



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΔΠΜΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΩΝ & ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

**Αλληλεπίδραση μηχανικών και βιολογικών παραγόντων
κατά την πώρωση των οστών**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

Γεώργιου Ν. Βενιέρη

Επιβλέπων: Χριστόφορος Προβατίδης

Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Ιανουάριος 2014



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΔΠΜΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΩΝ & ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

**Αλληλεπίδραση μηχανικών και βιολογικών παραγόντων
κατά την πόρωση των οστών**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

Γεώργιου Ν. Βενιέρη

Επιβλέπων: Χριστόφορος Προβατίδης

Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Ιανουάριος 2014

.....
Γεώργιος Ν. Βενιέρης

Μεταπτυχιακός τίτλος σπουδών στην Υπολογιστική Μηχανική

© (2014) Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Ευχαριστίες

Για την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, σημαντική στάθηκε η συμβολή πολλών ανθρώπων, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω. Ευχαριστώ, αρχικά, τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Χριστόφορο Προβατίδη, τόσο για την ανάθεση ενός ιδιαίτερα εκπαιδευτικού και ενδιαφέροντος για εμένα θέματος όσο και για την υποστήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές που μου πρόσφερε.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους συναδέλφους της ομάδας του εργαστηρίου για την υπέροχη συνεργασία και αλληλοϋποστήριξη και κυρίως την Αιμιλία Ποδαροπούλου για τη σημαντική βοήθειά της σε μεγάλο μέρος της παρούσας εργασίας. Ακόμη, ένα ειδικό ευχαριστώ στη Δρ. Κλειώ Βόσσου, για τις συμβουλές και την καθοδήγησή της, διαθέτοντας πολύτιμο χρόνο από το πρόγραμμά της.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τη μεγάλη μου ευγνωμοσύνη στη γυναίκα μου Στέλλα για την αμέριστη υποστήριξή της, αλλά και στους γονείς μου για όλα όσα μου έχουν προσφέρει.

Περίληψη

Η διαδικασία πάρωσης των καταγμάτων των οστών συμπεριλαμβάνει την ενεργοποίηση και αλληλεπίδραση διαφόρων κυττάρων και αυξητικών παραγόντων, η λειτουργία των οποίων ρυθμίζεται από βιοχημικά και μηχανικά ερεθίσματα. Στην παρούσα διπλωματική εργασία ερευνάται η δυνατότητα εφαρμογής και ο ρόλος των υπολογιστικών μεθόδων και τεχνικών στην περιγραφή των παραπάνω αλληλεπιδράσεων και μελετάται το μηχανοβιολογικό μοντέλο πάρωσης καταγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, μελετάται η αλληλεπίδραση του μηχανικού περιβάλλοντος με βιολογικές παραμέτρους που αφορούν την αγγειογένεση και την οστεογένεση και εξετάζονται οι βιοφυσικές διεγέρσεις που προκαλούνται από τη μηχανική φόρτιση. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στις υπολογιστικές μεθόδους επίλυσης των συστημάτων μερικών μη – γραμμικών εξισώσεων που περιγράφουν τη χωροχρονική εξέλιξη των συγκεντρώσεων και των πυκνοτήτων των κυττάρων, των εξωκυττάρων θεμέλιων ουσιών και των αυξητικών παραγόντων.

Abstract

The process of bone fracture healing includes the activation and interaction between several cells and growth factors, the function of which is determined by biochemical and mechanical stimuli. This thesis statement studies the role of computational methods and techniques in reporting those interactions, as well as the mechanobiological model of fracture healing. In particular, the paper focuses on the mechanical environment interaction with biological parameters that regard to angiogenesis and ossification. Furthermore, it examines the biophysical stimulation caused by mechanical loading. It highlights the computational methods for partial non-linear equation systems modeling that indicate the spatiotemporal evolution of cellular concentration and density, of extracellular matrices and growth factors.

Περιεχόμενα

Εισαγωγή	1
1.1 Εισαγωγικά στοιχεία	1
1.2 Σκοπός και δομή της εργασίας	2
Μηχανισμός πόρωσης των οστών και υπολογιστικά μοντέλα.....	5
2.1 Το οστό	5
2.1.1 Μορφολογία και σύνθεση του οστού	5
2.1.2 Κάταγμα οστού	7
2.2 Διαδικασία πόρωσης οστού.....	7
2.2.1 Πρωτογενής πόρωση οστών	8
2.2.2 Δευτερογενής πόρωση οστών	8
2.2.3 Ο ρόλος των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων	10
2.2.4 Ατροφικές και μη ένωσης περιπτώσεις πόρωσης.....	11
2.3 Προϋποθέσεις πόρωσης οστού	11
2.3.1 Μηχανική σταθερότητα	12
2.3.2 Βιολογικοί παράγοντες	12
2.3.3 Αγγειογένεση	13
2.4 Υπολογιστικά μοντέλα πόρωσης οστού	13
2.4.1 Οι πρώιμες θεωρίες	14
2.4.2 Το μονοφασικό μοντέλο του Carter	15
2.4.3 Το μοντέλο πόρωσης των Claes και Heigle	16
2.4.4 Το διφασικό μοντέλο των Prendergast και Huiskes.....	16
2.4.5 Το διφασικό μοντέλο των Sandino και Lacroix.....	18
2.4.6 Βιολογικά μοντέλα πόρωσης οστών	19
2.4.7 Μηχανοβιολογικά μοντέλα	20
2.4.8 Στοχαστικά μοντέλα	21
2.4.9 Σύνοψη των υπολογιστικών μοντέλων διαφοροποίησης ιστών.....	21
Ποροελαστικό μοντέλο πόρωσης οστών και βιοφυσικές διεγέρσεις	23
3.1 Θεωρία.....	23
3.1.1 Το διφασικό μοντέλο του Mow	23
3.1.2 Το ποροελαστικό μοντέλο στο COMSOL.....	26
3.2 Σύγκριση των βιοφυσικών διεγέρσεων για τη διαφοροποίηση των ιστών κατά την πόρωση των οστών	27
Υπολογιστικές τεχνικές επίλυσης του μαθηματικού μοντέλου της αγγειογένεσης στην πόρωση των οστών.....	31

4.1 Στοιχεία του μαθηματικού μοντέλου.....	31
4.2 Υπολογιστικές τεχνικές επίλυσης	34
4.2.1 Οι εξισώσεις taxis-diffusion-reaction (TDR).....	34
4.2.2 Η μέθοδος των πεπερασμένων όγκων	35
4.2.3 Η τεχνική του flux limiter	37
4.2.4 Χρονική ολοκλήρωση	38
4.3 Αριθμητικά παραδείγματα.....	39
4.3.1 Αριθμητική επίλυση της διαφορικής εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης	40
4.3.2 Επίλυση του μαθηματικού μοντέλου αγγειογένεσης στην επούλωση δερματικών πληγών.....	42
4.3.3 Αποτελέσματα.....	43
4.4 Προσομοίωση του μαθηματικού μοντέλου αγγειογένεσης στην πώρωση οστών.....	44
4.4.1 Αρχικές και συνοριακές συνθήκες του μοντέλου προσομοίωσης .	45
4.4.2 Μέθοδοι και τεχνικές.....	45
4.4.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.....	46
4.4.4 Περιορισμοί, προβλήματα και μελλοντικές προτάσεις	50
Σύνδεση βιολογίας και μηχανικής στην πώρωση των οστών	53
5.1 Μέθοδοι και τεχνικές	53
5.1.1 Ανάπτυξη του μοντέλου	54
5.1.2 Λεπτομέρειες προσομοίωσης.....	56
5.2 Παρουσίαση αποτελεσμάτων	59
5.3 Συζήτηση	63
5.4 Σύνοψη.....	65
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	67
Αναφορές	73

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Το οστό αποτελεί ένα αξιοθαύμαστο υλικό καθώς έχει τη δυνατότητα να αναγεννάται πλήρως, σε αντίθεση με τους μαλακούς ιστούς όπου κατά την επούλωση των πληγών σχηματίζονται ουλές. Οι περισσότερες μελέτες μοντέλων πάρωσης στρέφονται σε ειδικές περιπτώσεις αναδόμησης οστού, όπως ατροφικές –μη ένωσης (non union) περιπτώσεις, διατακτική οστεογένεση και υπερφόρτισης/υποφόρτισης διαταραγμένη πάρωση, καθώς αφορούν ένα μεγάλο ποσοστό καταγμάτων. Η μελέτη των μαθηματικών μοντέλων γίνεται όλο και περισσότερο αναγκαία, λόγω των χρονοβόρων και επίπονων πειραματικών διαδικασιών σε ζώα. Έτσι λοιπόν εισάγεται ο ρόλος των μηχανικών και βιολογικών ιδιοτήτων με επίκεντρο τα υπολογιστικά μοντέλα.

1.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Η επούλωση των οστών αποτελεί μία τόσο κοινή διαδικασία στην καθημερινότητά μας, που είναι εύκολο να παραβλέψουμε την ομορφιά και την πολυπλοκότητα του εμβιομηχανικού φαινομένου. Σε αντίθεση με τους άλλους ιστούς που επουλώνονται αφήνοντας ουλές και σημάδια, το οστό αναδιαμορφώνεται συνεχώς έως ότου η περιοχή του τραύματος να καλυφθεί πλήρως με νέο οστό.

Παρά την ικανότητα αναδόμησης των οστών, συχνά συναντώνται περιπτώσεις καθυστέρησης επούλωσης ή ακόμα και μη ένωσης των οστών. Τα κατάγματα λοιπόν αποτελούν ένα υψηλό μέρος του προϋπολογισμού για την πρωτοβάθμια περίθαλψη και σε συνδυασμό με την αύξηση του μέσου όρου ηλικίας στον πλανήτη, προβλέπεται αύξηση των καταγμάτων λόγω της οστεοπόρωσης. Χαρακτηριστικά το

2000 στην ευρωπαϊκή ένωση, ο αριθμός των καταγμάτων λόγω οστεοπόρωσης εκτιμάται στα 3.8 εκατομμύρια περιστατικά ενώ το κόστος της περίθαλψης ανήλθε στα 32 δισεκατομμύρια ευρώ (Reginster and Burlet, 2006). Συνεπώς, η πρόληψη και η αποτελεσματική θεραπεία κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική.

Η μηχανική διέγερση μπορεί να προκαλέσει κάταγμα ή να μεταβάλει τον κύκλο του βιολογικού μηχανισμού (Wu et al., 1984; Claes et. al, 1997). Επίσης η αναδόμηση του νέου οστού συνδέεται με τη διεύθυνση και το μέγεθος της φόρτισης, επηρεάζοντας την εσωτερική εντατική κατάσταση στον υπό διόρθωση ιστό (Park et. al, 1998). Παρόλα αυτά, ο μηχανισμός μέσω του οποίου μεταφέρεται η μηχανική διέγερση μέσω των κυτταρικών ουσιών παραμένει άγνωστος.

Η εμβιομηχανική (mechanobiology) περιγράφει τους μηχανισμούς μέσω των οποίων βιολογικές διαδικασίες προκαλούνται λόγω μηχανικών φορτίσεων (van der Meulen and Huiskes, 2002). Όταν οι μηχανισμοί του μηχανικά ρυθμιζόμενου σχηματισμού ιστού κατανοηθούν και καθοριστούν στο κυτταρικό επίπεδο, θα μπορούν να αναπτυχθούν νέες φυσιοθεραπευτικές μέθοδοι για την πρόβλεψη των μη ενώσεων και την επιτάχυνση της επιδιόρθωσης των καταγμάτων. Η υπολογιστική μοντελοποίηση παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην επιστημονική έρευνα που γίνεται καθώς πολλές βιολογικές διαδικασίες είναι τόσο πολύπλοκες που τα πειράματα είναι είτε χρονοβόρα και ακριβά είτε εντελώς αδύνατα. Συνεπώς, χρησιμοποιούνται μαθηματικά μοντέλα που προσομοιώνουν τέτοια πολύπλοκα συστήματα. Στην εμβιομηχανική, τα υπολογιστικά μοντέλα χρησιμοποιούνται για την ποσοτική διερεύνηση των κανόνων που διέπουν τη μηχανική φόρτιση, τη διαφοροποίηση των κυττάρων, την ανάπτυξη και την προσαρμογή των οστών.

1.2 Σκοπός και δομή της εργασίας

Πρωταρχικός στόχος της εργασίας είναι η ανάδειξη της δυναμικής των μαθηματικών μοντέλων ως ερευνητικό εργαλείο για τη διεκπεραίωση πολλαπλών αναλύσεων στη βιολογία με τη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών. Ερευνάται η φύση της επίδρασης της μηχανικής φόρτισης στη διαδικασία αναδόμησης του οστού και εξετάζεται η αλληλεπίδραση του μηχανικού περιβάλλοντος με τις διαδικασίες της αγγειογένεσης και της οστεογένεσης. Ειδικό βάρος έχει δοθεί στη μελέτη της δυνατότητας διάφορων υπολογιστικών μεθόδων και τεχνικών να μοντελοποιήσουν δύσκαμπτα (stiff) χρονοεξαρτώμενα συστήματα διαφορικών εξισώσεων. Στη συνέχεια αναλύεται ο στόχος κάθε κεφαλαίου:

Κεφάλαιο 2 – βιβλιογραφική ανασκόπηση

- Παρέχεται το πλαίσιο για την περιγραφή των διαδικασιών πάρωσης οστών και αναφέρονται τα σημαντικότερα μαθηματικά μοντέλα προσομοίωσης του φαινομένου

Κεφάλαιο 3 – Θεωρία και σύγκριση μηχανικών μοντέλων

- Περιγράφεται η ποροελαστική θεωρία που θεωρεί το οστό και τον κάλλο ως διφασικό υλικό
- Συγκρίνονται βιβλιογραφικά τρία από τα πιο σημαντικά μοντέλα περιγραφής της πόρωσης οστών και δίνονται οι οριακές τιμές διαφόρων μηχανικών διεγέρσεων που αλληλεπιδρούν με βιολογικές παραμέτρους

Κεφάλαιο 4 – Υπολογιστικές τεχνικές επίλυσης βιολογικών μοντέλων

- Μελετώνται σύγχρονες υπολογιστικές τεχνικές και εφαρμόζονται σε βιολογικά μοντέλα επούλωσης δερματικής πληγής και πόρωσης οστών

Κεφάλαιο 5 - Μελέτη της αλληλεπίδρασης μηχανικών και βιολογικών παραγόντων

- Ερευνάται η επίδραση της μηχανικής φόρτισης στις διαδικασίες της οστεογένεσης και της αγγειογένεσης

Κεφάλαιο 2

Μηχανισμός πώρωσης των οστών και υπολογιστικά μοντέλα

Για την κατανόηση των μηχανισμών αναδόμησης, λειτουργίας και πώρωσης των οστών, καθώς και του ρόλου που παίζουν τα κύτταρα σε αυτές τις διαδικασίες, έχουν γίνει πολλές υπολογιστικές μελέτες που αφορούν τόσο τις μηχανικές όσο και τις βιολογικές παραμέτρους που υπεισέρχονται κατά τη διαφοροποίηση των ιστών. Πέρα από τη βιολογία, ο ρόλος της μηχανικής για την περιγραφή της πώρωσης είναι πολύ σημαντικός και κατά τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί διάφορα μηχανικά μοντέλα.

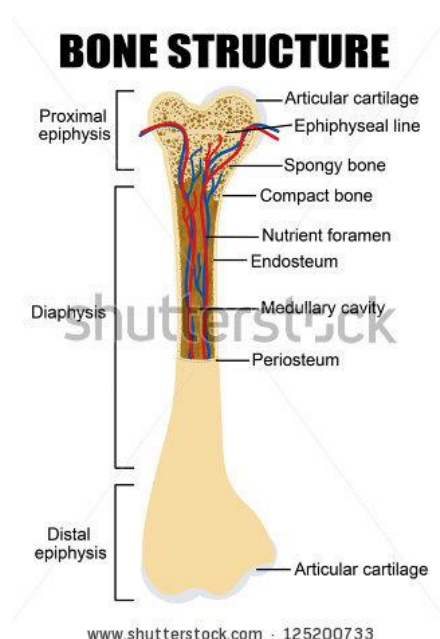
2.1 Το οστό

Ο σκελετός ενός ενήλικα αποτελείται από 206 οστά, τα οποία στηρίζουν το σώμα και προστατεύουν τα εσωτερικά όργανα. Μαζί με τους μύες και τους αδένες, διευκολύνουν την κίνηση και συμμετέχουν στη διατήρηση της ισορροπίας των μετάλλων του σώματος.

2.1.1 Μορφολογία και σύνθεση του οστού

Μορφολογικά, τα οστά κατηγοριοποιούνται σε φλοιώδη (cortical) και σε σπογγώδη (trabecular/cancellous). Το φλοιώδες οστό είναι πυκνό, στερεό και αποτελεί το εξωτερικό περίβλημα κάθε οστού. Αντίθετα, το σπογγώδες οστό αποτελείται από ένα κυψελώδες δίκτυο δοκιδωτών πλακών και ράβδων (με κατά μέσο όρο πάχος 50-

400mm) διάσπαρτο στα τμήματα του μυελού των οστών. Συνεπώς, έχει μικρότερη πυκνότητα και είναι αρκετά πορώδες, στηρίζοντας έτσι το λεπτό φλοιώδες περίβλημα. Το φλοιώδες και δοκιδωτό οστό αποτελούνται από οστεώνες. Τα μακριά οστά (κλείδες, μετατόρσιο, μηριαίο οστό, κνήμες, φάλαγγες κ.α.) έχουν δύο άκρα που ονομάζονται επιφύσεις, ενώ το κύριο σώμα του οστού ονομάζεται διάφυση. Τα άκρα των επιφύσεων περιβάλλονται από αρθρικό χόνδρο (articular cartilage) ενώ η διάφυση περιβάλλεται από ένα συνδετικό ιστό που ονομάζεται περιόστεο. Το περιόστεο απομονώνει και προστατεύει το οστό από τους γύρω ιστούς και παρέχει οστεοκλάστες και οστεοβλάστες για την αναδόμησή του. Μέσα στη διάφυση περικλείεται σωληνωτή κοιλότητα, ο αυλός ή μυελικός σωλήνας, που περιέχει το μυελό των οστών και αποθηκεύει προγεννητικά κύτταρα που λαμβάνουν μέρος στην διαδικασία της επούλωσης (Σχήμα 2.1).



Σχήμα 2.1: Η δομή του οστού. Απεικονίζονται οι επιφύσεις και ο αρθρικός χόνδρος του σπογγώδους οστού, αλλά και το περιόστεο, η διάφυση και ο αυλός που συνθέτουν το φλοιώδες οστό.

Ο οστίτης ιστός παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των δομικών του ιδιοτήτων που συνδέονται άμεσα με τη δομική σύνθεση του οστού. Τα ανόργανα συστατικά είναι κυρίως υπεύθυνα για την αντοχή του οστού σε συμπίεση και σε δυσκαμψία, ενώ τα οργανικά συστατικά παρέχουν τις αντίστοιχες ιδιότητες σε τάση. Η σύνθεση των οστών ποικίλλει ανάλογα με το είδος, την ηλικία, το φύλο και τον τύπο του οστού.

Τα οστά αποτελούνται από κυτταρικά και μη κυτταρικά συστατικά. Τα κύτταρα του οστίτη ιστού είναι οι οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα, οι οστεοκλάστες και τα επενδυματικά κύτταρα (bone lining cells). Το οστό συντίθεται από τους οστεοβλάστες, συντηρείται από τα οστεοκύτταρα και αποδομείται από τους οστεοκλάστες.

Οι οστεοβλάστες είναι κύτταρα που προέρχονται από οστεοπρογεννητικά κύτταρα και παράγουν τη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία (extracellular matrix). Η θεμέλια εξωκυττάρια ουσία παράγεται περίπου με ρυθμό 1μm/μέρα και ασβεστοποιείται για να παράγει ανοργανοποιημένο οστό. Μετά την οστεοποίησή της, περικλείει τους οστεοβλάστες που μετατρέπονται στη φάση αυτή σε οστεοκύτταρα (Buckwalter et al., 1996a). Τα οστεοκύτταρα είναι οστεοβλάστες που περιβάλλονται από εξωκυττάρια ουσία που αυξάνονται σχηματίζοντας μία κοιλότητα που ονομάζεται βοθρίο (lacunae). Συμμετέχουν ενεργά στο μεταβολισμό και την ομοιόσταση του ασβεστίου και πιστεύεται ότι ρυθμίζουν την αναδόμηση του οστού (Buckwalter et al., 1996b). Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρηννα κύτταρα που απορροφούν οστίτη ιστό και απελευθερώνουν μεταλλικά στοιχεία στο αίμα. Τα επενδυματικά κύτταρα προέρχονται από οστεοβλάστες που έχουν ολοκληρώσει την διαδικασία σύνθεσης οστού, είναι πεπλατυσμένα και βρίσκονται στις επιφάνειες του περιόστεου και του ενδοόστεου (Clarke 2008).

Το μη κυτταρικό συστατικό στοιχείο του οστού αποτελεί η οστική θεμέλια εξωκυττάρια ουσία (bone extracellular matrix), η οποία αποτελείται από οργανική εξωκυττάρια ουσία ή οστεοειδές (30%) και ανόργανη εξωκυττάρια ουσία (70%). Οι ίνες κολλαγόνου τύπου I που αποτελούν το 90% του οστεοειδούς, παράγονται από τους οστεοβλάστες και έχουν διαφορετική σύνθεση από τα ινίδια άλλων ιστών, γεγονός που κάνει δυνατή την εναπόθεση σε αυτά αλάτων ασβεστίου. Πρόκειται για μία πρωτεΐνη ικανή να οργανώνεται σε ισχυρές ίνες που παρέχουν την απαραίτητη ευελιξία και αντοχή σε εφελκυσμό στα οστά. Τα ανόργανα συστατικά των οστών είναι κυρίως το φωσφορικό ασβέστιο (80-90%) που βρίσκεται με τη μορφή υπερμικροσκοπικών κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη, το ανθρακικό ασβέστιο (8-10%), το φθοριούχο και χλωριούχο ασβέστιο (0,5%), το φωσφορικό μαγνήσιο (1-2%) και τα αλκαλικά άλατα (2%). Τα συστατικά αυτά εναποτίθενται τη θεμέλια ουσία καθώς και στις ίνες κολλαγόνου παρέχοντας στο οστό ακαμψία και αντοχή σε θλίψη.

2.1.2 Κάταγμα οστού

Το κάταγμα συμβαίνει όταν υπερβαίνεται το όριο επιμήκυνσης του οστού. Η θραύση διακόπτει τη ροή του αίματος και προκαλεί ζημιά στους ιστούς και κατά συνέπεια αιμορραγία, ανοξία, καταστροφή των κυττάρων και φλεγμονές. Τα περισσότερα κατάγματα προκαλούνται από κάποιο φυσικό τραύμα. Η επικινδυνότητα όμως αυξάνεται σε περιπτώσεις ύπαρξης οστεοπόρωσης και καρκίνου που συνδέεται με τα οστά.

2.2 Διαδικασία πώρωσης οστού

Το κάταγμα προκαλεί μια σειρά αντιδράσεων των ιστών, οι οποίοι μετακινούν τα θραύσματα, επαναφέρουν τη μυϊκή κίνηση και παράγουν νέα οστέινη ουσία. Η

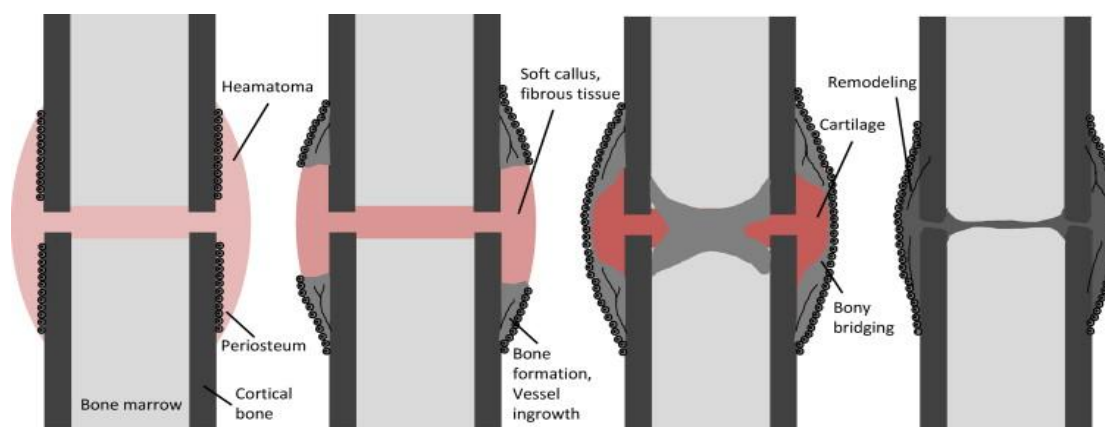
πώρωση των οστών, γενικότερα, λαμβάνει χώρα είτε με πρωτογενή ή άμεση πώρωση είτε με δευτερογενή ή έμμεση πώρωση του οστού.

2.2.1 Πρωτογενής πώρωση οστών

Η πρωτογενής πώρωση περιλαμβάνει τον ενδομεμβρανικό σχηματισμό οστού και την άμεση αναδόμηση χωρίς το σχηματισμό κάλου γύρω από το κατάγμα. Αφορά μόνο τις περιπτώσεις μικρών παραμορφώσεων, είτε με μικρά κενά ή άμεση επαφή των άκρων του κατάγματος του συμπαγούς οστού και περιπτώσεις ιδανικών συνθηκών πώρωσης, όπως μηχανική σταθερότητα και απουσία κενού (Perren, 1979; Isaksson 2007).

2.2.2 Δευτερογενής πώρωση οστών

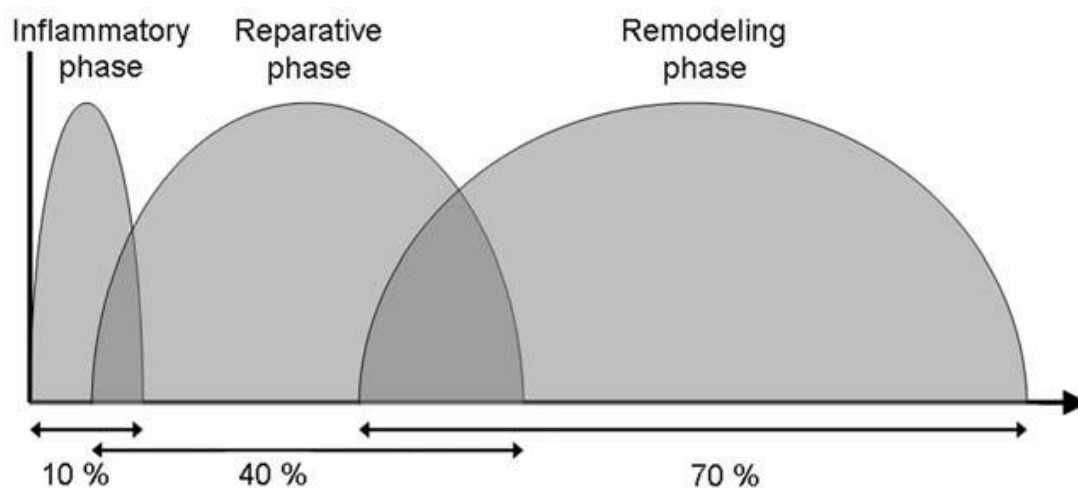
Η δευτερογενής πώρωση κατάγματος αφορά την πλειονότητα των καταγμάτων και περιλαμβάνει το συνδυασμό ενδομεμβρανικής και ενδοχονδρικής οστεοποίησης, με επακόλουθο σχηματισμό κάλου (Perren and Claes, 2000). Γενικά, ενισχύεται με την κίνηση και παρεμποδίζεται με άκαμπτη στερέωση. Στη δευτερογενή πώρωση, η αποκατάσταση της αντοχής του οστού συμβαίνει σε μικρότερο χρονικό διάστημα από την πρωτογενή πώρωση. Η διαδικασία αναγέννησης των οστών περιλαμβάνει τέσσερις αλληλεπικαλυπτόμενες φάσεις: τη φλεγμονώδη φάση, τη φάση σχηματισμού μαλακού και σκληρού κάλου και τέλος τη φάση αναδόμησης του οστού (Σχήμα 2.2). Η σχετική διάρκεια των φάσεων απεικονίζεται στο Σχήμα 2.3.



Σχήμα 2.2: Στάδια δευτερογενούς πώρωσης κατάγματος

Κατά τον τραυματισμό του οστού, το φλοιώδες οστό, το περίοστεο και οι μαλακοί ιστοί που το περιβάλλουν σχίζονται, προκαλώντας ρήξη σε πολυάριθμα αιμοφόρα αγγεία (αιμάτωμα). Το αιμάτωμα αποτελεί πηγή αγγειογενετικών κυττάρων που εκκινούν τη φλεγμονώδη φάση (Buckwalter et. al, 1996b). Τα οστεοκύτταρα στην

περιοχή του κατάγματος στερούνται θρεπτικών συστατικών και υπόκεινται σε νέκρωση, όπως και ο κατεστραμμένος ιστός στην περιοχή (Geris et al., 2008). Απελευθερώνονται λοιπόν από τους γύρω ιστούς αυξητικοί παράγοντες, μεσεγχυματικά κύτταρα και μεγάλες ποσότητες κυτοκίνων οι οποίες βοηθούν στην επαναφορά της κυκλοφορίας του αίματος. Τα κύτταρα απελευθερώνονται αρχικά γύρω από το περίοστεο, ενώ μετά την πάροδο μερικών ημερών, παρατηρούνται γύρω από όλη την περιοχή του κατάγματος, όπου υπάρχει υψηλή δραστηριότητα για εβδομάδες. Τα μεσεγχυματικά και τα φλεγμονώδη κύτταρα σχηματίζουν ένα λεπτό ιστό (granulation tissue). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται οστεοβλάστες, ινοβλάστες και χονδροκύτταρα που σχηματίζουν ινώδη ιστό, χόνδρο και οστό αντίστοιχα. Τα κύτταρα αυτά πολλαπλασιάζονται δημιουργώντας τον κάλλο. Τα άκρα του αποσχισμένου οστού δε συμμετέχουν στη διαδικασία και νερώνονται όπως υποδεικνύεται από το κενό βοθρίο στα δύο άκρα.



Σχήμα 2.3: Οι φάσεις της πάρωσης οστού και η σχετική τους διάρκεια

Η φάση σχηματισμού κάλλου διαχωρίζεται στο σχηματισμό μαλακού κάλλου (ενδομεμβρανική οστεοποίηση) και στο σχηματισμό σκληρού κάλλου (ενδοχονδρική οστεοποίηση). Η φάση ξεκινάει όταν αποκατασταθεί η κυκλοφορία του αίματος και τα μεσεγχυματικά κύτταρα έχουν απελευθερωθεί. Εντός του μαλακού κάλλου, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αρχίζουν να διαφοροποιούνται, κατευθυνόμενα από ερεθίσματα που δέχονται από μικροπεριβάλλον τους, όπως η παρουσία βιολογικών παραγόντων και αντιληπτά μηχανικά ερεθίσματα. Κοντά περίοστεο και μακριά από την περιοχή του κατάγματος παρατηρείται άμεση διαφοροποίηση προς οστεοβλάστες, οι οποίοι με την σειρά τους παράγουν πρώιμη οστεώδη θεμέλια ουσία, τον σκληρό κάλλο, μέσω μίας διαδικασίας που αποκαλείται ενδομεμβρανική οστεοποίηση. Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε χονδροκύτταρα στην υποξική κεντρική περιοχή του κατάγματος, όπου ο μαλακός κάλλος σταδιακά αντικαθίσταται με χόνδρο και σταθεροποιείται μηχανικά η περιοχή του κατάγματος. Τα χονδροκύτταρα ωριμάζουν προς υπερτροφικά χονδροκύτταρα,

ξεκινώντας τις βιοχημικές προετοιμασίες για την ασβεστοποίηση της θεμέλιας οσίας του χόνδρου. (Geris et al., 2008). Στη φάση του σκληρού κάλου, οι οστεοκλάστες προσελκύονται από αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται από τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα, υποβαθμίζουν την ανόργανη θεμέλια ουσία του χόνδρου επιτρέποντας στα αιμοφόρα αγγεία να εισβάλλουν στον ασβεστοποιημένο χόνδρο, τα οποία με τη σειρά τους φέρνουν μαζί τους οστεοβλάστες. Οι οστεοβλάστες, λαμβάνοντας αρκετό οξυγόνο και κατάλληλα μηχανικά ερεθίσματα, παράγουν μέσω μίας διαδικασίας που αποκαλείται ενδοχονδρική οστεοποίηση, τον ιστό του σκληρού κάλου που αποτελείται από ανόργανη πρώιμη οστεώδη θεμέλια ουσία. Όταν τα άκρα του κατάγματος συνδεθούν με τον οστεώδη κάλο, η κλινική ένωση έχει επιτευχθεί (Geris et al., 2009).

