

POLITECNICO DI MILANO
FACOLTÀ DI INGEGNERIA DEI SISTEMI
Corso di Studi in Ingegneria Matematica



Modelli computazionali per la crescita tissutale

Tesi di Laurea Specialistica di:

Laura CATTANEO

Matr. 721768

Claudia Maria COLCIAGO

Matr. 721124

Relatore:

Dott. Paolo ZUNINO

Correlatore:

Prof. Riccardo SACCO

ANNO ACCADEMICO 2009-2010

*“Devo pur sopportare qualche bruco
se voglio conoscere le farfalle,
sembra che siano così belle.”*

Antoine de Saint-Exupéry, Il piccolo principe

Indice

| | |
|--|-----------|
| Introduzione | 14 |
| Abstract | 22 |
| 1 Motivazioni ed obiettivi dell'ingegneria dei tessuti | 28 |
| 1.1 La medicina rigenerativa | 28 |
| 1.1.1 Il tessuto cartilagineo | 29 |
| 1.2 Analisi sperimentale | 31 |
| 1.2.1 Il sistema per la costruzione di un tessuto ingegnerizzato | 31 |
| 1.3 Analisi teorica | 36 |
| 1.3.1 La modellistica matematica per lo studio di sistemi complessi | 36 |
| 2 Analisi Multiscala | 38 |
| 2.1 Scale spaziali | 38 |
| 2.2 Il metodo del Volume Averaging | 40 |
| 2.2.1 Descrizione del sistema cellulare in esame | 41 |
| 2.2.2 Le equazioni a scala microscopica | 43 |
| 2.2.3 Operazione di media sulle equazioni alla scala microscopica: sviluppo del metodo Volume Averaging | 45 |
| 2.2.4 Modello di equilibrio locale | 50 |
| 2.2.5 Il problema di chiusura | 53 |
| 2.2.6 Il modello ad una equazione | 62 |
| 2.2.7 Il coefficiente di diffusione effettivo | 64 |
| 2.2.8 Vincoli per l'equilibrio di massa locale | 65 |
| 2.2.9 Conclusioni | 67 |
| 3 Panoramica dello stato dell'arte per i modelli di crescita e metabolismo cellulare | 70 |
| 3.1 Un modello per la crescita cellulare a parametri concentrati | 70 |
| 3.1.1 Descrizione del sistema | 71 |
| 3.1.2 Concentrazione dei nutrienti e parametri effettivi | 72 |
| 3.1.3 La crescita cellulare | 78 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.1.4 | Discussione | 80 |
| 3.2 | Modelli per la crescita cellulare: estensione al caso spazio dipendente | 81 |
| 3.2.1 | Concentrazione del substrato: nutrienti e prodotti | 82 |
| 3.2.2 | Cellularità: inibizione dei prodotti sulla crescita cellulare | 83 |
| 3.2.3 | Discussione | 84 |
| 3.3 | Un modello per la crescita di ECM | 85 |
| 3.3.1 | Il Modello Single Compartment: ipotesi ed equazioni | 86 |
| 3.3.2 | Il Modello Continuo: ipotesi ed equazioni | 86 |
| 3.3.3 | Discussione | 90 |
| 3.4 | Modelli per la crescita di ECM: estensione al caso della perfusione | 91 |
| 3.4.1 | Le ipotesi del modello | 92 |
| 3.4.2 | Le equazioni di bilancio | 93 |
| 3.4.3 | Discussione | 97 |
| 3.5 | Conclusioni | 98 |
| 4 | Sintesi di un nuovo modello per la crescita tissutale a scala macroscopica | 102 |
| 4.1 | Introduzione | 102 |
| 4.2 | Analisi di breve periodo | 104 |
| 4.2.1 | Dati sperimentali | 104 |
| 4.2.2 | Modello di crescita della biomassa | 106 |
| 4.2.3 | Adimensionalizzazione | 107 |
| 4.2.4 | Calibrazione del modello | 109 |
| 4.2.5 | Modello di crescita differenziato per cellule e matrice extracellulare. | 112 |
| 4.3 | Analisi sul lungo periodo | 118 |
| 4.3.1 | Biomassa e sforzi di taglio | 118 |
| 4.3.2 | Campo di velocità | 120 |
| 4.3.3 | Concentrazione di ossigeno | 124 |
| 4.4 | Simulazioni e risultati dell'analisi di lungo periodo | 128 |
| 4.4.1 | Descrizione dei principali schemi numerici implementati da Comsol | 129 |
| 4.4.2 | I dati del problema | 131 |
| 4.4.3 | Crescita della frazione di biomassa al variare della velocità di perfusione | 132 |
| 4.4.4 | Analisi degli stimoli per la crescita della biomassa | 143 |
| 5 | Modelli computazionali per l'analisi di un costrutto cellulare su scala microscopica | 150 |
| 5.1 | Formulazione del problema modello | 151 |
| 5.2 | Tecniche di tipo Fictitious Domain per la soluzione di PDE in domini di forma complessa | 153 |

| | | |
|-----------------------|--|------------|
| 5.2.1 | Generalizzazione del metodo elementi finiti per l'approssimazione di problemi con interfacce non fittate dalla griglia di calcolo (XFEM) | 153 |
| 5.2.2 | Il metodo di Nitsche per l'accoppiamento di problemi su interfacce non fittate | 162 |
| 5.3 | Analisi dello schema Unfitted Interface Penalty | 167 |
| 5.3.1 | Proprietà generali del metodo XFEM | 167 |
| 5.3.2 | Notazione e proprietà generali del metodo UIP | 178 |
| 5.3.3 | Consistenza, limitatezza, stabilità e convergenza del metodo UIP | 182 |
| 5.3.4 | Analisi del numero di condizionamento | 187 |
| 5.3.5 | Stabilizzazione del metodo UIP | 194 |
| 5.4 | Un caso test monodimensionale per la validazione dei risultati teorici | 199 |
| 5.4.1 | Confronto tra il metodo di Nitsche classico e il metodo di Hansbo e Hansbo | 201 |
| 5.4.2 | Minimo e massimo autovalore | 203 |
| 5.4.3 | Condizionamento del sistema | 206 |
| 5.5 | Un caso test bidimensionale | 210 |
| 5.5.1 | Risoluzione di problemi con interfaccia interna parametrizzata | 210 |
| 5.5.2 | Risoluzione del problema a partire da un'immagine | 220 |
| 5.6 | Problemi parabolici con interfaccia variabile nel tempo | 224 |
| 5.6.1 | Problema modello | 225 |
| 5.6.2 | Generalizzazione del metodo UIP al caso parabolico | 225 |
| 5.6.3 | Analisi di stabilità e convergenza del metodo UIP | 227 |
| 5.6.4 | Formulazione algebrica | 231 |
| 5.6.5 | Simulazioni numeriche | 233 |
| Conclusioni | | 240 |
| Ringraziamenti | | 246 |
| Bibliografia | | 250 |

Elenco delle figure

| | | |
|-----|---|-----|
| 1 | <i>Schema esplicativo degli obiettivi del lavoro.</i> | 17 |
| 1.1 | <i>Tessuto cartilagineo: a sinistra zona superficiale, a destra zona più interna in corrispondenza della superficie ossea.</i> | 30 |
| 1.2 | <i>(a) Immagine della microstruttura dello scaffold; (b) Immagine dello scaffold acquisita tramite micro-computed tomography (μ-CT); (c) Esempio di costruzione di un dominio di calcolo su una porzione dello scaffold.</i> | 32 |
| 1.3 | <i>A sinistra: immagine alla macroscala di uno scaffold. A destra: immagine alla microscala della semina di condrociti.</i> | 33 |
| 1.4 | <i>A sinistra: Fotografia di un bioreattore a perfusione diretta con quattro camere di coltura. A destra: schematizzazione di una camera di coltura.</i> | 34 |
| 1.5 | <i>Esempi di bioreattori: (a) Stirred Flasks; (b) bioreattore a rotazione; (c) bioreattore a perfusione diretta.</i> | 35 |
| 1.6 | <i>A sinistra: costruito al tempo iniziale. A destra: costruito in fase avanzata.</i> | 36 |
| 2.1 | <i>Rappresentazione multiscala di un tessuto ingegnerizzato.</i> | 39 |
| 2.2 | <i>Volume di controllo V</i> | 41 |
| 2.3 | <i>Modello di una cellula</i> | 41 |
| 2.4 | <i>Regione rappresentativa del sistema</i> | 60 |
| 3.1 | <i>Modello di Galban e Locke [GL00]. Sopra: costruito cilindrico di tessuto cartilagineo. Sotto: volume di controllo alla mesoscala, visualizzazione delle due fasi.</i> | 74 |
| 3.2 | <i>Modello di Dimicco e Sah [DS03]. Sopra: immagine alla macroscala, costruito contenuto da pareti rigide, superficie superiore libera, superficie inferiore delimitata da una membrana. Sotto: immagine della microscala, presenza delle tre diverse componenti di ECM.</i> | 88 |
| 3.3 | <i>Modello di Klein e Sah [KS07]. Sopra: immagine alla macroscala, costruito contenuto da pareti rigide sottoposto a perfusione diretta, superficie superiore libera, superficie inferiore delimitata da una membrana. Sotto: immagine della microscala, presenza delle tre diverse componenti di ECM.</i> | 93 |
| 4.1 | <i>Sopra, a sinistra: immagine alla macroscala dello scaffold. Sopra, a destra: immagine alla microscala dello scaffold seminato dalle cellule. Sotto, a sinistra: dischi di supporto che vengono inseriti nel bioreattore. Sotto, a destra: schematizzazione e fotografia della camera di coltura del bioreattore.</i> | 105 |

| | | |
|------|--|-----|
| 4.2 | <i>Schema esplicativo dei passi dell'algoritmo risolutivo del problema (4.11).</i> | 110 |
| 4.3 | <i>Frazione volumetrica di biomassa al variare del tempo.</i> | 111 |
| 4.4 | <i>Frazione volumetrica di cellule al variare del tempo.</i> | 115 |
| 4.5 | <i>Frazione volumetrica di ECM al variare del tempo.</i> | 115 |
| 4.6 | <i>Frazione volumetrica di biomassa al variare del tempo.</i> | 116 |
| 4.7 | <i>Sezione del costruito dove viene risolto il problema accoppiato biomassa-velocità-sforzi-concentrazione.</i> | 118 |
| 4.8 | <i>Sforzi di taglio al variare della frazione volumetrica di biomassa.</i> | 120 |
| 4.9 | <i>Bordi del dominio.</i> | 121 |
| 4.10 | <i>Dominio del problema per determinare il profilo di velocità in ingresso. Ω_2 è il sotto-dominio corrispondente al costruito, Ω_1 è il sotto-dominio corrispondente al tubo dove si sviluppa il flusso di nutrienti.</i> | 122 |
| 4.11 | <i>Zoom del campo di velocità (in modulo), soluzione del problema (4.34) sul dominio di figura 4.10.</i> | 123 |
| 4.12 | <i>Velocità normale in ingresso al costruito.</i> | 124 |
| 4.13 | <i>Sistema sperimentale e schematizzazione delle scale spaziali.</i> | 124 |
| 4.14 | <i>Mesh di calcolo</i> | 133 |
| 4.15 | <i>Punti scelti per analizzare la crescita di biomassa</i> | 133 |
| 4.16 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa, periodo di 200 giorni, velocità inlet $884\mu\text{m/s}$</i> | 134 |
| 4.17 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa, periodo di 200 giorni, velocità inlet $72\mu\text{m/s}$</i> | 134 |
| 4.18 | <i>Andamento della concentrazione di O_2 lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $884\mu\text{m/s}$</i> | 135 |
| 4.19 | <i>Andamento della concentrazione di O_2 lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $72\mu\text{m/s}$</i> | 135 |
| 4.20 | <i>Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $884\mu\text{m/s}$</i> | 136 |
| 4.21 | <i>Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $72\mu\text{m/s}$</i> | 136 |
| 4.22 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità a $75\mu\text{m/s}$ e a $125\mu\text{m/s}$.</i> | 139 |
| 4.23 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $175\mu\text{m/s}$ a $225\mu\text{m/s}$.</i> | 139 |
| 4.24 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $275\mu\text{m/s}$ a $325\mu\text{m/s}$.</i> | 140 |
| 4.25 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $375\mu\text{m/s}$ a $425\mu\text{m/s}$.</i> | 140 |
| 4.26 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $475\mu\text{m/s}$ a $525\mu\text{m/s}$.</i> | 140 |
| 4.27 | <i>Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $575\mu\text{m/s}$ a $625\mu\text{m/s}$.</i> | 141 |

| | | |
|------|---|-----|
| 4.28 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $675\mu\text{m/s}$ a $725\mu\text{m/s}$ | 141 |
| 4.29 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $775\mu\text{m/s}$ a $825\mu\text{m/s}$ | 141 |
| 4.30 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $875\mu\text{m/s}$ a $925\mu\text{m/s}$ | 142 |
| 4.31 | Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al tempo finale al crescere della velocità; velocità a partire da $75\mu\text{m/s}$ a $925\mu\text{m/s}$ | 142 |
| 4.32 | Andamento della concentrazione di O_2 lungo la sezione verticale del costruito al tempo finale al crescere della velocità; velocità a partire da $75\mu\text{m/s}$ a $925\mu\text{m/s}$ | 143 |
| 4.33 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a sforzi costanti; periodo di 200 giorni. Velocità inlet pari a $884\mu\text{m/s}$ | 145 |
| 4.34 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a sforzi costanti; periodo di 200 giorni. Velocità inlet pari a $72\mu\text{m/s}$ | 145 |
| 4.35 | Andamento della concentrazione di O_2 a sforzi costanti lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Velocità inlet $884\mu\text{m/s}$ | 146 |
| 4.36 | Andamento della concentrazione di O_2 a sforzi costanti lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Velocità inlet $72\mu\text{m/s}$ | 146 |
| 4.37 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a concentrazione costante; periodo di 200 giorni. Velocità inlet $884\mu\text{m/s}$ | 148 |
| 4.38 | Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a concentrazione costante; periodo di 200 giorni. Velocità inlet $72\mu\text{m/s}$ | 148 |
| 4.39 | Andamento degli sforzi a concentrazione costante lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni. Velocità inlet $884\mu\text{m/s}$ | 149 |
| 4.40 | Andamento degli sforzi a concentrazione costante lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni. Velocità inlet $72\mu\text{m/s}$ | 149 |
| 5.1 | Dominio Ω con interfaccia interna Γ | 151 |
| 5.2 | Esempio di triangolazione uniforme sul dominio Ω , l'interno del cerchio è il dominio Ω_1 , l'esterno il dominio Ω_2 | 153 |
| 5.3 | Triangolo $K \in G_h$, dove $\Gamma_{K,h}$ è il segmento che collega i punti di intersezione tra Γ e ∂K | 154 |
| 5.4 | 1D. Spazio V delle funzioni di base degli elementi finiti standard. In particolare vengono visualizzate le funzioni in corrispondenza dei nodi di griglia 3 e 4. | 155 |
| 5.5 | Con riferimento al dominio di figura 5.2, a sinistra esempio di triangolazione \mathcal{T}_{h1} : vengono selezionati solo i triangoli K la cui intersezione con Ω_1 è diversa dall'insieme vuoto. A destra esempio di triangolazione \mathcal{T}_{h2} : vengono selezionati solo i triangoli K la cui intersezione con Ω_2 è diversa dall'insieme vuoto. | 156 |
| 5.6 | Sopra: spazio V_1^Γ . Lo spazio è stato costruito considerando che $\mathcal{I}_1^\Gamma = 4$ e calcolando $R_1\phi_4$. Sotto: spazio V_2^Γ . Lo spazio è stato costruito considerando che $\mathcal{I}_2^\Gamma = 3$ e calcolando $R_2\phi_3$ | 157 |
| 5.7 | 1D. Spazio R_1V , restrizione dello spazio V sul dominio Ω_1 | 158 |
| 5.8 | 1D. Spazio R_2V , restrizione dello spazio V sul dominio Ω_2 | 158 |

| | | |
|------|--|-----|
| 5.9 | <i>1D. Dominio Ω, $\Gamma \equiv x_3$.</i> | 160 |
| 5.10 | <i>1D. Suddivisione del dominio Ω nelle due sottogriglie T_{h1}, T_{h2}.</i> | 160 |
| 5.11 | <i>1D. Funzioni di base dello spazio R_1V.</i> | 160 |
| 5.12 | <i>1D. Funzioni di base dello spazio R_2V.</i> | 161 |
| 5.13 | <i>1D. Funzioni di base degli spazi V_1^Γ e V_2^Γ.</i> | 162 |
| 5.14 | <i>Triangolo $K \in G_h$ suddiviso nelle due parti T_1 e T_2 dall'interfaccia Γ.</i> | 170 |
| 5.15 | <i>Parti K_1 e K_2 in cui il triangolo di griglia K viene suddiviso dal passaggio dell'interfaccia Γ.</i> | 173 |
| 5.16 | <i>Soluzioni ottenute tramite il programma Matlab. In rosso viene visualizzata la soluzione esatta. Passo di griglia $h = 0.0204$. In alto a sinistra: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In alto a destra: $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 1$. In basso a sinistra: $\alpha_1 = 100$ e $\alpha_2 = 1$. In basso a destra: $\alpha_1 = 1000$ e $\alpha_2 = 1$.</i> | 200 |
| 5.17 | <i>Valori di γ minimo. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$.</i> | 202 |
| 5.18 | <i>Autovalore massimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.</i> | 203 |
| 5.19 | <i>Autovalore massimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.</i> | 204 |
| 5.20 | <i>Grafico logaritmico dell'autovalore massimo al variare del passo di discretizzazione h.</i> | 204 |
| 5.21 | <i>Autovalore minimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.</i> | 205 |
| 5.22 | <i>Autovalore minimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.</i> | 206 |
| 5.23 | <i>Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.05$; $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.</i> | 207 |
| 5.24 | <i>Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.05$; $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.</i> | 207 |
| 5.26 | <i>Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.</i> | 208 |
| 5.25 | <i>Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Hansbo-Hansbo.</i> | 208 |
| 5.27 | <i>Soluzione del problema. Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.</i> | 209 |
| 5.28 | <i>Soluzione del problema. Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.</i> | 209 |

| | | |
|------|---|-----|
| 5.29 | <i>Discretizzazione del dominio Ω, interfaccia $\Gamma : x - 0.51 = 0$ non risolta dalla mesh. In alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1}. In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2}.</i> | 212 |
| 5.30 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.29. In alto: soluzione del sistema preconditionato per $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In basso: soluzioni del sistema preconditionato per $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$.</i> | 213 |
| 5.31 | <i>Discretizzazione del dominio Ω, interfaccia $\Gamma : x - 0.5 = 0$ risolta dalla mesh. In alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1}. In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2}.</i> | 214 |
| 5.32 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.31. In alto: soluzione del sistema preconditionato per $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In basso: soluzioni del sistema preconditionato per $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$.</i> | 215 |
| 5.33 | <i>Discretizzazione del dominio Ω, interfaccia $\Gamma : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2$. In alto: triangolazione lasca e uniforme \mathcal{T}_h. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1}. In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2}.</i> | 217 |
| 5.34 | <i>Soluzione approssimata del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.33 per $\alpha_1 = 0.01$ e $\alpha_2 = 10$.</i> | 218 |
| 5.35 | <i>Discretizzazione del dominio Ω, interfaccia $\Gamma : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2$. In alto: triangolazione fine e uniforme \mathcal{T}_h. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1}. In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2}.</i> | 219 |
| 5.36 | <i>Soluzione approssimata del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.35 per $\alpha_1 = 0.01$ e $\alpha_2 = 10$.</i> | 220 |
| 5.37 | <i>Immagine in bianco e nero su cui si vuole risolvere il problema</i> | 221 |
| 5.38 | <i>A sinistra: funzione indicatrice; ad ogni triangolo della griglia \mathcal{T}_{hG} viene assegnata una flag a seconda della posizione del suo baricentro. A destra: troncatura della griglia \mathcal{T}_{hG}.</i> | 222 |
| 5.39 | <i>Discretizzazione del dominio di figura 5.37; in alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h con $N_1 = N_2 = 20$. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1}. In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2}. Il bordo dell'elemento viene visualizzato tramite la funzione <code>bwboundaries</code> di Matlab.</i> | 223 |
| 5.40 | <i>Soluzione del problema (5.193)</i> | 224 |
| 5.41 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, 2$</i> | 234 |
| 5.42 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 3, \dots, 10$</i> | 235 |
| 5.43 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, \dots, 10$, visualizzate in grafici bidimensionali</i> | 236 |
| 5.44 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia circolare agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, 2$</i> | 237 |
| 5.45 | <i>Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia circolare agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 3, \dots, 10$</i> | 238 |
| 5.46 | <i>Schema esplicativo dei risultati del lavoro.</i> | 245 |

Elenco delle tabelle

| | | |
|------|--|-----|
| 4.1 | <i>Configurazione dello scaffold per la calibrazione del modello.[RMC⁺06]</i> | 105 |
| 4.2 | <i>Frazioni volumetriche misurate dopo 15 gg.[RMC⁺06]</i> | 106 |
| 4.3 | <i>Grandezze caratteristiche del modello.</i> | 109 |
| 4.4 | <i>Parametri ottenuti con il procedimento di best fit.</i> | 111 |
| 4.5 | <i>Rapporto tra le frazioni volumetriche calcolate in [RMC⁺06].</i> | 112 |
| 4.6 | <i>Parametri ottenuti con il procedimento di best fit.</i> | 116 |
| 4.7 | <i>Rapporto tra le frazioni volumetriche calcolate in [RMC⁺06] e stimate dal modello (4.22)-(4.23).</i> | 117 |
| 4.8 | <i>Dati per il campo di velocità</i> | 131 |
| 4.9 | <i>Dati per il trasporto di ossigeno</i> | 132 |
| 4.10 | <i>Dati per lo studio della variazione della frazione volumetrica di biomassa</i> | 132 |
| 5.1 | <i>Risultati del confronto tra l'utilizzo dei pesi di Nitsche e dei pesi di Hansbo-Hansbo</i> | 202 |
| 5.2 | <i>Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.</i> | 216 |
| 5.3 | <i>Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.</i> | 218 |
| 5.4 | <i>Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.</i> | 222 |
| 5.5 | <i>Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.</i> | 234 |
| 5.6 | <i>Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.</i> | 237 |

Introduzione

La tesi si colloca nell'ambito della modellistica matematico-numerica applicata al campo dell'ingegneria tissutale. Quest'ultima è una branca dell'ingegneria biomedica che si occupa della ricostruzione *in vitro* di tessuti e organi biologici. L'ingegneria tissutale e, più in generale, la medicina rigenerativa vogliono essere una valida alternativa alle tecniche chirurgiche di trapianto autologo ed eterologo utilizzate per la sostituzione di organi e tessuti danneggiati. La sintesi di materiali biologici *in vitro* permetterebbe di risolvere i problemi di disponibilità e di rigetto che caratterizzano le tecniche oggi utilizzate.

