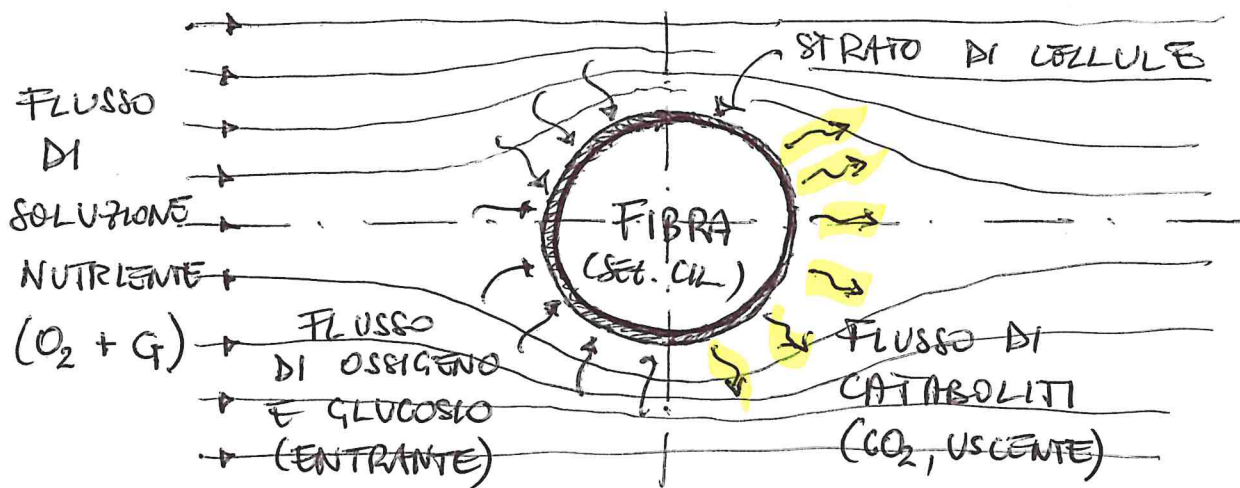


MODELLO BIO-CINETICO DI CRESCITA

L1

CELLULARE

Si vuole derivare un modello per descrivere il metabolismo cellulare in coltura. L'esempio pratico di interesse per applicare il modello è quello del reattore biologico per produzione di cellule staminali, schematizzabile come:



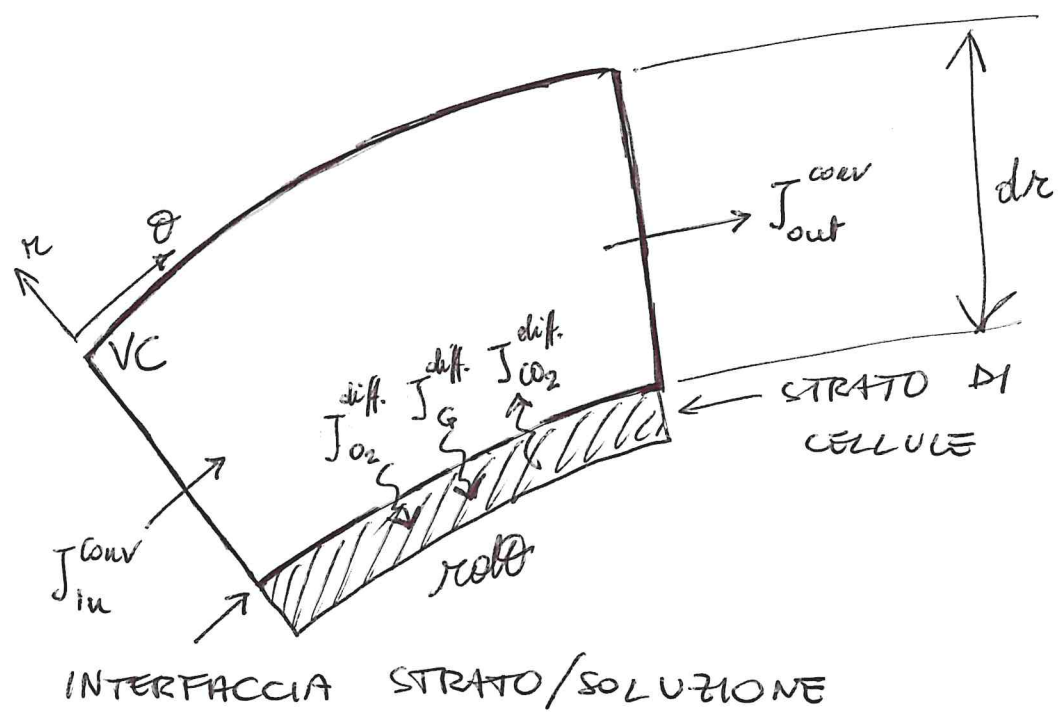
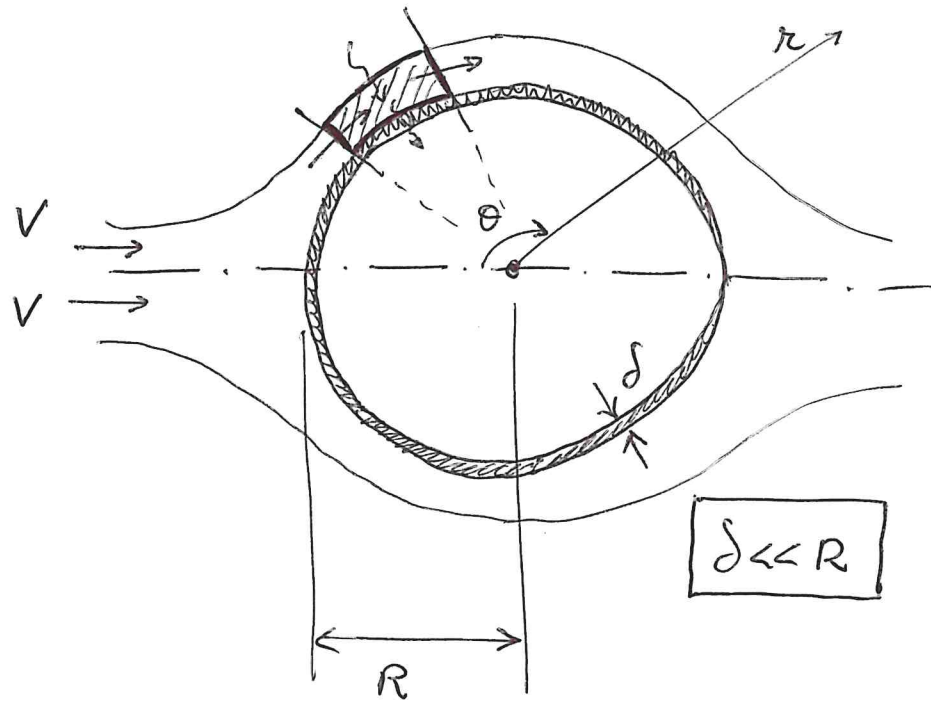
Le cellule depositate sulla superficie della fibra assorbono ossigeno e glucosio, trasportati per conversione, tramite diffusione e producono CO_2 (catabolite) che viene rilasciato sempre per diffusione.

Vogliamo valutare:

1. Flussi entranti/uscenti di nutrienti/cataboliti dallo strato cellulare
2. Tasso di crescita dello strato cellulare lungo

la superficie del cilindro.

A tal fine, possiamo impostare un bilancio di massa su un opportuno volume di controllo preso in corrispondenza dello strato cellulare:



• Flusso convettivo:

$$F = \text{conc. di} \left[\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right]$$

3

$$\int_{in}^{conv} = v_{\theta} \cdot F \, dr \Big|_{\theta}$$

$$\int_{out}^{conv} = v_{\theta} \cdot F \, dr \Big|_{\theta + d\theta}$$

$$[v_x F \, dy]$$

$$\Rightarrow \int_{in}^{conv} - \int_{out}^{conv} =$$

$$= v_{\theta} \, dr \frac{\partial F}{\partial \theta} \text{ nel lim } d\theta \rightarrow$$

$$[v_x \, dy \frac{\partial F}{\partial x}]$$

• Flusso diffusivo:

$$\int_{in}^{diff.} = D \frac{\partial F}{\partial r} \, r \, d\theta \Big|_{r=R+\delta+d\delta = R+d\delta}$$

