

Biosimulering

– vejen til individualiseret patientbehandling?

Medicinsk behandling tilpasset den enkelte patient virker yderst tillokkende. Men vejen dertil er brolagt med udfordringer betinget af livets ufattelige kompleksitet. Udviklingen inden for biosimulering viser, at målet kan være inden for rækkevidde – i hvert fald for nogle sygdommes vedkommende.

Af Erik Mosekilde

■ Med deres enorme netværk af vekselvirkende processer fra det molekylære og cellulære niveau til den overordnede fysiologiske regulering fremtræder de levende organismer klart og tydeligt som "systemer".

Kroniske sygdomme som kræft og diabetes kan relateres til ændringer i bestemte gener. Men de er også livsstilssygdomme, der er forbundet med risikofaktorer som rygning, overvægt, og mangel på motion. Man kan prøve at finde forklaringen på disse sygdomme i genetiske ændringer, eller man kan undersøge betydningen af forskellige livstilsfaktorer. De kroniske sygdomme afhænger imidlertid af et samspil af forskellige faktorer, og det er mest sandsynligt, at de udvikler sig gennem gradvise forskydninger i de biologiske processer. Forskydninger, som fører til sammenbrud af en beskyttende mekanisme efter den anden.

Den relativt nye disciplin inden for de biologiske og biomedicinske fagområder, der betegnes "systembiologi", tager netop udgangspunkt i beho-

vet for at betragte den levende organismes mange processer og mekanismer i et systemorienteret perspektiv. Ved hjælp af matematiske modeller forsøger man at beskrive samspillet mellem de mange forskellige processer. Modellerne skal umiddelbart bruges til at fortolke de eksperimentelle data og opsamle viden fra eksperiment til eksperiment. Men de skal også hjælpe os med at forstå de nye fænomener, der opstår via tilbagekoblinger og vekselvirkninger.

Anvendelsen af detaljerede modeller i den biologiske forskning går måske 60 år tilbage i tiden. Alligevel repræsenterer Systembiologien på mange måder en grundlæggende ændring i de sidste årtiers biologiske forskningstradition, som jo i høj grad har fokuseret på de enkelte gener og deres funktion. Med udgangspunkt i de resultater, vi har opnået i BioSim, et af EU's største forskningsnetværk inden for sundhedssektoren, vil jeg her forsøge at beskrive, hvordan systembiologiske metoder kan bruges til medicinudvikling og sygdomsbehandling.