In particolare questo lavoro di tesi prende in considerazione la ricostruzione del tessuto cartilagineo articolare mediante l'utilizzo di *bioreattori*, ambienti sterili che sono in grado di ricreare le condizioni chimico-fisiche per il corretto sviluppo fisiologico. Come indicato dal nome, il tipo di cartilagine considerata si trova nelle cavità articolari del corpo umano e può andare incontro a processi di degradazione e di riassorbimento dovuti a traumi o a microtraumi ripetuti. Si stima che i pazienti che sono affetti da patologie della cartilagine e che otterrebbero benefici grazie all'ingegneria tissutale sarebbero circa un milione all'anno solo in America [GL99]. La cartilagine differisce dagli altri tessuti per alcuni aspetti importanti: la peculiare citoarchitettura tridimensionale, le proprietà di sopportazione dei carichi, l'alta percentuale di matrice extracellulare e l'assenza di vasi, di terminazioni nervose e di cellule immunitarie. Quest'ultima caratteristica è svantaggiosa dal punto di vista biologico, poichè rende la cartilagine più esposta a danni permanenti, in quanto essa non è in grado di rigenerarsi. Dal punto di vista ingegneristico invece l'assenza di vasi rappresenta un vantaggio, in quanto negli esperimenti non vi è la necessità di ricreare i vasi per garantire la perfusione del tessuto attraverso il sangue. Numerose sono le sperimentazioni che sono state compiute sulla cartilagine e in questo lavoro facciamo riferimento agli studi condotti in [RMC⁺06] e [Cio06].

Nonostante la rapida crescita del campo dell'ingegneria tissutale, vi sono pochi modelli matematici in grado di fornire le equazioni fondamentali per descrivere i fenomeni di crescita e di trasporto che avvengono durante la sintesi del tessuto *in vitro*: il lavoro di tesi si concentra perciò sull'aspetto modellistico della ricostruzione di cartilagine. Di fronte alle esigenze sperimentali, l'obiettivo consiste nel fornire degli opportuni modelli che siano efficaci sia dal punto di vista fisico-matematico, che dal punto di vista numerico-computazionale. Per la messa a punto e la calibrazione degli esperimenti di crescita del tessuto cartilagineo è necessario poter usufruire di un modello che sappia predire i risultati non solo da un punto di vista qualitativo

ma anche da un punto di vista quantitativo. Per rispondere a queste esigenze il lavoro si prefigge di sviluppare i seguenti punti, afferenti ciascuno ad una differente tipologia di modellistica:

1. Modellistica matematica: proporre un modello matematico multiscala per un sistema multifasico.
2. Modellistica fisiologica: individuare le variabili dipendenti e ricavare il sistema di equazioni che caratterizzano il fenomeno fisico alla macroscale.
3. Modellistica numerica: proporre un'opportuna tecnica numerica per la risoluzione delle equazioni del modello sia alla macroscale che alla microscale.

Modellistica matematica. I fenomeni che avvengono durante la sintesi del tessuto cartilagineo presentano due aspetti modellistici importanti: essi sono innanzitutto caratterizzati da scale spaziali differenti e, in secondo luogo, avvengono in un dominio eterogeneo e multifasico.

Per quanto riguarda il primo punto, il modello per la sintesi del tessuto *in vitro* deve saper tener conto delle diverse scale spaziali che caratterizzano i tessuti biologici: nel tessuto cartilagineo si passa infatti dalle dimensioni di una cellula, pari a 10^{-6} metri e delle molecole che la compongono, 10^{-9} metri, a quelle dello spessore della cartilagine articolare, di 10^{-3} metri, con un salto di 3 – 6 ordini di grandezza. È perciò necessario produrre modelli multiscala, che sappiano individuare e caratterizzare le diverse scale spaziali e accoppiare tra loro i fenomeni tipici di scale differenti. Il secondo aspetto importante riguarda la composizione del dominio in cui hanno luogo i fenomeni. Il costrutto cartilagineo ricostruito nel bioreattore è principalmente formato da tre diverse componenti: la biomassa, il fluido di nutrienti e lo scaffold, una matrice polimerica porosa degradabile e tridimensionale che svolge la funzione di supporto. Ogni componente è caratterizzata da fenomeni e proprietà fisiche differenti che influenzano i parametri delle equazioni. Per poter scrivere delle equazioni che abbiano validità alla macroscale spaziale è necessario utilizzare opportuni metodi matematici per ricavare i parametri effettivi che regolano i fenomeni. Partendo dalle equazioni fenomenologiche scritte alla microscale, *il primo obiettivo della tesi consiste nel presentare la tecnica del Volume Averaging che permette di ricavare le equazioni alla macroscale sul dominio eterogeneo.*

Modellistica fisiologica. Il secondo obiettivo riguarda l'individuazione delle grandezze che caratterizzano la crescita della cartilagine. I risultati sperimentali riportati in [RMC⁺06] mostrano che il volume di biomassa prodotta dipende dalla percentuale di cellule presenti, da stimoli biochimici, quali la concentrazione di sostanze nutrienti (ossigeno, glucosio), e da stimoli meccanici, quali gli sforzi di taglio generati sulle membrane cellulari dal movimento del fluido di nutrienti. Da queste considerazioni si ricava che le grandezze di interesse che caratterizzano il sistema di equazioni sono tre: la frazione volumetrica di biomassa, la concentrazione di sostanze nutrienti e il campo degli sforzi di taglio. I modelli presenti in letteratura rispondono adeguatamente all'inserimento dello stimolo biochimico ma sono manchevoli rispetto allo stimolo meccanico.

Il secondo obiettivo della tesi è fornire un sistema di equazioni che sappia accoppiare le dinamiche delle tre variabili individuate e applicare ad esso la tecnica matematica del Volume Averaging, affinché il modello sia definito alla macroscale spaziale.

Modellistica numerica. L'ultimo obiettivo della tesi si concentra sulle problematiche numerico-computazionali. Per poter risolvere le equazioni definite alla microscala spaziale e i problemi di chiusura che permettono di caratterizzare i parametri effettivi del modello alla macroscale, è necessario disporre di opportune tecniche numeriche in grado di approssimare la soluzione di equazioni in presenza di parametri discontinui su interfacce interne al dominio. Il metodo di approssimazione che viene preso in considerazione prende il nome *Unfitted Interface Penalty* (UIP), basato su spazi di tipo Extended Finite Elements (XFEM) e sulla tecnica di Nitsche [HH02] per la formulazione debole del problema. I metodi di tipo UIP rappresentano un tema di studio attuale nell'ambito della modellistica numerica.

Lo scopo importante di questa fase della tesi è fornire un'analisi teorica dettagliata del metodo UIP, per individuare i punti di forza e i punti deboli e per poter, di conseguenza, proporre opportune soluzioni di miglioramento.

Il compito globale della tesi consiste nell'analisi di modelli computazionali per l'ingegneria dei tessuti. Il lavoro si prefigge un obiettivo di *completezza*, ossia di studio e di integrazione di differenti livelli di modellistica, ciascuno determinato da specifici strumenti di approccio e di analisi.

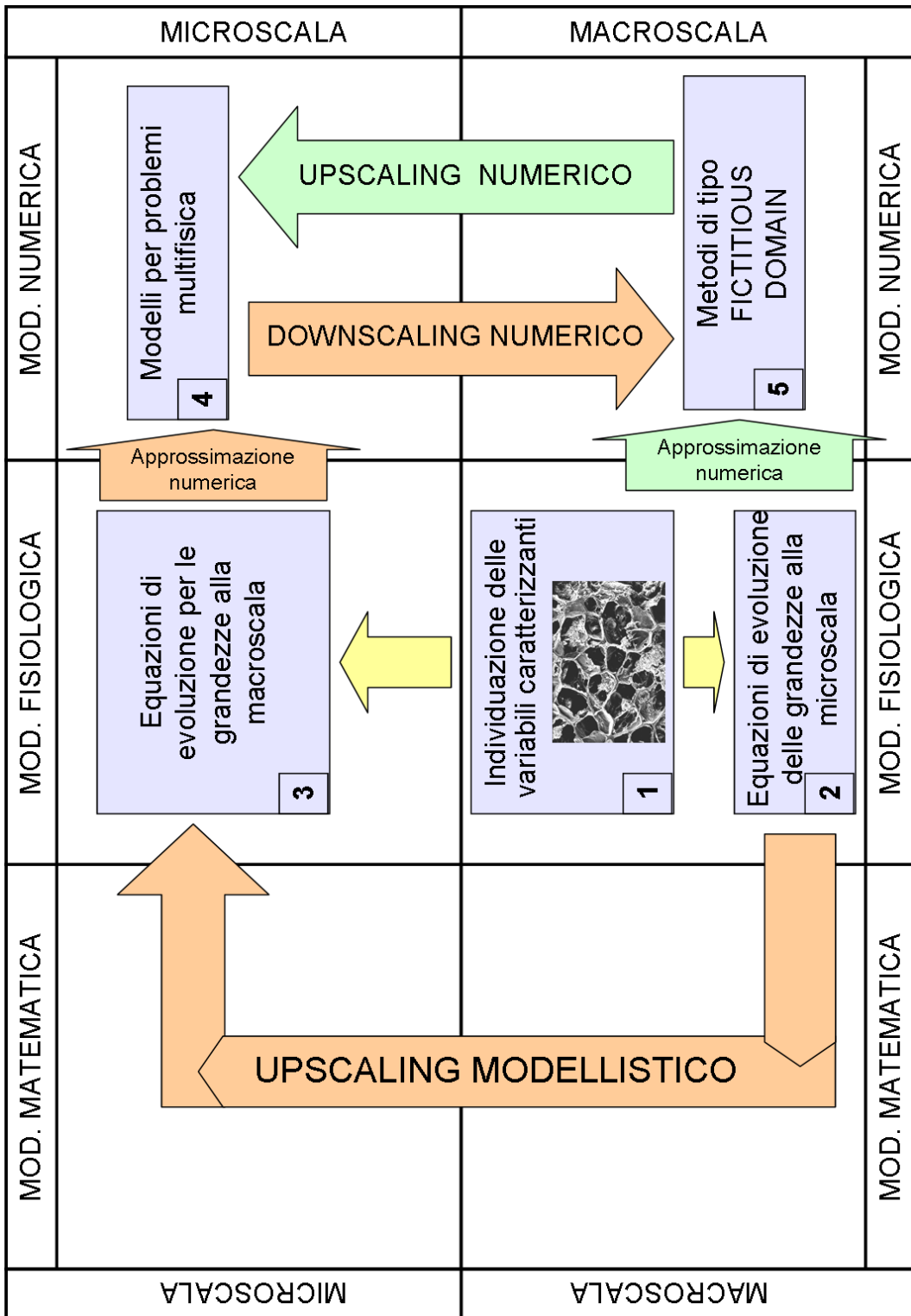


Figura 1: Schema esplicativo degli obiettivi del lavoro.

Nel **capitolo 1** presentiamo gli obiettivi e le motivazioni che hanno contribuito alla nascita dell'ingegneria dei tessuti. Inizialmente descriviamo la cartilagine e le sue principali componenti, per comprendere le caratteristiche bio-chimiche e meccaniche del tessuto che si considera nel contesto di questo lavoro. Quindi presentiamo il sistema in cui avviene lo sviluppo *in vitro* della cartilagine, il bioreattore, cercando di mettere in risalto quali sono le proprietà essenziali del sistema *in vivo* che deve riprodurre.

Il **capitolo 2** è dedicato alla presentazione dettagliata del metodo del Volume Averaging. Il lavoro di tesi prevede lo studio del sistema alla macroscale, la scala caratteristica del costrutto, e la sua caratterizzazione viene effettuata tramite un procedimento di *upscaling*. Questo processo prevede di trasportare le informazioni e le proprietà del sistema definite alla microscale tramite l'applicazione del metodo del Volume Averaging.

Per sviluppare e analizzare il metodo, seguiamo alcuni lavori presenti in letteratura, fra cui [Whi99], [WW98a], [WW98b], [WW99] e [WQW02].

All'inizio del capitolo vengono precisate le diverse scale spaziali e viene descritto il sistema in esame, al fine di identificare e chiarire le strutture multiscale che lo caratterizzano. Viene quindi definito il volume di controllo sul quale si applica il metodo e vengono formulate le equazioni a scala microscopica. Queste equazioni caratterizzano la diffusione, il trasporto e la reazione della concentrazione di una certa specie all'interno delle fasi che costituiscono il sistema.

Le equazioni della microscale vengono mediate sul volume di controllo e si ricava un sistema di equazioni integro-differenziali che descrivono la dinamica di quantità mediate all'interno del costrutto. Insieme alle equazioni vengono formulati i vincoli che il sistema deve soddisfare affinché il metodo possa essere applicato e un opportuno modello di chiusura, che coinvolge i termini di deviazione della media. La risoluzione di quest'ultimo permette di derivare i parametri effettivi (diffusione effettiva e permeabilità effettiva), che costituiscono il collegamento fra la micro e la macro scala.

Nel **capitolo 3** vengono analizzati i modelli presenti in letteratura inerenti la crescita di biomassa. In particolare ci focalizziamo su due categorie di modelli: la prima sviluppa problemi che accoppiano la concentrazione di nutriente e la frazione volumetrica di cellule; la seconda considera invece la crescita di matrice extracellulare (ECM).

Il primo modello che viene analizzato è stato proposto in [GL00] ed è un modello a parametri concentrati. Questo modello viene ripreso e modificato in [GL99]: viene rimossa l'ipotesi di quasi stazionarietà e l'ipotesi di monodimensionalità, per cui si acquista la dipendenza spazio-temporale.

Successivamente vengono analizzati i modelli per la crescita di ECM, proposti in [DS03]. Questi modelli fanno riferimento a una cartilagine espantata e immersa in una soluzione di nutrienti in situazione statica: non viene utilizzato il supporto di uno scaffold. Il primo modello viene denominato Single Compartment e si propone di sviluppare un'equazione per la concentrazione media $c(t)$ dell'ECM, definita alla

macroscala. Sempre in [DS03] viene proposta un'estensione di questo modello, in cui viene introdotta la dipendenza spaziale, in aggiunta a quella temporale. Il nuovo modello prende il nome di Modello Continuo. Per ultimo viene riportato il modello di [KS07]. L'obiettivo è di generalizzare la trattazione di [DS03] mantenendo la dipendenza spaziale e temporale delle concentrazioni delle componenti della matrice. Rispetto al modello precedente variano le condizioni sperimentali: viene introdotta la perfusione del sistema mediante un flusso di nutrienti. Ai fini del nostro lavoro riportiamo e discutiamo come lo stimolo degli sforzi venga incluso nel modello, quali parametri siano legati a tale fenomeno e come le variazioni di questi parametri agiscano sulla crescita di ECM.

L'analisi critica della letteratura riguardo i modelli per la crescita cellulare è importante per comprendere quali punti necessitano di ulteriori sviluppi. Nella parte conclusiva del capitolo vengono elencati e descritti in dettaglio gli argomenti sui quali è necessario focalizzare l'attenzione e che costituiscono il punto di partenza per lo sviluppo di un nuovo modello.

Il **capitolo 4** si propone l'obiettivo di definire un nuovo modello fisico-matematico per la crescita tissutale, al fine di migliorare alcuni aspetti problematici emersi nel capitolo precedente.

Ci si focalizza sullo sviluppo di quattro punti: (1) la definizione delle fasi che costituiscono il sistema; (2) l'individuazione degli stimoli efficaci alla crescita; (3) la composizione della biomassa; (4) la definizione delle relazioni costitutive dei parametri fisici che regolano il fenomeno.

Inizialmente viene eseguita l'analisi di breve periodo e viene formulato un innovativo modello di crescita per la frazione volumetrica di biomassa. Questo modello prevede l'introduzione degli sforzi di taglio generati dalla perfusione diretta in linea con quanto fatto in [CRS10] e viene opportunamente calibrato utilizzando i dati sperimentali raccolti in [RMC⁺06].

Lo stesso modello viene in seguito modificato: si tiene conto del contributo separato di condrociti e di matrice extracellulare, in quanto dai risultati sperimentali emerge che le due componenti del tessuto hanno una dinamica di crescita diversa. Il modello viene sviluppato integrando le informazioni sulla cellularità riportate in [GL00] e in [GL99] con quelle riguardanti l'ECM presentate in [KS07] e [DS03] e i parametri vengono calibrati utilizzando i dati sperimentali di [RMC⁺06].

Successivamente viene svolta l'analisi di lungo periodo, che ha l'obiettivo di simulare la crescita di biomassa su una finestra temporale più ampia, nella quale velocità, concentrazione di nutrienti e sforzi di taglio devono essere necessariamente considerati spazio e tempo dipendenti. Vengono formulate un'equazione per la crescita cellulare, un'equazione per la velocità del flusso di nutrienti e un'equazione di trasporto per la concentrazione di ossigeno, che risultano tra loro accoppiate. Il problema viene risolto tramite l'utilizzo del software commerciale COMSOL Multiphysics [CM06] e vengono riportati i risultati ottenuti.

Il **capitolo 5** sviluppa la struttura teorica numerica necessaria per lo studio del sistema alla scala microscopica. Infatti, dopo la risoluzione del problema alla macro-

scala, è interessante effettuare un processo di *downscaling* e ottenere una descrizione puntuale del sistema. Il problema PDE alla microscala è definito da coefficienti che risultano discontinui in corrispondenza di interfacce interne; si impongono come condizioni di bordo i risultati ottenuti tramite il modello alla macroscala.

Ci concentriamo sullo studio di metodi agli elementi finiti nei quali la mesh di calcolo non *risolve* l'interfaccia interna. Viene formulato il problema modello che si vuole risolvere e successivamente viene introdotto lo spazio Extended Finite Elements (XFEM) seguendo quanto fatto in [HH02] e [Reu08]. L'idea alla base della costruzione di questo spazio è di estendere lo spazio elementi finiti standard aggiungendo ulteriori funzioni di base che risultano discontinue a cavallo dell'interfaccia. Successivamente sviluppiamo la formulazione debole del problema applicando il metodo di Nitsche, grazie al quale le condizioni di bordo vengono incluse nella forma bilineare, tramite termini di salto e media pesata. Insieme al metodo originale, viene presentata una sua variante, proposta in [HH02], nella quale si definiscono in modo diverso i pesi κ per il calcolo delle medie. Il metodo che deriva dall'accoppiamento della formulazione di Nitsche con la discretizzazione tramite le basi XFEM viene denominato *Unfitted Interface Penalty*.