Η φάση αναδόμησης του οστού, έχει ήδη ξεκινήσει από την φάση του σκληρού κάλου με απορρόφηση των άχρηστων μερών του κάλου από τους οστεοκλάστες και τον σχηματισμό του τελικού αναδομημένου οστού. Το τελικό στάδιο της αναδόμησης του οστού είναι η αντικατάσταση του πρώιμου οστεώδους ιστού που συνδέει τα άκρα του κενού που δημιουργείται με το κάταγμα (φάση σκληρού κάλου) με το τελικό οστό (Geris et al., 2009). Η αναδόμηση του οστού διαρκεί για ένα μακρύ χρονικό διάστημα (5-8 εβδομάδες σε πειράματα με αρουραίους), όπου σταδιακά επανέρχεται η παροχή αίματος σε φυσιολογικά επίπεδα κι επαναφέρεται το οστό στο αρχικό του σχήμα και αντοχή (Mark et al., 2004).

2.2.3 Ο ρόλος των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν την δυνατότητα να δεσμεύονται και να διαφοροποιούνται σε σχεδόν οποιοδήποτε τύπο κυττάρου (Σχήμα 2.4), υποκινώντας κυρίως αυτά τα κύτταρα που σχηματίζουν μεσεγχυματικούς ιστούς, όπως οστά, χόνδρο, τένοντες, συνδέσμους, μυελό των οστών και λιπώδη ιστό (Tsiridis et al., 2007).

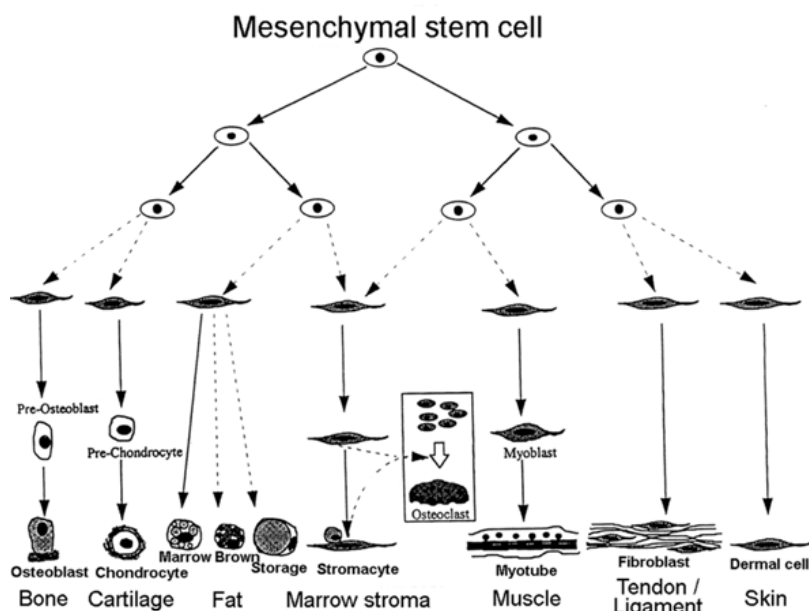
Κατά την διάρκεια της πώρωσης των οστών, οι δυναμικές πηγές βλαστικών κυττάρων είναι ο μυελός των οστών, ο κοκκοποιημένος ιστός, το βαθύτερο στρώμα του περιόστεου, το ενδόστεο και οι περιβάλλοντες μαλακοί ιστοί. Επίσης, περιαγγειακά μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που βρίσκονται στα τοιχώματα των αγγείων συμμετέχουν στην πώρωση των οστών (Tsiridis et al., 2007). Η πρωταρχική πηγή ιστών μεσεγχυματικών κυττάρων είναι το περιόστεο και μελέτες που πραγματοποίησαν οι Buckwalter et al. (2001) έδειξαν ότι η ικανότητα για την ανάπτυξη κάλου στην περιοχή του κατάγματος μειώνεται με μετακίνηση του περιόστεου.

Η ποιοτική και ποσοτική μελέτη των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων μέσω μαθηματικών μοντέλων προσομοίωσης των διαδικασιών αποκατάστασης και αναγέννησης ιστών, όπως στην περίπτωση των μοντέλων πώρωσης οστού, είναι ιδιαίτερα σημαντική σε μία εποχή που οι αλληλένδετες επιστήμες της Αναγεννητικής

Ιατρικής και Μηχανικής Ιστών, εξελίσσονται ραγδαία. Οι πειραματικές μελέτες που διεξάγονται σε ιστούς ζώων για τον υπολογισμό παραμέτρων που συνδέονται με την αναγέννηση ιστών καθιστά αναγκαία την συνεχή εξέλιξη των μαθηματικών μοντέλων και των υπολογιστικών μεθόδων προσομοίωσης.

2.2.4 Ατροφικές και μη ένωσης περιπτώσεις πώρωσης

Η καθυστερημένη ένωση συμβαίνει όταν ο σχηματισμός του περιόστεου κάλλου σταματήσει πριν την ολοκληρωμένη ένωση, καθυστερώντας έτσι την ενδοστεϊκή φάση της πώρωσης. Μη ένωση συμβαίνει λόγω αποτυχίας σχηματισμού του ενδόστεου και του περιόστεου κάλλου (Babhulkar et al., 2005). Η μη ένωση συνδέεται με τα χαρακτηριστικά του κατάγματος, τον τύπο της θεραπείας και παράγοντες που εξαρτώνται από τον ασθενή, όπως το κάπνισμα, ο διαβήτης η μυϊκή ανεπάρκεια και η ανεπάρκεια ορμονών.



Σχήμα 2.4: Πιθανές διαφοροποιήσεις των μεσεγγυματικών βλαστικών κυττάρων

2.3 Προϋποθέσεις πώρωσης οστού

Η πώρωση του οστού επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως η μηχανική σταθερότητα, το ηλεκτρικό περιβάλλον, οι βιοχημικοί παράγοντες και η μυϊκή επάρκεια. Η επίδρασή τους στη δημιουργία συνδετικών ιστών δεν έχει ακόμα κατανοηθεί επαρκώς, παρόλα αυτά, οι βιολογικές και μηχανικές αλληλεπιδράσεις θεωρούνται ως οι πιο σημαντικές.

2.3.1 Μηχανική σταθερότητα

Η μηχανική διέγερση μπορεί να προκαλέσει πόρωση ή να μεταβάλει τον κύκλο του βιολογικού μηχανισμού της (Wu et al., 1984; Claes et al., 1997). Παρόλα αυτά, τα κατάγματα θεραπεύονται επιτυχημένα είτε πλήρως στερεωμένο με πλήρη ακινησία είτε με ελαφριές μικροκινήσεις (Augat et al., 2005). Γενικά η πρώτη μέθοδος χρησιμοποιείται στην πρωτογενή και η δεύτερη στη δευτερογενή πόρωση αντίστοιχα.

Οι κυριότεροι μηχανικοί παράγοντες είναι η γεωμετρία και το μέγεθος του κατάγματος, η διεύθυνση και η κίνηση των άκρων στην περιοχή του κατάγματος (interfragmentary movement). Αυτοί οι παράγοντες καθορίζουν την τοπική εντατική κατάσταση στον κάλλο. Η κατανομή της έντασης στον υπό πόρωση ιστό, θεωρείται ότι παρέχει το μηχανικό σήμα για τη ρύθμιση της διαδικασίας επούλωσης που ενεργοποιεί κυτταρική αντίδραση. Η γεωμετρία περιγράφεται από το σχήμα του κατάγματος και το μέγεθος του κενού της σχισμής. Χαρακτηριστικά, μία μικρή σχισμή είναι πιθανό να επουλωθεί γρήγορα και σωστά ενώ μία μεγάλη σχισμή οδηγεί σε καθυστερημένη πόρωση και μικρότερη αναδόμηση οστού στο σημείο του κατάγματος (Augat et al., 1998). Το μέγεθος της κίνησης στην περιοχή του κατάγματος καθορίζεται από το εξωτερικό φορτίο (πχ το πάτημα ποδιού για κάταγμα κνήμης) και τη σταθερότητα της στερέωσης (πχ σταθερότητα γύψου). Σφιχτή στερέωση περιορίζει το σχηματισμό κάλλου, πιο χαλαρή στερέωση επιτρέπει το σχηματισμό του ενώ ασταθής στερέωση οδηγεί σε μεγάλη κίνηση και κατά συνέπεια μη ένωση (Goodship 1998; Claes et al., 1995).

Η διεύθυνση της κίνησης των άκρων στην περιοχή του κατάγματος (interfragmentary movement) επηρεάζει τη διαδικασία πόρωσης. Η αξονική κίνηση επιτρέπει θετικά την πόρωση αυξάνοντας το ρυθμό της και υποκινώντας το σχηματισμό περιόστεου κάλλου (Larsson et al., 2001) ενώ η διατμητική κίνηση έχει αντίθετα αποτελέσματα.

Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, η διατομή του κάλλου μεγαλώνει και η σχισμή σταθεροποιείται. Η κίνηση των άκρων του κατάγματος μειώνεται καθώς ο κάλλος σκληραίνει ώστε τελικά ο σκληρός κάλλος να γεφυρώσει τα δύο άκρα. Η κίνηση μειώνεται ακόμα περισσότερο ώστε να αναδομηθεί νέο οστό στη σχισμή. Ο ρυθμός της μείωσης της σχισμής εξαρτάται από την αρχική κίνηση, όπου μεγαλύτερες κινήσεις προκαλούν γρηγορότερη μείωσή της (Claes et al., 1998).

2.3.2 Βιολογικοί παράγοντες

Η αποκατάσταση των μαλακών ιστών που περιβάλλουν το σχίσμα είναι πολύ σημαντική. Η αποκατάσταση της παροχής αίματος παρέχει το κατάλληλο βιολογικό περιβάλλον για την πόρωση. Επίσης, κατά τη διάρκεια του τελικού σταδίου της ενδοχονδρικής οστεοποίησης και της αναδόμησης του οστού, ειδικές ουσίες που ονομάζονται μεταλλοπρωτεϊνάσες υποβαθμίζουν το χόνδρο και το οστό, επιτρέποντας την διείσδυση των αιμοφόρων αγγείων (Tsiridis et al., 2007). Οι

μοριακές δομές που συμμετέχουν στην πάρωση των οστών μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες: α) τις προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες β) τους αυξητικούς παράγοντες (της μεγάλης TGF- β ομάδας και άλλους) και γ) τους αγγειογενετικούς παράγοντες.

Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες εμπλέκονται στην πάρωση καταγμάτων κατά την έναρξη των διαδικασιών αποκατάστασης του τραυματισμού, όπου παράγονται και λειτουργούν αμέσως μετά τον τραυματισμό και για ένα περιορισμένο χρονικό διάστημα. Στα ενδιάμεσα στάδια της πάρωσης, ρυθμίζονται κάποιες από τις κυτοκίνες, ώστε να ενεργοποιήσουν τους οστεοκλάστες για την αφαίρεση του ανοργανοποιημένου χόνδρου, ενώ άλλες συμμετέχουν στο μεταγενέστερο στάδιο της αναδόμησης του οστού.

Οι αυξητικοί παράγοντες ελέγχουν ένα μεγάλο αριθμό διαδικασιών κατά τη διάρκεια της οστεοποίησης. Οι παράγοντες TGF- β προωθούν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μεσεγχευματικών βλαστικών κυττάρων και ενεργοποιούν την ενδομεμβρανική και ενδοχονδρική οστεοποίηση. Οι παράγοντες BMP είναι αυτοί που στέλνουν το σήμα για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων ενώ οι ινοβλαστικοί (FGFs) και οι αυξητικοί παράγοντες ινσουλίνης (IGFs) αυξάνουν το μέγεθος και τη σκληρότητα του κάλλου.

2.3.3 Αγγειογένεση

Η αγγειογένεση πιστεύεται ότι ρυθμίζεται μέσω δύο διαφορετικών βιολογικών μονοπατιών: το μονοπάτι που εξαρτάται από τον αυξητικό παράγοντα VEGF και το μονοπάτι που εξαρτάται από την αγγειοποιητίνη. Πιθανολογείται ότι και οι δύο παραπάνω περιπτώσεις λαμβάνουν χώρα κατά την αποκατάσταση των καταγμάτων. Οι παράγοντες VEGFs είναι ουσιώδεις μεσολαβητές της αγγειογένεσης και των ενδοθηλιακών κυττάρων ειδικών μιτογόνων. Οι αγγειοποιητίνες I και II είναι ρυθμιστικά αγγειακά μορφογενετικά μόρια που σχετίζονται με των σχηματισμών των μεγάλων αγγείων και την ανάπτυξη πλευρικών τμημάτων των προϋπαρχόντων αγγείων. Ωστόσο, η συμβολή τους στην αγγειογένεση δεν έχει κατανοηθεί πλήρως (Tsiridis et al., 2007).

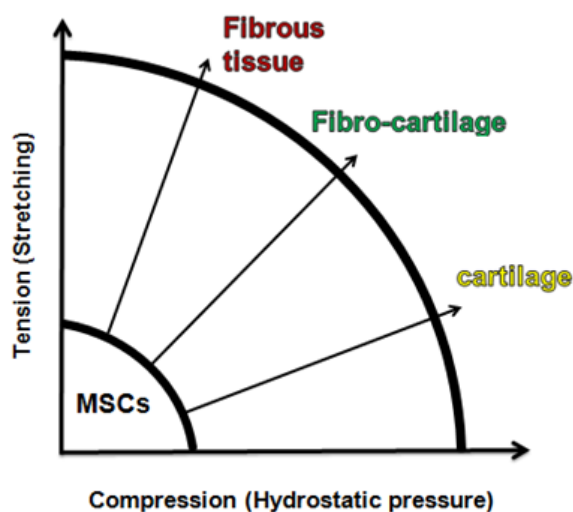
2.4 Υπολογιστικά μοντέλα πάρωσης οστού

Πολλές βιολογικές διαδικασίες, όπως και η πάρωση των οστών, είναι τόσο σύνθετες που τα πειράματα είτε καθίστανται χρονοβόρα και ακριβά, είτε είναι μη πραγματοποιήσιμα. Συνδυάζοντας τη γνώση των υπολογιστών και της εμβιομηχανικής, προτάθηκαν θεωρίες, βασισμένες σε εμπειρικές παρατηρήσεις της διαφοροποίησης των ιστών υπό συγκεκριμένες επιβολές φόρτισης. Οι θεωρίες, που σαν σκοπό έχουν να εξηγήσουν τον τρόπο με τον οποίο το μηχανικό περιβάλλον

επηρεάζει την ανάπτυξη των ιστών και την αναδόμηση του οστού, ελέγχονται με τη χρήση υπολογιστικών μεθόδων, όπως τα πεπερασμένα στοιχεία.

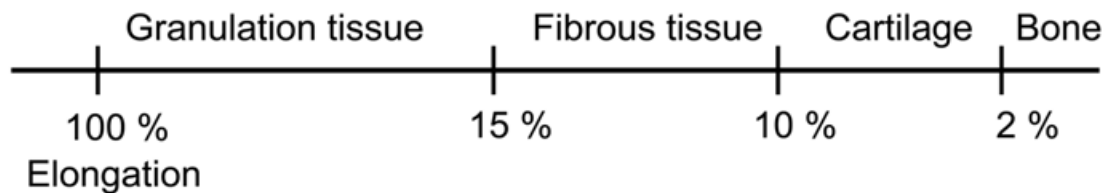
2.4.1 Οι πρώιμες θεωρίες

Το 1960, ο Pauwels πρότεινε το πρώτο θεωρητικό μοντέλο, σύμφωνα με το οποίο οι μηχανικές δυνάμεις επιδρούν στη διαφοροποίηση μέσω της μηχανικής παραμόρφωσης των ιστών (Pauwels, 1960). Πρότεινε λοιπόν ότι οι ιστοί αντέχουν διαφορετική ο καθένας μηχανική καταπόνηση. Χαρακτηριστικά, ο φλοιώδης ιστός σε περιοχές τάνυσης ενώ ο πορώδης ιστός, λόγω της σπογγοειδούς δομής του, έχει αντοχή μόνο σε υδροστατική πίεση. Έτσι, αναγνώρισε την τροπή και την υδροστατική πίεση ως δύο ξεχωριστά ερεθίσματα που διεγείρουν το φλοιώδη και τον πορώδη ιστό αντίστοιχα (Σχήμα 2.5). Η βασική ιδέα της θεωρίας του ήταν ότι ο άμεσος σχηματισμός οστού στην περιοχή του σχίσματος είναι αδύνατος. Ο ρόλος λοιπόν των ενδιάμεσων ιστών είναι η ισορρόπηση και η ενδυνάμωση του κάλλου, καθώς και η δημιουργία του κατάλληλου μηχανικού περιβάλλοντος για τη δημιουργία οστού (Pauwels 1960). Η θεωρία του Pauwels βασιζόταν σε κλινικές παρατηρήσεις και στη λογική, χωρίς τη χρήση μέτρησης των τάσεων και των τροπών.



Σχήμα 2.5: Σχήμα της θεωρία του Pauwels, με την τροπή και την υδροστατική πίεση να προκαλούν βιοφυσική διέγερση.

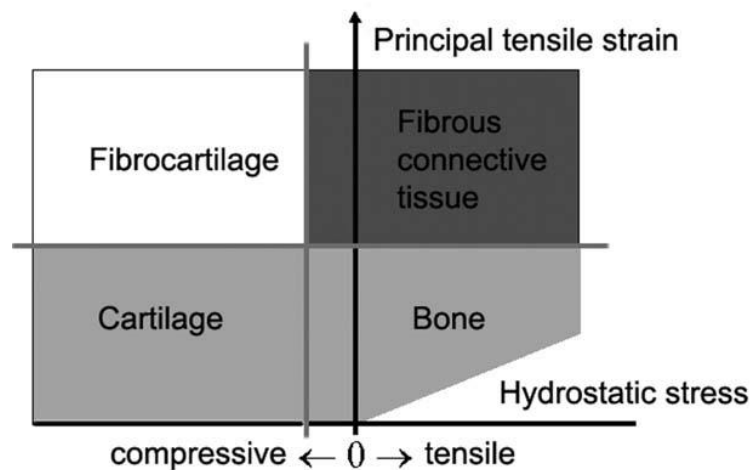
Οι Perren και Cordey (1980) πρότειναν ότι η διαφοροποίηση των ιστών ελέγχεται από την ικανότητά τους να επιμηκύνονται. Η κύρια ιδέα ήταν ότι ένας ιστός διαρρηγνύεται ή αστοχεί όταν η επιμήκυνσή του ξεπεράσει ένα όριο. Έτσι, δεν μπορεί να σχηματιστεί σε περιοχές μεγάλων τροπών. Η τροπή ανάμεσα στα δύο άκρα του σχίσματος καθορίζεται από το λόγο της μετατόπισης σχίσματος και κενού προς το μήκος του κενού. Καθώς ο ιστός σκληραίνει, η τροπή μειώνεται επιτρέποντας την πώρωση και τη διαφοροποίηση του αρχικού κοκκοποιημένου ιστού σε φλοιώδη, πορώδη και τέλος σε οστίτη ιστό (Σχήμα 2.6). Συνεπώς, με τη γνώση της τροπής, μπορεί να παραβλεφθεί η διαφοροποίηση.



Σχήμα 2.6: Αντοχή των διαφόρων ιστών σε επιμήκυνση

2.4.2 Το μονοφασικό μοντέλο του Carter

Με βάση τις ιδέες του Pauwels, οι Carter et al (1988) πρότειναν ένα μοντέλο, στο οποίο το ιστορικό των τάσεων και τροπών εξηγούσε τη διαφοροποίηση συναρτήσει του χρόνου. Αργότερα, πρότειναν ένα πιο γενικό μοντέλο (Carter et al, 1998), σύμφωνα με το οποίο όταν ο ιστός υπόκειται σε μεγάλο εφελκυσμό, παράγεται φλοιώδης θεμελιώδης ουσία, ενώ όταν υπόκειται σε μεγάλη υδροστατική πίεση, παράγεται πορώδης θεμελιώδης ουσία. Όταν η υδροστατική πίεση είναι πολύ χαμηλή, σχηματίζεται το οστό (Σχήμα 2.7).

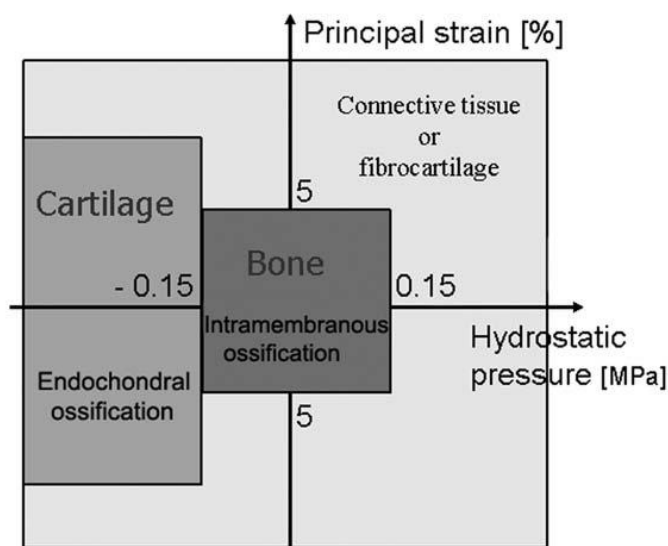


Σχήμα 2.7: Σύμφωνα με το μοντέλο των Carter et al (1998), μία γραμμή βασισμένη στην επιμήκυνση και μία στην υδροστατική πίεση διαχωρίζουν τους ποροβλεπόμενους τύπους ιστών.

Αυτή αποτέλεσε την πρώτη μελέτη που χρησιμοποίησε τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων για τη διερεύνηση των σχέσεων πίεσης και τροπής στους διαφοροποιημένους τύπους ιστών. Ο ιστός στον κάλλο μοντελοποιήθηκε ως γραμμικά ελαστικό υλικό. Αν και το μοντέλο χρησιμοποιήθηκε σε πολλές μελέτες, καμία από αυτές δεν προέβλεπε διαφοροποίηση του ιστού, προσαρμοστικά με το χρόνο.

2.4.3 Το μοντέλο πόρωσης των Claes και Heigele

Βασισμένοι σε ιστολογικές παρατηρήσεις, οι Claes και Heigele (1999) δημιούργησαν ένα μηχανικό μοντέλο παρόμοιο με αυτό του Carter και ποσοτικοποίησαν τα όρια για το σχηματισμό των διαφόρων ιστών (Σχήμα 2.8). Πραγματοποίησαν ανάλυση υπερελαστικού υλικού σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία κατά τη διάρκεια της πόρωσης. Η σύγκριση των ιστολογικών παρατηρήσεων με τη μαθηματική ανάλυση των τάσεων και των τροπών απέδωσε το σχηματισμό ενδομεμβρανικού ιστού σε τροπές μικρότερες του 5%. Το όριο αυτό επαληθεύτηκε από πειράματα καλλιέργειας κυττάρων που μελετούσαν τον εφελκυσμό των οστεοβλαστών. Θλιπτική υδροστατική πίεση μεγαλύτερη των -0.15 MPa και τροπές μικρότερες του 15% φάνηκε να ενεργοποιούν την ενδοχονδρική οστεοποίηση, με όλες τις υπόλοιπες τιμές να αντιστοιχούν σε συνδετικό φλοιώδη και πορώδη ιστό.



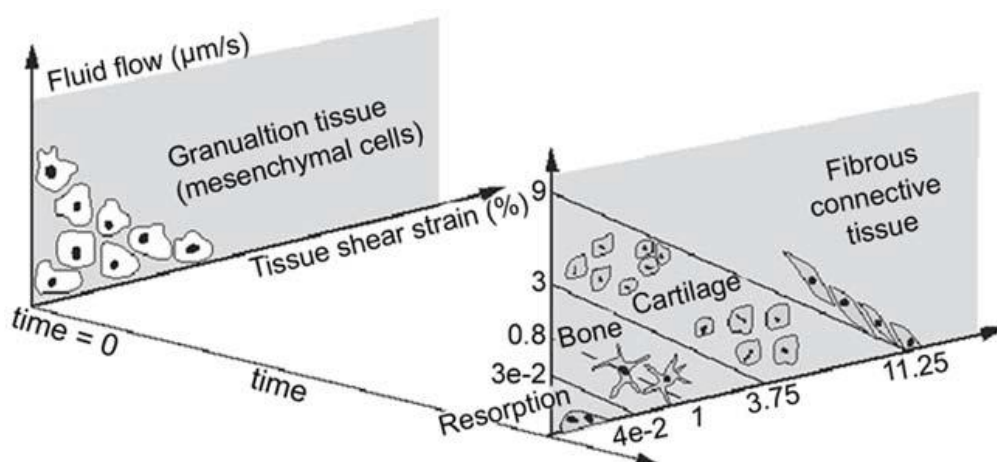
Σχήμα 2.8: Το μοντέλο των Claes και Heigele.

2.4.4 Το διφασικό μοντέλο των Prendergast και Huijkes

Τα τελευταία χρόνια, χρησιμοποιούνται τα ποροελαστικά πεπερασμένα στοιχεία για τη μοντελοποίηση κορεσμένων με ρευστά υλικών. Η αντίδραση στις εξωτερικές φορτίσεις είναι ένας γραμμικός συνδυασμός της τάσης της στερεάς φάσης και της πίεσης του ρευστού. Η στερεή φάση παραμορφώνεται σύμφωνα με το μέτρο ελαστικότητάς της και το ρευστό ρέει με ρυθμό ανάλογο της κλίσης της πίεσης και της διαπερατότητας, σύμφωνα με το νόμο του Darcy. Ανάλογα τη θεωρία, το στερεό και το ρευστό μπορούν να θεωρηθούν ασυμπίεστα ή το στερεό να θεωρηθεί συμπιεστό. Η δεύτερη διατύπωση οδηγεί σε χρονοεξαρτώμενη συμπεριφορά του υλικού καθώς το ρευστό εξωθείται και ανακατανέμεται μέσα στο υλικό. Η ποροελαστική θεωρία αποδίδεται στον Biot (1941), ενώ η διφασική θεωρία

προτάθηκε από τους Mow et al. (1980) για τη μοντελοποίηση του χόνδρου. Οι δύο αυτές θεωρίες είναι ελαφρά διαφορετικές, όμως καταλήγουν σε παρόμοια αποτελέσματα (Prendergast et al., 1996).

Κατά τη δυναμική ανάλυση ενός πειράματος διαφοροποίησης γύρω από εμφυτευμένο έμβολο σε σκύλους, βρέθηκε ότι η πίεση του ρευστού δε μεταβάλλεται κατά τη διαδικασία της διαφοροποίησης (Soballe et al., 1992a; 1992b; Prendergast et al., 1997; Huiskes et al., 1997). Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι ιστοί δε δημιουργούνται μόνο από τη θεμελιώδη ουσία, αλλά και λόγω των οπισθελκυσών δυνάμεων (drag forces) που προέρχονται από την ενδιάμεση ροή του ρευστού. Συνεπώς, η ροή και η πίεση του ρευστού έπρεπε να ερευνηθούν ως πιθανές μεταβλητές διέγερσης. Οι Prendergast et al. (2007) εισήγαγαν ένα μοντέλο διαφοροποίησης βασισμένο σε ποροελαστικά πεπερασμένα στοιχεία δύο βιοφυσικές διεγέρσεις: τη διατμητική παραμόρφωση για τη στερεά φάση και την ταχύτητα ροής για την εμβόλιμη φάση του ρευστού, όπου υψηλές τιμές και για τις δύο διεγέρσεις ευνοούν το σχηματισμό ινώδη ιστού και μόνο όταν και οι δύο διεγέρσεις έχουν χαμηλές τιμές ευνοείται η οστεοποίηση (Σχήμα 2.9).



Σχήμα 2.9: Το μοντέλο διαφοροποίησης που προτάθηκε από τους Prendergast et al. (1997) και Huiskes et al. (1997). Η διαφοροποίηση των μεσεγγυματικών βλαστικών κυττάρων εξαρτάται από την ταχύτητα ροής και τη διατμητική παραμόρφωση.

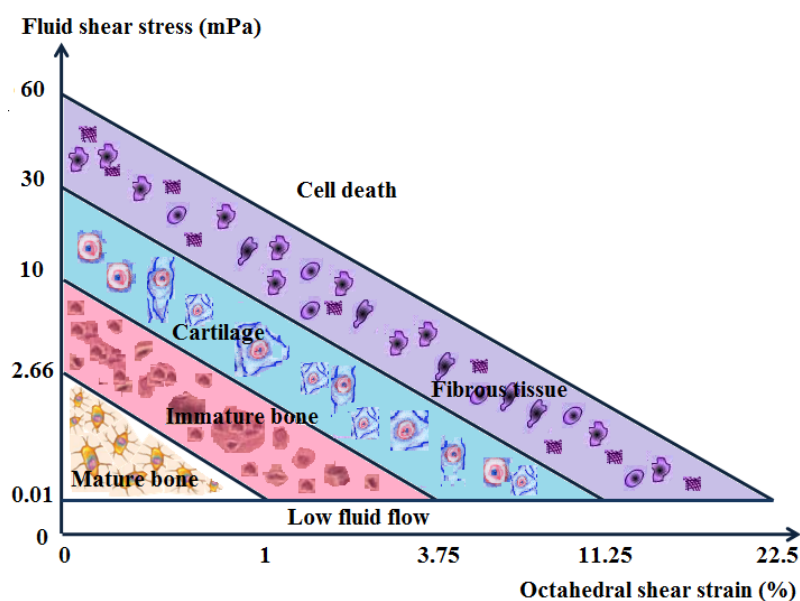
Οι Lacroix and Prendergast (2002) εφάρμοσαν τον ίδιο αλγόριθμο για τη μελέτη της διαφοροποίησης των ιστών κατά τη διάρκεια της πώρωσης του οστού (Lacroix and Prendergast 2002; Lacroix et al., 2002). Το δυναμικό αυτό μοντέλο έχει τη δυνατότητα να μοντελοποιήσει τον άμεσο σχηματισμό του περιόστου, την ενδοχονδρική οστεοποίηση στον εξωτερικό κάλλο και επαναπορρόφησή του. Επιπλέον, προβλέπει πιο αργή πώρωση με την αύξηση του μήκους του κενού της σχισμής και αυξανόμενη παραγωγή συνδετικού ιστού με την αύξηση της παραμόρφωσης στα άκρα της σχισμής. Αυτές οι μελέτες εισήγαγαν βιολογικές αναπαραστάσεις επιβάλλοντας συγκεντρώσεις βλαστικών κυττάρων αρχικά στα εξωτερικά σύνορα, και χρησιμοποιώντας ένα μηχανισμό διάχυσης για τη

μοντελοποίηση της μετανάστευσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η διαφοροποίηση εξαρτάται από την κυτταρική συγκέντρωση και τη διέγερση.

Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιήθηκε για πρόβλεψη της διαφοροποίησης ιστών σε κουνέλια (Geris et al., 2003; 2004), για τη μελέτη της πώρωσης της κνήμης προβάτου και για τη μελέτη της ελαττωματικής οστεοχονδρικής πώρωσης (Kelly and Prendergast, 2005).

2.4.5 Το διφασικό μοντέλο των Sandino και Lacroix

Οι Sandino και Lacroix (2011) έκαναν περαιτέρω τροποποιήσεις στο μοντέλο των Prendergast et al. (1997). Χρησιμοποίησαν ως διέγερση την οκταεδρική διατμητική τάση στον ιστό και τη διατμητική τάση στο ρευστό (Σχήμα 2.10). Η στερεά φάση μοντελοποιήθηκε ως γραμμικά ελαστικό υλικό και η ρευστή φάση ως νευτωνικό ρευστό. Επιπλέον, εκτός της πρόβλεψης της διαφοροποίησης και επαναρρόφησης των ιστών, προστέθηκε και ο θάνατος των κυττάρων στον αλγόριθμο των Prendergast et al. (1997). Οι Sandino και Lacroix κατάληξαν στο ότι οι μεταβολές της διατμητικής τάσης του ρευστού πρέπει να ελέγχονται *in vivo* για την αποφυγή καθυστέρησης στο σχηματισμό νέων ιστών.



Σχήμα 2.10: Το μοντέλο των Lacroix και Sandino, σύμφωνα με το οποίο η διατμητική τάση στο ρευστό και η οκταεδρική διατμητική τροπή χρησιμοποιούνται ως βιοφυσικές διεγέρσεις.