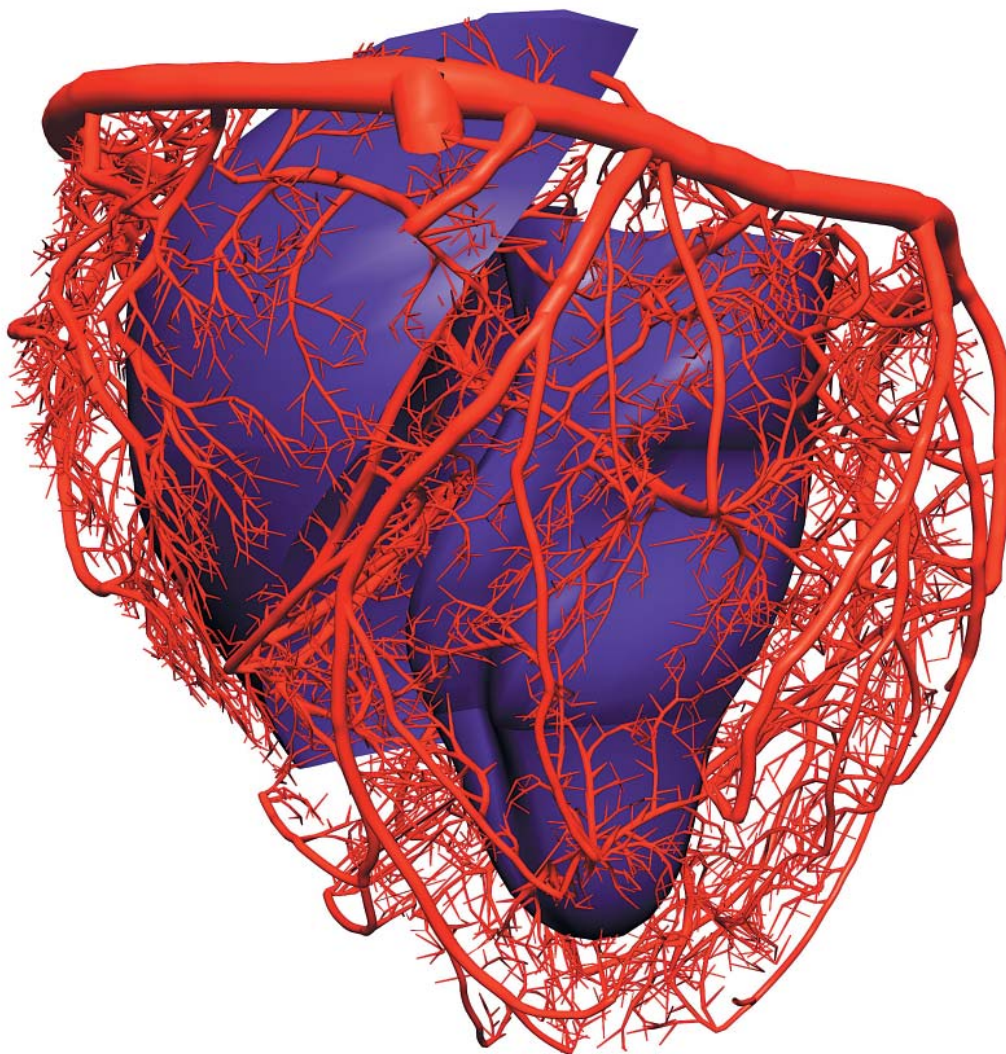
Foto: Novo Nordisk

Biosimulering kan hjælpe forskerne med at udvikle bedre og mere individualiseret behandling for en række sygdomme. Patienter med diabetes er en af de grupper, der med tiden kan få glæde af dette.

Biosimulering i behandling af kræftpatienter

BioSim har været med til at udvikle en form for kræftbehandling, som tager udgangs-

punkt i det forhold, at stort set alle organismens processer varierer i takt med vores 24 timers døgnrytme. Det gælder f.eks. både optagelsen af mange typer



Figur 1. Matematisk model af hjertet. Modellen er udviklet af Prof. Denis Noble ved Department of Physiology, Oxford University. I de fem år Denis Noble og hans gruppe har deltaget i BioSim samarbejdet, er modellens hjerteceller blevet udstyret med en lang række forskellige ionkanaler og receptorer, så modellen nu kan anvendes til afprøvning af medicin.

kræftmedicin og den hastighed, hvormed medicinen nedbrydes i leveren eller andre organer. Præcis den samme dosis kan derfor give anledning til vidt forskellige koncentrationer i blodet alt efter, hvilket tidspunkt på døgnet medicinen er taget. Samtidig kan giftvirkningen også variere i dagens løb, fordi de raske celler i nogen grad synkroniserer deres celledeling, den mest følsomme fase, med et bestemt tidspunkt i døgnrytmen.

Kræftcellerne er mindre tilbøjelige til at synkronisere deres celledeling. Ved at give kræftmedicinen på et tidspunkt, hvor man undgår den følsomme celledelingsfase for de normale celler, kan man øge dosis med op mod en faktor 8 og derved opnå en væsentligt forbedret behand-

lingseffekt. Metoden forudsætter imidlertid, at man for den enkelte patient kan beregne den præcise tidslige variation af de forskellige processer. Problemet kompliceres yderligere af, at kræftmedicin har tilbøjelighed til at forstyrre døgnrytmen. Ved hjælp af detaljerede simuleringermodeller, der tager hensyn til disse forhold, har BioSim-grupperne i Bruxelles og Berlin udviklet en behandlingsprocedure, der er optimeret for den enkelte patient. Foreløbige erfaringer med denne behandling, udført af BioSim-gruppen i Paris, har vist en tydelig forlængelse af især de mandlige patienters overlevelsestid.