Eseguiamo l'analisi approfondita del metodo UIP, a partire da quanto svolto da [HH02] e da [Reu08], in quanto in letteratura non è presente alcuna trattazione numerica che possa essere considerata completa ed esauriente. In particolare, per lo studio della buona posizione e della stabilità del metodo, ci concentriamo sullo studio del condizionamento del problema che scaturisce dalla discretizzazione spaziale. Si osserva che il condizionamento del problema dipende dalla modalità con cui l'interfaccia attraversa gli elementi di griglia e, in alcune precise situazioni, può risultare elevato. Occorre pertanto introdurre una tecnica di stabilizzazione del metodo che renda il numero di condizionamento indipendente dalla posizione dell'interfaccia interna. L'idea che sviluppiamo è quella di definire un opportuno *precondizionatore* per la matrice del sistema algebrico.

Riportiamo alcuni test numerici, eseguiti per la validazione del metodo proposto sia per il caso monodimensionale che per quello bidimensionale.

Nell'ultima parte del nostro lavoro affrontiamo lo studio del problema parabolico, nel quale l'interfaccia interna è tempo dipendente.

Abstract

The thesis deals with mathematical and numerical modelling applied to tissue engineering. Tissue engineering issues concern the process of creating living and functional tissues to repair or replace tissue or organ function lost due to age, disease, damage, or congenital defects. Tissue engineering and regenerative medicine have the potential to solve the problem of the shortage of organs available for donation compared to the number of patients that require life-saving organ transplantation. In particular we focus on the *in vitro* reconstruction of articular cartilage in a bioreactor. The bioreactor is a device that supports a biologically active environment, it is a system meant to grow cells or tissues in the context of cell culture.

Articular cartilage, also called hyaline cartilage, is the smooth, white tissue that covers the surface of all the joints in the human body. Cartilage structures and functions can be damaged and such damage can result from a variety of causes, such as a bad fall or traumatic sport-accident, previous knee injuries or wear and tear over time. Immobilization for long periods can also result in cartilage damage. Articular cartilage does not usually regenerate after injury or disease leading to loss of tissue and formation of a defect. Due to the fact that over a million people, only in America, each year suffer from tissue loss or end-stage organ failure, tissue engineering has grown in scope and importance. The engineering of articular cartilage differs from other tissues due to the unique three-dimensional cytoarchitecture of its matrix, its weight-bearing properties, its large ratio of matrix to cells and the absence of blood vessels and nerve endings [GL99]. This is the reason why the cartilage is not able to regenerate itself, but it is a facilitation in experiments because you don't have to perfuse the cartilage with blood flow. Extensive works to investigate and identify key physical/chemical parameters have been performed to aid in determining the most favorable conditions for *in vitro* reconstruction. In the rapidly growing field of tissue engineering, few mathematical models are based on fundamental equations to describe the transport and growth processes, which occur during tissue regeneration.

The thesis concerns modelling aspects of cartilage reconstruction. To satisfy experimental requirements our goal is to provide a suitable mathematical and computational model. In order to the calibration of experiments, we need a model which is able to provide both qualitative and quantitative results. To this aim we develop the following steps, each one concerns a particular approach:

1. Mathematical modelling: we introduce a multiscale and multiphase mathematical model;

2. Physiological modelling: we identify the dependent variables and we write the macroscale system of equations.
3. Numerical modelling: we study a numerical technique to solve macroscale and microscale equations.

Mathematical modelling. The cartilage growth has two important features: the former is characterized by different spatial scales and the latter takes place in an heterogeneous multiphase domain.

The model has to include different spatial scales: from the cellular scale, 10^{-6} meters, to the scale of the entire tissue, 10^{-3} meters. Therefore, it is necessary to identify the different scales and the specific phenomena that characterize each scale. Later, we couple the phenomena in a single model.

The second important aspect is the composition of the domain. The cartilage construct is made by three components: biomass, nutrient flow and scaffold. The scaffold is a polymeric porous and biodegradable matrix capable of supporting three-dimensional tissue formation. Each component is characterized by typical phenomena and physics properties, that influence equation parameters. We need an upscaling technique which is able to transport information from the microscale to the macroscale. We also need to obtain the effective parameters that control the phenomena. Therefore, we introduce the Volume Averaging method which allows the upscaling process.

Physiological modelling. The second aim is to identify the quantities that control the tissue growth. The experimental results of [RMC⁺06] show that the increase of the biomass volume is influenced by the percentage of cells, biochemical stimula, such as nutrient concentration (oxygen, glucose), and mechanical stimuli, such as shear stress on the cellular membrane generated by the perfusion flow. Starting from these results, we obtain that there are three main quantities that control the tissue growth: the volumetric biomass fraction, the nutrient concentration and the shear stress field. In literature there are several models that include the biochemical stimuli but any of them includes the mechanical ones in a suitable way. Therefore, the second goal is to provide a system of equations that couples the microscale dynamics of the variables and to upscale the model to the macroscopic level using the Volume Averaging method.

Numerical modelling. The last aim deals with numerical and computational aspects. To solve microscale equations and closure problems of the Volume Averaging method, we need to provide a numerical technique in order to approximate the solution of problems with discontinuous parameters on an internal interface. We analyse the *Unfitted Interface Penalty* (UIP) method, based on Extended Finite Elements spaces (XFEM) and on Nitsche's technique [HH02], [Reu08]. The UIP method represents a current topic in numerical modelling field and the main goal of this part is to develop its theoretical analysis. Thanks to this analysis we are able to identify strengths and weaknesses of the method and we succeed in improving it.

The entire goal of the thesis is to analyse computational models for tissue engineering. Our aim is to provide a *complete* analysis integrating several levels of modelling, each one characterized by specific tools and methods.

In **chapter 1** we show the purposes and motivations of the development of tissue engineering. First of all, we describe the cartilage and its components, to explain the biochemical and mechanical properties of this tissue. Later, we introduce the experimental system. In particular we focus on the bioreactor device and we highlight the *in vivo* properties that the *in vitro* system has to reproduce.

The **chapter 2** is dedicated to the description of the Volume Averaging (VA) method. In order to study the macroscopic scale system we apply the Volume Averaging method and we transport information from the microscale level to macroscale one. We refer to [Whi99], [WW98a], [WW98b], [WW99] e [WQW02].

First of all we introduce the system and its spatial scales to identify and clarify its multiscale structure. We define the control volume on which the VA method is applied and we write the microscale equations. These equations describe the mass transport and reaction of a singular specie into an heterogeneous domain. The application of the Volume Averaging method provide a system of integro-differential equations that describe the dynamics of averaged quantities into the biological construct. In addition to these equations, we obtain the constrains that the system variables have to satisfy and the closure model to determine the spatial deviation variables. The closure model provides effective parameters (effective diffusivity and effective permeability) that represent the link between the micro and the macro scale.

In **chapter 3** we analyse the current literature models that describe the biomass growth. In particular, we focus on two models: the former deals with the coupling of the nutrient concentration and the volumetric cell fraction, the latter concerns the extra-cellular matrix (ECM) amount and it proposes an evolution equation for the proteoglycans (ECM protein) concentration. We present each model and its improvements.

The first model that we show is defined in [GL00] and it is a concentrated parameter model. This model is modified in [GL99]: they remove the quasi-steady state approximation and mono-dimensional hypothesis and they obtain the space-time dependence.

Later, we discuss growth models for the ECM presented in [DS03]. In this article the authors refer to an explantation of a cartilage in a steady-state nutrient solution: there isn't any scaffold. The first model, called Single Compartment model, is represented by a macroscale equation for the averaged ECM concentration $c(t)$. The second model, called Continuum model, is an improvement of the first one, in which they introduce the spatial independent variable.

In the last part we present the model of [KS07]. This model is different from the previous one because of the experimental settings: they introduce the perfusion of the construct by a nutrient flow. We are interested in the way they insert the me-

chanical stimuli in the model formulation. We discuss which parameters are related to the shear stress and how they influence the ECM growth.

This review is important to understand the weaknesses of the current models. In conclusion we present the main topics starting from those we will propose a new and innovative model.

In **chapter 4** we define a new physics-mathematical model for the tissue growth in order to improve the problematic aspects highlighted in the previous chapter.

We focus on the development of four main points: (1) definition of the phases of the system; (2) identification of the growth stimuli; (3) composition of the biomass; (4) definition of the constitutive relations of physics parameters that control the phenomena.

First of all, we study the short term analysis and we introduce a new model for the biomass volume fraction growth. We insert in the model the shear stress stimuli referring to [CRS10] and we carry out the calibration of the model using experimental data from [RMC⁺06]. The same model is then modified: we split the biomass contribution in two parts, the cell component and the ECM one, because of their different dynamics of growth. In this model we gather the information about cellular growth derived from [GL00] and [GL99] and information about ECM growth read in [DS03] and [KS07] and we calibrate the model using again the data of [RMC⁺06]. Later, we develop the long term analysis. We simulate the growth of the biomass on a longer period of time: in this situation we have to consider the space-time dependence of the flux velocity, of the nutrient concentration and of the shear stress field. We write a system in which we couple an equation for the cellular growth, an equation for the flux velocity and a transport equation for the oxygen concentration. We solve the system using a commercial software, COMSOL Multiphysics, and we note the results in the last part of the chapter.

In **chapter 5** we develop the numerical theory useful for studying the microscale system. Indeed, after solving the macroscale, we have to make a downscaling process and we use the macroscale results as boundary conditions to solve the microscale system. When we analyse the microscale problem, the coefficients of the equations are discontinuous on the interface which divides the different phases of the heterogeneous domain.

The idea is to discretize the domain with an internal interface using a standard finite element mesh that doesn't fit the interface. We formulate a standard problem and later we introduce the space of Extended Finite Elements (XFEM) following [HH02] and [Reu08]. The XFEM space is built by standard finite elements basis functions and it is enriched by further functions that are discontinuous on the interface.

We apply the Nitsche's method to derive the weak formulation of the problem, in which the conditions at the interface are satisfied weakly, by means of convex combination terms and jump terms. At the same time we show an improvement of the method, discussed in [HH02]: the authors define in a different way the weights κ of the convex combination. The coupling of the Extended Finite Elements spaces

(XFEM) with Nitsche's technique creates the *Unfitted Interface Penalty* (UIP) method.

We focus on the complete analysis of the UIP method, following and improving both [HH02] and [Reu08]: in literature there isn't a comprehensive analysis of the method. We derive important properties of the XFEM space and we prove interesting results about the condition number of the problem. We introduce an innovative result: we define a suitable preconditioner which is able to stabilize the problem with respect to the position of the interface.

Later, we discuss the numerical results obtained solving both mono-dimensional and two-dimensional problems. These results validate the method and the preconditioner definition: the UIP linear system is well-posed and it is not affected by the position of the interface.

In the last part we present the parabolic case in which the internal interface is time-dependent.

Capitolo 1

Motivazioni ed obiettivi dell'ingegneria dei tessuti

1.1 La medicina rigenerativa

L'ingegneria tissutale è quella branca dell'ingegneria biomedica che si occupa della ricostruzione in vitro di tessuti biologici. Le ricadute di tali studi sono evidenti e importanti. La ricostruzione artificiale di tessuti trova infatti una diretta applicazione nell'ambito della medicina rigenerativa, dove si cerca di sostituire tessuti biologici danneggiati con altrettanti sani. Lo sviluppo di tessuti in vitro permetterebbe di risolvere alcune problematiche importanti che riguardano il trapianto e la sostituzione di organi danneggiati da patologie o da traumi. Ad oggi esistono sofisticate tecniche di chirurgia ricostruttiva mediante le quali organi o parti di essi vengono sostituiti e resi nuovamente funzionali. Gli interventi praticati possono essere di diverso tipo: trapianti autologhi, trapianti eterologhi e sostituzione con dispositivi artificiali. Riportiamo ora brevemente quali sono i vantaggi e gli svantaggi collegati a ciascuna di queste soluzioni.

Per trapianti autologhi si intende trapianti in cui vengono utilizzate parti di tessuto provenienti dal medesimo paziente che ne richiede. Questa soluzione ha sicuramente il vantaggio di rendere minime le probabilità di rigetto ma deve fare i conti con la limitata disponibilità di materiale autologo da trapiantare. Nell'organismo umano, non tutti i tessuti sono presenti in quantità tali da permettere di poter essere prelevati e sostituiti ad altri danneggiati, inoltre non sempre è possibile riottenere la medesima funzionalità del tessuto traumatizzato utilizzando tessuto analogo ma proveniente da altri siti e perciò avente funzionalità differenti.

Nel caso di trapianti eterologhi il problema della disponibilità è risolto solo in parte. I tessuti trapiantati provengono in questo caso da donatori esterni, che sono tuttavia in numero alquanto insufficiente rispetto alle richieste dei pazienti. Il trapianto eterologo va inoltre incontro a due possibili forme di rigetto: la prima di tipo acuto, sopraggiunge nel breve periodo che segue il trapianto, essa è stata risolta grazie allo sviluppo di sofisticati farmaci anti-rigetto che tuttavia aumentano la probabilità di insorgenza di neoplasie; il secondo tipo è chiamato rigetto cronico e consiste nel deterioramento del tessuto trapiantato e delle sue funzionalità sul lungo periodo. É

dunque possibile che organi trapiantati richiedano, con l'avanzare del tempo, una nuova sostituzione, fatto che costituisce una forte limitazione soprattutto nel caso di trapianti effettuati in giovane età.

Per risolvere gli svantaggi correlati ai trapianti si sono sviluppate tecniche di costruzione di dispositivi artificiali, partendo dalle protesi e arrivando ad organi artificiali veri e propri. Tuttavia questa soluzione presenta forti limitazioni in quanto non è possibile sostituire le complesse reazioni biochimiche e non è possibile riprodurre artificialmente le complesse funzioni cellulari che avvengono all'interno del nostro organismo.

In questo contesto è stata avanzata una soluzione differente che ha lo scopo di ricostruire i tessuti *in vivo* o *in vitro* partendo da poche cellule prelevate dal paziente stesso in modo tale da innescare le reazioni biologiche che il tessuto danneggiato non è più in grado di riprodurre. *Queste tecniche richiedono, per un loro corretto sviluppo e utilizzo, che i medici si avvalgano della collaborazione di altre figure professionali quali biologi, chimici e ingegneri. Si tratta infatti, non solo di osservare come avvengono alcuni fenomeni fisiopatologici e agire di conseguenza, ma di progettare e costruire sistemi innovativi per generare una nuova classe di dispositivi composti da materiale artificiali e componenti biologiche.*[MRRA09]

1.1.1 Il tessuto cartilagineo

In questo lavoro prendiamo in considerazione un tipo di tessuto specifico: la cartilagine articolare che è localizzata sulla superficie delle articolazioni presenti nel nostro organismo. La cartilagine articolare fa parte di quel tipo di cartilagine detta *ialina* ed è formata principalmente da collagene e da proteine chiamate proteoglicani. Queste componenti sono importanti per le funzioni di sostegno e di flessibilità che devono caratterizzare il tessuto cartilagineo. In particolare, la tipologia articolare presenta uno spessore che può variare da 1 a 7 mm e, come ogni tessuto, è composta da cellule e da matrice extracellulare. Il tessuto cartilagineo presenta una precisa organizzazione gerarchica, in cui si possono riconoscere scale di tempo e scale spaziali molto diverse. Si passa infatti dalla grandezza caratteristica delle molecole presenti all'interno delle cellule pari a 10^{-9} m allo spessore globale di 10^{-3} m, con un salto di 6 ordini di grandezza.

Le cellule della cartilagine si chiamano condrociti e, nei tessuti connettivi, quali la cartilagine, le ossa e la pelle, esse sono presenti in quantità esigue rispetto alla matrice extracellulare. I condrociti sono situati in specifiche cavità, in ciascuna delle quali si possono trovare una o poche cellule raggruppate insieme; le cavità sono tra loro molto distanziate e distribuite uniformemente nel tessuto cartilagineo. Il condrocita svolge diverse funzioni: proliferazione, migrazione, differenziazione, metabolismo, adesione, espressione proteica, morte. Il compito principale dei condrociti consiste nella produzione delle proteine che formano la matrice extracellulare (ECM). Nella cartilagine articolare essa è formata per il 60% da acqua, per il 15% – 22% da collagene e per il 4% – 7% da proteoglicani (PG) che, a loro volta, sono formati da catene di glicosamminoglicani (GAG). Il collagene e i proteoglicani formano una matrice amorfa e isotropa. La matrice extracellulare ha il ruolo importante di supporto e di

coesione del tessuto ma non solo, essa è importante anche in tante funzioni cellulari. L'ECM influisce infatti sui processi di migrazione, proliferazione, differenziazione e morte e, inoltre, veicola la trasduzione di segnali e molecole per la comunicazione inter-cellulare. Il rapporto tra cellule e matrice extracellulare è quindi governato da una stretta reciprocità dinamica.

La disposizione e la concentrazione delle diverse componenti varia a seconda del livello di profondità che si vuole analizzare. La cartilagine ialina si suddivide in tre zone a seconda della distanza dalla superficie ossea. Nella zona più interna i condroblasti hanno forma tondeggiante e la matrice extracellulare è presente in quantità elevata. All'allontanarsi dalla superficie ossea il contenuto di matrice diminuisce e sulla parte superficiale le cellule sono più allungate a causa delle compressioni a cui sono sottoposte (figura 1.1).

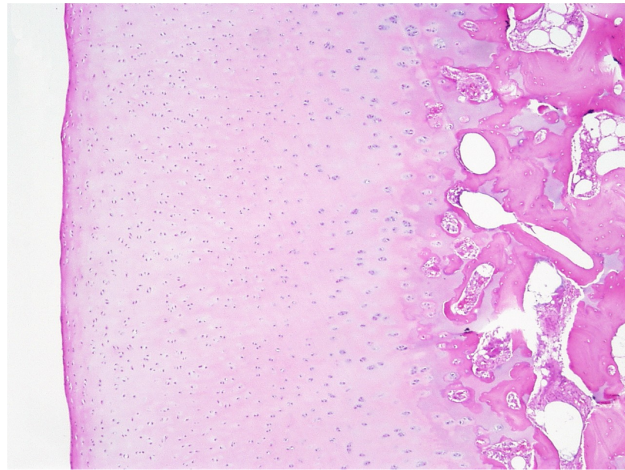


Figura 1.1: Tessuto cartilagineo: a sinistra zona superficiale, a destra zona più interna in corrispondenza della superficie ossea.

Il tessuto cartilagineo non è un tessuto statico, al contrario è caratterizzato da continui processi di sintesi e degradazione di ECM, regolati sia da stimoli chimici sia da stimoli meccanici. L'individuazione degli stimoli che regolano la crescita e lo sviluppo del tessuto è un punto di fondamentale importanza per lo sviluppo del tessuto ingegnerizzato. Una caratteristica importante della cartilagine è che essa è priva di vasi sanguigni, di terminazioni nervose e di cellule del sistema immunitario, per cui l'apporto di elementi nutritivi avviene primariamente per diffusione, facilitata dal movimento del fluido che si trova all'interno del tessuto. La cartilagine, e in special modo la cartilagine articolare, viene infatti sottoposta normalmente a sollecitazioni di compressione che inducono un continuo movimento della fase liquida contenuta nel tessuto stesso.

L'assenza di vasi e di terminazioni nervose rappresenta dal punto di vista ingegneristico un vantaggio, in quanto, nell'esperimento *in vitro*, non c'è necessità di dover

perfondere la cartilagine con il sangue e la sua sintesi può avvenire a prescindere dalla ricostruzione di vasi e di terminazioni nervose che caratterizzano invece tanti altri tessuti. Da un altro punto di vista invece, proprio la mancanza di vasi e terminazioni nervose è svantaggiosa poichè è causa delle scarse proprietà di rigenerazione di questo tessuto e rende la cartilagine maggiormente esposta a danneggiamenti permanenti. A causa di traumi meccanici o di microtraumi ripetuti, anche in soggetti giovani, la cartilagine articolare può andare incontro a processi di riassorbimento che possono portare fino all'esposizione dell'osso. Non essendo in grado di autorigenerarsi, la cartilagine danneggiata deve necessariamente essere trattata mediante un intervento esterno. Esistono diverse tecniche chirurgiche per operare in queste situazioni ma nessuna di esse ha mai avuto un consistente successo. Per la cartilagine è quindi molto importante lo studio attuato dall'ingegneria dei tessuti, che deve sapere identificare gli stimoli che innescano i processi di produzione e degradazione e deve saperli riprodurre correttamente *in vitro*.