2.4.6 Βιολογικά μοντέλα πόρωσης οστών

Το μαθηματικό μοντέλο που ανέπτυξαν για τα στάδια πόρωσης οστού οι Bailón-Plaza et al. (2001) συμπεριλαμβάνει επτά μεταβλητές (πυκνότητες κυττάρων, εξωκυττάρων ουσιών και αυξητικών παραγόντων) που συμμετέχουν στα διάφορα στάδια της πόρωσης χωρίς να λαμβάνει υπόψη το φαινόμενο της αγγειογένεσης και επιλύει το σύστημα των εξισώσεων με την αριθμητική μέθοδο πεπερασμένων διαφορών ADI (alternative direction implicit method). Οι πυκνότητες των κυττάρων μεταβάλλονται λόγω της ενδοχονδριακής αντικατάστασης, της μετανάστευσης, του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της μετακίνησης των κυττάρων, ενώ οι μεταβολές της εξωκυττάριας ουσίας είναι αποτέλεσμα σύνθεσης και απορρόφησης οστού και χόνδρου. Οι συγκεντρώσεις των αυξητικών παραγόντων που παράγονται από τα κύτταρα, μεταβάλλονται λόγω διάχυσης, σύνθεσης κι αποσύνθεσης. Δύο χρόνια αργότερα, η ίδια επιστημονική ομάδα (Bailón-Plaza and van der Meulen, 2003) θα συνδυάσει το βιολογικό μοντέλο και το μηχανικό, μελετώντας τις επιδράσεις σε μέτρια και υπερβολική φόρτιση.

Οι Geris et al. (2006) συνδύασαν το μοντέλο πόρωσης καταγμάτων που προτάθηκε από τους Bailón-Plaza et al. (2001) με πειραματικά δεδομένα, οδηγώντας σε μία βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν το φαινόμενο. Αργότερα, οι Geris et al. (2008) προχώρησαν το βιολογικό μαθηματικό μοντέλο πόρωσης καταγμάτων προσθέτοντας διαφορικές εξισώσεις που υπολογίζουν πυκνότητες κυτταρικών τύπων, αυξητικών παραγόντων κι εξωκυττάριας ουσίας που συνδέονται με το φαινόμενο της αγγειογένεσης στην πόρωση καταγμάτων (Ποδαροπούλου 2012). Το μοντέλο αυτό επιλύθηκε με τη μέθοδο των πεπερασμένων όγκων και η ολοκλήρωση του ως προ το χρόνο έγινε με τον Rowmap κώδικα που ανέπτυξαν οι Weiner et al. (1997).

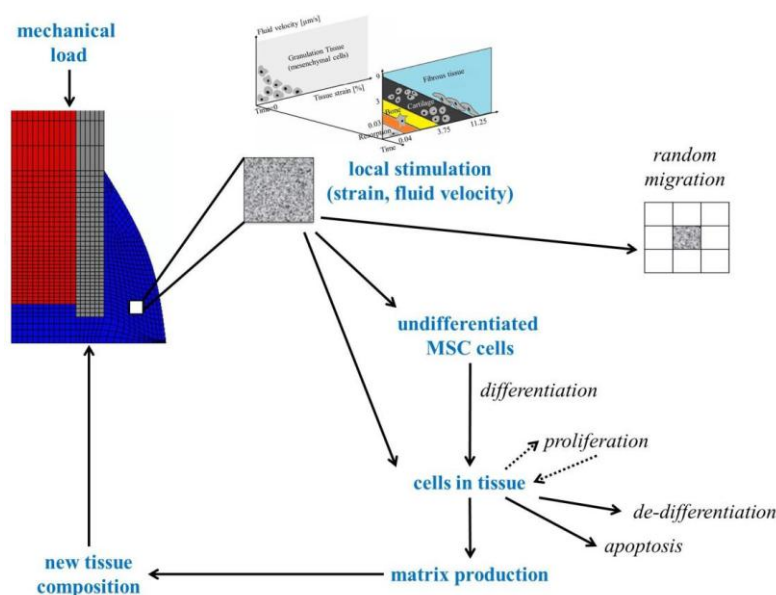
Οι Garcia et al., (2006) ανέπτυξαν ένα συνεχές μαθηματικό μοντέλο που μοντελοποιούσε τη διαδικασία ανάπτυξης του κάλλου. Το μοντέλο προσπάθησε να μιμηθεί τη μετανάστευση των μεσεγγυματικών κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό των μεσεγγυματικών βλαστικών κυττάρων, ινοβλαστών, χονδροκυττάρων και οστεοβλαστών, αλλά και τη διαφοροποίηση, το θάνατο των κυττάρων, αλλά και την οστεοποίηση, την αναδόμηση, τη σύνθεση της κυτταρικής ουσίας και τη ζημιά των οστών με την πάροδο του χρόνου. Το μοντέλο ως στόχο είχε την ανάλυση των κύριων συστατικών που σχηματίζουν την ουσία των διάφορων ιστών και να χρησιμοποιήσει τη σύνθεση για τον καθορισμό των μηχανικών ιδιοτήτων και τη διαπερατότητα των ιστών.

Οι Peiffer et al. (2011) ανέπτυξαν το υβριδικό βιολογικό μοντέλο της αγγειογένεσης στην πόρωση κατάγματος, το οποίο αποτελεί την προέκταση του προαναφερθέντος μοντέλου (Geris et al., 2008) με εξισώσεις που προσδιορίζουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων ως αποτέλεσμα της κίνησης του προπορευόμενου φαινοτύπου ενδοθηλιακών κυττάρων, τα “endothelial tip cells”. Αυτός ο φαινότυπος

ενδοθηλιακών κυττάρων, καθοδηγούμενος από ερεθίσματα του μικροπεριβάλλοντος, δημιουργεί αναπτυσσόμενες διακλαδώσεις που συναντάνε τα αγγεία υποβάλλοντάς τα σε αναστόμωση.

2.4.7 Μηχανοβιολογικά μοντέλα

Οι Isaksson et al. (2008) ανέπτυξαν έναν αλγόριθμο που συνδέει τη μηχανική διέγερση με τα κυτταρικά φαινόμενα. Δύο ξεχωριστά μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων για το μηχανικό περιβάλλον και ένα κυτταρικό μοντέλο έτρεχαν παράλληλα ανταλλάσσοντας δεδομένα. Η μηχανική διέγερση καθοριζόταν από τον αλγόριθμο των Prendergast et al., (1997). Η δραστηριότητα των διαφόρων τύπων κυττάρων καθοριζόταν όχι μόνο από τη μηχανική διέγερση, αλλά και από τη δραστηριότητα των υπόλοιπων κυτταρικών τύπων. Επιπλέον, το μοντέλο περιείχε μοντελοποίηση της άμεσης επίδρασης των αυξητικών παραγόντων στα κύτταρα (Σχήμα 2.11). Το μοντέλο αξιολογήθηκε σε μελέτη τομής ανθρώπινου οστού. Συγκρίνοντας τα υπολογιστικά αποτελέσματα με αυτά της εμπειρικής παρατήρησης, το μοντέλο προέβλεψε πολλές πλευρές της πάρωσης οστού όπως οι κατανομές κυττάρων και ιστών και τα φαινόμενα που προκαλούνται από τις μηχανικές διαταραχές.



Σχήμα 2.11: Το μηχανοβιολογικό μοντέλο που προτάθηκε από τους Isaksson et al., (2008).

Οι Geris et al., (2010) συνέδεσαν το βιολογικό μοντέλο που ανέπτυξαν (Geris et al., 2008) με το μηχανικό μοντέλο των Prendergast et al., (1997) καθιστώντας τις βιολογικές παραμέτρους εξαρτώμενες από τη μηχανική διέγερση. Το μοντέλο εφαρμόστηκε με σκοπό να διερευνηθεί εάν η μηχανική διέγερση με επιρροή μονάχα στη διαδικασία αγγειογένεσης μπορεί να εξηγήσει την κανονική, αλλά και την

ανάπτυξη μη ενώσεων λόγω υπερβολικής φόρτισης. Η μελέτη έδειξε ότι η επίδραση της μηχανικής διέγερσης μόνο στην αγγειογένεση δεν μπορεί να προβλέψει σχηματισμό των μη ενώσεων. Παρόλα αυτά, η δράση της μηχανικής στην αγγειογένεση και ταυτόχρονα στην οστεογένεση μπορεί να προβλέψει το φαινόμενο, επιβεβαιώνοντας τις υποθέσεις των πειραμάτων που ερευνούσαν τη σύνδεση αγγειογένεσης και οστεογένεσης. Το μοντέλο αυτό μελετάται εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο.

2.4.8 Στοχαστικά μοντέλα

Οι Perez και Prendergast (2006) ανέπτυξαν ένα νέο μοντέλο για τη διασπορά των κυττάρων στον κάλλο. Το μοντέλο περιείχε έναν αλγόριθμο ‘τυχαίου βήματος’ για τη μετανάστευση των κυττάρων με ή χωρίς προτεινόμενη κατεύθυνση. Το μοντέλο εφαρμόστηκε στη μελέτη της διεπιφάνειας οστού – εμφυτεύματος με παρόμοια αποτελέσματα με αυτά των Lacroix and Prendergast, (2002).

2.4.9 Σύνοψη των υπολογιστικών μοντέλων διαφοροποίησης ιστών

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, τα υπολογιστικά μοντέλα πάρωσης οστών αποτέλεσαν σημαντικότατο εργαλείο στην κατανόηση του φαινομένου και σημείωσαν μεγάλη εξέλιξη (Geris et al., 2009), κυρίως λόγω των δυνατοτήτων που προσφέρουν οι σύγχρονοι ηλεκτρονικοί υπολογιστές. Η ποροελαστική υλική περιγραφή είναι σημαντική για την περιγραφή των μαλακών ιστών που εμπλέκονται στα πρώτα στάδια της πάρωσης, και έχει πλέον καθιερωθεί. Δυστυχώς όμως, οι μηχανικές ιδιότητες των μαλακών ιστών δεν έχουν χαρακτηριστεί πλήρως προς το παρόν.

Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον έχει μεταφερθεί από τη μηχανική ανάλυση προς τη βιολογία του φαινομένου, θέτοντας σε εφαρμογή μηχανοβιολογικά μοντέλα που λαμβάνουν υπόψη αυξητικούς και άλλους βιολογικούς παράγοντες όπως η μετανάστευση των κυττάρων, η ανάπτυξη κάλλου, η διαδικασία της αγγειογένεσης και άλλα. Τα μοντέλα γίνονται όλο και πιο σύνθετα, καθώς η γνώση για τη λεπτομερή διαδικασία της πάρωσης αυξάνεται. Τα κυριότερα υπολογιστικά μοντέλα που περιγράφουν την πάρωση οστών και τη διαφοροποίηση των ιστών, συνοψίζονται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Τα κυριότερα υπολογιστικά μοντέλα πάρωσης οστών

	Εφαρμογή	Υλικό μοντέλου	Μηχανική διεγερση	Μετανάστευση, διαφοροποίηση, πολλαπλασιασμός	Αυξητικοί παράγοντες/ Ανάπτυξη κάλλου
Carter et al., 1988; Carter and Wong, 1988	Πάρωση οστού	Γραμμικά ελαστικό	Διατμητική τάση, υδροστ. πίεση		
Carter et al., 1998	Πάρωση οστού	Γραμμικά ελαστικό	Κύρια εφελκυστική τροπή, υδροστ. πίεση		
Claes and Heigele, 1999	Πάρωση οστού	Υπερελαστικό	Κύρια τροπή, υδροστατική πίεση		
Prendergast et al.; Huiskes et al., 1997	Διεπιφάνεια οστού - εμφυτεύματος	Ποροελαστικό	Διατμητική τάση, ροή		
Bailon Plaza and Van der Meulen, 2001	Πάρωση οστού			Διάχυση MSC, χονδροκυττάρων, οστεοβλαστών	Οστεογενετικός, χονδρογενετικός
Bailon Plaza and Van der Meulen, 2003	Πάρωση οστού	Γραμμικά ελαστικό	Αποκλίνουσα, εφελκυστική τροπή		
Lacroix et al., 2002	Πάρωση οστού	Ποροελαστικό	Διατμητική τροπή, ταχ. ρευστού	Διάχυση MSC	
Geris et al., 2003	Bone chamber	Ποροελαστικό	Διατμητική τάση, ροή	Διάχυση MSC	
Kelly and Prendergast, 2005	Οστεοχονδρικές ανωμαλίες	Ποροελαστικό	Διατμητική τάση, ροή	Διάχυση MSC	
Perez and Prendergast, 2007	Διεπιφάνεια οστού - εμφυτεύματος	Ποροελαστικό	Διατμητική τάση, ροή	Μετανάστευση κυττάρων	
Geris et al., 2008	Πάρωση οστού			Διάχυση MSC, χονδροκυττάρων, οστεοβλαστών	Οστεογενετικός, χονδρογενετικός, αγγειογενετικός
Geris et al., 2010	Πάρωση οστού	Ποροελαστικό	Διατμητική τάση, ροή	Διάχυση MSC, χονδροκυττάρων, οστεοβλαστών	Οστεογενετικός, χονδρογενετικός, αγγειογενετικός
Garcia et al., 2006	Πάρωση οστού	Ποροελαστικό	2η αναλλοίωτη αποκλίνοντα τανυστή τροπής	Διάχυση MSC, χονδροκυττάρων, ινοβλαστών, οστεοβλαστών	Μέγεθος, γεωμετρία κάλλου
Isaksson et al., 2008	Πάρωση οστού	Ποροελαστικό	Διατμητική τροπή, ταχύτητα ρευστού	Διάχυση MSC, χονδροκυττάρων, ινοβλαστών, οστεοβλαστών, σύνθεση	
Sandino and Lacroix, 2011	Τεχνητοί ιστοί	Ποροελαστικό, νευτώνιο ρευστό	Διατμητική τάση στερεού και ρευστού	Μετανάστευση MSC, ηλικία, πολλαπλασιασμός	Τυχαίοι αυξητικοί παράγοντες

Κεφάλαιο 3

Ποροελαστικό μοντέλο πώρωσης οστών και βιοφυσικές διεγέρσεις

Τα περισσότερα κατάγματα θεραπεύονται μέσω της δευτερογενούς πώρωσης του οστού. Η πώρωση αρχίζει από το αιμάτωμα και περιλαμβάνει διαδοχικές διαφοροποιήσεις των συνδετικών ιστών. Κατόπιν, σχηματίζεται χόνδρος στο κενό του κατάγματος, ο οποίος οστεοποιείται και αναδομείται σε οστό. Η αλληλουχία των διαφοροποιήσεων των ιστών είναι ευαίσθητη στο τοπικό μηχανικό περιβάλλον του ιστού. Παρόλα αυτά, οι μηχανισμοί της διαφοροποίησης δεν έχουν κατανοηθεί επαρκώς.

3.1 Θεωρία

Ο αρθρικός χόνδρος είναι ένα διφασικό υλικό που αποτελείται από τη στερεή φάση (~20%) και τη διάμεση ρευστή φάση (~80%). Η στερεά φάση θεωρείται ασυμπίεστη, γραμμικά ελαστική και μη διαλυτή, ενώ η ενδιάμεση ρευστή φάση θεωρείται ασυμπίεστη και μη διαλυτή επίσης. Επιπλέον, θεωρείται ότι η μοναδική διάλυση που υφίσταται, προέρχεται από την τριβή λόγω της σχετικής κίνησης των φάσεων.

3.1.1 Το διφασικό μοντέλο του Mow

Για τον ορισμό των ποσοτήτων που συνδέονται με τη στερεά και τη ρευστή φάση, χρησιμοποιούνται οι εκθέτες s και f αντίστοιχα. Ο απειροστός όγκος (dV) του ιστού αποτελείται από επαρκή αριθμό “κόκκων” στερεού και από τον απειροστό όγκο του ενδιάμεσου ρευστού. Θεωρώντας το μέσο κορεσμένο και τα κενά της στερεής μήτρας πληρωμένα με ρευστό, παίρνουμε:

$$dV = dV^s + dV^f \quad (3.1)$$

Για την περιγραφή του διφασικού υλικού, ορίζονται οι λόγοι των όγκων ως

$$\begin{aligned}\varphi^f &= \frac{dV^f}{dV} = n \\ \varphi^s &= \frac{dV^s}{dV} = 1 - n \\ \varphi^s + \varphi^f &= 1\end{aligned}\tag{3.2}$$

όπου η ποσότητα n ονομάζεται “porosity”. Στη συνεχή θεωρία των μιγμάτων, κάθε χωρικό σημείο στο μίγμα καταλαμβάνεται ταυτόχρονα από όλα τα συστατικά του. Συνεπώς, σε κάθε σημείο ορίζονται τέσσερις πυκνότητες, δηλαδή δύο για κάθε υλικό; οι πραγματικές (true) και οι φαινομενικές (apparent). Οι πραγματικές πυκνότητες ορίζονται ως:

$$\rho_T^s = \frac{dm^s}{dV^s}\tag{3.3a}$$

$$\rho_T^f = \frac{dm^f}{dV^f}\tag{3.3b}$$

και οι φαινομενικές πυκνότητες ορίζονται ως:

$$\rho^s = \frac{dm^s}{dV}\tag{3.4a}$$

$$\rho^f = \frac{dm^f}{dV}\tag{3.4b}$$

όπου dm^s και dm^f η απειροστή μάζα της στερεής και της ρευστής φάσης αντίστοιχα, ενώ η ολική πυκνότητα του μίγματος σε χρόνο t είναι:

$$\rho = \rho^s + \rho^f\tag{3.5}$$

Κάθε συστατικό προσδιορίζεται από μία συγκεκριμένη, αλλά τυχαία διαμόρφωση αναφοράς, καθώς και από την κίνησή του. Έτσι,

$$x_i^s = \varphi_i(X_i^s, t)\tag{3.6a}$$

$$x_i^f = \varphi_i(X_i^f, t)\tag{3.6b}$$

όπου x_i^s και x_i^f οι υλικές συντεταγμένες, t ο χρόνος και X_i^s, X_i^f η χωρική θέση που καταλαμβάνεται στο χρόνο t από τα σωματίδια x_i^s και x_i^f . Οι αντίστοιχες ταχύτητες δίνονται ως:

$$v_i^s = \partial\varphi_i(X_i^s, t)/\partial t|_{x^s}\tag{3.7a}$$

$$v_i^f = \partial\varphi_i(X_i^f, t)/\partial t|_{x^f}\tag{3.7b}$$

Για την περίπτωση της απουσίας χημικών αντιδράσεων, η διατήρηση της μάζας για κάθε συστατικό εκφράζεται ως:

$$\frac{\partial \rho^s(t)}{\partial t} + \text{div}(\rho^s \mathbf{v}^s) = 0 \quad (3.8)$$

$$\frac{\partial \rho^f(t)}{\partial t} + \text{div}(\rho^f \mathbf{v}^f) = 0 \quad (3.9)$$

Τα στερεά και ρευστά συστατικά θεωρούνται εγγενώς ασυμπίεστα (Mow et al., 1980), συνεπώς η εξίσωση συνέχειας για το μίγμα διεξάγεται προσθέτοντας τις εξισώσεις (3.8) και (3.9):

$$\text{div}(\varphi^s \mathbf{v}^s + \varphi^f \mathbf{v}^f) = 0 \quad (3.10)$$

Στη διφασική θεωρία, οι τανυστές τάσης της στερεάς και της ρευστής φάσης εκφράζονται ως ακολούθως:

$$\sigma_{ij}^s = -\varphi^s p \delta_{ij} + \sigma_{ij}^e \quad (3.11a)$$

$$\sigma_{ij}^f = -\varphi^f p \delta_{ij} + \sigma_{ij}^v \quad (3.11b)$$

όπου σ^e η ελαστική τάση του στερεού, σ^v η ιξώδης τάση του ρευστού και p η πίεση του ρευστού. Η ελαστική τάση θεωρείται θετική κατά τον εφελκυσμό ενώ η πίεση θεωρείται θετική κατά τη θλίψη. Το ρευστό θεωρείται μη ιξώδες, συνεπώς $\sigma^v=0$. Στην πραγματικότητα, η οπισθέλκουσα δύναμη είναι πολύ μεγαλύτερη από την τάση που εφαρμόζεται από τη ρευστή φάση στη στερεά. Προσθέτοντας κατά μέλη τις (3.11a) και (3.11b), προκύπτει η ολική τάση του μίγματος ως

$$\sigma_{ij} = \sigma_{ij}^e - p \delta_{ij} \quad (3.12)$$

Αγνοώντας τη συνεισφορά ορμής από τις βιοχημικές αντιδράσεις (Prendergast et al., 1997), η αρχή διατήρησης της ορμής για κάθε συστατικό μαζί με την αρχή διατήρησης μάζας, οδηγούν στις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\rho^s \frac{D^s \mathbf{v}^s}{Dt} = \text{div}(\boldsymbol{\sigma}^s) + \rho^s \mathbf{B}^s + \boldsymbol{\pi}^s \quad (3.13a)$$

$$\rho^f \frac{D^f \mathbf{v}^f}{Dt} = \text{div}(\boldsymbol{\sigma}^f) + \rho^f \mathbf{B}^f + \boldsymbol{\pi}^f \quad (3.13b)$$

όπου $D^s \mathbf{v}^s / Dt$ και $D^f \mathbf{v}^f / Dt$ οι χρονικές παράγωγοι στην υλική περιγραφή, \mathbf{B}^s και \mathbf{B}^f οι δυνάμεις ανά μονάδα μάζας, $\boldsymbol{\pi}^s$ και $\boldsymbol{\pi}^f$ η συνεισφορά ορμής της στερεάς και της ρευστής φάσης αντίστοιχα λόγω τριβής. Οι ποσότητες $\boldsymbol{\pi}^s$ και $\boldsymbol{\pi}^f$ εξηγούν την αλληλεπίδραση μεταξύ των συστατικών και ικανοποιούν τη σχέση

$$\boldsymbol{\pi}^s = -\boldsymbol{\pi}^f \quad (3.14)$$

ή αλλιώς

$$K(v_i^f - v_i^s) = -K(v_i^s - v_i^f) \quad (3.15)$$

όπου K συντελεστής (diffusive drag coefficient) ο οποίος συνδέεται με την υδραυλική διαπερατότητα k και για στην περίπτωση μας θεωρείται σταθερός (Lai et al., 1981, Ysart and Mason, 1994):

$$K = (\varphi^f)^2/k \quad (3.16)$$

Θεωρώντας τις εξωτερικές δυνάμεις, καθώς και τις επιταχύνσεις της στερεάς και της ρευστής φάσης αμελητέες, οι εξισώσεις (3.13a) και (3.13b) γράφονται

$$\text{div}(\boldsymbol{\sigma}^s) + \boldsymbol{\pi}^s = 0 \quad (3.17a)$$

$$\text{div}(\boldsymbol{\sigma}^f) + \boldsymbol{\pi}^f = 0 \quad (3.17b)$$

Προσθέτοντάς τες κατά μέλη και χρησιμοποιώντας την (3.13), προκύπτει για το μίγμα

$$\text{div}(\boldsymbol{\sigma}^s) + \text{div}(\boldsymbol{\sigma}^f) = \text{div}(\boldsymbol{\sigma}) = 0 \quad (3.18)$$

Για τη σύνδεση της ροής του ρευστού με την υδροστατική πίεση και την παραμόρφωση της στερεάς φάσης, αντικαθιστούμε αρχικά την (3.11b) στην (3.17b) και παίρνουμε

$$-\varphi^f \nabla p + \boldsymbol{\pi}^f = 0 \quad (3.19)$$

Συνδυάζοντας κατάλληλα τις (3.15), (3.16) και (3.19), προκύπτει τελικά η έκφραση που μας δίνει τη ροή q του ρευστού και ισοδυναμεί με το νόμο του Darcy

$$q = -k \nabla p \quad (3.19)$$

3.1.2 Το ποροελαστικό μοντέλο στο COMSOL

Η διφασική θεωρία (Mow et al., 1980) θεωρεί το υλικό ως συνεχές μίγμα της στερεής και της ρευστής φάσης. Στην ποροελαστική θεωρία (Biot, 1941), το υλικό θεωρείται πορώδες στερεό, πλήρως κορεσμένο με ρευστό. Έχει αποδειχτεί ότι οι δύο αυτές θεωρίες είναι ισοδύναμες όταν η ρευστή φάση λαμβάνεται μη ιξώδης (Mow et al., 1980; Simon, 1992). Το λογισμικό COMSOL υιοθετεί στους υπολογισμούς του το ποροελαστικό μοντέλο του Biot.

Από τις δύο καταστατικές εξισώσεις που διέπουν την ποροελαστική συμπεριφορά, η μία συνδέει την τάση και την παραμόρφωση με την υδροστατική πίεση

$$\sigma = C\varepsilon - a_B p_f I \quad (3.20)$$

όπου σ είναι ο τανυστής τάσης του Cauchy, ε ο τανυστής τροπής, a_B ο συντελεστής Biot-Willis ($n \leq a_B \leq 1$) και p_f η υδροστατική πίεση. Το μητρώο C των ελαστικών σταθερών μετράται κάτω από συνθήκες μη ροής. Στη θεωρία του Biot, η δεύτερη καταστατική εξίσωση συνδέει τη μεταβολή της ποσότητας του ρευστού ζ με την ογκομετρική παραμόρφωση (volumetric strain) και τη μεταβολή της υδροστατικής πίεσης

$$p_f = M(\zeta - a_B \varepsilon_{vol}). \quad (3.21)$$

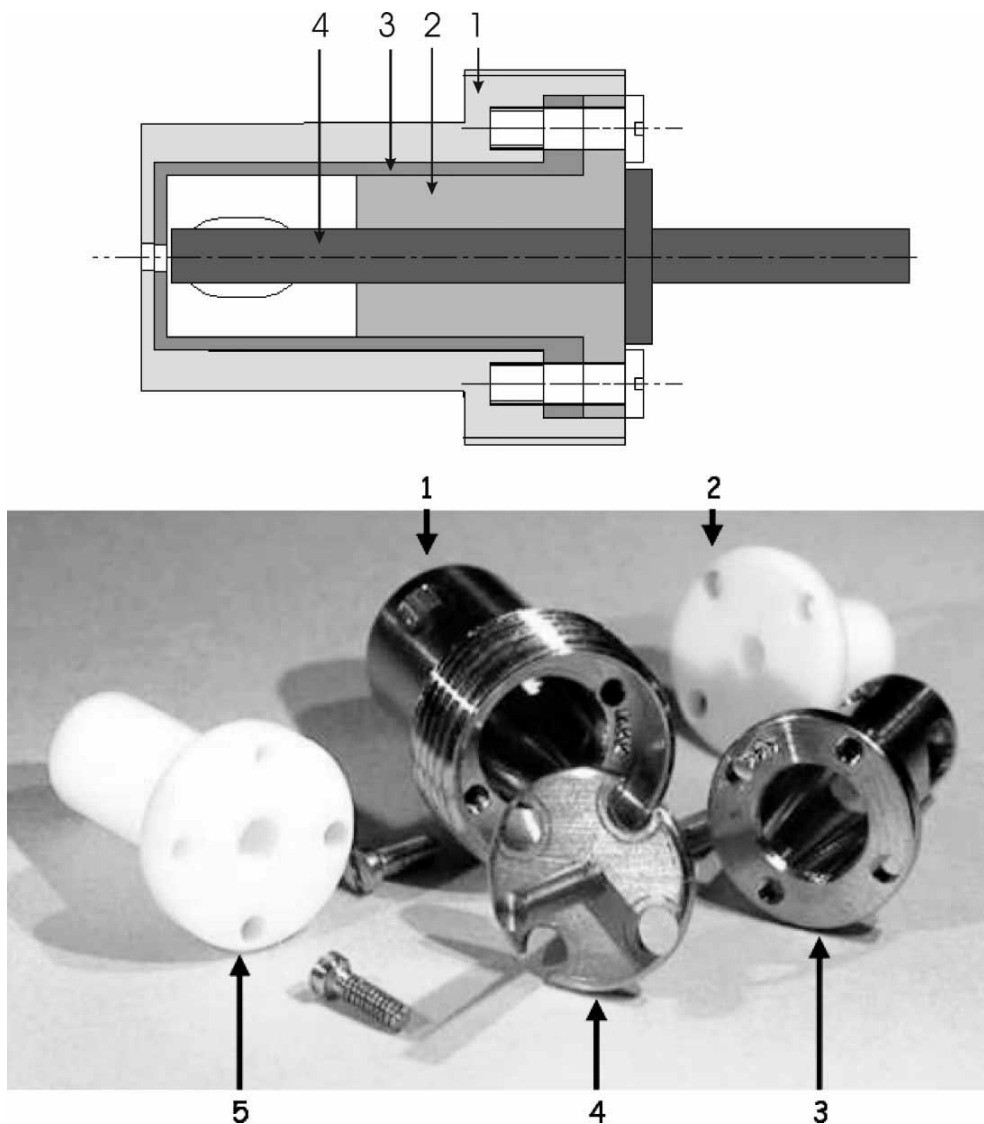
Η μεταβλητή M ονομάζεται σταθερά Biot και είναι αντιστρόφως ανάλογη του συντελεστή αποθήκευσης (storage coefficient) S . Για την περιγραφή του πεδίου ροής χρησιμοποιείται και εδώ ο νόμος του Darcy.

3.2 Σύγκριση των βιοφυσικών διεγέρσεων για τη διαφοροποίηση των ιστών κατά την πώρωση των οστών

Στο σημείο αυτό γίνεται μία βιβλιογραφική σύγκριση των σημαντικότερων μηχανικών μοντέλων πώρωσης οστών, καθώς και των βιοφυσικών διεγέρσεων που έχουν χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της διαφοροποίησης των ιστών.

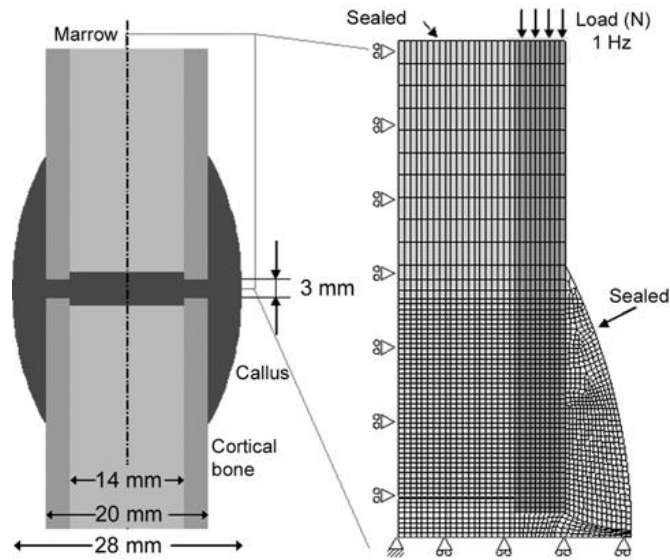
Στη συνέχεια θα γίνει σύγκριση τριών μηχανικών μοντέλων (Carter et al., 1998; Claes and Heigele, 1999; Prendergast et al., 1997). Οι αλγόριθμοι των Carter και Claes προέβλεψαν αλλαγές στη δομή των ιστών σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία, αλλά οι προσομοιώσεις δε συνεχίστηκαν μέχρι το τέλος της διαδικασίας επούλωσης. Οι υλικές ιδιότητες που χρησιμοποιήσαν ήταν γραμμικά ελαστικές, οι Lacroix and Prendergast (2002), βασισμένοι στον αλγόριθμο των Prendergast et al., (1997), έθεσαν ποροελαστικές υλικές ιδιότητες.

Η πρώτη σημαντική σύγκριση δύο αλγορίθμων (Prendergast et al., 1997; Claes and Heigele, 1999) έγινε από τους Geris et al., (2003) όπου εξετάστηκε η ικανότητά τους να προβλέψουν σχηματισμό οστού μέσα σε θαλαμίσκο οστού κουνελιού (bone chamber) (Σχήμα 3.1). Ο θαλαμίσκος παρέχει ένα μονωμένο περιβάλλον, μέσα στο οποίο μπορεί να ερευνηθεί η επίδραση διάφορων παραμέτρων στην απόκριση των ιστών, γύρω από πρόσθετα μέλη. Επίσης, παρέχει δεδομένα για τις δυνατότητες των διαφόρων μηχανοβιολογικών μοντέλων που περιγράφουν μαθηματικά τη διαφοροποίηση των ιστών. Αν και στη συγκεκριμένη μελέτη εισάγονται δύο αλγόριθμοι στο ίδιο γεωμετρικό μοντέλο, χρησιμοποιούνται διαφορετικές υλικές περιγραφές για τον καθένα από αυτούς. Τα δύο μοντέλα οδήγησαν σε ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές στις διαδικασίες διαφοροποίησης και λόγω των διαφορετικών υλικών περιγραφών δεν εξάχθηκαν ασφαλή συμπεράσματα για την ισχύ των μοντέλων.