Sideløbende hermed arbejder de to BioSim-grupper i Budapest med udvikling af nye typer

af kræftmedicin, herunder bl.a. stoffer der giver kræftcellerne nervelignende egenskaber, således at de har mindre tilbøjelighed til at dele sig.

Modelbaseret behandling af Parkinsons syge

BioSim-grupperne i Juelich og Marburg arbejder med udviklingen af bedre metoder til behandling af patienter med henholdsvis Parkinsons syge og forskellige former for depression. Parkinsons syge antages at skyldes, at en gruppe celler med tilknytning til hjernens motoriske center synkroniserer deres nerveimpulser, og derved låser sig til hinanden. Parkinsons syge behandles normalt medicinsk, men der er en restgruppe af patienter, som ikke

tåler medicinen, eller for hvem den ikke længere er effektiv. De behandles ofte ved stimulering af det syge område med elektriske signaler, der indføres ved hjælp af en elektrode. Typisk anvendes korte pulser med en spænding på 1,5 V og en frekvens på 130 Hz.

Med henblik på at udvikle en mildere form for stimulering har BioSim-gruppen i Juelich opstillet en model, der beskriver vekselvirkningen mellem et stort antal nerveceller. Ved hjælp af denne model har de fundet frem til en ny stimuleringsprocedure, som bryder cellernes synkronisering ved langt lavere spændinger. Samtidig viser det sig, at stimuleringsmetoden kan anvendes i såkaldt "demand mode". Det betyder, at man kan nøjes med at stimulere, når cellerne begynder at vende tilbage til den synkrone tilstand. Behandling af foreløbig 10 patienter viser, at den nye metode giver nervecellerne mulighed for "at falde til ro". Det ser ud til, at man på denne måde kan opnå en mere varig effekt.

I relation til denne eksperimentelle behandling arbejder BioSim-gruppen i Bordeaux med at udvikle avancerede matematiske modeller, der kan simulere vekselvirkningen mellem nerveceller i forskellige dele af hjernen. Formålet hermed er bl.a. at finde ud af, om man kan erstatte den nuværende stimulering af områder dybt inde i hjernen med stimulering af områder nær hjernens overflade.

Insulin absorption fra underhuden

Til regulering af blodsukkeret hos patienter med diabetes er der behov for forskellige typer af insulin, herunder en såkaldt hurtigtvirkende insulin, som kan anvendes før et måltid. Optagelsen af den hurtigtvirkende insulin i blodet efter injektion i underhuden er imidlertid mere kompliceret, end man umiddelbart skulle forvente. Det viser sig blandt andet, at den hastighed, hvormed insulin absorberes, afhænger både af koncentrationen af den benyt-

tede insulinopløsning og af størrelsen af den givne dosis.

Forklaringen herpå er, at insulin i underhuden optræder i forskellige kemiske former, som ikke optages lige hurtigt. I opløst tilstand optræder insulin således både på en dimer form, hvor insulinmolekylerne er bundet til hinanden to og to, og en hexamer form, hvor seks insulinmolekyler er bundet sammen. Det er imidlertid stort set kun den dimere form, der kan passere fra vævet og ind i de små blodkar, hvorfra insulinmolekylerne transporteres videre rundt i organismen. For at beskrive absorptionshastigheden for forskellige insulinindoser er man altså nødsaget til at opstille en model, der kan holde rede på, hvor meget af insulinet i underhuden, der på et givet tidspunkt på dimer form.

Andre insulinvarianter optræder som små krystaller i underhuden. Den hastighed, hvor insulinet optages i blodbanen afhænger da af, hvor hurtigt krystallerne opløses, og hvor stor tilbøjelighed de har til at gendannes fra den opløste form.

