



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
INSTITUT FÜR TELEMATIK

Aus dem Institut für Telematik der
Universität zu Lübeck
Institutsdirektor: Prof. Dr. Stefan Fischer

EINSATZ VON NANOTECHNOLOGIEN IN DER PRÄZISIONSMEDIZIN

Inauguraldissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Universität zu Lübeck

Aus der Sektion Informatik/Technik

Vorgelegt von
Regine Wendt, M. Sc.
aus Stuttgart Bad Cannstatt

Lübeck, 2024

ABSTRACT

Precision medicine takes into account individual genetic, environmental, and lifestyle differences to tailor diagnoses, prevention strategies, and treatments individually. The introduction of nanotechnologies into precision medicine offers opportunities for improving personalized and targeted approaches to diagnosis, therapy, and research. Nanotechnologies have the potential to detect, monitor, and treat diseases at the molecular level within the body.

A particularly relevant nanotechnology are nanodevices. Nanodevices are miniaturized electronic, biological, or biohybrid devices with nanoscale components, which have been receiving attention in the medical context since the early 2000s. The integration of nanotechnologies and nanodevices into medical research and practice poses challenges. This work addresses these challenges and provides innovative strategies to improve the effectiveness and applicability of nanotechnologies in medicine. For example, comprehensive concepts for the construction and effective use of nanodevices are lacking. A promising and universal solution approach for this are DNA-nanonetworks based on DNA-tile-nanorobots. These are presented, and their practical application is illustrated using an example scenario of *in vitro* disease detection, demonstrating their potential.

Since few nanodevices can currently be tested *in vivo*, simulations are essential for verifying and adapting theories and concepts for nanodevice development. Realistic simulation of nanodevices in their application within the human body is crucial for evaluating research hypotheses and accelerating progress in this field. Although simulation approaches exist, a holistic architecture is lacking to realistically depict complex scenarios.

The work presents a medical holistic simulation architecture for nanonetworks in humans called MEHLISSA. This architecture enables the modeling of medical nanonetworks at various levels, from the body level to organ, capillary, and cell levels. Four relevant scenarios are modeled to demonstrate the benefits of simulation and the use of nanodevices. These scenarios include improving medical measures through individual body models as the basis for digital twins, continuous health monitoring using nanodevices in the circulatory system, metastasis prevention through nanodevices, and the application of liquid biopsy *in vivo* for cancer diagnosis and monitoring. The simulations show promising results, including the reliable determination of thresholds for relevant markers in the body and the detection of minimal amounts of ctDNA by

ABSTRACT

nanodevices. They demonstrate the potential benefits of nanodevices for improving disease diagnostics and treatment.

Another unresolved issue is the precise localization of nanodevices and disease markers, which is crucial for improved disease detection and targeted drug delivery. A new approach based on local pattern recognition and individual proteome fingerprints of important organs and tissues is developed for this purpose. By combining proteome fingerprinting and DNA-nanonetworks, precise localization of disease markers is enabled. The simulations demonstrate the effectiveness of the method in nine major organs within minutes. The results suggest that the combination of proteome fingerprinting and DNA-nanonetworks could be crucial for more accurate and faster diagnosis and treatment.

This dissertation thus contributes to the exploration and application of nanotechnologies in medicine by providing both theoretical foundations and practical applications and simulations. It becomes clear that the use of nanotechnologies in medicine can lead to improved early detection and treatment of diseases.

KURZFASSUNG

Präzisionsmedizin berücksichtigt individuelle genetische, umweltbedingte und lebensstilbezogene Unterschiede, um Diagnosen, Präventionsstrategien und Behandlungen individuell maßzuschneidern. Die Einführung von Nanotechnologien in der Präzisionsmedizin bietet Chancen zur Verbesserung personalisierter und zielgerichteter Ansätze für Diagnose, Therapie und Forschung. Nanotechnologien haben das Potenzial, Krankheiten im Körper auf molekularer Ebene zu erkennen, zu überwachen und zu behandeln.

Eine besonders relevante Nanotechnologie sind Nanogeräte. Nanogeräte sind miniaturisierte elektronische, biologische oder biohybride Geräte mit nanoskaligen Komponenten, die seit den frühen 2000er Jahren im medizinischen Kontext Beachtung finden. Die Integration von Nanotechnologien und Nanogeräten in die medizinische Forschung und Praxis birgt Herausforderungen. Die vorliegende Arbeit adressiert diese Herausforderungen und bietet innovative Strategien zur Verbesserung der Wirksamkeit und Anwendbarkeit von Nanotechnologien in der Medizin. Es mangelt beispielsweise an umfassenden Konzepten für die Konstruktion und die effektive Nutzung von Nanogeräten. Ein vielversprechender und universeller Lösungsansatz hierfür sind DNA-Nanonetzwerke auf Basis von DNA-Tile-Nanorobotern. Diese werden vorgestellt, und anhand eines Beispielszenarios zur Krankheitserkennung *in vitro* wird ihre praktische Anwendung veranschaulicht und ihre Potenziale werden aufgezeigt.

Da derzeit wenige Nanogeräte *in vivo* getestet werden können, ermöglichen vor allem Simulationen die Theorien und Konzepte für die Entwicklung von Nanogeräten zu überprüfen und anzupassen. Die realistische Simulation von Nanogeräten in ihrem Einsatzbereich dem menschlichen Körper ist demnach unerlässlich, um Forschungshypothesen zu evaluieren und den Fortschritt in diesem Bereich zu beschleunigen. Obwohl Ansätze zur Simulation existieren, fehlt eine ganzheitliche Architektur, um komplexe Szenarien realistisch abzubilden.

Die Arbeit präsentiert eine umfassende Simulationsarchitektur namens MEHLISSA. Diese Architektur ermöglicht die Modellierung medizinischer Nanonetzwerke auf verschiedenen Ebenen, von der Körperebene, über Organ- und Kapillar- bis zur Zellebene. Es werden vier relevante Szenarien modelliert, um die Vorteile der Simulation und den Einsatz von Nanogeräten zu demonstrieren. Diese Szenarien umfassen die Verbesserung medizinischer Maßnahmen durch individuelle Körpermodelle als Basis für Digital Twins, die kontinuierliche Gesundheitsüberwachung mittels Nanogeräten im

KURZFASSUNG

Blutkreislauf, die Prävention von Metastasen durch Nanogeräte sowie die Anwendung der Liquid Biopsy *in vivo* zur Krebsdiagnostik und -überwachung. Die Simulationen zeigen vielversprechende Ergebnisse, darunter die zuverlässige Bestimmung von Schwellenwerten für relevante Marker im Körper und die Detektion von Kleinstmengen an ctDNA durch Nanogeräte. Sie demonstrieren den potenziellen Nutzen von Nanogeräten zur Verbesserung der Diagnostik und Behandlung von Krankheiten.

Ein weiteres ungeklärtes Problem ist die genaue Lokalisierung von Nanogeräten und Krankheitsmarkern, die eine wichtige Basis für eine verbesserte Krankheitserkennung und gezielte Medikamentenabgabe sind. Hierfür wird ein neuer Ansatz basierend auf lokaler Mustererkennung und individuellen Proteom-Fingerprints wichtiger Organe und Gewebe entwickelt. Durch die Kombination von Proteom-Fingerprinting und DNA-Nanonetzwerken wird eine präzise Lokalisierung von Krankheitsmarkern ermöglicht. Die Simulationen belegen die Wirksamkeit der Methode in neun wesentlichen Organen innerhalb weniger Minuten. Die Ergebnisse legen nahe, dass die Kombination aus Proteom-Fingerprinting und DNA-Nanonetzwerken entscheidend für eine genauere und schnellere Diagnose sowie Behandlung sein könnte.

Diese Dissertation trägt somit zur Erforschung und Anwendung von Nanotechnologien in der Medizin bei, indem sie sowohl theoretische Grundlagen als auch praktische Anwendungen und Simulationen liefert. Es wird deutlich, dass der Einsatz von Nanotechnologien in der Medizin zu einer verbesserten Früherkennung und Behandlung von Krankheiten führen kann.

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	iii
KURZFASSUNG	v
VORWORT	vii
INHALTSVERZEICHNIS	ix
1 EINLEITUNG	1
1.1 Motivation und Problemstellung	1
1.2 Wissenschaftliche Beiträge der Arbeit	3
1.3 Struktur der Dissertation	5
2 GRUNDLAGEN	7
2.1 Definition von Nanogeräten	7
2.1.1 Einführung in die Nanotechnologie	8
2.1.2 Merkmale von Nanogeräten	9
2.1.3 Komponenten	10
2.1.4 Unterteilung von Nanogeräten	13
2.2 Vorstellung verschiedener Nanogeräte	16
2.2.1 Biohybride Nanogeräte	16
2.2.2 DNA-Nanoroboter	18
2.3 DNA-Nanonetzwerke	23
2.3.1 DNA-Tiles	23
2.3.2 DNA-Nachrichtenmoleküle	25
2.3.3 DNA-Tile-Nanoroboter	26
2.3.4 Beispieldaten: Krankheitserkennung in vitro	27
2.3.5 Realisierbarkeit	29
2.4 Anwendungsgebiete	32
2.5 Simulationstechniken in der Nanoforschung	33
2.5.1 Körpersimulatoren	35
2.5.2 Nanonetzwerksimulatoren	37

3 ANWENDUNGSFALLANALYSE VON NANOTECHNOLOGIEN IN DER MEDIZIN	41
3.1 Aktuelle Themen der modernen Medizin	42
3.1.1 Neue Wege mit Präzisionsmedizin	44
3.1.2 Anwendungsbereiche der Präzisionsmedizin	46
3.1.3 Methoden der Präzisionsmedizin	52
3.2 Diagnostik von Krankheiten	57
3.2.1 Nanotechnologiebasierte Sensoren	60
3.2.2 Gesundheitsüberwachung	64
3.3 Behandlung von Krankheiten	68
3.3.1 Targeted Drug Delivery	70
3.4 Krankheitslokalisierung in Diagnostik und Behandlung	75
3.4.1 Herausforderungen in der Krebsdiagnostik	77
3.5 Liquid Biopsy in der Diagnostik	80
3.5.1 Prinzipien und biologische Grundlagen	80
3.5.2 Anwendungsbereiche	82
3.5.3 Nanotechnologie in der Liquid Biopsy	83
3.5.4 Schwachstellen und Lösungsansätze	88
4 SIMULATIONSARCHITEKTUR FÜR NANONETZWERKE – MEHLISSA	93
4.1 Die vier Ebenen von MEHLISSA	94
4.2 Körperebene	97
4.2.1 In-Body-Nanosimulation – BloodVoyagerS	98
4.2.1.1 Konzept	99
4.2.1.2 Anforderungen an einen Körpersimulator	100
4.2.1.3 Körpermodell	101
4.2.1.4 Analyse der Simulationsergebnisse	104
4.2.1.5 Überprüfung der Anforderungen	107
4.2.2 Visualisierung	109
4.2.2.1 Funktionen	111
4.2.2.2 Webanwendung	111
4.2.3 Einbindung von BVS in MEHLISSA	113
4.2.3.1 Implementierung	113
4.2.3.2 Gefäße in 3D	115
4.2.3.3 Einlesbare Körpermodelle	117
4.2.4 Körpernetzwerke und Gateways	117
4.3 Organebene	118
4.3.1 Durchblutungsregulation	118
4.3.1.1 Implementierung	120
4.3.1.2 Durchblutung bei Arbeit	120
4.3.2 Zuordnung von Messdaten	122
4.3.3 Modellierung der Organe	123

4.3.3.1	BodyParts3D und SimVascular	124
4.4	Kapillarebene	126
4.4.1	Merkmale der Kapillarsysteme	127
4.4.2	Modellierung der Verästelung	128
4.4.3	Einbindung von Kanalmodellen	129
4.5	Zellebene	129
4.5.1	Kommunikation auf Zellebene	130
4.5.2	Modellierung der Nanogerät-Zell-Beziehung	131
4.6	Plausibilität des Körpersimulators	134
5	DEMONSTRATION MEDIZINISCHER SZENARIEN IN MEHLISSA	139
5.1	Digital Twin	140
5.1.1	Vergleich neuer Körpermodelle	141
5.2	Kontinuierliche Gesundheitsüberwachung	146
5.2.1	Modellierung von Nanopartikeln	146
5.2.2	Implementierung der Nanopartikel detektion	149
5.2.3	Detektionsereignisse und Schwellenwertbestimmung	150
5.3	Metastasenprävention	153
5.4	In-Vivo-Liquid-Biopsy	155
5.4.1	Bestimmung der Simulationsparameter	155
5.4.2	Mobile Detektion von zellfreier Tumor-DNA	157
6	LOKALISIERUNG VON KRANKHEITSMARKERN	161
6.1	Technologien zur Lokalisierung von Anomalien und Nanogeräten im Körper	162
6.1.1	Elektromagnetische Lokalisation	162
6.1.2	Molekulare Lokalisation	166
6.2	Fingerprinting als Lokalisierungsmethode	168
6.2.1	Kandidaten und Anforderungen	168
6.2.2	Eignung verschiedener Fingerprinting-Ansätze	169
6.3	Das Proteom als Organ-Fingerprint	172
6.3.1	Erstellung von Fingerprints: Auswahlalgorithmus	173
6.3.2	Bewertung verschiedener Fingerprint-Größen	175
6.4	Erkennung von Fingerprints	179
6.4.1	Einsatz von DNA-basierten Nanonetzwerken	180
6.4.2	Berechnung der Fingerprint-Genprodukte	181
6.4.3	Simulation der Nachrichtenmoleküle im NetTAS-Simulator	183
6.5	Simulation der Lokalisierung	185
6.5.1	Umsetzung in MEHLISSA	186
6.5.1.1	Nanolokatoren und Nanokollektoren	186
6.5.1.2	Implementierung der Fingerprint-Funktionalität	187
6.5.2	Ergebnisse	188

INHALTSVERZEICHNIS

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	193
7.1 Zusammenfassung	193
7.1.1 Analyse medizinischer Anwendungen zur Nutzung von Nanogeräten	194
7.1.2 Simulationstechniken zur Untersuchung von Nanonetzwerken im menschlichen Körper	195
7.1.3 Demonstration der effektiven Nutzung von Nanogeräten	196
7.1.4 Lokalisierung von Krankheitsmarkern im Körper	197
7.2 Ausblick	198
A ZUSÄTZLICHE TABELLEN UND UML DIAGRAMME	201
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	213
TABELLENVERZEICHNIS	217
PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	219
Artikel aus Fachzeitschriften	219
Konferenzbeiträge	219
LITERATURVERZEICHNIS	223
Dissertationen, Fachbücher und Abschlussarbeiten	223
Artikel aus Fachzeitschriften	224
Konferenzbeiträge	237
Sonstige	239
DANKSAGUNG	243
LEBENSLAUF DER AUTORIN	245

4

KAPITEL

SIMULATIONSARCHITEKTUR FÜR NANONETZWERKE – MEHLISSA

In diesem Kapitel wird das Konzept eines umfassenden Frameworks vorgestellt, dessen Hauptziel es ist, die Strukturen und Prozesse im menschlichen Körper sowie die Interaktion von Nanogeräten damit zu modellieren und zu simulieren.

Viele medizinische Nanogeräte sind darauf ausgelegt, ihre Aufgaben im Körper auszuführen, zum Beispiel durch die frühzeitige Erkennung und Zerstörung von Krebszellen. Abschnitt 3 hat gezeigt, dass Nanogeräten im Allgemeinen eine bedeutende Rolle in einem zukünftigen Gesundheitssystem basierend auf Präzisionsmedizin zugeschrieben wird. In Abschnitt 2.5 wurde erläutert, dass es entscheidend ist, den Einsatz von Nanogeräten im menschlichen Körper zu simulieren, bevor sie tatsächlich verwendet werden. Hier wurde gezeigt, dass bis 2018 kein Simulator existierte, der die Verteilung von Nanogeräten im Herz-Kreislauf-System modellierte. Die Autorin schloss 2018 diese Lücke mit der Entwicklung eines Körpersimulators namens *BloodVoyagerS* (BVS). Der Simulator wird in diesem Kapitel ausführlich vorgestellt und evaluiert. Darüber hinaus bildet er in einem erweiterten Konzept einen entscheidenden Teil der medizinischen ganzheitlichen Simulationsarchitektur, englisch *Medical Holistic Simulation Architecture* (MEHLISSA). MEHLISSA stellt ein umfassendes Körpersimulationsframework dar, das den menschlichen Körper so realitätsnah wie möglich modellieren soll. Dies ermöglicht verlässliche Aussagen über die Effektivität und Effizienz des Einsatzes von Nanogeräten *in vivo* zu tätigen und aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

In den folgenden Abschnitten wird die Simulationsarchitektur eingeführt und die vier Ebenen des Modells kurz vorgestellt. Im Anschluss ist jeder Ebene ein eigener Abschnitt gewidmet. Danach wird die Implementierung des Frameworks gezeigt und die Einbindung verschiedener Nanogeräteklassen erläutert. Um die Vorteile einer ganzheitlichen

Simulation zu veranschaulichen, werden in Kapitel 5 vier Szenarien und deren mögliche Modellierung mittels MEHLISSA besprochen. Zum Schluss dieses Kapitels wird die Plausibilität der bestehenden Simulationsplattform mithilfe eines neueren Modells gezeigt. Teile dieses Kapitels, die den grundlegenden Entwurf von MEHLISSA und das Metastasierungsszenario betreffen, wurden in dem Artikel „MEHLISSA: a medical holistic simulation architecture for nanonetworks in humans“ [15] veröffentlicht. Alle Inhalte, sofern nicht anders gekennzeichnet, basieren auf der eigenständigen Arbeit der Autorin.

4.1 DIE VIER EBENEN VON MEHLISSA

In Abschnitt 3.4 wurden Herausforderungen in der Krankheitslokalisierung und im Besonderen in der Krebsforschung thematisiert. So ist die Metastasierung eines der Kernprobleme in der Onkologie, bei der medizinischen Nanogeräte Abhilfe schaffen könnten, indem patrouillierende Nanogeräte die frei fließenden malignen Zellen erkennen, an sie binden und sie unschädlich machen. Mit solchen Szenarien im Hinterkopf wird MEHLISSA entwickelt, um medizinische Nanogeräte und ihre Anwendung im kardiovaskulären System zu modellieren.

Voll funktionsfähige medizinische Nanogeräte können derzeit nur in Ausnahmen konstruiert werden, sodass Laborversuche, selbst an Tiermodellen, noch kaum möglich sind (siehe Abschnitt 2.2.2 für die wenigen Ausnahmen). Daher sind Simulationen die treibende Kraft für neues Wissen in diesem Bereich. Selbst wenn Nanogeräte in Zukunft häufiger realisierbar werden, ist es ressourcenschonend, zuerst die Anwendung von Nanogeräten zu simulieren. Zum Beispiel kann mit der Simulation der Typ und die Anzahl der in anschließenden Experimenten zu verwendenden Nanogeräte bestimmt werden, wodurch Material und Kosten gespart werden können. Jedoch reicht ein Netzwerksimulator wie ns-3 nicht aus, um realistische Simulationen von mobilen Nanogeräten im Körper zu ermöglichen [5]. Stattdessen müssen die Strukturen des Körpers wie Blutgefäße und ihre Dynamik, z. B. der Blutfluss, einbezogen werden. Diese Strukturen und Dynamiken eines lebenden Organismus sind viel komplexer als die Prozesse in beispielsweise einem elektrischen Leiter. Mit den notwendigen Anpassungen ist ns-3 dennoch eine geeignete Grundlage für die Simulation von Nanonetzwerken. Als Beweis hierfür wurde das THz-Modul Terasim [71] für die Netzwerksimulation von Nano- und Makroszenarien kürzlich der ns-3-Hauptversion hinzugefügt. Darüber hinaus wurden in den letzten Jahren mehrere andere Nano-bezogene Module für ns-3 entwickelt [68, 163, 157]. Alle genannten Module modellieren dabei die Kommunikationsebene und simulieren die umgebenden Faktoren im menschlichen Körper nur auf Kanalebene. Dies stellt eine starke Reduktion dar, indem nur makroskopische Strukturen wie große Blutgefäße isoliert betrachtet werden.

Für ein ganzheitliches Verständnis der Zusammenhänge ist es notwendig, den Körper als ein komplexes Ganzes von großen Gefäßen und Organen bis hin zur Kapillar- und Zellebene zu simulieren. Die Existenz dieses Bedarfs in der Forschungsgemeinschaft

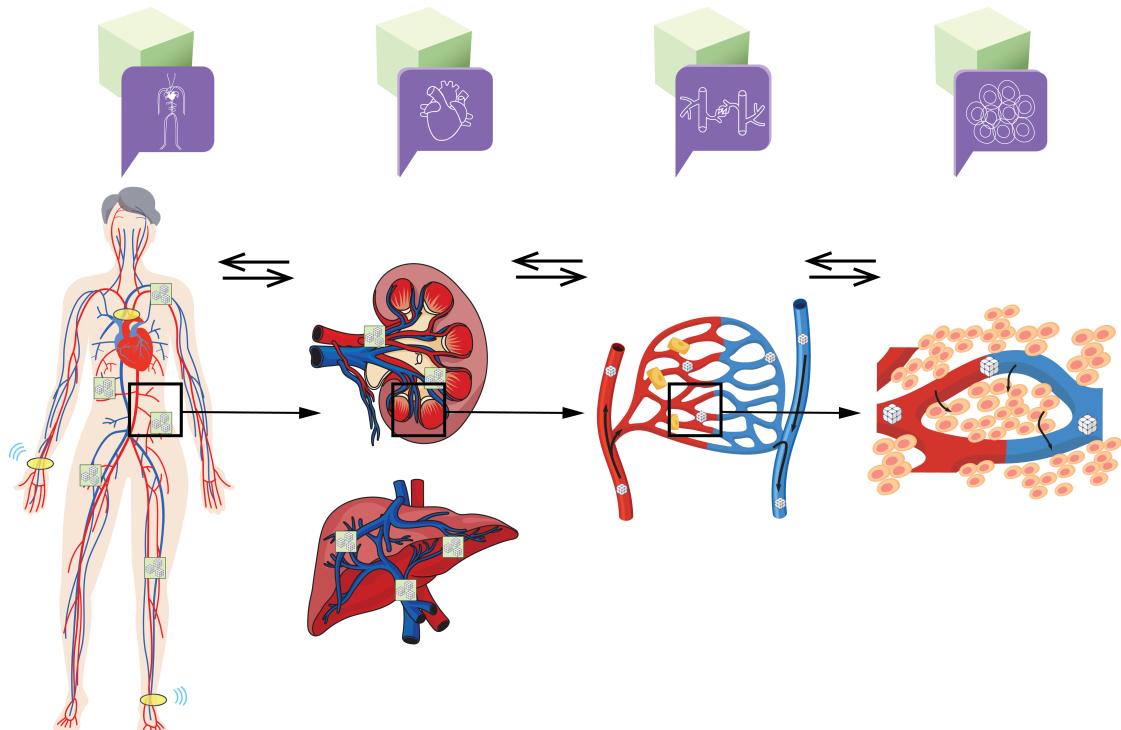


ABBILDUNG 4.1 – MEHLISSA: Körper-, Organ-, Kapillar- und Zellebene von links nach rechts dargestellt.

zeigt Abschnitt 4.6 in der Anwendungen von BVS und Nachfolgern diskutiert werden. Daher wird im Folgenden ein umfassendes Framework für die Körpersimulation vorgestellt, das die Modellierung von Prozessen im Körper in verschiedenen Maßstäben ermöglicht und das Potenzial zur Modellierung von kommunizierenden Nanogeräten und deren Anwendung im Körper einschließt.

MEHLISSA besteht aus vier verbundenen, aber unabhängigen Modulen, die unterschiedliche Ebenen repräsentieren, nämlich die Körper-, Organ-, Kapillar- und Zellebene. Der Aufbau ist in Abbildung 4.1 gezeigt. Die Ebenen unterscheiden sich in ihrer zeitlichen und räumlichen Auflösung und sind durch den Austausch von Parametern wie Mobilität oder Aktivität verbunden. Die Körperebene wurde bereits als BVS im etablierten Netzwerksimulator ns-3 implementiert [5]. BVS modelliert die Bewegung einer festen Anzahl von Nanogeräten durch ein vereinfachtes geschlossenes Herz-Kreislauf-System im Laufe der Zeit. Die Gefäße sind als Hauptarterien, Venen und Organe implementiert. In MEHLISSA wird der Gefäßtyp Organ das neue Modul Organebene sein, das signifikante Unterschiede wie die Gefäßstruktur oder die Blutflussrate von Organen berücksichtigt. Die Struktur und Verbindung der kleineren Gefäße, d. h. Arteriolen, Venolen und Kapillaren, unterscheidet sich stark je nach Region. Dies wird in der Kapillarebene reflektiert werden. Alle drei oben genannten Ebenen modellieren hauptsächlich die globale und lokale Bewegung des Nanogerätes. Die vierte Ebene, die Zellebene, modelliert die inter-

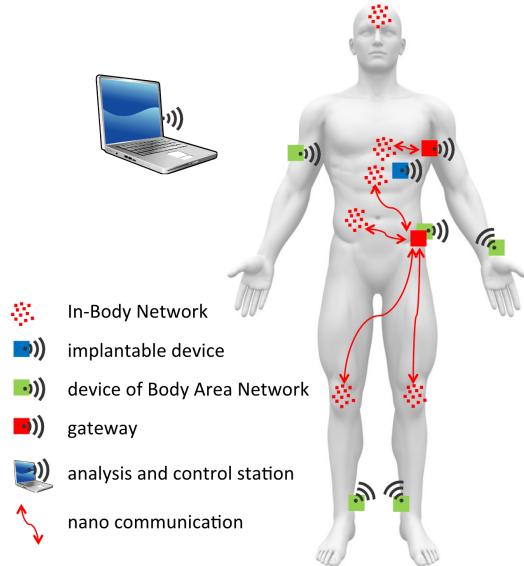


ABBILDUNG 4.2 – Nano-IoT-Netzwerkarchitektur, die In-Body-Nano-Kommunikationsnetzwerke mit Body-Area-Networks integriert. [53]

und intrazelluläre Kommunikation, bzw. die Kommunikation innerhalb von Zellen und zwischen Zellen und Nanogeräten.

MEHLISSA ermöglicht die simultane Simulation der am häufigsten diskutierten Nano-Netzwerkkomponenten mit dem Vier-Ebenenansatz. Akyildiz und Jornet [32] stellten eine Netzwerkarchitektur für das „Internet der Nanodinge“ für Anwendungen im Körper vor. In [53] wurden die Herausforderungen solcher Netzwerke und die Verbindung von intrakorporaler Nanokommunikation mit *Körpernetzwerken* (BANs) diskutiert. Die konzipierte Architektur des *Nano-Internet-der-Dinge-Netzwerks* (Nano-IoT-Netzwerk), gezeigt in Abbildung 4.2 umfasst demnach vier Hauptkomponenten. Zunächst ist eine Analyse- und Kontrollstation erforderlich, die mit BAN-Geräten kommuniziert. Die BAN-Geräte werden über ein Gateway mit dem intrakorporalen Netzwerk verbunden. Das Gateway kann entweder ein implantierbares oder ein am Körper getragenes Gerät sein und muss sowohl Mikro- als auch Nanokommunikation nutzen können. Ein Hauptvorteil von MEHLISSA besteht darin, dass die Interaktion aller vier Komponenten in einer möglichst ganzheitlichen Umgebung getestet und simuliert werden können. Abbildung 4.3 zeigt den Aufbau von MEHLISSA und den weiteren Komponenten als Modulararchitektur in ns-3. In Lila dargestellt sind die von MEHLISSA bereitgestellten Anteile, die den Körper, die Organe, die Kapillaren, die Zellen und die Nanogeräte repräsentieren. Optionale Komponenten sind in Blau dargestellt und umfassen die Kommunikation nach außen über Gateways (Symbol Mobiltelefon). Zusätzlich wird die Möglichkeit gezeigt, vorhandene externe Kanalmodelle wie *Biological Nanoscale Simulator 2* (BiNS2)[57], *Bacterial Network Simulator* (BNSim2)[143] oder N3Sim [96]



ABBILDUNG 4.3 – Modularer Aufbau von MEHLISSA und weiteren Komponenten in ns-3.

(Symbol Kanal) einzubinden und Moleküle, Blutbestandteile oder ähnliches (Symbol Blutteilchen) aus Datenbanken zu modellieren.

In den folgenden Abschnitten wird jede Ebene vorgestellt und analysiert, welche Komponenten des Nano-IoT-Netzwerks darin vertreten sein können. Außerdem werden die Merkmale, für eine realistische Modellierung der Ebenen herausgestellt. Auf der Grundlage der Szenarien in Kapitel 5 wird gezeigt wie diese Ebenen miteinander verbunden werden können und welche Art von Wissen daraus für Anwendungen im wirklichen Leben gewonnen werden können.

4.2 KÖRPEREBENE

In diesem Abschnitt wird die Körperebene vorgestellt. Große Teile dieses Abschnitts beruhen auf den Veröffentlichungen der Autorin in ihrer Masterarbeit „Konzeption und erste Umsetzung eines Körpersimulators zur realistischen Modellierung der Arbeitsumgebung von medizinischen Nanobots“ [20] und den Veröffentlichungen „BloodVoyagerS - Simulation of the Work Environment of Medical Nanobots“ [5] und „BVS-Vis: A Web-based Visualizer for BloodVoyagerS“ [14]. Bei allen Veröffentlichungen standen die

Co-Autoren weitestgehend beratend zur Seite. Nachdem der Bedarf für einen Körpersimulator von der Forschungsgruppe festgestellt wurde, hat die Autorin alle konkreten inhaltlichen Ideen und Beiträge geleistet, Literatur analysiert die Entwicklung des Simulators eigenständig durchgeführt. Lediglich das Visualisierungstool und die Funktionalitäten dahinter wurden von der Autorin vorgeschlagen, aber von Chris Deter im Rahmen einer Fallstudie umgesetzt.

Im Folgenden wird zunächst der Körpersimulator BVS als Basis für die Körperebene vorgestellt. Hierbei wird das Konzept und Anforderungen daran erläutert und dann das resultierende Modell beschrieben, evaluiert und auf die Erfüllung der gestellten Anforderungen eingegangen. Anschließend wird das *Visualisierungstool für BVS* VS-Vis vorgestellt und die Einbindung von BVS in die Körperebene in MEHLISSA dargelegt.

4.2.1 IN-BODY-NANOSIMULATION – BLOODVOYAGERS

Die Analyse der Körpersimulatoren durch die Autorin in [20] ergab 2017, die Notwendigkeit, einen eigenen In-Body-Nanonetzwerksimulator zu erstellen. Die aktuellere Analyse der Körpersimulatoren und Nanonetzwerksimulatoren in Abschnitt 2.5 bestätigen diesen Bedarf weiterhin. Der im folgenden Abschnitt vorgestellte und von der Autorin entwickelte Simulator BloodVoyagerS wurde 2018 in [5] veröffentlicht und ist seit 2020 in [14] öffentlich unter der GNU General Public Licence verfügbar¹. Seitdem hat der Simulator in der Wissenschaftscommunity großen Anklang gefunden und wird in zahlreichen Veröffentlichungen als Basis für eigene Simulationen verwendet [41, 19, 66, 130, 110, 124], denn die Simulation von Nanogeräten in ihrer Arbeitsumgebung ist entscheidend, um ihre Anwendung im medizinischen Kontext voranzutreiben.

Mehrere Simulatoren für Nanonetzwerke erforschen neue Kommunikationsparadigmen im Nanomaßstab. Allerdings wurde der Einfluss der Umgebung, nämlich des menschlichen Körpers, auf die Bewegung und Kommunikation von Nanogeräten selten berücksichtigt. Für eine realistischere Simulation von Nanogeräten wurde mit BVS ein Nanoframework vorgeschlagen, in dem ein Nanonetzwerksimulator mit einem Körpersimulator verknüpft ist. Im Folgenden werden das Konzept des Simulators und die Anforderungen für das Körpermodell vorgestellt, die die Grundlage für die Implementierung des Körpersimulators BVS als Teil des Netzwerksimulators ns-3 bilden. Die daraufhin folgende Evaluation zeigte, dass BVS Nanogeräte erfolgreich im simulierten Herz-Kreislauf-System bewegt. Nach etwa sieben Minuten erreicht die Verteilung der Nanogeräte ein dynamisches Gleichgewicht. BVS zeigte dabei vielversprechende Ergebnisse, um eine realistischere Ganzkörpersimulation zur Untersuchung der Bewegung und Kommunikation von Nanogeräten in medizinischen Anwendungen bereitzustellen. Inzwischen wurde dies auch durch alternative Ansätze, die mit den Ergebnissen von BVS verglichen werden können, bestätigt (siehe Abschnitt 4.6).

¹ <https://github.com/RegineWendt/blood-voyager-s>

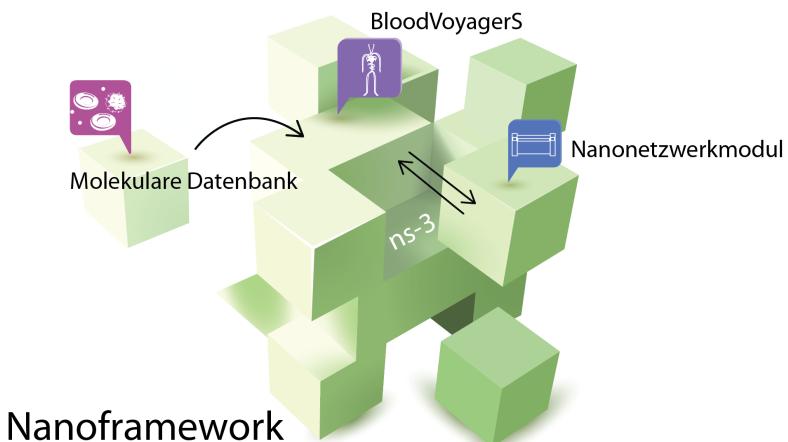


ABBILDUNG 4.4 – Komponenten eines medizinischen Nanonetzwerksimulators basierend auf ns-3 und dem Körpersimulationsmodul BloodVoyagerS. Neue Abbildung nach [5].

4.2.1.1 KONZEPT

Aus der Betrachtung existierender Herz-Kreislauf-Simulatoren in Abschnitt 2.5.1 wird deutlich, dass das geplante Anwendungsfeld eines solchen Simulators das zugrunde liegende Modell erheblich beeinflusst. Wie zuvor erwähnt, ist es wahrscheinlich, dass sich Nanogeräte nahezu permanent im Blutkreislauf bewegen, also im ganzheitlichen kardiovaskulären System [155]. Die resultierenden Einflüsse der nahezu permanenten Bewegung der Nanogeräte im Blutkreislauf auf die Position und Kommunikation der Nanogeräte können nur simuliert werden, wenn die Eigenschaften des menschlichen Körpers angemessen modelliert sind. Daher wird ein Simulator benötigt, der sowohl die Kommunikation als auch das kardiovaskuläre System simuliert. Der diskrete Netzwerk-simulator ns-3 [169] ist etabliert, weit verbreitet und in C++ implementiert. C++ bietet eine hohe Leistungsfähigkeit und Effizienz, was für die Simulation von Netzwerken, die oft große Datenmengen verarbeiten müssen, entscheidend ist. Es handelt sich um ein Open-Source-Simulator-Framework für diskrete Ereignisse, das für Netzwerke und Internetsysteme entwickelt wurde und Simulationen für Netzwerke als C++-Objekte bereitstellt. Seine Konstruktion ist modular und daher frei und einfach erweiterbar. Daher wurde BVS als eigenständiges Modul im ns-3-Simulator integriert. In ns-3 sind Knoten die grundlegenden Bausteine eines Netzwerks. Ein Knoten kann verschiedene Geräte repräsentieren, wie z. B. Computer, Router, Switches oder Mobiltelefone. Diese Knoten sind miteinander verbunden und bilden so das Netzwerk. Knoten können Pakete senden, empfangen, weiterleiten und verarbeiten, je nach ihrer Konfiguration und den zugewiesenen Rollen im Netzwerk. Nanogeräte ähneln in der Basisversion einfachen ns-3-Knoten, die direkt in BVS instanziert werden und dabei potenziell miteinander kommunizieren können. Das konzipierte Framework zur Simulation von medizinischen Nanonetzwerken, das den ns-3-Simulator mit dem BVS-Modul und einem Nanonetzwerkmodul, z. B. *Nano-Sim* [164], umfasst, ist in Abbildung 4.4 skizziert.

Beide Module werden bidirektional miteinander gekoppelt, um Daten auszutauschen. Darüber hinaus wurde in einer Analyse in [26] der Bedarf festgestellt eine molekulare Datenbank mit dem Körpersimulator zu verknüpfen. Diese sollte realistische Daten über die molekularen Bedingungen im kardiovaskulären System bereitstellen. Inzwischen hat sich dieser Bedarf in der Anwendung noch nicht bestätigen lassen. Viel eher ist es sinnvoll verschiedene Körpermodelle in BVS einzulesen und so einen gewissen Personalisierungsgrad zu erreichen. Dies wird im Rahmen der Einbindung von BVS in das MEHLISSA-Framework in Abschnitt 4.2.3 erläutert und diskutiert.

Eine vollständige medizinische Nanonetzwerksimulation des gesamten menschlichen Kreislaufsystems erfordert eine hohe Anzahl von Nanogeräten, was sich direkt auf die Leistung der Simulation auswirkt. Wenn angestrebt wird, dass jederzeit Nachrichten zwischen den Nanogeräten theoretisch lückenlos ausgetauscht werden sollen, können bei angenommener idealer Verteilung der Geräte im Körper folgende Berechnungen zur Abschätzung herangezogen werden. Das gesamte Blutvolumen im menschlichen Körper beträgt etwa 4900 cm^3 [29]. Unter Annahme einer Kommunikationsentfernung von zwei Millimetern [149] für elektrische Kommunikation erfordert ein medizinisches Netzwerk daher rechnerisch mindestens $2,45 \cdot 10^6$ Nanogeräte, um das Volumen bei perfekter Verteilung abzudecken. Alternativ wird die Länge aller Gefäße im Gefäßsystem auf 120 000 km geschätzt [30]. Mit derselben Kommunikationsentfernung benötigt das System rechnerisch $60 \cdot 10^9$ Nanogeräte, um die gesamte Länge lückenlos zu erreichen. Diese Schätzungen geben eine Orientierung für die erwartete Anzahl von Nanogeräten, aber eine Simulation sollte genauere Informationen liefern können. Weiterhin ist diskutabel, ob eine lückenlose Kommunikation notwendig und sinnvoll ist und ob bei anderen Kommunikationsarten nicht andere Werte angenommen werden sollten.

4.2.1.2 ANFORDERUNGEN AN EINEN KÖRPERSIMULATOR

In BVS wurde anfangs die Simulation von Standardbedingungen angestrebt, um ein besseres Verständnis für die Bewegung der Nanogeräte in einem gesunden Körper zu erhalten. Im weiteren Verlauf der Entwicklung ist jedoch die Simulation von pathologischen Zuständen und medizinischen Szenarien wünschenswert, da die Mehrheit der Herz-Kreislauf-Simulatoren dazu verwendet wird, pathologische Zustände zu modellieren. BVS hat zum Ziel, eine Simulationsumgebung bereitzustellen, mit der das Verhalten von Nanogeräten im menschlichen Gefäßsystem untersucht werden kann. Der Fokus liegt auf der Simulation des Umwelteinflusses auf die Kommunikation sowie der Erfassung und Steuerung medizinischer Parameter. Eine Reihe von Anforderungen macht diese Ziele explizit:

1. Der Simulator muss ein komplettes menschliches Kreislaufsystem modellieren. Es sollte alle großen Gefäße enthalten und Abstraktionen für Arteriolen, Venulen und Kapillaren in einem geeigneten Detailgrad simulieren. Das Modell für jedes Gefäß sollte seinen Durchmesser und seine Länge sowie seine relative Position, einschließlich der Verbindungen zu anderen Gefäßen, umfassen.

2. Der Simulator muss ein räumliches Modell des kardiovaskulären Systems bereitstellen. Wie in Abschnitt 2.5.1 diskutiert, existiert derzeit kein Modell, das das gesamte Kreislaufsystem kongruent und gleichmäßig detailliert beschreibt. Die Extremitäten oder Körperregionen werden dabei vernachlässigt, da sie keine lebenswichtigen Organe enthalten. Im Kontext medizinischer Nanogeräte ist jedoch die genaue Lokalisierung der Nanogeräte von großer Bedeutung, um Daten korrekt zu korrelieren. Daher muss das Modell die Lokalität so präzise wie möglich darstellen, auch in den Extremitäten.

3. Der Simulator muss das Medium im Kreislaufsystem darstellen, also das Blut. Die Zusammensetzung des Blutes hat einen starken Einfluss auf die elektromagnetische Kommunikation [149]. Eine hohe Menge an Wasser sowie sich bewegende Zellen im Blut stören oder blockieren die Kommunikation. Darüber hinaus kann das Blut chemisch oder mechanisch mit den Nanogeräten reagieren und sie beschädigen oder verdrängen. Ein Sonderfall sind die Zellen des Immunsystems, die auf die Nanogeräte reagieren können und sie im schlimmsten Fall gezielt angreifen könnten.

4. Das Kreislaufsystem bewegt Partikel mit seinem Fluss, indem es Nanogeräte durch den Körper bewegt. Diese Bewegung ist von großer Bedeutung für kontinuierliche oder langfristige Aufgaben für Nanogeräte, insbesondere wenn der gesamte Körper beobachtet werden soll. Der Simulator muss daher die Bewegung der Nanogeräte im Blut so genau wie möglich simulieren. Im Kontext von Anforderung 1 muss der Simulator Nanogeräte an den Verzweigungen im Kreislaufsystem leiten. Nanogeräte sollten entsprechend dem Blutverteilungsverhältnis verteilt werden. Wenn sich beispielsweise ein kleines Gefäß von einem größeren abzweigt, sollte es wahrscheinlicher sein, dass das Nanogerät im größeren Gefäß bleibt.

4.2.1.3 KÖRPERMODELL

Um Anforderung 1 zu erfüllen, mussten zunächst die relevanten Gefäße bestimmt werden. Abbildung 4.5 zeigt die Hauptgefäße, die eine lokale Abdeckung bieten und große Organe und Gliedmaßen enthalten. Insgesamt werden 94 Gefäße und Organe abgedeckt. Da es nach bestem Wissen und Gewissen zu diesem Zeitpunkt keine Datenbanken oder Sammlungen über die Gefäßlänge gab, wurde zur groben Orientierung die Autorin eine 1,72 m große Frau mit einem Gewicht von 69 kg an der Hautoberfläche vermessen.

Mithilfe von anatomischen Zeichnungen [24] wurde der korrekte Verlauf der Gefäße und die Position der Organe so realistisch wie möglich abgeleitet. Zur Vereinfachung wurden nur Brust und Rücken zusammengefasst und in der linken Körperhälfte positioniert, da ihre Ausbreitung schwer zu visualisieren ist. Die Koordinaten wurden aus den gemessenen Abständen abgeleitet. Der Ursprung des resultierenden xy-Koordinatensystems befindet sich in der linken Hälfte des Herzens.

Da der menschliche Körper dreidimensional ist, fehlt die räumliche Richtung von vorne (anterior) nach hinten (posterior), die z-Koordinate, noch. Die Messung der Organe von vorne nach hinten auf der Haut ist nicht möglich und es gibt erneut keine Aufzeichnung über alle relevanten Dimensionen. Daher wird im Basismodell die räumliche Tiefe aller

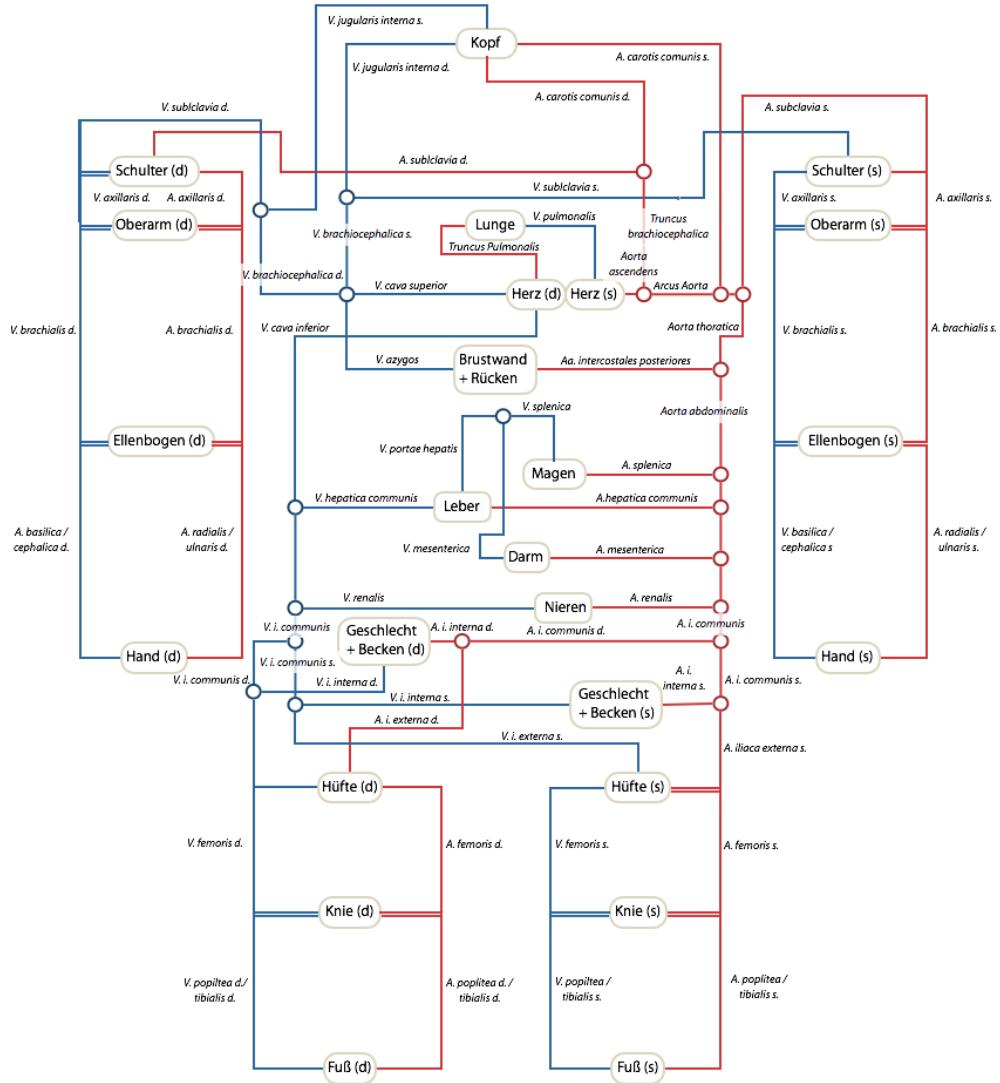


ABBILDUNG 4.5 – Darstellung der 94 größten Gefäße und Organe des menschlichen Körpers, bestimmt von der Autorin in [20]. [5]

Organe gleichgesetzt. Als Richtlinie wird beispielhaft die Dicke der Niere verwendet, die zwischen drei und fünf Zentimetern liegt. Entsprechend wurden alle z-Abstände auf vier Zentimetern festgelegt. Die z-Achse sollte in der Mitte verlaufen, sodass sich z-Koordinaten zwischen zwei und minus zwei ergeben. Als weitere Vereinfachung wird angenommen, dass Arterien vorne und Venen hinten liegen. Dies entspricht an vielen Stellen der anatomischen Realität. Übergänge von Arterien zu Venen existieren nicht nur bei Organen, sondern auch beispielsweise an Gliedmaßen wie Händen, Kopf oder Knien. Hier wird die Tiefe ebenfalls auf vier Zentimeter festgelegt. Somit liegen die z-Koordinaten zwischen zwei und minus zwei, da die Flussrichtung immer von Arterien ($z = 2$) zu Venen ($z = -2$) verläuft. Nur das Herz führt das Blut vom venösen System zum arteriellen System über und pumpt daher das Blut im Modell von posterior nach anterior. In Abbildung 4.8 sind die xyz-Koordinaten der für die Simulation relevanten Organe und Körperregionen mit hinzugefügten Nanogeräten dargestellt.