$$\int_{out}^{diff.} = D \frac{\partial F}{\partial r} \, r \, d\theta \Big|_{r=R+\delta = R}$$

$$[D \frac{\partial F}{\partial y} \, dx]$$

$$\Rightarrow \int_{in}^{diff.} - \int_{out}^{diff.} =$$

$$= d\delta \, d\theta \, D \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{\partial F}{\partial r} \, r \right)$$

$$\text{nel lim } d\delta \rightarrow 0$$

NOTA: $D \frac{\partial F}{\partial r} = \frac{\text{m}^2}{\text{s}} \cdot \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$

Bilancio a stazionario:

$$v_{\theta} \, dr \frac{\partial F}{\partial \theta} = D \, d\theta \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{\partial F}{\partial r} \cdot r \right) \quad \left[\frac{\partial}{\partial x} (v_x F \, dx) = \right.$$

$$\left. = \frac{\partial}{\partial y} \left(D \frac{\partial F}{\partial y} \, dx \right) \right]$$

con $\bar{F} = F(r, \theta, t)$ $[F = F(x, y, t)]$

$$U_\theta \frac{d}{dt} \frac{\partial F}{\partial \theta} = D \frac{\partial}{\partial r} \frac{\partial F}{\partial r} + r D \frac{\partial^2 F}{\partial r^2} \quad \left[\frac{\text{kg}}{\text{ms}} \right]$$

$$\left[\frac{\text{m}}{\text{s}} \cdot \frac{\text{m}^2 \text{kg}}{\text{m}^3} \right] = \frac{\text{kg}}{\text{ms}} \quad \left[\frac{\text{m}^2}{\text{s}} \cdot \frac{\text{m}^2 \text{kg}}{\text{m}^3} \cdot \frac{1}{\text{m}} \right] \quad \left[\frac{\text{m}}{\text{s}} \frac{\text{m}^2}{\text{m}} \frac{\text{m} \text{kg}}{\text{m}^3} \frac{1}{\text{m}^2} \right]$$

$$U_\theta \frac{\partial F}{\partial \theta} = D \left(\frac{\partial F}{\partial r} + r \frac{\partial^2 F}{\partial r^2} \right)$$

$$[v_x \frac{\partial F}{\partial x} = D \frac{\partial^2 F}{\partial y^2}]$$

+ B.C. $D \frac{\partial F}{\partial r} \Big|_{r=R+\delta} = \eta C(t)$

$$\left[D \frac{\partial F}{\partial y} \Big|_{y=R} = \eta C(t) \right]$$

Assumiamo $R + \delta \approx R$ (interfaccia strato/soluzione)

Ricerchiamo $C(t)$ da:

$$\frac{dC(t)}{dt} = K(t) \cdot C(t)$$

→ vedi note

Ipotizziamo noti:

$$F_{O_2}(\theta, t=0) = F_{O_2}^{in} \quad \text{noto } \forall \theta \text{ a } t=0$$

