

Aus dem Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Epidemiologie
der Universität zu Köln

Direktor: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. W. Lehmacher

Erythropoese unter Stress:
Regulatives Fenster und
Dosis-Wirkungs-Beziehungen
Ein quantitatives Modell der murinen
Erythropoese in vivo.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Köln

vorgelegt von

Jochen Dreß

aus Kiel

Promoviert am 21. März 2012

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln - 2012

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h. c. Th. Krieg

1. Berichterstatterin/Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. W. Lehmacher
2. Berichterstatterin/Berichterstatter: Professor Dr. med. M. Löffler

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/ eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Köln, d. 14.07.2011

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Modellanpassungen und Modellrechnungen wurden nach entsprechender Einführung durch Herrn Professor Dr. Markus Löffler, Herrn Dr. Horst Franke und Frau Dr. Birgit Bungart von mir durchgeführt. Unter anderem wurde das ursprünglich in Fortran umgesetzte Simulationsprogramm von Herrn Dr. Horst Franke und mir in MatLab/SimuLink neu programmiert und in Teilen erweitert.

Die zur direkten Berechnung der Gleichgewichtszustände und zur Durchführung der Sensitivitätsanalyse notwendigen Programme wurden von mir entwickelt.

Bei der Betrachtung der Migration konnte ich mich auf Vorarbeiten von Fr. Dr. Birgit Bungart stützen.

Alle in dieser Arbeit vorkommenden Grafiken wurden von mir erzeugt bzw. gestaltet.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Professor Dr. med. Markus Löffler für die beständige Unterstützung und Betreuung und Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Walter Lehmacher für die Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Universität Leipzig sowie der ehemaligen Arbeitsgruppe Biometrie an der Klinik I für Innere Medizin der Universität zu Köln danke ich für die anregenden wissenschaftlichen Diskussionen und hilfreichen Ratschläge.

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	15
1 Einleitung	21
1.1 Einführung in die Thematik	22
1.1.1 Die Erythropoese	22
1.1.2 Notwendigkeit der weiteren Untersuchung der Erythropoese	23
1.1.3 Einführende Bemerkungen zum mathematischen Modell der Erythropoese	25
1.2 Tribut an die Einfachheit	26
1.3 Biologie und Modell der Erythropoese	26
1.3.1 Die biologische Charakterisierung der Zellkompartimente	26
1.3.2 Die Biologie der Regulation der Erythropoese	30
1.4 Ziele der Arbeit	42
2 Material und Methoden	45
2.1 Das rhEPO-Experiment	45
2.2 Das mathematische Modell	45
2.2.1 Biologische Zellstufe und Modellkompartiment	46
2.2.2 Modell der Erythropoese	49
2.3 Aussagekraft experimenteller Daten	68
2.3.1 Abschätzung der Normalwerte der erythropoetischen Gesamtamplifikation	69
2.4 Der Standard-Parametersatz des erweiterten Modells (EModell)	75
2.5 Die Modellrechnungen	75
2.6 Präsentation der experimentellen Daten	79
3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen	81
3.1 Die Dosis-Wirkungs-Beziehungen im Modell	81
3.1.1 Amplifikation	81

3.1.2	Verdoppelungszeit	83
3.1.3	Transitzeit	83
3.2	Auswirkungen der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das gesamte erythropoetische System	85
3.3	Modellberechnungen und exp. Daten	88
3.3.1	CFU-E und Erythroblasten	88
3.3.2	Die roten Blutzellen	90
3.4	Sensitivitätsanalyse der Modellparameter	91
3.4.1	Die Auswirkungen verschiedener Annahmen über die Amplifikation und KM-Milz-Verteilung der Erythropoese auf den Hämatokrit	92
3.4.2	Der Bereich sinnvoller Kombinationen von Amplifikation und Generationzeit	93
4	Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen	99
4.1	Die Modellannahmen	99
4.1.1	EModell und PModell	99
4.1.2	Stammzellen und Migration	100
4.1.3	Zellverlust und Verlustraten (vr)	100
4.1.4	Das Verfahren zur Bestimmung der Modell-Parameter für die jeweilige Stress-Situation	101
4.2	Blutungsanämien	102
4.2.1	Einfacher Aderlass	102
4.2.2	Mehrfacher Aderlass	110
4.3	PHZ-induzierte hämolytische Anämie	118
4.4	Thiamphenicol-induzierte Anämie	126
4.4.1	Experimentellen Daten und Modellannahmen	126
4.4.2	Experimentellen Daten und Modellrechnungen	128
5	Zusammenfassung der Ergebnisse	141
6	Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose	143
6.1	Einführung und Fragestellung	143
6.2	Erythropoetin und Apoptose	145
6.3	Die modell-relevanten Aspekte der Apoptose	147
6.4	Apoptose-Rate und Amplifikation	150
6.5	Apoptose-Rate und Stammbäume	152
6.6	Das Apoptose-Modell	155

6.6.1	Die Parameter des ApModells	156
6.6.2	Die Modellrechnungen	157
6.6.3	Der Effekt der Apoptose auf die Amplifikation im ApModell	166
6.7	Ein Vergleich des ApModells mit dem EModell	169
6.8	Diskussion: EModell versus ApModell	173
7	Diskussion	177
7.1	Experiment und Modellanalyse	177
7.2	Die Ergebnisse der Modellanalyse des erythroetischen Systems	177
7.3	Unterschiede zu den vorangegangenen Modellen	178
7.4	Die Aussagekraft der Modellanalyse, einschränkende Annahmen und Bedingungen	179
7.5	Vorschläge für weitere experimentelle Untersuchungen des erythropoetischen Systems	181
8	Zusammenfassung	187
9	Anhang	189
9.1	Parametersatz des EModells	189
9.2	Die vom EModell abweichenden Parameter des PModells	202
9.3	Einfache Blutung	207
9.3.1	Einfache Blutung: Parameter	207
9.3.2	Einfache Blutung: Kenndaten	208
9.4	Mehrfache Blutung	219
9.4.1	Mehrfache Blutung: Parameter	219
9.4.2	Mehrfache Blutung: Kenndaten	220
9.5	PHZ-induzierte hämolytische Anämie	231
9.5.1	PHZ-induzierte hämolytische Anämie: Parameter	231
9.5.2	PHZ-induzierte hämolytische Anämie: Kenndaten	232
9.6	TAP-induzierte Anämie	243
9.6.1	TAP-induzierte Anämie: EModell-Parameter	243
9.6.2	TAP-induzierte Anämie: PModell-Parameter	246
9.6.3	TAP-induzierte Anämie: EModell-Parameter unter der Annahme, dass TAP das Migrationsverhalten ändert	250
9.6.4	TAP-induzierte Anämie: PModell-Parameter unter der Annahme, dass TAP das Migrationsverhalten ändert	252

Inhaltsverzeichnis

9.6.5	TAP-induzierte Anämie: EModell-Parameter bei Vorgabe der CFU-S-Werte	253
9.6.6	TAP-induzierte Anämie: PModell-Parameter bei Vorgabe der CFU-S-Werte	255
9.7	TAP-induzierte Anämie: Kenndaten	258
9.8	Abbildungsverzeichnis	277
9.9	Tabellenverzeichnis	283
10	Lebenslauf	287

Abkürzungsverzeichnis

^{59}Fe	Eisenisotop (Atomgewicht 59)
α_E	Anteil der sich ausdifferenzierenden CFU-S, die zu BFU-E werden.
a	proliferative Fraktion
a_i	proliferative Fraktion im Kompartiment i
APModell	Modell einer allein über Apoptose gesteuerten Erythropoese
BE	Burst Forming Units Erythroblasts (erythropoetische Progenitorzell, wird den determinierten Stammzellen zugerechnet)
BFU-E	Burst Forming Units Erythroblasts (erythropoetische Progenitorzell, wird den determinierten Stammzellen zugerechnet)
c-myc	Proto-Onkogen, gehört zu den Transkriptionsfaktoren
C57bl/6	Mäusestamm
CE	Colony Forming Units Erythroblasts (erythropoetische Progenitorzelle, wird den determinierten Stammzellen zugerechnet)
CFU-E	Colony Forming Units Erythroblasts (erythropoetische Progenitorzelle, wird den determinierten Stammzellen zugerechnet)
CFU-S	Colony Forming Units in the Spleen (pluripotente Stammzelle)
Dex	Dexamethason
dSO_2	arterio-venösen Entsättigung des Nierengewebes
ea_i	Anteil der in ein Kompartiment i einströmenden Zellen, der – unter der Voraussetzung einer allein über Apoptose gesteuerten Erythropoese – <i>nicht</i> durch Apoptose verloren geht
EB	Erythroblasten, (morphologisch identifizierbare, erythropoetische Progenitorzellen)
ECFC	Human Erythroid Colony Forming Cells

Abkürzungsverzeichnis

EModell	Das im Rahmen dieser Arbeit vorgestellte Modell der Erythropoese (erweitertes Modell)
EPO	Erythropoetin
EPO_{PRO}	Erythropoetin-Produktion
ERY	Erythrozyten
FLI-1	Friend Leukemia Integration 1 Transcription Factor
G	(Zell-)Generationen
GCSF	Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor
Hb	Hämoglobin
Hb_M	Hämoglobinmasse
HKT	Hämatokrit
HWZ	Halbwertszeit
i	Kompartiment
IGF-I	Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor
IU/ml	International Units per Milliliter
J125	Jodisotop (Atomgewicht 125)
$K_{i_{ein}}$	Einstrom in das Kompartiment i unter der Voraussetzung einer allein über Apoptose gesteuerten Erythropoese
LDH	Lactatdehydrogenase
m	Zellverdoppelungen
m_i	Zellverdoppelungen im Kompartiment i
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen
MEB	Maturing Erythroblasts, Non-Proliferating Erythroid Precursors, reife Erythroblasten (orthochromatischen Normoblasten)
mr	Migrationsrate
$mr_{i_{KM}}$	Migrationsrate des Kompartiments i im Knochenmark
n	Zellteilung bzw. Anzahl d. Generationen
n_i	Zellteilung bzw. Anzahl d. Generationen im Kompartiment i

O_2util	Sauerstoffverbrauch der Niere
p	Selbsterneuerungswahrscheinlichkeit
p_i	Selbsterneuerungswahrscheinlichkeit im Kompartiment i
P	Produktionsrate
PEB	proliferative Erythroblasten (Pronormoblasten, basophile & polychromatische Normoblasten)
PHZ	Phenylhydrazin
PModell	Das Modell der Erythropoese nach [136], benannt nach dem Erstautor Klaus Pantel
p_tO_2	Sauerstoffpartialdruck im Nierengewebe
PV	Plasmavolumen
q	Apoptose-Rate
q_i	Apoptose-Rate im Kompartiment i
r	Überlebenswahrscheinlichkeit ($r = q - 1$)
rhEPO	rekombinates humanes Erythropoetin
RBC	roten Blutzellen (red blood cells)
RBF	renaler Blutfluss
RET	Retikulozyten
RETC	zirkulierende (circulating) Retikulocyten
RETR	residuale Retikulozyten
S	Colony Forming Units in the Spleen (pluripotente Stammzelle)
s.c.	subcutan
SCF	Stammzell-Faktor
S_aO_2	arterielle Sauerstoffsättigung
se	'seeding efficiency'
se_{iMilz}	'seeding efficiency' der in das Kompartiment i in der Milz immigrierenden Zellen
S_tO_2	Sauerstoffsättigung des Nierengewebes
TAP	Thiamphenicol

Abkürzungsverzeichnis

t	Zeitpunkt
T	Transitzeit
T_i	Transitzeit im Kompartiment i
T_i^{nor}	Transitzeit im Kompartiment i unter normalen Bedingungen
T_i^{min}	Transitzeit im Kompartiment i bei maximaler Stimulation
$T_{i_{KM}}^{max}$	Transitzeit im Kompartiment i im Knochenmark bei minimaler Stimulation
$T_{i_{KM}}^{nor}$	Transitzeit im Kompartiment i im Knochenmark unter normalen Bedingungen
$T_{i_{KM}}^{min}$	Transitzeit im Kompartiment i im Knochenmark bei maximaler Stimulation
$T_{i_{Milz}}^{max}$	Transitzeit im Kompartiment i in der Milz bei minimaler Stimulation
$T_{i_{Milz}}^{nor}$	Transitzeit im Kompartiment i in der Milz unter normalen Bedingungen
$T_{i_{Milz}}^{min}$	Transitzeit im Kompartiment i in der Milz bei maximaler Stimulation
TC	Zellzykluszeit
TC_i	Zellzykluszeit im Kompartiment i
TD	Verdoppelungszeit
TD_i	Verdoppelungszeit im Kompartiment i
$TD_{i_{KM}}^{max}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i im Knochenmark bei minimaler Stimulation
$TD_{i_{KM}}^{nor}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i im Knochenmark unter normalen Bedingungen
$TD_{i_{KM}}^{min}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i im Knochenmark bei maximaler Stimulation
$TD_{i_{Milz}}^{max}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i in der Milz bei minimaler Stimulation
$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i in der Milz unter normalen Bedingungen
$TD_{i_{Milz}}^{min}$	Verdoppelungszeit im Kompartiment i in der Milz bei maximaler Stimulation
T_p	Transitzeit, der proliferativen Zellstufen
T_r	Reifungszeit der reifenden, nicht-proliferativen Zellstufen
TT	Transitzeit
TT_i	Transitzeit im Kompartiment i

Abkürzungsverzeichnis

U/M/d	Units per Mouse per day (Einheiten pro Maus pro Tag)
vr	Verlustraten
vr_e	Verlustrate für die Zellen, die gerade in das betrachtete Kompartiment einströmen
vr_k	Verlustrate für die Zellen, die im Kompartiment enthalten sind
Y_i	Anzahl der Zellen des Kompartiments i
Y_i^{aus}	Ausstrom aus dem Kompartiment i
Y_i^{ein}	Einstrom in das Kompartiment i
Z	Amplifikation
Z_i	Amplifikation im Kompartiment i
$Z_{i_{KM}}^{min}$	Amplifikation im Kompartiment i im Knochenmark bei minimaler Stimulation
$Z_{i_{KM}}^{nor}$	Amplifikation im Kompartiment i im Knochenmark unter normalen Bedingungen
$Z_{i_{KM}}^{max}$	Amplifikation im Kompartiment i im Knochenmark bei maximaler Stimulation
$Z_{i_{Milz}}^{min}$	Amplifikation im Kompartiment i in der Milz bei minimaler Stimulation
$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	Amplifikation im Kompartiment i in der Milz unter normalen Bedingungen
$Z_{i_{Milz}}^{max}$	Amplifikation im Kompartiment i in der Milz bei maximaler Stimulation
Z_{gesamt}	(erythropoetische) Gesamtamplifikation
$Z_{gesamt,nor}$	(erythropoetische) Gesamtamplifikation unter normalen Bedingungen
$Z_{gesamt,max}$	(erythropoetische) Gesamtamplifikation bei maximaler Stimulation

Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung

Die Verfügbarkeit von rekombinantem, humanem Erythropoetin eröffnete der Therapie bestimmter Erkrankungen wie der renalen Anämie, der Tumor-Anämie oder dem Myelodysplastischen Syndrom neue Möglichkeiten. Erythropoetin weist das größte Indikationsspektrum aller derzeit klinisch eingesetzten Wachstumsfaktoren auf (http://de.wikipedia.org/wiki/Erythropoetin#Indikationen_f.C3.BCr_die_Therapie_mit_EP0, Stand 2011-01-19). Es ist heute eines der 10 erfolgreichsten Medikamente weltweit (http://de.wikipedia.org/wiki/Erythropoetin#Marktdaten_f.C3.BCr_EP0-Pr.C3.A4parate, Stand 2011-01-19).

Die Erythropoese gilt als weitgehend verstanden [2], [144], [57], [106], [80], [212]. Und dennoch: viele ihrer Teilaspekte können nur indirekt oder gar nicht untersucht werden. So ist zum Beispiel wenig über die Anzahl der Erythrozyten bekannt, die aus einer einzelnen Zelle des ersten erythropoetischen Entwicklungsstadiums (BFU-E) hervorgehen, oder über die tatsächlichen Zellzykluszeiten der proliferativen erythropoetischen Vorläuferzellen und deren Regulation. Auch die Diskussionen über Existenz und Bedeutung der Migration der Stammzellen und der BFU-E aus dem Knochenmark in die Milz bei stimulierter muriner Erythropoese [56], [62] und über die Rolle des programmierten Zelltods (Apoptose) im Blutbildungssystem [91] zeigen, dass noch viele Fragen offen sind.

Mit Hilfe eines auf experimentelle Daten aufbauenden mathematischen Modells der Erythropoese wird hier versucht, Antworten auf die genannten Fragen zu geben. Dies geschieht ausgehend von einem Experiment [56] und einem mathematischen Modell [109], [198], [136]. Letzteres dient im folgenden als Referenzmodell und wird im Folgendem nach dem Erstautor der zuletzt genannten Veröffentlichung Klaus Pantel PModell genannt.

Das mathematische Modell war ursprünglich an dynamischen Situationen ausführlich getestet und angepasst worden. Definierte und von dem Normalzustand abweichende Gleichgewichtszustände des erythropoetischen Systems konnten nicht genutzt werden, da sich diese experimentell nicht gezielt herbeiführen ließen. Erst die Verfügbarkeit von rekombinantem Erythropoetin änderte dies.

Das Experiment zielte darauf ab, durch den Einsatz von rekombinantem Erythropoetin,

1 Einleitung

das erythropoetische System in eine Reihe von definierten Gleichgewichtszuständen zu bringen und die Anzahl der verschiedenen Vorläuferzellen der Erythrozyten (BFU-E, CFU-E, Erythroblasten) getrennt für Knochenmark und Milz in Kombination mit dem Hämatokrit systematisch zu bestimmen.

Die Ergebnisse des Experiments werden in dieser Arbeit genutzt, um das mathematische Modell zu optimieren. Seine biologische Plausibilität konnte, wie gezeigt werden wird, verbessert werden. Die Modellparameter wurden exakter festgelegt. Unter anderem wurden die Normalwerte adjustiert (Abschnitt 2.3.1 auf Seite 69) und für ausgewählte Parameter eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt (Abschnitt 3.4 auf Seite 91). Ein neues Konzept der Erythropoetin-abhängigen Migration wurde entwickelt und getestet (Abschnitt 2.2.2.2.1 auf Seite 49). Dynamische Situationen können mit dem optimierten Modell besser modelliert werden als mit dem Vorgänger (Kapitel 4 auf Seite 99, insbesondere Tabelle 5.1 auf Seite 141).

Das neue, erweiterte Modell (EModell) weist bzw. deckt eine Besonderheit auf, die dazu Anlass gibt, die Rolle der Apoptose bei der Regulation der Erythropoese näher zu untersuchen (Kapitel 6 auf Seite 143): Das EModell sagt voraus, dass die determinierten, proliferativen erythropoetischen Zellen über ein gewisses Mass an Plastizität verfügen (Abschnitt 3 auf Seite 81) - eine Eigenschaft, die auch bei Stammzellen vermutet wird [150]. Plastizität setzt voraus, dass Zellen ihre internen Programme zur Differenzierung modifizieren können. Eine Konsequenz ist, dass die Reifung nicht streng an die Zahl der Zellteilungen, die eine Zelle vollzogen hat, und/oder das Alter gekoppelt ist. ¹ Dieser Befund steht im Widerspruch zu einem Modell einer allein durch Apoptose regulierten Erythropoese [130]. Dieses beruht auf der Annahme, dass die determinierten, proliferativen erythropoetischen Zellen einem festgelegten Entwicklungsprozess folgen. Die Unterschiede zwischen dem EModell und dem - im oben formulierten Sinne - strikten Apoptose-Modell (ApModell) werden herausgearbeitet und diskutiert.

1.1 Einführung in die Thematik

1.1.1 Die Erythropoese

Die Erythropoese ist das am besten untersuchte hämatopoetische Zellsystem und gilt im Allgemeinen als weitgehend verstanden. Man nimmt an, dass die Erythropoese durch ein

¹Im Falle der Stammzellen wird angenommen, dass diese zwischen verschiedenen Determinierungsgraden changieren können.

kompliziertes Netzwerk von Interaktionen zwischen Wachstumsfaktoren, Mikroenvironment und hämatopoetischen Zellen reguliert wird.

Die Erythropoese ist im Knochenmark, in der Milz und im Blut lokalisiert. Die erythropoetischen Zellen gehen aus pluripotenten Stammzellen hervor und durchlaufen während ihrer Entwicklung die folgenden Entwicklungs- oder Zellstadien: BFU-E, CFU-E, Erythroblasten (Proerythroblasten, basophile, polychromatische, orthochromatische) und die in der Milz und im Knochenmark residierenden bzw. im peripheren Blut zirkulierenden Retikulozyten, um schließlich zu Erythrozyten zu werden (Abbildung 1.1 auf der nächsten Seite).

Das Erythropoetin ist der wichtigste Wachstumsfaktor der Erythropoese. Es ist der Mittler zwischen der Feststellung des Bedarfs an roten Blutzellen und den unreifen, erythropoetischen Zellen, die für deren Produktion zuständig sind [97], [79]. Die Feststellung des Bedarfs an roten Blutzellen erfolgt über die Sauerstoffkonzentration im Gewebe der Niere [12]. In Abhängigkeit von dieser physiologischen Größe steuert der Organismus die Erythropoetin-Produktion und damit die Höhe des Erythropoetin-Spiegels im Blut. Die genauen Mechanismen dieses wichtigen Kontrollprozesses werden noch untersucht [81], [11]. Die unreifen erythropoetischen Zellen reagieren auf einen veränderten Erythropoetin-Spiegel mit einer Anpassung ihres proliferativen Verhaltens. Die bei stimulierter Erythropoese stattfindende Migration früher erythropoetischer Zellen vom Knochenmark in die Milz dient - wie gezeigt wird - ebenfalls der Anpassung des proliferativen Verhaltens.

1.1.2 Notwendigkeit der weiteren Untersuchung der Erythropoese

Trotz der relativ umfassenden Kenntnisse über die Erythropoese bedürfen einige regulative Aspekte der Erythropoetin-Wirkung weiterer Untersuchung. So fehlen zum Beispiel genaue Informationen über Formen und Maxima der Dosis-Wirkungs-Kurven des Erythropoetins *in vivo*. Das Wissen über Dosis-Wirkungs-Charakteristika ist ein Schlüsselement für unser Verständnis der Dynamik eines Systems und seiner Physiologie. Erst dieses Wissen versetzt uns in die Lage, das Verhalten eines Organismus während oder nach einer Störung voraussagen bzw. gezielt und vorhersagbar beeinflussen zu können: eine wichtige Voraussetzung für die medizinische Diagnostik und eine effektive medizinische Therapie.

Bisher war nur eine indirekte Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Charakteristika anhand des Verhaltens der Erythropoese nach oder während einer Störung (Blutung [134], [163], Hypoxie [98], hämatolytische Anämie [204], [143], oder einer Bestrahlung [197]) möglich

1 Einleitung

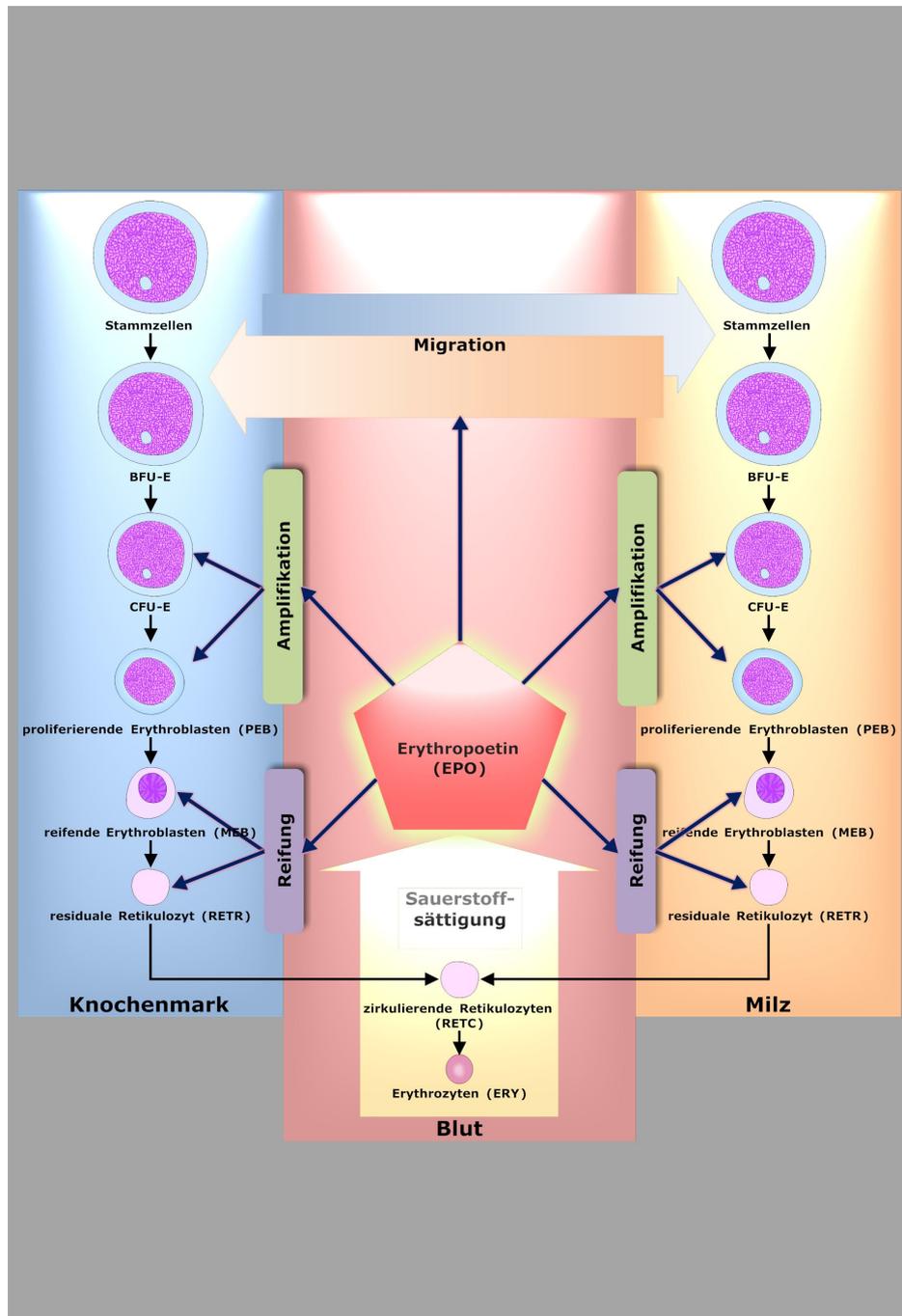


Abbildung 1.1: Die Erythropoese, für Erläuterungen siehe auch 1.3

[198], [193], [114], [123], [40], [110].

Die Verfügbarkeit von rekombinantem Erythropoetin erlaubt nun eine direktere Bestimmung seiner Dosis-Wirkungs-Charakteristika in vivo. Durch langfristige Gabe definierter Mengen von Erythropoetin wird der Erythropoetin-Spiegel in vivo auf ein erhöhtes, (relativ) konstantes Niveau und das erythropoetische System damit in einen neuen Gleichgewichtszustand gebracht. Ein Experiment [56], das sich diese Möglichkeiten gezielt zu nutze macht, wird in Abschnitt 2.1 auf Seite 45 beschrieben. Seine Ergebnisse liefern die für die Analyse der Dosis-Wirkungs-Charakteristika notwendigen Daten.

1.1.3 Einführende Bemerkungen zum mathematischen Modell der Erythropoese

1.1.3.1 Warum ein mathematisches Modell einsetzen?

Bei der Analyse experimenteller Daten ergeben sich Fragen, zu deren Beantwortung ein mathematisches Modell hilfreich ist. Die Ursachen dafür liegen unter anderem in den Grenzen der experimentellen Techniken. So ist es derzeit nicht möglich, die Anzahl der aus einer einzelnen Zelle des ersten erythropoetischen Entwicklungsstadiums hervorgehenden Erythrozyten direkt zu ermitteln oder die Zeit direkt zu messen, die eine Zelle braucht, um alle Teilungs- und Differenzierungsschritte im Rahmen ihrer Entwicklung zu vollenden. Kurz: Es ist derzeit nicht möglich, den Fluss und die Produktion der der Erythropoese dienenden Zellen direkt zu untersuchen. Mit Hilfe von mathematischen Modellen lassen sich Annahmen über die den beobachteten Ereignissen zugrunde liegenden Prozesse formulieren und testen. Basierend auf den so gewonnenen Einsichten können (in sich) plausible Vorhersagen über den Fluss und die Produktion der Zellen gemacht werden.

1.1.3.2 Die Qualität von mathematischen Modellen

Ein mathematisches Modell muss bestimmten Kriterien entsprechen, um den Anspruch erheben zu können, unsere Erkenntnisse und unser Wissen über die Realität mit dem Status quo der Forschung entsprechender wissenschaftlicher Wahrhaftigkeit und Genauigkeit zu repräsentieren. Um dem Anspruch auf Falsifizierbarkeit zu genügen, müssen die Modellparameter und ihre wechselseitigen Abhängigkeiten klar definiert und biologisch interpretierbar sein. Die Anzahl der Modellparameter, die nicht direkt durch experimentell ermittelte Daten festgelegt werden können, sollte so klein wie möglich gehalten werden. Ein und dasselbe Modell sollte die Simulation unterschiedlicher Experimente mit

1 Einleitung

hinreichender qualitativer und quantitativer Übereinstimmung ermöglichen. Schließlich sollte der Gültigkeitsbereich eines Modells und damit auch der Bereich, in welchem es konkrete Vorhersagen liefert, möglichst genau definiert sein. Eine Schwäche von mathematischen Modellen – wie dem hier vorgestellten – ist, dass sie nur Aussagen über das durchschnittliche Verhalten der untersuchten Systemkomponenten erlauben und deshalb in konkreten Einzelfällen durchaus fehlgehen können.

1.2 Tribut an die Einfachheit

Der Bereich der pluripotenten Stammzellen mit seinen vielfältigen, noch nicht endgültig geklärten Regulationsmechanismen wird in dieser Arbeit nicht behandelt. Dies ist möglich, weil diese Regulationsmechanismen für die hier untersuchten Fragestellungen in erster Näherung vernachlässigbar sind.

1.3 Biologie und Modell der Erythropoese

Die Erythropoese findet bei Säugetieren nach der Geburt im Wesentlichen im Knochenmark und in der Milz statt. Man weiß, dass die roten Blutzellen das Endprodukt eines langen Teilungs- und Differenzierungsprozesses sind. Den Ausgangspunkt dieses Prozesses bilden die pluripotenten, selbsterneuerungsfähigen, hämatopoetischen Stammzellen. Die von ihnen abstammenden erythropoetischen Zellen durchlaufen während ihrer Entwicklung zu Erythrozyten verschiedene Entwicklungsstadien, die durch bestimmte Merkmale charakterisiert sind. Zellen, die sich zum gleichen Zeitpunkt im gleichen Entwicklungsstadium befinden, fasst man zu Zellgruppen oder auch ‚Kompartimenten‘ zusammen.

1.3.1 Die biologische Charakterisierung der Zellkompartimente

1.3.1.1 Die pluripotenten Stammzellen

Die Stammzellen bilden trotz ihrer geringen Anzahl einen ‚unerschöpflichen‘ Pool, aus dem sämtliche hämatopoetischen Zellreihen hervorgehen. Welcher Mechanismus der ‚Unerschöpflichkeit‘ der Stammzellen zugrunde liegt, ist zur Zeit nicht eindeutig geklärt. Von den verschiedenen diskutierten Theorien haben die zwei folgenden die größte Verbreitung:

Die erste geht davon aus, dass eine der Tochterzellen einer Stammzelle wieder die Eigenschaften einer Stammzelle besitzen kann [105]. Die Tochterzelle ist in diesem Fall nicht von ihrer Ursprungszelle zu unterscheiden. Die Stammzelle hat sich quasi selbst erneuert. Um eine konstante Anzahl von Stammzellen zu gewährleisten, dürfen im Mittel nur 50 % aller Tochterzellen differenzieren damit genügend – also ebenfalls 50 % – im Stammzell-Kompartiment verbleiben. Dies gilt zumindest so lange, wie keine Verluste von Stammzellen auftreten. Wenn es aber zu solchen Verlusten kommt, ist es denkbar, dass der Prozentsatz an Tochterzellen mit Stammzeleigenschaften erhöht wird, bis der Verlust ausgeglichen ist.

Der zweiten Theorie zufolge gibt es eine so große Anzahl von Stammzellen, dass lebenslang eine ausreichende Produktion von hämatopoetischen Funktionszellen sichergestellt ist. Dies wird aus der Vermutung abgeleitet, dass eukaryote Zellen nur über ein limitiertes Zellteilungsvermögen verfügen [68]. Keine der beiden aus der ersten Teilung einer Stammzelle hervorgehenden Tochterzellen besitzt die Eigenschaften einer Stammzelle. Sie haben die erste Stufe der Differenzierung mit ihrer Entstehung durchlaufen. Eine Selbsterneuerung von Stammzellen findet nicht statt. Eine Stammzelle ist somit allein durch ihre Fähigkeit charakterisiert, alle hämatopoetischen Funktionszellen bilden zu können.

Der erste indirekte experimentelle Nachweis ihrer Existenz beruhte auf Milz-Kolonieverfahren in Mäusen. Dieses Verfahren wurde 1961 von Till und McCulloch eingeführt [182]. Die frühere internationale Bezeichnung für die hämatopoetischen Stammzellen CFU-S oder Colony-Forming-Units-Spleen leitet sich von diesem Nachweisverfahren ab.

Heute geht man davon aus, dass die CFU-S im wesentlichen eine Gruppe von determinierten Stammzellen repräsentieren und nicht zu den echten Stammzellen gehören [1], [153], [125], [72].

In der vorliegenden Arbeit wird nicht zwischen CFU-S und ihren Vorläuferzellen unterschieden. Sie finden beide keine besondere Berücksichtigung (s. Abschnitt 1.2 auf der vorherigen Seite) und werden hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

1.3.1.2 Die determinierten Stammzellen (BFU-E und CFU-E)

Aus den CFU-S gehen die determinierten Stammzellen hervor. Sie lassen sich im Unterschied zu ihren Ursprungszellen eindeutig einer hämatopoetischen Zellreihe zuordnen. Sie zeichnen sich zudem dadurch aus, dass sie nur über ein beschränktes Reproduktionspotential verfügen. Sie haben nicht die Möglichkeit, immer und immer wieder eine Zelle ihres

1 Einleitung

eigenen Typs hervorzubringen, da sie einem Zwang zur Ausdifferenzierung entsprechend ihrer ‚Bestimmung‘ unterliegen.

Die determinierten Stammzellen sind derzeit nicht morphologisch identifizierbar. Ihr Nachweis gelingt erst durch spezielle in-vitro-Kulturverfahren. Aus ihnen gehen die morphologisch erfassbaren hämatopoetischen Zellen hervor.

1.3.1.2.1 Die BFU-E Die BFU-E (‚Burst-Forming-Units of Erythroblasts‘) sind das erste Entwicklungsstadium, welches eine erythropoetische Zelle auf ihrem Weg zur roten Blutzelle durchläuft. Das Modell-Kürzel BE bezeichnet dieses Entwicklungsstadium. Auch hier orientiert sich die Namensgebung an dem Nachweisverfahren [9], [74]. Zellen dieses Typs werden indirekt nachgewiesen, indem Knochenmarkssuspension auf Methylcellulosekulturen aufgebracht und nach 8 bis 10 Tagen auf große Zellhaufen (großer Haufen = Burst) von 200 oder mehr morphologisch identifizierbaren erythropoetischen Progenitorzellen hin untersucht wird. Unter der Annahme, dass jeder dieser rein erythropoetischen Zellhaufen seinen Ursprung von genau einer BFU-E genommen hat, deutet die hohe Anzahl von Zellen, die sich in einem solchen Burst befinden, auf eine große Vermehrungsfähigkeit der BFU-E hin (bis zu 10 Zellteilungen s. Abschnitt 2.3.1 auf Seite 69). Die BFU-E sind einer Vielzahl von Wachstumsfaktoren gegenüber empfindlich [19], [33], [164], [34], [42]. Dem Erythropoetin - dem Wachstumsfaktor der Erythropoese - gegenüber erweisen sich diese Zellen jedoch als relativ unsensibel [49], [8], [205]. Bei dem in-vitro-Verfahren zum Nachweis ihrer Existenz ist die Zugabe von großen Mengen an Erythropoetin (2 - 6 IU/ml) notwendig.

1.3.1.2.2 Die CFU-E An das Entwicklungsstadiums der BFU-E schließt sich das der CFU-E an. CFU-E steht für ‚Colony-Forming-Unit of Erythroblasts‘, und das korrespondierende Modell-Kürzel lautet CE. Wie bereits erwähnt, können auch die CFU-E nur durch ein indirektes Verfahren [177], [75] nachgewiesen werden. Es ähnelt dem für die BFU-E, nur sind im Vergleich wesentlich geringere EPO-Zugaben notwendig (0,05 - 0,25 IU/ml) [116]. Dieses weist auf eine hohe Empfindlichkeit der CFU-E gegenüber Erythropoetin hin. Nach einer Inkubationszeit von 36 bis 48 h haben sich kleine Kolonien von 8 bis 64 Erythroblasten gebildet. Ihre Vermehrungsfähigkeit fällt somit mit 3 - 5 Zellteilungen deutlich geringer aus als die der BFU-E (s. Abschnitt 2.3.1 auf Seite 69), wobei auch hier die Annahme zu Grunde liegt, dass jede Kolonie aus genau einer CFU-E hervorgegangen ist.

1.3.1.3 Die morphologisch identifizierbaren erythropoetischen Vorläuferzellen (Erythroblasten)

Aus den CFU-E gehen die Erythroblasten hervor. Sie stellen die frühesten morphologisch identifizierbaren erythropoetischen Zellen dar. Sie können im Knochenmark und in der Milz nachgewiesen werden.

Sie werden morphologisch (Färbeverhalten, Zelldurchmesser) in vier und funktionell (Vermehrungsvermögen) in zwei verschiedene Subkompartimente unterteilt. Die ersten drei morphologischen Subkompartimente – bestehend aus den Pronormoblasten sowie den basophilen und den polychromatischen Normoblasten – gehören dem ersten der beiden funktionell unterschiedenen Subkompartimente an, weil ihnen gemeinsam die Fähigkeit zur Proliferation gegeben ist. Die Zellen des vierten morphologisch abgeleiteten Subkompartiments – die orthochromatischen Normoblasten – haben diese Fähigkeit verloren. Sie stellen eine lediglich ausreifende Zellstufe dar und werden deshalb dem zweiten funktionalen Subkompartiment der Erythroblasten zugeordnet.

Wichtig ist zu bemerken, dass das nicht-proliferative Subkompartiment zeitlich gesehen auf das proliferative folgt. Das hier gewählte Modell der Erythropoese berücksichtigt die Aufteilung in die zwei funktionellen Subkompartimente, weil die funktionellen Aspekte der Erythropoese im Rahmen dieser Analyse im Vordergrund stehen.

1.3.1.4 Die Retikulozyten

Der Übergang vom Stadium der orthochromatischen Normoblasten in das Stadium der Retikulozyten ist gekennzeichnet durch den Verlust des Zellkerns. Auch die Zellen, die diesem Stadium angehören, unterliegen noch einem fortschreitenden Reifungsprozess, der erst einige Stunden nach dem Übertritt eines organständigen, nicht zirkulierenden Retikulozyten in die Blutbahn mit dem Übergang in das Endstadium der Erythropoese beendet wird. In Abhängigkeit von dem Aufenthaltsort der Retikulozyten lässt sich eine Unterteilung in zwei Subkompartimente vornehmen - die organständigen, ‚residualen‘ Retikulozyten und die ‚zirkulierenden‘ Retikulozyten in der Blutbahn. Die noch nicht an der Zirkulation beteiligten Retikulozyten stellen eine schnell zur Verfügung stehende Reserve für den Sauerstofftransport dar. Die zirkulierenden Retikulozyten nehmen, wenn auch in der Regel nur marginal, Einfluss auf die Erythropoetinbildung.

1 Einleitung

1.3.1.5 Die Erythrozyten

Der Übergang vom Retikulozyten zum Erythrozyten vollzieht sich durch den Verlust der Ribosomen und Mitochondrien. Die Erythrozyten stellen das Endstadium der erythropoetischen Entwicklung dar. Sie sind als Hämoglobinträger wesentlich an der Sauerstoffversorgung des Organismus beteiligt. Im Unterschied zu allen zuvor genannten erythropoetischen Zellen weisen die Erythrozyten eine sehr lange Lebensdauer auf. Sie beträgt im Durchschnitt bei der Maus 45 [207] und beim Menschen 120 Tage. Der Abbau der Erythrozyten erfolgt altersabhängig im retikulozytären System.

1.3.2 Die Biologie der Regulation der Erythropoese

1.3.2.1 Die Notwendigkeit der Regulation der Erythropoese

Aufgabe des erythropoetischen Systems ist es, die Versorgung des Körpers mit Sauerstoff durch Bereitstellung ausreichender Bindungs- und Transportkapazitäten sicherzustellen. Das erythropoetische System muss also den Nachschub an roten Blutzellen bedarfsgerecht organisieren. Eine konstante Produktionsrate kann dieser Anforderung nicht gerecht werden, steigt doch z.B. der Bedarf an Erythrozyten mit der Aufenthaltshöhe über NN. Auch verursachen verschiedene Erkrankungen, wie z.B. autohämolytische Anämien, einen erhöhten Verlust an roten Blutzellen, der ausgeglichen werden muss. Sinnvoller Weise erfolgt die Regulation der Produktionsrate der Erythropoese in Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration im körpereigenen Gewebe und im venösen Blut und nicht in Abhängigkeit von der reinen Anzahl an Erythrozyten.

1.3.2.2 Der Wachstumsfaktor der Erythropoese - das Erythropoetin

1.3.2.2.1 Die Rolle des Erythropoetins in der Erythropoese Zuständig für die Regulation der Erythropoese ist das Hormon Erythropoetin. Dieses Glykoprotein [45] ist der Mittler zwischen der Feststellung des Bedarfs an roten Blutzellen - in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit von Sauerstoff im Gewebe [55] - und der Produktionsrate des Blutbildungssystems. So steigt der Erythropoetin-Spiegel im Blut bei Hypoxie an und fällt bei Hyperoxie ab. Im ersten Fall wird die Erythropoese stimuliert, im zweiten Fall wird sie reduziert.

1.3.2.2.2 Die Produktionsstätte des Erythropoetins Erythropoetin wird primär in den Nieren gebildet [76] [118]. Neben den Nieren können auch andere Organe und Gewebe

das Hormon synthetisieren. Zu ihnen zählen die Leber [95], [17], die Makrophagen [69], [188] und bestimmte Tumoren wie das zerebellare Hämangioblastom [78], [151]. In der Regel spielt jedoch die extrarenale physiologische Erythropoetin-Produktion nur eine geringe Rolle [48]. Eine Ausnahme stellt die Leber in der vorgeburtlichen Phase dar [214]. Sie ist während dieser Phase die Hauptproduktionsstätte des Erythropoetins. Der Wechsel der Erythropoetin-Produktion von der Leber in die Nieren erfolgt bei der Maus im dritten Trimester der Schwangerschaft, bei der Ratte 8 Wochen nach der Geburt, und bei Schafen 40 Tage nach der Geburt.

Eine genaue Bestimmung der Lokalisation und des Zelltyps der erythropoetin-bildenden Zellen der Niere ist noch nicht gelungen. Nach [144] gehen jedoch die meisten Studien davon aus, dass es sich bei diesen Zellen um peritubuläre interstitielle Zellen handelt, die im Inneren des Cortex und im äußeren Bereich der Medulla lokalisiert sind. Vermutlich handelt es sich um Zellen endothelialen Ursprungs [100], [94].

1.3.2.2.3 Die Lokalisation der Regulation der Erythropoetinbildung Nach der Geburt übernehmen die Nieren noch eine weitere bedeutende Rolle der Leber im Rahmen der Erythropoese: In den Nieren finden sich dann die Zellen und Zellstrukturen, die für die Messung des Sauerstoffpartialdrucks und damit der Sauerstoffversorgung des Gewebes zuständig sind [144]. Als möglicher Grund für die Lokalisation der Erythropoetinregulation (und -produktion) in der Leber in der perinatalen Phase wird von [213] angeführt, dass die Leber während der Fetalzeit ein relativ hypoxisches Organ und somit sehr gut geeignet sei, regulative Funktionen in der Erythropoese zu übernehmen. Die Nieren wiederum besitzen eine einmalige Voraussetzung zur Steuerung der Erythropoetinproduktion der postnatalen Phase [44]: Sie sind in der Lage, ihren Sauerstoffverbrauch an die Sauerstoffzufuhr anzupassen, so dass die Sauerstoffkonzentration im Gewebe relativ unempfindlich gegenüber Veränderung der Nierendurchblutung ist. Dies hat zur Konsequenz, dass eine Änderung des Herz-Zeitvolumens durch Blutdruck- und/oder Herzfrequenz-Änderungen keinen Einfluss auf die Höhe der Erythropoetin-Produktion hat.

1.3.2.2.4 Wirkungsweise des Erythropoetins Im Gegensatz zu den meisten anderen bekannten hämatopoetischen Wachstumsfaktoren entfaltet das Erythropoetin seine Wirkung in erster Linie bei den erythropoetischen Vorläuferzellen. Seine Wirkung auf die granulopoetischen Vorläuferzellen ist marginal. Erythropoetin spielt darüber hinaus in verschiedenen Geweben eine Rolle bei der Zellteilung, der Bildung von Blutgefäßen und der Chemotaxie (http://de.wikipedia.org/wiki/Erythropoetin#Biologische_Funktion, Stand

1 Einleitung

2009-04-15). Hierzu werden in dieser Arbeit keine weiteren Betrachtungen angestellt.

Bisher konnte der Erythropoetinrezeptor an hämatopoetischen Zellen der folgenden Entwicklungsstadien nachgewiesen werden: BFU-E [158], CFU-E (Gesamtanzahl: 370, Affinität: 0,073 bei 40 % und 0,813 bei 60 % der Zellen) [103], Erythroblasten (Gesamtanzahl: 43-62, Affinität: 0,09) [3]. Die aufgeführten Zahlenwerte für die Anzahl der Rezeptoren und deren Affinität erlaubt eine Abschätzung der relativen Empfindlichkeit der aufgeführten Zelltypen gegenüber Erythropoetin. Es fällt auf, dass die Empfindlichkeit zunächst mit höherem Reifungsgrad ansteigt, um dann wieder abzufallen [200]. Demnach entfaltet Erythropoetin seine größte Wirksamkeit gegenüber den CFU-E. Die laut [207] durch einen erhöhten Erythropoetin-Spiegel induzierten Effekte auf den erythropoetischen Wachstumsprozess sind in Tabelle 1.1 zusammengefasst. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, einige der in der Tabelle aufgeführten Effekte zu hinterfragen, wie an anderer Stelle dargelegt.

Tabelle 1.1: Effekte eines erhöhten Erythropoetin-Spiegels auf ... ([207])

...die Zellen der frühen erythropoetischen Entwicklungsstadien (determinierte Stammzellen)

- gesteigerte Proliferation der determinierten Stammzellen, speziell der CFU-E
 - Verkürzung der Zellzykluszeiten
 - Erhöhung der Differenzierungsrate CFU-E / Proerythroblast
 - Migration von BFU-E vom Knochenmark in die Milz
-

...die Zellen der späteren erythropoetischen Entwicklungsstadien (morphologisch identifizierbare, erythropoetische Vorläuferzellen = Erythroblasten)

- erhöhter Einstrom aus den vorangehenden Entwicklungsstadien
 - Verkürzung der Zellzykluszeiten (proliferative Erythroblasten)
 - Verkürzung der Reifungszeiten (reifende Erythroblasten)
 - Verkürzung der Knochenmarks-Transitzeit
 - erhöhter Mitose-Index
 - gesteigerte Hb-Bildung pro Einzelzelle
 - Erhöhung der ^{59}Fe -Proportion (Gabe / Erscheinen im peripheren Blut)
 - Freisetzen von residualen Retikulozyten in das periphere Blut bzw. Ausschwemmung unreifer Makroretikulozyten
-

...die erythropoetischen Zellen im peripheren Blut

- Erhöhung der Retikulozyten-Anzahl
 - Erhöhung der Erythrozyten-Anzahl
 - Anstieg des Hämatokrits bzw. des Hämoglobins
-

1.3.2.2.5 Erythropoetin und Apoptose Aufgrund des experimentellen Nachweises der Existenz erythropoetin-abhängiger Apoptose bei erythropoetischen Vorläuferzellen wird dem Erythropoetin die Rolle eines Überlebensfaktors zugewiesen, der die erythropoetischen Vorläuferzellen vor dem programmierten Zelltod bewahrt und es ihnen damit ermöglicht, ein zellinternes Teilungs- und Differenzierungsprogramm zu durchlaufen. Die Anzahl der überlebenden Zellen ist abhängig von der Höhe des Erythropoetin-Spiegels. Dabei gilt: je höher die Erythropoetin-Konzentration, desto weniger Zellen unterliegen der Apoptose, und umgekehrt. Die Frage ist nun, ob die Apoptose der einzige Mechanismus der Steuerung der Proliferation ist, wie einige Autoren vermuten, oder, ob Erythropoetin in das zellinterne Teilungs- und Differenzierungsprogramm eingreift, d.h. die Zellen dieses Programm in Abhängigkeit von Erythropoetin modifizieren.

Die Konsequenzen der Berücksichtigung der Apoptose als *einer* Möglichkeit der Regulation von Wachstum werden auf der Grundlage des vorgeschlagenen Modells in dem Kapitel 6 auf Seite 143 beschrieben. Die Antwort auf die Frage nach der *effektiven* Rolle der Apoptose in der Erythropoese wird in Abschnitt 6.8 auf Seite 173 gegeben.

1.3.2.2.6 Pharmakokinetik des Erythropoetins Für die Halbwertszeit des Erythropoetins finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Diese werden in der Tabelle 1.2 zusammengefasst.

Tabelle 1.2: Halbwertszeiten des Erythropoetins

Erythropoetin-Variante bzw. Herkunft	Halbwertszeit in der Eliminationsphase (min)	Literaturangaben
homolog, gewonnen aus dem Plasma von anämischen Ratten	$86 \pm 16,0$	[176]
homolog . . .	90	[124]
heterolog, gewonnen aus menschlichem Urin	204	[43]
rekombinantes humanes Erythropoetin mit J125 markiert (J125 rhEPO)	$180,1 \pm 16,3$	[174]
J125 rhEPO chemisch ‚desialated‘	$89,7 \pm 22,5$	
J125 rhEPO enzymatisch ‚desialated‘	$90,3 \pm 18,3$	
J125 rhEPO ‚desialated‘ und oxygenisiert	$286,3 \pm 16,6$	
J125 rhEPO	108	[154]

1 Einleitung

Für das Modell wird eine Halbwertszeit von 2 Stunden zugrunde gelegt. Dieses entspricht einer Transitzeit von 3 Stunden.

1.3.2.3 Produktion / Wachstum

Die im Rahmen dieser Arbeit identifizierten und analysierten Systemcharakteristika werden in diesem Kapitel vorgestellt.

1.3.2.3.1 Definition der Produktionsrate, der Amplifikation, der Zellverdoppelung und der Zellteilung Der Begriff **Produktionsrate (P)** bezeichnet die pro Zeiteinheit und Zelle produzierten Zellen einer definierten Zellpopulation. Er dient der Quantifizierung des momentanen Status der Zellproduktion und wird auf Grund modelltheoretischer und praktischer Überlegungen nur ungern verwendet. Das Ziel der Modellbildung ist es, die Systemeigenschaften nicht nur in ihrer Gesamtheit zu erfassen, sondern auch die (durchschnittlichen) Eigenschaften der einzelnen Systembestandteile zu beschreiben und zu quantifizieren. Deshalb ist der in der Modellterminologie bevorzugte Begriff zur Quantifizierung des momentanen Status der Zellproduktion die **Amplifikation (Z)**. Sie ist definiert als die durchschnittliche Anzahl von Zellen, die aus einer einzelnen Zelle während eines definierten Entwicklungs- oder Zeitabschnitts unter definierten Bedingungen hervorgehen. Die erythropoetische Gesamtamplifikation ist somit definiert durch die durchschnittliche Anzahl von Erythrozyten, die aus einer BFU-E, vom Zeitpunkt ihrer ‚Geburt‘ an gerechnet, hervorgehen. Die erythropoetische Gesamtamplifikation quantifiziert den Nettoeffekt aller Zellverluste und -gewinne. Die Amplifikation innerhalb eines Zellstadiums (Kompartiments i) ist definiert durch die durchschnittliche Anzahl von Zellen, die das betrachtete Zellstadium verlassen und aus einer einzelnen, zuvor in dieses Zellstadium übergewechselten Zelle hervorgegangen sind. Damit gilt (im Gleichgewicht):

$$Z_i = \text{Ausstrom}_i / \text{Einstrom}_i \quad (1.1)$$

Aus der Amplifikation kann die Anzahl der **Zellverdoppelungen (m)** berechnet werden, die eine Zelle im Durchschnitt während eines definierten Entwicklungs- oder Zeitabschnitts unter definierten Bedingungen durchläuft:

$$m = \log_2 Z \quad (1.2)$$

Der Begriff **Zellteilung (n)** bezeichnet einen konkreten positiven Wachstumsprozess einer Zelle, die Mitose. Also: Zellverdoppelung und Zellteilung sind nicht äquivalent.

Die Abbildung 1.2 auf der nächsten Seite illustriert die hier gemachten Aussagen anhand zweier Beispiele.

Die Abbildung 1.2a auf der nächsten Seite zeigt ein Kompartiment in dem aus 2 Zellen vitale 4 Zellen (●) entstehen. Die Amplifikation beträgt damit 2 und die Anzahl der Zellverdoppelungen 1 ($\log_2 \frac{4}{2}$). Die Anzahl der Zellteilungen beider Stammbäume beträgt jedoch jeweils 2. Die Diskrepanz zwischen der Anzahl der Zellverdoppelungen und der der Zellteilungen beruht auf dem Untergang einiger der durch die Zellteilungen entstandenen Tochterzellen (○). Der Beitrag der oberen Zelle zur Amplifikation ist gleich dem der unteren Zelle. Das Verhältnis beträgt 2 zu 2 obwohl der obere Stammbaum zwei apoptotische Zellen aufweist und der untere nur eine. Der Grund ist der unterschiedliche Zeitpunkt des Eintretens der Apoptose. Beim oberen Stammbaum treten die Verluste erst nach der letzten Zellteilung auf. Beim unteren Stammbaum hingegen tritt der Verlust nach der ersten Zellteilung auf und schneidet einen kompletten Zweig des Stammbaums ab.

Die Abbildung 1.2b zeigt eine stimulierte Situation, wie sie vielleicht während einer Erythropoetinapplikation vorliegen könnte. Auch hier sind es zwei Stammbäume. Sie weisen jeweils eine Zellteilung mehr als die beiden Stammbäume in Abbildung 1.2a auf. Relativ zur Gesamtzahl der Zellen im Kompartiment sind weniger apoptotische Zellen vorhanden. Die Amplifikation erreicht einen Wert von 5 ($10/2$) und die Anzahl der Zellverdoppelungen beträgt 2,32 ($\log_2 5$).

Generell wird in dieser Arbeit angenommen, dass sich die Abhängigkeit der Amplifikation von Erythropoetin in Form einer quantitativen Dosis-Wirkungs-Beziehung beschreiben lässt, unabhängig von dem zugrunde liegenden, realen Zellwachstumsprozess.

1.3.2.3.2 Definition der Transitzeit, der Verdoppelungszeit und der Zellzykluszeit

Die zweite bedeutende Systemcharakteristik ist die Zeit, die eine Zelle durchschnittlich braucht, um ein bestimmtes Entwicklungsstadium zu durchlaufen. Die **erythropoetische Gesamttransitzeit** bezeichnet die Zeit, die eine Zelle – beginnend mit ihrem Eintritt in das BFU-E Kompartiment – braucht, um Erythrozyten zu bilden. Der Begriff **Transitzeit (T)** bezieht sich hingegen auf die Zeit, die eine Zelle für das Durchlaufen eines Kompartiments benötigt.

Die Transitzeit der proliferativen Zellkompartimente errechnet sich aus der Anzahl der Zellverdoppelungen (Definition: Abschnitt 1.3.2.3.1 auf der vorherigen Seite, Formel: (1.2)

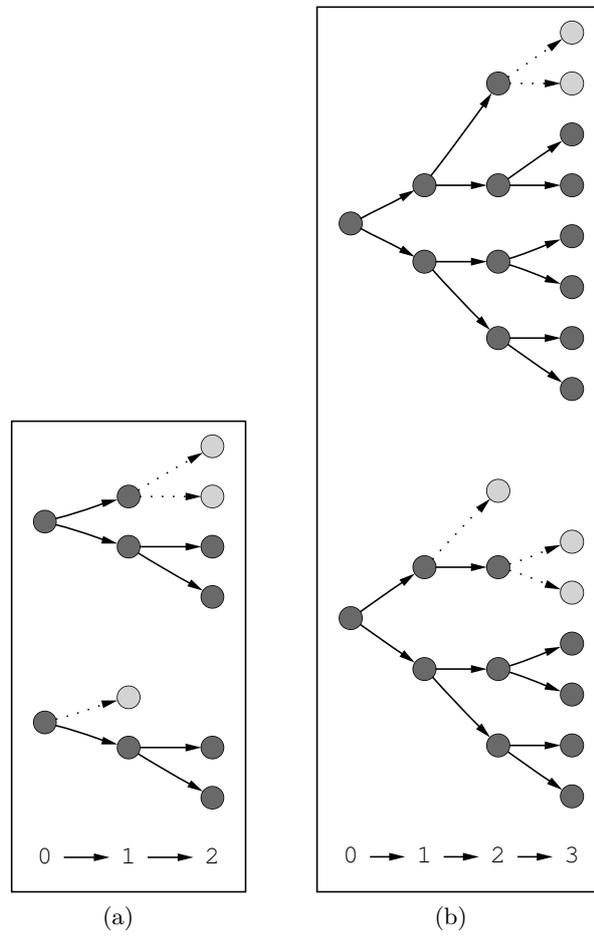


Abbildung 1.2: Veranschaulichung von Produktionsrate, Amplifikation, Zellverdoppelung und Zellteilung (\circ : apoptotische Zellen, \bullet : vitale Zellen, für weitere Erläuterungen siehe Abschnitt 1.3.2.3.1)

auf Seite 34), die eine Zelle durchschnittlich während ihres Aufenthaltes im betrachteten Kompartiment realisiert, multipliziert mit der Verdoppelungszeit. Die **Verdoppelungszeit (TD)** ist definiert als die Zeit, die eine Zelle durchschnittlich für die Realisierung einer Zellverdoppelung benötigt:

$$TD = \frac{T}{m} \quad \text{mit } m = \text{Anzahl der Zellverdoppelungen, siehe Gleichung (1.2) auf Seite 34} \quad (1.3)$$

Die **Zellzykluszeit (TC)** hingegen ist definiert als die Zeit, die eine Zelle für eine Zellteilung benötigt. Unter der Voraussetzung, dass sich alle Zellen eines Kompartiments im Zellzyklus befinden (proliferative Fraktion = 1) und keine Apoptose stattfindet, entspricht die Verdoppelungszeit der Zellzykluszeit. In allen anderen Fällen ist sie länger. Die Zellzykluszeit definiert also den nicht zu unterschreitenden minimalen Grenzwert der Verdoppelungszeit. Es gilt:

$$TD_{MIN} = TC_{MIN} \quad \text{und} \quad TD_{MAX} \geq TC_{MAX} \quad (1.4)$$

Die Transitzeit der nicht-proliferativen Zellkompartimente wird **Reifungszeit** genannt, um deutlich zumachen, dass sie im Unterschied zur Transitzeit der proliferativen Kompartimente keine zusammengesetzte Größe ist.

Diese Arbeit geht davon aus, dass sich die Transitzeit unter Erythropoetinstimulation verändert. Die Ursache ist die Wirkung von Erythropoetin auf die Reifungszeit der nicht-proliferativen sowie die Verdopplungszeiten und die Amplifikation der proliferativen Zellstadien. Die Abhängigkeit der Verdoppelungszeit von Erythropoetin beruht biologisch gesehen zum einen auf der Veränderung des Anteils apoptotischer Zellen an der gesamten Zellpopulation des betrachteten Kompartiments und zum anderen auf der Abhängigkeit der Zellzykluszeit von diesem Hormon.

Eine mögliche Auswirkung dieser mittelbaren Abhängigkeit der Transitzeit von Erythropoetin wird in Abbildung 1.3 auf der nächsten Seite demonstriert: Unter normalen Bedingungen (Abbildung 1.3a) sei eine Transitzeit von 27,0 h gegeben. Die Verdopplungszeit beträgt somit 13,5 h ($\frac{27h}{\log_2 Z}$ mit $Z = 4$). In der Abbildung wird unterstellt, dass die gezeigten Zellen, sofern sie nicht apoptotisch werden, 3 Zellteilungen innerhalb des Kompartiments vollziehen. Somit lässt sich die Zellzykluszeit (TC) mit der Formel:

$$TC = \frac{T}{\text{Anzahl der Zellteilungen}} \quad (1.5)$$

1 Einleitung

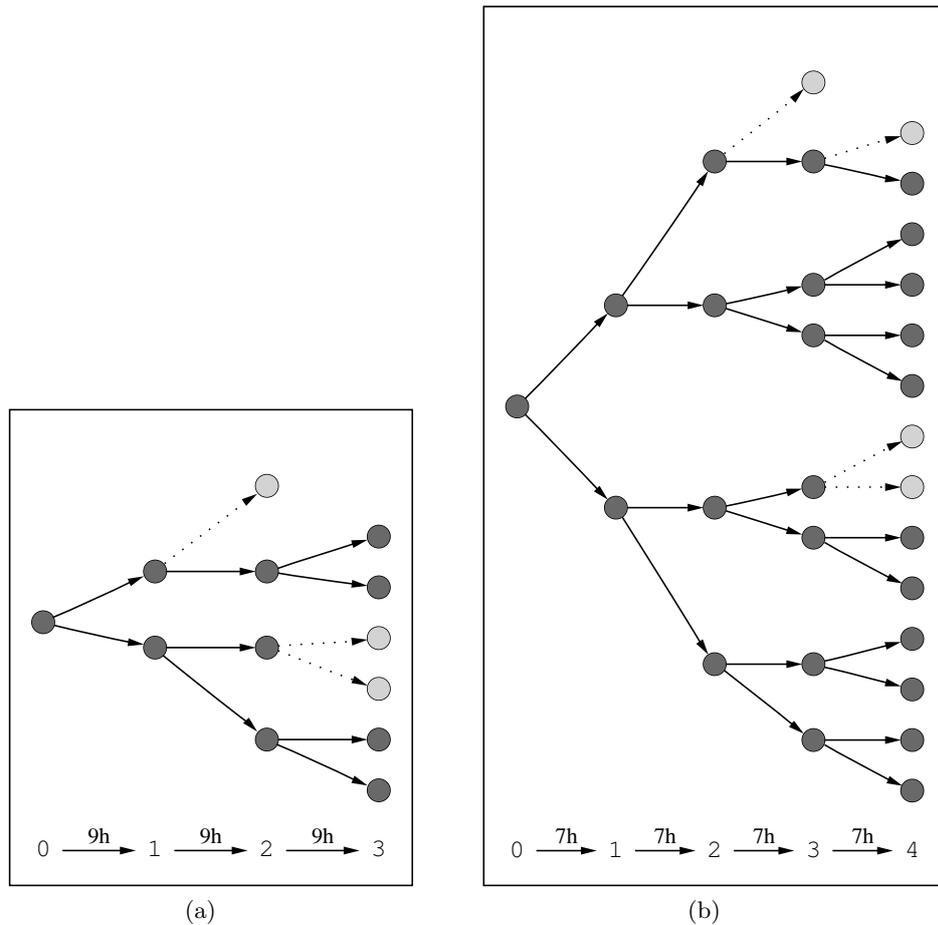


Abbildung 1.3: Veranschaulichung von Transitzeit, Verdoppelungszeit und Zellzykluszeit (○: apoptotische Zellen, ●: vitale Zellen, für weitere Erläuterungen siehe Abschnitt 1.3.2.3.2)

berechnen. Die Zellzykluszeit beträgt also 9,0 h. In der stimulierten Situation (Abbildung 1.3b) findet sich eine Zellzykluszeit von 7,0 h und die Zellen, die nicht apoptotisch werden, vollziehen vier Zellteilungen. Daraus ergibt sich eine Transitzeit von 28,0 h. Diese ist damit nicht kürzer als unter normalen Bedingungen, sondern - wenn auch nur geringfügig - länger. Die sich aus der Anzahl der Zellverdoppelungen und der Transitzeit ergebende Verdoppelungszeit von 8,1 h ($\frac{28h}{\log_2 Z}$ mit $Z = 11$) ist dagegen um 40 % kürzer als unter normalen Bedingungen (13,5 h).

Die in Abbildung 1.3b gezeigte Verkürzung der Verdoppelungszeit beruht im Wesentlichen auf dem Rückgang der Apoptose. Dies wird deutlich, wenn man die Abweichung der Verdoppelungszeit von der Zellzykluszeit berechnet. Unter normalen Bedingungen ist

diese um 34,0 % und unter stimulierten um weniger als 13,5 % länger als die Zellzykluszeit. Bei der Analyse des Gleichgewichtsexperiments wird zunächst unterstellt, dass die minimale Verdoppelungszeit der minimalen experimentell ermittelten Zellzykluszeit von 7 h [129], [201] entspricht. Dies bedeutet, dass bei maximaler Stimulation der Erythropoese keine Apoptose mehr stattfindet. Im Rahmen der Untersuchung der Rolle der Apoptose in der Erythropoese wird diese Annahme überprüft werden (s. Kapitel 6 auf Seite 143).

1.3.2.4 Hinweis auf die sich aus den obigen Definitionen ergebenden Unterschiede zum alten Modell und mögliche Konsequenzen

In den bisherigen Modellen [198], [136], [109] war angenommen worden, dass keine Zellverluste während der Erythropoese stattfinden, d.h. jede Änderung der Amplifikation wurde interpretiert als eine Änderung der durchschnittlichen Anzahl der effektiven Zellteilungen einer Zelle. Eine Konsequenz dieser Betrachtungsweise war, dass, um eine Situation mit reduzierter Erythropoese hinreichend gut simulieren zu können, relativ hohe Normalwerte für die Amplifikation zu wählen waren. Mit der Einführung der Annahme, dass auch Zellverlustprozesse (Apoptose) in der Erythropoese eine Rolle spielen (Abschnitt 1.3.2.3.1 auf Seite 34), ergibt sich die Notwendigkeit einer Überprüfung der Normalwerte des Modells der Erythropoese. Das Verfahren und die Ergebnisse dieser Überprüfung werden im Anschluss an die Darstellung der mathematischen Grundlagen des Modells in Abschnitt 2.3.1 auf Seite 69 präsentiert.

Ein weiterer Unterschied besteht in der Interpretation und modellinternen Realisierung der Transitzeit der proliferativen Kompartimente. Bisher war vereinfachend angenommen worden, dass die Transitzeit entweder selbst vom Erythropoetin abhängig (PEB Kompartiment) oder konstant (CFU-E Kompartiment) sei. Als Konsequenz dieser Annahmen ergaben sich unrealistisch kurze Verdopplungszeiten, vor allem für die CFU-E der Milz bei stimulierter Erythropoese (s. Tabelle 9.28 auf Seite 203). Durch die Vorgabe der minimal möglichen Zellzykluszeit bzw. Verdoppelungszeit als Modellparameter und der Berechnung der Transitzeit aus Verdoppelungszeit und Amplifikation (s. 1.3.2.3.2 auf Seite 35) wird eine realitätsnähere Modellierung der Erythropoese erreicht.

1.3.2.5 Die Rolle des Mikroenvironments

Das Mikroenvironment der Hämatopoese ist von entscheidender Bedeutung für den Wachstums- und Differenzierungsprozess der hämatopoetischen Zellen [187]. Es umfasst alle zellulären Komponenten in der Umgebung der hämatopoetischen Zellen. Monozyten,

1 Einleitung

Fibroblasten, reticuloendotheliale und endostale Zellen bilden im Wesentlichen seine Einzelbestandteile. Das hämatopoetische Mikroenvironment ist in Form von Zellklustern, die in ihrer räumlich Ausdehnung begrenzt sind, organisiert. Diese Zellkluster beinhalten neben den bereits genannten nicht erythropoetischen Zellen immer nur Zellen einer der Zell-Linien (Erythropoese, Granulopoese und Thrombopoese) der Hämatopoese. Von daher spielen möglicherweise die Zellkluster des Mikroenvironments eine wichtige Rolle in der Determinierung der Entwicklungsrichtung einer sich differenzierenden Stammzelle (CFU-S).

Die Bedeutung des Mikroenvironments für die Hämatopoese wird am Beispiel der Sl/Sld-Mäuse deutlich [77], [180], [203], [142]. Diese Mäuse sind trotz ihrer voll funktionsfähigen CFU-S nicht in der Lage, eine genügende Anzahl von Erythrozyten zu produzieren, so dass sie eine Anämie entwickeln. Als Ursache wird ein genetischer Defekt angenommen, der eine Störung des erythropoetischen Mikroenvironments bedingt. Die Folge dieser Störung ist, dass die erythropoetischen Vorläuferzellen nicht ausreifen können.

Auch dass Fibroblasten ein notwendiger Bestandteil von langlebigen Knochenmarkskulturen sind [37] und dass ihre Zerstörung *in vitro* zu Hypozellularität führt [139], unterstreicht die wichtige Rolle des hämatopoetischen Mikroenvironments.

Makrophagen sind zur Erythropoetinproduktion befähigt [187]. Es ist somit nicht auszuschließen, dass sie bei der Regulation der Erythropoese eine Rolle spielen.

1.3.2.5.1 Knochenmark Das Knochenmark ist unter normalen Bedingungen der Hauptort der Hämatopoese. Das Verhältnis der Erythropoese zur Granulopoese beträgt beim Menschen 1:3 und bei den hier betrachteten Mäusen (C57bl/6) 1:1,6 [56].

1.3.2.5.2 Milz Die Milz spielt bei der Hämatopoese des Menschen so gut wie keine Rolle. Bei der Maus hingegen trägt die Milz bereits unter normalen Bedingungen zur Produktion von Erythrozyten bei. Allerdings liegt ihr Anteil an der Hämatopoese in diesem Fall nur bei etwa 2 - 15 % [199]. Das Verhältnis der Erythropoese zur Granulopoese kehrt sich gegenüber dem Knochenmark in der Milz der hier betrachteten Mäuse (C57bl/6) um. Es liegt bei 2:1 [56]. Der im Vergleich zum Knochenmark höhere Anteil der Erythropoese an der Hämatopoese der Milz lässt sich durch die größere Anzahl von erythropoetischen Zellklustern im lienalen Mikroenvironment erklären [180], [183]. Dies könnte bedeuten, dass eventuell die Erythropoese in der Milz effektiver ist als im Knochenmark (aus weniger Zellen werden mehr). Es wurden Hinweise dafür gefunden, dass endothiale Milzzellen hierbei eine wichtige Rolle spielen [210].

1.3.2.6 Migration

Trotz des unter normalen Umständen geringen Anteils der Milz-Erythropoese an der Gesamterythropoese ist es ein allgemein akzeptierter, experimentell nachgewiesener Tatbestand, dass bei Mäusen die Milz in der Lage ist, einen Großteil der Blutbildung zu übernehmen, wenn der Bedarf an Erythrozyten erhöht ist. Die Verschiebung der Anteile von Knochenmark und Milz an der Blutbildung der Maus bei stimulierter Erythropoese basiert vermutlich auf der Auswanderung (Migration) von CFU-S und BFU-E aus dem Knochenmark in die Milz [65], [66]. Dies legt u.a. der Nachweis einer größeren Anzahl dieser Zellen im peripheren Blut bei stimulierter Erythropoese nahe. Die Umverteilung der Erythropoese kann innerhalb weniger Tage erfolgen und beeindruckende Ausmaße annehmen (von normal 10 % auf 40 % bei starker Stimulierung). Die hier beschriebene Eigenschaft der Milz hat ihr bei vielen Experimentatoren den Ruf des bevorzugten Mikroenvironments eingebracht. Im Zuge der Normalisierung der Erythropoese kommt es zu einer Wiederherstellung der ursprünglichen Knochenmark-Milz-Verteilung [143], [146], [147], wobei z.Z. noch ungeklärt ist, ob es zu einer Rückwanderung der CFU-S und BFU-E kommt oder ob die in der Milz 'überschüssig' werdenden Zellen ausdifferenzieren.

Die physiologische Bedeutung der Migration wird augenfällig, wenn man die Ursache der unterschiedlichen Erholungszeiten des Hämatokrits nach einer Blutungsanämie [134], [15] und nach einer Behandlung mit Phenylhydrazin (PHZ) [179], [171], [152] (Abbildung 1.4 auf der nächsten Seite) zu ergründen sucht. Aus den Erholungszeiten lässt sich ableiten, dass die Zellproduktion pro Zeiteinheit (Produktionsrate) nach PHZ-Gabe höher ist als nach einer Blutung. Welcher Mechanismus verursacht diese Diskrepanz? In den Daten findet sich der entscheidende Hinweis:

Sie zeigen einen dramatischen Anstieg der frühen Progenitorzellen der Erythropoese (CFU-S und BFU-E) im peripheren Blut und in der Milz nach Gabe von PHZ, der sich so nicht nach einer Blutung findet ([147], [65], [66]). Die Migration kann nicht die alleinige Ursache für die unterschiedlichen Produktionsraten sein. Erst die ergänzende Annahme, dass die Amplifikation in der Milz höher ist als die im Knochenmark, erlaubt eine schlüssige Erklärung der beobachteten Phänomene. Die Analyse des Experiments zur Bestimmung der Dosis-Wirkungs-Charakteristika des Erythropoetin wird zeigen, ob und in welchem Ausmaß der postulierte Unterschied der Amplifikationskurven existiert (Abschnitt 3 auf Seite 81 und Tabelle 2.5 auf Seite 76). Im Rahmen der Überprüfung der Ergebnisse der Gleichgewichtsanalyse lässt sich dann auch der Beweis antreten, dass die oben skizzierte Relevanz der Migration für die Erythropoese der Maus nicht nur eine Fiktion ist (Abschnitt 4 auf Seite 99).

1 Einleitung

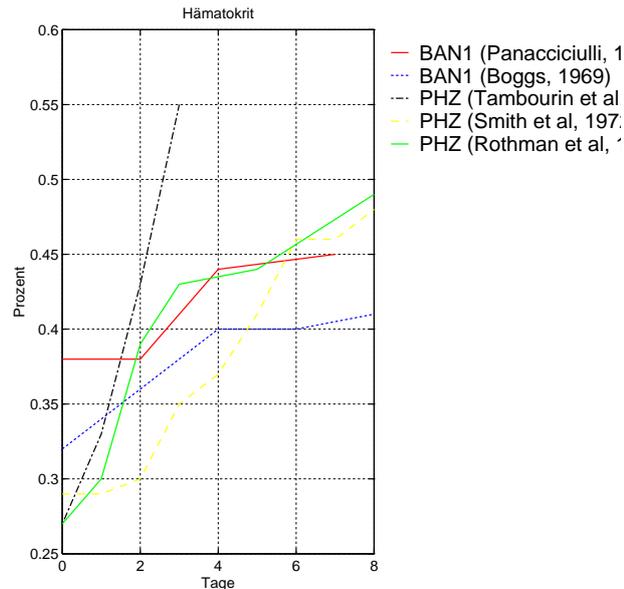


Abbildung 1.4: Die Rolle der Milz in der murinen Erythropoese - Der Vergleich des Erholungsverhaltens des Hämatokrits nach einem Aderlass und einer mit Phenylhydrazin induzierten Anämie

1.4 Ziele der Arbeit

Das Verhalten eines Systems nach oder während einer Störung vorauszusagen und möglichst gezielt beeinflussen zu können, ist eine wichtige Voraussetzung für die medizinische Diagnostik und eine effektive medizinische Therapie. War früher nur eine indirekte Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Charakteristika anhand des Verhaltens der Erythropoese nach oder während einer Störung möglich, so erlaubt die Verfügbarkeit von rekombinantem Erythropoetin nun eine direktere Bestimmung seiner Dosis-Wirkungs-Charakteristika *in vivo*.

Die Regulation des Wachstums der erythropoetischen Zellen (BFU-E, CFU-E, Erythroblasten, Retikulozyten und Erythrozyten) in Abhängigkeit von der Erythropoetin-Konzentration im Blut wird im Rahmen dieser Arbeit untersucht und die bestehenden Modelle weiterentwickelt (vgl. u.a. [198] und [136]). Hierzu werden u.a. die Formen und Maxima der Dosis-Wirkungs-Kurven des Erythropoetins anhand von *in vivo* Daten, die gezielt für die Modellierung erhoben wurden, analysiert (vgl. Abschnitt 1.1.2 auf Seite 23). Konzeptionelle Schwächen der vorhergehenden Modelle sollen präziser erfasst und, wenn möglich korrigiert werden. Zudem wird das Thema Apoptose erstmals aus Sicht der Systembiologie mit Hilfe eines mathematischen Modells für die Erythropoese betrachtet.

Die primären Ziele dieser Arbeit sind:

1. Die Vorstellung einer verbesserten Strategie zur Identifikation und Abschätzung einiger der nicht direkt messbaren Systemeigenschaften (Zellproduktion bzw. Amplifikation, Reifungszeiten und Verdopplungszeiten, inklusive der zugehörigen Dosis-Wirkungs-Charakteristika),
 - a) unter Nutzung der Verfügbarkeit von rekombinantem Erythropoetin, welches eine direktere Bestimmung seiner Dosis-Wirkungs-Charakteristika in vivo erlaubt,
 - b) um die Modellparameter und -eigenschaften genauer und innerhalb dessen, was derzeit als biologisch plausibel angenommen werden darf, zu bestimmen.
2. Mit der Konsequenz einer besseren *qualitativen* und *quantitativen* Beschreibung dieser Systemeigenschaften anhand einer weiterentwickelten Modellversion.

Sekundäre Ziele dieser Arbeit sind:

1. Die Darstellung der physiologischen Bedeutung der Migration für die Erythropoese der Maus im Rahmen der Überprüfung einiger aus der Analyse der Gleichgewichtssituationen gewonnenen Erkenntnisse.
2. Die Untersuchung der Rolle des programmierten Zelltodes (Apoptose) für die Erythropoese mittels der hier vorgeschlagenen Strategie.
3. Eine weitere Untermauerung der noch immer nur bedingt akzeptierten These, dass eine mathematische Modellierung komplexer Systeme wie der Erythropoese neue und durchaus überraschende Einblicke und Erkenntnisse ermöglicht, die durch experimentelle Untersuchungen allein nicht gewonnen werden können.

Nicht Gegenstand dieser Arbeit sind:

1. Die Mechanismen der Steuerung des Erythropoetin-Spiegels (Informationen zu diesem Thema finden sich unter anderem in folgenden Publikationen: [10], [155])
2. Die Erythropoetin-Varianten und Erythropoetin-Mimetika (Der Wikipedia-Artikel zu Erythropoetin beinhaltet eine informative Übersicht zu diesem Thema: <http://de.wikipedia.org/wiki/Erythropoetin>, Stand 19.01.2011)
3. Der Erythropoetin-Rezeptor und die Signaltransduktion (Informationen zu diesem Thema finden sich unter anderem in folgenden Publikationen: [120], [63], [89])
4. Die Stammzellen (Informationen zu diesem Thema finden sich unter anderem in folgenden Publikationen: [125], [72])

1 Einleitung

2 Material und Methoden

2.1 Das rhEPO-Experiment

Die Verfügbarkeit von rekombinantem humanem Erythropoetin, welches sich nur marginal von dem der Maus unterscheidet, hat die holländische Arbeitsgruppe um W. Nijhof für das folgende Experiment genutzt [56]:

Weiblichen C57bl/6 Mäusen im Alter von 8 bis 12 Wochen und mit einem Gewicht von 20 bis 25 g wurde über einen Zeitraum von 10 Tagen hinweg täglich Erythropoetin s.c. appliziert. Dabei kamen acht verschiedene Dosen in einem Dosisbereich von 0,5 bis 500,0 Units/Maus/Tag zum Einsatz. Untersucht wurde die Reaktion von BFU-E, CFU-E, Erythroblasten und Hämatokrit auf diese Behandlung.

Rein deskriptiv lassen sich die Ergebnisse dieses Experiments wie folgt zusammenfassen:

1. Die Erythropoese der Maus zeigt Sättigungsphänomene.
2. Diese zeigen deutlich unterschiedliche Maxima in Knochenmark und Milz.
3. Das Verhalten der CFU-E weicht deutlich von dem der Erythroblasten ab.
4. Die totale Anzahl der BFU-E zeigt keine signifikante Reaktion auf erhöhte Erythropoetin-Spiegel.
5. Es findet eine Umverteilung der BFU-E zugunsten der Milz auf Kosten des Knochenmarks statt (Migration).

2.2 Das mathematische Modell

Das im folgendem genutzte mathematische Modell, ein nicht-lineares Differentialgleichungssystem, geht in seinen wesentlichen Grundzügen auf E.Wichmann [194], H.Wulff [207] und M.Löffler [105] zurück . Da bereits ausführliche Beschreibungen des Modells veröffentlicht worden sind [195, 196], beschränkt sich die Darstellung hier auf das zum Verständnis Notwendige. Wie bereits erwähnt, wird zudem auf die Modellierung der

2 Material und Methoden

Regulation der pluripotenten Stammzellen (CFU-S) verzichtet. Als Referenzmodell wurde das in [136] beschriebene Modell gewählt. Dieses wird im Folgenden auch als PModell bezeichnet. Mit ihm werden eine Reihe von Vergleichssimulationen durchgeführt. In den folgenden Abschnitten wird ein abgewandeltes Modell beschrieben und begründet. Diese wird im Folgenden als EModell bezeichnet. Eine vollständige Übersicht der Parameter des EModells findet sich im Appendix (9.1). Die Parameter des PModells, die von denen des EModells abweichen, finden sich ebenfalls im Appendix (9.2).

2.2.1 Biologische Zellstufe und Modellkompartiment

Wie in Abschnitt 1.3.1 beschrieben, lassen sich die erythropoetischen Zellen verschiedenen biologischen Zellgruppen zuordnen. Diese entsprechen den verschiedenen Entwicklungsstadien, die eine unreife Zelle auf ihrem Weg zu einer roten Blutzelle durchlaufen muss. Das Modell repräsentiert diese biologische Struktur durch ein Kompartimentsystem. Ein Kompartiment entspricht dabei einem biologischen Entwicklungsstadium und ist durch gerichtete Zellströme mit jeweils einem vorangehenden und einem nachfolgendem Kompartiment verknüpft. Mit anderen Worten, die in ein Kompartiment einströmenden Zellen entstammen immer dem vorangehenden Kompartiment, und die ausströmenden Zellen wechseln immer in das nachfolgende über, bilden also dessen Einstrom. Mit dem Verlassen eines Kompartiments verlieren die Zellen die entsprechenden biologischen Eigenschaften. Sie gewinnen stattdessen durch den Übergang in das Folgekompartiment die für dieses charakteristischen Eigenschaften. Da ein Rückstrom von Zellen ausgeschlossen ist, ist gewährleistet, dass ein zielgerichteter Wachstumsprozess stattfindet, gemäß dem aus einer Zellstufe die nächst-reifere hervorgeht.

Zudem gehen wir – Standardannahmen folgend ([195], [196]) – davon aus, dass angesichts der ohnehin gegebenen Grenzen der Quantifizierbarkeit des betrachteten Systems alle – im Prinzip 'diskreten' – Größen wie die Anzahl $Y_i = Y_i(t)$ der Zellen, die einem Kompartiment i zu einem bestimmten Zeitpunkt t zuzuordnen sind, ebenso gut auch als kontinuierliche und sogar nach t differenzierbare Größen betrachtet werden können, ohne dadurch gravierende Fehler zu verursachen.

Dementsprechend wird die zeitliche Änderung $\frac{d}{dt}$ der Größe Y_i bestimmt durch

1. den Zustrom von Zellen aus dem vorgeschalteten Kompartiment (Y_{i-1}^{aus} bildet somit den *Einstrom* Y_i^{ein} in das betrachtete Kompartiment i) und
2. den Abstrom von Zellen in das nachfolgende Kompartiment ($Ausstrom = Y_i^{aus}$).

Somit kann ein nicht-proliferatives Kompartiment i durch die folgende Gleichung beschrieben werden:

$$\frac{dY_i(t)}{dt} = Y_i^{ein}(t) - Y_i^{aus}(t) \quad (2.1)$$

Die Zahl der Zellen, die zu einem bestimmten Zeitpunkt t ein Kompartiment i verlassen, ist direkt proportional der Anzahl der Zellen in diesem Kompartiment zur gleichen Zeit t , also zu $Y_i(t)$. Dabei kann der Kehrwert des Proportionalitätsfaktors wie üblich als die durchschnittliche Aufenthaltsdauer T_i gedeutet werden. Es gilt

$$Y_i^{aus}(t) = \frac{Y_i(t)}{T_i} \quad (2.2)$$

Der Zellabstrom wird hierbei also als streng altersunabhängig angenommen. Das heißt, theoretisch könnte eine Zelle auf ewig im Kompartiment verbleiben oder dieses in dem Augenblick, wo sie es betritt wieder verlassen. Die Transitzeit wird dementsprechend nur als ein Maß für die durchschnittliche Verweildauer einer Zelle in einem Kompartiment gedeutet.

Aus den Gleichungen (2.1) auf Seite 47 und (2.2) auf Seite 47 ergibt sich somit für ein nicht-proliferierendes Kompartiment die Gleichung:

$$\frac{dY_i(t)}{dt} = Y_i^{ein}(t) - \frac{Y_i(t)}{T_i} \quad (2.3)$$

Zugleich ist der Einstrom $Y_{i+1}^{ein}(t)$ in das Folge-Kompartiment $i + 1$ gleich dem Ausstrom Y_i^{aus} aus dem Kompartiment i :

$$Y_{i+1}^{ein}(t) = Y_i^{aus}(t) \quad (2.4)$$

Für ein proliferatives Kompartiment muss die Formel in geeigneter Weise um den Einfluss der Amplifikation Z_i und der proliferativen Fraktion a_i ergänzt werden. Da die einströmenden Zellen nicht zu jedem Zeitpunkt t amplifizieren, sondern für jeden Verdopplungsschritt eine gewisse Zeit (Zellverdopplungszeit TD) benötigen, wird im Modell vereinfachend angenommen, dass die Amplifikation Z_i zu einem definierten Anteil

$$Z_i^{ein} = \frac{Z_i - 1}{\log_2 Z_i} \quad (2.5)$$

2 Material und Methoden

von den Zellen mit ihrem Eintritt in das Kompartiment realisiert wird. Die Gleichung zur Beschreibung eines proliferativen Kompartiments lautet somit:

$$\frac{dY_i(t)}{dt} = Z_i^{ein} \cdot Y_i^{ein}(t) - Y_i(t) \cdot \frac{a_i}{T_i} \quad (2.6)$$

Der verbleibende Anteil der Amplifikation

$$Z_i^{aus} = \frac{Z_i}{Z_i^{ein}} \quad (2.7)$$

wird den das Kompartiment verlassenden Zellen zugeschlagen und nicht zur Berechnung von $\frac{dY_i(t)}{dt}$ herangezogen. Der Einstrom in das Folgekompartiment berechnet sich dann wie folgt:

$$Y_{i+1}^{ein} = Y_i^{aus} = Z_i^{aus} \cdot Y_i(t) \cdot \frac{a_i}{T_i} \quad (2.8)$$

Mit der Gleichung (2.6) auf Seite 48 ist die grundlegende Differentialgleichung, mit der jedes Kompartiment beschrieben werden kann, gegeben.

Die vier jedes Zellkompartiment beschreibenden und für diese individuell und unabhängig von einander festzusetzenden Parameter sind also:

1. die mittlere Aufenthaltsdauer T_i , die sich bei den proliferativen Zellstufen aus der Amplifikation Z_i und der Verdoppelungszeit TD_i errechnet: $T_i = \log_2 Z_i \cdot TD_i$ (s. 1.3.2.3.1 auf Seite 34 und 1.3.2.3.2 auf Seite 35);
2. die Amplifikation Z_i ;
3. die proliferative Fraktion a_i ;
4. die jeweiligen Anfangswerte $Y_i(t=0)$, ohne die eine Integration der obigen Differentialgleichungen nicht möglich ist.

Ein nicht lineares dynamisches Modell entsteht mit diesen Grundannahmen dadurch, dass die Modellparameter nicht als konstant angenommen werden, sondern einer kompartiment-spezifischen und vom EPO-Spiegel abhängigen Regulation unterliegen, wobei der EPO-Spiegel wiederum maßgeblich von der von der Zahl der roten Blutzellen abhängt (Abschnitt 2.2.2.7 auf Seite 61). Die qualitativen Unterschiede werden im folgenden Kapitel dargestellt. Die Tabellen 2.5 auf Seite 76, 2.6 auf Seite 77 und 2.7 auf Seite 77 fassen die quantitativen Unterschiede übersichtlich zusammen.

2.2.2 Modell der Erythropoese

Die Erythropoese findet (getrennt) in Knochenmark und Milz statt. Im Modell wird dem Rechnung getragen, indem die Sequenz der erythropoetischen Kompartimente, wie sie im folgenden beschrieben werden, für jedes der beiden Mikroenvironmente einzeln modelliert wird.

2.2.2.1 Die CFU-S

Wie bereits zuvor ausgeführt, werden die CFU-S im Rahmen dieser Arbeit nicht näher betrachtet.

2.2.2.2 Die BFU-E

Im Rahmen dieser Arbeit werden für das Knochenmarks-BFU-E- und das lienale BFU-E-Kompartiment vereinfachte Annahmen gemacht. Es wird angenommen, dass die Amplifikation und die Verdoppelungszeit – und damit auch die Transitzeit – der BFU-E konstant sind. Diese Annahme gewinnt an Plausibilität, wenn man die geringe Zahl der Erythropoetin-Rezeptoren in Rechnung stellt, die eine BFU-E besitzt. Des Weiteren wird angenommen, dass die BFU-E Parameter für Knochenmark und Milz identisch sind, da die verfügbaren Daten nicht für eine Differenzierung ausreichen. In soweit gleicht das hier praktizierte Verfahren dem für das PModell gewählten ([136]). Anders ist, dass ein neuer Ansatz zur Simulation der Migration der BFU-E für das EModell gewählt wurde. Dieser wird im folgenden Abschnitt hergeleitet und beschrieben.

2.2.2.2.1 Die Migration der BFU-E In der normalen Gleichgewichtssituation sind 3 % aller organständigen BFU-E in der Milz und 97 % im Knochenmark lokalisiert. Dieses ändert sich bei Applikation von Erythropoetin. Die Abbildung 2.1 auf der nächsten Seite zeigt die experimentell ermittelte Änderung der Verteilung der BFU-E auf das Knochenmark und die Milz in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis [56]. Schon bei Gabe von geringen Mengen Erythropoetin verringert sich im Knochenmark die Anzahl der BFU-E stark (vgl. hierzu auch Abbildung 2.8 auf Seite 55). Sie erreicht bereits bei einer Dosis von 2-5 U/M/Tag ihren minimalen Wert. In der Milz hingegen findet sich erst bei höheren Gaben von Erythropoetin eine steigende Anzahl von BFU-E (ab 5 U/M/d). Zudem wird ein Maximum nicht sicher erreicht.