Inden for BioSim Netværkets rammer har vi etableret et samarbejde mellem Novo Nordisk, Lægemiddelstyrelsen og Institut for Fysik ved DTU om udviklingen af modeller, der kan beskrive de fysiske og kemiske processer, hvorigennem insulin skifter tilstand mellem forskellige former. Med modeller af denne type vil man have et effektivt værktøj til at bestemme, hvor hurtigt forskellige insulinvarianter optages i blodet. Færre forsøg med dyr og mennesker vil derfor være nødvendige for at afgøre, om en ny variant virker som ønsket, og den eksperimentelle indsats kan i stedet rettes mod at belyse mere generelle forhold i absorptionsprocessen.

Nyrernes rolle i blodtryksreguleringen

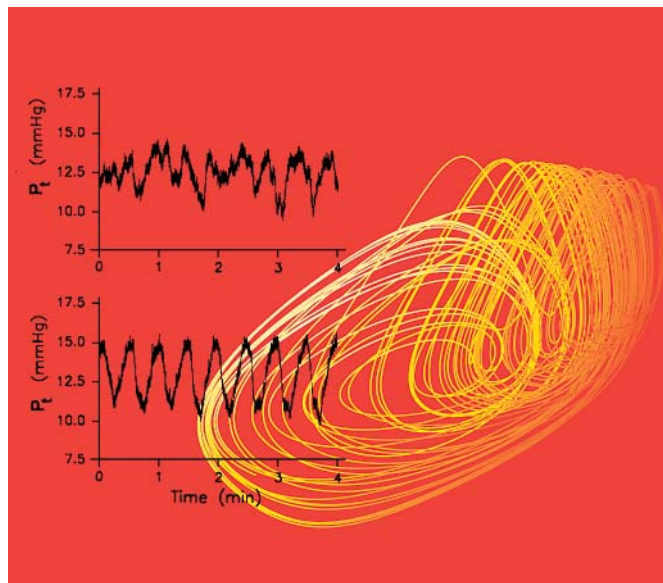
Nyrerne spiller som bekendt en afgørende rolle for reguleringen af organismens salt- og væskebalance, samt af blodtrykket. Samtidig er nyrerne udstyret med mekanismer, der skal sikre dem en nogenlunde konstant blodtil-

førsel uafhængigt af variationer i blodtrykket. Det har længe været kendt, at denne regulering involverer to forskellige mekanismer, som begge er knyttet til det enkelte nefron, nyrens såkaldte funktionelle enhed. Hos mennesket indeholder hver nyre ca. 1,2 millioner nefroner.

Den første af de to mekanismer reagerer på variationer i trykket i den åre, der forsyner nefronet med blod. Når dette tryk stiger, trækker de glatte muskler omkring åren sig sammen, og blodtilstrømningen reduceres. I denne regulering indgår imidlertid processer, der får muskelcellerne til at trække sig sammen i en rytmisk bevægelse, og blodtilstrømningen kommer derfor til at oscillere med en typisk periode på 6-7 sekunder. Den anden mekanisme søger at reducere blodtilstrømningen, hvis saltkoncentrationen i den væske, der forlader nefronet bliver for stor. På grund af en betydelig forsinkelse i reguleringen giver denne mekanisme imidlertid også anledning til svingninger, denne gang med en periode på ca. 30 sekunder.

Arbejdet med at forstå oscillationerne i nyrens tryk- og flowregulering startede for snart 30 år siden på det daværende Institut for Eksperimentel Fysiologi. De nuværende BioSim-grupper ved Panum Institut og ved Fysik. DTU har siden i fællesskab udviklet stadig mere detaljerede modeller af de involverede processer, og i dag står reguleringen af nyrens blodforsyning som et af de mest veldokumenterede eksempler på komplekse dynamiske fænomener i fysiologiske kontrolsystemer.