1.2 Analisi sperimentale

1.2.1 Il sistema per la costruzione di un tessuto ingegnerizzato

Per la generazione del tessuto cartilagineo ingegnerizzato sono necessari tre elementi di partenza: le cellule, lo scaffold e il condizionamento chimico fisico. Come già detto nel precedente paragrafo, le cellule della cartilagine sono i condrociti, che vengono prelevati da un organismo e fatti proliferare in colture cellulari. Essi vengono successivamente seminati sullo scaffold, che è una matrice che sostituisce, nelle prime fasi di crescita, la matrice extracellulare. Lo scaffold è tipicamente costituito da un materiale polimerico poroso e biodegradabile e deve essere in grado di svolgere le funzioni proprie della ECM, quali il supporto e l'adesione cellulare (figura 1.2). Per promuovere la crescita del tessuto è poi necessario creare le corrette condizioni chimico fisiche per lo sviluppo fisiologico. Per questo motivo lo scaffold viene immerso in un liquido, che prende il nome di *mezzo di coltura*, nel quale si trovano disciolte diverse sostanze nutritive, come il glucosio e l'ossigeno, e che rifornisce pertanto le cellule del nutrimento necessario.

Vi sono specifiche condizioni che favoriscono la condrogenesi, le quali includono stimoli di natura chimica e meccanica. In particolare è stato rilevato che un moderato sforzo di taglio esercitato sulla membrana cellulare è in grado di inviare segnali specifici alle cellule della cartilagine, segnali che stimolano la proliferazione delle cellule, ne incrementano il metabolismo e aumentano la produzione di matrice extracellulare. Lo stimolo meccanico deve però essere regolato all'interno di una preciso range di valori, in corrispondenza a quanto si verifica in vivo: sforzi troppo elevati possono infatti inibire la sintesi di GAG e di collagene. Fra gli stimoli chimici è stato registrato che l'apporto di ossigeno ricopre un ruolo fondamentale nello sviluppo della cartilagine.

Il condizionamento chimico fisico e le caratteristiche proprie del sistema in vivo vengono riprodotti grazie all'utilizzo di un bioreattore, il quale è costituito da un

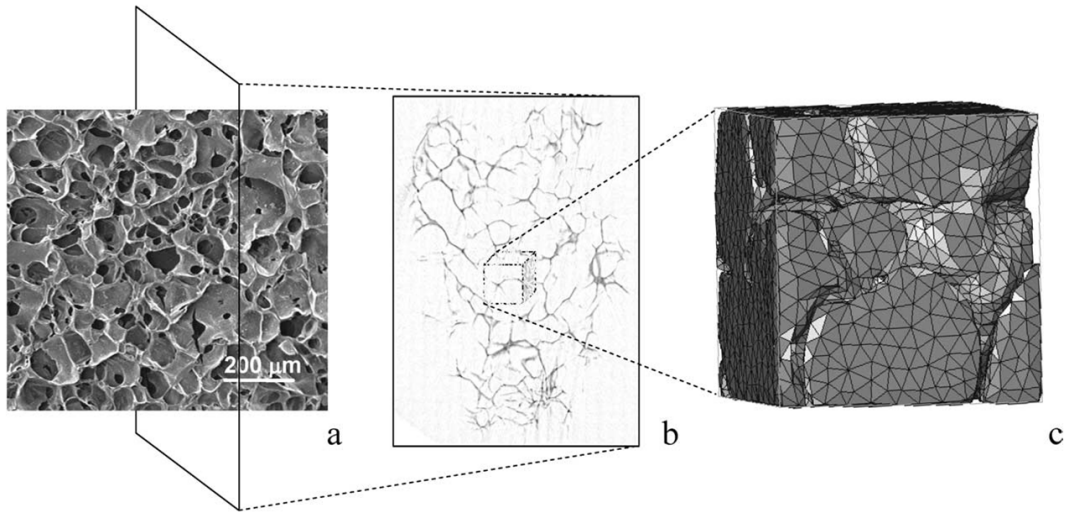


Figura 1.2: (a) Immagine della microstruttura dello scaffold; (b) Immagine dello scaffold acquisita tramite micro-computed tomography (μ -CT); (c) Esempio di costruzione di un dominio di calcolo su una porzione dello scaffold.

ambiente sterile in cui viene posto lo scaffold e all'interno del quale si realizzano tutti i processi necessari alla formazione del tessuto. I processi biologici e biochimici che avvengono all'interno di un bioreattore vengono attentamente monitorati e controllati tramite la regolazione di opportuni parametri (pH, temperatura, pressione, apporto di nutrienti e rimozione di sostanze di scarto). Questo sistema nasce per risolvere il problema della scarsa diffusione di ossigeno nello scaffold e per rimuovere i cataboliti dal costrutto. Infatti, se il mezzo di coltura si trova in condizioni statiche, generalmente si registra una zona di necrosi nella parte più interna dello scaffold, con poca deposizione di matrice extracellulare. L'idea principale alla base del bioreattore risiede nella possibilità di sviluppare il movimento convettivo del mezzo di coltura per incrementare il trasporto di nutrienti e la rimozione delle sostanze di rifiuto. È importante che i bioreattori sappiano riprodurre anche le variazioni che l'ambiente chimico-fisico deve subire per una corretta crescita del tessuto.

In generale, il ciclo di generazione e di utilizzo di un tessuto ingegnerizzato si suddivide nelle seguenti fasi, come riportato in [MRR09]:

1. scelta del tipo cellulare;
2. scelta dello scaffold e della sua struttura;
3. semina delle cellule sullo scaffold;
4. coltura in condizioni dinamiche;
5. replica e differenziazione cellulare (se necessaria);
6. secrezione di ECM da parte delle cellule;

7. rimodellamento dei materiali della ECM;
8. impianto nel paziente;
9. adattamento ed assimilazione dell'impianto.

Analizziamo brevemente le fasi del ciclo specificatamente per la cartilagine. Per quanto riguarda la fase 1., abbiamo già riportato che l'unica componente cellulare presente all'interno della cartilagine è costituita dai condrociti. Per la fase 2. sottolineiamo l'importanza del carattere tridimensionale dello scaffold, che deve essere in grado di ricreare la struttura altrettanto tridimensionale del tessuto cartilagineo. Infatti è stato dimostrato da studi sperimentali che i condrociti si de-differenziano in fibroblasti se vengono coltivati in strati bidimensionali, mentre riesprimono il loro fenotipo se impiantati su uno scaffold tridimensionale. Anche la modalità di semina cellulare (fase 3.) riveste un ruolo fondamentale. I condrociti infatti non possono essere disposti unicamente sui bordi esterni ma, per ottenere uno sviluppo omogeneo del tessuto, devono essere uniformemente distribuiti anche all'interno dello scaffold (figura 1.3).

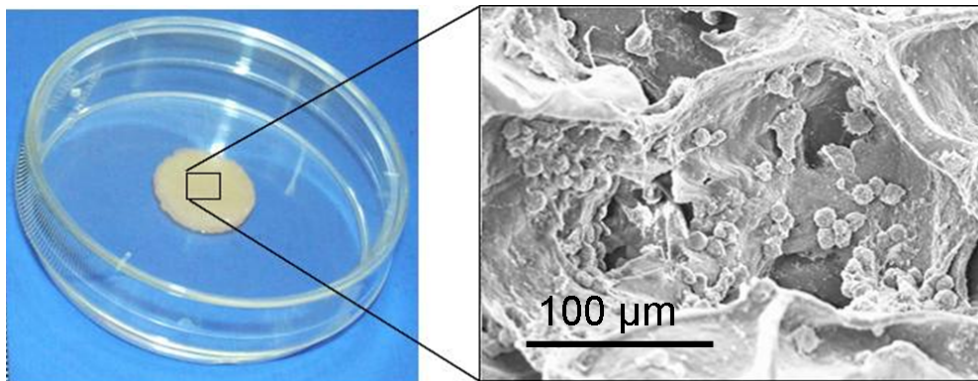


Figura 1.3: A sinistra: immagine alla macroscala di uno scaffold. A destra: immagine alla microscaletta della semina di condrociti.

Alla fase di semina e di attecchimento delle cellule alla matrice segue poi la fase di coltura vera e propria (fase 4.). Il bioreattore deve essere in grado di garantire che il fluido di nutrienti riempia i pori dello scaffold, affinché le cellule possano assorbire le sostanze necessarie alla proliferazione, all'espressione proteica e allo svolgimento delle funzioni elencate nei punti 5., 6. e 7.. Il bioreattore deve inoltre garantire che il fluido raggiunga tutte le cellule, anche quelle interne e deve saper riprodurre quello stato di sollecitazione meccanica a cui la cartilagine articolare è normalmente sottoposta. Nel corso degli anni sono state progettate diverse tipologie di bioreattori, che si distinguono a seconda della modalità con cui il fluido viene messo in movimento. Il primo tentativo di bioreattore è lo stirred flask, nel quale la convezione

di nutrienti e di ossigeno nelle regioni più interne dello scaffold rimane limitata, comportando la crescita di costrutti irregolari. Inoltre vi è la formazione di vortici turbolenti che impongono sforzi eccessivi sulla membrana cellulare causando la de-differenziazione delle cellule. Una seconda tipologia prevede la formazione di un flusso laminare tramite la messa in rotazione del mezzo di coltura: in questo modo si incentiva il trasporto di massa e si esercitano sforzi di taglio locali. Recentemente sono stati sviluppati bioreattori a perfusione diretta, nei quali il fluido viene spinto parallelamente alla sezione trasversale della scaffold, grazie all'utilizzo di una pompa peristaltica (figure 1.5 e 1.4).

La perfusione diretta è capace di promuovere la proliferazione delle cellule e di regolare la sintesi di collagene e di GAG. Questi benefici sono collegati all'incremento di ossigenazione e alla rimozione di cataboliti, indotta dal flusso convettivo interstiziale nelle zone più interne del costrutto, dove si ha la maggior densità di cellule. Anche in questo caso vengono esercitati sforzi di taglio sulla superficie delle cellule. Quanto detto suggerisce che un bioreattore efficiente deve garantire un ambiente in cui la fluido-meccanica sappia fornire un corretto livello di ossigenazione ed esercitare moderati sforzi di taglio. Raggiungere il giusto equilibrio non è semplice, poichè bisogna comprendere a fondo la relazione fra geometria delle matrici porose, flusso di perfusione, scambi di nutrienti e di prodotti secondari del metabolismo e proliferazione e migrazione cellulare.

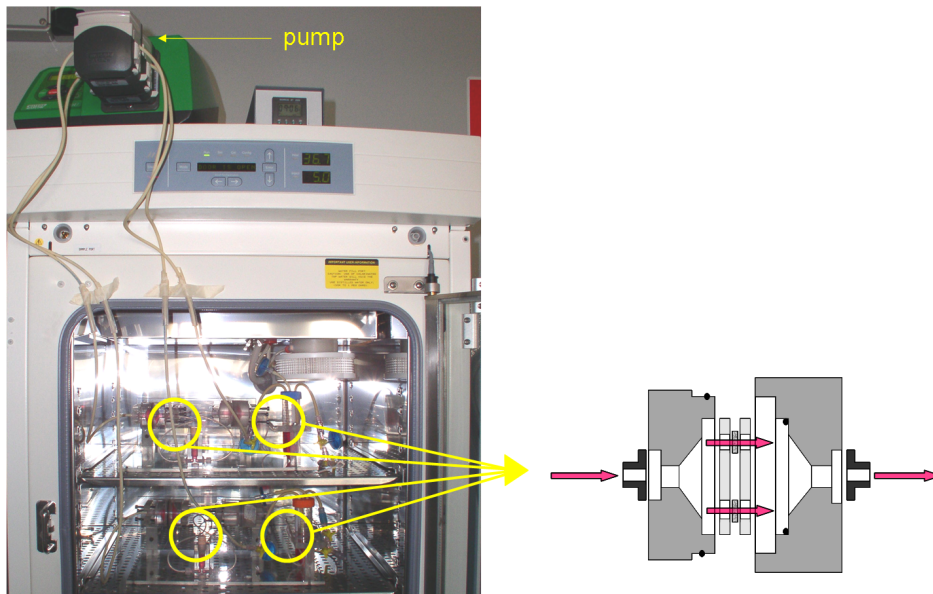


Figura 1.4: A sinistra: Fotografia di un bioreattore a perfusione diretta con quattro camere di coltura. A destra: schematizzazione di una camera di coltura.

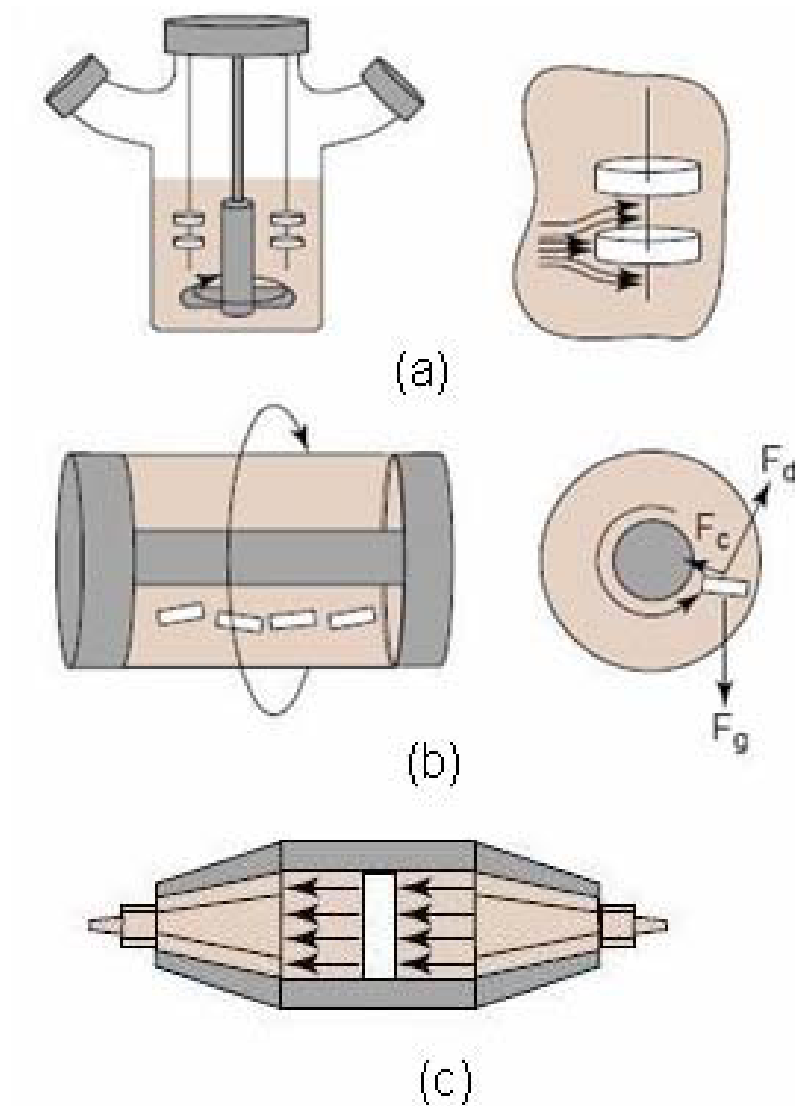


Figura 1.5: Esempi di bioreattori: (a) *Stirred Flasks*; (b) *bioreattore a rotazione*; (c) *bioreattore a perfusione diretta*.

Inoltre bisogna considerare che vi è una relazione non lineare fra le condizioni biofisiche sperimentate alla scala dei pori dello scaffold e alla scala cellulare, con quelle registrate alla scala macroscopica, sulla quale vengono regolati i parametri di progetto.

Un'altra difficoltà che si riscontra nella progettazione di un bioreattore riguarda la misura delle varie grandezze che entrano a far parte del sistema, come ad esempio la registrazione dell'intensità dello sforzo di taglio sulla biomassa che cresce. Molte grandezze, infatti, non sono accessibili e l'elaborazione dei dati spesso non fornisce un disegno chiaro e corretto dei fenomeni che avvengono alla scala microscopica.

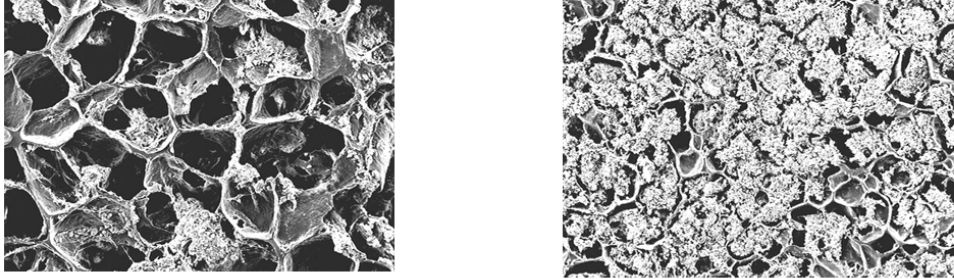


Figura 1.6: *A sinistra: costruito al tempo iniziale. A destra: costruito in fase avanzata.*

Dopo la ricostruzione del tessuto nel bioreattore seguono le fasi finali medico-chirurgiche di inserimento dell'impianto nel paziente (fasi 8. e 9.). Per ottimizzare il ciclo di generazione del tessuto, l'analisi matematico-numerica può essere lo strumento fondamentale sia nella fase di scelta e di costruzione dello scaffold, che nelle fasi centrali del ciclo, riguardanti la ricostruzione vera e propria del tessuto. D'altra parte, in letteratura, non è ancora stato proposto un modello che possa essere sufficientemente esauriente e che possa permettere delle previsioni quantitative sulle caratteristiche del costruito ingegnerizzato.

1.3 Analisi teorica

1.3.1 La modellistica matematica per lo studio di sistemi complessi

Nei bioreattori a perfusione diretta è necessario ottimizzare sia la diffusione dell'ossigeno che la distribuzione degli sforzi locali, i quali non possono essere misurati. In questo scenario, la matematica e i modelli computazionali sono in grado di fornire un valido supporto sia alla comprensione del sistema che alla progettazione di nuovi e più efficienti bioreattori.

Lo studio di questi sistemi complessi richiede l'accoppiamento di modelli per la fluidodinamica computazionale (CFD) con l'equazione di diffusione-trasporto-reazione per la concentrazione dei nutrienti e con l'equazione per la crescita di biomassa.

I primi modelli sviluppati consideravano lo scaffold come un mezzo poroso continuo e, per questo motivo, l'effettiva fluidodinamica e la distribuzione degli sforzi all'interno dello scaffold non potevano essere valutati.

Una seconda strada, sviluppata successivamente, ha visto la formulazione di modelli CFD alla microscala, la scala dei pori dello scaffold, [RBF⁺02], [RMC⁺06], [Cio06]. Questi modelli sono nati con lo scopo di predire sia la distribuzione di ossigeno che quella degli sforzi locali all'interno della reale geometria del costruito. Le prime simulazioni considerano una geometria semplificata, mentre successivamente si considera la geometria reale: si ricostruisce il dominio di calcolo a partire da immagini μ -CT dello scaffold. L'approccio prevede di eseguire in dettaglio la

simulazione CFD, per calcolare il campo di moto del fluido sulle pareti dello scaffold; per tener conto del livello di ossigenazione all'interno della struttura del poro viene quindi formulata l'equazione di diffusione-trasporto, nella quale è incorporata la presenza delle cellule tramite la definizione di un opportuno termine di reazione; infine, viene scritta l'equazione di evoluzione della biomassa prendendo spunto da modelli cellulari [GL00], [GL00]. L'aspetto positivo del modello è il contributo che fornisce alla comprensione e alla descrizione delle condizioni che favoriscono lo sviluppo iniziale del tessuto cartilagineo. Un limite significativo risiede nel fatto che esso trascura le modifiche a cui è soggetto il fluido nutriente a causa dell'aumento di trasferimento di ossigeno dovuto alla crescita cellulare. Per questo esso risulta valido solo nel breve periodo, quando la quantità di ECM prodotta dalle cellule non è tale da dar luogo ad un'alterazione rilevante dell'ambiente. Un'ulteriore limitazione è la validazione con le misure sperimentali: l'ambiente presente all'interno del poro è confrontabile con i risultati computazionali del modello solo a livello visivo, tramite l'acquisizione di immagini. Esse non forniscono un responso quantitativo e sono soggette alla posizione alla quale vengono rilevate. Queste limitazioni hanno spinto ad abbandonare lo studio della scala microscopica del sistema e a pensare ad un'analisi diversa, in grado di indagare la coesistenza di molteplici scale, sia spaziali che temporali all'interno dello stesso sistema.