Neben den Koordinaten, Länge und Winkel haben die Gefäße andere wesentliche Eigenschaften. Anforderung 1 erfordert die Bestimmung des Gefäßdurchmessers, des Blutflusses und der Flussgeschwindigkeit. Für die meisten Gefäße gibt es keine genauen Angaben zu ihrem Durchmesser. Die Gefäße, die explizit simuliert werden sollten, sind die Aorta, Arterien und Venen. Arteriolen und Venulen gehören nicht zu den kleineren Gefäßen und haben oft keine eigenen Namen. Es gibt etwa 400 Millionen Arteriolen und ähnlich viele Venulen [29, 22]. Die Einbeziehung so vieler Gefäße als einzelne Objekte in das Körpermodell würde zu einem zu hohen Rechenaufwand führen. In Abschnitt 4.4 wird deshalb ein anderes Konzept vorgestellt, wie die Ebene der kleinen Gefäße sinnvoll modelliert werden könnte. Es ist wichtig, genau zu bestimmen, welcher Detailgrad erforderlich ist, um eine grobe Lokalisierung der Nanogeräte durchzuführen oder zu simulieren, während der Rechenaufwand innerhalb eines bestimmten Zeitrahmens gehalten wird. Deshalb wurde bei BVS zunächst der Fokus auf die großen Gefäße gelegt.

Für Arterien beträgt der durchschnittliche Durchmesser vier Millimeter und für Venen fünf Millimeter [29, 22]. Der Blutfluss hängt vom Verhältnis zwischen Druckdifferenz und Flusswiderstand ab. Je enger das Gefäß ist, desto größer ist sein Widerstand und desto langsamer fließt das Blut. Manche Gefäße sind naturgemäß enger, andere krankhaft verändert zum Beispiel durch Ablagerungen (Plaques) in den Wänden der Blutgefäße (Arteriosklerose) oder Entzündungen, die zu Verhärtungen und Verengungen führen (Fibrose). In der Aorta beträgt die Durchschnittsgeschwindigkeit des Blutes 20 Zentimeter pro Sekunde, in den Arterien zehn Zentimeter pro Sekunde und in den Venen zwei bis vier Zentimeter pro Sekunde [17, S.169]. Dies kann direkt auf die großen Gefäße übertragen werden. Die Übergänge zwischen Arterien und Venen wurden stark vereinfacht. Arteriolen, Venulen oder Kapillaren wurden nicht explizit modelliert. In den Arteriolen beträgt die Geschwindigkeit zwei Zentimeter pro Sekunde und in den Kapillaren 0,02 Zentimeter pro Sekunde [17, S.169]. Diese Geschwindigkeiten können nicht direkt übertragen werden, wurden aber durch einen Zentimeter pro Sekunde in den Übergängen approximiert.

In einem gesunden Herz-Kreislauf-System ist der Blutfluss im Blutstrom laminar, außer in der Aorta und der Lungenarterie, was bedeutet, dass der Fluss aus geordneten Schichten besteht, die aneinander vorbeigleiten [17]. Dieser Effekt wurde im Modell durch separate Ströme in jedem Gefäß implementiert. Im Bereich der Arterien und Venen vermischen sich diese Strömungen nicht. Um den hohen Verzweigungsgrad der kleineren Gefäße in den Organen anzugeben, können die Nanogeräte hier die Strömungen verändern. Dadurch verwandelt sich jeder Strom in ein Pseudogefäß, das mit seinen Nachbarn kommuniziert.

4.2.1.4 ANALYSE DER SIMULATIONSERGEBNISSE

BVS bietet eine erste Umsetzung der in Abschnitt 4.2.1.2 beschriebenen Anforderungen. Zunächst werden die Simulationsparameter von BloodVoyagerS analysiert und einige Simulationsergebnisse diskutiert. Für die Positionsanalyse wurde MATLAB (2014b) verwendet. Im anschließenden Abschnitt 4.2.1.5 wird die Erfüllung der einzelnen Anforderungen konkret überprüft. Falls die Anforderungen noch nicht zufriedenstellend erfüllt sind, wird eine potenzielle Umsetzung diskutiert.

Ein repräsentatives Szenario untersucht die Geschwindigkeit der Verteilung von Nanogeräten. Zu Beginn der Simulation werden alle Nanogeräte an derselben Stelle injiziert. Die Simulation untersucht die Zeitdauer, die erforderlich ist, um ein stabiles Gleichgewicht zu erreichen, d. h. bis die Anzahl der Nanogeräte in jedem Gefäß konstant ist.

In Abschnitt 4.2.1.1 wurde die Anzahl der Nanogeräte als relevanter Simulationsparameter erwähnt und eine Obergrenze von 60 Milliarden Nanogeräten basierend auf der Gesamtsystemlänge und der angenommenen Kommunikationsreichweite festgelegt. Das BVS-Modell umfasst eine Gesamtlänge von 12 717 Metern Blutgefäßen. Dies führt zu einer äquivalenten Schätzung von 6359 Nanogeräten, um bei perfekter Verteilung eine vollständige Konnektivität zu erreichen. Dadurch könnte eine Nachricht von jedem Punkt gesendet werden, und über die Weiterleitung durch andere Nanogeräte könnten alle im Körper vorhandenen Nanogeräte lückenlos erreicht werden. Die in dieser Dissertation verwendete Anzahl simulierter Nanogeräte basiert auf dieser Annahme, obwohl es wichtig ist zu beachten, dass Nanogeräte nicht zwangsläufig miteinander kommunizieren müssen. Darüber hinaus könnten verschiedene Technologien unterschiedliche Kommunikationsreichweiten nutzen. Zum Beispiel erfolgt die Kommunikation bei DNA-Nanonetzwerken über Nachrichtenmoleküle, die nicht den Einschränkungen einer Kommunikationsreichweite von zwei Millimetern unterliegen.

Eine geeignete Simulationsdauer wird erreicht, wenn sich die durchschnittliche Verteilung der Nanogeräte nicht mehr ändert. Es hat dann ein dynamisches Gleichgewicht erreicht, bei dem in jedem Zeitschritt genauso viele Nanogeräte ein Gefäß verlassen wie eintreten. Als erste Obergrenze wurde eine Simulationsdauer von zwei Stunden angenommen und die Eignung als Dauer überprüft. Als erster Injektionsort wurde aufgrund der zentralen Lage die Hauptschlagader (Aorta ascendens) verwendet und die Verteilung der Nanogeräte wurde später mit anderen Injektionsorten verglichen. Durch

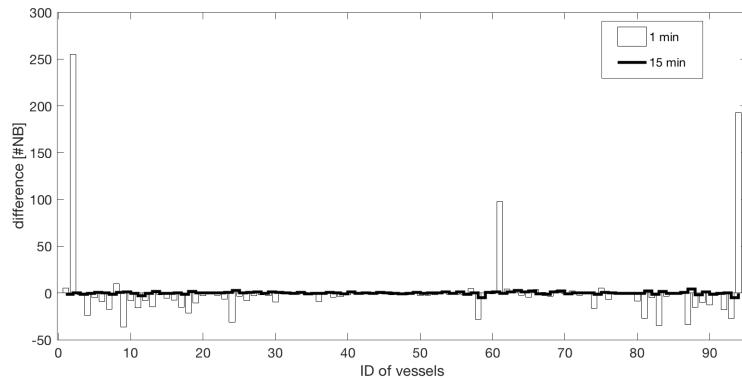


ABBILDUNG 4.6 – Die x-Achse zeigt die 94 simulierten Gefäße (siehe Abbildung 4.5), die y-Achse zeigt den Unterschied in der Anzahl der Nanogeräte (#NB) relativ zur vorherigen Minute. [5]

visuellen Vergleich der Verteilung der Nanogeräte nach einer Minute, 15 Minuten und zwei Stunden (nicht gezeigt) wird deutlich, dass sich die Verteilung nach einer Minute von der nach zwei Stunden unterscheidet. Es gibt offenbar weniger Nanogeräte im Bereich der arteriellen Gefäße als nach zwei Stunden, und die Nanogeräte sind stärker gruppiert. Die Verteilung nach 15 Minuten ist bereits ähnlich wie nach zwei Stunden. Im Bereich des Herzens sind die Nanogeräte eng beieinander und in den Gliedmaßen verteilter (siehe Abbildung 4.8). Die Ähnlichkeit oder Abweichung ist in Abbildung 4.6 deutlich sichtbar. Während es nach einer Minute Abweichungen von bis zu 255 Nanogeräte pro Gefäß gibt (Balken), beträgt die größte Abweichung nach 15 Minuten rund vier Nanogeräte pro Gefäß (Linie). Die Zahlen beziehen sich immer auf die durchschnittliche Anzahl der Nanogeräte im jeweiligen Gefäß in der letzten Minute, z. B. vergleicht die Verteilung nach 15 Minuten den Durchschnitt über 14 bis 15 Minuten.

Um den Zeitpunkt zu bestimmen, zu dem die Nanogeräte ausreichend verteilt sind, hat die Simulation die Anzahl der Nanogeräte in jedem Gefäß in jeder Minute für die ersten 40 Minuten gemessen. Die Ergebnisse wurden mit der Verteilung nach zwei Stunden durch die Standardabweichung zwischen der Verteilung nach jeder Minute und der nach zwei Stunden pro Gefäß verglichen. Die Ergebnisse wurden summiert und durch die Anzahl der Gefäße geteilt. Abbildung 4.7 zeigt die resultierenden mittleren Standardabweichungen.

Die Abweichung nimmt innerhalb der ersten fünf Minuten schnell ab und unterliegt danach nur geringen Schwankungen. Daher kann auch nach einer Simulation von mehr als zwei Stunden ohne externe Einflüsse nicht mit größeren Schwankungen in der Verteilung gerechnet werden. Die mittlere Standardabweichung in Abbildung 4.7 beträgt 2,11 Nanogeräte pro Gefäß. Werte nach einer und zwei Minuten wurden aufgrund großer Abweichung nicht in die Berechnung einbezogen. Somit gibt es im Durchschnitt eine Variation von zwei bis drei Nanogeräten pro Gefäß im Vergleich zur Verteilung nach zwei Stunden. Dies entspricht einer Gesamtabweichung von 3,11 %, die als ausreichend gering angesehen wird, um ein dynamisches Gleichgewicht zu sein. Die Standardabwei-

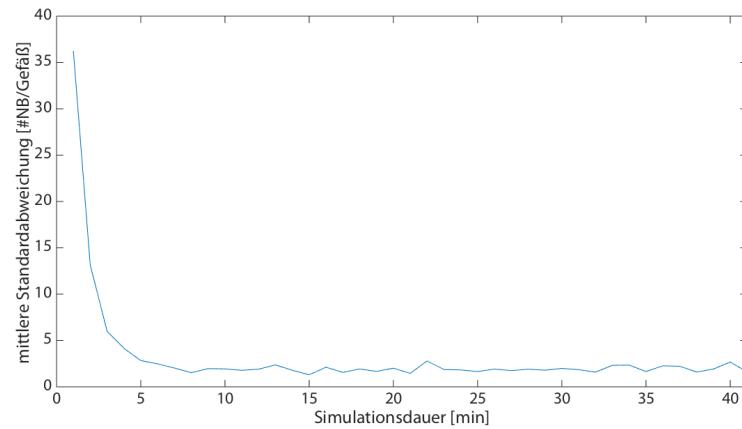


ABBILDUNG 4.7 – Standardabweichung zwischen verschiedenen Verteilungen. [20]

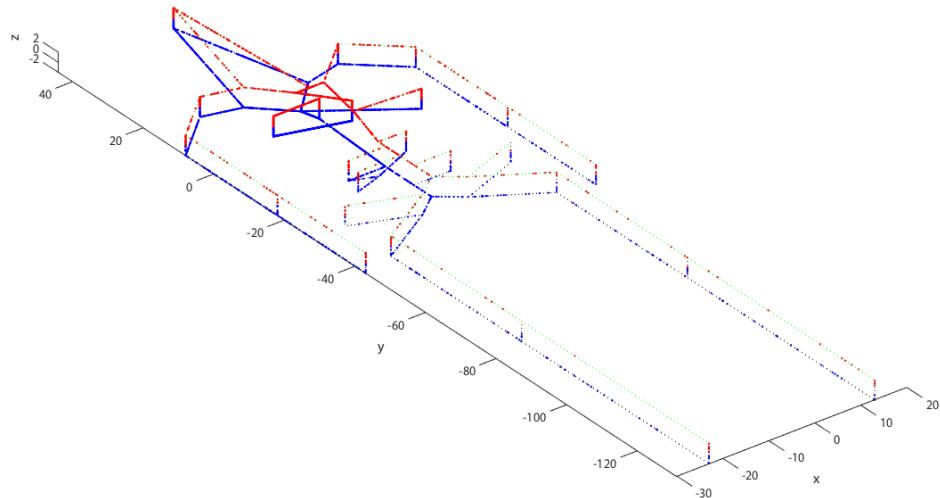


ABBILDUNG 4.8 – Verteilung von 6359 Nanogeräten nach einer siebenminütigen Simulationsdauer mit Injektion in die Aorta ascendens. [5]

chung fällt zum ersten Mal nach sieben Minuten unter den Mittelwert, wo sie einen Wert von 2,03 Nanogeräten pro Gefäß erreicht. Die Verteilung der Nanogeräte nach sieben Minuten ist in Abbildung 4.8 dargestellt. Daher ist eine Simulationsdauer von sieben Minuten ausreichend, um die Simulationsergebnisse verschiedener Injektionsorte zu vergleichen.

Um die Abhängigkeit vom Injektionspunkt zu untersuchen, wurde eine zweite Simulation durchgeführt, die die Kniekehlenvene (Vena poplitea tibialis) untersucht, das Gefäß, das im Modell am weitesten von der Aorta ascendens entfernt ist. Erneut wurden 6359 Nanogeräte in dieses Gefäß injiziert, und die Verteilung nach sieben Minuten beobachtet. Diese Verteilung weist eine mittlere Standardabweichung von vier Prozent

im Vergleich zur vorherigen Referenzsimulation auf, der Verteilung nach Injektion in die Aorta ascendens nach zwei Stunden. Ein direkter Vergleich der beiden Verteilungen nach sieben Minuten ergibt eine Abweichung von 3,95 %.

Die Verteilung sieben Minuten nach Injektion in die Vena poplitea tibialis ist der Verteilung nach Injektion in die Aorta ascendens ähnlich, mit einer Abweichung von vier Prozent im Vergleich zu einer durchschnittlichen Abweichung von 3,11 %. In der Simulation wird daher der Injektionsort der Nanogeräte nach wenigen Minuten irrelevant. Weitere Experimente injizieren daher immer die Nanogeräte in die Aorta ascendens.

Schließlich untersucht eine dritte Auswertung den letzten Simulationsparameter, die Anzahl der Nanogeräte. In den Ergebnissen der vorherigen Simulationen gibt es deutlich erkennbare Bereiche des Körpers, die nicht von Nanogeräten abgedeckt sind, wie in den Abbildungen 4.8 zu sehen ist. Diese Lücken unterbrechen die Kommunikation, was wiederum die Gesamtkonnektivität einschränkt. Da andere Bereiche eine gute Abdeckung erhalten, sind die Nanogeräte offensichtlich nicht gleichmäßig verteilt.

Es ist unklar, ob die nicht gleichmäßige Verteilung auf eine unzureichende Simulation zurückzuführen ist oder ob sie sich in einem realen Einsatz ähnlich ergeben könnte. Bei der Betrachtung der Verteilung von Kontrastmitteln zeigt sich jedoch, dass keine gleichmäßige Verteilung stattfindet, sondern das Mittel an verschiedenen Stellen des Körpers akkumuliert und dann durch die Filterorgane abgebaut wird. Abbildung 4.9 zeigt die Ergebnisse aus [84], bei denen Ratten mit Kontrastmittel gefüttert wurden und der Verlauf der Ansammlung in den Organen zu verschiedenen Zeitpunkten mittels Autoradiolumografie dokumentiert wurde. Die Autoradioluminografie ist eine Technik, die radioaktiv markierte Moleküle in biologischen Proben nachweist, indem sie die von ihnen emittierte Strahlung in Licht umwandelt und misst. Das Kontrastmittel ist zu keinem Zeitpunkt überall im Körper gleichmäßig verteilt. Dennoch wurde eine weitere Simulation durchgeführt, die die zehnfachen Menge von 63 590 Nanogeräten simuliert und vergleicht, ob eine signifikante Verbesserung der Abdeckung und Verteilung auftritt. Abbildung 4.10 zeigt das Verteilungsergebnis nach einer Simulation von sieben Minuten. Die Lücken in der Abdeckung sind kleiner, treten aber immer noch auf, hauptsächlich in den Gliedmaßen. Eine ausreichend große Anzahl von Nanogeräten könnte möglicherweise eine vollständige Konnektivität erreichen. Die Anzahl der Nanogeräte löst jedoch nicht das Phänomen der nicht gleichmäßigen Verteilung. Hier gilt es für die jeweiligen Zwecke abzuwegen, ob eine hohe Konnektivität einen größeren Einsatz von Nanogeräten rechtfertigt.

4.2.1.5 ÜBERPRÜFUNG DER ANFORDERUNGEN

Neben der vorherigen quantitativen Auswertung wurde noch überprüft, wie erfolgreich die Anforderungen aus Abschnitt 4.2.1.2 in der Basisversion von BVS erfüllt wurden.

Wie von den Anforderungen 1 und 2 gefordert, bietet BVS eine Darstellung des Kreislaufsystems als vollständiges geschlossenes Netzwerk, einschließlich aller großen Organe, Arterien und Venen, wie in Abbildung 4.5 zu sehen ist. Dies beinhaltet die korrekte

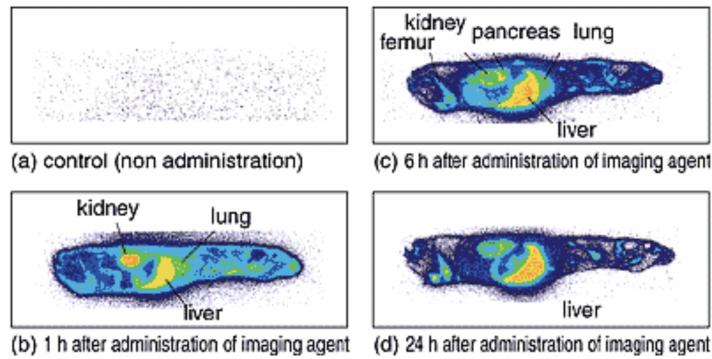


ABBILDUNG 4.9 – Autoradioluminografie von Ganzkörperabschnitten einer Ratte mit radioaktiv markiertem Stoff über den Verlauf von 24 Stunden. [84]

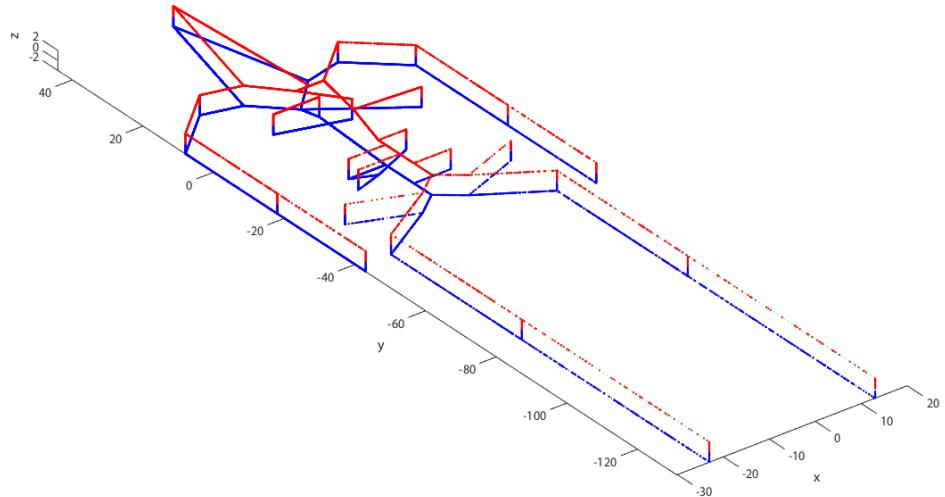


ABBILDUNG 4.10 – Verteilung von 63590 Nanogeräten nach einer Simulation von sieben Minuten. [5]

relative Positionierung und Länge des Gefäßes in zwei der drei Dimensionen sowie die Verzweigungen zwischen den Komponenten. Die Variation des Durchmessers ist jedoch nicht enthalten. Die Integration der dritten Dimension stellte sich als schwierig heraus, da die Literatur hierzu unklar ist und hauptsächlich auf 2D-Modelle ausgerichtet ist. In Abschnitt 4.3 wird dennoch eine 3D-Komponente als Erweiterung von BVS vorgestellt und eingeführt. Die Basisversion ermöglichte aber dennoch, gemäß der Anforderung 4, die Position jedes einzelnen Nanogerätes im Blutkreislauf zu verfolgen. Die Millionen kleinerer Arterien und Venen sind in BVS nicht direkt dargestellt, da sie nicht explizit definiert sind und daher einen anderen Implementierungsansatz erfordern, der ebenfalls in Abschnitt 4.4 erläutert wird. Dem Körpermodell sollen hier prozedural generierte kleinere Blutgefäße hinzugefügt werden, wobei die explizit definierten Hauptblutgefäße

als Verbindungen und Wurzeln dienen. Um einen hohen Verzweigungsgrad anzuzeigen, wurden in der Basisversion hierzu parallele Ströme derselben Blutgefäße eingeführt.

Anforderung 3, die Simulation des zirkulierenden Mediums, wird mit BVS nicht erfüllt. Die Darstellung des Mediums und seiner Eigenschaften ist ein eigenständiges und komplexes Thema. Die zukünftige Integration einer molekularen Datenbank wurde zunächst wie in [26] vorgeschlagen angedacht, allerdings erscheint dies nach mehrjährigem Gebrauch eher zweitrangig. Der Fokus wird auf die Integration von geeigneten anderen Modulen und besseren Modellen gelegt. Die realistische Darstellung der biologischen und chemischen Prozesse im Medium können auch über Module oder Ebenen realisiert werden. Mehr dazu in Abschnitt 4.5.

Die Notwendigkeit einer realistischen Bewegung, wie in Anforderung 4 beschrieben, ist in der Basisversion implementiert und hängt von der Art des Gefäßes ab, in dem sich das Nanogerät befindet. Natürlich ist der Blutstrom im menschlichen Körper nicht konstant. Im weiteren Entwicklungsprozess könnte die Entfernung zum Herzen und die Herzfrequenz als Geschwindigkeitsmodifikatoren integriert werden. Außerdem werden in Abschnitt 4.3.1 weitere Optionen wie die Körperhaltung des Menschen sowie das Erregungsniveau betrachtet. Als Basis hierfür wird eine Anpassung an realistischere Durchblutungswerte der Organe aus der Literatur durchgeführt.

4.2.2 VISUALISIERUNG

In diesem Abschnitt wird das Visualisierungstool für BVS vorgestellt und erläutert. Die Autorin hat die Idee für BVS-Vis und die damit verbundenen Funktionen eingebracht, während Chris Deter sie im Rahmen einer Fallstudie unter ihrer Anleitung umgesetzt hat.

BVS-Vis ist ein plattformübergreifendes Visualisierungstool für die Ergebnisdateien von BVS. BVS-Vis zeigt die Verteilung der simulierten Nanogeräte im Laufe der Zeit in einem dreidimensionalen kardiovaskulären Modell. Die Animation kann gedreht, verschoben und vergrößert werden und es ist möglich, durch verschiedene Zeitschritte zu navigieren. Für eine schnelle Interpretation der Simulationsergebnisse kann eine Heatmap der Nanogerätekonzentration durch eine Nachbearbeitung der Ergebnisdatei generiert werden. BVS-Vis ist als Website² und als komplettes Docker-Compose-Setup³ verfügbar. Es verbessert den Workflow mit BVS erheblich und ermöglicht eine prompte Analyse der Simulationsergebnisse.

Um die simulierten Prozesse besser zu verstehen, ist die Visualisierung ein wesentlicher Faktor. BVS verfügte bisher nicht über eine direkte visuelle Darstellung, da die Ergebnisdatei des Simulators nachträglich verarbeitet werden musste. BVS-Vis schließt diese Lücke und ermöglicht gleichzeitig die Nachverarbeitung und Visualisierung. BVS-Vis ist eine webbasierte Anwendung, die die BVS-Ergebnisdatei verarbeitet und jeden Simulationsschritt in dem dreidimensionalen Modell des simulierten Gefäßsystems animiert.

² <https://bvsvis.itm.uni-luebeck.de/>

³ <https://github.com/RegineWendt/BVS-Vis>

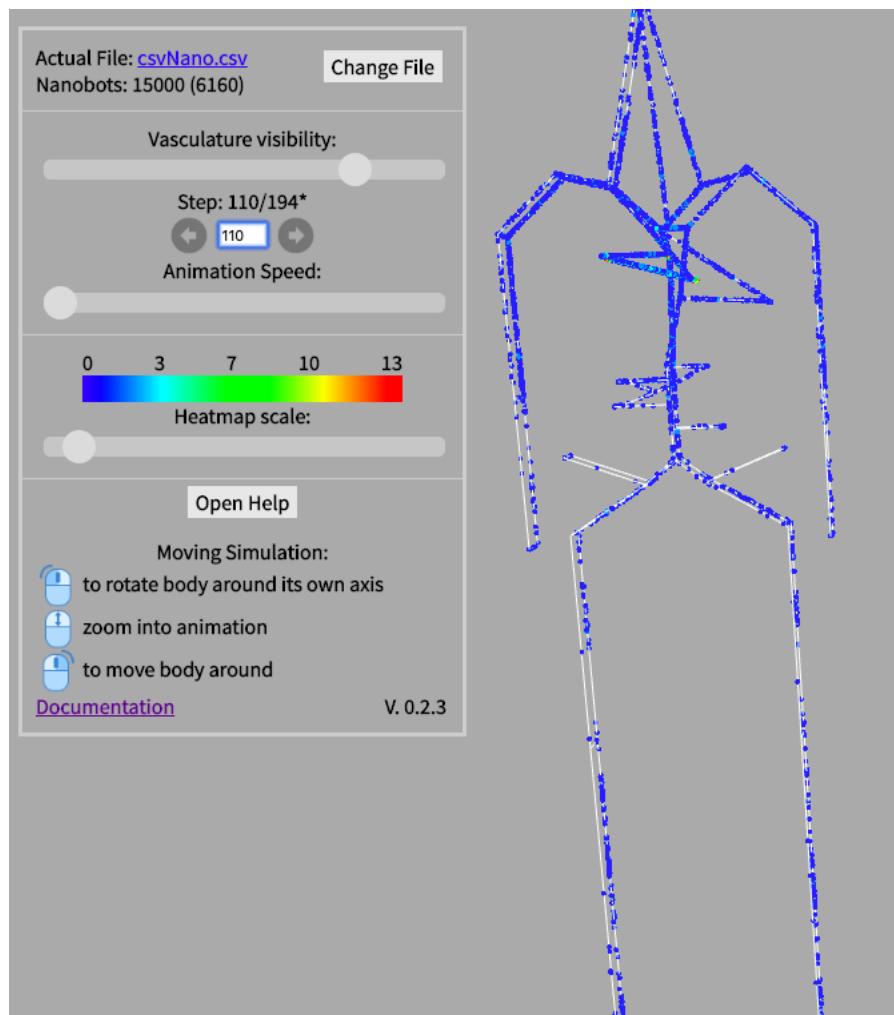


ABBILDUNG 4.11 – BVS-Vis: Animierte Verteilung von 15.000 Nanogeräten, 110 Sekunden nach der Injektion in den rechten Unterarm (Vena basilica cephalica). [14]

Es gibt zwei Möglichkeiten, BVS-Vis zu nutzen. Der einfachste Weg besteht darin, die Website zu besuchen und direkt eine Ergebnisdatei hochzuladen, die sofort angezeigt wird. Die komplexere Option besteht darin, den Code von GitHub zu verwenden, um BVS-Vis lokal zu erstellen. Mit der GitHub-Version ist die Nachverarbeitungsfunktion enthalten und es steht eine Heatmap-Funktion zur Verfügung.

Abbildung 4.11 zeigt die Verteilung von 15.000 Nanogeräten, 110 Sekunden nach der Injektion, wie sie im Visualizer zu sehen ist. Die Heatmap-Funktion ist aktiviert, sodass die Farbe der Punkte die Nanogeräte repräsentieren, gleichzeitig für die Anzahl der Nanogeräte in unmittelbarer Nachbarschaft stehen. Jeder Punkt symbolisiert damit quasi die Nanogerätedichte an der Stelle und nicht ein einzelnes Nanogerät per se. Links

ist das Steuerungspanel dargestellt, das auf die meisten Funktionen hinweist, die in diesem Abschnitt besprochen werden.

4.2.2.1 FUNKTIONEN

Datenformat der Eingabedaten. BVS-Vis nimmt die CSV-Ergebnisdatei von BVS als Eingabedaten entgegen. Die CSV-Datei beschreibt jeweils eine Nanogerät-Position pro Zeile. Eine Zeile enthält die ID des Nanogerätes, die x , y und z -Koordinaten, den Simulationszeitstempel, die ID des Gefäßes und schließlich den Strom des aktuellen Gefäßes, jeweils getrennt durch ein Komma.

Während der laufenden Simulation ist das Hochladen einer neuen CSV-Datei jederzeit möglich. Beim Öffnen der Website wird standardmäßig eine voreingestellte Ergebnisdatei geladen, während im Docker-Setup die Ausgabedatei automatisch importiert wird. BVS-Vis ermöglicht das Streaming von Eingabedateien, wodurch es große und komprimierte Dateien verarbeiten kann. Ein Python-Skript zum Komprimieren der CSV-Datei ist enthalten. Wenn eine komprimierte Datei geladen wird, wird eine Heatmap mit der tatsächlichen Dichte der Nanogeräte angezeigt.

Visualisierung. Die Nanogeräte werden in einem Koordinatensystem dargestellt und das darunterliegende Gefäßsystem wird angezeigt. Die Sichtbarkeit der Gefäße kann angepasst werden. Der simulierte Körper kann gedreht, bewegt oder vergrößert werden.

Zeitliche Darstellung. Die Simulation läuft automatisch oder schrittweise ab und die Animationsgeschwindigkeit kann geändert werden. Mit einer Sprungfunktion ist es möglich, zu einem bestimmten Zeitschritt zu gelangen. Die Sprungfunktion ist in großen gestreamten Dateien begrenzt.

Heatmap. Mit einer Heatmap kann die Verteilung der Nanogeräte angezeigt werden, wenn die CSV-Datei vorverarbeitet und komprimiert wurde. Die Heatmap zeigt die Konzentration der Nanogeräte in einem Bereich an. Der Grad der Färbung kann manuell geändert werden. Abbildung 4.12 zeigt die Heatmap-Funktion genauer. Die Animation ist in den Bereich der linken Herzkammer gezoomt. Die Heatmap ist so eingestellt wie in Abbildung 4.11 gezeigt. In der Lungenvene (*Vena pulmonalis*) (1) und der aufsteigenden Hauptschlagader (*Aorta ascendens*) (3) ist die Dichte der Nanogeräte mit ein bis vier Nanogeräten pro Punkt viel geringer als in der linken Herzkammer (2) mit einer Dichte von sieben bis 14 Nanogeräten pro Punkt. Diese Unterschiede könnten ohne die Heatmap-Funktion nicht so einfach abgelesen werden.

4.2.2.2 WEBANWENDUNG

Da plattformunabhängige Software von großem Vorteil ist, wurden eine auf Java basierende und eine webbasierte Lösung untersucht. Die Java-basierte Option erwies sich als ungeeignet, da passende Bibliotheken für die Visualisierung fehlten. Als Implementierungssprache für eine lokal ausführbare Lösung wurde JavaScript gewählt, während für die Animation die Three.js-Bibliothek aufgrund ihrer *Web Graphics Library* (WebGL)

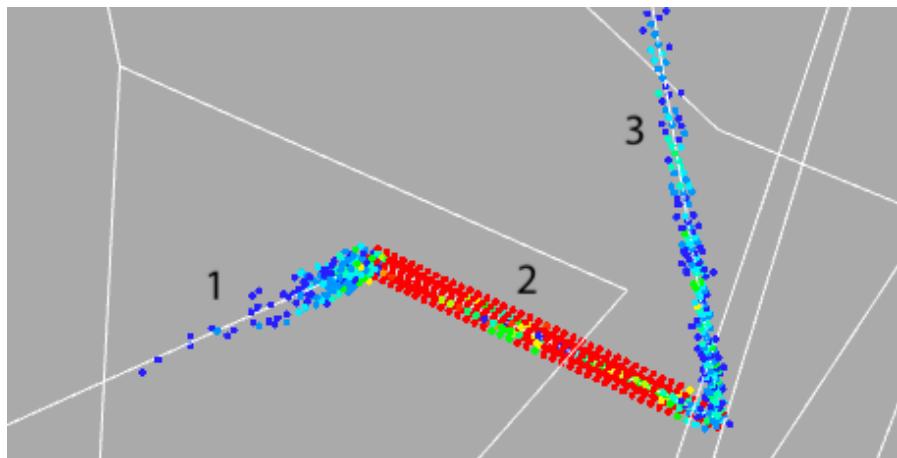


ABBILDUNG 4.12 – BVS-Vis animierte Verteilung von 15.000 Nanogeräten, 41 Sekunden nach der Injektion in den rechten Unterarm (Vena basilica cephalica). Die Zahlen geben das Gefäß an: 1) Vena pulmonalis, 2) Linke Herzkammer, 3) Aorta ascendens. [14]

Unterstützung und Performance verwendet wurde. Die Three.js-Bibliothek ist eine JavaScript-Bibliothek, die es ermöglicht, 3D-Grafiken und -Animationen im Webbrowser zu erstellen. Sie bietet eine Reihe von Funktionen und Werkzeugen zur Erstellung von dreidimensionalen Szenen, Objekten und Effekten. Mithilfe von Three.js können komplexe 3D-Anwendungen und Visualisierungen direkt im Webbrowser erstellt werden, ohne auf Plugins oder externe Software zurückgreifen zu müssen. WebGL ist eine JavaScript-Schnittstelle zur Darstellung von interaktiven 3D-Grafiken im Webbrowser, ohne dass zusätzliche Plugins erforderlich sind. WebGL ermöglicht es, Hardware-beschleunigte 3D-Grafiken direkt im Browser zu rendern, indem es Zugriff auf die Grafikhardware des Computers ermöglicht. Für die Manipulation von HTML-Seiten wird jQuery verwendet, und für das Streaming der CSV-Dateien wird Papa Parse verwendet. jQuery ist eine JavaScript-Bibliothek, die die clientseitige Entwicklung von Webanwendungen durch Vereinfachung von Ereignisbehandlung und Animation erleichtert. Papa Parse ist eine JavaScript-Bibliothek, die das Parsen von CSV-Dateien im Browser ermöglicht, indem sie eine einfache Schnittstelle zum Konvertieren von CSV-Inhalten in JavaScript-Objekte bereitstellt.

Im Docker-Setup wird die CSV-Datei durch ein Python-Skript um 95 % reduziert, indem für die Visualisierung irrelevante Informationen wie Gefäß und Strom entfernt werden und die Clusterung des Nanogerätes durch Reduzierung der Genauigkeit der Koordinaten ermöglicht wird.

Zwei bestehende Einschränkungen der Visualisierung sollten noch angegangen werden. Die Grafikhardware-Belastung, die die Animation auf einem Computer erzeugt, ist hoch, und die Zeitübersprungsfunktion ist in Dateien größer als ein Gigabyte aufgrund des Streamings der Datei eingeschränkt. Dennoch läuft BVS-Vis reibungslos auf aktueller

Hardware, ist plattformunabhängig und funktioniert mit jedem gängigen Browser. Es ist wartbar, erweiterbar und Dritte können durch GitHub zum Fortschritt beitragen.

4.2.3 EINBINDUNG VON BVS IN MEHLISSA

Die Körperebene existiert in der beschriebenen Basisversion durch BVS. BVS simuliert die globale Bewegung von Nanogeräten durch den menschlichen Körper. BVS-Vis [14], der webbasierte Visualisierer für BVS-Ergebnisdateien, ermöglicht eine grobe visuelle Analyse der simulierten Nanogeräteverteilung.

Das BVS-Modul wurde 2020 auf github⁴ mit erhöhter Leistung und in einer erweiterten Version veröffentlicht. Die Updates bilden die Grundlage für die Umsetzung einiger in anderen Ebenen geplanten Funktionalitäten. Es wurden drei wesentliche Funktionen hinzugefügt. Erstens sind die Gefäße in 3D mit einer einstellbaren Anzahl virtueller Ströme implementiert (siehe Abbildung 4.14). Zweitens ermöglicht dies die Implementierung verschiedener Stromgeschwindigkeiten, um die Eigenschaften des laminaren Flusses darzustellen. Drittens ist es möglich, ein vaskuläres Systemmodell dynamisch in den Simulator zu laden. Die Neuerungen werden in den folgenden Abschnitten beschrieben. Für ein besseres Verständnis des Aufbaus wird aber zunächst die Implementierung von BVS näher beleuchtet.

4.2.3.1 IMPLEMENTIERUNG

Abbildung 4.13 zeigt das Klassendiagramm von MEHLISSA basierend auf BVS. Veranschaulicht sind hier die Beziehungen der Klassen zueinander und nicht die Attribute und Methoden. Vollständige Klassenbeschreibungen sind im Anhang A zu finden. Alle Klassen beruhen auf der von ns-3 bereitgestellten Objektklasse. Die Klasse **Bloodcircuit** ist dabei eine zentrale Komponente. Sie ist verantwortlich für die Erzeugung und Verwaltung aller Blutgefäße (Klasse **Bloodvessel**) des Körpermodells und verwaltet die Injektion von Nanogeräten (Klasse **Nanobot**) in das Blutgefäßsystem. Die Funktionen und Aufgaben von **Bloodcircuit** sind:

- Initialisierung von Blutgefäßen: Die Methode **InitialiseBloodvessels** initialisiert alle Blutgefäße im Körpermodell basierend auf den bereitgestellten Daten. Diese Daten enthalten Informationen über die Anfangs- und Endpunkte der Blutgefäße sowie deren Typen. Tabelle A.1 zeigt die Gefäßdaten des Basismodells.
- Erzeugung von Verbindungen zwischen Blutgefäßen: Es werden Verbindungen zwischen den einzelnen Blutgefäßen im Modell erzeugt, um den Blutfluss durch den Körper zu simulieren.
- Injektion von Nanogeräten: Die Methode **InjectNanobots** fügt eine bestimmte Anzahl von Nanobots in das Blutgefäßsystem an einem bestimmten Startpunkt ein. Dieser Schritt ist entscheidend für die Simulation der Verteilung der Nanogeräte im Blutkreislauf.

⁴ <https://github.com/RegineWendt/BVS-Vis>

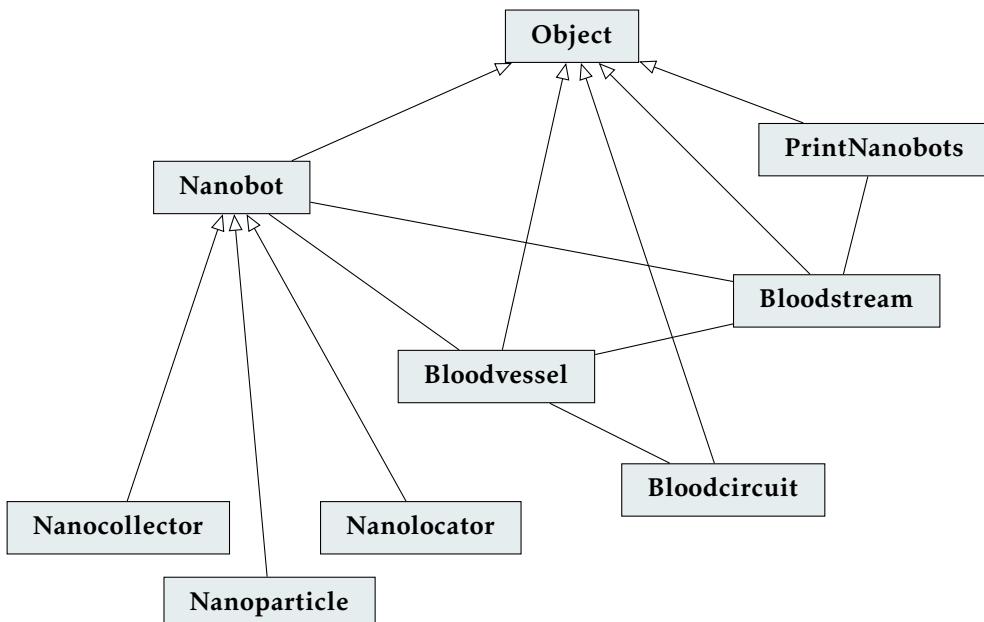


ABBILDUNG 4.13 – Klassendiagramm von MEHLISSA basierend auf BVS. Pfeile repräsentieren Vererbung, einfache Striche zeigen Assoziationen an.

- Berechnung der Richtungsvektoren von Blutgefäßen: Es wird der normalisierte Richtungsvektor eines Blutgefäßes, der für die Steuerung des Blutflusses und der Nanogeräte verwendet wird berechnet.
- Beginn der Simulation: Die statische Methode `BeginSimulation` startet die Simulation des Blutkreislaufs für eine bestimmte Dauer und mit einer bestimmten Anzahl von Nanogeräten, die in ein bestimmtes Blutgefäß injiziert werden.

Die Klasse **Bloodcircuit** koordiniert also die Erzeugung, Verbindung und Simulation von Blutgefäßen sowie die Injektion von Nanogeräten in den Blutkreislauf. **Klasse Bloodvessel** repräsentiert ein Blutgefäß im Modell des Blutkreislaufs. Aufgaben und Funktionen dieser Klasse sind:

- Verwaltung von Nanogeräten: **Bloodvessel** speichert eine Liste von Nanogeräten, die sich derzeit im Blutgefäß befinden, und ermöglicht Operationen wie das Hinzufügen, Entfernen und Sortieren von Nanogeräten.
- Mobilität der Nanogeräte: **Bloodvessel** aktualisiert die Positionen der Nanogeräte basierend auf ihrer aktuellen Geschwindigkeit und Position innerhalb des Gefäßes.
- Blutflusssteuerung: **Bloodvessel** regelt den Fluss von Blut und Nanogeräten zwischen verschiedenen Blutgefäßen im Modell. Sie bestimmt, ob und wohin Nanogeräte sich im Blutgefäß bewegen und ob sie gegebenenfalls in benachbarte Gefäße übertragen werden.

- Berechnung von Winkeln und Längen: Es werden der Winkel und die Länge des Blutgefäßes basierend auf seinen Start- und Endpunkten berechnet.
- Druck von Nanogeräten auf eine CSV-Datei: Die aktuellen Positionen aller Nanogeräte im Blutgefäß werden in jedem Zeitschritt in eine CSV-Datei gedruckt.
- Steuerung des Blutstroms: Die Klasse `Bloodvessel` regelt den Blutstrom zwischen den Blutgefäßen im Modell. Sie kann den Blutstrom basierend auf Übergangswahrscheinlichkeiten steuern, die von anderen Komponenten des Blutkreislauf-Simulators bereitgestellt werden (siehe Abschnitt 4.3.1).

Insgesamt ist die Klasse `Bloodvessel` für die Verwaltung und Steuerung von Nanogeräten im Blutgefäß sowie für die Regulierung des Blutflusses zuständig. Die Klasse `Bloodstream` repräsentiert einen Strom von Nanogeräten innerhalb eines Blutgefäßes. Sie ermöglicht das Hinzufügen, Entfernen und Sortieren von Nanogeräten sowie das Setzen und Abrufen der Geschwindigkeit und anderer Attribute des Stroms. `Bloodstream` war nicht in der Basisversion von BVS verfügbar und wird deshalb im kommenden Abschnitt 4.2.3.2 noch näher erläutert. Die Klasse `PrintNanobots` ist eine Helferklasse und dient dazu, Informationen über Nanogeräte in die CSV-Ergebnisdatei zu schreiben, um sie später analysieren zu können. Sie bietet Methoden zum Drucken von Informationen über einzelne Nanogeräte oder eine Liste von Nanogeräten. Diese Klasse ermöglicht es, den Verlauf und die Bewegungen der Nanogeräte im Blutstrom zu verfolgen und zu dokumentieren.

Die Klasse `Nanobot` repräsentiert ein Nanogerät, das im Blutstrom eines Organismus verwendet wird. Sie ermöglicht die Steuerung und Bewegung der Nanogeräte im Blutkreislauf sowie die Interaktion mit anderen Komponenten des Systems. Die Klasse bietet Methoden zum Festlegen und Abrufen der Position und Geschwindigkeit des Nanogerätes sowie zum Bewegen des Nanogerätes im Blutstrom. Weitere spezifische Methoden können implementiert werden, um die Funktionalität des Nanogerätes zu erweitern, je nach den Anforderungen des Systems.

In Abbildung 4.13 sind noch drei weitere Klassen gezeigt, die von `Nanobot` erben. `Nanocollector` und `Nanolocator` werden ausführlich in Abschnitt 6.5.1 vorgestellt. `Nanoparticle` kommen in Abschnitt 5.2 zum Einsatz.

Die vorgestellten Klassen sind in Anhang A mit allen Attributen und Methoden aufgeführt. Außerdem wird dort der komplexe Programmablauf der Simulation gezeigt. Durch Aufruf der Hauptfunktion `start-blood-voyager-s` wird das Kreislaufmodell durch `Bloodcircuit` initialisiert und die Simulation gestartet. Während jedes Simulationsschritts werden alle Nanogeräte gleichzeitig in ihren Blutgefäßen bewegt. Wenn ein Nanogerät das Ende seines aktuellen Gefäßes erreicht, wird es umgeleitet und dem nächsten Gefäß übergeben. Die Simulation endet nach einer festgelegten Zeit.

4.2.3.2 GEFÄSSE IN 3D

Zunächst wurde die Implementierung des BVS-Gefäßsystems mit einer festen Anzahl von Strömen für alle Gefäße realisiert. In der neuen Version wurde die Klasse `Blood-`

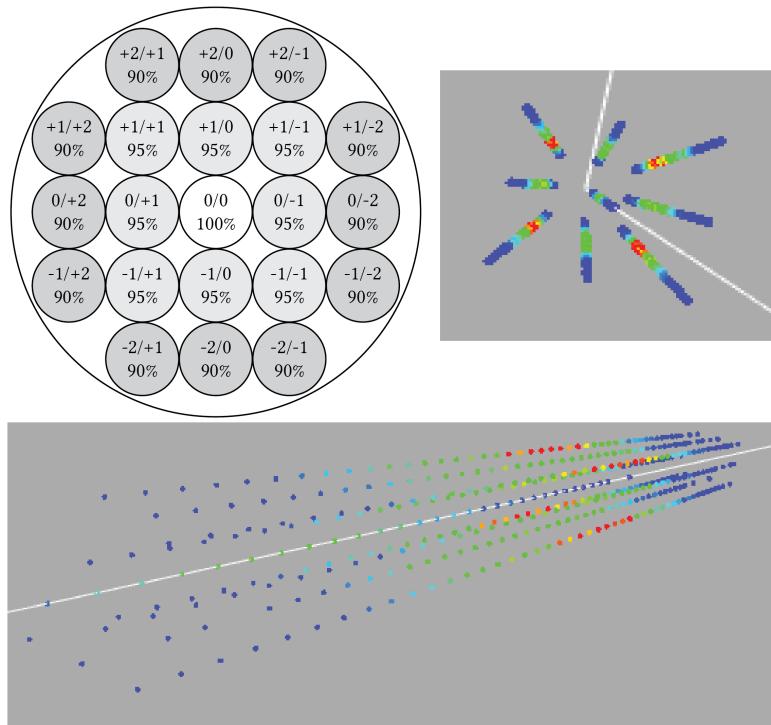


ABBILDUNG 4.14 – 3D-Darstellung eines Gefäßes mit mehreren Strömen. Oben ist der Querschnitt des Gefäßes mit dem Abstand vom Ursprung und der proportionalen Fließgeschwindigkeit dargestellt. Unten ist die Seitenansicht illustriert. [15]

`stream` entwickelt, um mehrere Ströme in einem Blutgefäß abzubilden. `Bloodstream` hat eine ID, eine Größe, eine Grundgeschwindigkeit und einen Geschwindigkeitsfaktor. Abgesehen davon werden die Koordinaten des Stroms angegeben, um die Abweichung vom Zentrum des Gefäßes anzugeben, falls erforderlich. Die Koordinaten des Stroms werden automatisch aus der Anzahl der Ströme und der Gefäßgröße berechnet.