$$F_G(\theta, t=0) = F_G^{in} \quad \text{noto } \forall \theta \text{ a } t=0$$

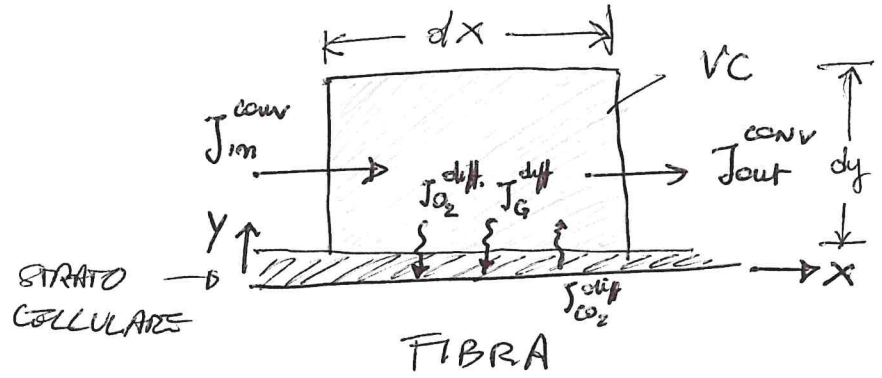
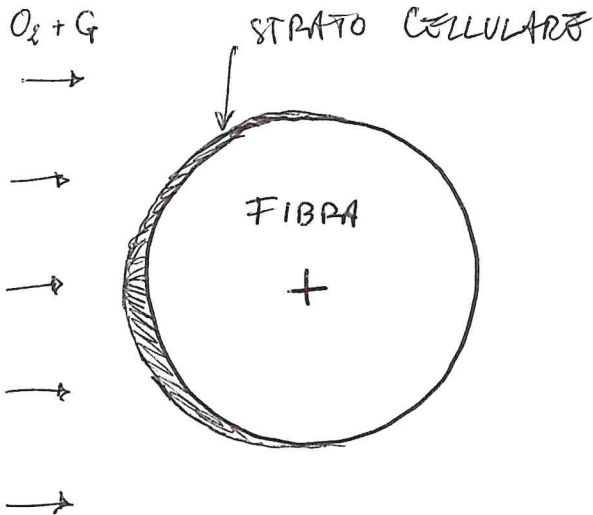
$$C(t=0) = C_0 \quad \text{noto } \forall \theta \text{ a } t=0, r=R$$

Per i cataboliti:

15

$$F_{\text{CO}_2}(\theta, t=0) = F_{\text{CO}_2}^{\text{in}} = 0 \quad \text{note } \forall \theta \text{ a } t=0$$

CASO CARTESIANO :



Flussi convettivi :

$$J_{in}^{conv} = v_x C_N^{(F)} dy \Big|_x \left[\frac{kg}{ms} \right]$$

$$J_{out}^{conv} = v_x C_N^{(F)} dy \Big|_{x+dx} \left[\frac{kg}{ms} \right]$$

Indicata con F nelle pagine precedenti!

C_N = concentraz. di nutriente (O_2 o Glucosio) in kg/m^3

$$J_{in}^{conv} - J_{out}^{conv} = - \underbrace{(v_x C_N|_{x+dx} - v_x C_N|_x)}_{\text{change in convective flux}}$$

$$\left[\begin{array}{l} J_{in}^{conv} > J_{out}^{conv} \\ \text{---} \\ \cong \frac{\partial (v_x C_N)}{\partial x} dx \quad \text{con } v_x \neq f(x) \\ \text{---} \\ = -v_x \frac{\partial C_N}{\partial x} dx dy \quad \left(\text{NB } \frac{\partial C_N}{\partial x} < 0 !! \right) \end{array} \right.$$

Flussi diffusivi :

$$J_{in}^{diff.} = -D \frac{\partial C_N}{\partial y} dx \Big|_{y+dy}$$

$$J_{out}^{diff} = -D \frac{\partial C_N}{\partial y} dx \Big|_y$$

$$J_{in}^{diff} - J_{out}^{diff} = -D \left(\frac{\partial C_N}{\partial y} \Big|_{y+dy} - \frac{\partial C_N}{\partial y} \Big|_y \right) dx$$

$$\left[J_{in}^{diff} < J_{out}^{diff} \right]$$

$$\frac{\partial^2 C_N}{\partial y^2} dy$$

$$= -D \frac{\partial^2 C_N}{\partial y^2} dy dx \quad (NB \frac{\partial^2 C_N}{\partial y^2} > 0 !!)$$

Nel caso in cui non ci sia scambio di sostanze nutritive ($\partial C_N / \partial t = 0$) si ha perfetto bilancio fra flussi convettivi e flussi diffusivi:

$$v_x \frac{\partial C_N}{\partial x} = D \frac{\partial^2 C_N}{\partial y^2} \quad \left[\frac{kg}{m^3 s} \right]$$

$$C_N = C_N(x, y) \quad se \quad \frac{\partial C_N}{\partial t} = 0 !!$$

La condizione che deve valere sulla faccia del CV a contatto con le cellule è:

$$J_{out}^{diff} = -\eta_N C(x, t)$$

η_N = uptake per unit cells concentration

dove $C(x, t)$ è la concentrazione di celle.