For rotter med normalt blodtryk viser analyser af de eksperimentelle resultater tydeligt de to forskellige oscillationer. For disse rotter forbliver den samlede trykvariation nogenlunde regelmæssig, men man ser ofte, at de to oscillationer justerer sig efter hinanden, således at der er præcis fem hurtige oscillationer for hver gang den langsomme oscillation gennemfører en svingning. Det er et eksempel



Figur 2. Eksempler på den eksperimentelt observerede variation i nefronets (dvs. nyrens funktionelle enhed) tryk for henholdsvis rotter med normalt (nederst) og med forhøjet (øverst) blodtryk. For rotter med forhøjet blodtryk er trykvariationerne kaotiske. Baggrunden viser en simulering af den kaotiske trykregulering.

BioSim – et forskningsnetværk i EU

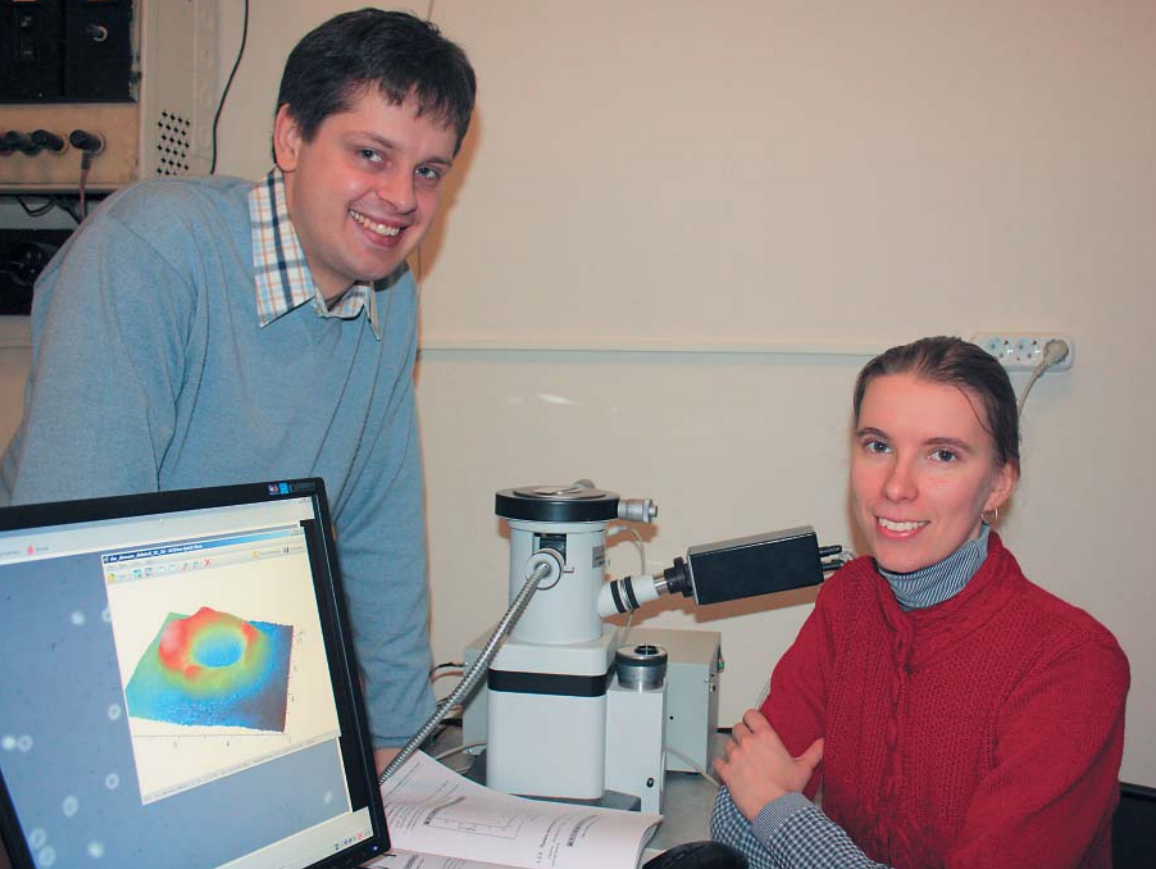
Med sine mere end 200 aktive forskere og en samlet bevilling på 10,7 mill. Euro er BioSim et af de største forskningsnetværk inden for sundhedsområdet under EU's 6. Rammeprogram. Samtidig er BioSim et af de meget få store EU-netværk, der koordineres fra dansk side.