`Bloodvessel` verwaltet eine Liste von `Bloodstream`-Objekten, auf denen Operationen zum Bewegen des Nanogerätes ausgeführt werden. Zusätzlich enthält `Bloodvessel` die Definition der Stromgröße. Diese Stromdefinition besteht aus einer Konstanten, die die Anzahl der Ströme angibt, und einem zweidimensionalen Integer-Array, das einen Geschwindigkeitsfaktor in Prozent und einen Offset für die Koordinaten für jeden Strom definiert. Dem folgt eine Angabe zur Verschiebung der Koordinaten auf den beiden Koordinaten, die nicht der Flussrichtung entsprechen. Die Stromdefinition ist in Abbildung 4.14 oben links für ein Gefäß mit 21 Strömen dargestellt.

Die 3D-Gefäßdarstellung bildet die Grundlage für die Implementierung niedrigerer Ebenen, da sie das nachfolgende Aufteilen bestimmter Ströme von einem großen Gefäß in neue und kleinere Gefäßstrukturen wie auf der Organ- oder Kapillarebene ermöglicht. Darüber hinaus ist die Einführung der Geschwindigkeitsverteilung in einem Gefäß mit laminaren Fluss ein weiterer Schritt hin zu einer realistischeren Darstellung des Gefäß-

systems, da dies die Grundlage für viele Eigenschaften der Blutversorgung darstellt. Beispielsweise ermöglicht die langsamere Geschwindigkeit an Gefäßwänden aufgrund der erhöhten Reibung den Austausch von Substanzen zwischen dem Blutstrom und benachbarten Zellen.

4.2.3.3 EINLESBARE KÖRPERMODELLE

Wie in Kapitel 3 dargelegt spielt die Personalisierung in der Medizin eine elementare Rolle. In Abschnitt 5.1 wird der Einsatz von MEHLISSA als Digital Twin ausführlich diskutiert. Eine Basis hierfür bietet die Neuerung, dass beliebige kardiovaskuläre Modelle automatisiert in die Simulation geladen werden können. Die Modelle müssen dabei das geforderte CSV-Format verwenden: *ID, Gefässtyp, Startkoordinate x, y, z, Endkoordinate x, y, z*. Die CSV-Datei muss vasculature.csv genannt werden und sich im Stammverzeichnis von ns-3 befinden, damit sie vom BVS-Modul erkannt und geladen wird. Dabei wird sie in ein internes zweidimensionales Array konvertiert. Das Array wird verwendet, um die erforderlichen Gefäße in der Software zu instanzieren. Anschließend werden die Gefäße durch die Start- und Endkoordinaten miteinander verbunden, um ein Gefäßsystem zu erstellen, das in der Simulation verwendet wird. Dies ermöglicht die Simulation verschiedener Körpermodelle und Szenarien auf automatisierte Weise.

In Abschnitt 5.1 werden basierend auf dieser Erweiterung zwei neue Modelle für eine durchschnittlich große Frau und einen durchschnittlich großen Mann beispielhaft vorgestellt und Konsequenzen für die Simulation diskutiert.

4.2.4 KÖRPERNETZWERKE UND GATEWAYS

Im Kontext der in Abschnitt 4.1 aufgezeigten Nano-IoT-Netzwerkarchitektur spielt die Körperebene eine tragende Rolle. Sie wird verwendet, um die Kommunikation zwischen BAN und Gateway sowie zwischen Gateway und Nanonetzwerk zu modellieren. Dies wurde auf Basis der Körperebene in BVS beispielsweise in [7] und [6] gezeigt. Technologien die für BANs eingesetzt werden könnten wurden in Abschnitt 3.2.1 vorgestellt. Offene Fragen, die untersucht werden könnten, sind zum Beispiel, wo die stationären BAN-Geräte und Gateways positioniert werden können und wie sich dies auf die Verbreitung von Nachrichten auswirkt. Außerdem von Interesse ist wie viele Gateways erforderlich sind, um Nanogeräte auszulesen, Programmänderungen auszulösen, zuverlässig mit ausreichend vielen Nanogeräten zu kommunizieren oder bestimmte Nanogeräte zu lokalisieren. Stelzner und Traupe [166] stellten einen Function-Centric-Nano-Networking-Algorithmus für die Lokalisierung vor und verwendeten BVS zur Analyse der Trilateration von Nanogeräten über Gateways. Sie haben gezeigt, dass die Positionierung und Anzahl der Gateways einen Einfluss auf die Genauigkeit der geschätzten Position des Nanogerätes haben [166]. Weitere Fragen beziehen sich darauf, ob für eine stabile Kommunikation auf dieser Ebene Mikro-Gateways oder intelligente Sonden erforderlich sind, einschließlich der Zuverlässigkeit des Auslesens von Nanogeräten, während sie an einem Gateway vorbeifließen, ohne stationär zu sein oder verlangsamt zu werden.

4.3 ORGANEBENE

In Abschnitt 3.4 wurde ausführlich motiviert, dass die Lokalisierung von Krankheiten eine entscheidende Rolle in Diagnostik und Behandlung spielt. Hierbei ist zum einen die Zuordnung von Messwerten zu Organen oder bestimmten Geweben von Bedeutung. Zum anderen ist eine gezielte und lokalisierte Behandlung oftmals entscheidend, wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert. Auf der Organebene in MEHLISSA sind die Hauptziele, eine realistische Durchblutungsregulation auch in Abhängigkeit verschiedener Situationen, die Zuordnung von Messdaten zu Organen und Regionen und eine sinnvolle Modellierung der spezifischen Eigenschaften der Organe. Auf der Organebene werden die Organe wie in BVS eingeführt modelliert, aber mit mehr Details und neuen Funktionalitäten.

4.3.1 DURCHBLUTUNGSREGULATION

Für eine realistische Darstellung werden die Nanogeräte zufällig im Gefäßsystem verteilt. Dies bedeutet, dass die Route eines Nanogerätes an jedem Gefäßübergang ausgewürfelt wird. In der BVS Basisversion wurde die Verteilung des Blutes an jeder Gefäßkreuzung mit zwei potenziellen Folgegefäßern im Verhältnis 1:1 zufällig ausgewählt. An strategisch bedeutsamen Abzweigungen vom Hauptfluss zu Organen wurde als erste Annäherung an eine sinnvolle Verteilung ein Bias gesetzt. Bei den Arterien, die zum Kopf, zur Brust und zum Rücken, zum Magen, zur Leber, zum Darm, zu den Nieren und zum Becken führen, liegt die Wahrscheinlichkeit, sie zu wählen, bei 1:3. Die Nanogeräte bleiben folglich mit 75 prozentiger Wahrscheinlichkeit im Hauptgefäß und biegen nicht zu diesen Organen ab. Diese Festlegung wurde vorgenommen, da ohne eine Anpassung der Wahrscheinlichkeiten an diesen Arterien nur begrenzt Blut bzw. Nanogeräte in die unteren Extremitäten gelangen würden. Diese Verteilung entspricht jedoch nicht der Realität.

Die Übergangswahrscheinlichkeiten sind im Anhang in Abbildung A.9 dargestellt. Tabelle 4.1 zeigt in der Spalte BVS die daraus resultierenden Durchblutungsanteile der Organe. Auch ohne Vergleich mit Literaturwerten wird deutlich, dass einige Werte realitätsfern sind. So ist der rechte Arm mit 18,8 % insgesamt besser durchblutet als der linke Arm mit 14,1 %. Die Beine sind trotz der Bemühungen deutlich schlechter durchblutet als die Arme, mit insgesamt nur 7,5 %. Der Kopf mit 25 % und Brust Bereich mit 10,55 % erfährt demgegenüber eine eher zu hohe Durchblutung, während die inneren Organe unversorgt werden. Dieser Eindruck bestätigt sich, wenn Durchblutungsanteile der Organe, in Ruhe, aus der Literatur herangezogen werden.

Im Lehrbuch der Physiologie [17] ist der Durchblutungsanteil für die Verdauungsorgane mit 25 % angegeben, dies wurde für die Sollwerte der Simulation näherungsweise auf zehn Prozent Magen und 15 % Darm aufgeteilt. Die Durchblutung für die Arme ist mit zehn Prozent und für Rumpf und Beine mit 15 % beziffert. Die Anteile wurden gleichmäßig auf jeweils alle in diesem Bereich modellierten Organe bzw. Strukturen aufgeteilt. So sollen die Hände, genauso wie die Oberarme mit 1,25 % durchblutet werden und die Brust und die Füße jeweils mit 1,67 %. Im Vergleich zwischen BVS-

TABELLE 4.1 – Durchblutungsanteile der verschiedenen Organe und Strukturen in BVS gegenübergestellt mit Sollwerten aus der Literatur und den tatsächlich erzielten Werten nach Einführung eines angepassten Transitionsmodells.

Organ	BVS	Sollwert Literatur [17, S.153]	Simulation
Herz	–	5	4,89
Kopf	25,00	15	14,08
Schulter (r)	9,38	1,25	1,18
Oberarm (r)	4,69	1,25	1,19
Schulter (l)	7,03	1,25	1,13
Ellenbogen (r)	2,34	1,25	1,37
Oberarm (l)	3,52	1,25	0,94
Brust Rücken	10,55	1,67	1,67
Hand (r)	2,34	1,25	1,27
Ellenbogen (l)	1,76	1,25	1,01
Magen	7,91	10	9,7
Hand (l)	1,76	1,25	1,11
Leber	5,93	10	9,37
Darm	4,45	15	13,9
Nieren	3,34	20	18,65
Becken (l)	1,25	1,67	1,54
Hüfte (l)	1,88	1,67	1,81
Becken (r)	1,25	1,67	1,54
Hüfte (r)	1,88	1,67	1,31
Knie (l)	0,94	1,67	1,41
Knie (r)	0,94	1,67	1,52
Fuß (l)	0,94	1,67	1,31
Fuß (r)	0,94	1,67	1,44

Modell und Literaturwerten bestätigt sich der Eindruck trotz versuchter Anpassungen, dass der Oberkörper weiterhin deutlich zu stark, der Unterkörper und die Organe teils deutlich zu schwach durchblutet waren. Die Durchblutung der Niere ist beispielsweise fast 6-fach zu niedrig.

Mithilfe der in Tabelle 4.1 Spalte drei gegebenen Literatursollwerte wurde die Durchblutung der Organe im Modell angepasst werden. Im Gegensatz zu vorher wurden alle 46 im Modell existierenden Verzweigungen betrachtet und dabei noch eine neue Arterie (Gefäß 95) eingefügt, die das Herz selbst mit sauerstoffreichem Blut versorgt. Abbildung 4.15 zeigt alle Verzweigungen und die dadurch erreichbaren Organe. Zur Vereinfachung ist Arterie 95 in der Abbildung allerdings nicht dargestellt. Das Herz erhält direkt fünf Prozent des Blutes, noch bevor es in die Aorta (Gefäß 1) gelangt. Zur Berechnung der in der Abbildung gezeigten Transitionswahrscheinlichkeiten wurden mithilfe

der Sollwerte und feststehenden Übergangswahrscheinlichkeiten 32 Gleichungen aufgestellt. Der Matlab-Quelltext zur Aufstellung und Lösung dieses Gleichungssystems ist im Anhang in A.1 gezeigt. In grün dargestellte Knoten symbolisieren, dass die Kante, die zu diesem Knoten führt, im Vergleich zum Basismodell einen höheren Wert erhält. Rote Knoten stehen für eine erniedrigte Durchblutung. Die resultierenden Verteilungen werden durch Multiplikation der Wahrscheinlichkeiten am Pfad berechnet und entsprechen genau den Sollwerten in Tabelle 4.1 Spalte drei. Spalte vier zeigt außerdem die nach mehrmaliger Simulation tatsächlich festgestellten Verteilungen der Nanogeräte. Es gibt an allen Stellen leichte Abweichungen, diese müssten sich bei unendlich langer Simulation an die Sollwerte annähern. Im Schnitt ist die Durchblutung 0,3 Durchblutungsprozent kleiner als der Sollwert was im Toleranzbereich liegt. Zum Vergleich waren es bei der Basisversion 3,6 %, also mehr als zehnmal so große Abweichungen. Damit stellt die Einführung realistischer Durchblutungsanteile einen essenziellen Fortschritt dar.

4.3.1.1 IMPLEMENTIERUNG

Die Klasse `Bloodvessel` regelt den Blutstrom zwischen den Blutgefäßen im Modell. Sie kann den Blutstrom basierend auf Übergangswahrscheinlichkeiten steuern, die durch eine CSV-Datei eingelesen werden können. Die CSV-Datei muss `transitions95.csv` genannt werden und sich im Stammverzeichnis von ns-3 befinden, damit sie erkannt und geladen wird. Sie wird beim Erstellen des Blutkreislaufs ausgelesen und die jeweiligen Transitionswahrscheinlichkeiten in den betreffenden Blutgefäßen gespeichert.

Diese Möglichkeit des Einlesens wurde implementiert, um einen schnellen Austausch der Transitionsmodelle zu ermöglichen. Denn abgesehen von der generellen Unterscheidung in der Durchblutung ändert sich die Perfusion stark in Abhängigkeit von der körperlichen Aktivität.

4.3.1.2 DURCHBLUTUNG BEI ARBEIT

Schwankungen in der Durchblutung von Haut, Muskeln und Herzmuskel während körperlicher Aktivität sind gut erkennbar, wenn der Durchfluss der Organe in Liter pro Minute im Ruhezustand und bei schwerer Arbeit verglichen wird (siehe Tabelle 4.2). Der Durchfluss des Gehirns und der Nieren bleibt konstant, was auf unveränderten Energie- und Sauerstoffverbrauch während der Arbeit hinweist. Der Bedarf des Herzens verdoppelt sich, während der Muskelbedarf sich verzehnfacht [75]. Dies führt zur Drosselung verzichtbarer Körperfunktionen wie Verdauung und einer Verringerung der Durchblutung. Die Hautdurchblutung steigt durch erweiterte Gefäße aufgrund der Wärmeabgabe durch Muskelarbeit. Bei maximaler Leistung beanspruchen Skelettmuskeln mehr als das Doppelte des Herzzeitvolumens in Ruhe. Bei athletischen Personen kann diese Zahl auf das Fünffache steigen. Solche Schwankungen sind der Hauptgrund für die Notwendigkeit einer Kreislaufregulation. Veränderungen in der Körperposition, wie das Aufstehen, lösen orthostatische Regulationen aus, um Blutverlagerungen in die Beine auszugleichen. Dies kann zu einem vorübergehenden Rückgang des Herzschlagvolumens und

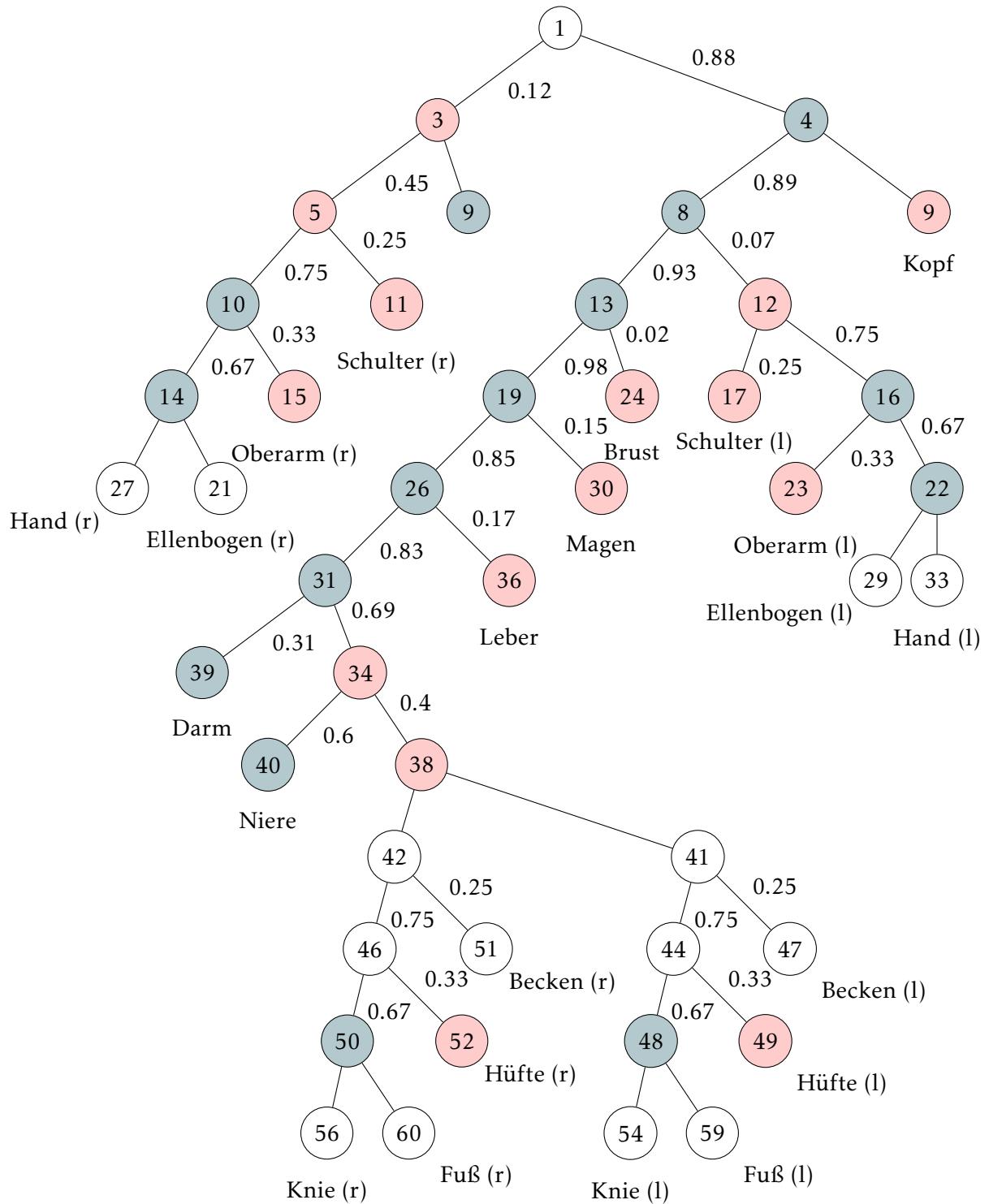


ABBILDUNG 4.15 – Neu berechnete Organtransitionen zur Durchblutung entsprechend der Literaturwerte. Grüne Knoten zeigen erhöhte Durchblutung im Vergleich zu Transitionen im Basismodell, rote Knoten niedrigere.

TABELLE 4.2 – Durchblutungsanteile der einzelnen Organe, in L/min pro Organ, unter Ruhebedingungen und bei schwerer Arbeit nach [17, S. 176].

	in Ruhe	schwere Arbeit
Gehirn	0,8	0,8
Herzmuskel	0,3	0,7
Leber	1,4	0,4
Verdauungsorgane		
Nieren	1,1	1,1
Skelettmuskel	1,3	13
Haut	0,5	1,6
sonstige Organe	0,6	0,4
Knochen		
Gesamtvolumen	6 L	18 L

des arteriellen Drucks führen, während Herzfrequenz und Gefäßwiderstand erhöht werden, um die Durchblutung aufrechtzuerhalten. Eine Erweiterung der Simulation um ein Transitionsmodell bei schwerer Arbeit und bei orthostatischer Lagerungsänderung sind geplant.

4.3.2 ZUORDNUNG VON MESSDATEN

Der Einfluss verschiedener Aktivitäten auf den Blutfluss und damit die Verteilung der Nanogeräte kann zukünftig durch die Durchblutungsregulation besser simuliert werden. Dies ist die Grundlage, um die Leistung von Kommunikationsstrategien eingehender und unter realistischeren Bedingungen zu analysieren und zu vergleichen. Denn die Organebene wird verwendet, um unter anderem, die organspezifische Kommunikation von Nanogeräten zu modellieren. Die Schlüsselfrage ist, ob eine Zuordnung von Organen möglich ist, sodass ein Nanogerät ein Organbewusstsein hat. Jedes Nanogerät sollte aufzeichnen, an welchem Ort Substanzen oder Ereignisse detektiert wurden, um eine sinnvolle Interpretation zu ermöglichen. Darauf aufbauend stellt sich die Frage, ob leistungsfähigere Geräte wie Nanokollektoren, Nanorouter, Mikroschnittstellen oder Gateways an bestimmten Orten oder an jedem Organ notwendig sind, um dieses Organbewusstsein einfacher Nanogeräte zu gewährleisten.

Stelzner und Traupe [166] haben bereits mittels BVS gezeigt, dass es möglich ist, die Position von Nanogeräten durch Trilateration mit der Nähe zu einem Organ zu verknüpfen. Dies ermöglicht die Zuordnung von Messwerten eines einzelnen elektrobasierten Nanogerätes zu einem bestimmten Organ, was für eine sinnvolle Analyse von festgestellten Anomalien aus zwei Gründen entscheidend ist: Erstens unterscheidet sich die Zusammensetzung von Stoffwechselprodukten von Körperregion zu Körperregion. Zweitens ist es für eine gezielte Behandlung nach der Erkennung entscheidend zu wissen, wo die Wirkstelle sein soll. Wenn also Nanogeräte Marker für Entzündungen in den Lungen messen, sollte die Freisetzung des Medikaments auf diesen Bereich beschränkt sein.

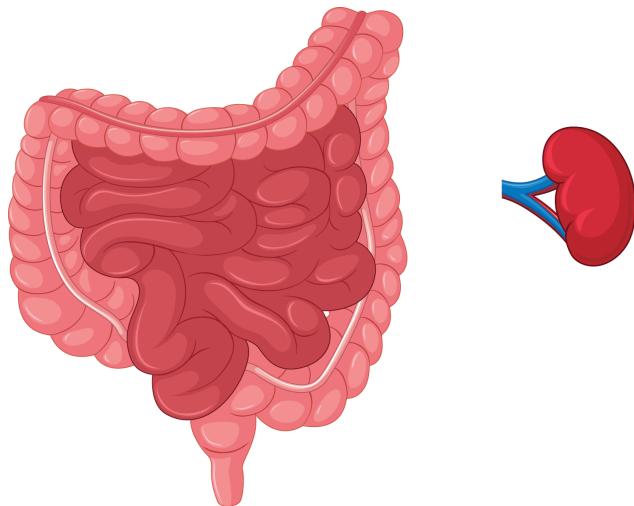


ABBILDUNG 4.16 – Größe des Darms und der Niere in ungefährer Relation.

Diese Notwendigkeit wurde ausführlich in Abschnitt 3.4 und 3.3.1 erläutert. Da die Lokalisierung und Zuordnung von Messdaten eine zentrale Rolle in der Präzisionsmedizin spielt ist diesem Thema ein eigenes Kapitel gewidmet. In Kapitel 6 wird eine neue Lokalisationstechnik für biohybride Nanogeräte entwickelt und diese Funktionalität in MEHLISSA eingeführt. Dies ist eine signifikante Neuerung, da bisherige Lokalisationsansätze vorrangig auf elektrischer Kommunikation basieren und globale Lokalisierung bis dato auf molekularer Ebene nicht möglich war. Dies wird in Abschnitt 6.1 analysiert.

4.3.3 MODELLIERUNG DER ORGANE

In der Basisversion basieren die Koordinaten der Organe auf der Vermessung einer 1,72 Meter großen Frau auf der Hautoberfläche, wie in Abschnitt 4.2.1.3 erläutert. Aufgrund der dreidimensionalen Natur des menschlichen Körpers blieb die räumliche Dimension von vorne nach hinten, also die z-Koordinate, in der Messung unberücksichtigt. Die Vermessung der Organe von vorne nach hinten auf der Haut ist nicht praktikabel, und ein Datensatz mit allen relevanten Maßen existierte zum Zeitpunkt der Entwicklung nicht. Deshalb wurde vorerst angenommen, dass alle Organe eine ähnliche räumliche Tiefe von vier Zentimetern haben.

Das Ziel ist dennoch weiterhin, die realistische Größe und Ausdehnung einzelner Organe darzustellen. Abbildung 4.16 zeigt die Größe des Darms und der Niere im Verhältnis als Beispiel. Während die Niere im Durchschnitt $11 \times 5.5 \times 3.5$ cm misst, beträgt der Dickdarm 120 bis 135×7 cm und der Dünndarm ist drei bis sechs Meter lang [25]. Dies hat einen erheblichen Einfluss auf die Gefäßstruktur der versorgenden Blutgefäße.

4.3.3.1 BODYPARTS3D UND SIMVASCULAR

In Abschnitt 2.5.1 wurde der Open-Source Gefäßsimulator SimVascular vorgestellt. Derzeit bietet SimVascular kein vollständiges Modell des menschlichen Körpers oder seiner Gefäße an. Die vorhandenen Modelle konzentrieren sich oft auf kleine Teile wie Bronchien oder die Aorta und sind kostenpflichtig. Es wurde bereits besprochen, dass Ganzkörperscans eine zu geringe Auflösung haben, um bei der Erstellung des Körpermodells eingesetzt zu werden. Auf Organebene sind die Auflösungen aus radiologischen Bildern ebenfalls zu gering um sie für die Generierung einzelner Organsimulationen zu verwenden.

Es gibt allerdings eine weitere Möglichkeit SimVascular zu diesem Zweck zu verwenden. Theoretisch ist es möglich fertige 3D-Objekte in den Simulator zu laden. Die Suche nach geeigneten 3D-Darstellungen gestaltet sich dabei schwierig. Das „NIH/NLM Visible Human Project“ ist ein älteres und öffentliches Vorhaben mit dem Zweck vollständige, anatomisch detaillierte, dreidimensionale Darstellungen des normalen männlichen und weiblichen menschlichen Körpers zu entwickeln. Das Projekt und verwandte Initiativen, die seit 1989 existieren, haben viele Gigabyte an Daten produziert, allerdings stehen dennoch keine öffentlich verfügbaren 3D-Solid- oder Oberflächendateien aus diesen beeindruckenden Datensätzen zur Verfügung.

Nach intensiver Recherche wurde das Projekt BodyParts3D [100] ausfindig gemacht. BodyParts3D ist eine Datenbank für Anatomie, die anatomische Konzepte mittels 3D-Strukturdaten darstellt und Segmente eines 3D-Ganzkörpermodells für einen erwachsenen männlichen Menschen spezifiziert. Diese Datenbank umfasst morphologisches und geometrisches Wissen in der Anatomie und ergänzt die ontologische Darstellung. Darüber hinaus führt BodyParts3D ein universelles Koordinatensystem in der menschlichen Anatomie ein, das von großem Nutzen für die korrekte räumliche Abbildung der Strukturen im Modell ist. Bislang wurden 382 anatomische Konzepte wie Gefäße und Gefäßverbünde, zum Beispiel Organe oder der arterielle Baum, definiert. Die aktuellste Version 4.3i umfasst 3907 Segmente in den Kategorien Knochen, Muskeln, Gefäße und innere Organe. Die nativen 3D-Modelle stehen unter einer Creative Commons Share-Alike-Lizenz frei zur Verfügung und können ohne Hürden heruntergeladen werden⁵. Abbildung 4.17 zeigt einen Ausschnitt der online abrufbaren Datenbank.

Die Datenbank bietet demnach eine einmalige Möglichkeit die Organe im Detail zu modellieren. Jedes Organ ist eine Gruppe von mindestens zwei Geweben, die so angeordnet sind, dass sie eine spezifische Funktion erfüllen. In diesem Sinne sind Haut, Muskel, Knochen und Blut Organe und sollten langfristig in die Organebene eingefügt werden. Für die direkte Erweiterung des BVS-Modells ist die Kombination von BodyParts3D und daraus in SimVascular generierten Blutflussgrafen die vielversprechendste Herangehensweise. Die Herausforderung dabei besteht darin, die Daten aus der Datenbank, die im .obj-Dateiformat vorliegen, in ein Format zu konvertieren, das für die Verwendung mit SimVascular geeignet ist.

⁵ <http://lifesciencedb.jp/bp3d/?lng=en>

4.3. ORGANEBENE

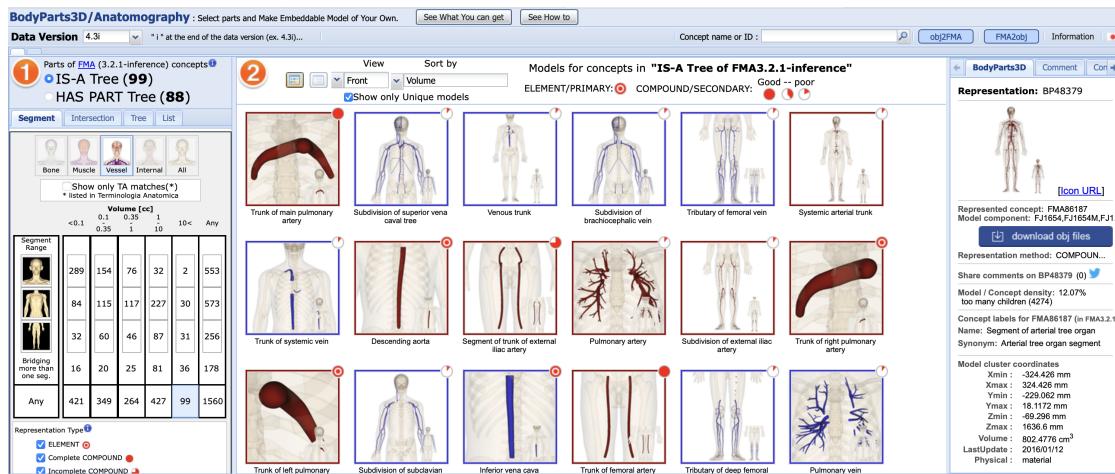


ABBILDUNG 4.17 – BodyParts3D Datenbank Ausschnitt. Links gezeigt ist die Übersicht der verfügbaren Strukturen. Ausgewählt ist die Anzeige von Gefäßen mit einem Volumen größer als zehn Kubikzentimeter. In der Mitte sind beispielhaft solche Gefäße oder Gefäßverbünde gezeigt. Rechts ist ein großes Konzept, der arterielle Baum, bestehend aus vielen Komponenten ausgewählt. Aus den Cluster-Koordinaten kann entnommen werden, dass der modellierte arterielle Baum 24,7 cm tief, 64,8 cm breit und 163 cm hoch ist. [174]

Friederike Weilbeer hat sich im Rahmen ihrer Arbeit als studentische Hilfskraft im DFG-Projekt „BodyTalks: Connecting in-body nano communication with body area networks (NaBoCom II)“ unter der Anleitung der Autorin mit diesem Thema befasst. Für die Arbeit mit 3D-Modellen unterstützt SimVascular die Formate .dcm, .vtp und .vti. Ein Python-Skript wurde entwickelt, um .obj-Dateien in das .vtp-Format zu konvertieren. Beim Laden des konvertierten Objekts in SimVascular traten Skalierungsprobleme auf, wodurch Dimension und Position des Objekts nicht korrekt erkannt wurden. Die Achsen erschienen unendlich und das Objekt blieb unsichtbar. Durch Anpassung der Dateien an den Ursprung mithilfe des 3D-Grafikprogramms Blender wurden die Objekte in SimVascular sichtbar, aber die Achsen waren noch falsch ausgerichtet. Nachdem die Arterie auf eine positive x- und z-Achse verschoben und die y-Achse negativ angepasst wurde, wurden die Arterienränder korrekt erkannt (siehe Abbildung 4.18).

Mit den korrekt skalierten Arterien kann eine Simulation in SimVascular bis hin zu Mesh-Erstellung durchgeführt werden. Abbildung 4.19 zeigt den Ablauf. Die Pfadplanung ermöglicht die Definition von Wegen entlang der gewünschten Verläufe von Blutgefäßen. Bei der Segmentierung werden die Gefäßstrukturen in detaillierte Konturen umgewandelt. Aus den vorhandenen Segmenten und dem Pfad kann SimVascular ein Modell erstellen. Dies geschieht automatisiert mit der eigenen Bilderkennungssoftware und funktioniert auf den erstellten Dateien. Die Erzeugung von Meshes, also fein gegliederten Netzstrukturen, ermöglicht die genaue Darstellung der Gefäßgeometrien für die darauf folgenden Simulationen. Dies ist ebenfalls ein automatisierter Prozess.

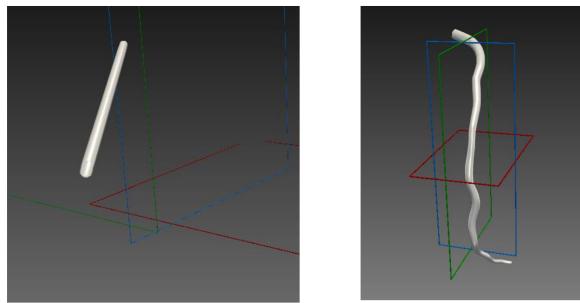


ABBILDUNG 4.18 – Anpassung der Dateien an den Ursprung durch Blender macht die Objekte in SimVascular sichtbar (links). Verschieben der Arterie auf eine positive x- und z-Achse und negative y-Achse ermöglicht die korrekte Erkennung der Arterienränder (rechts).

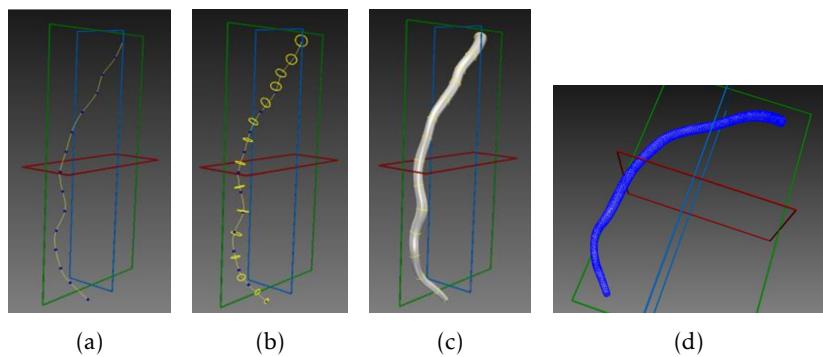


ABBILDUNG 4.19 – (a) Pfadplanung, (b) Segmentierung, (c) Modellierung und (d) Erstellung des Meshs einer aus BodyParts3D in SimVascular geladenen Arterie.

So können theoretisch Computational-Fluid-Dynamics-Simulationen durchgeführt werden, die die Analyse des Blutflusses und anderer physikalischer Parameter in den modellierten Gefäßen erlauben. Weiterhin muss ein Weg gefunden werden die entstehenden Blutstromvektoren in Flusslinien für die Simulation in BVS bzw. MEHLISSA, umzuwandeln. Zunächst sollte dies für ein Organ testweise durchgeführt werden und sukzessive weitere Organe eingeführt werden. Die Erstellung wird ein langwieriger Prozess sein, und es sollten Automatisierungsoptionen geprüft werden. Die Implementierung ist ebenfalls noch unklar. Langfristig ist das Ziel, das generalisierte detaillierte Organmodelle für konkrete Patient*innen aus ihren hochauflösten Bildgebungsdaten angepasst werden können. Mehr zu dieser Vision in Abschnitt 5.1.

4.4 KAPILLAREBENE

Das menschliche Gefäßsystem besteht aus Arterien, Kapillaren und Venen, durch die das Herz kontinuierlich Blut pumpt. Große, elastische Arterien leiten das Blut vom

Herzen weg und teilen sich in mittelgroße, muskuläre Arterien auf. Dieses Niveau spiegelt sich in der Körperferebene wider. Die Arterien werden in kleinere Arterien und in noch kleinere Arteriolen aufgeteilt, was durch den Einsatz neuer Modelle in der Organebene modelliert werden wird. Die Arteriolen durchdringen das Gewebe und teilen sich dort in winzige, unzählige Kapillaren auf, die die kleinsten Gefäße im Körper sind. Der Austausch von Substanzen zwischen Blut, Geweben und Organen findet in den Kapillaren statt. Sauerstoff, Nährstoffe und andere Stoffwechselprodukte diffundieren vom Blut durch die Kapillaren in die interstitielle Flüssigkeit, von dort in die Zellen und wieder zurück. Die interstitielle Flüssigkeit füllt den engen Raum zwischen Organen, Geweben oder Zellen aus.

4.4.1 MERKMALE DER KAPILLARSYSTEME

In Tabelle 4.3 sind die wichtigsten Eigenschaften von Kapillaren aufgeführt. Sie haben einen Durchmesser zwischen fünf und zehn Mikrometern, eine mittlere Blutgeschwindigkeit von $0,02 \text{ cm/s}$ und einen Gesamtquerschnitt von 4500 cm^2 . Die Gesamtanzahl der Kapillare im menschlichen Körper beläuft sich auf circa 20 Milliarden. Die grundsätzliche Verteilung der Kapillaren auf die Organe hängt dabei von der Stoffwechselaktivität der umgebenden Gewebe ab. In den Muskeln, im Gehirn, in der Leber, in den Nieren und im Nervensystem finden sich deshalb viele Kapillaren. Die Gewebe unterscheiden sich demnach generell in der Anzahl ihrer versorgenden Kapillare. Zusätzlich verändert sich der Blutvolumenstrom abhängig vom Bedarf der einzelnen Organe in Abhängigkeit des aktuellen Bedarfs. Wenn ein Gewebe passiv ist, fließt das Blut nur durch einen kleinen Teil seiner Kapillaren.

TABELLE 4.3 – Eigenschaften von Kapillaren im menschlichen Körper.

Eigenschaft	Wert	Quelle
Durchmesser	$5\text{-}10 \mu\text{m}$	[30, S.733]
Blutgeschwindigkeit	$0,02 \text{ cm/s}$	[17, S.169]
Anzahl	20 Milliarden	[30, S.741]
Gesamtquerschnitt	4500 cm^2	[17, S.169]

Das Blut wird zunächst auf alle Arteriolen parallel aufgeteilt und fließt gleichzeitig durch die Kapillarsysteme der einzelnen Gewebe. Der Gesamtblutvolumenstrom durch alle Arteriolen, alle Kapillaren und durch alle Venolen entspricht jeweils genau dem Herzzeitvolumen. Es geschieht eine Umverteilung des Stromes durch Konstriktion der Arteriolen, je nach Aktivität bzw. Bedarf des zugehörigen Organs. Innerhalb des Gewebes kann der Blutfluss zusätzlich mittels präkapillarer Sphinkter reguliert werden. Dies sind präkapillare Schließmuskeln (Ringmuskeln), die am Ende der Arteriolen liegen und den Zufluss kontrollieren. Die meisten Schließmuskeln sind in einem passiven Gewebe geschlossen. Wenn das Gewebe aktiv ist, wie zum Beispiel ein kontrahierender Muskel, entspannen sich die Schließmuskeln und das gesamte Kapillarnetz wird durchströmt. Ein solches Kapillarnetz, auch Kapillarbett genannt, ist in Abbildung 4.20 dargestellt.



ABBILDUNG 4.20 – Kapillarbett mit vier geschlossenen Schließmuskeln. Nanogeräte sind als weiße Boxen dargestellt.

Die Gesamtlänge der Blutgefäße variiert zwischen 100.000 und 120.000 km [30, S.688], während die Gesamtlänge der Kapillaren auf 8.000 bis 40.000 km geschätzt wird [25, K. 22]. Dies würde ausreichen, um mindestens einmal die Vereinigten Staaten von Amerika zu durchqueren. Die Querschnittsfläche der Kapillaren ist sehr groß, wobei sich der Querschnitt bei jedem Verzweigungspunkt der Gefäßtypen um den Faktor zehn vergrößert, was zu einer Abnahme der Blutstromgeschwindigkeit führt. Die Kapillaren sind hochparallel geschaltet und bilden einen Abschnitt des Kreislaufs, wobei der Volumenstrom gemäß dem Kontinuitätsgesetz in allen Abschnitten gleich bleibt ($Q = v \times A$). Ist der Volumenstrom und der Querschnitt bekannt, könnte demnach die Blutgeschwindigkeit berechnet werden.

4.4.2 MODELLIERUNG DER VERÄSTELUNG

Theoretisch sollten die Kapillaren im Modell für die Simulation die erläuterten und in Tabelle 4.3 aufgeführten Eigenschaften haben. Des Weiteren ist bekannt, dass zwei Prozent des gesamten Blutvolumens in den Kapillaren der Lunge und sieben Prozent in den Kapillaren des restlichen Körpers verbleiben.

Im bisherigen Modell sind Kapillare nicht berücksichtigt. Der Blutstrom wird in Organen als vereinfachte Annahme auf einen Zentimeter pro Sekunde beschränkt. Mit der Einführung der Organebene wird ein neuer Verzweigungsgrad maximal bis Arteriolen-

und Venolenebene stattfinden. Ein Ansatz um die Ebene der Kapillaren zu simulieren wird im Folgenden erläutert.

Wie in Abschnitt 4.2.3.2 erläutert wurde, gibt es durch das Update in MEHLISSA eine 3D-Darstellung der Gefäße die auf Bloodstreams basiert. In jedem Blutgefäß kann die Anzahl der Ströme festgelegt werden. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, den Verästelungscharakter der Kapillare einzuführen. In einem Gewebe könnten mehrere kurze Blutgefäße mit zunächst steigender und dann wieder sinkender Anzahl von Streams ein Kapillarbett darstellen. Die Sollgeschwindigkeiten in den Streams könnten mithilfe des Kontinuitätsgesetzes berechnet werden. Die Zielanzahl der Kapillaren könnte in einer neuen Spalte in der vasculature.csv hinterlegt und ebenfalls eingelesen werden.

4.4.3 EINBINDUNG VON KANALMODELLEN

Die Einführung der Kapillarebene ermöglicht die Simulation der Kommunikation innerhalb eines Kapillarbettes. Abhängig von der Kommunikationsreichweite der jeweiligen simulierten Methode ist es wahrscheinlich, dass die Kommunikation von einem Ende des Kapillarbettes zum anderen mehrere miteinander kommunizierende Nanogeräte erfordert. Die Kommunikation zwischen mehreren Nanogeräten, könnte demnach in Clustern erfolgen.

Die Kapillarebene ist die Ebene, auf der verschiedene Kommunikationsstrategien unter Nanogeräten implementiert werden und der tatsächliche Kommunikationskanal modelliert wird. Da umfangreiche Forschungsergebnisse zu Kanalmodellen vorliegen (siehe Abschnitt 2.5.2), sollten diese Erkenntnisse in das Modell integriert werden. Dadurch wird es außerdem möglich verschiedene Ansätze zu vergleichen. Offene Fragen, die auf dieser Ebene beantwortet werden sollen, sind zum Beispiel, wie viele Nanogeräte benötigt werden, um die Kommunikation über ein Kapillarbett abzudecken. Dieses Wissen wird nützlich sein, um die Simulation auf höheren Ebenen zu vereinfachen, sodass die Kommunikation über ein Kapillarbett mit einer konstanten Entfernung und Dauer abstrahiert werden kann, wenn die erforderliche Anzahl von Nanogeräten vorhanden ist. Anschließend ist von Interesse, wie lange ein Nanogerät seine Position auf der Mikrometer- oder Millimeter-Skala der Kapillaren hält und ob davon ausgegangen werden kann, dass er über einen kurzen Zeitraum teilweise stationär ist.

4.5 ZELLEBENE

Auf der Kapillarebene wird die Kommunikation von Nanogeräten untereinander angeprochen. Die Zellebene konzentriert sich hingegen hauptsächlich auf die tatsächliche Kommunikation zwischen Nanogeräten und Zellen vornehmlich über Moleküle. Sie spielt eine bedeutsame Rolle, da sie die Ebene der Entstehung und des Fortschreitens von Krankheiten und des Zielorts pharmakologischer Interventionen ist. Die Targeted Drug Delivery ist eine Schlüsselkomponente, um die Krebsbehandlung zu verbessern

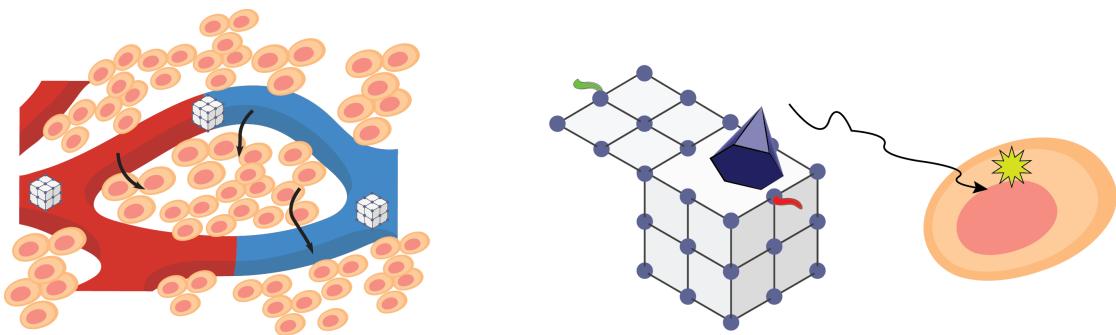


ABBILDUNG 4.21 – Auf Zellebene zeigt das linke Bild Kapillaren, die mit Nanogeräten gefüllt sind, sowie benachbarte Zellen. Im rechten Bild ist ein Nanogerät dargestellt, das ein Medikament freisetzt. Dieses Medikament diffundiert zu einer Zelle, wo daraufhin eine nachfolgende Reaktion einsetzt.

und die schwerwiegenden Nebenwirkungen der Chemotherapie zu minimieren, bei der gesunde Zellen als Kollateralschaden getötet werden (siehe Abschnitt 3.3.1). Um die Identifizierung von Biomarkern oder Zellen und die anschließende Behandlung über Targeted Drug Delivery zu modellieren, wird die Zell-zu-Zell-Kommunikation betrachtet.

4.5.1 KOMMUNIKATION AUF ZELLEBENE

Zellen haben mehrere Signalmechanismen, um biologische Informationen auszutauschen. Zell-zu-Zell-Kontaktvermittelte Strategien spielen eine wesentliche Rolle in der Zellkommunikation. Ein Beispiel hierfür sind Gap-Junctions, spezielle Kanäle, die benachbarte Zellen verbinden und den direkten Austausch von Molekülen ermöglichen. Autokrine Signalgebung beinhaltet die Freisetzung von Signalmolekülen durch eine Zelle, die an Rezeptoren derselben Zelle binden und eine Antwort auslösen. Im Gegensatz dazu geben Zellen bei der parakrinen Signalgebung Signalmoleküle ab, die an Rezeptoren benachbarter Zellen binden und dort eine Reaktion auslösen. Diese Mechanismen ermöglichen eine effektive Koordination von Zellaktivitäten und eine präzise Regulation von Gewebe- und Organfunktionen. Gap-Junctions und autokrine Signalgebung kommen für Nanogeräte zur Nutzung nicht infrage. Am ehesten könnte noch die parakrine Signalgebung imitiert werden, indem die Nanogeräte wie Nachbarzellen agieren und Signalmoleküle freisetzen, die an Rezeptoren der Zellen in unmittelbarer Nähe binden.

