Osteoporose) [13].

Bestimmte Signalmoleküle, welche an der Regulierung dieser Vorgänge beteiligt sind, werden beim Knochenaufbau mit in den Knochen eingemauert (z.B. IGF-1, TGF β), sodass ein Wachstumsreservoir entsteht, welches bei Knochenabbau wieder aktiv wird [14, 18].

Der ständige Ab- und Aufbau des Knochengewebes ist notwendig für die verschiedenen Umbauphasen des Skeletts, beispielsweise in Wachstums- und Heilungsphasen [13].

Darüber hinaus besteht ein dynamisches Gleichgewicht bei dem ständig Knochen auf- und wieder abgebaut wird. Jährlich werden 10 % der Knochenmatrix durch Knochenremodellierung erneuert [16].

In der Jugend überwiegen leicht die Vorgänge, die zu einem Knochenaufbau führen. Ab einem Alter von ca. 30 Jahren begünstigt der Nettoeffekt aller beteiligter Vorgänge eher den Knochenabbau. Die mit einer durchschnittlichen Anzahl von ca. 1-5 in einer BMU (Basic multicellular unit) enthaltenen Osteoklasten bauen zunächst innerhalb von 3 Wochen ein bestimmtes Areal der Knochenoberfläche ab. Zum Wiederaufbau benötigen die 100-400 Osteoblasten ca. 3 Monate [14, 15]. Ein physiologischer Remodellierungszyklus dauert im Schnitt ca. 3-5 Monate [15].

Auf einige Hormone und deren Mechanismen wird im Folgenden genauer eingegangen.

3.2 Parathormon PTH

PTH wird von den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse ausgeschüttet, besteht aus 84 Aminosäuren und hat eine Halbwertszeit von nur 4 Minuten [6, 14]. Es erhöht den Kalziumspiegel und senkt den Phosphatspiegel. Durch eine Aktivierung der Osteoklasten wird der Knochenabbau und somit die Kalziumfreisetzung aus dem Knochen gefördert. Zeitgleich verhindert es die Ausscheidung von Kalzium über die Niere und fördert indirekt dessen Resorption aus dem Darm, indem es eine Vitamin-D-Vorstufe in das wirksame Vitamin-D-Hormon umwandelt. Dieses kann bei zu hohen Konzentrationen wiederum die Sekretion von PTH an der Nebenschilddrüse hemmen [13].

Ein interessanter Effekt bei der Therapie von Osteoporose ist, dass intermittierend gegebenes PTH einen anabolischen Effekt auf die Knochenmasse hat, wohingegen kontinuierlich vorhandenes PTH zum Knochenabbau beiträgt [3, 4]. Die Ursache für den anabolischen Effekt könnte darin begründet sein, dass PTH zunächst auf die Osteoblastenbildung wirkt, bevor diese Einfluss auf die Osteoklasten nehmen [3]. Erkennen Osteoblasten PTH, beginnen sie mit der Freisetzung von IL-1, IL-6 und anderen Zytokinen, die die Aktivierung der Osteoklasten verstärken. Würde PTH nur die Kalziumkonzentration steigern, käme es durch das niedrige Löslichkeitsprodukt mit Phosphat sofort zum Ausfall von Kalziumphosphat. PTH senkt allerdings gleichzeitig den Phosphatspiegel durch Hemmung der Phosphatrückresorption in der Niere. Des Weiteren fördert PTH die Hydroxylierung in der Niere. Diese ist notwendig um Vitamin D zu aktivieren und die Wiederauffüllung des Kalziumspeichers einzuleiten [14].

PTH wirkt über einen GPC (G-protein-coupled)-Rezeptor, den PTH type 1-Rezeptor, auf Osteoblasten. Diese kommen in unterschiedlichen Konformationen vor. Dies führte zu der Hypothese, dass PTH1R eine Art Schalter zwischen einem aktiven und inaktiven Stadium und somit zwischen der kontinuierlichen und der intermittierenden Form darstellen könnte [4]. Qin et al. [6] fanden heraus, dass PTH1R auf Zellen der Osteoblastenabstammung existieren. Durch Bindung von PTH an die Osteoblasten verringern diese die eigene Proliferation und stimulieren Osteoklasten. PTH ändert somit den Phänotyp von Osteoblasten von einer am Knochenaufbau beteiligten Zelle in eine am Knochenabbau beteiligte. Außerdem wurde ein bedeutender Effekt auf das Genexpressionsprofil von Osteoblasten sowie eine häufig veränderte Reaktion auf Signalfaktoren durch PTH festgestellt [6].

In einer neueren Studie wurde gezeigt, dass eine intermittierende Aktivierung

von PTHR1 viele komplexe Signalwege in Gang setzt, welche zu einem Anstieg der Osteoblastenzahl führen. Wird PTH demnach in täglichen Dosen als Medikament verabreicht, bewirkt es die Aktivierung völlig anderer Mechanismen am Gesamtsystem als das basal vorhandene PTH [11].

3.3 RANKL und OPG

Dem RANKL-RANK-OPG-System wird eine entscheidende Rolle bei der Knochenremodellierung zugeschrieben.

RANKL ist ein Molekül aus der TNF-Superfamilie und tritt teils als Transmembranmolekül auf der Oberfläche von Osteoblasten und teils als frei lösliches Signalmolekül auf. Trifft es im Knochenmark auf hämatopoetische Vorläuferzellen differenzieren diese zu Osteoklasten. Die Vorläuferzellen exprimieren RANK, einen Transmembran-Rezeptor der TNF-Superfamilie.

OPG wird ebenfalls von Osteoblasten produziert. Es bindet an RANKL und macht es unwirksam, indem es dessen Bindung an RANK verhindert. Die Wirkung der Osteoblasten auf die Osteoklasten hängt somit vom Verhältnis OPG/RANKL ab.

Das Parathormon PTH induziert die Bildung von RANKL und hemmt die Expression von OPG [14]. Eine Überexpression von OPG in Mäusen führt zu Osteopetrose, einer durch Anhäufung von Knochengewebe gekennzeichneten Krankheit. Verminderte Expression hingegen hat Osteoporose zur Folge. Die OPG-Expression in Osteoblasten wird angeregt durch Vitamin-D, IL-1 α , IL-1 β , TNF β , BMP2, TGF β , Estradiol und den Wnt-Signalweg. Aber auch der RANKL-Promotor hat Bindungsstellen für Vitamin-D [17].

3.4 Östrogene und Androgene

Östrogene und Androgene sind für den Knochenstoffwechsel von zentraler Bedeutung. Wichtige Indikatoren hierfür sind der vermehrte Knochenaufbau in der Pubertät, sowie der vermehrte Abbau in der Menopause. Östrogene hemmen die Zahl und die Aktivität der Osteoklasten. Diese Wirkung verläuft über das RANKL-System. Die Produktion von OPG wird durch Einwirkung von Östrogenen gesteigert und IL-1, IL-6 sowie TNF α werden gehemmt, wodurch Lebenszeit und Aktivität von Osteoklasten vermindert werden [14, 15]. Außerdem können Östrogene die Produktion von RANKL verringern [8].

Das oben bereits beschriebene $TGF\beta$ begünstigt neben vielen weiteren Signalwegen auch die Osteoklastenapoptose. Induziert wird dieser Vorgang durch Östrogen. Eine hohe Anzahl an Osteoklasten führt zu verstärktem Knochenabbau und setzt so zunächst eine große Menge an eingemauertem $TGF\beta$ frei. Dieses reguliert die Osteoklastenzahl bei Vorhandensein einer ausreichenden Östrogenkonzentration herunter [18].

Es gibt Hinweise, dass Sexualhormone auch gezielt den Knochen aufbauen. Über diese Wirkung ist allerdings noch sehr wenig bekannt.

Bei Männern erfolgt der Abfall der Androgene bedeutend später, hat allerdings auch Osteoporose zur Folge [14, 15]. Neuere Studien belegen, dass Östrogen der Hauptregulator des Knochenstoffwechsels bei Männern und Frauen ist. Dennoch ist die Gefahr an Osteoporose zu erkranken bei Männern bedeutend geringer, da diese nicht den starken Schwankungen der Östrogenkonzentration unterliegen [21, 22, 24].

Neben dem schon lange bekannten Effekt des vermehrten Knochenabbaus durch Östrogenmangel, wird dieser nun auch mit einer entstehenden Lücke zwischen der Abbau- und der Aufbauphase in Verbindung gebracht. Hieraus entsteht die Hypothese, dass Östrogen auch einen Einfluss auf den Knochenaufbau hat, die Marker hierfür sind allerdings sehr schlecht messbar.

Bei der Behandlung von Frauen in der Menopause mit synthetischem Estradiol ist hingegen schon seit über 35 Jahren eine beachtliche Abnahme der Marker für den Knochenabbau zu beobachten. Dennoch hat Östrogen einen direkten Einfluss auf Osteozyten, Osteoklasten und Osteoblasten und Östrogenmangel führt zur Hemmung des gesamten Knochenremodellierungsprozesses [21].

3.5 Vitamin D

Vitamin D wird aus tierischer Nahrung aufgenommen oder in der Haut unter Einfluss von Sonnenlicht gebildet. Durch 2 Hydroxylierungsschritte werden die Vitamine D2 und D3 in Niere und Leber zum aktiven Calcitriol umgewandelt. PTH fördert diese Hydroxylierung, Calcitriol und Phosphat hemmen sie wieder.

Vitamin D fördert als Transkriptionsfaktor die Aufrechterhaltung des Kalziumspeichers, indem es die Expression der entsprechenden Gene induziert [14].

4 Vergleich ausgewählter publizierter Modelle

Motivation für die theoretische Modellierung der Knochenremodellierung ist die Beschreibung von Experimenten und das Herausstellen bestimmter Prozesse in biochemischen Netzwerken, welche im Knochen zu Erkrankungen führen.

Einerseits sind die Modelle somit geeignete Hilfsmittel für die Aufklärung wichtiger Mechanismen, andererseits stellen noch nicht ausreichend geklärte Vorgänge oder nicht übereinstimmende Ergebnisse auch ein Problem bei der Nachbildung dar.

Beispielsweise ist die Wirkung von $TGF\beta$ in den nachfolgenden Modellen widersprüchlich implementiert. In den Modellen von Komarova et al. [2, 3] trägt dieses zur Differenzierung der Vorläuferzellen zu Osteoklasten bei. Lemaire et al. [18] schreibt $TGF\beta$ einen Beitrag zur Osteoklastenapoptose zu. Zu vermuten wäre eine von anderen Faktoren abhängige Wirkung auf beide Vorgänge, deren Stärke von eben diesen Faktoren abhängt.

4.1 Komarova et al.

Die schematische Darstellung sowie die beschreibenden Gleichungen aus dem 2003 [2] veröffentlichten Modell sind in Abb. 4.1 zu sehen. Beschrieben werden sowohl parakrine als auch autokrine Interaktionen.

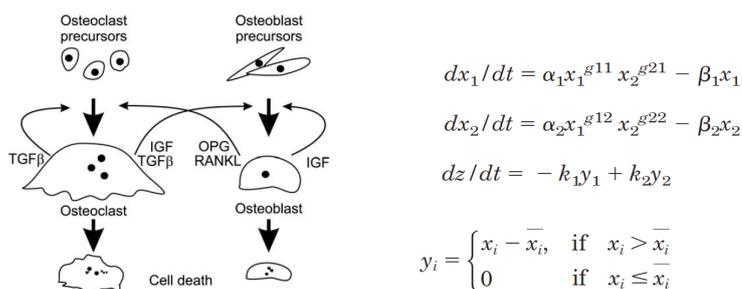


Abbildung 4.1: **Interaktionen und Gleichungen des Modells von Komarova et al. (2003)**; **Links:** Interaktionen zwischen Osteoblasten und Osteoklasten. $TGF\beta$ wird durch abbauende Osteoklasten freigesetzt und stimuliert direkt die Bildung von Osteoklasten und Osteoblasten. IGF wird von Osteoblasten abgesondert und freigesetzt durch abbauende Osteoklasten. Es aktiviert die Osteoblastenbildung. RANKL wird durch Osteoblasten exprimiert und freigesetzt und aktiviert die Osteoklastengnese. OPG inhibiert die Wirkung von RANKL; **Rechts:** Gleichungen des Modells: x_1 repräsentiert die Anzahl der Osteoklasten, x_2 repräsentiert die Osteoblasten, g_{ij} beschreibt den Gesamteffekt von parakrinen und autokrinen Faktoren auf die Osteoblasten und die Osteoklasten, α_i und β_i stellen Zellproduktion und -apoptose dar, z ist die Knochenmasse, k_i die normalisierte Aktivität der Knochenbildung oder -resorption, \bar{x}_i ist die Anzahl der Knochenzellen im stationären Zustand.

Die Analyse dieses Modells brachte verschiedene dynamische Verhaltensweisen hervor. Es konnte ein einzelner Remodellierungszyklus als Antwort auf einen einmaligen externen Stimulus, eine Serie von intern regulierten Zyklen, aber auch instabiles Verhalten beobachtet werden. In den parametrischen Analysen wurde herausgefunden, dass das dynamische Verhalten stark von der autokrinen Regulierung der Osteoklasten abhängt.

Für die Beschreibung des Gesamteffektes wurde eine Potenzgesetz-Approximation verwendet und einige vereinfachende Annahmen getroffen. Ein einzelner Parameter g_{ij} zur Potenz der einzelnen Knochenzellen beschreibt dabei den Gesamteffekt aller Faktoren sowie den reflektierenden Prozess, beispielsweise die Anzahl der Effektoren pro abgebender Zelle oder die Stärke der Antwort.

Für die Anfangswerte wurden experimentelle Daten aus histomorphometrischen Analysen in trabekulären Knochen verwendet. Dieses Experiment zeigte zunächst einen eingeleiteten Knochenabbau durch 10 bis 20 Osteoklasten die $10 \mu\text{m}/\text{Tag}$ abbauten. War die maximale Erosion nach 9-14 Tagen erreicht, bildeten 2000 Osteoblasten Knochen mit $1 \mu\text{m}/\text{Tag}$ wieder auf. Dieser Zyklus dauerte 3-5 Monate. Mit diesen Werten wurden die Anfangsparameter generiert, mit deren Hilfe im Folgenden der parametrische Raum untersucht werden konnte.

Ein einzelner Remodellierungszyklus wurde initiiert durch einen momentanen Anstieg der Osteoklasten zum Zeitpunkt Null. Nach 20 Tagen befanden sich die Osteoklasten wieder im stationären Zustand. Der Abbau der Osteoklasten brachte einen Anstieg der Osteoblasten mit sich. Diese kehrten wieder zum Ursprung zurück, nachdem die Osteoklasten normalisiert waren. Die Knochenmasse nahm der Realität entsprechend schnell ab und langsam wieder zu. Durch Variation bestimmter Parameter des Systems konnten stabile und auch gedämpfte Oszillationen generiert werden. Außerdem gab es auch Parameterkombinationen, welche zu instabilem Verhalten mit wachsenden Oszillationen führten. Abbildung 4.2 zeigt die Simulationsergebnisse des Modells.

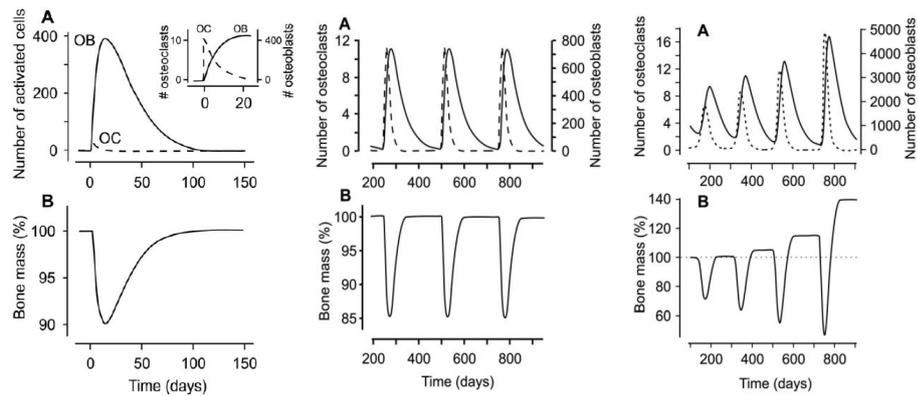


Abbildung 4.2: **Simulationsergebnisse des Modells von Komarova et al. (2003)**; **Links: A:** Die Zahl der Osteoklasten wurde zum Zeitpunkt Null auf 10 gesetzt. Dies führte zu einem einzelnen Peak der Dynamik. Die Osteoklastenzahl sinkt, die Osteoblastenzahl steigt zunächst stark und fällt nach Abklingen der Dynamik; **B:** Knochenmasse nimmt zunächst stark ab, kehrt aber zum stationären Zustand zurück; **Mitte: A:** Auf der linken Achse sind die Osteoklasten auf der rechten die Osteoblasten skaliert. Es ist beständiges oszillierendes Verhalten zu beobachten. Entsprechend der Realität folgt auf einen Anstieg der Osteoklasten ein Anstieg der Osteoblasten; **B:** Mit der verwendeten Parameterkombination können physiologische Knochenremodellierungszyklen simuliert werden; **Rechts: A:** Auf der linken Achse sind die Osteoklasten auf der rechten die Osteoblasten skaliert. Es ist instabiles oszillierendes Verhalten zu beobachten; **B:** Mit der verwendeten Parameterkombination treten instabile Oszillationen für die Knochenmasse auf.

2005 veröffentlichten Komarova et al. das vorliegende Modell unter Einbezug einer Gleichung für die Wirkung von PTH [3]. Die Gleichung und die beteiligten Interaktionen dieses Modells sind in Abb. 4.3 dargestellt.

