

Simulatie van botingroei in een prothese

Olmer van Rijn

4 november 2007

Inhoudsopgave

1	Inleiding	2
2	Medische Achtergrond	3
2.1	Reactieve Fase	3
2.2	Reparatieve Fase	3
2.3	Remodellerings Fase	3
2.4	Model vs Werkelijkheid	4
3	Model voor Botgroei	5
3.1	Aannames	5
3.2	Processen in de callus	5
3.2.1	Differentiatie, Proliferatie en Migratie	5
3.2.2	Vorming en Resorptie van weefsels	6
3.2.3	Afhankelijkheid van de Mechanische Stimulus	6
3.3	Wiskundig Model	7
3.3.1	Model voor Botgroei	7
3.3.2	Randvoorwaarden en Begincondities	7
3.3.3	Coëfficiënten	9
3.4	Mechanische Stimulus	10
4	Oplossen van het Model	11
4.1	Eindige Volume Methode	11
4.1.1	1-Dimensionaal	11
4.1.2	2-Dimensionaal	13
4.1.3	Andere Vergelijkingen	15
4.2	Tijdsintegratie	15
5	Resultaten	17
5.1	Vaste waarde mechanische stimulus	17
5.2	Variëren mechanische stimulus in de tijd	18
5.3	Variëren mechanische stimulus in de tijd en de plaats	19
5.4	2-Dimensionaal	21
5.5	Andere mogelijkheden	26
5.5.1	Lineaire afname in de tijd	26
5.5.2	Lineaire toename in de plaats	28
6	Conclusie	29
6.1	Aanbevelingen	29
A	Cellen en Weefsels	31
B	Coëfficiënten	33

Hoofdstuk 1

Inleiding

Botbreuken komen in het alledaagse leven maar al te vaak voor, velen komen er vroeg of laat wel een keer mee in aanraking. Over het algemeen geneest een botbreuk zonder enige complicaties en heeft de patiënt er later weinig tot geen last meer van. Echter in ongeveer 10 procent van de gevallen leiden complicaties tot onvolledige en misvormde heling van het bot. Dit kan dan chronische pijn en soms zelfs een handicap veroorzaken.

In dit verslag komt een model voor botgroei aan bod. Dit model is op één facet van de botheling gericht, namelijk de concentraties van de verschillende cellen en weefsels die invloed hebben op de groei van bot. De cellen en weefsels zijn onderhevig aan verschillende processen, waaronder proliferatie en differentiatie. Door al deze processen in kaart te brengen en te verwerken in het model verkrijgen we een stelsel partiële differentiaal vergelijkingen die we gebruiken om de groei van het bot na te bootsen.

Klinisch is aangetoond dat mechanische stimulatie van het gebroken bot invloed kan hebben op de heling van dit bot. In verschillende onderzoeken zijn mechanische factoren onderzocht om inzicht te krijgen wat deze invloeden inhouden en onder welke mechanische omstandigheden de heling van een bot optimaal is.

Dit heeft invloed op ons model, het blijkt namelijk dat de eerdergenoemde processen, zoals proliferatie, afhankelijk zijn van deze mechanische omstandigheden. We introduceren een mechanische stimulus S in het model, welke we gebruiken om de afhankelijkheid van deze processen te implementeren. Naderhand gaan we kijken wat voor invloed deze mechanische stimulus heeft en hoe dit eventueel voordelig zou kunnen werken bij botheling.

Voor de opbouw van het model en het verslag is onder andere gebruik gemaakt van een studie naar botingroei in protheses van Andriy Andreykiv. Zijn boek *Simulation of bone ingrowth* vormt de basis van dit onderzoek. Verder is voor de biologische en medische achtergrond van het onderzoek gebruik gemaakt van het boek *Histology: A Text and Atlas, with correlated cell and molecular biology*, welk wordt gebruikt door studenten geneeskunde bij hun opleiding.

Hoofdstuk 2

Medische Achtergrond

De groei van bot is vooral een medische / biologische aangelegenheid, daarom zal hier aan de hand van informatie uit [2] getracht worden duidelijk te maken wat er gebeurt bij het helen van een bot. Het helen van een breuk kan worden ingedeeld in drie fasen, de reactieve, reparatieve en remodelerings fase. Ons model richt zich op de 2e fase, waarbij onder andere het nieuwe botweefsel wordt aangemaakt.

2.1 Reactieve Fase

Nadat iemand een botbreuk heeft opgelopen, zal het lichaam hierop reageren zoals bij elke andere verwonding. Bloedvaten vernauwen en bloedklonten ontstaan om eventuele bloedingen in de breuk tegen te gaan. Macrophages maken de plek van verwonding schoon. In deze fase gaat het vooral om schadebeperking, zodat mogelijke complicaties worden voorkomen.

2.2 Reparatieve Fase

Vervolgens groeien fibroblasten¹ en bloedvatjes op de plaats van de verwonding om zo nieuw weefsel te maken. Zodra dit weefsel dichter en steviger wordt vormen chondrocyten kraakbeen, waarna een callus² ontstaat. De callus helpt met het stabiliseren en samen binden van het gebroken bot. Terwijl de callus zich vormt differentiëren stamcellen zich in osteoblasten, welke botweefsel vormen vlakbij de breuk. De nieuwe vorming van bot verplaatst zich geleidelijk richting de breuk en vormt een omhulsel om de callus. Hierna vervangt het botweefsel geleidelijk de callus. Uiteindelijk moet er alleen bot overblijven om goede heling te verzekeren.

2.3 Remodellerings Fase

Als uiteindelijk al het weefsel is vervangen, zal het bot (een deel van) zijn vroegere sterkte terugkrijgen. Tijdens het vormen van nieuw weefsel zal het bot ook gemodelleerd worden zodat hij zijn vroegere vorm terug krijgt. Bij sommige botbreuken wordt gips gebruikt om het bot in de juiste stand te krijgen, dit om misvormde heling of andere complicaties te voorkomen. Als het bot helemaal geheeld is en ook zijn originele vorm weer heeft, kan deze over het algemeen weer zoals van ouds gebruikt en belast worden.

¹Voor beschrijving van cel- en weefseltypen zie appendix A

²Een tijdelijke formatie van fibroblasten en chondrocyten op de plek van een botbreuk terwijl het bot zich probeert te herstellen

2.4 Model vs Werkelijkheid

Het helingsproces van bot is hierboven vereenvoudigd en verkort weergegeven. Het model in hoofdstuk 3 beschrijft wat er gebeurt nadat de callus is gevormd. Bot zou de plaats van de callus moeten innemen. Maar welke cellen er gedifferentieerd worden uit stamcellen blijkt af te hangen van de mechanische eigenschappen die heersen in de callus.

Hoofdstuk 3

Model voor Botgroei

Het model dat hier besproken wordt is verkregen uit [1]. Gaandeweg dit hoofdstuk zal het model opnieuw opgebouwd worden, om te laten zien wat wel en wat niet is meegenomen in het model. En ook om een beter inzicht te krijgen wat het model nu eigenlijk weergeeft.

3.1 Aannames

Omdat de biologische achtergrond van botgroei nogal complex is, zullen we verschillende aannames moeten doen om tot een model te komen. De grootste aanname is dat er in dit model enkel worden gekeken naar de dichtheden (genormaliseerd t.o.v. de "verzadigde" celconcentratie) van de verschillende cel- en weefseltypen in de callus. Zodoende zullen slechts de processen waaraan deze cel- en weefseltypen onderhevig zijn, gemodelleerd worden. Invloed van bijvoorbeeld hormonen en bloedtoevoer zal buiten beschouwing worden gelaten. Ook nemen we aan dat er in eerste instantie geen cellen en weefsels, die er voor botgroei toe doen, aanwezig zijn in de callus. De fibroblasten en chondrocyten waaruit de callus in eerste instantie is opgebouwd worden dus niet meegenomen. Verdere, minder ingrijpende, aannames zullen gaandeweg dit hoofdstuk duidelijk worden.

3.2 Processen in de callus

Om tot een goed model te komen zullen we moeten bekijken wat voor processen er zijn in de callus. Omdat wij gaan kijken naar de cel- en wefseldichtheden, brengen we in kaart waaraan de verschillende cel- en weefseltypen worden onderworpen. We hebben het al over differentiëren gehad, maar dat is niet het enige dat plaats vindt. Alle cellen zijn in staat zichzelf te delen, de zogenaamde proliferatie, en ook migreren sommige celtypen. Dan is er ook nog het proces van weefselvorming, waarbij uit de cellen de bijbehorende weefsels worden gevormd. Als laatste vindt ook resorptie plaats in de callus, dit houdt in dat één weefseltype wordt vervangen, of eigenlijk afgebroken, zodat een ander weefseltype kan worden gevormd. Elk proces wordt begeleid door een coëfficiënt, die invloed heeft in welke mate het proces plaatsvindt. Zo deelt bijvoorbeeld niet elke cel zich even snel. Deze coëfficiënten worden verder besproken in paragraaf 3.3.3.

3.2.1 Differentiatie, Proliferatie en Migratie

Differentiatie is het proces waarbij cellen veranderen van het ene celtype in het andere. Het beste voorbeeld hiervan zijn de stamcellen, deze "oercellen" zijn de cellen waaruit een embryo in eerste instantie bestaat. Zij kunnen in elke gewenste cel veranderen en dus de functie gaan vervullen die nodig is.

In het model gaan we er vanuit dat de stamcellen alleen zullen differentiëren naar de andere cellen binnen het model. Echter zijn de stamcellen niet de enige cellen die differentiëren. Het blijkt dat fibroblasten en chondrocyten op hun beurt ook weer kunnen differentiëren. Fibroblasten

kunnen veranderen in chondrocyten en osteoblasten. Chondrocyten zullen enkel in osteoblasten veranderen.

Cellen kunnen zichzelf ook delen, dit wordt ook wel proliferatie genoemd. Elke cel is in staat zich te delen en dus hoe hoger de concentratie van een bepaald celtype, des te meer proliferatie er zal zijn. Echter de totale concentratie van alle cellen heeft ook invloed (negatief) op het delingsproces.

Als laatste hebben we nog te maken met migratie van cellen. Hierbij nemen we aan dat alleen de stamcellen en fibroblasten migreren. We modelleren dit met behulp van (niet-lineaire) diffusie.

3.2.2 Vorming en Resorptie van weefsels

De vorming van weefsel hangt vooral af van de concentratie cellen en de hoeveelheid weefsel dat er al is. Fibroblasten vormen bindweefsel, chondrocyten vormen kraakbeen en osteoblasten vormen botweefsel.

Alleen bindweefsel en kraakbeen wordt afgebroken. Deze weefsels worden op den duur vervangen door botweefsel en moeten dus afgebroken worden. Afbraak is dus eigenlijk niet het goede woord, resorptie of vervanging geeft het proces beter weer.

3.2.3 Afhankelijkheid van de Mechanische Stimulus

De afhankelijkheid van deze processen van de mechanische stimulus S is hier niet besproken. Deze afhankelijkheid zal worden meegenomen door de coëfficiënten als functie van S te zien, wat verder zal worden besproken in paragraaf 3.3.3. Waar het ook duidelijk zal worden dat de invloed van de mechanische stimulus misschien wel het belangrijkste is als het gaat om welk type weefsel gemaakt wordt.

3.3 Wiskundig Model

Nu alle processen zijn bepaald die moeten worden verwerkt in het model, kan het wiskundige model worden gemaakt. Het model uit [1] wordt gepresenteerd.

3.3.1 Model voor Botgroei

Verspreiding, deling en differentiatie van de stamcellen, fibroblasten, chondrocyten en osteoblasten wordt verondersteld beschreven te worden door:

$$\frac{\partial c_m}{\partial t} = D_m \nabla^2 c_m + P_m(1 - c_{tot})c_m - F_f(1 - c_f)c_m - F_c(1 - c_c)c_m - F_b(1 - c_b)c_m, \quad (3.1)$$

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} = D_f \nabla^2 c_f + P_f(1 - c_{tot})c_f + F_f(1 - c_f)c_m - F_c(1 - c_c)c_f - F_b(1 - c_b)c_f, \quad (3.2)$$

$$\frac{\partial c_c}{\partial t} = P_c(1 - c_{tot})c_c + F_c(1 - c_c)(c_m + c_f) - F_b(1 - c_b)c_c, \quad (3.3)$$

$$\frac{\partial c_b}{\partial t} = P_b(1 - c_{tot})c_b + F_b(1 - c_b)(c_m + c_f + c_c). \quad (3.4)$$

Hierbij zijn c_m, c_f, c_c, c_b de dichtheden van achtereenvolgens stamcellen, fibroblasten, chondrocyten en osteoblasten. Allen zijn genormaliseerd t.o.v. de "verzadigde" concentratie: $0 \leq c_i \leq 1$ ($i = m, f, c, b$). De grootheden P_i, F_i en D_i zijn verschillende coëfficiënten, deze zullen later verder worden besproken. De totale concentratie cellen is $c_{tot} = c_m + c_f + c_c + c_b$.