BioSim's primære formål er at opbygge et stærkt europæisk forskningssamarbejde med henblik på udviklingen af modeller, som kan beskrive nogle af den menneskelige organismes komplicerede funktioner på grundlag af de underliggende genetiske, kemiske og fysiske processer. Mere konkret er det netværkets formål at demonstrere, hvordan anvendelsen af computersimulering kan bidrage til en hurtigere og billigere udvikling af ny medicin og til en mere effektiv behandling af patienter med kræft og andre kroniske sygdomme.

Netværket omfatter 29 akademiske forskningsgrupper, 6 mindre virksomheder, Novo Nordisk samt de regulerende myndigheder i Danmark, Sverige, Holland og Spanien. Lægemiddelstyrelsernes engagement i projektet spiller også en afgørende rolle, bl.a. fordi den farmaceutiske industri jo kun vil kunne anvende modelsimuleringer i forbindelse med godkendelsen af et nyt produkt, hvis lægemiddelstyrelserne kan vurdere en sådan dokumentation.

Udover Novo Nordisk og Lægemiddelstyrelsen deltager fra dansk side forskningsgrupper fra de lægevidenskabelige, farmaceutiske og naturvidenskabelige fakulteter ved Københavns Universitet samt fra Fysik, Matematik og Bioinformatik ved Danmarks Tekniske Universitet. Blandt BioSim's øvrige partnere er 4-5 af Europas mest erfarne grupper inden for modellering af komplekse dynamiske systemer samt et flertal af de nationale centre for Systembiologi, der de senere år er etableret i England og Tyskland.

BioSim omfatter desuden hospitalsafdelinger, som med udgangspunkt i detaljerede modelsimuleringer behandler patienter med kræft, depression og Parkinsons syge. Det er ikke mindst inden for behandlingen af disse sygdomme, at Netværket har opnået en række af sine mest betydningsfulde resultater.



Med det såkaldte interferensmikroskop kan levende celler studeres – i dette tilfælde et rødt blodlegeme. Personerne på billedet er Nadia og Alexey Brazhe fra det biologiske fakultet ved Moskvas Universitet.

på "frekvenslåsning", et af den ikke-lineære dynamiks typiske fænomener.

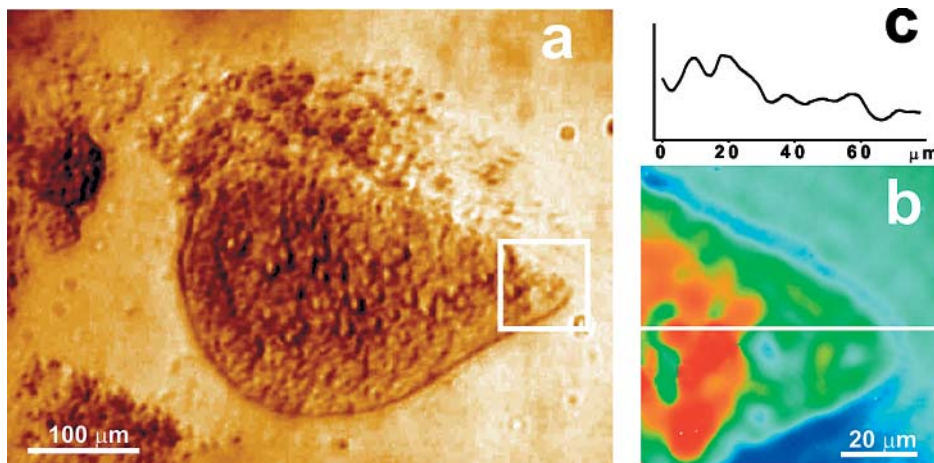
For rotter med forhøjet blodtryk finder man en stærkt uregelmæssig trykvariation. Årsagen hertil er tilsyneladende, at muskelcellerne i den åre, der fører blod til nefronet, reagerer stærkere og mere nervøst hos disse rotter. I nogle tilfælde kan vi observere en fordobling af perioden i trykvariationerne. Det er igen et typisk ikke-lineært dynamisk fænomen og et tegn på, at trykreguleringen for disse rotter udviser såkaldt deterministisk kaos.