2 Material und Methoden

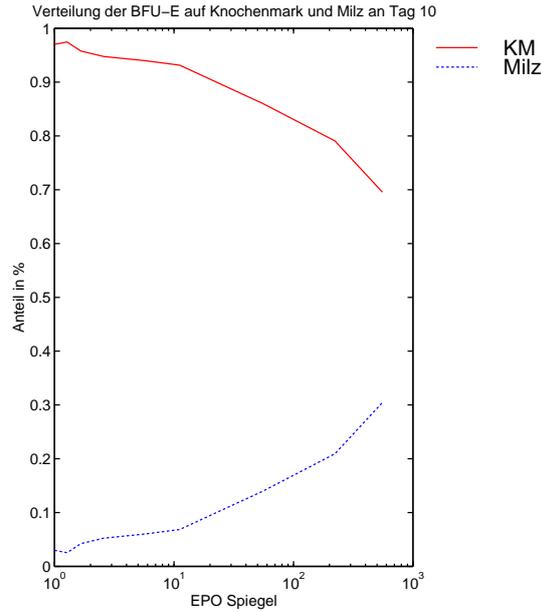


Abbildung 2.1: Die experimentell ermittelte Verteilung der BFU-E auf Knochenmark und Milz in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis [56]

Wie bereits im Kapitel 1.3.2.6 auf Seite 41 ausgeführt, kann die sich ändernde Verteilung der BFU-E vom Knochenmark in die Milz durch Migration erklärt werden. Lässt man zunächst einmal die Verhältnisse in der Milz außer Betracht, so ist die Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E im Knochenmark ($mr_{BE_{KM}}$) relativ schnell gefunden. Unter der Annahme, dass keine Rückmigration von der Milz in das Knochenmark stattfindet, beträgt die Migrationsrate der Knochenmarks-BFU-E maximal 13 %. Dieser maximale Wert wird bei einem um etwas mehr als das 20-fache erhöhtem EPO-Spiegel erreicht.

Abbildung 2.2 auf der nächsten Seite zeigt, dass die mit der in Abbildung 2.3 auf der nächsten Seite gezeigten Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate berechnete relative Anzahl der BFU-E im Knochenmark hinreichend gut mit den experimentellen Daten übereinstimmt. Sie zeigt zudem, dass dieses unter den Annahmen, dass keine Rückmigration der lienalen BFU-E stattfindet und die 'seeding efficiency' in der Milz ($se_{BE_{Milz}}$) 100 % beträgt, für die BFU-E der Milz nicht zutrifft. Die Kurve der relativen Anzahl der lienalen BFU-E steigt viel zu schnell an und zeigt zudem eine Sättigung. Interessanter Weise zeigen beide Abbildungen, dass im Modell eine maximale Migrationsrate von 13 % im Knochenmark ausreicht, um den im Experiment erreichten Maximalwert der BFU-E in der Milz zu treffen.

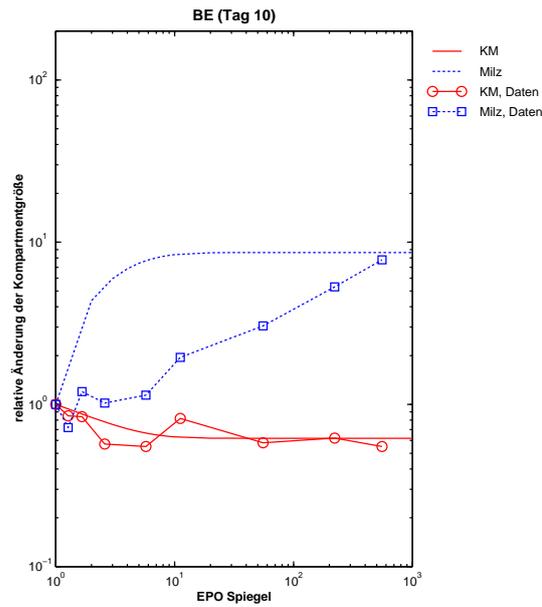


Abbildung 2.2: Die relative Kompartimentgröße der BFU-E in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis und ihre Repräsentation durch das Modell unter der Annahme, dass die BFU-E vom Knochenmark in die Milz migrieren, keine Rückmigration stattfindet und die 'seeding efficiency' in der Milz 100 % beträgt

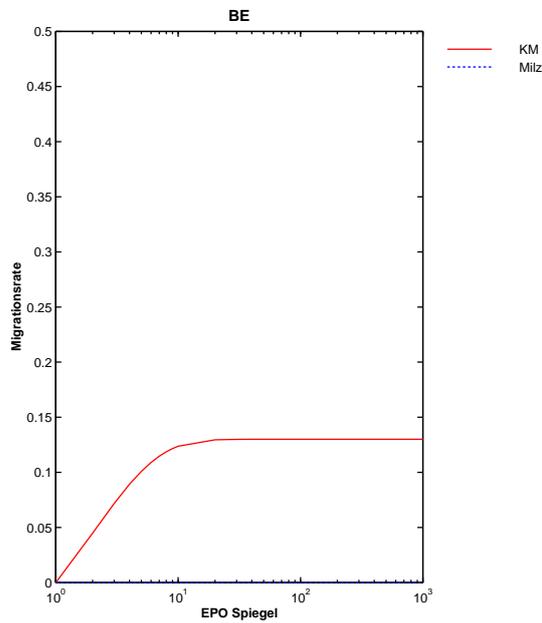


Abbildung 2.3: Die Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E I

2 *Material und Methoden*

Welche Mechanismen könnten nun für das experimentell beobachtete Verhalten der lienalen BFU-E verantwortlich sein, wenn man die gefundene Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E aus dem Knochenmark in die Milz akzeptiert?

Um diese Frage zu beantworten, werden in den folgenden Abschnitten drei denkbare Mechanismen betrachtet. Es sind die (Rück-)Migration, die 'seeding efficiency' und die Amplifikation.

1. **(Rück-)Migration**

Eine Migration von BFU-E von der Milz in das Knochenmark parallel zur Migration der BFU-E vom Knochenmark in die Milz kann den Anstieg der BFU-E in der Milz geringfügig dämpfen (Abbildung 2.4 auf der nächsten Seite). Damit der Anstieg der BFU-E in der Milz in dieser Weise erfolgt, muss bereits bei schwach erhöhtem EPO-Spiegel die Migration aus der Milz in einem größeren Umfang einsetzen als die aus dem Knochenmark (Abbildung 2.5 auf der nächsten Seite). Um die hinreichend gute Übereinstimmung der Simulation mit den Daten der BFU-E des Knochenmarks nicht zu gefährden (vergl. Abbildung 2.2 auf der vorherigen Seite), muss eine 'seeding efficiency' von 0% für das Knochenmark angenommen werden.

Es gibt keinen Grund, eine Migration von BFU-E aus der Milz auszuschließen. Die Nettomigrationsrate ist - neben der im folgenden Abschnitt diskutierten 'seeding efficiency' - entscheidend für die Verteilung der BFU-E auf Knochenmark und Milz. Es lassen sich eine Vielzahl von korrespondierenden Dosis-Wirkungskurven der Migrationsraten in Knochenmark und Milz definieren, die zur gleichen Nettomigrationsrate führen. So gesehen, entspricht die hier vorgeschlagene Migrationsrate der BFU-E des Knochenmarks der Nettomigrationsrate, die für eine Anpassung des Modelles an die experimentellen Ergebnisse erforderlich ist.

2. **'seeding efficiency'**

Die folgenden Überlegungen zur 'seeding efficiency' gehen von der im vorangehenden Abschnitt diskutierten Nettomigrationsrate aus.

Eine allgemein herabgesetzte 'seeding efficiency' in der Milz führt nicht zu einer hinreichenden Übereinstimmung der Modellrechnung mit den experimentellen Daten. Sie verändert die Form der Modellkurve der lienalen BFU-E nicht. Sie hat eine zu geringe Anzahl von BFU-E in der Milz bei hohen Erythropoetin-Spiegeln zur Folge (Abbildung 2.6 auf Seite 54). Nimmt man aber an, dass die 'seeding efficiency' in der Milz nicht konstant, sondern vielmehr in geeigneter Weise vom Erythropoetin-Spiegel abhängig ist (Abbildung 2.7 auf Seite 55), so erzielt man eine

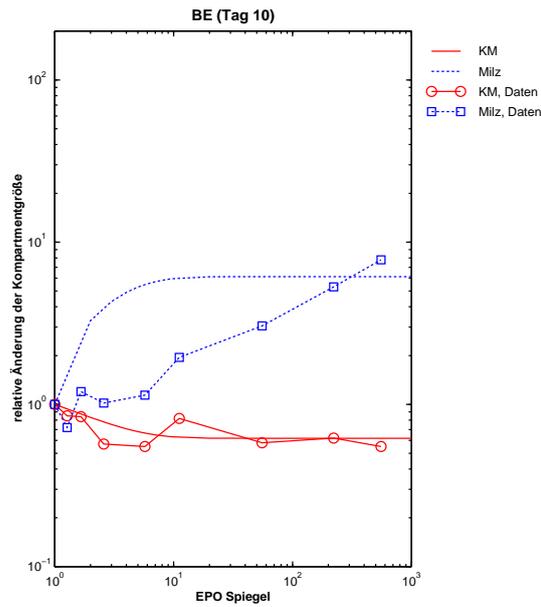


Abbildung 2.4: Die relative Kompartimentgröße der BFU-E in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis und ihre Repräsentation durch das Modell unter der Annahme, dass die BFU-E vom Knochenmark in die Milz und auch zurück migrieren und die 'seeding efficiency' in der Milz 100% beträgt

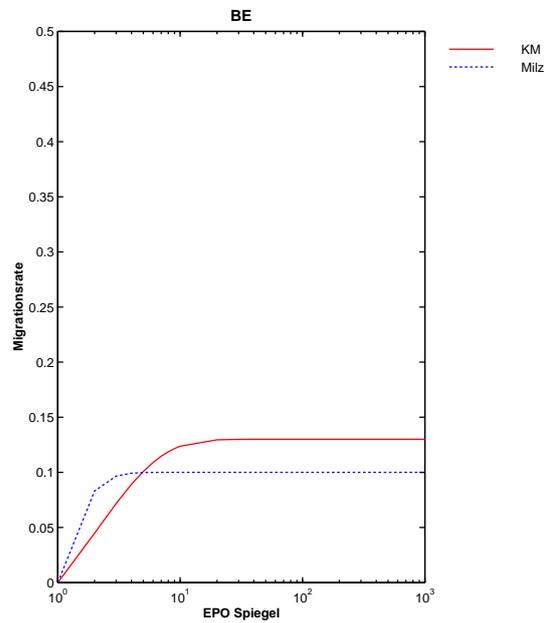


Abbildung 2.5: Die Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E II

2 Material und Methoden

gute Übereinstimmung des Modells mit den experimentellen Daten (Abbildung 2.8 auf der nächsten Seite).

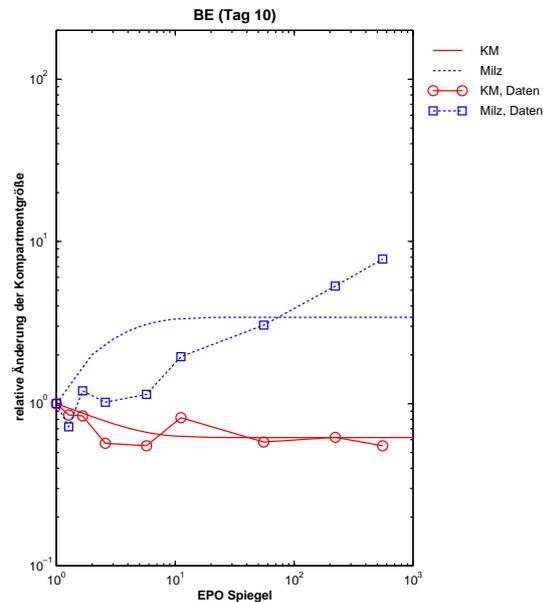


Abbildung 2.6: Die relative Kompartimentgröße der BFU-E in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis und ihre Repräsentation durch das Modell unter der Annahme, dass die BFU-E vom Knochenmark in die Milz und auch zurück migrieren und die 'seeding efficiency' in der Milz 50 % beträgt

3. Amplifikation

Es ist vorstellbar, dass eine Anpassung des Modells an die experimentellen Daten auch durch die beiden folgende Annahmen erzielt werden könnte:

- Emigration von BFU-E des Knochenmarks, die sich jedoch nicht oder nur zu einem geringen Anteil in der Milz ansiedeln ('seeding efficiency' in der Milz liegt nahe bei Null), oder EPO-abhängige Reduktion der Amplifikation der BFU-E im Knochenmark (steigende Erythropoetin-Spiegel führen zu erhöhter Apoptose).
- EPO-abhängiger Anstieg der Amplifikation der BFU-E in der Milz.

Letztlich lässt es sich nicht klären, ob diese Annahmen den biologischen Gegebenheiten besser entsprechen als die zuvor gemachten, da nicht genügend experimentelle Daten über die BFU-E verfügbar sind. Lediglich die Zunahme der Apoptose der BFU-E im Knochenmark mit steigendem Erythropoetin-Spiegel erscheint unwahrscheinlich, da Erythropoetin in den einschlägigen Experimenten durchweg die Rolle

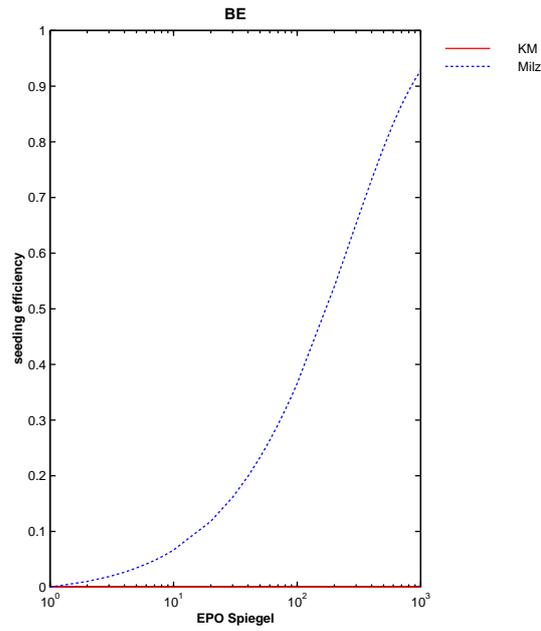


Abbildung 2.7: Die Dosis-Wirkungskurve der 'seeding efficiency' der lienalen BFU-E

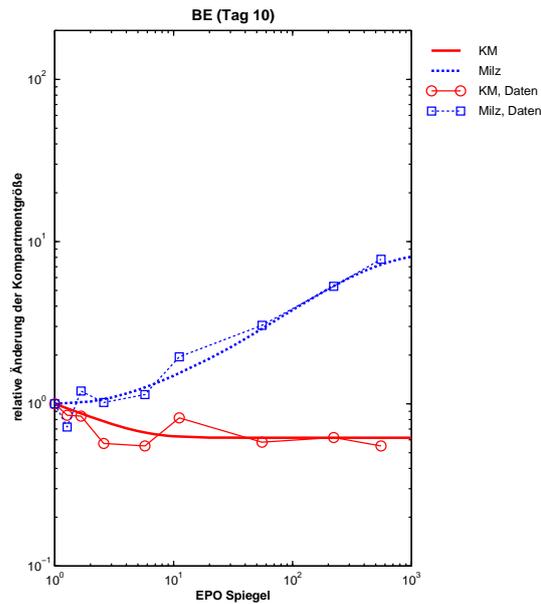


Abbildung 2.8: Die relative BFU-E-Kompartimentgröße in Abhängigkeit von der gegebenen rhErythropoetin-Dosis bei variabler, vom Erythropoetin-Spiegel abhängiger 'seeding efficiency'

2 Material und Methoden

eines Überlebensfaktors spielt. Für das EModell wurde die Variante Erythropoetin-abhängige Migration der BFU-E vom Knochenmark in die Milz in Kombination mit einer ebenfalls Erythropoetin-abhängigen 'seeding efficiency' ausgewählt, da diese eine überzeugende Übereinstimmung der Modellkurven mit den experimentellen Daten ermöglicht (vgl. Abbildung 2.8 auf der vorherigen Seite).

Die Kinetik des mit BE_{KM} bezeichneten Kompartiments der BFU-E im Knochenmark wird demnach durch die Gleichung:

$$\begin{aligned} \frac{dY_{BE_{KM}}(t)}{dt} = & Z_{BE_{KM}}^{ein} \cdot Y_{S_{KM}}^{aus}(t) \\ & - Y_{BE_{KM}}(t) \cdot \frac{a_{BE_{KM}}}{TD_{BE_{KM}} \cdot \log_2 Z_{BE_{KM}}} \\ & - emigrierendeBE_{KM}(t) \\ & + immigrierendeBE_{KM}(t) \end{aligned} \quad (2.9)$$

und die des mit BE_{Milz} bezeichneten Kompartiments der BFU-E in der Milz durch:

$$\begin{aligned} \frac{dY_{BE_{Milz}}(t)}{dt} = & Z_{BE_{Milz}}^{ein} \cdot Y_{S_{Milz}}^{aus}(t) \\ & - Y_{BE_{Milz}}(t) \cdot \frac{a_{BE_{Milz}}}{TD_{BE_{Milz}} \cdot \log_2 Z_{BE_{Milz}}} \\ & - emigrierendeBE_{Milz}(t) \\ & + immigrierendeBE_{Milz}(t) \end{aligned} \quad (2.10)$$

beschrieben. Die Terme $Y_{S_{KM}}^{aus}(t)$ bzw. $Y_{S_{Milz}}^{aus}(t)$ repräsentieren die das CFU-S- verlassenden und in das BFU-E-Kompartiment des Knochenmarks bzw. der Milz einströmenden Zellen.

Es folgen die Gleichungen für die Berechnung der emigrierenden und immigrierenden BFU-E des Knochenmarks:

$$emigrierendeBE_{KM}(t) = Y_{BE_{KM}}(t) \cdot mr_{BE_{KM}} \quad (2.11)$$

$$immigrierendeBE_{KM}(t) = emigrierendeBE_{Milz}(t) \cdot se_{BE_{KM}} \quad (2.12)$$

und der Milz:

$$\text{emigrierende}BE_{Milz}(t) = Y_{BE_{Milz}}(t) \cdot mr_{BE_{Milz}} \quad (2.13)$$

$$\text{immigrierende}BE_{Milz}(t) = \text{emigrierende}BE_{KM}(t) \cdot se_{BE_{Milz}} \quad (2.14)$$

2.2.2.3 Die CFU-E

Die CFU-E sind das auf die BFU-E folgende Entwicklungsstadium der erythropoetischen Zellen. Die Kinetik des mit CE_{KM} bezeichneten Kompartiments der CFU-E im Knochenmark wird durch die Gleichung:

$$\begin{aligned} \frac{dY_{CE_{KM}}(t)}{dt} &= Z_{CE_{KM}}^{ein} \cdot Y_{BE_{KM}}^{aus}(t) \\ &\quad - Y_{CE_{KM}}(t) \cdot \frac{a_{CE_{KM}}}{TD_{CE_{KM}} \cdot \log_2 Z_{CE_{KM}}} \end{aligned} \quad (2.15)$$

und die des mit CE_{Milz} bezeichneten Kompartiments der CFU-E in der Milz durch:

$$\begin{aligned} \frac{dY_{CE_{Milz}}(t)}{dt} &= Z_{CE_{Milz}}^{ein} \cdot Y_{BE_{Milz}}^{aus}(t) \\ &\quad - Y_{CE_{Milz}}(t) \cdot \frac{a_{CE_{Milz}}}{TD_{CE_{Milz}} \cdot \log_2 Z_{CE_{Milz}}} \end{aligned} \quad (2.16)$$

beschrieben. Diese Zellen unterscheiden sich von den BFU-E durch ihre hohe Erythropoetin-Empfindlichkeit. Das Erythropoetin reguliert Amplifikation und Verdoppelungszeit. Die Anzahl der CFU-E im Zellzyklus, bezogen auf die Gesamtzahl, liegt konstant bei 100 % ($a_{CE_{KM}} = a_{CE_{Milz}} = 1$).

Ein erhöhter Erythropoetin-Spiegel induziert eine verstärkte Amplifikation und damit verkürzte Verdoppelungszeit. Ein erniedrigter Spiegel hat den umgekehrten Effekt: die Amplifikation ist reduziert und die Verdoppelungszeit verlängert. Die Transitzeit als das Produkt von Verdoppelungszeit und dem Logarithmus der Amplifikation zur Basis 2 ($\log_2 Z$) ist infolgedessen variabel und indirekt vom Erythropoetin abhängig. Amplifikation und Verdoppelungszeit sind in Knochenmark und Milz nicht zwangsläufig identisch.

2.2.2.4 Die Erythroblasten (PEB und MEB)

Aus den CFU-E (CE) gehen die morphologisch identifizierbaren erythropoetischen Vorläuferzellen, die Erythroblasten (EB), hervor, die sich funktionell in zwei Gruppen einteilen lassen. Bei der ersten Gruppe handelt es sich um die aus den CFU-E hervorgehenden proliferativen Erythroblasten (PEB = ‚Proliferating Erythroblasts‘ = ‚Proliferating Erythroid Precursors‘). Die zweite Gruppe wird durch die nicht proliferierenden Erythroblasten gebildet (MEB = ‚Maturing Erythroblasts‘ = ‚Non-Proliferating Erythroid Precursors‘). Diese gehen ihrerseits aus den proliferativen Erythroblasten hervor.

Die Grundgleichung lautet für das Kompartiment der proliferativen Erythroblasten im Knochenmark (PEB_{KM}):

$$\begin{aligned} \frac{dY_{PEB_{KM}}(t)}{dt} = & Z_{PEB_{KM}}^{ein} \cdot Y_{CE_{KM}}^{aus}(t) \\ & - Y_{PEB_{KM}}(t) \cdot \frac{a_{PEB_{KM}}}{TD_{PEB_{KM}} \cdot \log_2 Z_{PEB_{KM}}} \end{aligned} \quad (2.17)$$

und für das Kompartiment der proliferativen Erythroblasten in der Milz (PEB_{Milz}):

$$\begin{aligned} \frac{dY_{PEB_{Milz}}(t)}{dt} = & Z_{PEB_{Milz}}^{ein} \cdot Y_{CE_{Milz}}^{aus}(t) \\ & - Y_{PEB_{Milz}}(t) \cdot \frac{a_{PEB_{Milz}}}{TD_{PEB_{Milz}} \cdot \log_2 Z_{PEB_{Milz}}} \end{aligned} \quad (2.18)$$

Alle proliferativen Erythroblasten befinden sich im Zellzyklus, und somit beträgt der Wert für die proliferative Fraktion 1.

Da die reifenden Erythroblasten nicht-proliferieren, lautet die Grundgleichung für das Kompartiment der reifenden Erythroblasten im Knochenmark (MEB_{KM}):

$$\frac{dY_{MEB_{KM}}(t)}{dt} = Y_{PEB_{KM}}^{aus}(t) - \frac{Y_{MEB_{KM}}(t)}{T_{MEB_{KM}}} \quad (2.19)$$

und für das in der Milz entsprechend:

$$\frac{dY_{MEB_{Milz}}(t)}{dt} = Y_{PEB_{Milz}}^{aus}(t) - \frac{Y_{MEB_{Milz}}(t)}{T_{MEB_{Milz}}} \quad (2.20)$$

Aus der Summe von $\frac{dY_{PEB_{KM}}(t)}{dt}$ und $\frac{dY_{MEB_{KM}}(t)}{dt}$ ergibt sich dann $\frac{dY_{EB_{KM}}(t)}{dt}$. Entsprechend

berechnet sich $\frac{dY_{EB_{Milz}}(t)}{dt}$ aus der Summe von $\frac{dY_{PEB_{Milz}}(t)}{dt}$ und $\frac{dY_{MEB_{Milz}}(t)}{dt}$.

Sowohl die Amplifikation und die Verdoppelungszeit der PEB als auch die Reifungszeit der MEB sind von Erythropoetin abhängig. Ein erhöhter Erythropoetin-Spiegel führt zu einer verstärkten Amplifikation, einer reduzierten Generationszeit und einer kürzeren Reifungszeit. Die gegenteiligen Effekte werden durch einen niedrigen Erythropoetin-Spiegel bewirkt. Die Transitzeit als die Summe der Reifungszeit und des Produkts aus Verdoppelungszeit und $\log_2 Z$ ist infolgedessen variabel und indirekt von Erythropoetin abhängig. Amplifikation und Verdoppelungszeit sind in Knochenmark und Milz nicht zwangsläufig identisch.

2.2.2.5 Die Retikulozyten

Die nicht-proliferativen Erythroblasten differenzieren in die residualen Retikulozyten (RETR). Dieses Zellkompartiment wurde neu eingeführt, um das Modell in seiner Struktur den biologischen Befunden und experimentellen Gepflogenheiten besser anzupassen. Bisher wurden die residualen Retikulozyten als Bestandteil dem EB-Kompartiment zugeordnet, obwohl die experimentell gezählten Erythroblasten diese nicht beinhalten. Innerhalb dieses Kompartiments findet wie im MEB-Kompartiment keine Amplifikation mehr statt. Die Grundgleichung lautet deswegen für die RETR im Knochenmark:

$$\frac{dY_{RETR_{KM}}(t)}{dt} = Y_{MEB_{KM}}^{aus}(t) - \frac{Y_{RETR_{KM}}(t)}{T_{RETR_{KM}}} \quad (2.21)$$

und für die in der Milz entsprechend:

$$\frac{dY_{RETR_{Milz}}(t)}{dt} = Y_{MEB_{Milz}}^{aus}(t) - \frac{Y_{RETR_{Milz}}(t)}{T_{RETR_{Milz}}} \quad (2.22)$$

Die residualen Retikulozyten bringen die ersten roten Blutzellen, die zirkulierenden Retikulozyten (RETC), hervor. Deren Kinetik lässt sich analog zu der der residualen Retikulozyten beschreiben:

$$\frac{dY_{RETC}(t)}{dt} = Y_{RETR_{KM}}^{aus}(t) + Y_{RETR_{Milz}}^{aus}(t) - \frac{Y_{RETC}(t)}{T_{RETC}} \quad (2.23)$$

Im Normalzustand der Erythropoese ist das Verhältnis $\frac{Y_{RETR_{KM}} + Y_{RETR_{Milz}}}{Y_{RETC}}$ ungefähr 1. Bei stimulierter Erythropoese werden die residualen Retikulozyten beschleunigt in das periphere Blut abgegeben. Da sie jedoch noch nicht die Funktionalität eines normalen

2 Material und Methoden

zirkulierenden Retikulozyten erreicht haben, müssen sie im Blut nachreifen. Dieser Effekt der stimulierten Erythropoese wird im Modell durch eine Verkürzung der Reifungszeit der RETR und eine äquivalente Verlängerung der Reifungszeit der RETC in Abhängigkeit von Erythropoetin nachgebildet. Die Gesamttransitzeit der Retikulozyten (T_{RET}) berechnet sich somit entsprechend der Formel:

$$T_{RET} = T_{RETC} + T_{RETR} = \textit{konstant} \quad (2.24)$$

Für die Berechnung der aktuellen Transitzeit der zirkulierenden Retikulozyten wird der Einfachheit halber nur die Änderung der Transitzeit der residualen Retikulozyten im Knochenmark herangezogen. Durch Umstellung der Formel (2.24) auf Seite 60 erhält man:

$$T_{RETC} = T_{RET} - T_{RETR_{KM}} \quad (2.25)$$

2.2.2.6 Die Erythrozyten und der Hämatokrit

Aus den zirkulierenden Retikulozyten gehen die Erythrozyten hervor. Diese unterliegen einem altersabhängigen Abbau. Zu der Zeit t verlassen genau die Erythrozyten das Kompartiment, welche es zur Zeit $t - T_{ERY}$ betreten haben. Um dieses zu modellieren, muss eine retardierte Differentialgleichung statt der Grundgleichung benutzt werden:

$$\frac{dY_{ERY}(t)}{dt} = Y_{RETC}^{aus}(t) - Y_{RETC}^{aus}(t - T_{ERY}) \quad (2.26)$$

Es gibt experimentelle Hinweise darauf, dass bei stimulierter Erythropoese gebildete Erythrozyten beschleunigt abgebaut werden [178], [202]. Allerdings zeigen andere Untersuchungen [131], dass die Auswirkungen dieses Effekts bisher überschätzt wurden. Aus diesem Grunde geht diese Arbeit davon aus, dass die durchschnittliche Lebensspanne der Erythrozyten konstant ist. Eine Beschreibung der Modellierung von Stress-Erythrozyten wird in [135] gegeben.

Der Hämatokrit (HKT) berechnet sich aus dem Plasmavolumen (PV), der Anzahl der Blutzellen und deren mittlerem korpuskulären Volumen (MCV). Da der Anteil der roten Blutzellen (RBC) an den Zellen im Blut bei weit über 90 % liegt, spiegelt der Hämatokrit im Wesentlichen deren Konzentration im Blut wieder, und er kann näherungsweise mit der Formel:

$$HKT = RBC \cdot \frac{MCV}{PV + RBC \cdot MCV} \quad (2.27)$$

berechnet werden. Da - wie noch im 2.3 auf Seite 68 erläutert wird - im Modell letztlich nur die relativen Zellzahlen betrachtet werden, wird eine leicht modifizierte Form der Formel (2.27) auf Seite 61 zur Berechnung des Hämatokrits herangezogen:

$$\begin{aligned} HKT(t) &= \frac{1}{1 + k_{HKT} \cdot RBC^{1/rel} \cdot PV^{rel}} \\ \text{mit} & \\ k_{HKT} &= \frac{HKT^{nor}}{1 - HKT^{nor}} \\ &= \frac{1}{1 - HKT^{nor}} - 1 \\ RBC^{1/rel} &= \frac{RBC^{nor}}{RBC(t)} \\ PV^{rel} &= \frac{PV(t)}{PV^{nor}} \end{aligned} \quad (2.28)$$

Diese ermöglicht es, einen normalen Hämatokritwert vorzugeben, unabhängig von der im Normalfall tatsächlich vorliegenden Anzahl der roten Blutzellen und dem normalen Plasmavolumen. Der Normalfall ist logischerweise dann gegeben, wenn $RBC^{nor} = RBC(t)$ und $PV^{nor} = PV(t)$ ist.

2.2.2.7 Das Erythropoetin

Die Rolle des Stellgliedes im Regelkreis der Erythropoese hat das Erythropoetin inne. Im Gleichgewichtsmodell wird der Erythropoetin-Spiegel direkt vorgegeben. Dabei besteht eine Schwierigkeit der Modellanalyse darin, den Modell-EPO-Spiegel in Relation zur Dosis des s.c. applizierten, rekombinanten humanen Erythropoetins zu setzen. Es sind leider keine (ausreichenden) Informationen über die pharmakokinetischen Effekte und das durchschnittliche Tagesprofil von rhErythropoetin in der Maus verfügbar, so dass von vereinfachten Annahmen ausgegangen werden muss. Die simpelste Möglichkeit besteht darin, einen Skalierungsfaktor einzuführen, wobei angenommen wird, dass der EPO-Spiegel proportional zu der gegebenen täglichen rhEPO-Dosis in Einheiten pro Maus pro Tag (Units/Mouse/day = U/M/d) ist. Ein Skalierungsfaktor von 1 erlaubt,

2 Material und Methoden

wie sich herausstellte, einen relativ guten Vergleich. Allerdings muss dann für den Dosisbereich unter 1 U/M/d angenommen werden, dass der Modell-EPO-Spiegel gleich 1 ist. Zudem muss angenommen werden, dass das endogen produzierte Erythropoetin bei Stimulation keinen nennenswerten Einfluss mehr auf den Erythropoetin-Spiegel hat. Aus diesem Grunde wurde mit Hilfe eines Einkompartiment-Modells der Pharmakokinetik des rhErythropoetin für jede gegebene Erythropoetin-Dosis der korrespondierende Erythropoetin-Spiegel näherungsweise bestimmt. Es wurde dabei davon ausgegangen,

- dass der Erythropoetin-Spiegel zu keinem Zeitpunkt unter seinen Normalwert absinken kann;
- dass die Halbwertszeit des Erythropoetins 3 Stunden beträgt;
- dass sich die Eliminationskonstante k bei subkutaner Gabe des Erythropoetins aus der Halbwertszeit (HWZ) entsprechend der folgenden Formel berechnet:

$$k = \frac{\ln(2)}{HWZ} = \frac{\ln(2)}{3} = 0,231; \quad (2.29)$$

- dass der normale Erythropoetin-Spiegel der Maus bei 20 mU/ml liegt [207, S. 163] (s.a. [176] und [174]);
- dass der normale Verteilungsraum von EPO und rhEPO das Plasmavolumen ist [176], [174] und jede Maus über 1,5 ml Plasmavolumen verfügt [195];
- dass sich der initiale (und wegen des durch die Zerfallsrate bedingten Abfalls auch jeweils maximale Erythropoetin-Spiegel (EPO_{ini}), der sich nach jeder gegebenen subkutanen Erythropoetin-Dosis (EPO_{Dosis}) einstellt, wie folgt berechnet werden kann:

$$EPO_{ini} = \frac{EPO_{Dosis} \cdot 0,15}{PV}; \quad (2.30)$$

- dass entsprechend dem experimentellen Applikationsschema 8 Stunden nach der ersten Dosis eines Tages die zweite Dosis gegeben wird und somit bis zur ersten Dosis des folgenden Tages genau 16 weitere Stunden verstreichen;
- dass für die Wirkung des Erythropoetins nicht der maximale bzw. initiale Pik von entscheidender Bedeutung ist, sondern vielmehr der durchschnittliche Erythropoetin-Spiegel während des betrachteten Zeitintervalls von einem Tag. Dieser relative durchschnittliche Erythropoetin-Spiegel eines Tages lässt sich berechnen, indem man die Flächen unter der Kurve des Erythropoetin-Spiegels über 24 Stunden

während der EPO-Applikation zu der Fläche unter der Kurve bei ungestörter Erythropoese ins Verhältnis setzt.

Die Tabelle 2.1 zeigt die unter diesen Annahmen bestimmten korrespondierenden Erythropoetin-Dosen und relativen Erythropoetin-Spiegel.

Tabelle 2.1: Erythropoetin-Dosis und relativer Erythropoetin-Spiegel. Mit Hilfe eines einfachen pharmakokinetischen Modells wurde für jede subkutan gegebene Erythropoetin-Dosis der korrespondierende relative Erythropoetin-Spiegel bestimmt. Die dem pharmakokinetischen Modell zugrunde liegenden Annahmen werden in Abschnitt 2.2.2.7 auf Seite 61 dargelegt.

rhEPO-Dosis U/Maus/Tag	relativer EPO-Spiegel (s. Text)
0,00	1,00
0,50	1,27
1,00	1,66
2,00	2,58
5,00	5,73
10,00	11,16
50,00	55,48
200,00	221,93
500,00	554,82

Bei den Simulationen der dynamischen Situationen (Kaptiel 4 auf Seite 99) wird die Höhe des Erythropoetin-Spiegels bzw. die Größe des Kompartiments Y_{EPO} nicht mehr direkt vorgegeben. Sie hängt nun über den Sauerstoffpartialdruck im Nierengewebe ($p_t O_2$) von der Anzahl der roten Blutzellen (RBC) bzw. der Hämoglobinmasse (Hb_M) ab [194], [193], [172].

Ausgehend von der Modellannahme einer konstanten Halbwerts- bzw. Transitzeit des Erythropoetin zeigt die - das Erythropoetin-Kompartiment beschreibende - Gleichung :

$$\frac{dY_{EPO}(t)}{dt} = EPO_{PRO} - \frac{Y_{EPO}(t)}{T_{EPO}}, \quad (2.31)$$

dass die Höhe des Erythropoetin-Spiegels allein von der Höhe der Erythropoetin-Produktion EPO_{PRO} abhängt. Die Höhe der Erythropoetin-Produktion wird - wie bereits angedeutet - durch den Sauerstoffpartialdrucks $p_t O_2$ bestimmt:

$$EPO_{PRO}(t) = k_1 \cdot \exp\left(\frac{-k_2 \cdot p_t O_2(t)}{p_t O_2^{nor}}\right) \quad (2.32)$$

2 Material und Methoden

Die Konstante k_1 definiert den Wert, gegen den EPO_{PRO} geht, wenn der Quotient aus aktuellem p_tO_2 und normalem p_tO_2 gegen Null geht. Er definiert den oberen Grenzwert der Erythropoetin-Produktion. Die Konstante k_2 hingegen bestimmt die Empfindlichkeit, mit der die Erythropoetin-Produktion auf sich verändernde Werte von p_tO_2 reagiert.

Der Sauerstoffpartialdruck im Nierengewebe (p_tO_2) hängt von der Sauerstoffsättigung des Nierengewebes (S_tO_2) ab. Diese Abhängigkeit lässt sich mit Hilfe der Hill'schen Gleichung [70] und den Größen $p50$ und n , die die Sauerstoffbindungskurve des Hämoglobins charakterisieren, beschreiben:

$$p_tO_2 = p50 \cdot \frac{S_tO_2}{100 - S_tO_2}^{\frac{1}{n}} \quad (2.33)$$

Für $p50$ wird im Modell ein Wert von 40 mmHg und für n ein Wert von 3 angenommen [5], [13], [58], [83], [165], [184], [185]. Die Sauerstoffsättigung des Nierengewebes S_tO_2 hängt ihrerseits von der arteriellen Sauerstoffsättigung S_aO_2 und der arterio-venösen Entsättigung dSO_2 entsprechend der Formel:

$$S_tO_2 = S_aO_2 - dSO_2 \quad (2.34)$$

ab. Die arterielle Sauerstoffsättigung S_aO_2 errechnet sich aus dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck p_aO_2 . Die benötigte Formel:

$$S_aO_2 = \frac{100}{\frac{p50}{p_aO_2}^n + 1} \quad (2.35)$$

erhält man durch Umformung der Hill'schen Gleichung (vgl. (2.33) auf Seite 64). Für p_aO_2 wird im Modell ein Wert von 80 mmHg angenommen, so dass sich für S_aO_2 ein Wert von 88,9 ergibt. Die arterio-venöse Entsättigung der Nierenrinde dSO_2 berechnet sich aus dem Sauerstoffverbrauch der Niere O_{2util} , dem renalen Blutfluss RBF , dem Plasmavolumen PV und der Hämoglobinmasse Hb_M [194], [193], [172] unter Anwendung der Formel:

$$dSO_2 = k \cdot O_{2util} \cdot \frac{PV}{Hb_M \cdot RBF} \quad (2.36)$$

Da die Niere in der Lage ist, ihren Sauerstoffverbrauch an den renalen Blutfluss anzupassen [36], [41], kann angenommen werden, dass der Quotient von O_{2util} und RBF konstant ist. Aus (2.36) auf Seite 64 wird:

$$dSO_2 = k \cdot \frac{PV}{Hb_M} \quad (2.37)$$

Es kann zur Zeit nicht ausgeschlossen werden, dass statt des Quotienten $\frac{PV}{Hb_M}$ der Hämatokrit HKT in die Berechnung der arterio-venösen Entsättigung der Niere dSO_2 eingehen sollte [36]. Es konnte jedoch gezeigt werden [207], dass beide Formen der Gleichung (2.37) auf Seite 65 vergleichbare Ergebnisse liefern. Aus diesem Grund wird hier an der angegebenen Form dieser Gleichung festgehalten. Die Hämoglobinmasse wird im Modell mit Hilfe der Formel:

$$Hb_M = \text{Anzahl der Reticulozyten} + \text{Anzahl der Erythrozyten} \quad (2.38)$$

berechnet. Es wird dabei davon ausgegangen, dass die mittlere korpuskuläre Hämoglobinmenge MCH nicht wesentlich von der tatsächlichen abweicht [53], [52].

2.2.2.8 Amplifikation

Erythropoetin (EPO) beeinflusst die Amplifikation (Z) in einer dosis-abhängigen Art und Weise. Die Amplifikation zeigt in ihrer Reaktion auf zunehmende Erythropoetin-Dosen bzw. zunehmenden Erythropoetin-Spiegel eine Sättigungs-Charakteristik, welche durch eine modifizierte ‚logistische‘, sigmoidale Funktion der Form:

$$Z = Z^{max} - (Z^{max} - Z^{min}) \cdot \exp(-Z1 \cdot EPO^b) \quad (2.39)$$

mit

$$Z1 = \ln\left(\frac{Z^{max} - Z^{min}}{Z^{max} - Z^{norm}}\right) \quad (2.40)$$

beschrieben werden kann. Die Funktion ist also durch die Angabe von Z^{max} , Z^{min} , Z^{norm} und b eindeutig definiert. Der Exponent b beeinflusst unter anderem die Steigung im Wendepunkt der Funktion.

Die erythropoetischen proliferativen Zellen (BE, CE, PEB) tragen jeweils ihren spezifischen Anteil zu der Gesamtamplifikation Z^{gesamt} bei:

$$Z^{gesamt} = Z_{BE}^{gesamt} \cdot Z_{CE}^{gesamt} \cdot Z_{PEB}^{gesamt} \quad (2.41)$$

2 Material und Methoden

Hierbei wird die Gesamtamplifikation in den einzelnen Kompartimenten anteilig aus den in Knochenmark und Milz gebildeten Zellpopulationen gemäß den Formeln:

$$Z_{BE}^{gesamt} = Z_{BE_{KM}} \frac{Y_{BE_{KM}}}{Y_{BE_{KM}} + Y_{BE_{Milz}}} + Z_{BE_{Milz}} \frac{Y_{BE_{Milz}}}{Y_{BE_{KM}} + Y_{BE_{Milz}}} \quad (2.42)$$

bzw.

$$Z_{CE}^{gesamt} = Z_{CE_{KM}} \frac{Y_{CE_{KM}}}{Y_{CE_{KM}} + Y_{CE_{Milz}}} + Z_{CE_{Milz}} \frac{Y_{CE_{Milz}}}{Y_{CE_{KM}} + Y_{CE_{Milz}}} \quad (2.43)$$

bzw.

$$Z_{PEB}^{gesamt} = Z_{PEB_{KM}} \frac{Y_{PEB_{KM}}}{Y_{PEB_{KM}} + Y_{PEB_{Milz}}} + Z_{PEB_{Milz}} \frac{Y_{PEB_{Milz}}}{Y_{PEB_{KM}} + Y_{PEB_{Milz}}} \quad (2.44)$$

gemittelt. Es gibt keine Restriktionen hinsichtlich des Anteils einer der Zellstufen an der Gesamtamplifikation, solange bei stimulierter Erythropoese eine monoton steigende Dosis-Wirkungs-Charakteristik des Gesamtergebnisses gewährleistet bleibt. Aufgrund der Annahme, dass die BFU-E kaum erythropoetin-empfindlich und somit ihre Amplifikation und proliferative Fraktion unter den betrachteten Gegebenheiten konstant sind, ist jede Änderung der erythropoetischen Gesamtamplifikation auf eine Änderung der Amplifikation der CFU-E bzw. der PEB zurückzuführen.

2.2.2.9 Transitzeiten

Die erythropoetische Gesamttransitzeit ist die Summe der Reifungszeit (T_r) der nicht-proliferativen Zellstufen und der Transitzeit, die für die Durchführung der Amplifikation benötigt wird ($T_p = TD \cdot m$, mit $m = \log_2 Z$). Die Analyse verschiedener experimenteller Daten – so auch in dieser Arbeit – legt nahe anzunehmen, dass die Reifungszeit der nicht-proliferativen Zellstadien durch Erythropoetin dosis-abhängig reduziert wird, wobei ein minimaler Wert asymptotisch bei starker Stimulation erreicht wird. Ähnlich wie oben lässt sich ein solcher Zusammenhang durch die Gleichung:

$$T_r = T_r^{min} - (T_r^{min} - T_r^{max}) \cdot \exp(-T1 \cdot EPO^b) \quad (2.45)$$

mit

$$T1 = \ln\left(\frac{T_r^{min} - T_r^{max}}{T_r^{min} - T_r^{nor}}\right) \quad (2.46)$$

gut beschreiben. Entsprechend wird angenommen, dass die Verdoppelungszeit der proliferativen Zellstadien durch Erythropoetin dosis-abhängig reduziert wird, wobei wiederum ein minimaler Wert asymptotisch bei starker Stimulation erreicht wird, was wie oben zu:

$$TD = TD^{min} - (TD^{min} - TD^{max}) \cdot \exp(-T1 \cdot EPO^b) \quad (2.47)$$

mit

$$T1 = \ln\left(\frac{TD^{min} - TD^{max}}{TD^{min} - TD^{nor}}\right) \quad (2.48)$$

führt. Einige Details zu der Wahl der Parameter (s. Tabelle 2.5 auf Seite 76) bedürfen eines Kommentars. Es gibt Berichte, dass Verdoppelungszeit wie durchschnittliche Zellzykluszeit der proliferativen Erythroblasten in vivo von 11 h auf 7 h verkürzt werden können (für die Literaturhinweise s. ebenda). Messungen der Verdoppelungszeit der CFU-E in vivo sind nicht verfügbar. Messungen in vitro zeigen, dass diese Zellen Zellzykluszeiten von 6 bis 7 h erreichen können [129].

2.2.2.10 Rote Blutzellen

In den bisher veröffentlichten Modellen wurde die Produktion von kurzlebigen Stress-Erythrozyten bei erhöhter Erythropoetin-Konzentration angenommen [109]. Neuere Daten zeigen [131], dass die Anzahl und die Rolle der ‚Stress-Erythrozyten‘ mit einer reduzierten Lebensspanne überschätzt wurde. Deshalb wird in dieser Studie die Lebenszeit T_{ERY} der Erythrozyten als konstant angenommen. Darüber hinaus wird angenommen, dass das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) und das Plasmavolumen (PV) sich unter Erythropoetin-Stimulation nicht ändern, obwohl Daten vorliegen [52], die dies nahe legen. In der Diskussion (Kapitel 7 auf Seite 177) werden diese Annahmen und ihre Relevanz besprochen.

2.3 Ein kritischer Blick auf die Aussagekraft experimenteller Daten

Bevor nun eine Abschätzung der Normalwerte der erythropoetischen Gesamtamplifikation vorgenommen wird, stellt sich die Frage nach der Aussagekraft der experimentellen Daten. Wie im Abschnitt 1.3.1 auf Seite 26 dargelegt, werden zur Bestimmung der Anzahl der Zellen in den verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung unterschiedliche Verfahren angewandt. Diese Verfahren sind zum Teil sehr aufwendig. Dies gilt insbesondere für die Verfahren zum Nachweis und zur Zählung der Progenitorzellen (Stammzellen, BFU-E und CFU-E):

- die Zellen müssen gesammelt und aufbereitet werden;
- in den mit ihnen geimpften Kulturen müssen definierte Wachstumsbedingungen über Tage hinweg konstant gehalten werden;
- bei der Auswertung müssen oft Ja/Nein-Entscheidungen gefällt werden, die in dieser eindeutigen Form nicht getroffen werden können.

Diese Verfahren sind somit störanfällig. Die im Grunde notwendige hohe Anzahl von Wiederholungen kann - wegen des hohen Zeitaufwands und der entstehenden Kosten - für viele Experimente nicht realisiert werden. Leider sind auch Experimente, die die gleichen Verfahren nutzen, aber aus unterschiedlichen Laboratorien stammen, nicht unbedingt miteinander vergleichbar. Dies liegt zum einen daran, dass oft unterschiedliche Mäusestämme genutzt werden, und zum anderen daran, dass jedes Labor dazu tendiert, leichte technische Modifikationen an den Verfahren vorzunehmen, um diese den eigenen Randbedingungen anzupassen.

Davon ausgehend, dass

- jedes Labor seine Eigenheiten hat und damit eine unmittelbare Vergleichbarkeit der gelieferten Daten nicht gegeben ist,
- die unterschiedlich hohen Normalwerte der verschiedenen, gesunden Mäusestämme nur quantitative Unterschiede widerspiegeln,
- der Zustand der Zellen zum Zeitpunkt ihrer Gewinnung keinen oder nur einen systematischen Einfluss auf die Ergebnisse der Verfahren zur Bestimmung ihrer Anzahl hat und
- die Verfahren nicht ihrerseits die Normal- oder Kontrollwerte verfälschen, indem sie zum Beispiel Zellen vor der Apoptose bewahren, die dieser normaler Weise anheim

gefallen wären,

können, durch Betrachtung der relativen statt der absoluten Zellzahlen verschiedene Experimente zu einander sinnvoll in Beziehung gesetzt werden. Die relativen Zellzahlen eines Experiments errechnen sich dann aus den verschiedenen Werten des Experiments dividiert durch den Normal- bzw. Kontrollwert *desselben* Experiments.

Zum Abschluss diesen Abschnitts seien noch 2 Sätze aus [105] zitiert: 'Insgesamt darf die quantitative Aussagekraft der Messungen also nicht überbewertet werden. Für die Modellanalyse ergibt sich daraus die Konsequenz, nicht vereinzelt Messkurven verhaftet zu bleiben, sondern . . . wichtige Grundmuster zu abstrahieren.'

2.3.1 Abschätzung der Normalwerte der erythropoetischen Gesamtamplifikation

Die im Abschnitt 1.3.2.4 auf Seite 39 versprochene Abschätzung der Normalwerte der erythropoetischen Amplifikation kann näherungsweise durch zwei sehr unterschiedliche experimentelle Verfahren erfolgen. Das erste Verfahren basiert auf der Analyse des Verhaltens einzelner Zellen in Kultur. Das zweite Verfahren hingegen basiert auf Daten von Zellpopulationen *in vivo*.

Im Abschnitt 1.3.1.2 auf Seite 27 wurde bereits erwähnt, dass man aus der Größe der erythropoetischen Kolonien, die aus einer einzelnen determinierten Stammzelle hervorgegangen sind, auf die Höhe der jeweiligen Amplifikation bzw. der Anzahl der Zellverdoppelungen schließen kann.

Wenn man vereinfachend annimmt,

1. dass alle Zellen einer betrachteten BFU-E Kolonie (= alle Tochterzellen einer BFU-E) zumindest das Entwicklungsstadium der nicht proliferativen Erythroblasten erreicht haben und
2. dass sich die betrachtete BFU-E *in vitro* genauso verhalten hat, wie sie es *in vivo* unter normalen Bedingungen tun würde,

kann von den experimentell ermittelten Werten für die Anzahl der Tochterzellen direkt auf die normale erythropoetische Gesamtamplifikation (Def. 1.3.2.3.1 auf Seite 34) geschlossen werden. Die in der Literatur angegebenen BFU-E Koloniegrößen liegen zwischen 200 und mehr als 1000 Zellen, so dass die erythropoetische Gesamtamplifikation unter den gegebenen Voraussetzungen mit Werten von 200 bis 1000 angegeben werden kann. Das entspricht einer Gesamtzahl von 7,6 bis ca. 10 Zellverdoppelungen (Def. Abschnitt

2 Material und Methoden

1.3.2.3.1 auf Seite 34). Die erythropoetische Amplifikation, die im Rahmen der Entwicklung einer CFU-E zum nicht-proliferativen Erythroblasten unter normalen Bedingungen realisiert wird, lässt sich analog dem eben geschilderten Verfahren abschätzen - man ersetze einfach BFU-E durch CFU-E in den zwei oben gemachten Annahmen. Im Vergleich zu den BFU-E Kolonien sind die CFU-E Kolonien von bescheidener Größe. In der Literatur finden sich Werte von 8 bis 64 Zellen pro CFU-E Kolonie, was einer Zahl von 3 bis 6 Zellverdoppelungen entspricht. Die Amplifikation (Zahl der Zellverdoppelungen), die innerhalb des BFU-E Kompartiments realisiert wird, lässt sich aus diesen beiden Größen berechnen, indem die erythropoetische Gesamtamplifikation durch die Amplifikation der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten geteilt wird. Die normale Amplifikation der BFU-E liegt somit zwischen 3 ($= 200/64$) und 125 ($= 1000/8$) oder in Form von Zellverdoppelungen ausgedrückt: 1,6 ($= 7,6 - 6$) und 7 ($= 10 - 3$). Nimmt man an, dass zum einen die Unterschiede im Wachstumsverhalten der BFU-E in vitro auf unterschiedlichen Kulturbedingungen beruhen und dieses ebenso für die Unterschiede des Wachstumsverhaltens der CFU-E in vitro gilt, und, dass zum anderen die jeweils optimalen Kulturbedingungen zu einer hohen Amplifikation führen, wohingegen die jeweils suboptimalen Kulturbedingungen zu einer eher niedrigen Amplifikation führen, ergeben sich für die Amplifikation der BFU-E Werte von 15,6 ($= 1000/64$) bis 25 ($= 200/8$) bzw. für die Anzahl der Zellverdoppelungen Werte von 4 ($= 10 - 6$) bis 4,6 ($= 7,6 - 3$).

Das zweite Verfahren geht von der Anzahl der CFU-S in Knochenmark und Milz und der Anzahl und der Transitzeit der Erythrozyten im peripheren Blut aus. Es macht sich die folgenden, nur für Gleichgewichtszustände geltenden Tatbestände zunutze:

1. In einem nicht-proliferativen Kompartiment (Y_i) entspricht der Ausstrom (Y_i^{aus}) aus dem Kompartiment dem Einstrom (Y_i^{ein}) in das Kompartiment:

$$Y_i^{aus} = Y_i^{ein} \quad (2.49)$$

2. In einem proliferativen Kompartiment (Y_i) ist der Ausstrom (Y_i^{aus}) abhängig vom Einstrom (Y_i^{ein}) und der innerhalb des Kompartiments realisierten Amplifikation (Z_i). Es gilt:

$$Y_i^{aus} = Y_i^{ein} \cdot Z_i \quad (2.50)$$

Die Abschätzung der erythropoetischen Gesamtamplifikation (Z^{gesamt}) kann somit mittels der Formel:

$$Z^{gesamt} = \frac{Y_{ERY}^{ein}}{Y_S^{aus}} \quad (2.51)$$

mit

$$Y_{ERY}^{ein} = Y_{ERY}^{aus} \quad (2.52)$$

und

$$Y_S^{aus} = Y_{SKM}^{aus} + Y_{SMilz}^{aus} \quad (2.53)$$

erfolgen, wenn die Werte für den Ausstrom der CFU-S im Knochenmark (Y_{SKM}^{aus}) und in der Milz (Y_{SMilz}^{aus}) sowie der Verlust der Erythrozyten (Y_{ERY}^{aus}) bekannt sind.

Die Bestimmung von Y_S^{aus} ist leider nur indirekt über die Anzahl der CFU-S und unter Annahme bestimmter (begründeter) Hypothesen über deren Verhaltensweisen möglich. Die Zahl der CFU-S in vivo wird durch ein in vitro Verfahren bestimmt (s. Abschnitt 1.3.1.1 auf Seite 26), dessen Ergebnisse einen relativ großen Interpretationsspielraum aufweisen. Der Grund ist, dass nicht alle injizierten CFU-S in der Milz anwachsen [126], [119], [160], [161], [169], [189] und zudem von diesen nur circa 1/3 sichtbare Kolonien ausbilden [127]. Das heißt, man muss davon ausgehen, dass die experimentell ermittelte Anzahl der CFU-S zu niedrig ist. Der über verschiedene Mäusestämme gemittelte Durchschnittswert der CFU-S pro Maus von $122 \cdot 10^3$ (Minimalwert = $27 \cdot 10^3$; Maximalwert = $160 \cdot 10^3$) [196] (Tabelle 3 auf Seite 170) bedarf somit der Korrektur.

Diese erfolgt mittels der sog. 'seeding efficiency'. Sie stellt den Korrekturfaktor dar, mit dem versucht wird, den Einfluss des beschriebenen systematischen Fehlers abzuschätzen und damit kalkulierbar zu machen. Die 'seeding efficiency' der CFU-S wird in der Literatur mit 1 % bis 30 % angegeben.

Die korrigierte Anzahl der CFU-S pro Maus beträgt somit zwischen $122/0,3 = 407$ und $122/0,01 = 12.200$ bzw. $27/0,3 = 90$ und $27/0,01 = 2.700$ oder $160/0,3 = 533$ und $160/0,01 = 16.000$, je nachdem, ob die Berechnung der korrigierten Anzahl der CFU-S anhand des Durchschnittswertes oder der Extremwerte der Zellzahlen bzw. anhand des niedrigsten oder des höchsten Wertes der 'seeding efficiency' erfolgt. Sie reicht also von 90 bis 16.000.

Wenn von den folgenden Annahmen zur Differenzierung der CFU-S ausgegangen wird:

1. zu jeder Zeit befinden sich 15 % der CFU-S im Zellzyklus ($a_S = 0,15$),

2 Material und Methoden

2. die Tochterzellen, die aus den sich im Zellzyklus befindenden CFU-S hervorgegangen sind, differenzieren zu 50 % aus ($p_S = 0,5$),
3. die Zellzykluszeit der proliferierenden CFU-S beträgt 8 h ($TC_S = 8$),
4. von den sich ausdifferenzierenden Tochterzellen der CFU-S werden 15 % zu BFU-E ($\alpha_E = 0,15$),

kann im Gleichgewicht der Einstrom Y_E^{ein} in die erythropoetische Zell-Linie pro Zeiteinheit entsprechend der Formel:

$$Y_E^{ein} = Y_S^{aus} \cdot \alpha_E = 2 \cdot (1 - p_S) \cdot Y_S \cdot \frac{a_S}{TC_S} \cdot \alpha_E \quad (2.54)$$

mit $TC_S = 8,0$; $a_S = 0,15$; $p_S = 0,5$ und $\alpha_E = 0,15$ wie folgt:

$$Y_E^{ein} = Y_S^{aus} \cdot \alpha_E = Y_S \cdot 0,0028125 \quad (2.55)$$

berechnet werden.

Die Begründungen dieser Annahmen und die Herleitung der Formel kann in [195] nachgelesen werden. Die Tabelle 2.2 präsentiert die Ergebnisse der Berechnung des Einstroms in die erythropoetische Zell-Linie.

Tabelle 2.2: Ergebnisse der Berechnung des Einstroms in die erythropoetische Zell-Linie bei unterschiedlichen Annahmen über die Anzahl der CFU-S pro Maus und der 'seeding efficiency'.

	Anzahl der CFU-S / Maus	seeding efficiency 1 %		seeding efficiency 30 %	
		Korrigierte Anzahl der CFU-S/Maus	Einstrom in die erythro- poetische Zell-Linie	Korrigierte Anzahl der CFU-S/Maus	Einstrom in die erythro- poetische Zell-Linie
Minimalwert	$27,0 \cdot 10^3$	$2700 \cdot 10^3$	$7,6 \cdot 10^3$	$90 \cdot 10^3$	$0,25 \cdot 10^3$
Mittelwert	$122,0 \cdot 10^3$	$12200 \cdot 10^3$	$34,0 \cdot 10^3$	$407 \cdot 10^3$	$1,14 \cdot 10^3$
Maximalwert	$160,0 \cdot 10^3$	$16000 \cdot 10^3$	$217,8 \cdot 10^3$	$533 \cdot 10^3$	$7,33 \cdot 10^3$
[56]	$88,5 \cdot 10^3$	$8850 \cdot 10^3$	$24,9 \cdot 10^3$	$295 \cdot 10^3$	$0,83 \cdot 10^3$

Y_{ERY}^{aus} kann entsprechend der Formel:

$$Y_{ERY}^{aus} = \frac{Y_{ERY}}{T_{ERY}} \quad (2.56)$$

berechnet werden. In Tabelle 2.3 werden die Ergebnisse der Berechnung des Ausstroms bzw. des Einstroms gezeigt.

Tabelle 2.3: Abschätzung des Einstroms in das Erythrozyten-Kompartiment bei einer angenommenen Transitzeit der Erythrozyten von 1080 Stunden und unterschiedlichen experimentell ermittelten Werten für die Gesamtzahl der Erythrozyten.

Transitzeit der Erythrozyten	Anzahl der Erythrozyten pro Maus		
	minimal	durchschnittlich	maximal
$T_{ERY} = 1080h$	$8800,0 \cdot 10^6$	$14546,4 \cdot 10^6$	$18000,0 \cdot 10^3$
$Y_{ERY}^{aus} = Y_{ERY}^{ein}$	$8,1481 \cdot 10^6$	$13,4689 \cdot 10^6$	$16,6667 \cdot 10^6$

Tabelle 2.4 auf Seite 74 zeigt die Ergebnisse der Abschätzung der erythropoetischen Gesamtamplifikation in Abhängigkeit von den zugrundegelegten Daten (s. Tabelle 2.2 auf Seite 72 und Tabelle 2.3 auf Seite 73) entsprechend der Formel:

$$Z^{gesamt} = \frac{Y_{CFU-S}^{aus}}{Y_{ERY}^{ein}} \quad (2.57)$$

$$\text{mit } Y_{ERY}^{ein} = Y_{ERY}^{aus}. \quad (2.58)$$

Beide Verfahren zeigen, dass aus den bisher vorliegenden experimentellen Daten keine exakte Abschätzung der normalen erythropoetischen Gesamtamplifikation möglich ist. Die in die Interpretation der Daten, insbesondere derer der CFU-S, einfließenden Annahmen sind von entscheidender Bedeutung. Unter den gegebenen Umständen kann im Prinzip nur versucht werden die (relative) Änderung der erythropoetischen Gesamtamplifikation bei Stimulation der Erythropoese gegenüber der Normalsituation zu bestimmen. Hierbei darf nicht verschwiegen werden, dass auch in diesem Fall eine Annahme notwendig ist. Diese lautet: Erythropoetin hat keinen *direkten* oder *indirekten* Einfluss auf das Verhalten der CFU-S.

Der aus dem Verhalten einzelner Zellen in Kultur abgeleitete Wertebereich (200 - 1000) stellt eine Untermenge des Wertebereichs von gut drei Dutzend bis ueber 65.000 dar, der aus den in vivo Daten der Zellpopulationen ermittelt wurde – angegeben wurden 37 bis 65.844.

Die Parameter der normalen erythropoetischen Amplifikation sollten nach Möglichkeit so gewählt werden, dass die normale erythropoetische Gesamtamplifikation innerhalb

2 Material und Methoden

Tabelle 2.4: Die Ergebnisse der Berechnung der erythropoetische Gesamtamplifikation bei verschiedenen Annahmen bezüglich des Einstroms in die erythropoetische Zell-Linie und der Gesamtzahl der Erythrozyten pro Maus (vergl. 2.2 auf Seite 72)

Einstrom in die erythropoetische Zell-Linie	$Y_{ERY}^{ein} = 6,9444 \cdot 10^6$	$Y_{ERY}^{ein} = 16,6667 \cdot 10^6$
$0,3 \cdot 10^3$	32190,2	65843,6
$0,8 \cdot 10^3$	9820,1	20086,5
$1,1 \cdot 10^3$	7121,3	14566,3
$7,3 \cdot 10^3$	1111,4	2273,4
$7,6 \cdot 10^3$	1073,0	2194,8
$24,9 \cdot 10^3$	327,3	669,6
$34,3 \cdot 10^3$	237,4	485,5
$219,9 \cdot 10^3$	37,0	75,8
Minimalwert der erythropoetischen Gesamtamplifikation (Zellverdoppelungen)		37,0 5,2
Mittelwert der erythropoetischen Gesamtamplifikation (Zellverdoppelungen)		9882,1 13,3
Maximalwert der erythropoetischen Gesamtamplifikation (Zellverdoppelungen)		65843,6 16,0

des Wertebereichs zu liegen kommt, der durch beide Verfahren abgedeckt ist. Das heißt, das Produkt der Parameter der normalen Amplifikation der BFU-E, der CFU-E und der PEB

$$Z^{gesamt,nor} = Z_{BE}^{gesamt,nor} \cdot Z_{CE}^{gesamt,nor} \cdot Z_{PEB}^{gesamt,nor} \quad (2.59)$$

(s. 2.2.2.8 auf Seite 65) sollte minimal 200 betragen und maximal 1000. Das wird allerdings zur Zeit von beiden Modellen nicht eingehalten: Bei Klaus Pantel et al ([136], PModell) beträgt die Gesamtamplifikation unter normalen Bedingungen für das Knochenmark $2^{16} = 65536$ und für die Milz $2^{17} = 131072$, und hier $2^{12} = 4096$ und $2^{13} = 8192$. Durch eine Reduktion der Amplifikation der BFU-E ist eine Anpassung EModells jedoch leicht zu erzielen. So führt eine Reduktion von $Z_{BE_{KM}}^{nor}$ von 32 auf 8 zu einer Gesamtamplifikation des Knochenmarks von $2^{10} = 1024$ und eine gleichartige Reduktion von $Z_{BE_{Milz}}^{nor}$ zu einer Gesamtamplifikation von $2^{11} = 2048$.

2.4 Der Standard-Parametersatz des erweiterten Modells (EModell)

Viele der Parameter des hier vorgestellten erweiterten Modells (EModell) sind identisch mit denen früherer Versionen des Modells, wie dem hier als Referenzmodell dienenden PModell nach Klaus Pantel et al ([136]).

Die Tabellen 2.5 auf der nächsten Seite sowie 2.6 auf Seite 77 und 2.7 auf Seite 77 geben eine komplette Übersicht über den neu erarbeiteten Parametersatz des EModells während normaler und maximaler Stimulation der Erythropoese. Einige der Parameter leiten sich von der Anpassung des Modells an die Daten ab, andere stammen von unabhängigen experimentellen Beobachtungen; in diesen Fällen werden die entsprechenden Literaturhinweise gegeben.

2.5 Die Modellrechnungen

Das mathematische Modell ist ein gewöhnliches, nicht-lineares Differentialgleichungssystem. Unter anderem die in dieses System eingebauten Rückkopplungen der Amplifikation und der Transit- bzw. Zellverdoppelungszeiten über den Erythropoetin-Spiegel auf den jeweiligen Hämatokrit-Wert machen es zu einem stark verschachtelten nicht-linearen System. Es wird im Abschnitt 2.2 auf Seite 45 beschrieben.

Programme zur automatisierten Abschätzung von unbekanntem Parametern in gewöhnlichen Differentialgleichungssystemen mit zusätzlichen algebraischen Randbedingungen aus einem gegebenen Datensatz mittels numerischer Algorithmen standen für diese Arbeit nicht zur Verfügung. Daher wurden die Modell-Parameter zunächst in Anlehnung an die vorhergehenden Modelle geschätzt. Anschließend wurden, wie üblich, durch "Nullsetzen" der Differentiale die zugehörigen asymptotischen Gleichgewichtswerte der im Kontext dieser Arbeit relevanten Variablen¹ mit Hilfe eines in QUADRO PRO®² realisierten Programms errechnet. So konnten für alle betrachteten Erythropoetin-Dosen die asymptotischen Gleichgewichtswerte aller relevanten Variablen des Modells auf einfache und schnelle Weise numerisch ermittelt werden.

Da diese zunächst einmal nicht mit den beobachteten Gleichgewichtswerten übereinstimmten, wurden die Parameterwerte systematisch "per Hand" variiert bis eine hinreichende

¹CFU-E, proliferative und nicht-proliferative Erythroblasten, sowie residuale und zirkulierende Retikulozyten im Knochenmark und der Milz

²QUADRO PRO® ist ein Tabellenkalkulationsprogramm

2 Material und Methoden

Tabelle 2.5: Die Parameter der CE und der PEB des EModells

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert		Median/ Mittelwert (Bereich der exp. Daten)	Referenzen
	KM	Milz	KM	Milz		
CFU-E Verdoppelungszeit ($i = CFU - E$)						
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	11,0 h	11,0 h	9,2 h (6 - 16 h)	[201], [87], [64], [29], [51], [128], [167]
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	7,0 h	7,0 h	6 - 8 h	
CFU-E Amplifikation ($i = CFU - E$)						
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	8,0	16,0	16,0 (4 - 64)	[2], [73], [60], [74], [190], [66], [54], [23]
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	44	510	48,5 (12 - 512)	
PEB Verdoppelungszeit ($i = PEB$)						
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	11,0 h	11,0 h	9,0 h (7 - 24 h)	[114], [87], [102], [111], [137], [115], [90], [31], [138], [133], [71], [46], [99], [149]
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	7,0 h	7,0 h	6 - 8 h	
PEB Amplifikation ($i = PEB$)						
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	16,0	16,0	64,0	[114], [2], [73], [66], [23], [31], [138], [47], [141]
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	18,5	8,68	64,0	

Tabelle 2.6: Die Parameter der MEB, der RETR und der RETC des EModells

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert		Median/ Mittelwert (Bereich der exp. Daten)	Referenzen
	KM	Milz	KM	Milz		
MEB Transitzeit ($i = MEB$)						
nor. Bedingungen	$T_{i_{KM}}^{nor}$	$T_{i_{Milz}}^{nor}$	6,0 h	6,0 h	6 - 9 h	[114], [90], [31], [133]
max. Stimulation	$T_{i_{KM}}^{min}$	$T_{i_{Milz}}^{min}$	2 h	2 h	3 - 7,2 h	
RETR Transitzeit ($i = RETR$)						
nor. Bedingungen	$T_{i_{KM}}^{nor}$	$T_{i_{Milz}}^{nor}$	12,0 h	12,0 h	14 - 34 h	[114], [31], [133]
max. Stimulation	$T_{i_{KM}}^{min}$	$T_{i_{Milz}}^{min}$	0,0 h	0,0 h	0,0 h	
RETC Transitzeit ($i = RETC$)						
nor. Bedingungen	T_i^{nor}		18,0 h		18,0 h	[40], [41], [53]
max. Stimulation	T_i^{min}		30,0 h		30,0 h	

Tabelle 2.7: Die die erythropoetische Gesamtamplifikation des EModells

Modell-Parameter	Modell-Symbol	Modell-Wert	Median/ Mittelwert (Bereich der exp. Daten)	Referenzen
erythropoetische Gesamtamplifikation (Werte gerundet)				
nor. Bedingungen	$Z^{gesamt,nor}$	4179	37,0 - 65844	Tabelle 2.4 auf Seite 74
(keine Migration: 97 % der Erythropese findet im Knochenmark statt, 3 % in der Milz)				
max. Stimulation	$Z^{gesamt,max}$	27406	???	
(keine Migration: 97 % der Erythropese findet im Knochenmark statt, 3 % in der Milz)				
max. Stimulation	$Z^{gesamt,max}$	43293	???	
(mit Migration: 70 % der Erythropese findet im Knochenmark statt, 30 % in der Milz)				

2 Material und Methoden

Übereinstimmung erzielt wurde. Hierbei fiel auf, dass insbesondere die Parameterwerte für die Transitzeiten bzw. für durch diese bestimmte Größen (Zellzykluszeiten) nicht in einem biologisch plausiblen Bereich lagen (Abschnitt 1.3.2.3.2 auf Seite 35). Zudem stellten sich die Fragen, ob eine realistische Abschätzung der erythropoietischen Gesamtamplifikation möglich sei (Abschnitt 2.3.1 auf Seite 69), welche Rolle die Migration (Abschnitt 1.3.2.6 auf Seite 41, 2.2.2.2.1 auf Seite 49) und welche Rolle die Apoptose (Abschnitt 6 auf Seite 143) spiele. All dies gab Anlass zu einer Untersuchung der biologischen Plausibilität der zunächst gewählten Parameterwerte und der Interpretation der verschiedenen Parameter. Hierzu wurden u.a. Sensitivitätsanalysen (Abschnitt 3.4 auf Seite 91) mit Hilfe eines ebenfalls in "QUADRO PRO®"realisierten Programms durchgeführt³. Aus der Untersuchung der biologischen Plausibilität der Parameterwerte resultierten weitere iterative Anpassungen der Parameterwerte in Kombination mit einer Neuinterpretation mehrerer Parameter, sowie Umstellungen und Erweiterungen des Modells, u.a. zur Berechnung der Transitzeit bei Vorgabe der Verdopplungszeiten und hinsichtlich Realisierung der Migration.

Auf diese Weise ermittelte und als geeignet erscheinende Parametersätze wurden durch Simulationen des zeitlichen Verlaufs bis zum Erreichen der Gleichgewichtszustände nach in der Regel 10 Tagen mit Hilfe des (modifizierten) MatLab/SimuLink®-Programms⁴ überprüft. Hierbei wurden auch Simulationen über eine Dauer von 20 und 100 Tagen durchgeführt, da die Gleichgewichtswerte des Hämatokrits weder im Experiment noch in der Simulation am Tag 10 erreicht werden (Abschnitt 3.3.2 auf Seite 90).

Der so identifizierte Parametersatz des hier vorgestellten Modells wurde dann zur Simulation von Stress-Reaktionen im zeitlichen Verlauf und über einen längeren Zeitraum hinweg unter Verwendung des (modifizierten) MatLab/SimuLink®-Programms genutzt (Abschnitt 4 auf Seite 99). Hierbei ergaben sich recht befriedigende Übereinstimmungen der Simulationsergebnisse mit den experimentellen Daten (Abschnitt 5.1 auf Seite 141). Im Zuge dessen wurden darüber hinaus noch Betrachtungen zur Migration bei durch Thiamphenicol induzierten Anämien angestellt (Abschnitt 4.4 auf Seite 126).

³Dies erlaubte die Analyse des Einflusses von Parameteränderungen für das gesamte Spektrum der EPO-Stimulation.

⁴Das MatLab/Simulink®-Programm wurde von Herrn Dr. Horst Franke mit meiner Unterstützung programmiert. In seiner ursprünglichen Fassung entsprach es dem zuvor in Fortran realisiertem und u. a. von Klaus Pantel für seine Arbeiten genutzten Simulationsprogramm. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das MatLab/Simulink®-Programm weiterentwickelt.

2.6 Präsentation der experimentellen Daten

Die von Nijhof et al. [56] während einer 10-tägigen Gabe von rhErythropoetin gewonnenen Daten werden für jede Zellstufe als Prozentsatz der Werte der unbehandelten Kontrollen präsentiert. Der Mittelwert und die Standardabweichung vom Mittelwert werden angegeben. Für weitere Details sei auf das Originalmanuskript verwiesen.

2 Material und Methoden

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

In diesem Kapitel werden die aus den Gleichgewichtsbetrachtungen (siehe Abschnitt 2.5 auf Seite 75) gewonnenen Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Amplifikation, Verdoppelungszeit und Reifungszeit beschrieben. Es wird gezeigt, dass mit diesen das Modell die experimentellen rhErythropoetin-Daten adäquat widerspiegelt.

3.1 Die Dosis-Wirkungs-Beziehungen im Modell

Die folgenden Abbildungen zeigen die Dosis-Wirkungs-Beziehung der erythropoetischen Amplifikation (Abbildung 3.1 auf der nächsten Seite), der Verdoppelungszeit (Abbildung 3.2 auf Seite 83) und der Gesamttransitzeit (Abbildung 3.3 auf Seite 84) - getrennt für die CFU-E und die proliferativen Erythroblasten in Knochenmark und Milz - entsprechend dem hier zugrunde gelegten Modell (EModell).

3.1.1 Amplifikation

Abbildung 3.1 auf der nächsten Seite illustriert, dass für die Mikroenvironments von Knochenmark und Milz durch unterschiedliche Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation angenommen werden. Diese zeigen beide ein Sättigungsphänomen bei einem um mehr als das 10-fache der Norm erhöhten Erythropoetin-Spiegel. Das effektive regulatorische Fenster, in welchem Veränderungen der Amplifikation möglich sind, ist demnach in beiden Mikroenvironments auf einen Erythropoetin-Spiegel im Bereich vom 1- bis 10-fachen der Norm beschränkt. Die Maxima unterscheiden sich erheblich. Während die maximale Amplifikation im Knochenmark um den Faktor 6,4 (5,5 in den CFU-E mal 1,2 in den PEB) erhöht ist, beträgt der korrespondierende Faktor der Amplifikation in der Milz mindestens 26,5 (48,8 in den CFU-E mal 0,5 in den PEB) im Vergleich zum Kontrollwert. Der Abfall der Amplifikation in dem PEB-Kompartiment der Milz wird

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

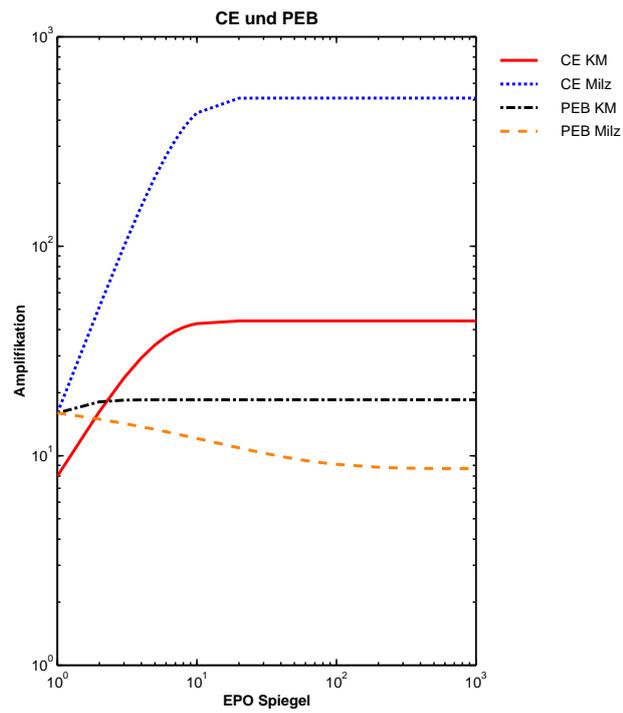


Abbildung 3.1: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des EModells

angenommen, um eine gute Übereinstimmung des Modells mit den experimentellen Daten zu erzielen. Die möglichen biologischen Implikationen werden weiter unten diskutiert.

3.1.2 Verdopplungszeit

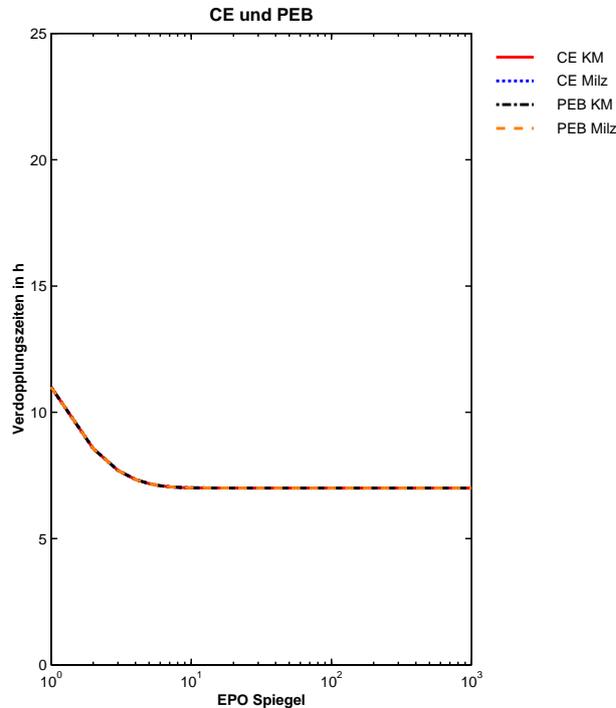


Abbildung 3.2: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Verdopplungszeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) im KM und in der Milz des EModells

Abbildung 3.2 zeigt die Dosis-Wirkungs-Charakteristik der Verdopplungszeiten der CFU-E und PEB in beiden Mikroenvironments bei kontinuierlich erhöhtem Erythropoetin-Spiegel. Ein 10-facher Anstieg des Erythropoetin verkürzt die Verdopplungszeit von normal 11 h auf minimal 7 h.

3.1.3 Transitzeit

Abbildung 3.3 auf der nächsten Seite gibt die korrespondierenden Kurven der erythropoetischen Gesamttransitzeit der erythropoetischen Zellstadien CFU-E, PEB und MEB in Knochenmark und Milz wieder. Diese beiden Kurven lassen sich direkt aus den Kurven der Abbildungen 3.1 auf der vorherigen Seite und 3.2 berechnen. (Für Details siehe Abschnitt 2.2.2.9 auf Seite 66.) Den Kurven kann entnommen werden, dass eine erhöhte

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

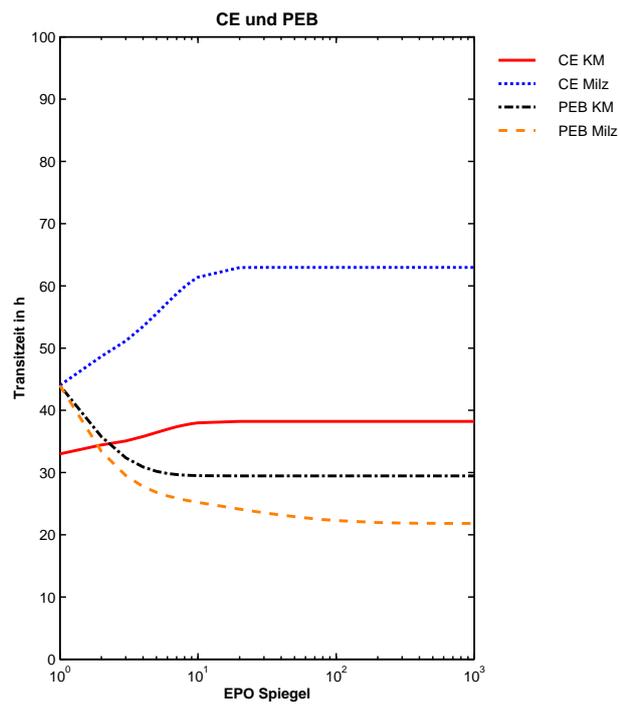


Abbildung 3.3: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Transitzeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des EModells

3.2 Auswirkungen der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das gesamte erythropoetische System

Amplifikation nicht zu einer vergleichbaren Erhöhung der Transitzeit führt. Im Falle der PEB im Knochenmark kommt es bei (leicht) erhöhter Amplifikation zu einem (deutlichen) Abfall der Transitzeit. Die Unterschiede der Normalwerte der Transitzeiten der CFU' E beruhen auf der Annahme, dass die normale Amplifikation dieser Zellen in der Milz um den Faktor 2 höher ist als im Knochenmark (Abbildung 3.1 auf Seite 82), was zu der Addition der Zeit für einen weiteren Zellzyklus zu der Transitzeit in der Milz führt.

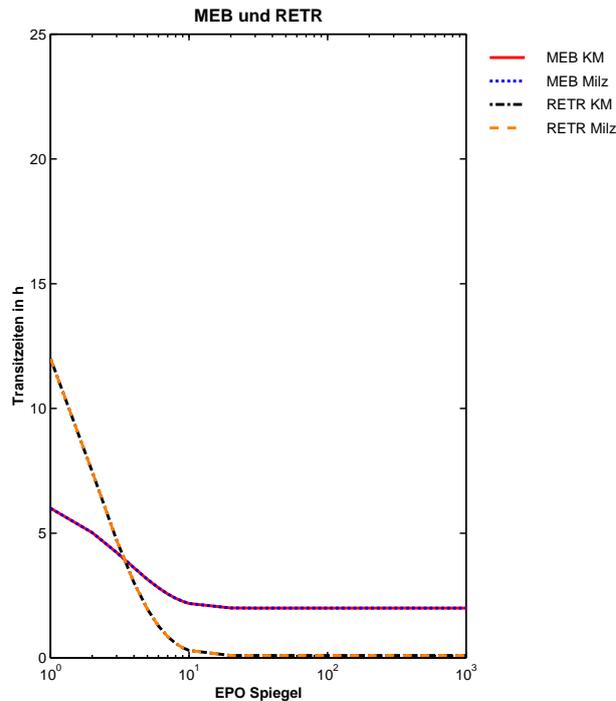


Abbildung 3.4: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Transitzeiten der nicht-proliferativen Erythroblasten (MEB) und der organständigen Retikulozyten (RETR) in KM und Milz des EModells

3.2 Auswirkungen der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das gesamte erythropoetische System

Die Abbildungen 3.5 auf der nächsten Seite und 3.6 auf Seite 87 illustrieren die Auswirkungen der in den Abbildungen 3.1 auf Seite 82, 3.2 auf Seite 83, 3.3 auf Seite 84 gezeigten Kurven auf das erythropoetische System (beginnend mit den BFU-E und endend bei den residualen Retikulozyten) in der normalen und der maximal stimulierten Situation. Die X-Achse beschreibt die Lokalisation der Zellstufen in der erythropoe-

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

tischen Entwicklungslinie in Bezug auf die Zeit, die nach dem Eintritt der Zellen in das BFU-E Kompartiment verstrichen ist. Die Y-Achse zeigt die relative Zellflußdichte in logarithmischer Auftragung. Zwei Situationen werden dargestellt. Eine beschreibt die nicht stimulierte, normale Erythropoese (unterbrochene Linie) und die andere zeigt die maximal stimulierte Erythropoese (durchgezogene Linie). Abbildung 3.5 auf Seite 86 zeigt die für das Knochenmark vorhergesagte Situation und Abbildung 3.6 auf Seite 87 die für die Milz. Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts). Es ist evident, dass sich die beiden rechten Grenzlinien bei Stimulation infolge der Modellannahmen und gewählten Parameter nach links verschieben.

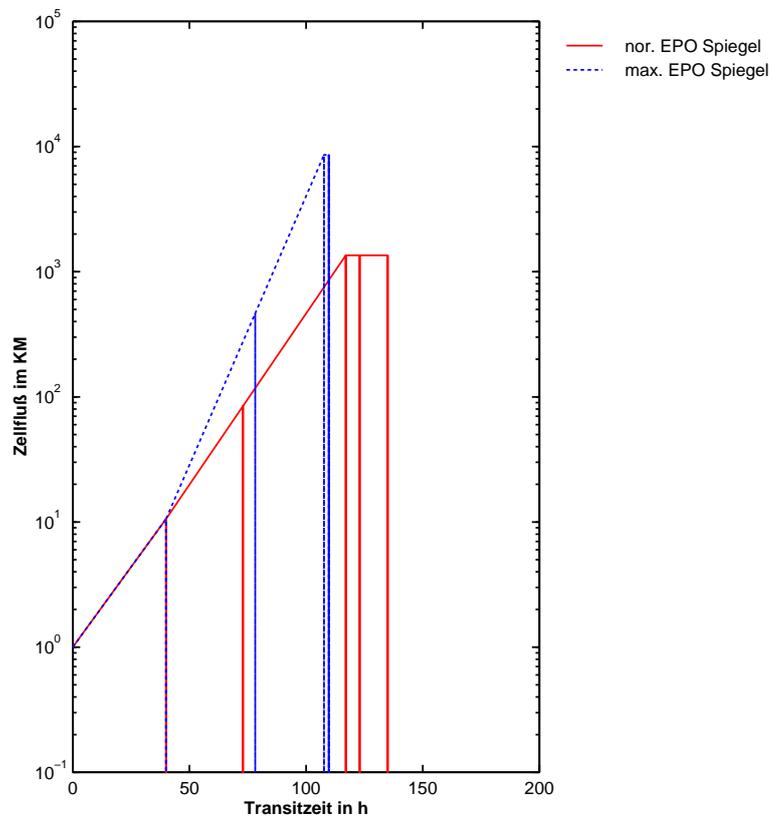


Abbildung 3.5: Die Auswirkungen der für das EModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark I
Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

3.2 Auswirkungen der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das gesamte erythropoetische System

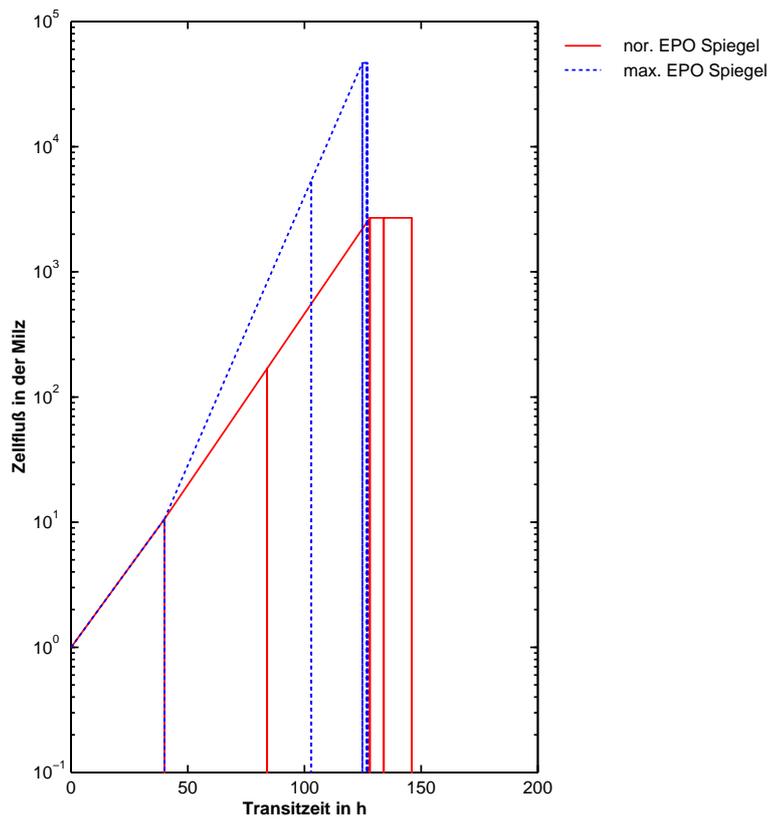


Abbildung 3.6: Die Auswirkungen der für das EModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz I
 Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

3.3 Vergleich der Modellberechnungen mit den experimentellen Daten

Die folgenden Abbildungen zeigen den Vergleich der experimentellen Daten mit den Modellkalkulationen. Dargestellt werden die relativen Änderungen der Zellzahlen in Knochenmark, Milz und peripherem Blut.

3.3.1 CFU-E und Erythroblasten

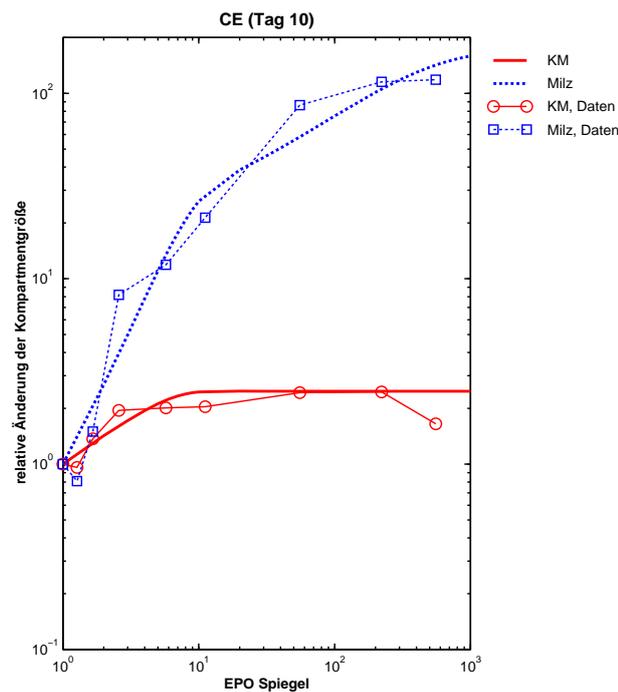


Abbildung 3.7: EModell:CFU-E (CE)

Abbildung 3.7 stellt die relativen Änderungen der CFU-E dar und Abbildung 3.8 auf der nächsten Seite die der Erythroblasten (proliferative und nicht-proliferative). Abbildung 3.9 auf der nächsten Seite zeigt das Verhältnis CFU-E zu Erythroblasten an Tag 10. Das Modell reproduziert alle wesentlichen Eigenschaften der Daten gut.