Σχήμα 3.1: Σχεδιάγραμμα του θαλαμίσκου (επάνω). Εικόνα του θαλαμίσκου με όλα τα μέρη από τα οποία αποτελείται (κάτω). Μετά την εισαγωγή του εξωτερικού θαλαμίσκου (1) εξωτερικής διαμέτρου 1cm, γίνεται επούλωση για έξι εβδομάδες για τη διασφάλιση σταθερότητας. Ο κύλινδρος από τεφλόν (5) αναστέλλει την ανάπτυξη του οστού προς τα μέσα. Μετά την περίοδο των 6 εβδομάδων, ο εσωτερικός θαλαμίσκος (3) μαζί με το τεφλόν (2) και το εμφύτευμα (4) υρεισέρχονται και αρχίζει το πείραμα φόρτισης

Οι Isaksson et al. (2006) υλοποίησαν και σύγκριναν τους τρεις αλγόριθμους (Carter et al., 1988; Claes and Heigele 1999; Prendergast et al., 1997) στο ίδιο υπολογιστικό μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων. Επιπλέον, σύγκριναν και μεμονωμένες μηχανικές διεγέρσεις. Η γεωμετρία κατάγματος κνήμης αίγας περιείχε σχίσμα πλάτους 3mm και τον εξωτερικό κάλλο (Σχήμα 3.2) ενώ η μετανάστευση και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων μοντελοποιήθηκε ως συνδυαστική διαδικασία διάχυσης. Σε ότι αφορά τις μεταβολές στο φαινότυπο των κυττάρων και την παραγωγή ουσιών, χρησιμοποιήθηκε κανόνας των μιγμάτων για τον υπολογισμό των μηχανικών ιδιοτήτων.



Σχήμα 3.2: Το αξονοσυμμετρικό μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων των χερίων των Isaksson et al. (2006)

Τα όρια των τιμών των μηχανικών διεγέρσεων επιλέχθηκαν με βάση τις τιμές καταωφλίου που προέβλεπαν για τις χωροχρονικές κατανομές των ιστών που ανταποκρίνονται καλύτερα στην κανονική πόρωση για τους τρεις αλγόριθμους (Carter et al., 1988; Claes and Heigele 1999; Prendergast et al., 1997), αλλά και μεμονωμένα για τη διατμητική τροπή, τη ροή ρευστού και την υδροστατική πίεση ως μηχανικές διεγέρσεις (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1: Τα όρια των βιοφυσικών διεγέρσεων για το σχηματισμό ιστών, σύμφωνα με τους τρεις αλγόριθμους που μελετήθηκαν από τους Isaksson et al. (2006).

Biophysical stimuli Predicted tissue type	Carter		Claes and Heigele		Prendergast		Single parameter studies		
	Principal Tensile strain	Hydrostatic stress	Principal Strain	Hydrostatic Pore Pressure	Deviatoric Shear Strain % (SS) $i = SS / 3.75 + FF / 3$	Fluid Flow $\mu\text{m/s}$ (FF)	Octahedral shear strain	Fluid Velocity	Pore Pressure
Fibrous tissue	> 5 %	$\leq 0.2 \text{ MPa}$	> 5 %	> 0.15 MPa > -0.15 MPa < -0.15 MPa	$i > 3$		> 5%	> 5 $\mu\text{m/s}$	> 0.6MPa
Cartilage / Endochondral ossification		> 0.2 MPa	$\leq 15 \%$	> 0.15 MPa	$i > 1$		> 2.5%	> 2.5 $\mu\text{m/s}$	> 0.4MPa
Bone / Intramembranous ossification	$\leq 5 \%$	$\leq 0.2 \text{ MPa}$	$\leq 5 \%$	$< \pm 0.15 \text{ MPa}$					
Immature Bone					$i > 0.267$		> 0.05%	> 0.6 $\mu\text{m/s}$	> 0.1MPa
Mature Bone					$i > 0.010$		> 0.005%	> 0.03 $\mu\text{m/s}$	> 0.03MPa
Resorption					$i \leq 0.010$		$\leq 0.005\%$	$\leq 0.03 \mu\text{m/s}$	$\leq 0.03 \text{ MPa}$

Γενικά, σύμφωνα με τους Isaksson et al (2006), και τα τρία μοντέλα προέβλεψαν σωστά τη χωροχρονική διαφοροποίηση των ιστών κατά την κανονική πώρωση του οστού. Ειδικά οι αλγόριθμοι που προτάθηκαν από τους Carter et al. (1998) και Claes and Heigele (1999) έδωσαν ουσιαστικά ίδια αποτελέσματα. Η προσομοίωση της πώρωσης μόνο ως συνάρτηση της αποκλίνουσας τροπής ήταν εκπληκτικά ακριβής. Τα αποτελέσματα μάλιστα, με την έννοια του χρόνου πώρωσης και της κατανομής των ιστών, ήταν συγκρίσιμα με αυτά του αλγόριθμου του Prendergast et al., 1997 όπου χρησιμοποιήθηκαν ως μηχανικές διεγέρσεις η αποκλίνουσα τροπή και η ροή του ρευστού. Αντίθετα, οι αλγόριθμοι που λάμβαναν υπόψη ξεχωριστά τη ροή ρευστού ή την υδροστατική πίεση, δεν μπόρεσαν να προβλέψουν ορθά τη διαδικασία πώρωσης.

Κεφάλαιο 4

Υπολογιστικές τεχνικές επίλυσης του μαθηματικού μοντέλου της αγγειογένεσης στην πόρωση των οστών

Σκοπός του κεφαλαίου δεν είναι η πλήρης περιγραφή του μαθηματικού μοντέλου αγγειογένεσης στην πόρωση των οστών, ούτε και η ανάπτυξη της βιολογίας του φαινομένου, καθώς έχει αναλυθεί πλήρως σε προηγούμενες δημοσιεύσεις και μελέτες (Harrison et al., 2003; Geris et al., 2006; 2008; Ποδαροπούλου 2012). Το παρόν κεφάλαιο παρουσιάζει τη σπουδαιότητα της υπολογιστικής μοντελοποίησης και εμβαθύνει στη μελέτη των υπολογιστικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται στο μαθηματικό μοντέλο της αγγειογένεσης.

4.1 Στοιχεία του μαθηματικού μοντέλου

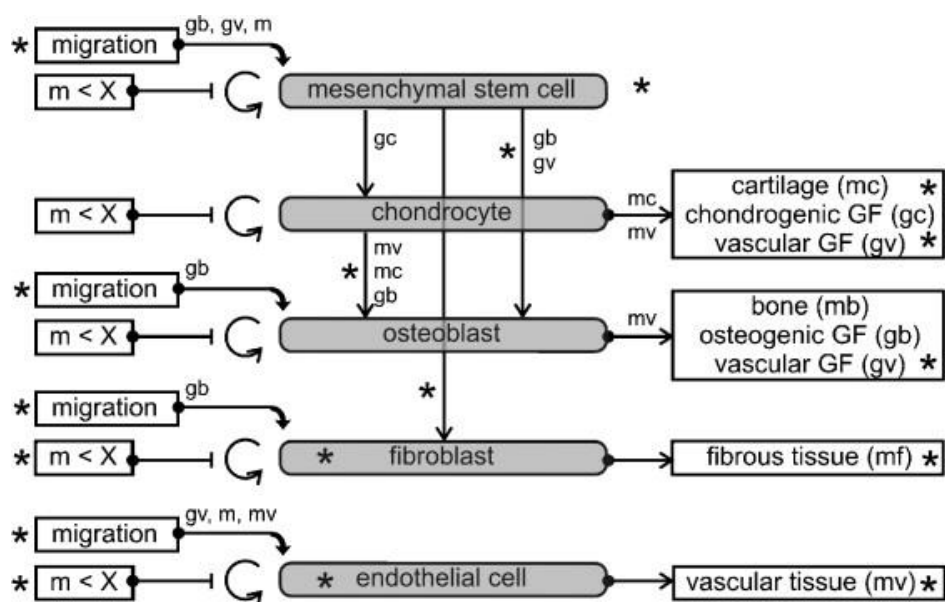
Κατά τη διάρκεια της πόρωσης οστού, τα μεσεγχυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε ειδικά κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των διάφορων ιστών που εμπλέκονται στη διαδικασία αναδόμησης του οστού. Η κυτταρική διαφοροποίηση ρυθμίζεται από τους αυξητικούς παράγοντες. Αρχικά, το μαθηματικό μοντέλο βασίστηκε στο μοντέλο που προτάθηκε από τους Bailón Plaza και Van der Meulen (2001) το οποίο περιγράφει την αποκατάσταση του κατάγματος ως χωροχρονική

μεταβολή της πυκνότητας επτά μεταβλητών. Αργότερα, οι Geris et al. (2008) ανέπτυξαν το εκτενέστερο μοντέλο πάρωσης, μελετώντας και το ρόλο της αγγειογένεσης στην πάρωση κατάγματος. Η μοντελοποίηση ξεκινάει μετά τη φλεγμονώδη φάση, όπου έχει σχηματιστεί ήδη ο κάλλος στην περιοχή του κατάγματος.

Συνοπτικά, οι 12 μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή της αποκατάστασης του κατάγματος είναι (Geris et al., 2008; Ποδαροπούλου 2012):

- Η πυκνότητες των μεσεγχυματικών κυττάρων (c_m), των χονδροκυττάρων (c_c), των οστεοβλαστών (c_b), των ινοβλαστών (c_f) και των ενδοθηλιακών κυττάρων (c_v).
- Η πυκνότητες της χονδροειδούς εξωκυττάριας ουσίας (m_c), της οστικής εξωκυττάριας ουσίας (m_b), του ινώδους ιστού (m_f) και της αγγειακής εξωκυττάριας ουσίας (m_v).
- Ο οστεογενής αυξητικός παράγοντας (g_b), ο χονδρογενετικός αυξητικός παράγοντας (g_c) και ο αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας (g_v).

Η σχηματική παρουσίαση του μαθηματικού μοντέλου δίνεται στο σχήμα (4.1).



Σχήμα 4.1: Σχηματική παρουσίαση του μαθηματικού μοντέλου. GF=growth factor (αυξητικός παράγοντας), $m=m_f+m_c+m_b+m_v$ =ολική πυκνότητα ιστών, X =μέγιστη πυκνότητα ιστού για πολλαπλασιασμό. Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν επεκτάσεις σε σχέση με το μοντέλο των Bailón Plaza και Van der Meulen (2001). Η ανάμειξη των μεταβλητών στις επιμέρους διαδικασίες υποδεικνύεται από το όνομά της δίπλα στο βέλος που αναπαριστά τη συγκεκριμένη διαδικασία. Πχ η πυκνότητα της αγγειακής εξωκυττάριας ουσίας παρεμβαίνει στη μετανάστευση των κυττάρων, την ενδοχονδρική οστεοποίηση και στην παραγωγή αυξητικών παραγόντων. Το σχήμα δημιουργήθηκε από τους Geris et al., (2008).

Το συνεχές μαθηματικό μοντέλο της πώρωσης καταγμάτων περιγράφει την αλληλεπίδραση των συγκεντρώσεων των διαφόρων τύπων κυττάρων, εξοκυττάρων ουσιών και αυξητικών παραγόντων που συμμετέχουν στη διαδικασία μέσω ενός συστήματος μερικών διαφορικών εξισώσεων τύπου TDR (taxis-diffusion-reaction).

Οι μερικές διαφορικές εξισώσεις που περιγράφουν τις μεταβολές των συγκεντρώσεων και των πυκνοτήτων των μεταβλητών του μοντέλου είναι οι εξής (Ποδαροπούλου, 2012):

$$\frac{\partial c_m}{\partial t} = \nabla[D_m \nabla c_m - C_{mCT} c_m \nabla(g_b + g_v) - C_{mHT} c_m \nabla m] + A_m c_m [1 - amcm - F1cm - F2cm - F4cm] \quad (4.1a)$$

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} = \nabla[D_f \nabla c_f - C_f c_f \nabla g_b] + A_f c_f [1 - a_f c_f] + F_4 c_m - F_3 d_f c_f \quad (4.1b)$$

$$\frac{\partial c_c}{\partial t} = A_c c_c [1 - a_c c_c] + F_2 c_m - F_3 c_c \quad (4.1c)$$

$$\frac{\partial c_b}{\partial t} = -\nabla[C_b c_b \nabla g_b] + A_b c_b [1 - a_b c_b] + F_1 c_m + F_3 c_c - d_b c_b \quad (4.1d)$$

$$\frac{\partial c_v}{\partial t} = \nabla[D_v \nabla c_v - C_{vCT} c_v \nabla g_v - C_{vHT} c_v \nabla m_v] + A_v c_v [1 - a_v c_v] - d_v c_v \quad (4.1e)$$

$$\frac{\partial m_f}{\partial t} = P_{fs}(1 - k_f m_f) c_f - Q_f m_f m_c c_b \quad (4.1f)$$

$$\frac{\partial m_c}{\partial t} = P_{cs}(1 - k_c m_c) c_c - Q_c m_c c_b \quad (4.1g)$$

$$\frac{\partial m_b}{\partial t} = P_{bs}(1 - k_b m_b) c_b \quad (4.1h)$$

$$\frac{\partial m_v}{\partial t} = P_{vs}(1 - k_v m_v) c_v \quad (4.1i)$$

$$\frac{\partial g_c}{\partial t} = \nabla[D_{gc} \nabla g_c] + E_{gc} c_c - d_{gc} g_c \quad (4.1j)$$

$$\frac{\partial g_b}{\partial t} = \nabla[D_{gb} \nabla g_b] + E_{gb} c_b - d_{gb} g_b \quad (4.1k)$$

$$\frac{\partial g_v}{\partial t} = \nabla[D_{gv} \nabla g_v] + E_{gvb} c_b + E_{gvc} c_c - g_v (d_{gv} + d_{gvc} c_v) \quad (4.1l)$$

όπου οι διάφορες παράμετροι περιγράφουν τη μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την αποσύνθεση των κυττάρων, την ενδοχονδριακή αντικατάσταση, τις βιολογικές διαδικασίες των αυξητικών παραγόντων και τη σύνθεση – αποσύνθεση της εξοκυττάριας θεμέλιας ουσίας.

4.2 Υπολογιστικές τεχνικές επίλυσης

Σε προηγούμενη μελέτη εργαστηρίου του τομέα μηχανολογικών κατασκευών και αυτομάτου ελέγχου του ΕΜΠ, έγινε η επίλυση του μαθηματικού βιολογικού μοντέλου των δώδεκα εξισώσεων της αγγειογένεσης στην πώρωση κατάγματος που αναπτύχθηκε από τους Geris et al. (2008). Επιτεύχθηκε προσομοίωση των διαδικασιών πώρωσης κατάγματος μόνο κατά τις πρώτες 9.78 ημέρες με την υπορουτίνα χρονική ολοκλήρωσης ode15s του MATLAB και χωρικό πλέγμα 0.05mm (Ποδαροπούλου, 2012). Η υπορουτίνα ode15s είναι μία άρρητη μέθοδος επίλυσης διαφορικών εξισώσεων και είναι σχεδιασμένη για δύσκαμπτα (stiff) συστήματα εξισώσεων. Παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα στην επίλυση μεγάλου συστήματος εξισώσεων, παρόλο που προσφέρει μικρότερη ακρίβεια στην λύση από την υπορουτίνα ode45. Παρόλα αυτά, θεωρείται αρκετά αργή και ακατάλληλη για την επίλυση του συστήματος των δώδεκα διαφορικών εξισώσεων της αγγειογένεσης μετά τη δέκατη ημέρα, καθώς το χρονικό βήμα μειώνεται σε σημείο που να μην υπάρχει χρονική σύγκλιση και η υπορουτίνα να διακόπτεται. Επιπλέον, η συνεχής μείωση του χρονικού βήματος από το χρήστη καθιστά το υπολογιστικό κόστος είτε πολύ μεγάλο είτε ασύμφορο.

Στη συγκεκριμένη παράγραφο λοιπόν, μελετώνται μερικές από τις πιο ειδικές σε δύσκαμπτα προβλήματα υπολογιστικές μέθοδοι, επαληθεύεται η ισχύς τους σε διάφορα είδη απλών περιπτώσεων και γίνεται προσπάθεια επίλυσης των δώδεκα μερικών διαφορικών εξισώσεων του μαθηματικού μοντέλου με τη χρήση αυτών των μεθόδων.

4.2.1 Οι εξισώσεις taxis-diffusion-reaction (TDR)

Πολλά βιολογικά συστήματα παρουσιάζουν χρονικά μεταβαλλόμενα φαινόμενα διάχυσης-αντίδρασης σε μία περιοχή $\Omega \subset \mathbb{R}^d$ με τμηματικά λείο σύνορο $\partial\Omega$. Οι χρονικά και χωρικά εξαρτημένες συγκεντρώσεις των χημικών ειδών που λαμβάνουν μέρος στο φαινόμενο περιγράφονται από τη διανυσματική εξίσωση που ορίζεται ως

$$\mathbf{c}: [0, T] \times \bar{\Omega} \rightarrow \mathbb{R}^l$$

Οι διαδικασίες που συμβαίνουν σε τέτοια συστήματα περιέχουν κινητικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χημικών ειδών, καθώς και χωρική εξάπλωσή τους. Συνήθως μοντελοποιούνται ως συστήματα μερικών διαφορικών εξισώσεων αντίδρασης-διάχυσης. Το γενικό σύστημα αντίδρασης-διάχυσης γράφεται ως

$$\partial_t \mathbf{c}(t, \mathbf{x}) = \mathbf{D}\Delta \mathbf{c}(t, \mathbf{x}) + \mathbf{g}(\mathbf{c}(t, \mathbf{x})) \quad \text{για } (t, \mathbf{x}) \in (0, T] \times \Omega \quad (4.2)$$

όπου Δ η λαπλασιανή, \mathbf{D} είναι $l \times l$ μη αρνητικός διαγώνιος πίνακας που περιέχει τους συντελεστές διάχυσης και η συνάρτηση $\mathbf{g}: \mathbb{R}^l \rightarrow \mathbb{R}^l$ περιγράφει την κινηματική της αντίδρασης μεταξύ των ειδών.

Εάν η περιοχή Ω , εκτός από τα χημικά είδη c , περιέχει και οργανισμούς (πχ κύτταρα, παρασιτοειδή), οι οποίοι μεταναστεύουν σύμφωνα με τις συγκεντρώσεις κάποιων χημικών c , τότε η διαδικασία της μετανάστευσης εξαρτάται δυναμικά από το σύστημα αντίδρασης-διάχυσης. Θεωρούμε ότι η πυκνότητα των οργανισμών περιγράφεται από τη διανυσματική εξίσωση που ορίζεται:

$$\mathbf{n}: [0, T] \times \bar{\Omega} \rightarrow \mathbb{R}^l$$

Αν η μετανάστευση εξαρτάται από τη συγκέντρωση ενός διαλυτού (διαχεόμενου) είδους, η διαδικασία ονομάζεται χημειοταξία (chemotaxis). Αν το χημικό είναι προσκολλημένο σε κάποιο σε κάποιο υποκείμενο υπόστρωμα (πχ εξωκυττάρια ουσία), η διαδικασία λέγεται απτοταξία (haptotaxis). Σε κάθε περίπτωση, η μετανάστευση λόγω κάποιου είδους τακτισμού θεωρείται ανάλογη της χωρικής παραγωγού του χημικού είδους. Επιπλέον, μπορεί να υπάρξει τυχαία κινητικότητα των οργανισμών, θάνατος ή και γένεση. Τέτοια φαινόμενα αγνοούνται στην παρούσα μελέτη. Στα βιολογικά συστήματα όπου οι οργανισμοί αλληλεπιδρούν απευθείας με τα χημικά είδη, η πυκνότητα $n(t, \mathbf{x})$ επιδρά στο σύστημα αντίδρασης-διάχυσης. Συνεπώς, η ποσότητα n πρέπει να συμπεριληφθεί στον όρο αντίδρασης g της εξίσωσης (4.2) ούτως ώστε να έχουμε την εξίσωση $g_0(n, \mathbf{c})$. Τελικά, παίρνουμε το σύστημα TDR (Gerisch and Chaplain, 2005):

$$\partial_t n = \varepsilon \Delta n - \nabla \cdot \left(n \sum_{j=1}^l p_j(\mathbf{c}) \nabla c_j \right) + f_0(n, \mathbf{c}) \quad (4.3a)$$

$$(t, \mathbf{x}) \in (0, T] \times \Omega$$

$$\partial_t \mathbf{c} = D \Delta \mathbf{c} + g_0(n, \mathbf{c}) \quad (4.3b)$$

όπου $p_j: \mathbb{R}^l \rightarrow \mathbb{R}, j = 1, \dots, l$ οι συναρτήσεις τακτισμού που συνδέονται με τα χημικά είδη c_j .

4.2.2 Η μέθοδος των πεπερασμένων όγκων

Η μέθοδος των γραμμών (method of lines ή MOL) χρησιμοποιήθηκε για τις προσεγγιστικές λύσεις του συστήματος (4.1). Δηλαδή, σαν πρώτο βήμα αντικαθιστούμε τις χωρικές παραγωγούς στο σύστημα μερικών διαφορικών εξισώσεων με την προσέγγιση που επιτυγχάνεται από τη μέθοδο των πεπερασμένων όγκων στο χωρικό πλέγμα. Το αποτέλεσμα είναι ένα μεγάλο και δύσκαμπτο σύστημα συνήθων διαφορικών εξισώσεων. Το σύστημα αυτό, που ονομάζεται MOL-ODE, ολοκληρώνεται στο χρόνο με τη χρήση κατάλληλης μεθόδου. Έτσι, επιτυγχάνονται οι προσεγγίσεις της λύσης σε διακριτό χωρικό και χρονικό πλέγμα.

Για ευκολία, θεωρούμε τετραγωνικό πλέγμα $\Omega=(0,1)^2$ που αποτελείται από τετραγωνικά στοιχεία μήκους $h:=1/M$. Τα σημεία του πλέγματος θεωρούνται στο κέντρο των στοιχείων. Η γενίκευση για μη τετραγωνικό πλέγμα είναι άμεση και εύκολη. Τα τετραγωνικά στοιχεία βρίσκονται στις θέσεις $\Omega_i := ((i_1 - 1)h, i_1 h) \times ((i_2 - 1)h, i_2 h)$ και τα αντίστοιχα πλεγματικά σημεία είναι τα $\mathbf{x}_i := ((i_1 - 1/2)h, (i_2 - 1/2)h)$ με $\mathbf{i} = (i_1, i_2) \in \mathcal{I} := \{1, 2, \dots, M\} \times \{1, 2, \dots, M\}$. Ολοκληρώνοντας την εξίσωση (4.3), η εξέλιξη της μέσης πυκνότητας για τη σχέση (3.1a) δίνεται από την εξίσωση:

$$\frac{d\bar{n}_i}{dt} = \frac{1}{|\Omega_i|} \oint \varepsilon \nabla n \zeta d\partial\Omega_i - \frac{1}{|\Omega_i|} \oint n \left(\sum_{j=1}^l p_j(\mathbf{c}) \nabla c_j \right) + \frac{1}{|\Omega_i|} \int f_0(n, \mathbf{c}) dx \quad (4.4)$$

ή για συντομία

$$\frac{d}{dt} \bar{n}_i(t) = H(n(t, \cdot); \mathbf{i}) \equiv H_D(n(t, \cdot); \mathbf{i}) + H_T(n(t, \cdot); \mathbf{i}) + H_R(n(t, \cdot); \mathbf{i}) \quad (4.5)$$

Σημειώνεται ότι η αντίστοιχη διακριτοποίηση για το c - μέρος είναι όμοια και παραλείπεται.

Θεωρούμε την προσέγγιση $N_i(t)$ της μέσης πυκνότητας του i -οστού στοιχείου. Η ιδέα της μεθόδου των πεπερασμένων όγκων είναι η προσέγγιση του δεξιού μέλους της εξίσωσης (4.5) χρησιμοποιώντας τις μέσες τιμές της πυκνότητας στα γειτονικά στοιχεία του Ω_i . Έστω $H(\mathbf{N}(t); \mathbf{i})$ προσέγγιση της $H(n(t, \cdot); \mathbf{i})$ που εξαρτάται από τον αριθμό των στοιχείων και πιθανότητα από το χρόνο t . Τότε, σχηματίζεται το σύστημα των συνήθων διαφορικών εξισώσεων (ODE) της εξέλιξης της προσέγγισης των μέσων τιμών των στοιχείων

$$\frac{d}{dt} N_i(t) = H(\mathbf{N}(t); \mathbf{i}), \quad \mathbf{i} \in \mathcal{I} \quad (4.6)$$

Οι αρχικές τιμές παρέχονται ως προσεγγίσεις N_0 στις μέσες τιμές των στοιχείων που δίνονται από τις αρχικές τιμές του n στο Ω . Χρησιμοποιώντας το θεώρημα μέσης τιμής και τον ορισμό της ροής (βλ. παράγραφο 4.3.3), φτάνουμε στη διακριτοποιημένη μορφή

$$H(\mathbf{N}; \mathbf{i}) := -\frac{1}{h} \sum_{j=1}^d (F_j(\mathbf{N}; \mathbf{i}) - F_j(\mathbf{N}; \mathbf{i} - \mathbf{e}_j)), \quad (4.7)$$

όπου $H=H_D$ ή $H=H_T$ και $F_j(\mathbf{N}; \mathbf{i})$ προσεγγίζει τη μέση ροή από το στοιχείο Ω_i στο στοιχείο $\Omega_{i+\mathbf{e}_j}$ μέσα από το κοινό τους σύνορο. Για τον όρο H_R επιλέγουμε

$$H_R(\mathbf{N}; \mathbf{i}) := f_0(N_i, \mathbf{C}_i) \quad (4.8)$$

Το αποτέλεσμα αυτό αποτελεί πρώτης τάξης προσέγγιση. Σε σημειακή παρεμβολή, είναι ο ακριβής υπολογισμός της συνάρτησης αντίδρασης στο κέντρο του στοιχείου.

4.2.3 Η τεχνική του flux limiter

Έστω η αριθμητική προσέγγιση $F_i(\mathbf{N}; \mathbf{i})$ σε δεδομένο σύνορο δύο στοιχείων (επιφάνεια για 3D και πλευρά για 2D πλέγμα), η οποία εξαρτάται από το πρόσημο της τοπικής κάθετης στο σύνορο ταχύτητας, η οποία με τη σειρά της εξαρτάται από την κατεύθυνση της ροής. Η μέθοδος αυτή που ονομάζεται “upwinding”, αποτελεί συνήθη τακτική για τη διακριτοποίηση των όρων μεταγωγής (advection) και ο όρος τακτισμού (taxi) στην κλάση των προβλημάτων που μελετάμε θεωρείται μεταγωγή (Gerisch et al., 2001).

Στην περίπτωση μας (4.3), η ταχύτητα στη χωρική κατεύθυνση j δίνεται από τη σχέση $\sum_{k=1}^l p_k(\mathbf{c}) \partial_{x_j} c_k$. Έστω $v_{i,j}$ η προσέγγιση της ταχύτητας στο κοινό σύνορο των στοιχείων Ω_i και Ω_{i+e_j} . Θέτουμε

$$v_{i,j} := \sum_{k=1}^l p_k \left(\frac{\mathbf{C}_{i,j} + \mathbf{C}_{i+e_j}}{2} \right) \frac{C_{k,i+e_j} - C_{k,i}}{h} \quad (4.9)$$

και ορίζουμε την προσέγγιση της ροής τακτισμού που εξαρτάται από το πρόσημο ως:

$$F_j(\mathbf{N}; \mathbf{i}) := \max \{0, v_{i,j}\} S_j^+(\mathbf{N}; \mathbf{i}) + \min \{0, v_{i,j}\} S_j^-(\mathbf{N}; \mathbf{i}). \quad (4.10)$$

Οι παρεμβολές $S_j^+(\mathbf{N}; \mathbf{i})$ και $S_j^-(\mathbf{N}; \mathbf{i})$ προσεγγίζουν τη μέση τιμή της u στο σύνορο των δύο στοιχείων. Εάν επιλεγθούν παρεμβολές που είναι γραμμικός συνδυασμός των συνιστωσών N_i , επιτυγχάνεται προσέγγιση μεγαλύτερη από 1^{ης} τάξης, αλλά η διακριτοποίηση δεν είναι θετική και δημιουργούνται ταλαντώσεις στη λύση (Hundsdorfer et al., 1995). Θέλοντας να συνδυάσουμε μεγαλύτερης τάξης προσέγγιση και θετικότητα της λύσης, χρησιμοποιούμε τις συναρτήσεις περιορισμού (limiter functions) $\Phi(r)$ έτσι ώστε:

$$S_j^+(\mathbf{N}; \mathbf{i}) := \begin{cases} N_i + \frac{1}{2} \Phi(r_{i,j}) (N_i - N_{i-e_j}) & \text{για } N_i - N_{i-e_j} \neq 0 \\ N_i & \text{για } N_i - N_{i-e_j} = 0 \end{cases} \quad (4.11a)$$

$$S_j^-(\mathbf{N}; \mathbf{i}) := \begin{cases} N_{i+e_j} + \frac{1}{2} \Phi(r_{i+e_j,j}^{-1}) (N_{i+e_j} - N_{i+2e_j}) & \text{για } N_{i+e_j} - N_{i+2e_j} \neq 0 \\ N_{i+e_j} & \text{για } N_{i+e_j} - N_{i+2e_j} = 0 \end{cases} \quad (4.11b)$$

Η συνάρτηση Φ εξαρτάται από τη συνάρτηση ελέγχου της κλίσης r . Για τη γραμμική περίπτωση ομοιόμορφου πλέγματος, η συνάρτηση r ορίζεται ως:

$$r_{i,j} := \frac{N_{i+e_j} - N_i}{N_i - N_{i-e_j}} \quad (4.12)$$

Παρατηρούμε ότι σε ομαλές και μονότονες περιοχές της \mathbf{N} στη διεύθυνση ξ και $r_{i,j} < 0$ αν N_i τοπικό ακρότατο της \mathbf{N} στη διεύθυνση j .

Απαιτούμε ότι η συνάρτηση περιορισμού Φ είναι ομοιόμορφα συνεχής (έτσι ώστε η διακριτοποίηση του όρου τακτισμού να είναι επίσης ομοιόμορφα συνεχής) με τις ακόλουθες ιδιότητες:

$$\Phi(1) = 1, \quad (4.13a)$$

$$\Phi(r) = 0 \text{ για } r \leq 0, \quad 0 \leq \Phi(r) \leq \delta, \text{ και } \Phi(r) \leq 2r \text{ για } r > 0 \quad (4.13b)$$

Η ιδιότητα (4.13a) είναι σημαντική για την τάξη της διακριτοποίησης και οι ιδιότητες (4.13b) είναι ικανές για θετικότητα (βλ. Παράρτημα). Με αύξηση της παραμέτρου δ , αυξάνεται η ακρίβεια της διακριτοποίησης κοντά σε κορυφές της λύσης (Hundsdorfer et al., 1995). Μια καλή επιλογή είναι $\delta=2$.

Δίνεται η συνάρτηση περιορισμού (Van Leer, 1974) που χρησιμοποιήθηκε στις αριθμητικές μοντελοποιήσεις:

$$\Phi_{VL}(r) := \frac{r + |r|}{1 + |r|} \quad (4.14)$$

Περισσότεροι flux limiters δίνονται στην αρθρογραφία (Van Leer, 1979; Sweby, 1984; Koren, 1993; Wang and Hutter, 2001).

4.2.4 Χρονική ολοκλήρωση

Το αποτέλεσμα της χωρικής διακριτοποίησης του TDR συστήματος (4.3) είναι ένα πρόβλημα αρχικών τιμών ενός τεράστιου συστήματος δύσκαμπτων, μη γραμμικών συνήθων διαφορικών εξισώσεων το οποίο απομένει να ολοκληρωθεί αριθμητικά στο χρόνο:

$$y'(t) = F(t, y(t)), \quad t = t_0 \in \mathbb{R}, \quad y(t_0) = y_0 \in \mathbb{R}^m \quad (4.15)$$

Το πρόβλημα αρχικών τιμών απεικονίζει την ημι-διακριτοποίηση του προβλήματος (4.3) ως αποτέλεσμα του πρώτου βήματος της μεθόδου των γραμμών. Το διάνυσμα $y(t)$ περιέχει τις προσεγγίσεις των μέσων τιμών της λύσης σε όλα τα στοιχεία. Έχουμε ήδη αναφέρει ότι αναζητούμε μη αρνητικές προσεγγιστικές λύσεις. Πιο συγκεκριμένα, απαιτούμε η F να είναι συνεχής και η (4.15) να έχει μοναδική λύση για

κάθε $t_0 \in \mathbb{R}$ και $y_0 \in \mathbb{R}^m$. Τότε, μπορούν να οριστούν οι όροι του θετικού συστήματος ODE και της θετικής ημι-διακριτοποίησης (βλ. Παράρτημα).