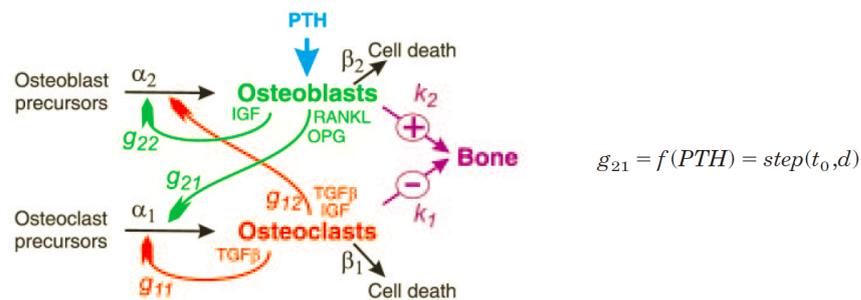


Abbildung 4.3: **Interaktionen und Gleichungen des Modells von Komarova et al. (2005)**; **Links:** Interaktion zwischen Osteoblasten und Osteoklasten im Modell von 2003. Zu den im Modell von 2003 bereits beschriebenen Mechanismen kommt die Wirkung von PTH auf die Osteoblasten hinzu; **Rechts:** Zusätzliche Gleichung zur Beschreibung des Einflusses von PTH auf das oben beschriebene Modell von 2003.

Zunächst wurde PTH so in das Modell integriert, dass es einen Anstieg des Verhältnisses von RANKL zu OPG induziert. Diese Wirkung zeigt PTH unabhängig davon, ob es kontinuierlich oder intermittierend gegeben wird. Ein Sprung-Anstieg des Parameters, welcher den Effekt der Osteoblasten auf die Osteoklasten

darstellt, wurde von PTH abhängig gemacht (g_{21} siehe Abbildung Rechts). Später wurde ebenfalls die Wirkung von PTH auf die Reaktion der Osteoblasten auf stimulierende Faktoren simuliert (g_{22}). Auch mit dieser Ergänzung konnten einige experimentelle Ergebnisse gut nachgebildet werden.

Bewertung des Modells

Die Gesamteffekte stellen reelle Auswirkungen auf die Knochenremodellierung sehr gut nach. Dennoch dürfte es durch die starke Vereinfachung schwierig werden, einzelne Mechanismen genau zu untersuchen und somit auch deren Auswirkung auf das Gesamtsystem.

4.2 Akchurin et al.

Akchurin et al. veröffentlichten 2008 ein Modell [5], welches sich allein auf die Osteoklastendynamik bezieht. Hierzu führten sie zunächst mehrere Langzeitexperimente durch, deren Ergebnisse nachfolgend in einem Modell nachgebildet wurden.

In den Langzeitexperimenten wurde die Dynamik der Osteoklasten zwischen 15 und 26 Tagen beobachtet und stellte sich als komplex und qualitativ sehr variabel heraus. Die Länge der Experimente übersteigt die Dauer typischer Osteoklastenkulturen bei Weitem. Für die Experimente wurde die Zell-Linie RAW 264.7 verwendet, da diese nur mit RANKL stimuliert werden muss. Andere Zell-Linien bedürfen häufig einer Stimulation von RANKL und M-CSF zur Induktion der Osteoklastengenese. Vier bis fünf Tage nach der Zugabe von RANKL differenzieren die Monozyten zu mehrkernigen Zellen. Diese sterben zwei bis vier Tage danach, vorrangig durch Apoptose wieder ab. Monozyten können im Gegensatz zu Osteoklasten in der Kultur profilieren. Sowohl die Proliferation als auch die Apoptose werden durch RANKL beeinflusst.

Nachdem die Anzahl der Osteoklasten wieder gesunken war, konnte in vielen Experimenten eine 2. Welle, in manchen sogar eine 3. Welle beobachtet werden. Es entstanden synchrone Wellen der Osteoklastengenese und -apoptose.

Da RAW 264.7 eine unsterbliche Zell-Linie ist wurden zusätzliche Experimente durchgeführt. Stimulation von primären Knochenmark-Monozyten mit M-CSF und RANKL führte ebenfalls zu beständigen Wellen der Osteoklasten-Zahl.

Außerdem wurde die Anzahl der anfänglichen Monozyten und der RANKL-Konzentration in folgenden Langzeit-Experimenten mit RAW 264.7 verändert.

Die Änderung der Anzahl der Osteoklasten variierte von Experiment zu Experiment. Manche Kombinationen führten zu einem Peak, andere zeigten deutliches oszillierendes Verhalten. Insgesamt wurden 46 Experimente durchgeführt. Davon wiesen 19 Experimente einen einzelnen Peak auf, 27 fortlaufende Wellen. Unter den 27 oszillierenden Verhaltensmustern zeigten 10 einen 2. Peak, dessen Amplitude weniger als 50% des 1. Peaks darstellte, in 9 Experimenten war dieser zwischen 50% und 150% und die restlichen 8 Experimente führten zu einem 2. Peak der den ersten Peak um mehr als 150% überstieg.

Die statistische Analyse dieser Ergebnisse stellte heraus, dass die Dichte der Monozyten keinen signifikanten Einfluss auf das Entstehen von Oszillationen hat. Die Variation von RANKL hingegen wies einen signifikanten Einfluss auf. Bei einer niedrigen RANKL-Gabe war die Wahrscheinlichkeit größer, dass keine Oszillationen auftreten, viel RANKL führte eher zum Entstehen von Oszillationen. Die maximale Anzahl der Osteoklasten in der oszillierenden Gruppe war immer geringer als in der nicht-oszillierenden Gruppe.

Dieses Verhalten sollte mit den in Abbildung 4.4 dargestellten Gleichungen simuliert werden.

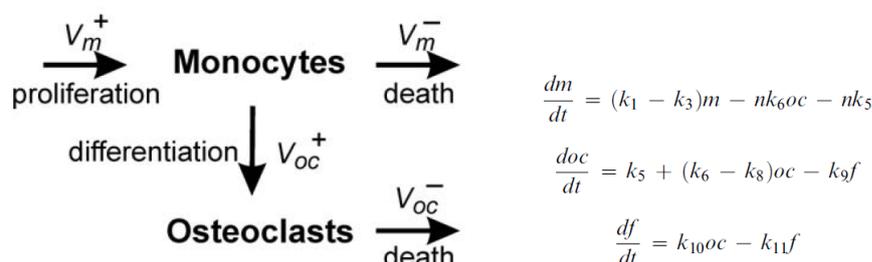


Abbildung 4.4: **Interaktionen und Gleichungen des Modells von Akchurin et al.;** **Links:** Im Modell beschriebene Interaktionen ohne den Faktor f . Monozyten proliferieren, sterben oder differenzieren zu Osteoklasten. Osteoklasten entstehen aus mehreren Monozyten und sterben nach einer bestimmten Zeit ab; **Rechts:** Gleichungen des Systems, m Monozyten, oc Osteoklasten, f ein durch Osteoklasten induzierter Faktor, der die Osteoklastenapoptose anregt, n beschreibt die Fusion einer bestimmten Anzahl an Monozyten zu einem Osteoklasten, k_i positive Konstanten

Gezeigt wurde, dass ein Modell bestehend aus Monozyten und Osteoklasten keine Oszillationen aufweisen kann. Erreicht wurde dies durch die Einführung der Variable f , welche einen durch Osteoklasten induzierten Faktor, der die Osteoklastenapoptose anregt, darstellt. Dieser führte im Modell zu Oszillationen der Osteoklasten und des Faktors, jedoch auch zu einem exponentiellen Wachstum der Monozyten. Um die steigende Amplitude der Osteoklastenanzahl nachstellen zu können, wurde außerdem angenommen, dass Osteoklasten die eigene Bildung

stimulieren. Das Modell identifiziert die wichtige Rolle der autokrinen Regulation der Osteoklasten und beschreibt die gegensätzliche Rolle positiver und negativer Feedbacks für die Aktivierung und Inaktivierung von Osteoklasten.

Bewertung des Modells

Der Ursprung verschiedener Feedbacks bleibt ungeklärt und es wird kein konkreter Mechanismus benannt, welcher den Faktor f beschreiben könnte. Außerdem erscheint die vorgenommene Vereinfachung durch die Verwendung eines Parameters n statt der Variable m sehr stark

Dennoch stellt das Modell einen sehr guten Ausgangspunkt für die Modellierung der Knochenremodellierung dar, da es sehr gut mit den Interaktionen der Osteoblasten ergänzt werden kann.

4.3 FU Projektseminar

In dem Projektseminar wurde das Modell von Komarova et al. um detaillierte Beschreibungen der wichtigsten Einflussfaktoren erweitert. Das dynamische Verhalten nach einem externen Stimulus konnte nachgebildet werden, das oszillierende Verhalten nicht. Die Oszillationsamplitude wurde größer. Die Parameter wurden mit dem Softwarepaket POEM vom Zuse-Institut Berlin geschätzt, welches auf der beigefügten CD zu finden ist.

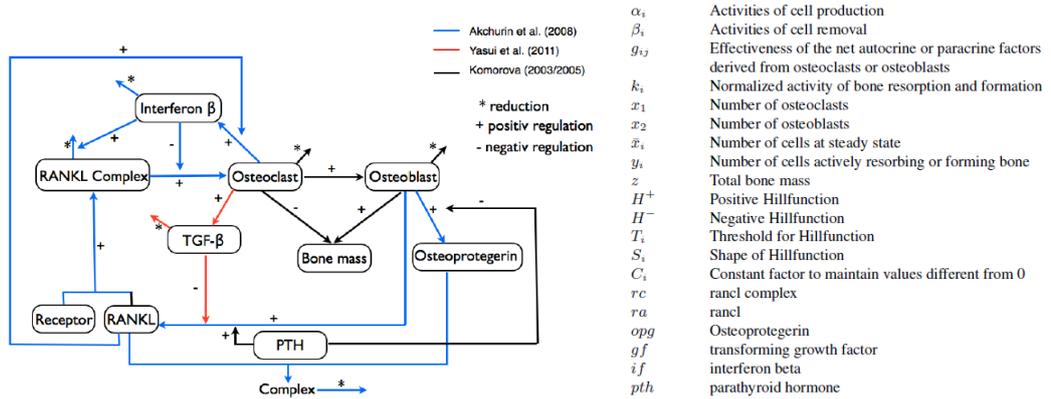
Die implementierten Wechselwirkungen und Gleichungen befinden sich in Abb. 4.5.

Bewertung des Modells

Durch die hohe Anzahl der Variablen und den Einbau von Hillfunktionen ist ein sehr komplexes System entstanden. Der Ursprung einiger Interaktionen lässt sich anhand der angegebenen Literatur schwer nachvollziehen. Mit dem beschriebenen System konnten Oszillationen nicht generiert werden. Die Ursache hierfür zu finden und zu beheben, würde sehr aufwändige Analysen mit sich bringen, deren Erfolg dennoch nicht gesichert wäre.

Für die Erstellung eines eigenen Modells scheint eine Erweiterung des Modells von Komarova et al. [2, 3] durchaus sinnvoll, da dort mehrere Mechanismen nur zu einem Gesamteffekt in einer Potenz zusammen gefasst wurden. Allerdings könnten einige Prozesse weiterhin als Wirkung einer Variablen auf eine andere dargestellt

werden, ohne für jeden Mechanismus eine gesonderte Komponente einzuführen. Beispielsweise könnte die Wirkung der Osteoklasten auf die RANKL-Produktion direkt erfolgen, wodurch die Komponente für $TGF\beta$ überflüssig wird. Eine schrittweise Erweiterung mit einzelnen wichtigen Komponenten könnte daher einen guten Ansatz bilden.



Extended Model

Osteoclast dynamics

$$[\dot{OC}] = \alpha_1[RC](C_{OC} + H^-([IF\beta], T_{IF}, S_{IF})) - \beta_1[OC]$$

Osteblast dynamics

$$[\dot{OB}] = \alpha_2[OC]^{g_{12}}[OB]^{g_{22}} - \beta_2[OB]$$

Bone mass dynamics

$$[\dot{BM}] = -k_1y_1 + k_2y_2$$

RANKL-Receptor dynamics

$$[\dot{RC}] = k_{RC}[RA] - \alpha_1[RC](C_{RC} + H^-([IF\beta], T_{IF}, S_{IF}))$$

RANKL dynamics

$$[\dot{RA}] = k_{RA}[OB](C_{RA} + H^+([PTH], T_{PTH}, S_{PTH}))(C_{RA} + H^-(TGF\beta, T_{TGF}, S_{TGF})) - (\tilde{k}_{RA}[RA][OPG]) - (\tilde{k}_{RA}[RA][RC])$$

Osteoprotegerin dynamics

$$[\dot{OPG}] = k_{OPG}[OB](C_{OPG} + H^-([PTH], T_{PTH}, S_{PTH})) - (\tilde{k}_{RA}[RA][OPG])$$

Dynamics of transforming growth factor (TGF)- β

$$[\dot{TGF\beta}] = k_{TGF}[OC] - \tilde{k}_{TGF}[TGF\beta]$$

Interferon β dynamics

$$[\dot{IF\beta}] = k_{IF}[OC](C_{IF} + H^+([RA], T_{RA}, S_{RA})) - \tilde{k}_{IF}[IF\beta]$$

Parathyroid hormone dynamics

$$[\dot{PTH}] = 0$$

Abbildung 4.5: **Interaktionen und Gleichungen des im FU Projektseminar entwickelten Modells; Oben Links:** Interaktionen des Modells zusammengefügt aus den angegebenen publizierten Modellen; **Oben Rechts und Unten:** Gleichungen des Modells und Beschreibung der Komponenten.

4.4 Lemaire et al.

Das Modell von Lemaire et al. [18] wurde auf die Annahme gestützt, dass Knochenremodellierung ein eher lokales Phänomen darstellt. Systemische Hormone stimmen die Effekte der lokalen Faktoren ab. Eine Frage in diesem Modell ist, ob der Abbau eher lokale oder systemische Faktoren als Ursache hat.

Die Struktur des Kernmodells basiert auf der Darstellung verschiedener Stufen der Zellreifung. Während der Osteoblastendifferenzierung gibt es 7 Stufen der Reifung. In dem Modell werden 4 Stadien dargestellt, 2 als Variablen. Osteoklasten weisen vier Reifungsstadien auf. Dargestellt ist die hämatopoetische Vorläuferzelle der apoptotische und der differenzierende Osteoklast. Des Weiteren beinhaltet das Modell RANKL/RANK/OPG-Interaktionen sowie den Einfluss von PTH und $TGF\beta$. Letzteres wird durch Knochenabbau freigesetzt, stimuliert die Osteoblastenvorläuferzellen und induziert Osteoklastenapoptose. Außerdem hemmt es die finale Osteoblastenreifung zu aktiven Osteoblasten. Dargestellt wird außerdem nur der anabole Effekt durch PTH.

Auf die Beschreibung der mathematischen Formulierungen wird verzichtet. Schmidt et al. [7] zeigten an diesem Modell die hohe Effektivität einer Modellreduktion. Einfachere mathematische Beschreibungen stellen die Vorgänge ebenso gut dar.

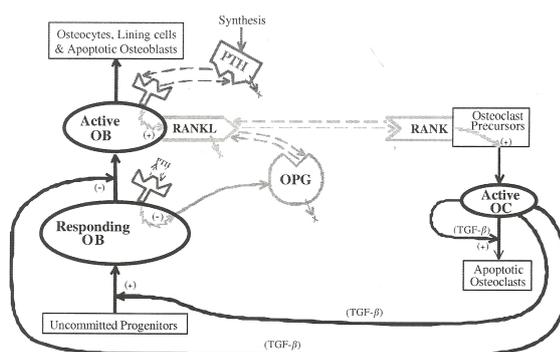


Abbildung 4.6: Interaktionen im Modell von Lemaire et al.; Osteoblastenvorläuferzellen reifen zunächst zu antwortenden Osteoblasten und im Anschluss zu aktiven Osteoblasten, bevor sie sterben oder als Osteozyten inaktiv werden. $TGF\beta$ wird durch aktive Osteoklasten freigesetzt, verstärkt den ersten und hemmt den zweiten Reifungsprozess der Osteoblasten und verstärkt die Osteoklastenapoptose. PTH stimuliert in aktiven Osteoblasten die Produktion von RANKL und hemmt die Produktion von OPG durch antwortende Osteoblasten. RANKL bindet an den auf den Osteoklastenvorläuferzellen vorhandenen Rezeptor RANK und stimuliert so die Reifung zum aktiven Osteoklasten. OPG hemmt RANKL.

Bewertung des Modells

Es ist ein effektives Mittel, die Knochenzellen in unterschiedlichen Stadien zu modellieren. Auf diesem Weg können viele Faktoren ohne als Variablen in das Modell aufgenommen werden zu müssen, dargestellt und dennoch präzise variiert und analysiert werden.

Der biologische Hintergrund für eine Einteilung in antwortende und aktive Osteoblasten bleibt unklar.

4.5 Kroll et al.

Auch im Modell von Kroll et al. (2000) [19] stellte sich die Modellierung der Knochenzellen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien als geeignetes Mittel für die Simulation der Knochenremodellierung heraus. Im folgenden Modell spielten das Zytokin IL-6 und das Hormon PTH eine wichtige Rolle.

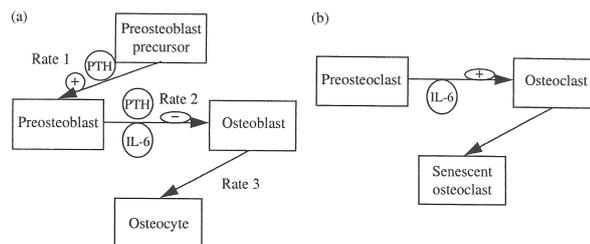


Abbildung 4.7: **Interaktionen im Modell von Kroll et al.;** **Links:** Effekt von PTH auf die Entwicklung von Osteoblasten. PTH stimuliert die Proliferation der Vorläuferzellen zu Preosteoblasten, hemmt allerdings die finale Differenzierung zu Osteoblasten. IL-6 verstärkt diesen hemmenden Effekt. Osteoblasten werden zu Osteozyten; **Rechts:** Effekt von IL-6 auf die Entwicklung von Osteoklasten. IL-6 wird von Osteoblasten produziert und stimuliert die Differenzierung von Vorläuferzellen zu Osteoklasten. Osteoklasten werden senescent und somit inaktiv.

Bewertung des Modells

Vor allem die erläuterte Wirkung von IL-6 auf die Differenzierung der Osteoblasten, beeinflusst durch PTH, könnte in ein entstehendes Modell eingefügt werden.