Knochenmark und Milz zeigen verschiedene quantitative Muster. Die Milz zeigt eine viel ausgeprägtere (stärkere) Reaktion. Der Anstieg der relativen Zellzahlen als Reaktion auf erhöhten Erythropoetin-Spiegel zeigt im Knochenmark eine Sättigung bei einem 5-fach erhöhten Erythropoetin-Spiegel, in der Milz hingegen findet sich keine Sättigung. Das steht scheinbar im Widerspruch zu den Dosis-Wirkungs-Kurven der Amplifikation in

3.3 Modellberechnungen und exp. Daten

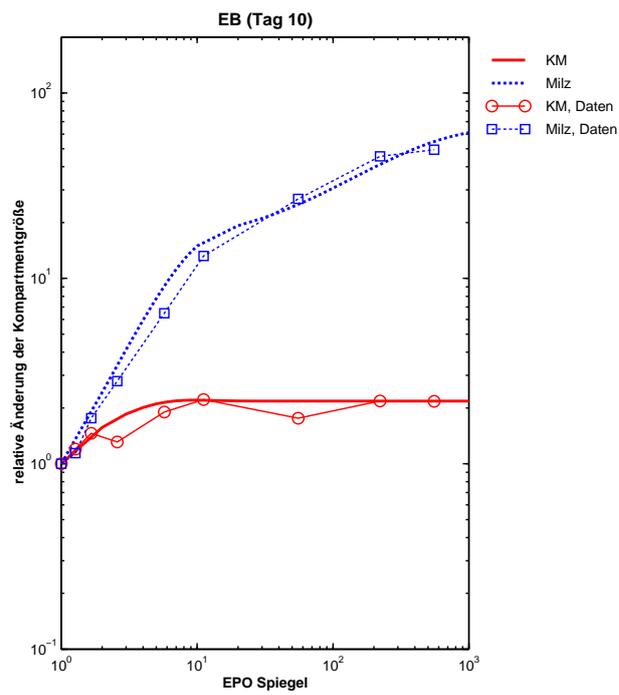


Abbildung 3.8: EModell:Erythroblasten (EB)

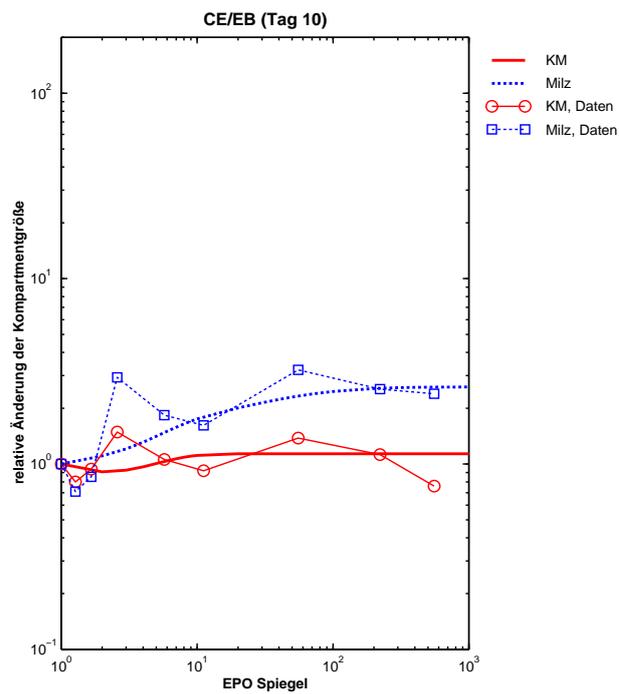


Abbildung 3.9: EModell:CFU-E/Erythroblasten (CE/EB)

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

Knochenmark und Milz, die ein Maximum bei ca. 10-fach erhöhtem Erythropoetin-Spiegel erreichen (Abbildung 3.1 auf Seite 82). Diese Diskrepanz ist die Folge der Erythropoetin-induzierten Migration von BFU-E vom Knochenmark in die Milz (Abbildung 2.8 auf Seite 55), welche im Knochenmark eine Reduktion und in der Milz einen Anstieg des Einstroms in das zugehörige CFU-E Kompartiment bewirkt.

Bemerkenswert ist, dass das Verhältnis CFU-E / Erythroblasten in der Milz ansteigt, nicht aber im Knochenmark (Abbildung 3.9 auf der vorherigen Seite). Das kann nur erklärt werden durch eine mit zunehmendem Erythropoetin-Spiegel abfallende Amplifikation der proliferativen Erythroblasten in der Milz (Abbildung 3.1 auf Seite 82). In Abbildung 3.6 auf Seite 87 findet sich dieser Effekt: Das PEB-Kompartiment wird schmaler, während das CFU-E Kompartiment an Breite zunimmt.

3.3.2 Die roten Blutzellen

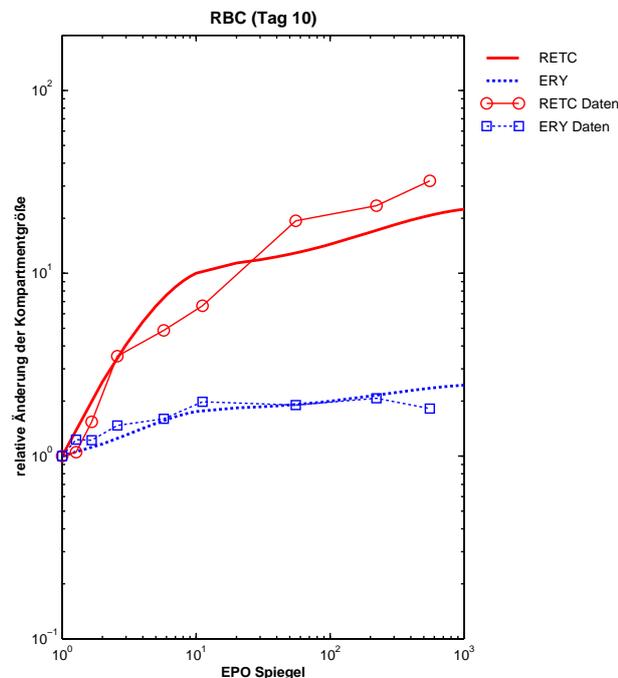


Abbildung 3.10: EModell:rote Blutzellen (RETC und ERY)

Abbildung 3.10 vergleicht die experimentell ermittelten relativen Zellzahlen der Retikulozyten mit den durch das Modell berechneten. Abbildung 3.11 auf der nächsten Seite vergleicht die Hämatokritwerte des Experiments mit denen der Modellsimulation. Wieder zeigt sich, dass alle wesentlichen Charakteristika der experimentellen Daten durch das

3.4 Sensitivitätsanalyse der Modellparameter

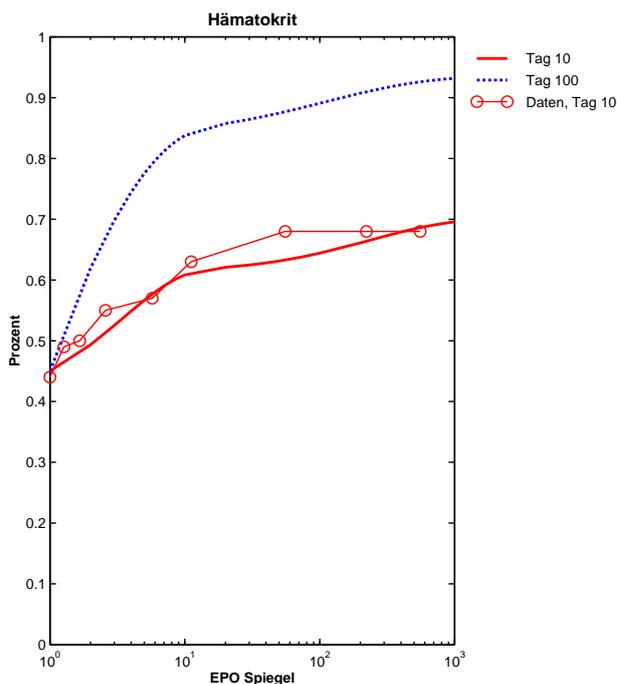


Abbildung 3.11: EModell:Hämatokrit (HKT)

Modell reproduziert werden.

Abbildung 3.11 zeigt zusätzlich die durch das Modell berechneten Hämatokritwerte am Simulationstag 100 bei entsprechend prolongierter Erythropoetinbehandlung. Für diese beiden späteren Situationen sind keine experimentellen Daten von [56] erhoben worden. Das Diagramm legt nahe, dass der Hämatokrit auch nach Tag 10 weiter ansteigen und bei höheren Erythropoetin-Dosen höhere Werte erreichen werden. Dieses steht in Einklang mit der langen Überlebenszeit der murinen Erythrozyten, die ca. 120 Tage beträgt. Letztlich wird ein dosis-abhängiger Gleichgewichtshämatokritwert von ca. 90% für einen auf das hundertfache erhöhten Erythropoetin-Spiegel erreicht. Es ist interessant, dass tatsächlich solch extrem hohe Hämatokritwerte in Mäusen gemessen wurden, denen Zellen eingepflanzt wurden, die effektiv retroviral eingebaute (implantierte) Erythropoetin-Gene exprimieren [186].

3.4 Sensitivitätsanalyse der Modellparameter

In den folgenden Abschnitten wird beschrieben, wie sich Manipulationen der Modellparameter auf die Ergebnisse der Modellberechnungen auswirken.

3.4.1 Die Auswirkungen verschiedener Annahmen über die Amplifikation und KM-Milz-Verteilung der Erythropoese auf den Hämatokrit

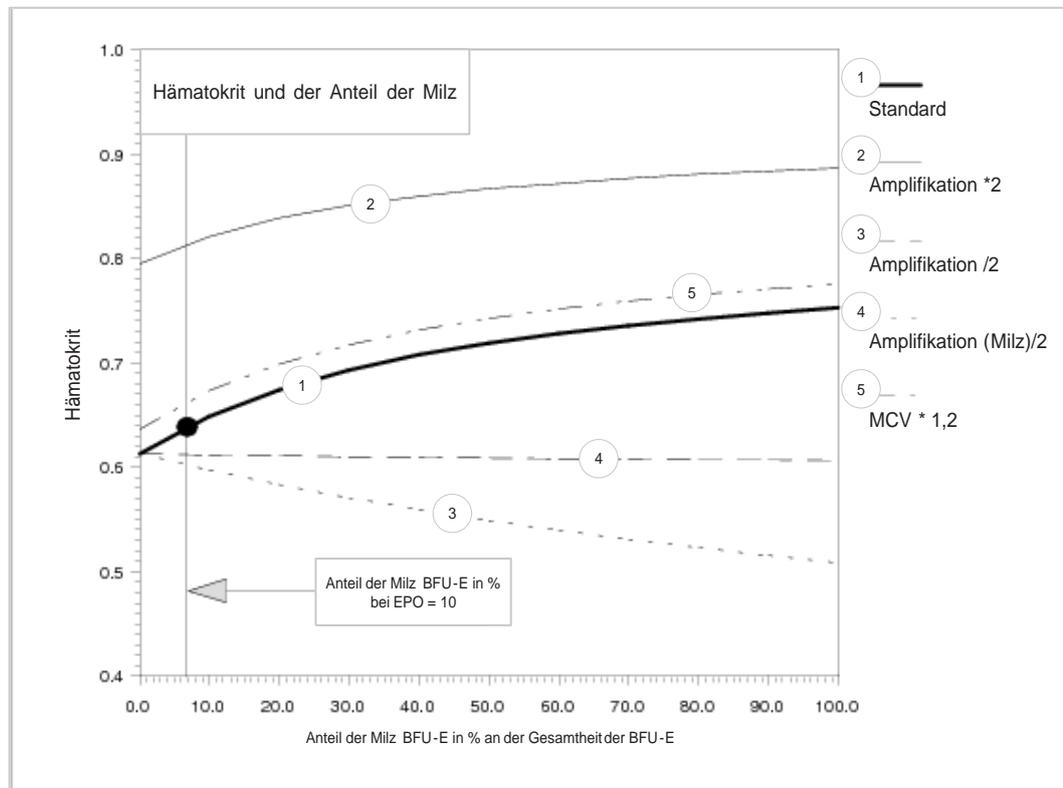


Abbildung 3.12: Der Einfluss der Parameterwahl auf den Hämatokrit

In Abbildung 3.12 werden die Auswirkungen unterschiedlicher Annahmen anhand des für den Tag 10 berechneten Hämatokrits bei 10-fach erhöhtem Erythropoetin-Spiegel (Abbildung 3.11 auf der vorherigen Seite) illustriert. Die zwei wichtigsten Modellparameter sind die Gesamtamplifikationen in Knochenmark und Milz und der Anteil der Milz an der Erythropoese im Verhältnis zum Knochenmark. Das EModell wird repräsentiert durch die durchgezogene Linie (Linie 1). Die anderen Szenarien sind wie folgt charakterisiert:

Linie 2: Für beide Amplifikationsmaxima in Knochenmark und Milz wurde angenommen, dass sie um den Faktor 2 höher liegen als im EModell. Das Ergebnis steht deutlich in Widerspruch zu den Daten.

Linie 3: In diesem Fall wurde angenommen, dass die beiden Amplifikationsmaxima in Knochenmark und Milz um den Faktor 2 niedriger liegen als im EModell. Auch hier zeigt sich eine unzureichende Übereinstimmung der Ergebnisse mit den Daten.

Linie 4: Die These, dass die Amplifikation in der Milz um einen Faktor von 2 überschätzt und die Amplifikation im Knochenmark richtig bestimmt wurde, bildet die Grundlage für dieses Modell. Wieder zeigt sich ein deutlicher, nicht akzeptabler Unterschied zu den Daten.

Linie 5: Die experimentell wiederholt gemachte Beobachtung eines Anstiegs des MCV bei erythropoetischer Stimulation führte zu diesem Szenarium. Hier wurde angenommen, dass das MCV unter solchen Bedingungen um 20% höher ist als normal. Die Abweichungen von den experimentellen Daten liegen in einem tolerablen Bereich.

Linie 6: Unter der Annahme, dass eine Verkürzung der Lebensspanne aller Erythrozyten, die bei stimulierter Erythropoese gebildet wurden, von normal 45 Tagen auf 10 Tage stattfindet, wurde diese Modellrechnung durchgeführt. Sie zeigt, dass der Effekt einer solchen Annahme für die Werte am Tag 10 nur marginal, für die Werte am Tag 100 jedoch deutlich ausfällt.

All diese Variationen zeigen, dass Änderungen der Amplifikationsfaktoren die Übereinstimmung des Modells mit den Daten stark beeinflussen. Die Wahl der Amplifikationsparameter des EModells erfährt somit eine Bestätigung. Diese Parameter können als relativ gesichert gelten. Auch die hier vorgestellte Analyseverfahren zeigt ihre Eignung.

3.4.2 Der Bereich sinnvoller Kombinationen von Amplifikation und Generationzeit

Selbstverständlich gibt es einen Bereich von möglichen Parameter-Werten für Amplifikation und Verdoppelungszeit des EModells. Die Abbildungen 3.13 auf Seite 94 und 3.15 auf Seite 95 illustriert diesen Bereich unter den durch die Situation der maximale Erythropoetinstimulation (EPO-Spiegel = $100 * normal$) auferlegten Restriktionen für die CFU-E und proliferativen Erythroblasten (PEB) des Knochenmarks. Die Abbildungen 3.14 auf der nächsten Seite und 3.16 auf Seite 95 illustriert all' dies für die CFU-E und PEB der Milz.

In allen Diagrammen ist das EModell durch den dicken, schwarzen Punkt gekennzeichnet (Generationzeit von 7 h und eine Änderung der Amplifikation um ± 0 gegenüber dem Referenzwert). Die durchgezogenen Linien identifizieren die Parameterkombinationen mit jeweils sehr guter Übereinstimmung zu den spezifischen, betrachteten Zellstadien. Die unterbrochenen Linien identifizieren jene Parametersätze, die eine suboptimale Übereinstimmung (Abweichung = 30%) aufweisen.

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

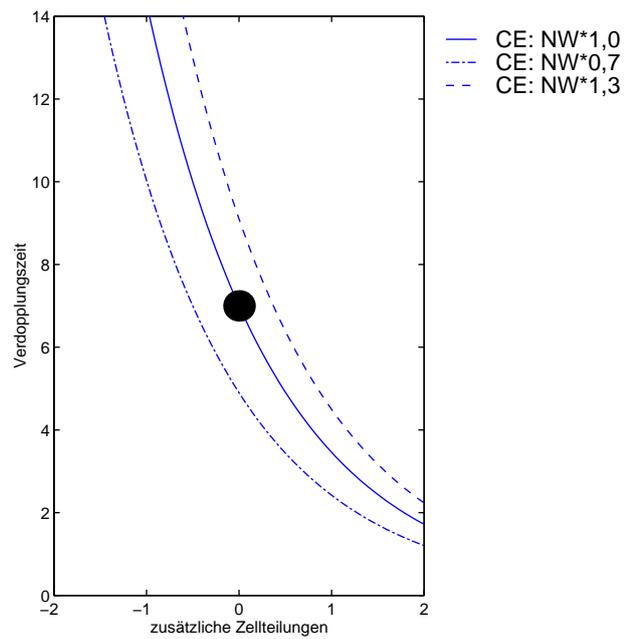


Abbildung 3.13: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E des Knochenmarks

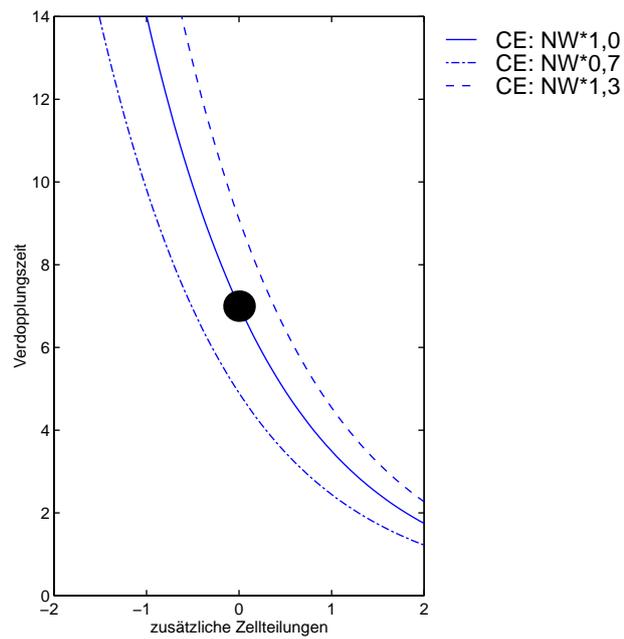


Abbildung 3.14: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E der Milz

3.4 Sensitivitätsanalyse der Modellparameter

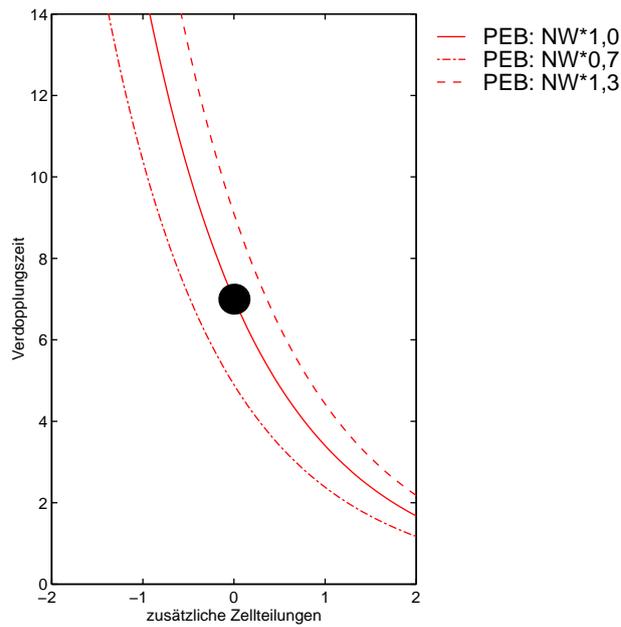


Abbildung 3.15: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die PEB des Knochenmarks

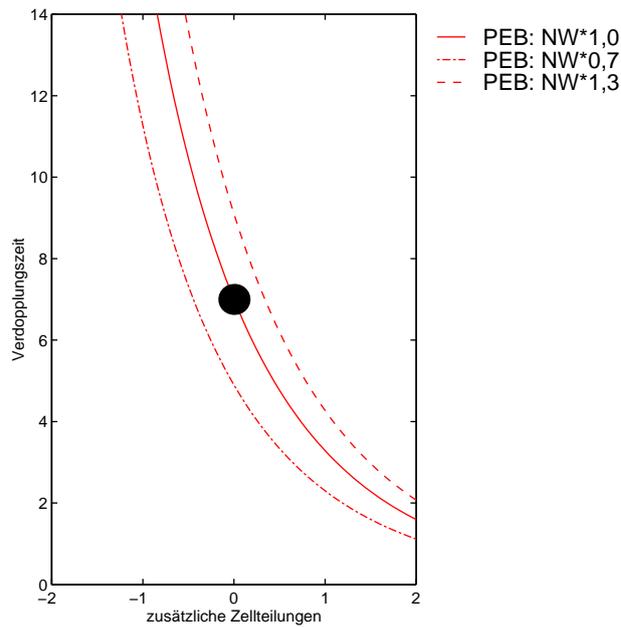


Abbildung 3.16: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB der Milz

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

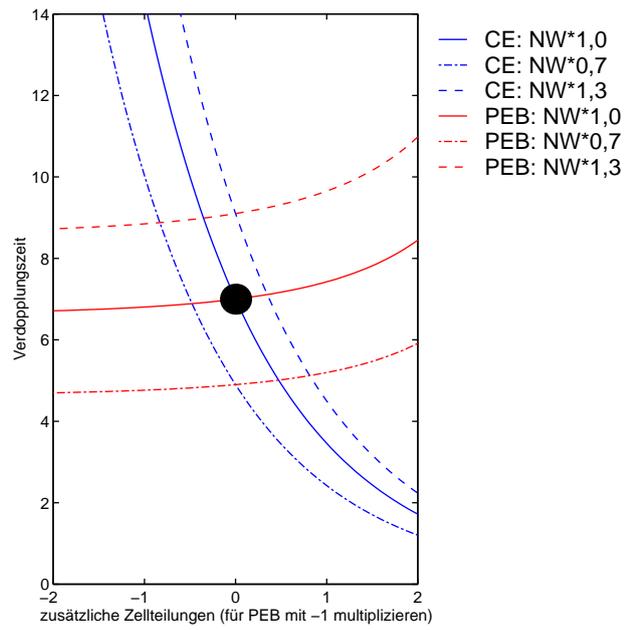


Abbildung 3.17: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB des Knochenmarks

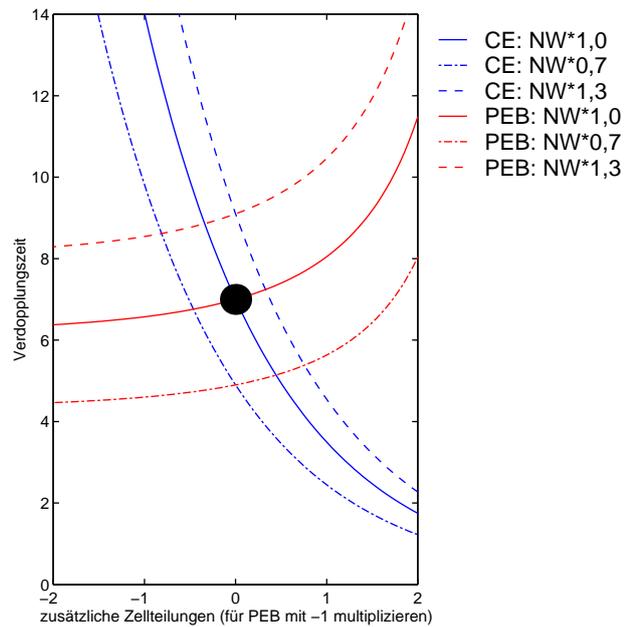


Abbildung 3.18: Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB der Milz

3.4 Sensitivitätsanalyse der Modellparameter

Die Abbildungen 3.13 auf Seite 94 und 3.14 auf Seite 94 zeigen den Bereich der Möglichkeiten für die Wahl der Parameter der CFU-E im Knochenmark bzw. in der Milz, welche zu einer guten Übereinstimmung (entsprechend dem EModell +/- 30%) mit den experimentellen CFU-E Daten führen. Alle Kompartimentparameter, bis auf die für die Amplifikation und die Generationzeit, sind konstant gehalten worden.

Die Abbildungen 3.15 auf Seite 95 und 3.16 auf Seite 95 zeigen den Bereich der Möglichkeiten für die Wahl der Parameter der proliferativen Erythroblasten im Knochenmark bzw. in der Milz, welche eine +/- 30% dem EModell entsprechende Übereinstimmung mit den experimentellen Erythroblasten-Daten ergeben. Auch hier sind alle anderen Parameter konstant gehalten worden.

Allein die Bestimmung eines Parametersbereichs für ein (!) Kompartiment innerhalb einer Reihe aufeinander folgender Kompartimente ist kein hinreichendes Kriterium für die Abschätzung der Angemessenheit einer getroffenen Parameterwahl für das Gesamtmodell. Ein Parametersatz eines Kompartiments, der eine adäquate Übereinstimmung dieses Kompartiments mit den entsprechenden experimentellen Daten ermöglicht, kann in den auf ihn folgenden Kompartimenten zu unkorrigierbaren Differenzen zwischen Modell und experimentellen Daten führen. Die Notwendigkeit der simultanen Übereinstimmung allein schon zweier aufeinander folgender Kompartimente erhöht die Restriktionen für die Wahl der Parameter.

In den Abbildungen 3.17 auf der vorherigen Seite und 3.18 auf der vorherigen Seite wird diesen Ausführungen Rechnung getragen. Sie zeigen den Bereich der Möglichkeiten für das Erreichen einer simultanen Übereinstimmung (wieder entsprechend dem EModell von +/- 30%) der CFU-E und der PEB im Knochenmark bzw. in der Milz mit den experimentellen Daten. Dabei wurde angenommen, dass der Einstrom in das PEB-Kompartiment abhängig von der Wahl der Parameter für die CFU-E ist. Beide Abbildungen zeigen, dass eine sinnvolle Parameterwahl nur innerhalb der jeweiligen rhombischen Quadrate getroffen werden kann. Als Konsequenz dieser Parameterevaluation kann der Schluss gezogen werden, dass die Wahl der Amplifikationsmaxima für die CFU-E und die PEB des Knochenmarks und der Milz mit einer Genauigkeit von 30% ($\log_2 Z = \pm 0,80$) erfolgte.

3 Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtungen

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

In diesem Kapitel wird das in den vorangegangenen Kapiteln entwickelte Modell (EModell) anhand weiterer experimenteller Daten kritisch überprüft. Bisher wurden Gleichgewichtsbetrachtungen angestellt. Nun geht es um die Dynamik der Reaktion des erythropoetischen Systems auf Stress-Situationen (verschiedenen Formen der Anämie). Vergleichend wird dabei auch das in [198] und [136] entwickelte Modell (PModell) mit herangezogen. Dabei wird sich unter anderem herausstellen, dass die Hypothese der Migration in der im EModell formalisierten Form (s. Kapitel 2.2.2.2.1 auf Seite 49) zu einer nahezu vollständigen Deckung der experimentellen und der mittels Simulation errechneten Daten führt.

Ebenso wie sich die bisherigen Betrachtungen auf die Veränderungen des erythropoetischen Systems bei *Stimulation* beschränkten, werden auch im folgenden nur Situationen zur Überprüfung der Ergebnisse herangezogen, die zu einem *Anstieg* des EPO-Spiegels führen:

- Anämie aufgrund einer einmaligen Blutung,
- Anämie aufgrund mehrfacher Blutungen,
- hämolytische Anämie, welche durch die Gabe von Phenylhydrazin (PHZ) verursacht wird,
- Anämie aufgrund einer Blockierung der Differenzierung der erythropoetischen Vorläuferzellen in Knochenmark und Milz, welche durch die Gabe von Thiamphenicol (TAP) verursacht wird.

4.1 Die Modellannahmen

4.1.1 EModell und PModell

Die bereits in Kapitel 2 auf Seite 45 ausführlich dargestellten Annahmen des EModells werden unverändert übernommen. Dies gilt insbesondere für die Umverteilung der Ery-

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

thropoese vom Knochenmark in die Milz; die Migration der BFU-E wird also mittels des im Abschnitt 2.2.2.2.1 auf Seite 49 beschriebenen Ansatzes simuliert.

Im Unterschied zum EModell verfügt das von Klaus Pantel et al ([136]) entwickelte Modell (PModell) über keinen Mechanismus zur Regulation der Migration der BFU-E. Weitere grundlegende Unterschiede zwischen dem EModell und dem PModell werden im Abschnitt 1.3.2.4 auf Seite 39 beschrieben.

Eine Übersicht über alle Parameter des EModells findet sich im Anhang 9.1 auf Seite 189. Die Parameter des PModells, die von denen des EModells abweichen, finden sich im Anhang 9.2 auf Seite 202.

4.1.2 Stammzellen und Migration

Keines der beiden Modelle postuliert einen Mechanismus zur Regulation der Stammzellen (s. Kapitel 1.2 auf Seite 26), so dass es nicht überraschen kann, dass die Modell-Stammzellen keinerlei Reaktion auf die den Modellrechnungen zugrundegelegten unterschiedlichen Störungen zeigen (Abbildungen 4.1 auf Seite 104, 4.11 auf Seite 112, 4.21 auf Seite 120 und 4.31 auf Seite 130).

4.1.3 Zellverlust und Verlustraten (vr)

Um die zu untersuchenden Störungen des Systems, die alle auf die eine oder andere Weise zu einem Zellverlust führen, adäquat simulieren zu können, bedarf es der Einführung zweier Verlustraten in die Kompartiment-Gleichungen sowohl der nicht-proliferativen (vgl. Gleichung (4.1) auf Seite 101) wie der proliferativen Zellstufen (vgl. Gleichung (4.2) auf Seite 101):

- eine Verlustrate vr_k für die Zellen, die im Kompartiment enthalten sind, und
- eine Verlustrate vr_e für die Zellen, die gerade in das betrachtete Kompartiment einströmen.

$$\begin{aligned} \frac{dY_i(t)}{dt} &= Y_{i-1}^{aus}(t) \cdot (1 - vr_e^i) \\ &\quad - Y_i^{aus}(t) \\ &\quad - (Y_i(t) - Y_i^{aus}(t)) \cdot vr_k^i \end{aligned} \quad (4.1)$$

mit

$$Y_i^{aus}(t) = Y_i(t) \cdot \frac{a_i}{T_i}$$

$$\begin{aligned} \frac{dY_i(t)}{dt} &= Z_i^{ein} \cdot Y_{i-1}^{aus}(t) \cdot (1 - vr_e^i) \\ &\quad - Y_i^{aus}(t) \\ &\quad - (Y_i(t) - Y_i^{aus}(t)) \cdot vr_k^i \end{aligned} \quad (4.2)$$

mit

$$Y_i^{aus}(t) = Y_i(t) \cdot \frac{a_i}{T_i}$$

Ergänzend sei erwähnt, dass die Rate der verloren gehenden Zellen nicht negativ werden kann. Eine Zunahme der Kompartimentgröße aufgrund ungeschickt gewählter vr_k oder vr_e ist also ausgeschlossen.

4.1.4 Das Verfahren zur Bestimmung der Modell-Parameter für die jeweilige Stress-Situation

Bei der Simulation der Blutungsanämien und der hämolytischen Anämie wurden die Verlustraten der roten Blutzellen so gewählt, dass der Abfall des Hämatokrits in den Modellrechnungen dem in den Experimenten ermittelten entsprach.

Bei der durch TAP verursachten Anämie hingegen mussten Zellverluste für andere Zellstufen angenommen werden. Die Verlustraten wurden so gewählt, dass die Nadire der Modellrechnungen mit denen der Experimente hinsichtlich Zeitpunkt und Tiefe übereinstimmten.

Für den weiteren Verlauf der Simulationen wurde das System sich jeweils selbst überlassen. Die Parameter für die Verlustraten wurden durch systematische Exploration, d.h. durch wiederholte Modellrechnungen mit von Mal zu Mal leicht abgeänderten Parametern, ermittelt.

4.2 Blutungsanämien

Bei einem einmaligen Aderlass von ca. 0,5 ml Blut fällt der Hämatokrit auf 36 % ab und der Anteil der lienalen Erythropoese erreicht maximal einen Wert von 30 % [134], [15], [2]. Bei mehrfachem Aderlass von jeweils 0,4 ml Blut an 4 Tagen oder 0,5 ml Blut an 2 bis 3 Tagen fällt der Hämatokrit auf Werte 20 bis 30 % des Normalwerts ab [67], [112], [117], [15], [16], [66]. Leider finden sich in der Literatur kaum Daten über die CFU-S bei bzw. nach mehrfachem Aderlass. In [112] wurden die CFU-S in Knochenmark und Milz an den Tagen 0 und 5 gemessen. Der Anteil der lienalen CFU-S beträgt bereits einen Tag nach der letzten Blutentnahme 36 %.

Im Unterschied zum realen Verlauf einer Blutungsanämie wird das Blutvolumen während einer Simulation konstant gehalten.

4.2.1 Einfacher Aderlass - Modellannahmen und Vergleich mit den experimentellen Daten

Für die Simulation einer einmaligen Blutung wird für die Erythrozyten und die zirkulierenden Retikulozyten mit Beginn des zweiten Tages eine Zellverlustrate vr_k von 0.7 angenommen, die innerhalb der nächsten 24 h kontinuierlich auf Null zurückgeht (s. Anhang 9.3.1 auf Seite 207), so dass ein Abfall des Modellhämatokrits resultiert, der - abgesehen von der Initialphase der Blutungsanämie - dem experimentell beobachteten entspricht (Abbildung 4.10 auf Seite 108).

Die Entwicklung der Anzahl der BFU-E wird von vom EModell und vom PModell nicht korrekt reproduziert (Abbildung 4.2 auf Seite 104). Allerdings geben die vorliegenden experimentellen Daten [134] auch Anlass zu etwas Verwunderung, da sie in latentem Widerspruch zu denen der CFU-S (Abbildung 4.1 auf Seite 104) und der CFU-E (Abbildung 4.3 auf Seite 105) stehen, welche keinen Anstieg, sondern eine Abfall der Zellen im Knochenmark zeigen. Die Zunahme der BFU-E der Milz und die Abnahme der BFU-E im Knochenmark beim EModell (Abbildung 4.2 auf Seite 104) gehen zurück auf die im EModell modellierte Migration. Diese führt zu einem Verlust von bis zu 20 % aller BFU-E wie der Abbildung 9.7 auf Seite 212 entnommen werden kann.

Ebenso lässt die Übereinstimmung der beiden Modelle mit den experimentellen Werten der CFU-E zu wünschen übrig (Abbildung 4.3 auf Seite 105). Es ist allerdings auch nicht zu erwarten, dass bei einem im Wesentlichen konstanten Einstrom in das CFU-E-Kompartiment und einem erhöhten EPO-Spiegel die Anzahl der CFU-E im Knochenmark

absinkt. Der Abfall der Anzahl der CFU-E im Knochenmark wird wahrscheinlich durch die im Stammzell- und BFU-E-Kompartiment stattfindende Migration verursacht, die von beiden Modellen bei der einfachen Blutung nicht hinreichend genau bzw. überhaupt nicht nachvollzogen wird (vgl. insbesondere Abbildung 4.1 auf der nächsten Seite).

Für die Reaktion

- der Erythroblasten (Abbildung 4.4 auf Seite 105),
- der proliferierenden und der reifenden Erythroblasten (Abbildung 4.5 auf Seite 106 bzw. 4.6 auf Seite 106),
- der residualen und der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 4.7 auf Seite 107 bzw. 4.8 auf Seite 107) und
- der Erythrozyten (Abbildung 4.9 auf Seite 108)

auf eine einfache Blutung liegen leider keine experimentellen Daten vor.

Das Erholungsverhalten des Hämatokrits (Abbildung 4.10 auf Seite 108) wird von dem EModell (links) geringfügig besser als vom PModell (rechts) abgebildet. Der Grund ist das größere amplifikatorische Potential des EModells (Abbildung 9.9 auf Seite 213).

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

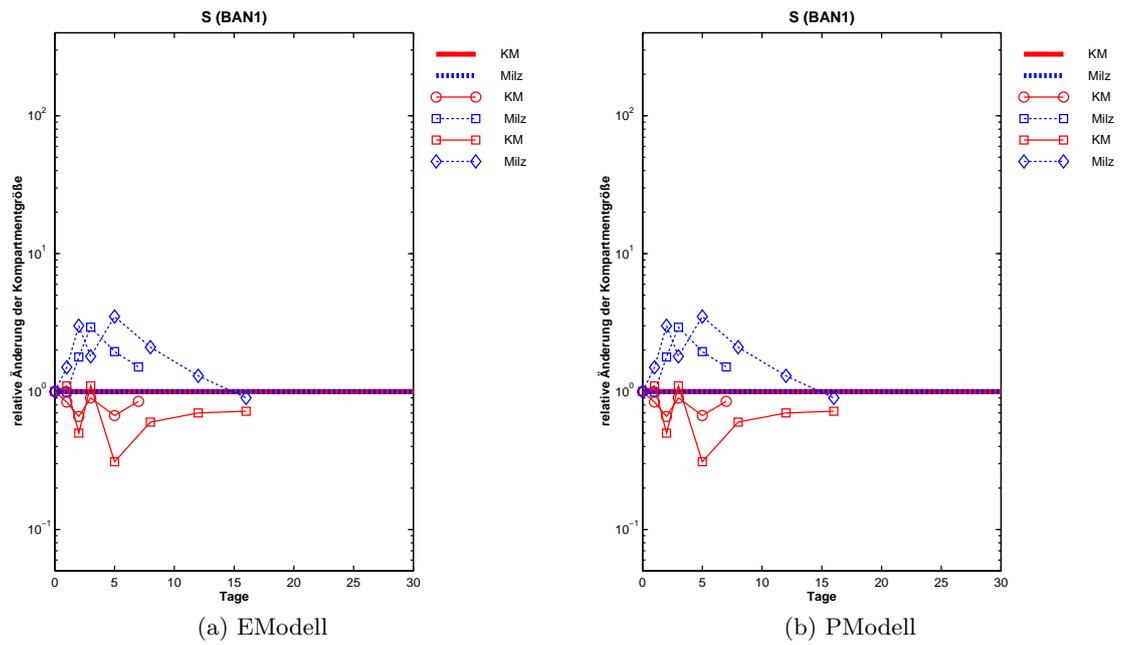


Abbildung 4.1: Einfacher Aderlass - Die Stammzellen

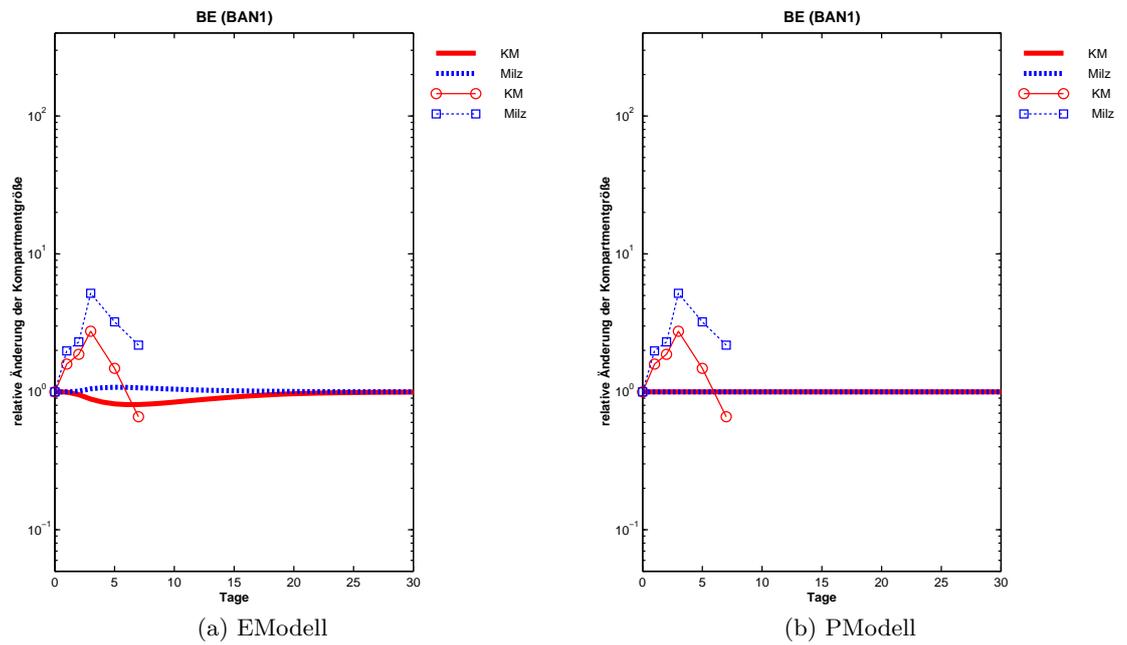


Abbildung 4.2: Einfacher Aderlass - Die BFU-E

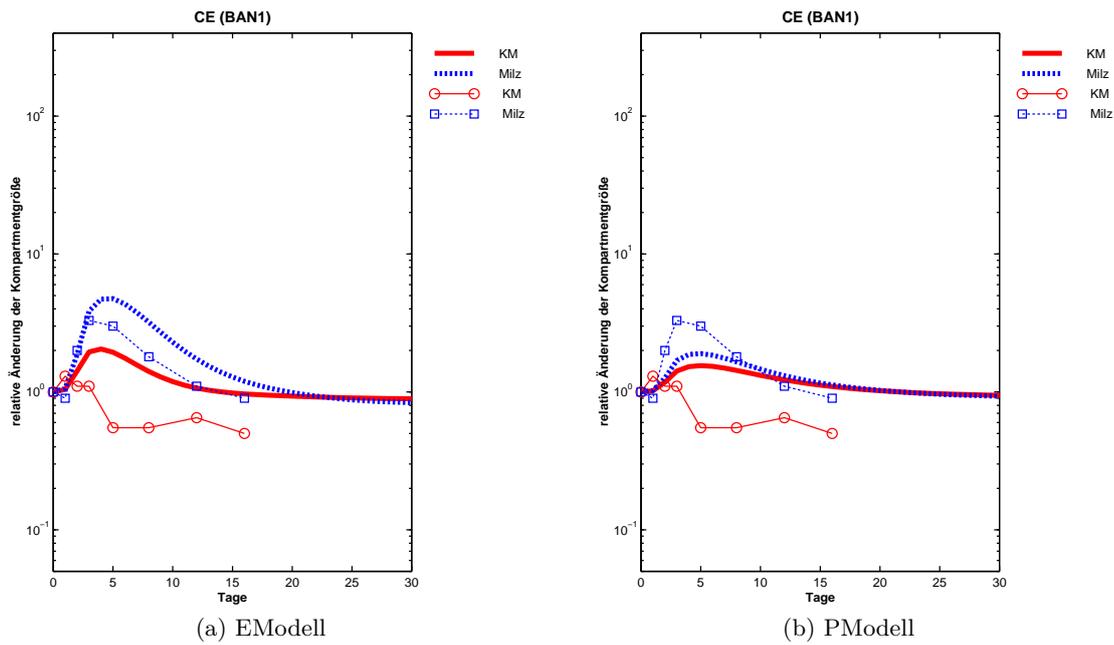


Abbildung 4.3: Einfacher Aderlass - Die CFU-E

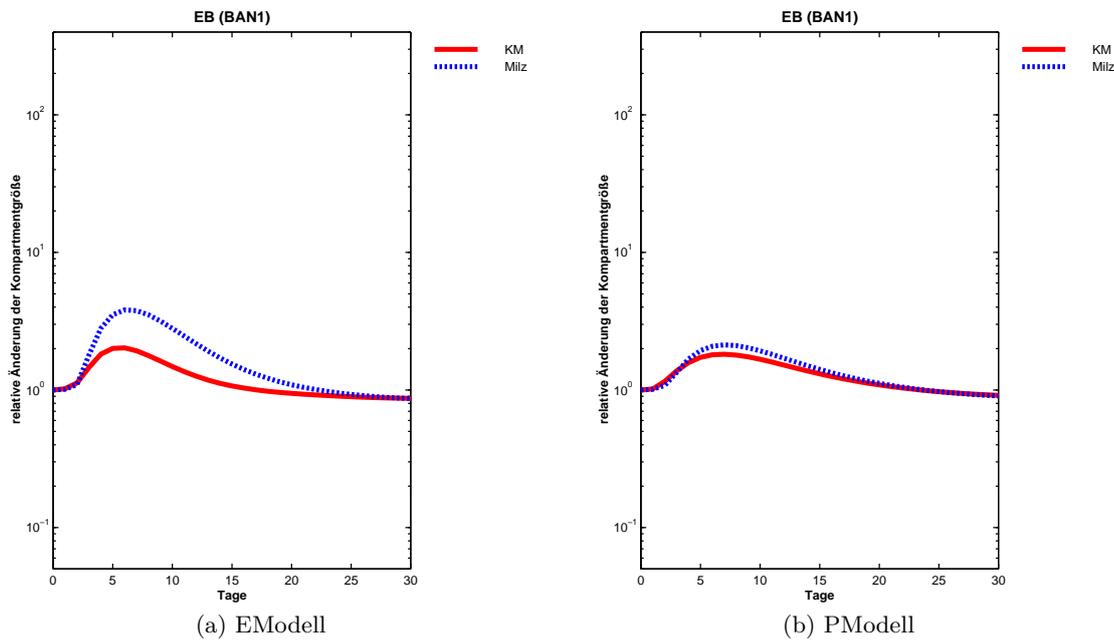


Abbildung 4.4: Einfacher Aderlass - Die Erythroblasten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

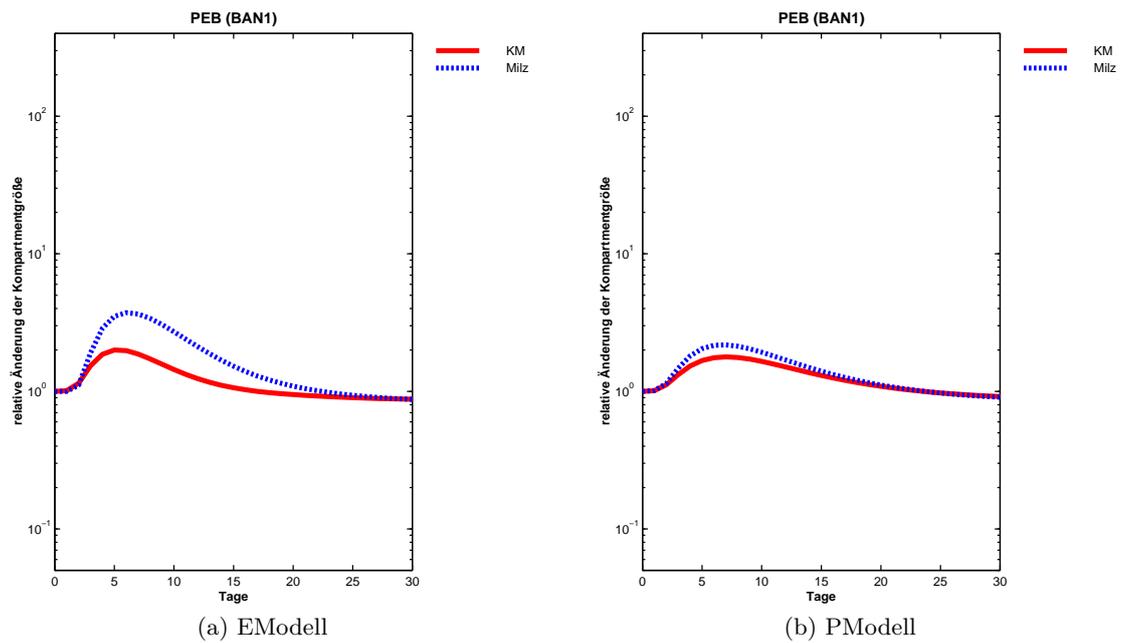


Abbildung 4.5: Einfacher Aderlass - Die proliferativen Erythroblasten

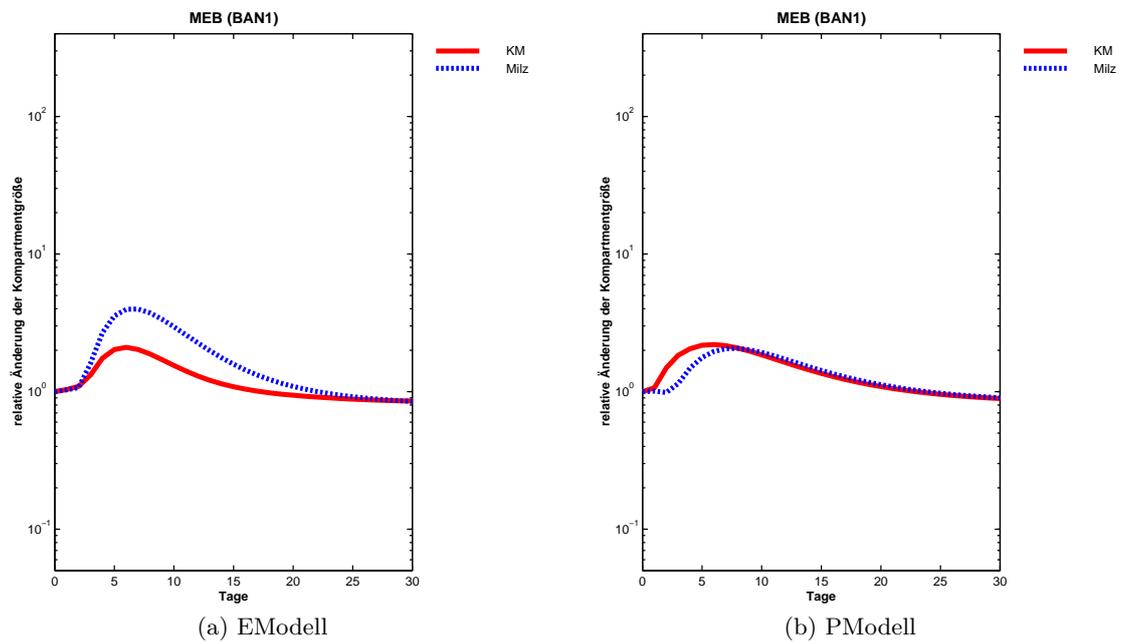


Abbildung 4.6: Einfacher Aderlass - Die reifenden Erythroblasten

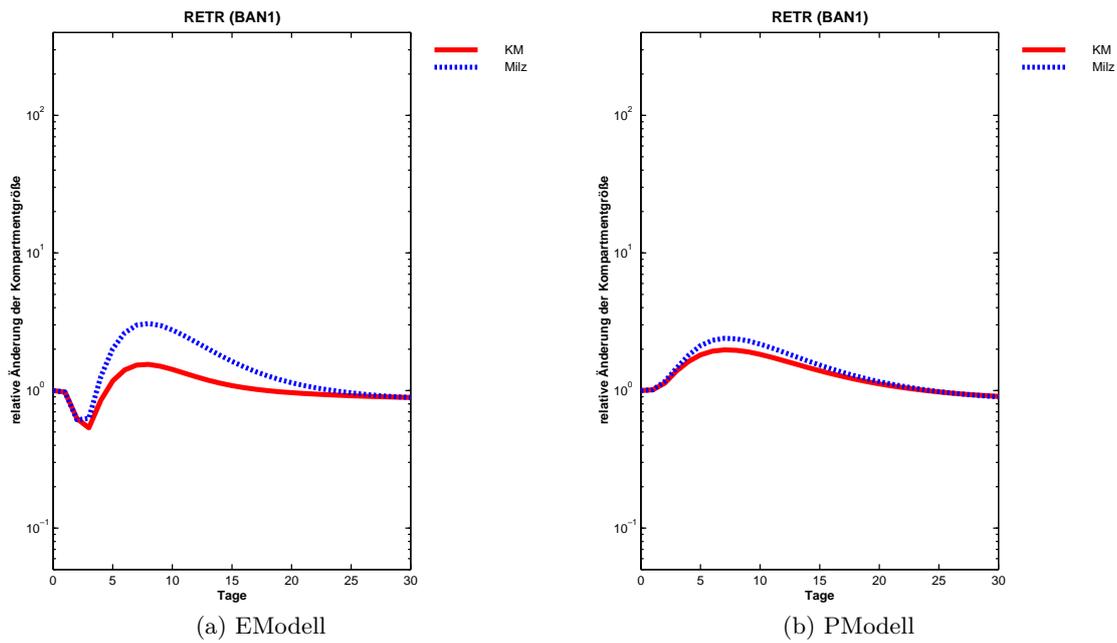


Abbildung 4.7: Einfacher Aderlass - Die residualen Retikulozyten

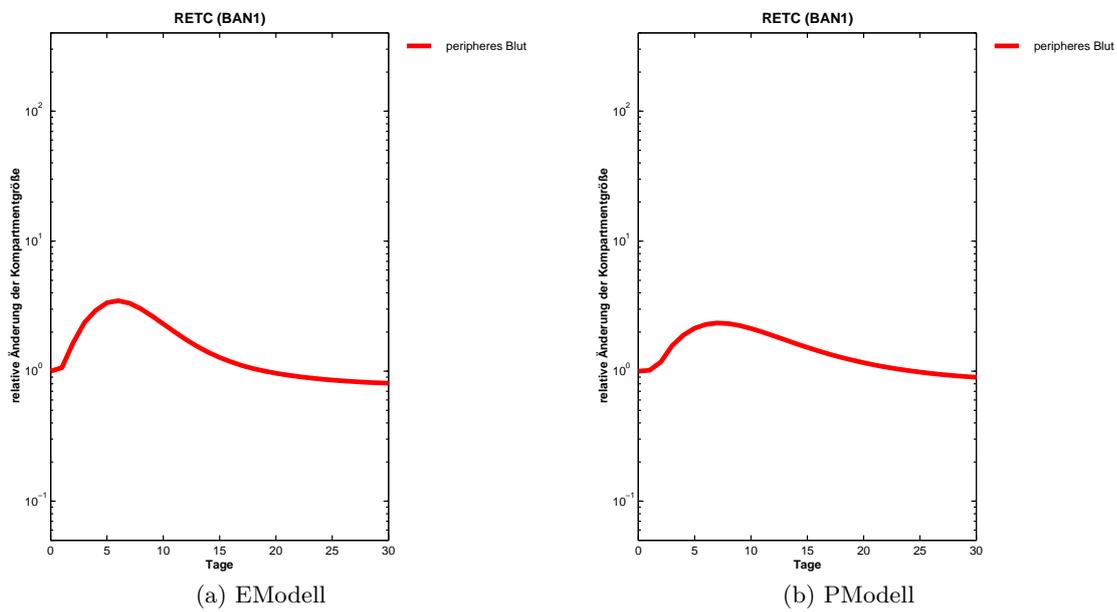


Abbildung 4.8: Einfacher Aderlass - Die zirkulierenden Retikulozyten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

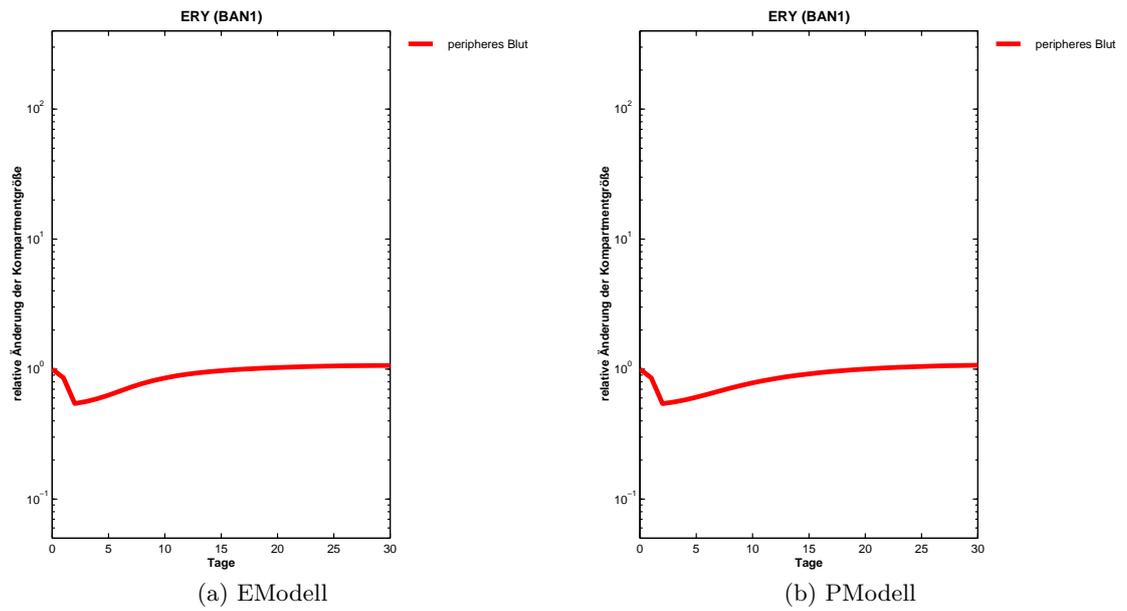


Abbildung 4.9: Einfacher Aderlass - Die Erythrozyten

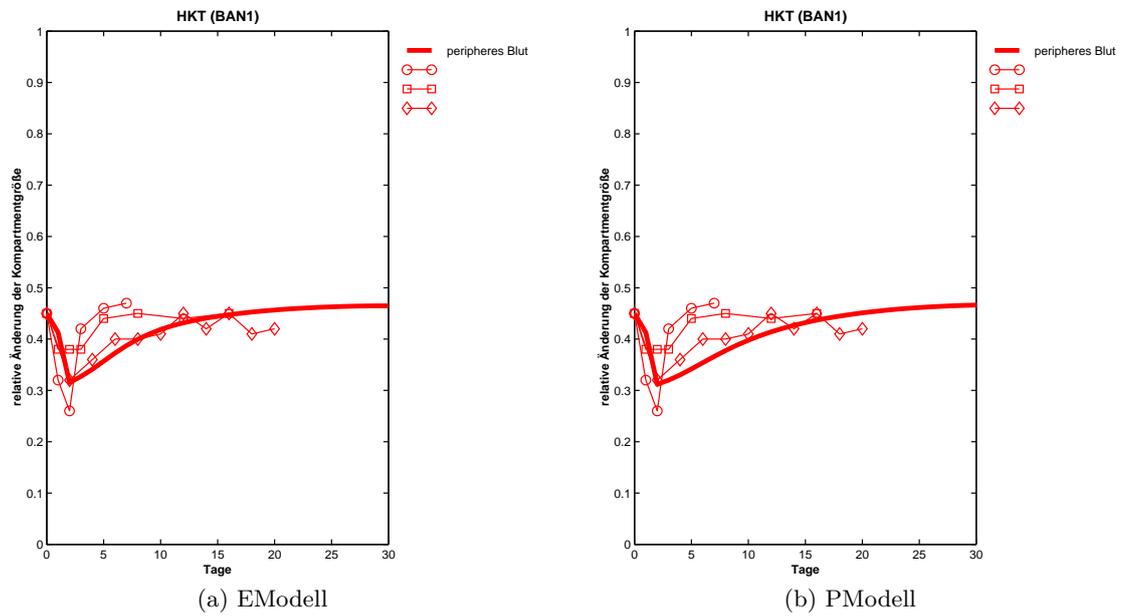


Abbildung 4.10: Einfacher Aderlass - Der Hämatokrit

4.2.1.1 Verweis auf die Verlaufskurven weiterer Kenndaten

Um die Modellrechnungen im einzelnen besser nachvollziehbar zu machen, werden die Verlaufskurven der folgenden Kenndaten im Anhang 9.3.2 auf Seite 208 präsentiert:

- Apoptose-Rate
 - der BFU-E (Abbildung 9.1 auf Seite 209)
 - der CFU-E (Abbildung 9.8 auf Seite 213)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.12 auf Seite 215)
- Amplifikation
 - der BFU-E (Abbildung 9.2 auf Seite 209)
 - der CFU-E (Abbildung 9.9 auf Seite 213)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.13 auf Seite 215)
- Verdopplungszeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.3 auf Seite 210)
 - der CFU-E (Abbildung 9.10 auf Seite 214)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.14 auf Seite 216)
- Transitzeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.4 auf Seite 210)
 - der CFU-E (Abbildung 9.11 auf Seite 214)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.15 auf Seite 216)
 - der reifenden Erythroblasten (Abbildung 9.16 auf Seite 217)
 - der residualen Retikulozyten (Abbildung 9.17 auf Seite 217)
 - der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 9.18 auf Seite 218)
- Migration der BFU-E
 - die Migrationsrate (Abbildung 9.5 auf Seite 211)
 - die 'seeding efficiency' (Abbildung 9.6 auf Seite 211)
 - die Verlustrate (Abbildung 9.7 auf Seite 212)

4.2.2 Mehrfacher Aderlass - Modellannahmen und Vergleich mit den experimentellen Daten

Bei der Mehrfachblutung setzt der Verlust an Erythrozyten und zirkulierenden Retikulozyten am Tag 1 mit einer vr_k von 1.5 ein und fällt dann bis zum Beginn des vierten Tages wieder auf Null ab (s. Anhang 9.4.1 auf Seite 219). Auch hier entspricht der aufgrund dieser Annahmen errechnete Abfall des Hämatokrits dem experimentell ermittelten (Abbildung 4.20 auf Seite 116).

Der zeitliche Verlauf der Anzahl der BFU-E des EModells stimmt mit den experimentellen Daten gut überein. Das PModell kann auf Grund des Fehlens jeglicher Regulation der BFU-E keine Übereinstimmung erzielen; es hält folglich die Anzahl der BFU-E über den gesamten Zeitraum konstant (Abbildung 4.12 auf Seite 112).

Das Verhalten der CFU-E wird vom EModell gut modelliert. Zeitpunkt und Höhe der Maxima sind gut getroffen, ebenso die Anstiegs- und Abfallphase. Auch das PModell modelliert den Zeitpunkt des Auftretens der Maxima korrekt, nicht jedoch die Höhe der Maxima, die Anstiegs- und Abfallphase (Abbildung 4.13 auf Seite 113).

Hinsichtlich der Erythroblasten lassen beide Modelle zu wünschen übrig: die experimentellen und die simulierten Daten weichen erheblich voneinander ab (Abbildung 4.14 auf Seite 113). Die experimentellen Daten [117] zeigen einen raschen Anstieg der Erythroblasten in der Milz, gefolgt von einem sehr schnell einsetzenden Abfall. Dies findet keine Entsprechung bei den Vorläuferzellen der Erythroblasten, den CFU-E. Dies lässt sich durch das Modell nicht erklären. Auch für den Abfall der Erythroblasten im Knochenmark (Abbildung 4.13 auf Seite 113) gibt es ausgehend von den Modellvorstellungen keine Erklärung. Denkbar ist, dass im Experiment residuale Retikulozyten als Erythroblasten gezählt wurden. Die der residualen Retikulozyten in Knochenmark und Milz des EModells zeigen einen schnell einsetzenden und ausgeprägten Abfall. Das PModell hingegen postuliert einen leichten Anstieg der residualen Retikulozyten in Knochenmark und Milz (Abbildung 4.17 auf Seite 115). Insgesamt ergibt sich ein wenig zufriedenstellendes Bild. Die vorhandene Datenbasis ist nicht umfangreich genug, um den hier dargelegten Unstimmigkeiten auf den Grund gehen zu können.

Für die Reaktion

- der proliferierenden und der reifenden Erythroblasten (Abbildung 4.15 auf Seite 114 bzw. 4.16 auf Seite 114),
- der residualen und der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 4.17 auf Seite 115 bzw. 4.18 auf Seite 115) und

- der Erythrozyten (Abbildung 4.19 auf Seite 116)

auf mehrfachen Aderlass liegen leider keine experimentellen Daten vor.

Das Erholungsverhalten des Hämatokrits (Abbildung 4.20 auf Seite 116) wird vom EModell in fast mustergültiger Weise beschrieben. Das PModell kann den raschen Anstieg des Hämatokrits nach Durchschreiten des Nadirs nicht so überzeugend reproduzieren. Eine Ursache ist sicherlich auch hier wieder das größere amplifikatorische Potential des EModells (Abbildung 9.27 auf Seite 225), welches in diesem Falle sogar den Verlust von gut 25 % aller BFU-E (Abbildung 9.25 auf Seite 224) kompensieren kann. Hinzu kommt jedoch noch, dass sich die beobachtete zeitliche Änderung der Anzahl der BFU-E mittels der Hypothese der Migration in der im EModell formalisierte Form (s. Kapitel 2.2.2.2.1 auf Seite 49) sehr gut erklären lässt.

Hinweis: Die im EModell formalisierte Form der Hypothese der Migration beschränkt sich in gewisser Weise nur scheinbar auf die BFU-E. Die Änderungen der Anzahl der BFU-E und deren Verteilung auf Knochenmark und Milz sind zu einem großen Teil durch Änderungen der Anzahl der Stammzellen und deren Verteilung bedingt.

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

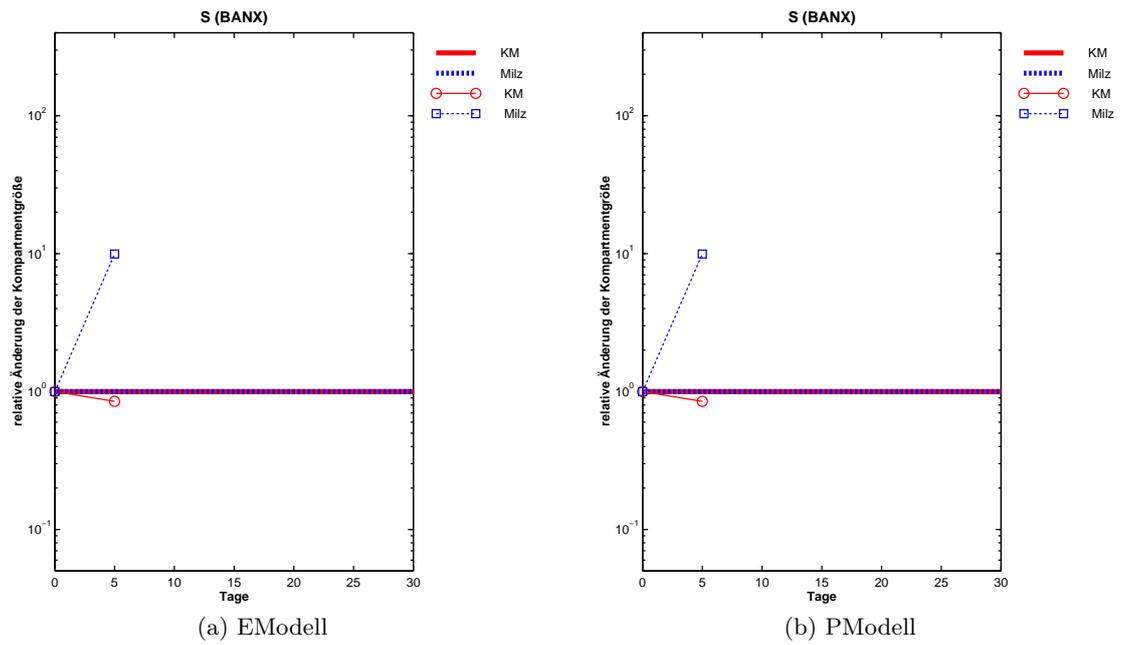


Abbildung 4.11: Mehrfacher Aderlass - Die Stammzellen

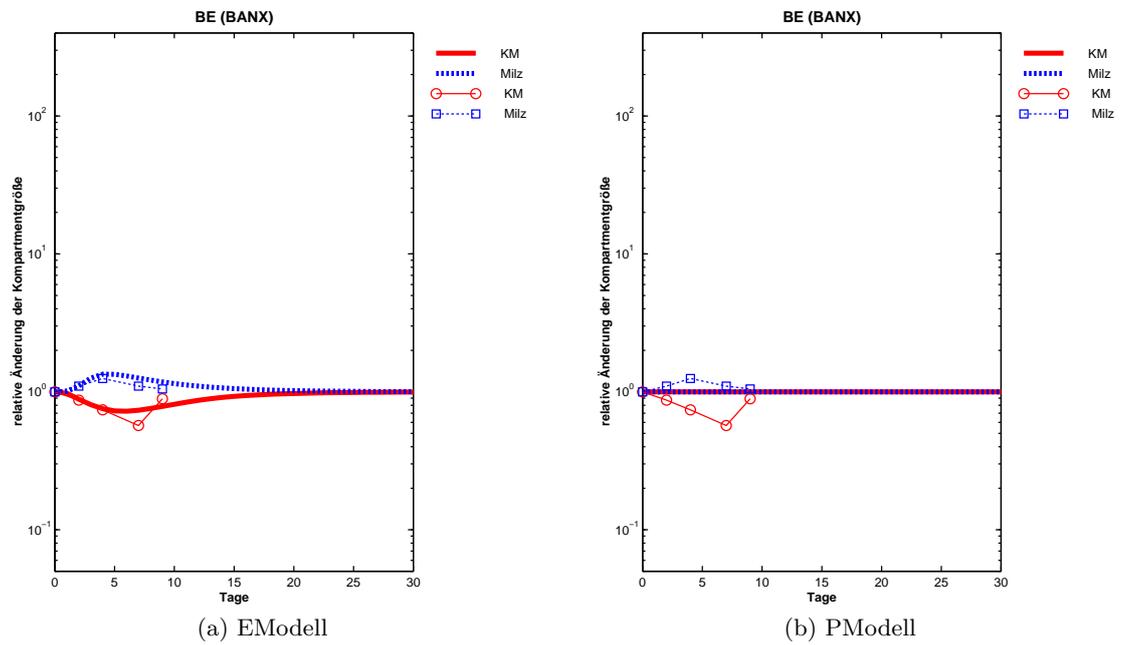


Abbildung 4.12: Mehrfacher Aderlass - Die BFU-E

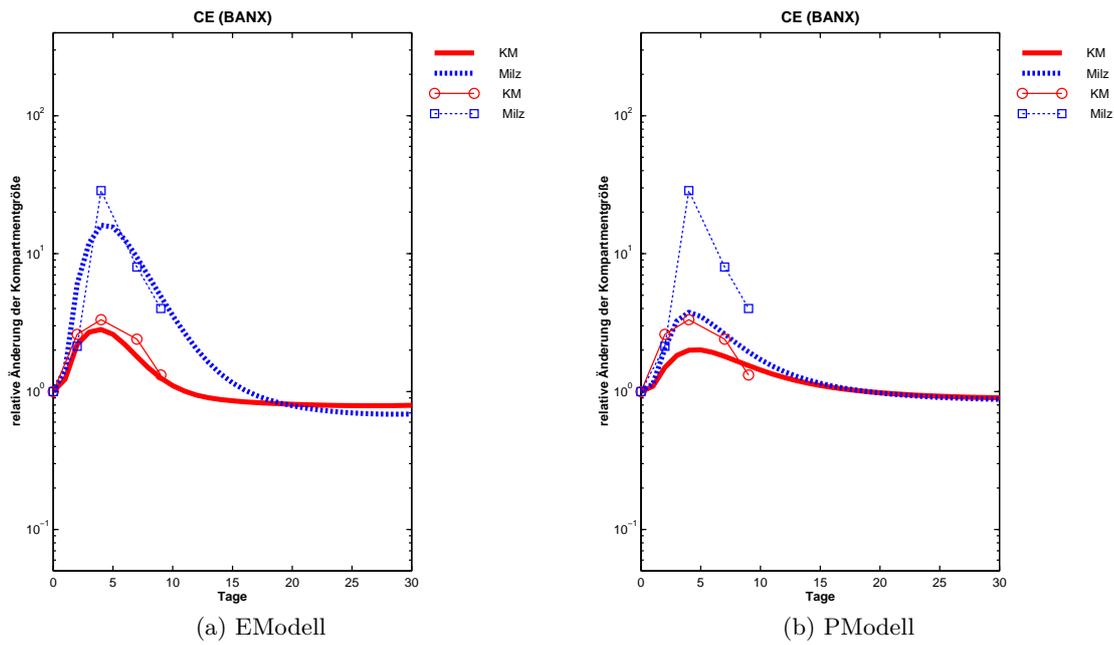


Abbildung 4.13: Mehrfacher Aderlass - Die CFU-E

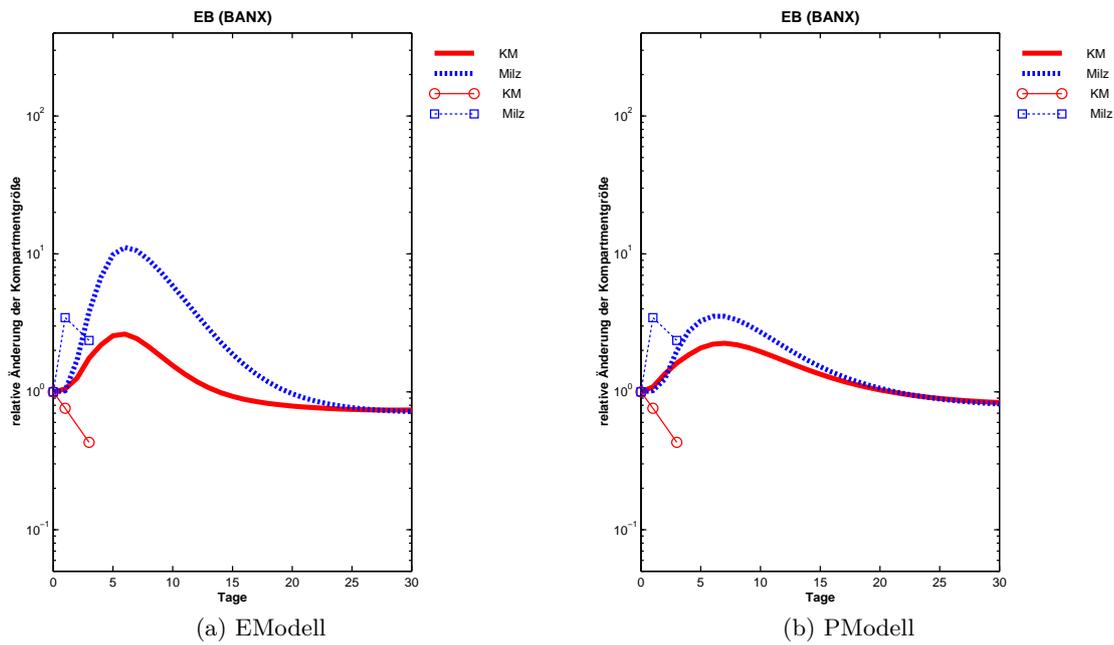


Abbildung 4.14: Mehrfacher Aderlass - Die Erythroblasten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

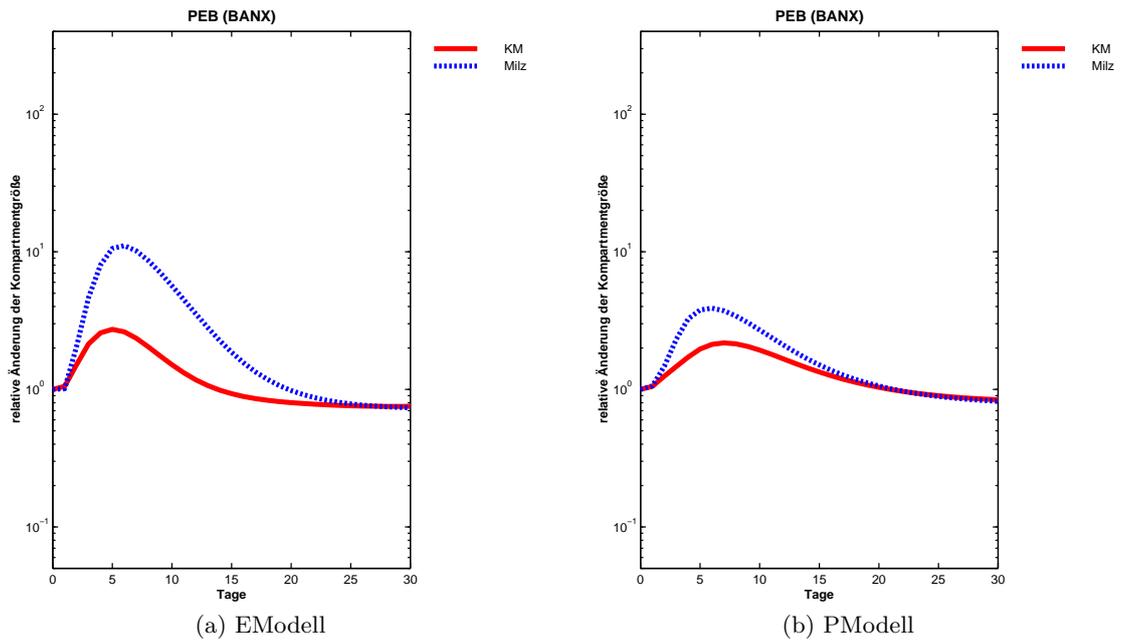


Abbildung 4.15: Mehrfacher Aderlass - Die proliferativen Erythroblasten

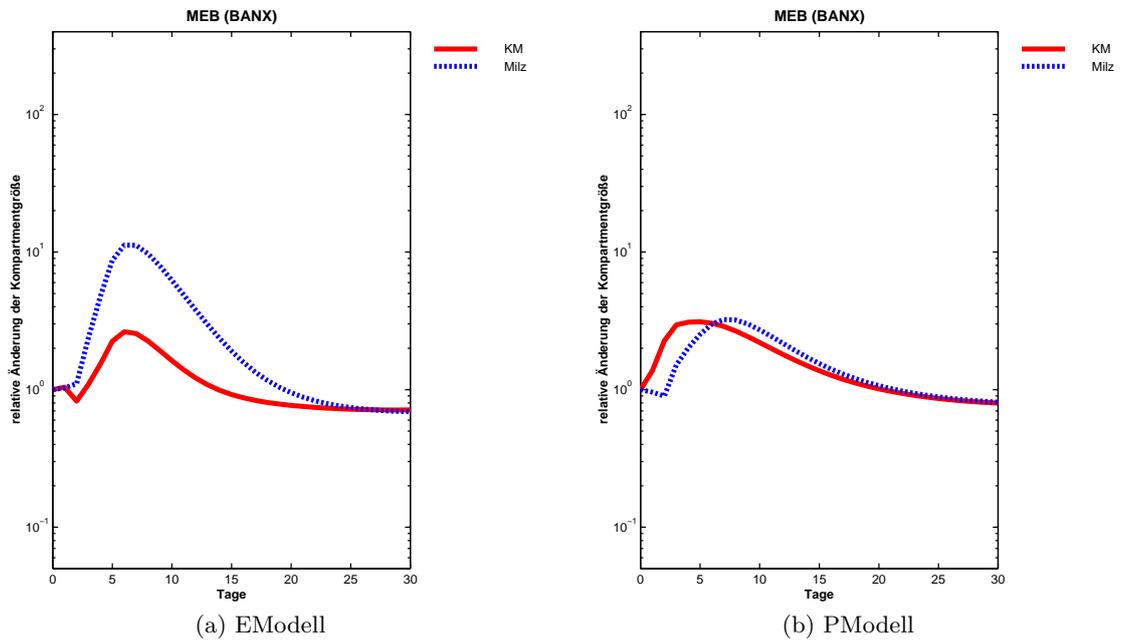


Abbildung 4.16: Mehrfacher Aderlass - Die reifenden Erythroblasten

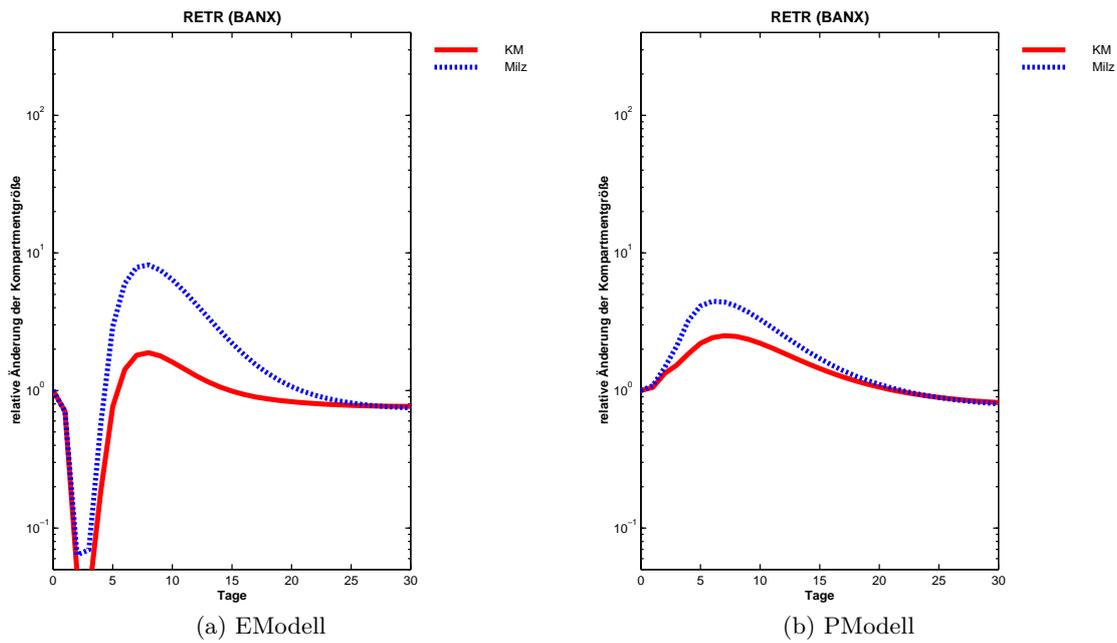


Abbildung 4.17: Mehrfacher Aderlass - Die residualen Retikulozyten

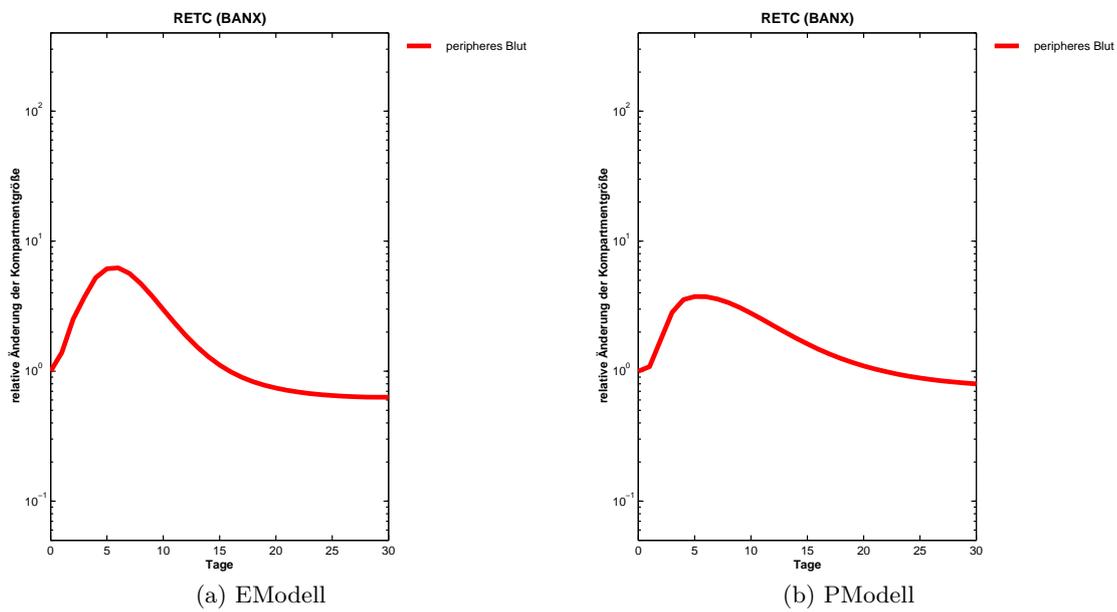


Abbildung 4.18: Mehrfacher Aderlass - Die zirkulierenden Retikulozyten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

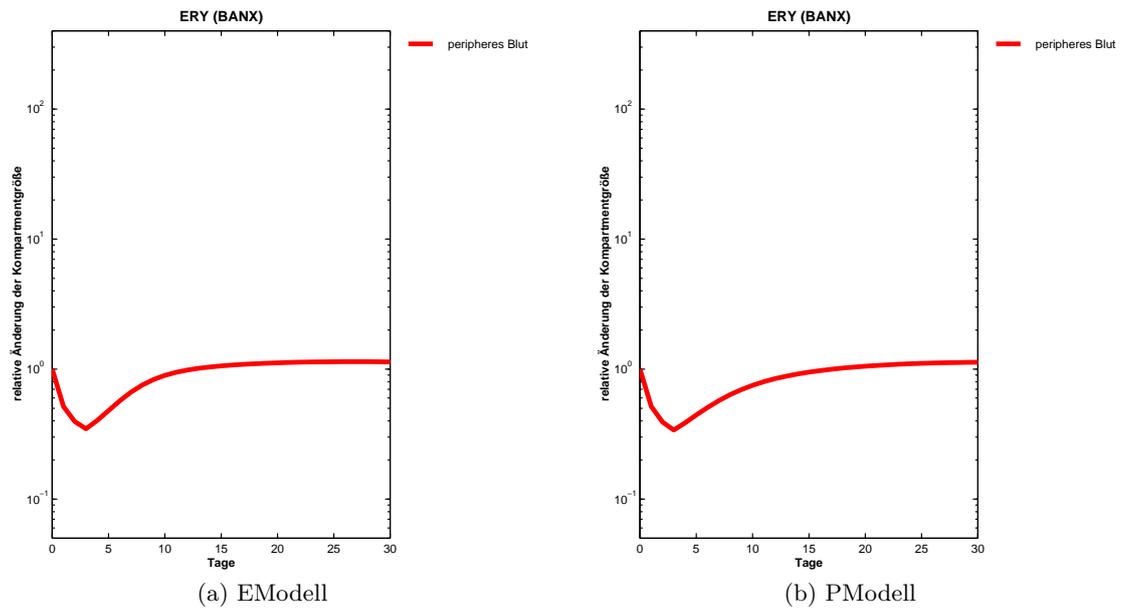


Abbildung 4.19: Mehrfacher Aderlass - Die Erythrozyten

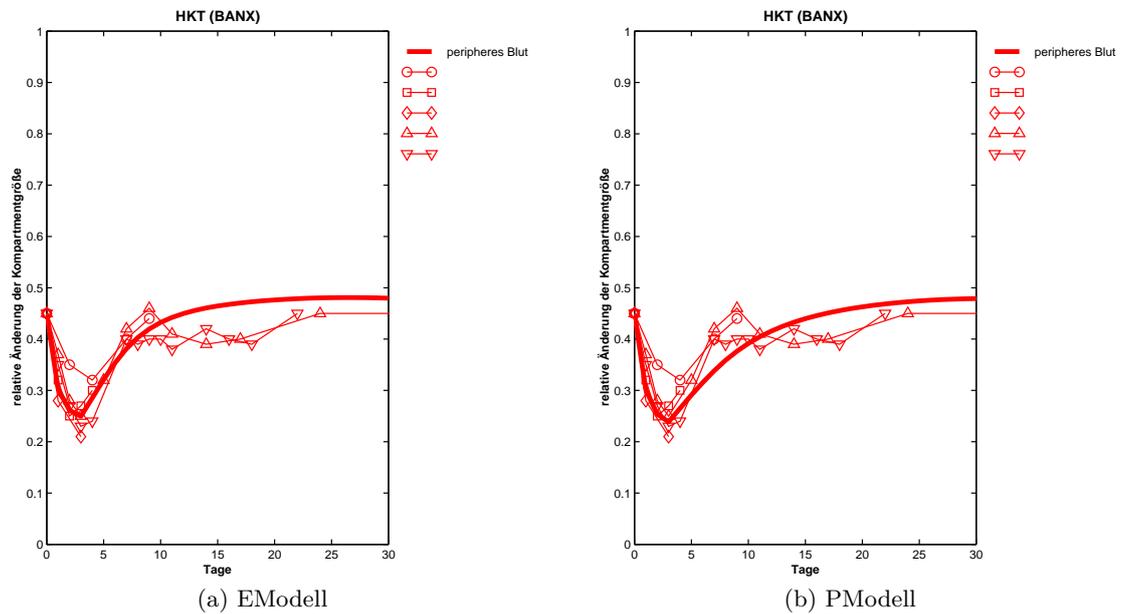


Abbildung 4.20: Mehrfacher Aderlass - Der Hämatokrit

4.2.2.1 Verweis auf die Verlaufskurven weiterer Kenndaten

Um die Modellrechnungen im einzelnen besser nachvollziehbar zu machen, werden die Verlaufskurven der folgenden Kenndaten im Anhang 9.4.2 auf Seite 220 präsentiert:

- Apoptose-Rate
 - der BFU-E (Abbildung 9.19 auf Seite 221)
 - der CFU-E (Abbildung 9.26 auf Seite 225)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.30 auf Seite 227)
- Amplifikation
 - der BFU-E (Abbildung 9.20 auf Seite 221)
 - der CFU-E (Abbildung 9.27 auf Seite 225)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.31 auf Seite 227)
- Verdopplungszeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.21 auf Seite 222)
 - der CFU-E (Abbildung 9.28 auf Seite 226)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.32 auf Seite 228)
- Transitzeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.22 auf Seite 222)
 - der CFU-E (Abbildung 9.29 auf Seite 226)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.33 auf Seite 228)
 - der reifenden Erythroblasten (Abbildung 9.34 auf Seite 229)
 - der residualen Retikulozyten (Abbildung 9.35 auf Seite 229)
 - der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 9.36 auf Seite 230)
- Migration der BFU-E
 - die Migrationsrate (Abbildung 9.23 auf Seite 223)
 - die 'seeding efficiency' (Abbildung 9.24 auf Seite 223)
 - die Verlustrate (Abbildung 9.25 auf Seite 224)

4.3 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Modellannahmen und Vergleich mit den experimentellen Daten

Bei der durch die viermalige Injektion von 60 mg Phenylhydrazin/kg Körpergewicht induzierten hämolytischen Anämie fällt der Hämatokrit innerhalb von 4 Tagen auf 20 % des Normalwerts ab, und der Anteil der lienalen Erythropoese erreicht am Tag 5 den Maximalwert von 50 %. Am Tag 12 ist dann wieder die normale Verteilung der CFU-S auf Knochenmark und Milz erreicht [143], [146], [147].

Für die Simulation der PHZ-induzierten hämolytischen Anämie wird eine am Tage 0 einsetzende, am Tage 1 ihr Maximum von 1 erreichende und am Tage 4 wieder auf 0 zurückgehende Verlustrate für die Erythrozyten und zirkulierenden Retikulozyten angenommen (s. Anhang 9.5.1 auf Seite 231), so dass der Verlauf des Modellhämatokrits dem in dieser Phase des Experiments beobachteten Verlauf des Hämatokrits entspricht (Abbildung 4.30 auf Seite 124).

Die Modellierung des Verhaltens des BFU-E-Kompartiments gelingt dem EModell nur ungenügend. Insbesondere die Höhe des Maximums der lienalen BFU-E und die Tiefe des Nadirs der Knochenmarks-BFU-E werden nicht erreicht. Für das PModell gilt natürlich weiterhin, dass es auf Grund des Fehlens jeglicher Regulation der BFU-E keine Übereinstimmung mit den experimentellen Daten erzielen kann, sondern die Anzahl der BFU-E über den gesamten Zeitraum konstant hält (Abbildung 4.22 auf Seite 120).

Beide Modelle sind nicht in der Lage, die Reaktion des CFU-E-Kompartiments auf die hämolytische Anämie zur vollen Zufriedenheit zu beschreiben (Abbildung 4.23 auf Seite 121). Allerdings kommt das EModell den experimentellen Ergebnissen näher als das PModell. Eine wesentliche Ursache für die Diskrepanz ist bei beide Modellen die ungenügende Modellierung des BFU-E- und des Stammzell-Kompartiments. Eine Verbesserung der Beschreibung dieses Bereichs würde sicherlich auch zu einer präziseren Beschreibung des lienalen CFU-E-Kompartiments führen; eine Verbesserung der Beschreibung des CFU-E-Kompartiments im Knochenmark ließe sich so jedoch für beide Modelle nicht erzielen.

Im Vergleich zu den bisher betrachteten Zellstadien ist die Übereinstimmung der Modelle mit den experimentellen Verlaufsdaten der Erythroblasten überraschend gut (Abbildung 4.24 auf Seite 121), wobei auch hier wieder das EModell den experimentellen Daten noch etwas näherkommt. Ob das EModell dies auch unter geänderten Voraussetzungen – einer besseren Modellierung des BFU-E- und des Stammzell-Kompartiments – tun würde, kann hier nicht vorausgesagt werden.