De vorming en resorptie van bindweefsel, kraakbeen en botweefsel wordt verondersteld beschreven te worden door:

$$\frac{\partial m_f}{\partial t} = Q_f(1 - m_{tot})c_f - (D_b c_b + D_c c_c)m_f m_{tot}, \quad (3.5)$$

$$\frac{\partial m_c}{\partial t} = Q_c(1 - m_b - m_c)c_c - D_b c_b m_c m_{tot}, \quad (3.6)$$

$$\frac{\partial m_b}{\partial t} = Q_b(1 - m_b)c_b. \quad (3.7)$$

Hierbij zijn m_f, m_c, m_b weefseldichtheden van achtereenvolgens bindweefsel, kraakbeen en botweefsel. Allen zijn genormaliseerd t.o.v. de "verzadigde" concentratie: $0 \leq m_i \leq 1$ ($i = f, c, b$). De grootheden Q_i en D_i zijn verschillende coëfficiënten, deze zullen later verder worden besproken. De totale concentratie cellen is $m_{tot} = m_f + m_c + m_b$.

3.3.2 Randvoorwaarden en Begincondities

In [1] worden periodieke randvoorwaarden gebruikt bij het oplossen van het model, echter daar wordt de Eindige Elementen Methode gebruikt. Daardoor is het oplosgebied anders¹, wij normaliseren de lengte van de callus, zodat we een vierkant oplosgebied overhouden. Hier maken we vervolgens gebruik van Dirichlet, Neumann en Robin randvoorwaarden. De homogene Neumann voorwaarde volgt uit een symmetrie overweging. Waarom ook Dirichlet en Robin voorwaarden zijn gebruikt wordt later duidelijk.

¹onder andere een ander grid en een andere geometrie

1-dimensionaal

Allereerst zullen we kijken naar het 1-dimensionale geval. Op de rand nemen we aan dat er homogene Neumann randvoorwaarden gelden, wat inhoudt dat er geen transport over de randen plaatsvindt. Verder is er gedurende enige tijd een vaste toevoer van stamcellen aan de linker rand ($x = 0$). Hier is zodoende gedurende die tijd een Dirichlet randvoorwaarde actief ($c_m(0, t) = 1$), daarna zal de toevoer geleidelijk afnemen. We gaan daarom uit van de volgende Robin randvoorwaarde voor c_m op de linker rand:

$$D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} = K(c_b - c_m).$$

Hierbij staat c_b voor wat c_m in eerste instantie op de rand is, voor ons geldt dus $c_b = 1$. K kunnen we variëren in de tijd om van Dirichlet randvoorwaarde over te gaan naar een Neumann randvoorwaarde. Er geldt namelijk:

$$\text{als } K \rightarrow \infty \quad \text{dan} \quad \frac{D_m}{K} \frac{\partial c_m}{\partial x} \rightarrow 0.$$

En dus ook:

$$\text{als } K \rightarrow 0 \quad \text{dan} \quad c_m \rightarrow c_b = 1.$$

Kiezen we K dus groot ten opzichte van D_m , c_m en c_b , verkrijgen we een Dirichlet randvoorwaarde, $c_m(0, t) = c_b = 1$. Als we echter $K = 0$ geldt:

$$\frac{\partial c_m}{\partial x} = 0.$$

Met $K = 0$ wordt de randvoorwaarde dus teruggevoerd naar een homogene Neumann randvoorwaarde. Door K te variëren kunnen we dus het proces van tijdelijk toevoer van stamcellen nabootsen. We kiezen ervoor om K lineair te laten afnemen in de tijd.

Op $t = 0$ gaan we er van uit dat alle cel- en weefselconcentraties in het gebied 0 zijn. Alleen voor stamcellen gelden er andere begincondities. Op de linker rand ($x = 0$) van het gebied gaan we er van uit dat op $t = 0$ al stamcellen aanwezig zijn en dat de concentratie helemaal verzadigd is, $c_m(0, 0) = 1$.

2-dimensionaal

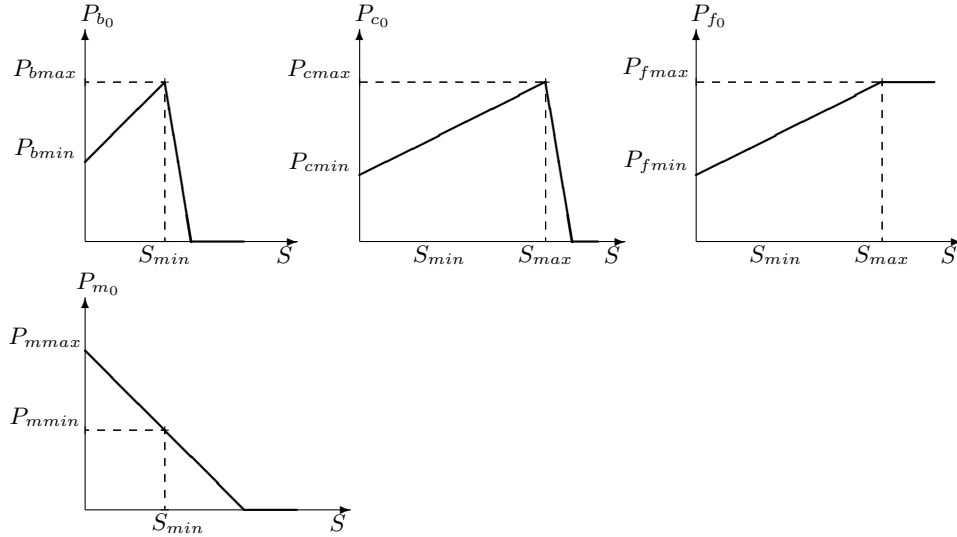
Voor het 2-dimensionale geval zullen we grotendeels dezelfde randvoorwaarden gebruiken. We bekijken nu het gebied $0 \leq x \leq 1$, $0 \leq y \leq 1$ en op de randen gelden ook nu homogene Neumann randvoorwaarden². We gaan er van uit dat stamcellen het gebied binnenkomen door de gehele rand ($x, y = 0$). Op die rand moeten we dus gedurende enige tijd weer een Dirichlet randvoorwaarde hebben, die later overgaat in een homogene Neumann randvoorwaarde. We gebruiken de volgende Robin randvoorwaarde, met daarin weer de variabele K :

$$D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} = K(c_b - c_m).$$

Hierbij geldt dat $c_b = 1$, n is de naar buiten gerichte éénheidsnormaal en $K = K(x, t)$ variëren we in de tijd en ook in de plaats. K varieert in de plaats omdat op sommige plaatsen langs de rand stamcellen makkelijker of moeilijker het gebied binnen kunnen komen.

Voor de begincondities kijken we ook naar het 1-dimensionale model, alle cel- en weefselconcentraties zijn ook nu nul in het gebied. Alleen op de rand ($x, y = 0$), waar de stamcellen binnenkomen, geldt dat op $t = 0$ er al stamcellen zijn, zodoende $c_m(x, 0, 0) = 1$.

²In dit geval: $\frac{\partial c_i}{\partial n} = 0$, met n de naar buiten gerichte éénheidsnormaal



Figuur 3.1: Proliferatiecoëfficiënten als functie van de mechanische stimulus S .

3.3.3 Coëfficiënten

Aan elk proces in het model is een coëfficiënt verbonden:

- Diffusiecoëfficiënten D_i $i = m, f$.
- Proliferatiecoëfficiënten P_i $i = m, f, c, b$.
- Differentiatiecoëfficiënten F_i $i = f, c, b$.
- Productiecoëfficiënten Q_i $i = f, c, b$.
- Resorptiecoëfficiënten D_i $i = c, b$.

Er wordt aangenomen dat deze coëfficiënten, behalve die van de diffusie, afhangen van een mechanische stimulus S , die verder zal worden verklaard in paragraaf 3.4. De diffusie- en proliferatiecoëfficiënten hangen hierbij ook af van de aanwezige cel- en weefselconcentraties:

$$D_i = D_{i_0}(1 - m_c - m_b) \quad i = m, f,$$

$$P_i = P_{i_0}(1 - m_c - m_b) \quad i = m, f, c, b.$$

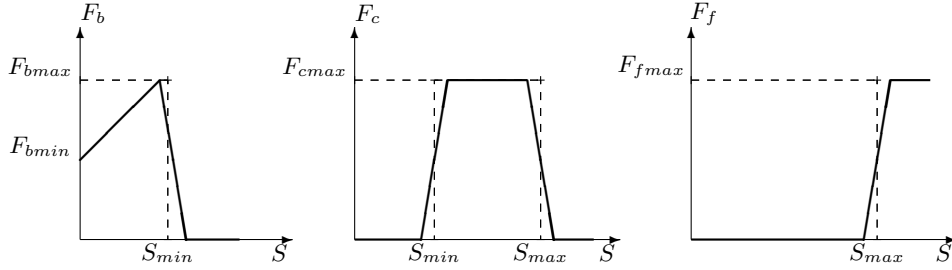
D_{i_0} en P_{i_0} zijn de initiële coëfficiënten. De initiële proliferatiecoëfficiënt hangt net als de andere coëfficiënten af van een mechanische stimulus S .

De afhankelijkheid van deze mechanische stimulus houdt in dat bij verschillende waarde van de mechanische stimulus andere cel- en weefseltypen worden geproduceerd. Een hoge waarde van S betekent bijvoorbeeld dat stamcellen vooral differentiëren in fibroblasten en dus dat er veel bindweefsel wordt gemaakt.

Alle coëfficiënten hebben een minimale (al dan niet 0) en een maximale waarde, waartussen ze variëren. Deze verandering wordt lineair geacht in de stimulus S . De minimale en maximale waarde³ en de manier coëfficiënten afhangen van S zijn gebaseerd op verschillende studies en de mechanoregulatie theorie van Prendergast *et al.* (1997).

De afhankelijkheid van S van de proliferatiecoëfficiënten is weer gegeven in figuur 3.1. We zien dat de waarden S_{min} en S_{max} belangrijk zijn bij deze afhankelijkheid. Of de aangenomen functies ook daadwerkelijk de realiteit goed weergeven kan worden betwijfeld, dit gezien het feit dat sommige overgangen nogal abrupt zijn. Men zou een geleidelijk afnemen of toename verwachten. Hetzelfde is te zien in figuur 3.2, waar de differentiecoëfficiënten als functie van S staan. Bij het

³Door ons verkregen uit [1]



Figuur 3.2: Differentiatiecoëfficiënten als functie van de mechanische stimulus S .

daadwerkelijke oplossen van het model is hier naar gekeken en is er, naast deze functies, ook gewerkt met gladdere overgangen bij de waarden S_{min} en S_{max} .

De productiecoëfficiënten hangen op eenzelfde manier van S af als de differentiatiecoëfficiënten. Van de resorptiecoëfficiënten D_b en D_c wordt aangenomen dat ze gelijk zijn aan respectievelijk Q_b en Q_c .

3.4 Mechanische Stimulus

De invloed van de mechanische stimulus S op celdifferentiatie staat centraal in het model. Bij verschillende waarden van S differentiëren de stamcellen in andere celtypen en dus ontstaan er andere weefseltypen. In figuur 3.2 is die afhankelijkheid reeds weergegeven, maar wat de mechanische stimulus inhoudt is nog niet duidelijk.

De mechanoregulatietheorie van Prendergast *et al.* (1997), waarnaar wordt gerefereerd in paragraaf 3.3.3, houdt in dat twee mechanische factoren invloed hebben op celdifferentiatie, interstitial fluid velocity⁴ ν en maximal shear strain⁵ γ . De mechanische stimulus S wordt vervolgens berekend met $S = \frac{\gamma}{a} + \frac{\nu}{b}$, waarbij $a = 0.0375$ en $b = 3\mu m s^{-1}$ constanten zijn, verkregen uit [1].