5 Modellierung des Knochenstoffwechsels

5.1 Änderung und Analyse des Modells zur Osteoklastendynamik von Akchurin et al.

Das Modell von Akchurin et al. [5] wurde dahingehend modifiziert, dass der Parameter n durch die Variable m ersetzt wurde. Dies hat zusätzlichen Einfluss auf die die Osteoklastenänderung beschreibende Gleichung, da diese nun mehr von den Monozyten abhängt. Die konkreten Mechanismen sind in Abb. 5.1 zu finden.

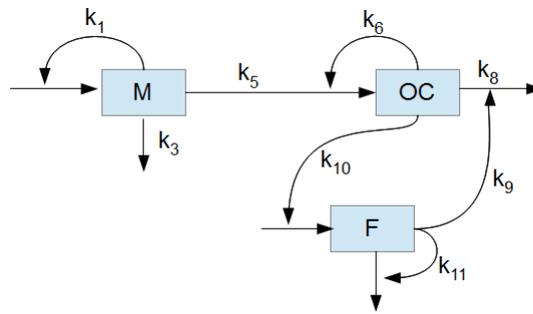


Abbildung 5.1: Geändertes Modell von Akchurin et al. unter Einbezug des Faktors F ; k_1 - Monozyten begünstigen die eigene Proliferation, k_5 - mehrere Monozyten reifen zu einem Osteoklasten, k_6 - Osteoklasten begünstigen die eigene Genese, k_3 - Monozytenapoptose, k_8 - Osteoklastenapoptose, k_{10} - Osteoklasten fördern die Genese des Faktors F , dieser entsteht nur bei Anwesenheit von Osteoklasten, k_{11} - Faktor F stimuliert die eigene Apoptose; k_9 - Faktor F stimuliert die Osteoklastenapoptose

Gleichungssystem

$$\frac{dm}{dt} = k_1 m - k_3 m - k_6 m \cdot oc - k_5 m$$

$$\frac{doc}{dt} = k_5 m + k_6 m \cdot oc - k_8 oc - k_9 f$$

$$\frac{df}{dt} = k_{10} oc - k_{11} f$$

Analyse Die Gleichgewichtspunkte des Systems befinden sich bei:

$$m_s = \frac{k_8 k_1 k_{11} - k_8 k_3 k_{11} - k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_1 + k_9 k_{10} k_3 - k_9 k_{10} k_5}{k_{11} k_6 (k_1 - k_3)}$$

$$oc_s = \frac{k_1 - k_3 - k_5}{k_6}$$

$$f_s = \frac{k_{10} (k_1 - k_3 - k_5)}{k_{11} k_6}$$

Dadurch ergibt sich folgende Jacobi-Matrix:

$$J = \begin{pmatrix} 0 & -\frac{k_8 k_1 k_{11} - k_8 k_3 k_{11} - k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_1 + k_9 k_{10} k_3 - k_9 k_{10} k_5}{k_{11}(k_1 - k_3)} & 0 \\ k_1 - k_3 & \frac{-k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_1 + k_9 k_{10} k_3 - k_9 k_{10} k_5}{k_{11}(k_1 - k_3)} & -k_9 \\ 0 & k_{10} & -k_{11} \end{pmatrix}$$

Der Maple-Code für diese Berechnungen ist in der beigefügten CD im Ordner "Maple" unter dem Namen "Akchurin" zu finden.

Wird der Term $k_1 - k_3 = a$ zusammengefasst vereinfacht sich die Matrix folgendermaßen:

$$J = \begin{pmatrix} 0 & -\frac{(a - k_5)(k_8 k_{11} + k_9 k_{10})}{k_{11} a} & 0 \\ a & \frac{k_{10} k_9}{k_{11}} - \frac{k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_5}{k_{11} a} & -k_9 \\ 0 & k_{10} & -k_{11} \end{pmatrix}$$

Sowohl im biologischen Zusammenhang als auch analytisch ist ersichtlich, dass $a > 0$ sein muss, damit das System stabil ist und sich die stationären Zustände im positiven Bereich befinden.

Demnach steht nur an den Stellen j_{12} und j_{22} das Vorzeichen der Jacobi-Matrix nicht eindeutig fest.

Der Term

$$j_{12} = -\frac{(a - k_5)(k_8 k_{11} + k_9 k_{10})}{k_{11} a}$$

muss negativ sein, da stets $a > k_5$ gilt. Es können nicht mehr Monozyten absterben (k_3) als gebildet werden (k_1) und nicht mehr Monozyten zu Osteoklasten reifen (k_5) als vorhanden sind. Auch dies bestätigt sich analytisch durch stationäre Zustände im Negativen bei Nichteinhaltung der Regel $0 \leq k_5 < k_1 - k_3$.

Somit hängt die Stabilität des Systems vom Vorzeichen von

$$j_{22} = \frac{k_{10} k_9}{k_{11}} - \frac{k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_5}{k_{11} a}$$

ab.

Daraus folgt:

$$j_{22} > 0 \text{ wenn } a > \frac{k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_5}{k_{10} k_9} \implies \text{instabiles System}$$

$$j_{22} < 0 \text{ wenn } a < \frac{k_8 k_5 k_{11} + k_9 k_{10} k_5}{k_{10} k_9} \implies \text{stabiles System}$$

Zur Prüfung der allgemeinen Eigenschaften wurde das System mit beliebigen Parametern in Matlab verwirklicht. Abbildung 5.2 zeigt das System mit den unterschiedlichen Parameterwerten und somit veränderten Stabilitätseigenschaften (CD : Matlab : Akchurin).

Für den instabilen Fall, mit den in der Abbildung benannten Parameter- und Anfangswerten, hat das System den stationären Zustand:

$$oc_s = 1.1, f_s = 1.65, m_s = 1.31$$

Die zugehörigen Eigenwerte lauten:

$$\vec{\lambda} = \begin{pmatrix} 0.003 + 1,99i \\ 0.003 - 1,99i \\ -0.7 \end{pmatrix}$$

Das System ist instabil. Somit schwingt es sich auf, selbst wenn als Anfangswerte exakt die Werte des stationären Zustands verwendet werden und bewegt sich auf einen einen stabilen Grenzzyklus zu.

Der stationäre Zustand, mit der benannten Parameterkombination für den Fall $j_{22} = 0$ lautet:

$$oc_s = 2, f_s = 3, m_s = 3$$

Die zugehörigen Eigenwerte:

$$\vec{\lambda} = \begin{pmatrix} -0.07 + 3.2i \\ -0.07 - 3.2i \\ -0.9 \end{pmatrix}$$

Das System ist stabil, hört allerdings nicht vollständig auf zu oszillieren wenn der stationäre Zustand durch die Anfangswerte leicht gestört wird und bewegt sich von außen auf einen stabilen Grenzzyklus zu. Werden die Werte des stationären Zustands als Anfangswerte gewählt bleibt das System ohne Oszillationen in diesem Zustand.

Für den stabilen Fall lautet der stationäre Zustand:

$$oc_s = 1.1 \quad f_s = 1.65 \quad m_s = 1.83$$

Die zugehörigen Eigenwerte lauten:

$$\vec{\lambda} = \begin{pmatrix} -0.21 + 2.27i \\ -0.21 - 2.27i \\ -0.7 \end{pmatrix}$$

Das System weist gedämpfte Oszillationen, bei vom stationären Zustand abweichenden Anfangswerten, auf und endet in einem nicht-oszillierendem Zustand.

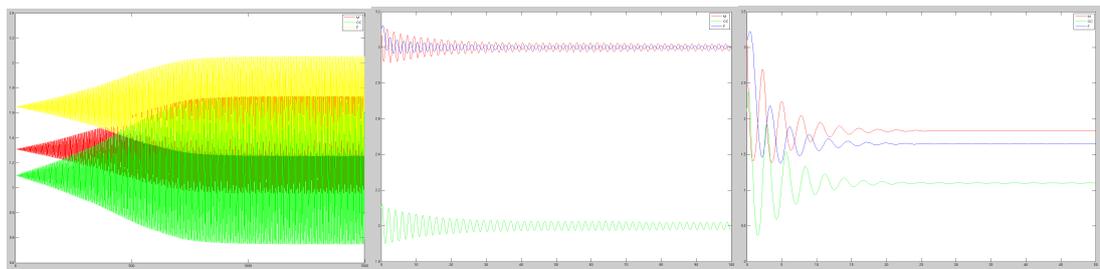


Abbildung 5.2: **Dynamik der Osteoklasten bei Variation der Parameter**; Faktor F: gelb bzw. blau, Osteoklasten: grün, Monozyten rot; **Links**: System im instabilen Zustand, Parameter: $k_1 = 3.1$, $k_3 = 1$, $k_5 = 1$, $k_6 = 1$, $k_8 = 1$, $k_9 = 1$, $k_{10} = 1.5$, $k_{11} = 1$, $oc_0 = 1.1$, $f_0 = 1.65$, $m_0 = 1.309523810$; **Mitte**: System für den Fall $j_{22} = 0$, veränderte Parameter: $k_1 = 4$, $k_8 = 3$, $oc_0 = 2.1$, $f_0 = 3.1$, $m_0 = 3.1$; **Rechts**: System im stabilen Zustand, veränderte Parameter: $k_1 = 3.1$, $k_8 = 2$

Mit dem für Matlab ausgelegten Bifurkationstool Matcont¹ (Programm auf beigefügter CD) kann ausgehend vom stabilen stationären Zustand der Parameter k_8 verändert und der zugehörige Hopfunkt gefunden werden. Anschließend wurde

¹<http://www.matcont.ugent.be/matcont.html>

analysiert, an welcher Stelle sich der Hopfpunkt bei der Variation von k_8 und k_1 befindet. Das Ergebnis ist in Abb. 5.3 zu sehen (CD : Matcont: Akchurin).

Eine Hopfbifurkation ist gekennzeichnet durch den Übergang eines stabilen Gleichgewichts in einen Grenzyklus bei Variation einen Parameters.

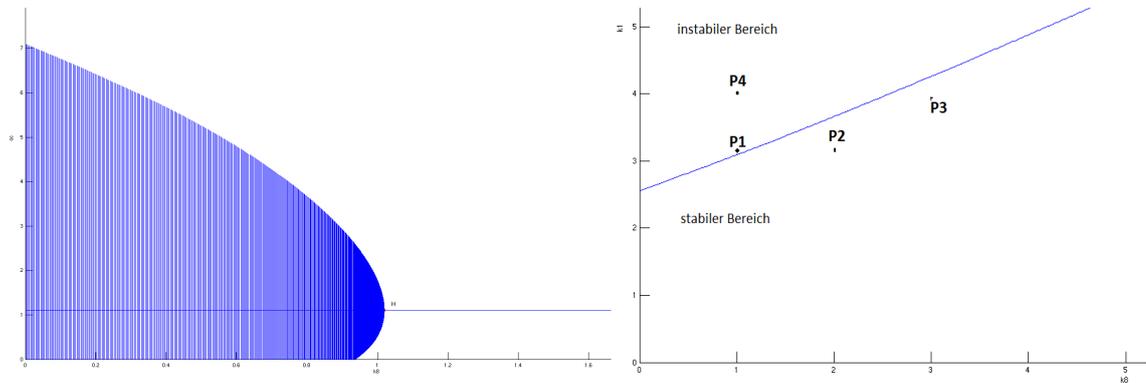


Abbildung 5.3: Bifurkationsdiagramme für die Parameter k_8 und k_1 ; Links: Hopfpunkt bei $k_8 = 1.0155589$ und $k_1 = 3.1$. Bei kleiner werdendem k_8 wächst die Amplitude der Osteoklasten; **Rechts:** Hopfpunkt bei Variation der Parameter k_8 und k_1 dargestellt anhand des blauen Graphen. Unterhalb stabiles System, oberhalb instabiles System. P1 stellt die Parameterkombination für das oben dargestellte instabile oszillierende System dar, P2: Parameterkombination stabiles, nicht oszillierendes System, P3: stabiles, oszillierendes System, P4: instabiles System mit stationärem Zustand im Negativen.

Abb. 5.3 verdeutlicht, dass die Parameter so gewählt werden müssen, dass sie sich in unmittelbarer Nähe zum Hopfpunkt befinden. Entfernt sich die Kombination zu weit in den instabilen oder stabilen Bereich befindet sie sich nicht mehr im Attraktionsgebiet des Grenzyklus.

Bewertung

Die modellierte Osteoklastendynamik stellt eine nützliche und gut analysierbare Grundlage für die Modellierung der Knochenremodellierung unter Einbezug weiterer wichtiger Bestandteile wie der Osteoblasten und PTH oder RANKL und OPG dar.

5.2 Erstellung und Analyse eines Modells unter Einbezug des Parathormons

Das unter Abschnitt 5.1 beschriebene und analysierte Modell wurde um den Einfluss des Parathormons erweitert. Hierfür wurde die von Lemaire et al. [18] verwendete Methode, welche die Osteoblasten in verschiedenen Stadien simuliert,

verwendet. Allerdings wurde nicht in aktive und antwortende Osteoblasten unterteilt, sondern die Erkenntnis aus experimentellen Ergebnissen verwendet, dass PTH den Phänotyp von Osteoblasten ändert. Ist PTH an Osteoblasten gebunden, verringern diese die eigene Proliferation und stimulieren die Osteoklasten [6]. Dies geschieht, indem an Osteoblasten gebundenes PTH die Sekretion von RANKL stimuliert und die Abgabe von OPG hemmt [18]. Die genaue Darstellung der Mechanismen ist in Abb. 5.4 zu finden.

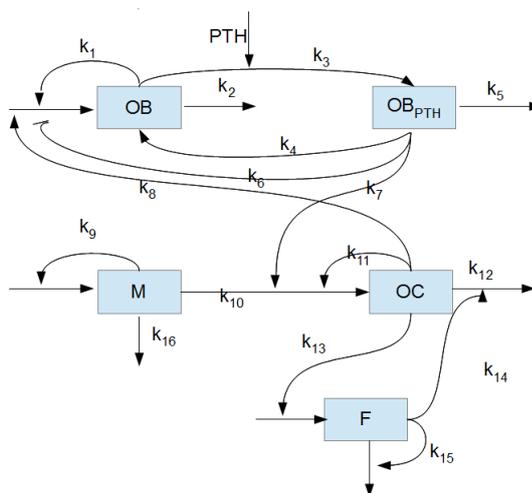


Abbildung 5.4: **Modell von Akchurin ergänzt mit PTH-Dynamik**; k_1 - Osteoblasten begünstigen die eigene Proliferation, k_3 - PTH bindet an die Osteoblasten, k_4 - PTH löst sich von Osteoblasten, k_2 - Osteoblastenapoptose, k_5 - Apoptose der Osteoblasten mit gebundenem PTH, k_6 - Osteoblasten mit gebundenem PTH hemmen die Osteoblastengenese, diese Wirkung entspricht dem im Modell von Kroll et al. beschriebenen Mechanismus über IL-6, k_7 - Osteoblasten mit gebundenem PTH fördern die Osteoklastenreifung, k_8 - Osteoklasten fördern die Bildung von Osteoblasten, k_9 - Monozyten begünstigen die eigene Proliferation, k_{10} - mehrere Monozyten reifen zu einem Osteoklasten, k_{11} - Osteoklasten begünstigen die eigene Genese, k_{16} - Monozytenapoptose, k_{12} - Osteoklastenapoptose, k_{13} - Osteoklasten fördern die Genese des Faktors F, dieser entsteht nur bei Anwesenheit von Osteoklasten, k_{15} - Faktor F stimuliert die eigene Apoptose, k_{14} - Faktor F stimuliert die Osteoklastenapoptose

Gleichungssystem

$$\frac{dob}{dt} = (k_1 - k_2 - k_3PTH + k_8OC)ob + k_4ob_{PTH} - k_6ob_{PTH}$$

$$\frac{dob_{PTH}}{dt} = (-k_4 - k_5)ob_{PTH} + k_3PTH \cdot ob$$

$$\frac{dm}{dt} = (k_9 - k_{10} - k_{16} - k_{11}OC - k_7ob_{PTH})m$$

$$\frac{doc}{dt} = (k_{11}m - k_{12})OC + k_7ob_{PTH} \cdot m - k_{14}f + k_{10}m$$

$$\frac{df}{dt} = k_{13}OC - k_{15}f$$

Analyse

Das System kann folgende stationäre Zustände annehmen (CD : Maple : PTH) :

1. stationärer Zustand

$$ob_s = 0$$

$$ob_{PTH_s} = 0$$

$$m_s = 0$$

$$oc_s = 0$$

$$f_s = 0$$

2. stationärer Zustand

$$ob_s = 0$$

$$ob_{PTH_s} = 0$$

$$m_s = \frac{(k_{12}k_{15}k_9 - k_{12}k_{15}k_{10} - k_{12}k_{15}k_{16} + k_{13}k_{14}k_9 - k_{13}k_{14}k_{10} - k_{13}k_{14}k_{16})}{k_{11}k_{15}(k_9 - k_{16})}$$

$$oc_s = \frac{k_9 - k_{10} - k_{16}}{k_{11}}$$

$$f_s = \frac{k_{13}(k_9 - k_{10} - k_{16})}{k_{11}k_{15}}$$

3. stationärer Zustand

$$ob_s = \frac{(k_1k_{11}k_4 + k_1k_{11}k_5 - k_2k_{11}k_4 - k_2k_{11}k_5 - k_3PTHk_{11}k_5 + k_9k_8k_4 + k_9k_8k_5 - k_{10}k_8k_4 - k_{10}k_8k_5 - k_{16}k_8k_4 - k_{16}k_8k_5 - k_6k_{11}k_3PTH)}{k_7k_8k_3PTH}$$

$$ob_{PTH_s} = \frac{(k_1k_{11}k_4 + k_1k_{11}k_5 - k_2k_{11}k_4 - k_2k_{11}k_5 - k_3PTHk_{11}k_5 + k_9k_8k_4 + k_9k_8k_5 - k_{10}k_8k_4 - k_{10}k_8k_5 - k_{16}k_8k_4 - k_{16}k_8k_5 - k_6k_{11}k_3PTH)}{k_7k_8(k_4 + k_5)}$$

$$m_s = -\frac{k_{12}k_{15}k_1k_4 + k_{12}k_{15}k_1k_5 - k_{12}k_{15}k_2k_4 - k_{12}k_{15}k_2k_5 - k_{12}k_{15}k_3PTHk_5 - k_{12}k_{15}k_6k_3PTH}{k_8(k_4 + k_5)k_{15}(k_9 - k_{16})} + \frac{k_{13}k_{14}k_1k_4 + k_{13}k_{14}k_1k_5 - k_{13}k_{14}k_2k_4 - k_{13}k_{14}k_2k_5 - k_{13}k_{14}k_3PTHk_5 - k_{13}k_{14}k_6k_3PTH}{k_8(k_4 + k_5)k_{15}(k_9 - k_{16})}$$

$$oc_s = -\frac{(k_1k_4 + k_1k_5 - k_2k_4 - k_2k_5 - k_3PTHk_5 - k_6k_3PTH)}{k_8(k_4 + k_5)}$$

$$f_s = -\frac{k_{13}(k_1k_4 + k_1k_5 - k_2k_4 - k_2k_5 - k_3PTHk_5 - k_6k_3PTH)}{k_8(k_4 + k_5)k_{15}}$$

Alle 5 Komponenten existieren somit nur im 3. stationären Zustand. Sind keine Osteoblasten vorhanden, können auch keine Osteoblasten mit gebundenem

PTH vorhanden sein. In diesem Fall nimmt das System den bereits bekannten stationären Zustand aus dem modifizierten Modell von Akchurin et al. an.