Οι συνιστώσες του διανύσματος των λύσεων $y(t)$ της (4.15) αποτελούν τις ημι-διακριτές προσεγγίσεις της μέσης τιμής των πυκνοτήτων n των πληθυσμών και των συγκεντρώσεων c_i στα στοιχεία της διαμέρισης του χωρικού πλέγματος. Οι προσεγγίσεις αυτές κατατάσσονται σε διάφορες τάξεις στο διάνυσμα $y(t)$ και η επιλογή έχει σημαντική επίδραση στις αριθμητικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Για τα προβλήματα της οικογένειας (4.3) και κατά συνέπεια της μορφής (4.1), η διάσταση του διανύσματος $y(t)$ είναι $m = (l+1) \cdot M^d$ και για $d > 0$ ο αριθμός m μπορεί να γίνει τεράστιος. Ως αποτέλεσμα, οι καθιερωμένες και απλές μέθοδοι ολοκλήρωσης δεν είναι πάντοτε κατάλληλες. Επομένως, έχουν αναπτυχθεί ευσταθείς και επαρκώς ακριβείς μέθοδοι για την επίλυση τέτοιων συστημάτων. Θα περιοριστούμε σε μεθόδους που παράγουν προσεγγίσεις y_{k+1} για $k=0,1,\dots$ με τη μορφή αλληλουχίας χρονικών βημάτων, ξεκινώντας από τη μορφή $y(t_0) = y_0$ χρησιμοποιώντας τον τελεστή εξέλιξης Ψ που δρα σε κάθε προηγούμενη προσέγγιση y_k

$$y_{k+1} := \Psi(t_k, \tau_k) y_k, \quad k=0,1,\dots \quad (4.16)$$

Λόγω απαιτήσεων ευστάθειας, έχουν χρησιμοποιηθεί άρρητες μέθοδοι επίλυσης, οι οποίες απαιτούν πληροφορίες για την Ιακωβιανή του προβλήματος. Η Ιακωβιανή του MOL-ODE συστήματος προέρχεται από την ημι-διακριτοποίηση του TDR συστήματος. Αν και το μητρώο είναι αραιό, παραμένει τεράστιο με πολύ μεγάλο εύρος. Αυτό αποκλείει τη χρήση αυτών των μεθόδων για την επίλυση γραμμικών συστημάτων που περιέχουν την Ιακωβιανή. Σε τέτοιες περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται αλγόριθμοι που δεν απαιτούν ρητά την Ιακωβιανή, παρά μόνο κάποια γινόμενα και διανύσματα. Η προσέγγιση πεπερασμένων διαφορών των γινομένων μπορεί να υπολογιστεί από τη συνάρτηση του δεξιού μέλους του ODE συστήματος με δύο μόνο υπολογισμούς. Η μέθοδος ROWMAP (Weiner et al., 1997) βασίζεται στη μέθοδο των γραμμών 4^{ης} τάξης του κώδικα ROS4 (Hairer and Wanner, 1996) και υλοποιεί μία πολλαπλή διαδικασία Arnoldi (Schmitt and Weiner, 1995; Weiner and Schmitt, 1998).

4.3 Αριθμητικά παραδείγματα

Ακολουθούν δύο αριθμητικά παραδείγματα προσομοίωσης με τη χρήση της μεθόδου των πεπερασμένων όγκων. Στο πρώτο παράδειγμα, εξετάζεται η σύγκλιση της λύσης της μονοδιάστατης διαφορικής εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης (advection diffusion) με τη βοήθεια της συνάρτησης περιορισμού Van Leer. Στο δεύτερο παράδειγμα, γίνεται προσομοίωση του μαθηματικού μοντέλου επούλωσης δερματικών πληγών των Olsen et al., (1997), όπου και ελέγχεται ο αλγόριθμος χρονικής ολοκλήρωσης ROWMAP (Weiner et al., 1997).

4.3.1 Αριθμητική επίλυση της διαφορικής εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης

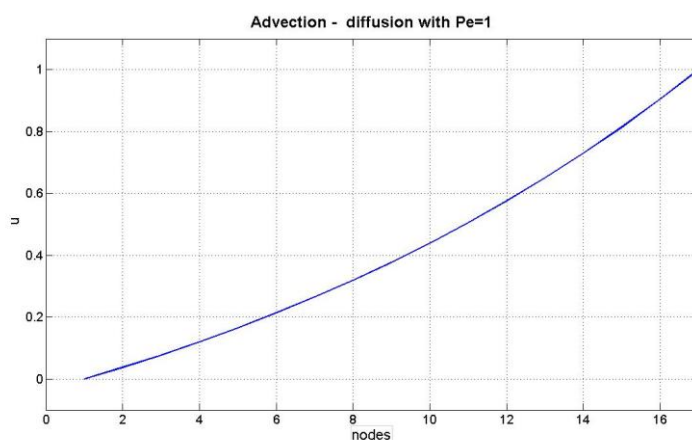
Η διαφορική εξίσωση μεταγωγής – διάχυσης μελετήθηκε στη μία διάσταση και δίνεται από τη σχέση:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} + V_x \frac{\partial u}{\partial x} - D_{xx} \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} &= f(u), \quad x \in [0,1], \quad t \in [0,1] \\ u(x=0) &= 0, \quad u(x=1) = 1 \\ u(t_0) &= \begin{cases} 0, & x \in [0,1) \\ 1, & x = 1 \end{cases} \end{aligned} \quad (4.17)$$

όπου u είναι η μεταβλητή ενδιαφέροντος (όπως συγκέντρωση χημικών ειδών, μεταφορά θερμότητας ή μάζας), D_{xx} ο συντελεστής διάχυσης, V_x η μέση ταχύτητα με την οποία κινείται η ποσότητα u και $f(u)$ οι πηγές της u . Θεωρούμε για ευκολία ότι δεν υπάρχουν πηγές, καθώς και ότι η ταχύτητα και ο συντελεστής διάχυσης είναι σταθερές θετικές ποσότητες ($D_{xx}=D$, $V_x=V$). Θεωρώντας χωρική διακριτοποίηση με μήκος στοιχείου Δx , ορίζεται ο αριθμός Peclet ως:

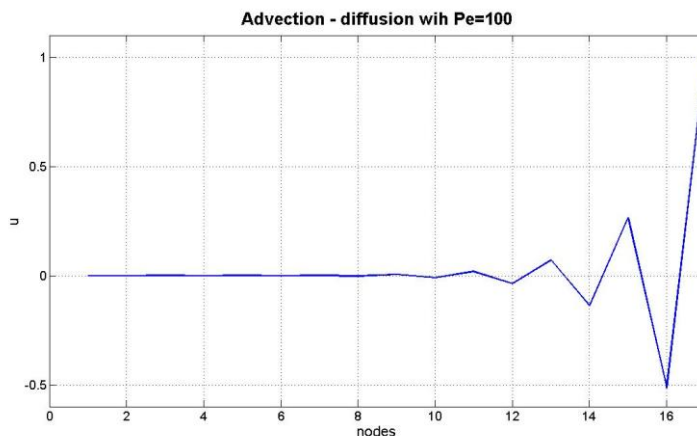
$$Pe = \frac{V \cdot dx}{D} \quad (4.18)$$

Εάν ο αριθμός Peclet (4.18) είναι αρκετά μεγαλύτερος της μονάδας, η εξέλιξη της ποσότητας u κυριαρχείται από το φαινόμενο της μεταγωγής, ενώ για $Pe \ll 1$, η εξέλιξή της κυριαρχείται από τη διάχυση. Για τις ενδιάμεσες τιμές, η λύση u αποκτά σύνθετη συμπεριφορά που επηρεάζεται και από τα δύο φαινόμενα (Σχήμα 4.2). Επιπλέον, καθώς ο αριθμός Peclet αυξάνεται, το εύρος της περιοχής στην οποία βρίσκεται η μεγαλύτερη διακύμανση της τιμής της u μειώνεται και οι παράγωγοι της u γίνονται πολύ μεγάλες με αποτέλεσμα να δημιουργείται αριθμητική αστάθεια και η λύση να αποκτάει ταλαντωτική συμπεριφορά στο σχήμα των κεντρικών διαφορών (central differences scheme) (Σχήμα 4.3).

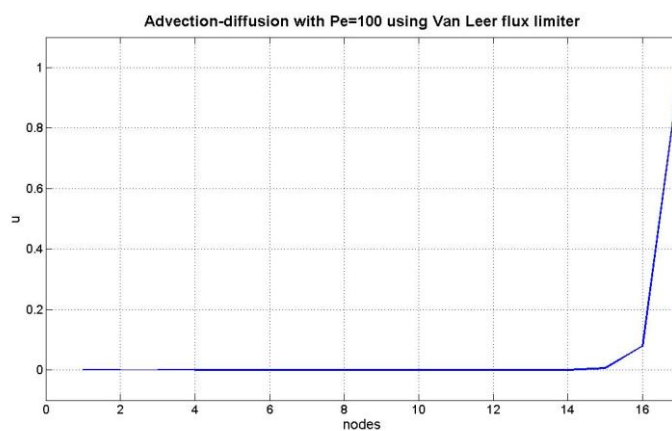


Σχήμα 4.2: Αριθμητική λύση της εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης με $Pe=1$. Δεν κυριαρχεί κανένα από τα δύο φαινόμενα και η γραφική παράσταση τείνει να γίνει ευθεία

Η συνάρτηση περιορισμού Van Leer, ως “upwinding” τεχνική εξασφαλίζει μονοτονία των διαδοχικών λύσεων μέσα από τον έλεγχο της θετικότητας των παραγώγων. Εξασφαλίστηκε αριθμητική ευστάθεια και δεν παρατηρήθηκε ταλαντωτική συμπεριφορά της λύσης, μειώνοντας όμως την προσέγγιση σε 1^{ης} τάξης (Σχήμα 4.4).



Σχήμα 4.3: Αριθμητική αστάθεια της αριθμητικής λύσης της εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης για Pe=100



Σχήμα 4.4: Αριθμητική λύση της εξίσωσης μεταγωγής – διάχυσης για Pe=100 με τη χρήση της συνάρτησης περιορισμού Van Leer

4.3.2 Επίλυση του μαθηματικού μοντέλου αγγειογένεσης στην επούλωση δερματικών πληγών

Με βάση το μαθηματικό μοντέλο που προτάθηκε από τους Olsen et al., (1997), επιλύθηκε σε προηγούμενη μελέτη (Ποδαροπούλου 2012) το σύστημα των δύο μερικών διαφορικών εξισώσεων που περιγράφουν το φαινόμενο. Το μοντέλο αυτό περιλαμβάνει τις μερικές διαφορικές εξισώσεις των πυκνοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων και της εξωκυττάριας ουσίας (ECM). Επιλύθηκε το δισδιάστατο μοντέλο με τον αλγόριθμο χρονικής ολοκλήρωσης ROWMAP και τα αποτελέσματα συγκρίνονται με αυτά της Ποδαροπούλου (2012), η οποία χρησιμοποίησε τη μέθοδο “forward Euler” και τις υπορουτίνες του matlab ode45 και ode15s. Για τη διακριτοποίηση των εξισώσεων ως προς το χώρο, στην παρούσα εργασία υιοθετήθηκε ο αλγόριθμος της Ποδαροπούλου (2012), όπου χρησιμοποιήθηκε δευτέρου βαθμού προσέγγιση κεντρικών διαφορών για τον haptokinetic (diffusion) και τον haptotactic όρο, ενώ για τους όρους αντίδρασης (πολλαπλασιασμός, βιοσύνθεση, υποβάθμιση), χρησιμοποιήθηκε ρητή διακριτοποίηση κατά σημείο (point wise).

Το δισδιάστατο μοντέλο θεωρεί μία τετραγωνική διατομή της πληγής, όπου τα όριά της εκτείνονται στην περιοχή $-1 \leq x \leq 1$ και $0 \leq y \leq y^b$. Στην παρούσα εργασία, η προσομοίωση του μαθηματικού μοντέλου πραγματοποιήθηκε στην περιοχή $0 \leq x \leq 1$ και $0 \leq y \leq y^b = 1$ (Olsen et al., 1997). Οι εξισώσεις του μοντέλου σε δύο διαστάσεις είναι (Olsen et al., 1997):

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -\nabla[x(m)n\nabla m - D(m)\nabla n] + [a(m) - \beta n]n \quad (4.19a)$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = e[1 - m]n \quad (4.19b)$$

όπου n η πυκνότητα ενδοθηλιακών κυττάρων, m η πυκνότητα της ECM, D παράγοντας του “haptokinetic” όρου, x παράγοντας του “haptotactic” όρου, a συντελεστής πολλαπλασιασμού κυττάρων και e συντελεστής σταθερά παραγωγής και υποβάθμισης εξωκυττάριας ουσίας. Οι συντελεστές “haptotaxis”, διάχυσης και πολλαπλασιασμού δίνονται από τις παρακάτω σχέσεις:

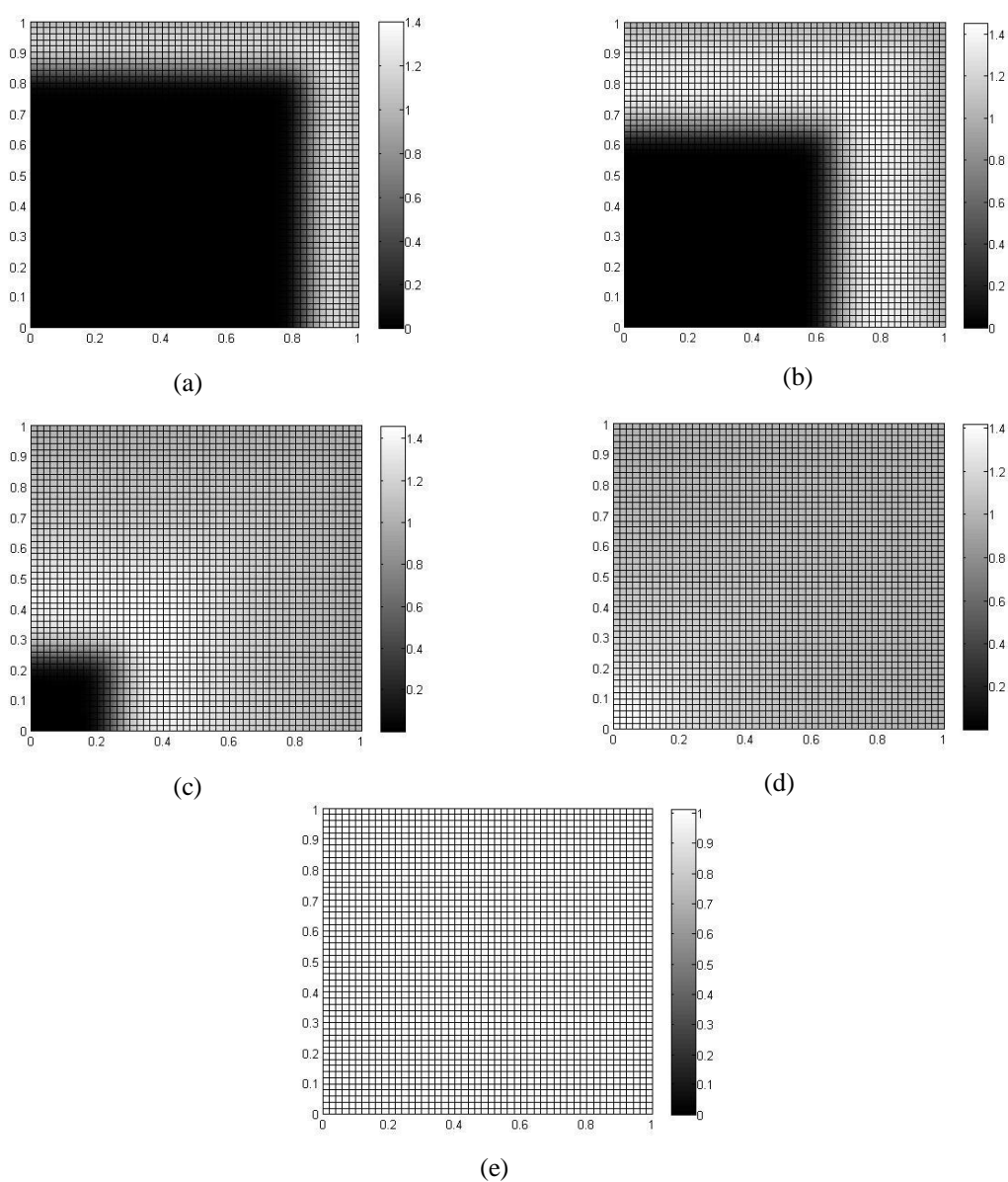
$$C(m) = \frac{C_0}{(K_c + m)^2}, \quad (\text{Sherratt, 1994}) \quad (4.20)$$

$$D(m) = \frac{D_0 m}{(K_D^2 + m^2)}, \quad (\text{Dickinson and Tranquillo, 1993}) \quad (4.21)$$

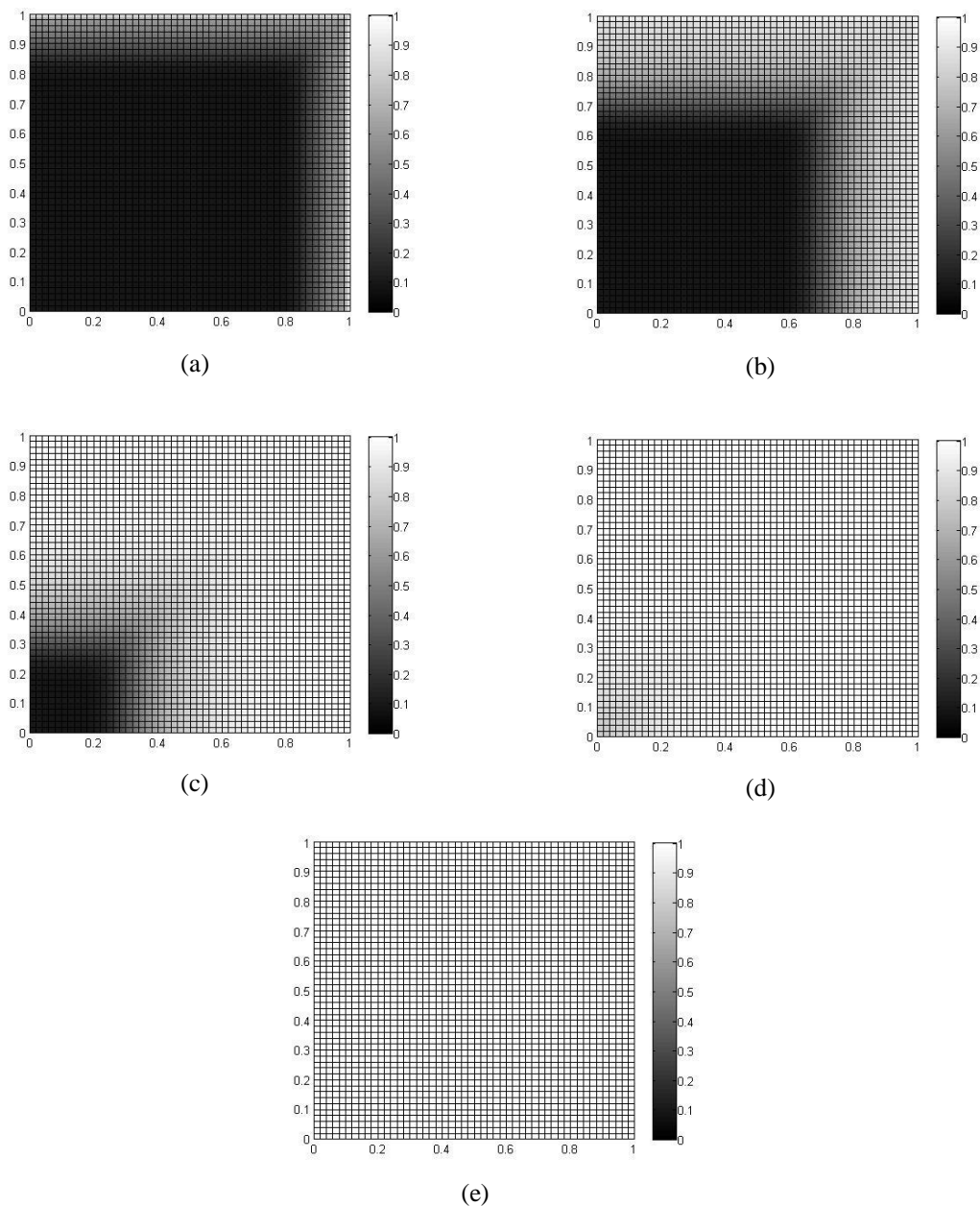
$$A(m) = \frac{A_0 m}{(A_D^2 + m^2)}, \quad (\text{Weiberg and Bell, 1985}) \quad (4.22)$$

4.3.3 Αποτελέσματα

Κατά την διάρκεια του φαινομένου, οι πυκνότητες των ενδοθηλιακών κυττάρων μετατοπίζονται από τα όρια της πληγής προς το κέντρο της. Σε όλη την περιοχή της πληγής, μετά από μία μέγιστη τιμή πυκνότητας, τα ενδοθηλιακά κύτταρα επιστρέφουν στις φυσιολογικές τους πυκνότητες (Σχήμα 4.5). Η ECM συσσωρεύεται παράλληλα με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέχρι το τέλος της διαδικασίας, όπου σε όλη την επιφάνεια της πληγής η πυκνότητά της τείνει σε αυτή του υγιούς δέρματος (Σχήμα 4.6). Τα χωροχρονικά διαγράμματα που προκύπτουν από την προσομοίωση του μοντέλου βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Olsen et al., (1997) και Ποδαροπούλου (2012).



Σχήμα 4.5: Κατανομή των πυκνοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων για (a) 1 ημέρα, (b) 2 ημέρες, (c) 4 ημέρες, (d) 6 ημέρες, (e) 10 ημέρες



Σχήμα 4.6: Κατανομή των πυκνοτήτων της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ECM) για (a) 1 ημέρα, (b) 2 ημέρες, (c) 4 ημέρες, (d) 6 ημέρες, (e) 10 ημέρες

4.4 Προσομοίωση του μαθηματικού μοντέλου αγγειογένεσης στην πώρωση οστών

Η διαδικασία της πώρωσης οστού συμπεριλαμβάνει τη δράση και αντίδραση πολλών κυττάρων, που ρυθμίζονται από βιοχημικά και μηχανικά σήματα. Στο συγκεκριμένο εδάφιο περιγράφονται οι βελτιώσεις που υλοποιήθηκαν στο μαθηματικό μοντέλο αγγειογένεσης της Ποδαροπούλου (2012), συζητούνται τα προβλήματα που αντιμετωπίστηκαν κατά την προσομοίωση και δίδονται νέες ιδέες για περαιτέρω μελέτη και βελτίωση του μοντέλου.

4.4.1 Αρχικές και συνοριακές συνθήκες του μοντέλου προσομοίωσης

Οι αρχικές και συνοριακές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν από την Ποδαροπούλου Αιμιλία (2012), ορίστηκαν με βάση το μοντέλο που πρότειναν οι Geris et al. (2008) για φυσιολογική πόρωση κατάγματος και κενό κατάγματος (fracture gap) 0.5 mm. Το μοντέλο αυτό βασίζεται σε πειράματα που έγιναν σε σταθεροποιημένα κατάγματα τρωκτικών από τους Harrison et al. (2003), όπου και προέκυψε από ιστολογικές τομές του κάλλου η απλοποιημένη αξονοσυμμετρική γεωμετρία (Σχήμα 4.7a).

Κατά την έναρξη της προσομοίωσης, ολόκληρος ο κάλλος θεωρείται ότι καλύπτεται με ινώδη ιστό ($\tilde{m}_f=0.1$) και λόγω αιμορραγίας αποδίδεται σε ολόκληρο τον κάλλο η έκφραση του αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα ($\tilde{g}_v=10$)*. Όλες οι υπόλοιπες μεταβλητές θεωρήθηκαν ίσες με μηδέν κατά την έναρξη της διαδικασίας. Για όλες τις μεταβλητές στα σύνορα του κάλλου, εφαρμόστηκαν οριακές συνθήκες μη ροής (non-flux), εκτός από ορισμένες περιπτώσεις Dirichlet συνθηκών σε ορισμένα μέρη του συνόρου και για ορισμένη χρονική περίοδο. Οι συνθήκες αυτές παρουσιάζονται στο σχήμα 4.7b, ενώ στον πίνακα 4.1 δίνονται οι αδιάστατες τιμές των συνθηκών Dirichlet και η χρονική περίοδος που εφαρμόζονται.

Πίνακας 4.1: Dirichlet συνθήκες των παραμέτρων

Παράμετρος μοντέλου	Dirichlet συνθήκη στο σύνορο	Χρονική περίοδος
\tilde{c}_m	0.02	3 πρώτες μέρες
\tilde{c}_f	0.02	3 πρώτες μέρες
\tilde{c}_b	1	4 πρώτες μέρες
\tilde{c}_v	10^{-4}	Σε ολόκληρη την διαδικασία αποκατάστασης
\tilde{g}_c	20	5 πρώτες μέρες
\tilde{g}_b	20	10 πρώτες μέρες

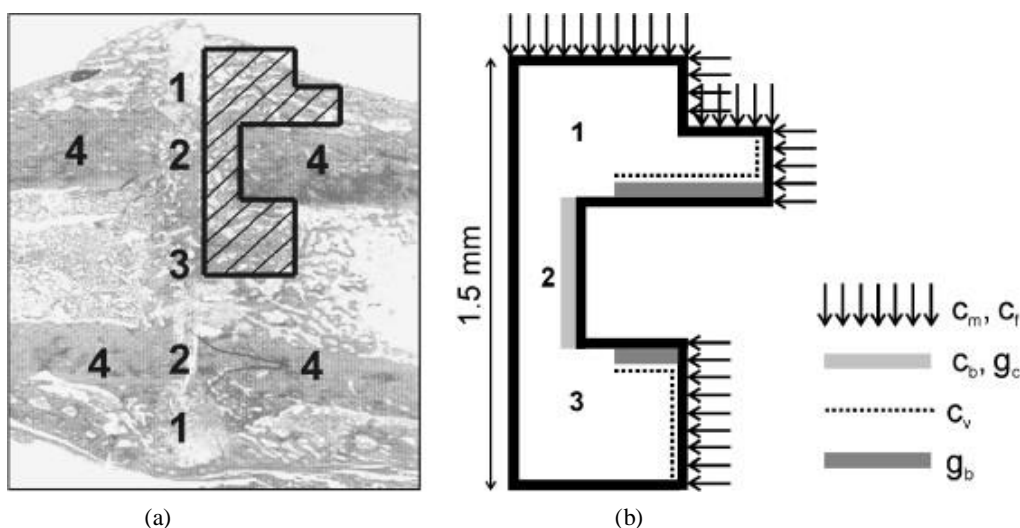
4.4.2 Μέθοδοι και τεχνικές

Η αξονοσυμμετρική δομή του κάλλου χρησιμοποιήθηκε για την προσομοίωση του μοντέλου, ώστε να προκύψει το ισοδύναμο πρόβλημα σε δισδιάστατο χώρο και να είναι πιο αποτελεσματική η χωρική διακριτοποίηση. Η περιοχή Ω καλύφθηκε με

* Οι περισπωμένες αναφέρονται σε αδιάστατες μεταβλητές του μαθηματικού μοντέλου των Geris et al. (2008).

ομοιόμορφο τετραγωνικό πλέγμα διάστασης 0.05mm ενώ η διακριτοποίηση που υιοθετήθηκε στο συγκεκριμένο πλέγμα για τους diffusion όρους είναι κεντρικές διαφορές δεύτερης τάξης και για τους όρους αντίδρασης έγινε άμεση διακριτοποίηση κατά κόμβο (pointwise discretization) (Ποδαροπούλου 2012). Η χωρική διακριτοποίηση των συνοριακών κόμβων την περίπτωση των no-flux συνθηκών έγινε με ανάντη διαφορές δεύτερης τάξης (Ποδαροπούλου 2012). Αντίθετα, στη διακριτοποίηση των όρων τακτισμού (taxis), χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση περιορισμού Van Leer.

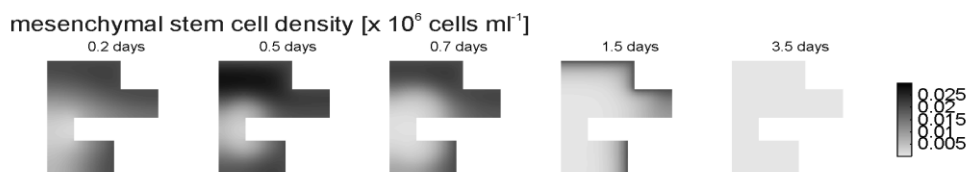
Για τη χρονική ολοκλήρωση του MOL-ODE συστήματος, χρησιμοποιήθηκε ο κώδικας ROWMAP (Weiner et al., 1997). Ο ενσωματωμένος έλεγχος μεγέθους βήματος της μεθόδου διασφαλίζει ότι το σφάλμα που προκύπτει σε κάθε βήμα παραμένει κάτω από το επιθυμητό όριο, διατηρώντας παράλληλα το υπολογιστικό κόστος χαμηλά.



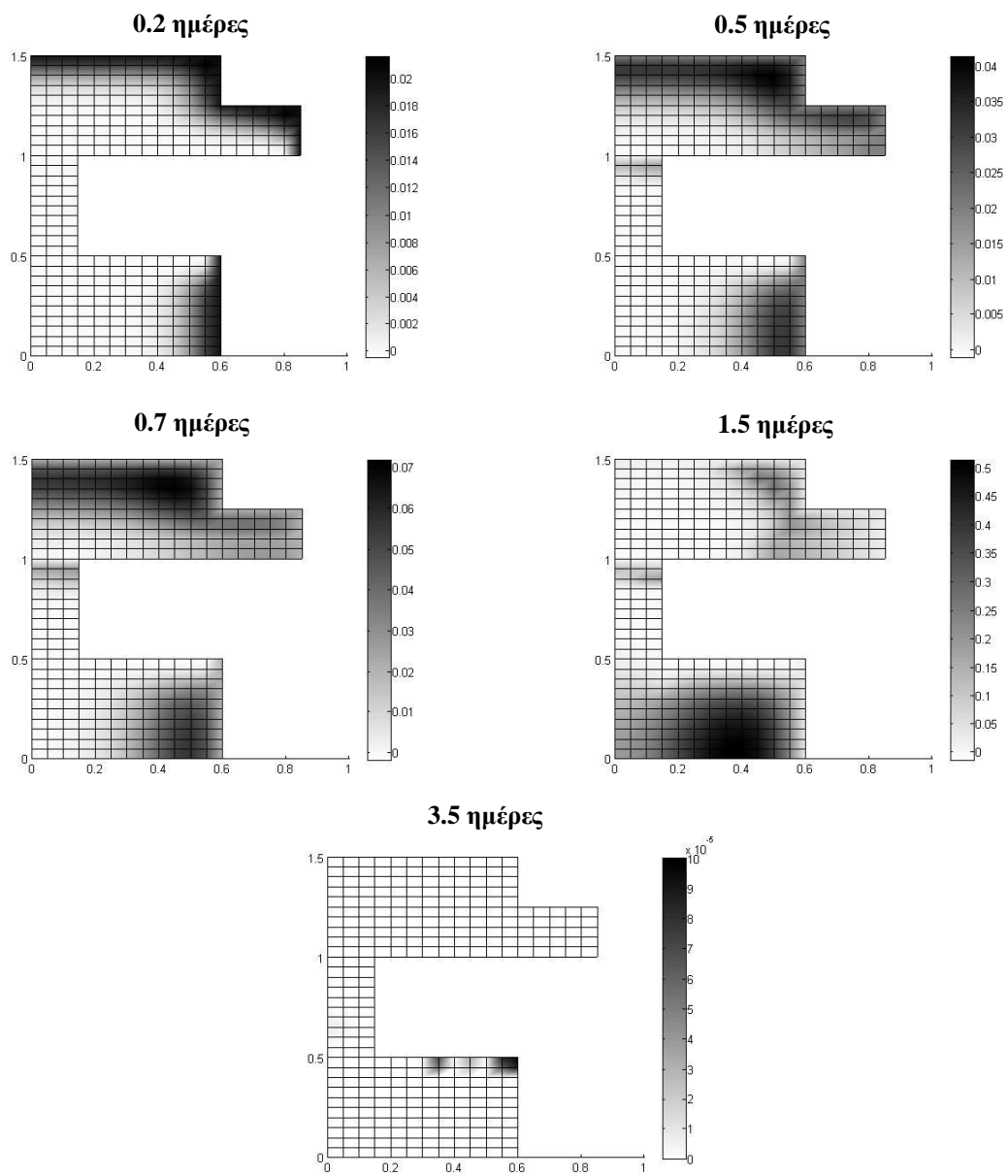
Σχήμα 4.7: 1: το περίστυο, 2: ενδοφλοιώδες οστό, 3: ενδοστεϊκός κάλλος, 4: φλοιώδες οστό. (a) Γεωμετρία του κάλλου όπως προκύπτει από την απλοποίηση της γεωμετρίας. (b) Dirichlet συνθήκες.