Als $\frac{\gamma}{a} + \frac{\nu}{b} \leq 1$ is er een voorkeur voor differentiatie naar osteoblasten (die botweefsel produceren), bij $1 < \frac{\gamma}{a} + \frac{\nu}{b} \leq 3$ een voorkeur voor differentiatie naar chondrocyten (die kraakbeen produceren) en bij $\frac{\gamma}{a} + \frac{\nu}{b} > 3$ een voorkeur voor differentiatie naar fibroblasten (die bindweefsel produceren). Hiermee zijn de waarden $S_{min} = 1$ en $S_{max} = 3$ uit paragraaf 3.3.3 vastgesteld. Alhoewel deze waarden waarschijnlijk variëren van persoon tot persoon, verwachten we dat dit weinig invloed zal hebben op het celdifferentiatie patroon.

Om de mechanische stimulus S te kunnen berekenen moeten dus de interstitial fluid velocity ν en maximal shear strain γ bekend zijn. Deze kunnen worden berekend worden uit materiële eigenschappen van ons oplossingsgebied, waar de cel- en weefselconcentraties invloed op hebben. Eigenlijk zijn er dus twee modellen. Het biologische model, waar de aan de hand van de mechanische stimulus S de cel- en weefselconcentraties worden berekend. En het mechanische model, waar S wordt berekend door middel van de materiële eigenschappen van het gebied. Aan het mechanische model liggen de poro-elastische vergelijkingen ten grondslag.

Echter om dit in te passen in dit Bsc-project zou teveel tijd in beslag nemen en daarom is er gekozen om dit niet te doen. In plaats daarvan wordt aan S een waarde toegekend. In eerste instantie een vaste waarde om te kijken hoe het model zich gedraagt, maar later zullen we S ook variëren in zowel de tijd als de plaats.

⁴Snelheid van de extracellulaire vloeistof

⁵Maximale rek waaraan het materiaal onderhevig is

Hoofdstuk 4

Oplossen van het Model

4.1 Eindige Volume Methode

Het oplossen van het model gebeurt met behulp van de Eindige Volume Methode (EVM). Het doel van de EVM is om de afgeleiden naar de plaats te discretiseren om vervolgens de vergelijkingen naar de tijd te kunnen integreren. Hierbij wordt het gebied waarop de differentiaalvergelijkingen gelden¹ opgedeeld in kleine controlevolumes Ω_{ij} . In slechts twee van onze vergelijkingen, namelijk 3.1 en 3.2, komen afgeleides naar de plaats voor. Alleen hier wordt dan ook de EVM gebruikt. De rest van de vergelijkingen wordt opgelost zonder gebruik van de EVM.

4.1.1 1-Dimensionaal

Het gebied waarover de vergelijkingen moeten worden opgelost is: $0 \leq x \leq 1$. We verdelen het interval in subintervallen (x_{i-1}, x_i) , $i = 1, \dots, N$, van lengte δx . Vervolgens kijken we naar het controlevolume $(x_{i-\frac{1}{2}}, x_{i+\frac{1}{2}})$ ², waarover we vergelijking 3.1³ integreren:

$$\int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dx = \int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} \frac{\partial}{\partial x} (D_m \frac{\partial c_m}{\partial x}) + h dx \quad (4.1)$$

met $h = P_m(1 - c_{tot})c_m - F_f(1 - c_f)c_m - F_c(1 - c_c)c_m - F_b(1 - c_b)c_m$.

We zijn nog niet geïnteresseerd in het gedeelte dat h representeert, vandaar dat de vergelijking vereenvoudigd is met deze h . Links halen we de differentiatie buiten de integraal, dit is geoorloofd omdat het controlevolume niet verandert:

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} c_m dx = \int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} \frac{\partial}{\partial x} (D_m \frac{\partial c_m}{\partial x}) dx + \int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} h dx \quad (4.2)$$

¹1-Dimensionaal: $[0,1]$, 2-Dimensionaal: $[0,1] \times [0,1]$

² $x_{i-\frac{1}{2}} = x_i - \frac{\delta x}{2}$; $x_{i+\frac{1}{2}} = x_i + \frac{\delta x}{2}$

³Voor vergelijking 3.2 gaat het op eenzelfde manier

$\int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} c_m dx$ en $\int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} h dx$ benaderen we met behulp van de midpuntregel, $\int_{x_{i-\frac{1}{2}}}^{x_{i+\frac{1}{2}}} \frac{\partial}{\partial x} (D_m \frac{\partial c_m}{\partial x}) dx$ kunnen we verder uitrekenen. Zeg nu dat $c_{m_i} = c_m(x_i)$ en $h_i = h(x_i)$, dan:

$$\delta x \frac{dc_{m_i}}{dt} = D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{i+\frac{1}{2}}} - D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{i-\frac{1}{2}}} + \delta x h_i \quad (4.3)$$

$D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{i+\frac{1}{2}}}$ en $D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{i-\frac{1}{2}}}$ benaderen we met behulp van centrale differentie, na herschikking wordt dit:

$$\delta x \frac{dc_{m_i}}{dt} = -\frac{(D_{m_{i+\frac{1}{2}}} + D_{m_{i-\frac{1}{2}}})}{\delta x} c_{m_i} + \frac{D_{m_{i+\frac{1}{2}}}}{\delta x} c_{m_{i+1}} + \frac{D_{m_{i-\frac{1}{2}}}}{\delta x} c_{m_{i-1}} + \delta x h_i \quad (4.4)$$

Deze vergelijking geldt voor elke i in ons interval $[0,1]$, behalve op de randen, $x_0 = 0$ en $x_N = 1$. Daar gelden de randvoorwaarden besproken in hoofdstuk 3 en veranderen de vergelijking.

De Randen

Op de randen gelden de randvoorwaarden, welke in dit geval inhouden dat:

$$D_m \frac{\partial c_m}{\partial x}(0) = K(1 - c_m(0))$$

$$\frac{\partial c_m}{\partial x}(1) = 0$$

Bij de linkerrand, $x = 0$, verandert ons controlevolume in $(x_0, x_{\frac{1}{2}})$. Vergelijking (4.3) verandert mee naar:

$$\frac{\delta x}{2} \frac{dc_{m_0}}{dt} = D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{\frac{1}{2}}} - D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_0} + \frac{\delta x}{2} h_0 \quad (4.5)$$

Vullen we hierin de randvoorwaarde in voor $x = 0$ en benaderen we $D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{\frac{1}{2}}}$ met centrale differentie, dan verkrijgen we, na herschikking:

$$\frac{\delta x}{2} \frac{dc_{m_0}}{dt} = (K - \frac{D_{m_{\frac{1}{2}}}}{\delta x}) c_{m_0} + \frac{D_{m_{\frac{1}{2}}}}{\delta x} c_{m_1} + \frac{\delta x}{2} h_0 - K \quad (4.6)$$

Bij de rechterrind, $x = 1$, verandert ons controlevolume in $(x_{N-\frac{1}{2}}, x_N)$. Vergelijking (4.3) verandert mee naar:

$$\frac{\delta x}{2} \frac{dc_{m_N}}{dt} = D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_N} - D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{N-\frac{1}{2}}} + \frac{\delta x}{2} h_N \quad (4.7)$$

Vullen we hierin de randvoorwaarde in voor $x = 1$ en benaderen we $D_m \frac{\partial c_m}{\partial x} \Big|_{x_{N-\frac{1}{2}}}$ met centrale differentie, dan verkrijgen we, na herschikking:

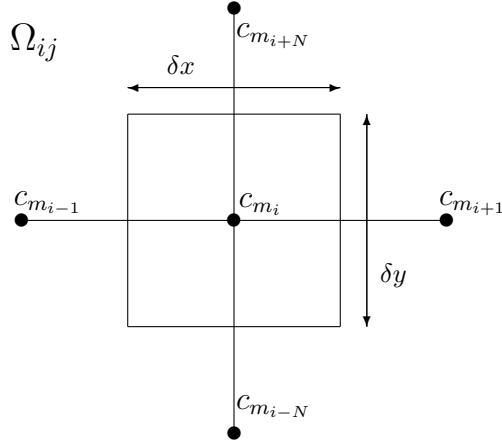
$$\frac{\delta x}{2} \frac{dc_{m_N}}{dt} = -\frac{D_{m_{N-\frac{1}{2}}}}{\delta x} c_{m_N} + \frac{D_{m_{N-\frac{1}{2}}}}{\delta x} c_{m_{N-1}} + \frac{\delta x}{2} h_N \quad (4.8)$$

Stelsel vergelijkingen

We hebben nu vergelijkingen voor alle inwendige punten en voor de twee randen. Dit stelsel differentiaal vergelijking is te schrijven in de vorm:

$$M \frac{d\mathbf{c}_m}{dt} = S\mathbf{c}_m + M\mathbf{h} + \mathbf{K}$$

Hierbij zijn M de massa matrix en S de stijfheids matrix voor ons model, beide zijn symmetrische matrices. \mathbf{h} is de vector met h_i en \mathbf{c}_m is de vector met alle onbekenden c_i . De robin randvoorwaarde is verwerkt in de vector \mathbf{K} , welke slechts één entry heeft dat van nul verschilt.



Figuur 4.1: Controlevolume Ω_{ij} bij inwendige punten.

4.1.2 2-Dimensionaal

Het gebied waar we de vergelijking over gaan oplossen is nu: $0 \leq x \leq 1$; $0 \leq y \leq 1$. Over dit gebied leggen we een grid, waarbij we de onbekende c_m willen bepalen op de knooppunten. We verdelen ons gebied op in controlevolumes Ω_{ij} , met grenzen midden tussen twee knooppunten.

We integreren vergelijking (3.1) over het controlevolume Ω_{ij} , waarna de volgende vergelijking ontstaat:

$$\iint_{\Omega_{ij}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dV = \iint_{\Omega_{ij}} \text{div}(D_m \text{grad}(c_m)) + h dV.$$

Waarbij $h = P_m(1 - c_{tot})c_m - F_f(1 - c_f)c_m - F_c(1 - c_c)c_m - F_b(1 - c_b)c_m$. Met behulp van de divergentie stelling van Gauss schrijven we dit om tot:

$$\iint_{\Omega_{ij}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dV = \oint_{\partial\Omega_{ij}} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \iint_{\Omega_{ij}} h dV.$$

Ofwel:

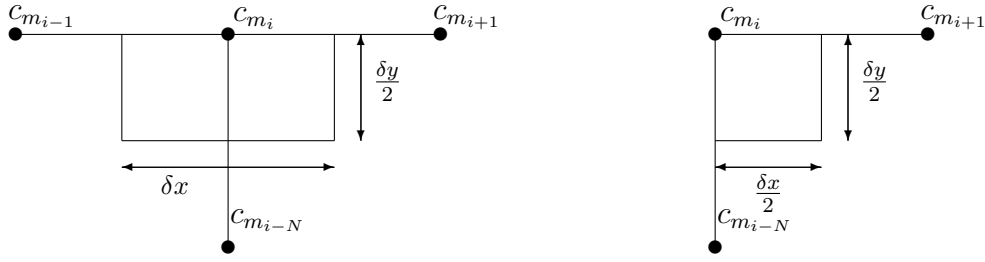
$$\begin{aligned} \iint_{\Omega_{ij}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dV = \int_{\partial\Omega_{ij}^N} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^E} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^S} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \\ + \int_{\partial\Omega_{ij}^W} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \iint_{\Omega_{ij}} h dV \end{aligned} \quad (4.9)$$

Waarbij Ω_{ij}^N , Ω_{ij}^E , Ω_{ij}^S en Ω_{ij}^W staan voor respectievelijk de boven-, rechter-, onder- en linkerrand. Vervolgens gebruiken we centrale differenties voor $\frac{\partial c_m}{\partial n}$ en benaderen we de integralen met behulp van de midpuntregel om, na herschikking, te komen tot:

$$\begin{aligned} \delta x \delta y \frac{dc_{m_i}}{dt} = 2D_{m_i} \left(\frac{\delta x}{\delta y} + \frac{\delta y}{\delta x} \right) c_{m_i} - D_{m_{i-1}} \frac{\delta y}{\delta x} c_{m_{i-1}} - D_{m_{i+1}} \frac{\delta y}{\delta x} c_{m_{i+1}} - \\ - D_{m_{i-N}} \frac{\delta x}{\delta y} c_{m_{i-N}} - D_{m_{i+N}} \frac{\delta x}{\delta y} c_{m_{i+N}} + \delta x \delta y h_i \end{aligned} \quad (4.10)$$

Deze vergelijkingen gelden alleen voor de inwendige punten. Omdat op de randen⁴ voorwaarden zijn opgelegd, zullen de vergelijkingen daar anders zijn.