Das Schlüssel-Paradigma für die Nanogerät-Zell-Kommunikation ist am ehesten die endokrine Signalgebung, bei der Signalmoleküle von Senderzellen zu Zielzellen über den Blutkreislauf gelangen. Die Signalmoleküle werden entweder direkt, wie Insulin, in den Blutkreislauf freigesetzt oder innerhalb sekretorischer Vesikel [105]. Vesikel und ihre Rolle in der Diagnostik und Behandlung wurden mehrfach in Kapitel 3 thematisiert.

Ebenfalls auf der Zellebene von Interesse ist die andere Richtung, dass Nanogeräte Moleküle im direkten Umfeld von Zellen detektieren, die freigesetzt wurden. Dies

könnten beispielsweise Entzündungsmarker, cfDNA von Tumorzellen oder Enzyme, Hormone und Wachstumsfaktoren sein, die an der Regulation von Stoffwechselprozessen und Zellwachstum beteiligt sind.

4.5.2 MODELLIERUNG DER NANOGERÄT-ZELL-BEZIEHUNG

Auf der Zellebene sollte es möglich sein, die Arzneimittelfreisetzung von Nanogeräten und deren Auswirkungen auf eine spezifische Zielzelle zu modellieren (siehe Abbildung 4.21). Um ein Verständnis für die zeitlichen Grenzen einer solchen Arzneimittelfreisetzung zu erhalten, kann das Zell-zu-Zell-Kommunikationsnetzwerk von Thurley et al. [128] genutzt werden. Sie entwickelten ein Modell, bei dem intrazelluläre Signaltransduktionsnetzwerke als Blackboxen behandelt werden können und Kommunikationsnetzwerkstrukturen vorhersagen können. Die Simulation läuft in Matlab R2015a⁶. Eine Möglichkeit ist es dort Versuche durchzuführen und die resultierende Reaktionszeitverteilung als Eingabeparameter für die Simulationen in MEHLISSA auf zellulärer Ebene zu verwenden.

Weiterhin sollte die Detektion von Molekülen durch Nanogeräte auf der Zellebene simuliert werden. Hierzu haben Torres Gómez et al. unter Beteiligung der Autorin in [1] ein Szenario getestet, bei dem *Quorum-Sensing-Moleküle* (QS-Moleküle) von Nanogeräten detektiert werden. QS-Moleküle sind Signalmoleküle, die von Bakterien zur Kommunikation und Koordination in einer Population verwendet werden. Sie ermöglichen es Bakterien, ihre Dichte in ihrer Umgebung zu erfassen und kollektive Verhaltensweisen zu steuern, wie beispielsweise die Bildung von Biofilmen, die Produktion von Giftstoffen oder die Regulation von Stoffwechselwegen. In dem Szenario wird eine Bakterieninfektion bzw. ihre Schwere über das Abhören der QS-Moleküle erkannt.

Um diese Funktionalität durchzuführen, können mobile Nanosensoren mit elektrochemischen Sensoren ausgestattet werden, die QS-Moleküle durch Elektroden messen. Die Verteilung von QS-Molekülen in der Nähe einer Infektionsstelle kann mittels COMSOL simuliert werden. COMSOL Multiphysics ist eine kommerzielle Softwareplattform für die numerische Simulation von physikalischen Prozessen. Die Software bietet eine Vielzahl von Anwendungen, einschließlich Strukturmechanik, Elektromagnetik, Strömungsmechanik, Wärmeübertragung und chemische Reaktionen.

Im simulierten Modell folgt die Verteilung von QS-Molekülen im Gewebe der Diffusion in einem porösen Medium, wobei der interstitielle Raum zwischen den Zellen im Gewebe als Poren betrachtet wird, durch die QS-Moleküle diffundieren. Eine repräsentative Gewebemenge wird als Simulationsdomäne betrachtet, wobei die Infektion oben angenommen wird und die Kapillaren unten in diesem Volumen liegen. Die Konzentration von QS-Molekülen ist in Abbildung 4.22 zum Zeitpunkt dargestellt, wenn die Bakterienpopulation eine kritische Dichte erreicht, die als Schwelle für die Infektion identifiziert wird. Unter Verwendung der COMSOL-Simulationen kann die Erfassungsregion der

⁶ <https://www.mathworks.com/>

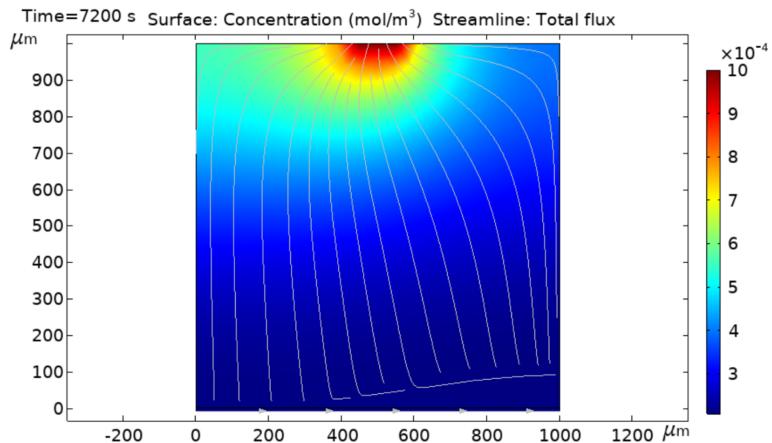


ABBILDUNG 4.22 – Konzentration der QS-Moleküle im Gewebe, wie vom COMSOL-Simulator bereitgestellt. [1]

Nanogeräte bestimmt werden. Dies ist die Region, in der die Konzentration von QS-Molekülen über der Schwelle liegt, die die Nanosensoren erfassen können. Mithilfe der Nachweisgrenze von Nanosensoren von 1×10^{-5} mol/L [86] lässt sich die Erfassungsregion ellipsoidförmig approximieren. Die Ellipse ist dabei in die Richtung des Blutflusses gestreckt, mit Achsenlängen von 0,1–0,5 cm und 1,75–3,5 cm. [1]

Diese Resultate aus COMSOL Simulationen könnten in MEHLISSA integriert werden und die lokale Erfassungswahrscheinlichkeit simuliert werden. Befindet sich ein Nanogerät in dem gegebenen Blutgefäß und der berechneten Erfassungsregion wird die Anwesenheit der QS-Moleküle lokal erkannt.

In [1] wird die Detektion und Lokalisierung von Infektionen im menschlichen Körper anhand einer Sensorfusion-Node-Gateway-Architektur vorgestellt. Die Architektur integriert ein DNA-basiertes Nanonetzwerk aus Sensoren und Kollektoren und ein Gateway-Gerät. Durch die Verwendung von DNA-Tiles zur Signalverstärkung und Fusion von Regeln verbessert das System die Detektionsgenauigkeit und ermöglicht die Echtzeitlokalisierung von Gesundheitsanomalien über maschinelles Lernen. Simulationen in MEHLISSA könnten diesen Ergebnissen gegenübergestellt werden und andere Architekturen getestet werden.

Neben der Integration von In-Situ-Experimenten besteht ein bedeutendes Ziel darin, Ergebnisse von In-vitro- und In-vivo-Experimenten zu integrieren, um noch realistischere Abstraktionen für die Modellierung höherer Ebenen zu erhalten. Neben der Simulation der Molekülererkennung, der Arzneimittelfreisetzung und ihrer Folgen ist eine relevante Frage, ob Nanogeräte in der Lage sind, durch Zellen mit spezifischen Methoden zu kommunizieren, wie in Abbildung 4.21 dargestellt. Dies sollte für verschiedene Kommunikationsstrategien wie akustische, elektromagnetische, molekulare und ultraschallbasierte Kommunikation getestet werden.

Da die Zellebene stark auf Ergebnisse aus anderen Simulationsplattformen oder Experimenten angewiesen ist, kommt hier die Aufteilung der Architektur in Ebenen stärker zum Tragen. Die Körper-, Organ- und Kapillarebenen können, wie die vorherigen Abschnitte gezeigt haben, weitestgehend als individuelle Klassen mit unterschiedlich detaillierten Modellen, in einem gemeinsamen Modul in ns-3 umgesetzt werden. Bei der Kapillarebene kann die Anbindung von Kanalmodellen aus anderen Simulationsplattformen gewinnbringend sein und sollte dann über Schnittstellen Ergebnisse von außen an die interne Kapillarebene liefern. Gleiches gilt für die Zellebene in größerem Kontext. Hier müssen je nach externer Simulation Lösungen gefunden werden, wie diese in das Framework eingebunden werden können. Denkbar ist hier auch, dass die Zellebene gänzlich extern simuliert wird und nur über Parameter, die in das MEHLISSA-ns3-Modul eingelesen werden sollten, repräsentiert wird.

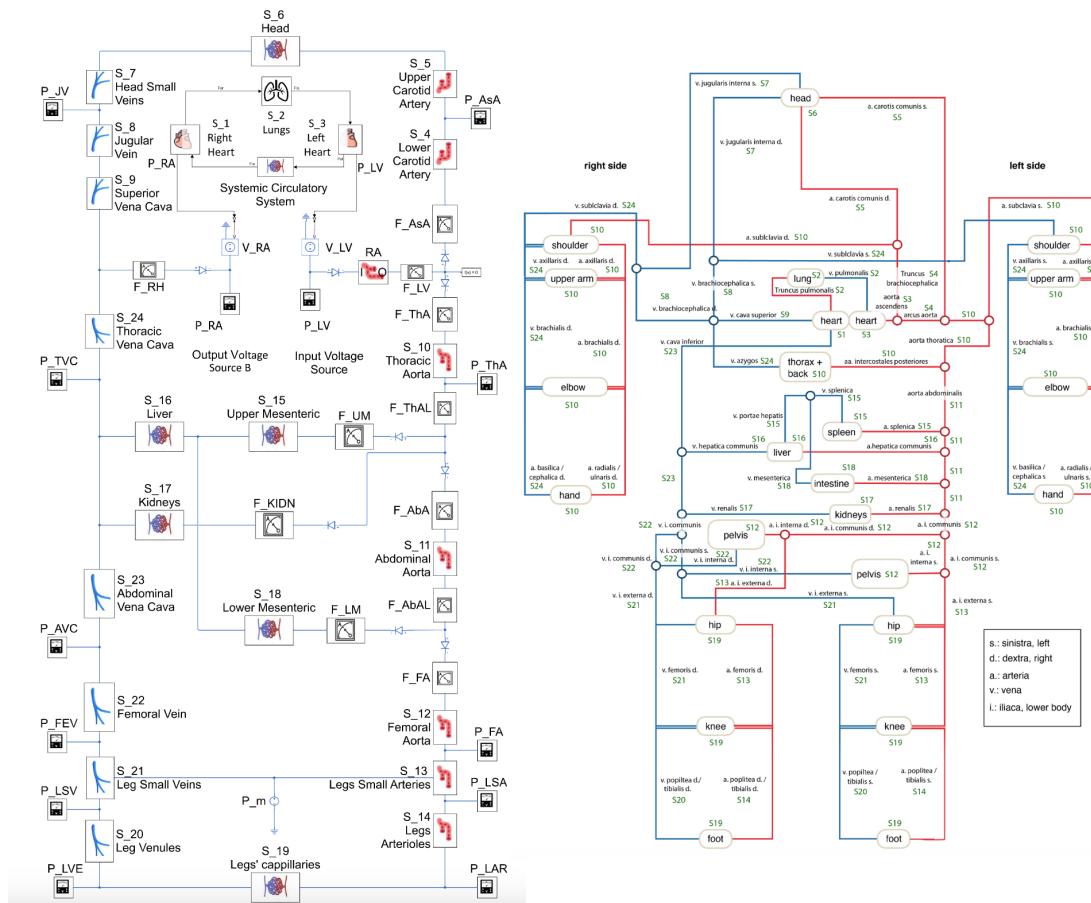


ABBILDUNG 4.23 – Gegenüberstellung des elektrischen Schaltungsmodells des systemischen Kreislaufs (links) und dem CVS, wie im BloodVoyagerS Modell dargestellt, mit Zuordnung zu den Markov-Modellsegmenten, die in Grün angegeben sind (rechts). [13]

4.6 PLAUSIBILITÄT DES KÖRPERSIMULATORS

BVS war 2017 der erste Simulator, der die Simulation des gesamten kardiovaskulären Systems ermöglicht und dabei für Nanogeräte und deren Kommunikation eine Simulationsplattform bietet. In 2021 wurde ein alternatives Konzept von Jorge Torres Torres Gómez et al. [13] in Kooperation mit der Autorin entwickelt. Mithilfe eines Markov-Modells wird hier ebenfalls der Fluss von Nanogeräten im *menschlichen Kreislaufsystem* (CVS) simuliert. In dem Markov-Ansatz werden keine exakten Positionen wie in BVS festgestellt, sondern die Verteilung von Nanogeräten auf die Gefäße modelliert. Dabei werden Übergangswahrscheinlichkeiten durch Analogien ihrer Darstellung mit einer elektrischen Schaltungsrepräsentation des CVS bewertet. Die Ergebnisse wurden mit Simulationen in BVS verglichen, sodass dadurch die Plausibilität des BVS Modells gezeigt werden konnte.

Abbildung 4.23 links, zeigt die Modellierung des CVS nach [13] mithilfe analoger elektrischer Schaltungen, um die Hauptkreisläufe des CVS auf einfache Weise darzustellen. Durch die Verwendung von Schaltungen, die Widerstände, Kondensatoren und Induktoren enthalten, werden mechanische Parameter wie Viskosität und Compliance der Blutgefäße berücksichtigt. Die Implementierung erfolgt durch die Verknüpfung von zwei Schemata: einem für den Herz-Lungen-Kreislauf und einem für den systemischen Kreislauf. Schaltungen repräsentieren hierbei verschiedene Körperregionen und berücksichtigen die Vielfalt der Gefäßsegmente und -strukturen. Durch die Modelle wird die Berechnung von Druck und Fluss in den Blutgefäßen möglich.

Die Nanogeräte im menschlichen Blutkreislauf zeigen unterschiedliche Bewegungsmuster, die durch verzweigte Strukturen beeinflusst werden. Diese Bewegung kann als diskreter stochastischer Prozess modelliert werden, der durch die Markov-Eigenschaft charakterisiert ist. Ein entsprechendes Markov-Modell kann die Gefäßposition der Nanogeräte im Blutkreislauf darstellen und deren Bewegung durch die verschiedenen anatomischen Segmente verfolgen. Die Übergangswahrscheinlichkeiten werden mithilfe der Schaltkreise und Stromflüsse bestimmt. Die resultierende Übergangsmatrix ermöglicht die Berechnung verschiedener Metriken zur Beurteilung der Lokalisation und -dynamik der Nanogeräte im menschlichen Körper. Neu im Vergleich zu BVS ist hier, dass als Basis nicht Blutflussgeschwindigkeiten dienen, sondern Literaturwerte zu mechanischen Blutflussparametern herangezogen werden, aus denen der Blutdruck berechnet wird. Aus dem Markov-Modell ergeben sich die Übergangswahrscheinlichkeiten wie in Abbildung 4.24 gezeigt.

Schließlich illustriert Abbildung 4.25 die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten von 1000 Nanogeräten pro Körperregion, modelliert durch die Markov-Kette und BVS. Einige Regionen zeigen eine hohe Übereinstimmung bezüglich des Aufenthaltsorts der Nanogeräte, während andere eine unterschiedliche Verteilung aufweisen. Dennoch stimmen die am häufigsten besuchten Regionen größtenteils mit der Überlagerung der verschiedenen geschlossenen Schleifen im CVS überein. Da das Herz und die Lungen mit allen Schleifen verbunden sind, werden sie häufiger von den Nanogeräten aufgesucht. Die nächst häufig besuchten Segmente sind die Brustaorta und die Vena Cava, diese Gefäßsegmente sind ebenfalls mit fast allen Schleifen verbunden. Die verbleibenden Regionen werden ungefähr gleich häufig frequentiert außer dem unteren Mesenterium. Das untere Mesenterium ist die am seltensten besuchte Region der Markov-Kette. Außerdem auffällig im Vergleich ist, dass die Auffindewahrscheinlichkeit der Nanogeräte in der Lunge bei BVS deutlich höher ist. Dies könnte mit dem Umstand zusammenhängen, dass bei BVS, durch die gewählten Simulationsparameter die Aufenthaltsdauer einzelner Nanogeräte länger ist, als im Markov-Modell, das nur Transitionen betrachtet. Generell sollte das Markov-Modell um weitere Segmente erweitert werden, sodass Verzögerungswege repräsentiert werden können. Segmente mit höherer Blutflussgeschwindigkeit sollten eine geringere Anzahl von Markov-Stufen aufweisen.

Durch die Arbeit von Torres Gómez et al. [13] wurde gezeigt, dass BVS vergleichbare Ergebnisse wie ein komplett anderer Ansatz zur Modellierung des Herz-Kreislaufs-Systems

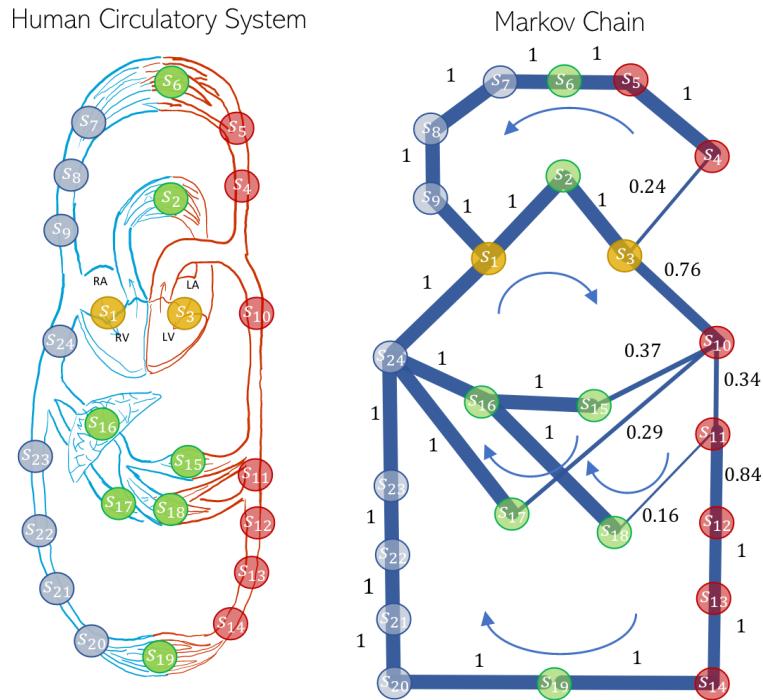


ABBILDUNG 4.24 – Die Graphen zeigen das CVS Modell nach [13] und das resultierende Markov-Modell mit den berechneten Übergangswahrscheinlichkeiten repräsentiert in der Dicke der Kanten. [13]

liefert. Weitere Forschungsarbeiten, die unter Verwendung von BVS von anderen Wissenschaftler*innen erstellt wurden, werden außerdem in Abschnitt 6.1.1 vorgestellt. Die seitdem deutlich weiterentwickelte Architektur MEHLISSA hat damit eine solide Basis demonstriert. Wie in den vorherigen Abschnitten gezeigt, ist sie ein leistungsfähiges Werkzeug zur Simulation der Bewegung von Nanogeräten im menschlichen Körper, ihrer Kommunikation und Interaktion sowohl untereinander als auch mit dem Körper.

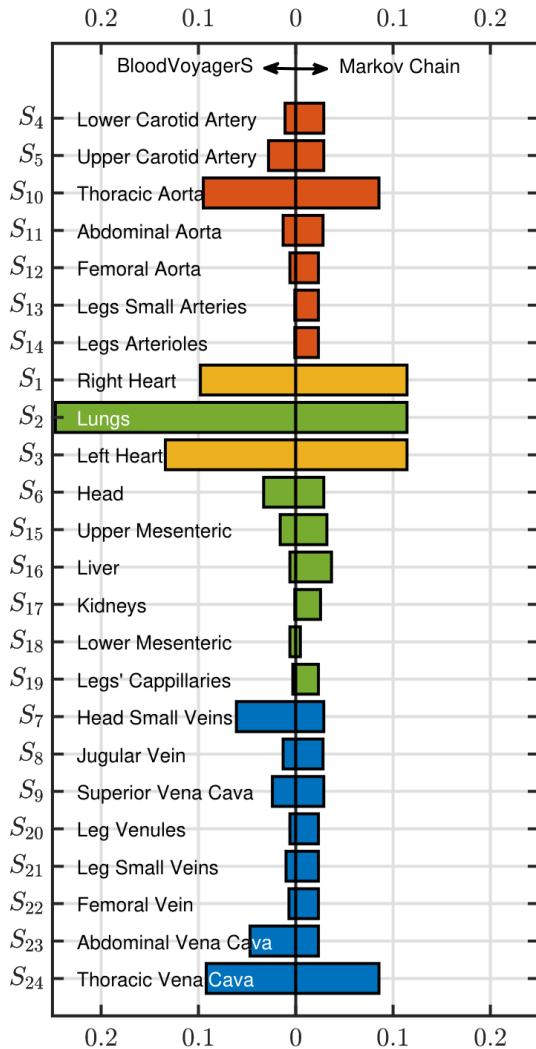


ABBILDUNG 4.25 – Verteilung der Nanogeräte im Kardiovaskulären System von BVS und Markov. [13]

5

KAPITEL

DEMONSTRATION MEDIZINISCHER SZENARIEN IN MEHLISSA

In den vorherigen Kapiteln und Abschnitten wurden verschiedenste Anwendungsfälle im Bereich der medizinischen Anwendungen von Nanotechnologien vorgestellt. Die Anwendungen reichen von der Diagnose über die Überwachung bis hin zur Behandlung von Krankheiten. Zur besseren Übersicht werden die bisher erwähnten Anwendungsfälle einmal zusammenfassen:

- Krankheitserkennung mit DNA-Nanonetzwerken: Die Verwendung von DNA-Tile-basierten Nanonetzwerken zur schnellen und zuverlässigen Erkennung von Krankheiten, zunächst in kontrollierten Umgebungen wie Petrischalen, später im menschlichen Körper (siehe Abschnitt 2.3.4). Die Krankheitserkennung *in vivo* wird in Kapitel 6 nochmal aufgegriffen.
- Lokalisierung von Krankheiten: In Abschnitt 3.4 wurden die Herausforderungen bei der Lokalisierung von Krankheiten wie Infektionen, Entzündungen oder Tumoren diskutiert. In Kapitel 6 wird ein innovativer Ansatz zur Lokalisierung von Krankheitsmarkern in Geweben mittels DNA-Nanonetzwerken vorgestellt.
- Gezielte Medikamentenabgabe durch Nanogeräte: Wie in Abschnitt 3.3.1 besprochen gibt es viele Ansätze für den Einsatz von Nanotechnologien in der gezielten Medikamentenabgabe. Hierbei kann die Lokalisierung eine bedeutsame Rolle spielen. In Kapitel 6 wird gezeigt wie eine Medikamentenabgabe durch Nanogeräte nur an vordefinierten Geweben ausgelöst werden kann.
- Gesundheitsüberwachung mit Nanogeräten: Der Bedarf für kontinuierliche Gesundheitsüberwachung wurde in Abschnitt 3.2.2 analysiert. Ziel ist die kontinuierliche

Überwachung des Gesundheitszustands durch Nanogeräte im Körper, die Daten sammeln und bei Bedarf gezielt Medikamente abgeben können.

- Personalisierte Medizin und Digital Twins: In Abschnitt 3.1.3 wurde die Nutzung von Simulationen, für die Erstellung von medizinischen Modellen diskutiert. Diese können dazu dienen den Einsatz von Nanotechnologie sowie anderen medizinischen Maßnahmen besser zu planen und zu verstehen.
- Krebsprävention und -bekämpfung: In Abschnitt 3.4 wurden Herausforderungen in der Krankheitslokalisierung und im Besonderen in der Krebsforschung (siehe Abschnitt 3.4.1) thematisiert. Hier spielt der Einsatz von Nanotechnologie zur Erkennung und Bekämpfung von Krebszellen, einschließlich der Verhinderung von Metastasenbildung und der frühzeitigen Lokalisierung maligner Zellen eine wesentliche Rolle. Diagnosetechniken wie die Liquid Biopsy oder Tumormarkertests können von einer kontinuierlichen Testung *in vivo* durch Nanonetzwerksysteme profitieren (siehe Abschnitt 3.5).

Aus diesen unterschiedlichen und sich an vielen Stellen überschneidenden medizinischen Anwendungen von Nanotechnologie ergeben sich diverse Szenarien, die die Entwicklung von Simulationstechnologien motiviert haben. Speziell zur Simulation dieser medizinischen Szenarien wurde MEHLISSA konzipiert. Sie soll den Einsatz von Nanogeräten im Körper zur präzisen Diagnostik und Behandlung modellieren. Um zu zeigen, dass MEHLISSA diesen Zweck erfüllen kann, werden im folgenden vier der Szenarien und deren Modellierung in MEHLISSA vorgestellt. Die Lokalisierung wird gesondert in Kapitel 6 ausführlich besprochen.

5.1 DIGITAL TWIN

Die Digital-Twin-Technologie wurde in Abschnitt 3.1.3 bereits vorgestellt. Digital Twins haben das Potenzial, Gesundheitssysteme zu transformieren, indem sie Echtzeitdatenintegration, fortschrittliche Analytik und virtuelle Simulationen nutzen, um die Versorgung von Patient*innen zu verbessern und prädiktive Analysen sowie klinische Abläufe zu optimieren. Nanotechnologie kann dabei helfen, kontinuierlich Daten zu liefern, und könnte beispielsweise durch die Implementierung von Nanogeräten eine maßgebliche Rolle in der kontinuierlichen Gesundheitsüberwachung spielen. Zudem könnte die Entwicklung von Simulationsmodellen zur Modellierung des individuellen Körperkreislaufs dazu beitragen genauere Vorhersagen über die Wirksamkeit medizinischer Maßnahmen zu treffen und den Einsatz von Nanotechnologien besser zu planen.

Abbildung 5.1 zeigt, wie ein Digital-Twin-Arbeitsablauf in Kombination mit MEHLISSA aussehen könnte. Zunächst wird eine Anamnese durchgeführt, bei der Informationen über Symptome, frühere Krankheiten, medizinische Behandlungen, Allergien, genetische Veranlagungen, Lebensgewohnheiten und andere relevante Faktoren gesammelt werden. Dabei werden die Daten von smarten Geräten und potenziell bereits im

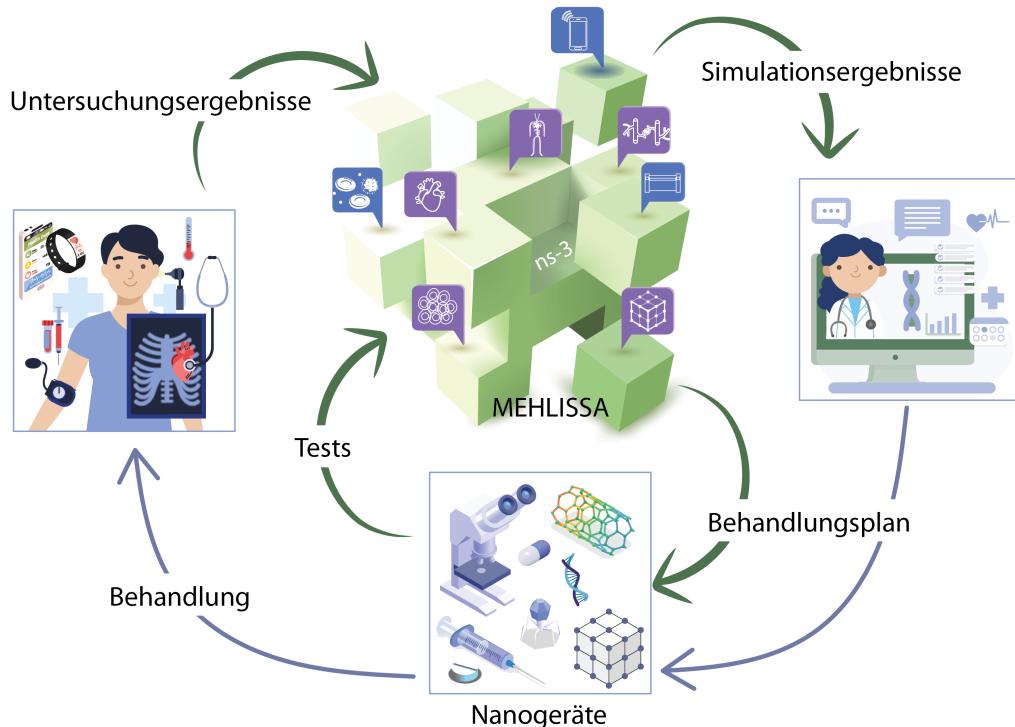


ABBILDUNG 5.1 – Darstellung des Digital-Twin-Workflows in MEHLISSA.

Körper platzierten Nanogeräten erfasst. Anschließend werden zum Beispiel Blutuntersuchungen und bildgebende Verfahren durchgeführt. Alle relevanten Untersuchungsergebnisse werden daraufhin in das MEHLISSA-Framework eingespeist und Simulationen durchgeführt. Die Simulationsergebnisse werden den Mediziner*innen mitgeteilt und gemeinsam mit den aus MEHLISSA vorgeschlagenen Optionen ein Behandlungsplan erstellt, der Nanogeräte einschließen kann. Daraufhin können weitere Tests des Behandlungsplans in MEHLISSA stattfinden oder die Behandlung direkt an dem/der Patient*in durchgeführt werden.

5.1.1 VERGLEICH NEUER KÖRPERMODELLE

In Abschnitt 4.2.3.3 wurde die Möglichkeit erläutert individuelle Körpermodelle in die Simulation zu laden. Es werden beispielhaft zwei neue Modelle die sich in den Körpermaßen unterscheiden, eingeführt und analysiert, um zu veranschaulichen, dass dies Konsequenzen für die Verteilung der Nanogeräte hat. Die Modelle können als erste Intuition dienen, wie eine Personalisierung mit dem Ziel einen Digital Twin zu erstellen ausssehen könnte.

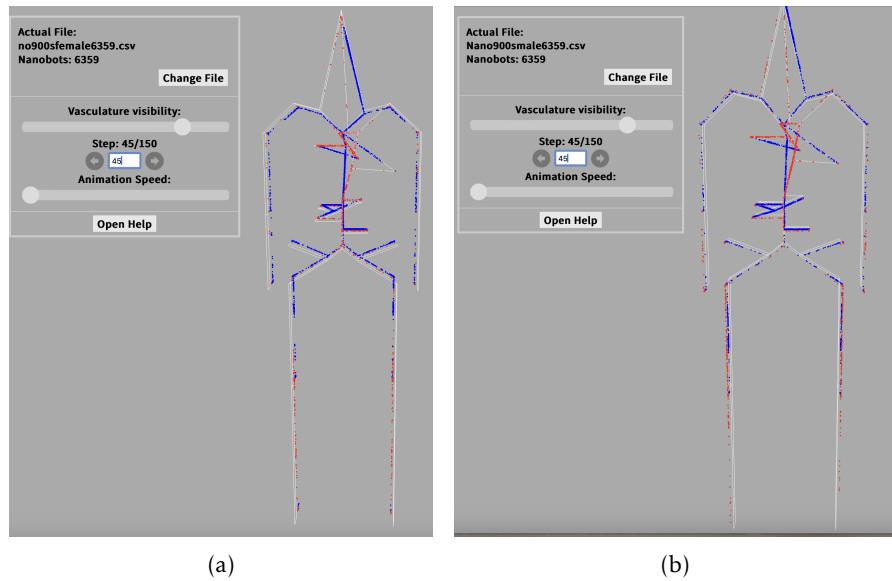


ABBILDUNG 5.2 – Verteilung der Nanogeräte nach 45 Sekunden visualisiert mittels BVS-Vis. Links ist eine 165,8 Zentimeter große Person (bspw. Frau) und rechts eine 178,9 Zentimeter große Person (bspw. Mann) modelliert.

Die durchschnittliche deutsche Frau war 2021 165,8 Zentimeter groß und der durchschnittliche deutsche Mann 178,9 Zentimeter [172]. Deshalb wurde in einem ersten Schritt, das existierende Körpermodell, das eine 172 Zentimeter große Person abbildet, jeweils neu skaliert. Dabei wurden die resultierenden Gefäßlängen wieder auf Ganzzahlen gerundet. Damit lässt sich schließen, dass die Modelle eine durchschnittliche Frau und einen durchschnittlichen Mann repräsentieren. Natürlich können sie auch umgekehrt für einen kleinen Mann oder eine große Frau stehen. Ziel ist es am Ende viele verschiedene Modelle zu haben, die sich nicht nur in der Körpergröße unterscheiden, sondern dann auf Organebene auch die Geschlechtsunterschiede abbilden. Diese Modelle können dann um echte Bilddaten der Patient*innen, wie in Abschnitt 4.3.3.1 erläutert, erweitert werden. Die Körpergröße ist ein erster Personalisierungsgrad, der eingeführt wurde.

In beiden neuen Modellen wurden jeweils 6359 Nanogeräte in die Aorta injiziert und für 15 Minuten simuliert. Die Ergebnisse zeigen signifikante Unterschiede allein durch die Anwendung der neuen Skalierung. Die Abbildungen 5.2 und 5.3 stellen die Ergebnisse nach 45 Sekunden Simulation für beide Modelle gegenüber. Der visuelle Vergleich in Abbildung 5.2 zeigt, dass die Nanogeräte in beiden Modellen weitläufig verteilt sind, wobei einige Abweichungen erkennbar sind. Es scheint, dass sich zum Zeitpunkt der Simulation im männlichen Modell etwas mehr Nanogeräte im arteriellen System befinden als im weiblichen Modell.

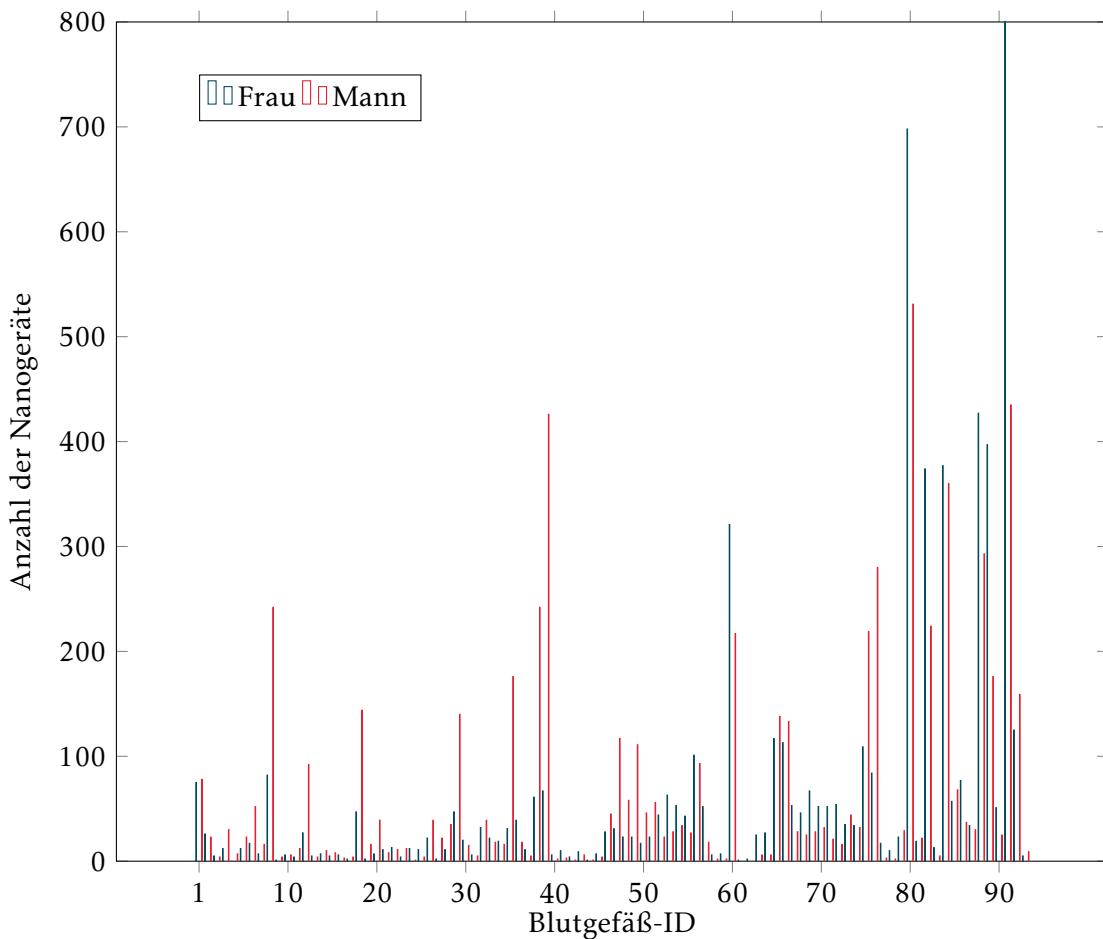


ABBILDUNG 5.3 – Verteilung der Nanogeräte nach Gefäß nach 45 Sekunden.

Abbildung 5.3 veranschaulicht die Auswertung der Nanogeräteverteilung mithilfe von Matlab. Sie zeigt die Anzahl der Nanogeräte pro Gefäß für beide Modelle. Deutliche Unterschiede sind zu erkennen, insbesondere in den Nieren (Gefäß 40) und der oberen Hohlvene (Vena Cava Superior, Gefäß 92). In der Niere befinden sich beim männlichen Modell 426 Nanogeräte und beim weiblichen Modell lediglich 67. In der oberen Hohlvene hingegen sind bei der Frau 1116 Nanogeräte und beim Mann 435 Nanogeräte vorhanden.

Eine wesentliche Fragestellung ist, wie sich diese Verteilung mit der Zeit verändert. In Abschnitt 4.2.1.4 wurde festgestellt, dass im Basismodell nach sieben Minuten ein dynamisches Gleichgewicht der Nanogeräteverteilung entsteht und sich immer ähnlich viele Geräte in einem Gefäß aufhalten. Abbildung 5.4 zeigt die durchschnittliche Differenz der Nanogeräteverteilung bei Frau und Mann über die Zeit. Hier wurde für jeden Simulationszeitpunkt die Verteilung der Nanogeräte auf die Gefäße betrachtet und die durchschnittliche Abweichung über alle Gefäße bestimmt. Die maximale Abweichung

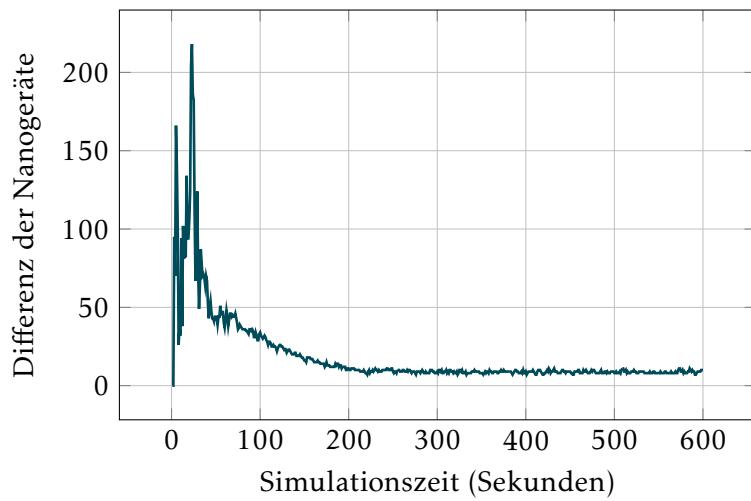


ABBILDUNG 5.4 – Durchschnittliche Differenz der Nanogeräteverteilung bei Frau und Mann über die Zeit.

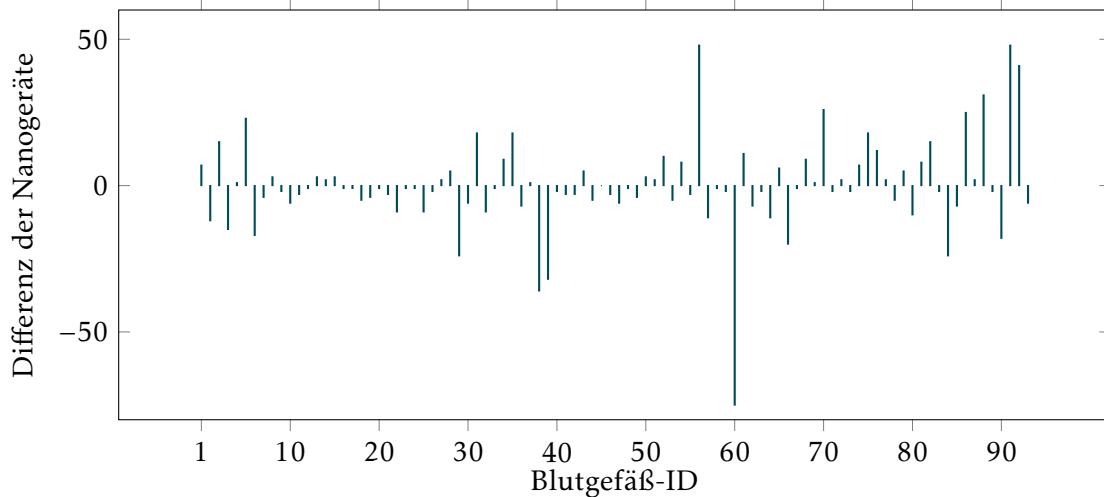


ABBILDUNG 5.5 – Differenz der Nanogeräte nach Gefäß nach sieben Minuten. Negative Werte bedeuten, dass in diesem Gefäß mehr Nanogeräte bei dem Mann als bei der Frau vorzufinden sind.

ist nach 23 Sekunden mit im Schnitt 218 Nanogeräten Abweichung pro Gefäß. Es ist aber erkennbar, dass die Verteilung über die Zeit ähnlicher wird und sich dann bei einer durchschnittlichen Abweichung von rund elf Nanogeräten pro Gefäß einpendelt.

In Abbildung 5.5 ist zu erkennen, dass trotz der geringen durchschnittlichen Abweichung einzelne Gefäße auch nach sieben Minuten Simulation signifikante Unterschiede aufweisen. Insbesondere sind starke Abweichungen in den Gefäßen rund um die Lunge zu beobachten. In der Lungenarterie (Gefäß 57) befinden sich beispielsweise 48 Nanoge-

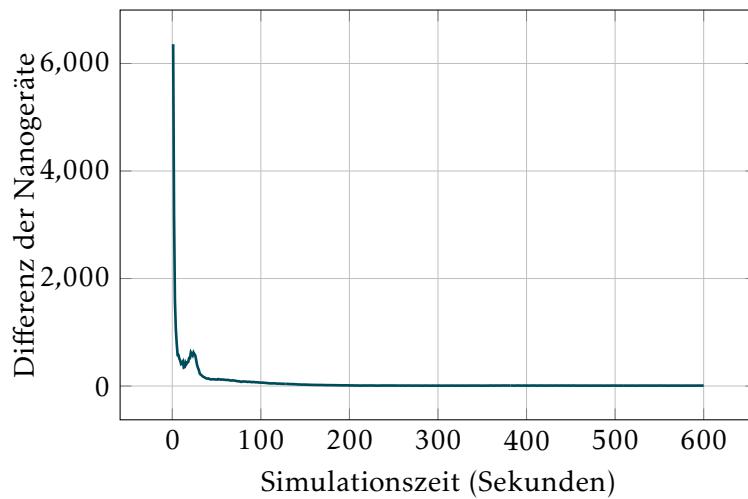


ABBILDUNG 5.6 – Differenz der Nanogeräte über Simulationszeit bei verschiedenen Injektionsorten.

räte mehr im männlichen Modell als im weiblichen Modell, während in der Lunge 75 Nanogeräte mehr bei der Frau nachgewiesen werden. Hingegen ist die obere Hohlvene (Gefäß 92) im männlichen Modell stärker frequentiert. Diese Ergebnisse zeigen, dass trotz der geringen durchschnittlichen Verteilungsabweichung in den Modellen kleinere Details in der Simulation erhebliche Unterschiede ausmachen können.

Zur besseren Einordnung dieser Ergebnisse zeigt Abbildung 5.6 die Differenz der Nanogeräteverteilung bei dem Basismodell einmal mit Injektion in die Aorta und einmal in die weit entfernte Unterschenkelvene. Hier ist die Abweichung zu Beginn maximal, pendelt sich dann aber bei ähnlichen Werten mit einer Abweichung von rund zwölf Nanogeräten ein. Bei langfristigen Untersuchungen spielt demnach eine abweichende Körpergröße von 13 Zentimetern eine ähnliche Rolle wie der Injektionsort.

Um die Relevanz der verschiedenen Modelle zu zeigen wurde eine weitere Untersuchung durchgeführt. Die Fragestellung lautet, wie sich die Differenz der Nanogeräte in den Gefäßen verhält, wenn beim selben Modell verschiedene Intervalle des Simulationszeitraums betrachtet werden. Ein Vergleich der Simulationszeiträume vom Start bis sieben Minuten und von einer Minute bis acht Minuten beim Frauenmodell zeigt, dass sich nach 200 Sekunden bis zum Ende eine durchschnittliche Abweichung von sieben Nanogeräten pro Gefäß ergibt. Die Abweichung ist bei Mann und Frau und parallelen Zeiträumen mit neun Nanogeräten im Schnitt signifikant höher.

Damit scheint der Einfluss des Körpermodells größer als der des Simulationszeitpunktes zu sein. Die Einführung verschiedener Körpermodelle kann demnach vermutlich bei Detailfragen bedeutend sein und ist ein relevanter Grundstein für die Realisierung eines Digital Twins. Von Bedeutung hierbei sind auch die Überlegungen aus Abschnitt 4.3.3.1

zur Integration individueller Gefäß- oder Organmodelle aus hochauflösten Bildgebungsdaten einzelner Patient*innen.

5.2 KONTINUIERLICHE GESUNDHEITSÜBERWACHUNG

In Abschnitt 3.2.2 wurde die Relevanz von kontinuierlicher Gesundheitsüberwachung in der Medizin herausgestellt. Der Ablauf eines solchen allgemeinen Szenarios ist in Abbildung 5.7 gezeigt. Zunächst werden Nanogeräte in den Blutkreislauf injiziert. Die Nanogeräte führen Messungen im Körper durch, und die Patient*innen können dabei ihrem normalen Alltag folgen. Die gemessenen Daten des Nanonetzwerks werden zum Beispiel an einer Smartwatch erfasst, an ein elektronisches Endgerät gesendet und dann an überwachende Mediziner*innen weitergeleitet. Im gesunden Zustand werden Schwellenwerte bestimmt, die für die individuelle Person ihren Normalwert darstellen. Finden erhebliche Abweichungen von diesem Schwellenwert statt, wird ein Alarm an die überwachenden Instanzen gesendet. Diese können dann bei fortgeschrittenen Systemen entweder direkt aus der Ferne bereits applizierte Nanogeräte aktivieren, die Gegenmaßnahmen durchführen, oder andere Behandlungsschritte einleiten. Das System ist anderen regelmäßigen Testszenarien überlegen, da zum einen individuelle Schwellenwerte bestimmt werden können und zum anderen bei ersten Veränderungen bereits vor dem Auftreten von Symptomen prompte Interventionen durchgeführt werden können. MEHLISSA dient in diesem Kontext vor allem der Simulation und Analyse des Gesamtsystems zur Planung und Kommunikation der eingesetzten Komponenten.

Ein konkreter Anwendungsfall für kontinuierliche Gesundheitsüberwachung wurde in Abschnitt 3.2.2 vorgestellt. Erhöhter Blutdruck in Kombination mit einem hohen Cholesterinspiegel gelten als Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen [188]. Es wird postuliert, dass eine kontinuierliche Überwachung dieser Risikoparameter im Körper, zum Beispiel durch Nanogeräte, die Entwicklung besserer Behandlungsstrategien ermöglichen und generell frühzeitiger auf Verschlechterungen reagiert werden könnte. Ein Ansatz zur Überwachung des Blutdrucks wurde von Kireev et al. [82] in Abschnitt 3.2.2 vorgestellt. Die Überwachung des Cholesterinspiegels wird auch in Abschnitt 3.1.3 als Beispiel für die Digital-Twin-Technologie diskutiert. Zur Krankheitsprävention soll ein Digital Twin den bedenklichen Cholesterinspiegel einer Patientin prognostizieren und vorbeugende Maßnahmen vorschlagen (siehe Abbildung 3.5).