Un modello matematico che sia di supporto per la comprensione e la progettazione di sistemi complessi quali i bioreattori deve basarsi sul seguente approccio metodologico, che seguiremo nello svolgimento della nostra tesi:

1. Simulare la dinamica di evoluzione dell'ambiente e simulare le condizioni biochimiche e biofisiche in cui si trovano le cellule, in particolare il livello di ossigenazione e la distribuzione degli stress, come funzione di parametri di controllo macroscopici, sia nel breve periodo che nel lungo periodo.
2. Simulare la crescita di biomassa, funzione degli stimoli chimici e meccanici precedentemente considerati.
3. Introdurre un meccanismo che sia in grado di simulare gli effetti della formazione di nuova biomassa sull'ambiente nel lungo periodo, quali i cambiamenti nella geometria del costruito e la variazione nell'assorbimento dei nutrienti.

Possiamo sottolineare come la modellistica matematica cerchi in questo contesto di sviluppare modelli predittivi, basati su un uso fortemente accoppiato e interdisciplinare di simulazioni ed esperimenti. In tal modo si possono identificare accuratamente i parametri fondamentali per la progettazione di nuove geometrie di scaffold e di bioreattori, che siano più funzionali e ottimali per la crescita di tessuti ingegnerizzati.

Capitolo 2

Analisi Multiscala

In questo capitolo ci occupiamo di descrivere le scale spazio-temporali che caratterizzano il sistema. In seguito sviluppiamo il metodo del *Volume Averaging*, necessario per effettuare l'*upscaling* e passare da una descrizione a livello microscopico dei fenomeni che interessano il sistema multifasico, ad una descrizione degli stessi a livello macroscopico.

2.1 Scale spaziali

L'ingegneria tissutale deve confrontarsi con strutture che possono essere studiate a differenti livelli di dettaglio e, alle diverse scale, si osservano fenomeni differenti o con proprietà diverse. A tale scopo precisiamo ora il significato delle varie scale spaziali che saranno considerate nel nostro lavoro e, chiamando u una generica grandezza, specifichiamo la notazione che sarà utilizzata.

Le scale considerate sono principalmente quattro:

- Macroscala. Questa è la scala alla quale il costrutto viene trattato come un continuo, al suo interno quindi non si distingue la biomassa dalle fibre dello scaffold e dal fluido di nutrienti. L'ordine di grandezza di tale scala è quello dei centimetri e la lunghezza caratteristica è solitamente quella dello spessore del costrutto. Indichiamo le variabili di questa scala con la notazione:

$$u$$

Il sistema alla macroscala è un sistema *monofasico*.

- Mesoscala. Il dettaglio di questa scala permette di distinguere le fibre dello scaffold, il fluido di nutrienti e la biomassa, anche se in quest'ultima ancora non si distinguono le cellule dalla matrice extracellulare. La dimensione caratteristica di questa lunghezza varia dalle decine di micron ai millimetri. Ci riferiamo alla mesoscala con la seguente notazione:

$$\tilde{u}$$

Il sistema alla mesoscala è un sistema *trifasico*.

- Microscala. Alla microscala si distingue la matrice extracellulare dalle cellule. All'interno del volume di controllo quindi si considera un mezzo eterogeneo, bifasico. L'ordine di grandezza caratteristico è quello dei micron e le grandezze microscopiche sono indicate con:

$$\hat{u}$$

Il sistema alla microscala è un sistema *bifasico*.

- Scala Subcellulare. Questa scala tiene in considerazione tutti i processi di trasporto e reazione che avvengono a livello della membrana cellulare. La sua lunghezza caratteristica è dell'ordine dei nanometri. La definizione di questa scala sarà utile per poter operare alcune considerazioni nel corso del lavoro, tuttavia il più piccolo livello di dettaglio a cui saranno costruiti i modelli sarà quello microscopico, per questo motivo non è necessario specificare una notazione per questa scala.

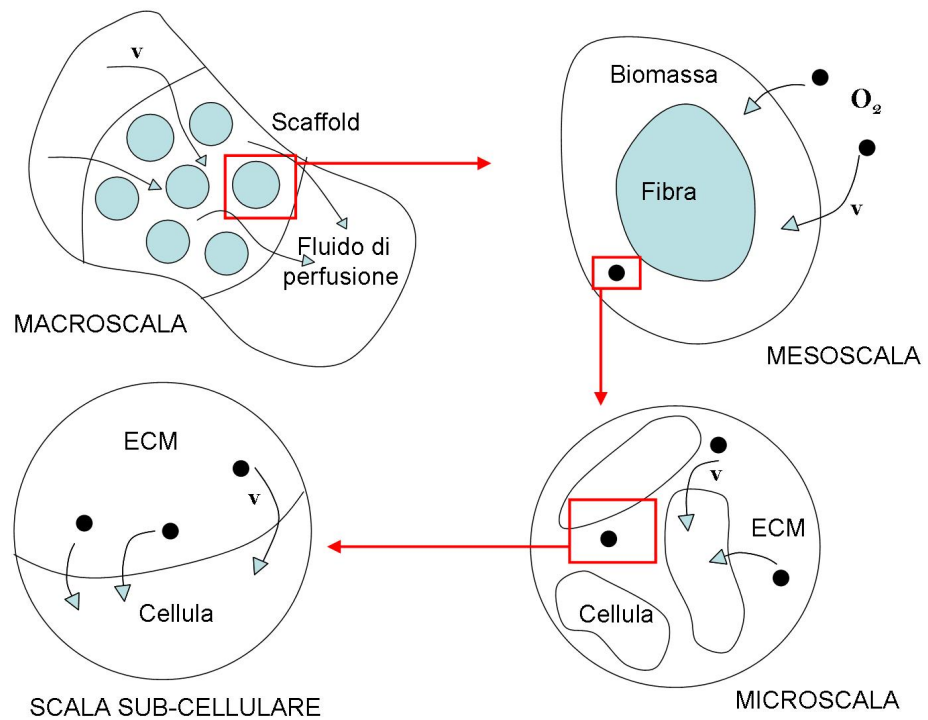


Figura 2.1: Rappresentazione multiscala di un tessuto ingegnerizzato.

Nella tesi rivestono una particolare importanza i processi di passaggio da una scala all'altra che possiamo suddividere in due gruppi, a seconda della *direzione* in cui si orientano.

- **Upscaling.** Il procedimento di upscaling prevede il passaggio dalla microscala alla macroscale. Tenendo conto dei fenomeni e delle reazioni che avvengono alle scale più piccole è importante poter produrre modelli che riescano a dare una stima di quantità macroscopiche confrontabili con le misurazioni sperimentali. Questo passaggio di scala è attuato attraverso la tecnica del *Volume Averaging* a cui è dedicata la sezione (2.2) e che opera attraverso la definizione di opportune medie spaziali, coerenti con le quantità misurate, e la derivazione di equazioni mediate e di coefficienti di reazione e diffusione effettivi, che intervengono alla scala macroscopica.
- **Downscaling.** Al contrario del precedente il downscaling prevede il passaggio da scale superiori a scale inferiori. Una volta ottenuto un risultato in media, è necessario poter scendere nel dettaglio di un volume più piccolo, imponendo come condizioni al bordo quelle ottenute da un modello macroscale. Lo studio di questo passaggio è necessario ai fini di un confronto tra le immagini microscopiche del tessuto con i risultati sperimentali, per poter controllare il corretto sviluppo nella parte interna del costruito, difficilmente raggiungibile dai fluidi dei nutrienti.

2.2 Il metodo del Volume Averaging

I metodi per la misura di processi chimico-fisici che avvengono all'interno di cellule sono in continua evoluzione: è possibile misurare la velocità di fenomeni che avvengono a scala subcellulare e determinare la distribuzione spaziale di specie chimiche all'interno delle cellule stesse. Questa descrizione dettagliata è utile per comprendere come i processi avvengano all'interno del sistema cellulare, ma in generale è eccessiva nelle applicazioni, in quanto contiene più informazioni di quelle strettamente necessarie. E' perciò importante possedere un qualche mezzo che permetta di effettuare l'*upscaling*, ovvero che sia capace di collegare la descrizione della materia cellulare condotta a scala subcellulare, microscopica o mesoscopica, alla descrizione fatta alla macroscale, usata nella maggior parte delle applicazioni ingegneristiche e biotecnologiche.

Il metodo che viene seguito per effettuare l'*upscaling* è il metodo del *Volume Averaging*. Le informazioni contenute a livello di piccola scala vengono mediate su un opportuno volume di controllo e trasferite ad una scala più elevata. Il metodo può essere usato sia per effettuare il passaggio micro/macroscale sia per il passaggio meso/macroscale, l'importante è definire in modo appropriato le fasi identificabili alla scala più piccola.

Il metodo del volume averaging presenta dei notevoli vantaggi e permette di soddisfare le seguenti richieste:

- fornire le equazioni di trasporto-reazione alla macroscale;
- fornire un'opportuno grado di generalità: le equazioni mediate contengono alcuni *parametri effettivi* che sono definiti in funzione della geometria, dei parametri di reazione cinetica e della diffusività della scala micro/mesoscopica;

- individuare in modo immediato i vincoli che il problema deve soddisfare.

Per sviluppare e analizzare il metodo, seguiamo alcuni lavori presenti in letteratura, fra cui [WW98a], [WW98b] e [WQW02] in cui il metodo del Volume Averaging è usato per analizzare e studiare la diffusione e la reazione nei biofilms. In realtà la trattazione è facilmente generalizzabile a sistemi multifasici in cui avvengono fenomeni diffusivo-reattivi, quali appunto il sistema cellulare. Per estendere e sviluppare il metodo in modo corretto è necessario identificare in modo opportuno le scale del sistema e definire le fasi che lo costituiscono.

2.2.1 Descrizione del sistema cellulare in esame

Per sviluppare adeguatamente il metodo bisogna identificare e chiarire le strutture multiscala che caratterizzano il sistema in esame. A questo riguardo facciamo riferimento alla suddivisione in scale introdotta nella sezione (2.1).

Definiamo *volume di controllo* V una parte di volume del sistema, in cui sia possibile distinguere a livello di scala microscopica (o mesoscopica) le diverse fasi che lo compongono, come mostrato in figura.

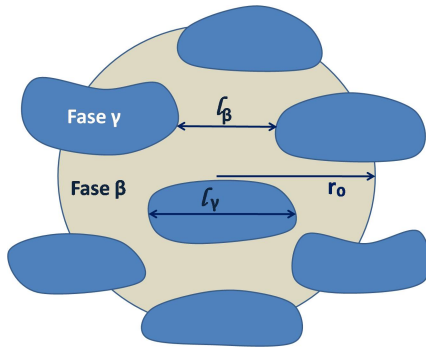


Figura 2.2: Volume di controllo V

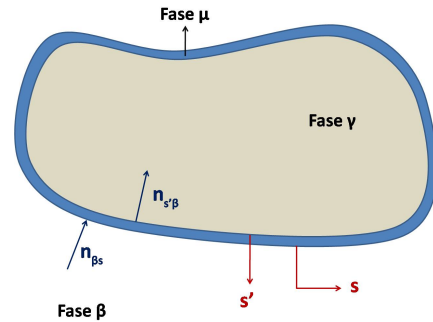


Figura 2.3: Modello di una cellula

Definiamo:

- β la fase extracellulare;
- γ la fase intracellulare;
- μ la membrana cellulare.

Identifichiamo e definiamo anche alcune lunghezze caratteristiche, quali:

- r_0 , raggio del volume di controllo V ;
- l_β , lunghezza caratteristica della fase extracellulare β ;
- l_γ , lunghezza caratteristica della fase intracellulare γ .

Prendiamo in esame la concentrazione di una singola specie chimica A che diffonde, viene trasportata e reagisce all'interno del sistema multifasico. In particolare, in un sistema cellulare, la specie chimica che viene considerata può essere il nutriente necessario per le funzioni metaboliche e per la crescita cellulare, quale ossigeno o glucosio, o sostanze di scarto prodotte dalle cellule stesse. Definiamo:

- \hat{c}_i la concentrazione della specie A all'interno della fase i -esima, secondo la notazione introdotta nella sezione (2.1);
- s e s' le superfici che racchiudono la membrana;
- $A_{\beta s}$ l'interfaccia $\beta - s$, $A_{s'\gamma}$ l'interfaccia $s' - \gamma$ e così via.

Il trasporto di massa e i processi di reazione che avvengono a livello di microscala sono principalmente tre: (1) la diffusione della specie nella fase β , che viene trattata come un continuo, (2) il trasporto alla fase intracellulare attraverso la membrana e (3) il trasporto e la reazione all'interno della fase γ , anch'essa trattata come un continuo. Le scale di lunghezza e di tempo associate a questi tre processi vanno a definire particolari vincoli a seconda dei quali la descrizione alla mesoscala dei processi diffusivi e reattivi a cui è sottoposta la concentrazione della specie A rientra in uno dei seguenti regimi:

- *Regime 1*
Se è valido il principio di *equilibrio di massa locale*, la descrizione complessiva dei processi di trasporto e di reazione può essere svolta tramite una singola equazione. Viene sviluppato il *modello ad una equazione* che richiede la verifica della validità di alcuni vincoli sulle scale di lunghezza e di tempo.
- *Regime 2*
Se il principio di equilibrio locale di massa non è valido, allora viene sviluppato un *modello a due equazioni* per descrivere in modo appropriato il sistema. In un modello di questo tipo i valori della concentrazione della specie nella fase β e nella fase γ devono essere determinati da equazioni separate, che vengono successivamente accoppiate tramite un coefficiente di trasferimento di massa.
- *Regime 3*
Il terzo regime considera il caso in cui il coefficiente di tasso di reazione è sufficientemente elevato, per cui la concentrazione della specie nella fase intracellulare è trascurabile se paragonata a quella della fase extracellulare. Viene sviluppato uno *pseudo modello ad una equazione*, dove una singola equazione descrive il processo di trasporto, ma ci sono due diverse concentrazioni, quella nella fase β e quella nella fase γ .

2.2.2 Le equazioni a scala microscopica

Scriviamo le equazioni che caratterizzano la diffusione, il trasporto e la reazione delle concentrazioni della specie A all'interno delle fasi che costituiscono il sistema:

Equazione di trasporto nella fase extracellulare β :

$$\frac{\partial \hat{c}_\beta}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\beta = R_\beta \quad \text{nella fase } \beta \quad (2.1)$$

Equazione di trasporto nella fase intracellulare γ :

$$\frac{\partial \hat{c}_\gamma}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\gamma = R_\gamma \quad \text{nella fase } \gamma \quad (2.2)$$

Equazione di trasporto attraverso la superficie s :

$$\begin{aligned} & \underbrace{\frac{\partial \hat{c}_s}{\partial t}}_{\text{accumulo in superficie}} + \underbrace{\hat{c}_s (\nabla_s \cdot \mathbf{n}_{\beta s}) (\mathbf{w} \cdot \mathbf{n}_{\beta s})}_{\text{effetti di cambiamento della superficie}} + \underbrace{\nabla_s \cdot \hat{\Phi}_s}_{\text{trasporto}} = \\ & = \underbrace{(\hat{\Phi}_\beta - \hat{c}_\beta \mathbf{w}) \cdot \mathbf{n}_{\beta s}}_{\text{flusso molare dalla fase } \beta} - \underbrace{(\hat{\Phi}_\mu - \hat{c}_\mu \mathbf{w}) \cdot \mathbf{n}_{s\mu}}_{\text{flusso molare alla membrana}} + \underbrace{R_s}_{\text{reazione}} \quad \text{su } A_{\beta s} \end{aligned} \quad (2.3)$$

Equazione di trasporto attraverso la superficie s' :

$$\begin{aligned} & \underbrace{\frac{\partial \hat{c}_{s'}}{\partial t}}_{\text{accumulo in superficie}} + \underbrace{\hat{c}_{s'} (\nabla_s \cdot \mathbf{n}_{s'\gamma}) (\mathbf{w} \cdot \mathbf{n}_{s'\gamma})}_{\text{effetti di cambiamento della superficie}} + \underbrace{\nabla_s \cdot \hat{\Phi}'_s}_{\text{trasporto}} = \\ & = \underbrace{(\hat{\Phi}_\mu - \hat{c}_\mu \mathbf{w}) \cdot \mathbf{n}_{\mu s'}}_{\text{flusso molare alla membrana}} - \underbrace{(\hat{\Phi}_\gamma - \hat{c}_\gamma \mathbf{w}) \cdot \mathbf{n}_{s'\gamma}}_{\text{flusso molare dalla fase } \gamma} + \underbrace{R_{s'}}_{\text{reazione}} \quad \text{su } A_{s'\gamma} \end{aligned} \quad (2.4)$$

dove con $\hat{\Phi}_i$ abbiamo indicato il flusso della specie A all'interno della fase i -esima.

Osservazioni:

- La velocità di spostamento della superficie cellulare viene rappresentata tramite il prodotto scalare $\mathbf{w} \cdot \mathbf{n}$. Questa quantità, che riveste un ruolo importante nell'analisi della crescita della cellula, non sembra rivestire la stessa importanza nella descrizione del processo di trasporto di una specie chimica all'interno del sistema cellulare. Inoltre si può verificare sperimentalmente che la velocità di spostamento della parete cellulare è molto piccola e pertanto decidiamo di trascurarla.
- Osserviamo che non sono state scritte equazioni di trasporto per la fase μ . Questo perchè si fa l'ipotesi che la resistenza al trasferimento di massa e l'accumulo di massa siano trascurabili all'interno della membrana cellulare.

Le equazioni di trasporto di massa (2.1)-(2.2) sono completamente generali e possono essere applicate sia a livello di microscala che a livello di mesoscala. Nel momento in cui si pensa ad un sistema specifico, associato alle fasi β e γ , occorre modellare in modo opportuno il flusso della specie all'interno della specifica fase e i tassi di reazione eterogenei, R_β e R_γ .

Le equazioni di trasporto in superficie, (2.3) e (2.4), sono anch'esse generali, a condizione che lo spessore della membrana della cellula sia piccolo se paragonato alle lunghezze di scala l_β e l_γ , riportate in figura (2.2). Per passare ad un modello specifico anche in questo caso è necessario fornire espressioni per i flussi di superficie $\hat{\Phi}_s$ e $\hat{\Phi}_{s'}$ e i tassi di reazione eterogenei R_s e $R_{s'}$. Inoltre viene richiesta la formulazione di un'opportuna equazione costitutiva per il flusso di interfaccia $\hat{\Phi}_\mu$.

Procedendo con lo studio, per sviluppare il modello specifico, secondo quanto detto sopra, poniamo le seguenti **ipotesi**:

- La reazione avviene solo nella fase intracellulare ed è funzione della sola specie A . A seconda della specie che si sta considerando si possono formulare diversi modelli per la descrizione del termine di reazione. In questa parte del lavoro proseguiamo la descrizione del metodo utilizzando il modello cinetico di Michaelis-Menten.
- L'accumulo, la reazione e il trasporto superficiale a livello delle superfici s e s' possono essere trascurati.
- La componente normale del flusso molare è continua attraverso la membrana cellulare.

Poste queste assunzioni, il sistema di equazioni può essere riscritto nella seguente forma semplificata:

Equazione di trasporto nella fase extracellulare:

$$\frac{\partial \hat{c}_\beta}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\beta = 0 \quad (2.5)$$

Equazione di trasporto nella fase γ :

$$\frac{\partial \hat{c}_\gamma}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\gamma = -\frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} \quad (2.6)$$

Equazione di trasporto attraverso la superficie s :

$$0 = \underbrace{\hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta s}}_{\text{flusso molare dalla fase } \beta} - \underbrace{\hat{\Phi}_\mu \cdot \mathbf{n}_{s\mu}}_{\text{flusso molare alla membrana}} \quad \text{su } A_{\beta s} \quad (2.7)$$

Equazione di trasporto attraverso la superficie s' :

$$0 = \underbrace{\hat{\Phi}_\mu \cdot \mathbf{n}_{\mu s'}}_{\text{flusso molare alla membrana}} - \underbrace{\hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{s'\gamma}}_{\text{flusso molare dalla fase } \gamma} \quad \text{su } A_{s'\gamma} \quad (2.8)$$

dove μ_A è il parametro che esprime il massimo tasso di metabolismo della specie A e K_A è il coefficiente di saturazione.

A questo punto bisogna introdurre delle opportune espressioni per la definizione dei flussi della specie A nelle fasi β e γ e definire il flusso attraverso la membrana $\hat{\Phi}_\mu$.

Trasporto di massa attraverso la membrana cellulare

In letteratura sono presenti numerosi modelli che descrivono il trasporto di massa attraverso la membrana cellulare, il quale avviene grazie a particolari proteine che hanno il ruolo di mediatori. I modelli sono solitamente funzione del tipo di cellula, della specie che viene trasportata e delle proteine in gioco.

Nel lavoro di [WW98a] viene sviluppato un modello semplice per il trasporto di ioni o di specie neutre, basato su un insieme di equazioni costitutive per il flusso fra le diverse interfacce. Un modello abbastanza simile è stato sviluppato anche da [OWS00], dove la membrana viene rappresentata come una barriera permeabile e vengono considerate esclusivamente reazioni intercellulari del primo ordine.