Die bereits bekannten Eigenschaften des Teilsystems zur Osteoklastendynamik wurden genutzt, um einen Überblick über die Möglichkeiten dieses Modells zu erlangen. Da es in diesem Modell ein Input-Signal in Form von PTH gibt, spielt eine Variation dieses Wertes bei der Auswertung des Systems eine Rolle. Das Ergebnis der Parametersuche für grundlegende Eigenschaften ist in Abbildung 5.5 zu sehen (CD : Matlab : PTH).

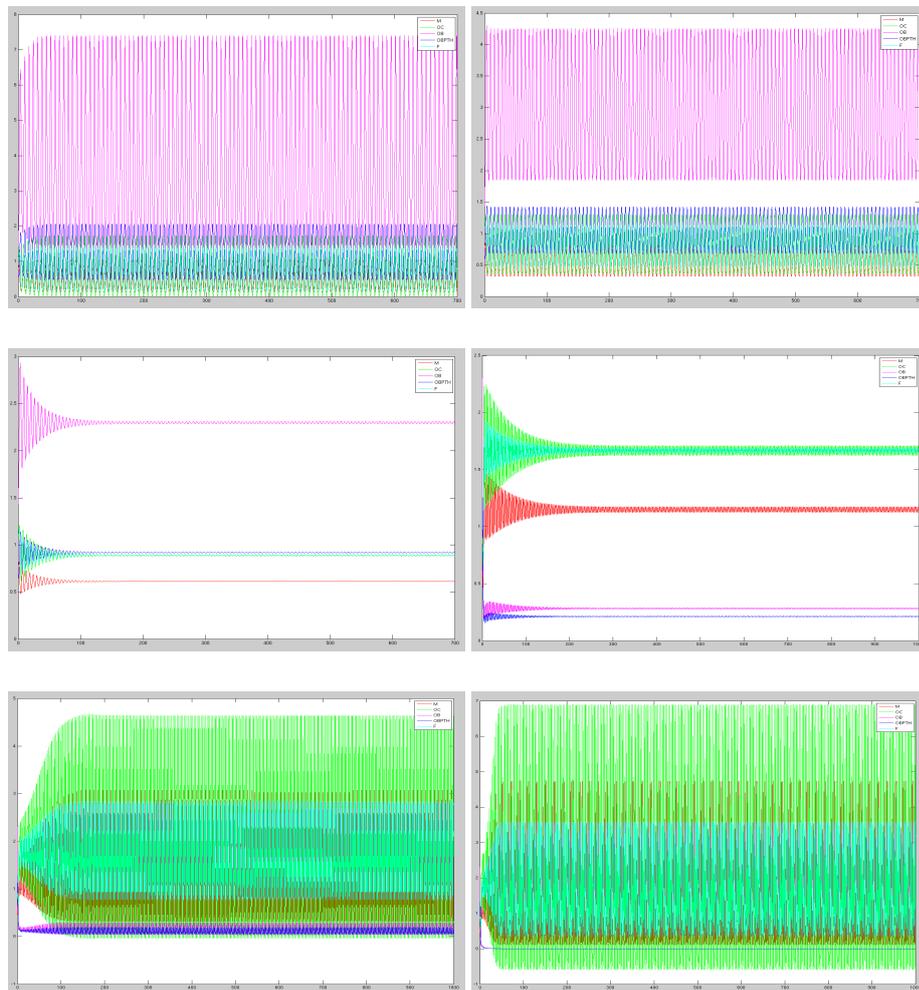


Abbildung 5.5: Dynamik des mit PTH erweiterten Systems von Akchurin bei Variation der Parameter; Faktor F: hellblau, Monozyten: rot, Osteoklasten: grün, Osteoblasten: magenta, Osteoblasten mit PTH: blau; **Oben Links:** Parameter: $PTH = 0.6$, $k_1 = 1$, $k_2 = 1$, $k_3 = 1$, $k_4 = 1$, $k_5 = 1$, $k_6 = 1$, $k_7 = 1.1$, $k_8 = 0.9$, $k_9 = 3$, $k_{10} = 1$, $k_{11} = 1$, $k_{12} = 1$, $k_{13} = 1$, $k_{14} = 1$, $k_{15} = 1$, $k_{16} = 0.1$; **Oben Rechts:** $PTH = 0.7$; **Mitte Links:** $PTH = 0.8$; **Mitte Rechts:** $PTH = 1.5$; **Unten Links:** $PTH = 1.6$; **Unten Rechts:** $PTH = 1.8$

Um die Punkte, an denen eine Veränderung der Systemdynamik auftritt genau

bestimmen zu können, wurde eine Variation des Parameters PTH zusätzlich mittels Matcont (CD : Matcont : PTH) ausgeführt (Abb. 5.6).

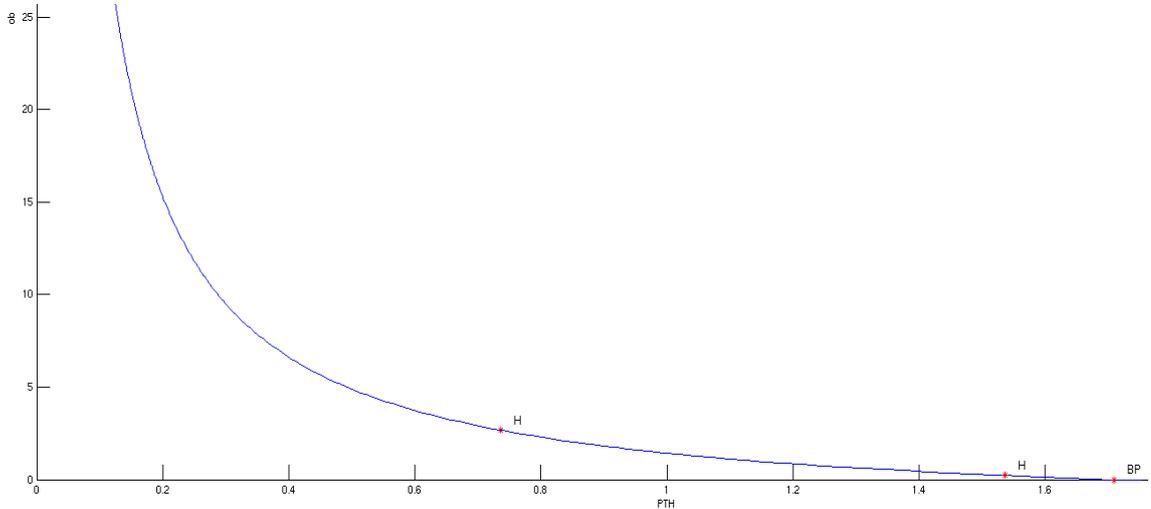


Abbildung 5.6: **Hopfunkte für die Veränderung von PTH; Hopfpunkte:** $PTH_1 = 0.73677759$ und $PTH_2 = 1.5369795$. Es tritt ein Verzweigungspunkt bei $PTH_3 = 1.71$ auf. Ab diesem Punkt bewegt sich das System auf den anderen möglichen stationären Zustand zu, bei welchem $ob = ob_{PTH} = 0$ gilt.

Abbildung 5.7 zeigt die Veränderung der stationären Zustände für Osteoblasten und Osteoklasten für veränderte PTH-Werte.

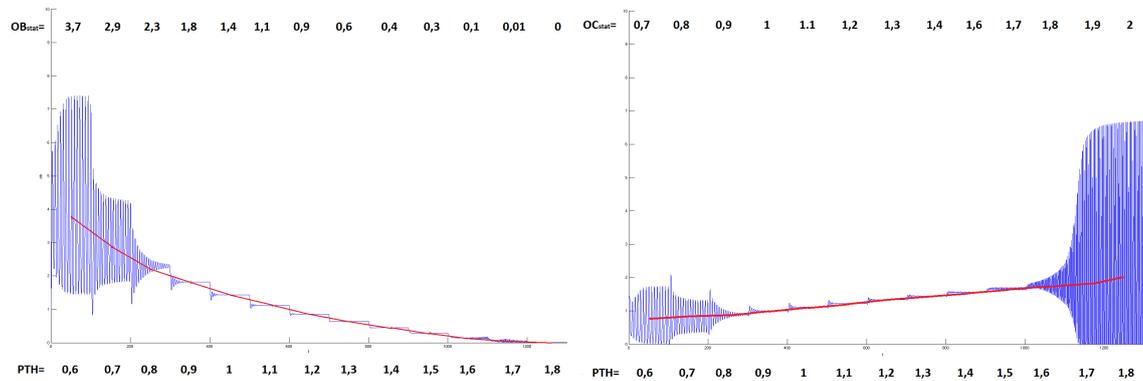


Abbildung 5.7: **Entwicklung der Osteoblasten und der Osteoklasten nach Sprüngen des PTH-Wertes; Links:** Osteoblasten; **Rechts:** Osteoklasten; Die rote Linie stellt den berechneten stationären Zustand mit dem jeweiligen PTH-Wert dar.

Bewertung

Das System weist ein plausibles Verhalten auf. Aufgrund von Kalziummangel wird in der Nebenschilddrüse PTH vermehrt ausgeschieden. Dieses wirkt als Eingangssignal auf das System. Je niedriger der PTH-Wert ist, desto höher ist die

Amplitude der Osteoblasten. Diese wird mit steigendem PTH-Wert immer niedriger, wohingegen die Anzahl der Osteoklasten steigt. Übersteigt der PTH-Wert eine bestimmte Grenze, weist das System gedämpfte Oszillationen auf. Mit weiter steigendem PTH-Wert wird vor allem die Osteoklastenamplitude größer und ab einer weiteren Grenze treten für alle Komponenten wieder beständige Oszillationen auf. Ab einem bestimmten Punkt ist der PTH-Wert so groß, dass es keine Osteoblasten und somit auch keine Osteoblasten mit gebundenem PTH mehr geben kann. Das System nimmt in diesem Fall den stationären Zustand 2, welcher bereits aus dem veränderten Modell von Akchurin et al. [5] bekannt ist, an. Eine weitere Vergrößerung von PTH über diesen Punkt hinaus hat keinen Einfluss mehr auf das System, da es in der analytischen Berechnung dieses stationären Zustandes nicht mehr vorkommt. Da allerdings bereits vor diesem Zeitpunkt Knochen durch die Osteoklasten abgebaut und somit Kalzium freigesetzt werden würde, gäbe es über die Nebenschilddrüse eine Rückkoppelung auf PTH. Diese wurde nicht modelliert.

5.3 RANKL und OPG

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor, welcher in das System integriert werden sollte, ist RANKL. Dieses wird, wie bereits beschrieben, von den Osteoblasten exprimiert. Trifft es auf RANK, welches als Rezeptor auf hämatopoetischen Vorläuferzellen zu finden ist, reifen diese zu Osteoklasten.

Hierfür wurden lediglich die Gleichungen für die Monozyten und die Osteoklasten durch Ergänzung mit dem Faktor R folgendermaßen modifiziert:

$$\frac{dm}{dt} = (k_9 - k_{10}R - k_{16} - k_{11}oc - k_7ob_{PTH})m$$

$$\frac{doc}{dt} = (k_{11}m - k_{12})oc + k_7ob_{PTH} \cdot m - k_{14}f + k_{10}R \cdot m$$

Zunächst wurde die Wirkungsweise von RANKL als Parameter auf das System untersucht (Abb. 5.8). Dieser hat lediglich Einfluss auf die Differenzierung der Osteoklasten und ist unabhängig von der Menge an Osteoblasten mit gebundenem PTH.

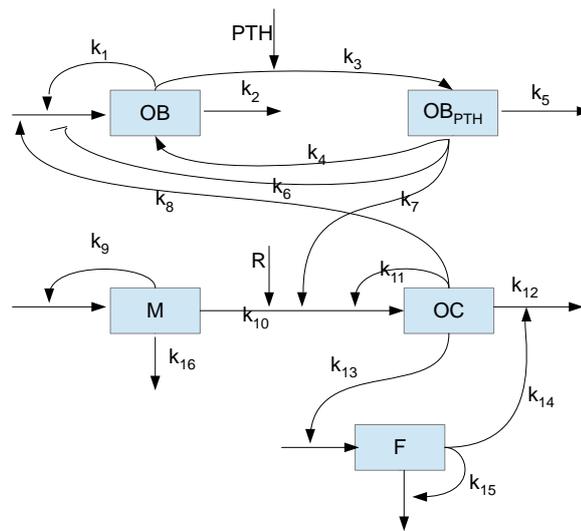


Abbildung 5.8: Modell ergänzt mit dem Parameter R für RANKL; Mechanismen wie in Abbildung 5.4 beschrieben, zusätzlich wirkt der Parameter R auf die Osteoklastenreifung

Am in Abbildung 5.9 dargestellten Ergebnis wird deutlich, dass RANKL auch im mathematischen System einen wichtigen Bifurkationsparameter darstellt und somit die biologischen Verhältnisse abbildet (CD: Matlab: RANKL_Parameter).

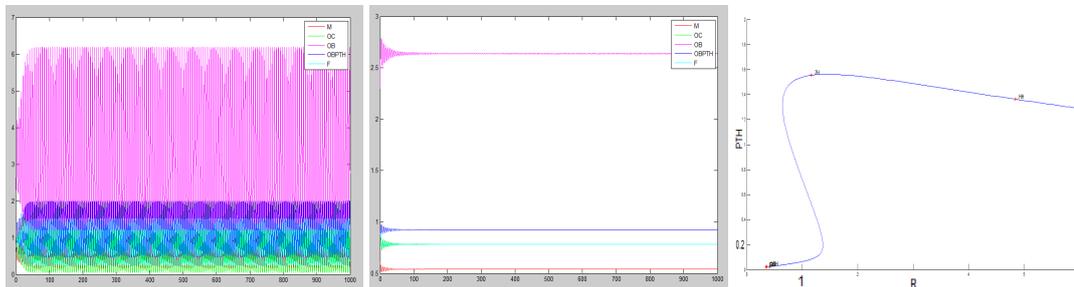


Abbildung 5.9: Mit Parameter R modifiziertes System bei Variation der Parameter; Wird dieser Parameter verringert wird die Oszillationsamplitude und auch die Werte des stationären Zustands größer. Ist mehr RANKL im System vorhanden, ändert sich das Systemverhalten, es treten gedämpfte Oszillationen auf und es sind weniger Osteoblasten und mehr Osteoklasten vorhanden; **Links:** $PTH = 0.7$, $R = 0.9$; **Mitte:** $PTH = 0.7$, $R = 1.1$; **Rechts:** Verhalten des Hopfpunktes bei Variation der Parameter PTH und $RANKL$, der oszillatorische Bereich befindet sich unterhalb des Graphen.

Im Körper geht eine Veränderung des RANKL-Spiegels mit einer Veränderung der PTH-Konzentration einher. Im RANKL-PTH-Bifurkationsdiagramm wird deutlich, wie sensitiv das gesamte System auf das Zusammenspiel der beiden Parameter reagiert.

Auf dieser Grundlage erscheint es durchaus sinnvoll, RANKL als Variable in das System zu integrieren, um die Wirkungsweise beider Einflussfaktoren und deren Wechselwirkung bestmöglich nachbilden zu können.

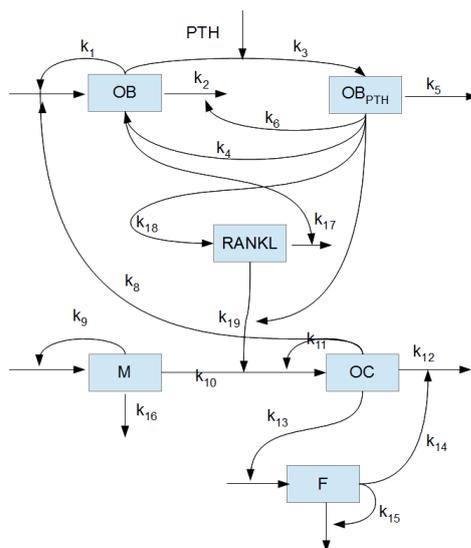


Abbildung 5.10: Modell ergänzt mit der Variable R für RANKL; Mechanismen wie in Abbildung 5.4 beschrieben, zusätzlich wird die Variable RANKL eingeführt, k_7 entfällt, k_{18} - Osteoblasten mit gebundenem PTH exprimieren RANKL auf ihrer Oberfläche, k_{19} - treffen diese Osteoblasten mit gebundenem PTH und RANKL auf die Monozyten, wird die Reifung der Osteoklasten stimuliert, k_{17} - Osteoblasten ohne Einwirkung von PTH exprimieren OPG, dieses bindet an RANKL und macht es somit unwirksam

Neben dem Einfügen der Variable RANKL wurden weitere Veränderungen am Gleichungssystem durchgeführt.