Für die Reaktion

- der proliferierenden und der reifenden Erythroblasten (Abbildung 4.25 auf Seite 122 bzw. 4.26 auf Seite 122),
- der residualen (Abbildung 4.27 auf Seite 123) und
- der Erythrozyten (Abbildung 4.29 auf Seite 124)

auf mehrfachen Aderlass liegen leider keine experimentellen Daten vor.

Beide Modelle modellieren das Verhalten der zirkulierenden Retikulozyten insbesondere in der Anfangsphase relativ gut (Abbildung 4.28 auf Seite 123), wobei noch einmal darauf hingewiesen sei, dass die Anpassung der Verlustrate der zirkulierenden Retikulozyten ausschließlich anhand der Hämatokrit-Werte vorgenommen wurde.

Beim Erholungsverhalten des Hämatokrits stellen sich die Verhältnisse ähnlich wie zuvor dar: Das EModell erzielt eine wesentlich bessere Übereinstimmung mit den experimentellen Daten als das PModell, die zudem noch voll zufriedenstellend ausfällt (Abbildung 4.30 auf Seite 124).

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

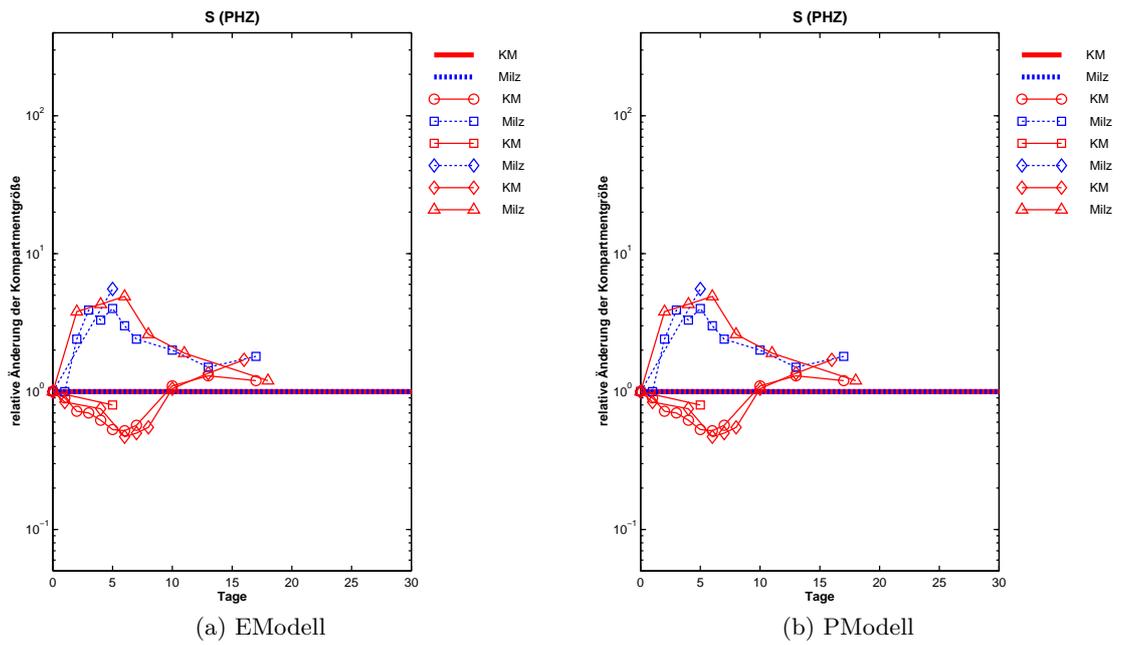


Abbildung 4.21: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die Stammzellen

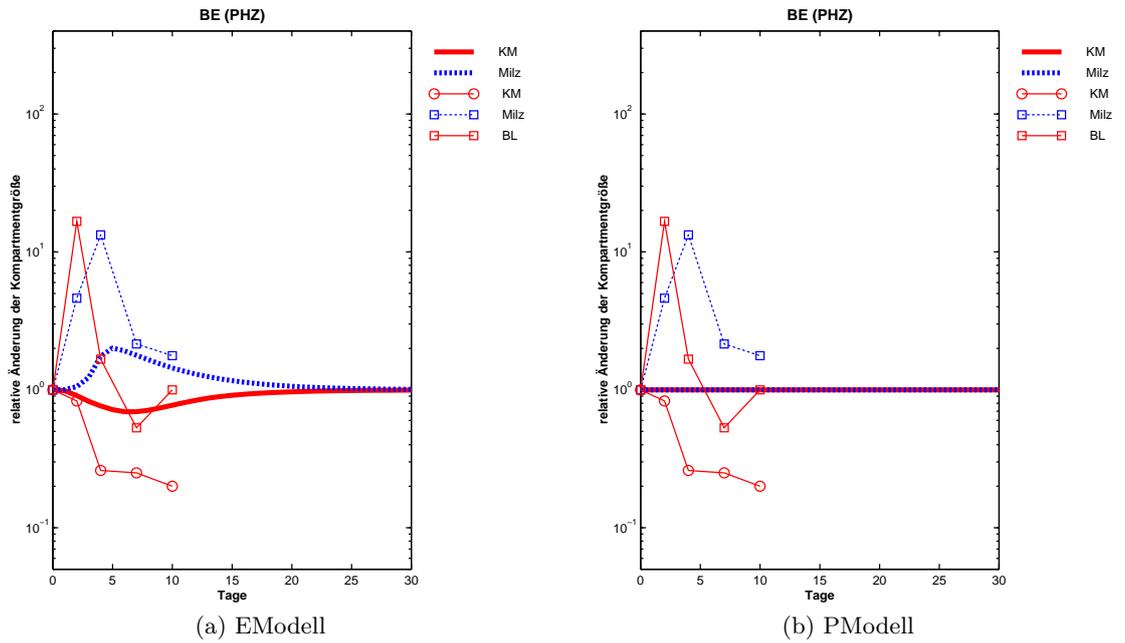


Abbildung 4.22: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die BFU-E

4.3 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

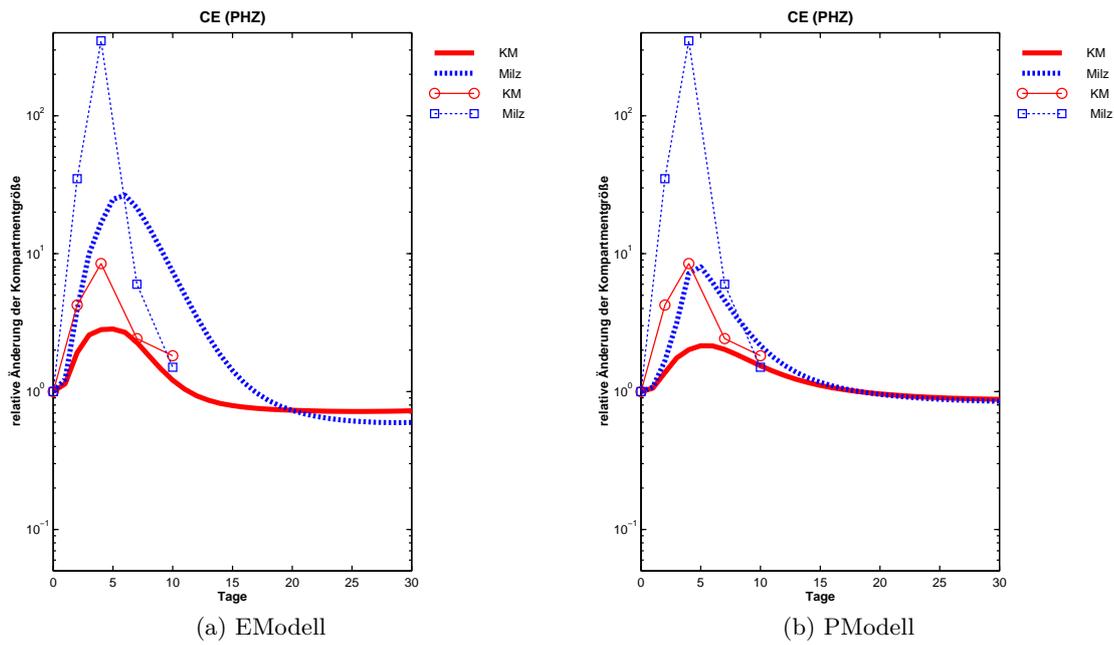


Abbildung 4.23: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die CFU-E

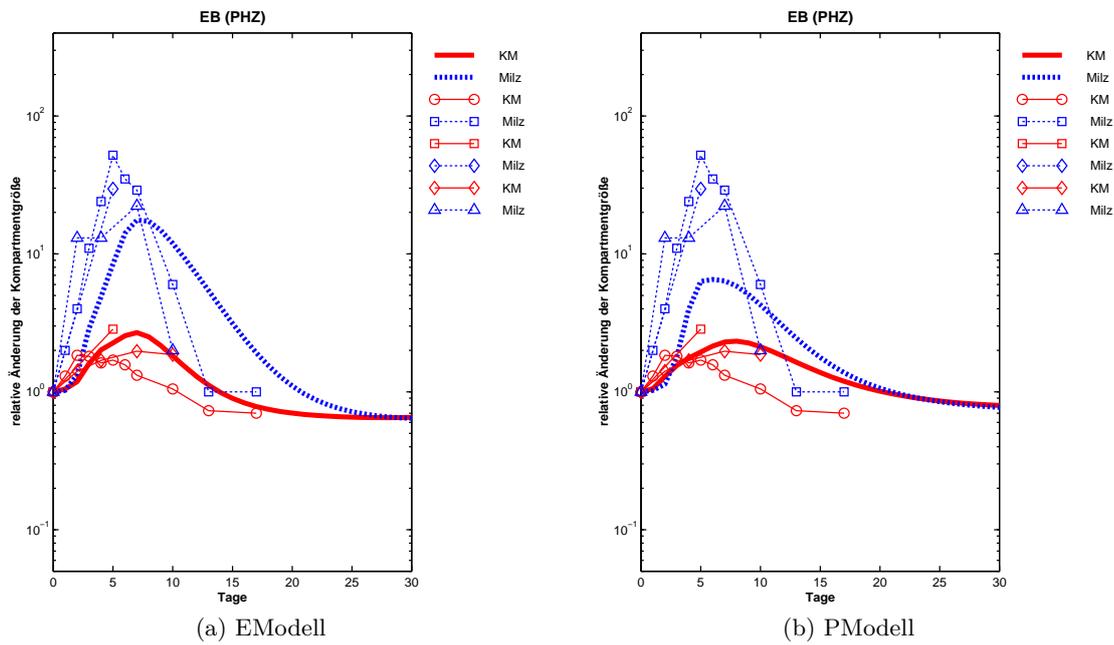


Abbildung 4.24: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die Erythroblasten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

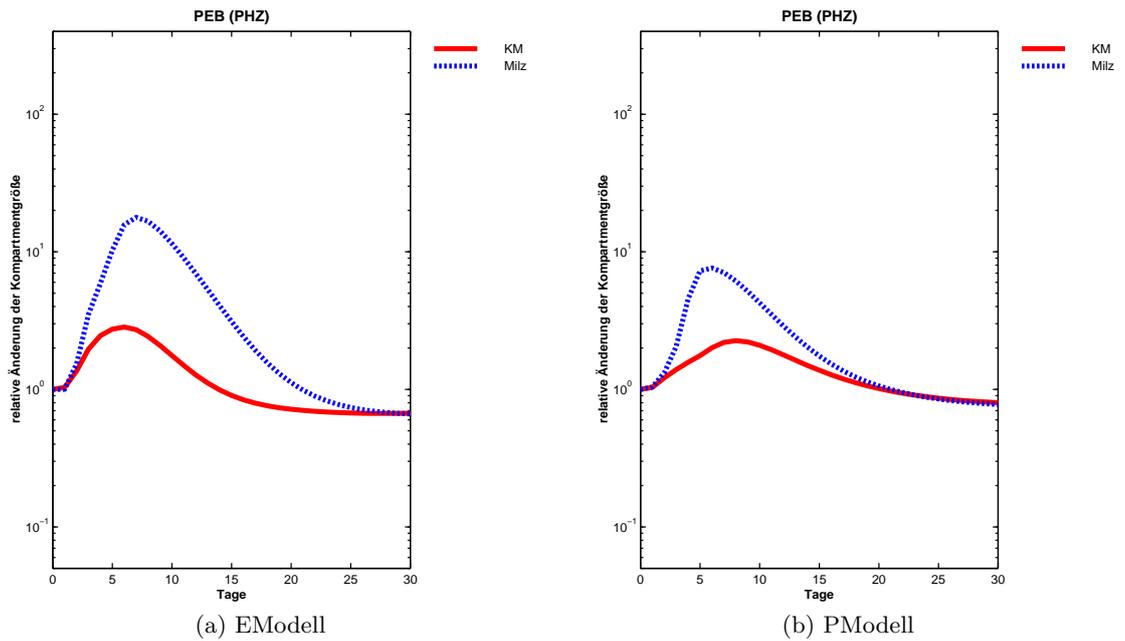


Abbildung 4.25: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die proliferativen Erythroblasten

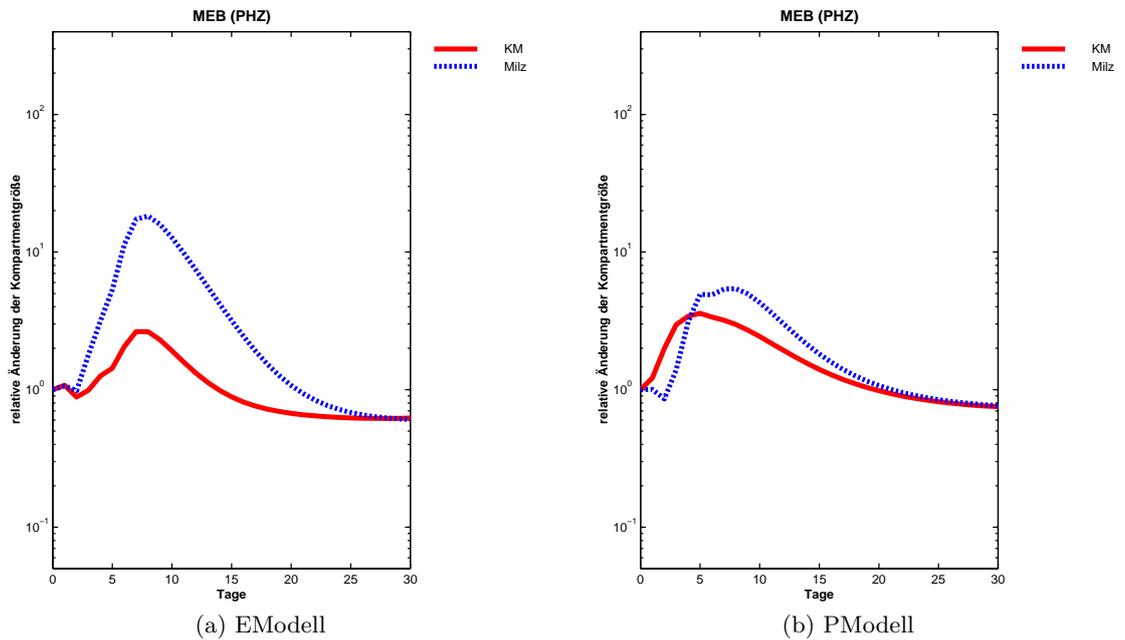


Abbildung 4.26: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die reifenden Erythroblasten

4.3 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

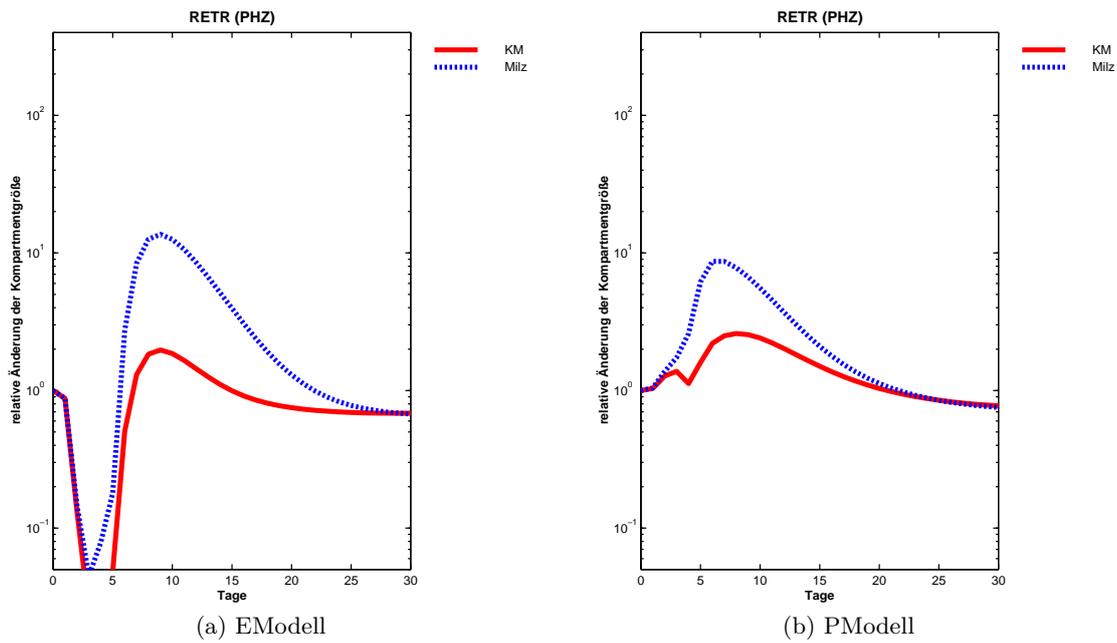


Abbildung 4.27: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die residualen Retikulozyten

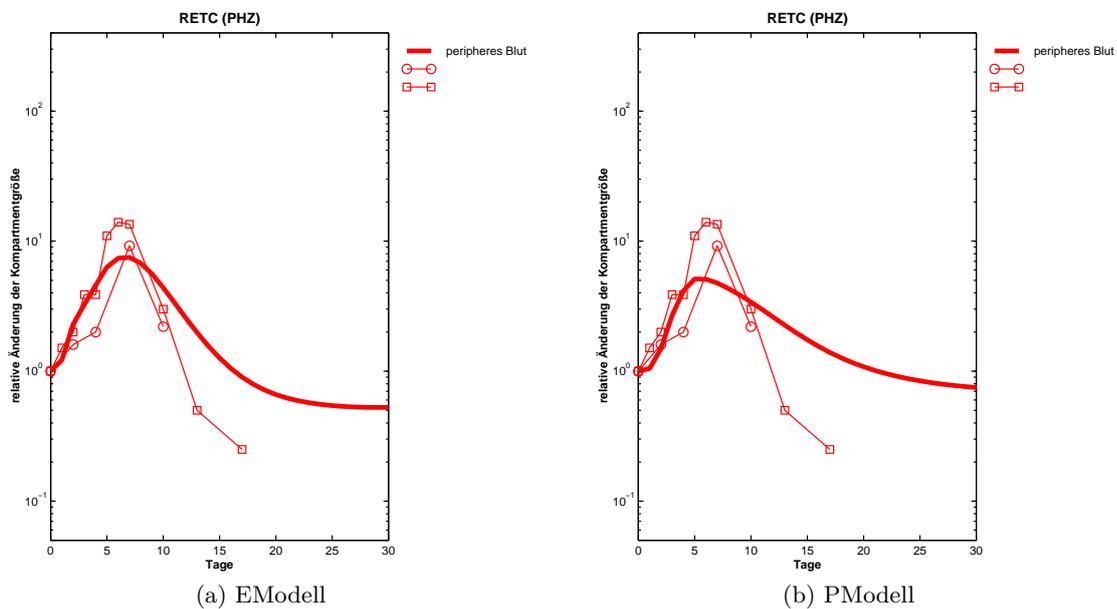


Abbildung 4.28: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die zirkulierenden Retikulozyten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

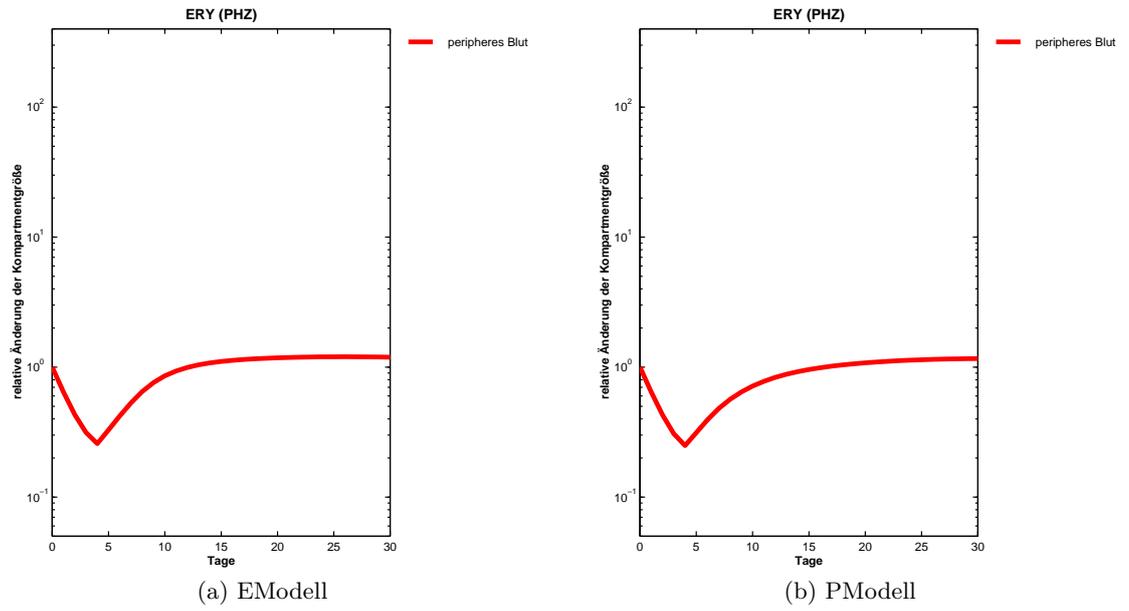


Abbildung 4.29: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die Erythrozyten

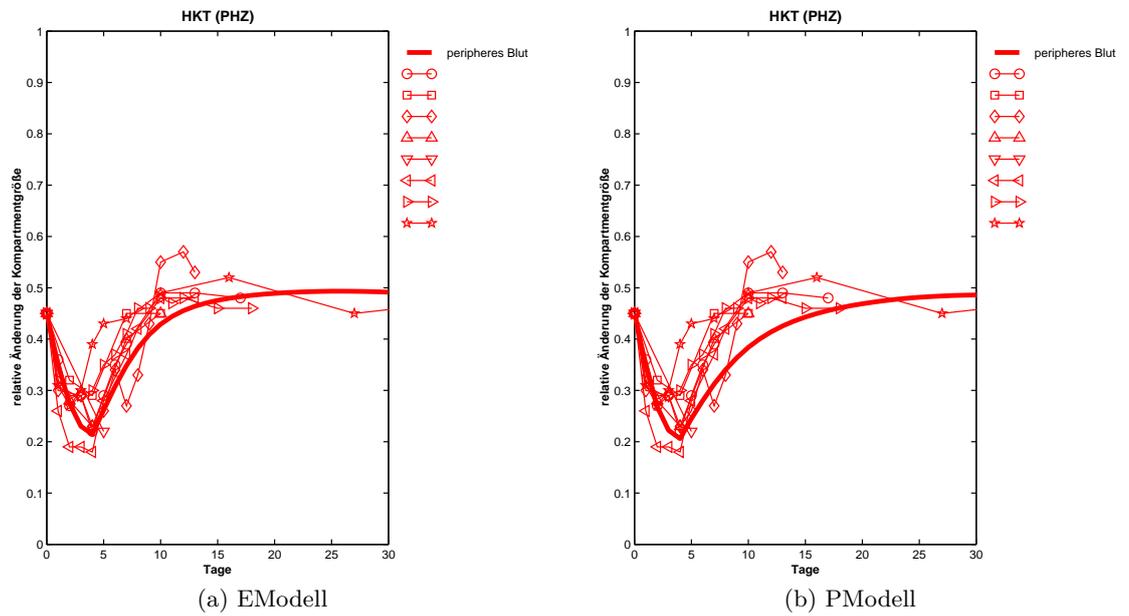


Abbildung 4.30: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Der Hämatokrit

4.3.0.2 Verweis auf die Verlaufskurven weiterer Kenndaten

Um die Modellrechnungen im einzelnen besser nachvollziehbar zu machen, werden die Verlaufskurven der folgenden Kenndaten im Anhang 9.5.2 auf Seite 232 präsentiert:

- Apoptose-Rate
 - der BFU-E (Abbildung 9.37 auf Seite 233)
 - der CFU-E (Abbildung 9.44 auf Seite 237)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.48 auf Seite 239)
- Amplifikation
 - der BFU-E (Abbildung 9.38 auf Seite 233)
 - der CFU-E (Abbildung 9.45 auf Seite 237)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.49 auf Seite 239)
- Verdopplungszeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.39 auf Seite 234)
 - der CFU-E (Abbildung 9.46 auf Seite 238)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.50 auf Seite 240)
- Transitzeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.40 auf Seite 234)
 - der CFU-E (Abbildung 9.47 auf Seite 238)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.51 auf Seite 240)
 - der reifenden Erythroblasten (Abbildung 9.52 auf Seite 241)
 - der residualen Retikulozyten (Abbildung 9.53 auf Seite 241)
 - der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 9.54 auf Seite 242)
- Migration der BFU-E
 - die Migrationsrate (Abbildung 9.41 auf Seite 235)
 - die 'seeding efficiency' (Abbildung 9.42 auf Seite 235)
 - die Verlustrate (Abbildung 9.43 auf Seite 236)

4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie

4.4.1 Beschreibung der experimentellen Daten und Modellannahmen

Bei der Maus führt eine 3-tägige Behandlung mit dem Antibiotikum Thiamphenicol zu einer Blockierung der Differenzierung der erythropoetischen Vorläuferzellen in Knochenmark und Milz. Innerhalb der ersten 2 Tage der Behandlung sinkt die Zellzahl der CFU-E auf Werte ab, die unterhalb der Detektionsschwelle von ca. $2 \cdot 10^3$ Zellen pro Organ liegen. Im gleichem Zeitraum fällt die Zellzahl der Erythroblasten in beiden Organen ebenfalls auf Werte von nahezu 0 ab. Zwischen Tag 2 und Tag 3 der Behandlung geht der Anteil der zirkulierenden Retikulozyten an den roten Blutzellen von normal 2,8 % auf 0,3 % zurück. Der Hämatokrit unterliegt dabei einer im Vergleich dazu nur geringen Veränderung. Er fällt von 41 % auf 36 % bzw. nach der Normierung von 45 % auf 39 % ab. Diese vergleichsweise geringe Änderung ergibt sich aus der langen Lebensspanne der Erythrozyten von ca. 45 Tagen. Der Anteil der in der Milz lokalisierten CFU-S erreicht am Tag 3 einen Wert von 86 % aller CFU-S und fällt innerhalb der folgenden 6 Tage auf den normalen Wert ab.

Für die Simulation der Auswirkungen von Thiamphenicol auf die Erythropoese einschließlich der Erholungsphasen mussten - im Unterschied zu den zuvor betrachteten Stress-Situationen - für die CFU-E und die proliferativen Erythroblasten unterschiedliche Verlustraten (vr_k) angenommen werden, um eine gute Anpassung der Modellrechnungen an die experimentellen Daten zu erreichen. Die Parametersätze des EModells und des PModells wurden wie folgt definiert (vgl. auch Tabelle 4.1 auf der nächsten Seite):

- Ein Verlust von proliferativen Erythroblasten in der Milz musste nicht angenommen werden, d.h. die Verlustrate ist konstant gleich 0.
- Die Verlustrate (vr_k) der reifenden Erythroblasten im Knochenmark steigt, beginnend mit 0 am Tag 0, auf 2 am Tag 3 an und fällt innerhalb von 2 Tagen wieder auf 0 ab.
- Ein Verlust von reifenden Erythroblasten in der Milz musste nicht angenommen werden, d.h. die Verlustrate ist konstant gleich 0.
- Die Verlustrate (vr_k) der residualen Retikulozyten im Knochenmark steigt, beginnend mit 0 am Tag 0, auf 4 am Tag 3 an und fällt am selben Tag wieder auf 0 ab.
- Ein Verlust von residualen Retikulozyten in der Milz musste nicht angenommen werden, d.h. die Verlustrate ist konstant gleich 0.

- Die Verlustrate (vr_k) der zirkulierenden Retikulozyten steigt, beginnend mit 0 am Tag 0, auf 1 am Tag 3 an und fällt am selben Tag wieder auf 0 ab. Des Weiteren musste ein reduzierter Einstrom angenommen werden: die Verlustrate des Einstroms (vr_e) zeigt dasselbe zeitliche Verhalten, allerdings beträgt das Maximum an Tag 3 1,8 (EModell) bzw. 1,68 (PModell).
- Auch für die Erythrozyten muss ein Zellverlust angenommen werden. Hier steigt die Verlustrate (vr_k) von 0 am Tag 0 auf 0,1 am Tag 5 an und fällt am selben Tag wieder auf 0 ab.

Tabelle 4.1: Die Verlustraten-Parameter bei durch TAP verursachter Anämie - EModell vs. PModell

Modell-Parameter	EModell		PModell	
	KM	Milz	KM	Milz
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (CFU-E)	[0 3 3 5]	[0 3 3 5]	[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (CFU-E)	[0 300 0 0]	[0 32 0 0]	[0 170 0 0]	[0 35 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (PEB)	[0 3 5 6]	[0 3 3 5]	[0 3 5 6]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (PEB)	[0 2 0 0]	[0 0 0 0]	[0 1.7 0 0]	[0 0.4 0 0]

Um einen genaueren Eindruck von der Bedeutung der Regulierung der Stammzellen und der Migration zu bekommen wurde neben dem oben beschriebenen Szenarium, im Folgenden als Szenarium 1 referenziert, zwei weitere modelliert.

Beim ersten dieser beiden ergänzenden Szenarien (Szenarium 2) wird das PModell um die Migrationsregulation des EModells erweitert. Zudem werden in beiden Modellen die Parameter der Migration so abgeändert, dass die Modell-BFU-E-Werte mit den experimentellen Daten möglichst weitgehend übereinstimmen (Abbildung 4.32 auf Seite 131 (Mitte) und Anhang 9.6.3 auf Seite 250 für das EModell sowie Anhang 9.6.4 auf Seite 252) für das PModell. Ansonsten werden die im Szenarium 1 genutzten Parametersätze unverändert übernommen.

Das zweite dieser beiden ergänzenden Szenarien (Szenarium 3) hingegen geht davon aus, dass keine Migration bei den BFU-E stattfindet. Vielmehr werden die Modell-CFU-S-Verläufe beider Modelle auf die gleiche Weise exakt an die der experimentellen Daten

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

angepasst (Abbildung 4.31 auf Seite 130 (unten) und Anhang 9.6.5 auf Seite 253). Auch in diesem Szenarium werden ansonsten die im Szenarium 1 genutzten Parametersätze unverändert übernommen.

Die Ergebnisse der insgesamt 6 Modellrechnungen ($2\text{Modelle} * 3\text{Szenarien}$) werden im folgenden Abschnitt präsentiert und diskutiert.

4.4.2 Vergleich der experimentellen Daten mit den Modellrechnungen

Allen Abbildungen, die die Reaktion der Modelle auf die durch TAP induzierte Anämie beschreiben, liegt die folgende Struktur zugrunde:

- links sind die Reaktionen des EModells dargestellt,
- rechts sind die Reaktionen des PModells dargestellt,
- die oberen beiden Teilabbildungen basieren auf dem Szenarium 1,
- die mittleren beiden Teilabbildungen basieren auf dem Szenarium 2,
- die unteren beiden Teilabbildungen basieren auf dem Szenarium 3.

In der Abbildung 4.31 auf Seite 130 wird gezeigt, dass eine exakte Anpassung der Modell-Werte der Stammzellen an die experimentellen Daten (Szenarium 3) erfolgte. Beide Modelle zeigen in den Szenarien 1 und 2 das erwartete Verhalten: die Größe der Stammzell-Kompartimente ist konstant.

Abbildung 4.32 auf Seite 131 zeigt deutlich, dass allein mit den Annahmen, die dem Szenarium 1 zugrunde liegen, keine adäquate Übereinstimmung der Modellrechnungen mit den experimentellen Daten zu erzielen ist. Dies gilt für beide Modelle. Eine relative gute Übereinstimmung liefern jedoch die Modellrechnungen, die auf den erweiterten Annahmen der Szenarien 2 und 3 beruhen. Aus dieser vergleichbar guten Übereinstimmung der Szenarien 2 und 3 kann der Schluss gezogen werden, dass die Migration auf der Ebene der Stammzellen einen wesentlichen Beitrag zur Umverteilung der BFU-E leistet. Des Weiteren wird hier deutlich, dass die im Szenarium 2 angenommenen Regulationsmechanismen der Migration der BFU-E nicht allein die Migrationsprozesse auf der Ebene der BFU-E widerspiegeln, sondern auch die Migrationsprozesse auf der Ebene der Stammzellen.

Ein ähnliches Bild zeigt sich bei den CFU-E (Abbildung 4.33 auf Seite 132) und den Erythroblasten (Abbildung 4.34 auf Seite 133). Auch hier gelingt es nicht mit dem Szenarium 1 eine hinreichend gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten zu erzielen. Die Szenarien 2 und 3 liefern hingegen ein zufriedenstellendes Ergebnis.

4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie

Das Erholungsverhalten der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 4.38 auf Seite 137) und des Hämatokrits (Abbildung 4.40 auf Seite 139) wird von allen drei Szenarien in vergleichbar guter Übereinstimmung mit den experimentellen Daten modelliert.

Für die Reaktion

- der proliferierenden und der reifenden Erythroblasten (Abbildung 4.35 auf Seite 134 bzw. 4.36 auf Seite 135),
- der residualen (Abbildung 4.37 auf Seite 136) und
- der Erythrozyten (Abbildung 4.39 auf Seite 138)

auf die Gabe von TAP liegen leider keine experimentellen Daten vor.

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

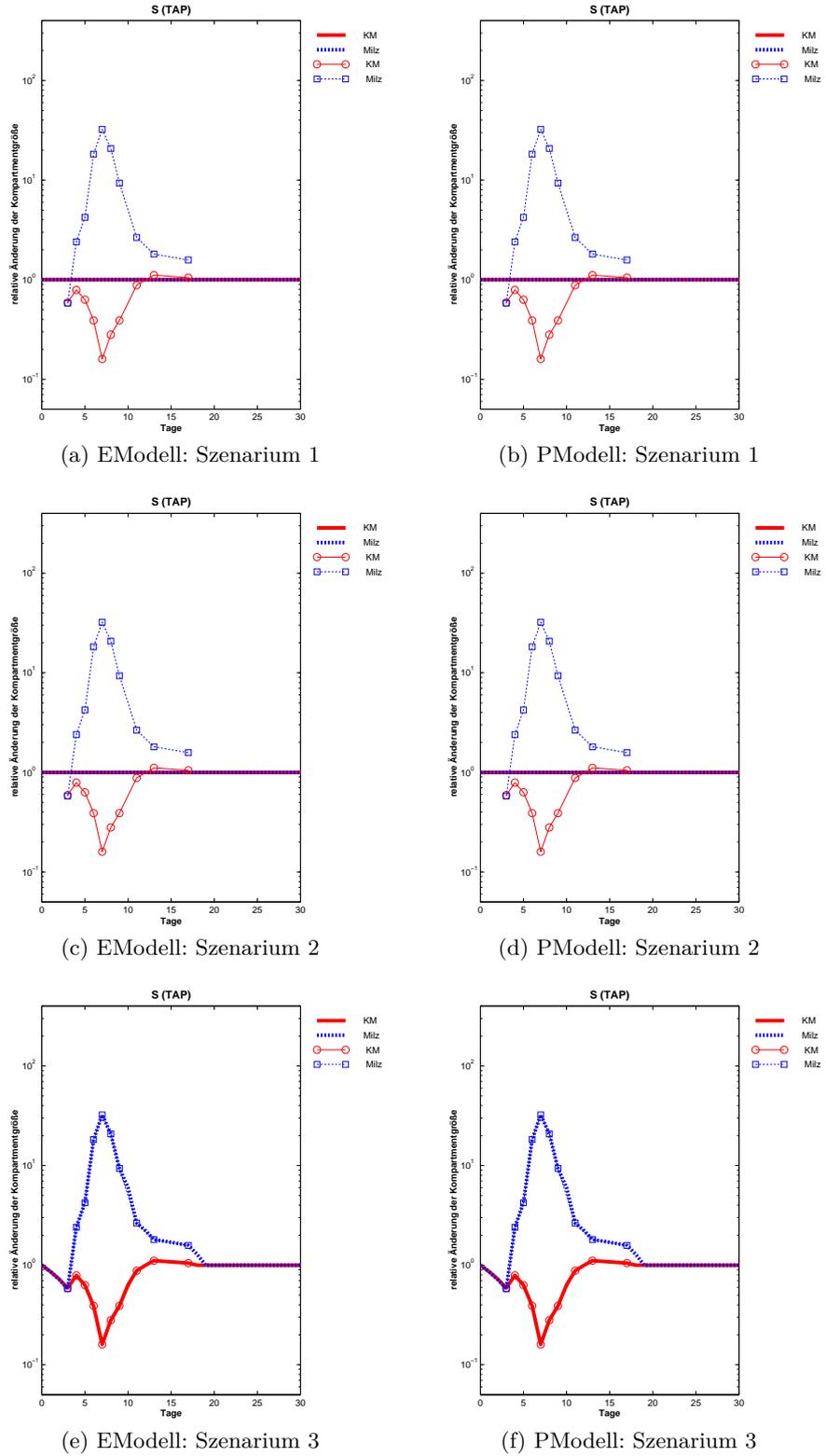
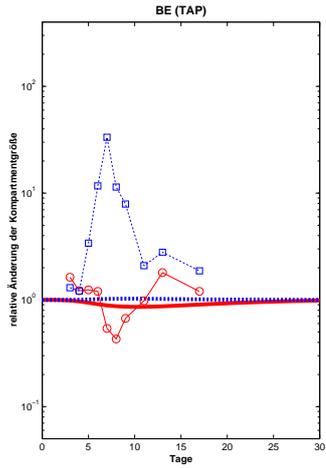
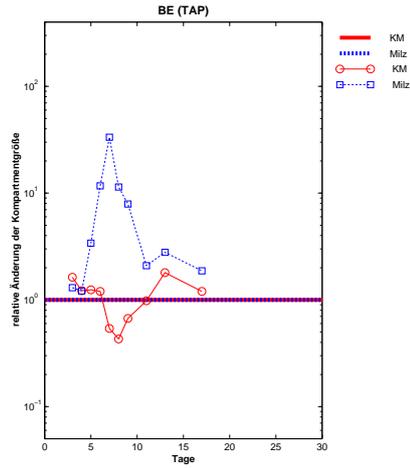


Abbildung 4.31: TAP-induzierte Anämie - Die Stammzellen: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

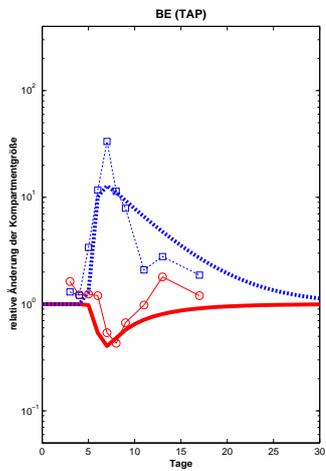
4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie



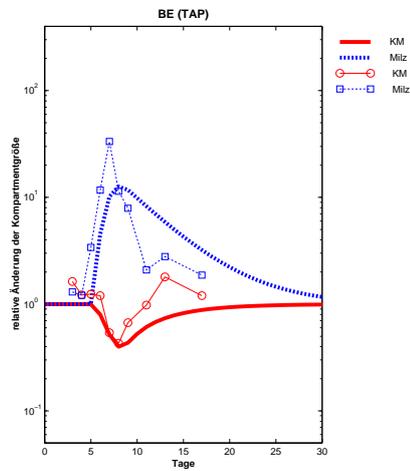
(a) EModell: Szenarium 1



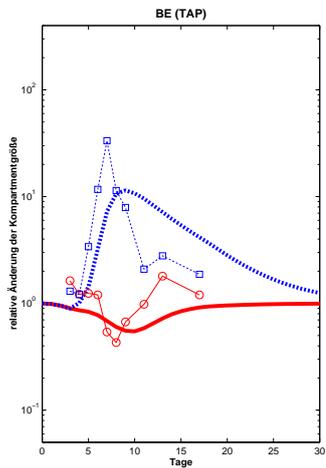
(b) PModell: Szenarium 1



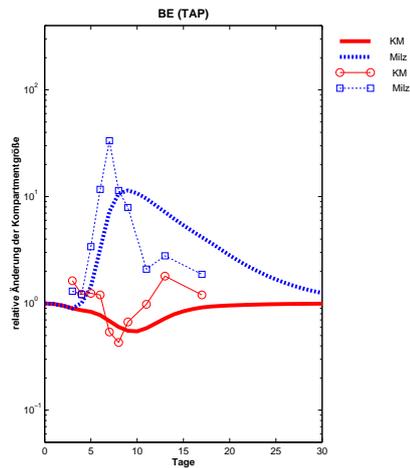
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



(e) EModell: Szenarium 3



(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 4.32: TAP-induzierte Anämie - Die BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

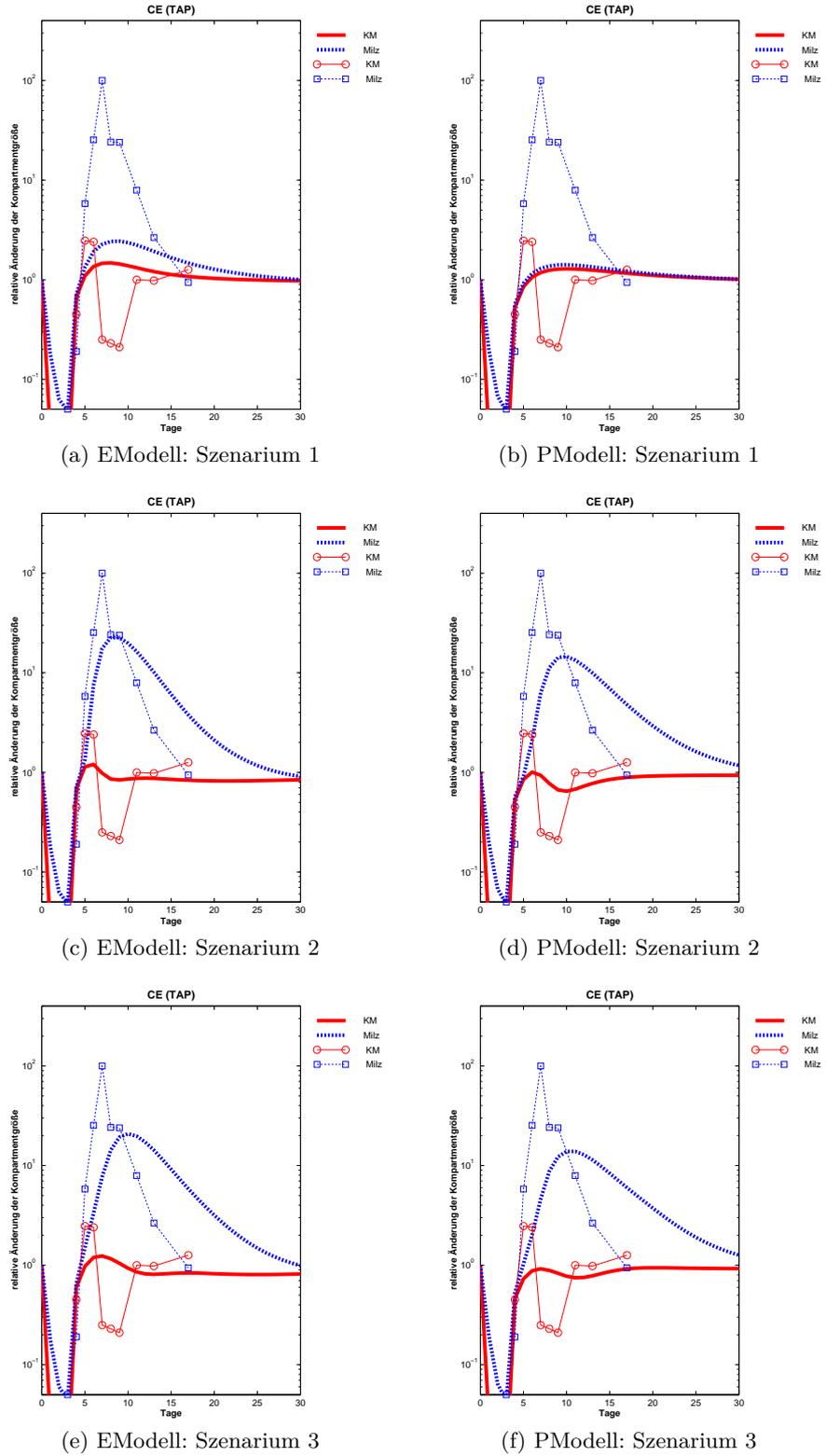


Abbildung 4.33: TAP-induzierte Anämie - Die CFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie

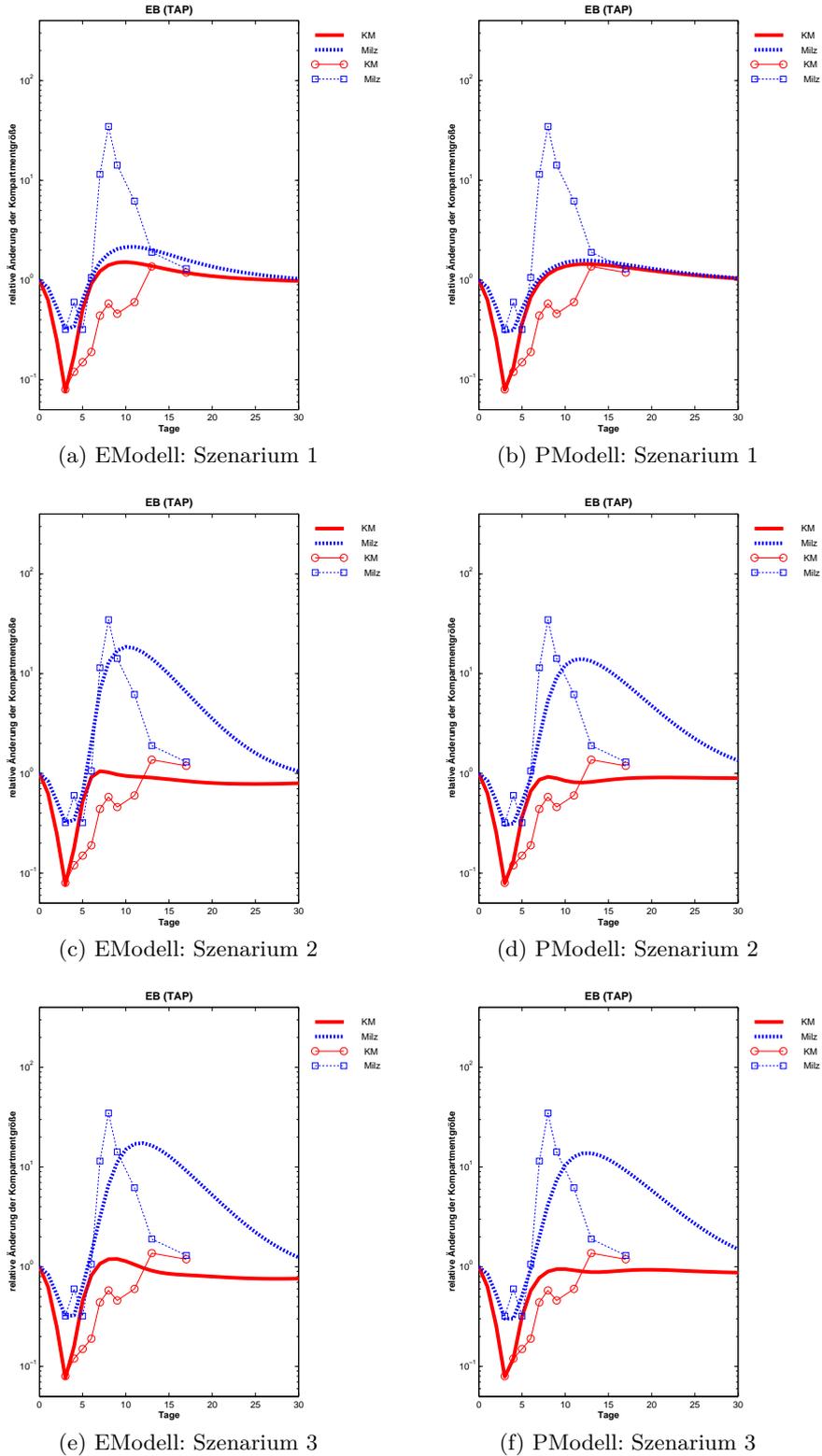


Abbildung 4.34: TAP-induzierte Anämie - Die Erythroblasten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

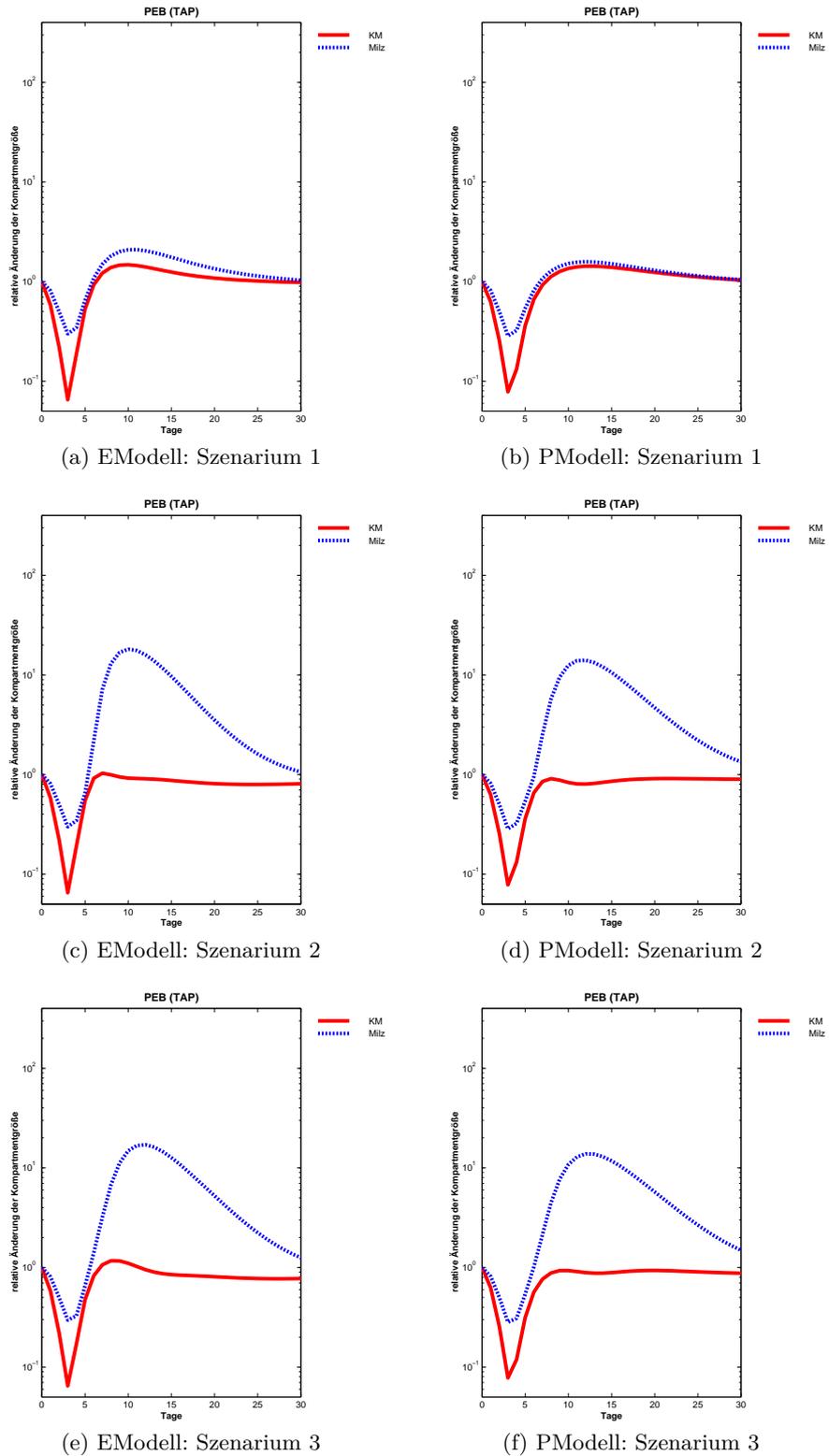


Abbildung 4.35: TAP-induzierte Anämie - Die proliferativen Erythroblasten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie

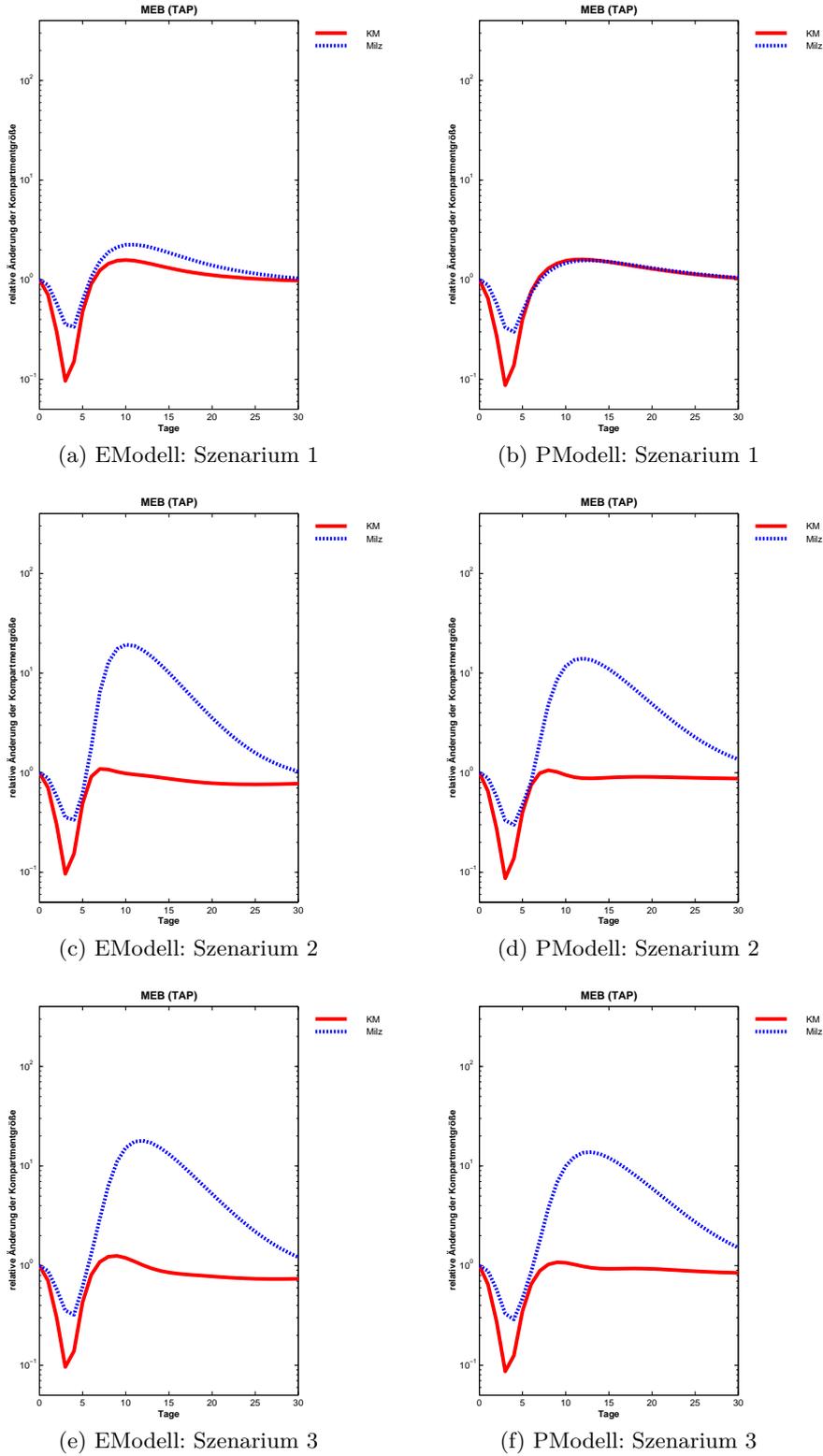


Abbildung 4.36: TAP-induzierte Anämie - Die reifenden Erythroblasten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen

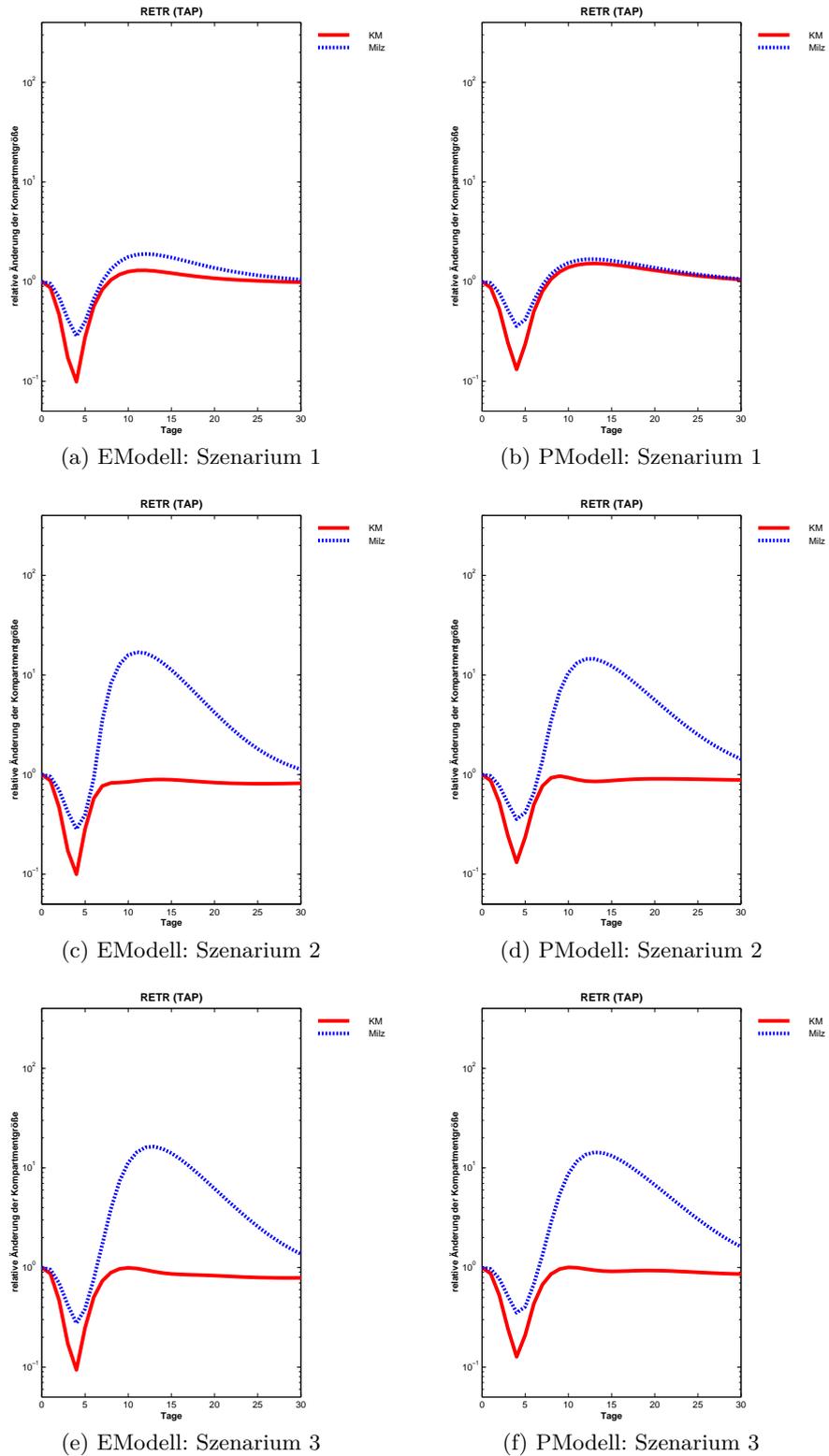
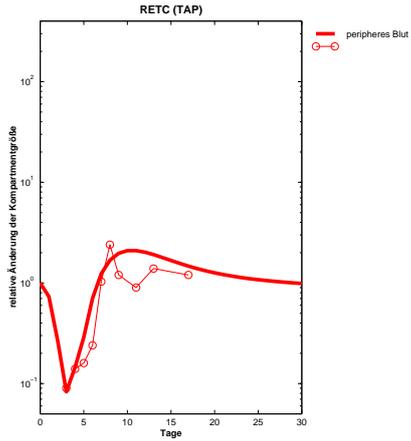
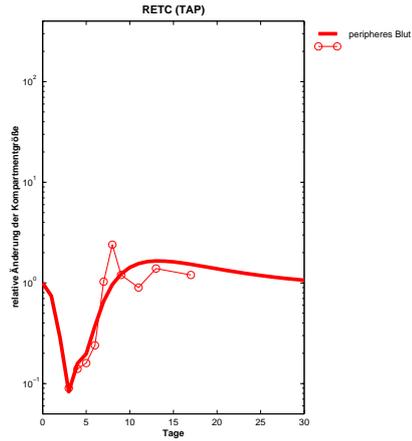


Abbildung 4.37: TAP-induzierte Anämie - Die residualen Retikulozyten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

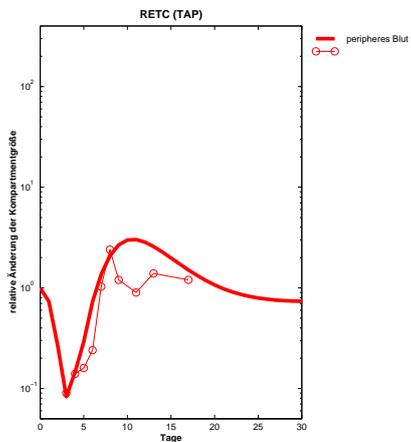
4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie



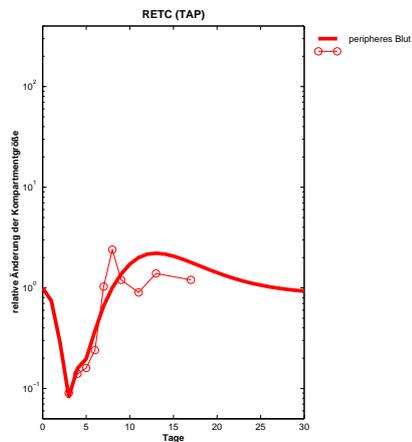
(a) EModell: Szenarium 1



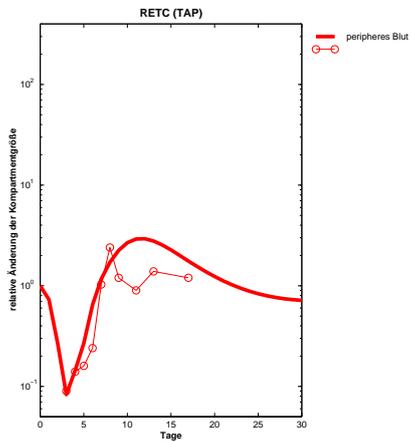
(b) PModell: Szenarium 1



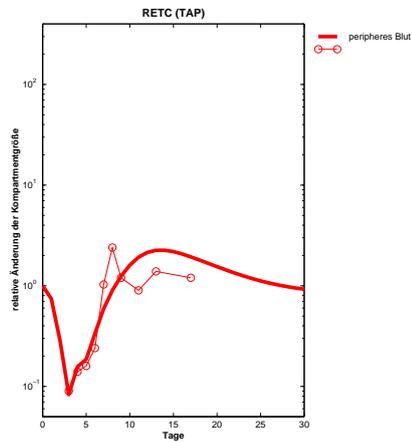
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



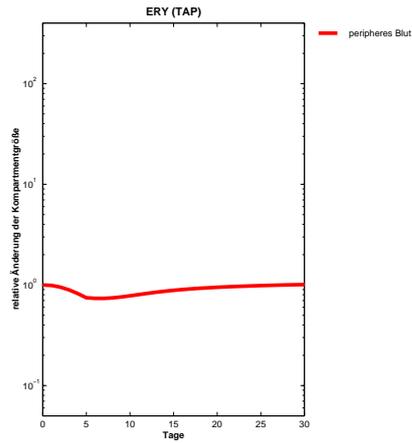
(e) EModell: Szenarium 3



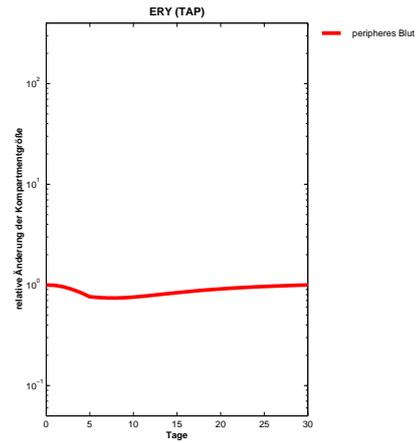
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 4.38: TAP-induzierte Anämie - Die zirkulierenden Retikulozyten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

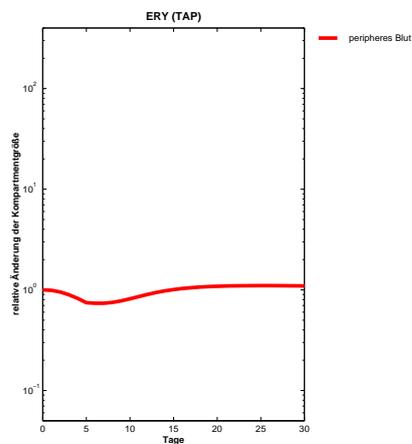
4 Ergebnisse der Betrachtung von Stress-Situationen



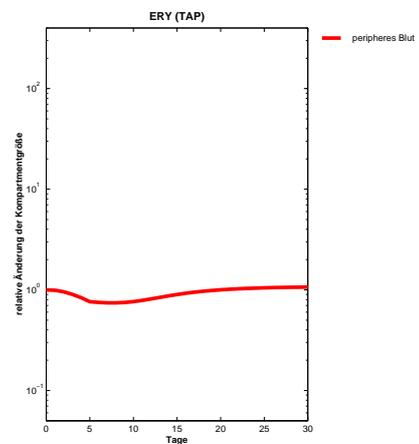
(a) EModell: Szenarium 1



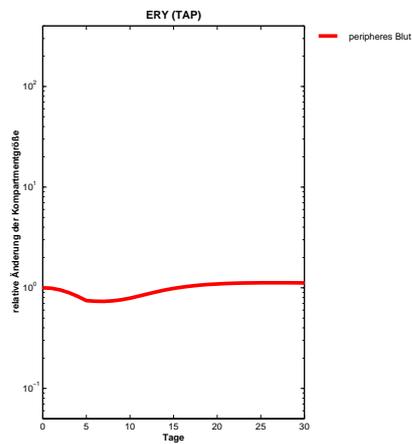
(b) PModell: Szenarium 1



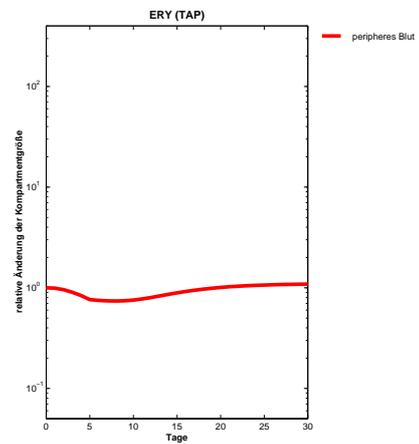
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



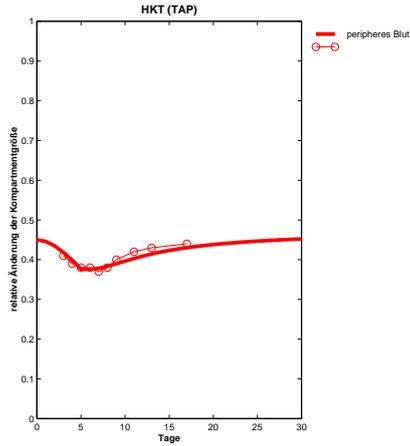
(e) EModell: Szenarium 3



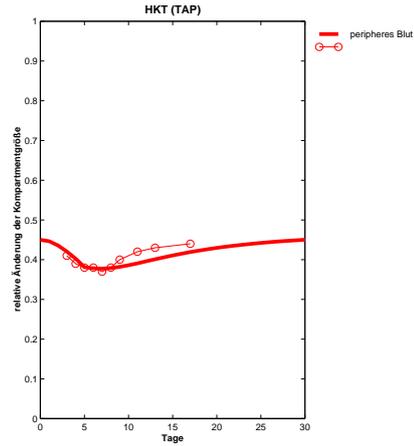
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 4.39: TAP-induzierte Anämie - Die Erythrozyten: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

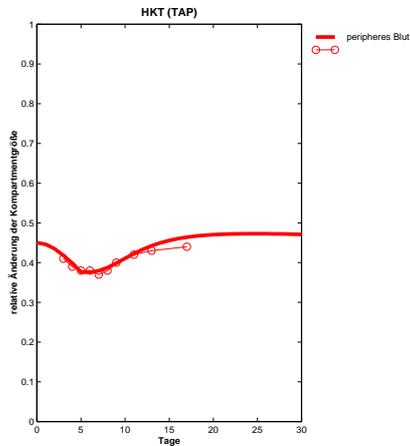
4.4 Thiamphenicol-induzierte Anämie



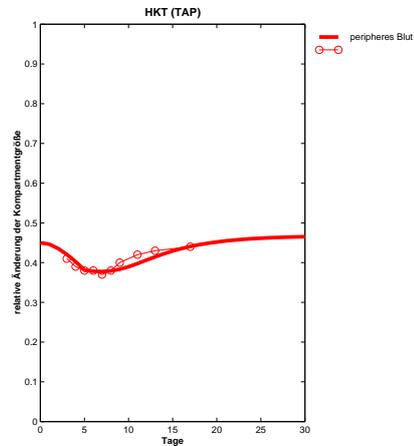
(a) EModell: Szenarium 1



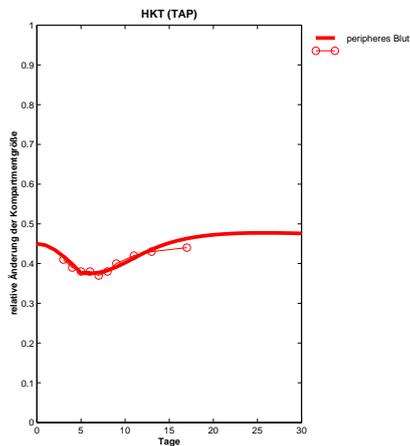
(b) PModell: Szenarium 1



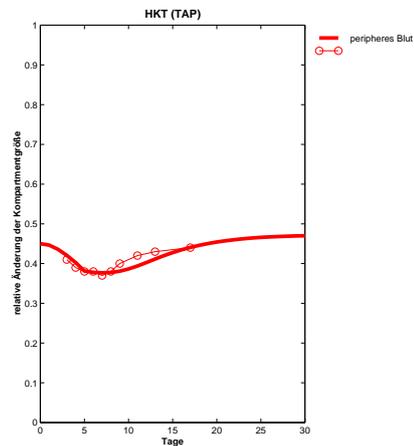
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



(e) EModell: Szenarium 3



(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 4.40: TAP-induzierte Anämie - Der Hämatokrit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

4.4.2.1 Verweis auf die Verlaufskurven weiterer Kenndaten

Um die Modellrechnungen im einzelnen besser nachvollziehbar zu machen, werden die Verlaufskurven der folgenden Kenndaten im Anhang 9.7 auf Seite 258 präsentiert:

- Apoptose-Rate
 - der BFU-E (Abbildung 9.55 auf Seite 259)
 - der CFU-E (Abbildung 9.62 auf Seite 266)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.66 auf Seite 270)
- Amplifikation
 - der BFU-E (Abbildung 9.56 auf Seite 260)
 - der CFU-E (Abbildung 9.63 auf Seite 267)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.67 auf Seite 271)
- Verdopplungszeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.57 auf Seite 261)
 - der CFU-E (Abbildung 9.64 auf Seite 268)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.68 auf Seite 272)
- Transitzeit
 - der BFU-E (Abbildung 9.58 auf Seite 262)
 - der CFU-E (Abbildung 9.65 auf Seite 269)
 - der proliferativen Erythroblasten (Abbildung 9.69 auf Seite 273)
 - der reifenden Erythroblasten (Abbildung 9.70 auf Seite 274)
 - der residualen Retikulozyten (Abbildung 9.71 auf Seite 275)
 - der zirkulierenden Retikulozyten (Abbildung 9.72 auf Seite 276)
- Migration der BFU-E
 - die Migrationsrate (Abbildung 9.59 auf Seite 263)
 - die 'seeding efficiency' (Abbildung 9.60 auf Seite 264)
 - die Verlustrate (Abbildung 9.61 auf Seite 265)

5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Gleichgewichtsbetrachtung und der Betrachtung von Stress-Situationen

Die Tabelle 5.1 gibt eine Übersicht über die qualitative Beurteilung der Ergebnisse der Modellierung der hier betrachteten dynamischen Situationen. Maßstab ist die erreichte Übereinstimmung der Simulationsergebnisse mit den experimentellen Daten. Stress-Situationen können mit dem EModell besser modelliert werden als mit dem PModell. Die ihm zugrunde liegenden Annahmen erweisen sich somit als haltbar.

Tabelle 5.1: Qualitative Beurteilung der Ergebnisse der Modellierung der Dynamiken von Stress-Situationen anhand der erreichten Übereinstimmung mit den experimentellen Daten - EModell vs. PModell

Stress-Situation	EModell		PModell	
	Progenitoren	rote Blutzellen	Progenitoren	rote Blutzellen
einfacher Aderlass	(+)	+	–	(+)
mehrfacher Aderlass	+	+	–	(+)
PHZ-induzierte hämolytische Anämie	+	+	(+)	(+)
TAP-induzierte Anämie				
Szenarium 1	–	+	–	+
Szenarium 2	+	+	+	+
Szenarium 3	+	+	+	+

Welches der beiden Modelle die biologischen Gegebenheiten widerspruchsfreier widerspiegelt kann auch anhand der Einschätzung der den jeweiligen Modellen zugrunde liegenden Annahmen (vgl. Abschnitt 1.3.2.4 auf Seite 39) beantwortet werden.

Wurde bisher angenommen, dass es während der Erythropoese zu keinen Zellverlusten kommt, wird im EModell die Apoptose entsprechend den Erkenntnissen der letzten Jahre als ein regulierendes Element der Erythropoese integriert. Dies erlaubt unter anderem

5 Zusammenfassung der Ergebnisse

die Absenkung der Normalwerte der Amplifikation auf Werte, die den experimentell gemessenen besser entsprechen.

Die veränderte Interpretation der Transitzeiten der proliferativen Kompartimente und die daraus folgende Änderung ihrer modellinternen Repräsentation rücken das EModell näher an die biologischen Konzepte der Gegenwart heran.

Die Integration der Migration (vgl. Abschnitt 2.2.2.2.1 auf Seite 49) im EModell, ist ein weiterer Schritt in diese Richtung.

Insgesamt betrachtet erweitert das EModell das PModell in sinnvoller Weise und stellt einen würdigen und verbesserten Nachfolger dar.

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

In den bisherigen Betrachtungen inklusive der älteren Modell spielte die Apoptose keine Rolle. Dies wird ihrer Bedeutung als einem der regulativen Prinzipien nicht gerecht. In diesem Kapitel wird deshalb, beginnend mit einer Einführung in die Thematik, die Apoptose als regulatives Prinzip dargestellt und im Hinblick auf das EModell untersucht.

6.1 Einführung und Fragestellung

Apoptose ist eine Form des programmierten Zelltods [162]. Die vom programmierten Zelltod betroffenen Zellen sterben auf ein bestimmtes Signal hin, indem sie ein genetisch festgelegtes Selbstzerstörungsprogramm ausführen [88], [209]. Im Unterschied zur Nekrose ist die Apoptose ein aktiver Prozess, bei dem die betroffene Zelle Energie verbraucht und bestimmte Proteine synthetisiert [6], [192]. Ein weiterer Unterschied ist, dass die Zellmembran erhalten bleibt und somit keine Lyse der Zelle stattfindet, die eine entzündliche Reaktion hervorrufen könnte [192]. Morphologisch ist die Apoptose gekennzeichnet durch die nukleare Kondensation (Pyknosis) und Fragmentierung (Karyorrhexis) [88], [209]. Biochemisch lässt sich eine internukleare Zerstörung (cleavage) der DNA feststellen [28], die sich deutlich von dem zufallsgesteuerten DNA-Zerfall der Nekrose unterscheidet [192]. Ein weiteres biochemisches Kennzeichen ist die Hemmung der Zerstörung der DNA durch den Protein-Synthese-Hemmer Cyclohexamid oder durch Mitomycin-C [21]. Apoptotische Zellen werden in vivo sehr schnell von Makrophagen aufgenommen und eliminiert [156]. In der Diskussion zu seinem Beitrag [93] gibt Koury eine Zeitspanne von 15 bis 30 Minuten an (Seite 269).

Der programmierte Zelltod ist in biologischen Systemen die Voraussetzung für einen kontrollierten Wachstumsprozess [173]. Für einen Organismus ist es lebensnotwendig, Wachstum wie Tod der ihn bildenden Zellen kontrollieren zu können. Sollte eine Zelle nicht-prolifrieren oder gar frühzeitig sterben, kann in der Regel eine andere Zelle an ihre Stelle treten und so den Organismus vor dem Untergang bewahren. Wenn aber auch nur eine einzige Zelle unkontrolliert zu proliferieren beginnt, kann das zur Zerstörung

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

des gesamten Organismus führen. Um unkontrolliertem Wachstum vorzubeugen, könnten Apoptose und Proliferation über die gleichen Mechanismen eingeleitet werden [104], [208]. Eine Zelle würde nur dann nicht den programmierten Zelltod vollenden, wenn sie von außen signalisiert bekommt, dass sie noch gebraucht wird und die Zellteilung vollziehen soll. D.h., sollten die Überlebenssignale ausbleiben oder sollte sie diese nicht mehr empfangen können, wird sie sich selbst vernichten. Es muss klar gesagt werden, dass dieses Konzept der biologischen Bedeutung der Apoptose zumindest zur Zeit noch nicht direkt experimentell bewiesen worden ist. Vielmehr beruht es auf dem experimentellen Nachweis der Apoptose und auf Spekulationen über ihre biologische Funktion. Zudem stellt sich die Frage, ob Apoptose nur bei Zellen auftritt, die in der Lage sind zu proliferieren. So finden sich in der Literatur zum Beispiel Hinweise, dass Granulozyten in Kulturen, denen kein oder nur geringe Mengen von Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor (GCSF) zugefügt wurde, der Apoptose unterliegen [14] [27] [82] [84].

Für einige Zellsysteme ist die Rolle der Apoptose gut untersucht. Die Entfernung von autoreaktiven Immunzellen im Thymus erfolgt via Apoptose [170], [59]. Bei der Entwicklung des Nervensystems während der Embryogenese spielt die Apoptose eine zentrale Rolle. Sie sorgt dafür, dass die Nervenzellen, die keine Verbindungen mit anderen Zellen entwickeln, eliminiert werden [132] [113].

Ein besseres Verständnis der Apoptose kann zu neuen Therapiekonzepten in der Onkologie führen [4], [173], [22], [25], [181], [30], [38]. Die Google-Suche nach der Wortkombination 'Apoptosis and Cancer Therapy' führte am 19.01.2010 zu 587.000 Treffern. Unter anderem kann mit Hilfe des oben skizzierten Konzepts der Apoptose die Resistenz von bestimmten Karzinomen gegenüber Chemotherapeutika und Bestrahlung erklärt werden: Chemotherapeutika und Bestrahlung zerstören die von ihnen erreichten Zellen durch die Induzierung von Apoptose. Wenn nun aber die Ursache der ungehemmten Proliferation einer Zelle das Abschalten der Möglichkeit der Apoptose ist, können die zur ihrer Vernichtung eingesetzten Mittel ihre Wirkung nicht mehr entfalten.

Der Nachweis von erythropoetischen Progenitorzellen mit Merkmalen der Apoptose hatte eine Diskussion über die Relevanz der Apoptose für die Regulation der Erythropoese entfacht [92], [121], [122], [130], die an Lebhaftigkeit nichts verloren hat: PubMed listet 2654 Artikel zum Thema Apoptose und onkologische Therapie für die Monate Januar bis Dezember 2010. Auf Grundlage des in den Kapiteln 1.3 auf Seite 26 und 2 auf Seite 45 vorgeschlagenen EModells sollen hier die in [130] entwickelten Thesen zur Rolle der Apoptose bei der durch Erythropoetin stimulierten Erythropoese überprüft werden.

6.2 Erythropoetin und Apoptose

In [121] und [122] werden die Rollen von Erythropoetin, Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor (IGF-I) und Stammzell-Faktor (SCF) bei der Regulation der Erythropoese mit Hilfe von hoch gereinigten ECFC (Human Erythroid Colony Forming Cells) in serum-freien Flüssigkulturen untersucht. Die ECFC sind in etwa den CFU-E vergleichbar. Sie werden durch ein recht aufwendiges Verfahren nach [159], [157] aus Zellen des peripheren Blutes gewonnen.

Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass Erythropoetin allein als Überlebensfaktor wirksam ist und keinen Einfluss auf die Proliferation der untersuchten Zellen hat. Die Zugabe von 20 U Erythropoetin pro ml Flüssigkultur führt zu einer erheblichen Reduktion des DNA-Anteils mit Zeichen der Apoptose (siehe die Tabellen 6.1 auf der nächsten Seite und 6.2 auf Seite 147), aber nicht zu einer erhöhten DNA-Synthese-Rate. Zudem fand sich keine Zunahme der Größe der untersuchten Zellkolonien nach einer 40-stündigen Inkubation mit Erythropoetin. Die Ausreifung der ECFC zu hämoglobinhaltigen Zellen wird hingegen durch Erythropoetinzugabe beschleunigt.

SCF und IGF-I sind ebenfalls in der Lage, Zellen vor dem programmierten Zelltod zu bewahren, jedoch - wenn sie einzeln gegeben werden - in deutlich geringerem Ausmaß als Erythropoetin (siehe Tabelle 6.1 auf der nächsten Seite). Werden beide Faktoren zusammen in die Flüssigkultur gegeben, sinkt der Anteil der DNA mit Anzeichen der Apoptose auf die Werte ab, die auch bei ausschließlicher Gabe von Erythropoetin gefunden werden.

Die Hauptwirkung von SCF ist die Stimulation der Proliferation der ECFC. So nimmt bei Zugabe von SCF sowohl die DNA-Synthese-Rate als auch die Anzahl der aus einer ECFC hervorgehenden Zellen zu. Die Autoren finden unter dieser Voraussetzung zudem einen verzögerten Einbau von Hämoglobin in die Zellen.

IGF-I hat hingegen so gut wie keinen Einfluss auf die DNA-Synthese-Rate oder die Koloniegröße. Wird es der Kultur beigegeben, führt dies im Wesentlichen zu einer beschleunigten Ausreifung der ECFC.

In Kapitel 7 auf Seite 177 werden die in Tabelle 6.1 zusammengefassten experimentellen Ergebnisse aus [121] und [122] im Lichte der hier entwickelten Modellvorstellungen noch einmal aufgegriffen werden.

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

Tabelle 6.1: Die Effekte von rhEPO, SCF und IGF-I auf Tag 7 ECFC-Zellen, wie sie von Muta und Krantz in [121](Exp. Nr. 1 bis 3) und von den beiden zuvor genannten sowie Bondurant und Wickrema in [122] (Exp. Nr. 4) beschrieben wurden.

Exp. Nr.	WF	Inkubation (h)	apop. DNA %	apop. Zellen % bezogen auf die anfangs in die Kultur gegebenen ECFC-Zellen
1	kein WF	16	70 ± 14	48(29 – 64)
	rhEPO 20 U/ml	16	23 ± 10	5(2 – 9)
2	kein WF	16	72 ± 13	
	rhEPO 20 U/ml	16	20 ± 8	
	rSCF 100 ng/ml	16	38 ± 11	
	rIGF-I 1 μ /ml	16	46 ± 12	
	rSCF 100 ng/ml + rIGF-I 1 μ /ml	16	24 ± 5	
3	kein WF	24		42(30 – 58)
	rhEPO 20 U/ml	24		13(9 – 16)
	rSCF 100 ng/ml	24		22(14 – 30)
	rIGF-I 1 μ /ml	24		29(20 – 36)
	rSCF 100 ng/ml + rIGF-I 1 μ /ml	24		
4	kein WF	24 · 4		90
	rhEPO 1 U/ml	24 · 4		19(10 – 50)
	rSCF 100 ng/ml	24 · 4		85
	rIGF-I 1 100 ng/ml	24 · 4		81
	rSCF 100 ng/ml + rIGF-I 1 100 ng/ml	24 · 4		69

Tabelle 6.2: Die Effekte von rhEPO allein und kombiniert mit SCF und IGF-I auf Tag 7 ECFC-Zellen, wie sie von Muta, Krantz, Bondurant und Wickrema in [122] beschrieben wurden.

WF	nicht apop. Zellen % bezogen auf die anfangs in die Kultur gegebenen ECFC-Zellen			
	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4
rhEPO 1 U/ml	95	88	80	75
rhEPO 1 U/ml + rSCF 1 100 ng/ml	150	200	319	572
rhEPO 1 U/ml + rIGF-I 1 100 ng/ml	100	125	125	200
rhEPO 1 U/ml + rSCF 1 100 ng/ml + rIGF-I 1 100 ng/ml	150	275	488	838

6.3 Die wesentlichen modell-relevanten Aspekte der Apoptose und ihre Repräsentation durch das Modell

Ausgehend von den im vorangegangenen Abschnitt dargestellten experimentellen Ergebnissen zur Wirkung des Erythropoetins kann die Theorie aufgestellt werden, dass die erythropoetin-abhängige Apoptose das regulative Element der erythropoetischen Zellproduktion ist [130]. Erythropoetin bewahrt demnach die unreifen erythropoetin-empfindlichen Zellen vor dem Untergang durch Apoptose, und diese durchlaufen aufgrund dessen ihr vollständiges, genetisch determiniertes Differenzierungs- und Teilungsprogramm.

Bei der Konstruktion eines Modells einer allein über Apoptose gesteuerten Erythropoese - ApModell genannt - kann die in Kapitel 1.3 auf Seite 26 gemachte Annahme einer vom Erythropoetin-Spiegel abhängigen Zellzyklusdynamik nicht mehr aufrechterhalten werden. Die stattdessen dem ApModell zugrundeliegenden Annahmen und deren Konsequenzen werden im Folgenden in den Abschnitten 1 bis 10 diskutiert.

1. Der experimentelle Nachweis der Abhängigkeit des Anteils der apoptotischen Zellen von der Erythropoetin-Konzentration *in vitro* lässt vermuten, dass die apoptotischen Zellen zu den CFU-E und den proliferativen Erythroblasten gehören, da diese die erythropoetin-empfindlichsten Zellen sind.
2. Die Amplifikation des erythropoetischen Systems soll allein durch Apoptose bzw.

deren Inhibition kontrolliert werden. Im Modell quantifiziert die Amplifikation die Produktivität der Erythropoese. Sie ist definiert als die durchschnittliche Anzahl von Erythrozyten, welche aus einer einzelnen BFU-E hervorgehen bzw. hervorgegangen sind. Diese kann durch Variation der Anzahl der Zellteilungen, die von den Zellen im Rahmen ihres Differenzierungs- und Teilungsprogramms vollzogen werden, und/oder durch eine Variation der Anzahl der Zellen, die der Apoptose unterliegen, und des Zeitpunktes der Apoptose moduliert werden. Da die biologischen Wachstumsprozesse in dem Modell mittels der allein den Nettoeffekt der Zellgewinn- und Zellverlustprozesse beschreibenden Amplifikation Z repräsentiert werden, bedarf es hier keiner Änderung des in Abschnitt 2.2 auf Seite 45) definierten Modells.

3. Die proliferativen erythropoetischen Zellen, die durch Erythropoetin vor der Apoptose bewahrt wurden, vollziehen ihr Differenzierungs- und Teilungsprogramm ohne jede Änderung. Das heißt: die Anzahl der Zellteilungen, die eine vor der Apoptose bewahrte, proliferative Zelle während ihrer Entwicklung durchmacht, ist unabhängig von dem Erythropoetin-Spiegel und dem Mikroenvironment (siehe auch 5. und 6.).
4. Die Anzahl der apoptotischen Zellen in einem Kompartiment geht bei hohem Erythropoetin-Spiegel gegen Null. Da die Höhe der Amplifikation allein durch Apoptose gesteuert wird, entspricht die Anzahl der Zellteilungen, die jede nicht apoptotische Zelle im Rahmen ihres Differenzierungs- und Teilungsprogramm durchlaufen muss, der aus der maximalen Amplifikation berechneten Anzahl von Zellverdopplungen.
5. Die Anzahl der Zellteilungen, die jede nicht apoptotische Zelle im Rahmen ihres Differenzierungs- und Teilungsprogramm durchlaufen muss, ist in Knochenmark und Milz identisch. Der Unterschied der Maxima der Amplifikationskurven in Knochenmark und Milz ist in einem allein durch Apoptose gesteuerten erythropoetischen System das Resultat einer Modifikation der durch den Erythropoetin-Spiegel vorgegebenen Apoptose-Rate durch die jeweiligen Mikroenvironmente. Die Konsequenz dieser Annahme ist, dass im Knochenmark auch bei maximal stimulierter Erythropoese Apoptose stattfindet.
6. Die Zellzykluszeit gilt in allen betrachteten Situationen als konstant. Diese Annahme geht zurück auf [61] bzw. [130]. Sie wurde hier übernommen, um ein Modell der Erythropoese zu konstruieren und zu testen, das eine ausschließlich durch Apoptose gesteuerte Erythropoese modelliert.
7. Die Transitzeit T_i der proliferativen Zellen ist konstant, weil die Anzahl der Zelltei-

6.3 Die modell-relevanten Aspekte der Apoptose

lungen n_i , die eine vor der Apoptose bewahrte, proliferative Zelle während ihrer Entwicklung durchmacht, und die Zellzykluszeit TC konstant sind. Sie wird aus der Anzahl der Zellteilungen n_i und der Zellzykluszeit entsprechend der Formel:

$$T_i = TC_i \cdot n_i \quad (6.1)$$

berechnet. In einem Modell einer allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese ist somit eine konstante und für Knochenmark und Milz identische Transitzeit der proliferativen Zellen anzunehmen. Dieses kann durch eine direkte Vorgabe der Transitzeit und eine entsprechende Wahl der Transitzeit-Parameter in einfacher Weise bewerkstelligt werden.