Dieser Anwendungsfall der individuellen Schwellenwertbestimmung und Alarmierung bei Überschreiten des individuellen Schwellenwertes durch Nanogeräte kann in MEHLISSA simuliert werden. Die dafür notwendigen Erweiterungen und erste Simulationsergebnisse werden im Folgenden vorgestellt.

5.2.1 MODELLIERUNG VON NANOPARTIKELN

Cholesterin wird im Blut hauptsächlich durch Lipoproteinpartikel transportiert. Die beiden Hauptarten von Lipoproteinen, die Cholesterin transportieren, sind *High-Density*

5.2. KONTINUIERLICHE GESUNDHEITSÜBERWACHUNG

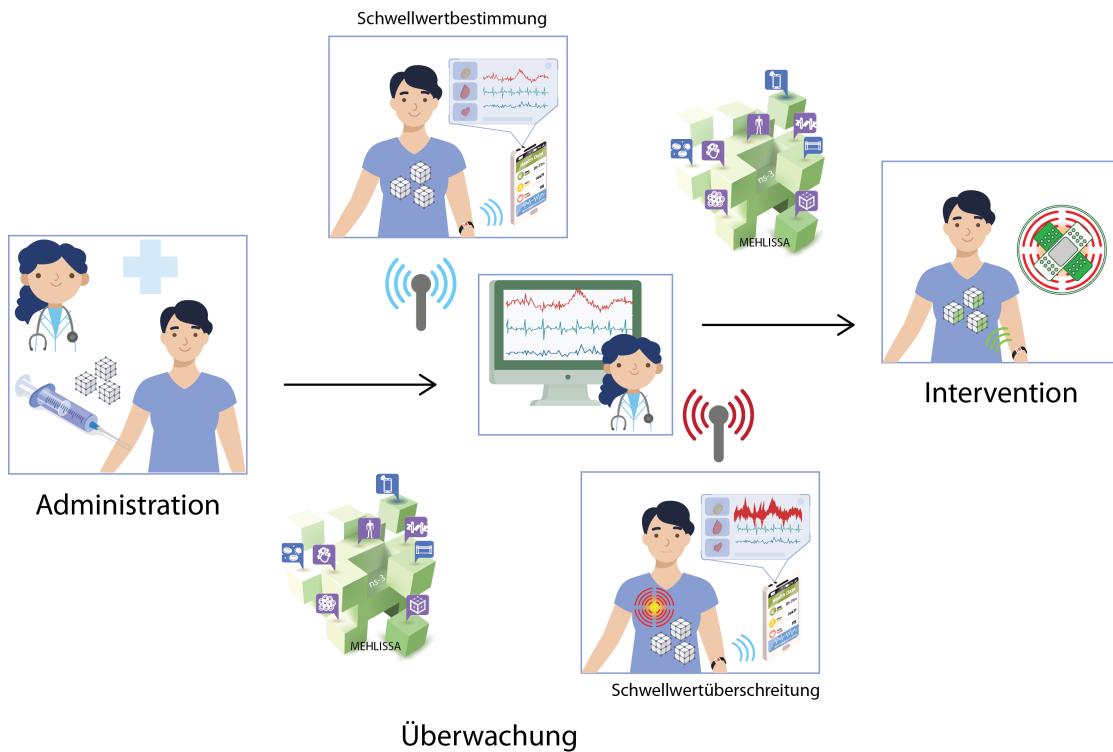


ABBILDUNG 5.7 – Darstellung des Workflows für kontinuierliche Gesundheitsüberwachung. Alle Schritte können in MEHLISSA simuliert werden.

Lipoprotein (HDL) und Low-Density Lipoprotein (LDL). HDL transportiert Cholesterin von den Zellen zur Leber, wo es abgebaut und ausgeschieden wird. Ein hoher HDL-Cholesterinspiegel im Blut mit einem niedrigeren Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht wird. LDL transportiert Cholesterin aus der Leber in andere Gewebe. Ein erhöhter LDL-Cholesterinspiegel im Blut geht mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Arteriosklerose und Herz-Kreislauf-Erkrankungen einher. Akkumuliert sich im Körper zu viel LDL-Cholesterin, kann sich das LDL-Cholesterin in den Gefäßwänden ansammeln und sogenannte „Plaques“ bilden. Diese können gesundheitliche Probleme, wie Herzkrankheiten und Schlaganfall begünstigen, da sie die Gefäße dauerhaft verengen. [192]

Für die Überwachung ist deshalb das Überschreiten der Schwellenwerte des LDL von Bedeutung. Um das LDL-Cholesterin und sein Verhalten als Partikel im Blut zu modellieren werden Informationen über den Aufbau und die Größendimensionen benötigt.

Die Teilchen werden als scheibenförmig beschrieben und enthalten einen Kern aus Fetten. Zwischen den Fettsäureketten befindet sich freies Cholesterin, das der äußeren Schicht von LDL eine gewisse Festigkeit verleiht. Diese äußere Schicht steht mit dem Blutplasma in Kontakt und präsentiert das Protein ApoB-100 auf seiner Oberfläche.

Das ApoB-100 dient eigentlich zur LDL-Rezeptorerkennung, könnte aber auch für die Erkennung von LDL durch Nanogeräte verwendet werden. [116]

Mittels Kryoelektronenmikroskopie wurde der scheibenförmige Aufbau, der Durchmesser von $21,4 \pm 1,3$ nm, die Höhe von $12,1 \pm 1,1$ nm und das durchschnittliche Volumen von 4352 nm^3 für LDL-Cholesterin bestimmt [134].

Für die Messung der LDL-Partikel könnten DNA-Tile-Nanoroboter wie in Abschnitt 2.3.3 beschrieben eingesetzt werden. Die DNA-Box könnte so konzipiert sein, dass sie bei Bindung des ApoB-100 Proteins geöffnet wird und dann Tiles ausschütten, die Nachrichtenmoleküle bilden, die die Detektion nach außen kommunizieren, indem sie von einem Sensor ausgelesen werden. Potenziell geeignete Sensoren hierfür wurden in Abschnitt 3.2.1 analysiert.

In der Simulation muss beachtet werden, dass die DNA-Tile-Nanoroboter und die LDL-Partikel durch ihre unterschiedliche Größe anderen Kräften ausgesetzt sind. Ein DNA-Tile-Nanoroboter, der aus einer DNA-Box nach Andersen et al. [36] gebaut wird, wurde in [2] beispielhaft mit einer Größe von circa $42 \times 36 \times 36\text{ nm}^3$ beschrieben.

Um den relativen Unterschied in der Fließgeschwindigkeit zwischen den Nanogeräten und den Partikeln zu berechnen, kann das Gesetz von Stokes zurate gezogen werden. Demgemäß wird die Geschwindigkeit v , mit der sich eine Kugel durch die Einwirkung einer Kraft F bewegt, durch $v = \frac{F}{f}$ gegeben, wobei f der Reibungswiderstandskoeffizient ist [18, Gl. 4.2]. In einem gegebenen Gefäßsegment ergibt sich die Nettokraft aufgrund eines Druckunterschieds an den Enden zu $F = \Delta P \cdot L \cdot \Delta h$, wobei L die Länge des Gefäßes und Δh eine dünne Schicht über das Gefäß hinweg darstellt, in der die Flüssigkeitsgeschwindigkeit konstant ist. Werden Kugeln im Blut betrachtet, ist $f = 6\pi\eta r$ und die resultierende Geschwindigkeit durch:

$$v = \frac{\Delta P \cdot L \cdot \Delta h}{6\pi\eta r}$$

gegeben. Die dynamische Viskosität der Flüssigkeit ist η und r der Radius der Kugel. Da die Nanogeräte, sollten DNA-Boxen zum Einsatz kommen, quadratisch sind und die LDL-Teilchen scheibenförmig, muss für die beiden Strukturen der Äquivalentdurchmesser berechnet werden.

Volumenäquivalenter Kugeldurchmesser einer Scheibe

$$\begin{aligned} V_{\text{Scheibe}} &= \pi \times r^2 \times h \\ V_{\text{Kugel}} &= \frac{1}{6}\pi d^3 \\ V_{\text{Kugel}} &= V_{\text{Scheibe}} \\ \frac{1}{6}\pi d^3 &= \pi \times r^2 \times h \end{aligned}$$

Daraus ergibt sich für den Kugeldurchmesser des scheibenförmigen Partikels mit dem Radius $r = \frac{21,4\text{nm}}{2} = 10,7\text{ nm}$ und der Höhe $h = 12,1\text{ nm}$:

$$d_{\text{Scheibe}} = \sqrt[3]{6 \times r^2 \times h} = \sqrt[3]{6 \times 10,7\text{ nm}^2 \times 12,1\text{ nm}} = 20,26\text{ nm}$$

Volumenäquivalenter Kugeldurchmesser eines Quaders

$$V_{\text{Quader}} = l \times w \times h$$

$$V_{\text{Kugel}} = V_{\text{Quader}}$$

$$\frac{1}{6}\pi d^3 = l \times w \times h$$

Für das quadratische Nanogerät berechnet sich der volumenäquivalente Kugeldurchmesser mit $l = 42\text{ nm}$, $w = 36\text{ nm}$ und $h = 36\text{ nm}$:

$$d_{\text{Quader}} = \sqrt[3]{\frac{6 \times l \times w \times h}{\pi}} = \sqrt[3]{\frac{6 \times 42\text{ nm} \times 36\text{ nm} \times 36\text{ nm}}{\pi}} = 47,02\text{ nm}$$

Unter Verwendung der Beziehung für ein gegebenes Gefäßsegment ist die resultierende Geschwindigkeit der LDL-Teilchen und der Nanoboxen als Faktor miteinander verbunden.

Geschwindigkeit der Scheibe als Faktor

$$\frac{v_{\text{Scheibe}}}{v_{\text{Quader}}} = \frac{d_{\text{Quader}}}{d_{\text{Scheibe}}}$$

$$v_{\text{Scheibe}} = \frac{d_{\text{Quader}}}{d_{\text{Scheibe}}} = \frac{47,02}{20,26} \times v_{\text{Quader}} = 2,32 \times v_{\text{Quader}}$$

Die LDL-Teilchen können damit vereinfacht als 2,32 Mal so schnell fließende Teile im Simulator modelliert werden.

5.2.2 IMPLEMENTIERUNG DER NANOPARTIKELDETEKTION

Die Klasse **Nanoparticle** (siehe Abbildung 5.8) repräsentiert ein mobiles Objekt, das kleiner ist als ein Nanobot und daher eine höhere Geschwindigkeit aufweist. Sie verfügt über Attribute wie Verzögerung (`m_delay`) und Erfassungsstatus (`m_got_detected`). Die Klasse enthält Methoden zum Abrufen und Setzen der Verzögerung, zum Abrufen des Erfassungsstatus sowie zum Signalisieren einer Erfassung. Durch die Verwendung dieser Klasse können Partikel in einem System modelliert und deren Verhalten simuliert werden.

Zum Simulationsbeginn werden automatisch eine festgelegte Anzahl an Nanopartikeln in einem Organ freigesetzt, die dann im weiteren Verlauf frei zirkulieren. In jedem

Nanoparticle
- m_delay : double - m_got_detected : int
+ Nanoparticle() + ~Nanoparticle() + GetDelay() : double + SetDelay(value : double) : void + GotDetected() : int + GetsDetected() : void

ABBILDUNG 5.8 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Nanoparticle mit den zusätzlich zu den in der Elternklasse Nanobot (siehe Abbildung A.1) implementierten Attributen und Methoden.

Zeitschritt wird in den Blutgefäßen mit `check-Detect` überprüft, ob ein Nanogerät sich im Radius von zwei Millimetern von dem Nanopartikel befindet. Ist dies der Fall, besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass das Nanogerät den Nanopartikel erkennt und die Detektionsvariable des Nanopartikels wird hochgezählt. Mit der Methode `releaseParticles` können jederzeit gezielt in ein neues Gefäß Partikel abgegeben werden.

Im Gesundheitsüberwachungsszenario wird zunächst darauf verzichtet, die Prozesse, die nach der Detektion stattfinden müssen zu modellieren. Dies beinhaltet die Bildung des Nachrichtenmoleküls und die Messung dessen durch einen stationären Sensor. Potenziell geeignete Sensoren hierfür wurden in Abschnitt 3.2.1 vorgestellt. Da diese Faktoren weitestgehend unabhängig von der Anzahl der detektierten Partikel sind, wird das aktuelle Modell an diesen Stellen vereinfacht. In dem in Kapitel 6 vorgestellten Lokalisierungsansatz unterscheiden sich die Nachrichtenmoleküle und Detektionsorte, sodass hier sinnvollerweise diese Faktoren mitsimuliert werden. Eine Erweiterung des Gesundheitsüberwachungsszenarios um diese Kriterien wäre demnach in MEHLISSA dennoch grundsätzlich möglich.

Das vorgestellte Szenario kann außerdem leicht auf andere Anwendungsfälle, die ebenfalls im Abschnitt 3.2.2 vorgestellt wurden, angewendet werden. So könnte die Überwachung und Medikation von Diabetiker*innen modelliert werden. In diesem Fall stehen bereits Sensoren für eine kontinuierliche Messung zur Verfügung (siehe Abschnitt 3.2.2). Hier könnte dennoch beispielsweise die Kombination der Sensoren mit Nanogeräten, die automatisiert Insulin bei Bedarf freisetzen, getestet werden.

5.2.3 DETEKTIONSEREIGNISSE UND SCHWELLENWERTBESTIMMUNG

In dem beispielhaft durchgeföhrten Experiment werden LDL-Partikel untersucht. Deshalb wird `m_delay` auf 2,32 festgelegt und die Partikel in der Leber (Gefäß 36) freigesetzt.

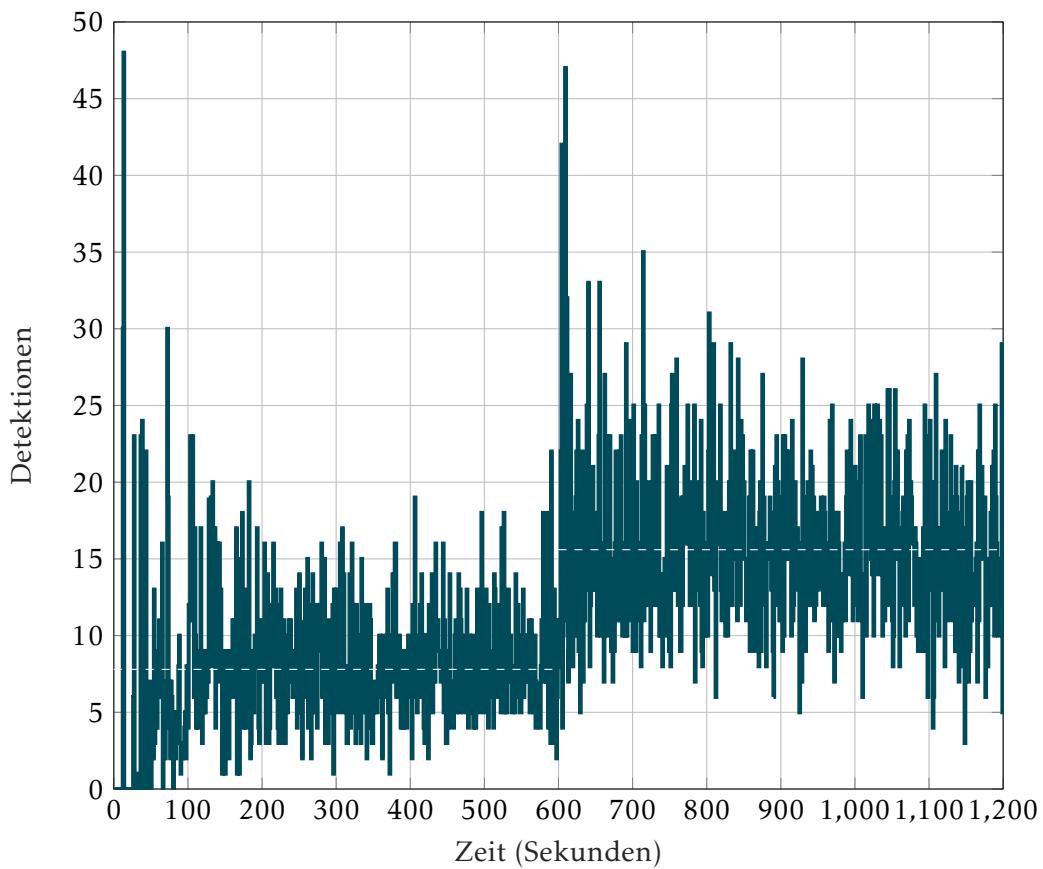


ABBILDUNG 5.9 – Detektionsereignisse von Nanopartikeln durch Nanogeräte. Simulation von 6359 Nanogeräten für 20 Minuten. Die ersten zehn Minuten zirkulieren 100 Nanopartikel, dann werden weitere 100 Nanopartikel freigesetzt.

Um eine Schwellenwertveränderung zu analysieren werden zunächst 100 Nanopartikel bei Simulationsstart abgegeben. Nach zehn Minuten Simulationsdauer werden weitere 100 Nanopartikel aus der Leber abgesondert und erneut zehn Minuten beobachtet, wie sich die Detektionsraten verändern.

In Abbildung 5.9 sind die Detektionsereignisse von 6359 Nanogeräten über die Dauer von 20 Minuten gezeigt. Die ersten zehn Minuten zirkulierten 100 Nanopartikel, von denen im Schnitt pro Sekunde 7,8 Nanopartikel detektiert wurden. In der zweiten Simulationshälfte werden von den 200 Nanopartikeln durchschnittlich pro Sekunde 15,6 erkannt. Beide Schwellenwerte sind in der Abbildung durch weiße Linien gekennzeichnet. Die Verschiebung des Schwellenwerts und der gestiegenen Detektionen sind eindeutig erkennbar.

Für den Einsatz in der Gesundheitsüberwachung ist von Interesse, ab wann die Überschreitung des ursprünglichen Schwellenwerts, der als unbedenklich gilt, erkannt wird. Hierfür wurde untersucht wie oft der niedrige Schwellenwert um 50 Prozent überschrit-

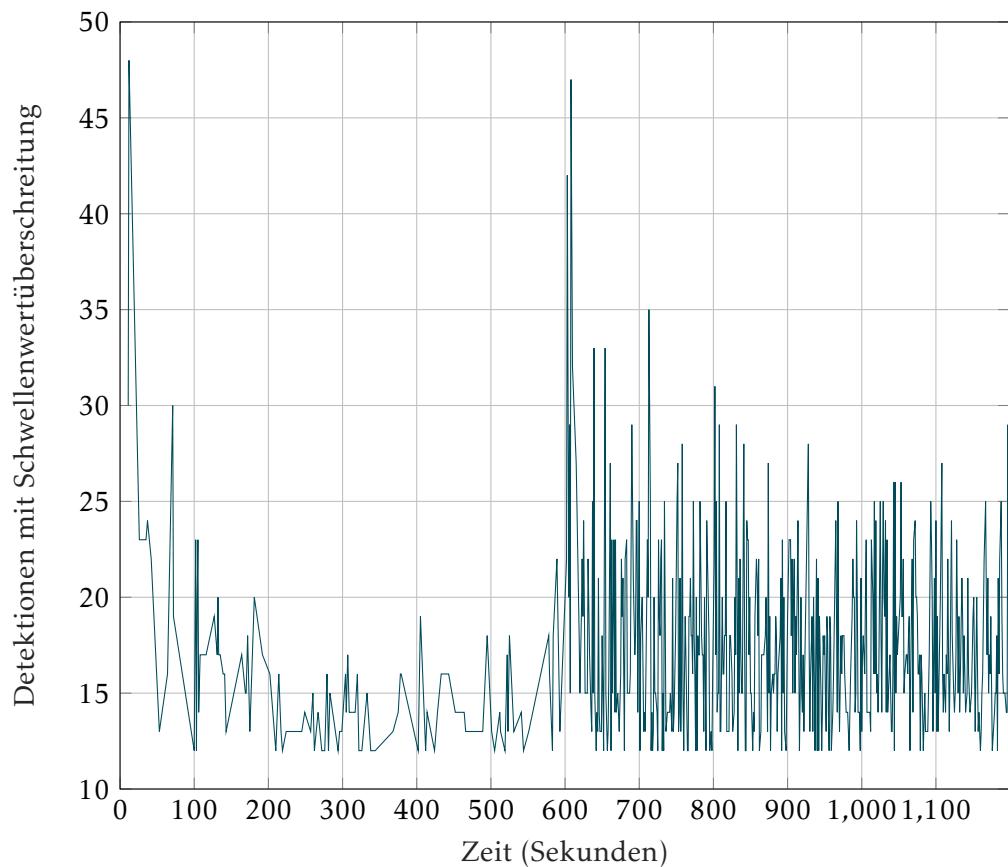


ABBILDUNG 5.10 – Kollisionsergebnisse von Nanopartikeln mit Nanogeräten. Gezeigt sind hier die Zeitpunkte zu denen der Schwellenwert von 7,8 um 50 % mit mehr als 11,7 Detektionen überschritten wurde.

ten wird. Abbildung 5.10 zeigt die Zeitpunkte zu denen der Schwellenwert von 11,7 Detektionen überschritten wird.

In den ersten 600 Sekunden wurde der Gefahrenschwellwert 101 Mal, im Schnitt alle 5,9 Sekunden überschritten. Nach Verdopplung der Partikel wird der Schwellenwert alle 1,3 Sekunden überschritten. Hieraus lässt sich ablesen, dass eine eindeutige Erhöhung der Frequenz am auslesenden Sensor detektierbar sein müsste.

Der Wechsel der Erkennungsrate erfolgt binnen Sekunden nach Erhöhung der Partikelmenge. Damit wäre gezeigt, dass das System dazu in der Lage ist, alarmierende Veränderungen, wie eine Verdoppelung der LDL-Konzentration im Blut eindeutig und prompt zu detektieren.

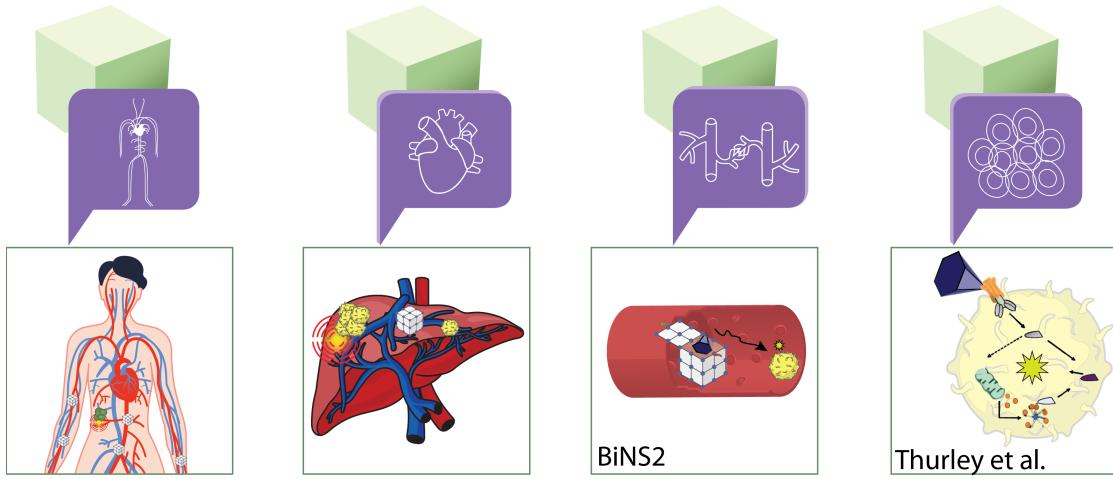


ABBILDUNG 5.11 – Darstellung der Simulation der Metastasenprävention in MEHLISSA auf allen Ebenen.

5.3 METASTASENPRÄVENTION

Krebs ist weltweit eine der häufigsten Todesursachen. In Abschnitt 3.4.1 wurden Herausforderungen in der Krebsdiagnostik diskutiert. Früherkennung und angemessene Behandlung sind entscheidend für die Überlebenschancen. Die Diagnose von Krebs ist komplex und erfordert oft eine Vielzahl von Tests und Verfahren, einschließlich Biopsien, um Gewissheit zu erlangen. Metastasen sind die Hauptursache für Krebsmortalität und -morbidität. Sie verbreiten sich durch den Blut- und Lymphkreislauf und müssen rechtzeitig gestoppt werden, bevor sie in neue Gewebe eindringen. Frühzeitige Lokalisierung maligner Zellen könnte hier eine entscheidende Rolle spielen. Nanotechnologie könnte eingesetzt werden, indem Nanogeräte im Blutstrom patrouillieren, um maligne Zellen zu erkennen. Diese Erkennung könnte die Freisetzung eines proapoptotischen Medikaments auslösen, das gezielt die maligne Zelle angreift und deren Zelltod (Apoptose) auslöst. Hierdurch könnte die Metastasenbildung bereits im Anfangsstadium unterdrückt werden.

Wie dieses Szenario in MEHLISSA in Kombination mit anderen Komponenten simuliert werden kann, wird im Folgenden beschrieben und in Abbildung 5.11 gezeigt. Der Ausgangspunkt des Szenarios ist die Modellierung von Nanogeräten, die den Körper patrouillieren. Es findet keine Kommunikation statt, sodass die Nanogeräte lediglich durch die Körper-, Organ- und Kapillarebene verteilt werden. Wenn ein Nanogerät ein Organ erreicht, wird es dem entsprechenden Organ übergeben und dann auf eine seiner Kapillaren und auf dieselbe Weise zurück übergeben. Ähnlich verhält es sich, wenn sich eine Krebszelle von einem Primärtumor löst, z. B. an einer Kapillarebene der Lunge, und dann der Organ- und Körperebene übergeben wird.

Die malignen Zellen und die Nanogeräte durchqueren frei das kardiovaskuläre System. Die nächsten Schritte umfassen die Modellierung der Erkennung der malignen Zelle durch die Nanogeräte und die Freisetzung des Medikaments bis zur Bindung an die Zelle. Diese Freisetzung und Bindung stellen eine klassische Sender-Empfänger-Beziehung dar. In diesem Bereich wurde in den letzten Jahren viel Forschung zur molekularen Kommunikation betrieben. Als einer der Ersten haben Pierobon und Akyildiz [113] ein physikalisches Ende-zu-Ende-Modell für die Diffusion von Partikeln in einem fluidischen Medium vorgestellt. Im Allgemeinen wurden grundlegende Diffusionskanäle mit der Brownschen Bewegung in Ficks Gesetz untersucht und beschrieben [167]. Heutzutage gibt es mehrere Simulatoren für molekulare Kommunikation [68, 96, 148, 57]. Beim Vergleich der vier Simulatoren hat BiNS2 [57] die meisten Funktionen und ist der einzige Simulator, der kontinuierlich erweitert und an neue Technologien angepasst wird. Felicetti et al. [57] haben die Softwareplattform BiNS2 entwickelt, die die diffusionsbasierte molekulare Kommunikation mit Drift innerhalb von Blutgefäßen simuliert. Sie ermöglicht die Simulation verschiedener Szenarien, einschließlich reiner Diffusion und spezifischer medizinischer Szenarien. Es gibt bereits ein Szenario, das die Erkennung zirkulierender Tumorzellen im Blutstrom simuliert [156], sodass die Simulation in BiNS2 durchgeführt werden kann und die Daten, die der Simulator in eine Datenbank ausgibt, als Eingabe für MEHLISSA auf der Kapillarebene verwendet werden kann.

Zusätzlich zur Modellierung der Signalübertragung von Molekülen mit BiNS2 kann ein weiteres Modell integriert werden, das die Sekretion von Molekülen innerhalb eines Vesikels simuliert. Sun et al. [167] haben ein Modell für Blutkapillarsysteme entwickelt, das die Freisetzung und Ausbreitung von Vesikeln in Kapillaren sowie den positiven Drift aufgrund des Blutstroms berücksichtigt. Beide Optionen der Ausschüttung sollten simuliert werden, da es nicht klar ist, ob die freie Abgabe apoptotischer Faktoren in den Blutstrom keine Nebenwirkungen hat, was bedeutet, dass die Freisetzung innerhalb von Vesikeln eine vielversprechende Alternative sein könnte.

Auf der zellulären Ebene kann die induzierte Apoptose modelliert werden, nachdem das Medikament an der malignen Zelle empfangen wurde. Der Caspase-Aktivierungs-Exekutionsweg ist ein Prozess in der Zelle, der zur Auslösung und Durchführung der Apoptose führt, auch bekannt als programmierten Zelltod. Dabei werden bestimmte Proteine, sogenannte Caspasen, aktiviert, die dann wiederum eine Kaskade von Enzymaktivierungen in der Zelle auslösen, die letztendlich zum programmierten Zelltod führt. Der Caspase-Aktivierungs- und -Exekutionsweg könnte modelliert werden, um eine Antwortzeitverteilung für die Zeit zu erhalten, die von der Bindung des Medikaments bis zum tatsächlichen Zelltod vergeht, wie in [54] beschrieben wurde.

Die ganzheitliche Simulation dieses exemplarischen Szenarios in MEHLISSA könnte einen realistischen Zeitrahmen dafür liefern, wie lange es tatsächlich dauert, eine maligne Zelle abzufangen, angefangen von der Ablösung vom Primärtumor und der Verteilung durch den Körper bis zur Zelltötung. Die Einbindung der beschriebenen Versuche in MEHLISSA steht noch aus.

5.4 IN-VIVO-LIQUID-BIOPSY

Die Liquid Biopsy wurde in Abschnitt 3.5 ausführlich vorgestellt. Liquid Biopsies finden Anwendung in der Krebsdiagnostik, bei der Einschätzung der Prognosen, Restkrankheit und Rückfallrisiko, bei der Auswahl der Behandlungen und bei der Überwachung der Krankheitslast [139].

Im vorherigen Abschnitt wurde ein Szenario erläutert, das zum Ziel hat Metastasenbildung zu unterbinden, indem freie Krebszellen durch Nanogeräte abgetötet werden. In der Liquid Biopsy werden unter anderem diese zirkulierenden Tumorzellen oder frei zirkulierende Tumor-DNA zu Analysezwecken eingesetzt. Bei allen genannten Anwendungsfällen der Liquid Biopsy geht es im Prinzip darum, möglichst frühzeitig eine genaue Tumorgröße (Tumorlast) festzustellen oder zeitnah Veränderungen dieser Last zu ermitteln. Dies erhöht signifikant die Chancen auf eine geeignete und rechtzeitige Intervention [139].

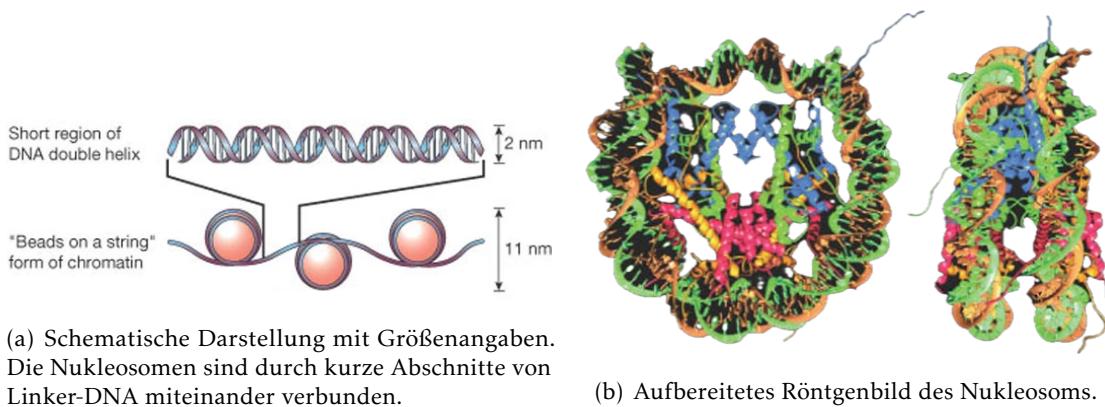
In Abschnitt 3.5.4 wurden die Schwachstellen der Liquid Biopsy erläutert. Diese umfassen unter anderem den Sampling Error und die Tumorgröße. Der Stichprobenfehler bezieht sich auf die Ungenauigkeit oder Unvollständigkeit von Informationen aus der Analyse von geringen Mengen ctDNA, cfDNA oder anderen Biomarkern. Die Tumorgröße stellt ein Problem dar, da nach aktuellem Stand der Technik nur Tumorgrößen über 15 mm detektiert werden können [114]. Dies ist besonders hinderlich für die Früherkennung maligner Tumore. Als Lösung wird im Folgenden, die In-Vivo-Liquid-Biopsy durch Nanogeräte vorgestellt.

Viele der in Abschnitt 3.5.4 genannten Herausforderungen könnten vermieden oder zumindest verringert werden, indem Nanogeräte im Blutkreislauf eingesetzt werden, um Biomarker in Echtzeit zu erkennen und die Ergebnisse direkt zu übermitteln, anstatt Proben zu entnehmen und zu analysieren. Auch die diskutierte Überwachung der Minimal Residual Disease könnte durch die Verwendung von dauerhaft im Körper verbleibenden Nanogeräten, die Alarm schlagen, wenn bestimmte Werte überschritten werden, auf neue Weise gelöst werden. Dies wäre dann eine Abwandlung des in Abschnitt 5.2 vorgestellten Szenarios.

Die mobile Detektion von Krebsmarkern im zirkulierenden Blut ist insofern ein Sonderfall, als das die zu detektierenden Mengen sehr klein sind. Diese Problemstellung kann in MEHLISSA aufbauend auf den Modellierungen in Abschnitt 5.2.1 simuliert werden.

5.4.1 BESTIMMUNG DER SIMULATIONSPARAMETER

Im Falle der Liquid Biopsy könnten die zu detektierenden Stoffe im Blut ctDNAs sein. ctDNA ist fragmentierte zirkulierende DNA, die aus absterbenden Krebszellen stammt und in den Blutkreislauf abgegeben wird. Die Menge an ctDNA ist dabei proportional zur Tumorgröße und hängt mit anderen klinisch-pathologischen Parametern wie Stadium, Lymphknotenbefall, lokaler und entfernter Metastasierung sowie krankheits-



(a) Schematische Darstellung mit Größenangaben.

Die Nukleosomen sind durch kurze Abschnitte von Linker-DNA miteinander verbunden.

(b) Aufbereitetes Röntgenbild des Nukleosoms.

ABBILDUNG 5.12 – Beim Nukleosom, sind zwei Windungen der DNA (insgesamt 165 Basenpaare) um den äußeren Teil eines Histonoktamers gewickelt sind. [59]

freiem und Gesamtüberleben zusammen. Daher trägt ctDNA bedeutende prognostische Informationen. [114]

Um die ctDNA im Blut zu simulieren ist eine Abschätzung der Größe notwendig. Die ctDNA ist meist stark fragmentiert und kommt am häufigsten in einer Größe kleiner 100 Basenpaare vor [102]. Normale zellfreie DNA ist proportionell häufiger in einer Größe über 400 Basenpaare vertreten [102].

Es ist nicht eindeutig bewiesen, wie die ctDNA im Blut vorliegt, nach [189] ist es am Wahrscheinlichsten, dass sie als Nukleosomen vorkommen. Abbildung 5.12 zeigt den Aufbau von Nukleosomen. Ein Nukleosom besteht aus einer DNA-Doppelhelix, die um ein Proteinzentrum gewickelt ist. Das Proteinzentrum ist aus acht Histonproteinen aufgebaut, die eine Art Spule bilden, die die DNA aufwickelt. Ein Histonkomplex bindet DNA mit einer Länge von 165 Basenpaaren [59]. Deshalb kann angenommen werden, dass die meiste ctDNA nur als einzelnes Nukleosom vorliegt. Ein Nukleosom hat eine zylindrische Form mit den Maßen elf Nanometer Durchmesser und 5,5 nm Höhe [59].

Die Nukleosome können mit den gleichen Überlegungen, die in Abschnitt 5.2.1 getätigten wurden, näherungsweise modelliert werden. Für das Nukleosom muss wie für das LDL der äquivalente Kugeldurchmesser berechnet werden um die Geschwindigkeit im Verhältnis zu den Nanogeräten im Blutstrom zu bestimmen.

Für den Kugeldurchmesser des Nukleosoms in Zylinderform ergibt sich:

$$d_{\text{Scheibe}} = \sqrt[3]{6 \times r^2 \times h} = \sqrt[3]{6 \times 5,5 \text{ nm}^2 \times 5,5 \text{ nm}} = 9,99 \text{ nm}$$

Mit den Werten aus Abschnitt 5.2.1 für den quadratischen Nanoroboter ist die Geschwindigkeit der Nukleosomen und Nanoroboter mit folgendem Faktor verbunden:

$$v_{\text{Scheibe}} = \frac{d_{\text{Quader}}}{d_{\text{Scheibe}}} = \frac{47,02 \text{ nm}}{9,99 \text{ nm}} \times v_{\text{Quader}} = 4,71 \times v_{\text{Quader}}$$

Tumor Diameter, mm	Tumor Weight, mg	Tumor Volumen mL (cm ³)	Number of Cancer Cells	Percentage Fraction of Mutant ctDNA	Number of Cancer Genomes per 10 mL of Blood	Chance of Progression ^c	Mammographic Screen Sensitivity ^d
27	10,000	10 ^a	10,000,000,000	1:1000	6	-	-
12.5	1000	1 ^b	1,000,000,000	1:10,000	0.6	-	-
10	500	0.5	500,000,000	1:20,000	0.3	50%	91%
8	250	0.25	250,000,000	1:40,000	0.15	25%	-
6	125	0.12	125,000,000	1:80,000	<0.1	-	-
5	62	0.06	62,000,000	1:160,000	<0.1	6%	26%
4	31	0.03	32,000,000	1:320,000	<0.1	-	-
3	16	0.015	16,000,000	1:640,000	<0.1	-	-
2.4	8	0.007	8,000,000	1:1,300,000	<0.1	-	-
2	4	0.0035	4,000,000	1:2,600,000	<0.1	-	-
1.5	2	0.0017	2,000,000	1:5,200,000	<0.1	-	-
1.1	1	0.0008	1,000,000	1:10,000,000	<0.1	0.05%	-

ABBILDUNG 5.13 – Tumorcharakteristika, die in der Literatur berichtet oder durch Extrapolation berechnet wurden. [114]

Die Nukloesomen aus ctDNA können damit vereinfacht als 4,71 Mal so schnell fließende Nanopartikel im Simulator modelliert werden.

Für die Simulation ist neben der Geschwindigkeit der ctDNA-Teilchen auch Kenntnis über die vorliegende Menge nötig. Abbildung 5.13 zeigt die Berechnungen von Pons-Belda et al. [114], die aus berichteten Tumormaßen, die ungefähre Menge an Krebs- und normaler zellfreier DNA im Kreislauf ableiteten. Die Ergebnisse zeigen, dass zehn Milliliter Blut wahrscheinlich weniger als ein Krebsgenom enthalten, wenn der Faktor unter 0,01 % fällt – ein Tumor-DNA-Molekül ist vermischt mit 10.000 normalen DNA-Molekülen. Dies macht die Diagnose per Liquid Biopsy unmöglich [114]. Ein realistisches und klinisch relevantes Ziel für die Früherkennung sollte es sein, dass Krebsarten erkannt werden, die mit mehr als sechs Prozent Wahrscheinlichkeit fortschreiten [114]. Dies würde zum Beispiel Tumore mit einem Durchmesser von fünf Millimeter betreffen, die derzeit von Brustkrebscreenings übersehen werden. Übertragen auf die Simulation bedeutet dies, dass eine erste Untersuchung beispielhaft zeigen sollte, dass die Nanogeräte dazu in der Lage sind, genau eine ctDNA unter 160.000 cfDNAs finden zu können.

5.4.2 MOBILE DETEKTION VON ZELLFREIER TUMOR-DNA

Zu Beginn der Simulation werden 6359 Nanogeräte in die Armvene injiziert und 160.000 DNA-Partikel in der Brust freigesetzt. Es wird untersucht, wieviele Partikel pro Sekunde im Verlauf der Zeit detektiert werden. Abbildung 5.14 zeigt die Detektionsereignisse der ersten 180 Simulationssekunden. Zu Beginn verteilen sich Nanogeräte und DNA-Partikel im Blutkreislauf und es gibt mehrfach gehäufte Detektionen, mit einem Maximum von 2503. Nachdem sich die DNA-Partikel weiter verteilt haben, pendeln sich die Ereignisse bei rund 340 Detektionen pro Sekunde ein. Hierbei wird angenommen, dass ein Nanogerät ein DNA-Partikel detektiert, wenn sie maximal 0,1 Millimeter voneinander entfernt sind. Es ergibt sich eine Detektionsrate von 0,21 % bei einer Simulationsdauer von 20 Minuten. Zum Vergleich wurden auch Simulationen mit dem

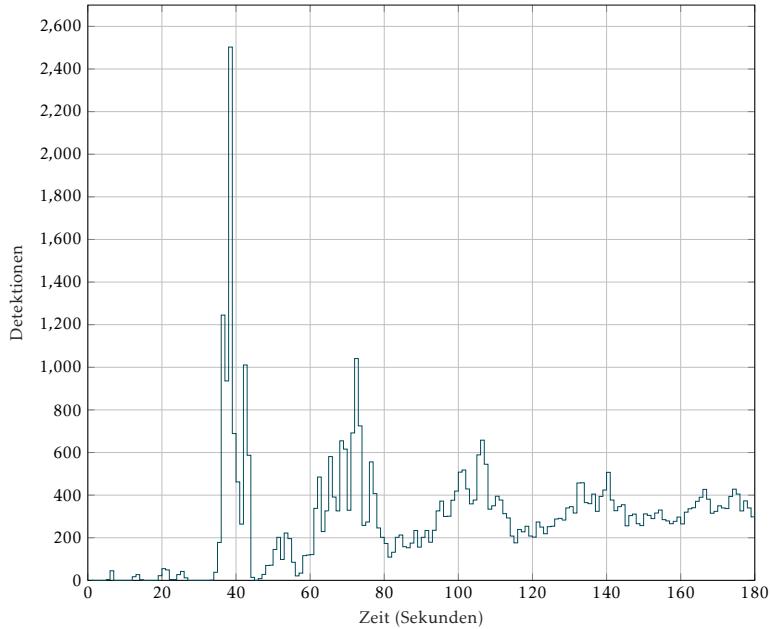


ABBILDUNG 5.14 – Detektionsereignisse von 160.000 freigesetzten DNA-Partikeln durch 6359 Nanogeräte.

bisher angenommenen Detektionsabstand von zwei Millimetern durchgeführt. Die Detektionsrate ist für diesen Radius mit 4,125 % deutlich höher.

BESTIMMUNG DER AUFFINDEWAHRSCHEINLICHKEITEN

Es ist bekannt, dass die Wahrscheinlichkeit, in einer Blutprobe, eine ctDNA unter 160.000 cfDNAs zu finden, gegen null geht. Zum Vergleich wird die Wahrscheinlichkeit für die simulierte In-Vivo-Liquid-Biopsy berechnet.

Die Wahrscheinlichkeit ein spezifisches Teilchen in einer Zeit t mit einer Detektionsrate DR zu finden wird mit dem Komplement der Wahrscheinlichkeit p das Teilchen nicht zu finden berechnet.

Auffindewahrscheinlichkeit eines spezifischen Teilchens

$$p = 1 - (1 - DR)^t$$

Für die Detektionsrate von 4,125 % und einer Suchzeit von 60 Sekunden ergibt dies:

$$\begin{aligned}
 p_{2\text{mm}} &= 1 - (1 - 0,04125)^{60} \\
 &= 1 - 0,95875^{60} \\
 &= 1 - 0,0799 \\
 &= 0,9201
 \end{aligned}$$

Die Wahrscheinlichkeit, das spezifische Teilchen nach 60 Sekunden bei einem Detektionsradius von zwei Millimetern gefunden zu haben, beträgt ungefähr 92,01 %.

Für die Detektionsrate von 0,21 % und einer Suchzeit von 60 Sekunden ergibt dies:

$$\begin{aligned}
 p_{0,1\text{mm}} &= 1 - (1 - 0,0021)^{60} \\
 &= 1 - 0,9979^{60} \\
 &= 1 - 0,8815 \\
 &= 0,1185
 \end{aligned}$$

Die Wahrscheinlichkeit, das spezifische Teilchen nach 60 Sekunden bei einem Detektionsradius von 0,1 Millimetern gefunden zu haben, beträgt ungefähr 11,85 %.

Wird die Suchzeit auf zehn Minuten erhöht, steigt die Wahrscheinlichkeit auch bei dem streng gewählten Detektionsradius auf 71,67 %, bei 20 Minuten auf 91,96 % und bei 30 Minuten auf 97,72 %.

Sowohl der Detektionsradius, als auch die Dauer der Suche sind aktuell beliebig gewählt und sollten in Wetlab-Experimenten verifiziert werden. Es ist davon auszugeben, dass der kleinere Radius angemessener ist, da aufgrund der geringen Größe der ctDNA mit selteneren Kollisionen wie bei größeren Teilchen zu rechnen ist. cfDNA hat eine kurze Halbwertszeit, die von vier Minuten bis zu zwei Stunden variiert, was sich für Anwendungen im geplanten Monitoring eignet [51]. Die angenommenen Suchzeiten von mehreren Minuten bis zu einer Stunde können daher realistisch sein, sollten aber weiter eingegrenzt werden und ebenfalls in Versuchen überprüft werden.

Zur Einordnung des Einflusses der Tumogröße bei der In-Vivo-Liquid-Biopsy kann die Detektionswahrscheinlichkeit von ctDNA bei einer hohen Konzentration von 1:1000 Teilchen wie bei einem 27 Millimeter Tumor betrachtet werden (siehe Abbildung 5.13).

Unter der Annahme, dass insgesamt weiterhin 160.000 Teilchen vorliegen, sind darunter 160 ctDNAs. Da ein beliebiges dieser Teilchen gesucht wird erhöht sich die Auffindewahrscheinlichkeit signifikant.

Die Wahrscheinlichkeit ein beliebiges Teilchen aus n in einer Zeit t mit einer Detektionsrate DR zu finden wird folgendermaßen berechnet.

Auffindewahrscheinlichkeit eines beliebigen Teilchens

$$p_n = 1 - ((1 - DR)^n)^t$$

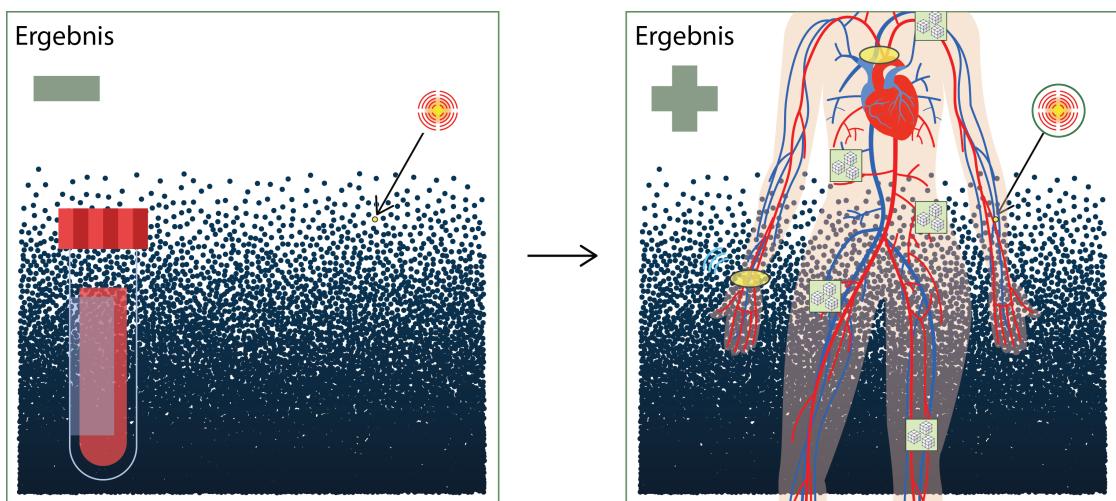


ABBILDUNG 5.15 – Darstellung des Vergleichs zwischen Liquid Biopsy in vitro, durch Blutprobenentnahme und in vivo, durch den Einsatz von Nanogeräten. Gezeigt ist eine hohe Anzahl von cfDNAs (blau) im Gesamtblutvolumen. Lediglich eine einzelne ctDNA (gelb mit Pfeil) ist unter den Teilchen. Bei solch niedrigen Anteilen an zirkulierender Tumor-DNA sind Blutproben (links) statistisch nicht dazu in der Lage, positive Ergebnisse zu liefern. Patrouillierende Nanogeräte (rechts) durchsuchen das gesamte Blut und detektieren bei ausreichend hoher Detektionsdauer selbst kleinste Mengen an ctDNA.