Da die Osteoblasten mit gebundenem PTH nun über RANKL auf die Osteoklastendifferenzierung wirken, entfällt der Parameter k_7 . Des Weiteren wurde für die Osteoblasten, die Monozyten und RANKL eine Sättigungsgrenze (K_1 , K_2 , K_3) zum Zweck eines robusteren Systems implementiert. In der Gleichung für die Osteoklasten wurde der Term $k_{14} \cdot f$ mit oc multipliziert, um eine Negativität der Osteoklasten zu verhindern.

Das folgende Gleichungssystem stellt das endgültige Ergebnis dar.

Gleichungssystem

$$\frac{dob}{dt} = ((k_1 + k_8 oc) \left(1 - \frac{ob}{K_1}\right) - k_2 - k_3 PTH) ob + k_4 ob_{PTH} - k_6 ob_{PTH}$$

$$\frac{dob_{PTH}}{dt} = (-k_4 - k_5) ob_{PTH} + k_3 PTH \cdot ob$$

$$\frac{dR}{dt} = k_{18} \left(1 - \frac{R}{K_3}\right) ob_{PTH} - k_{17} ob \cdot r$$

$$\frac{dM}{dt} = \left(k_9 \left(1 - \frac{M}{K_2}\right) - k_{10} k_{19} R \cdot ob_{PTH} - k_{16} - k_{11} oc\right) M$$

$$\frac{doc}{dt} = (k_{11} M - k_{12}) oc + k_{10} k_{19} R \cdot ob_{PTH} M - k_{14} f \cdot oc$$

$$\frac{df}{dt} = k_{13} oc - k_{15} f$$

Die Interaktionen zwischen den Monozyten, den Osteoklasten und dem Faktor F sind aus dem Modell von Akchurin et al. [5] entnommen und wurden wie oben bereits beschrieben modifiziert. Der Faktor F kann als $TGF\beta$ interpretiert werden. Lemaire et al. [18] schreibt $TGF\beta$ einen Einfluss auf die Osteoklastenapoptose zu (k_{14}). Freigesetzt wird das zuvor in den Knochen eingemauerte $TGF\beta$ durch Knochenabbau und somit durch die Aktivität der Osteoklasten (k_{13}) [14, 18]. Ob $TGF\beta$ abhängig von der Konzentration zum eigenen Abbau beiträgt, ist unklar (k_{15}). Die Mechanismen k_3 (mit PTH), k_6 und k_4 wurden, auf Basis der von Qin et al. geschilderten Experimente [6], mathematisch in das System eingefügt. Darüber hinaus kann der von Kroll et al. [19] beschriebene und von PTH abhängige Effekt von IL-6 auf die Osteoblastendifferenzierung mit der von k_6 verglichen werden.

Osteoblastengnese wird durch Osteoblasten selbst und durch Osteoklasten stimuliert (k_1, k_8). Es findet ein konstanter Abbau der Osteoblasten und der Osteoklasten statt (k_2, k_5). Diese Wirkungsweisen sind auf ähnliche Weise in den Modellen von Komarova et al. [2, 3] zu finden.

Der Parameter k_{17} stellt den in der allgemeinen Literatur beschriebenen Einfluss von OPG dar. Sobald dem System PTH zugefügt wird, lässt dieser nach, da weniger Osteoblasten und mehr Osteoblasten mit gebundenem PTH vorhanden sind. Die Osteoblasten mit gebundenem PTH exprimieren vermehrt RANKL (k_{18}). Für die Differenzierung von hämatopoetischen Vorläuferzellen zu Osteoklasten bedarf es nun der Osteoblasten, welche RANKL auf der Oberfläche tragen. Treffen diese auf die Monozyten mit gebundenem RANK, werden diese zu Osteoklasten. Der Term $k_{10}k_{19}ob_{PTH}R \cdot M$ beschreibt somit die Notwendigkeit all dieser Einflüsse für die Osteoklastengnese.

Analyse

Das System wurde erneut mit beliebigen Parametern implementiert (CD: Matlab: RANKL_Variable). Das Ergebnis ist in Abb. 5.11 dargestellt. Zunächst traten unterschiedliche Oszillationsamplituden auf. Diese konnten durch die Verwendung direkt auf dem Grenzyklus liegender Anfangswerte behoben werden. Die Berechnung dieser Anfangswerte sowie der exakten Zykluslänge wurde mit der am Zuse-Institut entwickelten Software PERIOD² durchgeführt.

²<http://www.zib.de/de/numerik/software/newtonlib.html>

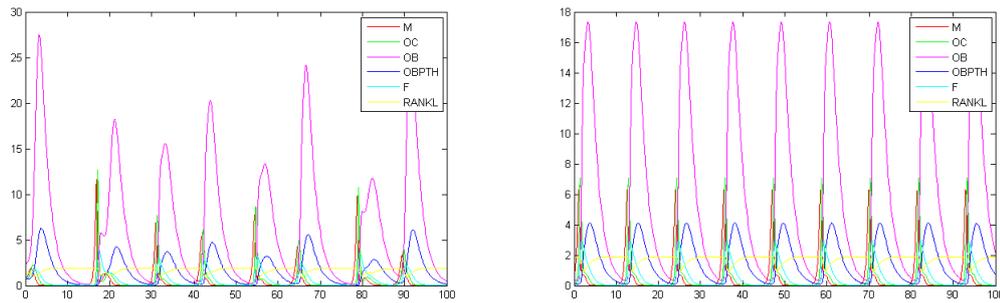


Abbildung 5.11: System vor und nach der Berechnung der Anfangswerte auf dem Grenzyklus durch **PERIOD**; **Links**: Startet die Berechnung nicht direkt auf dem Grenzyklus tritt quasiperiodisches Verhalten auf **Rechts**: Der Grenzyklus konnte durch Berechnung der Anfangswerte mit der Software **PERIOD** gefunden werden

Ein Zyklus hat in diesem System mit dem Wert $PTH = 0.5$ ca. eine Länge von 12 Zeiteinheiten. Um vor einer Parameterschätzung die Zykluslänge möglichst nah an die realen Begebenheiten anzupassen, wurden alle linear integrierten Parameter mit einem Faktor $tfac = 0.1$ multipliziert. Ein Umskalieren der Zeit ist auf diese Weise in autonomen Systemen möglich. Bei einem Wert für $PTH = 0.1$ und erneuter Anfangswertanpassung wurden Ergebnisse erreicht, die sehr nah an den experimentellen Daten liegen (Abb. 5.12).

Folgende von der Osteoklasten- und Osteoblastenanzahl abhängige Gleichung wurde zur Beschreibung des Verhaltens der Knochenmasse verwendet:

$$\frac{dkm}{dt} = -k_{20}oc \cdot km + k_{21}ob$$

Die Knochenmasse ist dimensionslos.

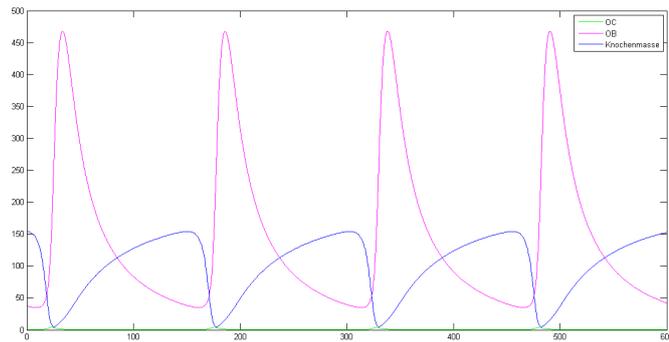


Abbildung 5.12: Verhalten der Osteoblasten, Osteoklasten und der Knochenmasse unter physiologischen Bedingungen; $tfac = 0.1$, $PTH = 0.1$, $k_1 = k_2 = k_3 = k_4 = k_5 = k_6 = k_{10} = k_{11} = k_{12} = k_{13} = k_{14} = k_{15} = k_{21} = 1 \cdot tfac$, $k_8 = 0.9 \cdot tfac$, $k_9 = 3 \cdot tfac$, $k_{16} = 0.1 \cdot tfac$, $k_{17} = 0.3 \cdot tfac$, $k_{18} = 2.1 \cdot tfac$, $k_{19} = 1$, $k_{20} = 30 \cdot tfac$, $K_1 = 1000$, $K_2 = 1000$, $K_3 = 10$, $ob_0 = 37.37$, $ob_{PTH_0} = 1.99$, $M_0 = 0.98$, $oc_0 = 0.024$, $f_0 = 0.0081$, $R_0 = 0.36$, $km_0 = 154.19$

Bewertung

Ein Knochenremodellierungszyklus dauert in diesem Modell ca. 140 Tage. Dies korreliert mit den experimentell gemessenen Werten von 3-5 Monaten. Auch das Verhältnis von Aufbau- zu Abbauphase spiegelt die realen Begebenheiten sehr gut wider. Die Anzahl der Osteoblasten schwankt zwischen 40 und 460, die der Osteoklasten zwischen 1 und 5. Auch dieses Verhältnis stimmt mit den Experimenten überein.

Da viele der anderen im Modell integrierten Komponenten experimentell noch nicht gemessen werden konnten, die bekannten Größen allerdings sehr gut abgebildet werden, ist eine Parameterschätzung an diesem Modell nicht nötig.

Das System beschreibt die Mechanismen gut genug, um im Folgenden ein pathologisches Osteoporoseverhalten simulieren zu können und an diesem den Einfluss von Estradiol, Estradiol-Therapie und der Therapie mit intermittierendem PTH analysieren zu können.

Die geplante Parameterschätzung wird im Anschluss daran an dem kleinen modifizierten Modell von Akchurin et al. [5] durchgeführt.

5.4 Einfluss von Estradiol auf den Knochenstoffwechsel

Estradiol ist nicht gleichmäßig im Körper vorhanden, sondern unterliegt einem wiederkehrenden zyklischen Verlauf. Die Menge an ausgeschüttetem Estradiol ist abhängig von der Zyklusphase. Bei Frauen tritt ein erster Peak kurz vor dem

Eisprung und ein zweiter in der Mitte der zweiten Zyklushälfte auf (Abb. 5.13) [24, 25]. Da es über den Einfluss von Estradiol auf den Knochenstoffwechsel bei Männern erst wenige gesicherte Ergebnisse gibt und durch den späteren Abfall der Östrogene Osteoporose eine bedeutend geringere Rolle spielt, beziehen sich die weiteren Modellierungen auf den weiblichen Zyklus sowie die in der Menopause durch Östrogenmangel bedingte Osteoporose.

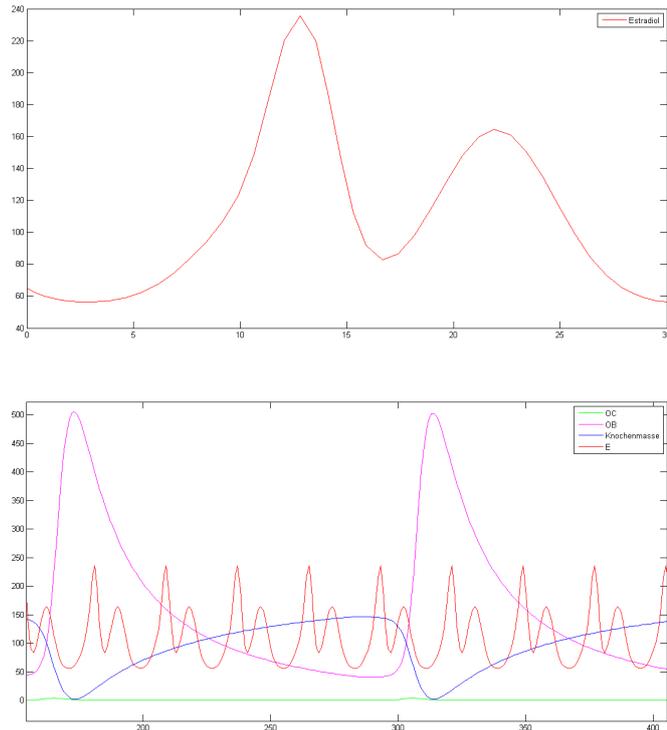


Abbildung 5.13: **Modellierung von Estradiol**; **Oben**: Estradiolmenge in $\frac{ng}{l}$ mit einer Zykluslänge von 28 Tagen; **Unten**: In das System integriertes Estradiol. Es finden mehrere Estradiolzyklen während eines kompletten Knochenremodellierungszyklus statt.

Die Implementierung des Estradiolverlaufs in das Differentialgleichungssystem erfolgte in Matlab (CD : Matlab : Estradiol) mit Hilfe der Modulo-Funktion, zur Darstellung des periodischen Verhaltens, als Ableitung folgender Funktion mit der Zykluslänge $L = 28$:

$$E = 55 + 110 \cdot e^{\frac{-(\text{mod}(t,L)+6)^2}{15}} + 60 \cdot e^{\frac{-(\text{mod}(t,L)-11)^2}{15}} + 135 \cdot e^{\frac{-(\text{mod}(t,L)-13)^2}{4}} \\ + 110 \cdot e^{\frac{-(\text{mod}(t,L)-22)^2}{15}} + 60 \cdot e^{\frac{-(\text{mod}(t,L)-39)^2}{15}}$$

Die Ableitung lautet:

$$\begin{aligned}
 E' = & 110 \cdot e^{-\frac{(\text{mod}(t,L)+6)^2}{15}} \cdot \frac{-2 \cdot (\text{mod}(t,L)+6)}{15} + 60 \cdot e^{-\frac{(\text{mod}(t,L)-11)^2}{15}} \cdot \frac{-2 \cdot (\text{mod}(t,L)-11)}{15} \\
 & + 135 \cdot e^{-\frac{(\text{mod}(t,L)-13)^2}{4}} \cdot \frac{-2 \cdot (\text{mod}(t,L)-13)}{4} + 110 \cdot \exp^{-\frac{(\text{mod}(t,L)-22)^2}{15}} \cdot \frac{-2 \cdot (\text{mod}(t,L)-22)}{15} \\
 & + 60 \cdot e^{-\frac{(\text{mod}(t,L)-39)^2}{15}} \cdot \frac{-2 \cdot (\text{mod}(t,L)-39)}{15}
 \end{aligned}$$

Estradiol hemmt die Produktion von RANKL und steigert gleichzeitig die Produktion von OPG. OPG bindet an das vorhandene RANKL und macht dieses somit wirkungslos. Dementsprechend beeinflusst Estradiol die Mechanismen k_{18} und k_{17} sowie ausschließlich die Komponente RANKL. Die Gleichung wurde folgendermaßen verändert:

$$\frac{dR}{dt} = \frac{k_{18}}{1+E} (1 - \frac{R}{K_3}) ob_{PTH} - k_{17} ob \cdot r \cdot (0.001 + E)$$

Um den Einfluss einer Variation von Estradiol auf die Knochenmasse zu untersuchen, wurde dieses zunächst als Parameter in das System integriert (Abb. 5.14). Es wird ersichtlich, dass der realistische Effekt, nämlich ein gesteigertes Knochenwachstum bei steigender Estradiolkonzentration, bei Werten zwischen 0 und ca. 0.1 auftritt. Dies macht eine Modifikation nötig, welche die experimentell gemessenen Konzentrationen von 60 bis 240 $\frac{ng}{l}$ an die im Modell relevanten Konzentrationen anpasst (CD: Matcont: Estrad).

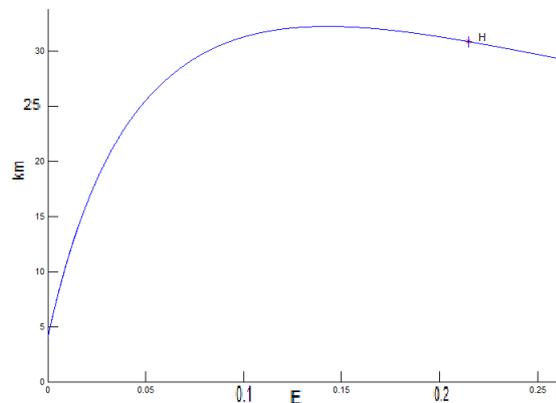


Abbildung 5.14: Veränderung der Knochenmasse bei Variation des Parameters E für Estradiol

Zu diesem Zweck wurde ein Schwellwert $T = 1000 \frac{ng}{l}$ eingeführt, durch welchen die relevanten Terme, in welche Estradiol integriert ist, geteilt wurden. Um im

Folgenden Osteoporose besser simulieren zu können, wird die Knochenmasse nun als ein bestimmtes Areal, also als die Masse, welche von Osteoklasten in gleichem Maße ab- wie von Osteoblasten aufgebaut wird, angesehen. Simulierte Osteoporose bedeutet demnach eine negative Knochenmasse, da die Osteoklasten mehr von diesem Areal abbauen als wieder aufgebaut werden kann. Ist hingegen mehr Östrogen vorhanden, wie beispielsweise in der Pubertät, nimmt die Knochenmasse stetig zu.

Die neue Gleichung wurde folgendermaßen auch von Komarova et al. [2, 3] implementiert:

$$\frac{dkm}{dt} = -k_{20}oc + k_{21}ob$$

Des Weiteren wurde ein Faktor f_a in das System integriert, welcher den prozentualen Einfluss des Estradiol beschreibt. Die Gleichung für RANKL mit diesen Veränderungen und der oben beschriebenen Funktion für Estradiol lautet nun:

$$\frac{dyR}{dt} = \frac{k_{18}}{1000 + f_a \cdot E} \cdot \frac{1-R}{K_3} \cdot ob_{PTH} - k_{17} \cdot ob \cdot R \cdot \frac{1 + f_a \cdot E}{T}$$

Analyse

Das in Abbildung 5.15 dargestellte Ergebnis stimmt sehr gut mit der experimentellen Literatur überein. Vor allem ist auch eine Übereinstimmung mit der Erkenntnis, dass ein Mangel an Östrogen die gesamte Remodellierung verzögert, feststellbar [21].