4.4.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

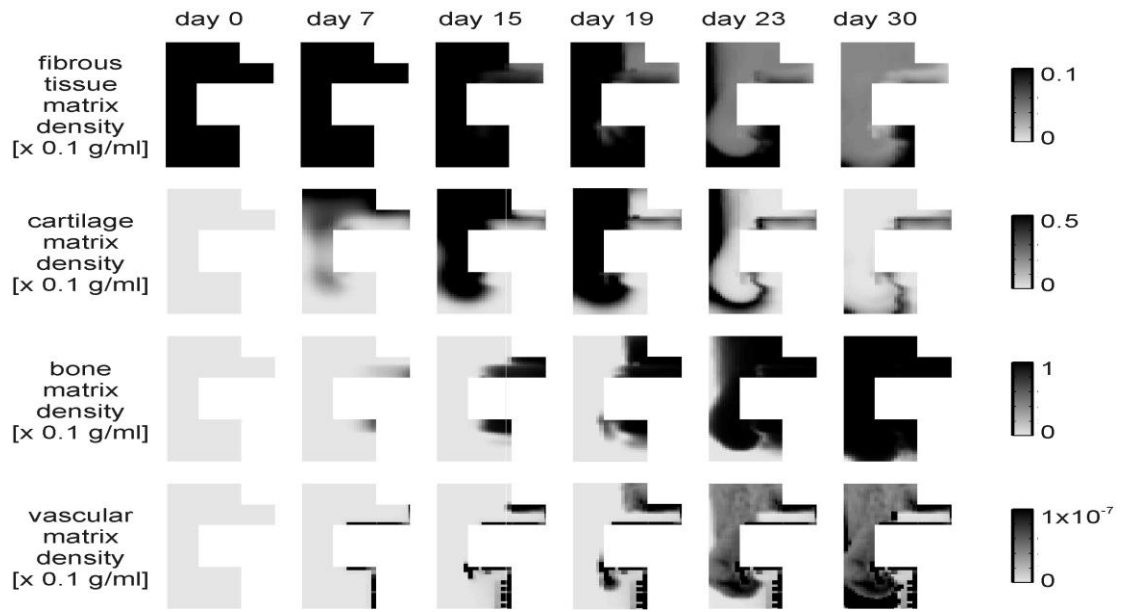
Τα διαγράμματα χωροχρονικής εξέλιξης των πυκνοτήτων που προέκυψαν από την προσομοίωση του μοντέλου για 10.31 ημέρες συγκρίθηκαν με τα υπολογιστικά δεδομένα που προέκυψαν από τους Geris et. al, (2006) (Σχήμα 4.8) και Geris et. al, (2008) (Σχήμα 4.10).



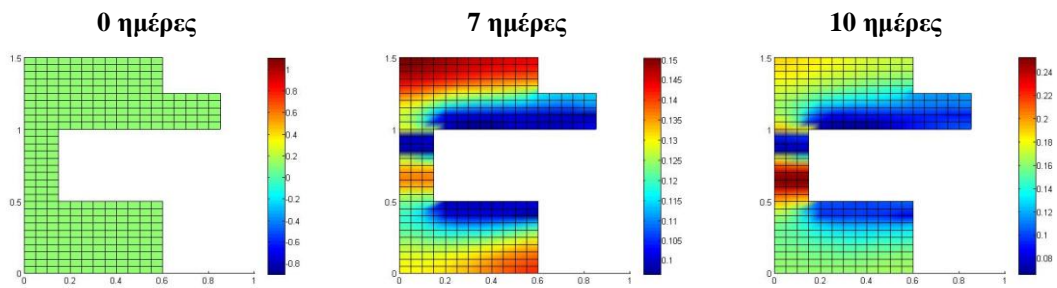
Σχήμα 4.8: Χωροχρονική εξέλιξη των πυκνοτήτων των μεσεγχυματικών κυττάρων (Geris et al., 2006).



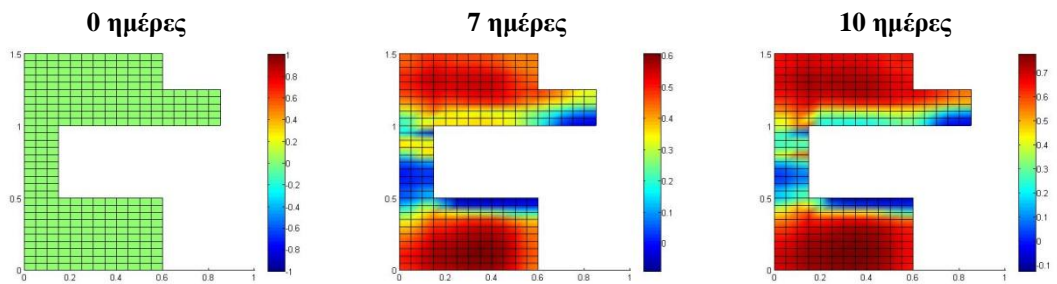
Σχήμα 4.9: Χρωροχρονική εξέλιξη των πυκνοτήτων των μεσεγχυματικών κυττάρων [$\times 10^6$ κύτταρα/ml]



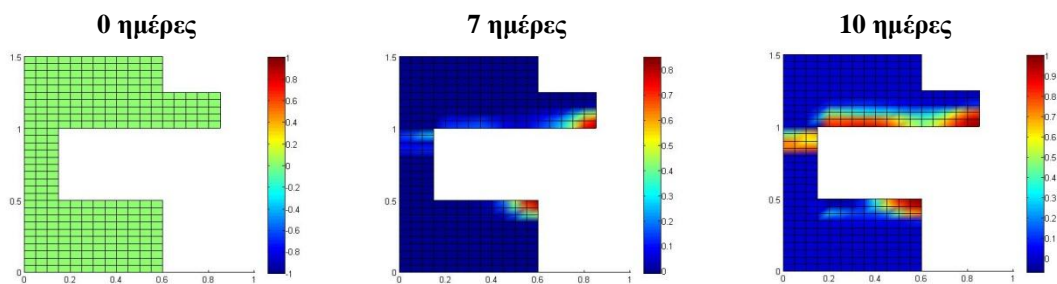
Σχήμα 4.10: Χωροχρονική εξέλιξη των πυκνοτήτων θεμέλιας ουσίας ινώδους οστού, χόνδρου, οστού και αγγείων (Geris et al., 2008).



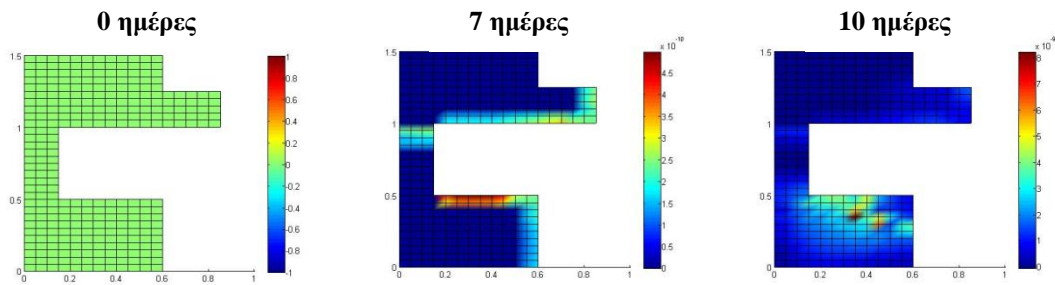
Σχήμα 4.11: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας ινώδους ιστού [$\times 0.1g/ml$]



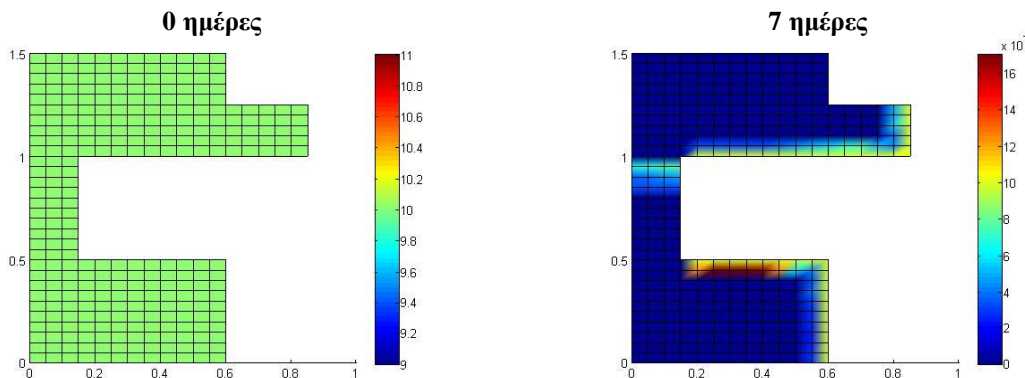
Σχήμα 4.12: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας του χόνδρου [$\times 0.1g/ml$]



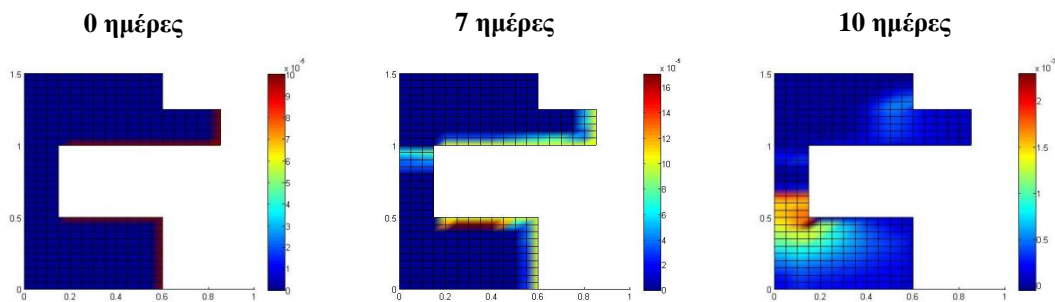
Σχήμα 4.13: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας θεμέλιας ουσίας οστού [$\times 0.1g/ml$]



Σχήμα 4.14: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας της αγγειακής ουσίας [$\times 0.1g/ml$]



Σχήμα 4.15: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας του αγγειακού αυξητικού παράγοντα [$\times 100ng/ml$]



Σχήμα 4.16: Χωροχρονική εξέλιξη των πυκνοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων [$\times 10^6$ κύτταρα/ml]

Αμέσως μετά τη δημιουργία κατάγματος, οι πυκνότητες των μεσεγχυματικών κυττάρων αυξάνονται λόγω πολλαπλασιασμού φτάνοντας τη μέγιστη τιμή τους στο τέλος της πρώτης ημέρας, ενώ αρχίζουν να μειώνονται με γρήγορους ρυθμούς από την αρχή της δεύτερης ημέρας λόγω διαφοροποίησης (Σχήμα 4.9). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες κοντά στο φλοιώδες οστό μέσω του οστεογενετικού αυξητικού παράγοντα, οδηγώντας σε ενδομεμβρανική οστεοποίηση περίπου την 5^η ημέρα μετά τη δημιουργία κατάγματος. Στην υπόλοιπη περιοχή του κάλου, διαφοροποιούνται σε χονδροκύτταρα μέσω του χονδρογενετικού αυξητικού παράγοντα. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται στο μοντέλο που ανέπτυξαν οι Geris et al. (2006) (Σχήμα 4.8).

Στα διαγράμματα των πυκνοτήτων των διαφόρων ιστών παρατηρείται ραγδαία αύξηση του χόνδρου μέχρι και την 10η ημέρα στον ενδοστεϊκό κάλλο και το περίστωο (Σχήμα 4.12). Η σύνθεση νέου οστού μέχρι την 10^η μέρα ακολουθεί πιο αργούς ρυθμούς με αρχική εμφάνιση πρώιμου οστίτη ιστού γύρω από το φλοιώδες οστό και τα άκρα του οστού (Σχήμα 4.13). Μέχρι την 7^η ημέρα, ελάχιστος αγγειακός ιστός έχει σχηματιστεί γύρω από το φλοιώδες οστό και την μυελική κοιλότητα (της τάξεως του 10⁻¹⁰). Η πυκνότητά του αρχίζει να αυξάνεται περίπου τη 10η ημέρα (Σχήμα 4.14). Ο ιώδης ιστός παραμένει τις πρώτες μέρες σταθερός, περίπου κοντά στην αρχική του τιμή, ενώ αρχίζει να μειώνεται από την 3η ημέρα παράλληλα με την αύξηση του χόνδρου (Σχήμα 4.11).

Ο αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας (VEGF), κατά τη διάρκεια των επτά πρώτων ημερών μετά το κάταγμα, παρουσιάζει απότομη μείωση από την αρχική αδιάστατη τιμή 10 που είχε σε όλη τη επιφάνεια του κάλλου (Σχήμα 4.15). Από την 8η ημέρα και μετά παρατηρείται απότομη αύξηση κι επαναφορά στα αρχικά επίπεδα πυκνότητας. Αυτό σημαίνει ότι την πρώτη εβδομάδα μετά τη δημιουργία κατάγματος, ο ρυθμός κατανάλωσης του VEGF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό παραγωγής του από τα χονδροκύτταρα και τους οστεοβλάστες.

Η μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω διάχυσης, βαθμίδας συγκέντρωσης αγγειογενετικού παράγοντα VEGF και βαθμίδας αγγειακού ιστού, αποτελεί βασική διαδικασία της αγγειογένεσης. Μέσω ερεθισμάτων που δέχονται τα ενδοθηλιακά κύτταρα από το μικροπεριβάλλον τους, συνθέτουν το αγγειακό δίκτυο εσωτερικά του κάλλου. Από τα χωροχρονικά διαγράμματα πυκνοτήτων δεν ελήφθησαν σαφή ποιοτικά αποτελέσματα. Οι Geris et al. (2008) παραθέτουν χωροχρονικά διαγράμματα πυκνοτήτων ενδοθηλιακών κυττάρων από τη 10η ημέρα και μετά με αποτέλεσμα να μην είναι εφικτή η σύγκριση.

4.4.4 Περιορισμοί, προβλήματα και μελλοντικές προτάσεις

Το παρόν μοντέλο είναι σε θέση να δώσει σημαντικές πληροφορίες για τη διαδικασία επούλωσης θραύσης οστού κατά τις πρώτες 10 ημέρες μετά το κάταγμα, επιδεικνύοντας ταυτόχρονα το σημαντικό ρόλο της αγγειογένεσης στη διαδικασία. Η επούλωση απεικονίστηκε μέσω ενός συνεχούς συστήματος εξισώσεων που περιγράφει τη χωροχρονική εξέλιξη των πυκνοτήτων και συγκεντρώσεων διαφόρων τύπων κυττάρων, αυξητικών παραγόντων και εξωκυττάρων θεμέλιων ουσιών.

Ένας από τους κύριους περιορισμούς του μοντέλου είναι ότι δε λαμβάνει υπόψη την επίδραση του μηχανικής φόρτισης στη διαδικασία αναδόμησης. Είναι γνωστό ότι πολλές κυτταρικές διαδικασίες εξαρτώνται από τη μηχανική διέγερση (Darling and Athanasiou, 2003; Ehrlich and Lanyon, 2002). Επίσης, η μηχανική φόρτιση επιδρά στην αγγειογένεση ανακόπτοντας το σχηματισμό του αγγειακού δικτύου, αποτρέποντας το σχηματισμό οστού. Η ενσωμάτωση των μηχανικών ερεθισμάτων

στη διαδικασία επούλωσης αποτελεί προφανή επέκταση του μοντέλου (βλ. Κεφάλαιο 5).

Οι μεταβλητές του μοντέλου που συνδέονται με την αγγειογένεση και την δημιουργία αγγειακού δικτύου (c_v , m_v) έχουν διακριτή φύση, οπότε για να εξαχθούν καλύτερα ποιοτικά και ποσοτικά συμπεράσματα, είναι αναγκαία η εξέλιξη του συνεχούς μοντέλου σε ένα υβριδικό μοντέλο συνεχών και διακριτών μεταβλητών (Peiffer et al., 2011; Ποδαροπούλου, 2012). Το μοντέλο αυτό θα λαμβάνει υπόψη και τη συγκέντρωση του οξυγόνου στην περιοχή του κατάγματος που αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ενεργοποίηση ή παρεμπόδιση της αγγειογένεσης.

Το γεωμετρικό μοντέλο δεν απεικονίζει πλήρως τη γεωμετρία του κάλλου, αλλά αποτελεί μια γενική προσέγγισή της, η οποία είναι αρκετά ακριβής για τη συγκεκριμένη μελέτη. Επιπρόσθετα, οι συνοριακές συνθήκες του εξωτερικού κάλλου δε μοντελοποιήθηκαν επακριβώς, καθώς ο κώδικας των πεπερασμένων όγκων που υιοθετήθηκε απαιτεί γεωμετρία που αποτελείται από ορθογώνια σχήματα (Geris et al., 2006). Παρόλα αυτά, με την εισαγωγή μηχανικών ερεθισμάτων στο μοντέλο, η γωνία του περιόστεου θα δημιουργήσει απειρισμούς στον υπολογισμό των τροπών και των τάσεων. Άλλα αριθμητικά εργαλεία, όπως τα πεπερασμένα στοιχεία, μπορούν να άρουν τον περιορισμό στη γεωμετρία, αλλά θα δημιουργήσουν άλλα προβλήματα (πχ η χωρική ολοκλήρωση των όρων τακτισμού).

Αν και η διαδικασία της επούλωσης θραύσης οστού διαρκεί περίπου 5 εβδομάδες στην περίπτωση κανονικής πώρωσης, το παρόν μοντέλο μπόρεσε να προσομοιώσει την επούλωση θραύσης οστού μόνο για 10.31 ημέρες. Η βελτίωση που επιτεύχθηκε στο μοντέλο της Ποδαροπούλου (2012) (9.78 ημέρες) είναι πολύ μικρή και αυτό πιθανότατα οφείλεται σε έναν αριθμό παραγόντων που πρέπει να αναλυθούν περαιτέρω.

Ένας λόγος που είναι πιθανό να ευθύνεται για τη μη σύγκλιση του κώδικα μετά τις 10.31 ημέρες είναι η χρήση της συνάρτησης περιορισμού Van Leer. Πιο συγκεκριμένα, η συνάρτηση περιορισμού ορίστηκε στον κώδικα ύστερα από 0.1 ημέρες καθώς εάν είχε εφαρμοστεί νωρίτερα, θα δημιουργούνταν απειρισμοί, κάτι που γίνεται προφανές από την εξίσωση (4.12) και τις μηδενικές αρχικές συνθήκες που είχαν οριστεί σε πολλές από τις παραμέτρους. Ως συνέπεια, τυχόν αρνητικές τιμές που εμφανίστηκαν στα πρώτα βήματα της μοντελοποίησης, εξακολούθησαν να υπάρχουν λόγω της μονοτονίας που επιβάλλει η συνάρτηση περιορισμού με αποτέλεσμα τη διαιώνισή τους και ακολούθως τη μη σύγκλιση του κώδικα. Ένας τρόπος για να αποφευχθεί στο μέλλον αυτό το πρόβλημα, είναι ο ορισμός της συνάρτησης περιορισμού μέσα στην εκάστοτε υπορουτίνα χρονικής ολοκλήρωσης και η χρήση συνθηκών που θα εξασφαλίζουν ότι η συνάρτηση περιορισμού θα επεμβαίνει μόνο όταν κάποια τιμή θα γίνεται αρνητική.

Η μέθοδος χρονικής ολοκλήρωσης ROWMAP είναι 4ης τάξης αν τα γινόμενα της Ιακωβιανής και τα διανύσματα είναι θετικά. Έχει ήδη αναφερθεί ότι η διακριτοποίηση των όρων τακτισμού είναι ομοιόμορφα συνεχής λόγω της εφαρμογής της συνάρτησης επιμερισμού. Επιπλέον, μη γραμμικοί όροι αντίδρασης μπορούν να οδηγήσουν σε μη παραγωγίσιμους όρους στο δεξί μέλος του MOL-ODE συστήματος με συνέπεια να μην υπάρχει εγγύηση ότι οι Ιακωβιανές και τα διανύσματα που χρησιμοποιεί η ROWMAP είναι θετικά και έτσι να μειώνεται η τάξη της. Αυτό με τη σειρά του, έχει επίδραση στην αξιοπιστία του ελέγχου μήκους χρονικού βήματος.

Κεφάλαιο 5

Σύνδεση βιολογίας και μηχανικής στην πώρωση των οστών

Εκτός από τους βιολογικούς παράγοντες, οι μηχανικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην κανονική, όσο και στην καθυστερημένη πώρωση των οστών. Στο κεφάλαιο αυτό δίνεται το μαθηματικό πλαίσιο, στο οποίο εμπλέκονται και τα δύο είδη διαδικασιών. Η μηχανική και η βιολογία χρησιμοποιούνται θέτοντας συγκεκριμένες παραμέτρους του βιολογικού μοντέλου εξαρτώμενες από τις μηχανικές διεγέρσεις με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης των μηχανικών διεγέρσεων στη διαδικασία της αγγειογένεσης.

5.1 Μέθοδοι και τεχνικές

Κατά την αναδόμηση των οστών, οι περισσότερες βιολογικές διαδικασίες επηρεάζονται από τη μηχανική φόρτιση. Για παράδειγμα, έχει δειχτεί ότι η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός και τα πρώτα στάδια της αγγειογένεσης εξαρτώνται από το μηχανικό περιβάλλον (Le et al., 2001; Thompson et al., 2002; Lienau et al., 2005). Αν και έχουν προταθεί πολλά μοντέλα που συμπεριλαμβάνουν την αλληλεπίδραση μηχανικών και βιολογικών παραγόντων (Bailon-Plaza and van der Meulen, 2003; Shefelbine et al., 2005; Gomez-Benito et al., 2005; Ambard and Swider, 2006; Isaksson et al., 2008; Checa and Prendergast, 2009), μόνο το μοντέλο των Geris et al. (2010) λαμβάνει υπόψη τη δράση των αυξητικών παραγόντων και τη διαδικασία της αγγειογένεσης.

Στόχος της μελέτης είναι η ανάπτυξη ενός πλαισίου το οποίο να συμπεριλαμβάνει την αλληλεπίδραση των μηχανικών και βιολογικών παραγόντων κατά την πάρωση των οστών και διερευνά την επίδραση των μηχανικών διεγέρσεων στα πρώτα στάδια της αγγειογένεσης. Για το λόγο αυτό, εξετάζονται τρεις διαφορετικές περιπτώσεις αλληλεπίδρασης μηχανικών και βιολογικών παραγόντων.

5.1.1 Ανάπτυξη του μοντέλου

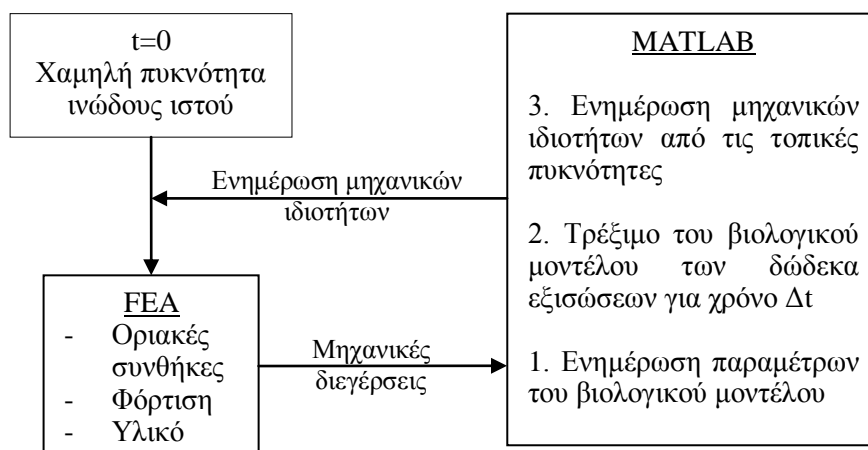
Στο Σχήμα 5.1 απεικονίζεται η μορφή του συζευγμένου μηχανοβιολογικού μοντέλου (Bailon-Plaza and van der Meulen 2003; Geris et al., 2010). Το πρώτο βήμα είναι μία μηχανική φόρτιση. Στη συνέχεια, επιτυγχάνεται η βιοφυσική (μηχανική) διέγερση με τη χρήση ειδικού λογισμικού ανάλυσης πεπερασμένων στοιχείων και προσαρμόζονται κατάλληλα συγκεκριμένες παράμετροι του βιολογικού μοντέλου. Για συγκεκριμένο εύρος των μηχανικών διεγέρσεων, οι βιολογικές διαδικασίες ενισχύονται ενώ για τις υπόλοιπες τιμές των παραμέτρων, οι διαδικασίες αυτές αποδυναμώνονται (Bailon-Plaza and van der Meulen, 2003). Κατόπιν, το βιολογικό μοντέλο (4.1) επιλύεται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (Σχήμα 5.2).

Πριν την επόμενη μηχανική φόρτιση, καθορίζονται οι νέες μηχανικές ιδιότητες του υλικού. Το μέτρο ελαστικότητας Young E , ο λόγος του Poisson ν και η διαπερατότητα μ για κάθε στοιχείο i καθίστανται εξαρτώμενα από τις πυκνότητες της θεμέλιας ουσίας οστού (m_b), χόνδρου (m_c) και ινώδους ιστού (m_f) σύμφωνα με τις παρακάτω σχέσεις:

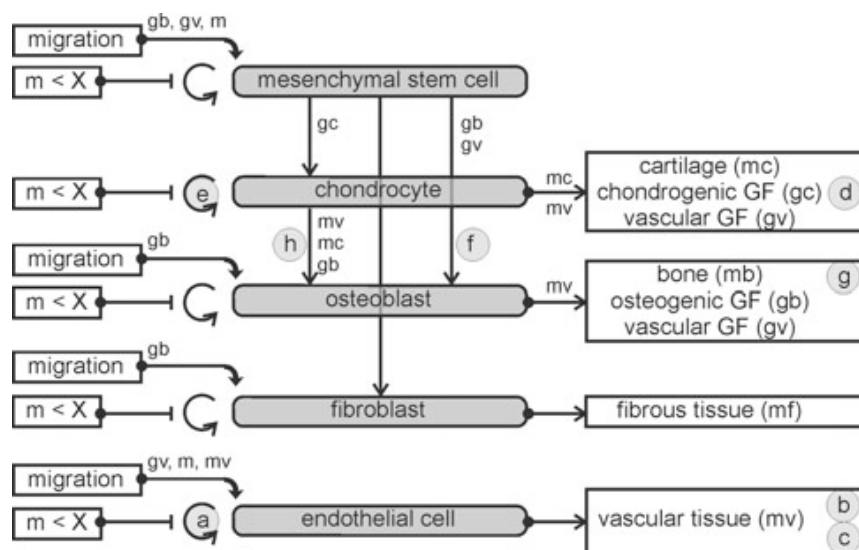
$$E(i) = \frac{\left(\frac{m_b(i)}{m_{b_{ref}}} E_b\right) m_b(i) + \left(\frac{m_c(i)}{m_{c_{ref}}} E_c\right) m_c(i) + \left(\frac{m_f(i)}{m_{f_{ref}}} E_f\right) m_f(i)}{m_b(i) + m_c(i) + m_f(i)} \quad (5.1)$$

$$\nu(i) = \frac{\nu_b m_b(i) + \nu_c m_c(i) + \nu_f m_f(i)}{m_b(i) + m_c(i) + m_f(i)} \quad (5.2)$$

$$\mu(i) = \frac{\mu_b m_b(i) + \mu_c m_c(i) + \mu_f m_f(i)}{m_b(i) + m_c(i) + m_f(i)} \quad (5.3)$$



Σχήμα 5.1: Το συζευγμένο μηχανο-βιολογικό μοντέλο



Σχήμα 5.2: Σχηματική παρουσίαση του μαθηματικού μοντέλου. GF=growth factor (αυξητικός παράγοντας), $m=m_f+m_c+m_b+m_v$ =ολική πυκνότητα ιστών, X =μέγιστη πυκνότητα ιστού για πολλαπλασιασμό. Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν επεκτάσεις σε σχέση με το μοντέλο των Baillon Plaza και Van der Meulen (2001). Η ανάμειξη των μεταβλητών στις επιμέρους διαδικασίες υποδεικνύεται από το όνομά της δίπλα στο βέλος που αναπαριστά τη συγκεκριμένη διαδικασία. Πχ η πυκνότητα της αγγειακής εξοκυττάριας ουσίας παρεμβαίνει στη μετανάστευση των κυττάρων, την ενδοχονδρική οστεοποίηση και στην παραγωγή αυξητικών παραγόντων. Τα κυκλωμένα γράμματα υποδεικνύουν διαδικασία που επηρεάζεται από τη μηχανική φόρτιση. Το σχήμα δημιουργήθηκε από τους Geris et al., (2010).

Οι πυκνότητες αναφοράς (m_{b_ref} , m_{c_ref} , m_{f_ref}) αναφέρονται στην τιμή της πυκνότητας που φτάνει ο αντίστοιχος ιστός όταν κυριαρχεί στην τοπική περιοχή. Οι τιμές αυτές καθορίζονται στο βιολογικό μοντέλο των Geris et al., (2008) για κανονική πόρωση. Στους βιολογικούς ιστούς αποδίδονται διφασικές υλικές ιδιότητες (Lacroix and Prendergast, 2002) (Πίνακας 5.1).

Η σύνδεση του βιολογικού μοντέλου με τις μηχανικές διεγέρσεις έγινε στο λογισμικό MATLAB (The Mathworks Inc.) ενώ οι αναλύσεις πεπερασμένων στοιχείων έγιναν στο COMSOL Multiphysics 4.3, χρησιμοποιώντας τις ποροελαστικές δυνατότητες που περιέχει και την άμεση σύνδεση που παρέχει με το MATLAB.

Πίνακας 5.1: Υλικές ιδιότητες που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις προσομοιώσεις του μηχανοβιολογικού μοντέλου

	Ινώδης ιστός	Χόνδρος	Νέο οστό	Φλοιώδες οστό
Μέτρο ελαστικότητας [MPa]	1 ^a	10	1000 ^b	6000
Διαπερατότητα (m^4Ns^{-1})	1e-14 ^a	5e-15 ^c	1e-13	3.7e-13 ^d
Λόγος Poisson	0.17	0.17 ^e	0.3	0.3
m_{ref} [$\times 0.1g/ml$]	0.1	0.5	0.5	-

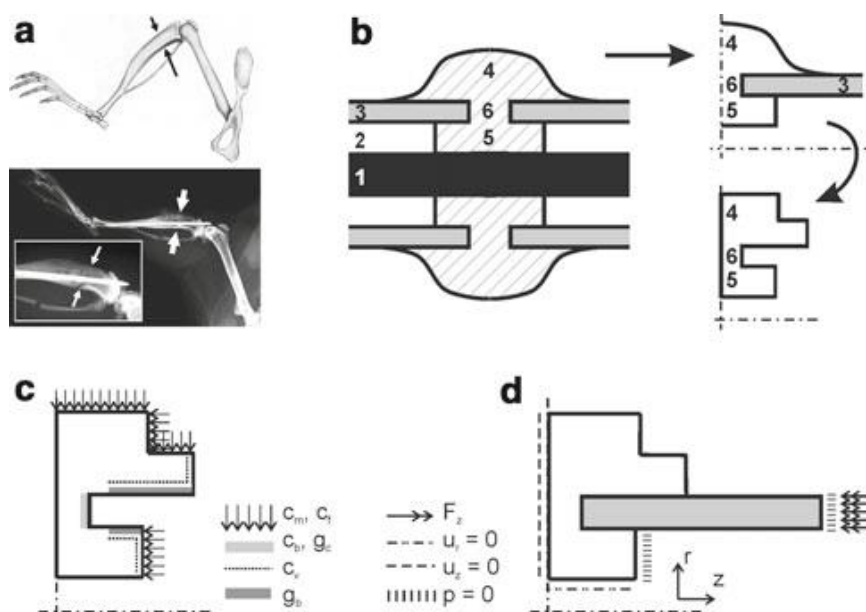
^a Hori and Lewis (1982); ^b Claes and Heigele (1999); ^c Armstrong and Mow (1982); ^d Ochoa and Hillberry (1992); ^e Jurvelin et al. (1997)

5.1.2 Λεπτομέρειες προσομοίωσης

Η αρχική γεωμετρία που προσομοιώθηκε είναι η σχισμή της κνήμης ποντικού (Σχήμα 5.3a). Η προσομοίωση βασίστηκε σε απλοποιημένη γεωμετρία που εξήχθη από το μοντέλο του τρωκτικού (Geris et al., 2006; Geris et al., 2010), ενώ λόγω των απαιτήσεων του κώδικα πεπερασμένων όγκων, η γεωμετρία απλουστεύτηκε περαιτέρω σε ορθογώνια παραλληλόγραμμα σχήματα (Σχήμα 5.3b).