8. Die Verdoppelungszeit TD ist variabel und allein von der Apoptose abhängig, vorausgesetzt, dass die proliferative Fraktion 1 beträgt. Sie wird durch das Erythropoetin nicht direkt reguliert sondern berechnet sich aus der Amplifikation und der konstant gehaltenen Transitzeit nach der Formel:

$$TD_i = \frac{T_i}{\log_2 Z_i} \quad (6.2)$$

Es gilt also:

$$\frac{TD_i}{TC_i} = \frac{n_i}{\log_2 Z_i} \quad (6.3)$$

9. Es wird angenommen, dass die durch die Experimente bestimmten Zellanzahlen bzw. Kompartimentgrößen insbesondere der CFU-E und der Erythroblasten allein die Anzahl der nicht apoptotischen Zellen widerspiegeln, d.h. dass dabei höchstens ein systematischer Fehler gemacht wird, der durch die Betrachtung der relativen Kompartimentgrößen wieder herausgerechnet werden kann. Dies stellt eine Vereinfachung dar, die zum einen aus Mangel an in vivo Daten über den Anteil der apoptotischen Zellen an der Gesamtzahl der Zellen eines Kompartiments gemacht wird und zum anderen nicht ganz unberechtigt erscheint, da apoptotische Zellen in vivo innerhalb von 25 bis 60 Minuten von Makrophagen eliminiert werden [156].
10. Im Apoptose-Modell werden keine Annahmen über den Zeitpunkt der Apoptose gemacht. Diese Annahme stellt eine Vereinfachung dar, da allein von dem Anteil der apoptotischen Zellen an einem Kompartiment nicht exakt auf die innerhalb dieses Kompartiments realisierte Amplifikation geschlossen werden kann. Der Zeitpunkt

des Auftretens der Apoptose hat einen erheblichen Einfluss auf die Höhe der Amplifikation. Abbildung 6.1 auf der nächsten Seite illustriert diesen Effekt anhand verschiedener Stammbäume.

6.4 Apoptose-Rate und Amplifikation

Wie aber hängen Apoptose-Rate und Amplifikation zusammen?

Unter der Annahme, dass für alle Zellen in einem Kompartiment K_i , die durch Teilung von Zellen in K_i oder K_{i-1} hervorgegangen sind, die Wahrscheinlichkeit $q = q_i$ der Apoptose gleich ist, lässt sich der Gleichgewichtswert für n Generationen (G) wie folgt beschreiben:

$$\begin{aligned}
 G_1 & \quad \text{frisch in } K_i \text{ übergetreten} \\
 G_2 & = 2 \cdot G_1 \cdot (1 - q) \quad G_1^{apop} = q \cdot G_1 \\
 G_3 & = 2 \cdot G_2 \cdot (1 - q) \quad G_2^{apop} = q \cdot G_2 \\
 G_4 & = 2 \cdot G_3 \cdot (1 - q) \quad G_3^{apop} = q \cdot G_3 \\
 & \quad \vdots \\
 G_n & = 2 \cdot G_{n-1} \cdot (1 - q) \quad G_{n-1}^{apop} = q \cdot G_{n-1}
 \end{aligned} \tag{6.4}$$

Wieviele Zellen gehen nun von K_i nach K_{i+1} pro Zelle, die von K_{i-1} nach K_i übergegangen ist? Aus der obigen Beschreibung des Gleichgewichtswerts für n Generationen (Gleichung 6.4) ergibt sich:

$$\begin{aligned}
 G_n & = (2 \cdot (1 - q)) \cdot G_{n-1} \\
 & \quad \vdots \\
 & = (2 \cdot (1 - q))^{n-1} \cdot G_2 \\
 & = (2 \cdot (1 - q))^n \cdot G_1
 \end{aligned} \tag{6.5}$$

Im Gleichgewicht berechnet sich demnach die Gesamtzahl der Zellen K_i im i -ten Kompartiment gemäß:

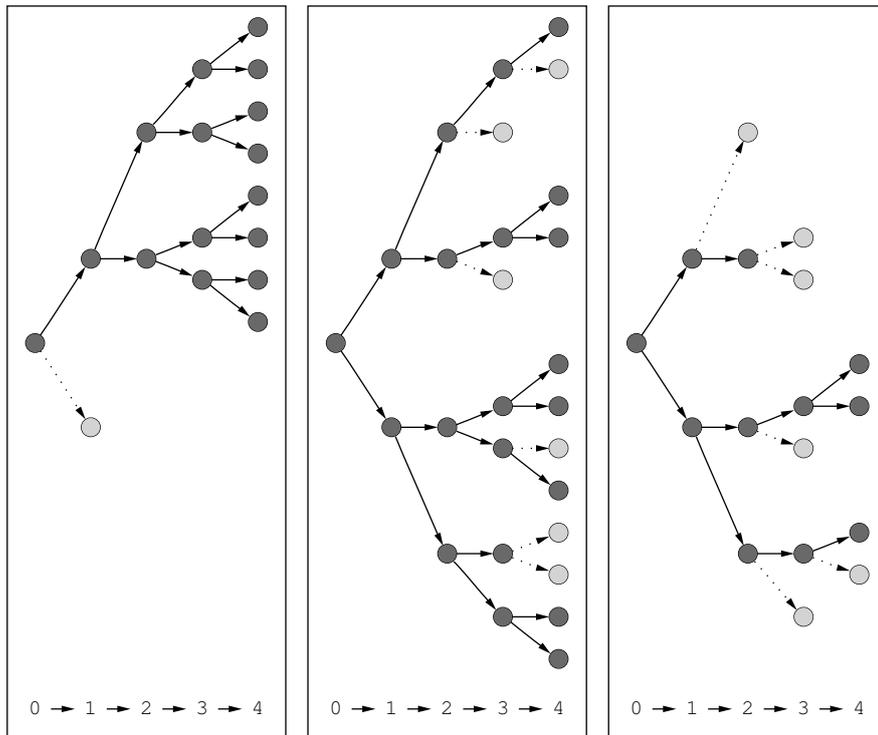


Abbildung 6.1: Allein aus der Apoptose-Rate kann nicht auf die Höhe der Amplifikation geschlossen werden: Der linke Stammbaum enthält 17 Zellen, von denen eine apoptotisch ist, das heißt, der Anteil der apoptotischen Zellen beträgt 5,9% ($1/17$). Da die Apoptose dieser Zelle sehr früh eingetreten ist, wird einer der beiden Hauptäste des Stammbaums gekappt. Infolgedessen beträgt die Amplifikation in diesem Falle die Hälfte der maximal möglichen: 8 statt 16. Beim mittleren Stammbaum findet die Apoptose zu einem späteren Zeitpunkt statt. Der Stammbaum enthält nun insgesamt 27 Zellen, von denen 6 apoptotisch sind. Der Anteil der apoptotischen Zellen beträgt also 22,2% ($6/27$). Die Amplifikation jedoch ist gegenüber dem linken Stammbaum unverändert, auch hier beträgt sie 8. Der rechte Stammbaum illustriert einen anderen Fall: Hier beträgt die Anzahl der Zellen im dargestellten Stammbaum genau wie im linken Stammbaum 17. Der Anteil der apoptotischen Zellen liegt jedoch bei 28,3% ($6/17$) statt bei 5,9% ($1/17$) und die Amplifikation geht im Vergleich zu den beiden anderen Stammbäumen von 8 auf 3 zurück.

$$K_i = \frac{G_1 \cdot ((2 - 2q)^{n+1} - 1)}{(2 - 2q) - 1} \quad (6.6)$$

und die Amplifikation Z gemäß:

$$Z = (2 \cdot (1 - q))^n \quad (6.7)$$

Die Apoptose-Rate q lässt sich also auch umgekehrt mittels Z berechnen:

$$q = \frac{(2 - Z^{1/n})}{2} \quad (6.8)$$

So beträgt, um die obigen Formeln durch ein Beispiel zu illustrieren, unter den Voraussetzungen, dass

- das System im Gleichgewicht ist,
- immer nur eine Zelle in das Kompartiment K_i einströmt ($G_1 = 1$),
- die Anzahl der Generationen gleich 4 ist ($n = 4$),
- sich keine der Zellen in G_0 befindet ($a = 1$) und
- keine Apoptose stattfindet ($q = 0$),

die Anzahl der Zellen im Kompartiment 31 und die Amplifikation 16 (vgl. Abbildung 6.2 auf der nächsten Seite). Bei einer angenommenen Zellzykluszeit von 7 h bräuchten die Zellen zum Durchlaufen des Kompartiments 28 h.

6.5 Apoptose-Rate und Stammbäume

Nicht alle in ein Kompartiment einströmenden Zellen durchlaufen Stammbäume von identischer Form. Nehmen wir entsprechend den Ausführungen im vorangegangenen Abschnitt an, dass jede in einem gegebenen Kompartiment $K = K_i$ sich befindende Zelle mit der Wahrscheinlichkeit $q = q_i$ abstirbt und sich mit der Wahrscheinlichkeit $r = 1 - q$ in zwei neue Zellen teilt. Nehmen wir des Weiteren an, dass alle neu in das Kompartiment K eintretenden Zellen dieses, falls sie oder ihre Nachkommen nicht absterben, nach genau 4 Zellteilungen (bzw. Generationen) verlassen. Offensichtlich produziert dann jede solche Zelle mit der Wahrscheinlichkeit

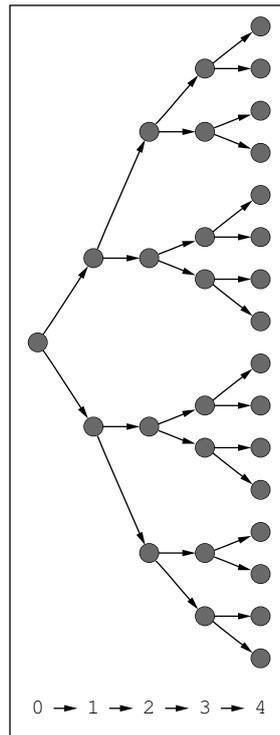


Abbildung 6.2: Der Kompartiment-Stammbaum unter der Bedingung (neben anderen s. Text), dass die Apoptose-Rate 0 beträgt.

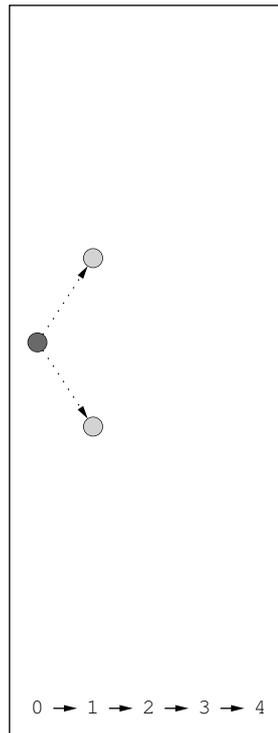


Abbildung 6.3: Ein aus der Ursprungszelle und zwei als apoptotisch angenommen Tochterzellen bestehender Kompartiment-Stammbaum.

$$r \cdot r^2 \cdot r^4 \cdot r^8 \cdot r^{16} \quad (6.9)$$

einen Stammbaum im Kompartiment K , in welchem es zu keinem Zeitpunkt zu einer Apoptose kommt (Abbildung 6.2 auf Seite 153). Ein hingegen nur aus der Ursprungszelle und deren zwei als apoptotisch angenommenen Tochterzellen bestehender Stammbaum (Abbildung 6.3 auf der vorherigen Seite) tritt mit der Wahrscheinlichkeit

$$r \cdot q^2 \quad (6.10)$$

auf. Die Amplifikation eines solchen Stammbaums beträgt natürlich 0. Entsprechend lässt sich jedem denkbaren Stammbaum eine nur von r und q , also wegen $r = 1 - q$, letztlich nur von q abhängige Auftrittswahrscheinlichkeit zuordnen; q legt also nicht etwa einen für ein Kompartiment mit der Apoptose-Rate q spezifischen Stammbaum fest, sondern definiert eine kompartiment-spezifische Wahrscheinlichkeitsverteilung auf der Menge aller möglichen Stammbäume. Bei der Berechnung der Auftrittswahrscheinlichkeit eines Stammbaums ist zudem noch zu beachten, dass jede der beiden Tochterzellen einer sich teilenden Zelle als unabhängig von der anderen anzusehen ist. So ist die Wahrscheinlichkeit, dass aus einer sich teilenden Zelle genau eine apoptotische und eine nicht-apoptotische Zelle hervorgeht nicht gleich $r \cdot q$, sondern gleich

$$2 \cdot r \cdot q \quad (= 1 - r^2 - q^2). \quad (6.11)$$

6.6 Das Modell einer allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese (ApModell)

Um das Modell der allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese (ApModell) sinnvoll mit dem in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Modell (dem EModell) zu vergleichen, sollten dessen Parameter so gewählt werden, dass sie - soweit möglich - denen des EModells entsprechen. Die Parameter der nicht-proliferativen Kompartimente wurden unverändert übernommen. Von den Parametern der proliferativen Kompartimente CFU-E und PEB konnten aufgrund der in Abschnitt 6.3 auf Seite 147 beschriebenen Annahmen, denen ein ApModell Rechnung tragen muss, nur die Parameter für Z^{nor} und TD^{min} unverändert übernommen werden.

6.6.1 Die Parameter des ApModells

Tabelle 6.3 zeigt die Parameter des Kompartiments CFU-E des ApModells im Vergleich zu denen des EModells.

Die Parameter des Kompartiments PEB des ApModells werden im Vergleich zu denen des EModells in Tabelle 6.4 auf der nächsten Seite präsentiert.

Die Anzahlen n_i^{nor} und n_i^{max} der "realen" Zellteilungen sind dabei wie folgt bestimmt worden: für das EModell wird hier angenommen, dass keine Apoptose stattfindet, was zu dem Ansatz $n_i = \log_2 Z_i$ führt; für das ApModell wurde angenommen, dass diese Anzahl vom EPO-Spiegel und vom Mikroenvironment unabhängig ist, und dementsprechend der Ansatz

$$n_i = \max(\log_2 Z_{i_{KM}}^{nor}, \log_2 Z_{i_{Milz}}^{nor}, \log_2 Z_{i_{KM}}^{max}, \log_2 Z_{i_{Milz}}^{max}) \quad (6.12)$$

gewählt.

Tabelle 6.3: Vergleich der CFU-E Parameter des Modells der allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese mit denen des "normalen" Erythropoese-Modells

Modell-Parameter	Modell Symbol $i = \text{CFU-E}$	Knochenmark		Milz	
		ApModell	EModell	ApModell	EModell
Transitzeit der CFU-E					
nor. Bedingungen	T_i^{nor}, T_i^{nor}	67,3	33,0	67,3	44,0
max. Stimulation	T_i^{min}, T_i^{min}	67,3	38,2	67,3	63,0
Verdoppelungszeit der CFU-E					
nor. Bedingungen	TD_i^{nor}, TD_i^{nor}	22,4	11,0	16,8	11,0
max. Stimulation	TD_i^{min}, TD_i^{min}	11,9	7,0	7,0	7,0
Apoptose-Rate der CFU-E					
nor. Bedingungen	q_i^{nor}, q_i^{nor}	0,38	0,0	0,33	0,00
max. Stimulation	q_i^{max}, q_i^{max}	0,25	0,0	0,00	0,00
Amplifikation der CFU-E					
nor. Bedingungen	Z_i^{nor}, Z_i^{nor}	8,0	8,0	16,0	16,0
max. Stimulation	Z_i^{max}, Z_i^{max}	50,0	44,0	510,0	780,0
Anzahl der realen Zellteilungen der CFU-E					
nor. Bedingungen	n_i^{nor}, n_i^{nor}	9,0	3,0	9,0	4,0
max. Stimulation	n_i^{max}, n_i^{max}	9,0	5,5	9,0	9,6

Tabelle 6.4: Vergleich der PEB Parameter des Modells der allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese mit denen des "normalen" Erythropoese-Modells

Modell-Parameter	Modell Symbol $i = \text{PEB}$	Knochenmark		Milz	
		ApModell	EModell	ApModell	EModell
Transitzeit der PEB					
nor. Bedingungen	T_i^{nor}, T_i^{nor}	28,0	44,0	28,0	44,0
max. Stimulation	T_i^{min}, T_i^{min}	28,0	29,5	28,0	21,8
Verdoppelungszeit der PEB					
nor. Bedingungen	TD_i^{nor}, TD_i^{nor}	7,0	11,0	7,0	11,0
max. Stimulation	TD_i^{min}, TD_i^{min}	7,8	7,0	22,0	7,0
Apoptose-Rate der PEB					
nor. Bedingungen	q_i^{nor}, q_i^{nor}	0,0	0,0	0,0	0,0
max. Stimulation	q_i^{max}, q_i^{max}	0,1	0,0	0,4	0,0
Amplifikation der PEB					
nor. Bedingungen	Z_i^{nor}, Z_i^{nor}	16,0	16,0	16,0	16,0
max. Stimulation	Z_i^{max}, Z_i^{max}	12,0	18,5	2,4	8,7
Anzahl der realen Zellteilungen der PEB					
nor. Bedingungen	n_i^{nor}, n_i^{nor}	4,0	4,0	4,0	4,0
max. Stimulation	n_i^{max}, n_i^{max}	4,0	4,2	4,0	3,1

6.6.2 Die Modellrechnungen

Die Modellrechnungen für das ApModell wurden analog zu denen des EModells durchgeführt (s. Kapitel 2 auf Seite 45).

6.6.2.1 Die Ergebnisse der Modellrechnungen des ApModells

In diesem Kapitel werden die Dosis-Wirkungs-Beziehungen des ApModells beschrieben und mit denen des EModells verglichen.

6.6.2.1.1 Die Dosis-Wirkungs-Beziehungen des ApModells Die folgenden Abbildungen zeigen die Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation (Abbildung 6.4), der Verdoppelungszeit (Abbildung 6.5 auf der nächsten Seite), der Gesamttransitzeit (Abbildung 6.6 auf Seite 161) und der Apoptose-Rate (Abbildung 6.7 auf Seite 162) getrennt für die CFU-E und die proliferativen Erythroblasten des ApModells.

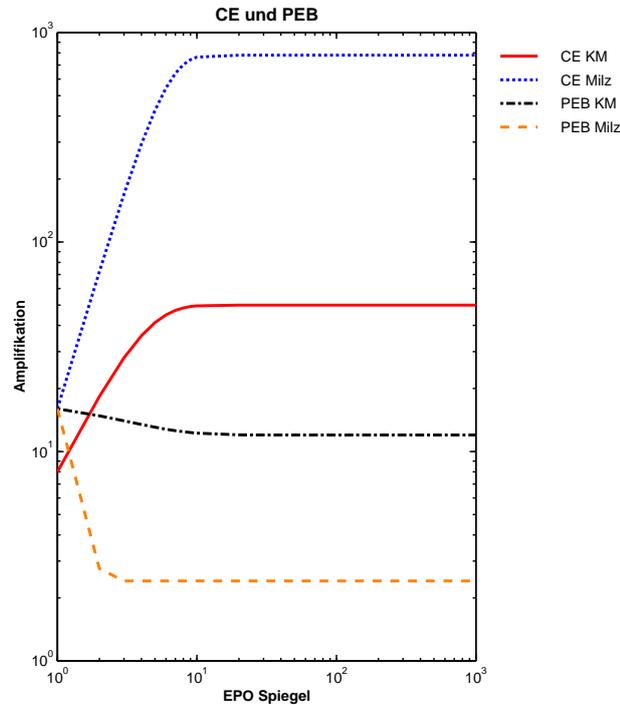


Abbildung 6.4: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz für das ApModells

Amplifikation Abbildung 6.4 zeigt, dass auch im ApModell die Mikroenvironments des Knochenmarks und der Milz durch unterschiedliche Dosis-Wirkungs-Kurven charakterisiert sind. Wie beim EModell demonstrieren sie, dass das effektive regulatorische Fenster, in welchem Veränderungen der Amplifikation möglich sind, in beiden Mikroenvironments auf einen Erythropoetin-Spiegel im Bereich von dem 1- bis 10-fachen der Norm beschränkt ist, und dass sich die Maxima erheblich unterscheiden. Die maximale Amplifikation ist im Knochenmark um den Faktor 4,7 (6,25 in den CFU-E mal 0,75 in den PEB) erhöht, und der korrespondierende Faktor der Amplifikation in der Milz beträgt 4,8 (31,88 in den CFU-E mal 0,15 in den PEB) im Vergleich zum Kontrollwert. Die entsprechenden Werte des EModells liegen in Knochenmark und Milz höher (s. Kapitel 2.4 auf Seite 75): Im Knochenmark ist der Wert des EModells um den Faktor 1,4 ($\frac{6,4}{4,7}$) und in der Milz um

den Faktor $5,5 \left(\frac{26,5}{4,8}\right)$ größer. Ein Abfall der Amplifikation in den PEB-Kompartimenten der Milz und des Knochenmarks muss auch beim ApModell angenommen werden. Es ist sonst keine akzeptable Übereinstimmung dieses Modells mit den experimentellen Daten zu erzielen. Die biologischen Implikationen, die sich - so viel sei hier schon gesagt - deutlich von denen des EModells unterscheiden, werden weiter unten in Abschnitt 6.8 auf Seite 173 diskutiert.

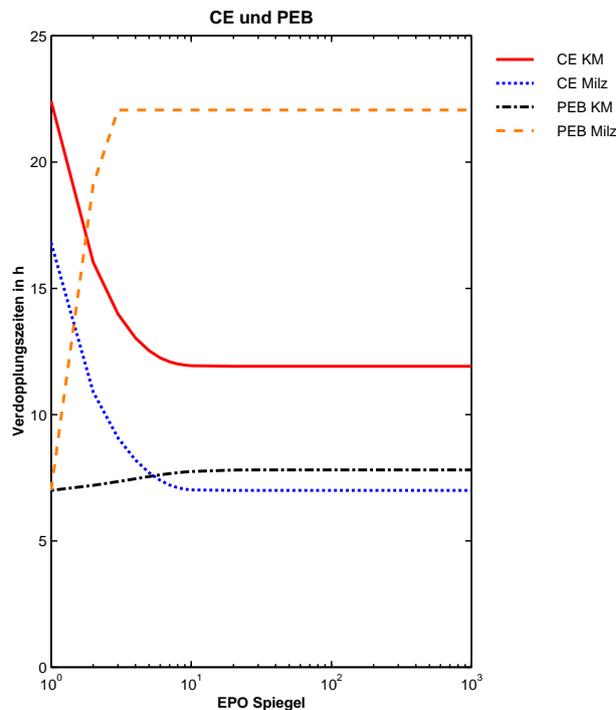


Abbildung 6.5: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Verdopplungszeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des ApModells

Verdopplungszeiten Abbildung 6.5 zeigt die Verdopplungszeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten in Knochenmark und Milz. (Auf die Darstellung der Reifungszeit der nicht-proliferativen Erythroblasten (MEB) wurde verzichtet, da diese der bereits in Abbildung 3.4 auf Seite 85 für das EModell gezeigten entspricht.) Waren im EModell die Verdopplungszeiten selbst vom Erythropoetin-Spiegel abhängig, so errechnen sie sich im ApModell aus der konstanten Transitzeit von 67,11 h für die CFU-E und 28 h für die PEB und der Amplifikation (Gleichung: (2.47) auf Seite 67). Dies zeigt sich u.a. daran, dass die Kurven keinen einheitlichen Verlauf mehr zeigen. Allein die CFU-E in der Milz erreichen bei maximaler Stimulation eine Verdoppelungszeit, die der angenommenen Zellzykluszeit von 7 h entspricht. Die minimalen Verdopplungszeiten der CFU-E und

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

PEB im Knochenmark liegen mit 11,53 h bzw. 7,92 h darüber. Das extremste "Verhalten" zeigen die PEB der Milz. Deren Verdoppelungszeit entspricht bei normalen Bedingungen der Zellzykluszeit von 7 h und beträgt bei maximaler Stimulation 22,02 h.

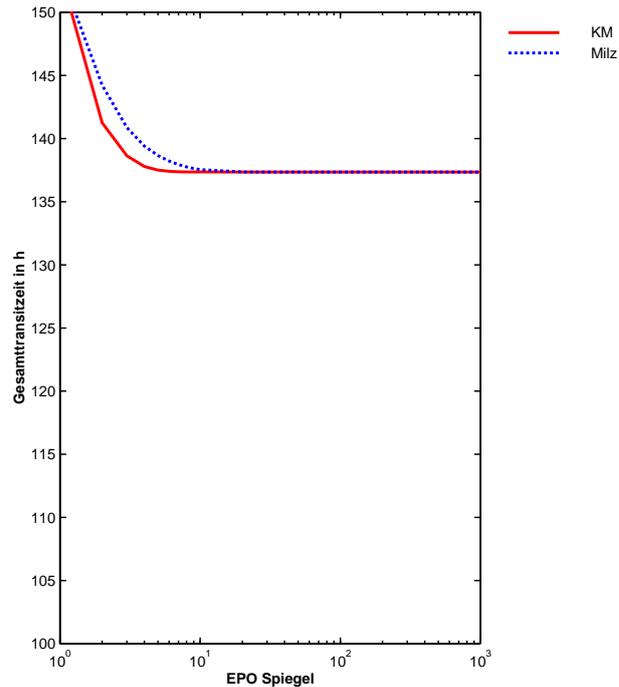


Abbildung 6.6: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Gesamttransitzeit in KM und Milz des ApModells

Transitzeit Abbildung 6.6 zeigt die Gesamttransitzeit der CFU-E, PEB und MEB in Knochenmark und Milz. Anders als beim EModell beruht die Verkürzung der Gesamttransitzeit allein auf der verkürzten Reifungszeit der nicht proliferierenden Erythroblasten, da die Transitzeit der proliferativen Zellen als konstant angenommen wird. Im ApModell existiert kein Unterschied der Transitzeiten von Knochenmark und Milz.

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

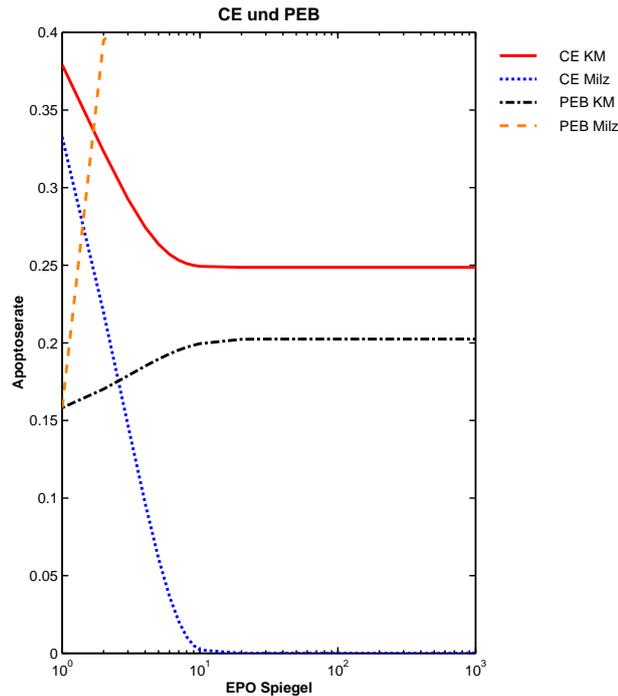


Abbildung 6.7: Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Apoptose-Raten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des ApModells

Apoptose-Rate Abbildung 6.7 zeigt die Apoptose-Rate der CFU-E und PEB für Knochenmark und Milz. Interessant ist, dass auch hier das regulatorische Fenster im Bereich von dem 1- bis 10-fachen des normalen modell-internen Erythropoetin-Spiegels liegt.

6.6.2.2 Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das gesamte erythropoetische System

Die Abbildungen 6.8 auf der nächsten Seite und 6.9 auf Seite 164 zeigen die Auswirkungen der in den Abbildungen 6.4 auf Seite 158, 6.5 auf Seite 159, und 6.6 auf der vorherigen Seite gezeigten Kurven auf den proliferierenden Teil des erythropoetischen Systems (beginnend mit den BFU-E und endend mit den residualen Retikulozyten) in der normalen und der maximal stimulierten Situation. Wie in den entsprechenden Abbildungen für das EModell (3.5 auf Seite 86 und 3.6 auf Seite 87) beschreibt die X-Achse die Lokalisation der Zellstufen in der erythropoetischen Entwicklungslinie in Bezug auf die Zeit, die nach dem Eintritt der Zellen in das BFU-E-Kompartiment verstrichen ist, und die Y-Achse die Zelldichte in logarithmischer Auftragung. Es werden zwei Situationen miteinander verglichen: die nicht stimulierte, normale Erythropoese (durchgezogene Linie) und die

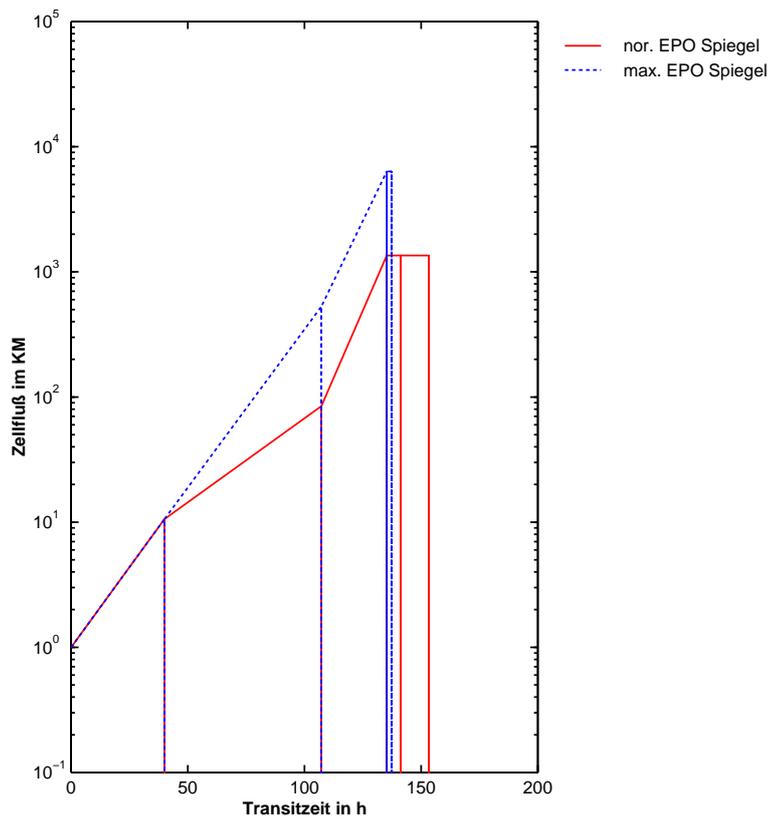


Abbildung 6.8: Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark
Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

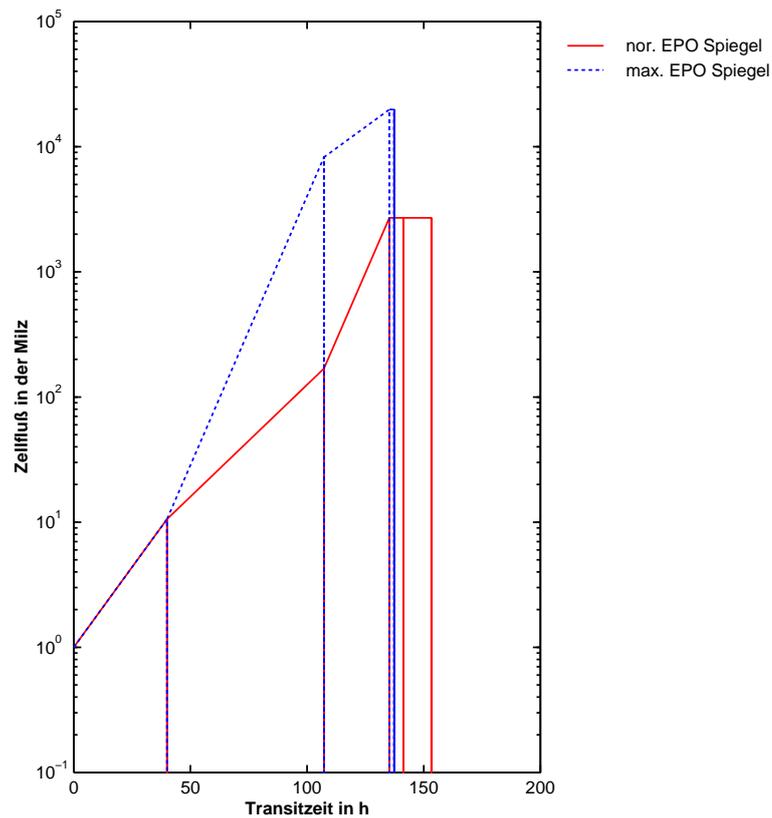


Abbildung 6.9: Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz
Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

maximal stimulierte Erythropoese (unterbrochene Linie). Abbildung 6.8 auf Seite 163 illustriert diese beiden Situationen für das Knochenmark und Abbildung 6.9 auf der vorherigen Seite für die Milz. Wie in den bereits erwähnten Abbildungen für das EModell repräsentieren die vertikalen Linien die Grenzen zwischen BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts). Im Unterschied zu den EModell-Abbildungen verschieben sich die Grenzlinien CFU-E/PEB und PEB/MEB nicht, da für die beiden Kompartimente CFU-E und PEB konstante Transitzeiten angenommen wurden. Die Verschiebung der Grenzlinie MEB/RETR und das "Verschwinden" der Grenzlinie RETR/RETC finden sich genauso in den EModell-Abbildungen, weil den beiden Modellen identische Annahmen über die MEB- und RETR-Kompartimente zugrunde liegen. In den EModell-Abbildungen war die Steigung der Diagonalen in den CFU-E und den PEB für die jeweils betrachtete Situation identisch. In den ApModell-Abbildungen ist dieses hingegen nicht der Fall. Verantwortlich dafür sind die Verdopplungszeiten: Im EModell waren diese im CFU-E- und PEB-Kompartiment identisch (11 h unter normalen Bedingungen und 7 h bei maximaler Stimulation) mit der Folge, dass pro Zeiteinheit das gleiche relative Wachstum realisiert wird. Im ApModell unterscheiden sich die Verdopplungszeiten der CFU-E und PEB, mit der Folge, dass pro Zeiteinheit nicht das gleiche relative Wachstum realisiert wird. Im Knochenmark beträgt die Verdoppelungszeit der CFU-E in der normalen Situation 25,2 h und die der PEB 7 h. Zwar fällt bei maximaler Stimulation der Unterschied der Verdopplungszeiten der CFU-E und PEB im Knochenmark in Abbildung 6.8 auf Seite 163 wegen der logarithmischen Auftragung nicht mehr deutlich auf, wenn er auch existiert: die Verdoppelungszeit der CFU-E beträgt 11,6 h und die der PEB beträgt 9,3 h. In der Milz dagegen besteht in beiden Situationen ein deutlicher Unterschied zwischen den Verdopplungszeiten der beiden Kompartimente, der sich auch augenfällig in Abbildung 6.9 auf der vorherigen Seite zeigt. Unter normalen Bedingungen beträgt die Verdoppelungszeit der CFU-E 18,9 h und die der PEB 7 h. Bei maximaler Stimulation wird die Verdoppelungszeit der CFU-E auf 7 h reduziert und die der PEB auf 22 h erhöht. Ebenfalls aufgrund der logarithmischen Auftragung der Zelldichte ist beim Vergleich der Abbildungen 6.8 auf Seite 163 und 6.9 auf der vorherigen Seite mit den Abbildungen 3.5 auf Seite 86 und 3.6 auf Seite 87 die unterschiedlich hohe maximale Amplifikation der beiden Modelle, die insgesamt innerhalb der CFU-E- und PEB-Kompartimente realisiert wird ($Z_{CFU-E} \cdot Z_{PEB}$), erst bei genauerem Hinsehen erkennbar (KM: $EModel = 814$ & $ApModell = 600$; Milz: $EModel = 6786$ & $ApModell = 1224$).

6.6.3 Der Effekt der Apoptose auf die Amplifikation im ApModell

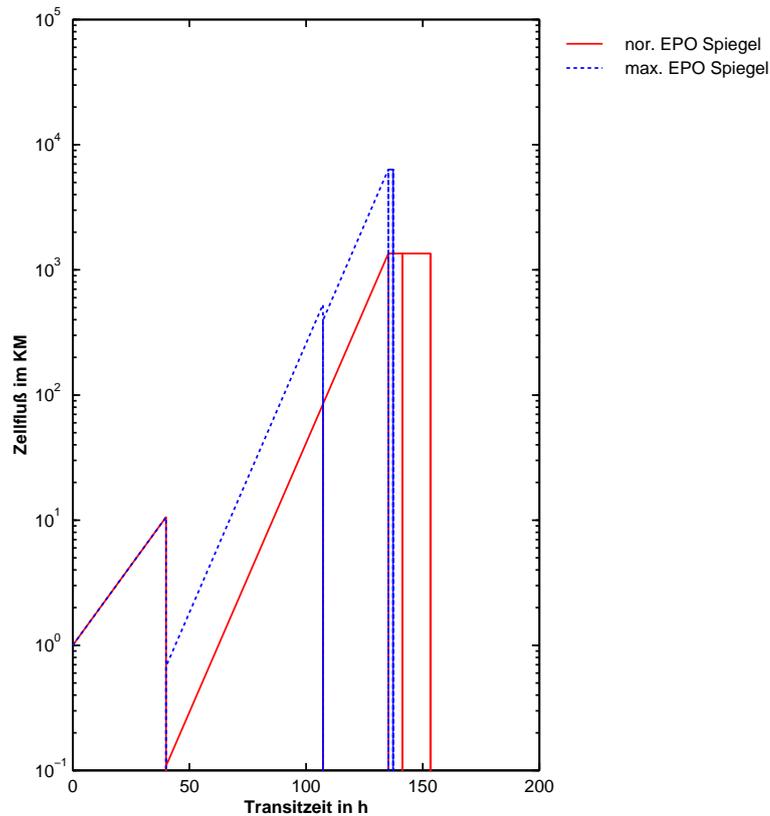


Abbildung 6.10: Diese Abbildung zeigt die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark, wobei angenommen wird, dass Apoptose nur beim Übertritt der Zellen von einem Kompartiment in das nachfolgende stattfindet und die apoptotischen Zellen sofort vernichtet werden. Bei dieser Art der Darstellung treten die Effekte der Apoptose auf die proliferativen Kompartimente deutlicher hervor.

Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

Die Abbildungen 6.10 und 6.11 auf der nächsten Seite zeigen den Effekt der Apoptose auf die Amplifikation im ApModell unter der Annahme, dass die Apoptose nur beim Übertritt der Zellen von einem Kompartiment in das nachfolgende stattfindet und die apoptotischen Zellen sofort vernichtet werden. Das bedeutet, dass es nur noch zwei Typen von Stammbäumen gibt: einen, in welchem nicht eine Einzige der Tochterzellen apoptotisch wird, und einen, der einfach keine Tochterzelle aufweist.

Wie in den zuvor gezeigten und besprochenen ApModell- und EModell-Abbildungen beschreibt die X-Achse die Lokalisation der Zellstufen in der erythropoetischen Entwicklungs-

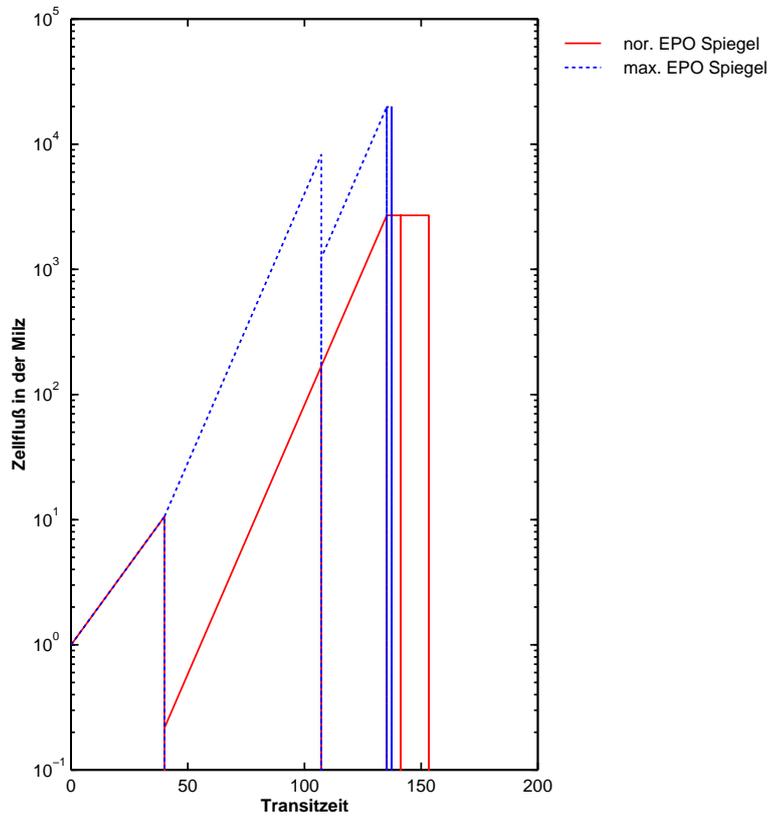


Abbildung 6.11: Diese Abbildung zeigt die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz, wobei angenommen wird, dass Apoptose nur beim Übertritt der Zellen von einem Kompartiment in das nachfolgende stattfindet und die apoptotischen Zellen sofort vernichtet werden. Bei dieser Art der Darstellung treten die Effekte der Apoptose auf die proliferativen Kompartimente deutlicher hervor.

Die vertikalen Linien repräsentieren die Grenzen zwischen den BFU-E / CFU-E, CFU-E / PEB, PEB / MEB, MEB / RETR (von links nach rechts).

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

linie in Bezug auf die Zeit, die nach dem Eintritt der Zellen in das BFU-E-Kompartiment verstrichen ist, und die Y-Achse die Zelldichte in logarithmischer Auftragung. Die Skalierung der Y-Achse der Abbildungen 6.10 auf Seite 166 und 6.11 auf der vorherigen Seite (0,1 bis 100 000) unterscheidet sich aber erheblich von der in den vorhergehenden ApModell- und EModell-Abbildungen (0,1 bis 100), was aufgrund der logarithmischen Skalierung einen erheblichen Einfluss auf die Darstellung hat.

Der Anteil ($ea = ea_i$) der in ein Kompartiment (K_i) einströmenden Zellen, der - unter der oben genannten Voraussetzung bei maximaler Stimulation - *nicht* durch Apoptose verloren geht, kann mit der Formel:

$$ea_i = \frac{Z_i}{2^{\max(n_{i_{KM}}, n_{i_{Milz}})}} \quad (6.13)$$

berechnet werden. (Zur Erinnerung: Das Konzept der allein durch Apoptose gesteuerten Erythropoese basiert u.a. auch auf der Annahme, dass die nicht apoptotischen Zellen ein unveränderliches Teilungs- und Differenzierungsprogramm durchlaufen, was bedeutet, dass dieses auch unabhängig vom Mikroenvironment ist.) Der Einstrom ($K_{i_{ein}}$), der unter den genannten Annahmen realisiert wird, berechnet sich dann entsprechend der Formel:

$$K_{i_{ein}} = K_{i-1}^{aus}(1 - ea_i). \quad (6.14)$$

Zwei verschiedene Szenarien werden in jeder der beiden Abbildungen 6.10 auf Seite 166 und 6.11 auf der vorherigen Seite einander gegenübergestellt. Beiden Szenarien liegen die Parameter des ApModells zugrunde.

- Szenarium Nummer 1 (durchgezogene Linie) entspricht dem ApModell bei normaler Stimulation.
- Szenarium Nummer 2 (unterbrochene Linie) entspricht dem ApModell bei maximaler Stimulation.

In Abbildung 6.10 auf Seite 166 wird deutlich, dass im Knochenmark eine erhebliche Reduktion der Anzahl der in das CFU-E-Kompartiment einströmenden Zellen bei normaler und maximaler Stimulation stattfindet. Der Anteil der Zellen, die nicht der Apoptose unterliegen, beträgt bei maximalem EPO-Spiegel knapp 10% (bei normalem EPO-Spiegel liegt der Anteil bei ca. 1,5%), oder in anderen Worten: 90 bzw. 98% aller im BFU-E-Kompartiment zuvor produzierten Zellen werden nach ihrem Übertritt in das CFU-E-Kompartiment vernichtet. Alle vom CFU-E-Kompartiment in das PEB-Kompartiment übergehenden Zellen können bei normaler Stimulation ihr Teilungs- und

6.7 Ein Vergleich des ApModells mit dem EModell

Differenzierungsprogramm durchlaufen. Bei maximaler Stimulation jedoch werden 25 % aller zuvor im CFU-E-Kompartiment produzierten Zellen wieder eliminiert.

In Abbildung 6.11 auf Seite 167 ist gut zu erkennen, dass die lienalen CFU-E bei maximalem EPO-Spiegel das maximal mögliche Amplifikationspotential ausschöpfen und somit keine der aus dem BFU-E-Kompartiment in das CFU-E-Kompartiment wechselnden Zellen der Apoptose unterliegen. Bei normalem EPO-Spiegel beträgt der Anteil der durch Apoptose verloren gehenden Zellen knapp 97 %. Das gegenteilige Verhalten weist das PEB-Kompartiment auf: bei normaler Stimulation findet keine Apoptose statt; bei maximaler Stimulation werden 85 % der zuvor im CFU-E-Kompartiment produzierten Zellen wieder vernichtet. (In der Abbildung wird dieses wegen der logarithmischen Auftragung nicht in seinem ganzen Ausmaß deutlich.)

6.7 Ein Vergleich des ApModells mit dem EModell

Die Abbildungen 6.12 auf dieser Seite bis 6.17 auf Seite 172 vergleichen die Ergebnisse der Modellberechnungen des ApModells mit denen des EModells. Analog zu den Abbildungen 3.7 auf Seite 88 bis 3.11 auf Seite 91 werden die relativen Änderungen der Zellzahlen in Knochenmark, Milz und peripherem Blut dargestellt.

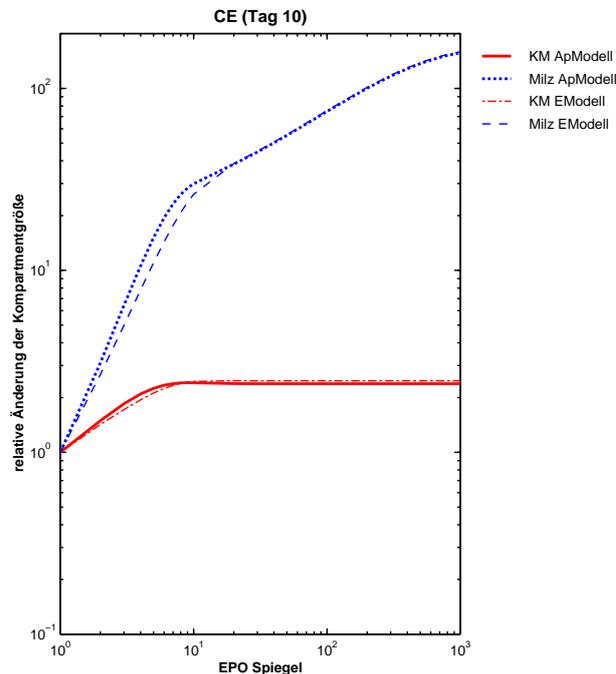


Abbildung 6.12: ApModell: CFU-E

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

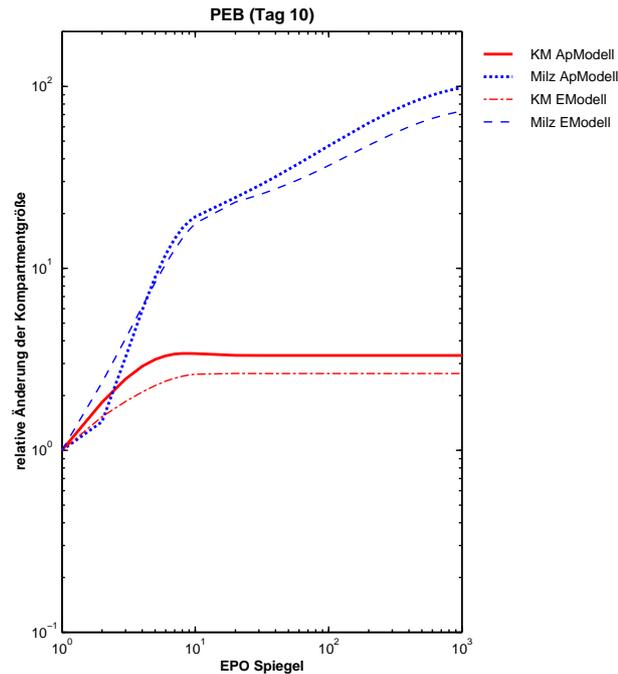


Abbildung 6.13: ApModell: proliferative Erythroblasten (PEB)

Abbildung 6.12 auf der vorherigen Seite stellt die relative Änderung der CFU-E und Abbildung 6.13 die relative Änderung der proliferativen Erythroblasten dar. Die Abbildungen zeigen, dass die beiden Modelle weitgehend übereinstimmende Ergebnisse liefern.

Abbildung 6.14 auf der nächsten Seite demonstriert die relative Änderung der reifenden Erythroblasten und Abbildung 6.15 auf der nächsten Seite stellt die relative Änderung der Erythroblasten dar. Wenn sich auch beim Vergleich der reifenden Erythroblasten erste Unterschiede finden, so liefern beide Modelle weitgehend übereinstimmende Ergebnisse für die Erythroblasten in ihrer Gesamtheit.

Abbildung 6.16 auf Seite 172 zeigt die relative Änderung der RETC und der ERY. Aus der Abbildung ergibt sich, dass die RETC-Werte, wie auch die ERY-Werte des ApModells generell unterhalb der des EModells liegen, wenn Stimulation stattfindet.

In Abbildung 6.17 auf Seite 172, welche die Änderung des Hämatokrits darstellt, zeigt sich das gleiche Phänomen. Auch hier liegen die HKT-Werte des ApModells nach 10 tägiger, konstanter Stimulation für jeden betrachteten EPO-Spiegel unterhalb der Werte des EModells.

6.7 Ein Vergleich des ApModells mit dem EModell

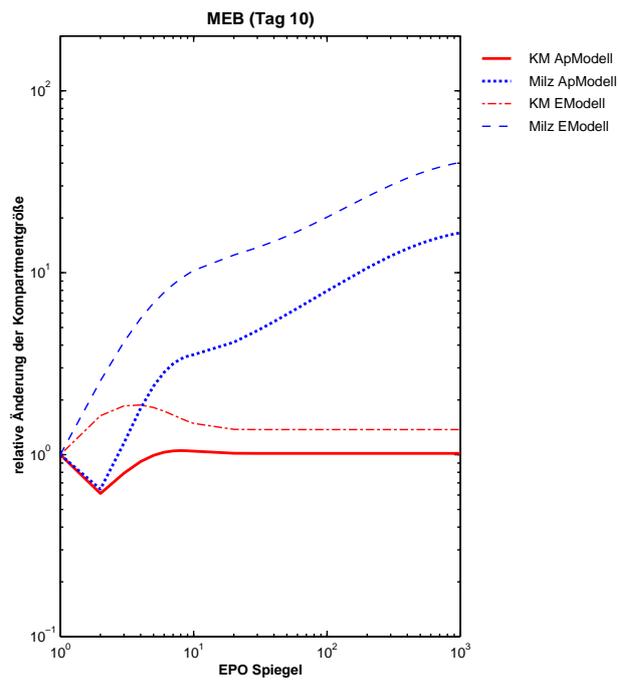


Abbildung 6.14: ApModell: reife Erythroblasten (MEB)

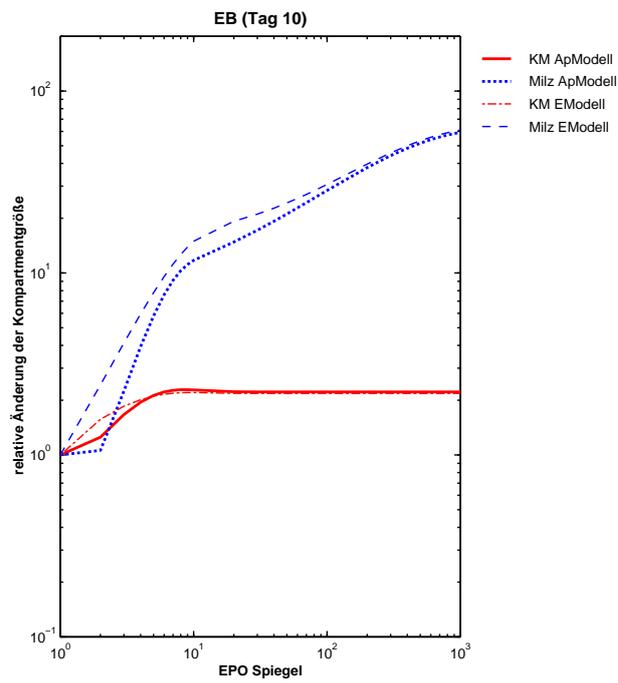


Abbildung 6.15: ApModell: Erythroblasten (EB)

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

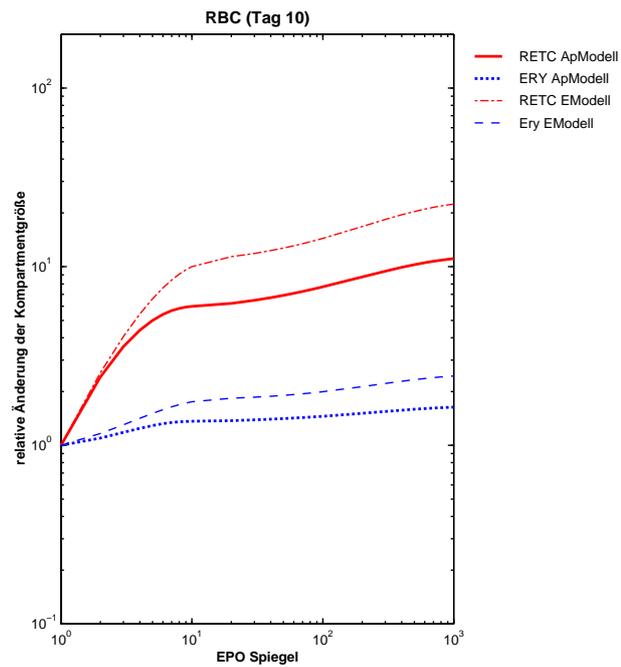


Abbildung 6.16: ApModell: rote Blutzellen (RETC und ERY)

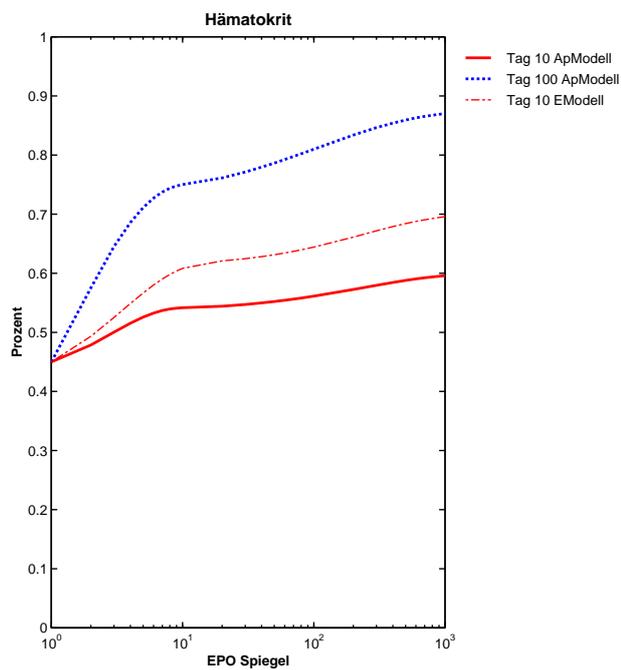


Abbildung 6.17: ApModell: Hämatokrit (HKT)

6.8 Diskussion der Ergebnisse des Vergleichs des EModells mit dem ApModell

Der Parametersatz des ApModells unterscheidet sich deutlich von dem des EModells. Trotzdem weisen beide Modelle eine vergleichbar gute Übereinstimmung mit den experimentellen CFU-E, PEB und EB Werten auf. Insofern wäre gegen das ApModell kein Einwand zu erheben. Betrachtet man aber den Parametersatz des ApModells genauer, so fallen einige Besonderheiten auf:

- Die Apoptose-Rate der CFU-E im Knochenmark fällt nicht auf 0 ab, wie in der Milz, d.h. Apoptose findet im CFU-E Kompartiment des Knochenmarks auch bei maximaler EPO-Stimulation statt.
- Die Amplifikation der proliferativen Erythroblasten der Milz geht von 16 auf 2,4 zurück. Daraus ergibt sich (vgl. Tabelle 6.4 auf Seite 157), dass die Apoptose-Rate im PEB Kompartiment der Milz mit zunehmender EPO-Stimulation von 0.0 auf 0.4 ansteigt. Die Erklärung des wesentlich moderateren Abfalls der Amplifikation der proliferativen Erythroblasten der Milz (von 16 auf 8,5) im EModell (s. Kapitel 3 auf Seite 81) kann hier nicht übernommen werden. Eine der Grundannahmen des ApModells ist es ja schließlich, dass die proliferativen Zellen, die nicht der Apoptose unterliegen, immer ein konstantes Teilungs- und Differenzierungsprogramm durchlaufen (s. Abschnitt 6.3 auf Seite 147). Wenn aber die Apoptose-Rate der PEB_{Milz} mit zunehmendem EPO-Spiegel ansteigt, müsste es möglich sein, dieses Verhalten unter geeigneten Bedingungen in vitro nachzuweisen. Eine solche Beobachtung ist jedoch nicht in der entsprechenden Literatur verzeichnet worden, und sie wäre auch schwer zu deuten.
- Die Reaktion der erythropoetischen Zellen in der Milz auf Erythropoetin ändert sich beim Übertritt der Zellen vom CFU-E-Kompartiment in das PEB-Kompartiment: die Apoptose-Rate der lienalen CFU-E fällt mit steigendem EPO-Spiegel von 0,33 auf 0 und die der lienalen PEB steigt von 0 auf 0,4 (vgl. Tabelle 6.3 auf Seite 156).
- Das erythropoetische System geht recht verschwenderisch mit den Ressourcen des Organismus um: die mit Energie- und Materialverbrauch im lienalen CFU-E Kompartiment produzierten Zellen sterben zu ca. 85 % ($1 - (2,4/16)$) im nachfolgenden PEB-Kompartiment, was wiederum den Einsatz von Energie erfordert.

Insbesondere kann festgehalten werden, dass es die dem ApModell zugrunde gelegten Annahmen nicht erlauben ein System zu konstruieren, welches die experimentellen

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

Hämatokrit-Werte reproduzieren kann, wenn zugleich eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten zur Proliferation von CFU-E und Erythroblasten erzielt werden soll (vgl. Abbildung 6.17 auf Seite 172).

Das Ergebnis des Modellvergleichs sollte zum Anlass genommen werden, die experimentellen Daten noch einmal kritisch zu überprüfen. Sind sie wirklich nur im Sinne des ApModells zu deuten? Hat Erythropoetin keinen Einfluss auf die Zellzykluszeit und die Anzahl der effektiven Zellteilungen einer erythropoetischen, proliferierenden Zelle? Im Folgenden seien einige weitere Aspekte genannt, die dieses, ebenso wie die hier angestellten Betrachtungen, zumindest fraglich erscheinen lassen:

1. Die Dosis des in die Kultur eingebrachten Erythropoetins (500 mU/ml) [56] entspricht dem am Tag 1 nach einer 3-tägigen TAP-Gabe in vivo gemessenen Erythropoetin-Spiegel (500 mU/ml, in [50] wird ausgesagt, dass 50 mU/ml EPO in vitro dem normalen Erythropoetin-Spiegel in vivo entsprechen). Da die untersuchten CFU-E aus der Milz von mit TAP und Aderlass behandelten Tieren nach einer Erholungsphase von drei bis vier Tagen gewonnen wurden, ergibt sich die Frage nach dem zu diesem Zeitpunkt in vivo vorliegenden Erythropoetin-Spiegel. Sollte dieser sich auf einem ähnlich hohem Niveau befinden, könnte das bedeuten, dass die gewonnenen CFU-E bereits stimuliert sind und somit die zusätzliche Gabe von Erythropoetin keinen Effekt auf die Zellzykluszeit und die Anzahl der effektiven Zellteilungen mehr zeitigen kann. Des Weiteren ist zu bedenken, dass sich eventuell die CFU-E der Milz anders verhalten als die des Knochenmarks.
2. Die Überprüfung der Erythropoetin-Abhängigkeit der Apoptose erfolgte in [130] nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip: den untersuchten CFU-E-Kulturen wurde entweder Erythropoetin oder kein Erythropoetin zugegeben, das heißt, das Verhalten der Zellen in der Kultur wurde nur für extreme Situationen untersucht.
3. Der normale Erythropoetin-Spiegel in vivo beträgt ca. 15 bis 30 mU/ml, und ab einer Erythropoetin-Konzentration von 50 mU/ml in vitro fand sich nur sehr wenig DNA mit niedrigem Molekulargewicht in den Zellkernen [56]. Könnte nicht eine Erythropoetin-Konzentration von 50 mU/ml in vitro vergleichbar mit dem normalen Erythropoetin-Spiegel in vivo sein [50], und bedeuten dann nicht diese Ergebnisse, dass unter normalen Bedingungen Apoptose nur selten auftritt? So wird in [211] berichtet, dass sich in gesunden Ratten kein Hinweis auf Apoptose von erythropoetischen Zellen erythroblastischer Inseln des Knochenmarks finden ließ.
4. Modifizierte Kultur-Systeme ermöglichen es CFU-E bereits mit geringer

Erythropoetin-Konzentration (0.003 mU/ml) zu stimulieren, ohne dass sich Hinweise für Apoptose finden lassen [215]. Es stellt sich damit die Frage, welche Kultur-Systeme die Verhältnisse in vivo am besten repräsentieren. Des Weiteren zeigt dies, dass Interpretationen von in vitro Daten in Bezug auf die Verhältnisse in vivo eine gewisse Unsicherheit anhaftet. Auch der in [191] gefundene Unterschied in der relativen Anzahl apoptotischer Zellen in vitro und in vivo und die in [24] beschriebene Beobachtung, dass Erythropoetin in niedrigen Konzentrationen (0.05-0.1 U/ml) Differenzierung induziert und in hohen Konzentrationen (0.5-10.0 U/ml) zur Zellvermehrung anregt, eröffnen Interpretationsspielräume.

5. Erythropoetin und der Erythropoetin-Rezeptor sind essentiell für die irreversible terminale Differenzierung embryonaler CFU-E in Erythrozyten, nicht aber für die Produktion von BFU-E und CFU-E [205]. Vermittler dieser Funktion des Erythropoetins im Zusammenspiel mit dem Erythropoetin-Rezeptor könnte Bcl-XL sein. In [191] und [148] wird für erwachsene Mäuse mit defizitärer Bcl-XL-Expriemierung gezeigt, dass sie nur bedingt zur terminale Differenzierung von Erythroblasten fähig sind, wohl aber zur Bildung unreifen erythropoetischen Zelle in Knochenark und Milz. Für letztere finden sich erhöhte Werte in Antwort auf die bestehende Anämie. Bcl-XL vermittelt nicht die in vitro beobachteten antiapoptotischen Effekte von Erythropoetin auf die frühen Bcl-XL defizitären Erythroblasten [148].
6. Die erythropoetische Progenitorzell-Linie HCD-57 benötigt Erythropoetin für die Proliferation und das Überleben [175],[168]. Werden diese Zellen mit einem retroviralen Vector für humanes Bcl-XL und Bcl-2 infiziert, so hören sie in Abwesenheit von Erythropoetin auf zu proliferieren aber überleben [168].
7. Um in vitro anhaltend zu proliferieren, benötigen unreife I/11-Bcl-XL-Erythroblasten Erythropoetin, Stem-Cell-Factor (SCF), Dexamethason (Dex) und Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor (IGF-1) [39]. Die Bcl-XL exprimierende I/11-Erythroblasten durchlaufen eine festgelegt terminale Differenzierung zu Erythrozyten unabhängig von jedweden exogenen Signalen. Dabei erfolgen drei Zellteilungen. In sich erneuernden, primären Erythroblasten wird Bcl-XL so gut wie nicht expriemiert. In reifenden erythropoetischen Zellen wird die Expriemierung von Bcl-XL in Abhängigkeit von Erythropoetin stark erhöht. Primäre WT-Bcl-XL-Erythroblasten bilden in vitro auch ohne Erythropoetin CFU-E-Kolonien in normaler Anzahl und Größe.
8. FLI-1 (Friend Leukemia Integration 1 Transcription Factor) blockiert die Apoptose von Erythroblasten, welche normalerweise nach Entzug von Erythropoetin einsetzt.

6 Ergebnisse der Betrachtung der Apoptose

Des Weiteren unterbindet FLI-1 die terminale Differenzierung von Erythroblasten in Reaktion auf Erythropoetin und regt diese zur Proliferation an [140]. FLI-1 ist in der Lage Erythroblasten von Erythropoetin-induzierter Differenzierung auf Erythropoetin-induzierte Proliferation umzuschalten [216]. Es wird vermutet, dass FLI-1 indirekt den Erythropoetin-Erythropoetin-Rezeptor Transduktionspfad moduliert [216].

9. Verschiedene Studien unterstützen die Auffassung, dass die Expression von c-myc eine wesentliche Rolle bei der Aktivierung der Proliferation und des programmierten Zelltodes spielt [7], [208], [18].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die genauen Mechanismen der Interaktion von Zellen mit ihrem Mikroenvironment und mit ihren Wachstumsfaktoren noch immer nicht vollständig aufgeklärt sind. Der Vergleich des EModells mit dem ApModell legt zumindest eines nahe: Die Erythropoese ist eingebettet in ein komplexes Netzwerk, in welchem Erythropoetin nicht nur die Rolle des Überlebensfaktors spielt. Die erythropoetischen Zellen zeigen Erythropoetin gegenüber kein bestimmtes Verhaltensschema, sondern variieren es abhängig von ihrem eigenen Zustand und dem Zustand des Mikroenvironments.

Die Ausgangsfrage für die in diesem Teil der Arbeit präsentierten Ergebnisse war, ob die in [130] entwickelten Thesen zur Rolle der Apoptose bei der durch Erythropoetin stimulierten Erythropoese haltbar sind (vgl. 6.1 auf Seite 143). Die Ergebnisse des Modellvergleichs EModell vs. ApModell zeigen, dass dem nicht so ist.

7 Diskussion

7.1 Experiment und Modellanalyse

Eine der wesentlichsten Schlussfolgerungen der präsentierten Analyse ist, dass experimentelle Untersuchungen der Auswirkungen einer gezielten Applikation von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren zur Bestimmung von quantitativen regulatorischen Charakteristika der hämatopoetischen Kontrollmechanismen von großem Nutzen sind, wenn die Ergebnisse eines solchen Experiments mittels eines mathematischen Modells ausgewertet werden. Insbesondere zeigt die Modellanalyse, dass sich viele der experimentellen Daten über Zellzahlen in den verschiedenen erythropoetischen Zellkompartimenten in Knochenmark und Milz in ein umfassendes Regelwerk einpassen lassen, in welchem sigmoidale Dosis-Wirkungs-Charakteristika der Amplifikation, Generations- und Reifungszeiten eine wesentliche Rolle spielen. Trotz der Unmöglichkeit der direkten Bestimmung durch Experimente können diese konzeptionell bedeutungsvollen Systemeigenschaften aus den experimentell verfügbaren Daten mittels eines mathematischen Modells abgeleitet werden.

7.2 Die Ergebnisse der Modellanalyse des erythropoetischen Systems

Das Modell des erythropoetischen Systems der Maus konnte deutlich verbessert werden. Verschiedene Modellaspekte wurden im Kontext der experimentellen Daten neu interpretiert.

Die spezifischen Schlussfolgerungen für das erythropoetische System sind:

Erythropoetin induziert

- zusätzliche zelluläre Amplifikation,
- eine Verkürzung der Generationszeit der proliferativen Zellen und
- eine Verkürzung der Reifungszeit der nicht-proliferativen Zellen.

Alle diese Effekte sind dosis-abhängig und zeigen ein Sättigungs-Phänomen mit einem regulatorischen Fenster im Bereich von 1 bis 10 U rhEPO/Maus/Tag. Es deutet sich an, dass der limitierende Faktor für die Amplifikation und ggf. die Fähigkeit zur Selbsterneuerung nicht in den Zellen liegt.

Die Maxima der Dosis-Wirkungs-Kurven der Amplifikation in Knochenmark und Milz unterscheiden sich deutlich. In der Milz liegt das Maximum wesentlich über dem des Knochenmarks ($Z^{Milz,max} = 141.657$ vs. $Z^{KM,max} = 26.048$ mit $Z_S^{Milz} = 1$ und $Z_S^{KM} = 1$)).

Der Zugewinn an Amplifikation durch Erythropoetin wird hauptsächlich innerhalb des CFU-E Kompartiments realisiert.

7.3 Unterschiede zu den vorangegangenen Modellen

Diese aus der Analyse der Gleichgewichts-Daten gewonnenen Schlussfolgerungen stehen in guter Übereinstimmung mit denen aus früheren Analysen dynamischer Erholungsprozesse. Im Vergleich zu den vorangegangenen Modellen ([198], [136], [109]) wurden in dem hier vorgestellten Modell einige Änderungen vorgenommen.

- Die Interpretation und Repräsentation der Transitzeit proliferativer Kompartimente wurde den biologischen Gegebenheiten angepasst. Ausgangspunkt der Betrachtungen ist nun die Verdoppelungszeit (s. Abschnitt 3.1.2 auf Seite 83). Es wird angenommen, dass jede durchschnittliche Zellverdoppelung einer gewissen Zeit, der Verdoppelungszeit, bedarf, welche Erythropoetin-abhängig ist. Die Transitzeiten der proliferativen Zellstadien berechnen sich nun aus der Anzahl der Zellverdoppelungen und der Verdoppelungszeit. Sie sind damit indirekt vom Erythropoetin abhängig. Es wird nicht mehr angenommen, dass die Transitzeit der CFU-E konstant und die Transitzeiten der CFU-E sowie der proliferativen Erythroblasten in Knochenmark und Milz identisch sind.
- War in den zuvor veröffentlichten Modellen der Einfachheit halber angenommen worden, dass der Anteil der Milz konstant bei 5 % liegt, so induziert Erythropoetin im neuen Modell dosis-abhängig eine Migration von Stammzellen und BFU-E vom Knochenmark in die Milz (s. Abschnitt 2.2.2.2.1 auf Seite 49). Der Anteil der Milz an der Erythropoese variiert nun zwischen 3 % und 30 %.
- Die Netto-Amplifikation der proliferativen Erythroblasten der Milz scheint unter Erythropoetin-Stimulation reduziert und nicht, wie bisher angenommen, konstant

7.4 Die Aussagekraft der Modellanalyse, einschränkende Annahmen und Bedingungen

oder erhöht (s. Abschnitt 3.1.1 auf Seite 81). Dieses Milz-spezifische Phänomen kann durch eine relative Verschiebung von Amplifikation in das CFU-E Kompartiment zulasten des Kompartiments der proliferativen Erythroblasten erklärt werden. Es weist zudem daraufhin, dass spezifische Interaktionen zwischen der Zellentwicklung und dem Mikroenvironment bestehen.¹

- Die Normalwerte der erythropoetischen Gesamtamplifikation wurden nach unten korrigiert, um eine bessere Übereinstimmung mit den experimentellen Daten zu erzielen (s. Kapitel 2.3.1 auf Seite 69).
- Die Apoptose als ein Steuerungselement der Erythropoese wurde eingeführt (s. Kapitel 6 auf Seite 143).

7.4 Die Aussagekraft der Modellanalyse, einschränkende Annahmen und Bedingungen

Bevor die einschränkenden Annahmen und Bedingungen näher betrachtet werden, sei noch der folgende Hinweis gestattet:

Das Modellierungskonzept und damit das Modell erlauben es die Erythropoese der Maus unter Berücksichtigung der relevant erscheinenden Zellentwicklungsstufen zu modellieren. Es ist in der Lage sowohl verschiedene Gleichgewichts- als auch verschiedene Stress-Situationen ohne Parameteränderungen² mit guter bis sehr guter Übereinstimmung mit den experimentellen Daten nachzubilden.

Es existieren eine Reihe von Einschränkungen in der präsentierten Modellanalyse.

Erstens basiert die Analyse auf der Annahme, dass die tägliche rhErythropoetin-Dosis proportional zum effektiven Erythropoetin-Spiegel ist. Die Überprüfung dieser Annahme mittels eines Einkompartimentmodells der Pharmakokinetik des Erythropoetins liefert einen Beleg dafür, dass die Einführung eines Skalierungs- oder Proportionalitätsfaktors als eine erste Näherung an die tatsächlichen Verhältnisse gelten kann. Allerdings basiert

¹Die Notwendigkeit der Wahl einer abfallenden Dosis-Wirkungs-Kurve für die Amplifikation der Erythroblasten erwuchs u.a. aus der Umdeutung der experimentellen Daten der Erythroblasten. War bisher angenommen worden, dass die residualen Retikulozyten in die experimentell ermittelten Zellzahlen der Erythroblasten eingingen, so wird nun angenommen, dass die experimentellen Erythroblastenzahlen nur tatsächliche Erythroblasten erfassen. Diese im neuen Modell berücksichtigte Annahme entspricht der der experimentell Forschenden.

²Gewisse Parameteränderungen sind selbstverständlich von Nöten. So zum Beispiel bei der Modellierung eines einfachen Aderlasses. Hier ist der Startwert der Erythrozyten zu reduzieren (vgl 4.2.1 auf Seite 102)

das pharmakologische Modell noch auf unzureichenden Daten, so dass weitere experimentelle Untersuchungen der Pharmakokinetik des exogen zugeführten Erythropoetin wünschenswert sind. Um die mit einer fraktionierten Gabe von Erythropoetin verbundenen Fluktuationen des Hormonspiegels zu vermeiden, bieten sich osmotische Pumpen an, die es ermöglichen, einen kontinuierlichen, definierten Zustrom an Erythropoetin über lange Zeit aufrechtzuerhalten mit der Folge eines (relativ) konstanten Hormonspiegels für die Dauer des Experiments. Auch haben neuere Erkenntnisse über die Eliminierung des Erythropoetins durch seine Zielzellen (insbesondere die CFU-E) [86], [26] keinen Eingang in die hier gemachten Annahmen gefunden. Es bleibt also zukünftigen Arbeiten überlassen, dies nachzuholen. Nichtsdestotrotz kann aus der Analyse der dynamischen Erholungsprozesse der Schluss gezogen werden, dass die im Rahmen dieser Arbeit gefundenen Dosis-Wirkungs-Charakteristika des Erythropoetins die Modellierung von in vivo Situationen mit hinreichender Übereinstimmung mit den experimentellen Daten ermöglicht.

Zweitens beschränkt sich die Analyse des Gleichgewichtsexperiments auf Situationen einer erhöhten Erythropoese. Die präsentierten Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation, der Generations- und der Reifungszeit gelten nur in Fällen von Erythropoetinstimulation. Zum jetzigen Zeitpunkt ist nicht klar, ob die gefundenen Dosis-Wirkungs-Kurven durch Extrapolation auf den Bereich der reduzierten Erythropoese ausgedehnt werden können. Jedoch liegt die Annahme nahe, dass es einen minimalen Zustand der Erythropoese gibt, welcher durch die im Mikroenvironment produzierten Wachstumsfaktoren - darunter Erythropoetin - definiert wird.

Drittens können die absoluten Parameterwerte der zeitlichen Entwicklung (Zellzyklus-, Generations- und Reifungszeiten) nur als grobe Schätzungen angesehen werden. Daraus folgt, dass spezifische Experimente zur Untersuchung der Erythropoetin-abhängigen Zellzyklusveränderungen in vivo hilfreich wären, um die Zusammenhänge noch besser verstehen zu können.

Viertens wurde von der vereinfachten Annahme ausgegangen, dass der Gesamteinstrom in die Erythropoese proportional zu der Gesamtzahl der BFU-E ist und die Verteilung der BFU-E auf Knochenmark und Milz Erythropoetin-abhängig variiert. Eine genauere Beschreibung des Stammzell- und des BFU-E Kompartiments sowie der regulatorischen Mechanismen der Migration ist wünschenswert.

Fünftens ist der Zugewinn an Amplifikation unter Stimulation eventuell unterschätzt worden. Es gibt Hinweise [52], dass das Plasmavolumen sich möglicherweise mit ansteigender Anzahl roter Blutzellen erhöht, um eine ausreichende Viskosität des Blutes zu

7.5 Vorschläge für weitere experimentelle Untersuchungen des erythropoetischen Systems

erhalten, oder dass die Lebensspanne der unter Stress gebildeten Erythrozyten um bis zu 50 % reduziert ist [178]. Ein Modell, welches diese Effekte berücksichtigt, würde eine Korrektur der Amplifikationsmaxima in Richtung höherer Werte erfordern.

Sechstens unterschätzt das aktuelle Modell unter Umständen die Bedeutung der BFU-E für die Realisation der zusätzlichen Amplifikation unter Erythropoetinstimulation. Der durch einen erhöhten Erythropoetin-Spiegel verursachte, amplifikatorische Gesamtgewinn der Erythropoese bliebe von einer Änderung der Einschätzung der Rolle der BFU-E unberührt. Allein die Verteilung der Gesamtamplifikation auf die verschiedenen proliferativen Zellstadien müsste angepasst werden. Aufgrund der Berechnung der Transitzeiten der proliferativen Kompartimente wäre mit einer solchen Anpassung eine Änderung der Transitzeiten der betroffenen Kompartimente verbunden.

Siebtens ist die Beschreibung der Altersstruktur der verschiedenen Kompartimente nicht ganz adäquat. Die Kompartimente werden nur durch eine gewöhnliche, modifizierte Differentialgleichung mit einem simplen Zufalls-Transitions-Term beschrieben. Diese Beschreibung impliziert, dass in jedem Modellkompartiment die Altersstruktur exponentiell abfallend statt, wie es für eine wachsende Zellpopulation adäquat wäre, exponentiell ansteigend ist. Eine Folge dieser Beschreibung ist, dass sich Veränderungen des Einstroms, der Verdoppelungszeit und der Amplifikation zu schnell auf den Ausstrom auswirken.

Als letztes bleibt anzumerken, dass die Anpassung des Modells an die experimentellen Daten nicht mittels eines formalen mathematischen Prozesses erfolgte. Das Ziel war, die gemachten Annahmen über die funktionalen Beziehungen innerhalb des erythropoetischen Systems zu begründen und deren Potentiale zu demonstrieren.

Formale Prozeduren zur direkten Abschätzung unbekannter Parameter aus einem gegebenen Datensatz mittels numerischer Algorithmen zur Lösung von Parameteridentifikationsproblemen in gewöhnlichen Differentialgleichungssystemen mit zusätzlichen algebraischen Randbedingungen standen für diese Arbeit nicht zur Verfügung. Daher wurden hier (nur) Sensitivitätsanalysen durchgeführt.

7.5 Vorschläge für weitere experimentelle Untersuchungen des erythropoetischen Systems

Die Ergebnisse der Analyse des Gleichgewichtsexperiments machen deutlich, dass die experimentelle Untersuchung des erythropoetischen Systems nicht abgeschlossen ist; viele Systemeigenschaften sind noch nicht hinreichend erforscht. Die durch das Modell

7 Diskussion

vorhergesagte Abhängigkeit der Generations-, Reifungs- und (indirekt) Transitzeiten vom Erythropoetin-Spiegel sollte experimentell in den postulierten Größenordnungen nachweisbar sein. Ein ideales Experiment wäre, spezifisch markierte, erythropoetische Zellkohorten während ihrer Entwicklung von Stammzellen zu Erythrozyten zu beobachten. Es wäre interessant zu untersuchen, wie diese Zellkohorten wachsen und was die treibende Kraft dieses Prozesses ist.

Die Entwicklung experimenteller Techniken zur direkten Bestimmung der Zellproduktion pro Tag *in vivo* oder auch kürzerer Zeitabschnitte wäre ein großer Fortschritt. Doppel-Markierungs-Experimente im peripheren Blut, die in der Lage sind, die Zahl der innerhalb eines kurzen Zeitabschnitts neu produzierten Erythrozyten zu bestimmen, könnten eine Lösung darstellen.

Experimente mit Thiamphenicol, GCSF oder IL1 als Migrations-induzierenden Substanzen bzw. Zytokine lassen vermuten, dass in der Maus die BFU-E in der Lage sind, vom Knochenmark über die Blutbahn in die Milz auszuwandern und sich dort anzusiedeln. In ihrem neuen Mikroenvironment, der Milz, sind sie nun in der Lage, pro Einzelzelle mehr Erythrozyten zu bilden als zuvor im Knochenmark (Abbildung 3.1 auf Seite 82).

Die physiologische Rolle der Migration für die Maus lässt sich an Hand der analysierten Erholungsexperimente erkennen (Kapitel 4 auf Seite 99). Die Umverteilung eines Teils der Erythropoese vom Knochenmark in die Milz ermöglicht einen beschleunigten Aufbau der roten Blutzellen und eine vergleichsweise rasche Erholung des Hämatokrits nach Störungen wie Blutungen oder Applikation von Substanzen wie Thiamphenicol. Es ist interessant, dass bei einer Reihe von genetisch anämischen Tieren, wie den LDH-defizienten Mäusen [35] und den W/WV-Mäusen [166], ein extrem großer Anteil der Erythropoese in der Milz stattfindet. Auch andere Faktoren scheinen eine Migration der Erythropoese induzieren zu können. So wurde bei starker Stimulation der Granulopoese durch prolongierte Applikation von GCSF eine Umverteilung der Erythropoese vom Knochenmark in die Milz beobachtet [62]. Dieser Effekt der Gabe von GCSF mag darauf beruhen,

- dass die Granulopoese über keinen der Milz vergleichbaren, im Bedarfsfalle zu mobilisierenden Produktionsort verfügt, somit also allein auf das Knochenmark angewiesen ist, und,
- dass der der Hämatopoese (Erythropoese + Granulopoese + Thrombopoese) zur Verfügung stehende Platz im Knochenmark Beschränkungen unterliegt.

Die Untersuchung der Rolle der Apoptose liefert interessante Einblicke in die der Regula-

7.5 Vorschläge für weitere experimentelle Untersuchungen des erythropoetischen Systems

tion der Erythropoese zugrunde liegenden Mechanismen. Sie zeigt, dass die Annahme eines genetisch determinierten, von jeder Zelle auf ihrem Weg von der Stammzelle zum Erythrozyten zu durchlaufende Zellteilungsprogramm mit einer nur durch Apoptose zu variierenden Amplifikation zu einem Modell der Erythropoese führt, welches nicht mit den experimentellen Daten in Übereinstimmung gebracht werden kann (Abschnitt 6.7 auf Seite 169). Das bedeutet, dass neben der Apoptose-Rate auch das zellinterne Teilungs- und Differenzierungsprogramm Veränderungen unterliegt, die vom Grad der erythropoetischen Stimulation und der Lokalisation der Zellen abhängen. Es wäre eine lohnenswerte Aufgabe zu untersuchen, wie das Mikroenvironment in Knochenmark und Milz das zellinterne Amplifikationsprogramm (Apoptose und Zellteilungsverhalten) einer erythropoetischen Zelle unterstützt bzw. modifiziert.

Die Erklärung der Reduktion der Amplifikation der proliferativen Erythroblasten der Milz bei stimulierter Erythropoese (Abbildung 3.1 auf Seite 82) impliziert eine gewisse Unabhängigkeit des Reifungsgrades einer Zelle von der Anzahl der von ihr durchgeführten Zellteilungen. Eine Verschiebung von Zellteilungen vom PEB-Kompartiment in das CFU-E-Kompartiment könnte sonst nicht stattfinden. Ein extremes Beispiel für die Konsequenz und die Funktion dieser relativen Entkopplung des Teilungsprogramms vom Differenzierungsprogramm liefert das Stammzellkompartiment: die Selbsterneuerungsfähigkeit der CFU-S kann auch als vollkommene Entkopplung dieser Prozesse gedeutet werden. Es wäre sehr interessant experimentell zu erforschen, unter welchen Umständen eine Stimulation der Reifung ohne oder mit nur minimaler Stimulation der Amplifikation bzw. eine Stimulation der Amplifikation ohne Stimulation der Reifung möglich ist. Solche Fragen wurden bereits im Zusammenhang mit einem anderen, hierarchisch organisierten zellulären System, dem intestinalen Epithelium diskutiert [145], welches einfacher aufgebaut ist. Sie spielen auch in der Diskussion über die Regulation der Stammzellen bzw. die Organisation des Stammzell-Kompartiments [32], [150], [108] eine Rolle. Mit der Zunahme unseres Wissens über die Kooperation der verschiedenen Zytokine, ihrer Rezeptoren, deren Rezeptor-vermittelten Signale, der Zell-Zell- und Zell-Environment-Interaktionen und die daraus erwachsenden Verhaltensmodifikationen der Zellen werden wir ein immer klareres Bild von den grundlegenden Prinzipien der Selbstorganisation der einen Organismus bildenden Zellen zeichnen können. So können die in Abschnitt 6.2 vorgestellten experimentellen Ergebnisse von [121] und [122] im Licht neuerer Erkenntnisse über die 'Signaling-Pathways' und dem daran erkennbaren Zusammenwirken der verschiedenen Zytokine ([20], [206], [101], [96] und [85]) besser eingeordnet werden. Gleichzeitig wird aber auch immer deutlicher, dass die Regulation selbst eines prinzipiell eher einfachen Teilsystems wie der Erythropoese durch ein auf den ersten Blick komplexes Netzwerk von

7 Diskussion

Faktoren und deren Interaktionen erfolgt. Auch wird man sich wohl von der Vorstellung lösen müssen, dass ein bestimmter Faktor immer eine bestimmte Wirkung entfaltet, vielmehr kann seine Wirkung durch den Kontext, in dem er seine Wirkung entfaltet, modifiziert werden.

Das hier vorgestellte Modell der Erythropoese beinhaltet mehrere Implikationen für das biologische Konzept von hierarchisch organisierten Zellpopulationen und erlaubt einige Vorhersagen. Seine grundlegende Aussage ist, dass die Anzahl und die Geschwindigkeit der im Zuge der Amplifikation stattfindenden Zellteilungen durch Erythropoetin im Rahmen der durch die Mikroenvironments gegebenen Möglichkeiten modifiziert wird. Erythropoetin kann die erythropoetische Differenzierung mit dem Ziel einer erhöhten Amplifikation verzögern. Dies gilt zumindest für die CFU-E in der Milz. In den späteren Stadien der Differenzierungssequenz beschleunigt Erythropoetin hingegen die Reifung.

Man kann darüber spekulieren, ob es eine fundamentale Wirkungsweise von Wachstumsfaktoren – wie z. B. Erythropoetin – ist, dass sie die zellphysiologischen Prozesse der frühen Vorläuferzellen bei niedrigem Spiegel in Richtung Differenzierung und bei hohem Spiegel in Richtung Amplifikation verschieben. In einem normalen System müssen jedoch Grenzen für diese Effekte vorhanden sein, um zu garantieren, dass keine Amplifikation ohne Reifung (Leukämie) und keine Reifung ohne Amplifikation (aplastische Anämie) stattfindet. Es steht also zu erwarten, dass ein genetischer Zusammenhang zwischen Amplifikation und Reifung mit der Möglichkeit der quantitativen Feinabstimmung besteht. Falls dieses Konzept Bestand hat, müsste man ein genetisch determiniertes Maximum der zellulären Amplifikation der Zellen der Erythropoese annehmen, welches selbst unter optimalen Bedingungen nicht überschritten werden kann. In vivo scheinen die Mikroenvironments dem zellulären System zusätzliche Restriktionen aufzuerlegen. Diese führen zu den spezifischen Dosis-Wirkungs-Charakteristika mit ihren jeweiligen Maxima und Minima.

Abbildung 7.1 auf der nächsten Seite beschreibt die aktuelle Arbeitshypothese. Sie stellt das Konzept des regulatorischen Fensters graphisch dar. Dieses Konzept basiert auf den gefundenen Unterschieden der erythropoetischen Systemeigenschaften in Knochenmark und Milz. Ein regulatorisches Fenster erfasst die Änderung der Amplifikation in Abhängigkeit von der systemischen Erythropoetin-Konzentration. Wenn sich kein oder wenig Erythropoetin in der Zirkulation befindet, generiert das Mikroenvironment eine Grundamplifikation. Bei hohem systemischen Erythropoetin-Spiegel werden die Maxima, entsprechend den durch das jeweilige Mikroenvironment auferlegten Grenzen, erreicht. Die Mikroenvironments determinieren auch die genaue Form der Dosis-Wirkungs-Kurven.

7.5 Vorschläge für weitere experimentelle Untersuchungen des erythropoetischen Systems

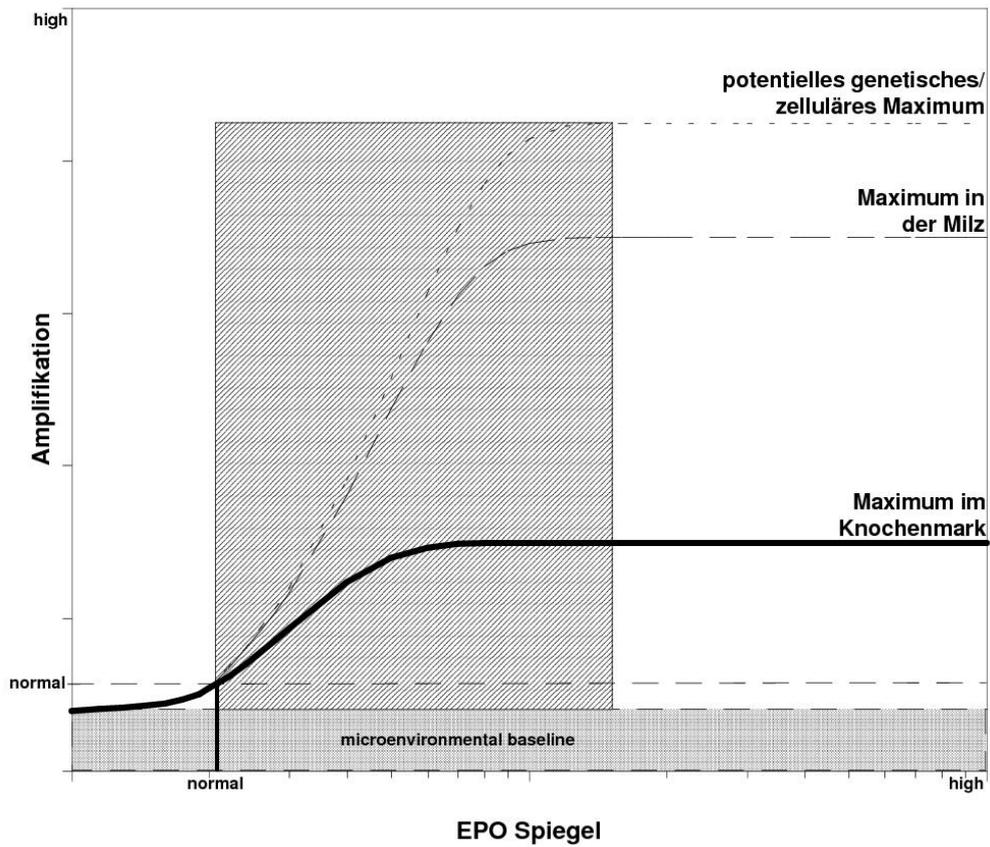


Abbildung 7.1: Das Konzept des regulatorischen Fensters in der Erythropoese

7 Diskussion

Die Untersuchung der Mechanismen der Modulation der Dosis-Wirkungs-Kurven durch Komponenten des Mikroenvironments ist lohnenswert. In diesem Kontext wird das Wissen über Zellinteraktionen, die Regulation der Expression der Erythropoetinrezeptoren und die Erythropoetinpräsentation sowie die räumliche Interaktion von schnell expandierenden Zellklonen in einem Mikroenvironment relevant sein.