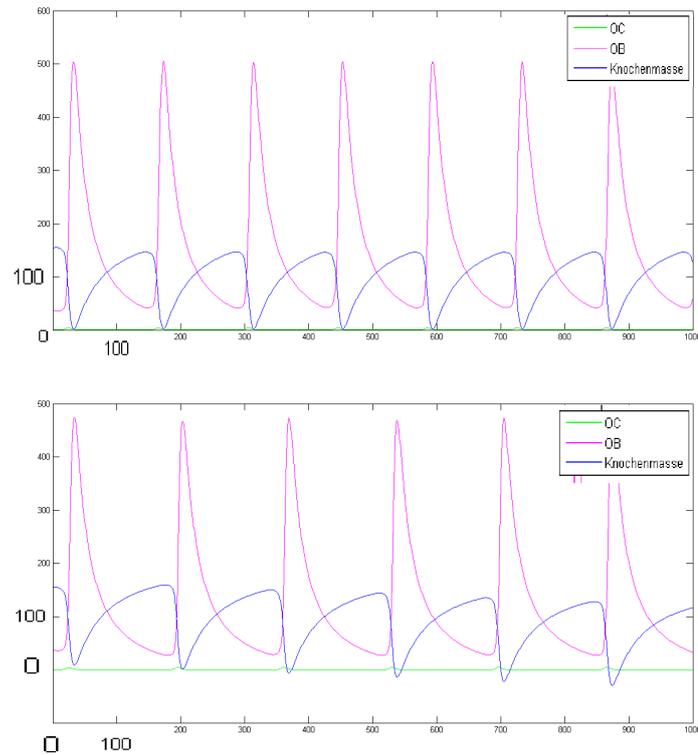


Abbildung 5.15: Verlauf der Knochenmasse, Osteoklasten und Osteoblasten bei normalem und vermindertem Östrogenlevel für 1000 Tage; **Oben:** $tfac = 0.1$, $PTH = 0.1$, $k_1 = k_2 = k_3 = k_4 = k_5 = k_6 = k_{10} = k_{11} = k_{12} = k_{13} = k_{14} = k_{15} = 1 \cdot tfac$, $k_8 = 0.9 \cdot tfac$, $k_9 = 3 \cdot tfac$, $k_{16} = 0.1 \cdot tfac$, $k_{17} = 3 \cdot tfac$, $k_{18} = 2.1 \cdot tfac$, $k_{19} = 1$, $k_{20} = 40.45 \cdot tfac$, $k_{21} = 0.1 \cdot tfac$ $K_1 = 1000$, $K_2 = 1000$, $K_3 = 10$, $L = 28$, $T = 1000$, $f_a = 1$, Es finden 6 volle Remodellierungszyklen statt, die gleiche Menge an Knochen wird ab- und aufgebaut, ein Zyklus dauert ca. 140 Tage; **Unten:** $f_a = 0.8$, Nachgebildete Osteoporose. Mehr Knochen wird ab- als aufgebaut. Es finden 5 volle Zyklen statt, ein Zyklus dauert ca. 170 Tage.

Um auch die Wirkung von synthetisch gegebenem Estradiol auf das System untersuchen zu können wurde folgende Schleife in das System integriert (CD: Matlab: Therapie_Estradiol):

$$t_D = 50$$

$$\beta = 0.3$$

$$c = 1$$

$$D = 7000$$

$$n = 350$$

for $ind = 1 : n$;

$$\frac{dE_{syn}}{dt} = \frac{dE_{syn}}{dt} + D \cdot \beta^2 \cdot \max(0, t - (td + ind)) \cdot e^{(-\beta \cdot \max(0, t - (td + ind)))} - c \cdot E_{syn};$$

end

Der Parameter D beschreibt die Menge der täglich verabreichten Dosis, c die Abbaurrate des synthetischen Estradiol, t_D den Tag der ersten Verabreichung für n Tage.

Die Funktion

$$\max(0, t - (td + ind)) \cdot e^{(-\beta \cdot \max(0, t - (td + ind)))}$$

bewirkt, dass der Anstieg der Konzentration direkt nach der Verabreichung stark ist, sich dann der Null nähert, worauf ein Abfall der Funktion folgt.

Mit dieser Parameterzusammensetzung erfolgt eine neue Verabreichung ehe die Konzentration wieder gesunken ist, sodass sich eine nur leicht schwankende Konzentration des Medikaments im Blut auf einem konstanten Level einstellt (Abb. 5.16).

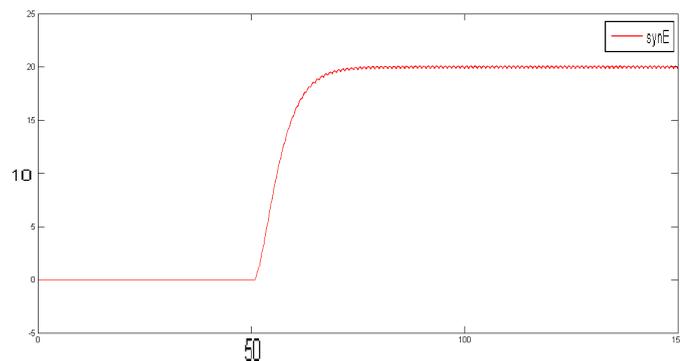


Abbildung 5.16: Verlauf des synthetischen Estradiol mit den im Text definierten Parameterwerten; Die Medikamenteneinnahme beginnt an Tag 50, durch tägliche Einnahme steigt die Konzentration bis zu einem bestimmten Level und bleibt dort nahezu konstant, bis die Medikamenteneinnahme eingestellt wird.

Die Komponente des synthetischen Estradiols beeinflusst das Gesamtsystem durch seine Wirkung auf die Komponente RANKL in folgender Form:

$$\frac{dyR}{dt} = \frac{k_{18}}{\frac{1000 + fa \cdot E + E_{syn}}{T}} \cdot \frac{1-R}{K_3} \cdot ob_{PTH} - k_{17} \cdot ob \cdot R \cdot \frac{1 + fa \cdot E + E_{syn}}{T}$$

Der Effekt der Medikamentengabe ist in Abbildung 5.17 zu sehen. Der in Abbildung 5.15 dargestellte negative Effekt des Mangels an Estradiol kann durch das synthetische Estradiol behoben werden. Die Länge des Remodellierungszyklus sowie das Verhältnis zwischen Knochenauf- und Knochenabbau wird normalisiert.

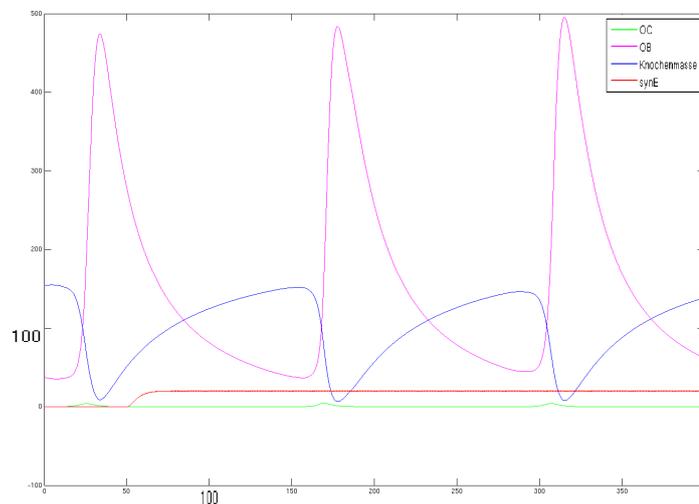


Abbildung 5.17: Einfluss von täglich Verabreichtem synthetischen Estradiol auf die Knochenremodellierung; Die Medikamentengabe erfolgt vom 50. Tag bis zum 400. Tag

Bewertung

Durch die modellierte Therapie mit Estradiol kann die Osteoporose verhindert werden. Außerdem wird auch die Zykluslänge wieder kürzer.

5.5 Einfluss von intermittierend gegebenem PTH

Der Einfluss von intermittierend gegebenem synthetischen PTH wurde ähnlich zur Medikamentengabe von Estradiol implementiert. Allerdings war für eine Annäherung an die Experimente wichtig, dass die Konzentration des Medikaments im Laufe des Tages wieder sinkt.

Der Konzentrationsverlauf von synthetischem PTH, welches folgendermaßen implementiert wurde (CD : Matlab : Therapie_PTH)

$$t_D = 200$$

$$\beta = 10$$

$$c = 2$$

$$D = 10$$

$$n = 300 :$$

for ind = 1 : n;

$$\frac{dPTH_{syn}}{dt} = \frac{dPTH_{syn}}{dt} + D \cdot \beta^2 \cdot \max(0, t - (td + ind)) \cdot e^{(-\beta \cdot \max(0, t - (td + ind)))} - c \cdot PTH_{syn};$$

end

ist in Abbildung 5.18 dargestellt.

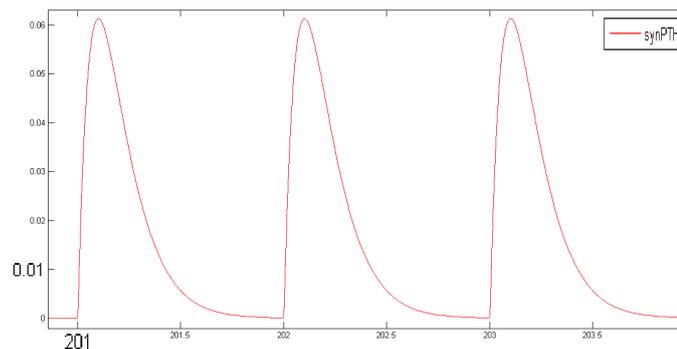


Abbildung 5.18: Konzentrationsverlauf von täglich verabreichtem synthetischen PTH

Die Integration dieser Komponente in das System war mit einigen Problemen verbunden. Zunächst ist die Informationslage darüber, wie genau intermittierendes PTH wirkt, unklar. Eine einfache Addition zum Parameter PTH hatte allerdings trotz vieler verschiedener Parametervariationen keinen positiven Einfluss auf die Knochenmasse (Abb. 5.19).

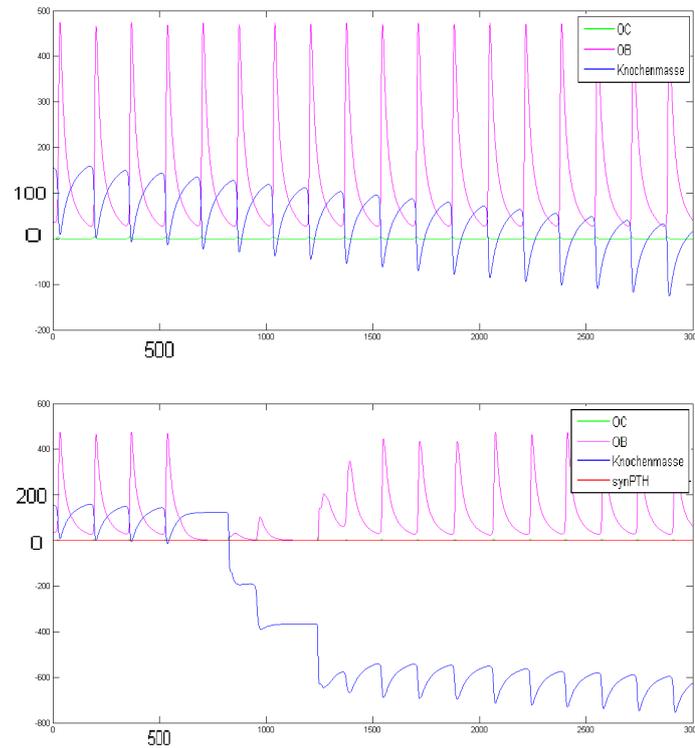


Abbildung 5.19: Vergleich von unbehandelter Osteoporose und Osteoporose behandelt mit PTH (addiert zum Parameter PTH); Osteoklasten, Osteoblasten- und Knochenmassenverlauf für 3000 Tage; **Oben:** Ohne synthetisches PTH (addiert zum Parameter PTH) und nachgebildeter Osteoporose ($fa = 0.8$); **Unten:** Mit Medikamentengabe (addiert zum Parameter PTH) von Tag 500 bis Tag 1000 und nachgebildeter Osteoporose ($fa = 0.8$), die Knochenmasse nimmt zur Zeit der Medikamentengabe drastisch ab und sinkt danach weiter in der Geschwindigkeit, die auch ohne Medikamentengabe zu beobachten ist

Da dieses Ergebnis nicht die Realität widerspiegelt, wurde sich im Weiteren auf Ergebnisse bezogen, welche intermittierend verabreichtem PTH eine Wirkung an anderer Stelle zuschreiben als der, an welcher das basale PTH wirkt. Nach diesen Ergebnissen wirkt intermittierend vorhandenes PTH positiv auf die Bildung von Osteoblasten.

Dementsprechend wurde die Gleichung für die Osteoblasten modifiziert:

$$\frac{dob}{dt} = ((k_1 + k_8 oc)(1 - \frac{ob}{K_1}) \cdot (1 + PTH_{syn}) - k_2 - k_3 PTH) ob + k_4 ob_{PTH} - k_6 ob_{PTH}$$

Auf diese Art kann eine effektive Therapie von Osteoporose durch synthetisches PTH simuliert werden (Abb. 5.20), wobei zu vermuten wäre, dass auch konstant implementiertes PTH einen kurativen Effekt an dieser Stelle bewirken würde.

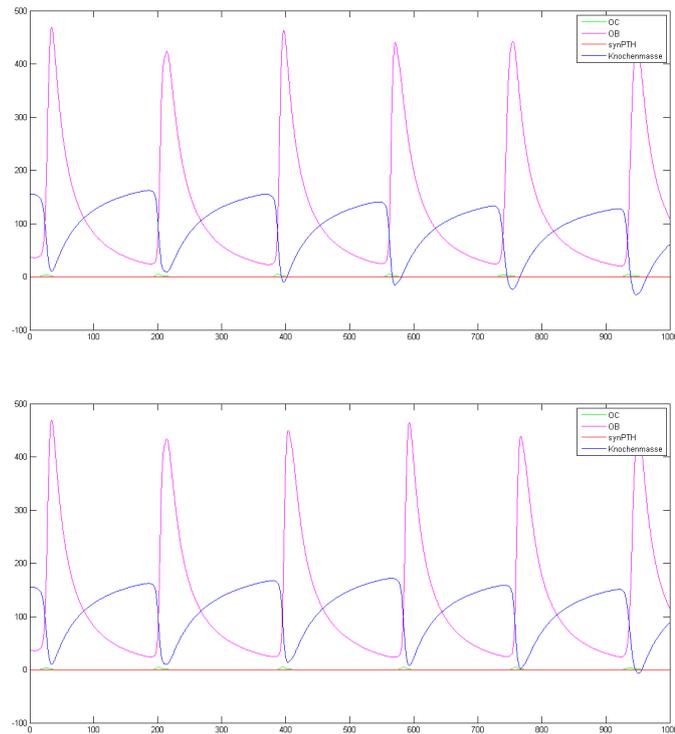


Abbildung 5.20: Vergleich von unbehandelter Osteoporose und Osteoporose behandelt mit PTH (Einfluss auf Osteoblastengnese); Oben: unbehandelte Osteoporose; Unten: Osteoporose behandelt mit PTH von Tag 200 bis 500. Die Zykluslänge wird nicht beeinflusst. Zur Zeit der Therapie wird der Knochenaufbau positiv beeinflusst, sodass die Knochenmasse aufrechterhalten wird. Nach Absetzen des Medikamentes nimmt die Osteoporose weiter den auch im oberen Bild zu sehenden Verlauf.

6 Parameterschätzung

6.1 Parameteridentifizierung in Differentialgleichungen

6.1.1 Problemformulierung

Gegeben ist folgendes Differentialgleichungssystem:

- n Spezies, $y \in \mathbb{R}^n$
- q unbekannte Parameter p , $p \in \mathbb{R}^q$
- Modell: $y' = f(y, p)$ mit $y(0) = y_0$

Außerdem ist ein aus Experimenten gewonnener Datensatz mit m Messwerten vorhanden:

$$(t_1, z_1), \dots, (t_m, z_m), t_j \in \mathbb{R}, z_j \in \mathbb{R}^n, m > q$$

Für jede Spezies kann eine individuelle Messtoleranz bestimmt werden:

$$\delta z_j \in \mathbb{R}^n$$

Die Messtoleranzen werden in der Diagonalmatrix

$$D_j = \text{diag}(\delta z_j) \in \mathbb{R}^{n \times n}$$

dargestellt.

Die Abweichung zwischen dem Modell und den Daten zu einem bestimmten Zeitpunkt kann in folgendem Vektor dargestellt werden:

$$D_i^{-1} y(t_i, p) - z_i(t_i)$$

Alle Abweichungen sind in folgender Matrix enthalten:

$$\bullet F(p) := \begin{pmatrix} D_1^{-1} y(t_1, p) - z_1(t_1) \\ D_2^{-1} y(t_2, p) - z_2(t_2) \\ \vdots \\ D_m^{-1} y(t_m, p) - z_m(t_m) \end{pmatrix} \in \mathbb{R}^{m \times n}$$

Die Minimierung der Abweichung zwischen Modell und Daten wird als kleinste-Quadrate-Problem formuliert:

$$g(x) := \|F(p)\|_2^2 = \sum_{i=1}^m \|D_i^{-1} y(t_i, p) - z_i(t_i)\|_2^2 \Rightarrow \min$$

Für dieses Problem wird die Gauß-Newton-Methode angewandt. Diese wurde dem Buch "Numerical Analysis in Modern Scientific Computing" von Deufelhard und Hohmann entnommen [12].

6.2 Gauß-Newton-Methode für nichtlineare kleinste-Quadrate-Probleme

6.2.1 Verfahren

p^* ist ein lokales Minimum von

$$g(p) := \|F(p)\|_2^2 = \min$$

wenn die beiden Bedingungen

$$g'(p^*) = 0 \text{ und } g''(p^*) \text{ ist positiv definit}$$

erfüllt sind.

Da gilt

$$g'(p) = 2F'(p)^T F(p)$$

muss das folgende aus n nichtlinearen Gleichungen bestehende System gelöst werden:

$$G(p) := F'(p)^T F(p) = 0$$

Die Newton-Iteration für dieses System lautet:

$$G'(p^k)\Delta x^k = -G(p^k)$$

Unter folgender Bedingung

$F : D \subset \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^m$ ist eine zweimal stetig differenzierbare Funktion $F \in C^2(D)$ in $D \subset \mathbb{R}^n$

ist die Jacobi-Matrix

$$G'(p) = F'(p)^T F(p) + F''(p)^T F(p)$$

in unmittelbarer Nähe von p^* positiv definit und somit invertierbar.