Οι συνοριακές συνθήκες που εφαρμόστηκαν κατά τη μηχανική ανάλυση, απεικονίζονται στο Σχήμα 5.3d. Η εξωτερική επιφάνεια του κάλλου και του φλοιού θεωρείται ότι καλύπτεται από μαλακό συνδετικό ιστό (fascia) και συνεπώς καθίσταται αδιαπέραστη για ρευστά (Einhorn 1998; Isaksson et al., 2006). Επιπλέον, θεωρήθηκε αξονική φόρτιση στο ελεύθερο άκρο του φλοιώδους οστού η οποία προσομοιώθηκε με την επίδραση συνοριακής αξονικής δύναμης στους ακριανούς κόμβους του φλοιού. Η δύναμη αυτή αντιστοιχεί στην κανονική φόρτιση του άκρου. Καθώς δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες για την κανονική φόρτιση της κνήμης τρωκτικών, χρησιμοποιήθηκε δύναμη διπλάσια του βάρους τους (1.5N) (Geris et al., 2010). Στην αρχή της προσομοίωσης, ο κάλλος θεωρήθηκε ότι περιέχει ινώδη ιστό χαμηλής πυκνότητας ($m_f = 0.01g/ml$) (Geris et al., 2008; Geris et al., 2010). Οι συνοριακές συνθήκες του βιολογικού μοντέλου αναλύθηκαν στην παράγραφο 4.1.1 (Πίνακας 4.1, Σχήμα 5.3c)

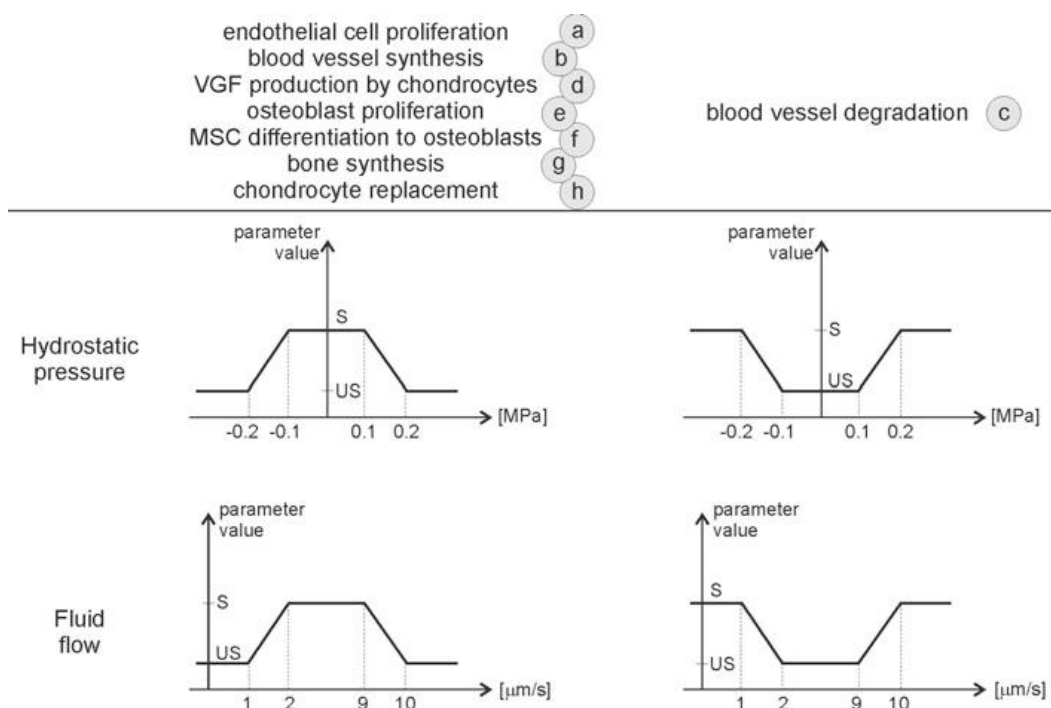
Το μέγεθος των πεπερασμένων στοιχείων επιλέχθηκε σταθερό σε όλη τη γεωμετρία ($x = y = 0.05mm$), έτσι ώστε τα αποτελέσματα να είναι ανεξάρτητα του πλέγματος και να συμβαδίζουν με αυτά του κώδικα πεπερασμένων όγκων.



Σχήμα 5.3: **a** Γεωμετρία κνήμης τρωκτικού. Τα βέλη υποδεικνύουν τη θέση της σχισμής. **b** Το γενικό γεωμετρικό μοντέλο. Λόγω συμμετρίας, χρησιμοποιήθηκε το ένα τέταρτο της γεωμετρίας. Για την προσομοίωση, η γεωμετρία απλουστεύτηκε περαιτέρω σε ορθογώνια παραλληλόγραμμα. **c** Dirichlet συνοριακές συνθήκες για το βιολογικό μοντέλο. **d** Συνοριακές συνθήκες της μηχανικής ανάλυσης

Για την προσομοίωση, θεωρήθηκε ότι το τροφτικό πατάει το πόδι του μία φορά την ημέρα. Αυτό σημαίνει ότι το βιολογικό μοντέλο έτρεχε κάθε φορά μία ημέρα, μεταξύ δύο διαδοχικών γεγονότων φόρτισης. Οι τιμές των βιολογικών παραμέτρων εξήχθησαν από την τιμή της τοπικής διέγερσης που υπολογίστηκε κατά τη μηχανική ανάλυση. Οι μηχανικές διεγέρσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ροή ρευστού και η υδροστατική πίεση. Η ροή του ρευστού χρησιμοποιήθηκε καθώς έχει αποδειχτεί ότι κάποια είδη κυττάρων ανταποκρίνονται σε μεγάλο βαθμό σε αυτήν, καθώς και στις διατμητικές δυνάμεις που προκαλεί (Owan et al., 1997; Smalt et al., 1997; Tanaka et al., 2005). Η υδροστατική πίεση χρησιμοποιήθηκε ως διέγερση αγγειογενετικές παραμέτρους του μοντέλου (Elder and Athanasiou, 2009). Οι μέγιστες και οι ελάχιστες τιμές της μηχανικής διέγερσης για τις οποίες οι βιολογικές διαδικασίες ενισχύονται, καθορίστηκαν από τις τιμές που εξάχθηκαν από τους Huijskes et al., (1997) και Claes and Heigele (1999) (Σχήμα 5.4, Πίνακας 5.2). Ο Πίνακας 5.3 περιέχει τις διεγερμένες και μη διεγερμένες τιμές των βιολογικών παραμέτρων για τις τρεις περιπτώσεις που μελετήθηκαν:

- Επίδραση της ροής ρευστού στις αγγειογενετικές παραμέτρους
- Επίδραση της υδροστατικής πίεσης στις αγγειογενετικές παραμέτρους
- Επίδραση της ροής ρευστού σε παραμέτρους που συνδέονται με την αγγειογένεση, την ενδομεμβρανική και την ενδοχονδριακή οστεοποίηση.



Σχήμα 5.4: Σχέση των τιμών των παραμέτρων του βιολογικού μοντέλου με το μέγεθος των μηχανικών διεγέρσεων. Τα κυκλωμένα γράμματα αντιστοιχούν στα σύμβολα του Σχήματος 5.2

Πίνακας 5.2: Οριακές τιμές των διεγέρσεων του Σχήματος 5.4

Μηχανική διεγερση	S1	S2	S3	S4
Περίπτωση 1 Ροή ρευστού (μm/s)	1	2	9	10
Περίπτωση 2 Υδροστατική πίεση [MPa]	-0.2	-0.1	0.1	0.2
Περίπτωση 3 Ροή ρευστού (μm/s)	1	2	9	10

Πίνακας 5.3: Βασικές και διεγερμένες τιμές των βιολογικών παραμέτρων

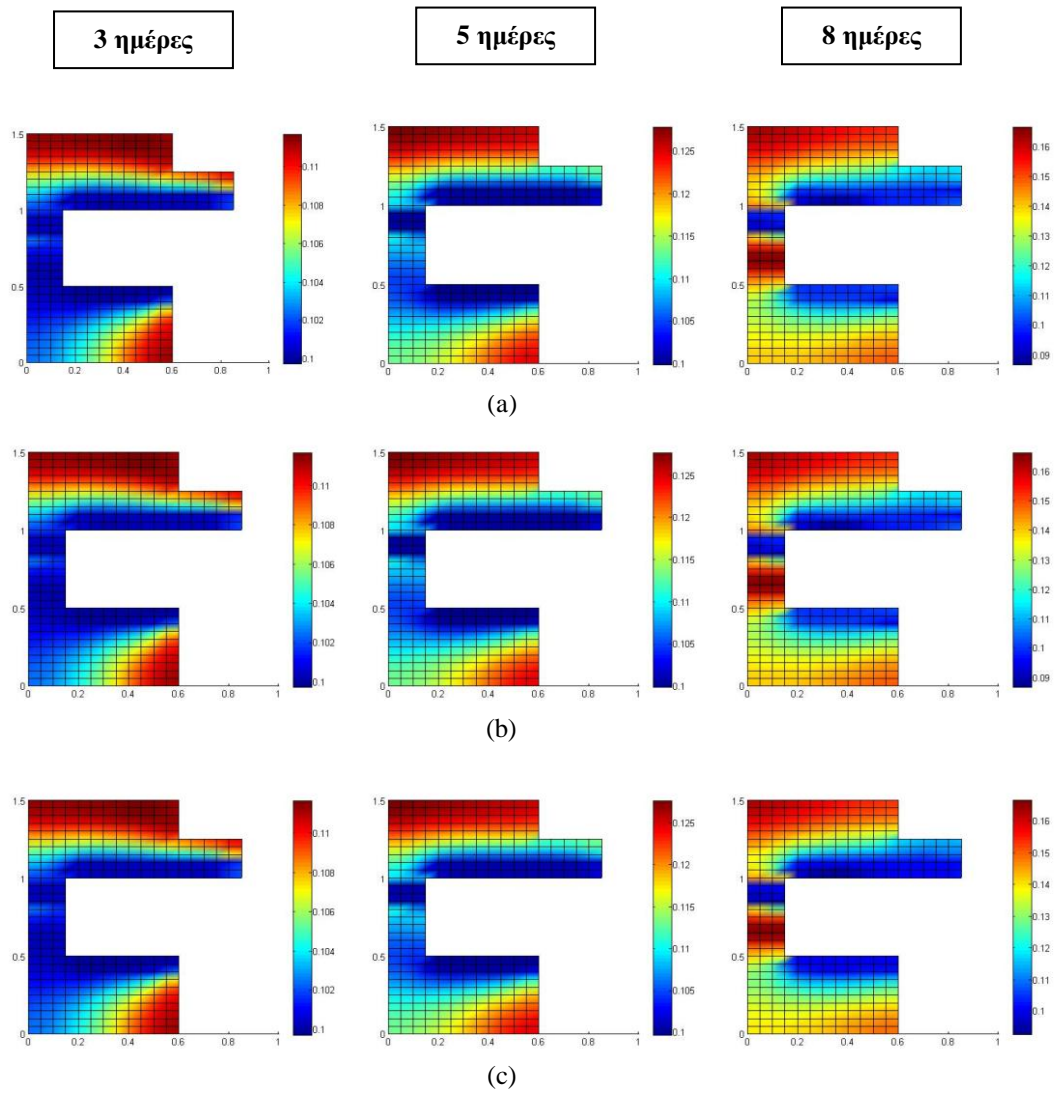
Ρυθμοί		Βασική τιμή	Διεγερμένη τιμή
<u>Περίπτωση 1</u>			
Πολλαπλασιασμός ενδοθηλιακών κυττάρων (a)	A_{v0}	0.101	0.202
Σύνθεση αιμοφόρων αγγείων (b)	P_{vs}	1e-6	2e-6
Υποβάθμιση αιμοφόρων αγγείων (c)	k_v	4e6	1e6
Παραγωγή αγγειακού αυξητικού παράγοντα (d)	E_{gc}	0.5e-3	1e-3
<u>Περίπτωση 2</u>			
Πολλαπλασιασμός ενδοθηλιακών κυττάρων (a)	A_{v0}	0.101	0.202
Σύνθεση αιμοφόρων αγγείων (b)	P_{vs}	1e-6	2e-6
Υποβάθμιση αιμοφόρων αγγείων (c)	k_v	4e6	1e6
Παραγωγή αγγειακού αυξητικού παράγοντα (d)	E_{gc}	0.5e-3	1e-3
<u>Περίπτωση 3</u>			
Πολλαπλασιασμός οστεοβλαστών (e)	A_{b0}	0.101	0.202
Πολλαπλασιασμός ενδοθηλιακών κυττάρων (a)	A_{v0}	0.101	0.202
Διαφοροποίηση μεσεγγ/κών κυττάρων σε οστεοβλάστες (f)	Y_{11}	5	10
Σύνθεση οστού (g)	P_{bs}	1	2
Αντικατάσταση χονδροκυττάρων (h)	Y_3	500	1000

5.2 Παρουσίαση αποτελεσμάτων

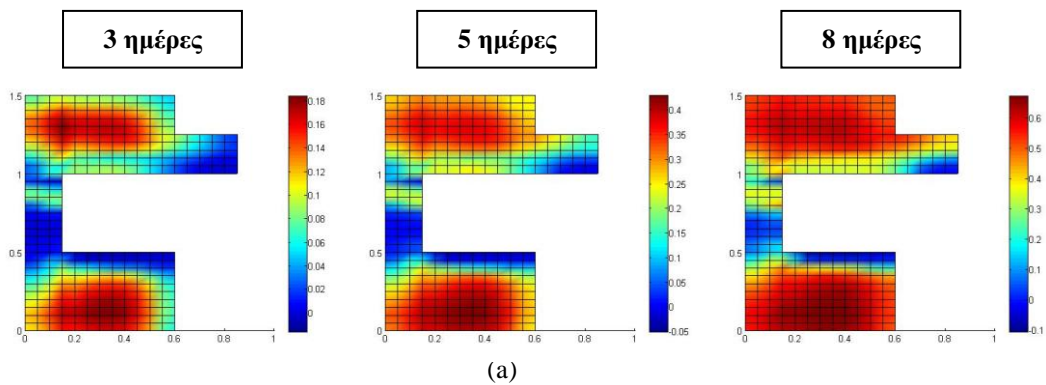
Η τιμές της πυκνότητας του ινώδους ιστού και του χόνδρου είναι ίδιες για τις τρεις περιπτώσεις (Σχήμα 5.5, 5.6), καθώς οι βιολογικές παράμετροι που μελετήθηκαν (Πίνακας 5.3) αναφέρονται κυρίως στην αγγειογένεση και την οστεοποίηση. Αντίθετα, η χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας της αγγειακής ουσίας είναι διαφορετική σε κάθε περίπτωση (Σχήμα 5.7). Όταν η υδροστατική πίεση χρησιμοποιείται ως μηχανική διέγερση (περίπτωση 2), οι τιμές της πυκνότητας της αγγειακής ουσίας είναι αυξημένες καθώς οι τιμές της υδροστατικής πίεσης που παρατηρούνται κατά τις πρώτες οκτώ ημέρες προκαλούν διεγερμένες βιολογικές παραμέτρους που σχετίζονται με την αγγειογένεση. Όταν η ροή ρευστού χρησιμοποιείται ως μηχανική διέγερση, δεν προκαλούνται διεγερμένες τιμές των συγκεκριμένων βιολογικών παραμέτρων με αποτέλεσμα να μην είναι οι τιμές της πυκνότητας της αγγειακής ουσίας τόσο υψηλές. Παρόλα αυτά, οι τιμές της αγγειακής ουσίας είναι υψηλότερες στην τρίτη περίπτωση σε σχέση με την πρώτη, εφόσον η μοναδική παράμετρος που σχετίζεται με την αγγειογένεση και μελετάται, είναι ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων (A_{v0}).

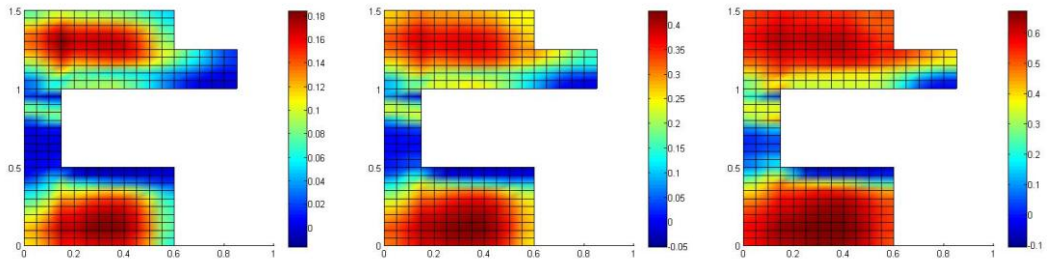
Σε ότι αφορά την πυκνότητα της θεμέλιας ουσίας οστού, στις πρώτες δύο περιπτώσεις όπου μελετώνται μόνο παράμετροι που σχετίζονται με την αγγειογένεση, οι τιμές της είναι όμοιες με αυτές του βιολογικού μοντέλου που δε λαμβάνει υπόψη τη μηχανική φόρτιση (Σχήμα 5.8). Φαίνεται λοιπόν ότι η οστεοποίηση δεν εξαρτάται αποκλειστικά από τις τιμές των βιολογικών παραμέτρων της αγγειογένεσης και διαφορές των τιμών αυτών δεν μπορούν να προβλέψουν μεταβολές στη διαδικασία της πώρωσης οι οποίες προκαλούνται από την επίδραση του μηχανικού περιβάλλοντος. Αντίθετα, στην τρίτη περίπτωση της μελέτης όπου υπεισέρχονται βιολογικές παράμετροι που σχετίζονται με την ενδομεμβρανική και ενδοχονδριακή οστεοποίηση, οι τιμές της πυκνότητας της θεμέλιας ουσίας οστού είναι αρκετά μικρότερες (Σχήμα 5.7), γεγονός που μπορεί να προβλέψει καθυστερημένη πώρωση ή ακόμα και μη - ένωση κατά την υπερφόρτιση του οστού.

Συμπερασματικά, όταν μόνο οι παράμετροι που συνδέονται με την αγγειογένεση (πολλαπλασιασμός ενδοθηλιακών κυττάρων, σχηματισμός - υποβάθμιση αγγειακής ουσίας και παραγωγή αγγειακού αυξητικού παράγοντα) εξαρτώνται από τη μηχανική διέγερση, δεν προβλέπεται επίδραση των συνθηκών φόρτισης στη διαδικασία της πώρωσης. Αντίθετα, όταν εκτός από την αγγειογένεση, επηρεάζονται οι διαδικασίες ενδομεμβρανικής και ενδοχονδριακής οστεοποίησης από τη μηχανική φόρτιση, προβλέπεται καθυστερημένη πώρωση που οδηγεί σε μη - ένωση σε συνθήκες υπερφόρτισης. Τα διαγράμματα της εξέλιξης των ποσοστών των πυκνοτήτων των ιστών κατά τις πρώτες οκτώ ημέρες μετά το κάταγμα απεικονίζονται συγκριτικά και για τις τρεις περιπτώσεις στο Σχήμα 5.9.

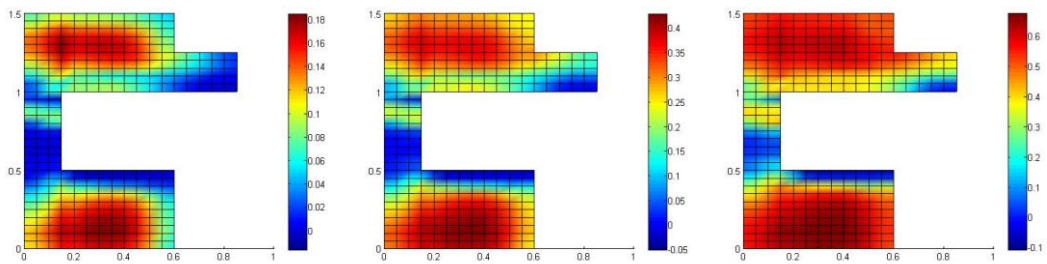


Σχήμα 5.5: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας ιώδους ιστού [$\times 0.1g/ml$] για (a) την 1η περίπτωση, (b) τη 2η περίπτωση, (c) την 3η περίπτωση μηχανικής διέγερσης.



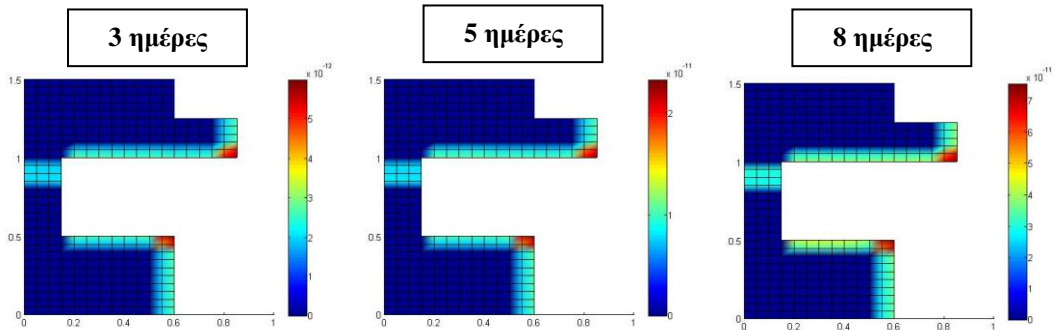


(b)

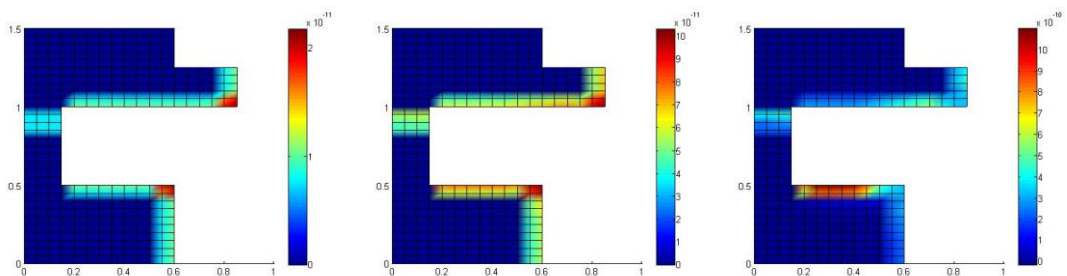


(c)

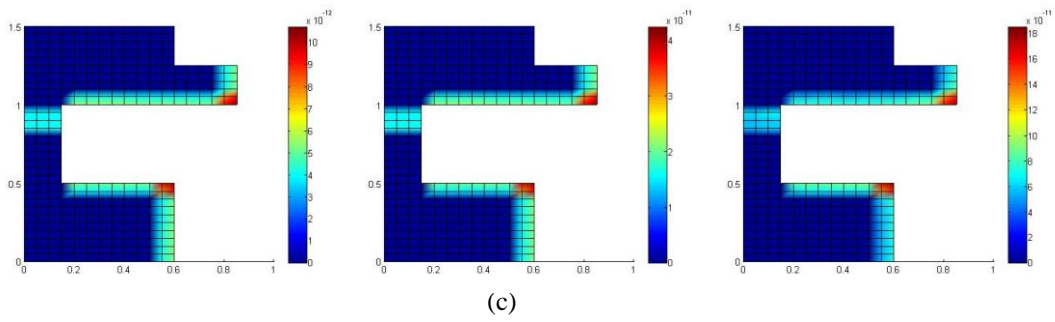
Σχήμα 5.6: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας του χόνδρου [$\times 0.1g/ml$] για (a) την 1η περίπτωση, (b) τη 2η περίπτωση, (c) την 3η περίπτωση μηχανικής διέγερσης.



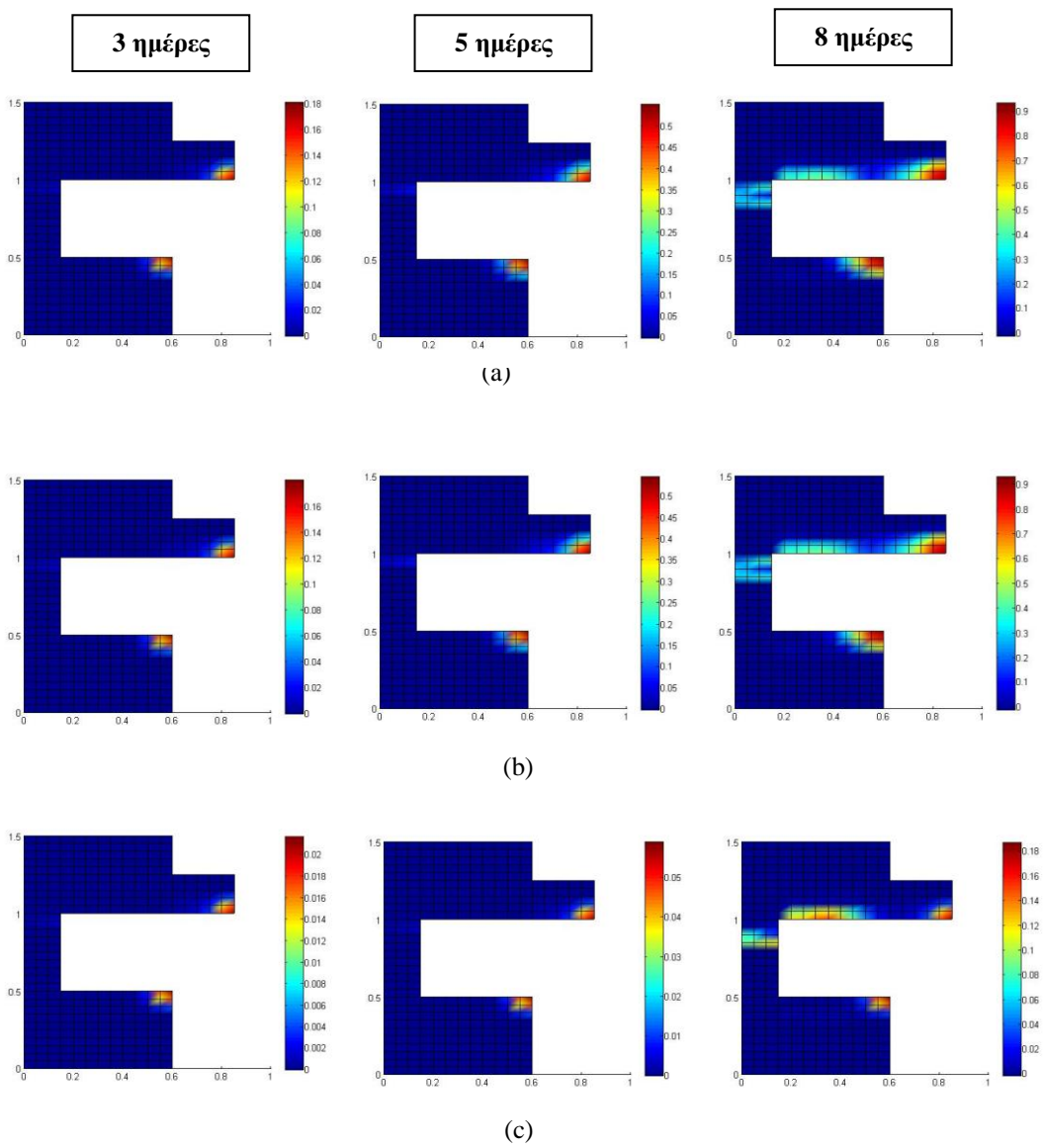
(a)



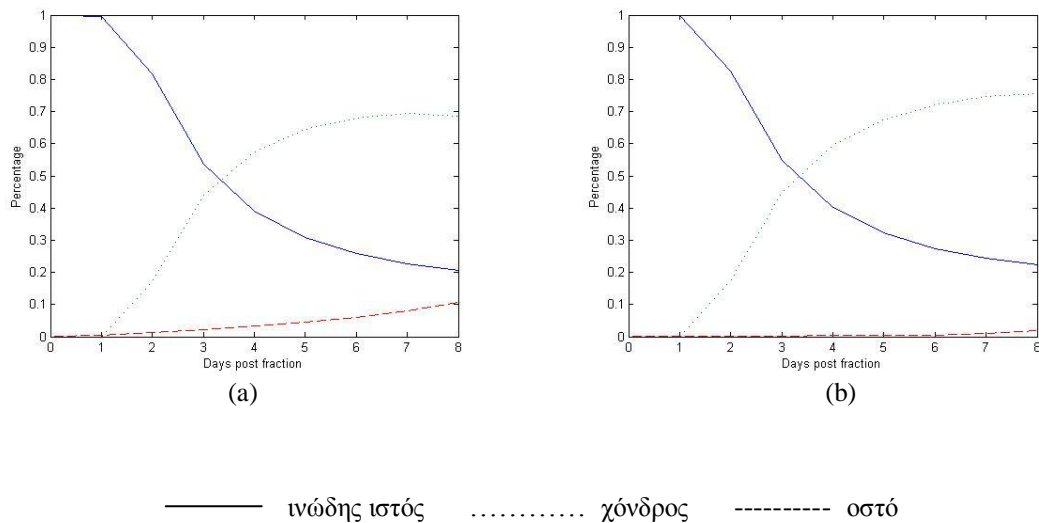
(b)



Σχήμα 5.7: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας της αγγειακής ουσίας [$\times 0.1g/ml$] για (a) την 1η περίπτωση, (b) τη 2η περίπτωση, (c) την 3η περίπτωση μηχανικής διέγερσης.



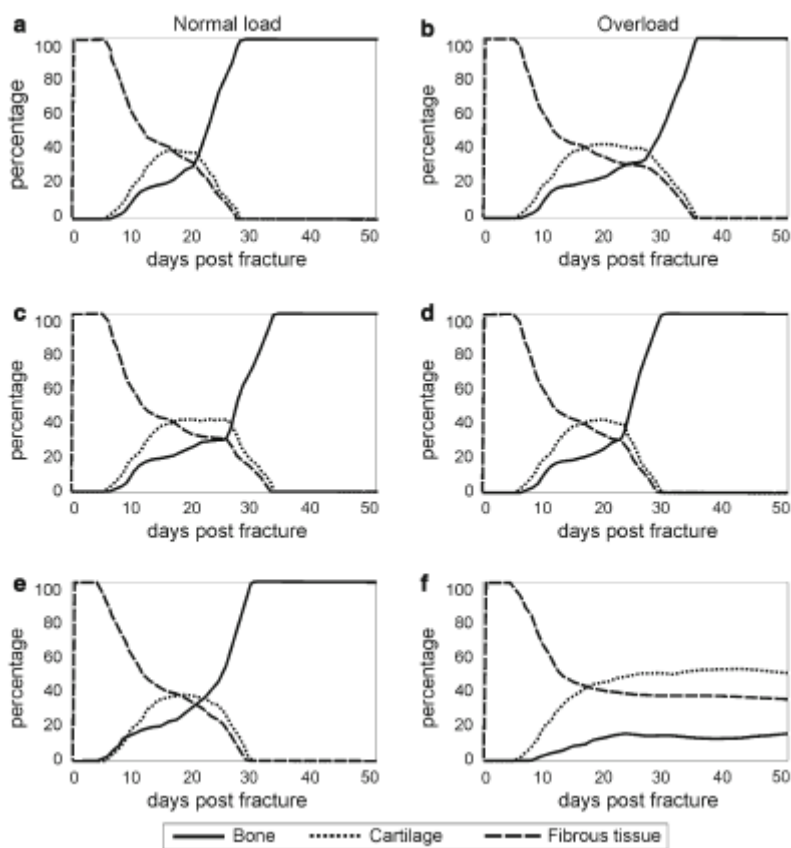
Σχήμα 5.8: Χωροχρονική εξέλιξη της πυκνότητας της θεμέλιας ουσίας οστού [$\times 0.1g/ml$] για (a) την 1η περίπτωση, (b) τη 2η περίπτωση, (c) την 3η περίπτωση μηχανικής διέγερσης.



Σχήμα 5.9: Εξέλιξη των ποσοστών των ιστών για (a) τις πρώτες δύο περιπτώσεις και για (b) την τρίτη περίπτωση μηχανικής διέγερσης.