⁴in dit geval $(0, y), (1, y), (x, 0)$ en $(x, 1)$



Figuur 4.2: Links: controlevolume Ω_{ij} bij de bovenkant van het gebied. Rechts: controlevolume Ω_{ij} bij het hoekpunt linksboven.

De Randen

Bij de randen veranderen de controlevolumes Ω_{ij} zie figuur 4.2. Zoals eerder vermeld gelden op de boven-, linker- en rechterrاند homogene Neumann voorwaarden en op de onderrand een Robin voorwaarde:

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_m}{\partial n}(0, y, t) &= 0, \\ \frac{\partial c_m}{\partial n}(x, 1, t) &= 0, \\ \frac{\partial c_m}{\partial n}(1, y, t) &= 0, \\ D_m \frac{\partial c_m}{\partial n}(x, 0, t) &= K(1 - c_m(x, 0, t)). \end{aligned}$$

Omdat op de boven-, linker- en rechterrاند dezelfde voorwaarde geldt, zal slechts de bovenrand uitgewerkt worden. Kijken we naar vergelijking (4.9) en vullen we daar onze randvoorwaarde ($\frac{\partial c_m}{\partial n}(x, 1, t) = 0$)⁵ in dan verkrijgen we:

$$\iint_{\Omega_{ij}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dV = \int_{\partial\Omega_{ij}^E} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^S} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^W} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \iint_{\Omega_{ij}} h dV.$$

Wat na benaderingen met behulp van centrale differenties en de midpuntregel wordt omgeschreven tot:

$$\begin{aligned} \delta x \frac{\delta y}{2} \frac{dc_{m_i}}{dt} &= D_{m_i} \left(\frac{\delta x}{\delta y} + \frac{\delta y}{\delta x} \right) c_{m_i} - D_{m_{i-1}} \frac{\delta y}{2\delta x} c_{m_{i-1}} - D_{m_{i+1}} \frac{\delta y}{2\delta x} c_{m_{i+1}} - \\ &\quad - D_{m_{i-N}} \frac{\delta x}{\delta y} c_{m_{i-N}} + \delta x \frac{\delta y}{2} h_i \end{aligned} \quad (4.11)$$

Op de onderrand geldt een Robinrandvoorwaarde, daardoor zal de vergelijking iets anders zijn. We verwerken de randvoorwaarde in vergelijking (4.9):

$$\begin{aligned} \iint_{\Omega_{ij}} \frac{\partial c_m}{\partial t} dV &= \int_{\partial\Omega_{ij}^N} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^E} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \int_{\partial\Omega_{ij}^S} K(1 - c_m) d\Gamma + \\ &\quad + \int_{\partial\Omega_{ij}^W} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma + \iint_{\Omega_{ij}} h dV. \end{aligned}$$

⁵en dus: $\int_{\partial\Omega_{ij}^N} D_m \frac{\partial c_m}{\partial n} d\Gamma = 0$

Benaderingen door middel van centrale differenties en de midpuntregel geeft ons vervolgens:

$$\begin{aligned} \delta x \frac{\delta y}{2} \frac{dc_{m_i}}{dt} = & (D_{m_i}(\frac{\delta x}{\delta y} + \frac{\delta y}{\delta x}) - \delta x K)c_{m_i} - D_{m_{i-1}} \frac{\delta y}{2\delta x} c_{m_{i-1}} - D_{m_{i+1}} \frac{\delta y}{2\delta x} c_{m_{i+1}} - \\ & - D_{m_{i+N}} \frac{\delta x}{\delta y} c_{m_{i+N}} + \delta x \frac{\delta y}{2} h_i + \delta x K \end{aligned} \quad (4.12)$$

Op de hoekpunten gaat het op eenzelfde manier, alleen treden er dan twee randvoorwaarden in werking. Ook is de oppervlakte van het controlevolume dan weer gehalveerd.

Stelsel vergelijkingen

De vergelijkingen voor de inwendige punten en die voor op de randen en hoekpunten vormen samen een stelsel differentiaalvergelijkingen van de vorm:

$$M \frac{d\mathbf{c}_m}{dt} = S\mathbf{c}_m + M\mathbf{h} + \mathbf{K}$$

Hierbij zijn M de massa matrix en S de stijfheids matrix voor ons model, beide zijn symmetrische matrices. Deze matrices zijn uiteraard niet dezelfde als bij het 1-dimensionale probleem. \mathbf{h} is de vector met h_i en \mathbf{c}_m is de vector waarin alle onbekenden c_i staan, \mathbf{c}_m moet bepaald worden uit de vergelijking. De robin randvoorwaarde is verwerkt in de vector \mathbf{K} , welke slechts één entry heeft die van nul verschilt.

4.1.3 Andere Vergelijkingen

We hebben de EVM nu voor de vergelijking van de stamcellen uitgevoerd. Bij de vergelijking voor de fibroblasten gaat het op een gelijke manier, echter gelden er dan homogene Neumann randvoorwaarden op elke rand. Het stelsel differentiaalvergelijkingen ziet er daarom iets anders uit:

$$M \frac{d\mathbf{c}_f}{dt} = S\mathbf{c}_f + M\mathbf{h}$$

De M, S en \mathbf{h} zijn hier verschillend van die bij de vergelijkingen van de stamcellen.

De andere vergelijkingen, (3.3) t/m (3.7), moeten alleen in de tijd worden geïntegreerd en kunnen zodoende zonder hulp van de EVM opgelost worden.

4.2 Tijdsintegratie

Nu dat we de Eindige Volume Methode hebben toegepast op de vergelijkingen (3.1) en (3.2), hebben we zeven stelsels van differentiaalvergelijkingen. Op het gridpunt x_i zijn de vergelijkingen (voor 1-D)⁶:

$$\begin{aligned} \delta x \frac{dc_{m_i}}{dt} = & (S_m \mathbf{c}_m)_i + \delta x \{ P_{m_i}(1 - c_{tot_i})c_{m_i} - F_{f_i}(1 - c_{f_i})c_{m_i} - F_{c_i}(1 - c_{c_i})c_{m_i} - \\ & - F_{b_i}(1 - c_{b_i})c_{m_i} \} + K_i \end{aligned} \quad (4.13)$$

$$\delta x \frac{dc_{f_i}}{dt} = (S_f \mathbf{c}_f)_i + \delta x \{ P_{f_i}(1 - c_{tot_i})c_{f_i} + F_{f_i}(1 - c_{f_i})c_{m_i} - F_{c_i}(1 - c_{c_i})c_{f_i} - F_{b_i}(1 - c_{b_i})c_{f_i} \} \quad (4.14)$$

$$\frac{dc_{c_i}}{dt} = P_{c_i}(1 - c_{tot_i})c_{c_i} + F_{c_i}(1 - c_{c_i})(c_{m_i} + c_{f_i}) - F_{b_i}(1 - c_{b_i})c_{c_i} \quad (4.15)$$

$$\frac{dc_{b_i}}{dt} = P_{b_i}(1 - c_{tot_i})c_{b_i} + F_{b_i}(1 - c_{b_i})(c_{m_i} + c_{f_i} + c_{c_i}) \quad (4.16)$$

$$\frac{dm_{f_i}}{dt} = Q_{f_i}(1 - m_{tot_i})c_{f_i} - (D_{b_i}c_{b_i} + D_{c_i}c_{c_i})m_{f_i}m_{tot_i} \quad (4.17)$$

⁶Voor 2-D zijn ze zowat gelijk, alleen de δx worden vervangen door $\delta x \delta y$

$$\frac{dM_{c_i}}{dt} = Q_{c_i}(1 - m_{b_i} - m_{c_i})c_{c_i} - D_{b_i}c_{b_i}m_{c_i}m_{tot_i} \quad (4.18)$$

$$\frac{dm_{b_i}}{dt} = Q_{b_i}(1 - m_{b_i})c_{b_i} \quad (4.19)$$

Deze vergelijkingen gelden op de gridpunten. $(S_m \mathbf{c}_m)_i$ staat voor de i -de entry van de vector $S_m \mathbf{c}_m$. Ook geldt (in vectorvorm) dat:

$$\begin{aligned} \mathbf{c}_{tot} &= \mathbf{c}_m + \mathbf{c}_f + \mathbf{c}_c + \mathbf{c}_b, \\ \mathbf{m}_{tot} &= \mathbf{m}_f + \mathbf{m}_c + \mathbf{m}_b. \end{aligned}$$

De coëfficiënten hangen op eenzelfde manier af van de cel- en weefselconcentraties als in paragraaf 3.3.3.

We lichten vergelijking 4.13 eruit om als voorbeeld te dienen hoe we de vergelijkingen in de tijd gaan integreren. Allereerst introduceren we een nieuwe notatie: \mathbf{c}_i^n , dit stelt de oplossing (van \mathbf{c}_i) voor op tijdstip $t = t_n = t_0 + n\delta t$. Vervolgens discretiseren we de afgeleide in de tijd:

$$\frac{d\mathbf{c}_m}{dt} = \frac{\mathbf{c}_m^{n+1} - \mathbf{c}_m^n}{\delta t}$$

Vullen we dit in 4.13 in en maken we gebruik van Euler Achterwaarts⁷ voor het transportgedeelte en Euler Voorwaarts voor de reactietermen dan verkrijgen we:

$$M \frac{\mathbf{c}_m^{n+1} - \mathbf{c}_m^n}{\delta t} = S_m \mathbf{c}_m^{n+1} + M \mathbf{H}^n \mathbf{c}_m^n + \mathbf{K} \quad (4.20)$$

waarbij \mathbf{H}^n de diagonaalmatrix is met diagonaal \mathbf{h}^n :

$$\mathbf{h}^n = \mathbf{P}_m^n (1 - \mathbf{c}_{tot}^n) - \mathbf{F}_f^n (1 - \mathbf{c}_f^n) - \mathbf{F}_c^n (1 - \mathbf{c}_c^n) - \mathbf{F}_b^n (1 - \mathbf{c}_b^n)$$

Uit 4.20 bepalen we \mathbf{c}_m^{n+1} :

$$\mathbf{c}_m^{n+1} = \left\{ \frac{1}{\delta t} M - S_f \right\}^{-1} \left\{ \frac{1}{\delta t} M \mathbf{c}_m^n + M \mathbf{H}^n \mathbf{c}_m^n + \mathbf{K} \right\}$$

We kunnen \mathbf{c}_m^{n+1} nu bepalen aan de hand van de concentraties op tijdstip t_n . Op eenzelfde manier kunnen we ook de andere concentraties beschrijven, waardoor we de numerieke oplossing van het model krijgen.

⁷Ook wel Improved Euler

Hoofdstuk 5

Resultaten

Gezien de tijd dat er voor dit Bsc-project beschikbaar was hebben we geen model opgesteld hoe de mechanische stimulus wordt berekend uit de cel- en wefseldichtheden. Daarom moesten we de waarde van deze mechanische stimulus S zelf vaststellen en deze al dan niet variëren in tijd en plaats. Het is de bedoeling S zo natuurlijk mogelijk te variëren. We verwachten in eerste instantie hoge waarden van S waarna, omdat de stevigheid van de callus toeneemt door het ontstaan van bindweefsel en later kraakbeen, de waarde langzamerhand zal afnemen. Zo zal uiteindelijk botweefsel worden gevormd.

De benodigde waarden van de coëfficiënten zijn weergegeven in appendix B. De tijd waarin de stamcellen de callus in diffunderen is genomen als een week, waarna de toevoer gedurende nog een week lineair afneemt tot nul.

5.1 Vaste waarde mechanische stimulus

Allereerst geven we de mechanische stimulus S gedurende de hele simulatie dezelfde waarde. We kiezen ervoor om deze waarde zo te nemen, dat er vooral bot wordt gevormd, $S = 1$. Wat we gaan bekijken is hoe lang het duurt voordat het bot geheeld is als vanaf het begin botweefsel wordt gevormd. De criteria wanneer bot geheeld genoemd wordt is dat minimaal 95% van het weefsel uit bot bestaat, ofwel in wiskundige termen gesproken: als $m_b \geq 0.95$. Wil het bot helemaal geheeld zijn, moet dit in de gehele callus, ons oplosgebied, gelden.