Daraus ergibt sich für 60 Sekunden, 160 Teilchen und Detektionsrate von 0,21 %:

$$\begin{aligned}
 p_{160} &= 1 - ((1 - 0,0021)^{160})^{60} \\
 &= 1 - 0,7144^{60} \\
 &= 1 - (1,724 * 10^{-9}) \\
 &= 0,9999
 \end{aligned}$$

Die Wahrscheinlichkeit, bei einer Konzentration von 1:1000 ein Teilchen nach 60 Sekunden zu finden, beträgt 99,99 %. Dies spiegelt in der Simulation realistisch wider, dass große Tumore deutlich besser erkannt werden.

Abbildung 5.15 fasst die Ergebnisse dieses Abschnitts zusammen und zeigt den Vergleich zwischen Liquid Biopsy in vitro durch Blutentnahme und in vivo durch den Einsatz von Nanogeräten. Im Gesamtblutvolumen sind eine hohe Anzahl von cfDNAs zu sehen, während nur eine einzelne ctDNA, markiert in Gelb mit einem Pfeil, unter den Teilchen zu finden ist. Aufgrund dieser geringen Konzentrationen an zirkulierender Tumor-DNA sind Blutproben (links) statistisch nicht in der Lage, positive Ergebnisse zu liefern. Im Gegensatz dazu durchsuchen patrouillierende Nanogeräte (rechts) das gesamte Blut und können, laut der durchgeführten Simulationen, selbst kleinste Mengen an ctDNA bei ausreichend hoher Detektionsdauer erkennen. Dies gilt es in Wetlab-Experimenten zu bestätigen.

KAPITEL

6

LOKALISIERUNG VON KRANKHEITSMARKERN

Die Kombination verschiedener, skalierten und spezialisierter Ebenen in MEHLISSA ermöglicht eine realistische Simulation der globalen Verteilung von Nanogeräten und Zellen in Verbindung mit der Simulation der Kommunikation zwischen Nanogerät und Zelle. Mit diesem Ansatz ist es möglich, die Erkennung von Biomarkern, die anschließende Freisetzung von Medikamenten und die Wirkung dieser Medikamente auf die gezielten Zellen realistischer zu modellieren, im Vergleich zu Simulationen, in denen nur stationäre Positionen angenommen werden. Eine essenzielle Fragestellung hierbei ist es, wie Nanogeräte an gezielten Orten eingesetzt werden können, um so zum Beispiel Anomalien zu lokalisieren.

Dieses Kapitel behandelt die Lokalisierung von Krankheitsmarkern im Körper mittels DNA-Nanonetzwerken. Die Inhalte dieses Kapitels wurden in Teilen in den Artikeln „Proteome Fingerprinting as a Localization Scheme for Nanobots“ [16] und „Proteome Fingerprinting: Localization of Nanobots in the Cardiovascular System“ [4] von der Autorin, Florian Lau, Lena Unger und Stefan Fischer veröffentlicht. Alle Ideen und Konzepte, wenn nicht anders vermerkt, wurden von der Autorin selbst entwickelt.

In einem ersten Schritt werden Technologien zur Lokalisierung von Anomalien und Nanogeräten vorgestellt, wobei insbesondere auf elektromagnetische und molekulare Lokalisationsmethoden eingegangen wird.

Darauf folgt die Diskussion über die Methode des Fingerprintings zur Lokalisierung. Hierbei werden potenzielle Kandidaten und Anforderungen an das Fingerprinting untersucht sowie verschiedene Fingerprinting-Ansätze auf ihre Eignung hin betrachtet. Lena Unger hat die Analysen in diesem Abschnitt durchgeführt.

Ein weiterer Abschnitt widmet sich dem Proteom als Organ-Fingerprint und erläutert die Erstellung von Fingerprints sowie die Bewertung verschiedener Fingerprint-Größen.

Die Erkennung von Fingerprints steht im Mittelpunkt des nächsten Abschnitts, wobei der Fokus auf dem Einsatz von DNA-basierten Nanonetzwerken und der Berechnung der Fingerprint-Genprodukte liegt. Zudem wird die Simulation der Nachrichtenmoleküle im NetTAS-Simulator erläutert. Die Idee der Umsetzung mit DNA-basierten Nanonetzwerken stammt von Florian Lau, der auch die NetTAS-Simulationen durchgeführt hat.

Abschließend wird die Simulation der Lokalisierung durchgeführt. Dies schließt die Umsetzung in MEHLISSA, die Implementierung von Nanolokatoren und Nanokollektoren sowie die Präsentation der Simulationsergebnisse mit ein.

6.1 TECHNOLOGIEN ZUR LOKALISIERUNG VON ANOMALIEN UND NANOGERÄTEN IM KÖRPER

Die Lokalisierung von Anomalien und Nanogeräten im menschlichen Körper ist von entscheidender Bedeutung für die frühzeitige Erkennung und Behandlung von Krankheiten sowie für die Überwachung der Gesundheit. Dies wird in Abschnitt 3.4 ausführlich motiviert. Im Folgenden werden unabhängig davon Grundlagen zur Lokalisierung von Anomalien und Nanogeräten diskutiert. Es wird hierbei zwischen der elektromagnetischen Lokalisation, die drahtlose Nanogeräte im Körper einsetzt, und der molekularen Lokalisation, die eher biohybride Geräte verwendet, unterschieden. Die Lokalisierung der Anomalien ist eine große Herausforderung aufgrund der dynamischen Umgebung, der begrenzten Ressourcen der Sensoren und der Schwierigkeiten bei der drahtlosen oder molekularen Kommunikation im menschlichen Körper. Nachfolgend wird der aktuelle Stand der Forschung an den Technologien vorgestellt und Herausforderungen identifiziert.

6.1.1 ELEKTROMAGNETISCHE LOKALISATION

Es gibt verschiedene Ansätze zur Lokalisierung von drahtlosen Sensoren im menschlichen Körper. Bisherige Methoden sind meist nicht ausreichend genau für diese spezielle Umgebung und berücksichtigen nicht die besonderen Energie- und Kommunikationsbeschränkungen der Nanosensoren. Beispiele für auf elektronischer Kommunikation basierenden Ansätzen sind die Verwendung von Hop-Count-Algorithmen [168] und pulsbasierten Distanzakkumulationsalgorithmen [151]. Keiner dieser Ansätze liefert allerdings genaue Ergebnisse für die Lokalisierung innerhalb des Körpers.

Simonjan et al. [124] greifen zwei etablierte Methoden auf, die Rückstreuungskommunikation und inertiale Positionierung, und kombinieren diese zur Anomalielokalisation im Körper. Die Rückstreuungskommunikation ist eine Lokalisierungsstrategie, die rückgestreute Signale zur genauen Ortung in körpernahen Netzwerken nutzt. Dabei werden passive Tags verwendet, die Energie von Lesegeräten empfangen und modulierte Signale

zurücksenden. Dies ermöglicht eine präzise Lokalisierung ohne die Notwendigkeit aktiver Sender.

Inertiale Positionierung bezieht sich darauf, die aktuelle Position eines Knotens basierend auf früheren Positionen und geschätzten Bewegungsdaten zu bestimmen, die von eingebauten *inertialen Messeinheiten* (IMU) aufgezeichnet werden. Diese Technik verwendet Beschleunigungsmesser und Gyroskope, um die Bewegung des Geräts zu messen und seine Position relativ zu einem globalen Referenzsystem zu bestimmen. Obwohl inertiale Positionierung eine vollständig autonome Navigation ermöglicht und besonders für nanoskalige Sensoren geeignet ist, kann die Genauigkeit durch Rauschen und Driftfehler beeinträchtigt werden. Daher werden solche Messungen oft mit anderen Positionierungsmethoden kombiniert, um die Genauigkeit zu verbessern.

Um Anomalien frühzeitig zu erkennen, konzentrierten sich Simonjan et al. [124] darauf mithilfe der beiden Techniken, spezifische Regionen im Körper zu identifizieren. Das System besteht aus Ankerknoten, die makroskopische Geräte sind, die an der Haut befestigt sind, und Rückstreuungskommunikation verwenden. Kombiniert werden diese Anker mit Nanosensoren, die im Blutstrom schwimmen. Aufgrund der begrenzten Kommunikationsreichweite und der hohen Mobilität der Sensoren sind sie mit IMUs ausgestattet, die Nanobeschleunigungsmesser und Nanogyroskope enthalten, um eine Selbstlokalisierungsverfolgung zu ermöglichen. Diese Informationen werden verwendet, um den Ankerknoten den Ort der erkannten Anomalien zu melden.

Um die Leistung des Lokalisierungssystems zu analysieren, verwendeten Simonjan et al. [124] eine MATLAB Toolbox zusammen mit BVS. Die Trajektorien der Nanogeräte wurden mit BVS bestimmt, und das Lokalisierungsstempeln wurde mit einem MATLAB Tool durchgeführt. In dem Experiment wurden 20 Anker um den Körper platziert und die Bewegung eines Sensors durch den Körper über 2,5 Stunden verfolgt. Es wurde festgestellt, wie oft der Sensor innerhalb eines Abstands von 2,5 Zentimetern von einem Anker vorbeikam und wie lange es dauerte. Die Ergebnisse (siehe Abbildung 6.1) zeigten, dass die meisten Ankerbesuche innerhalb von zehn Sekunden stattfanden, was darauf hinweist, dass eine Erfassungsrate von 0,1 bis 0,2 Hz ausreicht. Die längste Dauer zwischen zwei Ankerbesuchen lag bei 80 Sekunden. Für aktuelle Sensoren sind Abtastraten von bis zu vier Hertz möglich, die Abtastrate sollte demnach abhängig von den Anforderungen der Anwendung gewählt werden. [124]

Die Limitationen des Ansatzes von Simonjan et al. [124] liegen vor allem in der begrenzten Genauigkeit der Anomalie-Lokalisierung. Obwohl ihre Methode der Rückstreuungskommunikation kombiniert mit IMUs vielversprechend ist, um Anomalien im Körper zu erkennen, ist sie eingeschränkt in der präzisen Lokalisierung auf spezifische Regionen. Das System könnte außerdem Schwierigkeiten haben, wenn mehrere Anomalien gleichzeitig auftreten oder in der Nähe sind, da es schwer sein könnte, sie zu unterscheiden.

Stelzner und Traupe schlagen in [166] ebenfalls ein Konzept zur Lokalisierung vor, das auf elektrischen Nanogeräten beruht und BVS zu Simulationszwecken verwendet. Das

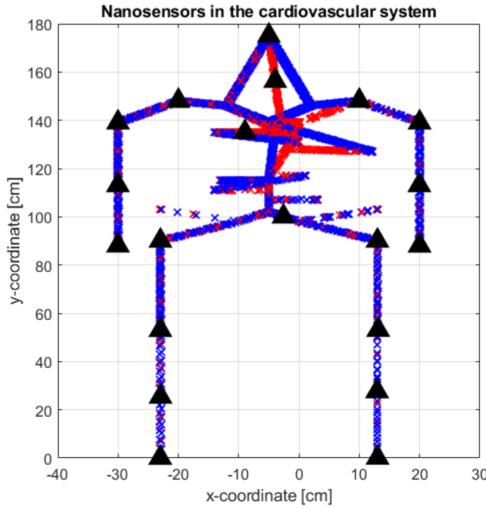


ABBILDUNG 6.1 – Die Bewegung eines Nanogerätes durch das Herz-Kreislauf-System für 10.000 Sekunden mit einem Setup von 20 Ankerpunkten (schwarze Dreiecke). Rote und blaue Kreuze stellen die gemessenen Arterien- bzw. Venenpositionen des Nanogerätes dar. [124]

Function-Centric-Nano-Networking (FCNN) zielt darauf ab ein leichtgewichtiges Routing in Nanonetzwerken im Körper zu ermöglichen, um zum Beispiel spezifische Regionen gezielt zu behandeln. Dabei werden die Nanogeräte nicht durch individuelle Adressen identifiziert, sondern durch Ortsinformationen, die sich aufgrund ihrer Bewegung im Körper ändern können. Das Routing basiert auf dem Hop-Count-Algorithmus [31], der die Entferungen zwischen den Knoten im Körpernetzwerk verwaltet. Durch die Platzierung von Gateways an strategischen Punkten im Körper wird eine bessere Ortsbestimmung ermöglicht. Ein Gateway ist ein Gerät mit erweiterten Funktionen, das Nachrichten zwischen dem In-Body-Netzwerk und einem Netzwerk am Körper, Body Area Network, oder einer voll funktionsfähigen Kontrollstation, zum Beispiel einem Smartphone, abfängt bzw. verarbeitet. Durch die Kombination mehrerer Gateways entsteht ein dreidimensionales Koordinatensystem im Körper, das die genaue Positionierung der Nanogeräte gestattet. Der Algorithmus eröffnet die Möglichkeit, den Hop-Count im Körper zu verwenden, um Messdaten abzurufen. FCNN übersetzt diese Daten dann in Körperteile, indem es die Hop-Counts in Positionen umwandelt. Die Simulation (siehe Abbildung 6.2) zeigt, wie die verschiedenen Positionen im Körper anhand der Hop-Counts unterschieden werden können. Diese Methode kann durch verschiedene Faktoren wie Bewegung der Geräte, Kommunikationsprobleme und unterschiedliche Positionsschätzungen beeinträchtigt werden und ist noch nicht ausgereift.

In [66] berechneten die Forschenden die Verteilung mobiler Nanogeräte innerhalb der menschlichen Blutgefäße mithilfe eines Markov-Modells. Sie integrierten außerdem eine auf *maschinellem Lernen* (ML) basierende Methode zur Bewertung der Übergangswahrscheinlichkeiten dieses Markov-Modells. Die ML-Modelle werden mit den Reisezeiten der Nanogeräte, die mittels BVS erstellt wurden und Konzentrationsniveaus aus dem

6.1. TECHNOLOGIEN ZUR LOKALISIERUNG VON ANOMALIEN UND NANOGERÄTEN IM KÖRPER

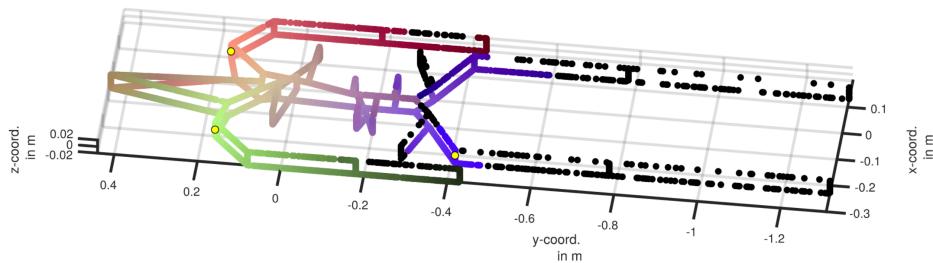


ABBILDUNG 6.2 – Verteilung der Nanogeräte auf dem BVS Modell. Jeder Hop-Count ist durch eine individuelle Farbe dargestellt: Rot – linke Schulter, Grün – rechte Schulter und Blau – rechter Oberschenkel. Die Gateways sind durch gelbe Punkte hervorgehoben, schwarze Punkte repräsentieren Nanogeräte ohne Hop-Count und das Herz befindet sich bei (0,0,0). [166]

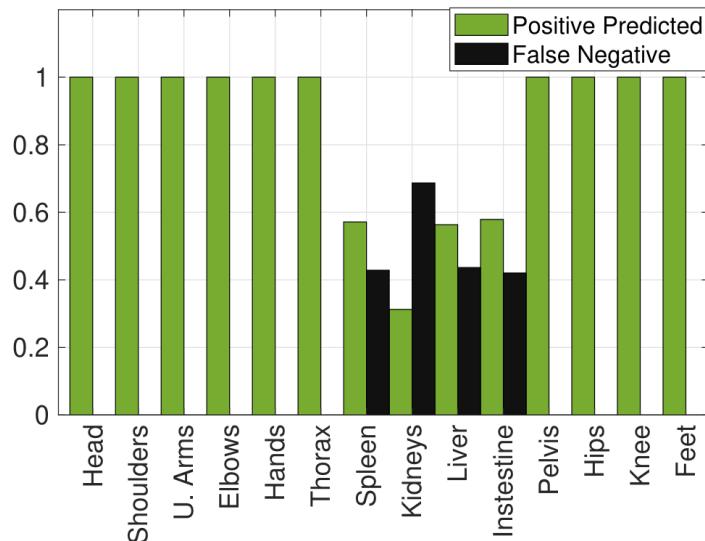


ABBILDUNG 6.3 – Die Vorhersageleistung der ML-Modelle, die mit Reisezeit und Konzentrationsebene der Nanogeräte trainiert wurden. Positiv vorhergesagte Proben betragen 85,91 %, während falsch negative 14,09 % des Gesamtwerts ausmachen. [66]

Markov-Modell trainiert. Ziel ist es den Ursprung einer gemeldeten Entdeckung vorherzusagen. Das zugrunde liegende Markov-Modell wird in Kapitel 4 erläutert. Abbildung 6.3 zeigt die Vorhersageleistung der ML-Modelle. Auffällig ist die hohe Fehlerquote bei den inneren Organen, die nahe beieinander liegen und dadurch ähnliche Durchblutungsduern haben. Der gezeigte Lokalisationsansatz ist demnach nicht in der Lage, alle Organe sicher genug zu identifizieren.

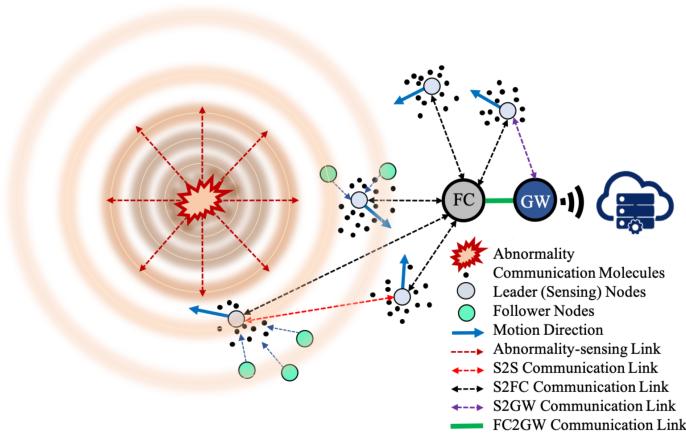


ABBILDUNG 6.4 – Auf molekularer Kommunikation basierendes System zur Detektion und Lokalisierung von Anomalien bestehend aus mehreren Ebenen. [175]

6.1.2 MOLEKULARE LOKALISATION

Die Detektion und Lokalisierung von krankhaften Veränderungen wurden in der Literatur zu drahtlosen Sensornetzwerken weitreichend untersucht, in denen die Sensoren elektromagnetische Wellen zur Kommunikation nutzen. Einige dieser Techniken wurden im vorherigen Abschnitt vorgestellt. Aufgrund ihrer Invasivität, Bioinkompatibilität und des hohen Energieverbrauchs für einige Anwendungen, einschließlich Gesundheitswesen, wurde die molekulare Kommunikation als alternative Methode eingeführt (siehe Abschnitt 2.1). Biohybride Ansätze in Kombination mit molekularer Kommunikation bieten vielversprechende Systeme für die Detektion und Lokalisierung. Etemadi et al. [175] schlagen hierfür ein auf molekularer Kommunikation basierendes Schema zur Detektion und Lokalisierung von Anomalien. Das allgemeine System besteht aus mehreren Ebenen zur Erfassung der Anomalie und zur Kommunikation zwischen verschiedenen Agenten im System. Abbildung 6.4 zeigt das entwickelte Schema. Es kann in vier verschiedene Ebenen unterteilt werden:

1. **Anomalieerkennung:** Sensoren erfassen Veränderungen im Medium, die auf Störungen hinweisen können, z. B. Freisetzung von Molekülen oder Veränderungen in Temperatur oder Druck. Die Sensoren können stationär oder mobil sein und verschiedene Sensortechnologien verwenden.
2. **Kommunikationsebene:** Sensoren senden ihre Daten an ein *Fusion Center* (FC) zur gemeinsamen Anomalieerkennung und -lokalisierung. Die Daten können auch an andere Sensoren gesendet werden, um eine kooperative Aktivierung zu ermöglichen. Das FC trifft die endgültige Entscheidung oder leitet die Informationen an *Gateways* (GW) oder externe Geräte weiter.
3. **Lokalisierungsebene:** Nach der Anomalieerkennung ist die Lokalisierung bedeutsam. Dies kann durch Bewegung von Sensoren, chemotaktische Bewegung oder externe

6.1. TECHNOLOGIEN ZUR LOKALISIERUNG VON ANOMALIEN UND NANOGERÄTEN IM KÖRPER

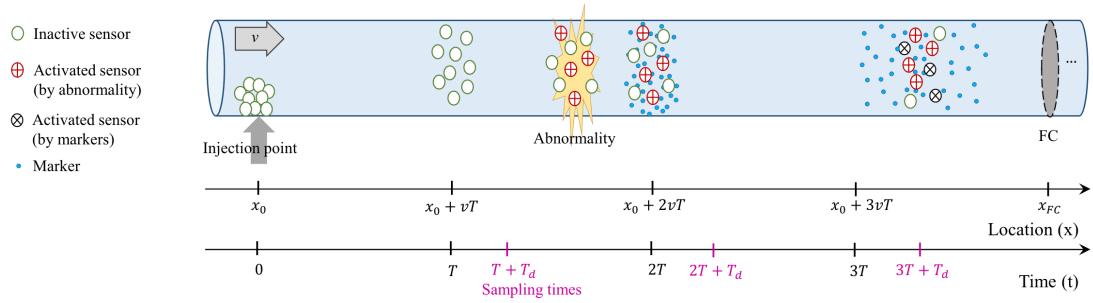


ABBILDUNG 6.5 – Kooperatives System zur Anomalieerkennung und -lokalisierung. Im sensorischen Bereich werden inaktive Sensoren vom Injektionspunkt freigesetzt und bewegen sich passiv fort. An der Stelle der Anomalie werden einige von ihnen aktiviert und geben Marker frei. Einige inaktive Sensoren werden durch die Marker aktiviert. Schließlich absorbiert das FC alle Sensoren. [178]

Steuerung erfolgen. Die Sensoren können selbstständig handeln, z. B. Medikamente freisetzen.

- Kommunikationsebene: Die Kommunikation zwischen Sensoren, FC und externen Geräten kann über drahtlose oder molekulare Verbindungen erfolgen. Für den Datentransfer zwischen internen und externen Systemen sind Schnittstellen erforderlich.

Da an dieser Stelle Lokalisierungsansätze für Nanogeräte bzw. deren detektierte Anomalien gesucht werden, wird diese Ebene näher beleuchtet. Etemadi et al. [175] klassifizieren die Lokalisierungsansätze basierend auf der Sensorbeweglichkeit und den Antriebsmechanismen. Die stationären und nicht angetriebenen mobilen Sensoren können ihre erhaltenen Informationen mit einem Fusion Center oder einem Gateway kommunizieren, um die Anomalie zu lokalisieren und weitere Maßnahmen zu ergreifen. Selbst angetriebene mobile Sensoren können die Anomalie autonom mithilfe verschiedener Taxien (z. B. Chemotaxis und Optotaxis) oder Methoden zur Sensor-zu-Sensor-Zusammenarbeit lokalisieren. Die extern angetriebenen Sensoren arbeiten mit dem Gateway und der lokalen Cloud zusammen, um externe Interventionen zu aktivieren. Im Rahmen dieser Arbeit sind mobile, passive Nanogeräte von besonderem Interesse.

Khlopour et al. stellen in [178] ein kooperatives System zur Anomalieerkennung und -lokalisierung vor, indem molekulare Kommunikation genutzt wird. Das System besteht aus mobilen Sensoren in einem fluidischen Medium, die in das Medium injiziert werden, um die Umgebung nach Anomalien zu durchsuchen. Einige Fusion Center werden an bestimmten Positionen im Medium platziert, die alle Sensoren absorbieren, die an ihren Standorten angekommen sind, und durch Beobachtung ihres Zustands entscheidet jedes FC über das Vorhandensein und die Position der Anomalie. Abbildung 6.5 zeigt das Vorgehen. Es wird allerdings schnell klar, dass das Verfahren nur dazu geeignet ist, eine Anomalie in einer Teilregion zu lokalisieren.

Etemadi et al. [175] stellen viele verschiedene Ansätze zur Lokalisierung vor, allerdings ist keiner dabei, der eine globale Lokalisierung von Anomalien ermöglicht. Diese Lücke wird in diesem Kapitel im Folgenden mithilfe eines innovativen Fingerprintmechanismus geschlossen.

6.2 FINGERPRINTING ALS LOKALISIERUNGSMETHODE

Derzeitige Lokalisierungsschemata und ihre Limitationen wurden im vorherigen Abschnitt ausführlich beleuchtet. Ein völlig neuer Ansatz ist es hingegen biologische oder chemische Werte zu verwenden, um bestimmte Körperregionen zu differenzieren. Das Fingerprinting zielt darauf ab, die Position der Nanogeräte durch lokale Mustererkennung zu bestimmen. Jeder Körperregion wird dabei ein individueller Fingerprint anhand der Eigenschaften der jeweiligen Umgebung zugeordnet. Durch Identifizierung dieser Fingerprints können die Nanogeräte ihre Position im menschlichen Körper bestimmen und nach außen kommunizieren.

6.2.1 KANDIDATEN UND ANFORDERUNGEN

Nach eingehender Recherche konnte keine bestehende Methode ausfindig gemacht werden, die histologische Fingerprints verschiedenen Körperregionen zuordnet. Aus diesem Grund werden in diesem und folgenden Abschnitt verschiedene histologische Werte im menschlichen Körper analysiert, um eine zuverlässige Methode für das Fingerprinting zu identifizieren. Lena Unger untersuchte die von der Autorin vorgegebenen Kandidaten ausgiebig. Vielversprechende Kandidaten sind Systeme, die den gesamten Körper umfassen, wie das Lymphsystem, das endokrine System und das kardiovaskuläre System.

Das Lymphsystem kann allerdings direkt ausgeschlossen werden. Es ist für die Lokalisierung mithilfe von Nanogeräten ungeeignet, da diese hauptsächlich im Blutkreislauf agieren sollen [5]. Die Werte, die für das Fingerprinting verwendet werden, sollten daher im kardiovaskulären System vorhanden sein.

Das endokrine System und das hormonelle Gleichgewicht bieten mehrere Parameter, die als Charakteristika für das Fingerprinting dienen könnten. Verschiedene Hormone werden in unterschiedlichen Drüsen produziert und im gesamten endokrinen System verteilt. Diese Verteilung erschwert es, Körperregionen eindeutig zu unterscheiden, da bestimmte Hormone nicht ausschließlich in einzelnen Regionen vorkommen.

Drei Bestandteile des Blutes weisen günstige Eigenschaften für das Fingerprinting auf und werden deshalb weiteren Analysen unterzogen: Blutgase, Spurenelemente und das menschliche Proteom.

Um eine zuverlässige Quelle für die Lokalisierung von Nanogeräten zu sein, müssen die für das Fingerprinting verwendeten Parameter bestimmte Anforderungen erfüllen. Für eine deutliche Unterscheidung zwischen Körperregionen kann entweder eine einzige

Verbindung gewählt werden, die nur in bestimmten Regionen vorhanden ist, oder eine Verbindung mit deutlich unterscheidbaren Konzentrationen in verschiedenen Regionen. Die Existenz und Konzentration der betreffenden Verbindung sollten stabil sein und nicht von anderen Faktoren wie Krankheiten oder körperlicher Aktivität beeinflusst werden, um eine zuverlässige und kontinuierliche Überwachung der Patient*innen zu gewährleisten. Um sinnvolle Unterscheidungen im menschlichen Körper zu ermöglichen, muss Forschung für eine ausreichende Anzahl von Organen oder Geweben verfügbar sein. Ausdrücklich kritische Organe wie das Herz, die Lunge, die Leber, der Darm und die Nieren sollten mindestens abgedeckt sein.

6.2.2 EIGNUNG VERSCHIEDENER FINGERPRINTING-ANSÄTZE

Die ersten Verbindungen, die für das Fingerprinting in Betracht gezogen wurden, sind die Gase im kardiovaskulären System, die durch eine allgemeine Blutgasanalyse von O₂, CO₂ und pH-Werten gemessen werden. Diese Methode ist für die vollständige Lokalisierung von Körperregionen ungeeignet, da sie keine klare Unterscheidung ermöglicht. Darüber hinaus können körperliche Aktivitäten zu Schwankungen in den Gas-Konzentrationen führen, was Unsicherheiten in der Diagnostik nach sich zieht. Daher werden Blutgase als Fingerprinting-Verbindungen ausgeschlossen.

Eine weitere Möglichkeit sind Spurenelemente wie Kobalt, Kupfer, Iod, Eisen, Mangan, Molybdän, Selen und Zink, die in geringen Konzentrationen vorkommen [138]. Da dieselben Spurenelemente in verschiedenen Geweben vorhanden sind, muss die Konzentration der Elemente für das Fingerprinting berücksichtigt werden. Spurenelemente in Blut, Blutzellen, Harn, Lungengewebe, Lebergewebe, Nierengewebe und Muskulatur wurden in [138] verglichen. Vier der zuvor genannten essenziellen Spurenelemente kommen in allen untersuchten Geweben vor: Kupfer, Mangan, Selen und Zink. Die Konzentrationsgradienten dieser vier Elemente in verschiedenen Geweben können Einblicke in die Position im menschlichen Körper liefern. Für die übrigen Elemente ist die Präsenz in den jeweiligen Geweben der relevante Faktor. Allerdings variieren die berichteten Konzentrationen für Spurenelemente in verschiedenen menschlichen Geweben erheblich, und Nahrungsdefizite können weitere Probleme auslösen [138]. Die Variabilität und die geringen Konzentrationen würden die Zuverlässigkeit des Fingerprints verringern und das Verfahren unwirksam machen.

Darüber hinaus können die Daten von J. Versieck [138] zu Blut, Blutzellen und Muskulatur nicht verwendet werden, um verschiedene Körperregionen zu identifizieren. Lediglich Harn, Lungengewebe, Lebergewebe und Nierengewebe bleiben übrig, sind aber unzureichend, um wertvolle Unterscheidungen zwischen allen relevanten Körperteilen vorzunehmen. Zusätzlich stellt die Unterscheidung von Konzentrationen für verschiedene Altersgruppen und Geschlechter ein Problem für das Fingerprinting dar. Daher können Spurenelemente als Kandidaten für das Fingerprinting ebenfalls ausgeschlossen werden.

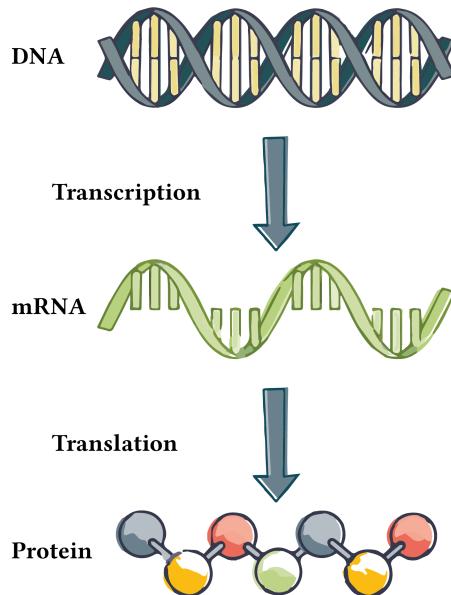


ABBILDUNG 6.6 – Genexpression: Die DNA wird im Zellkern in mRNA transkribiert. Die mRNA verlässt den Zellkern und wird in ein Protein übersetzt. [16]

Das menschliche Proteom umfasst alle Proteine, die im menschlichen Körper vorhanden sind. Die Proteine werden durch die Prozesse der Genexpression und Proteinbiosynthese aus genetischer Information in den Genen gebildet. Der *Genotyp* bezieht sich auf den gesamten Satz von DNA innerhalb eines lebenden Organismus und dient als Bauplan für alle seine Proteine. Diese beobachtbaren Eigenschaften werden nur sichtbar, wenn die genetischen Informationen interpretiert werden, was zum *Phänotyp* führt. Der Phänotyp wird durch die Synthese von Proteinen bestimmt, die die Struktur und Entwicklung des Organismus kontrollieren oder als Enzyme fungieren und spezifische Stoffwechselwege erleichtern.

Abbildung 6.6 illustriert die grundlegenden Prozesse der Genexpression und Proteinbiosynthese, die den Weg von der DNA zur Proteinbildung zeigen. Dieser Vorgang beginnt mit der Transkription, bei der bestimmte Abschnitte der DNA, die als protein-kodierende Gene bezeichnet werden, in *messenger Ribonukleinsäure* (mRNA) transkribiert werden. Die resultierenden mRNA-Moleküle, die zusammen als Transkriptom bekannt sind, enthalten die genetische Information für die Synthese von Proteinen [171]. In der folgenden Translation wird die Sequenz der mRNA verwendet, um eine Kette von Aminosäuren, bekannt als Polypeptidkette, zusammenzusetzen. Jede Aminosäure wird dabei durch eine spezifische Sequenz von drei Basen aus dem mRNA-Molekül codiert. Die entstehende Polypeptidkette durchläuft einen Prozess der Faltung, in dem sie eine spezifische dreidimensionale Struktur annimmt und schließlich ein funktionsfähiges Protein bildet.

6.2. FINGERPRINTING ALS LOKALISIERUNGSMETHODE

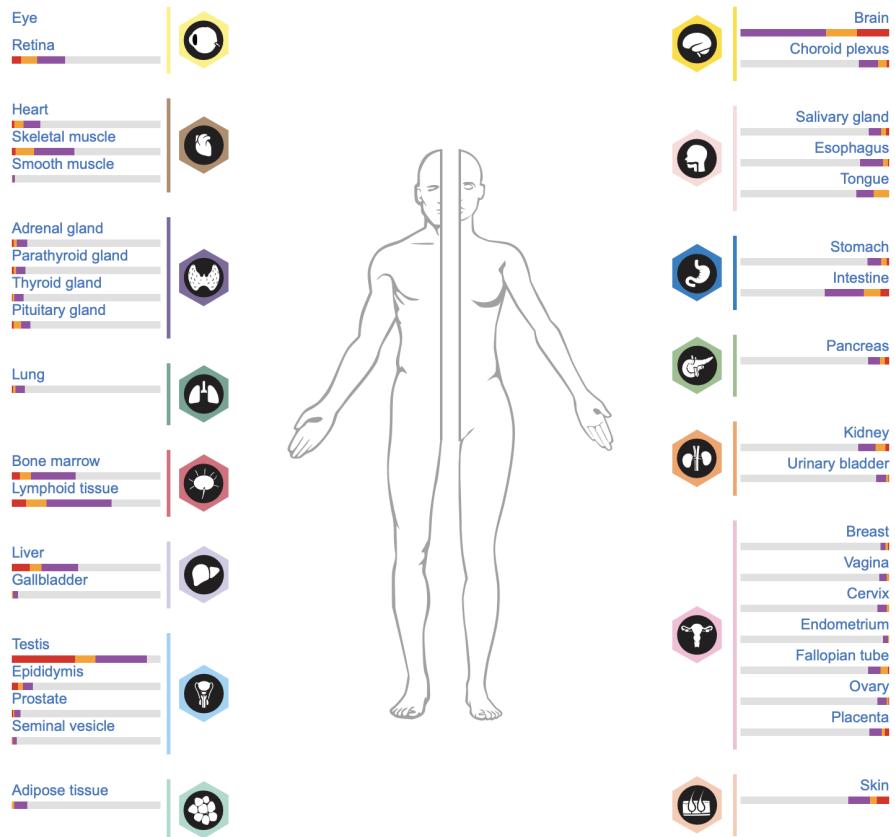


ABBILDUNG 6.7 – Übersicht der interaktiven Datenbank in der Expressionen aller protein-codierenden Gene in allen wesentlichen Geweben und Organen des menschlichen Körpers erkundet werden können, einschließlich zahlreicher Kataloge von Proteinen, die gewebespezifisch exprimiert werden. [173]

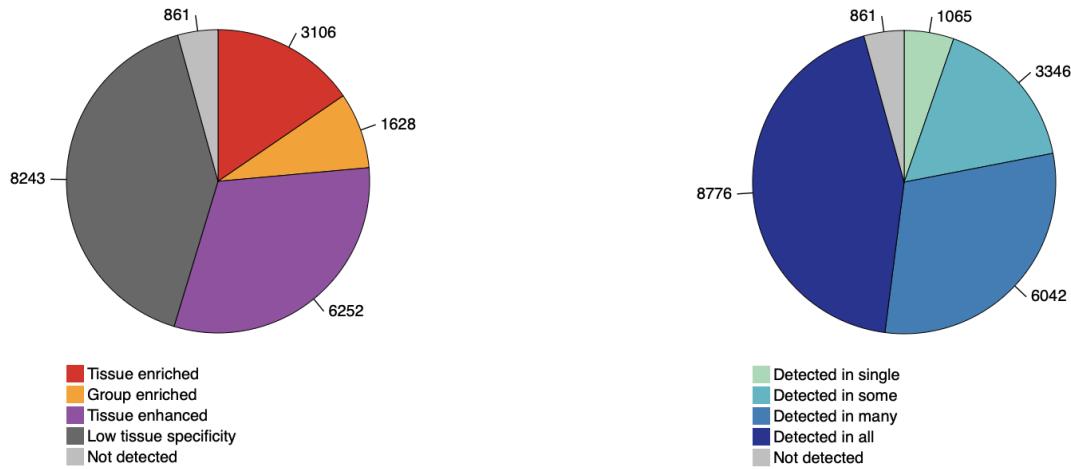
Während der Genotyp eines Organismus im Allgemeinen in allen seinen Zellen einheitlich ist, trifft dies nicht auf seinen Phänotyp zu [77]. Menschliche Gewebe und Zellen zeigen unterschiedliche Genexpressionsmuster, was zu spezifischen Proteomen für jeden Zelltyp und jedes Gewebe führt [127]. Die Analyse von Genexpressionsmustern in verschiedenen Geweben ermöglicht die Identifizierung ihrer jeweiligen Proteome. Der *Human Protein Atlas* (HPA) kategorisiert menschliche Gene basierend auf ihrer Spezifität für verschiedene Organe und Gewebe im gesamten Körper [127, 173]. Abbildung 6.7 zeigt die interaktive Datenbank mit Proteomdaten zu allen untersuchten Organen und Geweben. Damit erfüllt das Proteom alle in Abschnitt 6.2.1 festgestellten Kriterien. Durch den HPA liegen spezifische Informationen zu den wesentlichen Körperregionen vor, wobei alle relevanten Organe abgedeckt sind. Die Proteinprodukte können aufgrund ihrer Vielfalt für den Fingerprint so ausgewählt werden, dass sie eindeutig den Organen zugeordnet sind und unabhängig von externen Faktoren wie Krankheiten oder Aktivitäten bleiben.

6.3 DAS PROTEOM ALS ORGAN-FINGERPRINT

Mit der Einführung von Proteom-Fingerprints wird die Erkennung von Genprodukten betrachtet, die durch Genexpression entstehen, nämlich mRNA oder Proteine. Drei Möglichkeiten können erwogen werden, um Körperregionen klar voneinander zu unterscheiden: Entweder wird ein einziges Genprodukt gewählt, das ausschließlich in bestimmten Regionen vorhanden ist, es wird ein Genprodukt mit stark unterschiedlichen Konzentrationen in verschiedenen Regionen verwendet oder es wird eine eindeutige Kombination von Genprodukten zur sicheren Identifikation gefunden. In den folgenden Abschnitten wird verallgemeinernd die Bezeichnung Gene verwendet, dabei aber die zugrunde liegende Annahme beibehalten, dass die Erkennung der resultierenden Fingerprints die Genprodukte betrifft.

Bei der Auswahl der protein-kodierenden Gene für die Fingerprints werden die Verteilung, die Genexpressionsraten und die Gewebespezifität berücksichtigt. Uhlén et al. [97] veröffentlichten eine Datenbank, die mehr als 90 % der vermuteten protein-kodierenden Gene im HPA abdeckt [173]. Hierbei wurden zwei verschiedene Methoden zur Analyse verwendet: Immunhistochemie und RNA-Sequenzierung. Immunhistochemie ist eine Technik zur Untersuchung der Verteilung und Lokalisierung von Proteinen in Gewebeproben mithilfe von Antikörpern, die spezifisch an diese Proteine binden. RNA-Sequenzierung ist ein Verfahren zur Bestimmung der Sequenz von RNA-Molekülen in einer Probe, was Informationen über die Expression von Genen und die Menge spezifischer mRNA-Moleküle liefert. Durch Immunhistochemie an 44 menschlichen Geweben, ergänzt durch RNA-Sequenzierung an 37 von ihnen, wurden Protein- und mRNA-Expressionsdaten abgeleitet.

Von den etwa 20.000 menschlichen protein-kodierenden Genen zeigen rund 9.000 Gene eine geringe Gewebespezifität und repräsentieren das Hauskeeping-Proteom. Die anderen 11.000 Gene zeigen eine erhöhte Expression, also eine besondere Spezifität in bestimmten Geweben und lassen sich in (i) *Tissue enriched Gene* mit mRNA-Spiegeln in einem Gewebe, die mindestens viermal höher sind als der Höchstwert in jedem anderen Gewebe, (ii) *Group enriched Gene* mit viermal höheren mRNA-Spiegeln in einer kleinen Gruppe von Geweben und (iii) *Tissue enhanced Gene* mit mRNA-Spiegeln in einem bestimmten Gewebe, die mindestens viermal höher sind als der Durchschnittswert in allen anderen Geweben unterteilen. In Bezug auf die Verteilung können Gene (i) *Detected in single*, in einem einzigen Gewebe nachgewiesen werden, (ii) *Detected in some*, in einigen Geweben (mehr als eins, aber weniger als ein Drittel aller Gewebe), (iii) *Detected in many*, in vielen Geweben (mindestens ein Drittel, aber nicht alle) oder (iv) *Detected in all* in allen Geweben nachgewiesen werden. Die Verteilung veranschaulicht die Anzahl der Gene, die nachweisbare mRNA-Spiegel in verschiedenen Geweben aufweisen. Gene mit einer erhöhten Verteilung werden als *elevated Genes* bezeichnet. Abbildung 6.8 zeigt die Spezifität und Verteilung aller 20.090 protein-kodierenden Gene. Der Nachweis aktiver Gene erfolgt durch die Normalisierung der vorhandenen Transkriptomdaten aus verschiedenen Forschungsgruppen. Ein Gen hat nachweisbare mRNA-Moleküle, wenn der *normalisierte Ausdruck* (NX-Wert) größer als eins ist. [173]



(a) Spezifität: Die Verteilung aller Gene in den fünf Kategorien basierend auf der Transkriptspezifität.

(b) Detektion: Die Verteilung aller Gene in den fünf Kategorien basierend auf der Transkriptdetektion.

ABBILDUNG 6.8 – Spezifität und Verteilung transkribierter mRNA-Moleküle über alle gefundenen 20.090 protein-kodierenden Gene in allen 37 analysierten Geweben. [173]

6.3.1 ERSTELLUNG VON FINGERPRINTS: AUSWAHLALGORITHMUS

In der Datenbank sind 37 Gewebe repräsentiert. In den folgenden Untersuchungen liegt der Fokus auf den 18 Geweben, die in MEHLISSA (siehe Kapitel 4) bereits repräsentiert sind oder leicht abstrahiert werden können: Nebenniere, Gehirn, Speiseröhre, Gallenblase, Herz, Darm, Niere, Leber, Lunge, Bauchspeicheldrüse, Nebenschilddrüse, Hypophyse, Retina, Speicheldrüse, Magen, Schilddrüse, Zunge und Harnblase. Gene, die in den entsprechenden Geweben nicht vorhanden sind, und Gene mit geringer Gewebespezifität werden von vornherein aus dem Stichprobenraum ausgeschlossen, der zur Auswahl von Genen für die Fingerabdrücke verwendet wird. Tabelle 6.1 gibt einen Überblick über das Auftreten von Genen nach dem HPA in beispielhaft ausgewählten Organen.

Die elevated Genes können, wie bereits erläutert, hinsichtlich ihrer Verteilung in vier Gruppen unterteilt werden. Gene, die nur in einem einzigen Gewebe nachgewiesen werden, sind vorteilhaft, um möglichst eindeutige Fingerprints zu gewährleisten. Da nicht alle Organe ein oder mehrere Gene aus dieser Kategorie aufweisen, werden auch Gene, die in einigen Geweben nachgewiesen werden, in Betracht gezogen. Darüber hinaus ist es ebenfalls wichtig zu betrachten in welcher Menge die Genprodukte schlussendlich vorliegen. Ein Gen, das zwar detected in single ist, aber nur in sehr geringen Mengen vorkommt, ist beispielsweise nicht gut für einen Fingerprint geeignet. Tabelle 6.1 zeigt den Anteil der elevated Genes sowie die Anzahl der elevated Genes, die in einem einzelnen Gewebe und in einigen Geweben nachgewiesen wurden.

TABELLE 6.1 – Auftreten von Genen in beispielhaft ausgewählten Organen. Die Gewebenummern dienen zur Identifikation im Auswahlalgorithmus.

Gewebe (Nummer)	Detected	Elevated Genes	Detected in single	Detected in some
Gehirn (2)	16.465	2.587	33	685
Speiseröhre (3)	14.129	429	0	112
Herz (5)	14.409	387	3	123
Darm (6)	15.609	764	14	337
Niere (7)	14.823	413	8	182
Leber (8)	14.110	936	39	306
Lunge (9)	15.021	239	1	79
Magen (15)	14.707	159	1	91

Ein Vergleich der Gendaten aller relevanten Gewebe zeigte, dass keines der Gewebe eine vollständige Überlappung der elevated Genes aufweist. Damit ist es möglich eindeutige Kombinationen jeden Gewebes unter den elevated Genes zu finden. Für eine zuverlässige Lokalisierung sollte die Anzahl der Gene so hoch wie nötig, aber so niedrig wie möglich sein, um immer noch verlässliche Ergebnisse zu erhalten und um Detektionsraten in angemessenen Zeitrahmen zu erzielen. Zunächst wurde der Algorithmus mit fünf Genen für jeden Fingerprint getestet und dann die Anzahl der Gene schrittweise reduziert.