Sollten das Modell und die Daten in p^* vollständig übereinstimmen, also kompatibel sein, dann gilt:

$$F(p^*) = 0 \text{ und } G'(p^*) = F'(p^*)^T F'(p^*)$$

Die Bedingung, dass $G'(p^*)$ positiv definit ist, ist äquivalent mit der Bedingung, dass $F'(p^*)$ vollen Rang n hat.

Für nahezu kompatible nichtlineare kleinste-Quadrate-Probleme kann die Berechnung des Tensors $F''(p)$ ausgelassen werden.

Mit dieser Modifikation der Jacobi-Matrix ergibt sich folgende Gauß-Newton-Vorschrift:

$$F'(p^k)^T F'(p^k) \Delta p^k = -F'(p^k)^T F(p^k)$$

Jeder Iterationsschritt bedeutet das Lösen eines Normalgleichungssystems der Form:

$$A^T A \Delta p = A^T b$$

Für den Fall, dass $F'(p^k)^T F'(p^k)$ vollen Rang hat, gilt:

$$F'(p^k)^T F'(p^k) \Delta p^k = -F'(p^k)^T F(p^k) \Leftrightarrow F'(p^k) \Delta p^k = -F(p^k)$$

Die Normalgleichung ist allerdings schlecht konditioniert. Stattdessen wird die neue Minimierungsaufgabe

$$\|F'(p^k) * \Delta p^k + F(p^k)\|_2 \longrightarrow \min$$

gelöst.

Die formale Lösung hierfür lautet:

$$\Delta p^k = -F'(p^k)^+ F(p^k) \text{ mit } x^{k+1} = x^k + \Delta x^k$$

$F'(p^k)^+$ steht hierbei für die Moore-Penrose-Pseudoinverse, welche mittels QR-Zerlegung in jedem Iterationsschritt berechnet wird.

Falls $F'(p^k)$ vollen Rang hat, gilt:

$$F'(p^k)^+ = (F'(p^k)^T F'(p^k))^{-1} F'(p^k)$$

6.2.2 Konvergenz

Das Newton-Verfahren konvergiert quadratisch, was bedeutet, dass

$$\|p^{k+1} - p^*\| \leq \frac{\varpi}{2} * \|p^{k+1} - p^*\|^2$$

Diese quadratische Konvergenz geht beim Gauß-Newton-Verfahren verloren. Hier gilt:

- $\|p^{k+1} - p^*\| \leq \frac{\varpi}{2} * \|p^k - p^*\|^2 + \kappa_* \|p^k - p^*\|$ mit $\varpi > 0$ und $0 \leq \kappa_* < 1$

κ_* heißt Inkompatibilitätsfaktor und muss die Konvergenzbedingung $\kappa_* < 1$ erfüllen, damit von einem adäquaten Problem gesprochen werden kann.

Für kompatible Probleme mit $F'(p^*) = 0$ gilt $\kappa_* = 0$. Der Inkompatibilitätsfaktor wird bei jedem Iterationsschritt durch POEM, welches den NLSCON-Algorithmus verwendet (entwickelt im Zuse-Institut Berlin), berechnet. Hat $F'(p^*)$ vollen Rang, so ist p^* eindeutig bestimmt. Ansonsten gilt:

Welche Parameter und wie viele von ihnen am besten geschätzt werden können, kann durch die Sensitivität der einzelnen Parameter in Form von Subkonditionen und Spaltennorm der Sensitivitätsmatrix bestimmt werden.

6.2.3 Aufbau, Berechnung und Analyse der Sensitivitätsmatrix

Aufbau

Die Sensitivitätsmatrix S hat folgende Gestalt:

$$S = F'(p) = \begin{pmatrix} \frac{\partial F(p)}{\partial p_1} & \frac{\partial F(p)}{\partial p_2} & \dots & \frac{\partial F(p)}{\partial p_q} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \end{pmatrix} \text{ mit } q \text{ Spalten und } m * n \text{ Zeilen.}$$

Dies entspricht:

$$S = \begin{pmatrix} D_1^{-1} \frac{\partial y(t_1, p)}{\partial p_1} & \dots & D_1^{-1} \frac{\partial y(t_1, p)}{\partial p_q} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ D_m^{-1} \frac{\partial y(t_m, p)}{\partial p_1} & \dots & D_m^{-1} \frac{\partial y(t_m, p)}{\partial p_q} \end{pmatrix}$$

Es wird festgelegt, dass

$$s_{ij} = \frac{\partial y_i}{\partial p_j}$$

die absolute Sensitivität der i -ten Lösung bezüglich des j -ten Parameters ist. Diese Werte sind somit die Elemente des Sensitivitätsvektors s_j für den Parameter p_j . Bei q Parametern und n Gleichungen hat S demnach die Dimension $n \times q$. Um Sensitivitäten trotz verschiedener Größenordnungen von Spezies und Parametern vergleichbar zu machen, werden die Sensitivitäten normiert:

$$s_{ij} = \frac{\partial y_i}{\partial p_j} \frac{\max(|p_j|, p_{trsh})}{\max(|y_i|, y_{trsh})}$$

p_{trsh} und y_{trsh} sind benutzerdefinierte Schwellwerte.

Berechnung

Methoden zur Bestimmung der Sensitivitätsmatrix sind die externe und die interne numerische Differentiation sowie die Lösung der Variationsgleichung. Im Folgenden wird die Lösung der Variationsgleichung beschrieben.

Die Variationsgleichung wird hergeleitet aus dem totalen Differential des Systems:

$$y' = f(y, p) \text{ der nach den Modellparametern } p.$$

Hieraus folgt:

$$\frac{d}{dt}[y' = f(y; p)] \rightarrow \frac{d}{dt}y' = \frac{d}{dt}f(y; p) \rightarrow y'_p = f_y y_p + f_p$$

Somit wird die Sensitivitätsmatrix $S := y_p$ beschrieben durch die sogenannte Variationsgleichung :

$$S' = f_y S + f_p, S(t_0) = 0$$

Durch Lösen von Systemen der Form

$$\begin{pmatrix} y' \\ s'_1 \\ \vdots \\ s'_{nq} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} f \\ f_y s_1 + f_{p_1} \\ \vdots \\ f_y s_{nq} + f_{p_{nq}} \end{pmatrix}$$

kann diese Variationsgleichung mithilfe von LIMEX gelöst werden.

Analyse

Die Analyse der Sensitivitätsmatrix liefert Aussagen über die Eignung einzelner Parameter, geschätzt zu werden. Besondere Bedeutung haben dabei die Sensitivitäten der einzelnen Parameter und deren gegenseitige lineare Abhängigkeit. Ist eine Spalte der Matrix eine Linearkombination der anderen Spalte, beeinflussen die zugehörigen Parameter das System in vergleichbarer Weise und können nicht gemeinsam geschätzt werden.

Außerdem sind Parameter mit keiner oder nur geringer Sensitivität nicht schätzbar.

In diesen Fällen ist die Matrix singulär, was gleichbedeutend ist mit dem Verlust des vollen Ranges der Matrix.

Zur Beurteilung der Schätzbarkeit der Parameter und zum Erkennen der Singularitäten werden im Folgenden die Berechnung der Spaltennorm und der Subkondition und deren Aussage über die Sensitivitätsmatrix erläutert.

Die gewichtete euklidische Norm der j -ten Spalte der Matrix lautet:

$$\|s_j\| = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m s_{ij}^2}$$

Wenn eine Spaltennorm nahezu Null ist, ist die Matrix fast singulär. Geringe Werte sprechen außerdem dafür, dass der Parameter nicht sensitiv ist.

Die Matrix S kann anhand der QR-Zerlegung folgendermaßen umgestaltet werden:

$$S\Pi = QR$$

In diesem Schritt mit Spalten-Pivotisierung findet eine Umordnung der Parameter statt.

Q ist eine orthogonale Matrix und R eine obere Dreiecksmatrix mit den geordneten Diagonalelementen:

$$|r_1| \geq |r_2| \geq \dots \geq |r_n|$$

Die Subkondition der Matrix S :

$$sc = \frac{r_1}{r_n}$$

Darüber hinaus wird jedem Parameter ein Subkonditionswert zugeordnet:

$$sc_j = \frac{r_1}{r_j}$$

Die Parameter werden durch die Umsortierung nach zunehmender Subkondition geordnet. Die Schätzbarkeit der Parameter nimmt mit zunehmender Subkondition ab.

6.3 Parameterschätzung mit POEM

Die Parameterschätzung wurde durchgeführt für das in Abschnitt 5.1. beschriebene und modifizierte Modell von Akchurin et al. [5] Als Datenpunkte wurden die aus den 46 Experimenten gemittelten und normierten Werte für die Anzahl der Osteoklasten verwendet, welche in Abbildung 6.1 zu sehen sind. Diese Daten wurden mit dem Faktor $\frac{1}{100}$ multipliziert, um an die im Modell in einer BMU angenommene Menge angepasst zu werden.

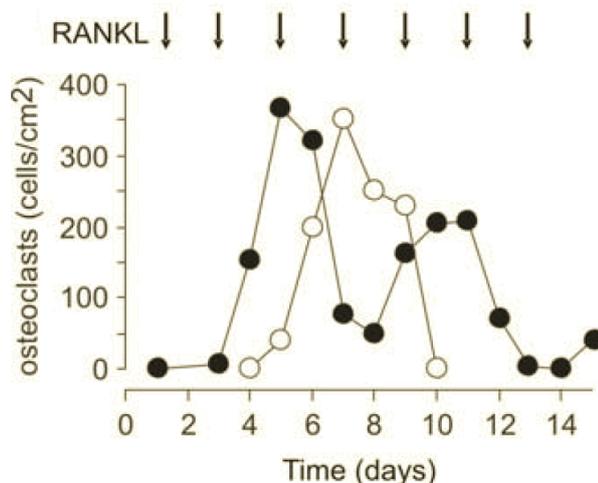


Abbildung 6.1: **Experimentelle Daten von Akchurin et al.**, Die Anzahl der Osteoklasten bei konstanter RANKL-Gabe wird anhand der schwarzen Punkte abgebildet, die weißen Punkte stellen Marker für Osteoklastenapoptose dar

Im Modell selbst wurden die Anfangswerte so festgelegt, dass sie direkt auf dem Grenzyklus starten, und die Periodenlänge in etwa an die experimentellen Daten angeglichen, indem alle linear eingefügten Parameter mit einem Faktor $tfac = \frac{1}{2}$ multipliziert wurden.

Dieses Modell wurde in POEM (Programm auf beigefügter CD) zusammen mit den Datenpunkten verwirklicht. Diese Ausgangssituation ist zu sehen in Abbildung 6.2 (CD: POEM:Problems: bone).

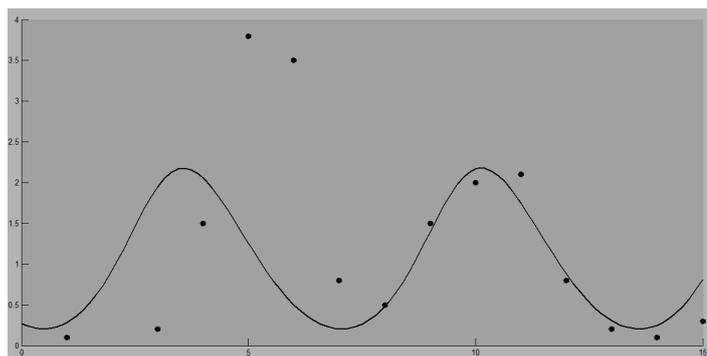


Abbildung 6.2: **Ausgangssituation vor der Parameterschätzung**; Die Veränderung der Osteoklastenanzahl im Verlauf von 15 Tage, Der Graph stellt die Osteoklastenanzahl im Modell dar. Die Punkte zeigen die gemessene Osteoklastenanzahl zu einem bestimmten Zeitpunkt.

Zu Beginn wurde versucht, alle 8 im Modell enthaltenen Parameter k_1 , k_3 , k_5 , k_6 , k_8 , k_9 , k_{10} und k_{11} zu schätzen. Hierfür wurde die Sensitivität der einzelnen Parameter überprüft, um eine Aussage darüber zu erhalten, ob alle Parameter

geschätzt werden können, und wenn dies nicht möglich ist zu erfahren, welche geschätzt werden können, damit der Rang der Matrix voll bleibt.

Abbildung 6.3 zeigt die von POEM ermittelten Subkonditionen und Spaltennormen. Zu sehen ist, dass bei einem Berechnen aller Parameter die Gefahr den vollen Rang zu verlieren bei den Parametern k_8 , k_{10} und k_3 am höchsten ist, diese aber aufgrund des relativ geringen Einflusses auf das System auch von der Berechnung ausgeschlossen werden könnten.

Die Notwendigkeit hierfür zeigte sich nach der ersten Anwendung des NLSCON-Algorithmus. Hierbei brach die Iteration nach 12 Schritten ab, da sie nicht konvergierte. Der Inkompatibilitätsfaktor κ_* erfüllt die geforderte Konvergenzbedingung $\kappa_* < 1$ nicht, sondern erreicht einen Wert von 1.089. Der Rang der Matrix sinkt bereits nach dem ersten Iterationsschritt auf 5, was dafür spricht eine Iteration ohne die oben genannten Parameter k_8 , k_{10} und k_3 durchzuführen.

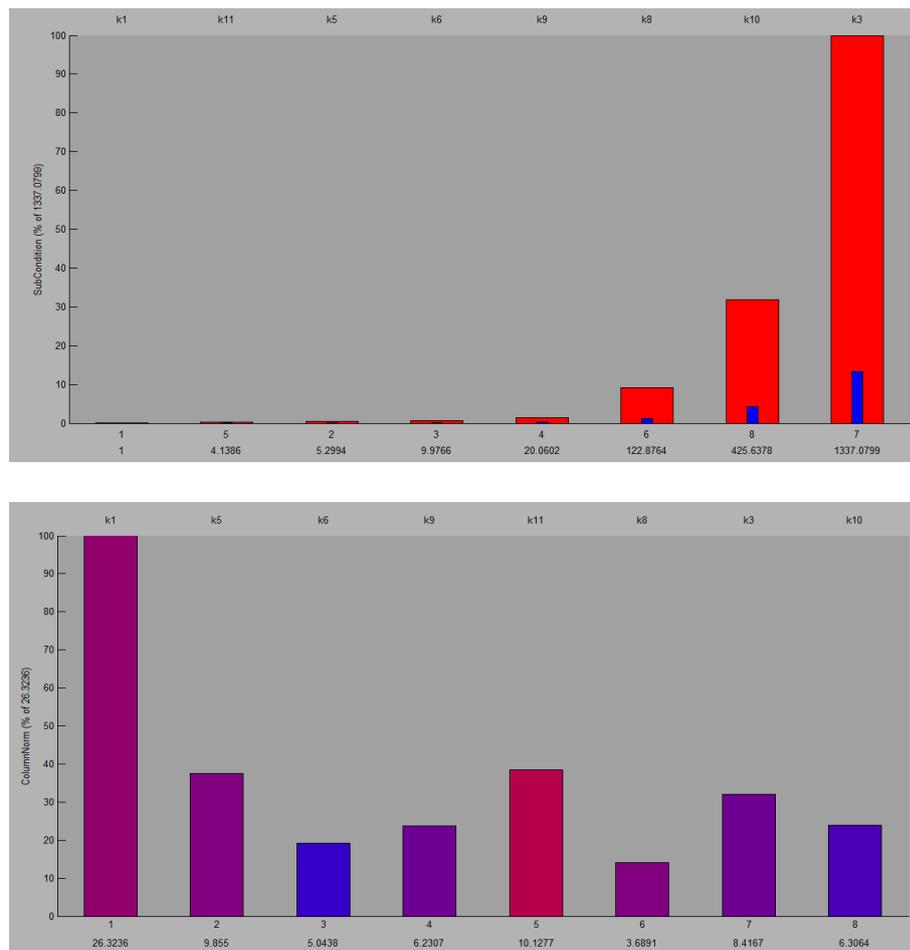


Abbildung 6.3: Sensitivitätsanalyse aller im System enthaltenen Parameter; **Oben:** Subkonditionen, für die Parameter k_8 , k_{10} und k_3 sind relativ hohe Balken zu sehen, welche allerdings nicht zwangsläufig zu einem geringeren Rang führen; **Unten:** Spaltennormen, liefern eine ähnliche Aussage über die Schätzbarkeit der einzelnen Parameter. Hohe Werte sprechen für eine hohe Sensitivität. Dies bedeutet, dass kleine Veränderungen der Parameterwerte starke Auswirkungen auf das System haben, ein Weglassen von k_8 , k_{10} und k_3 sollte demnach möglich sein und das System mit den restlichen Parametern an die Daten angepasst werden können. Den größten Einfluss hat eine Veränderung des Parameters k_1 . Singularitäten sind nicht zu vermuten

Zur Schätzung der Parameter k_1 , k_5 , k_6 , k_9 und k_{11} wurde die gewünschte Genauigkeit von $RTOL = 0.0001$ (Prescribed relative precision) nach 33 Iterationsschritten erreicht. Einige Iterationsergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Iterationsschritt	Norm F	Norm x	Dämpfungsfaktor	Rang
0	1.1863674e+00	1.138e+00		5
5	1.0259485e+00	4.617e-01	0.252	5
10	8.7755892e-01	3.234e-01	0.097	5
15	6.9344141e-01	2.728e-01	1.000	5
20	6.4420782e-01	1.482e-02	1.000	5
25	6.4441785e-01	4.207e-02	1.000	5
30	6.4399955e-01	1.467e-02	1.000	5
31	6.4416416e-01	1.526e-03	1.000	5
32	6.4414518e-01	9.020e-05	1.000	5

Tabelle 1: Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter k_1 , k_5 , k_6 , k_9 und k_{11} , Norm F ist gleich $\|F(p)\|_2^2$, Norm x ist gleichbedeutend mit $\|\Delta p\|$

Die geschätzten Parameter lauten:

$$k_1 = 9.97468E - 01$$

$$k_5 = 2.72110E - 02$$

$$k_6 = 3.29177E - 01$$

$$k_9 = 2.53257E + 01$$

$$k_{11} = 9.55212E + 00$$

Zuvor hat POEM die drei später entfernten Parameter folgendermaßen verändert:

$$k_3 = 6.04120E - 01$$

$$k_8 = 1.91708E + 00$$

$$k_{10} = 4.51293E - 01$$

Da diese allerdings wie oben beschrieben nicht sehr sensitiv sind, könnten hierfür auch die Anfangswerte belassen werden.