Biologi og kaosteori

Udviklingen af en kvantitativ og systemorienteret beskrivelse af den levende organismes komplicerede processer repræsenterer en enorm videnskabelig udfordring, som på en gang må forventes at føre til en helt ny forståelse af de biologiske funktioner og til væsentlige fremskridt i behandlingen af en lang række sygdomme. Det vil f.eks. blive muligt at behandle den enkelte patient på grundlag af hans eller hendes specifikke tilstand, og det vil blive muligt at udvikle medicin mod sygdomme, der er så sjældne, at markedet ikke kan bære de omkostninger, der er forbundet med de nuværende metoder. Men denne udvikling forudsætter en væsentlig ændring i den filosofi, som præger mange biomedicinske forskningsområder i dag.

De levende organismers kompleksitet overgår stort set alt, hvad vi kender fra andre grene af naturvidenskaben. En af kilderne til denne kompleksitet er det enorme antal af forskellige processer, der foregår i hver enkelt celle. Andre kilder er de mange strukturelle niveauer, der kendetegner de flercellede organismers opbygning, og det

Interferensmikroskopi



a) Viser nervecellen observeret gennem et normalt mikroskop. Her ser man cellens overflade. Den hvide firkant afgrænser den spids af nervecellen, der er skannet med interferensmikroskopet. b) Viser det billede vi får fra interferensmikroskopet. Her ser vi, hvad der er inden i cellen. Det interessante er, at vi kan gøre det med en rimelig god tidslig opløsning. c) Viser et skan af cellens optiske tykkelse langs den hvide linie i (b).

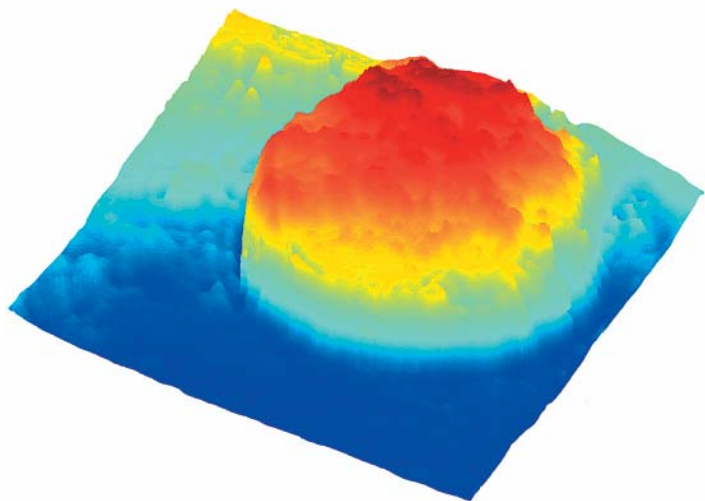
De fleste af de metoder, vi har til at studere cellernes indre processer er "invasive". Det betyder, at de direkte påvirker cellernes funktion. En almindelig benyttet teknik baserer sig f.eks. på anvendelsen af et farvestof, der fluorescerer, når det binder sig til bestemte molekyler. Farvestofferne er imidlertid ofte giftige for cellen, og det er derfor af interesse at finde nye metoder, der ikke påvirker cellerne i samme udstrækning.