Das Schlüsselement für die Auswahl von Genen für die Fingerprints ist der Expressionsgrad, der im NX-Wert dargestellt wird. Gene mit einem NX-Wert von eins und höher gelten als nachweisbar. Je höher der NX-Wert, desto höher ist der mRNA-Spiegel eines Gens im jeweiligen Gewebe. Der *Tissue Specificity Score* (TSS) vergleicht das Gewebe mit dem höchsten mRNA-Spiegel eines Gens mit dem Gewebe mit dem zweithöchsten mRNA-Spiegel. Daher gibt der TSS eine Vorstellung davon, wie exklusiv hoch der mRNA-Spiegel ist. Für Gene, die nicht nur detected in single, sondern detected in some sind, liefert dieser Wert Informationen für die Gruppe der Gewebe. Da die Erkennung einzelner Gewebe anstreben, werden die verbleibenden geeigneten Gene für die Fingerprints nach ihren NX-Werten sortiert. Eine Sortierung nach TSS würde sonst die Gefahr mit sich bringen, dass mehrere Gewebe verwechselt werden können. Dadurch sind einige Gene, die in einem einzelnen Gewebe nachgewiesen wurden, aber einen niedrigen NX-Wert haben, nicht für den Fingerprint geeignet. Diese Kriterien erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer schnellen Erkennung und verringern die Wahrscheinlichkeit von falsch positiven Ergebnissen, wenn Gene in mehr als einem Gewebe vorhanden sind. Die Gene mit den höchsten Werten werden anschließend für die Fingerprints ausgewählt. Ein Matlab-Code wurde implementiert, um die Gendaten-Dateien zu lesen und die am besten geeigneten Fingerprints für verschiedene Szenarien zu finden. Tabelle 6.2 zeigt die Genkombination für den 5-Fingerprint des Herzens mit den entsprechenden Verteilungen, NX-Werten und TSS.

TABELLE 6.2 – Fingerprint des Herzens mit fünf Genen.

Gen	Gewebeverteilung	NX	TSS
NPPA	detected in some	1267.7	418
MYL4	detected in some	712.3	68
TNNT2	detected in some	679.2	241
MYL2	detected in some	656.7	11
MYH7	detected in some	644.7	6

6.3.2 BEWERTUNG VERSCHIEDENER FINGERPRINT-GRÖSSEN

Um eindeutige Fingerprints zu garantieren, müssen die durch den Algorithmus ausgewählten Fingerprint-Gene verglichen werden. Bei Verwendung von fünf Genen gibt es eine maximale Überlappung von einem Gen zwischen zwei Fingerprints, was allgemein einzigartige Genkombinationen sicherstellt. Eine Überschneidung von null Genen für die ausgewählten Fingerprints bleibt dennoch erstrebenswert. Im Anschluss erfolgt die Analyse, wie klein ein Fingerprint werden kann. Der Fingerprint sollte eindeutig sein, aber so klein wie möglich, da die kombinierte Erkennungswahrscheinlichkeit mit jedem Teilnehmer abnimmt. Um dies zu verdeutlichen und ein Optimum zu finden, werden vier verschiedene Metriken betrachtet: *Dominanz* (dominance), *Risiko* (risk), *Erkennungspotenzial* (detection potential) und *Zuversicht* (confidence). Im Folgenden werden hierfür einige essenzielle Definitionen vorgenommen.

Definition 1. Ein *Fingerprint* (F) ist eine Menge von n Genen, die als eindeutiger Identifikator eines Gewebes dienen, wenn sie von einem Nanogerät erkannt werden. $F(i)$ ist das i -te Gen, das den Fingerprint bildet.

Als Metrik zur Auswahl der am besten geeigneten Gene für den Fingerprint wird der NX-Wert in Betracht gezogen. Je höher der NX-Wert, desto höher ist der mRNA-Spiegel eines Gens im jeweiligen Gewebe. Dies bedeutet auch, dass bei höherem NX-Wert das Gen wahrscheinlicher von dem Nanogerät erkannt wird. Der NX-Wert wird daher verwendet, um nach dominanten Fingerprint-Kombinationen zu suchen.

Definition 2. $NX_{F(i)}$ ist der NX-Wert von $F(i)$.

Der durchschnittliche NX-Wert eines Gewebes gibt Informationen darüber, wie wahrscheinlich es ist, ein Gen dieses Gewebes im Allgemeinen zu erkennen.

Definition 3. NX_T ist die Summe aller Gene, die in *Gewebe* (T) vorhanden sind. \overline{NX}_T ist der durchschnittliche NX-Wert von *Gewebe* (T). Alle nachweisbaren Gene werden berücksichtigt.

Für den Fingerprint wird eine Dominanz über eins angestrebt, damit er eine überdurchschnittliche Präsenz in diesem Gewebe hat. Die NX-Werte der Teilnehmer werden multipliziert. Dadurch nimmt der Gesamtwert der Dominanz ab, wenn ein Gen des

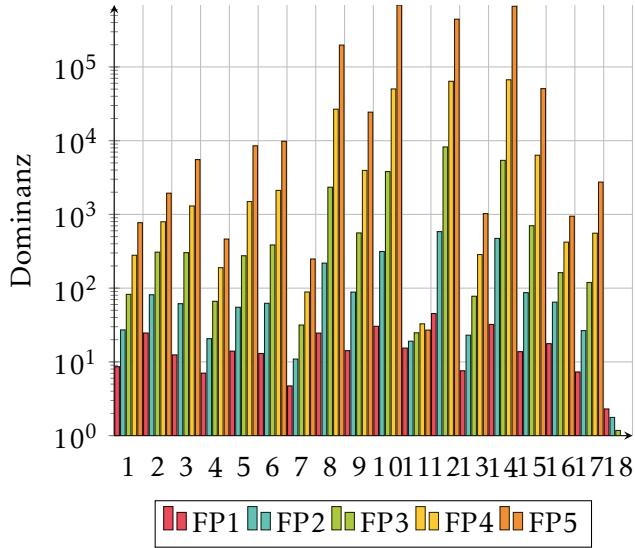


ABBILDUNG 6.9 – Dominanz pro Gewebe auf logarithmischer Skala für Fingerprints mit einem Gen bis zu fünf Genen. [16]

Fingerprints seltener in einem Gewebe vorkommt als der Durchschnitt. Um Vergleichbarkeit für verschiedene Stichprobengrößen zu erreichen, wird das Ergebnis durch die Anzahl der Fingerprint-Teilnehmer geteilt.

$$\text{Dominance}_F = \frac{\prod_{i=1}^n \frac{NX_{F(i)}}{\overline{NX}_{TF}}}{n} \quad (6.1)$$

Abbildung 6.9 zeigt die Dominanz pro Gewebe auf logarithmischer Skala und für verschiedene Fingerprint-Größen. Für die meisten Gewebe nimmt die Dominanz mit mehr verwendeten Genen zu, was bedeutet, dass alle enthaltenen Gene einen NX-Wert über dem Durchschnitt des Gewebes haben. Für Gewebe elf, die Nebenschilddrüse, bleibt die Dominanz nahezu gleich. Gewebe 18, die Harnblase, verliert an Dominanz mit größeren Fingerprints. Die 4- und 5-Fingerprints haben Dominanzwerte kleiner als eins, was bedeutet, dass die Fingerprint-Kombination im Gewebe nicht dominanter als der Durchschnitt ist. Es ist unwahrscheinlicher den Fingerprint in diesem Gewebe zu finden, als manch andere Kombination von vier oder fünf Genen dieses Gewebes. Das ist ein Grund, die Fingerprint-Größe zu reduzieren.

Der zweite Grund wird beim Betrachten des Erkennungspotenzials klar. Da die Fingerprints gleichzeitig erkannt werden müssen, muss nicht nur ihr Vorkommen im Verhältnis zum Durchschnitt, sondern auch ihr Vorkommen im Verhältnis zum Gesamtvolumen berücksichtigt werden. Dies spiegelt sich im Erkennungspotenzial wider.

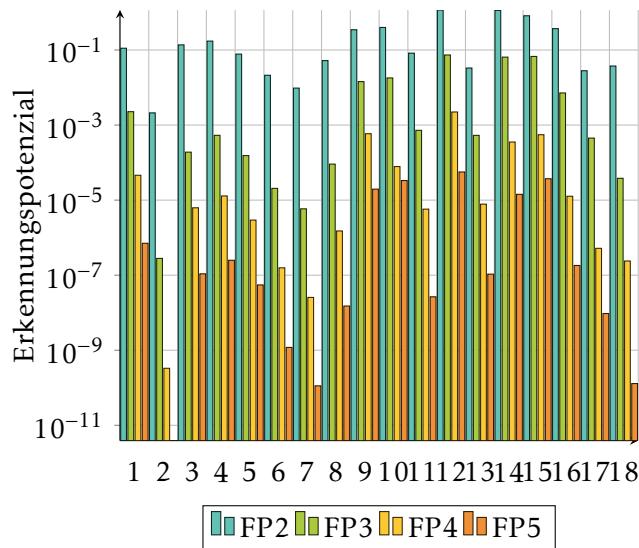


ABBILDUNG 6.10 – Erkennungspotenzial pro Gewebe auf logarithmischer Skala für Fingerprints mit einem Gen bis zu fünf Genen. [16]

$$\text{Potential}_F = \prod_{i=1}^n \frac{\text{NX}_{F(i)}}{\text{NX}_{T_F}} \quad (6.2)$$

Abbildung 6.10 zeigt das Erkennungspotenzial pro Gewebe auf logarithmischer Skala und für verschiedene Fingerprint-Größen. Es ist ersichtlich, dass die Wahrscheinlichkeit, größere Fingerprints zu finden, erheblich geringer ist. Mit jedem zusätzlichen Gen nimmt die Wahrscheinlichkeit im Durchschnitt um zwei Dezimalstellen ab.

Während die Dominanz die Empfindlichkeit eines Fingerprints anzeigt und das Potenzial die Erkennungswahrscheinlichkeiten veranschaulicht, muss garantiert werden, dass kein Risiko eines falsch positiven Ergebnisses besteht. Es wird ein Risiko von null angestrebt, was bedeutet, dass eine Kombination des verwendeten Fingerprints in keinem anderen Gewebe gefunden werden kann. Theoretisch würde laut Tabelle 6.1 in einigen Geweben, die Gene detected in single haben, ein einzelnes dieser Gene im Fingerprint ausreichen, um das Risiko auf null zu senken. Jedoch sind Gene mit niedrigen NX-Werten immer noch weniger geeignet als die Kombination von zwei (oder mehr) nicht detected single, aber in ihrer Kombination eindeutigen Genen. Im Fingerprint-Auswahlalgorithmus wie in Abschnitt 6.3.1 beschrieben, finden sich als Ergebnis für kleinere Fingerprint-Größen uneindeutige Fingerprints. Für die 1-Fingerprints gibt es sechs Gewebe mit einem Risiko einer falschen Identifikation. Für die 2- und 3-Fingerprints gibt es immer noch zwei Fingerprints, die vollständig in einem anderen Gewebe gefunden werden. Da das Ziel ist die für den Fingerprint verwendeten Gene zu reduzieren, um die Erkennungswahrscheinlichkeiten zu erhöhen, muss das Risiko in den kleineren Fingerprints auf null reduziert werden.

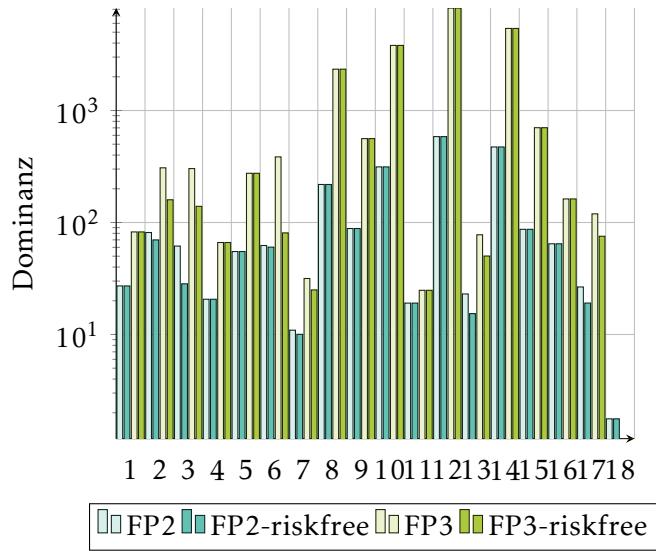


ABBILDUNG 6.11 – Dominanz von 2- und 3-Fingerprints vor und nach der Risikoreduktion. [16]

Der Fingerprint-Auswahlalgorithmus wird so angepasst, dass bei einem Risiko größer als null das Gen des Fingerprints durch das nächste Gen in der Reihe ersetzt wird und das Risiko neu bewertet wird, bis es in jedem Gewebe null ist. Um das Maß an Einzigartigkeit zu erhöhen, werden auch die Gene von Fingerprints mit teilweiser Überlappung ersetzt. Je kleiner die Anzahl der für einen Fingerprint verwendeten Gene ist, desto entscheidender wird die Funktion zur Risikoreduktion.

Abbildung 6.11 zeigt den Vergleich der Dominanz von Fingerprints mit zwei und drei Genen vor und nach der Risikoreduktion. Es ist feststellbar, dass die Risikoreduktion keinen signifikanten Einfluss auf die Dominanz hat. Daher erscheint die Algorithmusanpassung als eine angemessene Möglichkeit, die Spezifität zu verbessern, ohne die Sensitivität zu beeinträchtigen.

Um eine abschließende Entscheidung über die optimale Fingerprint-Größe zu treffen, wird sowohl die Dominanz als auch das Erkennungspotenzial der risikoreduzierten Fingerprints zusammen betrachtet und als Confidence_F bezeichnet.

$$\text{Confidence}_F = \text{Dominanz}_F \cdot \text{Potential}_F \quad (6.3)$$

Abbildung 6.12 zeigt, dass die Fingerprint-Größe von zwei für alle Gewebe am besten geeignet ist, da hier jedes Gewebe den maximalen Wert an Zuversicht erreicht. Fingerprints der Größe eins werden nicht berücksichtigt, da sie für viele Gewebe keine Reduzierung des Risikos auf null zulassen. 2-Fingerprints können das Gewebe klar identifizieren, haben eine relativ hohe Erkennungswahrscheinlichkeit und sind daher allen anderen Kombinationen vorzuziehen.

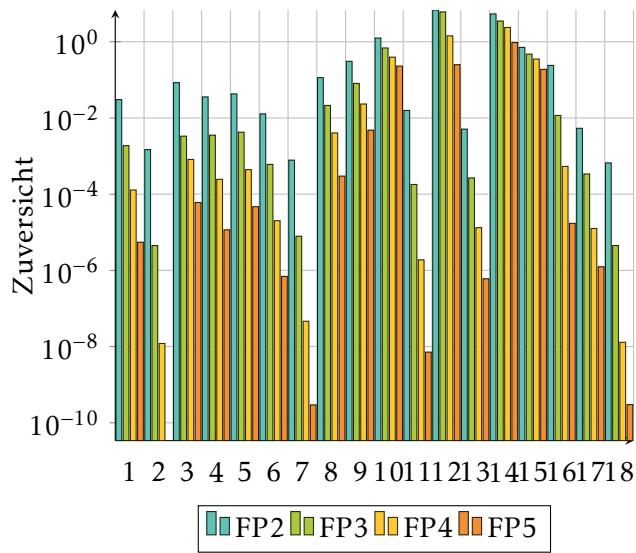


ABBILDUNG 6.12 – Zuversicht, den Fingerprint in angemessener Zeit und ohne Risiko von falsch positiven Ergebnissen zu finden. [16]

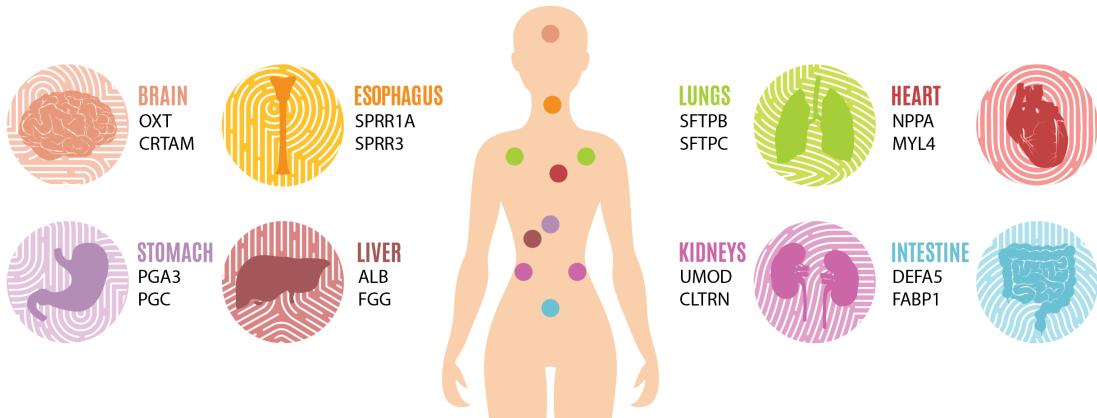


ABBILDUNG 6.13 – Proteom-Fingerprint acht großer Organe. Ergebnis des risikoreduzierten Fingerprint Auswahlalgorithmus. Die Abkürzungen stehen für die Gene wie sie im HPA hinterlegt sind. [16]

Abbildung 6.13 zeigt beispielhaft die Ergebnisse des risikoreduzierten Fingerprint Auswahlalgorithmus für acht große Organe. Die Abkürzungen stehen für die Gene wie sie im HPA hinterlegt sind.

6.4 ERKENNUNG VON FINGERPRINTS

Ein Konzept wird benötigt, um die beiden Gene der identifizierten Fingerprints zuverlässig und gleichzeitig zu erkennen. Ein vielversprechender Ansatz zur Lösung

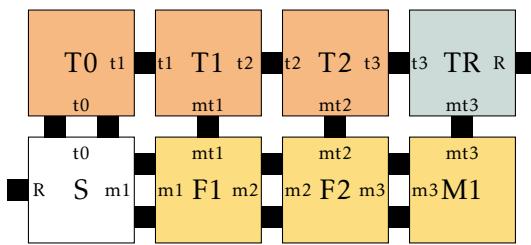


ABBILDUNG 6.14 – Ein vollständig zusammengebautes Nachrichtenmolekül, das einen Fingerprint repräsentiert. Das blaue Rand- und das weiße Seed-Tile stellen die Liganden dar, gelbe Tiles repräsentieren die erkannten Fingerprint-Genprodukte und Marker. [4]

dieses Problems sind DNA-basierte Nanonetzwerke und DNA-Tile-Nanoroboter, die ausführlich in Abschnitt 2.3 erläutert wurden.

6.4.1 EINSATZ VON DNA-BASIERTEN NANONETZWERKEN

DNA-Tile-Nanoroboter sind in der Lage, eine Vielzahl vorbestimmter DNA- oder RNA-Sequenzen zu erkennen. Ebenfalls ist es potenziell möglich Proteine durch sie detektieren zu lassen. Die erkannten Sequenzen können dann eine Ausschüttung von Tiles bewirken, die als Eingaben verwendet werden, um beispielsweise die Berechnung einer logischen UND-Operation durchzuführen (siehe Abschnitt 2.3.4). Dabei kann das DNA-basierte Nanonetzwerk sicherstellen, dass eine Anzahl zuvor festgelegter gleicher oder verschiedener RNA-Sequenzen vorhanden sein muss, damit eine Berechnung als „wahr“ ausgewertet wird. Es ist möglich, anstelle dessen eine Schwellenwertoperation durchzuführen, wie in [3] dargestellt.

Abbildung 6.14 zeigt ein beispielhaftes Assembly von DNA-Tiles, die ein *Nachrichtenmolekül* bilden. Das Nachrichtenmolekül hat die zuvor genannte logische AND-Operation auf zwei RNA-Molekülen F1 und F2 durchgeführt, die den Fingerprint eines Gewebes bilden. Das Molekül M1 repräsentiert einen zusätzlichen Marker, z. B. für eine Krankheit, die in dem Bereich, der durch den Fingerprint $F1 + F2$ identifiziert wird, erkannt werden soll. Die Bildung des Nachrichtenmoleküls erfolgt nur vollständig, wenn alle drei Tiles $F1$, $F2$ und $M1$ vorhanden sind. Jedes dieser Tiles gibt das Vorhandensein einer spezifischen RNA-Sequenz oder eines Krankheitsmarkers an und kann bedingt von zum Beispiel DNA-Tile-Nanorobotern (siehe Abschnitt 2.3.3) freigesetzt werden.

Der Ablauf von Erkennung der Marker über Ausschüttung der Tiles, Bildung des Nachrichtenmoleküls und eine darauf folgende Reaktion sind in Abbildung 6.15 dargestellt. Im ersten Schritt findet die Bindung der Fingerprint Genprodukte und Krankheitsmarker an zum Beispiel DNA-Tile-Nanoroboter statt, die sich daraufhin öffnen (vergleiche Abbildung 2.10). Durch die Öffnung werden konditionale Tiles freigesetzt und bilden wie beschrieben in Anwesenheit der weiteren Bausteine ein Nachrichtenmolekül.

Sobald das Nachrichtenmolekül vollständig selbst zusammengebaut ist, wurde das gesuchte Gewebe eindeutig identifiziert. Dieses Nachrichtenmolekül kann im dritten

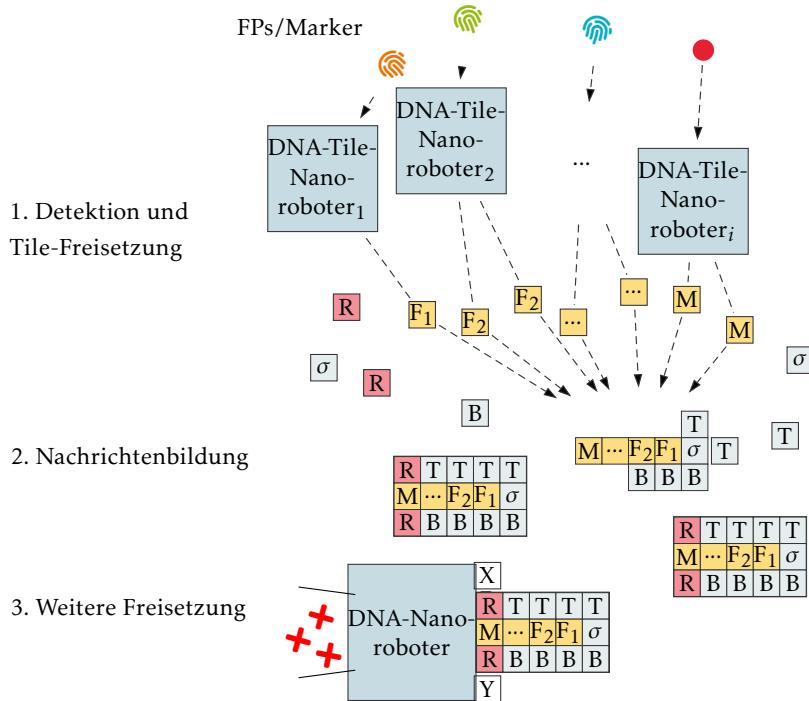


ABBILDUNG 6.15 – Proteom-Fingerprinting und gleichzeitige Erkennung eines Krankheitsmarkers mithilfe von DNA-Nanonetzwerken. Abbildung abgewandelt aus [9].

Schritt von anderen Nanogeräten über DNA- oder RNA-Bindungen erkannt werden. Im Anwendungsfall der Targeted Drug Delivery könnte dieses Molekül als Schlüssel dienen, um eine mit Medikamenten beladene DNA-Box zu öffnen, die ihre Nutzlast nur im Zielgewebe freisetzt. Eine andere Anwendung ist, dass das Nachrichtenmolekül an Nanogeräte bindet, die die erfolgreiche Erkennung eines Krankheitsmarkers und den im Nachrichtenmolekül kodierten Ort nach außen weiter kommunizieren.

Basierend auf diesem Konzept des Nachrichtenmoleküls wurde der Self-Assembly-Prozess mithilfe des *Kinetic Two-Handed Tile Assembly Model Moduls* (ktHAM-Modul) des *Netzwerk Tile-Assembly Simulators* (NetTAS-Simulator) simuliert¹, um die Assembly-Dauer zu bestimmen [21, 28]. Der ktHAM nimmt mehrere Tiletypen sowie deren Anzahl als Eingabe entgegen und simuliert die Interaktion zwischen allen Molekülen und Zwischen-Assembly-Produkten gleichzeitig, um alle Fehlerquellen zu berücksichtigen.

6.4.2 BERECHNUNG DER FINGERPRINT-GENPRODUKTE

Da die Anzahl aller beteiligten Komponenten für die Simulation im NetTas-Simulator bekannt sein muss, wurde die Menge an Fingerprint-Genprodukten in den jeweiligen

¹ <https://nettas.itm.uni-luebeck.de/home>

Zellen des Zielgewebes geschätzt. Die einzigen möglichen Hinweise, die dafür vorliegen, sind die NX-Werte aus der vorherigen Analyse. Der NX-Wert gibt Auskunft über die Menge des genetischen Materials, das in der Zelle vorhanden ist. Da der NX des Fingerprint-Gens (NX_F) und die Summe aller messbaren Gene in der Gewebezelle (NX_T) bekannt ist, können diese Werte verwendet werden. Die Literatur besagt, dass die Gesamtmenge an mRNA in einer Zelle ungefähr 0,1 pg beträgt [87]. Unter Verwendung dieses Wertes kann die mRNA-Masse des Fingerprints proportional in Gleichung (6.4) abgeschätzt werden. Da der NX nicht genau der Menge entspricht, sondern normiert ist, kann nur eine Schätzung in Relation zueinander stattfinden. Für den Zweck einer allgemeinen, groben Klassifizierung von Erkennungszeiten sollte diese Schätzung dennoch ausreichen.

1. Anteil der mRNA-Masse in den Fingerprints

$$\begin{aligned} m_{\text{mRNA_F}} &= \frac{NX_F}{NX_T} \times m_{\text{mRNA_total}} \\ &= \frac{NX_F}{NX_T} \times 0,1 \times 10^{-12} \text{ g} \end{aligned} \quad (6.4)$$

Anschließend muss die molekulare Masse der mRNA des Fingerprints bestimmt werden. Dies kann durch Untersuchung der exakten Basensequenz des jeweiligen Gens geschehen [181]. Um die Berechnung jeder einzelnen Base zu vermeiden, kann das maximale Gewicht der mRNA abgeschätzt werden, indem die Anzahl der Nukleotide (NT) in der Sequenz mit dem Gewicht der schwersten Base multipliziert wird, die Guanin mit 329,2 Dalton ist (Gleichung (6.5)) [103].

2. Molekulare Masse der mRNA in den Fingerprints

$$\begin{aligned} M_{mRNA_F} &= NT_F \times M_{\text{Guanin}} \\ &= NT_F \times 329,2 \times 10^{-3} \text{ g/mol} \end{aligned} \quad (6.5)$$

Um die Stoffmenge in der Zelle zu bestimmen, muss die Masse der Fingerprint-mRNA (m_{mRNA_F}) durch ihre molare Masse (M_{mRNA_F}) dividiert werden (Gleichung (6.6)).

3. Stoffmenge

$$n_F = \frac{m_{mRNA_F}}{M_{mRNA_F}} \approx 10^{-21} \text{ mol} \quad (6.6)$$

Im letzten Schritt wird die Anzahl der so abgeschätzten Teilchen in der Zelle berechnet, indem die Stoffmenge in Mol mit der Avogadro-Konstanten multipliziert wird (Gleichung (6.7)). Für alle 36 betrachteten Gene ergibt dies einen Bereich von 201 Teilchen (CASR) bis 25173 Teilchen (SMR3B). Der Mittelwert der Fingerprint-Teilchen beträgt 7460. Die verwendeten Werte und Ergebnisse der Berechnungen sind in Tabelle 6.3 zusammengefasst.

4. Anzahl der Teilchen

$$\begin{aligned}
 N_F &= n_F \times N_A \\
 &= n_F \times 6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1} \\
 &\approx 201 - 25173 \text{ Teilchen pro Zelle}
 \end{aligned} \tag{6.7}$$

Die Anzahl der geschätzten Teilchen entspricht nicht zwangsläufig der Anzahl der Fingerprint-Tiles die nach Detektion ausgeschüttet werden. Interessant ist dennoch hierbei die Relation unter den Fingerprint-Genen zueinander. Fingerprints mit hoher Teilchenanzahl führen zu einer häufigeren Erkennung und vermehrten Tile-Ausschüttung, sofern nicht anders regulierend eingegriffen wird. Von Interesse ist folglich in den NetTAS-Simulationen weniger die absolute Simulationsdauer, sondern die relative. Sie dient dazu, eine erste Orientierung zu geben, mit was für Zeiträumen für die Nachrichtenbildung zu rechnen ist und welche Fingerprints aufgrund ihres erhöhten Vorkommens etwas schneller detektiert werden können, als andere.

6.4.3 SIMULATION DER NACHRICHTENMOLEKÜLE IM NETTAS-SIMULATOR

Für die Simulation im ktHAM-Modul des NetTAS-Simulators wird die berechnete Anzahl von Teilchen verwendet. Diese wird als Vereinfachung direkt korreliert mit der Menge an ausgeschütteten Tiles der entsprechenden Fingerprints F1 und F2 des Zielgewebes. Für alle anderen Tiles wird als Näherung die durchschnittliche Konzentration aller Fingerprint-Teilchen angenommen. Dies entspricht 7460 verfügbaren Tiles je Tileytyp.

Tabelle 6.3 zeigt die relevanten Parameter für die Berechnungen und die Ergebnisse der Simulation. Die Anzahl der verfügbaren RNA-Sequenzen variiert je nach Gewebe um den Faktor 100. Wenn wenige Fingerprint-Tiles vorhanden sind, steigt die Assembly-Dauer signifikant an.

Abbildung 6.16 zeigt die resultierenden Assembly-Zeiten in Sekunden mit Balkendiagrammen. Obwohl der Unterschied zwischen dem schnellsten und dem langsamsten Nachrichtenmolekül mehr als 20 Sekunden beträgt, liegt die Dauer des Gesamtprozesses für alle Fingerprints in einem angemessenen Zeitrahmen.

Es wurde bereits eine Reihe von Wetlab-Experimenten mit Tiles durchgeführt, dennoch ist teilweise unklar, wie gut sich die Simulationsergebnisse in echte Experimente übertragen lassen. Die ktHAM-Simulation bietet das fortgeschrittenste Tile-Assembly-Simulationsmodell, das derzeit verfügbar ist. Dennoch könnten große Unterschiede zwischen Simulation und realen Experimenten bestehen. Als Beispiel wird angenommen, dass die Umgebungstemperatur konstant ist, während echte Experimente oft wechselnde Perioden von relativer Hitze und Kälte verwenden, um ein erfolgreiches Assembly zu gewährleisten [120]. Trotzdem sollten die Ergebnisse einen realistischen Einblick vermitteln, was zu erwarten ist, wie ein Vergleich zwischen [145] und [28] zeigt.

TABELLE 6.3 – Die Fingerprints, ihre Gene, die NX-Werte des Fingerprints, die Summe aller messbaren Gene in der Gewebezelle, die Länge der Nukleotidsequenz, die molekulare Masse des Fingerprint-Gens, die resultierende Anzahl von Tiles, die Assembly-Dauer und die Simulations-schritte, als Ergebnisse der NetTAS-Simulation.

Finger-print	Gen	NX_F	NX_T	NT	M_{mRNA_F}	#	Dauer (s)	Dauer (Schritte)
FP1	CYP17A1	425,4	11261,0	1750	577500	3939	20.3	4004
	STAR	311,3		2565	846450	1967		
FP2	TTR	1008	105797,0	616	203280	2823	26.61	5000
	OXT	232		513	169290	780		
FP3	SPRR1A	495	26881,8	648	213840	5186	16.47	3564
	SPRR3	855,8		984	324720	5904		
FP4	TFF2	361,8	8278,8	603	198990	13226	26.1	5800
	MUC5B	301,7		17911	5910630	371		
FP5	NPPA	1267,7	35052,3	855	282150	7719	19.4	5150
	MYL4	712,3		197	65010	18824		
FP6	ALDOB	804,1	47278,9	2420	798600	1283	11.75	2393
	DEFA5	574		454	149820	4880		
FP7	UMOD	237	22581,4	2315	763950	827	26.9	4908
	ALDOB	253,1		2420	798600	845		
FP8	ALB	3075,8	117140,5	2285	754050	2097	21.71	4180
	FGG	2225,7		1565	516450	2216		
FP9	SFTPB	757,8	12757,5	2129	702570	5092	15.99	3746
	SFTPC	664,5		857	282810	11091		
FP10	PRSS2	6267,9	87061,3	809	266970	16240	19.08	5398
	CLPS	4260,9		538	177540	16601		
FP11	PTH	963,9	14032,5	791	261030	15847	33.62	7666
	CASR	155,3		10062	3320460	201		
FP12	PRL	1739,5	13577,2	1013	334290	23080	13.43	4236
	GH1	994,5		823	271590	16242		
FP13	TYRP1	227	16970,1	2896	955680	843	19.15	3859
	TTR	332,4		616	203280	5803		
FP14	SMR3B	6520	64570,9	732	241560	25173	21.67	7219
	STATH	5940,6		679	224070	24726		
FP15	PGA3	1048,8	12123,7	1613	532290	9787	17.18	4224
	PGC	963,7		1371	452430	10580		
FP16	TG	994,3	11199,5	8455	2790150	1916	23.64	4463
	TPO	411,3		4090	1349700	1639		
FP17	TNNI2	527	31860,4	751	247830	4019	20.29	4017
	ACTA1	523		1491	492030	2009		
FP18	DHRS2	120,7	5195,8	1676	553080	2529	17.74	3461
	UPK1A	80,6		1265	417450	2238		

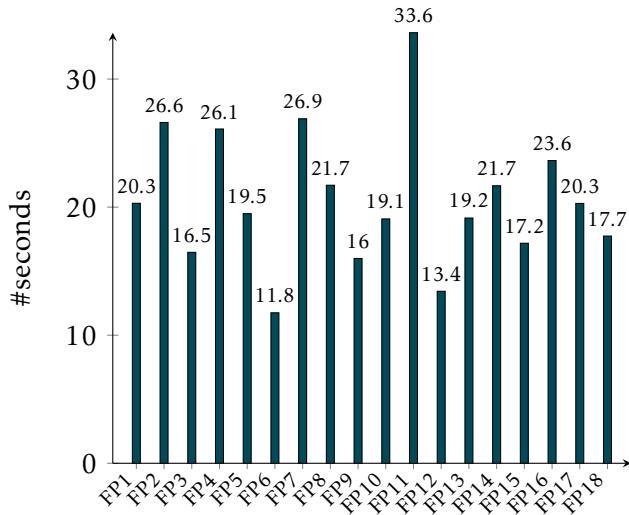


ABBILDUNG 6.16 – Die unterschiedlichen Assembly-Dauern für jedes Fingerprint-Nachrichtenmolekül in Sekunden. Das schnellste Moleköl wurde in etwa elf Sekunden fertiggestellt, während solche mit weniger verfügbaren Tiles manchmal bis zu 33 Sekunden benötigen. [4]

6.5 SIMULATION DER LOKALISIERUNG

Dank der Tile-Assembly-Simulation ist bekannt, wie lange es dauert, ein Nachrichtenmoleköl zu bauen, das einen gewünschten Marker an der vom Fingerprint bestimmten Stelle findet. An dieser Stelle könnte beispielsweise ein Entzündungsmarker wie Interleukin-6 vorhanden sein, der ausschließlich im entzündeten Gewebe aktiv ist. Die Simulationen dienen dazu, den Zeitraum von der Injektion der Nanogeräte bis zur gleichzeitigen Erkennung eines Fingerprints und eines Krankheitsmarkers zu bestimmen. Anschließend wird die Kommunikation dieser Erkennung nach außen evaluiert. Dabei werden drei Schritte durchgeführt siehe Abbildung 6.15):

1. *Nanolokatoren* sind Nanogeräte bzw. DNA-Tile-Nanoroboter, die Zielgewebe oder Krankheitsmarker erkennen können. Sie erreichen den Zielort und setzen die spezifischen Tiles mit denen sie beladen sind frei.
2. Das Nachrichtenmoleköl bildet sich am Zielort in Anwesenheit beider Fingerprint- und Markertiles. Der Zeitrahmen für die Dauer der Nachrichtenbildung wurde bereits simuliert (Werte siehe Tabelle 6.3).
3. Weitere spezialisierte Nanogeräte z.B. DNA-Nanoroboter, sogenannte *Nanokollektoren* sammeln die Nachrichtenmoleküle ein und kommunizieren die Erkennung eines Ereignisses nach außen.

Die Simulation dieser Schritte in MEHLISSA liefert für jedes Organ und jeden Fingerprint eine Einschätzung darüber, wie lange es von der Injektion der Nanogeräte bis zum

Lesen eines Detektionssignals am Handgelenk dauert. Das Auslesen des Signals könnte durch Biosensoren oder neuartige Smartwatches geschehen (siehe Abschnitt 3.2.1).

6.5.1 UMSETZUNG IN MEHLISSA

Im Folgenden werden die Anpassungen in MEHLISSA für die Simulation der Fingerprint-Erkennung mit dem beschriebenen Ablauf eingeführt. In MEHLISSA werden Nanogeräte passiv im Blutstrom vorangetrieben und passieren dabei zehn große Organe und alle Extremitäten. Dies ist von grundlegender Bedeutung für die Überprüfung der Anwendbarkeit des Fingerprint-Lokalisierungsprinzips mithilfe von Nanogeräten. Im ersten Schritt wurde bestimmt, welche der Fingerprint-Gewebe, die in den vorherigen Abschnitten analysiert wurden, im Körpermodell ohne Anpassungen direkt repräsentiert sind.

TABELLE 6.4 – Die Zuordnung von Fingerprints und ihren Geweben zu den Organen in MEHLISSA.

Fingerprint	FP-Gewebe	Organ Index	Organname
FP3	Speiseröhre	24	Brust & Rücken
FP5	Herz	58 & 2	Herz
FP6	Darm	39	Darm
FP7	Niere	40	Niere
FP8	Leber	36	Leber
FP9	Lunge	61	Lunge
FP12	Hypophyse	9	Kopf
FP15	Magen	30	Magen
FP18	Harnblase	51 & 47	Becken/Genitalien

Die Erkennung dieser neun Gewebe kann daher mithilfe der bereits bekannten Fingerprints simuliert werden. In den aktuellen Nanogeräten (Klasse Nanobots) in MEHLISSA noch Funktionen, die für das Fingerprint-Erkennungsmodell erforderlich sind. Daher werden die Nanobots um zwei Klassen erweitert: Nanolokatoren (Klasse Nanolocator) und Nanokollektoren (Klasse Nanocollector).

6.5.1.1 NANOLOKATOREN UND NANOKOLLEKTOREN

Nachfolgend werden die beiden neuen Klassen in MEHLISSA und ihre Implementierung durch Attribute und Methoden in Klammern hinter der Beschreibung der Funktionalität erläutert. Vollständige Klassendiagramme sind im Anhang zu finden. Eine Übersicht aller Klassen in MEHLISSA ist in Abbildung 4.13 gezeigt. Nanolocator und Nanocollector sind spezialisierte Nanogeräte und erben deshalb von der Klasse Nanobots.

Die Nanolokatoren sind bei der Injektion mit Tiles beladen, die spezifisch für ein bestimmtes Zielorgan (`targetOrgan`) sind und daher die Fingerprint-Spezifität (`hasFingerprint`) besitzen. Diese Tiles sind darauf ausgelegt, sich nach der Freisetzung im

Zielgewebe, in Anwesenheit sowohl der Fingerprint-Gene als auch des Marker-Moleküls, selbstständig zu einem Nachrichtenmolekül zusammenzubauen. Die für dieses Assembly erforderliche Zeit (`fingerprintFormationTime`) wurde in Abschnitt 6.4.3 bestimmt. Die Freisetzung der Tiles im Zielgewebe (`releaseFingerprintTiles()`) erfolgt ausgelöst durch das Vorhandensein der beiden Fingerprint-Gene. Der Nanolokator könnte wie bereits erwähnt ein DNA-Tile-Nanoroboter sein, der lose versiegelt ist und durch die Fingerprint-Gene geöffnet werden kann. Dann werden die Tiles freigesetzt, und wenn das Marker-Molekül ebenfalls vorhanden ist, bildet sich die Nachricht im vorher simulierten Zeitraum.

Sobald die Nachricht gebildet ist, hält das Gewebe (`Bloodvessel`) die Nachrichten (es können viele sein) (`hasActiveFingerprintMessage`), die dann von einem Nanokollektor gesammelt werden können. Der Nanokollektor ist ebenfalls auf ein spezifisches Organ ausgelegt (`targetOrgan`), was es ihm ermöglicht, Nachrichten nur aus diesem Gewebe zu sammeln (`collectMessage()`). Darüber hinaus bewegt er sich mit halber Geschwindigkeit (`delay`) durch den Blutkreislauf, weil Nanokollektoren im Gegensatz zu Nanolokatoren wahrscheinlich größer und komplexer sind. Die erhöhte Größe und Komplexität sind voraussichtlich notwendig, damit sie erfolgreiche Detektionen (`tissueDetected`) extern kommunizieren können.

Schließlich, wenn der Nanokollektor das Fingerprint-Nachrichtenmolekül gesammelt hat und das Handgelenk passiert, wird das erkannte Ereignis nach außen kommuniziert. In dem vorgestellten Entzündungsszenario wäre dann bekannt, in welchem Gewebe die Entzündung aktiv ist. Aber auch für viele andere Anwendungsfälle wie in Abschnitt 3.4 besprochen, wäre die Lokalisierung von großem Vorteil.

6.5.1.2 IMPLEMENTIERUNG DER FINGERPRINT-FUNKTIONALITÄT

Neben der Einführung der Klassen `Nanolocator` und `Nanocollector` müssen noch weitere Anpassungen in MEHLISSA vorgenommen werden. In der Klasse `Bloodcircuit` werden nicht nur die Gefäßmodelle und Übergangswahrscheinlichkeiten eingelesen, sondern auch noch die Fingerprint-Nachrichtenmolekülbildungszeiten. Die Methoden `SetTransitionProbabilities` und `SetFingerprintTimes` lesen Wahrscheinlichkeiten für Übergänge zwischen Blutgefäßen und Bildungszeiten von Fingerprints für bekannte Organe aus entsprechenden CSV-Dateien ein, falls diese vorhanden sind.

Die Klasse `Bloodvessel` verwaltet außerdem, wie im vorherigen Abschnitt angedeutet, die Fingerprint-Funktionalität und kann die Bildung von Fingerprints überwachen und steuern. Sie verfolgt die Zeit (`fingerprintFormationTime`), die benötigt wird, um Nachrichtenmoleküle nach der Freisetzung durch `Nanolocator` zu bilden, und kann feststellen, ob Fingerprints aktiv sind (`hasActiveFingerprintMessage`).

Außerdem verwaltet `Bloodvessel` eine Timerfunktionalität für Fingerprints. Bei Freisetzung der Tiles wird ein für das Gewebe spezifischer Timer mit der `fingerprintFormationTime` gestartet. Die Methode `TimerCallback` wird aufgerufen, wenn der Timer abläuft und die Bildung eines Fingerprints abgeschlossen ist.

In der Simulation setzen Nanolokatoren ihre geladenen Tiles einmalig frei, wenn sie ihr Zielgewebe passieren. Nach Ablauf der Nachrichtenbildungszeit liegt das Nachrichtenmolekül im Gewebe vor und wird von Nanokollektoren eingesammelt, wenn diese wiederum ihr Zielgewebe durchqueren. Haben sie ein Nachrichtenmolekül geladen und finden sich in einem der nächsten Herz-Kreislauf-Zyklen im Handgelenk wieder, wird die erfolgreiche Detektion des Gewebes erfasst. Ähnlich wie bei dem Szenario der kontinuierlichen Gesundheitsüberwachung in Abschnitt 5.2 wird an dieser Stelle die Auslesung der Nachrichten in der Simulation als erste Vereinfachung vernachlässigt, da sie für alle Lokalisierungsprozesse konstant sein wird. Eine Erweiterung des Szenarios um diesen Schritt für realistischere Gesamtlokalisierungszeiten ist dennoch geplant.

6.5.2 ERGEBNISSE

Die beschriebene Simulation wurde für verschiedene Zeitintervalle und mit unterschiedlichen Anzahlen von Nanokollektoren und Nanolokatoren durchgeführt. Der Ausgabedatensatz von MEHLISSA, der als CSV-Datei bereitgestellt wird, wurde mithilfe eines MATLAB-Skripts weiter analysiert. Die Ergebnisse einer dreistündigen Simulation mit 1000 Nanolokatoren und entweder 1000 Nanokollektoren oder 10.000 Nanokollektoren sind in Tabelle 6.5 dargestellt. Beide Arten von Nanogeräten werden gleichmäßig auf die Zielorgane verteilt, sodass in diesen Fällen jedem Gewebe jeweils 111 Nanokollektoren und entweder 111 oder 1111 Nanolokatoren zugewiesen sind.

TABELLE 6.5 – Ergebnisse der Simulation für drei Stunden mit 1000 Nanolokatoren und 1000 oder 10000 Nanokollektoren

Organ	Lokalisations-zeit (s)	Fingerprint-Bildung (s)	Erfassungszeit (s)	
			1000 NC	10000 NC
Brust	40	16,47	559	223
Herz	24	19,4	90	91
Darm	41	11,75	231	152
Niere	40	26,9	240	177
Leber	40	21,71	489	182
Lunge	25	15,99	209	91
Kopf	41	13,43	351	158
Magen	39	17,18	250	220
Becken	46	17,74	944	245

Die Anzahl von 111 Nanolokatoren pro Gewebe erweist sich als ausreichend, da die verstrichene Zeit bis zum ersten Lokalisierungsvorgang bereits minimal ist. Diese Zeit repräsentiert die tatsächliche Dauer, die erforderlich ist, damit die anfänglichen Nanolokatoren vom Injektionsort (linke Armvene – Gefäß 64) zu ihren jeweiligen Organen gelangen. Diese Dauer ist für das Herz und die Lunge relativ kurz, mit jeweils 24 bzw. 25 Sekunden, während sie für die anderen Gewebe von 39 bis 46 Sekunden reicht.

Die Erfassungszeit ist die Zeit von der Injektion aller Nanogeräte bis zur Erfassung einer Nachricht durch einen Nanokollektor und anschließender Meldung am Handgelenk. Beim Betrachten der Erfassungszeit wird deutlich, dass 111 Nanokollektoren manchmal nicht ausreichen um angemessene Erfassungszeiträume zu bewirken. Für das Herz ist die Zeit von der Injektion bis zum Lesen minimal bei 90 Sekunden und kann nicht weiter verbessert werden. Für alle anderen Gewebe führt eine Verzehnfachung der Anzahl von Nanokollektoren zu einer signifikanten Verbesserung. Dies liegt hauptsächlich daran, dass das BVS-Modell 23 Gabelungen in den Arterien enthält, die oft mehrere Umläufe erfordern, bevor ein aktiver Nanokollektor tatsächlich bei der Smartwatch im Handgelenk ankommt. Je mehr Nanokollektoren eingesetzt werden, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass einige zeitnah den richtigen Weg finden. Wenn die Anzahl jedoch weiter erhöht wird, zum Beispiel auf 20.000 Nanokollektoren, lässt die verbesserte Wirkung nach. Für viele Gewebe bleibt die Erfassungszeit gleich. Nur für den Magen, die Leber und die Niere verbessern sich die Zeiten geringfügig. Die Verbesserung beträgt im besten Fall weniger als eine Minute. Im Magen reduziert sich die Zeit von knapp unter vier auf fast drei Minuten. Der massiv erhöhte Einsatz an Kollektoren lohnt sich dennoch nicht. Denkbar wäre wenn dann nur eine weitere Erhöhung der Nanokollektoren für eine geringe Auswahl an Geweben. Allgemein scheint die optimale Anzahl von Nanokollektoren aber bei 10.000 zu liegen. Beim Einsatz von 10.000 Kollektoren ergeben sich Erfassungszeiten von eineinhalb (Lunge, Herz) bis etwas über vier Minuten (Becken) für alle Organe von der Injektion bis zum Lesen.