Das Konzept eines regulatorischen Fensters (Abbildung 7.1 auf der vorherigen Seite) hat praktische Implikationen. Wenn man den aktuellen Operationsstatus eines gegebenen erythropoetischen Systems kennt, kann man folgern, wie viel Reserven zur weiteren Stimulation noch verfügbar sind. Zum Beispiel wurde die These aufgestellt, dass die Expansion des Plasmas bei älteren Mäusen die primäre Ursache für die Anämie alter Mäuse sei [107]: Diese führe zu einer Stimulation des erythropoetischen Systems mit dem Ziel, den Abfall des Hämatokrits zu kompensieren. Infolgedessen liege der Operationsstatus auf einem höherem Niveau, die Amplifikation sei gesteigert, und in Situationen mit erhöhtem Bedarf an neuen roten Blutzellen, z.B. nach einer Blutung, seien die benötigten Reserven reduziert.

Mit dem Konzept eines regulatorischen Fensters lässt sich auch gut erklären, warum LDH-defiziente Mäuse erythropoetischen Stress nur schwer tolerieren können [35]. Die Erythrozyten dieser Tiere haben eine sehr kurze Lebensspanne von weniger als 2 Tagen. Die Tiere überleben, weil der größte Teil der Erythropoese in der Milz stattfindet. Vorläufige Modellanalysen zeigen, dass die Erythropoese der LDH-defizienten Mäuse am Maximum ihrer lienalen Amplifikationskurve operiert, so dass keine Reserven zur Verfügung stehen, um mit zusätzlichem Stress fertig zu werden.

Die Bestimmung der residualen regulatorischen Kapazitäten hat eventuell auch klinische Implikationen, da sie Konsequenzen für die therapeutische Strategie haben kann: Patienten mit einer großen amplifikatorischen Reserve profitieren von einer Therapie mit Wachstumsfaktoren, Patienten mit einer kleinen amplifikatorischen Reserve hingegen benötigen einen anderen therapeutischen Ansatz (z.B. Knochenmarktransplantation anstelle von Wachstumsfaktoren).

8 Zusammenfassung

Das Verhalten eines Organismus während oder nach einer Störung voraussagen und möglichst gezielt beeinflussen zu können, ist eine wichtige Voraussetzung für die medizinische Diagnostik und eine effektive medizinische Therapie.

Im Rahmen dieser Arbeit wird daher die Regulation des Wachstums der erythropoetischen Zellen in Abhängigkeit von der Erythropoetin-Konzentration im Blut untersucht. Dabei wird ein mathematisches Modell [109], [198], [136] u.a. zu einem erst nach dessen Veröffentlichung durchgeführten Experiment [56] in Beziehung gesetzt.

Das Experiment nutzt die Verfügbarkeit von rekombinantem Erythropoetin zur direkteren Bestimmung von dessen Dosis-Wirkungs-Charakteristika *in vivo*. Mit rekombinantem Erythropoetin kann das erythropoetische System in definierte Gleichgewichtszustände gebracht und die sich einstellende Anzahl der erythropoetischen Vorläuferzellen, getrennt für Knochenmark und Milz, sowie der Hämatokrit systematisch bestimmt werden [56].

In dieser Arbeit werden Formen und Maxima der Dosis-Wirkungs-Kurven analysiert. Die biologische Plausibilität des Modells konnte verbessert werden: Die Modellparameter wurden exakter festgelegt. Die Normalwerte wurden adjustiert und für ausgewählte Parameter Sensitivitätsanalysen durchgeführt. Ein neues Konzept der Erythropoetin-abhängigen Migration wurde erarbeitet. Es wird gezeigt, dass die Dynamik der Erythropoese mit der neuen Variante des Modells besser modelliert werden kann als bisher.

Zudem wird die Apoptose erstmals auch für die Erythropoese aus systembiologischer Sicht mathematisch modelliert. Anlass ist die Vorhersage des Modells, dass die determinierten, proliferativen erythropoetischen Zellen über ein gewisses Mass an Plastizität – eine Eigenschaft, die auch bei Stammzellen vermutet wird [150] – verfügen.

8 Zusammenfassung

9 Anhang

9.1 Der komplette Parametersatz der Erythropoese des EModell

Tabelle 9.1: Die Startwert- Zellzykluszeit- und ggf. Vorgabewerte der Stammzellen

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zellzykluszeit (konstant)	$TC_{i_{KM}}$	$TC_{i_{Milz}}$		
Vorgabewerte benutzen			'off'	'off'
Zeitachse für die Vorgabewerte			[0 0.1]	[0 0.1]
Vorgabewerte			'[S_BM_nor S_BM_nor]'	'[S_SP_nor S_SP_nor]'

Tabelle 9.2: Die Parameter für die proliferative Fraktion der Stammzellen

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{min}$	$a_{i_{Milz}}^{min}$	0.01	0.01
nor. Bedingungen	$a_{i_{KM}}^{nor}$	$a_{i_{Milz}}^{nor}$	0.15	0.15
max. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{max}$	$a_{i_{Milz}}^{max}$	1	1

Tabelle 9.3: Die Parameter für die Selbsterneuerungs-Wahrscheinlichkeit der Stammzellen

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$p_{i_{KM}}^{min}$	$p_{i_{Milz}}^{min}$	0.4	0.4
nor. Bedingungen	$p_{i_{KM}}^{nor}$	$p_{i_{Milz}}^{nor}$	0.6	0.6

Tabelle 9.4: Die Migrations-Parameter der Stammzellen

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
seeding efficiency Zeitachse für die Vorgabewerte	$se_{i_{KM}}$	$se_{i_{Milz}}$	0	0
Vorgabewerte für die Migrationsrate			[0 0.0001]	[0 0.0001]
			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.5: Die Parameter für die Verteilung der aus dem Stammzell-Kompartiment ausströmenden Zellen auf die verschiedenen Zell-Linien

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Anteil der im Knochenmark lokalisierten Zellen, die in die Erythropoese wechseln			0.15	
Anteil der in der Milz lokalisierten Zellen, die in die Erythropoese wechseln			0.15	
Anteil der im Knochenmark lokalisierten Zellen, die in die Granulopoese wechseln			0.8	
Anteil der in der Milz lokalisierten Zellen, die in die Granulopoese wechseln			0.8	

Tabelle 9.6: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	[0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.7: Die Parameter für die proliferative Fraktion der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{min}$	$a_{i_{Milz}}^{min}$	0.3	0.3
nor. Bedingungen	$a_{i_{KM}}^{nor}$	$a_{i_{Milz}}^{nor}$	0.33	0.33
max. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{max}$	$a_{i_{Milz}}^{max}$	1	1

Tabelle 9.8: Die Amplifikation-Parameter der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{min}$	$Z_{i_{Milz}}^{min}$	32	32
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	32	32
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	32	32
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PEZ_{i_{KM}}$	$PEZ_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorZ_{i_{KM}}$	$FnorZ_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.9: Die Transitzeit-Parameter der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	40	40
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	40	40
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{max}$	$TD_{i_{Milz}}^{max}$	40	40
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1
Zellzykluszeit ($Tflag = 1$) oder Transitzeit ($Tflag \neq 1$)	$Tflag_{i_{KM}}$	$Tflag_{i_{Milz}}$	0	0

Tabelle 9.10: Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{min}$	$mr_{i_{Milz}}^{min}$	-0.1	0
nor. Bedingungen	$mr_{i_{KM}}^{nor}$	$mr_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{max}$	$mr_{i_{Milz}}^{max}$	0.13	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$mrPEM_{i_{KM}}$	$mrPEM_{i_{Milz}}$	0.8	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$mrFnor_{i_{KM}}$	$mrFnor_{i_{Milz}}$	1	1
min. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{min}$	$se_{i_{Milz}}^{min}$	0	-0.015
nor. Bedingungen	$se_{i_{KM}}^{nor}$	$se_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{max}$	$se_{i_{Milz}}^{max}$	0	1
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$sePEM_{i_{KM}}$	$sePEM_{i_{Milz}}$	0.7	0.75
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$seFnor_{i_{KM}}$	$seFnor_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.11: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	[0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.12: Die Parameter für die proliferative Fraktion der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{min}$	$a_{i_{Milz}}^{min}$	1	1
nor. Bedingungen	$a_{i_{KM}}^{nor}$	$a_{i_{Milz}}^{nor}$	1	1
max. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{max}$	$a_{i_{Milz}}^{max}$	1	1

Tabelle 9.13: Die Amplifikation-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{min}$	$Z_{i_{Milz}}^{min}$	1	1
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	8	16
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	44	510
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PEZ_{i_{KM}}$	$PEZ_{i_{Milz}}$	1.3	1.8
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorZ_{i_{KM}}$	$FnorZ_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.14: Die Transitzeit-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	7	7
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	11	11
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{max}$	$TD_{i_{Milz}}^{max}$	25	25
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1
Zellzykluszeit ($Tflag = 1$) oder Transitzeit ($Tflag \neq 1$)	$Tflag_{i_{KM}}$	$Tflag_{i_{Milz}}$	1	1

9 Anhang

Tabelle 9.15: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	[0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.16: Die Parameter für die proliferative Fraktion der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{min}$	$a_{i_{Milz}}^{min}$	1	1
nor. Bedingungen	$a_{i_{KM}}^{nor}$	$a_{i_{Milz}}^{nor}$	1	1
max. Stimulation	$a_{i_{KM}}^{max}$	$a_{i_{Milz}}^{max}$	1	1

Tabelle 9.17: Die Amplifikation-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{min}$	$Z_{i_{Milz}}^{min}$	1	20
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	16	16
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	18.5	8.68
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PEZ_{i_{KM}}$	$PEZ_{i_{Milz}}$	0.95	0.44
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorZ_{i_{KM}}$	$FnorZ_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.18: Die Transitzeit-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	7	7
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	11	11
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{max}$	$TD_{i_{Milz}}^{max}$	25	25
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1
Zellzykluszeit ($Tflag = 1$) oder Transitzeit ($Tflag \neq 1$)	$Tflag_{i_{KM}}$	$Tflag_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.19: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	[0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.20: Die Transitzeit-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{min}$	$TT_{i_{Milz}}^{min}$	2	2
nor. Bedingungen	$TT_{i_{KM}}^{nor}$	$TT_{i_{Milz}}^{nor}$	6	6
max. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{max}$	$TT_{i_{Milz}}^{max}$	7	7
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	1.17	1.17
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.21: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der residualen Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
time vector of % for cells to loose	[0 1]	[0 1]		
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	[0 0]
time vector of % for inflow to loose	[0 1]	[0 1]		
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.22: Die Transitzeit-Parameter der residualen Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{min}$	$TT_{i_{Milz}}^{min}$	0.1	0.1
nor. Bedingungen	$TT_{i_{KM}}^{nor}$	$TT_{i_{Milz}}^{nor}$	12	12
max. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{max}$	$TT_{i_{Milz}}^{max}$	20	20
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.95	0.95
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.23: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

Tabelle 9.24: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

Tabelle 9.25: Die Parameter für den altersabhängiger oder zufälliger Abbau der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Anteil der altersabhängig abgebauten Erythrocyten	$SWITCH$		1	

9.2 Die Parameter des PModells, die von denen des EModells abweichen

Tabelle 9.26: Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{min}$	$mr_{i_{Milz}}^{min}$	0	0
nor. Bedingungen	$mr_{i_{KM}}^{nor}$	$mr_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{max}$	$mr_{i_{Milz}}^{max}$	0	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$mrPEM_{i_{KM}}$	$mrPEM_{i_{Milz}}$	0	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$mrFnor_{i_{KM}}$	$mrFnor_{i_{Milz}}$	1	1
min. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{min}$	$se_{i_{Milz}}^{min}$	0	0
nor. Bedingungen	$se_{i_{KM}}^{nor}$	$se_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{max}$	$se_{i_{Milz}}^{max}$	0	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$sePEM_{i_{KM}}$	$sePEM_{i_{Milz}}$	0	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$seFnor_{i_{KM}}$	$seFnor_{i_{Milz}}$	1	1

9.2 Die vom EModell abweichenden Parameter des PModells

Tabelle 9.27: Die Amplifikation-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{min}$	$Z_{i_{Milz}}^{min}$	1	1
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	32	64
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	96	2096
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PEZ_{i_{KM}}$	$PEZ_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorZ_{i_{KM}}$	$FnorZ_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.28: Die Transitzeit-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	40	40
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	40	40
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{max}$	$TD_{i_{Milz}}^{max}$	40	40
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1
Zellzykluszeit ($Tflag = 1$) oder Transitzeit ($Tflag \neq 1$)	$Tflag_{i_{KM}}$	$Tflag_{i_{Milz}}$	0	0

Tabelle 9.29: Die Amplifikation-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{min}$	$Z_{i_{Milz}}^{min}$	1	1
nor. Bedingungen	$Z_{i_{KM}}^{nor}$	$Z_{i_{Milz}}^{nor}$	64	64
max. Stimulation	$Z_{i_{KM}}^{max}$	$Z_{i_{Milz}}^{max}$	96	96
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PEZ_{i_{KM}}$	$PEZ_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorZ_{i_{KM}}$	$FnorZ_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.30: Die Transitzeit-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{min}$	$TD_{i_{Milz}}^{min}$	27	27
nor. Bedingungen	$TD_{i_{KM}}^{nor}$	$TD_{i_{Milz}}^{nor}$	54	54
max. Stimulation	$TD_{i_{KM}}^{max}$	$TD_{i_{Milz}}^{max}$	65	65
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1
Zellzykluszeit ($Tflag = 1$) oder Transitzeit ($Tflag \neq 1$)	$Tflag_{i_{KM}}$	$Tflag_{i_{Milz}}$	0	0

9.2 Die vom EModell abweichenden Parameter des PModells

Tabelle 9.31: Die Transitzeit-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{min}$	$TT_{i_{Milz}}^{min}$	1	2
nor. Bedingungen	$TT_{i_{KM}}^{nor}$	$TT_{i_{Milz}}^{nor}$	1	6
max. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{max}$	$TT_{i_{Milz}}^{max}$	1	7
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	1	1.17
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1

Tabelle 9.32: Die Transitzeit-Parameter der residualen Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{min}$	$TT_{i_{Milz}}^{min}$	6	6
nor. Bedingungen	$TT_{i_{KM}}^{nor}$	$TT_{i_{Milz}}^{nor}$	18	18
max. Stimulation	$TT_{i_{KM}}^{max}$	$TT_{i_{Milz}}^{max}$	20	20
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$PET_{i_{KM}}$	$PET_{i_{Milz}}$	0.7	0.7
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$FnorT_{i_{KM}}$	$FnorT_{i_{Milz}}$	1	1

9.3 Einfache Blutung

9.3.1 Die zwecks Anpassung an eine einfache Blutung abgeänderten Parameter des E- und PModells

Tabelle 9.33: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 2 2 3]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0.7 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

Tabelle 9.34: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 2 2 3]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0.7 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.3.2 Einfache Blutung - Kenndaten der verschiedene Zellkompartimente

9.3 Einfache Blutung

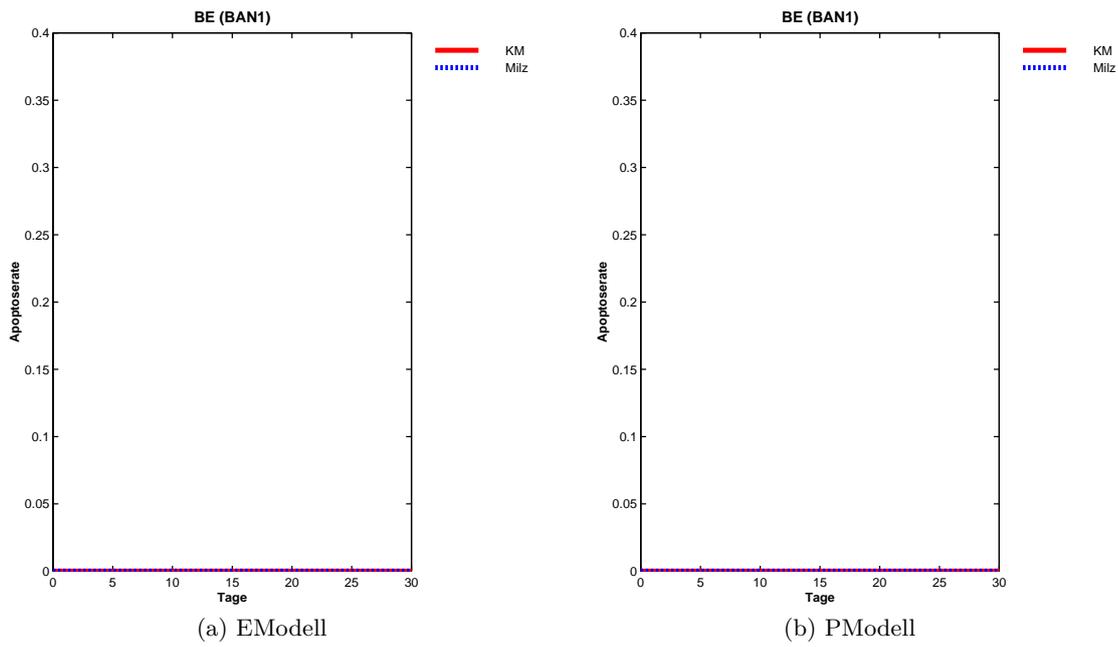


Abbildung 9.1: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate

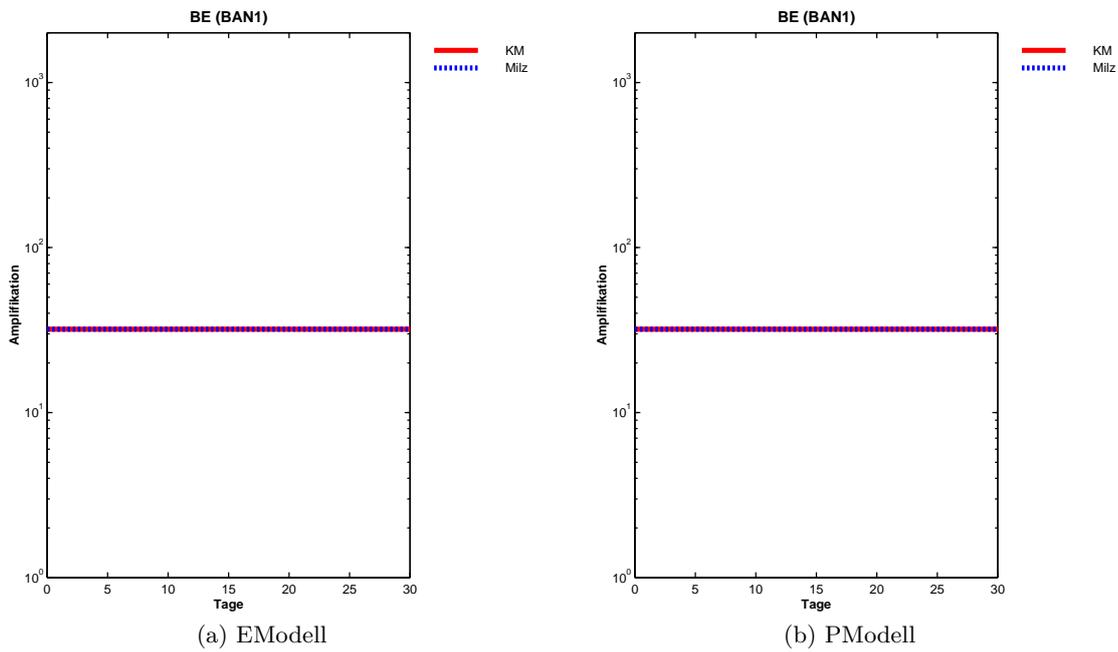


Abbildung 9.2: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation

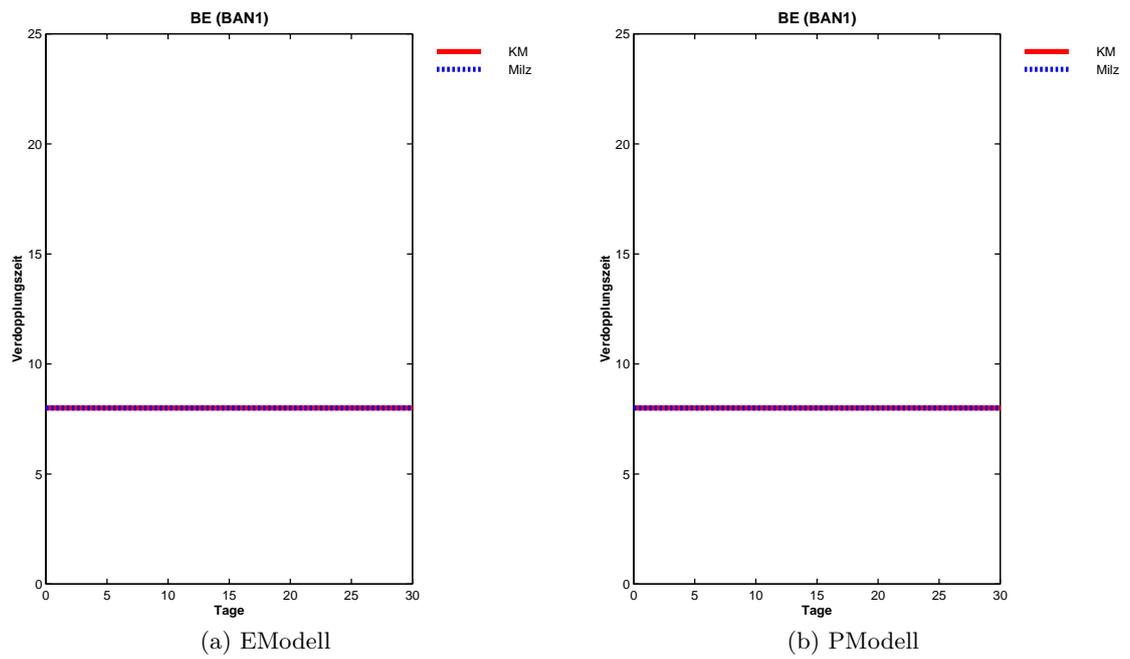


Abbildung 9.3: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verdopplungszeit

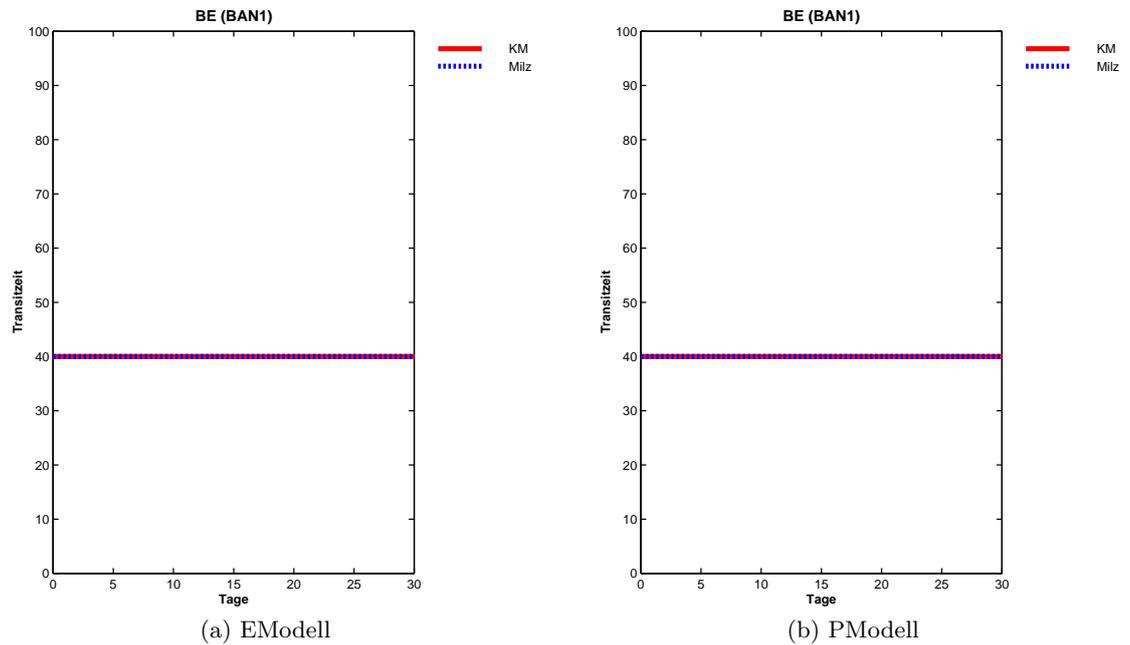


Abbildung 9.4: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit

9.3 Einfache Blutung

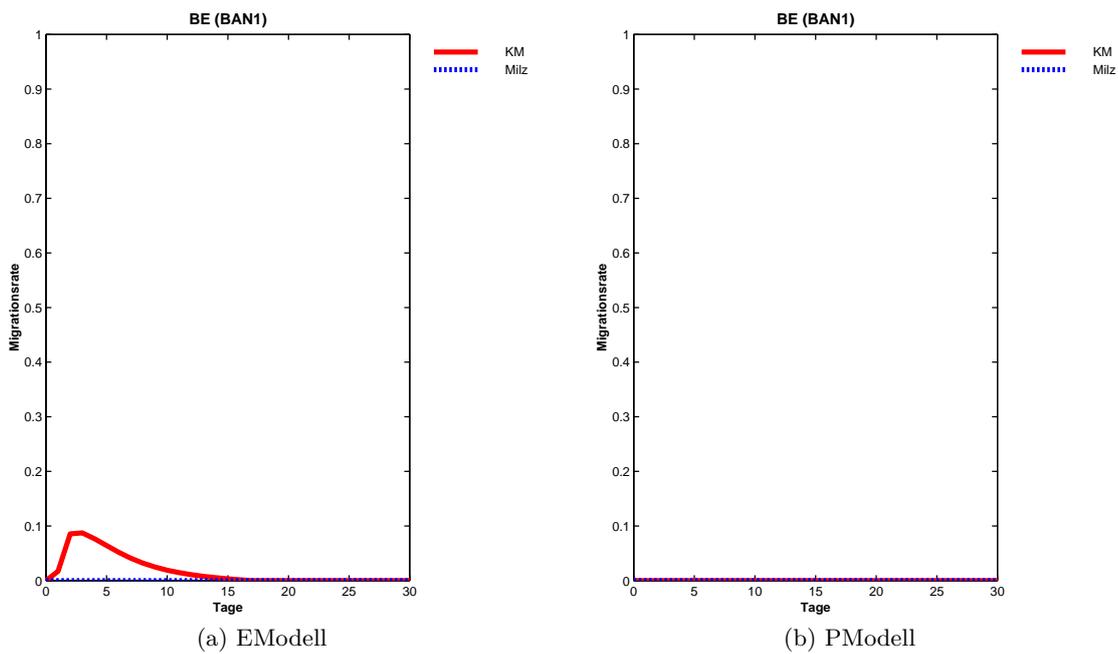


Abbildung 9.5: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate

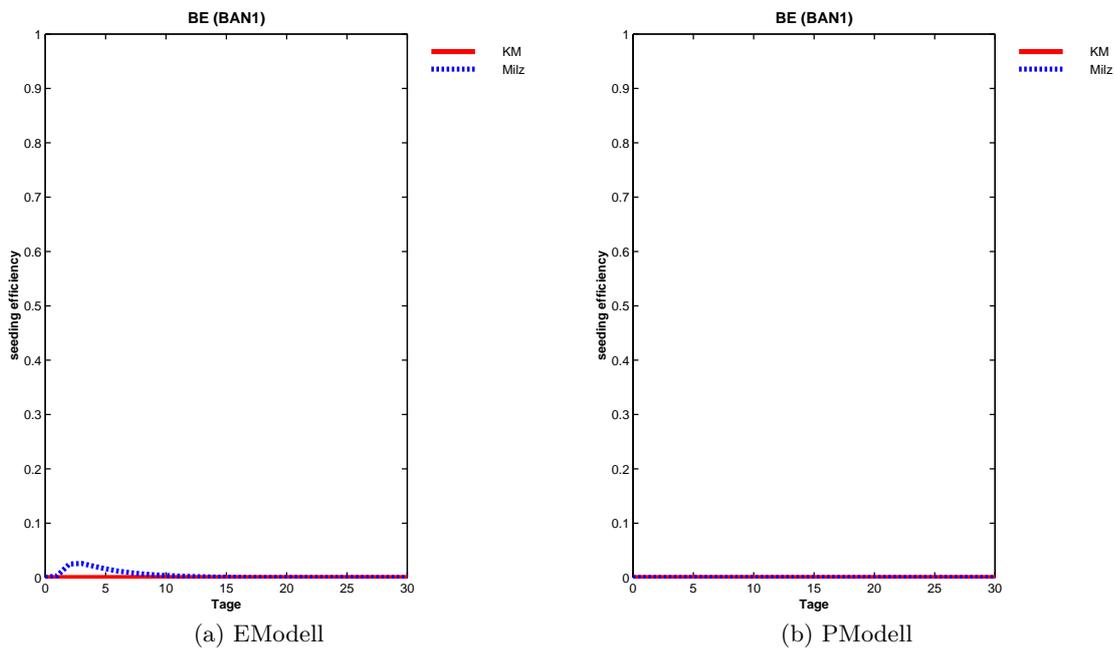


Abbildung 9.6: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency

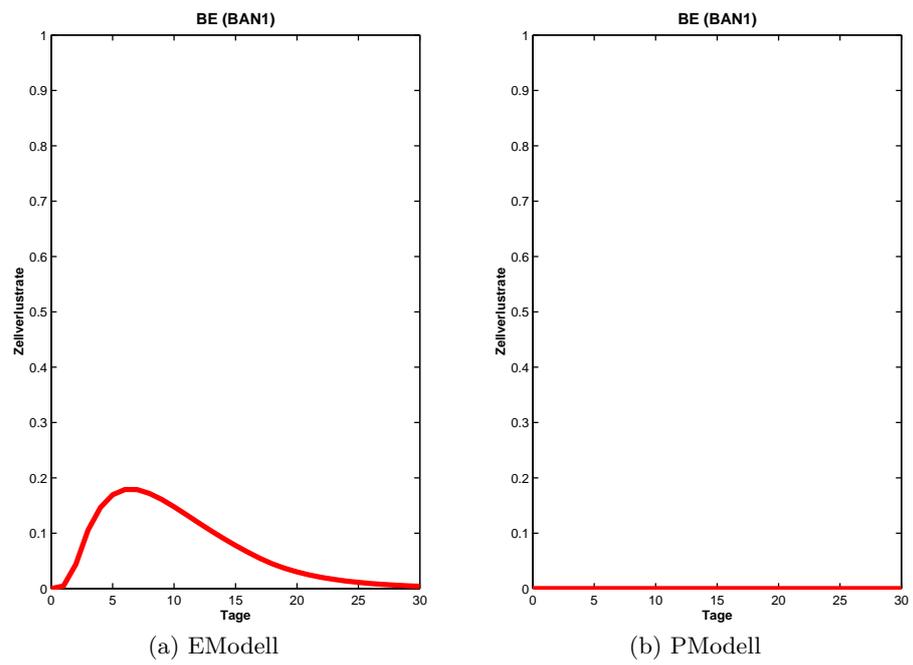


Abbildung 9.7: Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate

9.3 Einfache Blutung

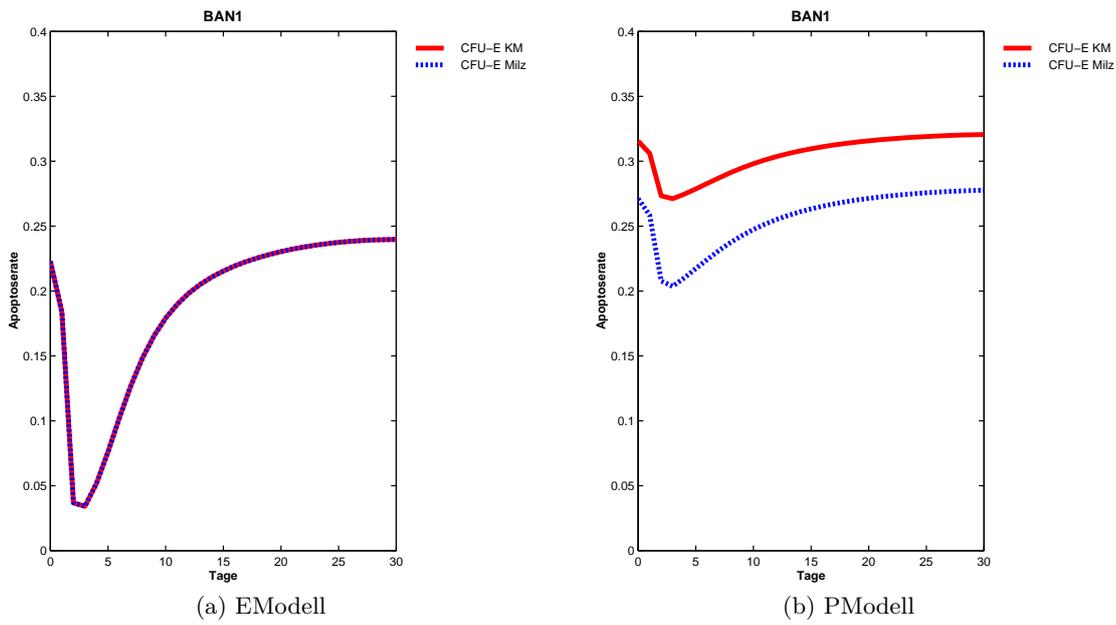


Abbildung 9.8: Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate

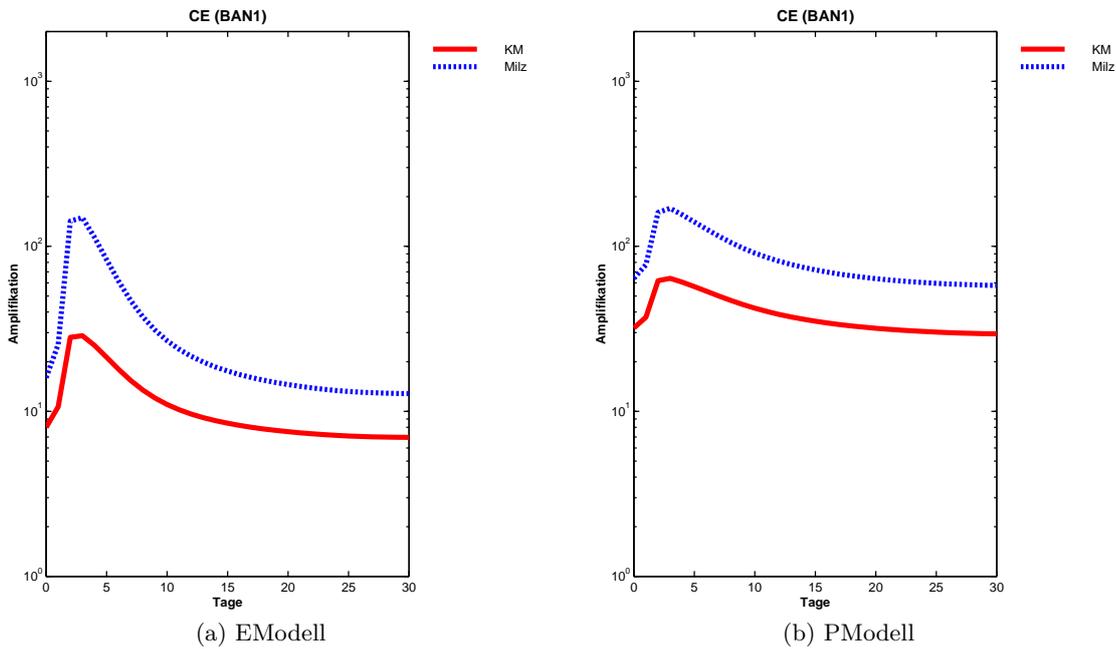


Abbildung 9.9: Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation

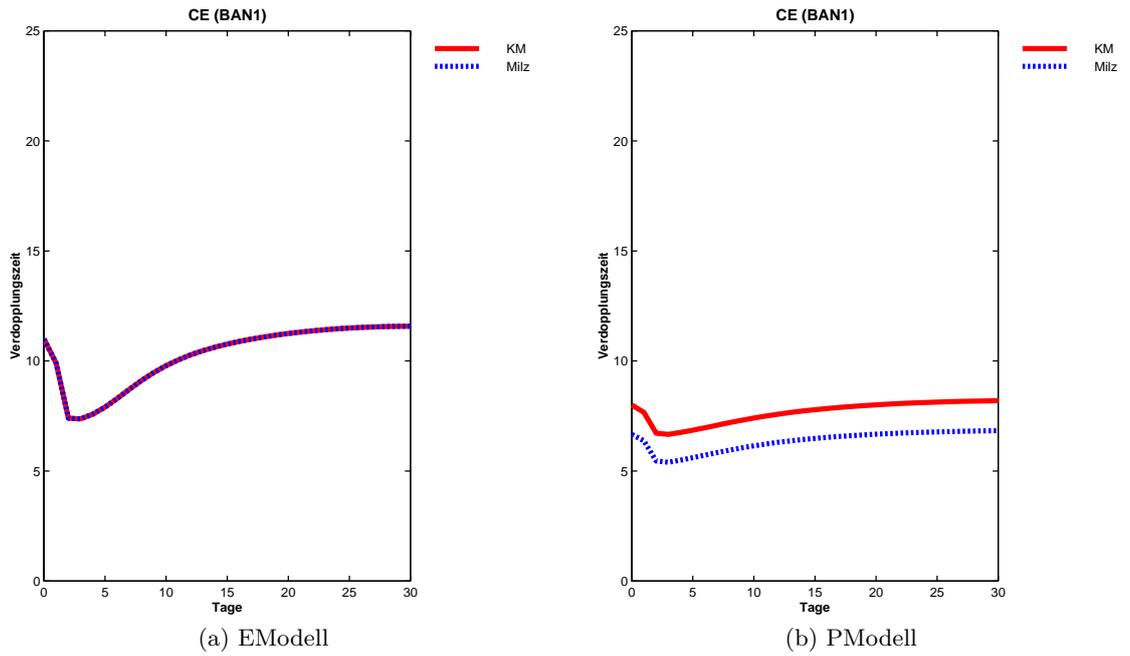


Abbildung 9.10: Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Verdopplungszeit

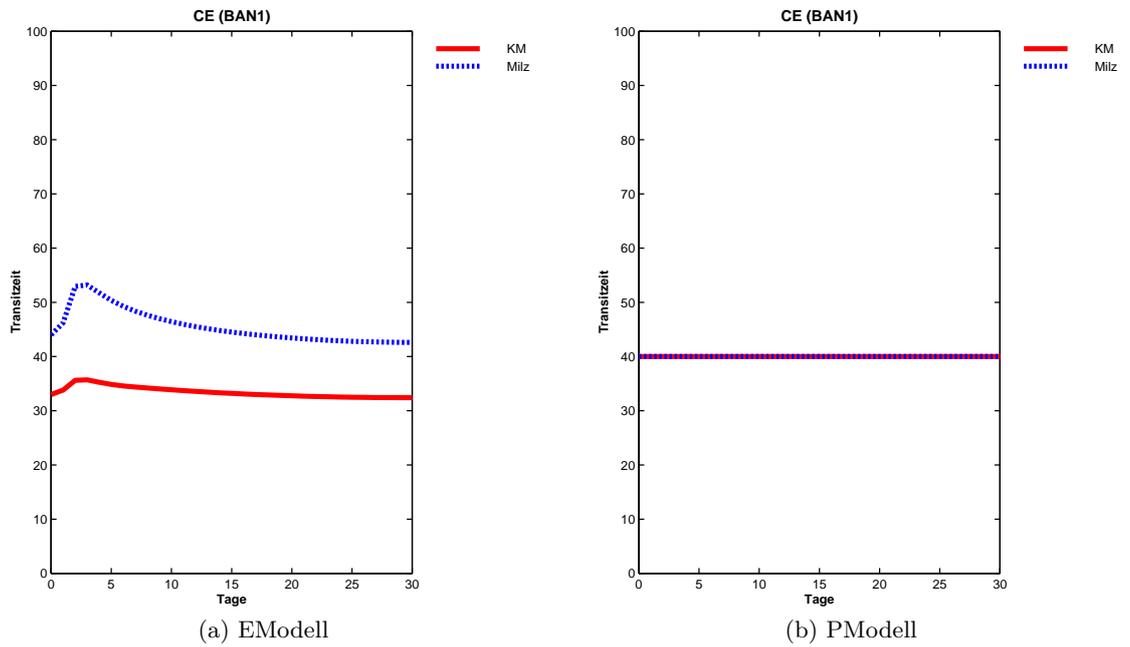


Abbildung 9.11: Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit

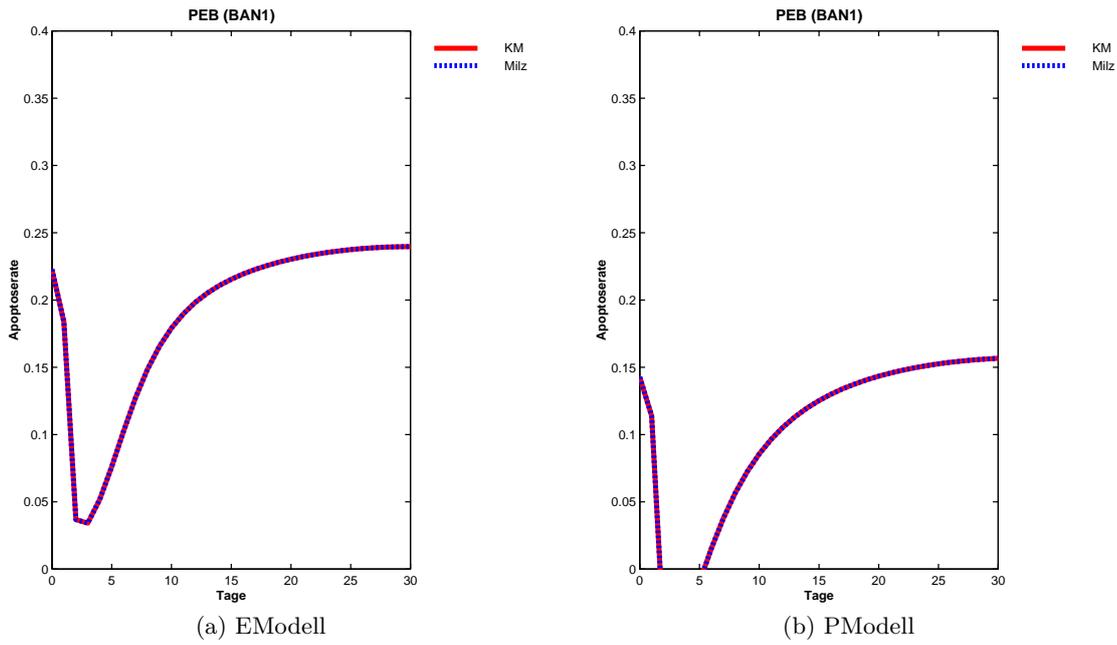


Abbildung 9.12: Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate

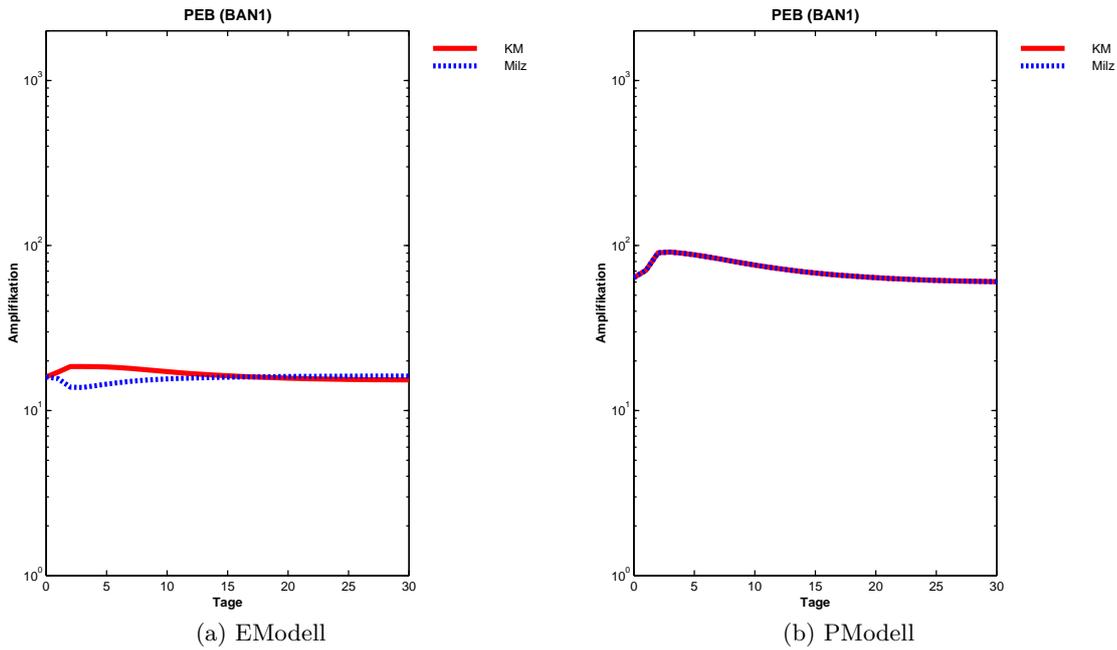


Abbildung 9.13: Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation

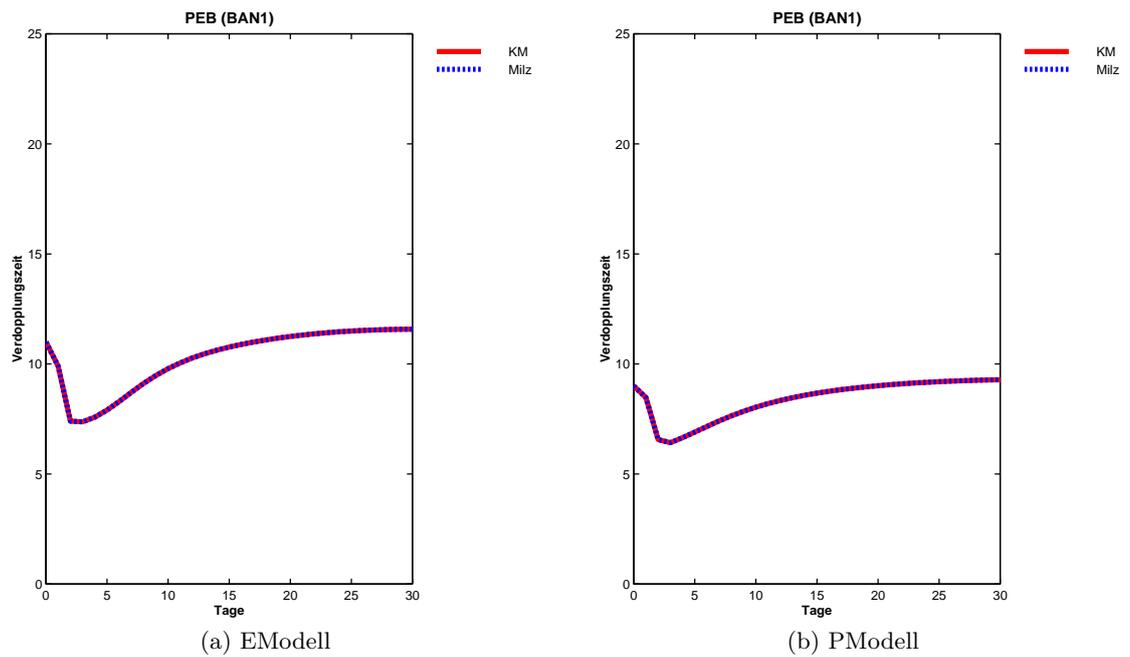


Abbildung 9.14: Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit

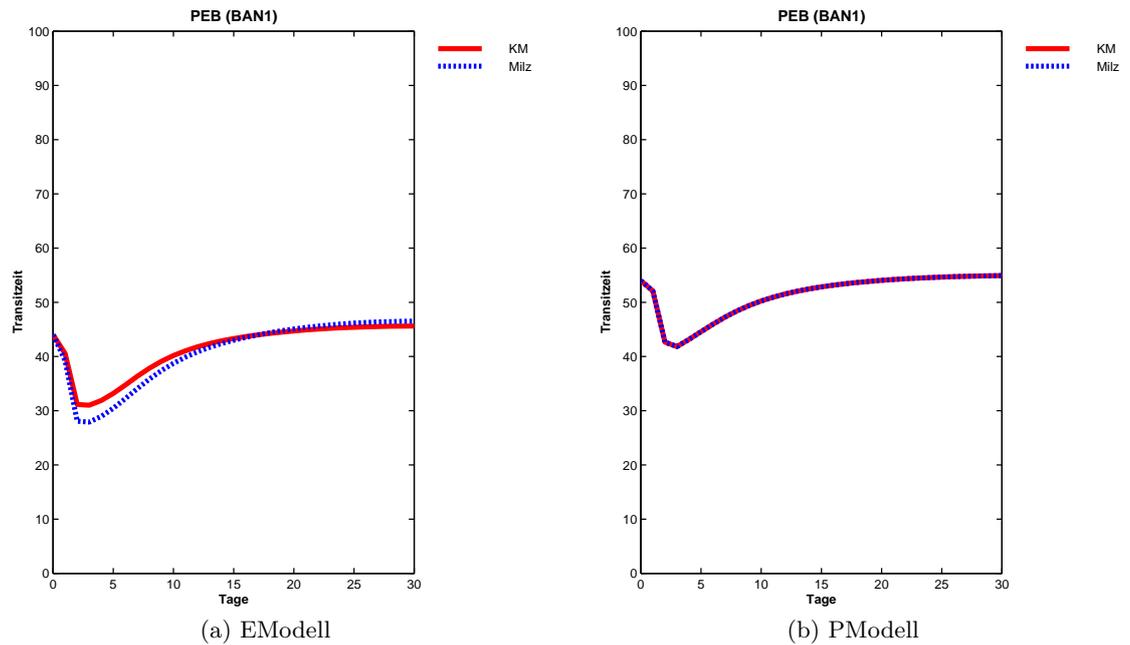


Abbildung 9.15: Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit

9.3 Einfache Blutung

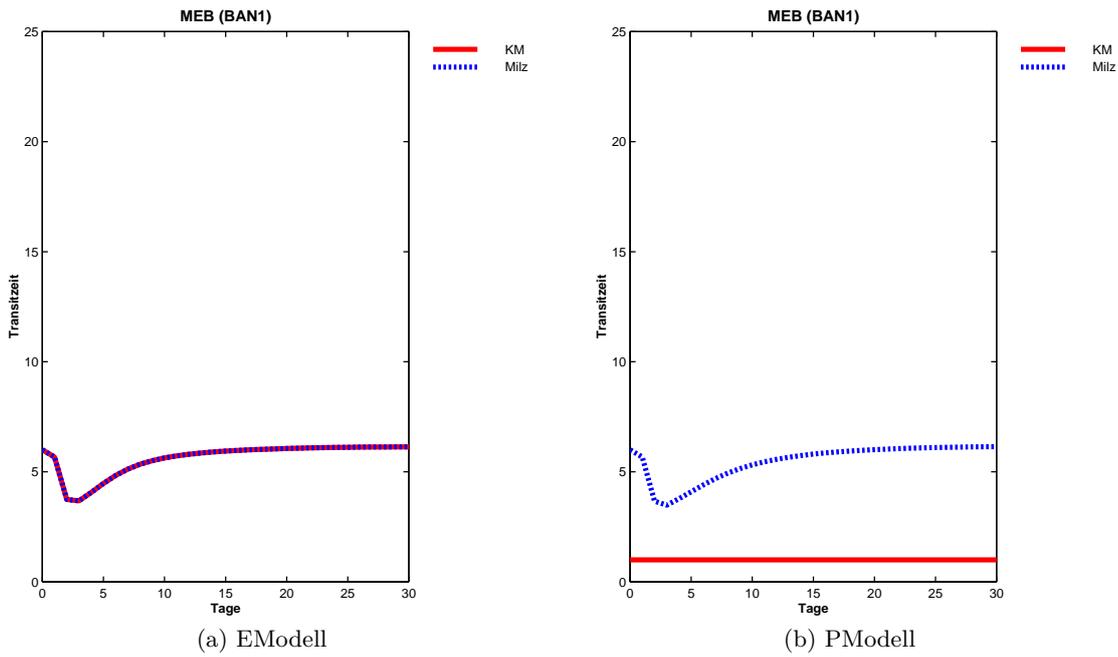


Abbildung 9.16: Einfache Blutung - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit

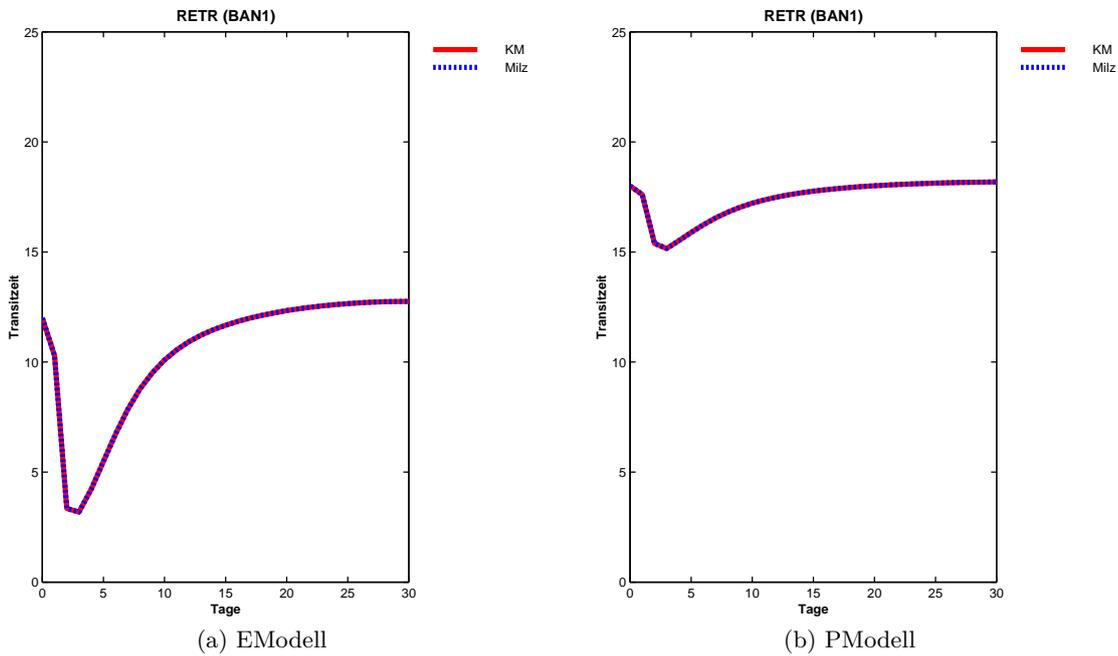


Abbildung 9.17: Einfache Blutung - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit

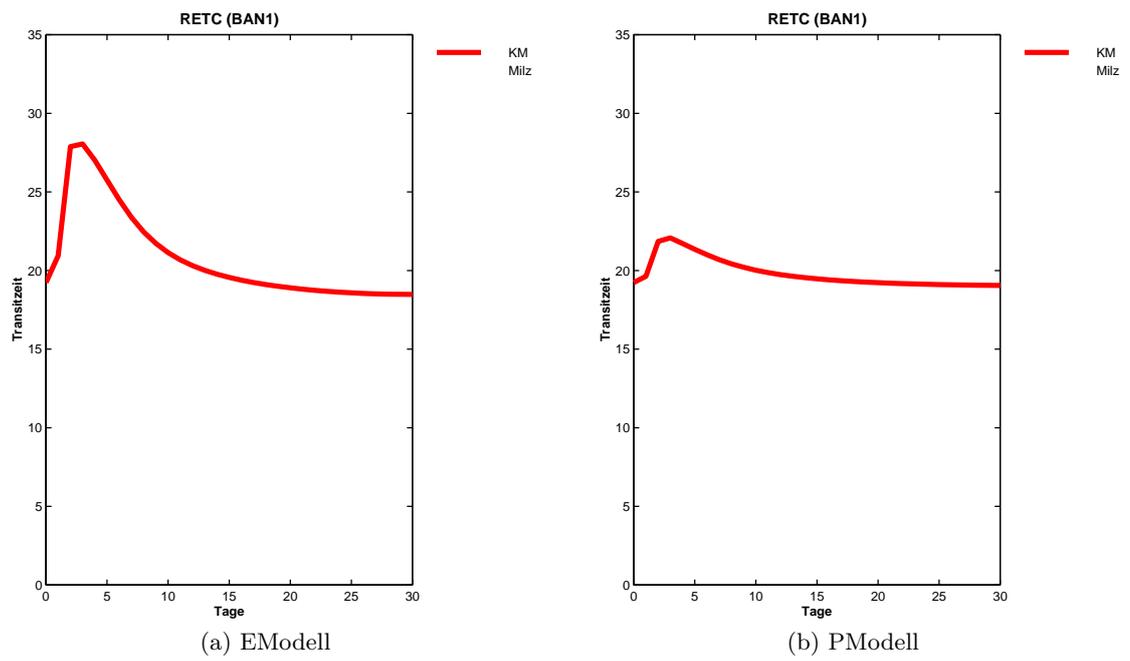


Abbildung 9.18: Einfache Blutung - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit

9.4 Mehrfache Blutung

9.4.1 Die zwecks Anpassung an eine mehrfache Blutung abgeänderten Parameter des E- und PModells

Tabelle 9.35: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 1 3 3 4]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.5 0.4 0.2 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

Tabelle 9.36: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 1 3 3 4]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.5 0.4 0.2 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.4.2 Mehrfache Blutung - Kenndaten der verschiedene Zellkompartimente

9.4 Mehrfache Blutung

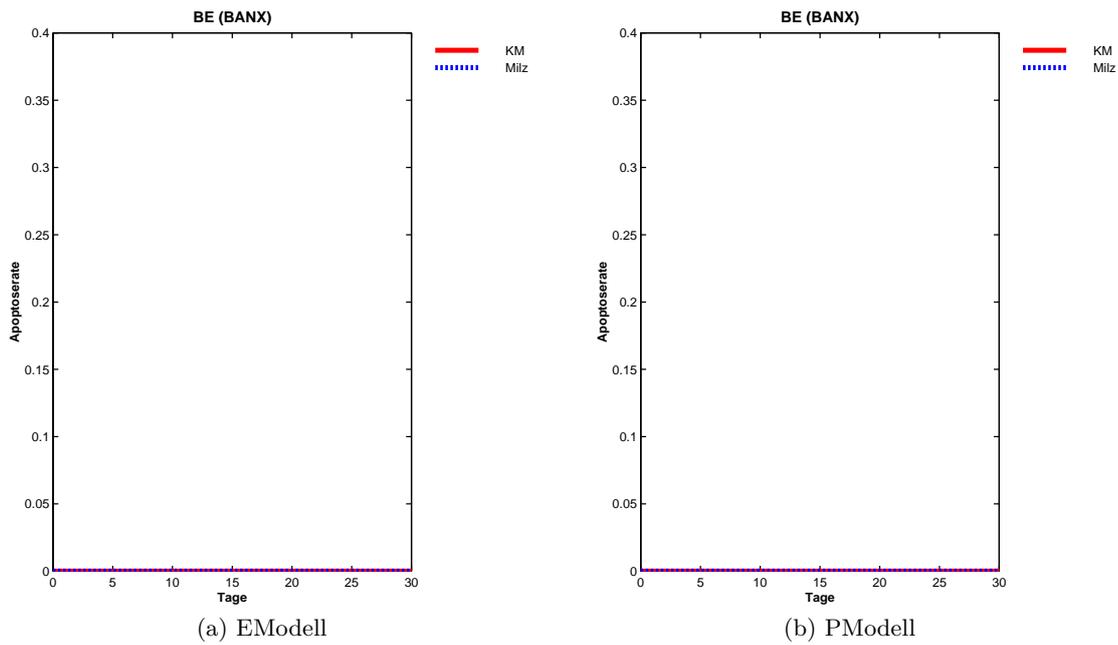


Abbildung 9.19: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate

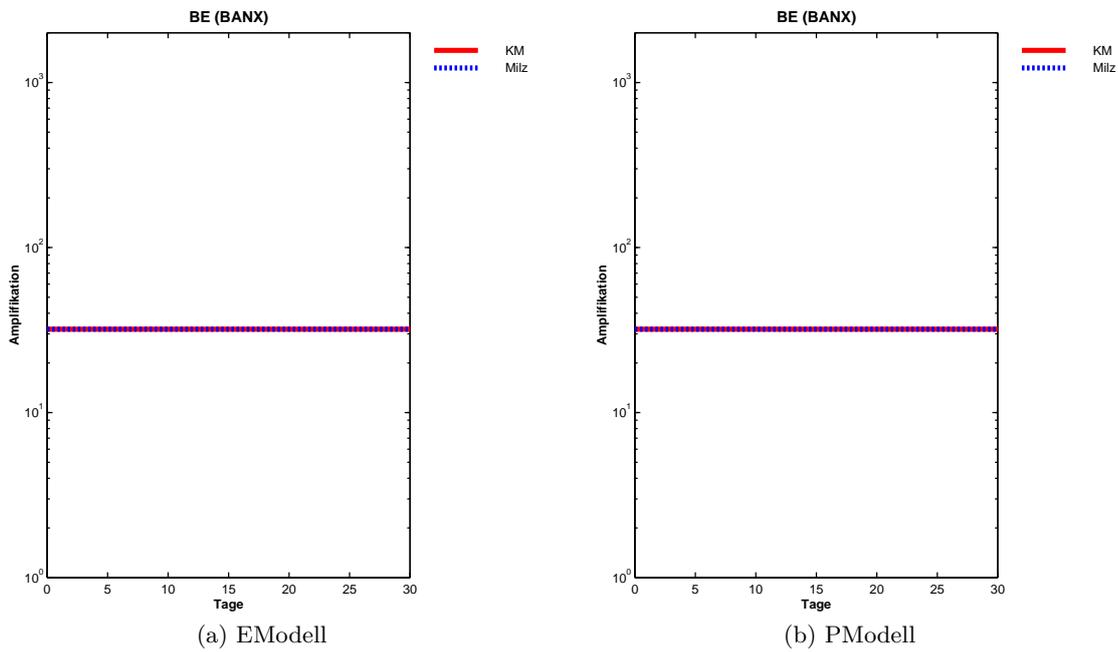


Abbildung 9.20: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation

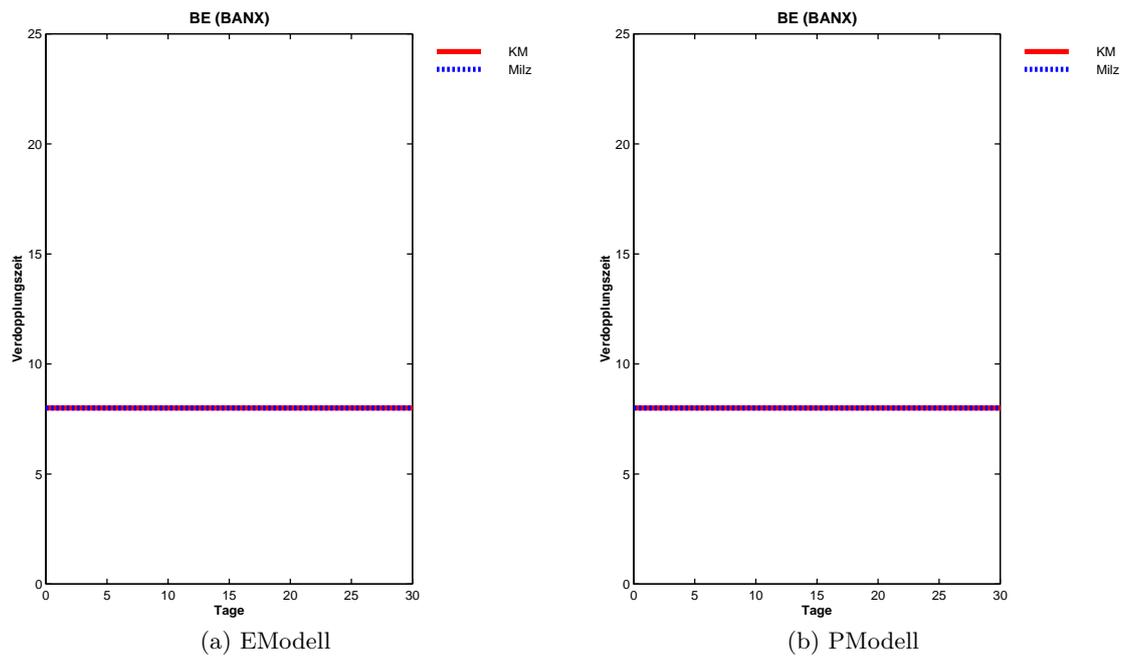


Abbildung 9.21: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verdopplungszeit

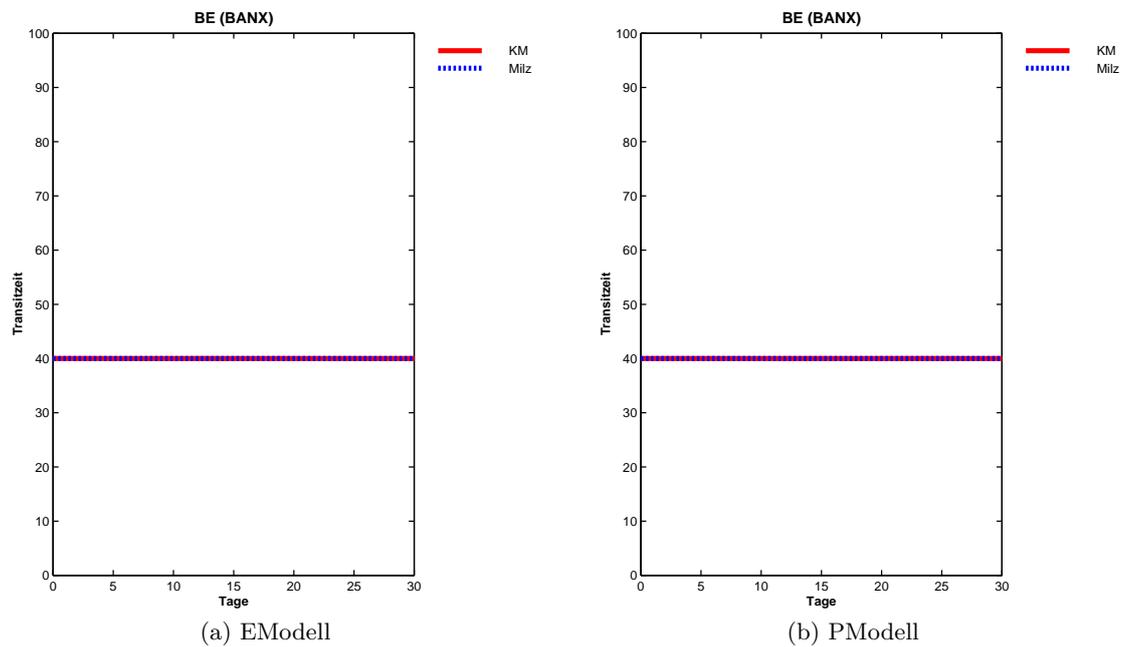


Abbildung 9.22: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit

9.4 Mehrfache Blutung

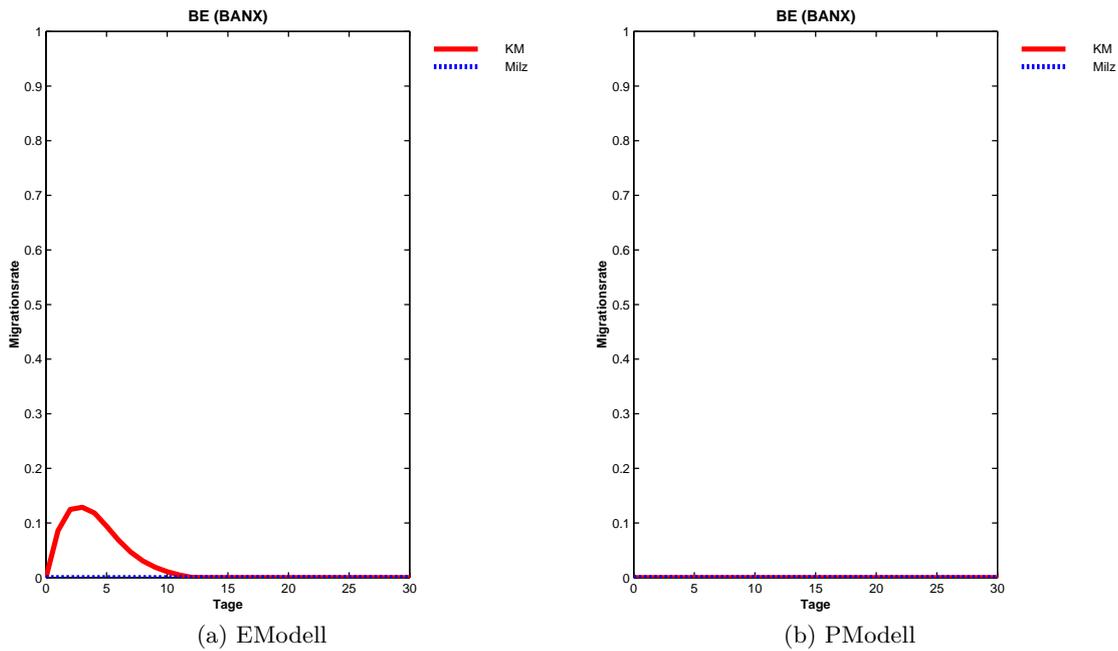


Abbildung 9.23: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate

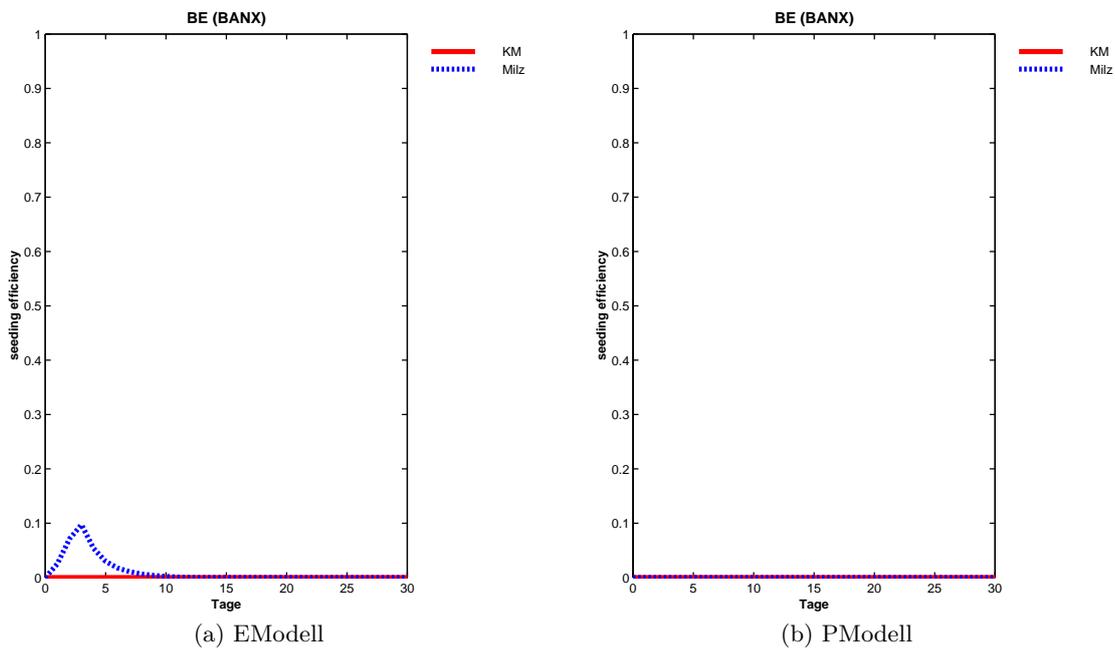


Abbildung 9.24: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency

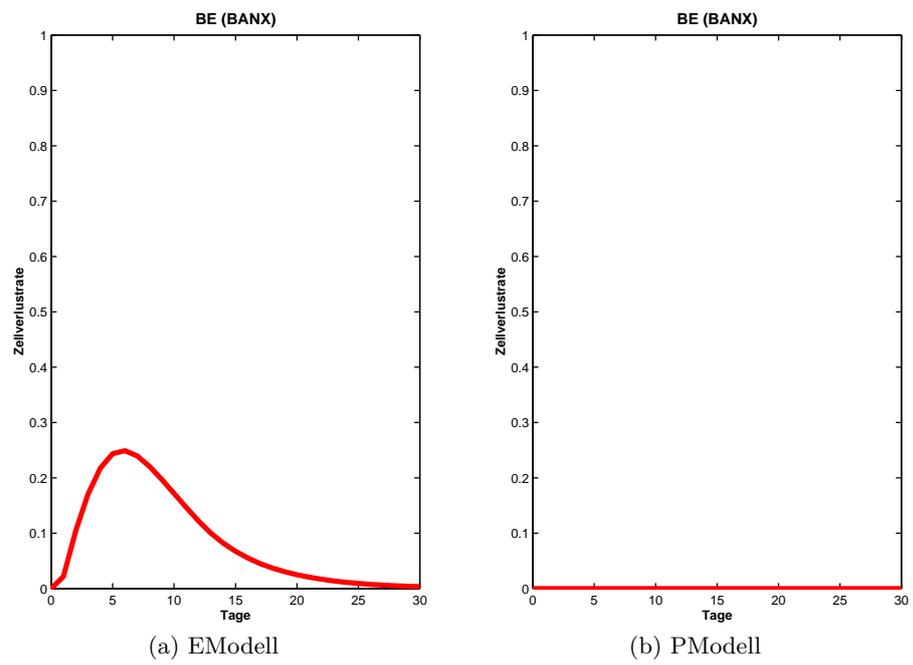


Abbildung 9.25: Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate

9.4 Mehrfache Blutung

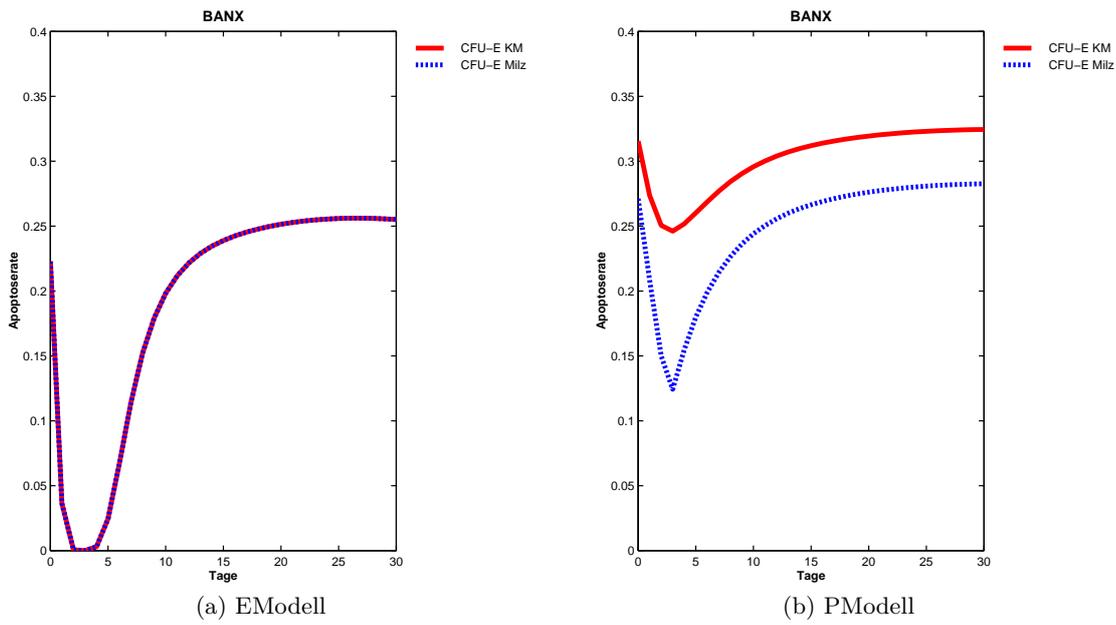


Abbildung 9.26: Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate

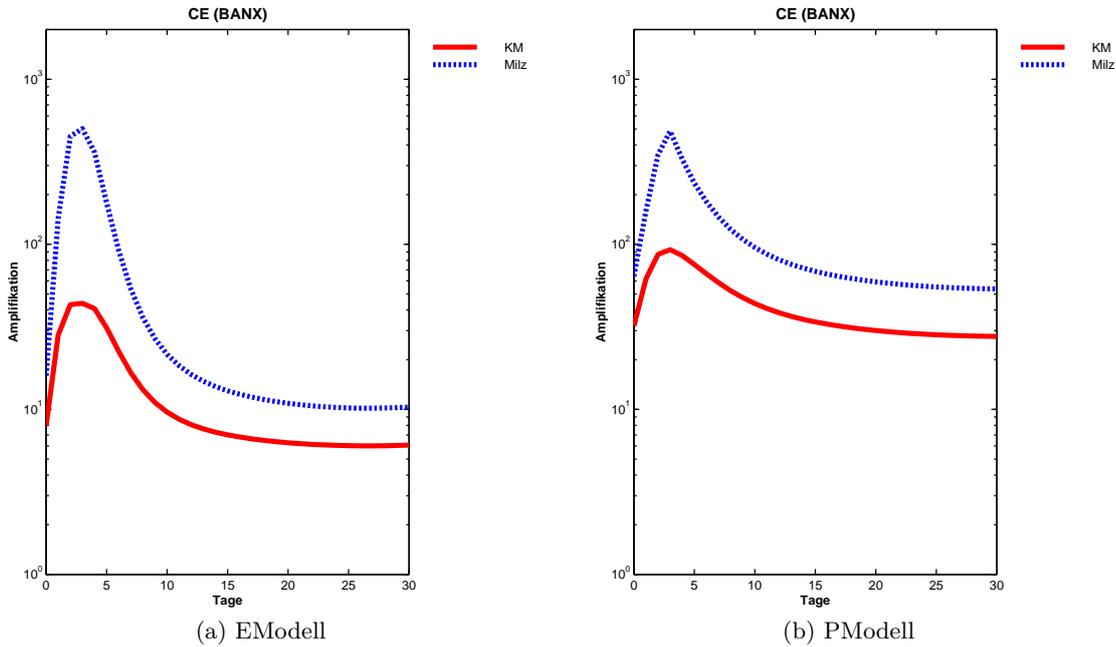


Abbildung 9.27: Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation

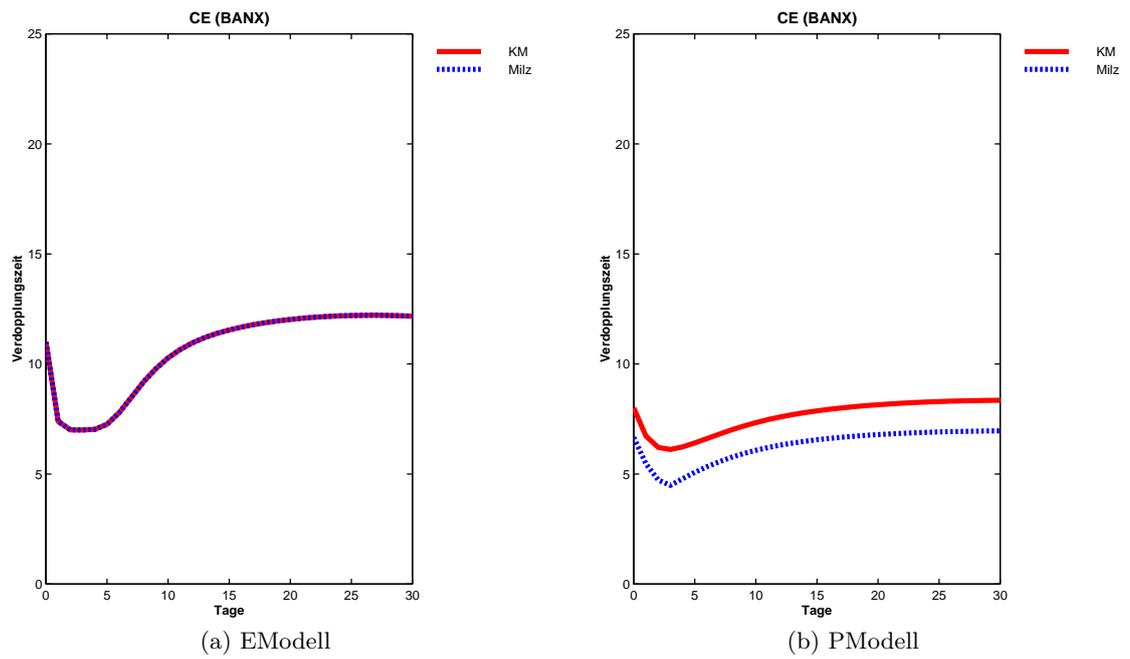


Abbildung 9.28: Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Verdopplungszeit

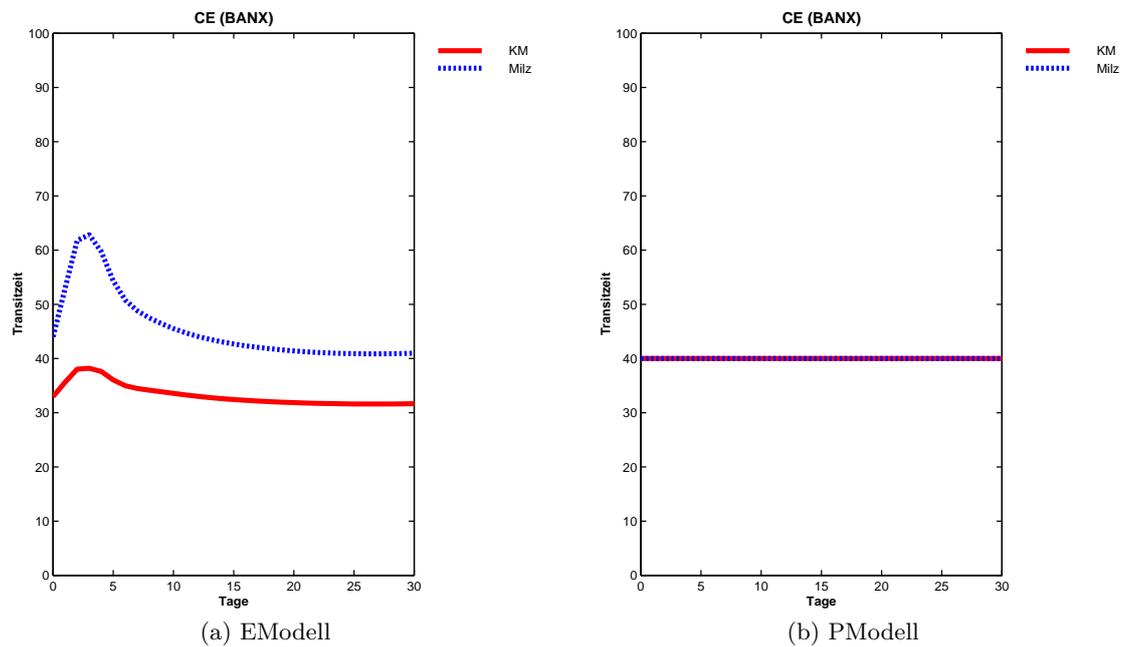


Abbildung 9.29: Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit

9.4 Mehrfache Blutung

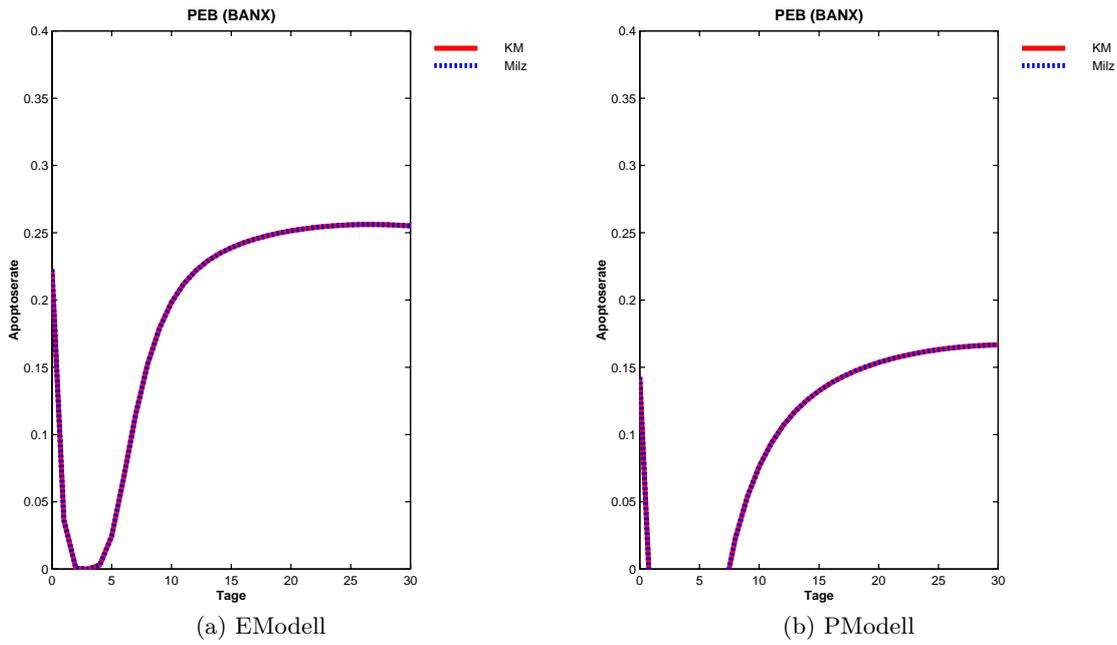


Abbildung 9.30: Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate

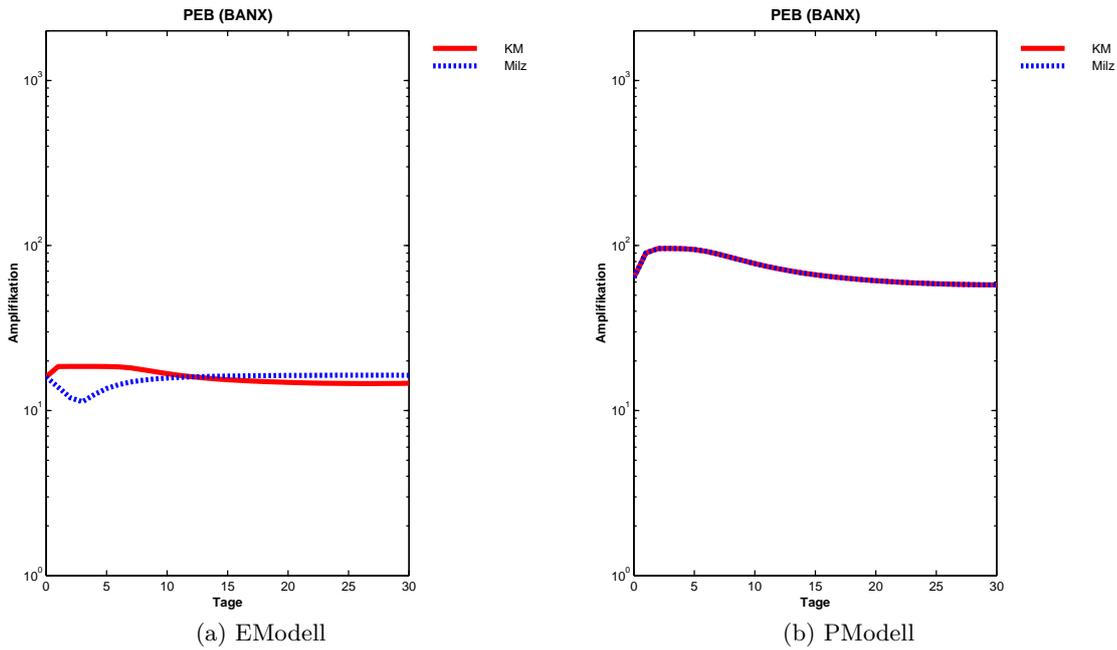


Abbildung 9.31: Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation

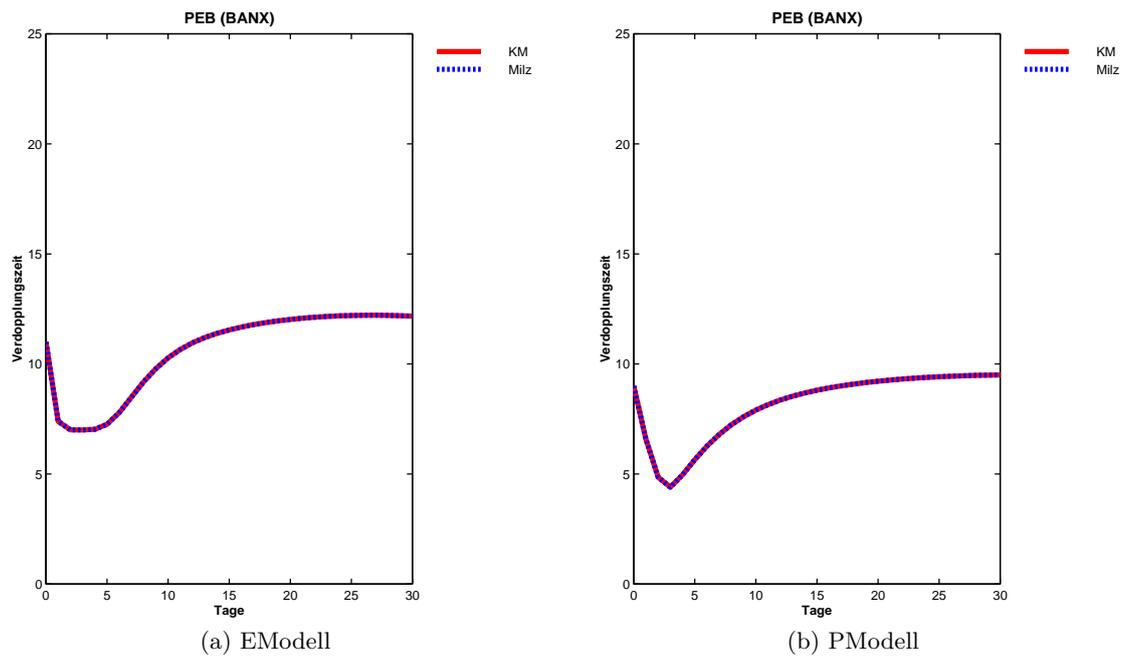


Abbildung 9.32: Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit

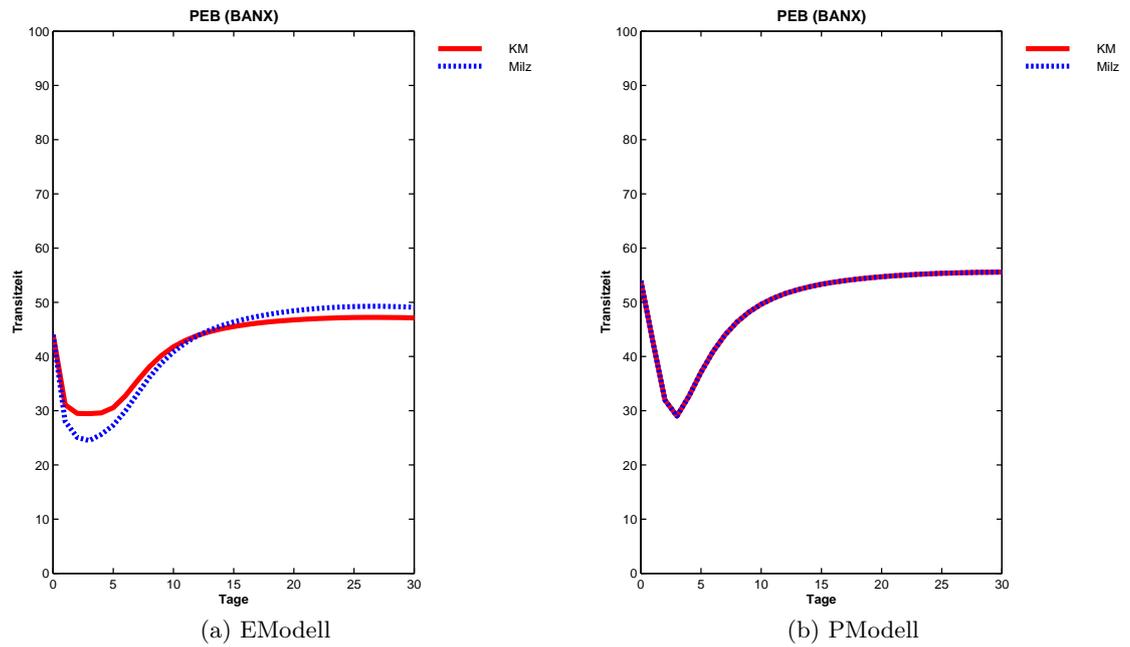


Abbildung 9.33: Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit

9.4 Mehrfache Blutung

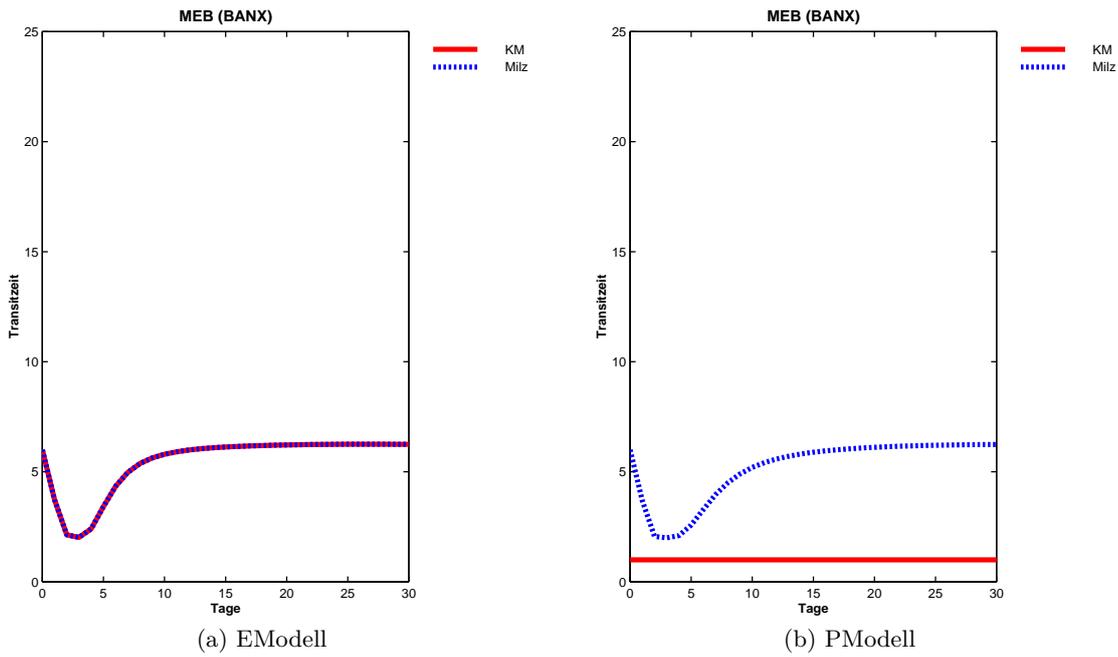


Abbildung 9.34: Mehrfache Blutung - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit

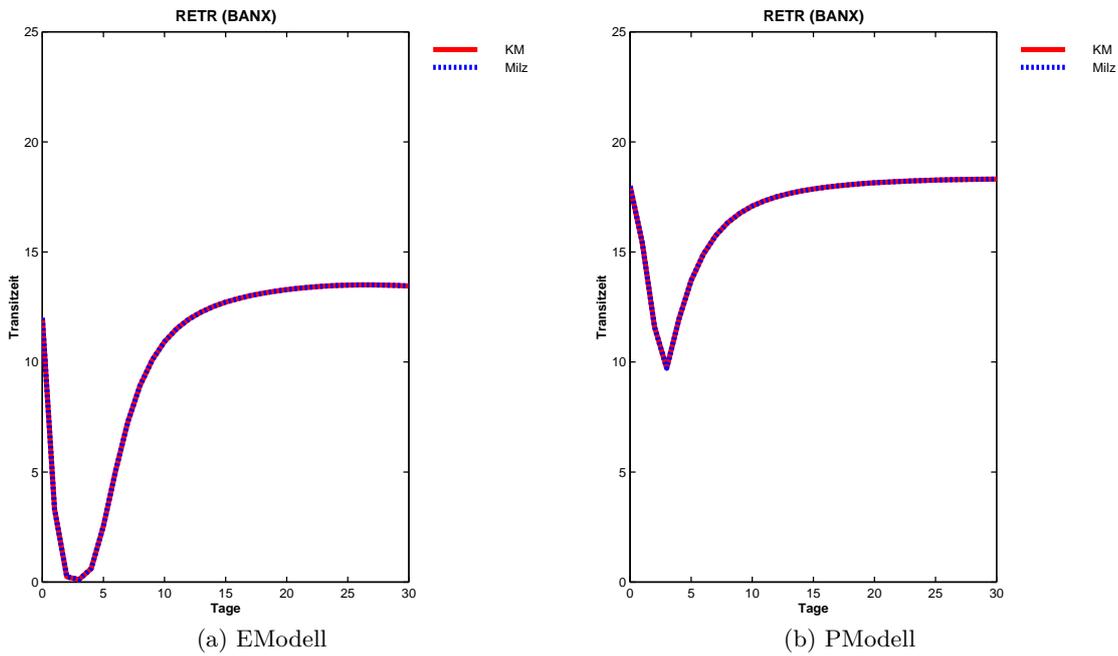


Abbildung 9.35: Mehrfache Blutung - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit

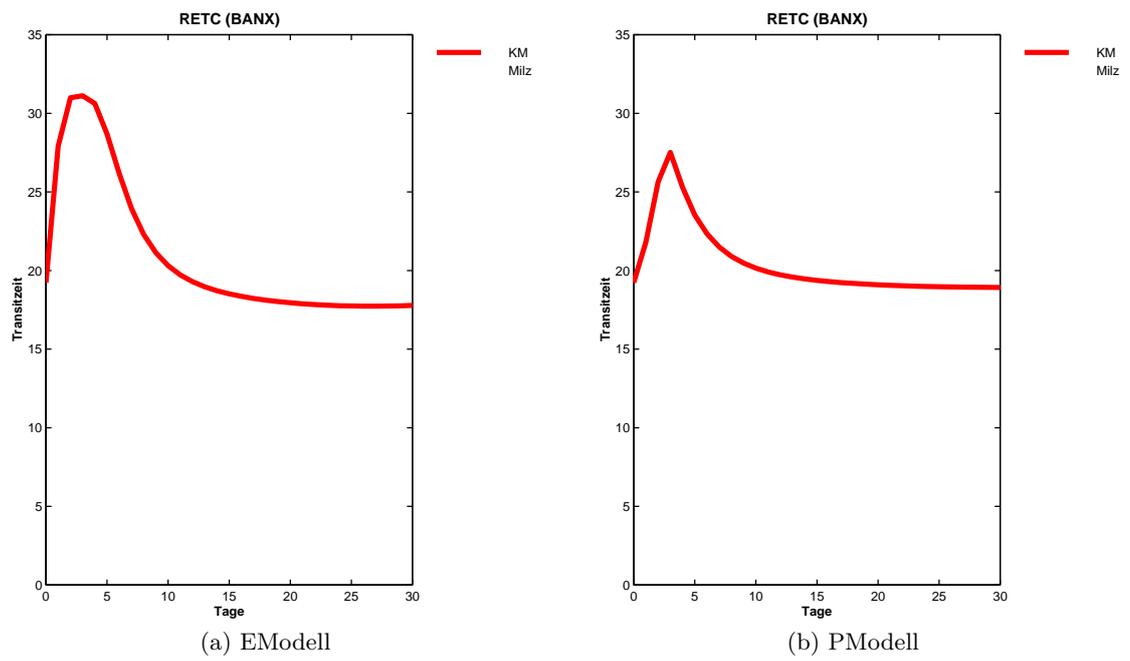


Abbildung 9.36: Mehrfache Blutung - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

9.5.1 Die zwecks Anpassung an eine PHZ-induzierte hämolytische Anämie abgeänderten Parameter des E- und PModells

Tabelle 9.37: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 1 4 4 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 0.5 0.4 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

Tabelle 9.38: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 1 4 4 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 0.5 0.4 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.5.2 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der verschiedenen Zellkompartimente

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

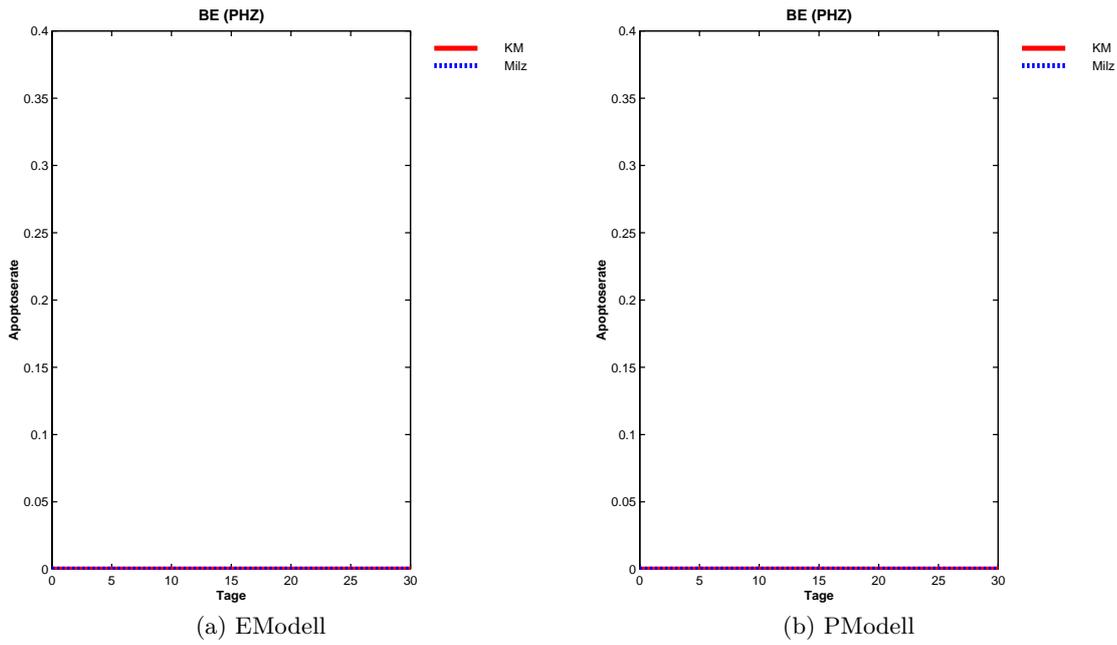


Abbildung 9.37: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate

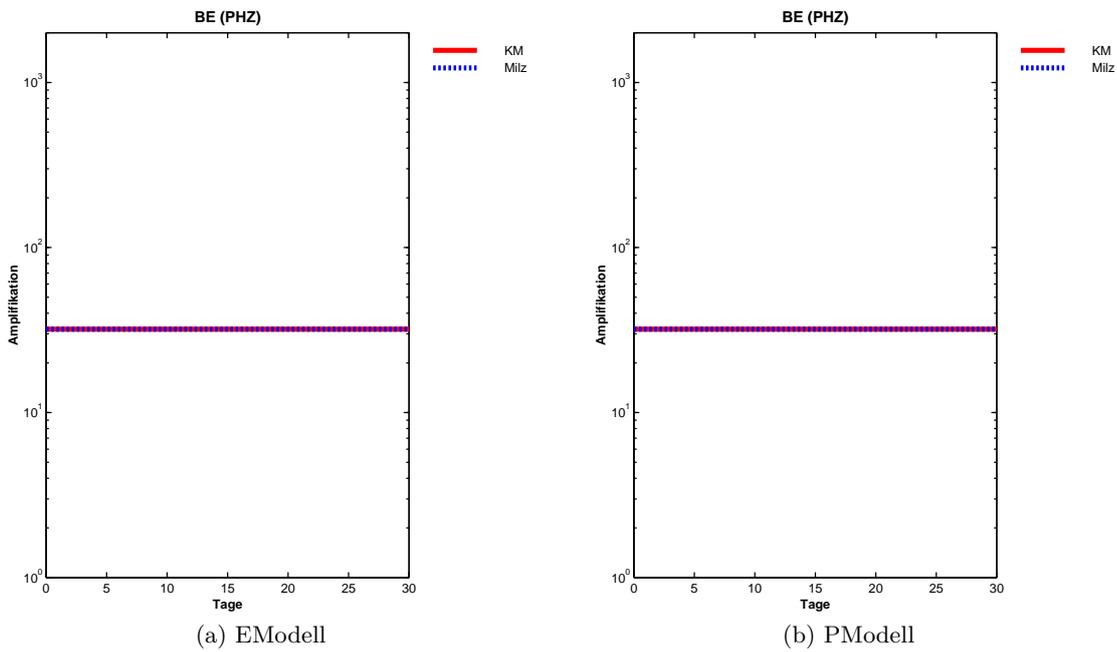


Abbildung 9.38: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation

9 Anhang

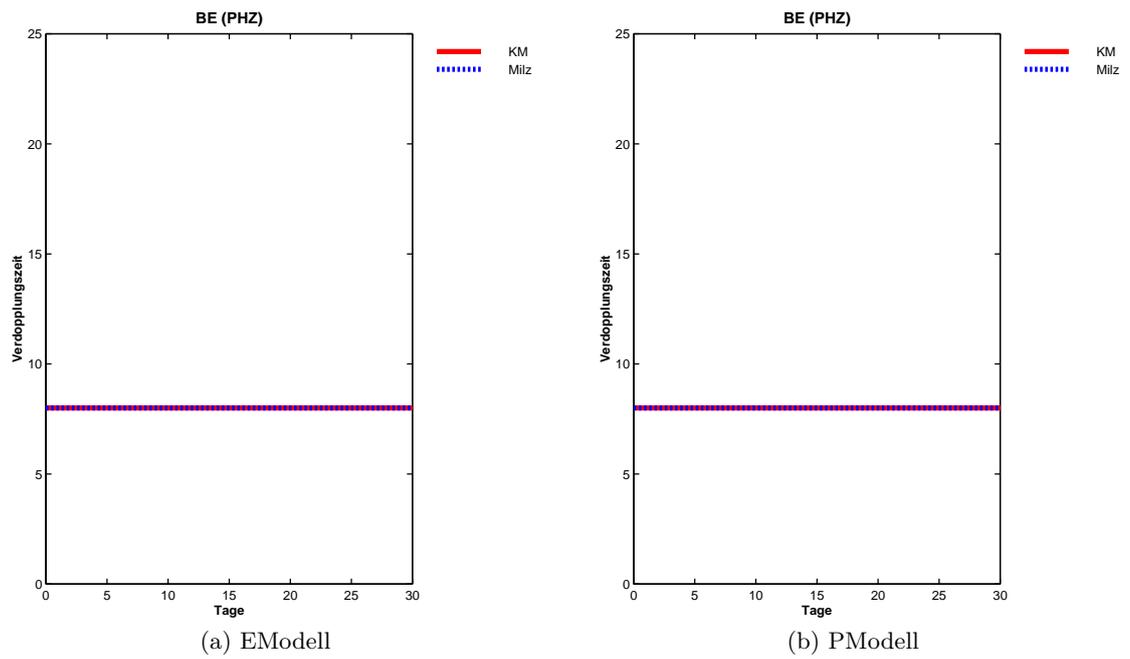


Abbildung 9.39: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verdopplungszeit

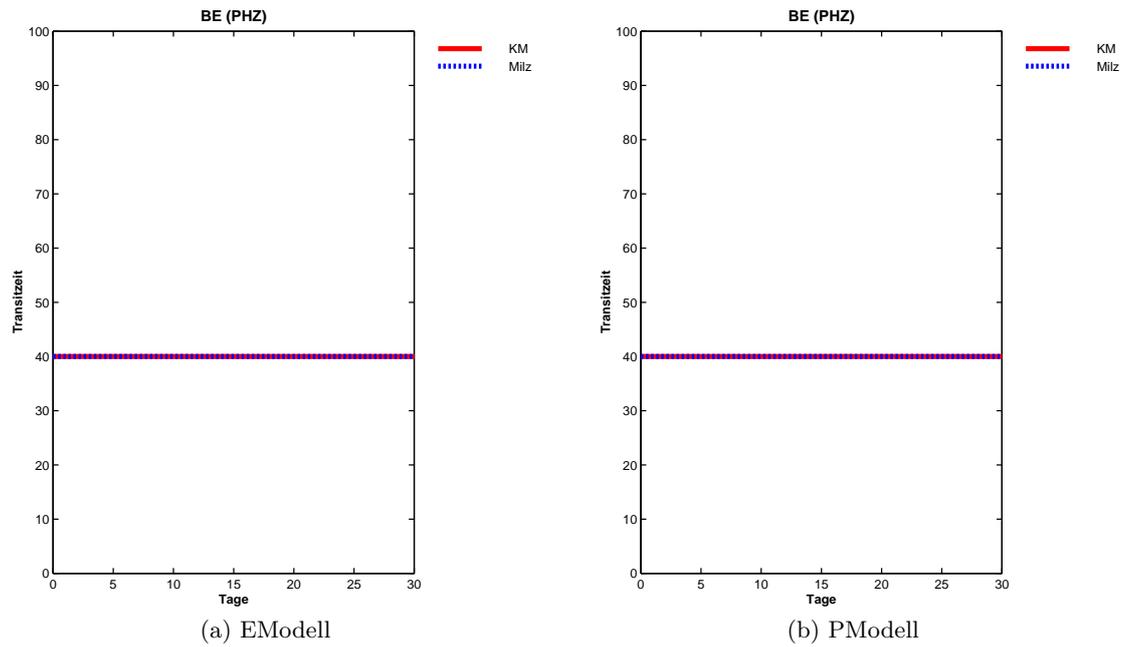


Abbildung 9.40: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

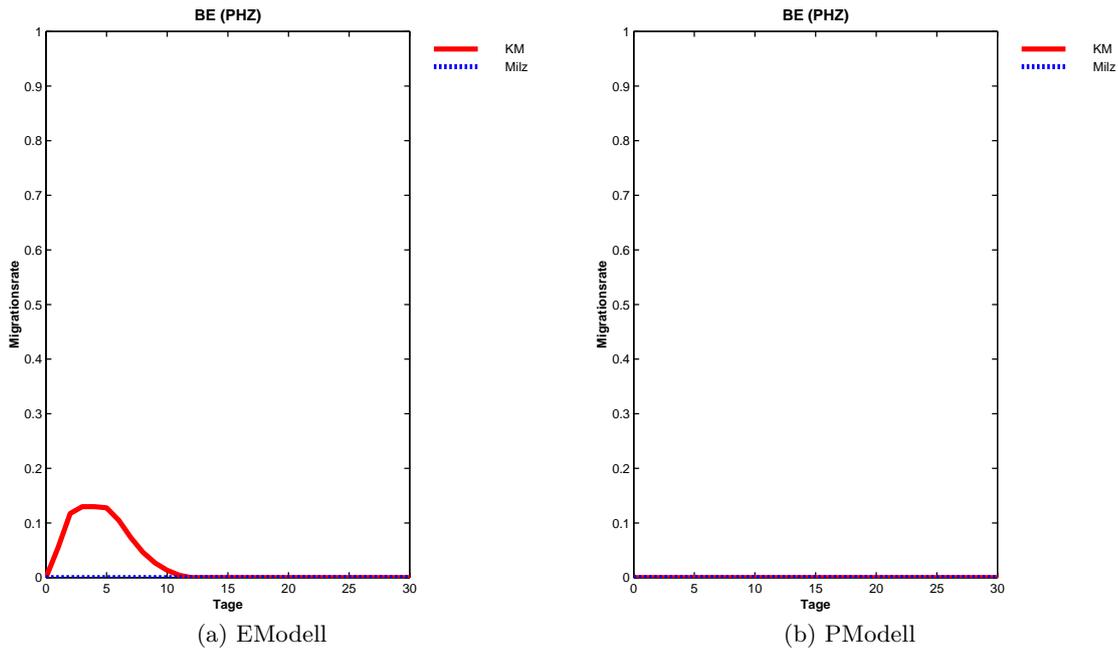


Abbildung 9.41: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate

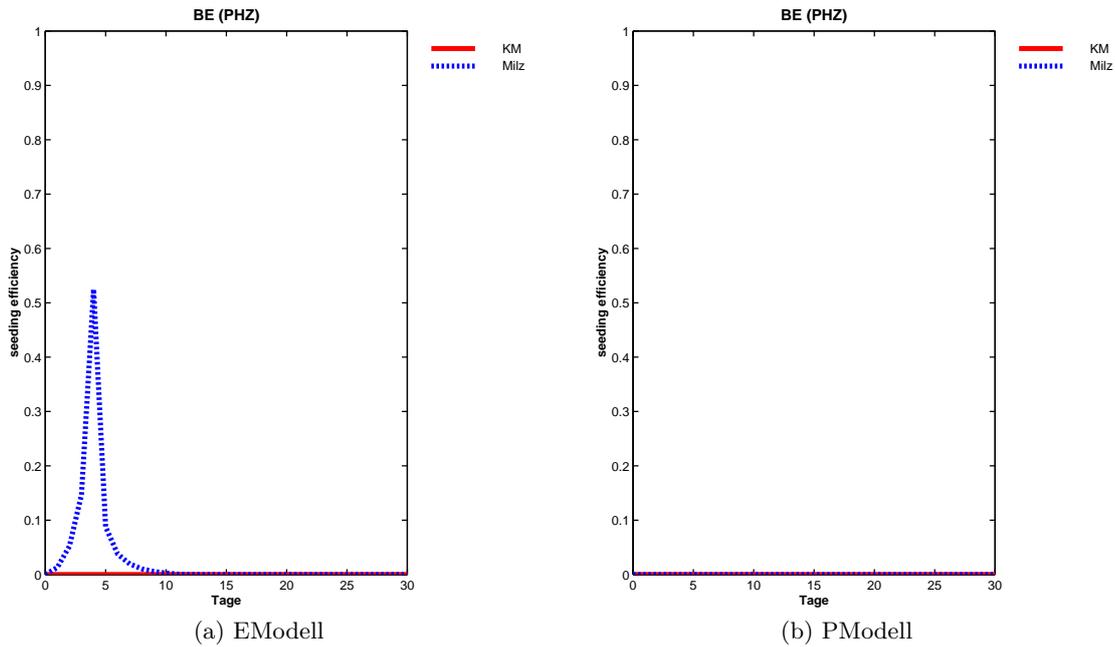


Abbildung 9.42: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency

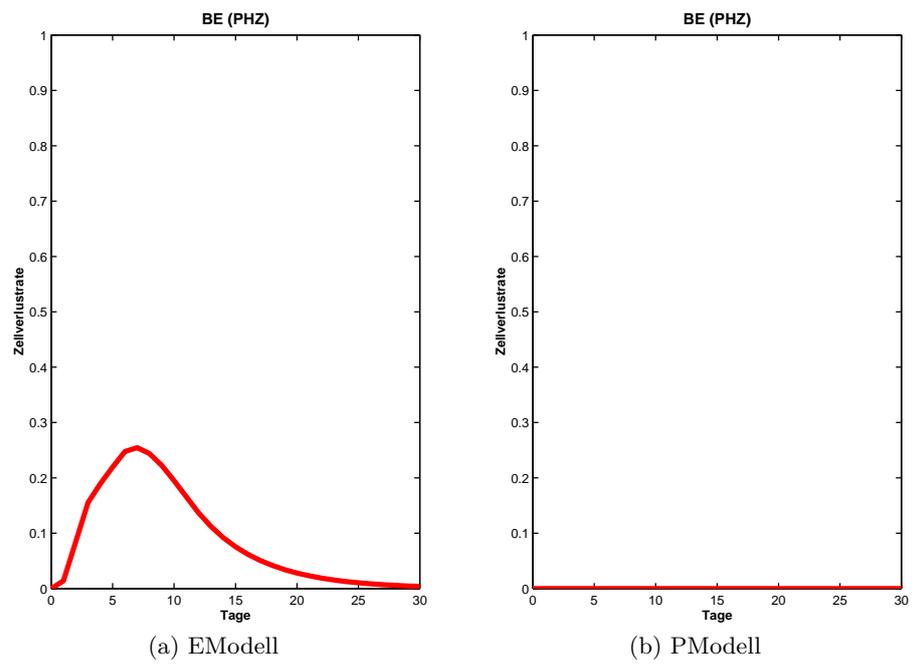


Abbildung 9.43: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

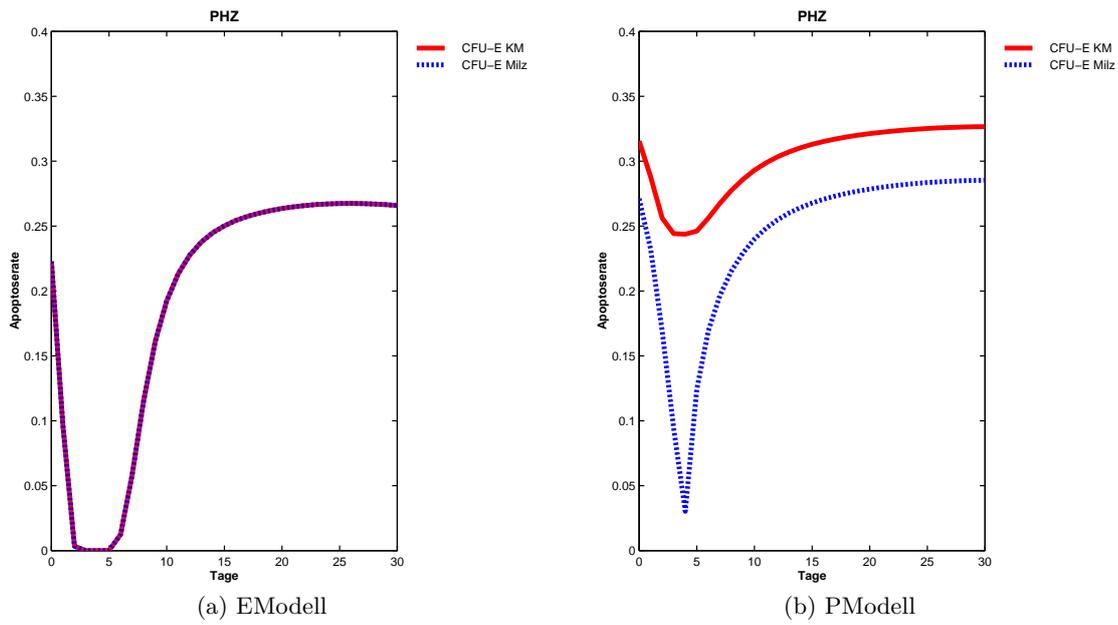


Abbildung 9.44: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate

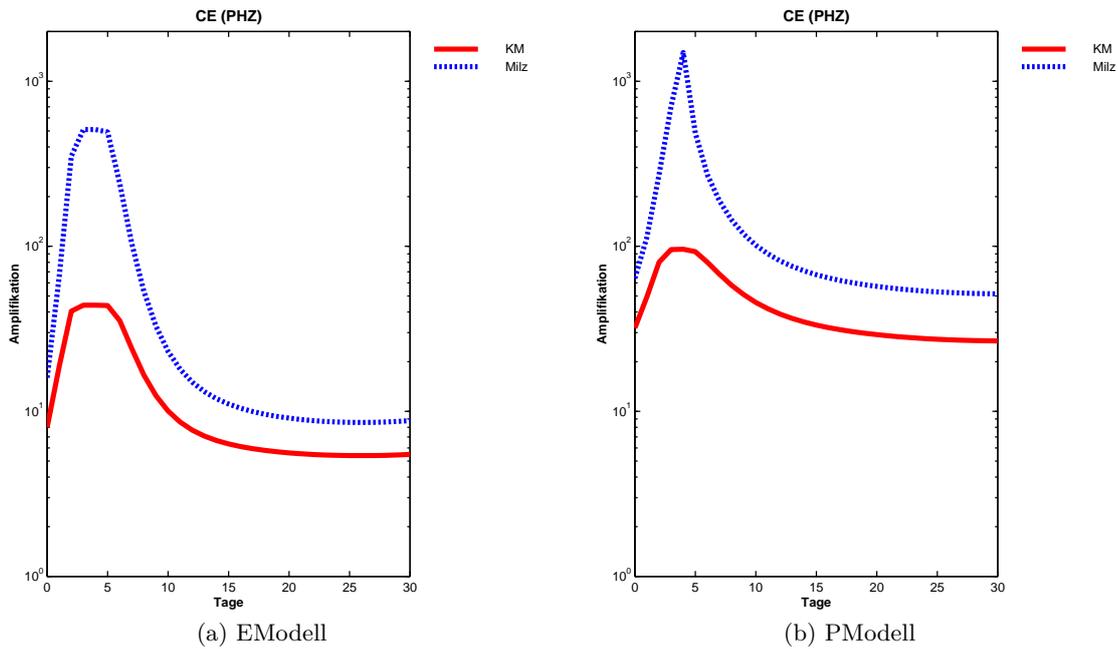


Abbildung 9.45: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation

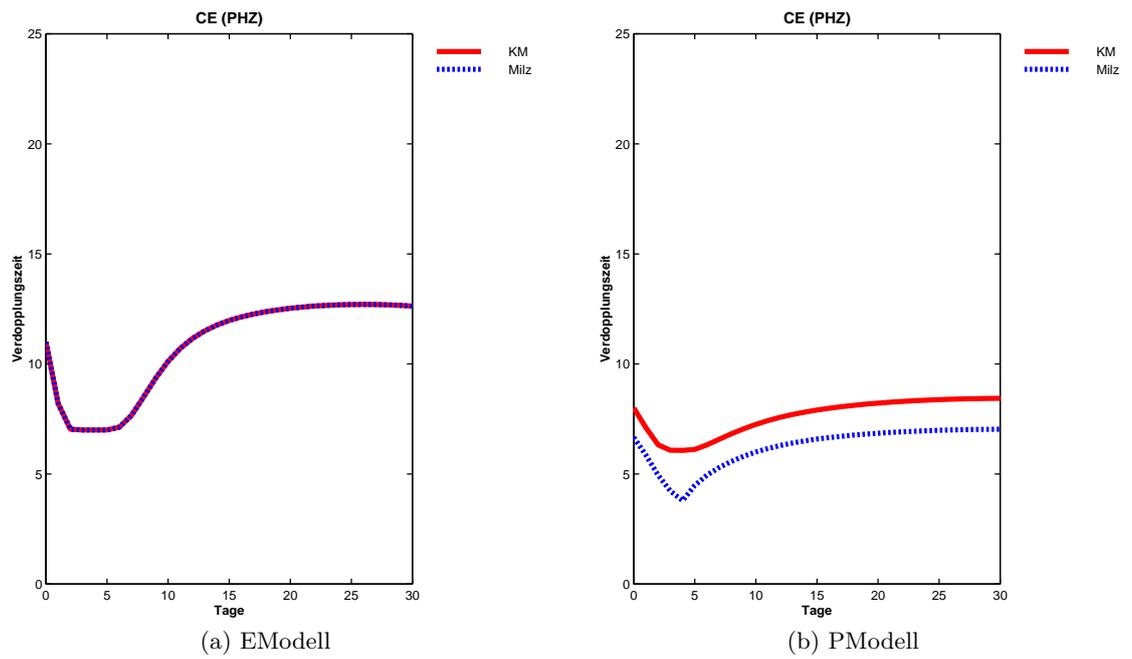


Abbildung 9.46: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Verdopplungszeit

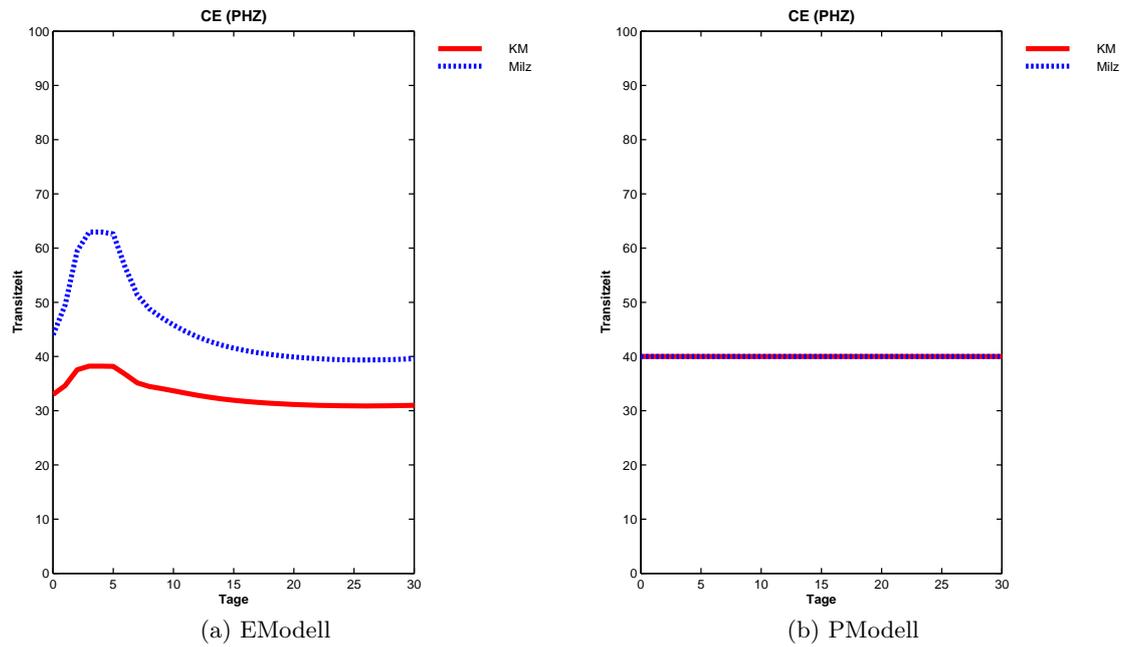


Abbildung 9.47: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

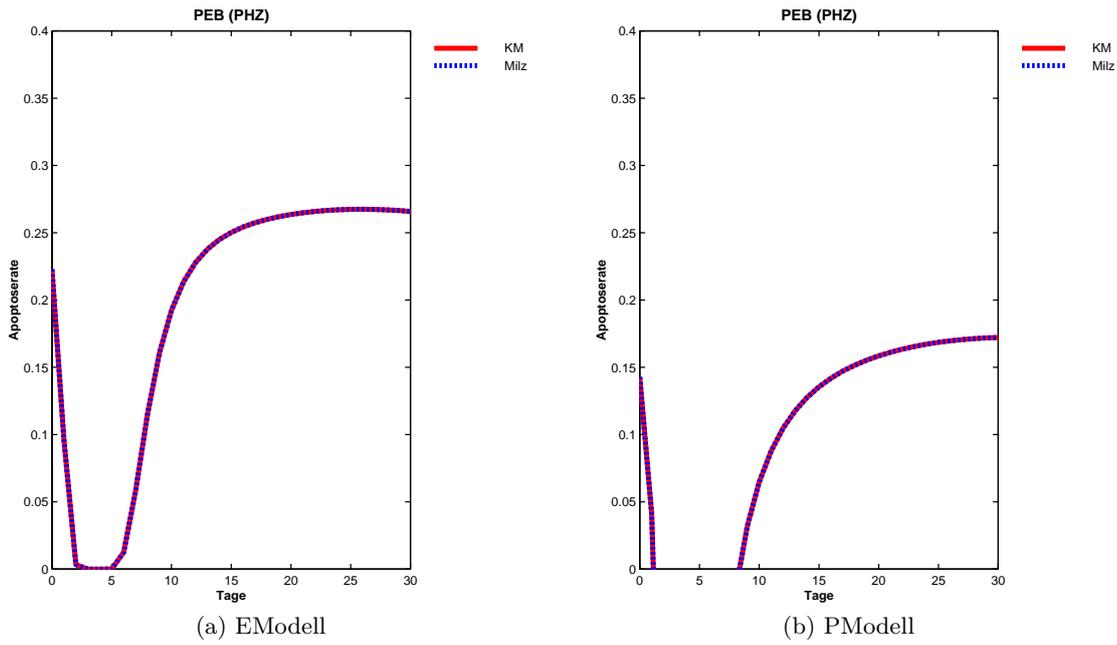


Abbildung 9.48: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate

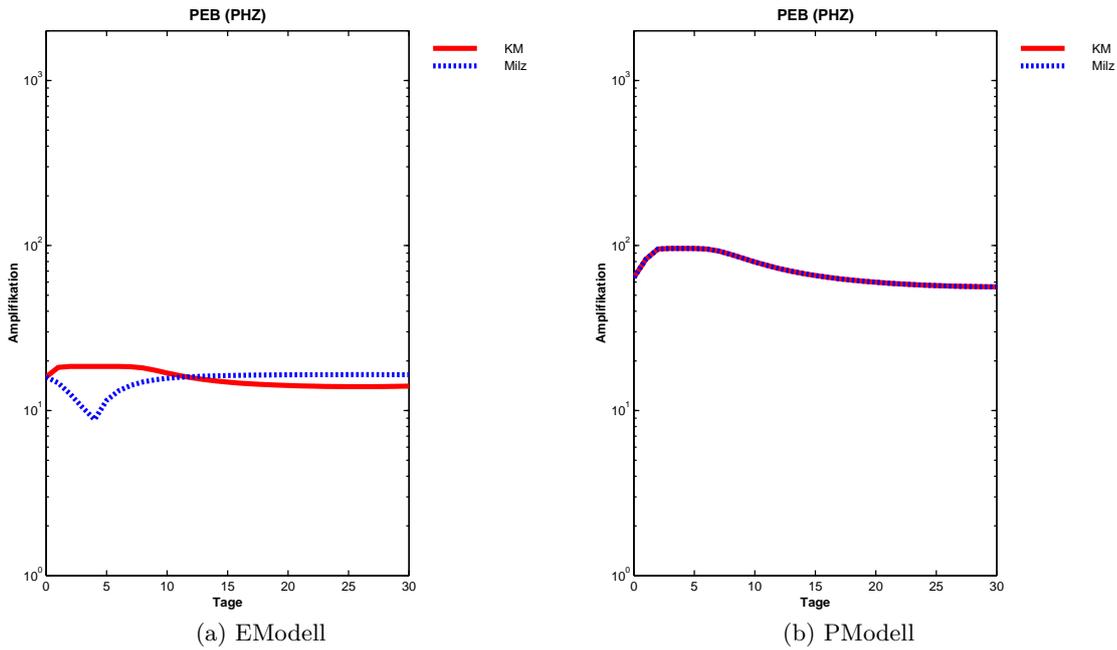


Abbildung 9.49: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation

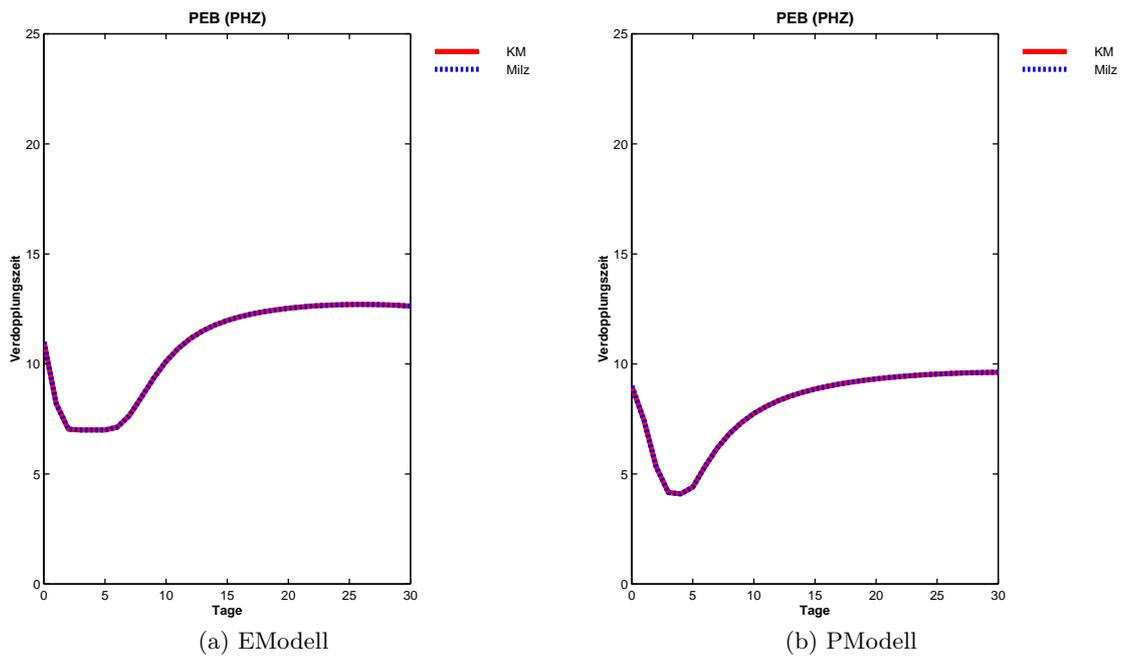


Abbildung 9.50: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit

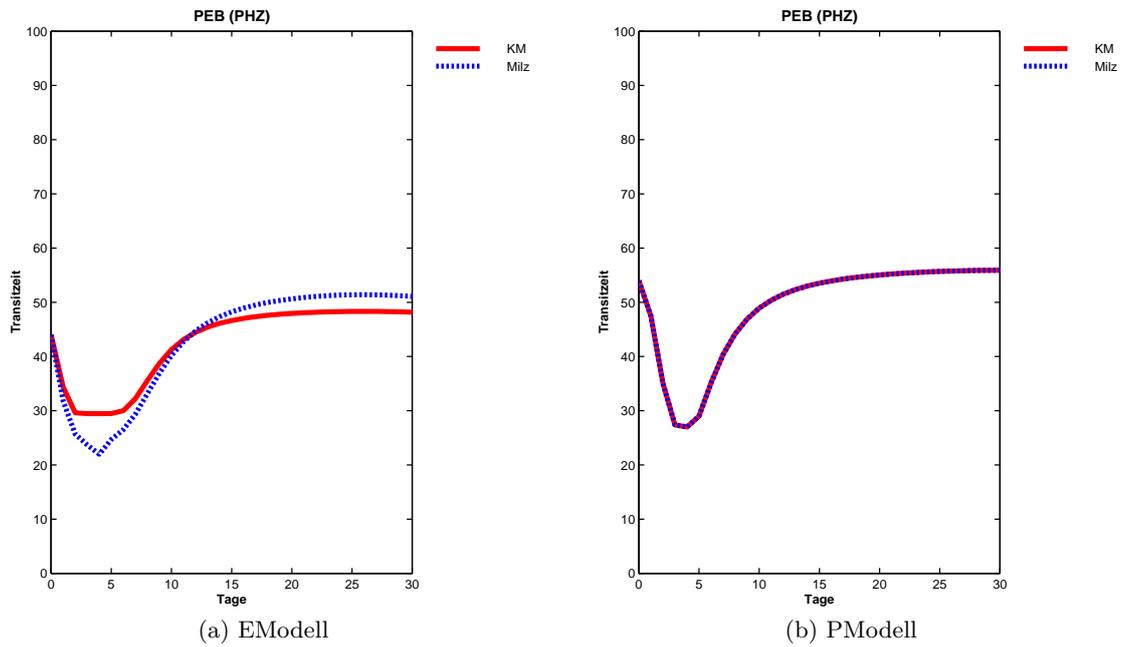


Abbildung 9.51: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit

9.5 PHZ-induzierte hämolytische Anämie

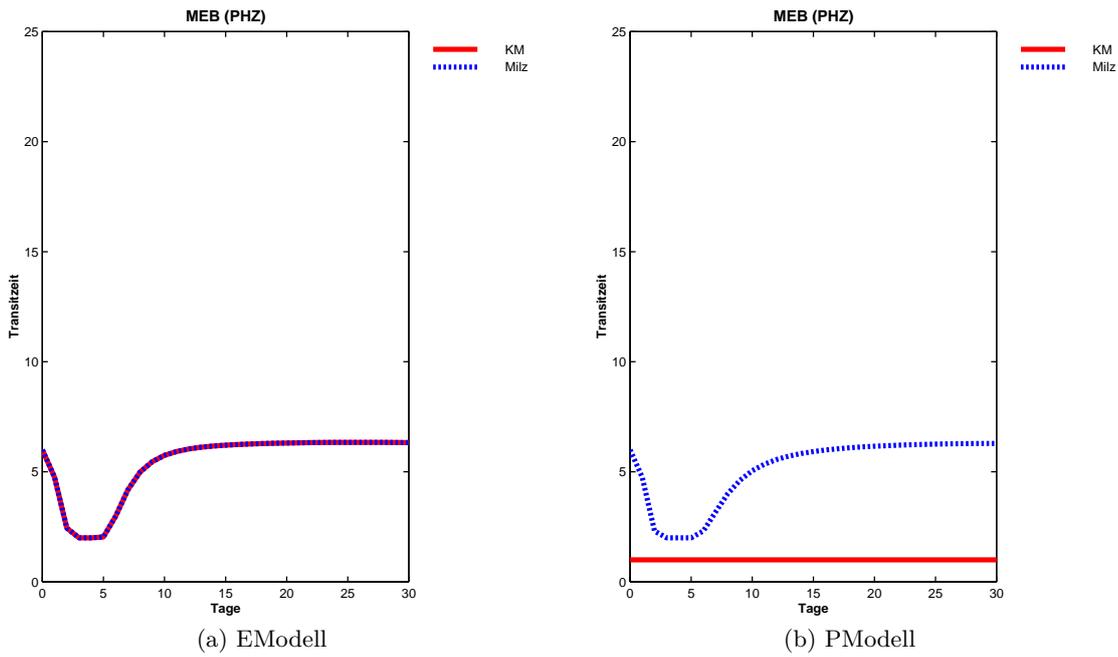


Abbildung 9.52: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit

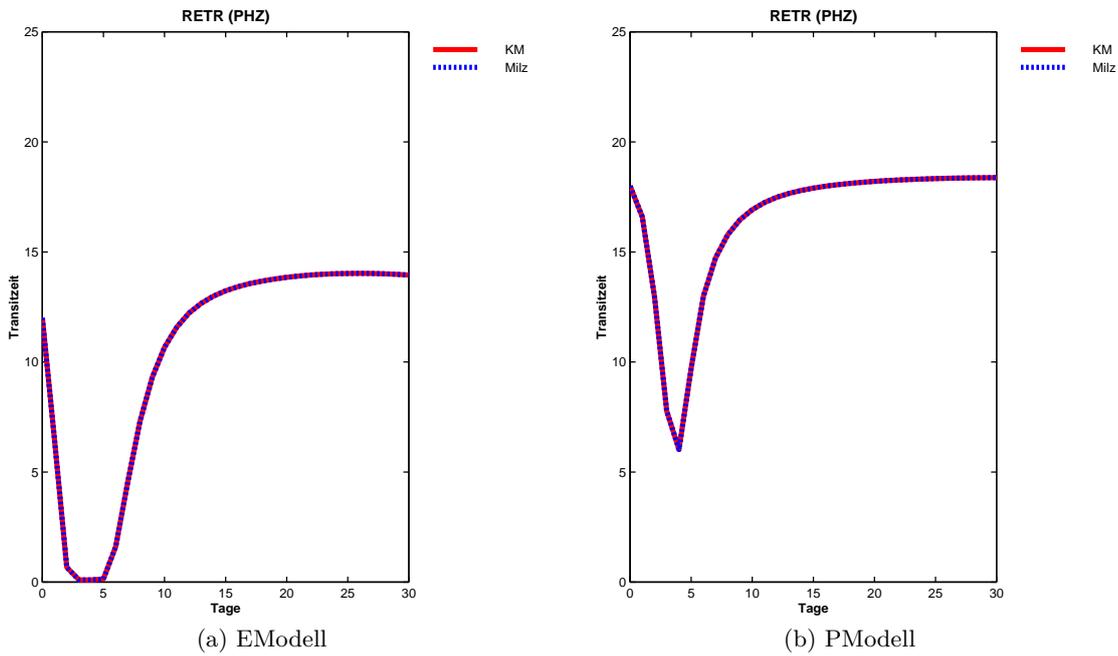


Abbildung 9.53: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit

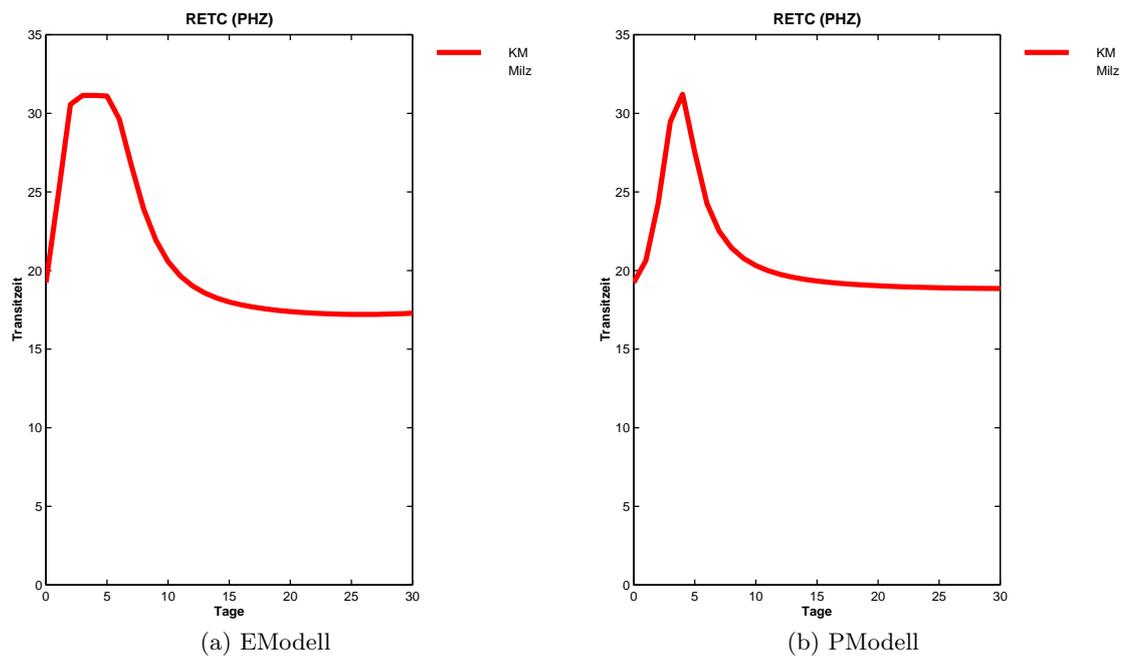


Abbildung 9.54: PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit

9.6 TAP-induzierte Anämie

9.6.1 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des EModells

Tabelle 9.39: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 300 0 0]	[0 32 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.40: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 5 6]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 2 0 0]	[0 0 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.41: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 2 0 0]	[0 0 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.42: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der residualen Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
time vector of % for cells to loose	[0 3 3 5]	[0 3 3 5]		
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 4 0 0]	[0 0 0 0]
time vector of % for inflow to loose	[0 1]	[0 1]		
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.43: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1.8 0 0]	

Tabelle 9.44: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 5 5 6]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0.1 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.6.2 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des PModells

Tabelle 9.45: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 170 0 0]	[0 35 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.46: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 5 6]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.7 0 0]	[0 0.4 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.47: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.7 0 0]	[0 0 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.48: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1.68 0 0]	

Tabelle 9.49: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht alters abhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 5 5 6]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0.09 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.6.3 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des EModells unter der Annahme, dass TAP das Migrationsverhalten der BFU-E verändert

Die zusätzlich geänderten Parameter des EModells zur Simulation der Auswirkungen der Gabe von Thiamphenicol unter der Annahme, daß TAP das Migrationsverhalten der BFU-E verändert.

Tabelle 9.50: Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{min}$	$mr_{i_{Milz}}^{min}$	-5e-015	0
nor. Bedingungen	$mr_{i_{KM}}^{nor}$	$mr_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{max}$	$mr_{i_{Milz}}^{max}$	1	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$mrPEM_{i_{KM}}$	$mrPEM_{i_{Milz}}$	44.55	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$mrFnor_{i_{KM}}$	$mrFnor_{i_{Milz}}$	1	1
min. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{min}$	$se_{i_{Milz}}^{min}$	0	-5e-014
nor. Bedingungen	$se_{i_{KM}}^{nor}$	$se_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{max}$	$se_{i_{Milz}}^{max}$	0	1
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$sePEM_{i_{KM}}$	$sePEM_{i_{Milz}}$	0.7	45
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$seFnor_{i_{KM}}$	$seFnor_{i_{Milz}}$	1	1

9.6.4 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des PModells unter der Annahme, dass TAP das Migrationsverhalten der BFU-E verändert

Die zusätzlich geänderten Parameter des PModells zur Simulation der Auswirkungen der Gabe von Thiamphenicol unter der Annahme, daß TAP das Migrationsverhalten der BFU-E verändert.

Tabelle 9.51: Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{min}$	$mr_{i_{Milz}}^{min}$	-5e-015	0
nor. Bedingungen	$mr_{i_{KM}}^{nor}$	$mr_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{max}$	$mr_{i_{Milz}}^{max}$	1	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$mrPEM_{i_{KM}}$	$mrPEM_{i_{Milz}}$	45.3	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$mrFnor_{i_{KM}}$	$mrFnor_{i_{Milz}}$	1	1
min. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{min}$	$se_{i_{Milz}}^{min}$	0	-5e-014
nor. Bedingungen	$se_{i_{KM}}^{nor}$	$se_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{max}$	$se_{i_{Milz}}^{max}$	0	1
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$sePEM_{i_{KM}}$	$sePEM_{i_{Milz}}$	0.7	45
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$seFnor_{i_{KM}}$	$seFnor_{i_{Milz}}$	1	1

9.6.5 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des EModells bei Vorgabe der CFU-S-Werte

Die zusätzlich geänderten Parameter des EModells zur Simulation der Auswirkungen der Gabe von Thiamphenicol, wobei die CFU-S-Werte vorgegeben werden.

Tabelle 9.52: Die Startwert- Zellzykluszeit- und ggf. Vorgabewerte der Stammzellen

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zellzykluszeit (konstant)	$TC_{i_{KM}}$	$TC_{i_{Milz}}$	8	8
Vorgabewerte benutzen			'on'	'on'
Zeitachse für die			[0 3 4 5 6 7 8 9	[0 3 4 5 6 7 8 9
Vorgabewerte			11 13 17 18 19]	11 13 17 19 20]
Vorgabewerte			'[1*S_BM_nor	'[1*S_SP_nor
			0.59*S_BM_nor	0.58*S_SP_nor
			0.79*S_BM_nor	2.40*S_SP_nor
			0.63*S_BM_nor	4.23*S_SP_nor
			0.39*S_BM_nor	18.24*S_SP_nor
			0.16*S_BM_nor	32.26*S_SP_nor
			0.28*S_BM_nor	20.81*S_SP_nor
			0.39*S_BM_nor	9.35*S_SP_nor
			0.88*S_BM_nor	2.65*S_SP_nor
			1.11*S_BM_nor	1.81*S_SP_nor
			1.05*S_BM_nor	1.58*S_SP_nor
			1.00*S_BM_nor	1.00*S_SP_nor
			1.00*S_BM_nor]'	1.00*S_SP_nor]'

Tabelle 9.53: Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
min. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{min}$	$mr_{i_{Milz}}^{min}$	0	0
nor. Bedingungen	$mr_{i_{KM}}^{nor}$	$mr_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$mr_{i_{KM}}^{max}$	$mr_{i_{Milz}}^{max}$	0	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$mrPEM_{i_{KM}}$	$mrPEM_{i_{Milz}}$	0	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$mrFnor_{i_{KM}}$	$mrFnor_{i_{Milz}}$	1	1
min. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{min}$	$se_{i_{Milz}}^{min}$	0	0
nor. Bedingungen	$se_{i_{KM}}^{nor}$	$se_{i_{Milz}}^{nor}$	0	0
max. Stimulation	$se_{i_{KM}}^{max}$	$se_{i_{Milz}}^{max}$	0	0
Steigung im Wendepunkt der Funktion (u.a.)	$sePEM_{i_{KM}}$	$sePEM_{i_{Milz}}$	0.7	0
Verschiebung des normalen Arbeitspunktes	$seFnor_{i_{KM}}$	$seFnor_{i_{Milz}}$	1	1

9.6.6 Die zwecks Anpassung an eine TAP-induzierte Anämie abgeänderten Parameter des PModells bei Vorgabe der CFU-S-Werte

Die zusätzlich geänderten Parameter des PModells zur Simulation der Auswirkungen der Gabe von Thiamphenicol, wobei die CFU-S-Werte vorgegeben werden.

Tabelle 9.54: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 170 0 0]	[0 35 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.55: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 5 6]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.7 0 0]	[0 0.4 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.56: Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten

Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	1
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	[0 3 3 5]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1.7 0 0]	[0 0 0 0]
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	[0 1]
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	[0 0]

Tabelle 9.57: Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten

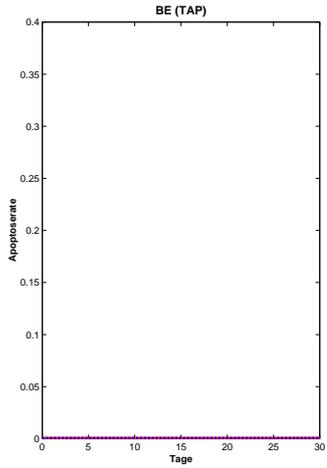
Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit bei nor. Bedingungen	TT_{RETC}^{nor}		18	
Anteil der Reticulozyten and den RBC bei nor. Bedingungen	$RETC\%^{nor}$		0.0175	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 1 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 3 3 5]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1.68 0 0]	

Tabelle 9.58: Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten

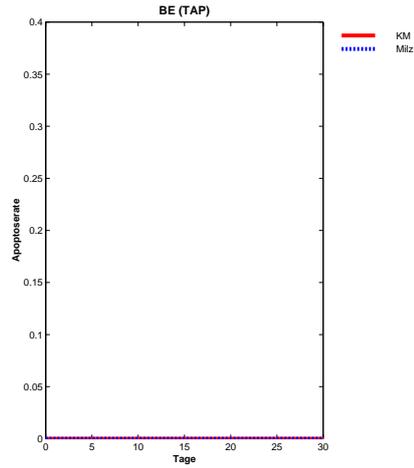
Modell-Parameter	Modell-Symbol		Modell-Wert	
	KM	Milz	KM	Milz
Startwert [% des Normalwerts]			1	
Transitzeit der altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYa}^{nor}		1080	
Transitzeit der nicht altersabhängig abgebauten Erythrozyten	TT_{ERYr}^{nor}			360
Anzahl der Subkompartiments	N_{sub}^{nor}		5	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 5 5 6]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Kompartiment)			[0 0.09 0 0]	
Zeitachse für die Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 1]	
Vorgabewerte der Zellverlustrate (Einstrom)			[0 0]	

9.7 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der verschiedenen Zellkompartimente

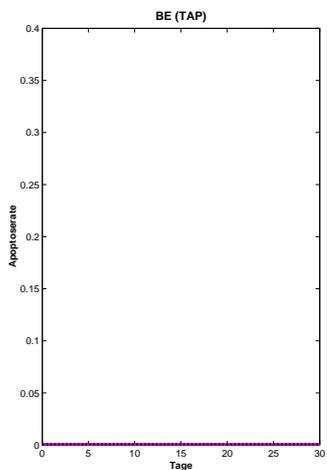
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



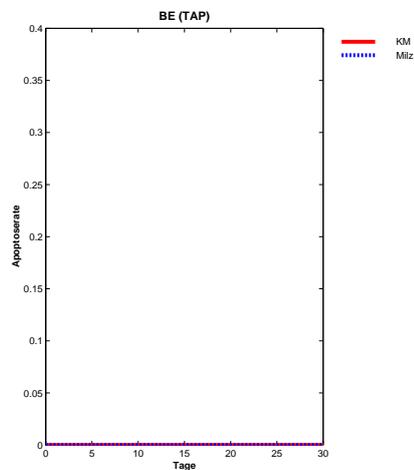
(a) EModell: Szenarium 1



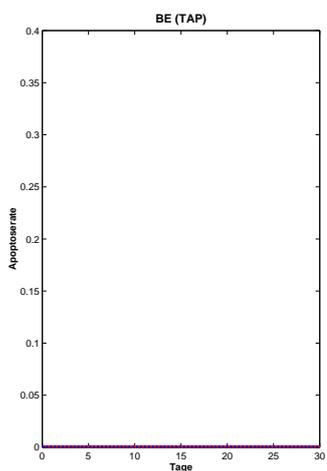
(b) PModell: Szenarium 1



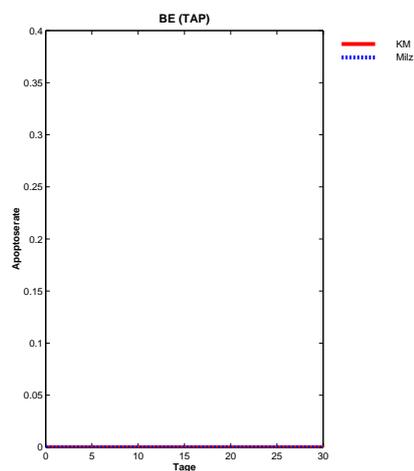
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

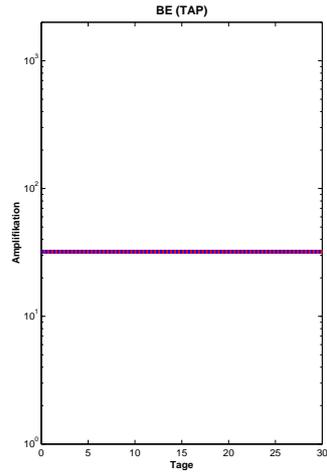


(e) EModell: Szenarium 3

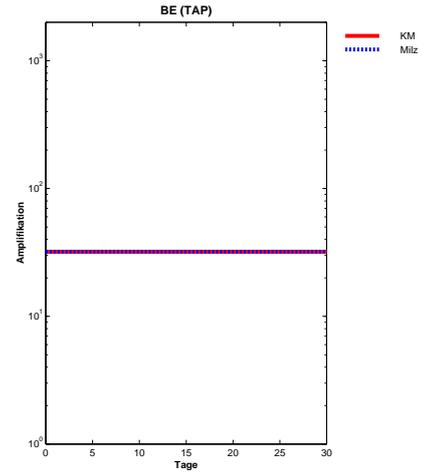


(f) PModell: Szenarium 3

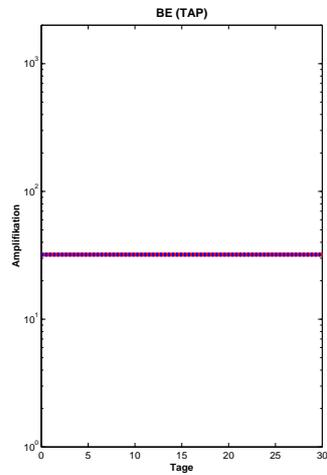
Abbildung 9.55: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



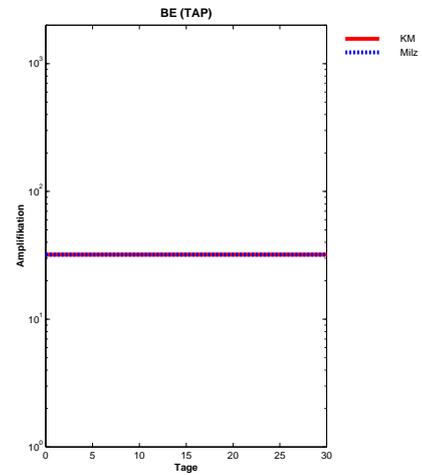
(a) EModell: Szenarium 1



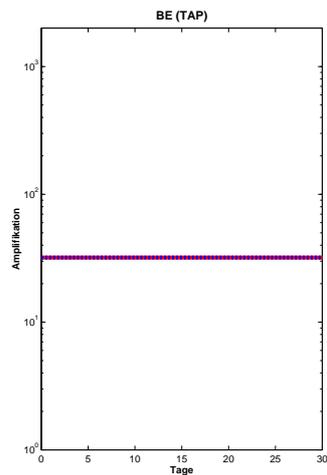
(b) PModell: Szenarium 1



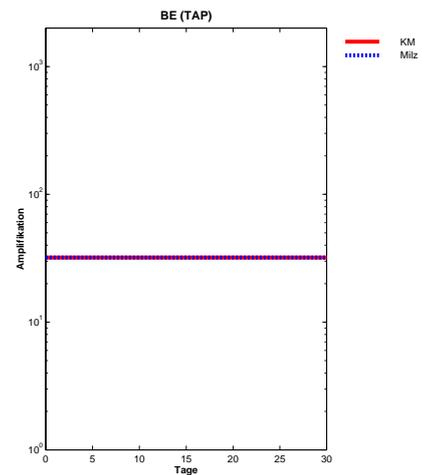
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



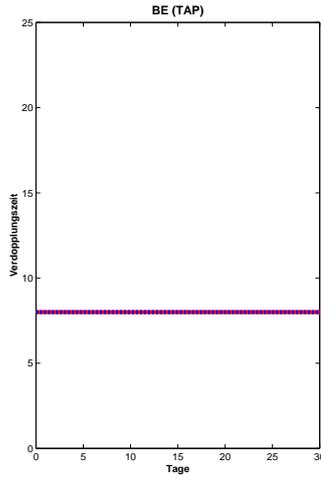
(e) EModell: Szenarium 3



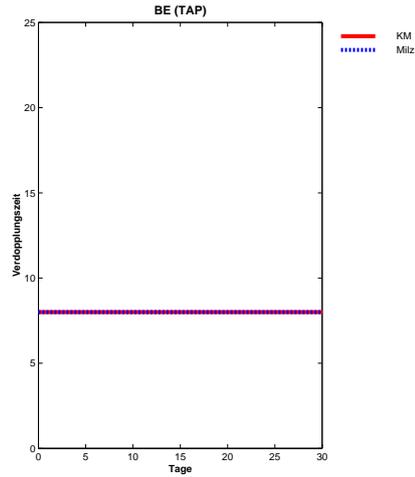
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.56: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

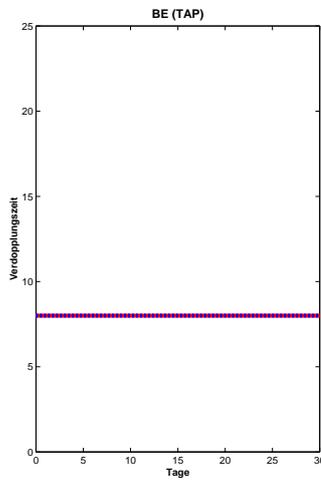
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



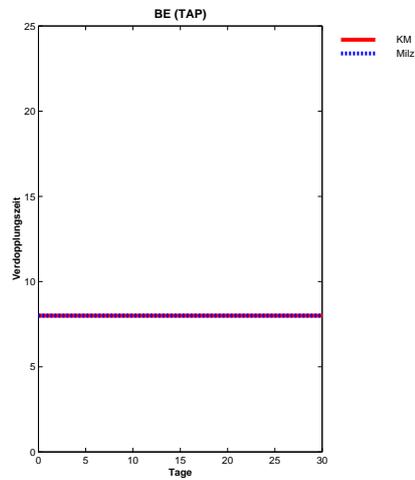
(a) EModell: Szenarium 1



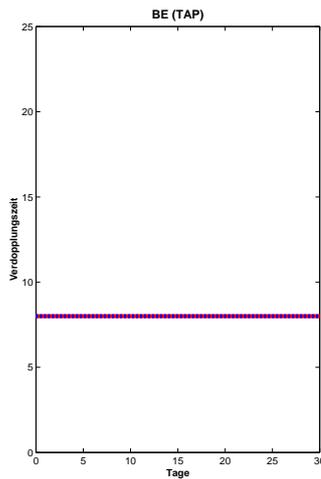
(b) PModell: Szenarium 1



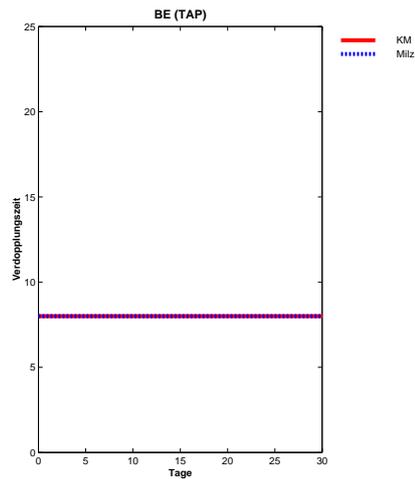
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

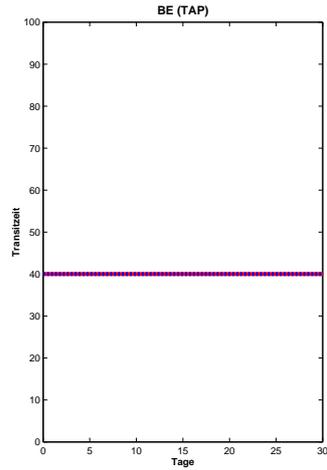


(e) EModell: Szenarium 3

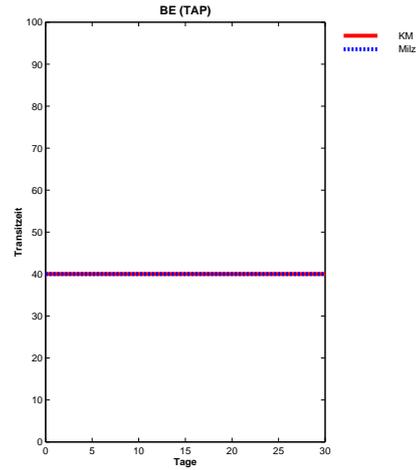


(f) PModell: Szenarium 3

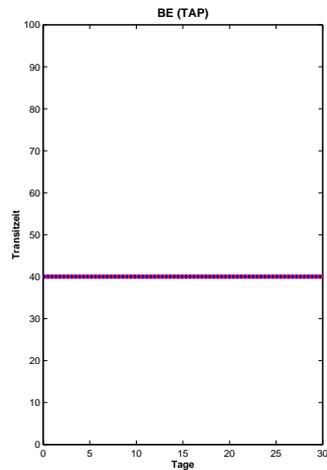
Abbildung 9.57: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



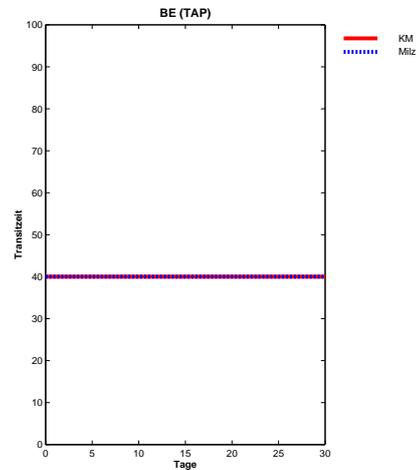
(a) EModell: Szenarium 1



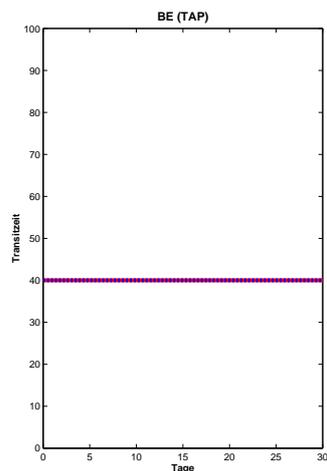
(b) PModell: Szenarium 1



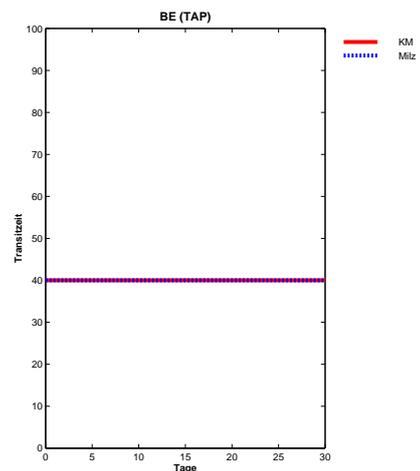
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



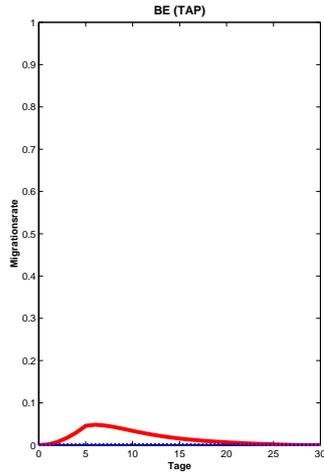
(e) EModell: Szenarium 3



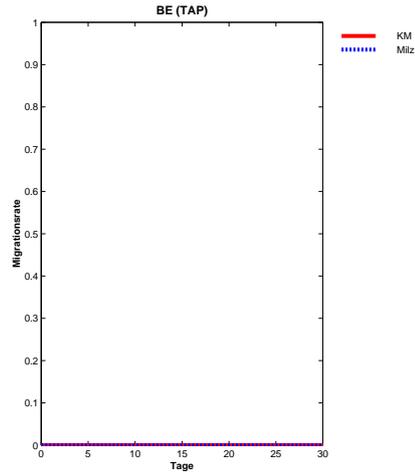
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.58: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

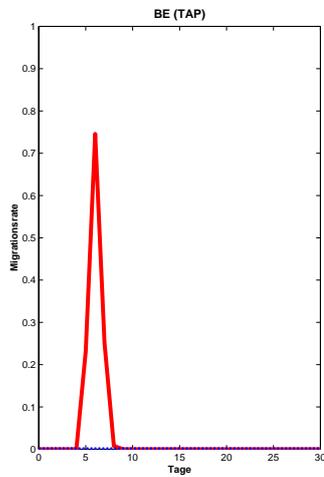
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



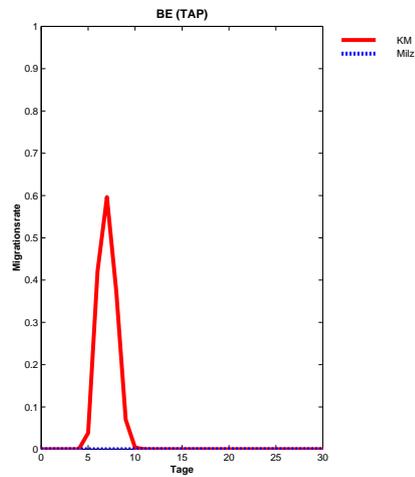
(a) EModell: Szenarium 1



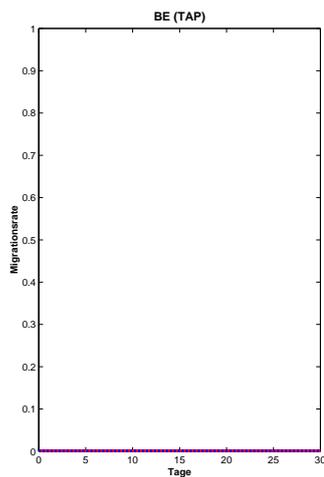
(b) PModell: Szenarium 1



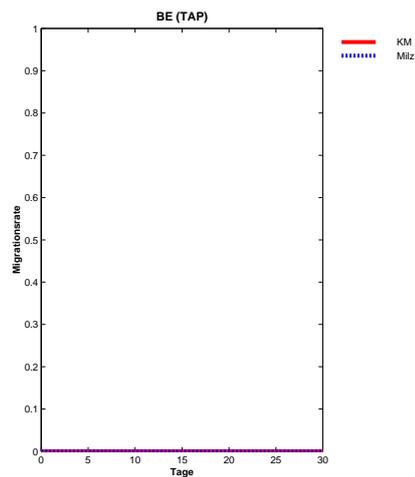
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

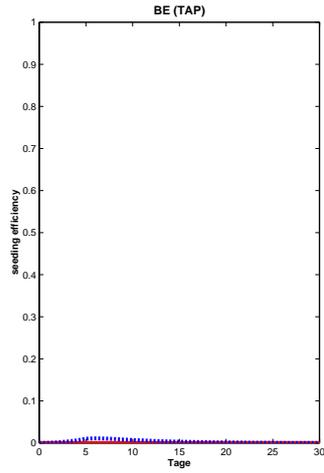


(e) EModell: Szenarium 3

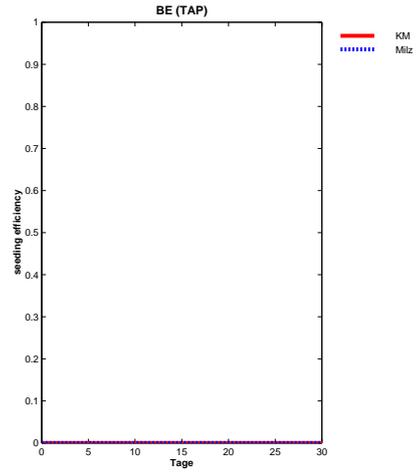


(f) PModell: Szenarium 3

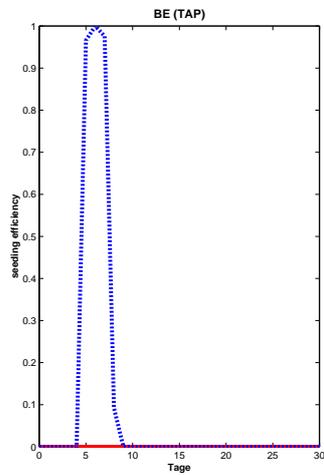
Abbildung 9.59: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



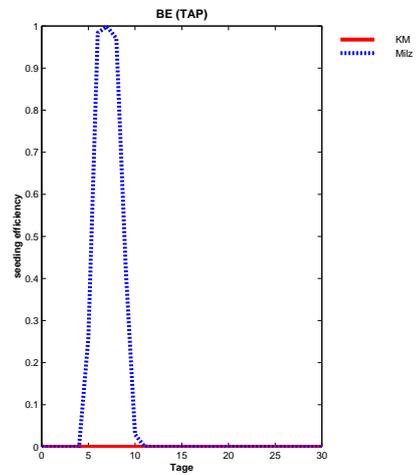
(a) EModell: Szenarium 1



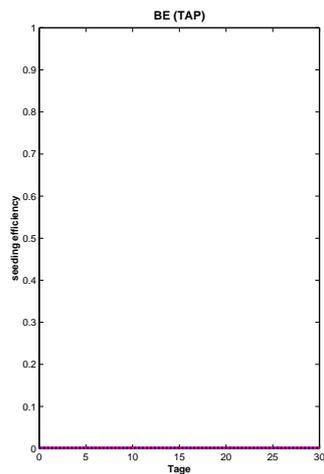
(b) PModell: Szenarium 1



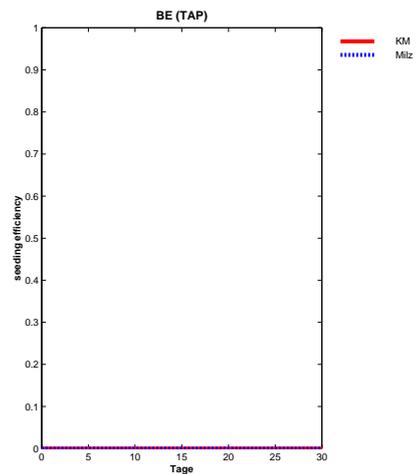
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



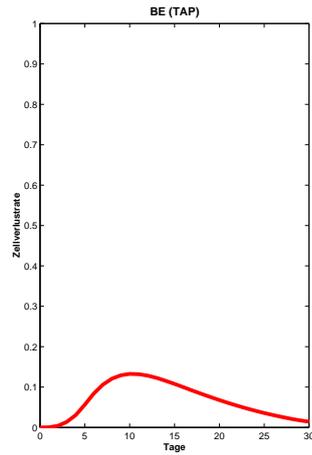
(e) EModell: Szenarium 3



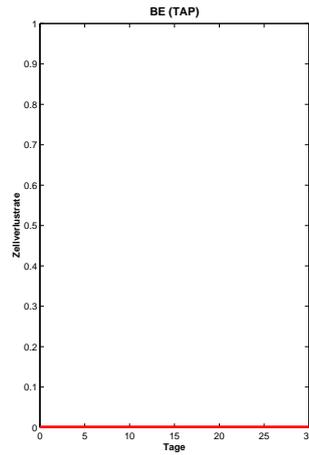
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.60: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

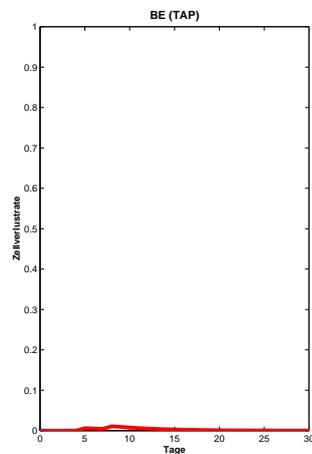
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



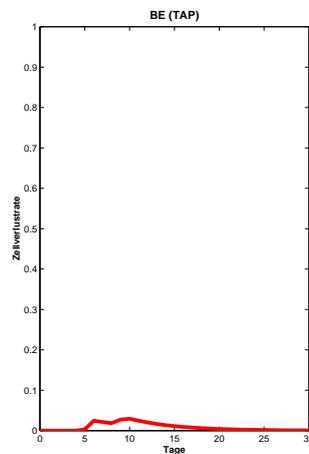
(a) EModell: Szenarium 1



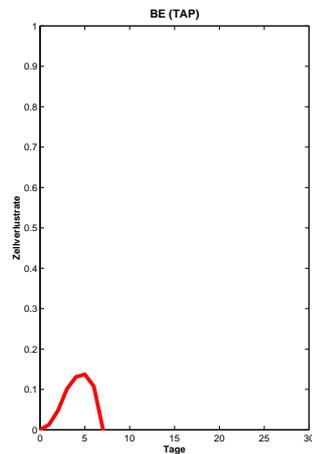
(b) PModell: Szenarium 1



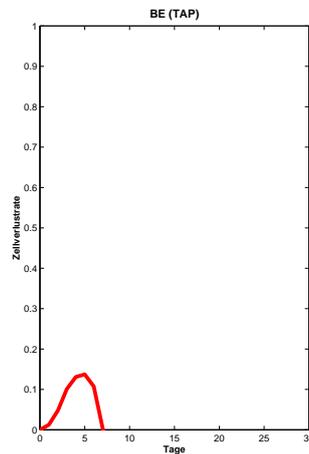
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

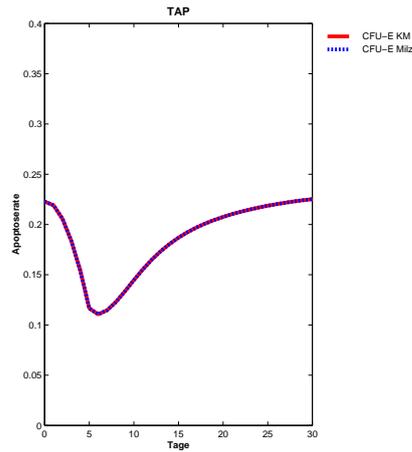


(e) EModell: Szenarium 3

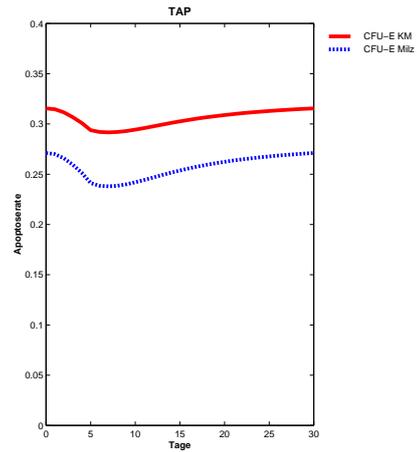


(f) PModell: Szenarium 3

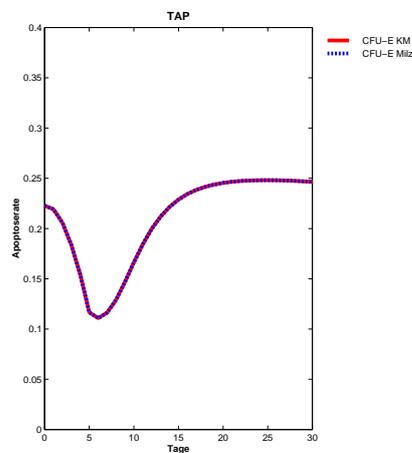
Abbildung 9.61: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



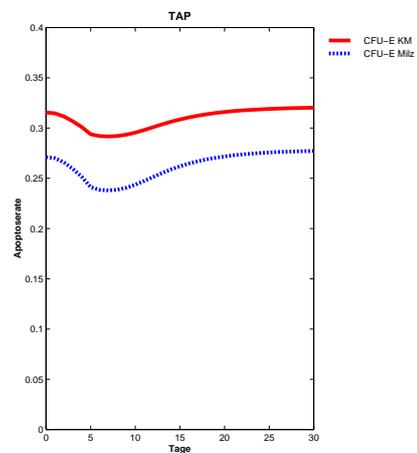
(a) EModell: Szenarium 1



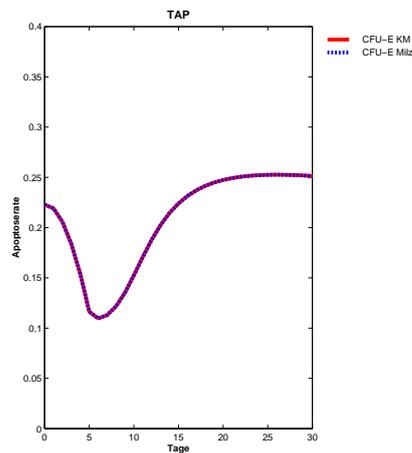
(b) PModell: Szenarium 1



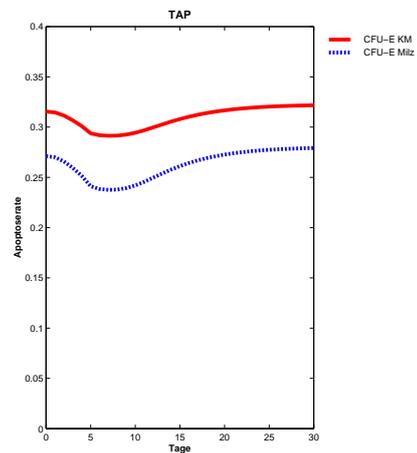
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



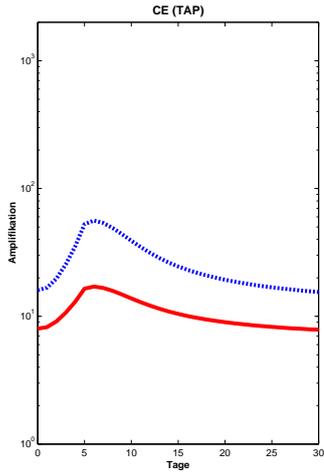
(e) EModell: Szenarium 3



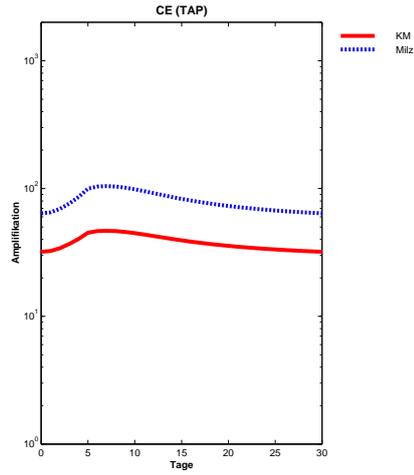
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.62: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

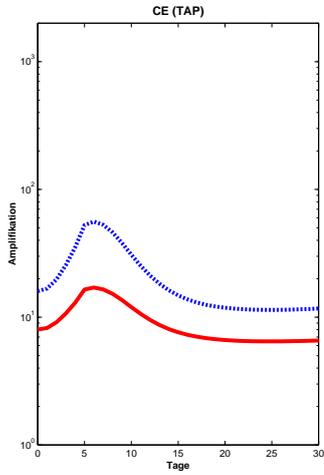
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



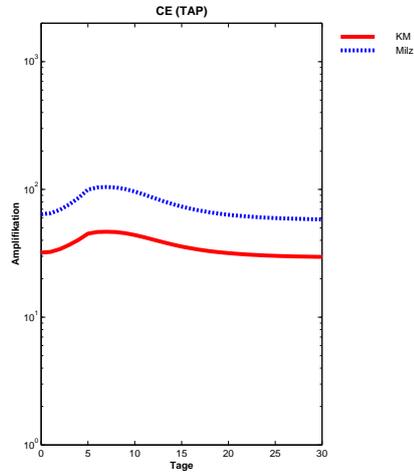
(a) EModell: Szenarium 1



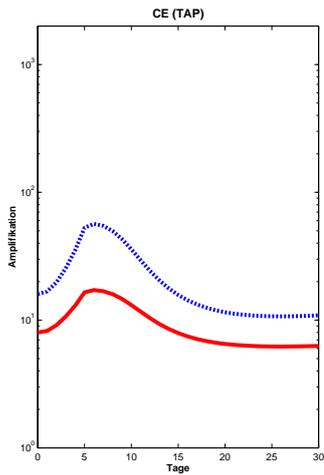
(b) PModell: Szenarium 1



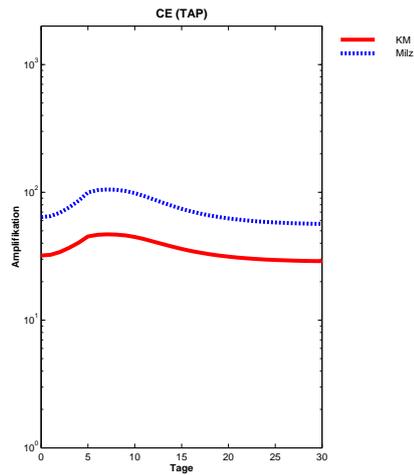
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



(e) EModell: Szenarium 3



(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.63: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