De waarde K uit de Robinrandvoorwaarde gaan we nog niet in plaats gaan variëren, daarom doen we dit gedeelte van de simulatie 1-dimensionaal. In paragraaf 5.4 zal dit wel het geval zijn.

In eerste instantie worden vooral op de plek waar de stamcellen de callus binnenkomen osteoblasten geproduceerd en juist daar ontstaat dus ook het eerste botweefsel. Echter naar mate de tijd vordert verspreiden de stamcellen zich en al na een paar dagen slaat het patroon om. Waar in eerste instantie veel osteoblasten waren is al bot gevormd, daarom is de concentratie osteoblasten hier afgenomen tot een lager niveau dan "verderop" in de callus. Nadat ook hier botweefsel zich volop begint te vormen verdwijnen de verschillen, overal in de callus zijn de concentraties osteoblasten en botweefsel zo goed als gelijk.

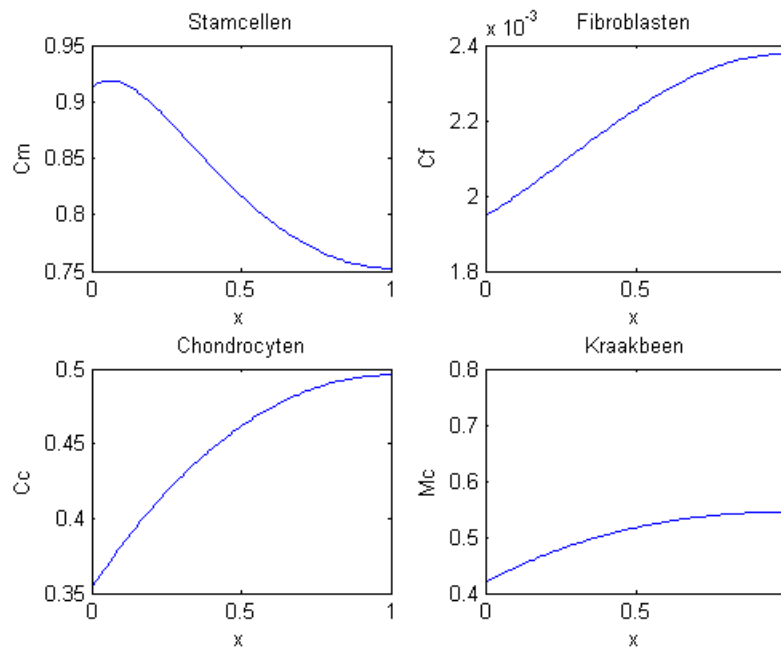
De diffusiecoëfficiënten zijn groot in vergelijking met de andere coëfficiënten. De stamcellen verspreiden zich (ten opzichte van de andere processen in de callus) erg snel, daarom is al snel de situatie bereikt dat overal in het gebied de concentratie min of meer gelijk is.

Met iets meer dan 6,5 weken is overal in de callus genoeg botweefsel gevormd om het bot genezen te verklaren. Overal in de callus wordt de grens van $m_b \geq 0.95$ bijna tegelijk bereikt. Dit is het gevolg van de snelle verspreiding van de stamcellen door de callus.

5.2 Variëren mechanische stimulus in de tijd

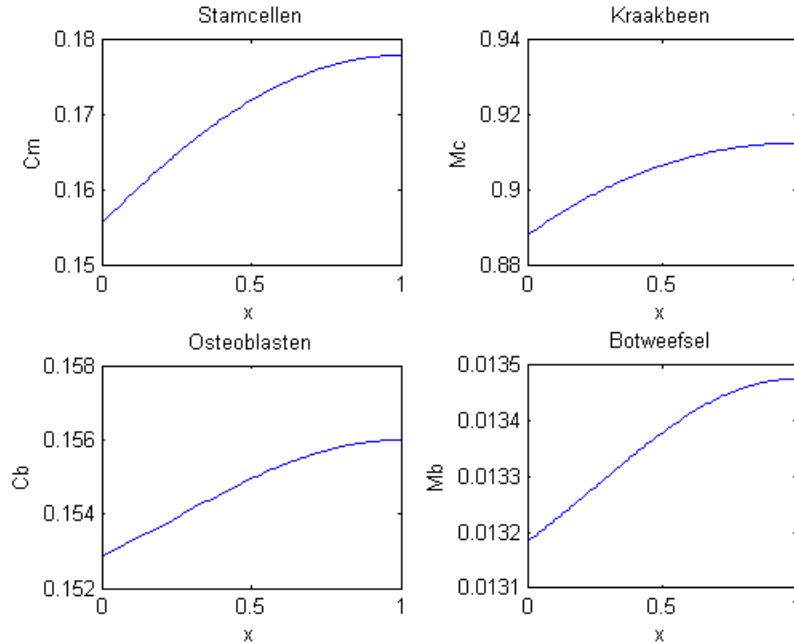
Eénzelfde waarde voor S geeft naar verwachting de werkelijkheid niet voldoende realistisch weer, daarom zal de mechanische stimulus gevarieerd worden in de tijd. Omdat de mechanische stimulus afhangt van de sterkte van het weefsel, gaan we hier naar kijken. In eerste instantie bevinden zich geen weefsels in de callus en zal deze dus weinig stevig zijn. Hierdoor verwachten we aan het begin een hoge waarde van S , doordat zwak weefsel geeft grotere vervormingen. Naar mate er weefsels gevormd worden zal de callus sterker worden en de waarde van de mechanische stimulus zal naar verwachting hiermee afnemen.

In deze simulatie zijn we uitgegaan van een exponentieel verband tussen de tijd en de mechanische stimulus S . Aan het begin van de simulatie geven we S de waarde 4, dit zit boven S_{max} en lijkt ons zodoende een realistische waarde aangezien er eerst bindweefsel gevormd zal worden. Daarna zal S in 6 weken exponentieel tot de waarde 0,8 afnemen, waarbij vooral bot wordt gevormd. Zes weken omdat dit volgens [2] de minimale tijd is hoelang het duurt voordat een botbreuk geheeld kan worden beschouwd.



Figuur 5.1: Concentraties van stamcellen, fibroblasten, chondrocyten en kraakbeen na 2 weken simulatie uitgezet tegen de plaats in de callus.

Met deze waarden voor de mechanische stimulus is er na 2 weken bijna alleen nog maar kraakbeen, het bindweefsel en de fibroblasten die in eerste instantie gevormd zijn dan al bijna geheel vervangen, zie figuur 5.1. Stamcellen zijn nog wel volop aanwezig. Concentraties osteoblasten en botweefsel zijn verwaarloosbaar en zijn zodoende in dit figuur niet weergegeven. Na 4 weken is er een stijging te zien (figuur 5.2) van de concentratie osteoblasten, waarna ook de vorming van bot begint. Het kraakbeen wordt vervolgens langzaam aan afgebroken en vervangen door botweefsel. De concentratie stamcellen is al sterk afgenomen. Na 7 weken is in de callus al meer dan 65% van het weefsel bot. De mechanische stimulus is ondertussen al afgenomen tot $S = 0,8$, de waarde die hij de rest van de simulatie zal houden. De groei gaat vervolgens wel beduidend langzamer dan bij de eerste vorming van botweefsel. Bij 9 weken zit de concentratie botweefsel al tegen de 90% aan, echter duurt het nog eens ruim 2 weken voordat we het bot daadwerkelijk geheeld kunnen noemen, figuur 5.4. In hetzelfde figuur is ook het verloop van de concentratie van osteoblasten en



Figuur 5.2: Concentraties van stamcellen, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 4 weken simulatie uitgezet tegen de plaats in de callus.

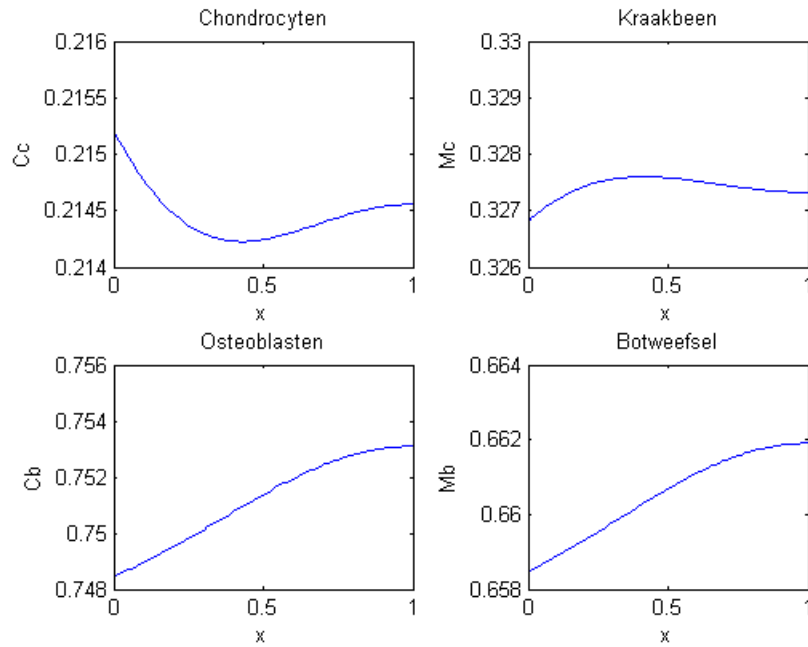
botweefsel op de linkerrand in de tijd te zien. Dit verloop lijkt enigzins op een logistische functie, wat ook te verwachten is gezien de aard van onze partiële differentiaalvergelijking.

Deze simulatie geeft de werkelijkheid waarschijnlijk beter weer, alleen al omdat er niet één vaste waarde aan de mechanische stimulus is toegekend. Echter als we de resultaten vergelijken met waarden uit [2], waarin staat dat het helen van een botbreuk 6 tot 12 weken duurt, lijkt het alsof we nu in plaats van de minimale duur, wat het resultaat was in hoofdstuk 5.1, de maximale duur hebben voor het helen van de botbreuk. Toch verwachten we dat dit resultaat realistischer is. Om tot een beter resultaat te komen zouden de begin- en eindwaarden van S anders kunnen worden gekozen, of dat helemaal moet worden afgezien van exponentiële afname van de mechanische stimulus. Dit wordt besproken in hoofdstuk 5.5. Een andere mogelijkheid is natuurlijk het oplossen van de mechanische vergelijkingen.

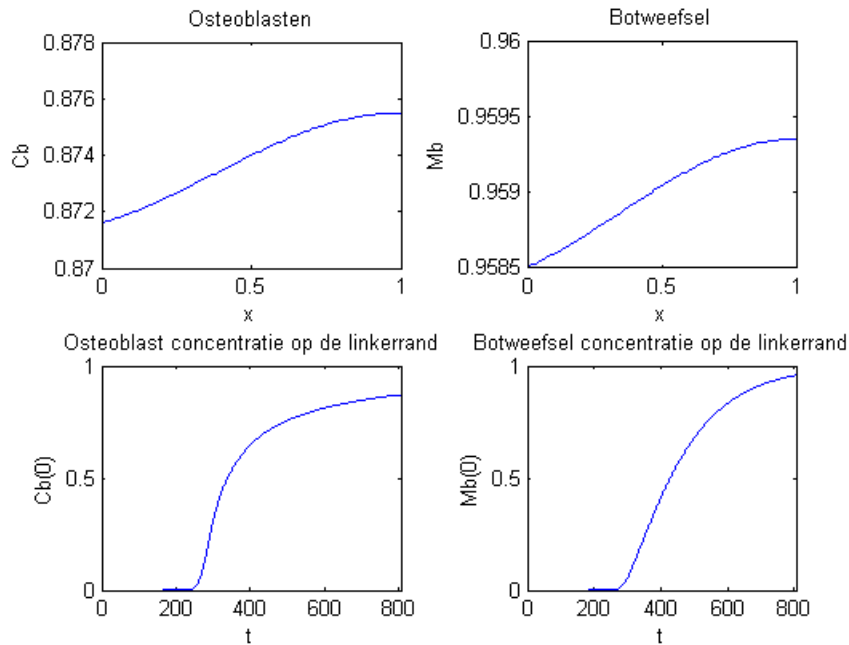
5.3 Variëren mechanische stimulus in de tijd en de plaats

Het variëren van de mechanische stimulus in de tijd is al een betere weerspiegeling van de werkelijkheid, echter we willen ook kijken of we een afhankelijkheid in de plaats kunnen inbrengen. Wederom gaan we uit van een exponentieel verband. Omdat de groei in eerste instantie op de linkerrand begint verwachten we daar een lager mechanische stimulus dan op de rechterraand. We nemen aan dat op de linkerrand, $x = 0$, de mechanische stimulus uit paragraaf 5.2 wordt verzwakt met een factor 0,8. Op de rechterraand, $x = 1$, blijft S gelijk aan de waarde uit paragraaf 5.2 en er tussen in, $0 < x < 1$, geldt een exponentiële toename.