Im Anwendungsfall der Entzündungslokalisierung sollte den ermittelten Erfassungszeiten das alternative Vorgehen in der Notaufnahme gegenüber gestellt werden. Hier muss zunächst eine Blutprobe entnommen werden. In der Blutprobe werden dann Entzündungsmarker festgestellt. Die Dauer der Untersuchung einer Blutprobe in der Notaufnahme kann je nach den spezifischen Umständen und dem Zweck der Untersuchung variieren. In der Regel dauert es jedoch im Schnitt zwei Stunden, um die Ergebnisse einer Blutprobe zu erhalten [193]. Sind die Werte erhöht muss im Anschluss weitere Diagnostik erfolgen um den Ursprung der Entzündung auszumachen. Bei Frauen und Schmerzen im Unterbauch müssen dann beispielsweise Entzündungen der reproduktiven Organe und der Verdauungsorgane untersucht werden, was wiederum die Konsultation zweier Fachgebiete miteinschließt und zu weiteren Verzögerungen in der Diagnostik führen kann. Im Falle der Lokalisation der Entzündung innerhalb von wenigen Minuten mittels der spezialisierten Nanogeräte, wäre demnach ein signifikanter Fortschritt in der Präzisionsmedizin gegeben.

Neben der Betrachtung der Zeit, die für die erste Kommunikation nach außen benötigt wird, kann untersucht werden, wie sich die Nanolokatoren im Verlauf verhalten und wie lange es dauert, bis alle Nanolokatoren geleert sind.

Die Abbildungen 6.17 bis 6.19 zeigen die Freisetzung der Fingerprint-Tiles aus den Nanolokatoren im zeitlichen Simulationsverlauf. Abbildung 6.17 zeigt die initialen Lokalisierungsergebnisse im Herzen und in den Lungen. Da alle Nanolokatoren bei jedem Umlauf sowohl durch das Herz als auch durch die Lungen fließen, werden fast

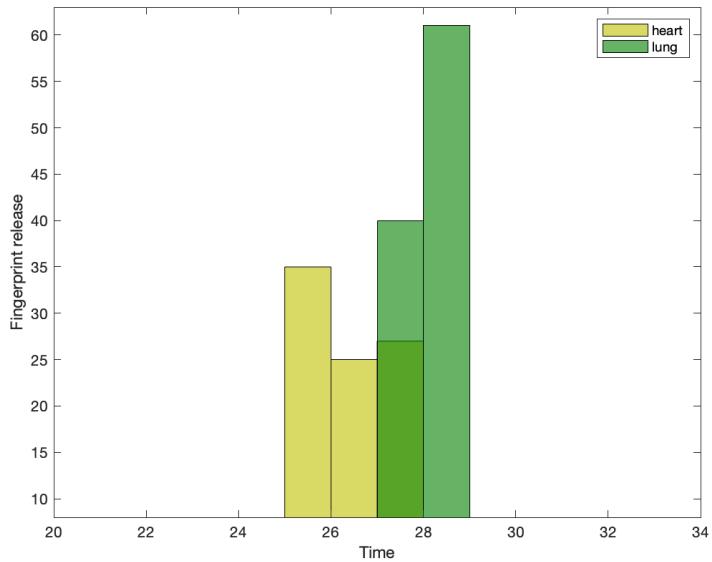


ABBILDUNG 6.17 – Freisetzung der Fingerprint-Tiles innerhalb der ersten 34 Simulationssekunden. Die ersten Detektionen erfolgen im Herzen und in den Lungen. [4]

alle Locator-Tiles der beiden Organe beim ersten Durchlauf entladen. Im Fall der Lungen werden alle 111 Nanolokatoren nach 29 Sekunden entleert. Für das Herz sind 94 von 111 Nanolokatoren nach 27 Sekunden entleert. Hier bleiben wenige gefüllt, die das Herz zu schnell passieren und dann während eines späteren Umlaufs entleert werden.

Abbildung 6.18 veranschaulicht die Freisetzung innerhalb der ersten vier Minuten, aufgeschlüsselt nach den jeweiligen Organen. Hier ist erneut die schnelle Entleerung der Tiles im Herzen und in den Lungen zu Beginn zu sehen, gefolgt von den anderen Organen, wobei jeweils zwischen 39 und 46 Sekunden für die ersten Lokalisierungereignisse benötigt werden. Im Laufe der Zeit wird deutlich, dass alle sieben verbleibenden Organe regelmäßig von ihren Nanolokatoren besucht werden und es dadurch zu Fingerprint-Freisetzungen kommt.

In Abbildung 6.19 ist der gewählte Simulationsausschnitt noch größer. Gezeigt sind die Entleerungen über alle Organe hinweg aufsummiert im Verlauf einer Stunde. Hier ist eine hohe Frequenz von Entleerungseignissen in den ersten zehn Minuten erkennbar, die allmählich abnimmt und nach 25 Minuten deutlich abnimmt. Nach einer Stunde sind bis auf 34 Nanolokatoren alle entleert. Eine weitere Stunde später (hier nicht dargestellt) bleiben noch neun gefüllt, und nach insgesamt fünf Stunden sind alle Fingerprints freigesetzt. Dies liefert eine gute Schätzung für die obere Grenze der Wirksamkeit der Nanogeräte nach Verabreichung. Fünf Stunden scheinen ein angemessener Zeitrahmen zu sein. Es wird nicht erwartet, dass die Erkennung verbleibender Nachrichtenmoleküle noch viel länger andauert, da keine neuen Nachrichtenmoleküle mehr gebildet werden.

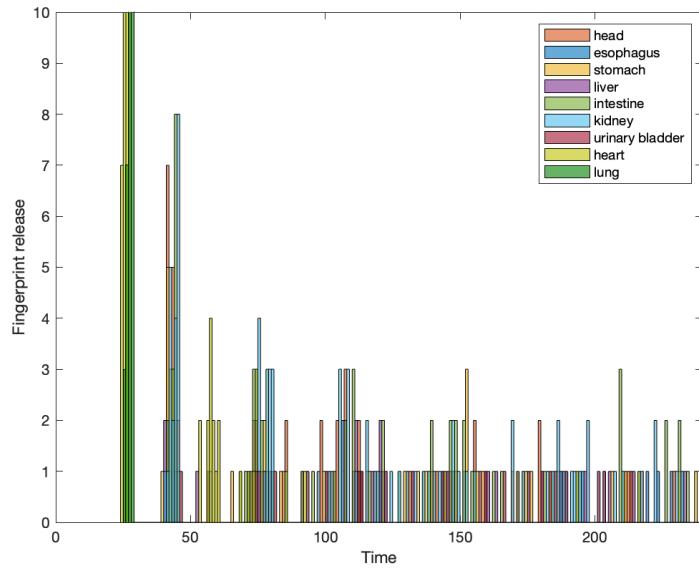


ABBILDUNG 6.18 – Freisetzung der Fingerprint-Tiles innerhalb der ersten vier Simulationsminuten. Die y-Achse ist bei zehn Ereignissen abgeschnitten, um einen besseren Überblick zu gewährleisten. In Herz und Lunge werden tatsächlich zwischen 25 und 60 Freisetzungen gezählt. [4]

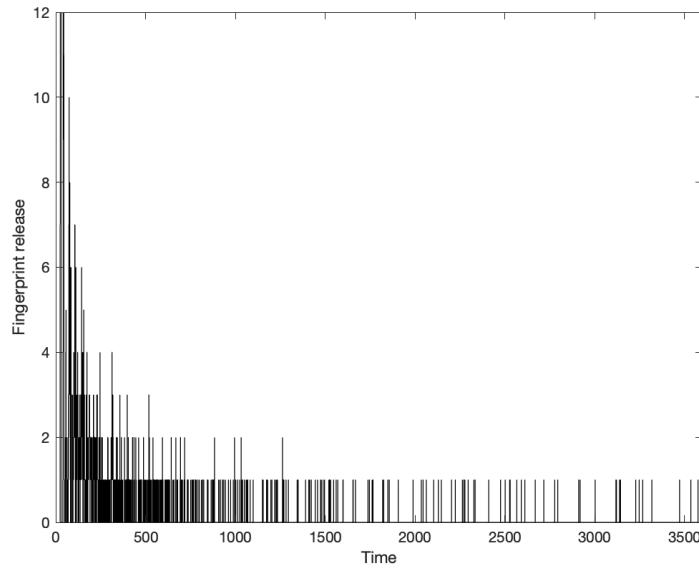


ABBILDUNG 6.19 – Freisetzung der Fingerprint-Tiles innerhalb der ersten Stunde akkumuliert über alle Organe. Die y-Achse ist bei zwölf Ereignissen abgeschnitten, um einen besseren Überblick zu gewährleisten. [4]

Die Simulation bringt erste vielversprechende Hinweise für den erfolgreichen Einsatz von Proteom-Fingerprinting als Lokalisationsmethode von Nanogeräten. Um die Fingerprint-Bildung von der Simulation auf die tatsächliche Anwendung an Patient*innen zu überführen, müssen dennoch zusätzliche Schritte unternommen werden. Die korrekte Bindung und Messung der Fingerprints im Allgemeinen beruhen auf der chemischen Anziehung zwischen dem Nanogerät und den Genprodukten. Weitere Forschungen zur biologischen Struktur und Bindungsaffinität der Fingerprints, abhängig vom Nanogerättyp und der Detektionsmethode, sowohl theoretisch als auch in Wetlab-Experimenten, sind notwendig. Darüber hinaus muss die Verwendung von DNA-Tile-Nanorobotern und DNA-basierten Nanonetzwerken in Wetlab-Experimenten und letztendlich in klinischen Studien weiter getestet werden. Die Grundfunktionalität von DNA-Boxen wurde bereits im Labor demonstriert. Der nächste Schritt wäre, die kontrollierte Tile-Freisetzung und Nachrichtenbildung an spezifischen Orten *in vitro* dann irgendwann auch *in vivo* zu untersuchen.

ANHANG A

ZUSÄTZLICHE TABELLEN UND UML DIAGRAMME

TABELLE A.1 – Gezeigt sind die Indizes der Organe und Gefäße sowie deren Namen. Der Start- und Endpunkt der Gefäße ist mit Koordinaten gegeben. Außerdem sind aus den Koordinaten berechnete Längen und Winkel aufgelistet.

Index	Name	Start	Ende	Länge	Winkel
1	Aorta ascendens	(0 , 0 , 2)	(-6 , 8 , 2)	10.00	126.87
2	Linkes Herz	(0 , 0 , -2)	(0 , 0 , 2)	4.00	
3	Truncus brachiocephalica	(-6 , 8 , 2)	(-12 , 15 , 2)	9.22	130.60
4	Arcus Aorta 1	(-6 , 8 , 2)	(-3 , 8 , 2)	3.00	0.00
5	A subclavia (d)	(-12 , 15 , 2)	(-20 , 17 , 2)	8.25	165.96
6	A carotis communis (d)	(-12 , 15 , 2)	(-5 , 44 , 2)	29.83	76.43
7	A carotis communis (s)	(-3 , 8 , 2)	(-5 , 44 , 2)	36.06	93.18
8	Arcus Aorta 2	(-3 , 8 , 2)	(0 , 8 , 2)	3.00	0.00
9	Kopf	(-5 , 44 , 2)	(-5 , 44 , -2)	4.00	
10	A axillaris (d)	(-20 , 17 , 2)	(-30 , 8 , 2)	13.45	-138.01
11	Rechte Schulter	(-20 , 17 , 2)	(-20 , 17 , -2)	4.00	
12	A subclavia (s)	(0 , 8 , 2)	(10 , 17 , 2)	13.45	41.99
13	Aorta thoratica	(0 , 8 , 2)	(-2 , -3 , 2)	11.18	-100.30
14	A brachialis (d)	(-30 , 8 , 2)	(-30 , -18 , 2)	26.00	-90.00
15	Rechter Oberarm	(-30 , 8 , 2)	(-30 , 8 , -2)	4.00	
16	A axillaris (s)	(10 , 17 , 2)	(20 , 8 , 2)	13.45	-41.99
17	Linke Schulter	(10 , 17 , 2)	(10 , 17 , -2)	4.00	
18	A intercostales posteriores	(-2 , -3 , 2)	(12 , -4 , 2)	14.04	-4.09
19	Aorta abdominalis 1	(-2 , -3 , 2)	(-5 , -14 , 2)	11.40	-105.26
20	A radialis ulnaris (d)	(-30 , -18 , 2)	(-30 , -43 , 2)	25.00	-90.00
21	Rechter Ellenbogen	(-30 , -18 , 2)	(-30 , -18 , -2)	26.00	
22	A brachialis (s)	(20 , 8 , 2)	(20 , -18 , 2)	26.00	-90.00
23	Linker Oberarm	(20 , 8 , 2)	(20 , 8 , -2)	4.00	
24	Brust und Rücken	(12 , -4 , 2)	(12 , -4 , -2)	4.00	

ANHANG A. ZUSÄTZLICHE TABELLEN UND UML DIAGRAMME

Index	Name	Start	Ende	Länge	Winkel
25	A splenica	(-5 , -14 , 2)	(1 , -14 , 2)	6.00	0.00
26	Aorta abdominalis 2	(-5 , -14 , 2)	(-5 , -16 , 2)	2.00	-90.00
27	Rechte Hand	(-30 , -43 , 2)	(-30 , -43 , -2)	4.00	
28	A radialis ulnaris (s)	(20 , -18 , 2)	(20 , -43 , 2)	25.00	-90.00
29	Linker Unterarm	(20 , -18 , 2)	(20 , -18 , -2)	4.00	
30	Magen	(1 , -14 , 2)	(1 , -14 , -2)	4.00	
31	Aorta abdominalis 3	(-5 , -16 , 2)	(-5 , -20 , 2)	4.00	-90.00
32	A hepatica communis	(-5 , -16 , 2)	(-13 , -16 , 2)	8.00	180.00
33	Linke Hand	(20 , -43 , 2)	(20 , -43 , -2)	4.00	
34	Aorta abdominalis 4	(-5 , -20 , 2)	(-5 , -24 , 2)	4.00	-90.00
35	A mesenterica	(-5 , -20 , 2)	(-14 , -20 , 2)	9.00	180.00
36	Leber	(-13 , -16 , 2)	(-13 , -16 , -2)	4.00	
37	A renalis	(-5 , -24 , 2)	(3 , -24 , 2)	8.00	0.00
38	A iliaca communis	(-5 , -24 , 2)	(-5 , -29 , 2)	5.00	-90.00
39	Darm	(-14 , -20 , 2)	(-14 , -20 , -2)	4.00	
40	Nieren	(3 , -24 , 2)	(3 , -24 , -2)	4.00	
41	A iliaca communis (s)	(-5 , -29 , 2)	(0 , -33 , 2)	6.40	-38.66
42	A iliaca communis (d)	(-5 , -29 , 2)	(-10 , -33 , 2)	6.40	-141.34
43	A iliaca interna (s)	(0 , -33 , 2)	(13 , -28 , 2)	13.93	21.04
44	A iliaca externa (s)	(0 , -33 , 2)	(13 , -41 , 2)	15.26	-31.61
45	A iliaca interna (d)	(-10 , -33 , 2)	(-23 , -28 , 2)	13.93	158.96
46	A iliaca externa (d)	(-10 , -33 , 2)	(-23 , -41 , 2)	15.26	-148.39
47	Linkes Becken u. Genitalien	(13 , -28 , 2)	(13 , -28 , -2)	4.00	
48	A femoris (s)	(13 , -41 , 2)	(13 , -78 , 2)	37.00	-90.00
49	Linke Hüfte	(13 , -41 , 2)	(13 , -41 , -2)	4.00	
50	A femoris (d)	(-23 , -41 , 2)	(-23 , -78 , 2)	37.00	-90.00
51	Rechtes Becken u. Genitalien	(-23 , -28 , 2)	(-23 , -28 , -2)	4.00	
52	Rechte Hüfte	(-23 , -41 , 2)	(-23 , -41 , -2)	4.00	
53	A poplitea tibialis (s)	(13 , -78 , 2)	(13 , -131 , 2)	53.00	-90.00
54	Linkes Knie	(13 , -78 , 2)	(13 , -78 , -2)	4.00	
55	A poplitea tibialis (d)	(-23 , -78 , 2)	(-23 , -131 , 2)	53.00	-90.00
56	Rechtes Knie	(-23 , -78 , 2)	(-23 , -78 , -2)	4.00	
57	Truncus pulmonalis	(-4 , 4 , 2)	(-14 , 4 , 2)	10.00	180.00
58	Rechtes Herz	(-4 , 4 , -2)	(-4 , 4 , 2)	4.00	
59	Linker Fuß	(13 , -131 , 2)	(13 , -131 , -2)	4.00	
60	Rechter Fuß	(-23 , -131 , 2)	(-23 , -131 , -2)	4.00	
61	Lunge	(-14 , 4 , 2)	(-14 , 4 , -2)	4.00	
62	V poplitea tibialis (s)	(13 , -131 , -2)	(13 , -78 , -2)	53.00	90.00
63	V poplitea tibialis (d)	(-23 , -131 , -2)	(-23 , -78 , -2)	53.00	90.00
64	V basilica cephalica (s)	(20 , -43 , -2)	(20 , -18 , -2)	25.00	90.00
65	V basilica cephalica (d)	(-30 , -43 , -2)	(-30 , -18 , -2)	25.00	90.00
66	V femoris (s)	(13 , -78 , -2)	(13 , -41 , -2)	37.00	90.00
67	V femoris (d)	(-23 , -78 , -2)	(-23 , -41 , -2)	37.00	90.00
68	V brachialis (s)	(20 , -18 , -2)	(20 , 8 , -2)	26.00	90.00
69	V brachialis (d)	(-30 , -18 , -2)	(-30 , 8 , -2)	26.00	90.00
70	V iliaca interna (s)	(13 , -28 , -2)	(0 , -33 , -2)	13.93	-158.96
71	V iliaca externa (s)	(13 , -41 , -2)	(0 , -33 , -2)	15.26	148.39
72	V iliaca interna (d)	(-23 , -28 , -2)	(-10 , -33 , -2)	13.93	-21.04
73	V iliaca externa (d)	(-23 , -41 , -2)	(-10 , -33 , -2)	15.26	31.61
74	V axillaris (s)	(20 , 8 , -2)	(10 , 17 , -2)	13.45	138.01
75	V axillaris (d)	(-30 , 8 , -2)	(-20 , 17 , -2)	13.45	41.99
76	V Splenica	(1 , -14 , -2)	(-8 , -18 , -2)	9.85	-156.04

Index	Name	Start	Ende	Länge	Winkel
77	V mesenterica	(-14 , -20 , -2)	(-8 , -18 , -2)	6.32	18.43
78	V iliaca communis (s)	(0 , -33 , -2)	(-5 , -29 , -2)	6.40	141.34
79	V iliaca communis (d)	(-10 , -33 , -2)	(-5 , -29 , -2)	6.40	38.66
80	V subclavia (s)	(10 , 17 , -2)	(2 , 15 , -2)	8.25	-165.96
81	V jugularis interna (s)	(-5 , 44 , -2)	(2 , 15 , -2)	29.83	-76.43
82	V subclavia (d)	(-20 , 17 , -2)	(-12 , 15 , -2)	8.25	-14.04
83	V jugularis interna (d)	(-5 , 44 , -2)	(-12 , 15 , -2)	29.83	-103.57
84	V portae hepatis	(-8 , -18 , -2)	(-13 , -16 , -2)	5.39	158.20
85	V iliaca communis	(-5 , -29 , -2)	(-5 , -24 , -2)	5.00	90.00
86	V renalis	(3 , -24 , -2)	(-5 , -24 , -2)	8.00	180.00
87	V azygos	(12 , -4 , -2)	(-5 , 8 , -2)	20.81	144.78
88	V brachiocephalica (s)	(2 , 15 , -2)	(-5 , 8 , -2)	9.90	-135.00
89	V brachiocephalica (d)	(-12 , 15 , -2)	(-5 , 8 , -2)	9.90	-45.00
90	V hepatica communis	(-13 , -16 , -2)	(-5 , -16 , -2)	8.00	0.00
91	V cava inferior 1	(-5 , -24 , -2)	(-5 , -16 , -2)	8.00	90.00
92	V cava superior	(-5 , 8 , -2)	(-4 , 4 , -2)	4.12	-75.96
93	V cava inferior 2	(-5 , -16 , -2)	(-4 , 4 , -2)	20.02	87.14
94	V pulmonalis	(-14 , 4 , -2)	(0 , 0 , -2)	14.56	-15.95

TABELLE A.2 – Gezeigt sind die Indizes der Organe und Gefäße, gefolgt von den Start- und Endpunkten der Gefäße beim Modell der Frau und beim Mann.

Index	Start Frau	Ende Frau	Start Mann	Ende Mann
1	(0, 0, 2)	(-6, 8, 2)	(0, 0, 2)	(-6, 8, 2)
2	(0, 0, -2)	(0, 0, 2)	(0, 0, -2)	(0, 0, 2)
3	(-6, 8, 2)	(-12, 14, 2)	(-6, 8, 2)	(-12, 16, 2)
4	(-6, 8, 2)	(-3, 8, 2)	(-6, 8, 2)	(-3, 8, 2)
5	(-12, 14, 2)	(-19, 16, 2)	(-12, 16, 2)	(-21, 18, 2)
6	(-12, 14, 2)	(-5, 42, 2)	(-12, 16, 2)	(-5, 46, 2)
7	(-3, 8, 2)	(-5, 42, 2)	(-3, 8, 2)	(-5, 46, 2)
8	(-3, 8, 2)	(0, 8, 2)	(-3, 8, 2)	(0, 8, 2)
9	(-5, 42, 2)	(-5, 42, -2)	(-5, 46, 2)	(-5, 46, -2)
10	(-19, 16, 2)	(-29, 8, 2)	(-21, 18, 2)	(-31, 8, 2)
11	(-19, 16, 2)	(-19, 16, -2)	(-21, 18, 2)	(-21, 18, -2)
12	(0, 8, 2)	(10, 16, 2)	(0, 8, 2)	(10, 18, 2)
13	(0, 8, 2)	(-2, -3, 2)	(0, 8, 2)	(-2, -3, 2)
14	(-29, 8, 2)	(-29, -17, 2)	(-31, 8, 2)	(-31, -19, 2)
15	(-29, 8, 2)	(-29, 8, -2)	(-31, 8, 2)	(-31, 8, -2)
16	(10, 16, 2)	(19, 8, 2)	(10, 18, 2)	(21, 8, 2)
17	(10, 16, 2)	(10, 16, -2)	(10, 18, 2)	(10, 18, -2)
18	(-2, -3, 2)	(12, -4, 2)	(-2, -3, 2)	(12, -4, 2)
19	(-2, -3, 2)	(-5, -13, 2)	(-2, -3, 2)	(-5, -15, 2)
20	(-29, -17, 2)	(-29, -41, 2)	(-31, -19, 2)	(-31, -45, 2)
21	(-29, -17, 2)	(-29, -17, -2)	(-31, -19, 2)	(-31, -19, -2)
22	(19, 8, 2)	(19, -17, 2)	(21, 8, 2)	(21, -19, 2)
23	(19, 8, 2)	(19, 8, -2)	(21, 8, 2)	(21, 8, -2)
24	(12, -4, 2)	(12, -4, -2)	(12, -4, 2)	(12, -4, -2)
25	(-5, -13, 2)	(1, -13, 2)	(-5, -15, 2)	(1, -15, 2)
26	(-5, -13, 2)	(-5, -15, 2)	(-5, -15, 2)	(-5, -17, 2)
27	(-29, -41, 2)	(-29, -41, -2)	(-31, -45, 2)	(-31, -45, -2)

ANHANG A. ZUSÄTZLICHE TABELLEN UND UML DIAGRAMME

Index	Start Frau	Ende Frau	Start Mann	Ende Mann
28	(19, -17, 2)	(19, -41, 2)	(21, -19, 2)	(21, -45, 2)
29	(19, -17, 2)	(19, -17, -2)	(21, -19, 2)	(21, -19, -2)
30	(1, -13, 2)	(1, -13, -2)	(1, -15, 2)	(1, -15, -2)
31	(-5, -15, 2)	(-5, -19, 2)	(-5, -17, 2)	(-5, -21, 2)
32	(-5, -15, 2)	(-12, -15, 2)	(-5, -17, 2)	(-14, -17, 2)
33	(19, -41, 2)	(19, -41, -2)	(21, -45, 2)	(21, -45, -2)
34	(-5, -19, 2)	(-5, -23, 2)	(-5, -21, 2)	(-5, -25, 2)
35	(-5, -19, 2)	(-13, -19, 2)	(-5, -21, 2)	(-15, -21, 2)
36	(-12, -15, 2)	(-12, -15, -2)	(-14, -17, 2)	(-14, -17, -2)
37	(-5, -23, 2)	(3, -23, 2)	(-5, -25, 2)	(3, -25, 2)
38	(-5, -23, 2)	(-5, -28, 2)	(-5, -25, 2)	(-5, -30, 2)
39	(-13, -19, 2)	(-13, -19, -2)	(-15, -21, 2)	(-15, -21, -2)
40	(3, -23, 2)	(3, -23, -2)	(3, -25, 2)	(3, -25, -2)
41	(-5, -28, 2)	(0, -32, 2)	(-5, -30, 2)	(0, -34, 2)
42	(-5, -28, 2)	(-10, -32, 2)	(-5, -30, 2)	(-10, -34, 2)
43	(0, -32, 2)	(12, -27, 2)	(0, -34, 2)	(14, -29, 2)
44	(0, -32, 2)	(12, -39, 2)	(0, -34, 2)	(14, -43, 2)
45	(-10, -32, 2)	(-22, -27, 2)	(-10, -34, 2)	(-24, -29, 2)
46	(-10, -32, 2)	(-22, -39, 2)	(-10, -34, 2)	(-24, -43, 2)
47	(12, -27, 2)	(12, -27, -2)	(14, -29, 2)	(14, -29, -2)
48	(12, -39, 2)	(12, -75, 2)	(14, -43, 2)	(14, -81, 2)
49	(12, -39, 2)	(12, -39, -2)	(14, -43, 2)	(14, -43, -2)
50	(-22, -39, 2)	(-22, -75, 2)	(-24, -43, 2)	(-24, -81, 2)
51	(-22, -27, 2)	(-22, -27, -2)	(-24, -29, 2)	(-24, -29, -2)
52	(-22, -39, 2)	(-22, -39, -2)	(-24, -43, 2)	(-24, -43, -2)
53	(12, -75, 2)	(12, -126, 2)	(14, -81, 2)	(14, -136, 2)
54	(12, -75, 2)	(12, -75, -2)	(14, -81, 2)	(14, -81, -2)
55	(-22, -75, 2)	(-22, -126, 2)	(-24, -81, 2)	(-24, -136, 2)
56	(-22, -75, 2)	(-22, -75, -2)	(-24, -81, 2)	(-24, -81, -2)
57	(-4, 4, 2)	(-13, 4, 2)	(-4, 4, 2)	(-15, 4, 2)
58	(-4, 4, -2)	(-4, 4, 2)	(-4, 4, -2)	(-4, 4, 2)
59	(12, -126, 2)	(12, -126, -2)	(14, -136, 2)	(14, -136, -2)
60	(-22, -126, 2)	(-22, -126, -2)	(-24, -136, 2)	(-24, -136, -2)
61	(-13, 4, 2)	(-13, 4, -2)	(-15, 4, 2)	(-15, 4, -2)
62	(12, -126, -2)	(12, -75, -2)	(14, -136, -2)	(14, -81, -2)
63	(-22, -126, -2)	(-22, -75, -2)	(-24, -136, -2)	(-24, -81, -2)
64	(19, -41, -2)	(19, -17, -2)	(21, -45, -2)	(21, -19, -2)
65	(-29, -41, -2)	(-29, -17, -2)	(-31, -45, -2)	(-31, -19, -2)
66	(12, -75, -2)	(12, -39, -2)	(14, -81, -2)	(14, -43, -2)
67	(-22, -75, -2)	(-22, -39, -2)	(-24, -81, -2)	(-24, -43, -2)
68	(19, -17, -2)	(19, 8, -2)	(21, -19, -2)	(21, 8, -2)
69	(-29, -17, -2)	(-29, 8, -2)	(-31, -19, -2)	(-31, 8, -2)
70	(12, -27, -2)	(0, -32, -2)	(14, -29, -2)	(0, -34, -2)
71	(12, -39, -2)	(0, -32, -2)	(14, -43, -2)	(0, -34, -2)
72	(-22, -27, -2)	(-10, -32, -2)	(-24, -29, -2)	(-10, -34, -2)
73	(-22, -39, -2)	(-10, -32, -2)	(-24, -43, -2)	(-10, -34, -2)
74	(19, 8, -2)	(10, 16, -2)	(21, 8, -2)	(10, 18, -2)
75	(-29, 8, -2)	(-19, 16, -2)	(-31, 8, -2)	(-21, 18, -2)
76	(1, -13, -2)	(-8, -17, -2)	(1, -15, -2)	(-8, -19, -2)
77	(-13, -19, -2)	(-8, -17, -2)	(-15, -21, -2)	(-8, -19, -2)
78	(0, -32, -2)	(-5, -28, -2)	(0, -34, -2)	(-5, -30, -2)
79	(-10, -32, -2)	(-5, -28, -2)	(-10, -34, -2)	(-5, -30, -2)

Index	Start Frau	Ende Frau	Start Mann	Ende Mann
80	(10, 16, -2)	(2, 14, -2)	(10, 18, -2)	(2, 16, -2)
81	(-5, 42, -2)	(2, 14, -2)	(-5, 46, -2)	(2, 16, -2)
82	(-19, 16, -2)	(-12, 14, -2)	(-21, 18, -2)	(-12, 16, -2)
83	(-5, 42, -2)	(-12, 14, -2)	(-5, 46, -2)	(-12, 16, -2)
84	(-8, -17, -2)	(-12, -15, -2)	(-8, -19, -2)	(-14, -17, -2)
85	(-5, -28, -2)	(-5, -23, -2)	(-5, -30, -2)	(-5, -25, -2)
86	(3, -23, -2)	(-5, -23, -2)	(3, -25, -2)	(-5, -25, -2)
87	(12, -4, -2)	(-5, 8, -2)	(12, -4, -2)	(-5, 8, -2)
88	(2, 14, -2)	(-5, 8, -2)	(2, 16, -2)	(-5, 8, -2)
89	(-12, 14, -2)	(-5, 8, -2)	(-12, 16, -2)	(-5, 8, -2)
90	(-12, -15, -2)	(-5, -15, -2)	(-14, -17, -2)	(-5, -17, -2)
91	(-5, -23, -2)	(-5, -15, -2)	(-5, -25, -2)	(-5, -17, -2)
92	(-5, 8, -2)	(-4, 4, -2)	(-5, 8, -2)	(-4, 4, -2)
93	(-5, -15, -2)	(-4, 4, -2)	(-5, -17, -2)	(-4, 4, -2)
94	(-13, 4, -2)	(0, 0, -2)	(-15, 4, -2)	(0, 0, -2)
95	(0, 0, 2)	(-4, 4, 2)	(0, 0, 2)	(-4, 4, 2)

Nanobot
<ul style="list-style-type: none"> - m_nanobotID : int - m_length : double - m_width : double - m_stream_nb : int - m_node : Ptr<Node> - m_shouldChange : bool - m_timeStep : Time <ul style="list-style-type: none"> + Nanobot() + ~Nanobot() + Compare(v1 : Ptr<Nanobot>, v2 : Ptr<Nanobot>) : bool + GetNanobotID() : int + SetNanobotID(value : int) : void + GetLength() : double + SetLength(value : double) : void + GetStream() : int + SetStream(value : int) : void + GetWidth() : double + SetWidth(value : double) : void + GetShouldChange() : bool + SetShouldChange(value : bool) : void + GetTimeStep() : Time + SetTimeStep() : void +GetPosition() : Vector + SetPosition(value : Vector) : void + GetDelay() : double + GetTargetOrgan() : int + HasFingerprintLoaded() : bool + HasTissueDetected() : bool + collectMessage() : void + releaseFingerprintTiles() : void

ABBILDUNG A.1 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Nanobot.

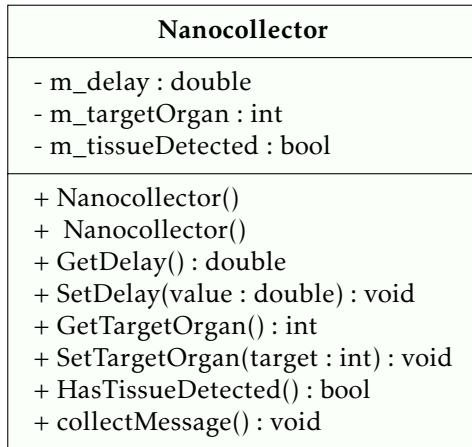


ABBILDUNG A.2 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Nanocollector.

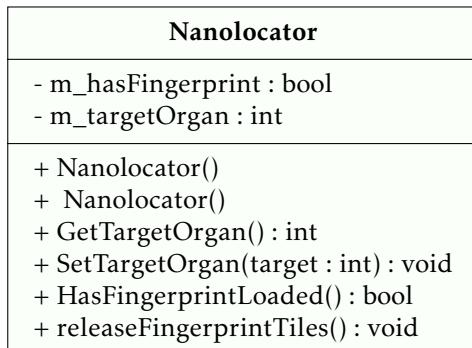


ABBILDUNG A.3 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Nanolocator.

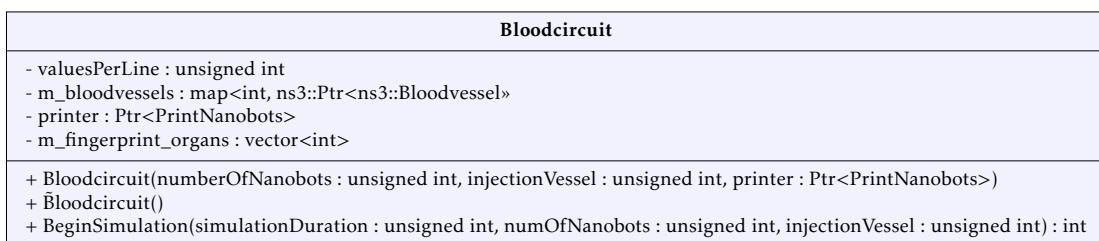


ABBILDUNG A.4 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Bloodcircuit.

Bloodvessel
<ul style="list-style-type: none"> - m_start : bool - m_bloodstreams : vector<Ptr<Bloodstream>> - m_bloodvesselID : int - m_bloodvesselLength : double - m_angle : double - m_basevelocity : double - m_bloodvesselType : BloodvesselType - m_startPositionBloodvessel : Vector - m_stopPositionBloodvessel : Vector - m_deltaT : double - m_vesselWidth : double - printer : Ptr<PrintNanobots> - m_fingerprintFormationTime : double - m_hasActiveFingerprintMessage : bool - m_nextBloodvessel1 : Ptr<Bloodvessel> - m_nextBloodvessel2 : Ptr<Bloodvessel> - m_transitionto1 : double - m_transitionto2 : double - m_numberOfStreams : int - m_changeStreamSet : bool - m_currentStream : int - m_nbTrace : ofstream - m_nbTraceFilename : string
<ul style="list-style-type: none"> + Bloodvessel() + ~Bloodvessel() + Start() + Step(bloodvessel : Ptr<Bloodvessel>) + PrintNanobotsOfVessel() + InitBloodstreamLengthAngleAndVelocity(velocity : double) + AddNanobotToStream(streamID : unsigned int, bot : Ptr<Nanobot>) + CheckRelease(nbToCheck : list<Ptr<Nanobot>>) + GetBloodvesselType() : BloodvesselType + GetBloodvesselAngle() : double + GetbloodvesselLength() : double + IsEmpty() : bool + GetStream(id : int) : Ptr<Bloodstream> + GetbloodvesselID() : int + GetNumberOfStreams() : int + GetStartPositionBloodvessel() : Vector + GetStopPositionBloodvessel() : Vector + SetBloodvesselID(b_id : int) + SetBloodvesselType(value : BloodvesselType) + SetVesselWidth(value : double) + SetStartPositionBloodvessel(value : Vector) + SetStopPositionBloodvessel(value : Vector) + SetNextBloodvessel1(value : Ptr<Bloodvessel>) + SetNextBloodvessel2(value : Ptr<Bloodvessel>) + SetTransition1(value : double) + SetTransition2(value : double) + SetFingerprintFormationTime(value : double) + SetPrinter(printer : Ptr<PrintNanobots>) + TimerCallback() + isActive() : bool + CheckCollect(nbToCheck : list<Ptr<Nanobot>>)

ABBILDUNG A.5 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Bloodvessel.

Bloodstream
<ul style="list-style-type: none"> - m_bloodvesselID : int - m_currentStream : int - m_velocity : double - m_velocity_factor : int - m_offset_x : double - m_offset_y : double - m_offset_z : double - m_nanobots : list<Ptr<Nanobot>>
<ul style="list-style-type: none"> + Bloodstream() + ~Bloodstream() + initBloodstream(vesselId : int, streamId : int, velocityfactor : int, offsetX : double, offsetY : double, angle : double) + CountNanobots() : size_t + GetNanobot(index : int) : Ptr<Nanobot> + RemoveNanobot(index : int) : Ptr<Nanobot> + RemoveNanobot(bot : Ptr<Nanobot>) : Ptr<Nanobot> + AddNanobot(bot : Ptr<Nanobot>) + SortStream() + IsEmpty() : bool + GetVelocity() : double + SetVelocity(velocity : double) + SetAngle(angle : double, offsetX : double, offsetY : double)

ABBILDUNG A.6 – UML-Klassendiagramm für die Klasse Bloodstream.

PrintNanobots
<ul style="list-style-type: none"> - output : ofstream
<ul style="list-style-type: none"> + PrintNanobots() + ~PrintNanobots() + PrintNanobot(n : Ptr<Nanobot>, vesselID : int) + PrintSomeNanobots(nbl : list<Ptr<Nanobot>>, vesselID : int) + PrintInTerminal(streamsOfVessel : vector<Ptr<Bloodstream>>, vesselID1 : int)

ABBILDUNG A.7 – UML-Klassendiagramm für die Klasse PrintNanobots.

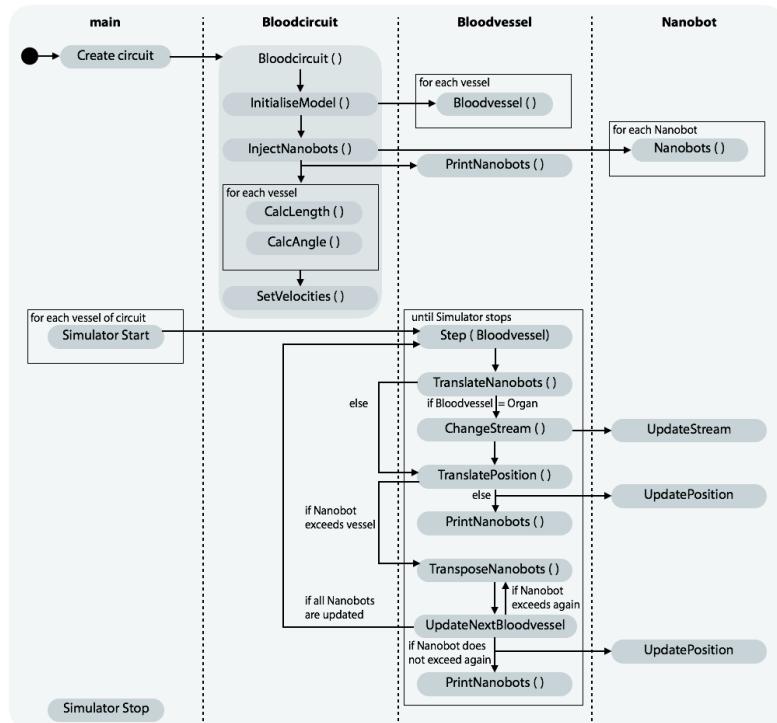


ABBILDUNG A.8 – Das Diagramm zeigt den Ablauf des Programms `start-blood-voyager-s`. In der Hauptfunktion wird das Kreislaufmodell initialisiert und die Simulation gestartet. Während jedes Simulationsschritts (Step) werden alle Nanogeräte gleichzeitig in ihren Blutgefäßen bewegt. Wenn ein Nanogerät das Ende seines aktuellen Gefäßes erreicht, wird es umgeleitet und dem nächsten Gefäß übergeben. Die Simulation endet nach einer festgelegten Zeit. [20]

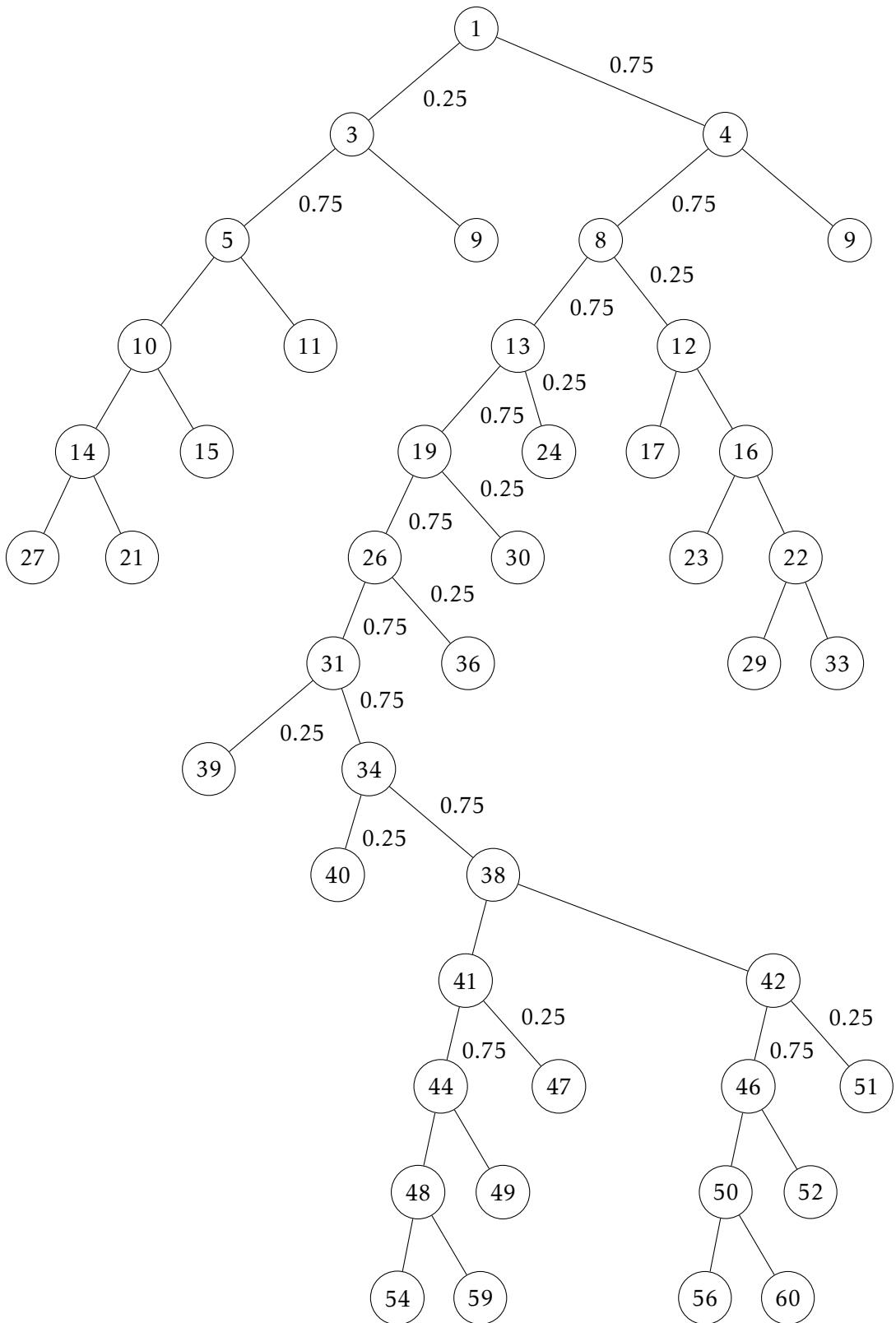


ABBILDUNG A.9 – Organtransitionen von BVS mit der vereinfachten Durchblutungsregel, dass zu den Organen 25 % des Blutes abzweigt. Gefäße 54, 59, 56 und 60 mit 50/50 Aufzweigung wurden aus Platzgründen weggelassen.

ANHANG A. ZUSÄTZLICHE TABELLEN UND UML DIAGRAMME

```

1      syms t1 t95 t3 t4 t5 t6 t7 t8 t10 t11 t14 t15; % heart, head and right arm
2      syms t12 t13 t16 t17 t22 t23 ; % left arm
3      syms t18 t19 t25 t26 t31 t32 t34 t35 t37 t38; % center body
4      syms t43 t44 t48 t49; % left leg
5
6      % Gleichungen zur Bestimmung der Wahrscheinlichkeiten mit Zielsollwerten aus der Literatur
7      assume(0 < t7 < 1);
8      assume(0 < t3 < 1);
9      eq1 = t95 == 0.05;
10     eq2 = t1 + t95 == 1;
11     eq3 = t3 + t4 == 1;
12     eq4 = t5 + t6 == 1;
13     eq5 = t7 + t8 == 1;
14     eq6 = t1 * t3 * t6 + t1 * t4 * t7 == 0.15;
15     eq7 = t10 + t11 == 1;
16     eq8 = t1 * t3 * t5 * t11 == 0.0125;
17     eq9 = t14 + t15 == 1;
18     eq10 = t1 * t3 * t5 * t10 * t15 == 0.0125;
19     eq11 = t1 * t3 * t5 * t10 * t14 * 0.5 == 0.0125;
20     eq12 = t12 + t13 == 1;
21     eq13 = t16 + t17 == 1;
22     eq14 = t1 * t4 * t8 * t12 * t17 == 0.0125;
23     eq15 = t22 + t23 == 1;
24     eq16 = t1 * t4 * t8 * t12 * t16 * t23 == 0.0125;
25     eq17 = t1 * t4 * t8 * t12 * t16 * t22 * 0.5 == 0.0125;
26     eq18 = t18 + t19 == 1;
27     eq19 = t1 * t4 * t8 * t13 * t18 == 0.0167;
28     eq20 = t25 + t26 == 1;
29     eq21 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t25 == 0.1;
30     eq22 = t31 + t32 == 1;
31     eq23 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t32 == 0.1;
32     eq24 = t34 + t35 == 1;
33     eq25 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t31 * t35 == 0.15;
34     eq26 = t37 + t38 == 1;
35     eq27 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t31 * t34 * t37 == 0.2;
36     eq28 = t44 + t43 == 1;
37     eq29 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t31 * t34 * t38 * 0.5 * t43 == 0.0167;
38     eq30 = t48 + t49 == 1;
39     eq31 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t31 * t34 * t38 * 0.5 * t44 * t49 == 0.0167;
40     %eq32 = t1 * t4 * t8 * t13 * t19 * t26 * t31 * t34 * t38 * 0.5 * t44 * t48 * 0.5 == 0.016;
41
42     % Lösen der Gleichungen
43     eqns = [eq1, eq2, eq3, eq4, eq5, eq6, eq7, eq8, eq9, eq10, eq11, eq12, eq13, eq14, ...
44         eq15, eq16, eq17, eq18, eq19, eq20, eq21, eq22, eq23, eq24, eq25, eq26, eq27, eq28, eq29,
45         eq30, eq31];
46
47     sol = solve(eqns, [t1 t95 t3 t4 t5 t6 t7 t8 t10 t11 t14 t15 t12 t13 t16 t17 t22 t23 ...
48         t18 t19 t25 t26 t31 t32 t34 t35 t37 t38 t43 t44 t48 t49]);
49     % Händische Lösung von eq32, sonst unlösbar.
50     sol.t1 * sol.t4 * sol.t8 * sol.t13 * sol.t19 * sol.t26 * sol.t31 * sol.t34 * sol.t38 * 0.5 *
        sol.t44 * sol.t48 * 0.5

```

QUELLTEXT A.1 – Berechnung der Transitionswahrscheinlichkeiten