Mit den geschätzten Parametern kann der Verlauf der Osteoklasten wie in Abb. 6.4 an die Messdaten angepasst werden.

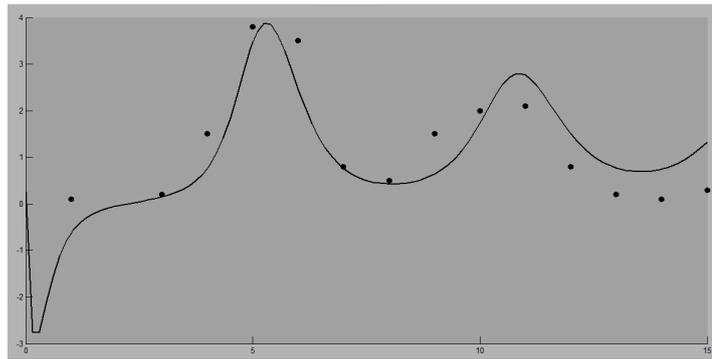


Abbildung 6.4: Osteoklastenverlauf mit geschätzten Parametern an die Messpunkte angepasst

Das Ergebnis stimmt sehr gut mit den experimentellen Daten überein. Da es keine Messungen für einen noch längeren Zeitraum gibt, ist unklar, ob das System weiter beständige Oszillationen auch für diesen Versuchsaufbau zeigen sollte. Sicher ist zwar, dass die Osteoklasten im biologischen System beständig schwanken, im Reagenzglas kann allerdings von gedämpften Schwankungen ausgegangen werden.

Das System weist mit den Parametern über einen längeren Zeitraum gedämpfte Oszillationen auf, wie in Abbildung 6.5 zu sehen ist.

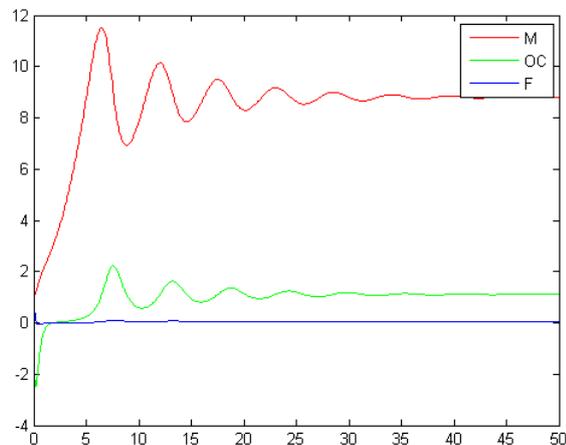


Abbildung 6.5: Alle Komponenten des Systems mit den geschätzten Parametern für einen Zeitraum von 50 Tagen

Um die Auslenkung in den negativen Bereich zu verhindern, könnten die Anfangsparameter ebenfalls mit POEM geschätzt werden.

Dies wurde zunächst für alle drei Komponenten, also für die Monozyten, die Osteoklasten und den Faktor F durchgeführt. Somit waren insgesamt 8 Parameter zu schätzen.

Nach 53 Iterationsschritten beendet POEM die Berechnung und endet in einem stationären Punkt, was bedeutet, dass die Lösung zwar die gewünschte Genauigkeit erreicht, allerdings nicht eindeutig ist. Dies bestätigt auch der Rang der Matrix, welcher gleich zu Beginn der Rechnung 6 beträgt, sich im Verlauf nur für jeweils einen Schritt auf 5 oder 7 verändert und sofort wieder auf 6 springt. Bestimmte Parameter können somit nicht zusammen geschätzt werden, da ihre Spaltennormen Linearkombinationen voneinander darstellen und es somit andere ähnlich genaue Lösungen geben kann.

Einige Schritte des Iterationsverlaufes sind in Tabelle 2 abgebildet.

Iterationsschritt	Norm F	Norm x	Dämpfungsfaktor	Rang
0	1.1863674e+00	5.625e-01		6
10	6.3145407e-01	2.324e-01	0.151	7
20	6.0910930e-01	1.238e-01	1.000	6
30	5.9331868e-01	3.746e-02	1.000	6
40	5.9299424e-01	8.999e-03	1.000	6
50	5.9298237e-01	2.110e-03	0	6
51	5.9298222e-01	1.796e-03	0.010	6
52	5.9297981e-01	8.331e-04	1.000	6
53	5.9298400e-01	1.119e-03	1.000	6

Tabelle 2: Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9, k_{11}, m_0, oc_0$ und f_0 , Norm F ist gleich $\|F(p)\|_2^2$, Norm x ist gleichbedeutend mit $\|\Delta p\|$

Trotz der nicht eindeutigen Lösung kann davon ausgegangen werden, dass die bis zum letzten Iterationsschritt geschätzten Parameter das Modell gut an die Datenpunkte anpassen. Für das Nachstellen eines biologischen Systems stellt eine nicht-eindeutige Lösung dennoch ein Problem dar.

Die geschätzten Parameter lauten:

$$k_1 = 1.44616E + 00$$

$$k_5 = 1.79385E - 01$$

$$k_6 = 5.33234E - 01$$

$$k_9 = 2.02010E + 00$$

$$k_{11} = 1.89461E + 00$$

$$m_0 = 3.20950E - 01$$

$$oc_0 = 2.09687E + 00$$

$$f_0 = 1.55257E + 00$$

In Abbildung 6.6 ist die Anpassung des Osteoklastenverlaufs an die Datenpunkte und das gesamte Modell für einen längeren Zeitraum zu sehen.

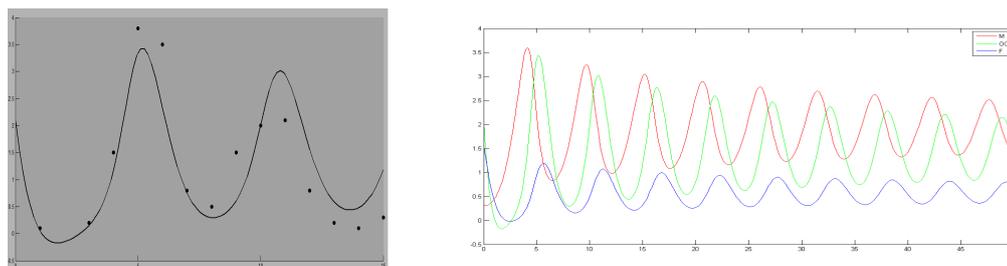


Abbildung 6.6: Ergebnis der Anpassung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9, k_{11}, m_0, oc_0$ und f_0 ; Links: Osteoklastenverlauf mit Messpunkten für 15 Tage; Rechts: alle Komponenten des Systems für 50 Tage, das System hört auch bei noch längeren Verläufen nicht auf vollständig zu schwingen.

Eine kleine Auslenkung in den negativen Bereich für die Osteoklasten ist noch zu beobachten. Außerdem ist die nicht eindeutige Lösung kein ideales Ergebnis. Um diese generieren zu können, wurde zu den 5 zu schätzenden Parametern nur der Anfangswert für die Osteoklasten in der Berechnung belassen.

Für diese Iteration benötigte POEM 82 Schritte und findet eine eindeutige Lösung mit dem Inkompatibilitätsfaktor $\kappa_* = 7.585e - 01$ (Tabelle 3).

Iterationsschritt	Norm F	Norm x	Dämpfungsfaktor	Rang
15	6.4548387e-01	3.489e-01	1.000	6
30	6.0297722e-01	2.022e-01	1.000	6
45	5.9146642e-01	1.635e-01	1.000	6
60	5.8615162e-01	4.739e-03	1.000	6
75	5.8614975e-01	4.535e-03	0	6
82	5.8614990e-01	3.573e-03	1.000	6

Tabelle 3: Iterationsverlauf für die Schätzung der Parameter $k_1, k_5, k_6, k_9, k_{11}$ und oc_0 , Norm F ist gleich $\|F(p)\|_2^2$, Norm x ist gleichbedeutend mit $\|\Delta p\|$

Die geschätzten Parameter lauten:

$$k_1 = 1.18617E + 00$$

$$k_5 = 1.01891E - 01$$

$$k_6 = 4.07674E - 01$$

$$k_9 = 3.25610E + 00$$

$$k_{11} = 2.34187E + 00$$

$$oc_0 = 2.97349E + 00$$

In Abbildung 6.7 ist die Anpassung des Osteoklastenverlaufs an die Datenpunkte und das gesamte Modell für einen längeren Zeitraum zu sehen.

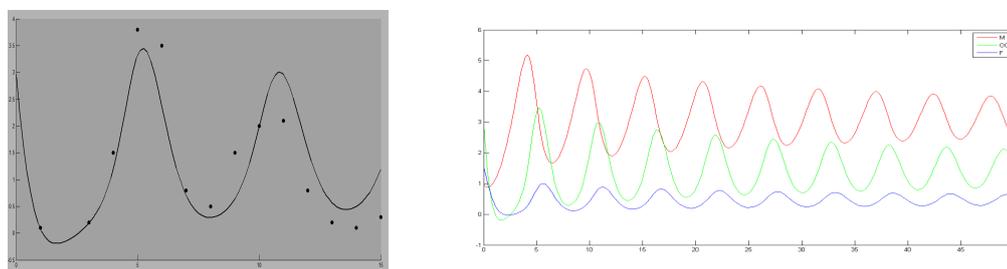


Abbildung 6.7: **Ergebnis der Anpassung der Parameter k_1 , k_5 , k_6 , k_9 , k_{11} und oc_0** ; Links: Osteoklastenverlauf mit Messpunkten für 15 Tage; Rechts: alle Komponenten des Systems für 50 Tage, das System hört auch bei noch längeren Verläufen nicht auf vollständig zu schwingen.

Auch für die eindeutige Lösung gibt es eine kleine Auslenkung in den negativen Bereich. Diese ließe sich nur durch eine Modifikation des Modells beheben. Da das geschätzte Modell jedoch nicht das eigentliche Ergebnis dieser Arbeit darstellt, wurde hierauf verzichtet.

Das in den Abschnitten 5.4 und 5.5 beschriebene Modell gibt die vorhandenen experimentellen Ergebnisse bereits so gut wieder, dass hierfür keine Parameteridentifizierung nötig war.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde schrittweise ein Modell entwickelt, welches die Dynamik der Knochenzellen während des Knochenremodellierungsprozesses realistisch abbildet. Das Modell basiert auf bereits veröffentlichten theoretischen Modellen und auf experimentell gewonnenen Erkenntnissen. Durch Stabilitätsanalysen konnte das periodische Zellverhalten trotz stetigem Hinzufügen neuer regulatorischer Faktoren aufrecht erhalten werden. Außerdem zeigten diese Analysen, dass auch bei Variation der Parameter ein robustes Systemverhalten zugrunde liegt. Dennoch bleibt das Modell überschaubar und somit analysierbar.

Die regulatorischen Mechanismen, welche in diesem System beschrieben werden, sind der Einfluss des Parathormons PTH, das RANKL-RANK-OPG-System sowie die Wirkung der Östrogene auf den Knochenstoffwechsel.

Der neu entwickelte Ansatz, zwei Phänotypen der Osteoblasten in Abhängigkeit von gebundenem PTH mathematisch zu modellieren, führte zu sehr guten Ergebnissen. Die so entwickelten Komponenten konnten über die länger bekannten Mechanismen des RANKL-OPG-Systems mit einem modifizierten Modell der Osteoklastendynamik [5] verbunden werden.

Eine zusätzliche Komponente Estradiol erlaubte es, Osteoporose erfolgreich zu simulieren und auf dieser Grundlage auch die Wirkung von synthetischen Medikamenten wie Estradiol oder PTH zu modellieren.

Bei der Modellierung dieser Medikamentengaben konnten sehr neue experimentelle Ergebnisse nachgebildet werden, welche auf diese Weise bislang noch nicht mathematisch modelliert wurden.

So führte die Modellierung der Osteoporose tatsächlich zu einer Verlängerung der Remodellierungszyklen wie von Koshla et al. [21] beschrieben. Auch die Hypothese, dass eine intermittierende Aktivierung des PTH type 1-Rezeptors durch PTH auf völlig andere Mechanismen am Gesamtsystem wirkt [11] konnte durch das Modell gestützt werden.

Auf der Grundlage dieses Modells könnte nun durchaus ein Versuchsaufbau für Experimente gestaltet werden, um bestimmte Interaktionen genauer aufzuschlüsseln.

Mit der vorgestellten Methode zur Parameterschätzung wäre eine Anpassung des Modells an die so gewonnenen Daten möglich.

Eine genauere Untersuchung des Einflusses von intermittierend verabreichtem PTH sowie die Analyse verschiedener Faktoren welche auf den Estradiolverlauf

wirken, sind empfehlenswerte Anknüpfungspunkte. Neben vielen weiteren Aspekten könnte beispielsweise untersucht werden, welchen Einfluss die Zykluslänge L auf das Knochenwachstum hat oder wie genau der PTH type 1-Rezeptor die Osteoblastentätigkeit reguliert.

Literatur

- [1] Thieme, Litz, Metge, Röblitz. Autocrine regulation of bone remodeling. FU Berlin Projektseminar SS 2011.
- [2] Komarova, Smith, Dixon, Sims, Wahl. Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling. *Bone*, 33:206-215, 2003.
- [3] Komarova. Mathematical model of paracrine interactions between osteoclasts and osteoblasts predicts anabolic action of parathyroid hormone on bone. *Endocrinology*, 146:3589-3595, 2005.
- [4] Pivonka, Komarova. Mathematical modeling in bone biology: From intracellular signaling to tissue mechanics. *Bone*, 47:181-189, 2010.
- [5] Akchurin, Aissiou, Kemeny, Prosk, Nigam. Complex dynamics of osteoclast formation and death in long-term cultures. *PLoS ONE*, 3:e2104, 2008.
- [6] Qin, Qiu, Wang, Li, Swarthout. Gene expression profiles and transcription factors involved in parathyroid hormone signaling in osteoblasts revealed by microarray and bioinformatics. *Journal of Biological Chemistry*, 278:19723-19731, 2003.
- [7] Schmidt, Post, Peletier, Boroujerdi, Danhof. Coping with time scales in disease systems analysis: application to bone remodeling. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 38:873-900, 2011.
- [8] Eriksen. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 11:219-227, 2010.
- [9] Rattanakul, Rattanamongkonkul, Kunpasuruang, Ruktamatakul, Srisuk. A mathematical model of bone remodeling process: Effects of parathyroid hormone and vitamin D. *International Journal of Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 8:1388-1397, 2011.
- [10] Yasui, Kadono, Nakamura, Oshima, Matsumoto. Regulation of rankl-induced osteoclastogenesis by $\text{tgf-}\beta$ through molecular interaction between smad3 and traf6 . *Journal of Bone and Mineral Research*, 26:1447-1456, 2011.
- [11] Jilka. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent pth. *Bone*, 40:1434-1446, 2007.

- [12] Deufelhard, Hohmann. *Numerical Analysis in Modern Scientific Computing*. Springer, 2003.
- [13] Schäffer, Menche. *Mensch, Körper, Krankheit*. Urban & Fischer, 1999.
- [14] Helmberg. Skript zur Vorlesung "Gentechnisch hergestellte Medikamente".
- [15] Keck, Pecherstorfer. Knochenstowechsel bei malignen Erkrankungen. *Journal für Mineralstowechsel*, 10:6-11, 2003.
- [16] Fahrleitner-Pammer. Vorträge 'Osteoporose-nur eine Erkrankung!' und 'Bedeutung von OPG/RANKL/RANK'.
- [17] Silva, Branco. Rank/rankl/opg: Literature review. *Orgao Ocal Da Sociedade Portuguesa De Reumatologia*, 36:209-218, 2011.
- [18] Lemaire, Tobin, Greller, Cho, Suva. Modelling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *Journal of Theoretical Biology*, 229:293-309, 2004.
- [19] Kroll. Parathyroid hormone temporal effects on bone formation and resorption. *Bulletin of Mathematical Biology*, 62:163-188, 2000.
- [20] Grah. *Entwicklung und Anwendung modularer Software zur Simulation und Parameterschätzung in gaskatalytischen Festbettreaktoren*. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2004.
- [21] Khosla, Oursler, Monroe. Estrogen and the skeleton. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23:576-581, 2012.
- [22] Weitzmann, Pacici. Estrogen decieny and bone loss: an inammatory tale. *Journal of Clinical Investigation*, 116:1186-1194, 2006.
- [23] Mödder, Roforth, Hoey, McCready, Peterson. Effects of estrogen on osteoprogenitor cells and cytokines/bone-regulatory factors in postmenopausal women. *Bone*, 49:202-207, 2011.
- [24] Gorai, Taguchi, Chaki, Kikuchi, Nakayama. Serum soluble interleukin- 6 receptor and biochemical markers of bone metabolism show significant variations during menstrual cycle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83:326-332, 1997.

- [25] Zittermann, Schwarz, Scheld, Sudhop, Berthold. Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85:95-101, 1999.
- [26] Robinson, Harris, Riggs, Spelsberg. Estrogen regulation of human osteoblastic cell proliferation and differentiation. *Endocrinology*, 138:2919-2927, 1997.
- [27] Trouvin, Goeb. Receptor activator of nuclear factor kappa b ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss. *Clinical Interventions in Aging*, 5:345-354, 2010.
- [28] Dierkes, Wade, Nowak, Röblitz. Bioparkin - biology-related parameter identification in large kinetic networks, Zib-report 11-15, Zuse-Institut Berlin, 2011.
- [29] Deuhard, Röblitz. Skript zur Vorlesung "Numerical Methods for Systems Biology".