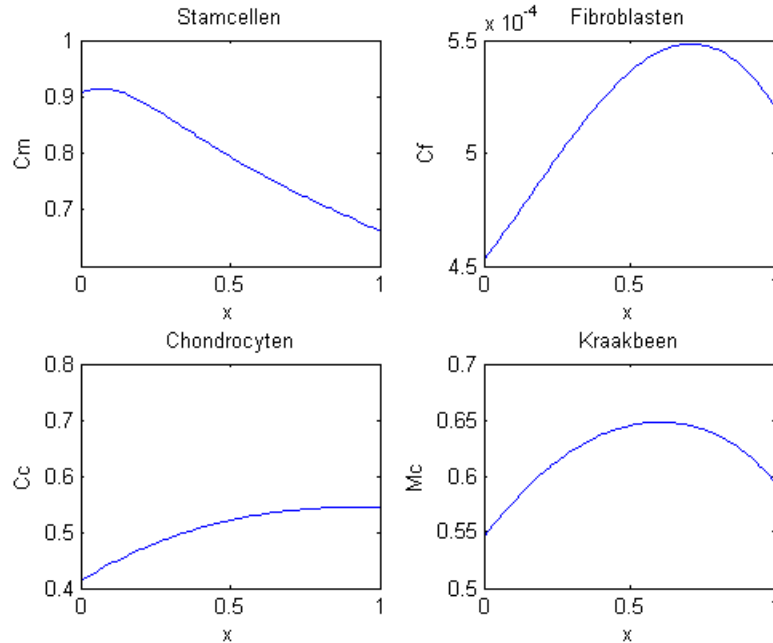
Naar verwachting zal de duur van heling van het totale bot niet veel verschillen van die in paragraaf 5.2. In de simulaties in de paragrafen 5.1 en 5.2 bereikt de concentratie botweefsel m_b overal in de callus tegelijk de kritieke waarde van 0,95. Dit komt omdat de diffusiecoëfficiënten groot zijn ten opzichte van de andere coëfficiënten, waardoor het diffusieproces sneller plaatsvindt dan de andere processen in de callus. Met deze afhankelijkheid bootsen we naar verwachting beter



Figuur 5.3: Concentraties van chondrocyten, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 7 weken simulatie uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.4: Boven: Concentraties van osteoblasten en botweefsel na 11.5 weken simulatie uitgezet tegen de plaats in de callus. Onder: Concentraties van osteoblasten en botweefsel op de linkerrand uitgezet tegen de tijd (in tijdstappen, $\delta t = \frac{1}{10}$).



Figuur 5.5: Concentratie van stamcellen, fibroblasten, chondrocyten en kraakbeen na 2 weken simulatie, uitgezet tegen de plaats in de callus.

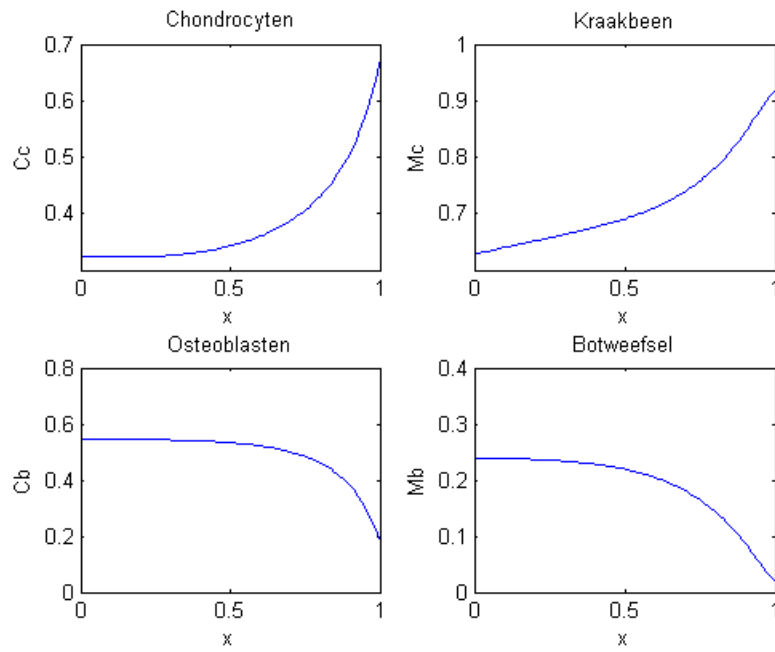
de werkelijkheid na, omdat de mechanische stimulus lager is op plaatsen waar meer weefsel is gevormd en de callus dus sterker is.

De simulatie laat inderdaad hetzelfde beeld zien als in paragraaf 5.2, zo is na 2 weken vooral kraakbeen gevormd. Het verschil is de verdeling van de concentraties, zoals te zien is in figuur 5.5. Na 4 weken is er al redelijk wat botweefsel gevormd, waarbij de vorming vooral aan de linker rand begint. Het botweefsel vormt een front dat zich naar rechts verplaatst. De concentratie kraakbeen is links in het gebied dan ook flink afgenomen, terwijl deze rechts juist nog hoog is, zie ook figuur 5.6. Na 7 weken is het botweefselfront al een stuk naar rechts verschoven, figuur 5.7, en zijn de concentraties overal in de callus toegenomen tot rond de 0,7. De concentratie kraakbeen is nog verder afgenomen en dit weefsel bevindt zich vooral nog op de plaatsen waar nog weinig botweefsel is gevormd. Vervolgens neemt in de hele callus de concentratie botweefsel geleidelijk toe naar gemiddeld 0,87 bij 9 weken, bij 10 weken heeft het botfront de rechter rand bereikt en is de verdeling als in figuur 5.8. Na ruim 11 weken, figuur 5.8, is in de gehele callus een botconcentratie te vinden die hoger is dan 0,95 en kan het bot dus geheel worden verklaard.

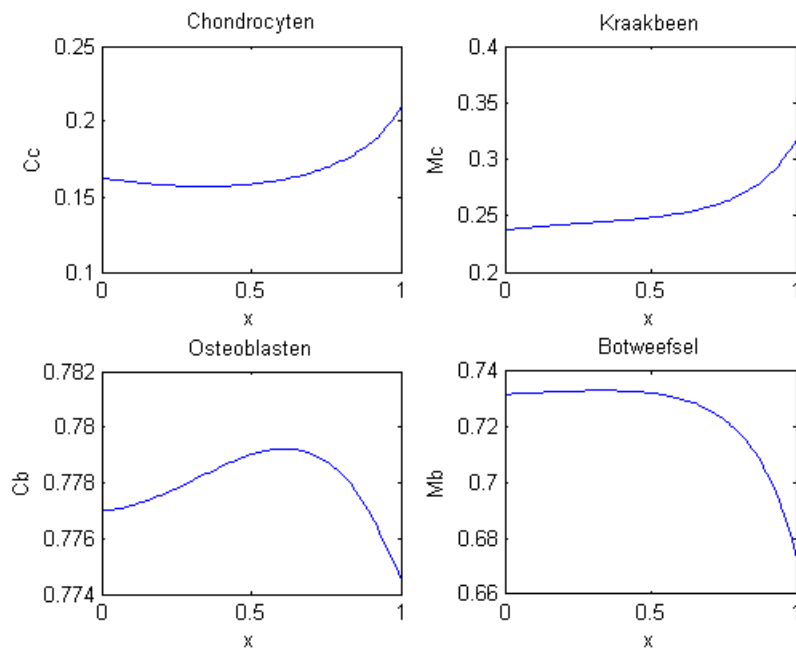
Als we naar de helingstijd van het bot kijken is dat nagenoeg gelijk aan die van de simulatie uit paragraaf 5.2. In figuur 5.9 zien we het verloop van de concentratie botweefsel op $x = 0$, ook nu lijkt dit op een logistische functie. Ook zien we in hetzelfde figuur hoeveel procent van het bot op een bepaald tijdstip geheel is. Dit bepaald door te kijken naar het percentage van het gebied waar geldt: $m_b \geq 0,95$. In het begin van de simulatie is dat natuurlijk nog 0%, pas vanaf het einde van week 10 zien we dat sommige gedeeltes van de callus al meer dan 95% uit bot bestaan.

5.4 2-Dimensionaal

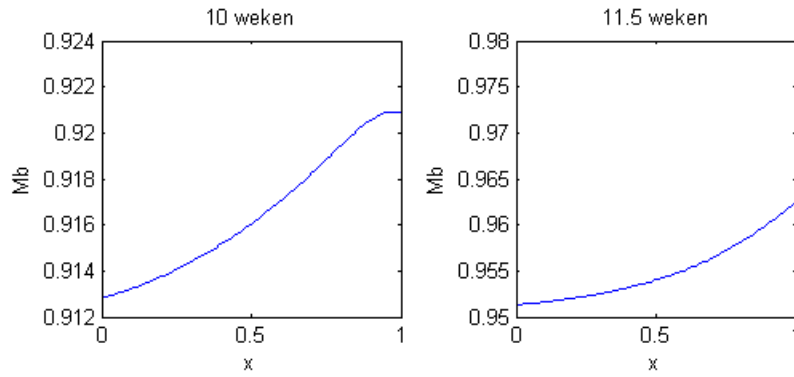
Omdat in de vorige simulaties we er niet van uit gingen dat de diffusie van stamcellen de callus in afhing van de plaats, zijn al deze simulaties gedaan in 1D. De resultaten in paragrafen 5.1, 5.2 en 5.3 zijn makkelijk uit te breiden naar 2D.



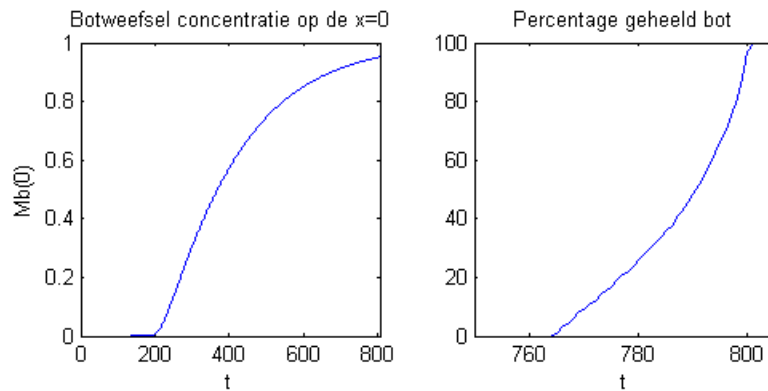
Figuur 5.6: Concentratie van chondrocyten, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 4 weken simulatie, uitgezet tegen de plaats in de callus.