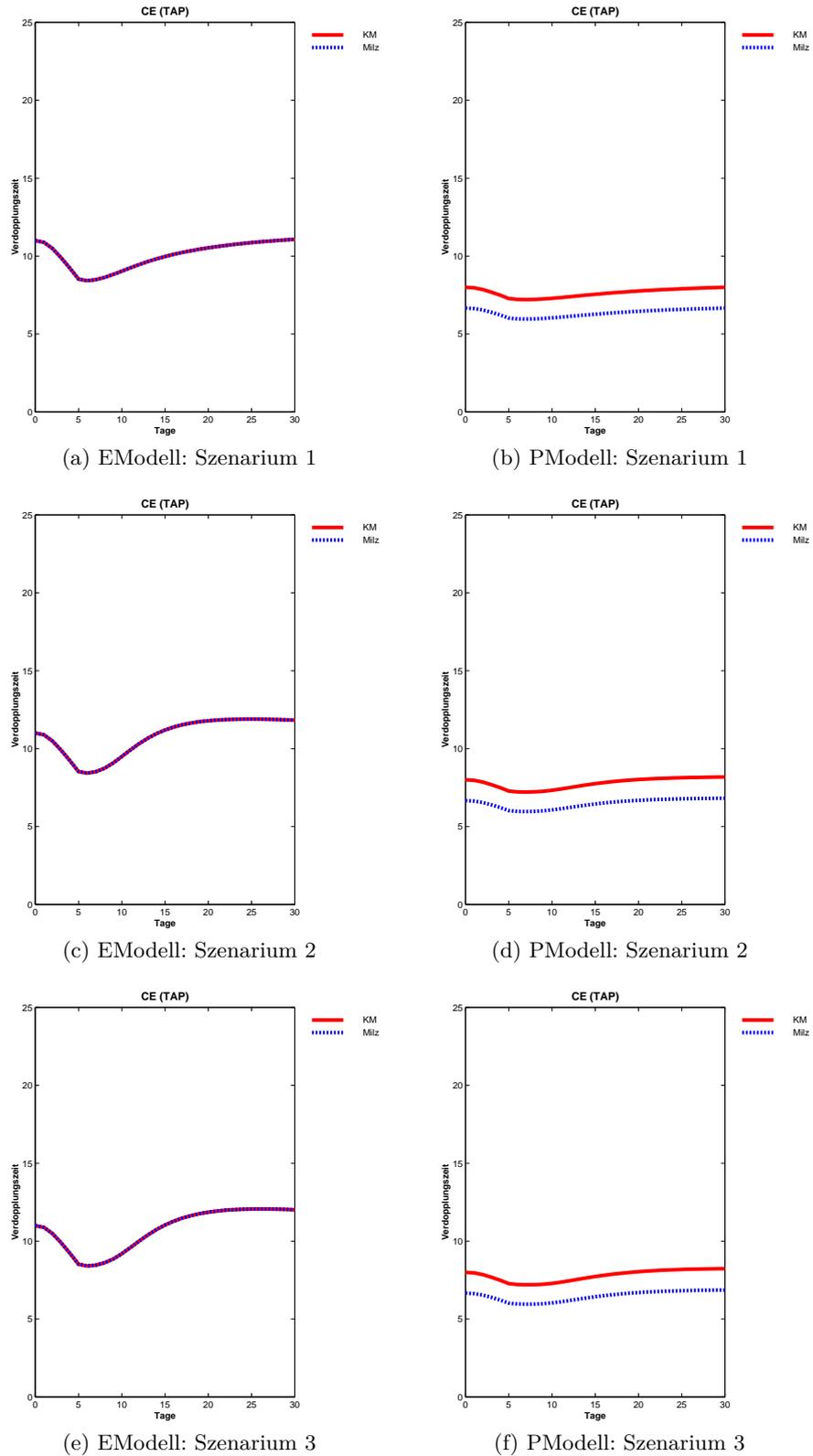
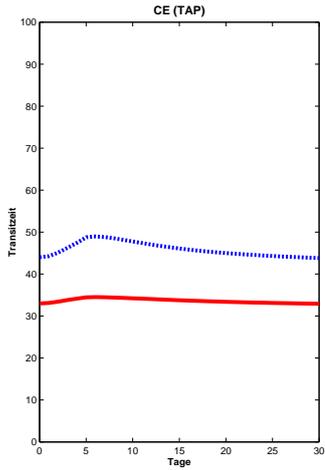
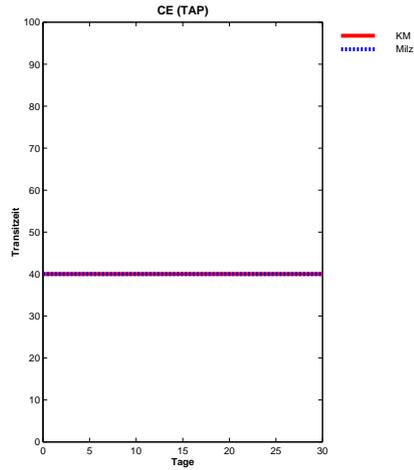


Abbildung 9.64: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Verdopplungszeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

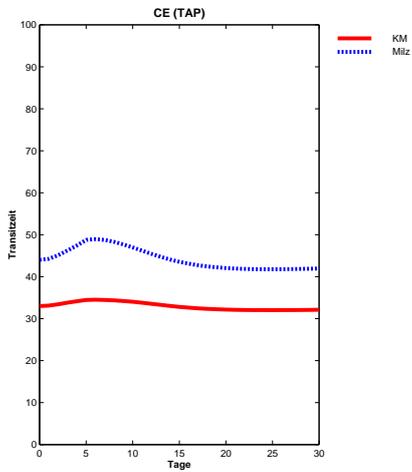
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



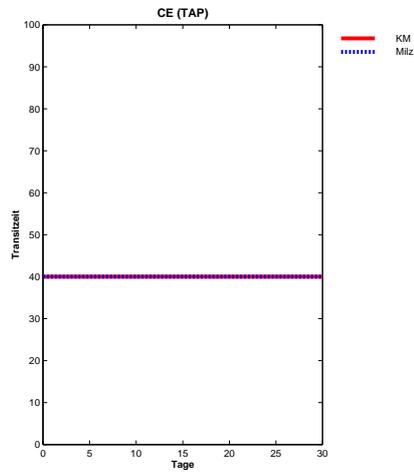
(a) EModell: Szenarium 1



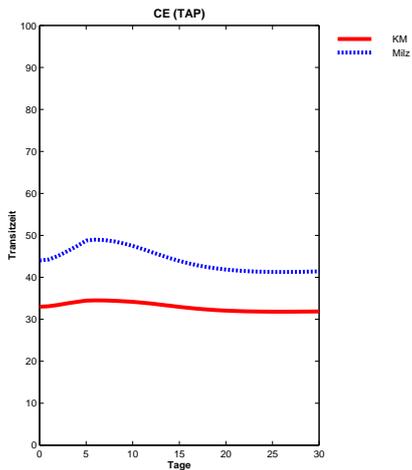
(b) PModell: Szenarium 1



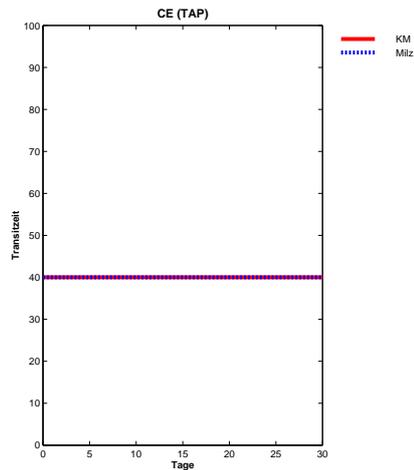
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

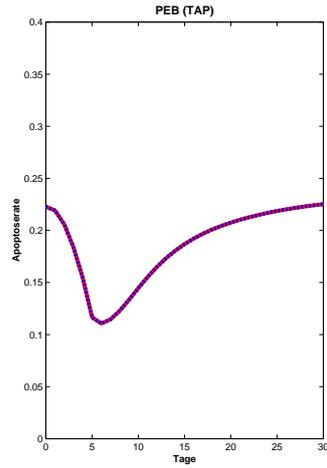


(e) EModell: Szenarium 3

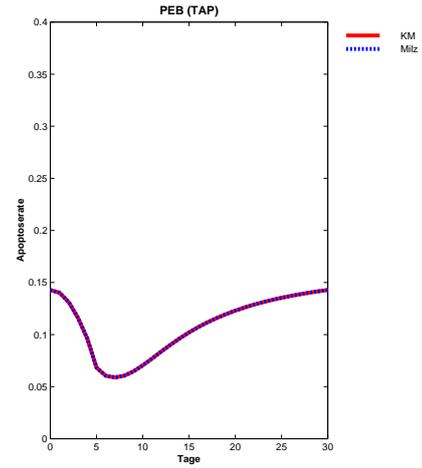


(f) PModell: Szenarium 3

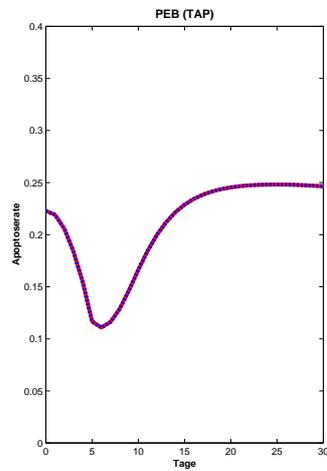
Abbildung 9.65: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



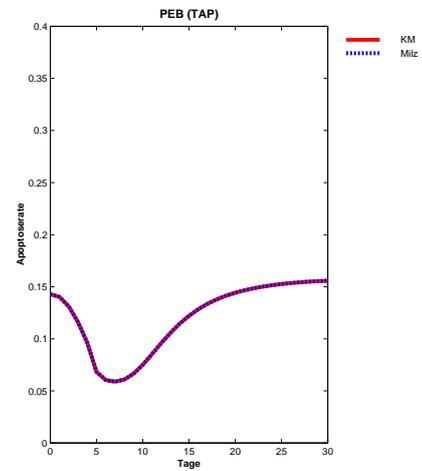
(a) EModell: Szenarium 1



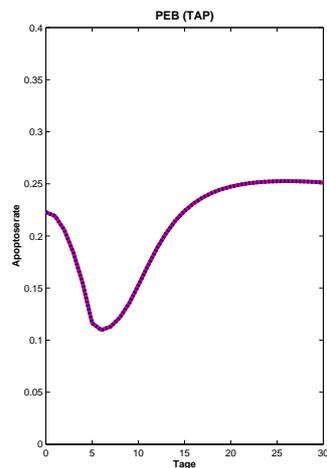
(b) PModell: Szenarium 1



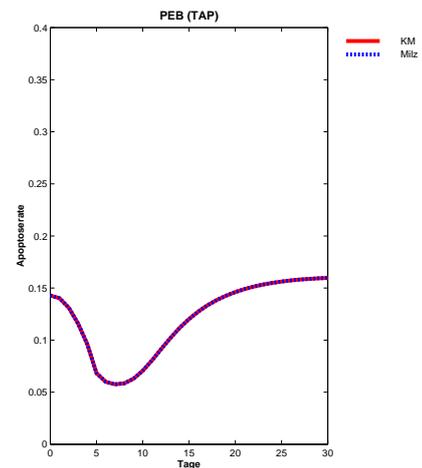
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



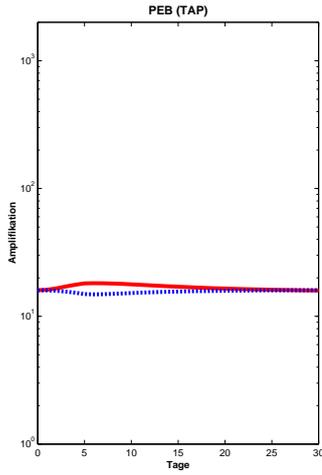
(e) EModell: Szenarium 3



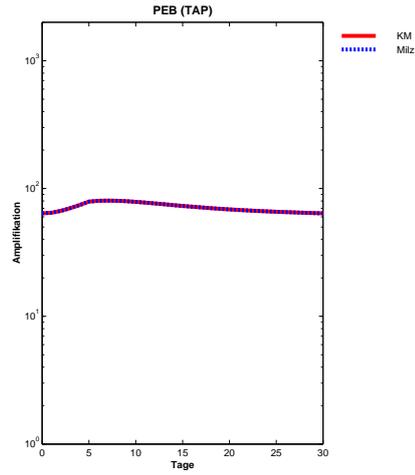
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.66: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

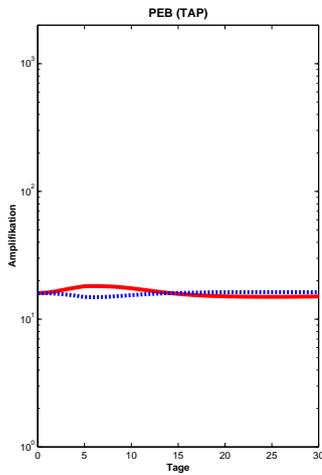
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



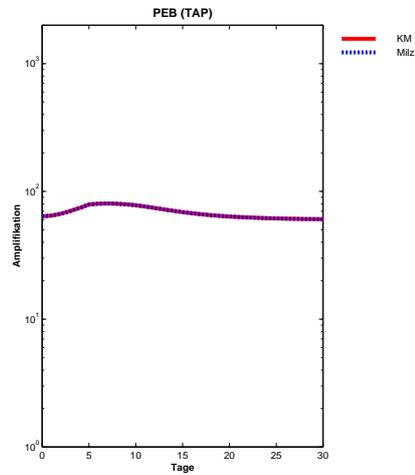
(a) EModell: Szenarium 1



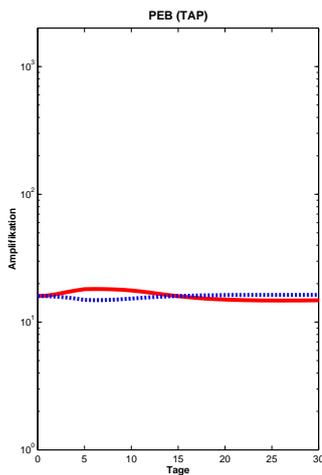
(b) PModell: Szenarium 1



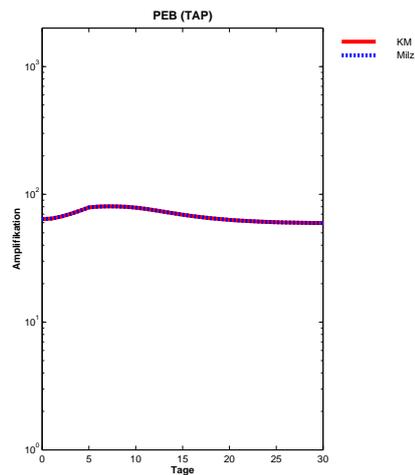
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

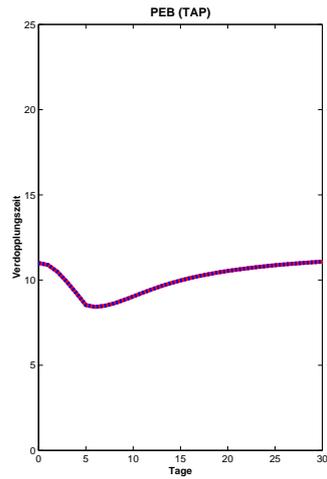


(e) EModell: Szenarium 3

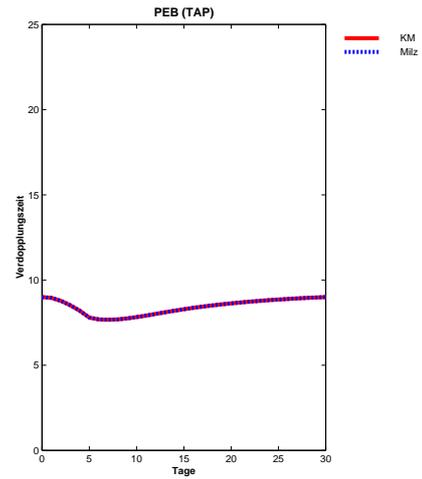


(f) PModell: Szenarium 3

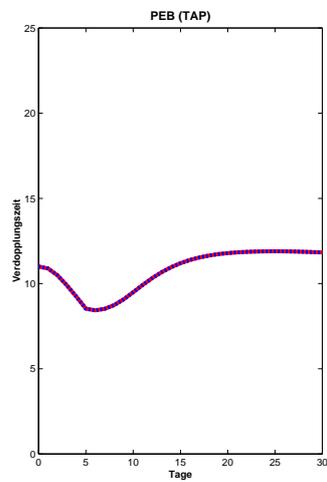
Abbildung 9.67: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



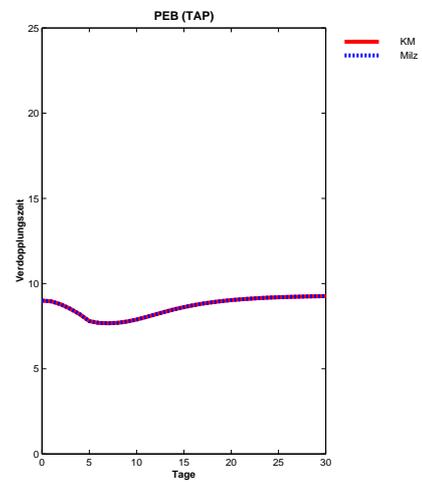
(a) EModell: Szenarium 1



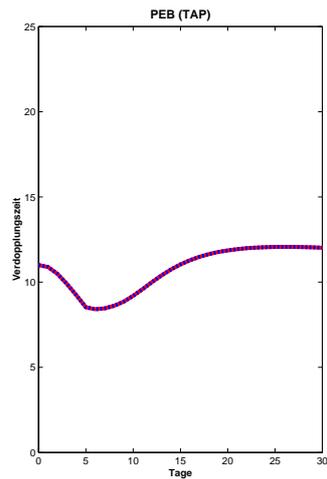
(b) PModell: Szenarium 1



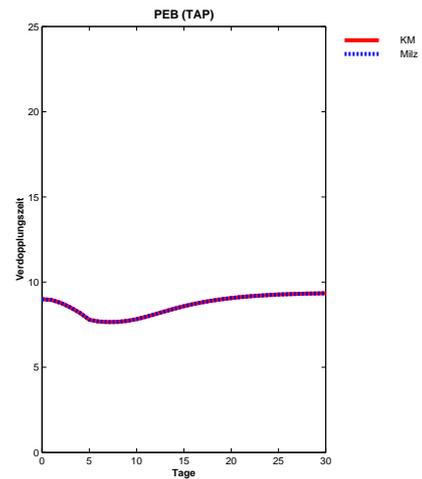
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



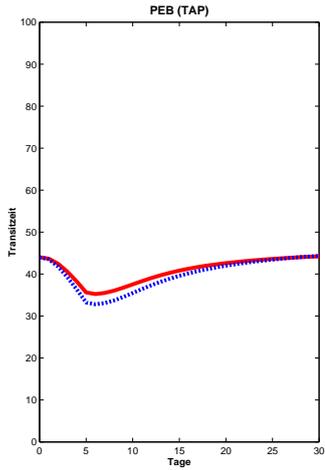
(e) EModell: Szenarium 3



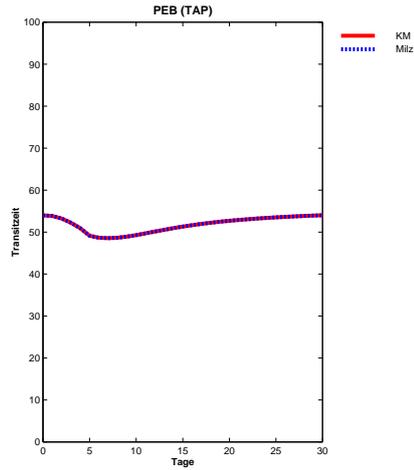
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.68: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

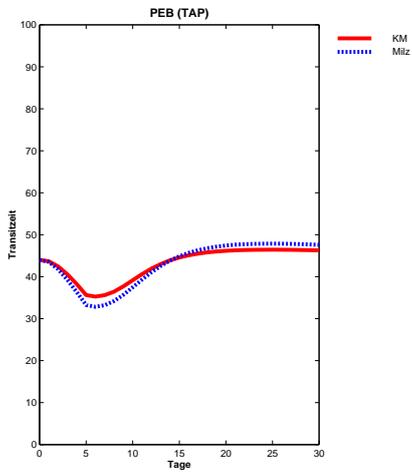
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



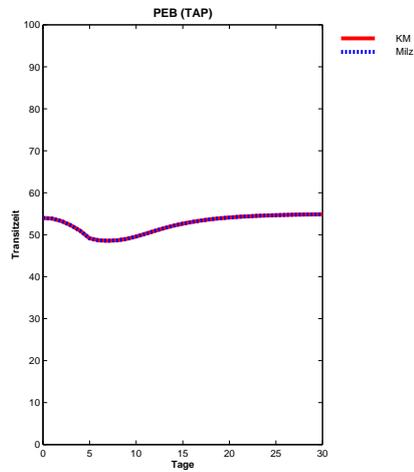
(a) EModell: Szenarium 1



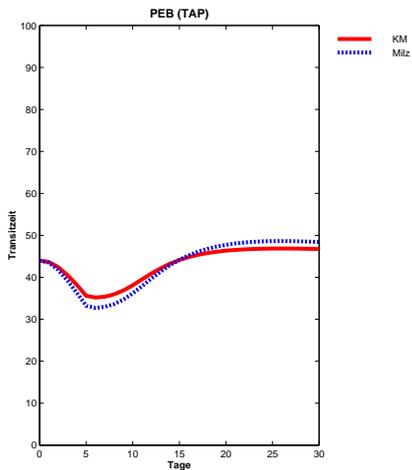
(b) PModell: Szenarium 1



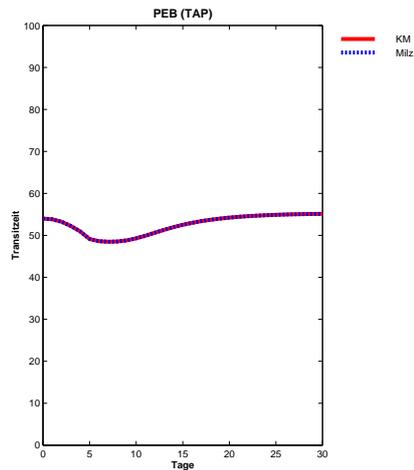
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2

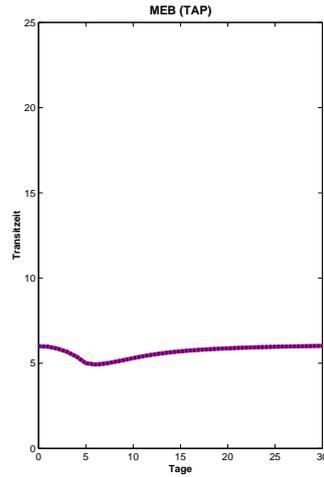


(e) EModell: Szenarium 3

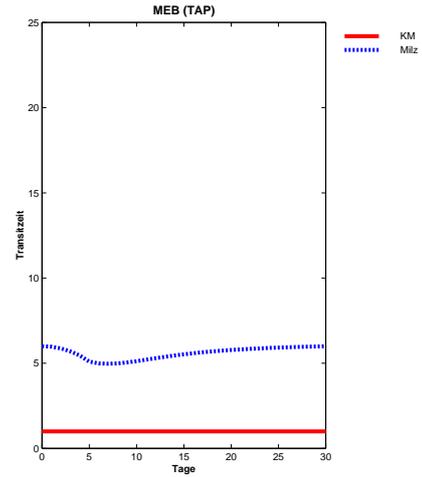


(f) PModell: Szenarium 3

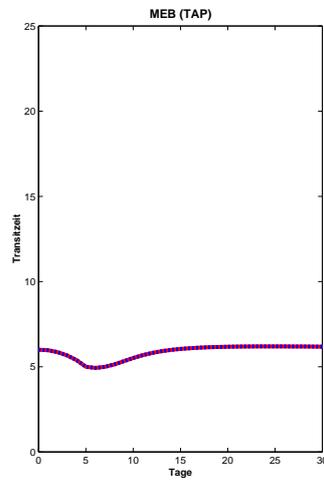
Abbildung 9.69: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifiziert Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente



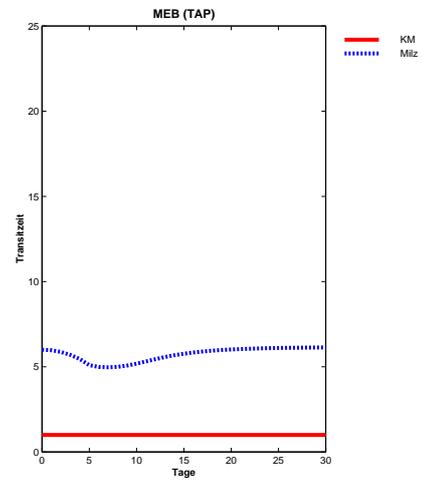
(a) EModell: Szenarium 1



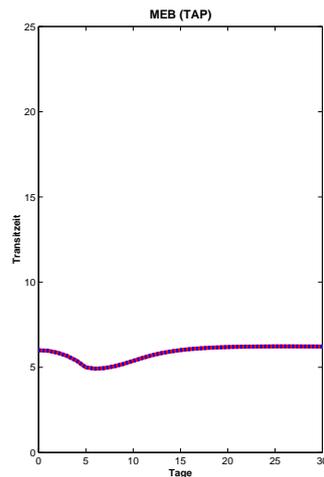
(b) PModell: Szenarium 1



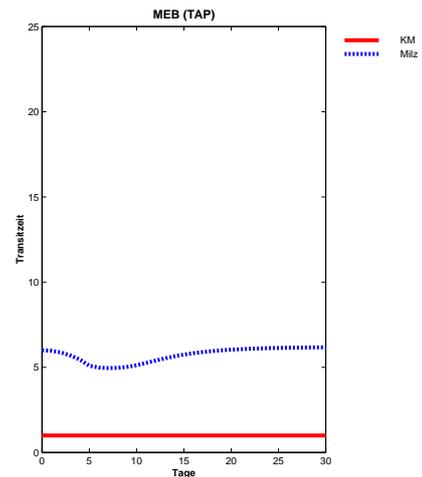
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



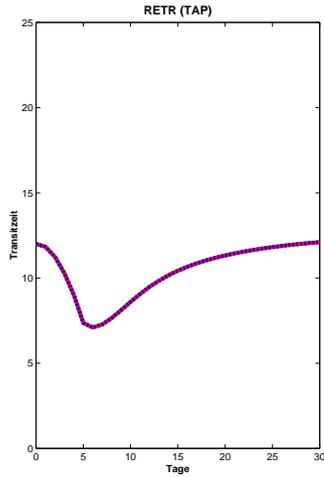
(e) EModell: Szenarium 3



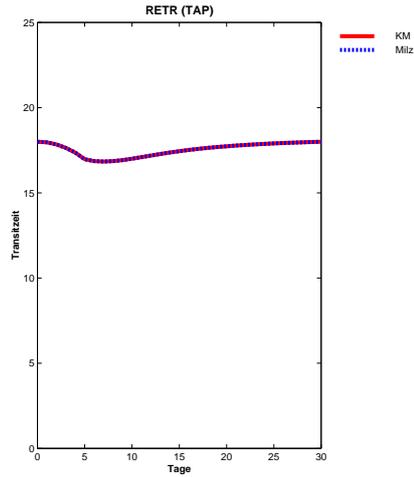
(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.70: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

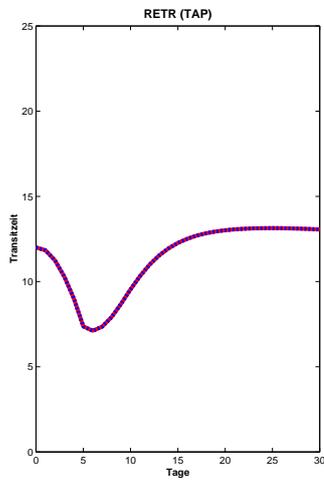
9.7 TAP-induzierte Anämie: Kenndaten



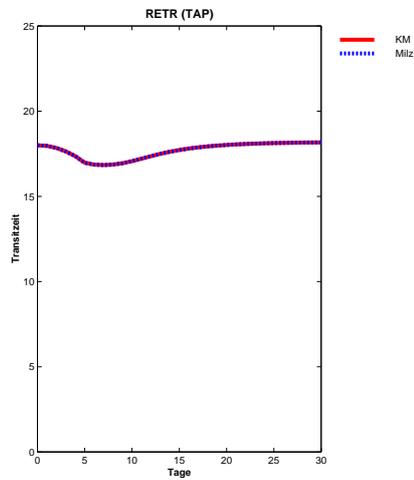
(a) EModell: Szenarium 1



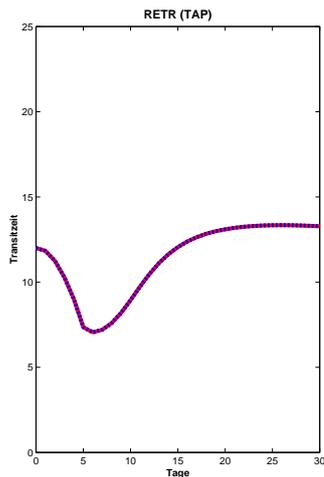
(b) PModell: Szenarium 1



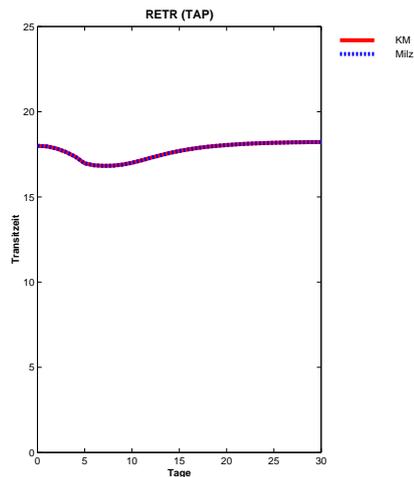
(c) EModell: Szenarium 2



(d) PModell: Szenarium 2



(e) EModell: Szenarium 3



(f) PModell: Szenarium 3

Abbildung 9.71: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

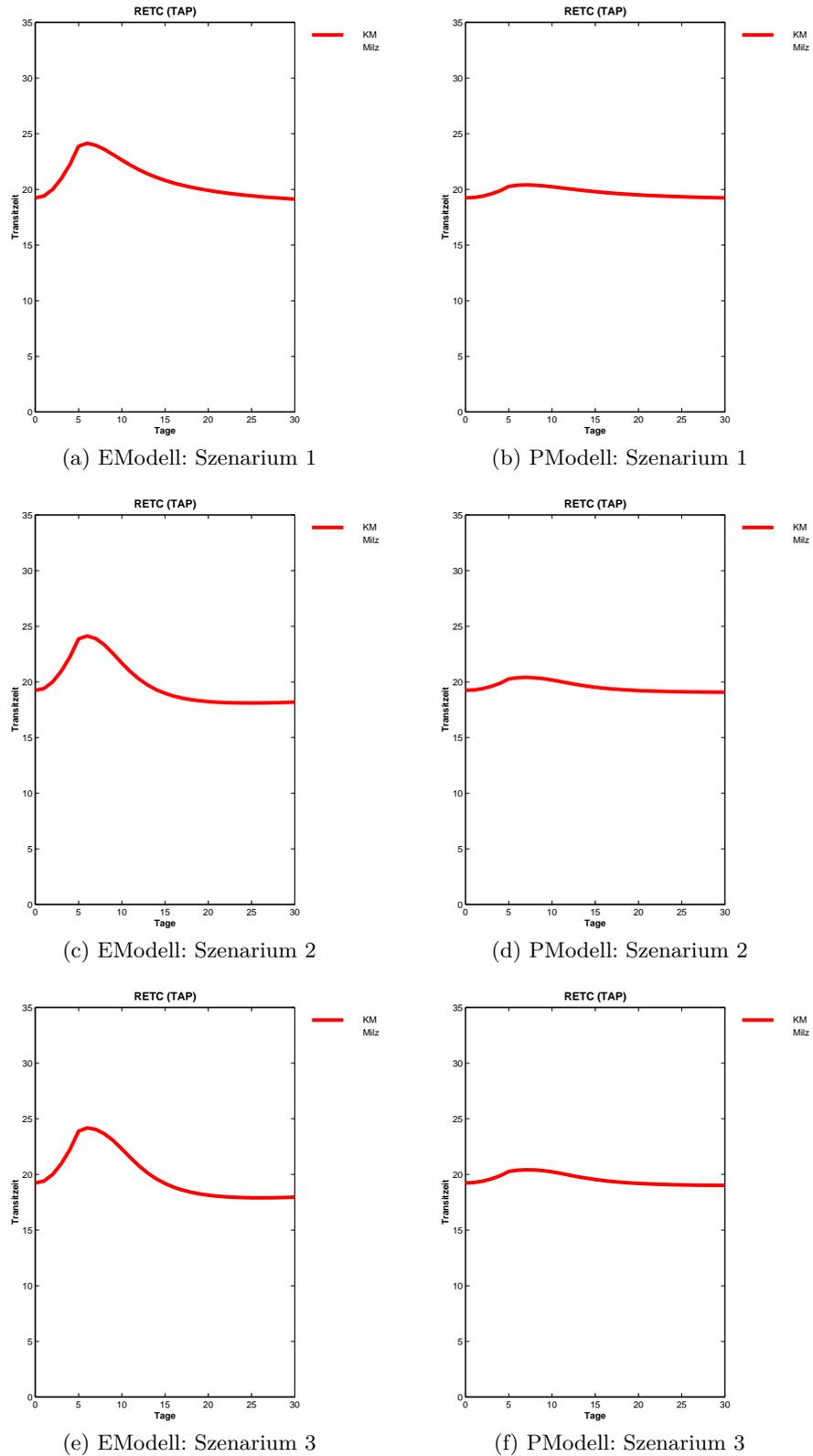


Abbildung 9.72: TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit: Szenarium 1: Standard-Migrationsparameter der Milz, Szenarium 2: modifizierte Migrationsparameter der Milz, Szenarium 3: Vorgabe der Größe der Stammzell-Kompartimente

9.8 Abbildungsverzeichnis

1.1	Die Erythropoese	24
1.2	Produktionsrate, Amplifikation, Zellverdoppelung, Zellteilung	36
1.3	Transitzeit, Verdoppelungszeit, Zellzykluszeit	38
1.4	Die Rolle der Milz in der murinen Erythropoese	42
2.1	Die experimentell ermittelte Verteilung der BFU-E auf Knochenmark und Milz	50
2.2	Repräsentation der BFU-E durch das Modell: Die relative Kompartimentgröße I	51
2.3	Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E I	51
2.4	Repräsentation der BFU-E durch das Modell: Die relative Kompartimentgröße II	53
2.5	Dosis-Wirkungskurve der Migrationsrate der BFU-E II	53
2.6	Repräsentation der BFU-E durch das Modell: Die relative Kompartimentgröße III	54
2.7	Dosis-Wirkungskurve der 'seeding efficiency' der lienalen BFU-E	55
2.8	Repräsentation der BFU-E durch das Modell: Die relative Kompartimentgröße	55
3.1	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des EModells	82
3.2	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Verdopplungszeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) im KM und in der Milz des EModells	83
3.3	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Transitzeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des EModells	84
3.4	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Transitzeiten der nicht-proliferativen Erythroblasten (MEB) und der organständigen Retikulozyten (RETR) in KM und Milz des EModells	85
3.5	Die Auswirkungen der für das EModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark I	86
3.6	Die Auswirkungen der für das EModell ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz I	87
3.7	EModell:CFU-E (CE)	88
3.8	EModell:Erythroblasten (EB)	89
3.9	EModell:CFU-E/Erythroblasten (CE/EB)	89

Abbildungsverzeichnis

3.10	EModell:rote Blutzellen (RETC und ERY)	90
3.11	EModell:Hämatokrit (HKT)	91
3.12	Der Einfluss der Parameterwahl auf den Hämatokrit	92
3.13	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E des Knochenmarks	94
3.14	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E der Milz	94
3.15	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die PEB des Knochenmarks	95
3.16	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB der Milz	95
3.17	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB des Knochenmarks	96
3.18	Die Sensitivitätsanalyse der Parameter der Amplifikation und der Zellverdopplungszeit für die CFU-E und PEB der Milz	96
4.1	Einfacher Aderlass - Die Stammzellen	104
4.2	Einfacher Aderlass - Die BFU-E	104
4.3	Einfacher Aderlass - Die CFU-E	105
4.4	Einfacher Aderlass - Die Erythroblasten	105
4.5	Einfacher Aderlass - Die proliferativen Erythroblasten	106
4.6	Einfacher Aderlass - Die reifenden Erythroblasten	106
4.7	Einfacher Aderlass - Die residualen Retikulozyten	107
4.8	Einfacher Aderlass - Die zirkulierenden Retikulozyten	107
4.9	Einfacher Aderlass - Die Erythrozyten	108
4.10	Einfacher Aderlass - Der Hämatokrit	108
4.11	Mehrfacher Aderlass - Die Stammzellen	112
4.12	Mehrfacher Aderlass - Die BFU-E	112
4.13	Mehrfacher Aderlass - Die CFU-E	113
4.14	Mehrfacher Aderlass - Die Erythroblasten	113
4.15	Mehrfacher Aderlass - Die proliferativen Erythroblasten	114
4.16	Mehrfacher Aderlass - Die reifenden Erythroblasten	114
4.17	Mehrfacher Aderlass - Die residualen Retikulozyten	115
4.18	Mehrfacher Aderlass - Die zirkulierenden Retikulozyten	115
4.19	Mehrfacher Aderlass - Die Erythrozyten	116
4.20	Mehrfacher Aderlass - Der Hämatokrit	116

4.21 Mehrfacher Aderlass - Die Stammzellen	120
4.22 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die BFU-E	120
4.23 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die CFU-E	121
4.24 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die Erythroblasten	121
4.25 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die proliferativen Erythroblasten .	122
4.26 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die reifenden Erythroblasten . . .	122
4.27 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die residualen Retikulozyten . . .	123
4.28 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die zirkulierenden Retikulozyten .	123
4.29 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Die Erythrozyten	124
4.30 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Der Hämatokrit	124
4.31 TAP-induzierte Anämie - Die Stammzellen	130
4.32 TAP-induzierte Anämie - Die BFU-E	131
4.33 TAP-induzierte Anämie - Die CFU-E	132
4.34 TAP-induzierte Anämie - Die Erythroblasten	133
4.35 TAP-induzierte Anämie - Die proliferativen Erythroblasten	134
4.36 TAP-induzierte Anämie - Die reifenden Erythroblasten	135
4.37 TAP-induzierte Anämie - Die residualen Retikulozyten	136
4.38 TAP-induzierte Anämie - Die zirkulierenden Retikulozyten	137
4.39 TAP-induzierte Anämie - Die Erythrozyten	138
4.40 TAP-induzierte Anämie - Der Hämatokrit	139
6.1 Apoptose-Rate und Amplifikation	151
6.2 Apoptose-Rate und Stammbäume I	153
6.3 Apoptose-Rate und Stammbäume II	154
6.4 Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Amplifikation der CFU-E und der proli- ferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz für das ApModells . . .	158
6.5 Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Verdopplungszeiten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des ApModells . . .	159
6.6 Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Gesamttransitzeit in KM und Milz des ApModells	161
6.7 Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Apoptose-Raten der CFU-E und der proliferativen Erythroblasten (PEB) in KM und Milz des ApModells . . .	162
6.8 Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs- Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark I	163
6.9 Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs- Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz I	164

Abbildungsverzeichnis

6.10	Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs- Beziehungen auf das erythropoetische System im Knochenmark II	166
6.11	Die Auswirkungen der für das ApModell ermittelten Dosis-Wirkungs- Beziehungen auf das erythropoetische System in der Milz II	167
6.12	ApModell: CFU-E	169
6.13	ApModell: proliferative Erythroblasten (PEB)	170
6.14	ApModell: reife Erythroblasten (MEB)	171
6.15	ApModell: Erythroblasten (EB)	171
6.16	ApModell: rote Blutzellen (RETC und ERY)	172
6.17	ApModell: Hämatokrit (HKT)	172
7.1	Das regulatorische Fenster	185
9.1	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate	209
9.2	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation	209
9.3	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verdoppelungszeit	210
9.4	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit	210
9.5	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate	211
9.6	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency	211
9.7	Einfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate	212
9.8	Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate	213
9.9	Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation	213
9.10	Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Verdoppelungszeit	214
9.11	Einfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit	214
9.12	Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose- Rate	215
9.13	Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation	215
9.14	Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdop- pelungszeit	216
9.15	Einfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit	216
9.16	Einfache Blutung - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit	217
9.17	Einfache Blutung - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit .	217
9.18	Einfache Blutung - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit	218
9.19	Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate	221
9.20	Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation	221
9.21	Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verdoppelungszeit	222

9.22 Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit	222
9.23 Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate	223
9.24 Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency	223
9.25 Mehrfache Blutung - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate	224
9.26 Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate	225
9.27 Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation	225
9.28 Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Verdoppelungszeit	226
9.29 Mehrfache Blutung - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit	226
9.30 Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate	227
9.31 Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifi- kation	227
9.32 Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdop- pelungszeit	228
9.33 Mehrfache Blutung - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit	228
9.34 Mehrfache Blutung - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit	229
9.35 Mehrfache Blutung - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit	229
9.36 Mehrfache Blutung - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit	230
9.37 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Apoptose- Rate	233
9.38 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation	233
9.39 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verdopp- lungszeit	234
9.40 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit	234
9.41 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Migrati- onsrate	235
9.42 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency	235
9.43 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate	236
9.44 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Apoptose- Rate	237
9.45 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation	237
9.46 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Verdopp- lungszeit	238
9.47 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit	238

Abbildungsverzeichnis

9.48 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate	239
9.49 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation	239
9.50 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit	240
9.51 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit	240
9.52 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit	241
9.53 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit	241
9.54 PHZ-induzierte hämolytische Anämie - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit	242
9.55 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Apoptose-Rate	259
9.56 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Amplifikation	260
9.57 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verdopplungszeit	261
9.58 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Transitzeit	262
9.59 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Migrationsrate	263
9.60 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: seeding efficiency	264
9.61 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der BFU-E: Verlustrate	265
9.62 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Apoptose-Rate	266
9.63 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Amplifikation	267
9.64 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Verdopplungszeit	268
9.65 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der CFU-E: Transitzeit	269
9.66 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Apoptose-Rate	270
9.67 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Amplifikation	271
9.68 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Verdopplungszeit	272
9.69 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der proliferative Erythroblasten: Transitzeit	273
9.70 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der nicht proliferierenden Erythroblasten: Transitzeit	274

9.71 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der residualen Retikulozyten: Transitzeit 275

9.72 TAP-induzierte Anämie - Kenndaten der zirkulierenden Retikulozyten: Transitzeit 276

9.9 Tabellenverzeichnis

1.1 Effekte eines erhöhten Erythropoetin-Spiegels 32

1.2 Halbwertszeiten des Erythropoetins 33

2.1 Erythropoetin-Dosis und relativer Erythropoetin-Spiegel 63

2.2 Abschätzung des Einstroms in die erythropoetische Zell-Linie 72

2.3 Abschätzung des Einstroms in das Erythrozyten-Kompartiment 73

2.4 Abschätzung der erythropoetische Gesamtamplifikation 74

2.5 Die Parameter der CE und der PEB des EModells 76

2.6 Die Parameter der MEB, der RETR und der RETC des EModells 77

2.7 Die die erythropoetische Gesamtamplifikation des EModells 77

4.1 Die Verlustraten-Parameter bei durch TAP verursachter Anämie 127

5.1 Ergebnisse der Modellierung der Dynamiken von Stress-Situationen 141

6.1 Die Effekte von rhEPO, SCF und IGF-I auf ECFC-Zellen 146

6.2 Die Effekte von rhEPO allein und kombiniert mit SCF und IGF-I auf ECFC-Zellen 147

6.3 CFU-E Parameter des ApModells im Vergleich zum EModell 156

6.4 PEB Parameter des ApModells im Vergleich zum EModel 157

9.1 Die Startwert- Zellzykluszeit- und ggf. Vorgabewerte der Stammzellen . . . 189

9.2 Die Parameter für die proliferative Fraktion der Stammzellen 189

9.3 Die Parameter für die Selbsterneuerungs-Wahrscheinlichkeit der Stammzellen 190

9.4 Die Migrations-Parameter der Stammzellen 190

9.5 Die Parameter für die Verteilung der aus dem Stammzell-Kompartiment ausströmenden Zellen auf die verschiedenen Zell-Linien 190

9.6 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der BFU-E 191

9.7 Die Parameter für die proliferative Fraktion der BFU-E 191

9.8 Die Amplifikation-Parameter der BFU-E 192

9.9 Die Transitzeit-Parameter der BFU-E 192

Tabellenverzeichnis

9.10	Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E .	193
9.11	Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E	194
9.12	Die Parameter für die proliferative Fraktion der CFU-E	194
9.13	Die Amplifikation-Parameter der CFU-E	195
9.14	Die Transitzeit-Parameter der CFU-E	195
9.15	Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	196
9.16	Die Parameter für die proliferative Fraktion der proliferierenden Erythroblasten	196
9.17	Die Amplifikation-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	197
9.18	Die Transitzeit-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	197
9.19	Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten .	198
9.20	Die Transitzeit-Parameter der reifenden Erythroblasten	198
9.21	Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der residualen Reticulozyten .	199
9.22	Die Transitzeit-Parameter der residualen Reticulozyten	199
9.23	Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	200
9.24	Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	201
9.25	Die Parameter für den altersabhängiger oder zufälliger Abbau der Erythrozyten	201
9.26	Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E .	202
9.27	Die Amplifikation-Parameter der CFU-E	203
9.28	Die Transitzeit-Parameter der CFU-E	203
9.29	Die Amplifikation-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	204
9.30	Die Transitzeit-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	204
9.31	Die Transitzeit-Parameter der reifenden Erythroblasten	205
9.32	Die Transitzeit-Parameter der residualen Reticulozyten	206
9.33	Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	207
9.34	Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	208
9.35	Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	219
9.36	Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	220

9.37 Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	231
9.38 Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	232
9.39 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E	243
9.40 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	244
9.41 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten .	244
9.42 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der residualen Reticulozyten .	245
9.43 Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	245
9.44 Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	246
9.45 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E	247
9.46 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	247
9.47 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten .	248
9.48 Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	249
9.49 Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	250
9.50 Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E .	251
9.51 Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E .	252
9.52 Die Startwert- Zellzykluszeit- und ggf. Vorgabewerte der Stammzellen . .	253
9.53 Die Parameter für die Migrationsrate und 'seeding efficiency' der BFU-E .	254
9.54 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der CFU-E	255
9.55 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der proliferierenden Erythroblasten	256
9.56 Die Startwert- und Verlustraten-Parameter der reifenden Erythroblasten .	256
9.57 Die Startwert-, Transitzeit-, RETI%- und ggf. Verlustraten-Parameter der zirkulierenden Reticulozyten	257
9.58 Die Startwert-, Transitzeit-, Subkompartiment- und ggf. Verlustraten-Parameter der Erythrozyten	258

Tabellenverzeichnis

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Jochen Dreß

Geburtsdatum: 11.03.1964

Geburtsort: Kiel

Ausbildung

1984 Abitur

10/1985–04/1993 Hochschulstudium der Medizin
3. Staatsexamen

Berufserfahrung

seit 04/2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter
Zentrum für klinische Studien Köln

Projektmanager:

- Studienberatung
- Studienkoordination

Teamleitung IT:

- Ausrichtung der IT an den strategischen Erfordernissen des ZKS Köln
- Applikationsmanagement
- Informationsmanagement

Qualitätsbeauftragter IT:

- Konzeption & Implementierung eines GCP-konformen IT-QM-Systems in Anlehnung an Referenzmodelle für IT-Governance
- Beratung von Projekten zur Validierung computergestützter Systeme
- Beratung von Softwareprojekten (Projektmanagement, Software Architektur, Requirements- und Qualitätsmanagement)

Allgemeine Beratung:

10 Lebenslauf

- Qualitätsmanagement
- Prozessgestaltung und -steuerung
- Datenmanagement
- SAE-Management
- Projektmanagement

08/1997-03/2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter
Wissenschaftlicher Service Pharma GmbH

Betreuung klinischer Studien:

- Projektmanagement
- Datenmanagement
- Qualitätsmanagement
- Monitoring
- Statistik
- Medical Writing

Senior Advisor IT:

- Konzeption, Entwicklung und Etablierung von Datenmanagement-Systemen für klinische Studien
- Konzeption und Einführung eines GCP-konformen Qualitätsmanagement-Systems für die Softwareentwicklung

04/1995-07/1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter
Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie,
Universität Leipzig

Medizinische Grundlagenforschung - Analyse und mathematische Modellierung der Wirkung von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren

04/1994-03/1995 AiP
Fabricius Kliniken Remscheid

Orthopädie

07/1993- 01/1994 AiP

Universität zu Köln

Medizinische Grundlagenforschung - Analyse und mathematische Modellierung der Wirkung von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren

Literatur

- [1] S. Abramson, R. G. Miller und R. A. Phillips. „The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of the myeloid and lymphoid systems.“ In: *J Exp Med* 145.6 (1977), S. 1567–1579.
- [2] J. W. Adamson, B. Torok Storb und N. Lin. „Analysis of erythropoiesis by erythroid colony formation in culture“. In: *Blood Cells* 4.1-2 (1978), S. 89–103.
- [3] K. Akahane u. a. „Binding of iodinated erythropoietin to rat bone marrow cells under normal and anemic conditions.“ In: *Exp Hematol* 17.2 (1989), S. 177–182.
- [4] P. D. Allen u. a. „Programmed cell death (apoptosis) in immunity and haematological neoplasia“. In: *Br J Biomed Sci* 50.2 (1993), S. 135–149.
- [5] P. L. Altman. *Blood and other body fluids*. Hrsg. von D. S. Dittmer. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961.
- [6] M. J. Arends, R. G. Morris und A. H. Wyllie. „Apoptosis. The role of the endonuclease.“ In: *Am J Pathol* 136 (1990), S. 593–608.
- [7] D. S. Askew, J. N. Ihle und J. L. Cleveland. „Activation of apoptosis associated with enforced myc expression in myeloid progenitor cells is dominant to the suppression of apoptosis by interleukin-3 or erythropoietin“. In: *Blood* 82.7 (1993), S. 2079–2087.
- [8] A. A. Axelrad u. a. „Differentiation of Normal and Neoplastic Hematopoietic Cells.“ In: Hrsg. von B. Clarkson, P. A. Marks und J. E. Till. Bd. 5. Cold Spring Harbor Conferences, 1978. Kap. Regulation of the Population Size of Erythropoietic Progenitor Cells. S. 155–164.
- [9] A. A. Axelrad u. a. „Hemopoiesis in culture“. In: Hrsg. von W. A. Robinson. Dhew Publication, 1974. Kap. Properties of cells that produce erythrocytic colonies in vitro. S. 226–234.
- [10] C. A. Baldamus u. a., Hrsg. *Erythropoietin: From molecular structure to clinical application*. Bd. 76. Contib. Nephrol. Karger, 1989.

Literatur

- [11] C. Bauer. „Physiologic determinants of erythropoietin production.“ In: *Semin Hematol* 28.3 Suppl 3 (1991), 9–12; discussion 12–13.
- [12] C. Bauer und A. Kurtz. „Oxygen sensing in the kidney and its relation to erythropoietin production“. In: *Annu Rev Physiol* 51 (1989), S. 845–856.
- [13] R. Baumann und C. Bauer AND H. Bartels. „Influence of chronic and acute hypoxia on oxygen affinity and red cell 2,3DiPhosphoglycerate of rats and guinea pigs.“ In: *Respir Physiol* 11 (1971), S. 135–144.
- [14] C. G. Begley u. a. „Purified colony-stimulating factors enhance the survival of human neutrophils and eosinophils in vitro: a rapid and sensitive microassay for colony-stimulating factors.“ eng. In: *Blood* 68.1 (1986), S. 162–166.
- [15] D. R. Boggs, A. Geist und P. A. Chervenick. „Contribution of mouse spleen to post-hemorrhagic erythropoiesis“. In: *Life Sciences* 8 (1969), S. 587–599.
- [16] D. R. Boggs und K. D. Patrene. „Hematopoiesis and aging III: Anemia and a blunted erythropoietic response to hemorrhage in aged mice.“ In: *Am J Hematol* 19.4 (1985), S. 327–338.
- [17] M. C. Bondurant und M. J. Koury. „Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver“. In: *Mol Cell Biol* 6.7 (1986), S. 2731–2733.
- [18] M. C. Bondurant u. a. „C-myc expression affects proliferation but not terminal differentiation or survival of explanted erythroid progenitor cells.“ In: *J Cell Physiol* 168.2 (1996), S. 255–263.
- [19] J. E. Brandt, K. Bhalla und R. Hoffman. „Effects of interleukin-3 and c-kit ligand on the survival of various classes of human hematopoietic progenitor cells“. In: *Blood* 83.6 (1994), S. 1507–1514.
- [20] V. C. Broudy u. a. „Interaction of stem cell factor and its receptor c-kit mediates lodgment and acute expansion of hematopoietic cells in the murine spleen.“ In: *Blood* 88 (1996), S. 75–81.
- [21] W. Bursch, L. Kleine und M. Tenniswood. „The biochemistry of cell death by apoptosis“. In: *Biochem Cell Biol* 68.9 (1990), S. 1071–1074.
- [22] W. Bursch, F. Oberhammer und R. Schulte Hermann. „Cell death by apoptosis and its protective role against disease“. In: *Trends Pharmacol Sci* 13.6 (1992), S. 245–251.

- [23] J. W. Byron und L. G. Lajtha. „Estimation of Haemopoietic Stem Cells with Erythropoietin: A Consideration of Dose-Response Curves“. In: *Br J Haematol* 15 (1968), S. 47–55.
- [24] M. Carroll, Y. Zhu und A. D. D Andrea. „Erythropoietin-induced cellular differentiation requires prolongation of the G1 phase of the cell cycle.“ In: *Proc Natl Acad Sci USA* 92.7 (1995), S. 2869–2873.
- [25] D. A. Carson und J. M. Ribeiro. „Apoptosis and disease“. In: *Lancet* 341.8855 (1993), S. 1251–1254.
- [26] S. Chapel u. a. „Changes in erythropoietin pharmacokinetics following busulfan-induced bone marrow ablation in sheep: evidence for bone marrow as a major erythropoietin elimination pathway.“ In: *J Pharmacol Exp Ther* 298 (2001), S. 820–824.
- [27] F. Colotta u. a. „Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products.“ eng. In: *Blood* 80.8 (1992), S. 2012–2020.
- [28] M. M. Compton. „A biochemical hallmark of apoptosis: internucleosomal degradation of the genome“. In: *Cancer Metastasis Rev* 11.2 (1992), S. 105–119.
- [29] D. Cormack. „Time-lapse characterization of erythrocytic colony-forming cells in plasma cultures“. In: *Exp Hematol* 4.5 (1976), S. 319–327.
- [30] T. G. Cotter u. a. „Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells“. In: *Anticancer Res* 10.5A (1990), S. 1153–1159.
- [31] V. Covelli, G. Briganti und G. Silini. „An Analysis of Bone Marrow Erythropoiesis in the Mouse“. In: *Cell Tissue Kinet.* 5 (1972), S. 41–51.
- [32] M. A. Cross und T. Enver. „The lineage commitment of haemopoietic progenitor cells.“ In: *Curr Opin Genet Dev* 7 (1997), S. 609–613.
- [33] C. H. Dai, S. B. Krantz und W. F. Green AND H. S. Gilbert. „Polycythaemia vera. III. Burst-forming units-erythroid (BFU-E) response to stem cell factor and c-kit receptor expression.“ In: *Br J Haematol* 86.1 (1994), S. 12–21.
- [34] C. H. Dai, S. B. Krantz und K. M. Zsebo. „Human burst-forming units-erythroid need direct interaction with stem cell factor for further development“. In: *Blood* 78.10 (1991), S. 2493–2497.
- [35] T. Datta u. a. „The role of the spleen in a lactate dehydrogenase mutant mouse (Ldh-1c/Ldh-1c) with hemolytic anemia“. In: *Exp Hematol* 16 (1988), S. 281–284.

Literatur

- [36] P. Deetjen. „Klinische Pathophysiologie“. In: Hrsg. von W. Siegenthaler. Thieme Stuttgart, 1979. Kap. Niere und ableitende Harnwege. Physiologische Grundlagen. S. 876–891.
- [37] T. M. Dexter und L. G. Lajtha. „Proliferation of haemopoietic stem cells in vitro“. In: *Br J Haematol* 28.4 (1974), S. 525–530.
- [38] C. Dive, C. A. Evans und A. D. Whetton. „Induction of apoptosis—new targets for cancer chemotherapy“. In: *Semin Cancer Biol* 3.6 (1992), S. 417–427.
- [39] Helmut Dolznig u. a. „Apoptosis protection by the Epo target Bcl-X(L) allows factor-independent differentiation of primary erythroblasts.“ In: *Curr Biol* 12.13 (2002), S. 1076–1085.
- [40] C. D. Dunn, J. I. Leonard und S. L. Kimzey. „Interactions of animal and computer models in investigations of the 'anemia' of space flight.“ In: *Aviat Space Environ Med* 52.11 Pt 1 (1981), S. 683–690.
- [41] J. Eigler. „Klinische Pathophysiologie“. In: Hrsg. von W. Siegenthaler. Thieme Stuttgart, 1979. Kap. Niere und ableitende Harnwege. Nierenfunktion und Allgemeinerkrankungen. S. 935–939.
- [42] S. G. Emerson u. a. „Human recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor and interleukin 3 have overlapping but distinct hematopoietic activities“. In: *J Clin Invest* 82.4 (1988), S. 1282–1287.
- [43] D. S. Emmanouel, E. Goldwasser und A. I. Katz. „Metabolism of pure human erythropoietin in the rat“. In: *Am J Physiol* 247.1 Pt 2 (1984), F168–F176.
- [44] A. J. Erslev. „Erythropoietin coming of age.“ In: *N Engl J Med* 316 (1987), S. 101–103.
- [45] A. J. Erslev. „Humoral regulation of red cell production.“ In: *Blood* 8 (1953), S. 349–357.
- [46] A. J. Erslev. „The effect of hemolysates on red cell production and erythropoietin release.“ In: *J Lab Clin Med* 78 (1971), S. 1–7.
- [47] A. J. Erslev u. a. „In Vitro Aspects of Erythropoiesis“. In: Hrsg. von M. J. Murphy. Springer, 1978. Kap. The effect of sustained hypertransfusion on hematopoiesis. S. 58–63.
- [48] A. J. Erslev u. a. „Renal and extrarenal erythropoietin production in anaemic rats.“ In: *Br J Haematol* 45.1 (1980), S. 65–72.

- [49] A. J. Erslev u. a. „The biogenesis of erythropoietin.“ In: *Exp Hematol* 8 Suppl 8 (1980), S. 1–13.
- [50] E. Fibach und E. A. Rachmilewitz. „Stimulation of erythroid progenitors by high concentrations of erythropoietin results in normoblasts arrested in G2 phase of the cell cycle“. In: *Exp Hematol* 21.1 (1993), S. 184–188.
- [51] E. Frindel, M. Tubiana und F. Vassort. „Generation cycle of mouse bone marrow.“ In: *Nature* 214 (1967), S. 1017–1018.
- [52] A. Ganzoni, R. S. Hillman und C. A. Finch. „Maturation of the macroreticulocyte“. In: *Br J Haematol* 16.1 (1969), S. 119–135.
- [53] A. M. Ganzoni. *Kinetik und Regulation der Erythrozytenproduktion*. Springer Berlin - Heidelberg - New York, 1970.
- [54] E. Gerard, A. L. Carsten und E. P. Cronkite. „The proliferative potential of plasma clot erythroid colony-forming cells in diffusion chambers“. In: *Blood Cells* 4.1-2 (1978), S. 105–128.
- [55] M. A. Goldberg, S. Imagawa und P. S. Dunning AND H. F. Bunn. „Erythropoietin: From molecular structure to clinical application.“ In: Hrsg. von C. A. Baldamus u. a. Bd. 76. *Contib. Nephrol. Karger*, 1989. Kap. Oxygen sensing and Erythropoietin gene regulation. S. 39–54.
- [56] W. Nijhof AND H. Goris u. a. „Optimal erythroid cell production during erythropoietin treatment of mice occurs by exploiting the splenic microenvironment“. In: *Exp Hematol* 21.4 (1993), S. 496–501.
- [57] S. E. Graber und S. B. Krantz. „Erythropoietin: biology and clinical use“. In: *Hematol Oncol Clin North Am* 3.3 (1989), S. 369–400.
- [58] L. H. Gray und J. M. Steadman. „Determination of the oxyhaemoglobin dissociation curves for mouse and rat blood.“ In: *J Physiol* 175 (1964), S. 161–171.
- [59] D. R. Green und T. G. Cotter. „Introduction: apoptosis in the immune system“. In: *Semin Immunol* 4.6 (1992), S. 355–362.
- [60] C. J. Gregory und A. C. Eaves. „Three stages of erythropoietic progenitor cell differentiation distinguished by a number of physical and biologic properties“. In: *Blood* 51.3 (1978), S. 527–537.
- [61] G. de Haan. „Regulation of Hematopoietic Cell Production.“ Diss. Institute for Drug Studies, University of Groningen, the Netherlands, 1995.

Literatur

- [62] G. de Haan, M. Loeffler und W. Nijhof. „Long-term recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) treatment severely depresses murine marrow erythropoiesis without causing an anemia“. In: *Exp Hematol* 20.5 (1992), S. 600–604.
- [63] Adrienne Halupa u. a. „A novel role for STAT1 in regulating murine erythropoiesis: deletion of STAT1 results in overall reduction of erythroid progenitors and alters their distribution.“ In: *Blood* 105.2 (2005), S. 552–561. DOI: 10.1182/blood-2003-09-3237. URL: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2003-09-3237>.
- [64] I. R. Hanna, R. G. Tarbutt und L. F. Lamerton. „Shortening of the cell-cycle time of erythroid precursors in response to anaemia“. In: *Br J Haematol* 16.4 (1969), S. 381–387.
- [65] H. Hara und M. Ogawa. „Erythropoietic precursors in mice with phenylhydrazine-induced anemia“. In: *Am J Hematol* 1.4 (1976), S. 453–458.
- [66] H. Hara und M. Ogawa. „Erythropoietic precursors in mice under erythropoietic stimulation and suppression“. In: *Exp Hematol* 5.2 (1977), S. 141–148.
- [67] D. E. Harrison und E. S. Russel. „The response of W-W v and Sl-Sl d anaemic mice to haemopoietic stimuli.“ In: *Br J Haematol* 22 (1972), S. 155–168.
- [68] L. Hayflick. „The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains.“ In: *Exp Cell Res* 37 (1965), S. 614–636.
- [69] W. Heit, I. W. Rich und B. Kubanek. „Macrophage-dependent production of erythropoietin and colony-stimulating factor“. In: *Hamatol Bluttransfus* 27 (1981), S. 73–78.
- [70] A. V. Hill. „The possible effects of the aggregation of the molecules of hemoglobin of its dissociation curve.“ In: *J Physiol* 40 (1910), S. IV–V.
- [71] R. S. Hillman und C. A. Finch. „Erythropoiesis: normal and abnormal.“ In: *Semin Hematol* 4.4 (1967), S. 327–336.
- [72] X. Huang, S. Cho und G. J. Spangrude. „Hematopoietic stem cells: generation and self-renewal.“ In: *Cell Death Differ* 14.11 (2007), S. 1851–1859. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402225. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.cdd.4402225>.
- [73] N. N. Iscove. „The role of erythropoietin in regulation of population size and cell cycling of early and late erythroid precursors in mouse bone marrow“. In: *Cell Tissue Kinet* 10.4 (1977), S. 323–334.

- [74] N. N. Iscove und F. Sieber. „Erythroid progenitors in mouse bone marrow detected by macroscopic colony formation in culture“. In: *Exp Hematol* 3.1 (1975), S. 32–43.
- [75] N. N. Iscove, F. Sieber und K. H. Winterhalter. „Erythroid colony formation in cultures of mouse and human bone marrow: analysis of the requirement for erythropoietin by gel filtration and affinity chromatography on agarose-concanavalin A“. In: *J Cell Physiol* 83.2 (1974), S. 309–320.
- [76] L. O. Jacobson u. a. „Role of the kidney in erythropoiesis.“ In: *Nature* 179 (1957), S. 633–634.
- [77] W. Wiktor Jedrzejczak u. a. „Defective transient endogenous spleen colony formation in S1/S1d mice“. In: *J Cell Physiol* 99.1 (1979), S. 31–35.
- [78] R. V. Jeffreys, J. Napier und S. H. Reynold. „Erythropoietin levels in posterior fossa haemangioblastoma.“ In: *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 4 (1982), S. 264–266.
- [79] W. Jelkmann. „Erythropoietin research, 80 years after the initial studies by Carnot and Deflandre“. In: *Respir Physiol* 63.3 (1986), S. 257–266.
- [80] W. Jelkmann. „Erythropoietin: structure, control of production, and function“. In: *Physiol Rev* 72.2 (1992), S. 449–489.
- [81] W. Jelkmann und G. Wiedemann. „Serum erythropoietin level: relationships to blood hemoglobin concentration and erythrocytic activity of the bone marrow.“ In: *Klinische Wochenschrift* 68.8 (1990), S. 403–407.
- [82] Dongsheng Jiang und Herbert Schwarz. „Regulation of granulocyte and macrophage populations of murine bone marrow cells by G-CSF and CD137 protein.“ eng. In: *PLoS One* 5.12 (2010), e15565. DOI: 10.1371/journal.pone.0015565. URL: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015565>.
- [83] E. S. Jones und B. G. Maegraith AND H. H. Sculthorpe. „Pathological Processes in disease. II. Blood of the albino rat: approximate physico-chemical description.“ In: *Ann Trop Med Parasit* 44 (1950), S. 168–186.
- [84] Hyun Sik Jun u. a. „G-CSF improves murine G6PC3-deficient neutrophil function by modulating apoptosis and energy homeostasis.“ eng. In: *Blood* 117.14 (2011), S. 3881–3892. DOI: 10.1182/blood-2010-08-302059. URL: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-08-302059>.

- [85] R. Kapur und L. Zhang. „A novel mechanism of cooperation between c-Kit and erythropoietin receptor. Stem cell factor induces the expression of Stat5 and erythropoietin receptor, resulting in efficient proliferation and survival by erythropoietin.“ In: *J Biol Chem* 276.2 (2001), S. 1099–1106. DOI: 10.1074/jbc.M007442200. URL: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M007442200>.
- [86] M. Kato, Y. Kato und Y. Sugiyama. „Mechanism of the upregulation of erythropoietin-induced uptake clearance by the spleen.“ In: *Am J Physiol* 276 (1999), E887–E895.
- [87] W. L. Kennedy, E. L. Alpen und J. F. Garcia. „Regulation of red blood cell production by erythropoietin: normal mouse marrow in vitro“. In: *Exp Hematol* 8.9 (1980), S. 1114–1122.
- [88] J. F. R. Kerr, A. H. Wyllie und A. R. Currie. „Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics.“ In: *Br J Cancer* 26 (1972), S. 239–257.
- [89] S-I. Kim und E. H. Bresnick. „Transcriptional control of erythropoiesis: emerging mechanisms and principles.“ In: *Oncogene* 26.47 (2007), S. 6777–6794. DOI: 10.1038/sj.onc.1210761. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1210761>.
- [90] H. O. Klein u. a. „Autoradiographische und hämatologische Untersuchung zur Zellkinetik der Erythroblasten im Kurzzeitversuch nach doppelseitiger Nephrektomie und Ureterligatur bei Mäusen“. In: *Blut* 19.8 (1969). engl. Titel: Autoradiographic and hematologic studies on cell kinetics of erythroblasts in a short-time experiment after bilateral nephrectomy and ureteral ligation in mice, S. 449–456.
- [91] M. J. Koury. „Programmed cell death (apoptosis) in hematopoiesis“. In: *Exp Hematol* 20.4 (1992), S. 391–394.
- [92] M. J. Koury und M. C. Bondurant. „Control of red cell production: the roles of programmed cell death (apoptosis) and erythropoietin“. In: *Transfusion* 30.8 (1990), S. 673–674.
- [93] M. J. Koury, L. L. Kelley und M. C. Bondurant. „The fate of erythroid progenitor cells“. In: *Ann N Y Acad Sci* 718 (1994), 259–267; discussion 267–270.
- [94] S. T. Koury, M. C. Bondurant und M. J. Koury. „Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidney by in situ hybridization.“ In: *Blood* 71 (1988), S. 524–527.
- [95] S. T. Koury u. a. „Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization“. In: *Blood* 77.11 (1991), S. 2497–2503.

- [96] T. Koya u. a. „Erythropoietin induces the expansion of c-kit+ progenitors for myeloid and erythroid cells, but not for lymphoid cells, in the bone marrow and liver.“ In: *Eur J Haematol* 63 (1999), S. 306–312.
- [97] S. B. Krantz. „Erythropoietin.“ In: *Blood* 77.3 (1991), S. 419–434.
- [98] B. Kubanek u. a. „Regulation of erythropoiesis. 23. Dissociation between stem cell and erythroid response to hypoxia“. In: *Blood* 32.4 (1968), S. 586–596.
- [99] J. Labardini u. a. „Marrow radioiron kinetics.“ In: *Haematologia (Budap)* 7.3 (1973), S. 301–312.
- [100] C. Lacombe u. a. „Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney“. In: *J Clin Invest* 81.2 (1988), S. 620–623.
- [101] V. Lacronique u. a. „Bcl-2 targeted overexpression into the erythroid lineage of transgenic mice delays but does not prevent the apoptosis of erythropoietin-deprived erythroid progenitors.“ In: *Blood* 90.8 (1997), S. 3050–3056.
- [102] L. F. Lamerton. „Cell proliferation under continuous irradiation.“ In: *Radiat Res* 27 (1966), S. 119–138.
- [103] K. T. Landschulz u. a. „Erythropoietin receptors on murine erythroid colony-forming units: natural history.“ In: *Blood* 73.6 (1989), S. 1476–1486.
- [104] S. Lee, S. Christakos und M. B. Small. „Apoptosis and signal transduction: clues to a molecular mechanism“. In: *Curr Opin Cell Biol* 5.2 (1993), S. 286–291.
- [105] M. Löffler. „Überlegungen zu einem umfassenden kybernetischen Modell der hämatopoetischen Stammzellen und Progenitorzellen.“ Diss. Medizinische Fakultät der Universität zu Köln, 1983.
- [106] D. C. Linch. „The regulation of erythropoiesis in man.“ In: *Schweizerische Medizinische Wochenschrift. Journal Suisse de Medecine* 119.39 (1989), S. 1327–1328.
- [107] M. Loeffler und K. Pantel. „A mathematical model of erythropoiesis suggests an altered plasma volume control as cause for anemia in aged mice“. In: *Exp Gerontol* 25.5 (1990), S. 483–495.
- [108] M. Loeffler und I. Roeder. „Tissue Stem Cells: Definition, Plasticity, Heterogeneity, Self-Organization and Models - A Conceptual Approach.“ In: *Cells Tissues Organs* 71 (2002), S. 8–26.

Literatur

- [109] M. Loeffler und K. Pantel AND H. Wulff AND H. E. Wichmann. „A mathematical model of erythropoiesis in mice and rats. Part 1: Structure of the model.“ In: *Cell Tissue Kinet* 22.1 (1989), S. 13–30.
- [110] M. C. Mackey und P. Dormer. „Continuous maturation of proliferating erythroid precursors“. In: *Cell Tissue Kinet* 15.4 (1982), S. 381–392.
- [111] A. M. Markoe, J. P. OKunewick und L. M. Schiffer. „Kinetic analysis of splenic erythropoiesis in mice under prolonged hypoxic stress“. In: *Exp Hematol* 1.6 (1973), S. 340–349.
- [112] J. C. Marsh u. a. „Factors influencing hematopoietic spleen colony formation in irradiated mice. IV. The effect of erythropoietic stimuli.“ In: *J Cell Physiol* 71.1 (1968), S. 65–75.
- [113] D. P. Martin u. a. „Inhibitors of protein synthesis and RNA synthesis prevent neuronal death caused by nerve growth factor deprivation.“ In: *J Cell Biol* 106.3 (1988), S. 829–844.
- [114] J. Y. Mary, A. J. Valleron AND H. Croizat und E. Frindel. „Mathematical analysis of bone marrow erythropoiesis: application to C3H mouse data“. In: *Blood Cells* 6.2 (1980), S. 241–262.
- [115] P. D. McClure, G. I. Ingram und Jones R. V. „Platelets changes after adrenaline infusions with and without adrenalin blockers.“ In: *Thromb Diath Haem* 13 (1965), S. 136–139.
- [116] D. L. McLeod, M. M. Shreeve und A. A. Axelrad. „Improved plasma culture system for production of erythrocytic colonies in vitro: quantitative assay method for CFU-E“. In: *Blood* 44.4 (1974), S. 517–534.
- [117] D. Metcalf. „The effect of bleeding on the number of in vitro colony-forming cells in the bone marrow“. In: *Br J Haematol* 16.4 (1969), S. 397–407.
- [118] E. A. Mirand und T. C. Prentice. „Presence of plasma Erythropoietin in hypoxic rats with and without kidneys and / or spleen.“ In: *Proc Soc Exp Biol Med* 96 (1957), S. 49–51.
- [119] F. C. Monette und J. B. Demello. „The relationship between stem cell seeding efficiency and position in cell cycle.“ In: *Cell Tissue Kinet.* 12 (1979), S. 161–175.
- [120] Veerendra Munugalavadla und Reuben Kapur. „Role of c-Kit and erythropoietin receptor in erythropoiesis.“ In: *Crit Rev Oncol Hematol* 54.1 (2005), S. 63–75. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2004.11.005. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2004.11.005>.

- [121] K. Muta und S. B. Krantz. „Apoptosis of human erythroid colony-forming cells is decreased by stem cell factor and insulin-like growth factor I as well as erythropoietin“. In: *J Cell Physiol* 156.2 (1993), S. 264–271.
- [122] K. Muta u. a. „Distinct roles of erythropoietin, insulin-like growth factor I, and stem cell factor in the development of erythroid progenitor cells“. In: *J Clin Invest* 94.1 (1994), S. 34–43.
- [123] K. C. Myrea und P. H. Albrecht. „Mathematical analysis and digital simulation of the control of erythropoiesis.“ In: *J Theor Biol* 33 (1971), S. 279–297.
- [124] J. P. Naets und M. Wittek. „A role of the kidney in the catabolism of erythropoietin in the rat“. In: *J Lab Clin Med* 84.1 (1974), S. 99–106.
- [125] Thanyaphong Na Nakorn u. a. „Myeloerythroid-restricted progenitors are sufficient to confer radioprotection and provide the majority of day 8 CFU-S.“ In: *J Clin Invest* 109.12 (2002), S. 1579–1585. DOI: 10.1172/JCI15272. URL: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI15272>.
- [126] G. Matioli AND H. Vogel AND H. Niewisch. „The dilution factor of intravenously injected hemopoietic stem cells.“ In: *J Cell Physiol* 72 (1968), S. 229–234.
- [127] H. Vogel AND H. Niewisch und G. Matioli. „Stochastic development of stem cells“. In: *J Theor Biol* 22.2 (1969), S. 249–270.
- [128] W. Nijhof und P. K. Wierenga. „The differentiation of CFU-E in vitro as a new system to study erythropoiesis.“ In: *Exp Hematol* 11.Suppl 14 (1983), S. 32.
- [129] W. Nijhof u. a. „Cell kinetic behaviour of a synchronized population of erythroid precursor cells in vitro“. In: *Cell Tissue Kinet* 17.6 (1984), S. 629–639.
- [130] W. Nijhof u. a. „Mechanistic options of erythropoietin-stimulated erythropoiesis.“ In: *Exp Hematol* 23.4 (1995), S. 369–375.
- [131] N. A. Noble, Q. P. Xu und L. L. Hoge. „Reticulocytes II: Reexamination of the in vivo survival of stress reticulocytes“. In: *Blood* 75.9 (1990), S. 1877–1882.
- [132] R. W. Oppenheim u. a. „Reduction of naturally occurring motoneuron death in vivo by a target-derived neurotrophic factor.“ In: *Science* 240.4854 (1988), S. 919–922.
- [133] G. Pabst und L. Kreja AND H. J. Seidel. „Regulation of erythropoiesis - a mathematical model.“ In: *Exp Hematol* 9.Suppl 9 (1981), S. 52.
- [134] I. M. Pannacciulli u. a. „Effect of bleeding on in vivo in vitro colony-forming hemopoietic cells“. In: *Acta Haematol* 58.1 (1977), S. 27–33.

Literatur

- [135] K. Pantel. „Erweiterung eines kybernetischen Modells der Erythropoese und dessen Anwendung für normale und pathologische Mäuse.“ Diss. Medizinische Fakultät der Universität zu Köln, 1987.
- [136] K. Pantel, M. Loeffler und B. Bungart AND H. E. Wichmann. „A mathematical model of erythropoiesis in mice and rats. Part 4: Differences between bone marrow and spleen“. In: *Cell Tissue Kinet* 23.4 (1990), S. 283–297.
- [137] T. Papayannopoulou und C. A. Finch. „On the in vivo action of erythropoietin: a quantitative analysis“. In: *J Clin Invest* 51.5 (1972), S. 1179–1185.
- [138] T. Papayannopoulou und C. A. Finch. „Radioiron measurements of red cell maturation.“ In: *Blood Cells* 1 (1975), S. 535–546.
- [139] H. M. Patt und M. A. Maloney. „Bone marrow regeneration after local injury: a review.“ In: *Exp Hematol* 3.2 (1975), S. 135–48.
- [140] R. Pereira u. a. „FLI-1 inhibits differentiation and induces proliferation of primary erythroblasts.“ In: *Oncogene* 18.8 (1999), S. 1597–1608. DOI: 10.1038/sj.onc.1202534. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1202534>.
- [141] C. Peschle u. a. „Kinetics of erythroid and myeloid stem cells in post-hypoxia polycythaemia“. In: *Br J Haematol* 37.3 (1977), S. 345–352.
- [142] R. E. Ploemacher, W. J. Molendijk und N. H. Brons AND H. de Ruiter. „Defective support of S1/S1d splenic stroma for humoral regulation of stem cell proliferation“. In: *Exp Hematol* 14.1 (1986), S. 9–15.
- [143] R. E. Ploemacher, P. L. van Soest und O. Vos. „Kinetics of erythropoiesis in the liver induced in adult mice by phenylhydrazine.“ In: *Scand J Haematol* 19.5 (1977), S. 424–434.
- [144] D. L. Porter und M. A. Goldberg. „Regulation of erythropoietin production“. In: *Exp Hematol* 21.3 (1993), S. 399–404.
- [145] C. S. Potten und M. Loeffler. „Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt“. In: *Development* 110.4 (1990), S. 1001–1020.
- [146] P. Quesenberry u. a. „Stem cell migration induced by erythropoietin or haemolytic anaemia: the effects of actinomycin and endotoxin contamination of erythropoietin preparations“. In: *Br J Haematol* 41.2 (1979), S. 253–269.
- [147] N. J. Rencricca u. a. „Stem cell migration and proliferation during severe anemia“. In: *Blood* 36.6 (1970), S. 764–771.

- [148] Melissa M Rhodes u. a. „Bcl-x(L) prevents apoptosis of late-stage erythroblasts but does not mediate the antiapoptotic effect of erythropoietin.“ In: *Blood* 106.5 (2005), S. 1857–1863. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4344. URL: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-11-4344>.
- [149] K. Rhyner und A. Ganzoni. „Erythrokinetics: evaluation of red cell production by ferrokinetics and reticulocyte counts“. In: *Eur J Clin Invest* 2.2 (1972), S. 96–101.
- [150] I. Roeder und M. Loeffler. „A novel dynamic model of hematopoietic stem cell organization based on the concept of within-tissue plasticity.“ In: *Exp Hematol* 30 (2002), S. 853–861.
- [151] K. Rosenlöf u. a. „Erythropoetin and renin substrate in cerebellar haemangioblastoma.“ In: *Acta Med Scand* 281 (1985), S. 481–485.
- [152] I. K. Rothman u. a. „Nucleoside deaminase: an enzymatic marker for stress erythropoiesis in the mouse.“ In: *J Clin Invest* 49.11 (1970), S. 2051–2067.
- [153] L. Sachs. „Leukämie: Umkehr der Entartung.“ In: *Spektrum der Wissenschaften* 3 (1986), S. 100–108.
- [154] M. Fukuda AND H. Sasaki und M. N. Fukuda. „Erythropoetin: From molecular structure to clinical application.“ In: Hrsg. von C. A. Baldamus u. a. Bd. 76. *Contib. Nephrol.* Karger, 1989. Kap. Erythropoietin Metabolism and the Influence of Carbohydrate Structure, S. 78–89.
- [155] R. Sasaki, S. Masuda und M. Nagao. „Erythropoietin: multiple physiological functions and regulation of biosynthesis.“ In: *Biosci Biotechnol Biochem* 64.9 (2000), S. 1775–1793.
- [156] J. S. Savill u. a. „Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. Programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages.“ In: *J Clin Invest* 83.3 (1989), S. 865–875.
- [157] K. Sawada u. a. „Human colony-forming units-erythroid do not require accessory cells, but do require direct interaction with insulin-like growth factor I and/or insulin for erythroid development“. In: *J Clin Invest* 83.5 (1989), S. 1701–1709.
- [158] K. Sawada u. a. „Purification of human blood burst-forming units-erythroid and demonstration of the evolution of erythropoietin receptors“. In: *J Cell Physiol* 142.2 (1990), S. 219–230.
- [159] K. Sawada u. a. „Purification of human erythroid colony-forming units and demonstration of specific binding of erythropoietin“. In: *J Clin Invest* 80.2 (1987), S. 357–366.

Literatur

- [160] J. C. Schooley. „The effect of erythropoietin on growth and development of spleen colony-forming cells.“ In: *J Cell Physiol* 68 (1966), S. 249–262.
- [161] J. C. Schooley und D. H. Y. Lin. „Regulation of erythropoiesis.“ In: Hrsg. von A. S. Gordon, M. Condorelli und C. Peschle. *Il Ponte*, 1972. Kap. Hematopoiesis and the colony-forming unit. S. 52–66.
- [162] L. M. Schwartz u. a. „Do all programmed cell deaths occur via apoptosis?“ In: *Proc Natl Acad Sci USA* 90 (1993), S. 980–984.
- [163] H. J. Seidel und L. Kreja. „Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis Vol. I: Model description, irradiation, erythropoietic stimulation.“ In: Hrsg. von H. E. Wichmann und M. Loeffler. Bd. 1. *Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis*. CRC Press, 1985. Kap. Experiments and Model Behavior. Combination of Irradiation and Bleeding - Experimental Results. S. 43.
- [164] S. Serke und D. Huhn. „Effects of various recombinant human hemopoietic growth factors (rhEpo, rhG-CSF, rhGM-CSF, rhIL-3) on the growth of peripheral blood progenitor cells (BFU-E, CFU-GM)“. In: *Blut* 61.1 (1990), S. 25–29.
- [165] R. Shadduck, D. Howard und F. Stohlman Jr. „A difference in erythropoietin production between anemic and hypoxic mice“. In: *Proc Soc Exp Biol Med* 128.1 (1968), S. 132–136.
- [166] S. J. Sharkis, W. W. Jedrzejczak und L. L. Sensenbrenner. „The W/W^v mouse as a model of bone marrow failure“. In: *Prog Clin Biol Res* 148 (1984), S. 211–218.
- [167] M. P. Siegers u. a. „Relative number and proliferation kinetics of hemopoietic stem cells in the mouse.“ In: *Blood Cells* 5.2 (1979), S. 211–236.
- [168] M. Silva u. a. „Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-XL and Bcl-2.“ In: *Blood* 88.5 (1996), S. 1576–1582.
- [169] L. Siminovitch, E. A. McCulloch und J. E. Till. „The distribution of colony forming cells among spleen colonies.“ In: *J Cell Comp Physiol* 62 (1963), S. 327–336.
- [170] C. A. Smith u. a. „Antibodies to CD3/T-cell receptor complex induce death by apoptosis in immature T cells in thymic cultures.“ In: *Nature* 337.6203 (1989), S. 181–184.
- [171] L. H. Smith und T. W. McKinley. „Mechanisms of radioprotection of mice by phenylhydrazine.“ In: *Radiat Res* 50.3 (1972), S. 611–628.

- [172] H. E. Wichmann AND H. Spechtmeyer, D. Gerecke und R. Gross. „Mathematical models in medicine.“ In: Hrsg. von J. Berger u. a. Bd. 11. *Lecture Notes in Biomathematics*. Springer, 1976. Kap. A mathematical model of erythropoiesis in man. S. 159–179.
- [173] *Clinical Immunology Spectrum*. „Programmed cell death, oncogenes, and cancer.“ In: *Clinical Immunology Spectrum* 5.3 (1993), S. 1,11–13.
- [174] J. L. Spivak. „The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin.“ In: *Contrib Nephrol* 76 (1989), 67–75; discussion 75–77.
- [175] J. L. Spivak u. a. „Erythropoietin is both a mitogen and a survival factor“. In: *Blood* 77.6 (1991), S. 1228–1233.
- [176] S. E. Steinberg u. a. „Erythropoietin kinetics in rats: generation and clearance.“ In: *Blood* 67.3 (1986), S. 646–649.
- [177] J. R. Stephenson u. a. „Induction of colonies of hemoglobin-synthesizing cells by erythropoietin in vitro.“ In: *Proc Natl Acad Sci USA* 68 (1971), S. 1542–1546.
- [178] F. Stohlman. „Humoral regulation of erythropoiesis VII. Shortened survival of erythrocytes produced by erythropoietin or severe anemia.“ In: *Proc Soc Exp Biol Med* 107 (1961), S. 884–887.
- [179] P. E. Tambourin u. a. „Production of high plasma levels of erythropoietin in mice.“ In: *Biomedicine* 19.3 (1973), S. 112–116.
- [180] M. Tavassoli. „Studies on hemopoietic microenvironments. Report of a workshop held in La Jolla,, California, August 8-9, 1974.“ In: *Exp Hematol* 3.4 (1975), S. 213–226.
- [181] H. J. Thompson, R. Strange und P. J. Schedin. „Apoptosis in the genesis and prevention of cancer“. In: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1.7 (1992), S. 597–602.
- [182] J. E. Till und E. A. McCulloch. „A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells.“ In: *Radiat Res* 14 (1961), S. 213–222.
- [183] J. E. Trentin. „Stem cells of renewing cell populations.“ In: Hrsg. von A. B. Cairnie, P. K. Lala und D. G. Osmond. Academic Press, 1976. Kap. Hemopoietic inductive microenvironment.
- [184] B. Tribukait. „Arterielle O₂HB-Sättigung und alveolarer CO₂- und O₂-Druck der Ratte bei Aufenthalt in 2000-7000 m Höhe“. In: *Acta Physiol Scand* 58 (1963), S. 90–98.

Literatur

- [185] B. Tribukait und R. Brummer. „Verschiebung der Sauerstoff-Hämoglobin-Dissoziationskurve der Maus nach Hypoxie entsprechend 6000 m Höhe.“ In: *Acta Med Scand Suppl* 472 (1967), S. 308–316.
- [186] J. L. Villeval, D. Metcalf und G. R. Johnson. „Fatal polycythemia induced in mice by dysregulated erythropoietin production by hematopoietic cells.“ In: *Leukemia* 6.2 (1992), S. 107–115.
- [187] C. Vogt, G. Noe und I. N. Rich. „The role of the blood island during normal and 5-fluorouracil-perturbed hemopoiesis.“ In: *Blood Cells* 17.1 (1991), 105–121; discussion 121–125.
- [188] C. Vogt, S. Pentz und I. N. Rich. „A role for the macrophage in normal hemopoiesis. III. In vitro and in vivo erythropoietin gene expression in macrophages detected by in situ hybridization.“ In: *Exp Hematol* 17 (1989), S. 391–397.
- [189] O. Vos, F. Luiten und R. E. Ploemacher. „Lodging of CFU-S under various circumstances in bone marrow, spleen and liver.“ In: *Exp Hematol* 8 (1980), S. 860–866.
- [190] G. Wagemaker und T. P. Visser. „Erythropoietin independent regeneration of erythroid progenitor cells following multiple injections of hydroxyurea.“ In: *Cell Tissue Kinet* 13.5 (1980), S. 505–517.
- [191] K. U. Wagner u. a. „Conditional deletion of the Bcl-x gene from erythroid cells results in hemolytic anemia and profound splenomegaly.“ In: *Development* 127.22 (2000), S. 4949–4958.
- [192] N. I. Walker u. a. „Patterns of cell death.“ In: *Methods Achiev Exp Pathol* 13 (1988), S. 18–54.
- [193] H. E. Wichmann. „Current concepts in erythropoiesis.“ In: Hrsg. von C. D. R. Dunn. Wiley, 1983. Kap. Computer modelling of erythropoiesis. S. 99.
- [194] H. E. Wichmann. „Untersuchung eines nichtlinearen Differenzialgleichungssystems und seine Anwendung auf den Regelkreis der Bildung roter Blutzellen.“ Diss. Medizinische Fakultät der Universität zu Köln, 1976.
- [195] H. E. Wichmann und M. Loeffler, Hrsg. *Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis Vol. I: Model description, irradiation, erythropoietic stimulation*. Bd. 1. Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis. CRC Press, 1985.

- [196] H. E. Wichmann und M. Loeffler, Hrsg. *Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis. Vol. II: Erythropoietic suppression, combined stresses, drug effects.* Bd. 2. Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis. CRC Press, 1985.
- [197] H. E. Wichmann, M. Loeffler und P. Herkenrath. „Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis Vol. I: Model description, irradiation, erythropoietic stimulation.“ In: Hrsg. von H. E. Wichmann und M. Loeffler. Bd. 1. Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis. CRC Press, 1985. Kap. Mathematical model of stem cell regulation. Fundamental system behaviour. S. 87.
- [198] H. E. Wichmann, M. Loeffler und K. Pantel AND H. Wulff. „A mathematical model of erythropoiesis in mice and rats. Part 2: Stimulated erythropoiesis.“ In: *Cell Tissue Kinet* 22.1 (1989), S. 31–49.
- [199] M. Loeffler AND H. E. Wichmann. „Mathematical Modeling of Cell Proliferation. Stem Cell Regulation in Hemopoiesis Vol. I: Model description, irradiation, erythropoietic stimulation.“ In: Hrsg. von H. E. Wichmann und M. Loeffler. Bd. 1. Mathematical Modelling of Cell Proliferation: Stem Cell Regulation in Hemopoiesis. CRC Press, 1985. Kap. Appendix 2: The role of the spleen in hematopoiesis. S. 163.
- [200] A. Wickrema, M. C. Bondurant und S. B. Krantz. „Abundance and stability of erythropoietin receptor mRNA in mouse erythroid progenitor cells.“ In: *Blood* 78.9 (1991), S. 2269–2275.
- [201] P. K. Wierenga und W. Nijhof. „Erythropoietin and the kinetics of CFU-E differentiation in vitro.“ In: *Exp Hematol* 11.Suppl 14 (1983), S. 225.
- [202] S. A. Landaw AND H. S. Winchell. „Endogenous production of ^{14}CO : a methode for calculation of rbc lifespan in vivo.“ In: *Blood* 36 (1970), S. 642–656.
- [203] N. S. Wolf. „Dissecting the hematopoietic microenvironment. II. The kinetics of the erythron of the S1/S1d mouse and the dual nature of its anemia“. In: *Cell Tissue Kinet* 11.4 (1978), S. 325–334.
- [204] E. G. Wright und B. I. Lord. „Regulation of CFU-S proliferation by locally produced endogenous factors“. In: *Biomedicine* 27.6 (1977), S. 215–218.
- [205] H. Wu, X. Liu und R. Jaenisch AND H. F. Lodish. „Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor.“ In: *Cell* 83.1 (1995), S. 59–67.

Literatur

- [206] H. Wu u. a. „Functional interaction of erythropoietin and stem cell factor receptors is essential for erythroid colony formation.“ In: *Proc Natl Acad Sci USA* 94.5 (1997), S. 1806–1810.
- [207] H. Wulff. „Ein mathematisches Modell des erythropoietischen Systems von Ratte und Maus.“ Diss. Medizinische Fakultät der Universität zu Köln, 1983.
- [208] A. H. Wyllie. „Apoptosis (the 1992 Frank Rose Memorial Lecture)“. In: *Br J Cancer* 67.2 (1993), S. 205–208.
- [209] A. H. Wyllie, J. F. Kerr und A. R. Currie. „Cell death: the significance of apoptosis.“ In: *Int Rev Cytol.* 68 (1980), S. 251–306.
- [210] N. Yanai, T. Satoh und M. Obinata. „Endothelial cells create a hematopoietic inductive microenvironment preferential to erythropoiesis in the mouse spleen“. In: *Cell Struct Funct* 16.1 (1991), S. 87–93.
- [211] Toshifumi Yokoyama u. a. „No apoptotic cell death of erythroid cells of erythroblastic islands in bone marrow of healthy rats.“ In: *J Vet Med Sci* 64.10 (2002), S. 913–919.
- [212] H. Youssoufian u. a. „Structure, function, and activation of the erythropoietin receptor.“ In: *Blood* 81.9 (1993), S. 2223–2236.
- [213] E. D. Zanjani und J. L. Ascensao. „Erythropoietin.“ In: *Transfusion* 2 (1989), S. 46.
- [214] E. D. Zanjani u. a. „Liver as the primary site of Erythropoietin production in the fetus. 89:640-644, 1977“. In: *J Lab Clin Med* 89 (1977), S. 640–644.
- [215] F. Zimmermann und I. N. Rich. „The sensitivity of in vitro erythropoietic progenitor cells to different erythropoietin reagents during development and the role of cell death in culture.“ In: *Exp Hematol* 24.2 (1996), S. 330–339.
- [216] B. Zochodne u. a. „Epo regulates erythroid proliferation and differentiation through distinct signaling pathways: implication for erythropoiesis and Friend virus-induced erythroleukemia.“ In: *Oncogene* 19.19 (2000), S. 2296–2304. DOI: 10.1038/sj.onc.1203590. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1203590>.