Proseguendo con la trattazione di [WW98a], viene fatta l'ipotesi che lo spessore della membrana sia piccolo se paragonato alle dimensioni della cellula. Si giunge alla seguente espressione:

$$\hat{\Phi}_\mu \cdot \mathbf{n}_{\mu s'} = \frac{E_0(\hat{c}_\beta - \alpha_1 \hat{c}_\gamma)}{\alpha_2 + \alpha_3 \hat{c}_\beta + \alpha_4 \hat{c}_\gamma + \alpha_5 \hat{c}_\beta \hat{c}_\gamma} \quad su A_{s'\gamma} \quad (2.9)$$

dove le α_i con $i = 1, \dots, 5$ e E_0 sono delle opportune costanti.

Definiamo P la *permeabilità* della membrana cellulare :

$$P = \frac{E_0}{\alpha_2 + \alpha_3 \hat{c}_\beta + \alpha_4 \hat{c}_\gamma + \alpha_5 \hat{c}_\beta \hat{c}_\gamma} \quad su A_{s'\gamma} \quad (2.10)$$

Osserviamo che, modellata la membrana attraverso il coefficiente di permeabilità, la fase β e la fase γ possono essere poste direttamente in relazione fra loro.

Riassumiamo, per chiarezza, le equazioni a cui si giunge.

$$\frac{\partial \hat{c}_\beta}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\beta = 0 \quad \text{nella fase } \beta \quad (2.11)$$

$$\frac{\partial \hat{c}_\gamma}{\partial t} + \nabla \cdot \hat{\Phi}_\gamma = -\frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} \quad \text{nella fase } \gamma \quad (2.12)$$

B.C.1:

$$\hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} = \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} \quad su A_{\beta\gamma} \quad (2.13)$$

B.C.2:

$$\hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} = P(\hat{c}_\beta - \alpha_1 \hat{c}_\gamma) \quad su A_{\beta\gamma} \quad (2.14)$$

2.2.3 Operazione di media sulle equazioni alla scala microscopica: sviluppo del metodo Volume Averaging

L'insieme di equazioni (2.11)-(2.14) rappresenta un modello semplificato per la descrizione di un sistema bifasico e contiene informazioni sul trasporto attraverso la membrana. Il sistema è chiuso, in quanto corredato da condizioni al contorno, ma si può osservare che non è semplice nè immediato riuscire a definire in modo semplice la geometria dell'interfaccia fra la fase β e la fase γ all'interno dell'intero costruito. Per questo motivo la soluzione diretta del sistema risulta difficoltosa ed è necessario sviluppare delle opportune equazioni di trasporto omogeneizzate in spazio, che

possano predire l'effettiva diffusione e l'effettiva reazione della specie A .

Per poter ottenere questo risultato viene sviluppato il metodo del Volume Averaging. Questo processo permette di ottenere: (1) le equazioni di trasporto a livello della scala macroscopica; (2) i vincoli che indicano sotto quali condizioni le equazioni di trasporto mediate sono valide; (3) un metodo per calcolare i parametri *effettivi* che compaiono nelle equazioni alla macroscale, funzioni della geometria e di altri parametri alla microscale.

Nel processo che ci porta a definire le equazioni di trasporto alla macroscale, vengono introdotte diverse definizioni di media.

- *Media intrinseca.*

E' l'integrale della concentrazione calcolato su una fase specifica e normalizzato con il volume di quella stessa fase:

$$\langle c_\beta \rangle^\beta = \frac{1}{V_\beta} \int_{V_\beta(t)} \hat{c}_\beta dV \quad (2.15)$$

$$\langle c_\gamma \rangle^\gamma = \frac{1}{V_\gamma} \int_{V_\gamma(t)} \hat{c}_\gamma dV \quad (2.16)$$

Con la stessa notazione definiamo le *frazioni volumetriche*:

$$\varepsilon_\beta = \frac{V_\beta}{V} \quad (2.17)$$

$$\varepsilon_\gamma = \frac{V_\gamma}{V} \quad (2.18)$$

dove il volume V indica il volume di controllo rappresentato in figura (2.2) e i volumi delle singole fasi, V_β e V_γ , sono i volumi della fase extracellulare e della fase intracellulare all'interno del volume di controllo V , tale che valga la relazione:

$$V = V_\beta + V_\gamma$$

Osserviamo che, mentre V è invariante nel tempo, V_β e V_γ non lo sono.

- *Media Volumetrica*

$$\langle c_\beta \rangle = \frac{1}{V} \int_{V_\beta(t)} \hat{c}_\beta dV \quad (2.19)$$

$$\langle c_\gamma \rangle = \frac{1}{V} \int_{V_\gamma(t)} \hat{c}_\gamma dV \quad (2.20)$$

Risulta evidente che la concentrazione media intrinseca e quella volumetrica sono collegate dalla seguente relazione:

$$\langle c_\beta \rangle = \varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta \quad (2.21)$$

E' possibile definire anche una *media volumetrica complessiva* nel seguente modo:

$$\langle c \rangle = \varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta + \varepsilon_\gamma \langle c_\gamma \rangle^\gamma = \langle c_\beta \rangle + \langle c_\gamma \rangle \quad (2.22)$$

Questa media risulta essere la somma pesata tramite le frazioni volumetriche della concentrazione media intrinseca nella fase extracellulare e nella fase intracellulare.

Volume Averaging

Calcoliamo la media volumetrica dell'equazione di diffusione-trasporto per la fase β (2.11):

$$\frac{1}{V} \int_{V_\beta(t)} \frac{\partial \hat{c}_\beta}{\partial t} dV + \frac{1}{V} \int_{V_\beta(t)} \nabla \cdot \hat{\Phi}_\beta = 0 \quad (2.23)$$

Per poter gestire differenziazione e integrazione è necessario applicare il *teorema del trasporto generale* e il *teorema della media spaziale* [WQW02].

Teorema della media spaziale

$$\langle \nabla f_\beta \rangle = \nabla \langle f_\beta \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{f}_\beta dA \quad (2.24)$$

$$\langle \nabla f_\gamma \rangle = \nabla \langle f_\gamma \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{f}_\gamma dA \quad (2.25)$$

Teorema del trasporto generale

$$\left\langle \frac{\partial f_\beta}{\partial t} \right\rangle = \frac{\partial \langle f_\beta \rangle}{\partial t} - \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{w} \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA \quad (2.26)$$

$$\left\langle \frac{\partial f_\gamma}{\partial t} \right\rangle = \frac{\partial \langle f_\gamma \rangle}{\partial t} - \frac{1}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{w} \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA \quad (2.27)$$

dove f è una generica grandezza definita sull' i -esima fase, con $i = \beta, \gamma$.

Osserviamo che se la velocità di spostamento dell'interfaccia \mathbf{w} può essere trascurata, allora il teorema del trasporto generale indica che l'operazione di differenziazione in tempo commuta con l'operazione di media spaziale.

L'utilizzo di questi due teoremi ci permette di scrivere:

$$\frac{\partial \langle c_\beta \rangle}{\partial t} + \nabla \cdot \langle \Phi_\beta \rangle = -\frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA \quad (2.28)$$

L'equazione può essere riformulata anche in termini di concentrazione media intrinseca, usando l'espressione (2.21):

$$\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta) + \nabla \cdot \langle \Phi_\beta \rangle = -\frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA \quad (2.29)$$

A questo punto introduciamo un'importante assunzione: il flusso molare all'interno della specifica fase viene espresso come un termine di gradiente della concentrazione, grazie alla legge di Fick:

$$\hat{\Phi}_\beta = -\hat{D}_\beta \nabla \hat{c}_\beta \quad (2.30)$$

Si procede trascurando le variazioni di \hat{D}_β all'interno del volume di controllo e si pone $\hat{D}_\beta = D_\beta$ costante; questa ipotesi permette di esprimere il flusso molare mediato superficialmente nel seguente modo:

$$\langle \Phi_\beta \rangle = -\langle D_\beta \nabla c_\beta \rangle = -D_\beta \langle \nabla c_\beta \rangle \quad (2.31)$$

Bisogna osservare che l'ipotesi di trascurare le variazioni del coefficiente di diffusione all'interno del volume di controllo non richiede che questo sia costante su tutto il costruito.

Il teorema della media ci permette di scambiare differenziazione e integrazione e di arrivare a scrivere:

$$D_\beta \langle \nabla c_\beta \rangle = D_\beta \left(\nabla \langle c_\beta \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}_\beta dA \right) \quad (2.32)$$

Usando questo risultato all'interno dell'equazione (2.31) e quindi nell'equazione (2.29), arriviamo a scrivere la seguente equazione di trasporto per la fase β :

$$\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta) = \nabla \cdot \left[D_\beta \left(\nabla \langle c_\beta \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}_\beta dA \right) \right] - \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA \quad (2.33)$$

Il termine di media volumetrica che compare nell'equazione può essere sostituito utilizzando nuovamente l'equazione (2.21), inoltre bisogna rendere l'equazione indipendente dalla concentrazione puntuale. Per far questo ci serviamo della *decomposizione di Gray* [WW98a]:

$$\hat{c}_\beta = \langle c_\beta \rangle^\beta + \hat{c}'_\beta \quad (2.34)$$

dove \hat{c}'_β è la deviazione spaziale locale.

Sostituendo la decomposizione (2.34) arriviamo al seguente risultato:

$$\underbrace{\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta)}_{\text{termine di accumulo}} = \underbrace{\nabla \cdot \left[\varepsilon_\beta D_\beta \left(\nabla \langle c_\beta \rangle^\beta + \frac{1}{V_\beta} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA \right) \right]}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \hat{\Phi}_\beta \cdot \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA}_{\text{flusso di interfaccia}} \quad (2.35)$$

Allo stesso modo possiamo scrivere l'equazione di trasporto per la fase γ :

$$\underbrace{\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_\gamma \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}_{\text{termine di accumulo}} = \underbrace{\nabla \cdot \left[\varepsilon_\gamma D_\gamma \left(\nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right) \right]}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\frac{1}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA}_{\text{flusso di interfaccia}} + \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle \quad (2.36)$$

Abbiamo fatto uso della seguente nomenclatura:

$$A_{\beta\gamma} = A_{\gamma\beta} \quad \mathbf{n}_{\beta\gamma} = -\mathbf{n}_{\gamma\beta} \quad (2.37)$$

Per ricavare l'equazione (2.36) abbiamo usato la seguente decomposizione:

$$\hat{c}_\gamma = \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \hat{c}'_\gamma \quad (2.38)$$

Sia nell'equazione (2.35) che nell'equazione (2.36) abbiamo eliminato il termine di concentrazione intrinseca $\langle c_\gamma \rangle^\gamma$ dall'integrale di superficie nel termine di diffusione. Questa semplificazione è basata sul seguente vincolo, costruito sulle lunghezze di scala:

$$l_\beta, l_\gamma \ll r_0, \quad r_0^2 \ll l_s^2 \quad (2.39)$$

dove l_s è la lunghezza di scala caratteristica della macroscale, ovvero lo spessore del costruito che si sta considerando.

Per poter trattare abbastanza semplicemente il termine di reazione non lineare che compare nell'equazione (2.36), si ipotizza che i coefficienti μ_A e K_A non subiscano variazioni all'interno del volume di controllo. Ancora una volta questo significa che la struttura interna della cellula viene completamente ignorata. Oltre alle ipotesi su μ_A e K_A , facciamo uso di specifiche condizioni sulle deviazioni spaziali della concentrazione:

$$\langle \hat{c}'_\gamma \rangle^\gamma = 0 \quad (2.40)$$

$$\hat{c}'_\gamma \ll \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.41)$$

ovvero si assume che la media intrinseca della deviazione spaziale sia nulla e che la deviazione spaziale sia molto minore della media intrinseca della concentrazione. Questi ulteriori vincoli ci permettono di esprimere il tasso di reazione in termini di concentrazione media e l'equazione (2.36) può essere così riscritta:

$$\begin{aligned} & \underbrace{\frac{\partial}{\partial t}(\varepsilon_\gamma \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}_{\text{termine di accumulo}} = \\ & \underbrace{\nabla \cdot \left[\varepsilon_\gamma D_\gamma \left(\nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right) \right]}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\frac{1}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA}_{\text{flusso di interfaccia}} + \\ & \underbrace{- \varepsilon_\gamma \frac{\mu_A \langle c_\gamma \rangle^\gamma}{\langle c_\gamma \rangle^\gamma + K_A}}_{\text{reazione}} \end{aligned} \quad (2.42)$$

Per poter continuare l'analisi e ottenere una forma chiusa per le equazioni (2.35) e (2.42) è necessario esprimere il termine di flusso all'interfaccia in funzione della concentrazione intrinseca e sviluppare e risolvere un opportuno modello di chiusura per poter predire le deviazioni spaziali \hat{c}'_β e \hat{c}'_γ .

2.2.4 Modello di equilibrio locale

Abbiamo ottenuto il sistema di equazioni formato dalla (2.35) e dalla (2.42) in cui leggiamo ancora la dipendenza esplicita dalla fase β e dalla fase γ . Ricordiamo che l'obiettivo del processo del Volume Averaging è la formulazione di un'unica equazione omogenea in spazio per la concentrazione della specie A .

In assenza di reazioni chimiche e di flussi diffusivi, la concentrazione nella fase γ si trova in equilibrio con quella nella fase β . Sulla base dell'equazione (2.14), questo significa che $\langle c_\beta \rangle^\beta$ e $\langle c_\gamma \rangle^\gamma$ soddisfano:

$$\langle c_\beta \rangle^\beta = \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad \text{all'equilibrio} \quad (2.43)$$

Se questa condizione è soddisfatta, allora risulta conveniente lavorare con la *concentrazione media di equilibrio*, secondo la seguente definizione:

$$\{c\} = \varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta + \varepsilon_\gamma \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.44)$$

La media di equilibrio $\{c\}$ può essere interpretata come una definizione matematica necessaria per lo sviluppo del modello di equilibrio ad una equazione. Sulla base della definizione (2.44) si può osservare che la condizione di equilibrio porta a scrivere:

$$\{c\} = \langle c_\beta \rangle^\beta = \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.45)$$

in quanto si ha che $\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma = 1$. La relazione (2.45) ci permette di esprimere la media intrinseca di ciascuna fase in funzione della media di equilibrio $\{c\}$.

Anche quando la condizione di equilibrio non è soddisfatta, è comunque possibile che $\langle c_\beta \rangle^\beta$ e $\langle c_\gamma \rangle^\gamma$ siano sufficientemente vicine, così che l'equazione (2.42) possa essere usata come approssimazione. Quando questo si verifica diciamo che è valida la *condizione di equilibrio di massa locale* e le equazioni (2.35) e (2.42) possono essere sommate per eliminare il flusso all'interfaccia ed ottenere una sola equazione da cui proseguire con l'analisi.

Al fine di poter stabilire i vincoli associati alla condizione di equilibrio locale di massa, usiamo la decomposizione spaziale così definita:

$$\langle c_\beta \rangle^\beta = \{c\} + c''_\beta \quad (2.46)$$

$$\alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma = \{c\} + c''_\gamma \quad (2.47)$$

dove con c''_β e c''_γ abbiamo indicato le fluttuazioni spaziali dalla media di equilibrio. Bisogna capire quando queste possano essere trascurate, ovvero quando è valida l'equazione (2.45).

Cominciamo sostituendo le equazioni (2.46) e (2.47) all'interno delle (2.35) e (2.42), manipoliamo in maniera appropriata il termine di tasso di reazione e sommiamo quanto ottenuto per arrivare a scrivere (dopo alcuni passaggi algebrici, per i quali si veda [WW98a] e [WW98b]):

$$\begin{aligned}
 & \frac{\partial}{\partial t} [(\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\}] = \\
 \nabla \cdot & \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] + \\
 & -\varepsilon_\gamma \frac{\mu_A \{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} - \underbrace{\frac{\partial}{\partial t} (\varepsilon_\beta c''_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma c''_\gamma)}_{\text{accumulo}} + \\
 & + \underbrace{\nabla \cdot [\varepsilon_\beta D_\beta \nabla c''_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma \nabla c''_\gamma]}_{\text{diffusione}} + \\
 & - \underbrace{\frac{\varepsilon_\gamma \mu_A c''_\gamma}{\{c\} + \alpha_1 K_A + c''_\gamma} \left(\frac{\alpha_1 K_A}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \right)}_{\text{reazione}} \tag{2.48}
 \end{aligned}$$

Cominciamo ad intravedere la possibilità di arrivare ad una singola equazione espressa in termini della concentrazione media di equilibrio $\{c\}$ nel caso in cui gli ultimi tre termini della (2.48) possano essere trascurati. Si osserva che l'espressione (2.44) e la (2.43) possono essere utilizzate per esprimere le deviazioni spaziali c''_β e c''_γ :

$$c''_\beta = \varepsilon_\gamma (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) \tag{2.49}$$

$$c''_\gamma = \varepsilon_\beta (\alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma - \langle c_\beta \rangle^\beta) \tag{2.50}$$

Questo passaggio ci consente di scrivere:

$$\begin{aligned}
 & \frac{\partial}{\partial t} [(\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\}] = \\
 \nabla \cdot & \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] + \\
 & -\varepsilon_\gamma \frac{\mu_A \{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \\
 & - \underbrace{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (1 - \alpha_1^{-1}) \frac{\partial}{\partial t} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}_{\text{accumulo di non equilibrio}} + \\
 & + \underbrace{\nabla \cdot [\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)]}_{\text{diffusione di non equilibrio}} + \\
 & - \underbrace{\frac{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \mu_A (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\{c\} + \alpha_1 K_A - \varepsilon_\beta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)} \left(\frac{\alpha_1 K_A}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \right)}_{\text{reazione di non equilibrio}} \tag{2.51}
 \end{aligned}$$

I termini associati alla deviazione spaziale e, dunque, alla condizione di non equilibrio sono ora espressi in funzione della differenza fra le concentrazioni $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$.

Equilibrio locale di massa

Se gli ultimi tre termini dell'equazione (2.51) possono essere trascurati, ovvero se non siamo troppo distanti dalla condizione di equilibrio, e se \hat{c}'_β e \hat{c}'_γ possono essere espressi in funzione di $\{c\}$, allora il processo di diffusione e reazione all'interno di un costrutto multifasico può essere descritto con l'uso di un modello di equilibrio ad una singola equazione. Trascuriamo gli ultimi tre termini nel caso in cui valgano le seguenti disuguaglianze:

Termine di accumulo:

$$\begin{aligned} & \varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (1 - \alpha_1^{-1}) \frac{\partial}{\partial t} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) \\ \ll & \nabla \cdot \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] \end{aligned} \quad (2.52)$$

Termine di diffusione:

$$\begin{aligned} & \nabla \cdot [\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)] \\ \ll & \nabla \cdot \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] \end{aligned} \quad (2.53)$$

Termine di reazione:

$$\begin{aligned} & \frac{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \mu_A (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\{c\} + \alpha_1 K_A - \varepsilon_\beta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)} \left(\frac{\alpha_1 K_A}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \right) \\ \ll & \nabla \cdot \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] \end{aligned} \quad (2.54)$$

E' interessante notare che l'ultimo vincolo risulta automaticamente soddisfatto se non vi è reazione, cioè $\mu_A = 0$, o se il tasso di reazione è di ordine zero, per cui $K_A = 0$.

Quando i vincoli dati dalle (2.52)-(2.54) sono soddisfatti, si può allora assumere che il termine $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ sia molto piccolo, prossimo a zero. In questo caso le due concentrazioni $\langle c_\beta \rangle^\beta$ e $\alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ sono abbastanza vicine e l'equazione (2.43) può essere usata come approssimazione, il che permette di scrivere:

$$\begin{aligned} & \frac{\partial}{\partial t} [(\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\}] = \\ & \nabla \cdot \left[(\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \nabla \{c\} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \hat{c}'_\beta dA + \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] + \\ & \quad - \varepsilon_\gamma \frac{\mu_A \{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \end{aligned} \quad (2.55)$$

Per completare l'analisi del modello a questo punto è necessario sviluppare un opportuno problema di chiusura per \hat{c}'_β e \hat{c}'_γ .

2.2.5 Il problema di chiusura

Abbiamo visto che, quando il principio di equilibrio locale di massa è soddisfatto, si arriva a formulare l'equazione (2.55) che descrive la diffusione e la reazione della concentrazione della specie A all'interno del sistema in funzione della media di equilibrio $\{c\}$. L'equazione coinvolge i termini incogniti di deviazione spaziale: occorre un modello di chiusura per determinarli, ovvero è necessario sviluppare e risolvere un'equazione di trasporto per \hat{c}'_β e \hat{c}'_γ .