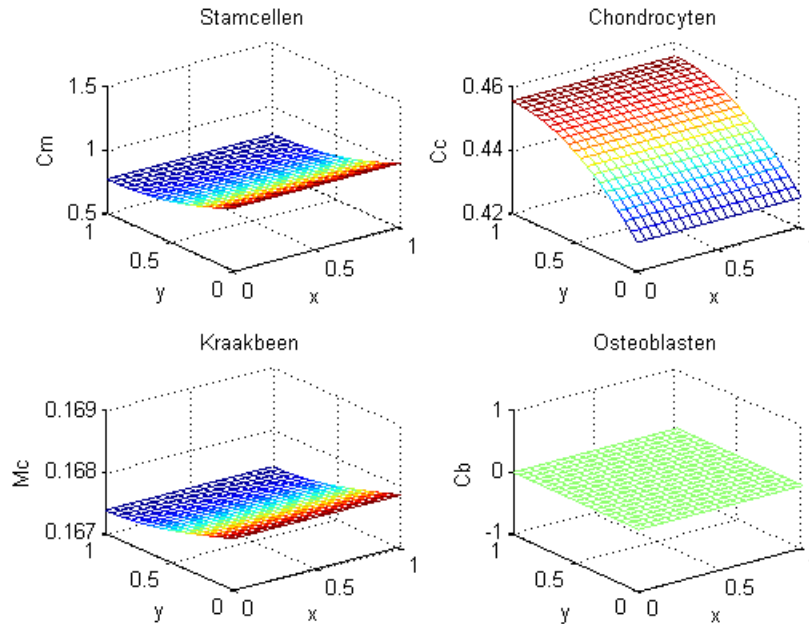
Figuur 5.7: Concentratie van chondrocyten, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 7 weken simulatie, uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.8: Links: concentratie botweefsel na 10 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus. Rechts: concentratie botweefsel na 11.5 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.9: Links: concentratie botweefsel op $x = 0$ uitgezet tegen de tijd (in tijdstappen, $\delta t = \frac{1}{10}$) Rechts: percentage geheeld bot uitgezet tegen de tijd (in tijdstappen, $\delta t = \frac{1}{10}$)



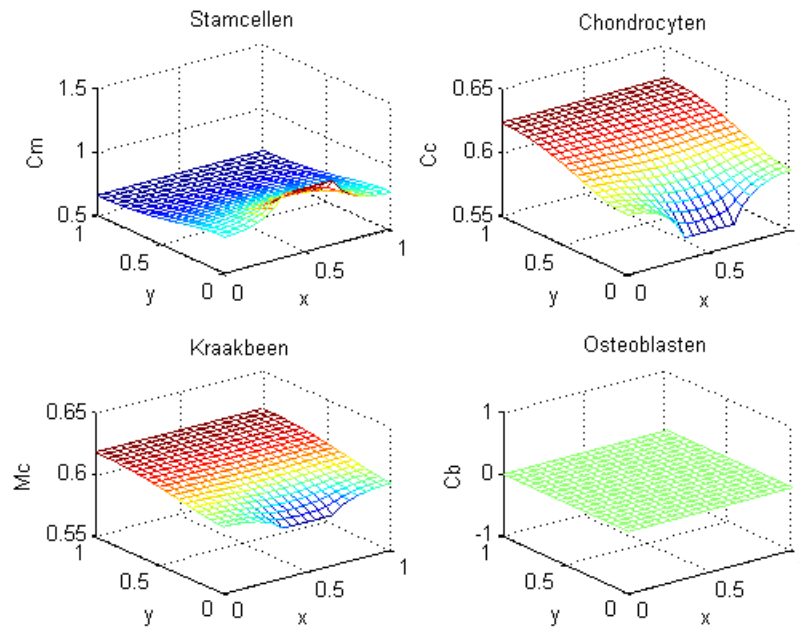
Figuur 5.10: Concentratie van stamcellen, chondrocyten, kraakbeen en osteoblasten na 1 week, uitgezet tegen de plaats in de callus.

Nu gaan we echter de Robin randvoorwaarde op de rand afhankelijk maken van de plaats. We stappen zodoende over naar 2D en gaan de K uit deze randvoorwaarde variëren in de y -richting, $K = K(x, t)$. We kiezen er voor om in het centrum van de rand een langere toevoer van stamcellen te simuleren. Dit resulteert er dus in dat gedurende de eerste 7 dagen over de gehele rand stamcellen de callus binnenkomen en de opvolgende 7 dagen alleen via het middenstuk van de rand. In totaal diffunderen er dus gedurende 2 weken stamcellen de callus in. Voor de mechanische stimulus nemen we dezelfde afhankelijkheid als in paragraaf 5.2.

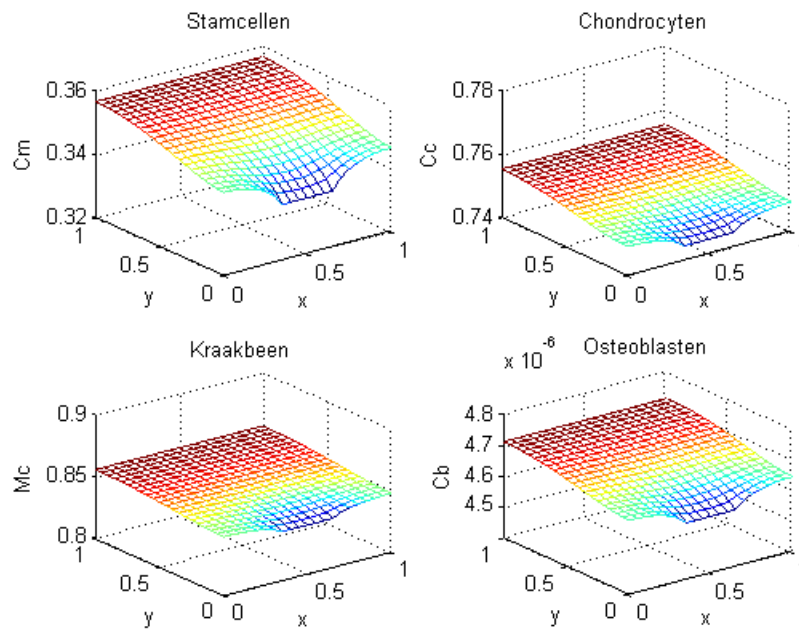
In figuur 5.10 zien we de verdeling van concentraties na 1 week simulatie. De concentratie stamcellen op de onderrand is nog steeds 1. Verder is er al een beetje kraakbeen gevormd. Na 2 weken, figuur 5.11, zien we het effect van het variëren van de Robin randvoorwaarde in de plaats. In het centrum van de rand is de concentratie stamcellen nog steeds 1, verder naar buiten neemt het steeds meer af. Ook zien we een effect op de concentratie chondrocyten en hiermee op het kraakbeen. Op de plek waar veel stamcellen zijn, is een dal te zien in de concentraties van chondrocyten en kraakbeen. Dit omdat er door de grote hoeveelheid stamcellen weinig ruimte is voor de chondrocyten en dus wordt er ook niet veel kraakbeen gevormd. Echter naar mate we verder van de rand, zien we dat het variëren steeds minder effect heeft. Door de diffusie is dieper in de callus het verschil veel kleiner tot nihil.

Na drie weken is er een duidelijk omslag te zien, figuur 5.12, in de concentratie stamcellen. Waar tot het begin van week 3 deze concentratie op 1 werd gehouden is nu juist een dal te vinden. In het overige deel van de callus is het aantal stamcellen ook duidelijk gedaald. Daarvoor in de plaats zijn chondrocyten gedifferentieerd en ook een minieme hoeveelheid osteoblasten. Door de grotere hoeveelheid chondrocyten is er ook overal in de callus meer kraakbeen gevormd. Als we naar de verdeling van cellen en weefsel 2 weken later kijken, figuur 5.13, zien we dat de hoeveelheid chondrocyten en kraakbeen beduidend is afgenomen en dat er zich in plaats hiervan osteoblasten hebben gevormd. Ook neemt het nieuw gevormde botweefsel al bijna een kwart van de callus in.

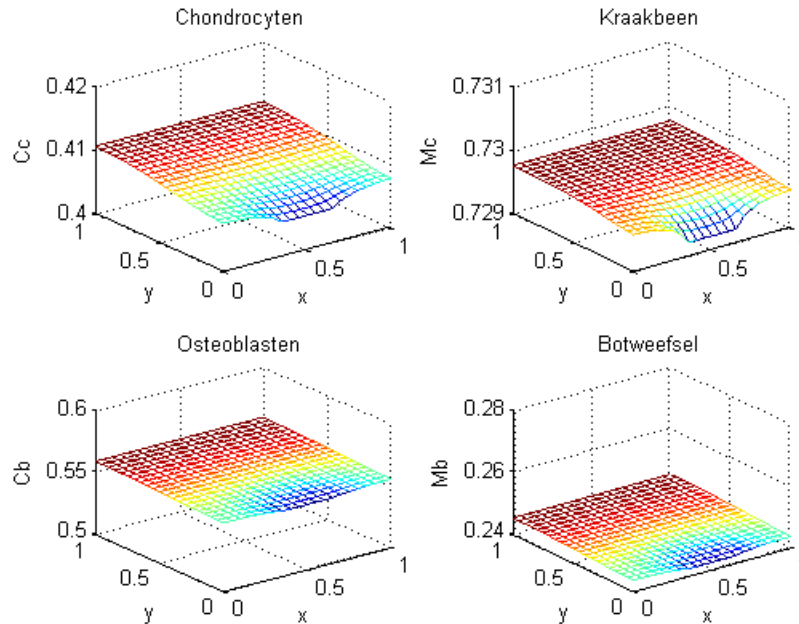
Vervolgens neemt de concentratie chondrocyten en kraakbeen nog verder af, figuur 5.14, terwijl het botweefsel steeds meer van de ruimte opvult. Na 9 weken, figuur 5.15, is de concentratie



Figuur 5.11: Concentratie van stamcellen, chondrocyten, kraakbeen en osteoblasten na 2 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.12: Concentratie van stamcellen, chondrocyten, kraakbeen en osteoblasten na 3 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.13: Concentratie van chondrocyten, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 5 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.

botweefsel toegenomen tot rond de 0,84 waarna het bij ruim 11 weken, 5.15, geheeld kan worden genoemd. Op de plaats waar we in eerste instantie, tot en met 2 weken, de concentratie stamcellen op 1 hielden is nog steeds een klein dal te zien. Dit verschil wordt echter naar mate de tijd vordert steeds kleiner, waardoor het geen problemen zal opleveren.

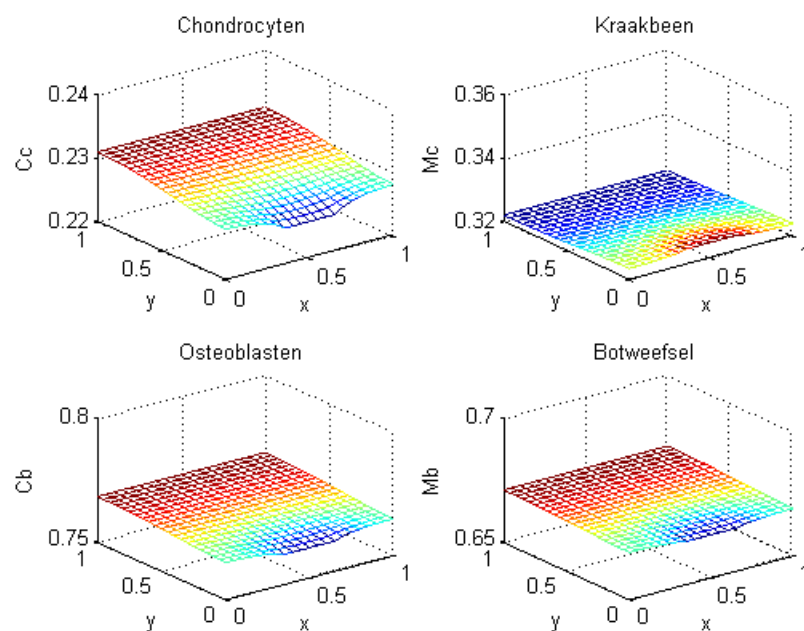
Als we naar het verloop van de heling kijken in vergelijking met de 1-dimensionale simulaties uit paragrafen 5.2 en 5.3 zien we qua tijdsduur weinig tot geen verschil. Het grote verschil is te zien op de plek waar de stamcellen gedurende 2 weken de callus binnen komen. Zodoende is in eerste instantie de concentratie stamcellen daar hoog, waarna het na 3 weken volledig is omgeslagen tot het punt waar het laagste punt in de concentratie zich juist op die plek bevindt. Deze lagere concentratie weerspiegelt zich vervolgens ook in de concentraties van de chondrocyten en osteoblasten. En hierdoor blijven ook de concentraties kraakbeen en botweefsel op deze plek achter bij de rest van de callus. Uiteindelijk wordt het verschil kleiner en naar verwachting zal het op den duur helemaal verdwijnen.