Per l'ossigeno avremo:

$$\begin{cases} v_x \frac{\partial C_{O_2}}{\partial x} = D_{O_2} \frac{\partial^2 C_{O_2}}{\partial y^2} \\ -D_{O_2} \frac{\partial C_{O_2}}{\partial y} \Big|_{y=0} = -\eta_{O_2} C(x, t) \end{cases}$$

Per il glucosio avremo:

$$\begin{cases} v_x \frac{\partial C_G}{\partial x} = D_G \frac{\partial^2 C_G}{\partial y^2} \\ -D_G \frac{\partial C_G}{\partial y} \Big|_{y=0} = -\eta_G C(x, t) \end{cases}$$

N.B. Finora non si è fatta alcuna ipotesi su v_x , se non che non varia lungo x (profilo completamente sviluppato). Inoltre, simili eq. valgono per i cataloliti!

Serve un'equazione per $C(x, t)$:

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = k(t) \cdot C(x, t)$$

Con $k(x, t) = k_{max} \cdot K_{O_2} \cdot K_G$

$$K_{O_2} = \frac{C_{O_2}(x, y, t)}{K_{O_2} + C_{O_2}(x, y, t)}$$

Mi serve che dipenda da t . Ma allora serve il termine di saturazione!

$$K_G = \frac{C_G(x, y, t)}{K_G + C_G(x, y, t)}$$

9

Facciamo finta che non ci sia dipendenza di C_G e C_G da t . Allora:

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = K(x, y) C(x, t)$$

In realtà questa eq. viene risolta solo per $y=0$ (ovvero in corrispondenza dello strato cellulare) quindi la dip. da y scompare....

↓ All'istante iniziale (1° time step)

$$\frac{C(x, t=dt) - C(x, t=0)}{dt} = K(x, y) \cdot C(x, t=0)$$

Assumo noto $C(x, t=0) = C_0$ e trovo:

$$\begin{aligned} C(x, t=dt) &= C_0 [1 + dt \cdot K(x, y)] \\ \vdots \\ C(x, t=n \cdot dt) &= C_{n-1} [1 + dt \cdot K(x, y)] \end{aligned}$$

ovvero:

- se k non varia nel tempo allora K rimane uguale in un dato punto x, y al variare di t
- se k non varia nel tempo:

$$C(x, t=2dt) = C(x, t=dt) [1 + dt \cdot k(x, y)]$$

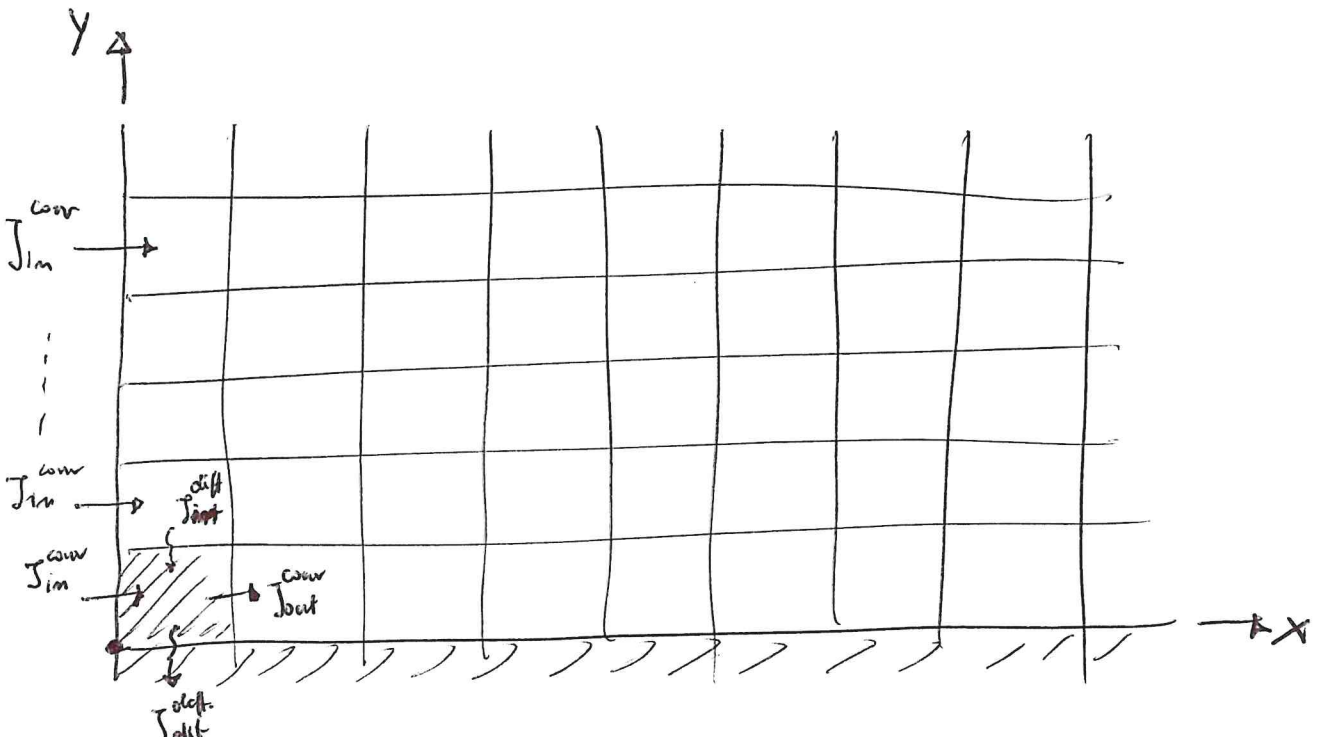
$$\downarrow$$

$$= C_0 [1 + dt \cdot k(x, y)]^2$$



$$C(x, t = n \cdot dt) = C_0 [1 + dt \cdot k(x, y)]^n$$

Cambia nel tempo solo perché aumenta n



Procedura di risoluzione:

• 1^a cella:

$$J_{diff}^{out} = -\eta_N C_0$$

(NB. $C(x,t=0) = C_0 \forall x$!!)

$$\left. \frac{\partial C_N}{\partial y} \right|_{y=0} = \left(-\frac{\eta_N}{D} \right) C_0 \quad (*)$$

All'inizio abbiamo la stessa conc. di cellule sullo scaffold

Flusso diffusivo uscente dal CV corrispondente alle pt^e di nutriente N mangiato dalle cellule nel primo tratto dello scaffold.

$$U_x \frac{\partial C_N}{\partial x} = D \frac{\partial^2 C_N}{\partial y^2}$$

Incongnite: concentrazione di nutriente in uscite del CV
 concentrazione di nutriente entrante nel CV a $x=0$

Noto xche imposto $\rightarrow C_N(x=\Delta x) - C_N(x=0)$
 Δx

$= D \left[\frac{\partial C_N}{\partial y} \Big|_{y=\Delta y} - \frac{\partial C_N}{\partial y} \Big|_{y=0} \right]$
 Δy

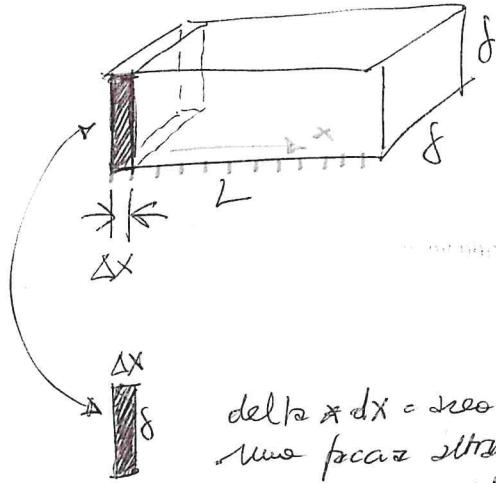
Flusso diffusivo in ingresso al CV!!
 Noto da (*)

$$C_N(x=\Delta x) = C_N(x=0) + \frac{D}{U_x \Delta y} \left(\frac{\partial C_N}{\partial y} \Big|_{y=\Delta y} - \frac{\eta_N}{D} C_0 \right)$$

```

program model
implicit real*8(a-h,o-z)
c calcola la variazione nel tempo delle cellule lungo il canale
parameter(nmax=300)
dimension oxy(0:nmax), gluc(0:nmax), cell(nmax), co2(0:nmax)
dimension cellold(nmax)
c dati di input
delta=1.2e-3
scaff_lenght=10.e-3
vel=0.26e-3
dens=1000.
csat=1.e10
clim=1.e9
cappa_max=1.02e-5
cappa_g=0.22e-6
cappa_o2=0.224e-6
stechio_o2=1.066
stechio_CO2=1.466
ix1=5
ix2=95
c dati simulazione
dx=0.1e-3
dt=1.
nx=scaff_lenght/dx = L/dx
c file uscita
open(unit=1, file='space.dat')
open(unit=2, file='time-x1.dat')
open(unit=3, file='time-x2.dat')