I samarbejde med forskere fra det biologiske fakultet ved Moskva Universitet har BioSim-gruppen ved Institut for Fysik, DTU som de første anvendt et såkaldt interferensmikroskop

til at studere levende celler. Interferensmikroskopet måler den tid, det tager lyset i en svag laserstråle at passere gennem cellen på et givet sted. Denne tid afhænger naturligvis direkte af cellens tykkelse. Men den afhænger også af alle de forhold, der påvirker cellens brydningsindeks og dermed lyshastigheden langs strålens vej. Cellens såkaldte "optiske tykkelse" er således større, hvis lyset passerer cellerkernen eller et andet større organel. Den optiske tykkelse afhænger også af cellemembranens viskositet og af koncentrationen af forskellige ioner i cellen.

Ved at skanne laserstrålen hen over en levende celle kan

man således følge udviklingen i de forskellige processer uden at påvirke cellen. Med den benyttede skannehastighed har vi typisk kunnet følge processer, der foregår med frekvenser op til 20 Hz. Vi har bl.a. brugt interferensmikroskopet til at studere forskellige processer i nervecellerne fra en snegl, og i samarbejde med læger ved Panum Institutet har vi undersøgt fordelingen af hæmoglobin i røde blodlegemer fra patienter med forskellige hjerte-kar sygdomme. Vi satser stærkt på at udbygge dette samarbejde gennem anvendelsen af andre nye teknikker til at studere af de levende cellers indre processer.



Figur 3. Nervecelle fra en snegl iagttaget ved hjælp af et interferensmikroskop. Figuren viser, hvorledes cellens "optiske tykkelse" varierer hen over cellen. Med denne metode kan man følge den levende celledes interne processer uden at påvirke dem.

fantastiske spænd i tid fra de molekulære processer, der foregår på brøkdele af et sekund, til udviklingen af sygdomme som diabetes og kræft, der ofte tager mange år.

Biologisk kompleksitet opstår imidlertid også, fordi de levende organismer er åbne systemer, der opererer langt fra termisk

ligevægt. I praksis betyder dette, at mange af deres regulerende mekanismer er ustabile og producerer oscillerende eller kaotiske fænomener. Fra et termodynamisk synspunkt er tilstedeværelsen af sådanne ikke-lineære dynamiske fænomener ubrydeligt knyttet til liv. Vi lever kun, så længe hjertet slår, og rytmi-

ske og kaotiske signaler er også afgørende både for den enkelte celledes muligheder for at organisere sine interne processer og for dens kommunikation med nabocellerne.

Bifurkationer, dvs. pludselige ændringer i et systems opførsel, og kaos kan opfattes som den tidlige pendant til de levende systemers komplekse rumlige strukturer. For mig er det derfor naturligt at forvente, at den ikke-lineære dynamik (kaosteori) vil spille en afgørende rolle som fundament for en teoretisk biologi. I hvert fald i de første mange år må en succesfuld udvikling af systembiologien derfor forudsætte et nært samarbejde ikke alene mellem eksperter inden for de forskellige biologiske fagområder, men også med ingeniører, matematikere og fysikere. Ingeniørerne kan bidrage med deres viden om kontrolteori og simuleringstekniker, og matematikere og fysikere kan bidrage med deres viden inden for modellering og ikke-lineær dynamik. ■

Om forfatteren



Erik Mosekilde er professor ved Institut for Fysik, DTU
Koordinator for BioSim
Tlf.: 4525 3104
E-mail:
erik.mosekilde@fysik.dtu.dk

Videre læsning

E. Mosekilde og R. Feldberg:
Ikke-lineær Dynamik og Kaos,
Polyteknisk Forlag (1994).

L. Glass and M.C. Mackey:
From Clocks to Chaos. The Rhythms of Life, Princeton University Press (1988).

E. Mosekilde: *Topics in Non-linear Dynamics: Applications to Physics, Biology and Economic Systems*, World Scientific (1996).

M. Berta, E. Mosekilde, and H. Westerhoff: *Biosimulation in Drug Development*, Wiley (2008).