5.5 Andere mogelijkheden

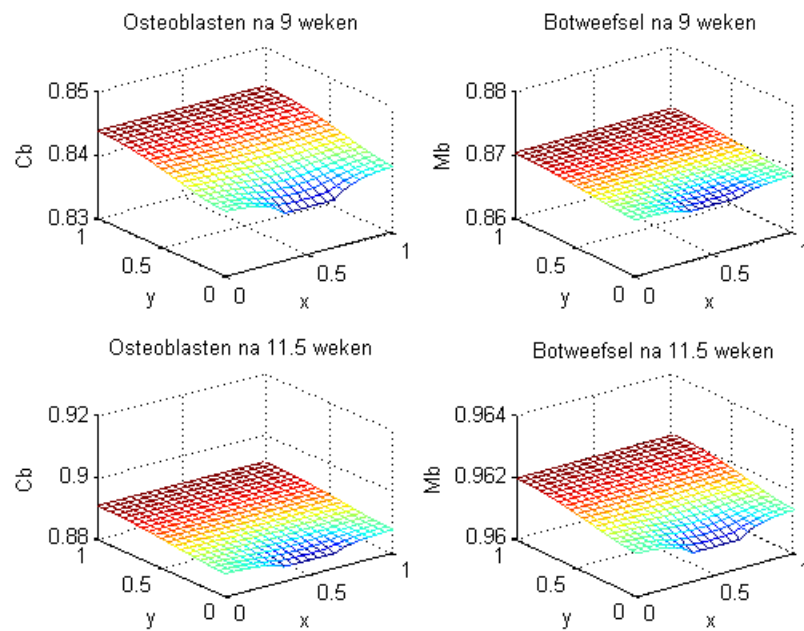
In paragraaf 5.2 tot en met 5.4 gaan we uit van een exponentiele afname in de tijd van de mechanische stimulus S . Dit is naar onze verwachting een goede benadering voor de afhankelijkheid van S van de tijd. Toch gaan we in dit hoofdstuk nog kijken wat het verschil is als we lineaire afname gebruiken in plaats van exponentiele. Zowel de afhankelijkheid in de plaats als in de tijd zal worden bekeken.

5.5.1 Lineaire afname in de tijd

Allereerst gaan we naar lineaire afname in de tijd kijken. De afhankelijkheid in de plaats nemen we in dit geval niet mee. De begin en eindwaarde van S houden we gelijk aan die in hoofdstuk 5.2 en ook de tijd waarin de eindwaarde wordt bereikt (6 weken) blijft hetzelfde. Omdat de mechanische



Figuur 5.14: Concentratie van chondrocyten, kraakbeen, osteoblasten en botweefsel na 7 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.



Figuur 5.15: Boven: concentratie osteoblasten en botweefsel na 9 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus. Onder: concentratie osteoblasten en botweefsel na 11.5 weken, uitgezet tegen de plaats in de callus.

stimulus nu in vergelijking tot exponentiele afname langer hogere waarden aanhoudt wordt er in de eerste weken meer bindweefsel gemaakt dan bij de andere simulaties, al blijft het in vergelijking met de andere weefsels weinig. Na 5 weken begint de vorming van osteoblasten en botweefsel, al is het op dat moment nog een nihil concentratie. Verder in de tijd, op 8 weken simulatie, neemt het botweefsel al bijna 50% van de callus in, het kraakbeen dat al veelvuldig gevormd was begint wordt nu afgebroken. Langzaam aan komt er meer en meer botweefsel, maar pas bij ruim 13 weken wordt de grens van 0,95 bereikt waarop we het bot geheeld kunnen verklaren.

Dit is net iets meer (1 week) dan in de andere simulaties waarin de mechanische stimulus werd gevarieerd. In dat opzicht is er dus niet zoveel verschil, wat er vooral anders is zijn de tijdstippen waarop het weefsel begint met groeien. Botweefsel begon in deze simulatie bijvoorbeeld pas bij ruim 5 weken echt met groeien terwijl dat eerst al bij 3 a 4 weken gebeurde. Dit is natuurlijk in de lijn der verwachting als we kijken naar het verschil tussen lineaire en exponentiele afname. Dit verklaart waarschijnlijk ook de extra week die nodig was voor de heling.

5.5.2 Lineaire toename in de plaats

Voor de afhankelijkheid in de plaats hebben we in paragraaf 5.3 gekozen voor exponentiele toename. We gaan bekijken of lineaire toename hier misschien een betere keuze zou zijn. Net zoals in paragraaf 5.5.1 houden we de begin en eindwaarde gelijk, wat inhoudt dat op de linkerrand S met een factor 0,8 wordt verzwakt en op de rechterand gelijk blijft. Er tussen in is de toename nu dus lineair gekozen. De afhankelijkheid in de tijd houden we in dit geval wel exponentieel.

Na 3 weken wordt het eerste botweefsel gevormd, dit begint aan de linkerzijde ($x = 0$) van de callus. Ook nu vormt het botweefsel een front dat opschuift naar de rechterkant, er is niet zo veel verschil met de simulatie in paragraaf 5.3. Dit komt waarschijnlijk mede doordat er weinig verschil is tussen de begin en eind waarde (respectievelijk 1 en 0,8), waardoor de lineaire toename meer lijkt op de exponentiele toename dan bij een groter verschil. Ook nu wordt na ruim 11 weken de grens van 0,95 bereikt en wederom niet overal tegelijk, net zoals in paragraaf 5.3 het geval was.

Hoofdstuk 6

Conclusie

Na de verschillende simulaties uit hoofdstuk 5 kunnen we enigzins de balans opmaken wat de beste weergave is van de realiteit. In [2] zijn tijden te vinden hoelang bot heling gemiddeld duurt, namelijk 6 tot 12 weken. Alle simulaties die gedaan zijn wijken hier niet vanaf. Toch wijkt de simulatie uit paragraaf 5.1 in die zin af dat alleen hier een tijd van iets meer dan 6 weken is gemeten, terwijl de rest allemaal boven de 11 weken helings duur uitkwam. Ook het feit dat hier een vaste waarde van de mechanische stimulus is genomen, terwijl deze juist mede afhangt van de cel en weefselconcentraties, draagt niet bij aan een realistische simulatie.

De exponentiële afhankelijk van de mechanische stimulus in zowel de tijd als de plaats geeft een beter resultaat. Ook al is de helings duur wat aan de hoge kant, ruim 11 weken, toch lijkt de verspreiding van de cellen en de vorming van de weefsels natuurlijker te verlopen dan bij de simulatie in paragraaf 5.1. In paragraaf 5.3 zien we een botfront, welke langzaam verder de callus in beweegt. Dit geeft naar verwachting het proces van bot heling het beste weer.

In paragraaf 5.5 is ook naar lineaire afhankelijkheid gekeken. Voeren we dit in bij de afhankelijkheid in de plaats dan is er weinig tot geen verschil te merken. Echter vervangen we de exponentiële afhankelijkheid in de tijd door een lineaire afhankelijkheid is dit verschil wel te zien. Cel en weefseltypen worden op een beduidend andere tijden geproduceerd en zodoende wordt het verspreidingspatroon heel anders dan bij exponentiële afhankelijkheid. Toch gebruiken we exponentiële afhankelijkheid, omdat we verwachten dat dit beter bij dit probleem past.

6.1 Aanbevelingen

Al eerder in dit verslag, paragraaf 3.3.3, is aangegeven dat verwacht wordt dat niet alles de realiteit goed weergeeft. Zo is de lineaire afhankelijkheid van de mechanische stimulus van de coëfficiënten iets waar naar gekeken is. Bij de simulaties is dan ook gewerkt met gladdere, minder abrupte overgangen bij de waarden S_{min} en S_{max} .

Verder is de beginconditie dat alle cel en weefseltypen, behalve stamcellen, nul zijn op $t = 0$ ook niet reëel. Zoals al in hoofdstuk 2 is vermeld zijn er al fibroblasten en chondrocyten aanwezig als de callus gevormd wordt. Echter zijn de precieze waarden niet bekend en daarom wordt er voor gekozen dit nul te houden. Onderzoek zou deze waarden kunnen bepalen.

Bibliografie

- [1] A. Andreykiv (2006): *Simulation of bone ingrowth*, ISBN 90-9021020-2
- [2] M. H. Ross and W. Pawlina (2005): *Histology: A Text and Atlas, with correlated cell and molecular biology*, ISBN 0-7817-5056-3
- [3] P.J. Prendergast, R. Huiskes and K. Søballe (1997): Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. *Journal of Biomechanics* 30(6).

Bijlage A

Cellen en Weefsels

In het model komen veel medische termen voor. Omdat niet gelijk duidelijk is welke cel- en weefseltype welk doel dient is hier een kleine uiteenzetting van de cel- en weefseltypen die belangrijk zijn in het model. Deze informatie is grotendeels afkomstig uit [2] en enigszins vereenvoudigd om het begrijpelijk te houden.

Stamcellen

Sommige cellen in een volwassen persoon behouden de meerdere potenties die embryonale cellen hebben. Deze stamcellen kunnen differentiëren in cellen die zorgen voor reparaties en vorming van nieuw weefsel, zoals bij wondheling en de ontwikkeling van nieuwe bloedvaten. In het model gaan we er vanuit dat de stamcellen slechts differentiëren in de voor ons belangrijke celtypen, fibroblasten, chondrocyten en osteoblasten.

Fibroblasten

Fibroblasten zijn de belangrijkste cellen bij de vorming van bindweefsel. Zij zorgen voor de synthese van de grondstoffen voor dit weefsel. Voor ons zijn ze van belang omdat ze samen met nieuw gevormde bloedvaten en kraakbeen op de plek van de botbreuk de callus vormen, waar het helen van het bot plaatsvindt. Fibroblasten behouden de mogelijkheid om zichzelf te delen.

Chondrocyten

Chondrocyten zijn gespecialiseerde cellen die zorgen voor de vorming en het onderhoud van kraakbeen. Chondrocyten behouden de mogelijkheid om zichzelf te delen.

Osteoblasten

Osteoblasten is de gedifferentieerde cel die botweefsel produceert door botstructuur te vormen. Daarnaast is de osteoblast ook verantwoordelijk voor de verkalking van deze botstructuur. Osteoblasten behouden de mogelijkheid om zichzelf te delen.

Bindweefsel

Bindweefsel is een verzamelnaam voor vele verschillende soorten weefsels. In ons model wordt met bindweefsel echter bedoeld fibreus (vezelig) bindweefsel. Dit weefsel bestaat vooral uit fibroblasten. Samen met onder andere kraakbeen vormt bindweefsel de callus waar het nieuwe bot moet gaan groeien.

Kraakbeen

Kraakbeen is een vorm van bindweefsel dat wordt gevormd door chondrocyten in een zeer gespecialiseerde extracellulaire structuur. Samen met "fibrous connective tissue" vormt dit weefsel in eerste instantie de callus. In feite zijn er drie verschillende soorten kraakbeen, namelijk hyalien kraakbeen, elastisch kraakbeen en fibreus kraakbeen. Het model gaat echter maar uit van één type.

Botweefsel

Bot is een bindweefsel dat gekarakteriseerd wordt door een gemineraliseerde extracellulaire structuur. Het mineraal is calciumfosfaat, hierdoor is bot een hard weefsel dat bescherming en ondersteuning biedt. Botweefsel is te verdelen in twee categorieën: compact bot en spongieus bot. Het eerste vormt de buitenzijde van botten, het tweede bevindt zich binnenin de botten. Het model gaat echter maar uit van één type.

Bijlage B

Coefficiënten

In 3.3.3 zijn de verschillende coëfficiënten besproken die gebruikt worden in het model. Om hun afhankelijkheid van de mechanische stimulus S te simuleren introduceerden we maximale en minimale waarden van de coëfficiënten. Deze waarden zijn gebaseerd op verschillende studies en overgenomen uit [1].

Diffusiecoëfficiënten

$$D_{m_0} = 240 \mu m^2 min^{-1} = 0.3456 mm^2 day^{-1}$$

$$D_{f_0} = 60 \mu m^2 min^{-1} = 0.1152 mm^2 day^{-1}$$

Proliferatiecoëfficiënten

$$P_{b_{min}} = 0.5 day^{-1} \quad P_{b_{max}} = 1.5 P_{b_{min}}$$

$$P_{c_{min}} = 0.75 day^{-1} \quad P_{c_{max}} = 0.925 day^{-1}$$

$$P_{f_{min}} = 0.1 day^{-1} \quad P_{f_{max}} = 0.6 day^{-1}$$

$$P_{m_{min}} = 0.5 day^{-1} \quad P_{m_{max}} = 1.2 day^{-1}$$

Differentiatiecoëfficiënten

$$F_{b_{min}} = 0.005 day^{-1} \quad F_{b_{max}} = 0.15 day^{-1}$$

$$F_{c_{max}} = 0.3 day^{-1}$$

$$F_{f_{max}} = 0.01 day^{-1}$$

Productiecoëfficiënten

$$Q_{b_{min}} = 0 day^{-1} \quad Q_{b_{max}} = 0.1 day^{-1}$$

$$Q_{c_{max}} = 0.2 day^{-1}$$

$$Q_{f_{max}} = 0.06 day^{-1}$$