```



delta * dx = area di una faccia attraverso cui O₂ e G diffondono (in tutte 4 facce!)

```

c inizializzazione: conc unif=inlet
oxy(0)=6.20e-6 O2(x=0)
co2(0)=0. CO2(x=0)
gluc(0)=0.001 G(x=0) B.C.
do i=1, nx
oxy(i)=6.20e-6
co2(i)=0.
gluc(i)=0.001
ires=mod(i,22)
if(ires.le.10)then
cellold(i)=8.e8
else
cellold(i)=0.
endif
waterflow=dens*vel*delta**2. => m_dot = rho * v * delta^2 = kg/s
enddo

```

```

c ciclo sul tempo (6 giorni)
do it=1, 3600*24*6
c do it=1, 3600*24
do ix=1, nx

```

$$\text{amoned}_G = \frac{G(x)}{K_G + G(x)} \Rightarrow \text{amoned}_G = K_G(x)$$

$$\text{amoned}_{O_2} = \frac{O_2(x)}{K_{O_2} + O_2(x)} \Rightarrow \text{amoned}_{O_2} = K_{O_2}(x)$$

eq. (12)
$$C_{(x)}^{n+1} = C_{(x)}^n + dt \cdot k_{max} \cdot K_G \cdot K_{O_2} \cdot C_{(x)}^n [1 - C_{(x)}^n / C_{sat}]$$

```

cell(ix)=cellold(ix)+DT*cappa_max*amoned_G*amoned_O2*
cellold(ix)*(1.-cellold(ix)/CSAT)
cellold(ix)=cell(ix)
c stato proliferazione
IF(cell(ix).lt.0.9*CLIM)THEN
grxcell=2.0833e-17
ELSE
c variazione continua del consumo di ossigeno
if(cell(ix).gt.1.1*CLIM)THEN
grxcell=5.787e-18
else
fact=(cell(ix)-0.9*CLIM)/(0.2*CLIM)
grxcell=2.0833e-17-fact*(2.0833e-17-5.787e-18)
endif
ENDIF

```

```

c consumo glucosio
area=4.*delta*dx ← totale area di "scambio" x diffusione
flux_gluc=grxcell*cell(ix)*area [kgG/s]

```

```

if(ix.eq.ix1)then
aa=flux_gluc
bb=grxcell
endif

```

```

c 102 format(i5,4(1x,e15.5))
gluc(ix)=gluc(ix-1)-flux_gluc/waterflow
c write(4,102)ix,gluc(ix),gluc(ix-1),flux_gluc,waterflow

```

$$F_{conv}^{in} - F_{conv}^{out} = F_{diff}$$

Portata massima di glucosio

```
c consumo ossigeno
  flux_oxy=flux_gluc*stechio_O2
  oxy(ix)=oxy(ix-1)-flux_oxy7waterflow
c produzione CO2
  flux_co2=flux_gluc*stechio_CO2
  co2(ix)=co2(ix-1)+flux_co27waterflow
c periodo per scrivere distribuzione lungo canale
  ick=mod(it,600)
  if(ick.eq.0)then
    write(1,100)it,ix*dx,gluc(ix),oxy(ix),cell(ix),co2(ix)
  endif
  100 format(1x,i8,8(1x,e15.6))
  → enddo five ciclo su ix (coliz. x!)
  itck=mod(it,10)
  if(itck.eq.0)then
    write(2,101) it,gluc(ix1),oxy(ix1),cell(ix1),co2(ix1),aa,bb
    write(3,101) it,gluc(ix2),oxy(ix2),cell(ix2),co2(ix2)
  endif
  → enddo five ciclo temporale
  101 format(1x,i8,7(1x,e15.10))
  stop
end
```