Dalla (2.38), la deviazione spaziale nella fase γ è definita come:

$$\hat{c}'_\gamma = \hat{c}_\gamma - \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.56)$$

Questa definizione suggerisce che l'equazione di trasporto per \hat{c}'_γ può essere ottenuta sottraendo l'equazione per la concentrazione media dall'equazione per la concentrazione puntuale.

L'equazione per la concentrazione puntuale è:

$$\frac{\partial \hat{c}_\gamma}{\partial t} = \nabla \cdot (\hat{D}_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) - \frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} \quad (2.57)$$

mentre l'equazione per la concentrazione media viene ricavata dalla (2.36):

$$\begin{aligned} \frac{\partial \langle c_\gamma \rangle^\gamma}{\partial t} &= \nabla \cdot (D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma) + \varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \varepsilon_\gamma \cdot D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma - \varepsilon_\gamma^{-1} \langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t} + \\ &+ \varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \cdot \left[\varepsilon_\gamma \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right] - \frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA - \varepsilon_\gamma^{-1} \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle \end{aligned} \quad (2.58)$$

Sottraendo la (2.58) dalla (2.57) e ipotizzando di trascurare le variazioni del coefficiente di diffusione, come è già stato fatto in precedenza, si ottiene l'equazione per la deviazione spaziale della concentrazione:

$$\begin{aligned} \underbrace{\frac{\partial \hat{c}'_\gamma}{\partial t}}_{\text{accumulo}} &= \underbrace{\nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma)}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \varepsilon_\gamma \cdot D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma}_{\text{sorgente di diffusione}} + \\ &+ \underbrace{\varepsilon_\gamma^{-1} \langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t}}_{\text{consolidamento}} + \\ &- \underbrace{\varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \cdot \left[\varepsilon_\gamma \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right]}_{\text{diffusione non locale}} + \\ &+ \underbrace{\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA}_{\text{flusso di interfaccia}} - \underbrace{\frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} + \varepsilon_\gamma^{-1} \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle}_{\text{reazione}} \end{aligned} \quad (2.59)$$

Usando la legge di Fick:

$$\hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} = -\mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot (\hat{D}_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) \quad (2.60)$$

si può esprimere il flusso di interfaccia come:

$$\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \hat{\Phi}_\gamma \cdot \mathbf{n}_{\gamma\beta} dA = -\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) dA = -\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) \quad (2.61)$$

Il termine di consolidamento nell'equazione (2.59) rappresenta il tasso di cambiamento in tempo del volume della fase γ e non deve essere confuso con la crescita cellulare. Quando il termine risulta piccolo se paragonato al termine di diffusione, allora può essere trascurato:

$$\varepsilon_\gamma^{-1} \langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t} \ll \nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) \quad (2.62)$$

Per sviluppare il vincolo associato, eseguiamo la seguente approssimazione:

$$\varepsilon_\gamma^{-1} \langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t} = \mathcal{O}\left(\langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\Delta \varepsilon_\gamma}{\varepsilon_\gamma} \frac{1}{t_\varepsilon}\right) \quad (2.63)$$

dove t_ε rappresenta il tempo durante il quale la frazione volumetrica ε_γ subisce i cambiamenti espressi da $\Delta \varepsilon_\gamma$.

Stimiamo inoltre il termine di diffusione come:

$$\nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = \mathcal{O}\left(\frac{D_\gamma \hat{c}'_\gamma}{l_\gamma^2}\right) \quad (2.64)$$

da cui la (2.62) può essere riscritta come:

$$\langle c_\gamma \rangle^\gamma \frac{\Delta \varepsilon_\gamma}{\varepsilon_\gamma} \frac{1}{t_\varepsilon} \ll \frac{D_\gamma \hat{c}'_\gamma}{l_\gamma^2} \quad (2.65)$$

Ricordando la (2.41) si può scrivere:

$$\frac{\Delta \varepsilon_\gamma}{\varepsilon_\gamma} \frac{1}{t_\varepsilon} \ll \frac{D_\gamma}{l_\gamma^2} \quad (2.66)$$

Nel caso in cui il vincolo (2.66) sia soddisfatto è possibile semplificare la (2.59):

$$\begin{aligned} \underbrace{\frac{\partial \hat{c}'_\gamma}{\partial t}}_{\text{accumulo}} &= \underbrace{\nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma)}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \varepsilon_\gamma \cdot D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma}_{\text{sorgente di diffusione}} - \underbrace{\varepsilon_\gamma^{-1} \nabla \cdot \left[\varepsilon_\gamma \frac{D_\gamma}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \hat{c}'_\gamma dA \right]}_{\text{diffusione non locale}} + \\ &+ \underbrace{\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) dA}_{\text{flusso di interfaccia}} - \underbrace{\frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} + \varepsilon_\gamma^{-1} \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle}_{\text{reazione}} \end{aligned} \quad (2.67)$$

Possono essere fatte ulteriori semplificazioni, in particolare il termine di sorgente di diffusione e il termine di diffusione non locale possono essere trascurati, mentre il termine di flusso all'interfaccia può essere espresso in funzione della deviazione spaziale, nel caso in cui siano soddisfatti ulteriori vincoli riportati in [WW98a]. Si arriva all'espressione:

$$\begin{aligned}
 \underbrace{\frac{\partial \hat{c}'_\gamma}{\partial t}}_{\text{accumulo}} &= \underbrace{\nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma)}_{\text{diffusione}} + \\
 &+ \underbrace{\frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) dA}_{\text{flusso di interfaccia}} + \\
 &- \underbrace{\frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} + \varepsilon_\gamma^{-1} \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle}_{\text{reazione}}
 \end{aligned} \tag{2.68}$$

Per ultimo, il problema di chiusura può essere considerato *quasi statico* nel caso in cui il termine di accumulo risulti inferiore al termine di diffusione:

$$\frac{1}{t_c} \ll \frac{D_\gamma}{l_\gamma^2} \Rightarrow \frac{l_\gamma^2}{D_\gamma t_c} \ll 1 \tag{2.69}$$

dove t_c è il tempo caratteristico dei cambiamenti a cui è soggetta la fluttuazione spaziale della concentrazione nella fase γ .

Sebbene il problema a livello macroscopico sia non stazionario, il problema di chiusura può essere quasi sempre considerato stazionario, in quanto il vincolo (2.69) risulta soddisfatto nella maggior parte dei casi. Si ottiene:

$$\begin{aligned}
 \nabla \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) &= \frac{D_\gamma}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \hat{c}'_\gamma dA \\
 &+ \frac{\mu_A \hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} - \varepsilon_\gamma^{-1} \left\langle \frac{\mu_A c_\gamma}{c_\gamma + K_A} \right\rangle
 \end{aligned} \tag{2.70}$$

Bisogna modificare in modo appropriato il termine di reazione. Infatti il problema di chiusura deve essere espresso in termini della deviazione spaziale della concentrazione e, per assicurare l'esistenza e l'unicità della soluzione, deve essere lineare in \hat{c}'_γ .

Usando la (2.56), dopo alcuni passaggi si ottiene:

$$\frac{\hat{c}_\gamma}{\hat{c}_\gamma + K_A} = \frac{\langle c_\gamma \rangle^\gamma}{\langle c_\gamma \rangle^\gamma + K_A} \frac{(1 + \hat{c}'_\gamma / \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{[1 + (\langle c_\gamma \rangle^\gamma + K_A)^{-1} \hat{c}'_\gamma]} \tag{2.71}$$

Questo risultato può essere rimaneggiato usando l'espansione in serie di Taylor e, dopo alcuni passaggi algebrici è possibile mostrare che la (2.70) si semplifica ulteriormente:

$$D_\gamma \nabla^2 \hat{c}'_\gamma = \frac{D_\gamma}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \hat{c}'_\gamma dA + \frac{\mu_A \hat{c}'_\gamma}{(\langle c_\gamma \rangle^\gamma + K_A)^2} \tag{2.72}$$

Per ottenere la (2.72) dalla (2.70) abbiamo imposto la restrizione

$$\hat{c}'_\gamma \ll \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.73)$$

Un'analisi simile per la fase β porta a scrivere:

$$D_\beta \nabla^2 \hat{c}'_\beta = \frac{D_\beta}{V_\beta} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{c}'_\beta dA \quad (2.74)$$

Condizioni di bordo

Il problema di chiusura per \hat{c}'_i , $i = \beta, \gamma$, deve essere completato con opportune condizioni di bordo. Combinando le condizioni al contorno (2.13) e (2.14), si arriva a scrivere:

Condizione al bordo B.C.1:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \hat{c}_\beta) = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) \quad su A_{\beta\gamma} \quad (2.75)$$

Condizione al bordo B.C.2:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}_\gamma) = \frac{E_0(\hat{c}_\beta - \alpha_1 \hat{c}_\gamma)}{\alpha_2 + \alpha_3 \hat{c}_\beta + \alpha_4 \hat{c}_\gamma + \alpha_5 \hat{c}_\beta \hat{c}_\gamma} \quad su A_{\beta\gamma} \quad (2.76)$$

Scomponendo le due equazioni in termini di concentrazione mediata e deviazione spaziale, si ottiene:

B.C.1:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \langle c_\beta \rangle^\beta) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \hat{c}'_\beta) = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) \quad su A_{\beta\gamma}$$

B.C.2:

$$\begin{aligned} & -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \langle c_\gamma \rangle^\gamma) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = \\ & \frac{E_0(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) + E_0(\hat{c}'_\beta - \alpha_1 \hat{c}'_\gamma)}{\alpha_2 + \alpha_3 \langle c_\beta \rangle^\beta + \alpha_4 \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \alpha_3 \hat{c}'_\beta + \alpha_4 \hat{c}'_\gamma + \alpha_5 (\hat{c}'_\beta \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \hat{c}'_\gamma \langle c_\beta \rangle^\beta + \hat{c}'_\beta \hat{c}'_\gamma)} \quad su A_{\beta\gamma} \end{aligned}$$

Queste condizioni al bordo devono essere formulate in dipendenza della deviazione spaziale \hat{c}'_i , $i = \beta, \gamma$ e della concentrazione media di equilibrio $\{c\}$; usando le (2.46)-(2.47) e le (2.49)-(2.50) possiamo scrivere:

B.C.1:

$$\begin{aligned} & \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \hat{c}'_\beta) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla \{c\} + \\ & -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot [(\varepsilon_\gamma D_\beta + \varepsilon_\beta \alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma))] \quad su A_{\beta\gamma} \end{aligned} \quad (2.77)$$

Dopo alcuni passaggi algebrici si arriva a formulare:

B.C.2:

$$\begin{aligned}
 & -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla \{c\}) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = \\
 & + \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla [\varepsilon_\beta \alpha_1^{-1} D_\gamma (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)] + \\
 & + \frac{E_0}{\Gamma} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) + \frac{E_0}{\Gamma} (\hat{c}'_\beta - \alpha_1 \hat{c}'_\gamma) \quad \text{su } A_{\beta\gamma}
 \end{aligned} \tag{2.78}$$

dove

$$\Gamma = \alpha_2 + \alpha_3 \langle c_\beta \rangle^\beta + \alpha_4 \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \alpha_5 (\langle c_\beta \rangle^\beta \langle c_\gamma \rangle^\gamma)$$

Lo sviluppo dell'equazione (2.78) richiede che siano soddisfatti i seguenti vincoli:

$$\hat{c}'_\gamma \ll \Gamma \tag{2.79}$$

$$\hat{c}'_\beta \ll \Gamma \tag{2.80}$$

$$\alpha_3 \hat{c}'_\beta + \alpha_4 \hat{c}'_\gamma + \alpha_5 (\hat{c}'_\beta \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \hat{c}'_\gamma \langle c_\beta \rangle^\beta) \ll \Gamma \tag{2.81}$$

Sebbene siano stati caratterizzati i vincoli che ci dicono quando l'equilibrio di massa locale è soddisfatto a livello della scala macroscopica, (le relazioni (2.52)-(2.54)), non si può assumere in modo automatico che gli stessi vincoli siano soddisfatti a scala microscopica. A questa scala l'equilibrio di massa locale esiste quando sono soddisfatte le seguenti restrizioni:

- Vincolo 1:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\varepsilon_\gamma D_\beta + \varepsilon_\beta \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) \ll -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla \{c\} \tag{2.82}$$

- Vincolo 2:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla [\varepsilon_\beta \alpha_1^{-1} D_\gamma (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)] \ll -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla \{c\}) \tag{2.83}$$

- Vincolo 3:

$$\frac{E_0}{\Gamma} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) \ll -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla \{c\}) \tag{2.84}$$

ovvero quando il termine di scostamento dall'equilibrio $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ risulta essere piccolo. Come riportato in [WW98a] e in [WW98b], si può scrivere la seguente stima per il rapporto tra lo scostamento dall'equilibrio e la variazione di $\{c\}$:

$$\frac{\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma}{\Delta \{c\}} = \mathcal{O} \left(\frac{l_{\beta\gamma}}{L} \right)^2 \tag{2.85}$$

e la stessa permette di riesprimere i vincoli (2.82)-(2.83) nella seguente forma:

- Vincolo 1:

$$\left(\frac{l_{\beta\gamma}}{L} \right)^2 \ll \frac{D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma}{\varepsilon_\gamma D_\beta + \varepsilon_\beta \alpha_1^{-1} D_\gamma} \tag{2.86}$$

- Vincolo 2:

$$\varepsilon_\beta (l_{\beta\gamma}/L)^2 \ll 1 \quad (2.87)$$

- Vincolo 3:

$$(l_{\beta\gamma}/L)^2 \ll D_\gamma \Gamma / \alpha_1 E_0 \quad (2.88)$$

dove si è definito

$$l_{\beta\gamma}^2 = \frac{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma D_{\beta\gamma}}{(\varepsilon_\gamma + \alpha_1 \varepsilon_\beta) a_v E_0} (\alpha_2 + \alpha_3 \{c\} + \alpha_4 \alpha_1^{-1} \{c\} + \alpha_5 \alpha_1^{-1} \{c\}^2) \quad (2.89)$$

e

$$D_{\beta\gamma} = \varepsilon_\gamma D_\beta + \varepsilon_\beta \alpha_1 D_\gamma \quad (2.90)$$

Le stime che provengono dalla letteratura [WW98a] indicano che il valore del rapporto $D_\gamma \Gamma / \alpha_1 E_0$ è solitamente compreso tra 0.1 e 10, mentre il valore di $(l_{\beta\gamma}/L)^2$ risulta piccolo rispetto all'unità. Questo significa che il vincolo espresso dalla (2.88) risulta normalmente soddisfatto e così anche gli altri due vincoli. Quando tutti e tre i vincoli sono soddisfatti, le condizioni al bordo si scrivono:

B.C.1:

$$\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \hat{c}'_\beta) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla \{c\} \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.91)$$

B.C.2:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla \{c\}) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = \frac{E_0}{\Gamma} (\hat{c}'_\beta - \alpha_1 \hat{c}'_\gamma) \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.92)$$

Problema di chiusura

Combinando i risultati a cui siamo pervenuti possiamo, in conclusione, formulare il seguente problema di chiusura:

$$D_\beta \nabla^2 \hat{c}'_\beta = \frac{D_\beta}{V_\beta} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{c}'_\beta dA \quad \text{nella fase } \beta \quad (2.93)$$

$$D_\gamma \nabla^2 \hat{c}'_\gamma = \frac{D_\gamma}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \hat{c}'_\gamma dA + \frac{\mu_A \hat{c}'_\gamma}{((c_\gamma)^\gamma + K_A)^2} \quad \text{nella fase } \gamma \quad (2.94)$$

B.C.1:

$$\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta \nabla \hat{c}'_\beta) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma) \nabla \{c\} \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.95)$$

B.C.2:

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (\alpha_1^{-1} D_\gamma \nabla \{c\}) - \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot (D_\gamma \nabla \hat{c}'_\gamma) = \frac{E_0}{\Gamma} (\hat{c}'_\beta - \alpha_1 \hat{c}'_\gamma) \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.96)$$

B.C.3:

$$\hat{c}'_\beta = f(\mathbf{r}) \quad \text{su } A_{\beta e} \quad (2.97)$$

B.C.4:

$$\hat{c}'_\gamma = g(\mathbf{r}) \quad \text{su } A_{\gamma e} \quad (2.98)$$

dove le condizioni B.C.3 e B.C.4 definiscono le condizioni da imporre sul bordo del sistema macroscopico.

Un'ulteriore semplificazione può essere fatta richiedendo, esclusivamente per il problema di chiusura, che il termine di reazione possa essere trascurato rispetto al termine di diffusione:

$$\frac{\mu_A}{(\langle c_\gamma \rangle^\gamma + K_A)^2} \ll \frac{D_\gamma}{l_\gamma^2} \quad (2.99)$$

I valori forniti dalla letteratura [WW98a] per i parametri presenti nella disequazione dimostrano che il vincolo (2.99) non risulta essere troppo stringente, anche nel caso in cui alla macroscale la reazione risulta essere dominante.

Per sviluppare il problema in forma più compatta definiamo le seguenti variabili:

$$\begin{aligned} \hat{\omega}'_\gamma &= \alpha_1 \hat{c}'_\gamma \\ \sigma &= \Gamma D_\gamma / \alpha_1 E_0 \\ \kappa &= D_\gamma / \alpha_1 D_\beta \end{aligned}$$

Il problema di chiusura può pertanto essere scritto come:

$$\nabla^2 \hat{c}'_\beta = \frac{1}{V_\beta} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{c}'_\beta dA \quad \text{nella fase } \beta \quad (2.100)$$

B.C.1:

$$\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{c}'_\beta = \kappa \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{\omega}'_\gamma + \underbrace{(\kappa - 1) \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \{c\}}_{\text{sorgente}} \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.101)$$

B.C.2:

$$\hat{c}'_\beta - \hat{\omega}'_\gamma = - \underbrace{\sigma \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \{c\}}_{\text{sorgente}} - \sigma \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \hat{\omega}'_\gamma \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.102)$$

$$\nabla^2 \hat{\omega}'_\gamma = \frac{1}{V_\gamma} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \hat{\omega}'_\gamma dA \quad \text{nella fase } \gamma \quad (2.103)$$

B.C.3:

$$\hat{c}'_\beta = f(\mathbf{r}) \quad \text{su } A_{\beta e} \quad (2.104)$$

B.C.4:

$$\hat{\omega}'_\gamma = g(\mathbf{r}) \quad \text{su } A_{\gamma e} \quad (2.105)$$

Problema di chiusura locale

Il problema di chiusura (2.100)-(2.103), corredato delle condizioni di bordo (2.104) e (2.105) è definito sull'intero dominio macroscopico e, per questo motivo, risulta troppo complicato da risolvere, in quanto viene richiesto di determinare l'interfaccia fra la fase β e la fase γ . Si può notare che le lunghezze caratteristiche delle incognite del problema \hat{c}'_β e $\hat{\omega}'_\gamma$ sono le più piccole scale del sistema, ovvero l_β e l_γ ,

per cui le condizioni al bordo poste su $A_{\beta e}$ e $A_{\gamma e}$ influenzano esclusivamente una piccola regione vicina al bordo del sistema macroscopico, da cui si può concludere che queste condizioni hanno una natura solo locale. Per un sistema cellulare questa è un'assunzione ragionevole, perchè le informazioni che si propagano dal bordo solitamente si perdono a causa della struttura eterogenea del costruito.

Si osserva, inoltre, che le variabili del problema di chiusura vengono utilizzate nelle equazioni a scala macroscopica per valutare termini integrali (2.55), per cui è sufficiente risolvere il problema di chiusura su una regione che sia in un certo modo rappresentativa del sistema, come quella riportata in figura (2.4).