5.3 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν παραπάνω, αφορούν την εξέλιξη των πυκνοτήτων των ιστών που λαμβάνουν μέρος στη διαδικασία της πώρωσης κατά τις πρώτες οκτώ ημέρες μετά το κάταγμα. Οι Geris et al., (2010) παρουσιάζουν διαγράμματα εξέλιξης των πυκνοτήτων των ιστών για όλη τη διάρκεια της διαδικασίας πώρωσης, για κανονική μηχανική φόρτιση αλλά και για την περίπτωση της υπερφόρτισης (Σχήμα 5.10). Σύμφωνα με αυτά, οι πρώτες δύο περιπτώσεις όπου οι αγγειογενετικές παράμετροι καθίστανται εξαρτώμενες από το μηχανικό περιβάλλον, οδηγούν σε κανονική πώρωση ενώ πλήρης οστεοποίηση του κάλλου παρατηρείται 5 εβδομάδες μετά το κάταγμα (Σχήμα 5.10 a-d). Για την τρίτη περίπτωση, κατά την οποία η ροή ρευστού επιδρά στην αγγειογένεση, την ενδομεμβρανική οστεοποίηση και την ενδοχονδριακή οστεοποίηση, κανονική πώρωση παρατηρείται μέσα σε 4 έως 5 εβδομάδες μετά το κάταγμα, κάτω από κανονική φόρτιση (Σχήμα 5.10e). Αντίθετα, υπό συνθήκες υπερφόρτισης δεν παρατηρείται ενδοχονδριακή οστεοποίηση και πώρωση του κατάγματος κατά τις πρώτες 7 εβδομάδες με αποτέλεσμα το σχηματισμό μη – ένωσης (Σχήμα 5.10f). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Geris et al., (2010) για τις πρώτες οκτώ ημέρες της διαδικασίας πώρωσης του οστού.



Σχήμα 5.10: Χρονική εξέλιξη των ποσοστών των ιστών στον κάλλο κάτω από κανονική φόρτιση (a,c,e) και υπερφόρτιση (b,d,f). **a-b** περίπτωση 1 η ροή ρευστού επιδρά στις αγγειογενετικές παραμέτρους, **c-d** περίπτωση 2 η υδροστατική πίεση επιδρά στις αγγειογενετικές παραμέτρους, **e-f** περίπτωση 3 η ροή ρευστού επιδρά στην αγγειογένεση, την ενδομεμβρανική και την ενδοχονδριακή οστεοποίηση

Η ανάπτυξη και η υποβάθμιση του κάλλου δεν συμπεριλήφθηκε στην παρούσα μελέτη. Επιπρόσθετα, οι συνοριακές συνθήκες του εξωτερικού κάλλου δε μοντελοποιήθηκαν επακριβώς, καθώς ο κώδικας των πεπερασμένων όγκων που υιοθετήθηκε απαιτεί γεωμετρία που αποτελείται από ορθογώνια σχήματα. Καθώς η ροή του ρευστού και η υδροστατική πίεση χρησιμοποιήθηκαν ως μηχανικές διεγέρσεις, τα αποτελέσματα της προσομοίωσης δεν επηρεάστηκαν από απειρισμούς λόγω των γωνιών σε περιοχές του κάλλου.

Ο τρόπος εξάρτησης των βιολογικών παραμέτρων από τη μηχανική φόρτιση και τις μηχανικές ιδιότητες επιλέχθηκε με βάση προηγούμενα μοντέλα λόγω της έλλειψης πειραματικών δεδομένων. Οι Isaksson et al., (2009) έδειξαν ότι ενώ η σειρά των γεγονότων στη διαδικασία πόρωσης δεν επηρεάζεται σημαντικά από τις μηχανικές υλικές ιδιότητες, το μέγεθος του σχηματισμού οστού και η μηχανική σταθερότητα στα διάφορα στάδια της διαδικασίας επηρεάζονται σημαντικά από τη διαπερατότητα του συνδετικού ιστού, το μέτρο ελαστικότητας του χόνδρου και τη διαπερατότητα

του νέου οστού. Συνεπώς, χρειάζεται επαρκής χαρακτηρισμός των μηχανικών ιδιοτήτων για το σχεδιασμό νέων πειραμάτων.

Οι Geris et al., (2010b) παρατήρησαν ότι χρησιμοποιώντας διαφορετικό συνδυασμό παραμέτρων που εξαρτώνται από τη μηχανική διέγερση (οι οποίοι συνδέονται επίσης με την αγγειογένεση και την οστεογένεση), προβλέπεται ξανά σχηματισμός μη – ένωσης υπό συνθήκες υπερφόρτισης. Η ακριβής επίδραση του συνδυασμού των παραμέτρων μπορεί να γίνει προφανής όταν υλοποιηθούν θεραπείες για τις παρατηρούμενες μη – ενώσεις. Οι περισσότερες παράμετροι που επηρεάζονται από τη μηχανική φόρτιση θεωρήθηκαν διπλάσιες υπό διέγερση, εκτός από την υποβάθμιση των αιμοφόρων αγγείων (Geris et al., 2010). Οι Andreykin et al., (2007) έδειξαν μέσω *in vitro* μελετών ότι η επιρροή της μηχανικής φόρτισης στους ρυθμούς πολλαπλασιασμού και άλλες διαδικασίες προκαλεί ένα σχετικά μεγάλο εύρος στις διεγερμένες τιμές των παραμέτρων (1.5 – 5 φορές μεγαλύτερες). Οι Bailon-Plaza and van der Meulen (2003) χρησιμοποίησαν παράγοντες μεταξύ 2 και 25 ανάμεσα στις διεγερμένες και μη διεγερμένες τιμές των παραμέτρων. Οι Checa and Prendergast (2009) χρησιμοποίησαν γραμμική συνάρτηση για την περιγραφή της επίδρασης της μηχανικής φόρτισης στο ρυθμό ανάπτυξης των αιμοφόρων αγγείων ενώ οι Isaksson et al., (2009) έθεσαν μηδέν τις τιμές των μη διεγερμένων παραμέτρων.

5.4 Σύνοψη

Το παρόν μοντέλο επιχειρεί να αναδείξει τη δυναμική των μαθηματικών μοντέλων ως ερευνητικό εργαλείο για τη διεκπεραίωση πολλαπλών αναλύσεων στη βιολογία με τη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών, ερευνώντας τη φύση της επίδρασης της μηχανικής φόρτισης στη διαδικασία αναδόμησης του οστού. Ερευνήθηκαν πιθανές αλληλεπιδράσεις του μηχανικού περιβάλλοντος και των βιολογικών διαδικασιών κατά την πόρωση των οστών. Το παρόν μοντέλο, εάν υποστηριχτεί από μελλοντικές βελτιώσεις που θα του επιτρέψουν την πρόβλεψη των διαφόρων διαδικασιών για μεγαλύτερο χρόνο αποκατάστασης, καθώς και από πειραματικές πληροφορίες που θα βοηθήσουν στις παραδοχές της μοντελοποίησης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον πιθανό προσδιορισμό των μηχανισμών αστοχίας της διαδικασίας αναδόμησης και για το σχεδιασμό νέων στρατηγικών θεραπειάς.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ιδιότητες της συνάρτησης περιορισμού

Το αποτέλεσμα της χωρικής διακριτοποίησης του TDR συστήματος (4.3) είναι ένα πρόβλημα αρχικών τιμών ενός τεράστιου συστήματος δύσκαμπτων, μη γραμμικών συνήθων διαφορικών εξισώσεων το οποίο απομένει να ολοκληρωθεί αριθμητικά στο χρόνο:

$$y'(t) = F(t, y(t)), \quad t = t_0 \in \mathbb{R}, \quad y(t_0) = y_0 \in \mathbb{R}^m \quad (\text{A.1})$$

Το πρόβλημα αρχικών τιμών απεικονίζει την ημι-διακριτοποίηση του προβλήματος (4.3) ως αποτέλεσμα του πρώτου βήματος της μεθόδου των γραμμών. Το διάνυσμα $y(t)$ περιέχει τις προσεγγίσεις των μέσων τιμών της λύσης σε όλα τα στοιχεία. Έχουμε ήδη αναφέρει ότι αναζητούμε μη αρνητικές προσεγγιστικές λύσεις. Πιο συγκεκριμένα, απαιτούμε

$$F \text{ συνεχής και (A.1) έχει μοναδική λύση για κάθε } t_0 \in \mathbb{R} \text{ και } y_0 \in \mathbb{R}^m. \quad (\text{A.2})$$

Τότε, μπορούν να οριστούν οι όροι του θετικού συστήματος ODE και της θετικής ημι-διακριτοποίησης.

Ορισμός 1

Τόσο το σύστημα συνήθων διαφορικών εξισώσεων της (A.1), όσο και το πρόβλημα αρχικών τιμών (A.1) καλούνται θετικά εάν η F έχει την ιδιότητα (A.2) και ισχύει $y(t) \geq 0$ για κάθε $t \geq t_0$, όπου $t_0 \in \mathbb{R}$ και $y_0 \geq 0$.

Εάν η ημι-διακριτοποίηση δοσμένου συστήματος μερικών διαφορικών εξισώσεων καταλήγει σε θετικό MOL-ODE σύστημα, τότε η ημι-διακριτοποίηση ονομάζεται θετική.

Το ακόλουθο θεώρημα (Horvath, 1998) χαρακτηρίζει τα θετικά συστήματα συνήθων διαφορικών εξισώσεων (ODE).

Θεώρημα 1

Έστω ότι η F ικανοποιεί την ιδιότητα (A.2). Το πρόβλημα αρχικών τιμών (A.1) που αντιστοιχεί στην F είναι θετικό αν και μόνο αν για κάθε $t_0 \in \mathbb{R}$, για κάθε διάνυσμα $n \in \mathbb{R}_{+,0}^m$ και για κάθε $i=1(1)m$ ισχύει

$$n_i = 0 \Rightarrow F_i(t, n) \geq 0.$$

Συμβολίζουμε με P την κλάση των συναρτήσεων F για την οποία το αντίστοιχο πρόβλημα αρχικών τιμών (A.1) είναι θετικό. Το δεξί μέλος του MOL-ODE συστήματος είναι άθροισμα συναρτήσεων. Οι παρακάτω παρατηρήσεις λοιπόν είναι χρήσιμες στην περίπτωση μας.

Παρατήρηση1

Εάν $F, G \in P$, τότε για κάθε $\alpha, \beta \in \mathbb{R}_{0,+}$ ισχύει $\alpha F + \beta G \in P$.

Παρατήρηση1

Έστω $F(t,y)=Dy+g(t)$ με g συνεχή συνάρτηση που ικανοποιεί τη σχέση $g(t) \geq 0$ για κάθε $t \in \mathbb{R}$ και $D \in \mathbb{R}^{m,m}$ μητρώο. Τότε, $F \in P$ αν και μόνο αν τα μη διαγώνια στοιχεία του D είναι μη αρνητικά.

Απαιτούμε ότι η συνάρτηση περιορισμού Φ είναι ομοιόμορφα συνεχής (έτσι ώστε η διακριτοποίηση του όρου τακτισμού να είναι επίσης ομοιόμορφα συνεχής) με τις ακόλουθες ιδιότητες:

$$\Phi(1) = 1, \tag{A.3}$$

$$\Phi(r) = 0 \text{ για } r \leq 0, \quad 0 \leq \Phi(r) \leq \delta, \text{ και } \Phi(r) \leq 2r \text{ για } r > 0 \tag{A.4}$$

Η ιδιότητα (A.3) είναι σημαντική για την τάξη της διακριτοποίησης και οι ιδιότητες (A.4) είναι ικανές για θετικότητα. Με αύξηση της παραμέτρου δ , αυξάνεται η ακρίβεια της διακριτοποίησης κοντά σε κορυφές της λύσης (Hundsdofer et al., 1995). Μια καλή επιλογή είναι $\delta=2$.

Λήμμα 1

Εστω $n(t,x)$ και $c_j(t,x)$, $j=1(1)l$, ομαλές συναρτήσεις και έστω N και C_j σημειακές προσεγγίσεις των n και c_j στα πλεγματικά σημεία x_i που βρίσκονται στα κέντρα των στοιχείων Ω_i , $i \in \{3,4, \dots, M-2\}^d$ (επαρκώς μακριά από το σύνορο $\partial\Omega$).

Εάν η συνάρτηση περιορισμού Φ είναι ομοιόμορφα συνεχής και $\Phi(1)=1$, τότε το τοπικό σφάλμα της προσέγγισης είναι δευτέρου βαθμού στο στοιχείο μήκους h , δηλαδή

$$H_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) + \nabla \left(n(t, x_i) \sum_{k=1}^l p_k(\mathbf{c}(t, x_i)) \nabla c_k(t, x_i) \right) = \sigma(h^2)$$

Σε όλα τα στοιχεία Ω_i , όπου για κάθε $j \in \{1,2, \dots, d\}$

1. οι τοπικές ταχύτητες $n_{i,j}$ και $n_{\mathbf{i}-e_j,j}$ έχουν το ίδιο πρόσημο και
2. N_i, N_{i+e_j} δεν είναι τοπικά ακρότατα κατά τη j -οστή διεύθυνση συντεταγμένων αν $n_{i,j}, n_{\mathbf{i}-e_j,j} \leq 0$ και N_i, N_{i-e_j} δεν είναι τοπικά ακρότατα κατά τη j -οστή διεύθυνση συντεταγμένων αν $n_{i,j}, n_{\mathbf{i}-e_j,j} \geq 0$.

Απόδειξη

Ανάπτυγμα Taylor.

Λήμμα 2

Εστω η συνάρτηση περιορισμού Φ που ικανοποιεί την ιδιότητα (A.4). Τότε, το ODE σύστημα

$$\frac{d}{dt} N_i(t) = H_T \mathbf{N}(t; \mathbf{i}), \quad \mathbf{i} \in \mathcal{J}$$

είναι θετικό.

Απόδειξη

Αρκεί να δειχτεί για μία μόνο τιμή του $j \in \{1,2, \dots, d\}$, καθώς τότε η θετικότητα θα ισχύει σε όλο το σύστημα (Παρατήρηση 1). Θεωρούμε $\mathbf{N} \geq 0$. Η εφαρμογή των σχέσεων (4.11) στα στοιχεία κοντά στα σύνορα, απαιτεί τιμές N_i με $\mathbf{i} \notin \mathcal{J}$ καθώς αντιστοιχούν σε στοιχεία του πλέγματος που δεν ανήκουν στο διαμερισμό Ω

(συνεπώς οι τιμές αυτές δεν περιέχονται στο \mathbf{N}). Θεωρούμε στη συνέχεια ότι αυτές οι τιμές υπολογίζονται από το \mathbf{N} και από δεδομένα στο σύνορο και ότι οι τιμές αυτές δεν δίνονται αρνητικές. Τότε, χωρίς βλάβη της γενικότητας, θεωρούμε τα στοιχεία \mathbf{i} αρκετά μακριά από το σύνορο της περιοχής.

Οι σχέσεις (4.11) καταδεικνύουν τέσσερις περιπτώσεις, ανάλογα με τα πρόσημα των $n_{i,j}$ και $n_{i-e_j,j}$. Η απόδειξη δίνεται για την 1η περίπτωση ($n_{i,j}, n_{i-e_j,j} \geq 0$). Τότε,

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = - \left(n_{i,j} S_j^+(\mathbf{N}; \mathbf{i}) - n_{i-e_j,j} S_j^+(\mathbf{N}; \mathbf{i} - \mathbf{e}_j) \right)$$

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τέσσερις υποπεριπτώσεις που αναλύονται στη συνέχεια.

Περίπτωση 1α

$$N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j} \neq 0 \text{ και } N_{\mathbf{i}-e_j} - N_{\mathbf{i}-2e_j} \neq 0$$

που οδηγεί στην

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = - \left[\frac{n_{i,j} N_{\mathbf{i}} - n_{i-e_j,j} N_{\mathbf{i}-e_j}}{N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j}} + \frac{n_{i,j}}{2} \Phi(r_{i,j}) - \frac{n_{i-e_j,j}}{2} \frac{\Phi(r_{i-e_j,j})}{r_{i-e_j,j}} \right] (N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j})$$

και για $N_{\mathbf{i}} = 0$ οδηγεί στην

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = - \left[n_{i-e_j,j} + \frac{n_{i,j}}{2} \Phi(r_{i,j}) - \frac{n_{i-e_j,j}}{2} \frac{\Phi(r_{i-e_j,j})}{r_{i-e_j,j}} \right] (-N_{\mathbf{i}-e_j,j}).$$

Συνεπώς, η συνθήκη του θεωρήματος 1 ικανοποιείται αν η έκφραση μέσα στις αγκύλες είναι μη αρνητική, το οποίο εξασφαλίζεται από την ιδιότητα (A.4).

Περίπτωση 1β

$$N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j} = 0 \text{ και } N_{\mathbf{i}-e_j} - N_{\mathbf{i}-2e_j} \neq 0$$

που δίνει $r_{i-e_j,j} = 0$ και έτσι, για $N_{\mathbf{i}} = 0$ προκύπτει

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = -n_{i-e_j,j} N_{\mathbf{i}-e_j}$$

που ικανοποιεί τη συνθήκη του θεωρήματος 1.

Περίπτωση 1γ

$$N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j} \neq 0 \text{ και } N_{\mathbf{i}-e_j} - N_{\mathbf{i}-2e_j} = 0$$

που μαζί με $N_{\mathbf{i}} = 0$ δίνει

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = - \left[n_{i-e_j,j} + \frac{n_{i,j}}{2} \Phi(r_{i,j}) \right],$$

όπου η έκφραση ανάμεσα στις αγκύλες είναι ξανά μη αρνητική λόγω της (A.4).

Περίπτωση 1δ

$$N_{\mathbf{i}} - N_{\mathbf{i}-e_j} = 0 \text{ και } N_{\mathbf{i}-e_j} - N_{\mathbf{i}-2e_j} = 0.$$

Σε αυτήν την περίπτωση προκύπτει

$$hH_T(\mathbf{N}; \mathbf{i}) = n_{\mathbf{i}-e_j} N_{\mathbf{i}-e_j}$$

η οποία ικανοποιεί τη συνθήκη του θεωρήματος 1.

Συνολικά, έχουμε ότι $H_T \in P$ και το αντίστοιχο σύστημα ODE είναι θετικό.

Αναφορές

Ποδαροπούλου, Α. 2012. Μοντελοποίηση πόρωσης οστών με τη μέθοδο των πεπερασμένων όγκων. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Ambard D, Swider P 2006. A predictivemechano-biological model of the bone-implant healing. *Europ J Mech -A/Solids* 25(6):927–937.

Andreykiv A, van Keulen F, Prendergast PJ, 2007. Simulation of fracture healing incorporating mechanoregulation of tissue differentiation and dispersal/proliferation of cells. *Biomechan Model Mechanobiol*. doi:[10.1007/s10237-007-0108-8](https://doi.org/10.1007/s10237-007-0108-8).

Augat,P., Margevicius,K., Simon,J., Wolf,S., Suger,G., Claes,L., 1998. Local tissue properties in bone healing: influence of size and stability of the osteotomy gap. *J Orthop Res* 16, 475-481.

Augat,P., Simon,U., Liedert,A., Claes,L., 2005. Mechanics and mechano-biology of fracture healing in normal and osteoporotic bone. *Osteoporos Int* 16, S36-S43.

Babhulkar,S., Pande,K., Babhulkar,S., 2005. Nonunion of the diaphysis of long bones. *Clin Orthop Relat Res* 50-56.

Bailon-Plaza,A., van der Meulen,M.C., 2001. A mathematical framework to study the effects of growth factor influences on fracture healing. *J Theor Biol* 212, 191-209.

Bailon-Plaza,A., van der Meulen,M.C., 2003. Beneficial effects of moderate, early loading and adverse effects of delayed or excessive loading on bone healing. *J Biomech* 36, 1069-1077.

Biot, M. A. (1941) General Theory of Three-Dimensional Consolidation. *J Appl Phys*, 12, 155-164.

Buckwalter,J.A., Glimcher,M.J., Cooper,R.R., Recker,R., 1996a. Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect* 45, 371-386.

Buckwalter,J.A., Glimcher,M.J., Cooper,R.R., Recker,R., 1996b. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect* 45, 387-399.

Buckwalter J.A., Einhorn T.A., Marsh L.J..(2001), «Bone and joint healing», Rockwood Jr CA, Green DP, Bucholz RW, Heckman JD, editors. *Fractures in adults*. 5th ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

- Carter,D.R., Blenman,P.R., Beaupre,G.S., 1988. Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing. *J Orthop Res* 6, 736-748.
- Carter,D.R., Beaupre,G.S., Giori,N.J., Helms,J.A., 1998. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin Orthop* 355S, S41-S55.
- Checa S, Prendergast PJ 2009. A mechanobiological model for tissue differentiation that includes angiogenesis: a lattice-based modeling approach. *Ann Biomed Eng* 37(1):129–145
- Claes,L.E., Wilke,H.J., Augat,P., Rubenacker,S., Margevicius,K.J., 1995. Effect of dynamization on gap healing of diaphyseal fractures under external fixation. *Clin Biomech* 10, 227-234.
- Claes,L., Augat,P., Suger,G., Wilke,H.J., 1997. Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing. *J Orthop Res* 15, 577-584.
- Claes,L.E., Heigele,C.A., Neidlinger-Wilke,C., Kaspar,D., Seidl,W., Margevicius,K.J., Augat,P., 1998. Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clin Orthop* S132-S147.
- Claes,L.E., Heigele,C.A., 1999. Magnitudes of local stress and strain along bony surfaces predict the course and type of fracture healing. *J Biomech* 32, 255-266.
- Clarke, B. (2008) Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3 Suppl 3, S131-139.
- Darling, E.M., Athanasiou, K.A., 2003. Articular cartilage bioreactors and bioprocesses. *Tissue Eng.* 1, 9–26.
- Ehrlich, P.J., Lanyon, L.E., 2002. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporos. Int.* 13, 688–700.
- Einhorn TA 1998. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 355S:S7–S21.
- Elder BD, Athanasiou KA, 2009. Hydrostatic pressure in articular cartilage tissue engineering: from chondrocytes to tissue regeneration. *Tis Eng B* 15(1):43–53.
- Garcia-Aznar,J.M., Kuiper,J.H., Gomez-Benito,M.J., Doblare,M., Richardson,J.B., 2006. Computational simulation of fracture healing: Influence of interfragmentary movement on the callus growth. *J Biomech.*
- Geris,L., Van Oosterwyck,H., Vander,S.J., Duyck,J., Naert,I., 2003. Assessment of mechanobiological models for the numerical simulation of tissue differentiation around immediately loaded implants. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 6, 277-288.

Geris,L., Andreykiv,A., Oosterwyck,H.V., Sloten,J.V., Keulen Fv,F.F., Duyck,J., Naert,I., 2004. Numerical simulation of tissue differentiation around loaded titanium implants in a bone chamber. *J Biomech* 37, 763-769.

Geris,L., Gerisch,A., Maes,C., Carmeliet,G., Weiner,R., Vander,S.J., Van Oosterwyck,H., 2006a. Mathematical modeling of fracture healing in mice: comparison between experimental data and numerical simulation results. *Med Biol Eng Comput* 44, 280-289.

Geris, L., A. Gerisch, J. V. Sloten, R. Weiner & H. V. Oosterwyck. 2008. Angiogenesis in bone fracture healing: a bioregulatory model. *J Theor Biol*, 137-158.

Geris, L., K. Vandamme, I. Naert, J. Vander Sloten, J. Duyck & H. Van Oosterwyck. 2009. Numerical simulation of bone regeneration in a bone chamber. *J Dent Res*, 158-163.

Geris L., Gerisch A., Schugart Richard C. 2010. Mathematical modeling in wound healing, bone regeneration and tissue engineering. *Acta Biotheor* 58:355-367.

Geris L, Schugart R, Van Oosterwyck H, 2010. *In silico* design of treatment strategies in wound healing and bone fracture healing. *Phil Trans R Soc A* 368: 2683–2706.

Gerisch, A. 2001. Numerical methods for the simulation of taxis-diffusion-reaction systems. Ph.D. Thesis. Technischen Fakultät der Martin–Luther–Universität Halle

Gerisch, A., Chaplain, M.A.J., 2005. Robust numerical methods for taxis–diffusion–reaction systems: applications to biomedical problems. *Math. Comput. Model.* 43, 49–75.

Gómez-Benito MJ, García-Aznar JM, Kuiper JH, Doblaré M 2005. Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing: a computational study. *J Theor Biol* 235:105–119

Goodship, A. E., J. L. Cunningham & J. Kenwright (1998) Strain rate and timing of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*, S105-15.

Hairer E.and Wanner G., 1996. *Solving ordinary differential equations. II. Stiff and differentgial–algebraic problems*. Number 14 in Springer Series in Computational Mathematics. Springer–Verlag, Berlin, 2nd edition.

Harrison, L.J., Cunningham, J.L., Stromberg, L., Goodship, A.E., 2003. Controlled induction of a pseudarthrosis: a study using a rodent model. *J. Orthop. Trauma* 17, 11–21.

Huiskes,R., van Driel,W.D., Prendergast,P.J., Soballe,K., 1997. A biomechanical regulatory model for periprosthetic fibrous-tissue differentiation. *Materials in Medicine* 8, 785-788.

- Hundsdoerfer W., Koren B., van Loon M, and J. G. Verwer, 1995. A positive finite-difference advection scheme. *J. Comput. Phys.*, 117(1):35–46.
- Isaksson, H., W. Wilson, C. C. van Donkelaar, R. Huiskes & K. Ito (2006) Comparison of biophysical stimuli for mechano-regulation of tissue differentiation during fracture healing. *J Biomech*, 39, 1507-16.
- Isaksson, H. 2007. Mechanical and mechanobiological influences on bone fracture repair. Ph.D. Thesis. Technische Universiteit Eindhoven.
- Isaksson, H., C. C. van Donkelaar, R. Huiskes & K. Ito. 2008. A mechano-regulatory bone-healing model incorporating cell-phenotype specific activity. In *J Theor Biol*, 230-46.
- Isaksson H, van Donkelaar CC, Ito K, 2009. Sensitivity of tissue differentiation and bone healing predictions to tissue properties. *J Biomech* 42(5):555–564.
- Kelly,D.J., Prendergast,P.J., 2005. Mechano-regulation of stem cell differentiation and tissue regeneration in osteochondral defects. *J Biomech*.
- Koren B., 1993. A robust upwind discretization method for advection, diffusion and source terms. In: Vreugdenhil CB, Koren B, editors. Numerical methods for advection–diffusion problems. Braunschweig: Vieweg; 117–137.
- Lacroix,D., Prendergast,P.J., Li,G., Marsh,D., 2002. Biomechanical model to simulate tissue differentiation and bone regeneration: application to fracture healing. *Med Biol Eng Com* 40,14-21.
- Lacroix,D., Prendergast,P.J., 2002. A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading. *J Biomech* 35, 1163-1171.
- Lai, W. M., V. C. Mow & V. Roth 1981. Effects of nonlinear strain-dependent permeability and rate of compression on the stress behavior of articular cartilage. *J Biomech Eng*, 103, 61-66.
- Larsson,S., Kim,W., Caja,V.L., Egger,E.L., Inoue,N., Chao,E.Y., 2001. Effect of early axial dynamization on tibial bone healing: a study in dogs. *Clin Orthop Relat Res* 240-251.
- Le AX, Miclau T, Hu D, Helms JA 2001. Molecular aspects of healing in stabilized and non-stabilized fractures. *J Orthop Res* 19(1): 78–84.
- Lienau J, Schell H, Duda GN, Seebeck P, Muchow S, Bail HJ 2005. Initial vascularization and tissue differentiation are influenced by fixation stability. *J Orthop Res* 23(3):639–645.

Mark,H., Penington,A., Nannmark,U., Morrison,W., Messina,A., 2004. Microvascular invasion during endochondral ossification in experimental fractures in rats. *Bone* 35, 535-542.

Mow,V.C., Kuei,S.C., Lai,W.M., Armstrong,C.G., 1980. Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiments. *J Biomech Eng* 102, 73-84.

Olsen L., Sherratt J., Maini P., Arnold F., 1997. A mathematical model for the capillary endothelial cell-extracellular matrix interactions in wound healing angiogenesis, *IMA J. Math. Appl. Med. Biol.* 14, 261–281.

Owan I, Burr DB, Turner CH, Qiu J, Tu Y, Onyia JE, Duncan RL, 1997. Mechanotransduction in bone: osteoblasts are more responsive to fluid force than mechanical strain. *Am J Phys* 273:C810–C815.

Park,S.H., O'Connor,K., McKellop,H., Sarmiento,A., 1998. The influence of active shear or compressive motion on fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am* 80, 868-878.

Pauwels,F., 1960. [A new theory on the influence of mechanical stimuli on the differentiation of supporting tissue. The tenth contribution to the functional anatomy and causal morphology of the supporting structure]. *Z Anat Entwicklungsgesch* 121, 478-515.

Peiffer V., Gerisch A., Vandepitte C., Oosterwyck V.H., Geris L. 2011. A hybrid model of angiogenesis during bone fracture healing. *Biomech Model Mechanobiol* 10:383-395

Perez, M. A. & P. J. Prendergast. 2007. Random-walk models of cell dispersal included in mechanobiological simulations of tissue differentiation. In *J Biomech*, 2244-2253.

Perren,S.M., 1979. Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. *Clin Orthop* 175-196.

Perren,S.M., Cordey,J., 1980. The concept of interfragmentary strain. *Current Concepts of Internal Fixation of Fractures* 63-77.

Perren,S.M. and Claes,L. 2000. Biology and biomechanics in fracture management. In *AO principles of Fracture Management* (Edited by Rüedi,T.P. and Murphy,W.M.) Pp. 7-32. Thieme, Stuttgart.

Prendergast,P.J., van Driel,W.D., Kuiper,J.H., 1996. A comparison of finite element codes for the solution of biphasic poroelastic problems. *Proc Inst Mech Eng [H]* 210, 131-136.

Prendergast,P.J., Huiskes,R., Soballe,K., 1997. ESB Research Award 1996. Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. *J Biomech* 30, 539-548.

Reginster,J.Y., Burlet,N., 2006. Osteoporosis: a still increasing prevalence. *Bone* 38, S4-S9.

Sandino, C. & D. Lacroix (2011) A dynamical study of the mechanical stimuli and tissue differentiation within a CaP scaffold based on micro-CT finite element models. *Biomech Model Mechanobiol*, 10, 565-576.

Schmitt B.A. and Weiner R., 1995. Matrix-free W-methods using a multiple Arnoldi iteration. *Appl. Numer. Math.*, 18:307–320.

Shefelbine SJ, Augat P, Claes L, Simon U 2005. Trabecular bone fracture healing simulation with finite element analysis and fuzzy logic. *J Biomech* 38(12):2440–2450.

Simon, B. R. 1992. Multiphasic poroelastic finite element models for soft tissue structures. *J Applied Mechanics Reviews*, 45, 191-218.

Smalt R, Mitchell FT, Howard RL, Chambers TJ, 1997. Induction of NO and prostaglandin E2 in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain. *Am J Phys* 273:E751–E758.

Soballe,K., Brockstedt-Rasmussen,H., Hansen,E.S., Bunger,C., 1992a. Hydroxyapatite coating modifies implant membrane formation. Controlled micromotion studied in dogs. *Acta Orthop Scand* 63, 128-140.

Soballe,K., Hansen,E.S., Rasmussen,H., Jorgensen,P.H., Bunger,C., 1992b. Tissue ingrowth into titanium and hydroxyapatite-coated implants during stable and unstable mechanical conditions. *J Orthop Res* 10, 285-299.

Sweby P.K., 1984. High resolution schemes using flux limiters for hyperbolic conservation laws. *SIAM J. Numer. Anal.*, 21:995–1011.

Tanaka SM, Sun HB, Roeder RK, Burr DB, Turner CH, Yokota H, 2005. Osteoblast responses one hour after load-induced fluid flow in a three-dimensional porous matrix. *Calcif Tissue Int* 76(4):261–271

Thompson Z, Miclau T, Hu D, Helms JA 2002. A model for intramembranous ossification during fracture healing. *J Orthop Res* 20(5):1091–1098.

Tsiridis E., Upadhyay N., Giannoudis P. 2007. Molecular aspects of fracture healing: Which are the important molecules ? . *Injury, Int. J. Care Injured* 38S1, S11—S25

van der Meulen,M.C., Huiskes,R., 2002. Why mechanobiology? A survey article. *J Biomech* 35, 401-414.

van Leer B., 1974. Towards the ultimate conservative difference scheme. II. Monotonicity and conservation combined in a second order scheme. *J Comput Phys*.14:361–70.

van Leer B., 1979. Towards the ultimate conservative difference scheme. V. A second order sequel to Godunov method. *J Computat Phys*. 32:101–36.

Wang Y, Hutter K., 2001. Comparison of numerical methods with respect to convectively dominant problems. *Int J Numer Methods Fluids.*, 37:721–45.

Weiner R., Schmitt B.A., Podhaisky H., 1997. ROWMAP—a ROWcode with Krylov techniques for large stiff ODEs. *Appl. Numer. Math.*25, 303–319

Weiner R. and Schmitt B.A., 1998. Order Results for Krylov-W-Methods. *Computing*, 61:69–89.

Wu, J.J., Shyr, H.S., Chao, E.Y., Kelly, P.J., 1984. Comparison of osteotomy healing under external fixation devices with different stiffness characteristics. *J Bone Joint Surg Am* 66, 1258-1264.

Ysart, G. E. & R. M. Mason. 1994. Responses of articular cartilage explant cultures to different oxygen tensions. In *Biochim Biophys Acta*, 15-20.