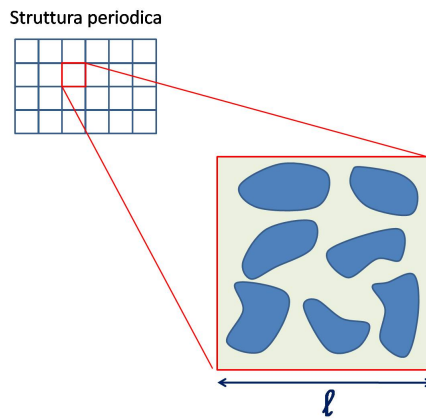


Figura 2.4: Regione rappresentativa del sistema

La diminuzione della dimensione del dominio su cui è definito il problema ci permette di identificare in modo più semplice l'interfaccia fra la fase β e la fase γ . Inoltre, in questo modo, le condizioni di bordo (2.104) e (2.105) possono essere sostituite da condizioni di bordo periodiche. Il modello periodico in spazio, sviluppato su una regione rappresentativa, risulta essere largamente utilizzato in letteratura e la sua soluzione si accorda bene con i dati sperimentali. E' importante osservare che questa approssimazione non implica che il modello sia valido esclusivamente su strutture effettivamente periodiche;

piuttosto questo è il risultato del fatto che le vere condizioni al contorno hanno un effetto trascurabile sulla soluzione finale. Per questo motivo, operiamo la sostituzione:

B.C.3:

$$\hat{c}'_{\beta}(\mathbf{r}) = \hat{c}'_{\beta}(\mathbf{r} + l_i) \quad i = 1, 2, 3 \quad (2.106)$$

B.C.4:

$$\hat{\omega}'_{\gamma}(\mathbf{r}) = \hat{\omega}'_{\gamma}(\mathbf{r} + l_i) \quad i = 1, 2, 3 \quad (2.107)$$

dove l_i sono le componenti del vettore necessario per la descrizione del sistema periodico.

Ipotizziamo che la soluzione possa essere espressa come sovrapposizione di due funzioni della seguente forma:

$$\hat{c}'_{\beta} = \mathbf{b}_{\beta} \cdot \nabla\{c\} + \xi \quad (2.108)$$

$$\hat{w}'_{\gamma} = \mathbf{b}_{\gamma} \cdot \nabla\{c\} + \eta \quad (2.109)$$

Ci interessa, infatti, poter esprimere la deviazione spaziale \hat{c}'_i , $i = \beta, \gamma$, in funzione della concentrazione di equilibrio $\{c\}$, in modo da poter chiudere il sistema (2.55). \mathbf{b}_{β} e \mathbf{b}_{γ} sono due vettori di funzioni, definiti *variabili di chiusura* o *vettori di mappa*, e ξ e η sono due funzioni scalari costanti.

Ponendo il seguente vincolo per la media delle deviazioni spaziali:

$$\langle \hat{c}'_{\beta} \rangle^{\beta} = \langle \hat{w}'_{\gamma} \rangle^{\gamma} = 0 \quad (2.110)$$

si può dimostrare che $\xi = \eta = 0$ e questo ci permette di semplificare ulteriormente il problema e di definire:

$$\hat{c}'_{\beta} = \mathbf{b}_{\beta} \cdot \nabla\{c\} \quad (2.111)$$

$$\hat{w}'_{\gamma} = \mathbf{b}_{\gamma} \cdot \nabla\{c\} \quad (2.112)$$

Si richiede dunque che il vettore di funzioni venga determinato tramite il seguente problema alle condizioni al bordo:

$$\nabla^2 \mathbf{b}_{\beta} = \varepsilon_{\beta}^{-1} \mathbf{c} \quad \text{nella fase } \beta \quad (2.113)$$

$$\nabla^2 \mathbf{b}_{\gamma} = -\frac{1}{\kappa} \varepsilon_{\gamma}^{-1} \mathbf{c} \quad \text{nella fase } \gamma \quad (2.114)$$

B.C.1:

$$\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\beta} = \kappa \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\gamma} + \underbrace{(\kappa - 1) \mathbf{n}_{\beta\gamma}}_{\text{sorgente}} \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.115)$$

B.C.2:

$$\frac{1}{\psi} (\mathbf{b}_{\beta} - \mathbf{b}_{\gamma}) = - \underbrace{\kappa \mathbf{n}_{\beta\gamma}}_{\text{sorgente}} - \kappa \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\gamma} \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.116)$$

B.C.3:

$$\mathbf{b}_{\beta}(\mathbf{r}) = \mathbf{b}_{\beta}(\mathbf{r} + l_i) \quad i = 1, 2, 3 \quad (2.117)$$

B.C.4:

$$\mathbf{b}_{\gamma}(\mathbf{r}) = \mathbf{b}_{\gamma}(\mathbf{r} + l_i) \quad i = 1, 2, 3 \quad (2.118)$$

$$\mathbf{c} = \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\beta} dA = -\kappa \frac{1}{V} \int_{A_{\gamma\beta}(t)} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\gamma} dA \quad (2.119)$$

Integrando la (2.115) sull'area e dividendo per il volume si ottiene la relazione:

$$\frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\beta} dA = -\frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \kappa \mathbf{n}_{\gamma\beta} \cdot \nabla \mathbf{b}_{\gamma} dA + (\kappa - 1) \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}(t)} \mathbf{n}_{\beta\gamma} dA \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (2.120)$$

Per i sistemi periodici, il secondo termine del membro di destra della (2.120) è identicamente nullo e si ritorna alla (2.119).

Dalla (2.119) possiamo osservare che il termine \mathbf{c} che compare come forzante nell'equazione (2.113) è in realtà funzione dell'incognita del problema, \mathbf{b}_β o \mathbf{b}_γ ; ciò significa che la (2.113) è un'equazione integro-differenziale. Nel lavoro di Whitaker [WW98a] viene riportato che per una cellula sferica si può considerare $\mathbf{c} = 0$.

Il vincolo per la media delle deviazioni spaziali (2.110) si traduce come segue:

$$\langle \mathbf{b}_\beta \rangle^\beta = \langle \mathbf{b}_\gamma \rangle^\gamma = 0 \quad (2.121)$$

All'interno delle equazioni (2.113)-(2.118), abbiamo utilizzato i seguenti parametri:

$$\kappa = \frac{D_\gamma}{\alpha_1 D_\beta} \quad (2.122)$$

$$\psi = \frac{D_\beta}{E_0} (\alpha_2 + \alpha_3 \langle c_\beta \rangle^\beta + \alpha_4 \langle c_\gamma \rangle^\gamma + \alpha_5 \langle c_\beta \rangle^\beta \langle c_\gamma \rangle^\gamma) = \frac{D_\beta}{\hat{P}} \quad (2.123)$$

$$\psi = \sigma \frac{\alpha_1 D_\beta}{D_\gamma} = \frac{\sigma}{\kappa} \quad (2.124)$$

Il parametro κ può essere pensato come una misura relativa del processo di diffusione nelle due fasi, mentre il parametro ψ misura il rapporto fra la diffusione nella fase extracellulare e il trasporto attraverso la membrana cellulare.

2.2.6 Il modello ad una equazione

Abbiamo ricavato che le deviazioni spaziali della concentrazione possono essere espresse come:

$$\hat{c}'_\beta = \mathbf{b}_\beta \cdot \nabla \{c\} \quad (2.125)$$

$$\hat{c}'_\gamma = \alpha_1^{-1} \mathbf{b}_\gamma \cdot \nabla \{c\} \quad (2.126)$$

Si può osservare che i vettori di funzioni \mathbf{b}_β e \mathbf{b}_γ rappresentano il collegamento fra la scala microscopica e quella macroscopica.

Sostituendo le espressioni (2.125) e (2.126) nella (2.55) si arriva alla *forma chiusa* del modello di equilibrio ad una equazione per il processo di diffusione e reazione della specie A all'interno del sistema:

$$\frac{\partial}{\partial t} [(\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\}] = \nabla \cdot (\mathbf{D}'_{eff} \cdot \nabla \{c\}) - \frac{\varepsilon_\gamma \mu_A \{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \quad (2.127)$$

dove il tensore di diffusività effettivo è definito da:

$$\mathbf{D}'_{eff} = (\varepsilon_\beta D_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma D_\gamma) \mathbf{I} + \frac{D_\beta}{V} \int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma} \mathbf{b}_\beta dA + \frac{\alpha_1^{-1} D_\gamma}{V} \int_{A_{\gamma\beta}} \mathbf{n}_{\gamma\beta} \mathbf{b}_\gamma dA \quad (2.128)$$

Nell'ipotesi che si possa trascurare la variazione del termine $\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma$, possiamo dividere la (2.127) per questo fattore:

$$\frac{\partial \{c\}}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla \{c\}) - \frac{\varepsilon_\gamma \mu_A}{\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \quad (2.129)$$

nella quale abbiamo definito:

$$\mathbf{D}_{eff} = \frac{\mathbf{D}'_{eff}}{\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma} \quad (2.130)$$

Tipicamente, il termine di reazione in (2.129) viene espresso in termini della *concentrazione specifica*:

$$\langle \rho_\gamma \rangle = \frac{1}{V} \int_{V_\gamma} \rho_\gamma dV \quad (2.131)$$

che può essere espressa anche in funzione di una densità specifica *intrinseca* secondo la relazione:

$$\langle \rho_\gamma \rangle = \varepsilon_\gamma \langle \rho_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.132)$$

Manipolando il termine di reazione otteniamo:

$$\begin{aligned} \frac{\varepsilon_\gamma \mu_A}{\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} &= \frac{\varepsilon_\gamma \langle \rho_\gamma \rangle^\gamma \mu_A}{\langle \rho_\gamma \rangle^\gamma (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma)} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} = \\ &= \frac{\langle \rho_\gamma \rangle \mu_A}{\langle \rho_\gamma \rangle^\gamma (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma)} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \end{aligned} \quad (2.133)$$

Alternativamente il termine di reazione può essere scritto in una forma più frequente in letteratura:

$$\frac{\varepsilon_\gamma \mu_A}{\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} = \frac{\langle \rho_\gamma \rangle \mu_A}{\langle \rho_\gamma \rangle^\gamma (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma)} \frac{\{c\}}{\{c\} + \alpha_1 K_A} = \frac{\mu_{A,eff} \langle \rho_\gamma \rangle \{c\}}{\{c\} + K_{A,eff}} \quad (2.134)$$

dove i coefficienti effettivi sono definiti come:

$$\mu_{A,eff} = \frac{\mu_A}{\langle \rho_\gamma \rangle^\gamma (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma)} \quad K_{A,eff} = \alpha_1 K_A \quad (2.135)$$

Osserviamo che la definizione di media di equilibrio $\{c\}$ ci ha permesso di ricavare il modello ad una equazione, ma questa quantità ha un significato più matematico che fisico. Infatti i metodi sperimentali che misurano la concentrazione di una sostanza che diffonde all'interno di un sistema multifasico ricavano il valore della concentrazione media specifica $\langle c_i \rangle^i$ con $i = \beta, \gamma$ o la concentrazione media volumetrica $\langle c \rangle$. Pertanto risulta interessante riformulare l'equazione (2.129) in termini di queste due concentrazioni.

Ricordiamo che, all'equilibrio, vale la seguente relazione:

$$\{c\} = \langle c_\beta \rangle^\beta = \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (2.136)$$

Se assumiamo che la variazione del termine $(\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1}\varepsilon_\gamma)$ e del termine $\langle \rho_\gamma \rangle^\gamma$ sia trascurabile all'interno del volume di controllo, allora la (2.129) può essere riscritta immediatamente in termini della concentrazione media intrinseca $\langle c_\beta \rangle^\beta$:

$$\frac{\partial \langle c_\beta \rangle^\beta}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla \langle c_\beta \rangle^\beta) - \langle \rho_\gamma \rangle \mu_{A,eff} \frac{\langle c_\beta \rangle^\beta}{\langle c_\beta \rangle^\beta + K_{A,eff}} \quad (2.137)$$

Quando il principio di equilibrio di massa locale è valido, si possono combinare la (2.22) e la (2.45) e sviluppare la relazione:

$$\langle c \rangle = (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\} \quad (2.138)$$

che permette di scrivere:

$$\frac{\partial \langle c \rangle}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla \langle c \rangle) - \varepsilon_\gamma \mu_A \frac{\langle c \rangle}{\langle c \rangle + K'_{A,eff}} \quad (2.139)$$

con

$$K'_{A,eff} = (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \alpha_1 K_A \quad (2.140)$$

Si può osservare che nelle equazioni (2.137) e (2.139) il coefficiente di diffusione effettivo è definito nello stesso modo. Questo indica che \mathbf{D}_{eff} risulta indipendente dal metodo con cui viene misurata la concentrazione media, sia essa $\langle c_\beta \rangle^\beta$ o $\langle c \rangle$. Ciò che invece differenzia le due espressioni sono le definizioni dei parametri cinetici effettivi.

Per ultimo, riferendoci alla notazione introdotta nella sezione (2.1) e ipotizzando di considerare la concentrazione media volumetrica, poniamo $c = \langle c \rangle$ e riscriviamo la (2.139):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla c) - \varepsilon_\gamma \mu_A \frac{c}{c + K'_{A,eff}} \quad (2.141)$$

2.2.7 Il coefficiente di diffusione effettivo

Il metodo del Volume Averaging ci ha permesso di formulare una singola equazione definita alla scala macroscopica, in cui compaiono alcuni parametri effettivi che costituiscono il collegamento fra le proprietà del sistema alla scala cellulare e la macroscale stessa. E' dunque necessario calcolare il valore di questi parametri per poter risolvere il problema. I parametri cinetici di reazione effettivi $\mu_{A,eff}$ e $K_{A,eff}$ risultano definiti tramite relazioni algebriche che coinvolgono i parametri stessi alla microscala e la geometria del sistema mediata, come ad esempio le frazioni di volume ε_β e ε_γ . La diffusività effettiva sembra essere più complicata da determinare in quanto coinvolge la risoluzione di un problema integro-differenziale di chiusura (2.113)-(2.118) per determinare il valore dei vettori di funzioni \mathbf{b}_β e \mathbf{b}_γ .

Ci sono due diversi metodi per calcolare la diffusività effettiva a partire dal problema di chiusura. Il primo implica che la geometria del sistema venga notevolmente semplificata in modo da poter sviluppare una soluzione analitica. Il secondo metodo prevede invece di risolvere numericamente il problema, considerando un dominio realistico ed evitando così le semplificazioni richieste dal primo metodo. Osserviamo che, sebbene la risoluzione tramite simulazioni numerica sembra essere più rigorosa, essa comporta sforzi computazionali eccessivi e la capacità di descrivere nel dettaglio la geometria a scala microscopica. Inoltre il valore della diffusività effettiva non sembra essere così sensibile alle variazioni della geometria del sistema cellulare, in quanto i vettori \mathbf{b}_β e \mathbf{b}_γ vengono successivamente integrati e tramite l'integrazione si perde la dipendenza puntuale dal campo di \mathbf{b}_β e \mathbf{b}_γ .

Da queste osservazioni si conclude che, nell'ambito delle applicazioni biologiche, si preferisce calcolare una diffusività effettiva approssimata tramite la risoluzione analitica del problema di chiusura (2.113)-(2.118) opportunamente semplificato.

Soluzione analitica

Per la risoluzione analitica del problema di chiusura è necessario semplificare la geometria del problema; riprendiamo quanto viene fatto in [WQW02], dove si considerano cellule di geometria sferica. Viene definita la *soluzione di Chang*:

$$\frac{\mathbf{D}'_{eff}}{D_\beta} = \frac{3\kappa - 2\varepsilon_\beta(\kappa - 1) + 2\varepsilon_\beta(3\varepsilon_\gamma)^{-1}\kappa a_\nu\psi}{3 + \varepsilon_\beta(\kappa - 1) + (3 - \varepsilon_\beta)(3\varepsilon_\gamma)^{-1}\kappa a_\nu\psi} \quad (2.142)$$

dove a_ν è l'area della fase γ per unità di volume della singola cellula. Quando il termine ψ , definito dalla (2.123), tende a zero ci si trova nella situazione in cui il tasso di trasporto attraverso la membrana risulta essere istantaneo rispetto alla diffusione. In questo caso l'equazione che si ottiene viene denominata *soluzione di Maxwell*:

$$\frac{\mathbf{D}'_{eff}}{D_\beta} = \frac{3\kappa - 2\varepsilon_\beta(\kappa - 1)}{3 + \varepsilon_\beta(\kappa - 1)} \quad (2.143)$$

Osserviamo inoltre che, se siamo nella situazione in cui κ tende a zero (per un valore finito di $a_\nu\psi$) o $a_\nu\psi$ tende all'infinito (per un valore finito di κ diverso da zero), allora si ricava una soluzione indipendente dai parametri stessi, anch'essa chiamata *soluzione di Maxwell* ($\kappa \rightarrow 0$ o $a_\nu\psi \rightarrow \infty$)

$$\frac{\mathbf{D}'_{eff}}{D_\beta} = \frac{2\varepsilon_\beta}{3 - \varepsilon_\beta} = \frac{2(1 - \varepsilon_\gamma)}{2 + \varepsilon_\gamma} \quad (2.144)$$

La geometria usata in [WQW02] per ricavare l'equazione di Maxwell è molto semplificata e non rispecchia la complessa geometria associata al sistema cellulare reale ma, nonostante ciò, è in grado di catturare alcune proprietà essenziali del problema. Per questo motivo la soluzione di Maxwell può essere usata in diverse situazioni e garantisce risultati più che soddisfacenti.

2.2.8 Vincoli per l'equilibrio di massa locale

Facciamo un passo indietro e torniamo ad analizzare i vincoli elencati nelle equazioni (2.52)-(2.54). Questi ultimi ci dicono *che cosa* deve essere verificato affinché si possa considerare valido il principio di equilibrio di massa locale, ma non ci dicono *quando* questo accade. Abbiamo pertanto bisogno di rendere i vincoli utili e dipendenti da parametri e lunghezze di scala che conosciamo a priori. Per questo motivo li riscriviamo in dipendenza del tensore di diffusività effettiva che abbiamo appena ricavato.

$$\varepsilon_\beta\varepsilon_\gamma(1 - \alpha_1^{-1})\frac{\partial}{\partial t}(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1\langle c_\gamma \rangle^\gamma) \ll \nabla \cdot (\mathbf{D}'_{eff} \cdot \nabla\{c\}) \quad (2.145)$$

$$\nabla \cdot \left[\varepsilon_\beta\varepsilon_\gamma(D_\beta - \alpha_1^{-1}D_\gamma)\nabla(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1\langle c_\gamma \rangle^\gamma) \right] \ll \mathbf{D}'_{eff} \cdot \nabla\{c\} \quad (2.146)$$

$$\frac{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \mu_A (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\{c\} + \alpha_1 K_A - \varepsilon_\beta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)} \left(\frac{\alpha_1 K_A}{\{c\} + \alpha_1 K_A} \right) \ll \nabla \cdot (\mathbf{D}'_{eff} \cdot \nabla \{c\}) \quad (2.147)$$

E' necessario fornire una stima delle derivate in spazio e in tempo di $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ e di $\{c\}$.

$$\frac{\partial}{\partial t} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) = \mathcal{O} \left[\frac{\Delta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{t^*} \right] \quad (2.148)$$

$$\nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) = \mathcal{O} \left[\frac{\Delta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{L_c} \right] \quad (2.149)$$

dove abbiamo indicato con il simbolo Δ la variazione di una certa quantità, t^* è il tempo caratteristico del processo di diffusione e L_c è una lunghezza caratteristica, associata alle variazioni di $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$. Poichè la differenza delle concentrazioni $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ esprime una deviazione, come si può osservare dalle equazioni (2.49) e (2.50), è possibile approssimare i cambiamenti di questa deviazione con la deviazione stessa:

$$\frac{\partial}{\partial t} (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) = \mathcal{O} \left[\frac{\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma}{t^*} \right] \quad (2.150)$$

$$\nabla (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma) = \mathcal{O} \left[\frac{\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma}{L_c} \right] \quad (2.151)$$

Le derivate di $\{c\}$ vengono invece stimate nel seguente modo:

$$\nabla \{c\} = \mathcal{O}(\Delta \{c\} / L_c) \quad (2.152)$$

$$\Delta \{c\} = \mathcal{O}(\Delta \{c\} / (L_c L_{c1})) \quad (2.153)$$

Osserviamo che il simbolo di operatore di somma delle derivate seconde Δ differisce dal simbolo di variazione Δ . Con L_{c1} indichiamo una lunghezza caratteristica associata ai cambiamenti del gradiente della concentrazione $\{c\}$. Quando le stime (2.150)-(2.153) vengono usate in (2.145)-(2.147) è possibile riformulare i vincoli:

$$\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (1 - \alpha_1^{-1}) \frac{(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\Delta \{c\}} \frac{L_c L_{c1}}{\mathbf{D}'_{eff} t^*} \ll 1 \quad (2.154)$$

$$\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \frac{(D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma)}{\mathbf{D}'_{eff}} \frac{(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\Delta \{c\}} \ll 1 \quad (2.155)$$

$$\frac{\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \alpha_1 K_A}{(\{c\} + \alpha_1 K_A) - \varepsilon_\beta (\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)} \frac{(\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma)}{\Delta \{c\}} \frac{L_c L_{c1} \mu_A}{(\{c\} + \alpha_1 K_A) \mathbf{D}'_{eff}} \ll 1 \quad (2.156)$$

Risulta evidente la necessità di dover stimare la differenza fra le concentrazioni $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$ per poter quantificare e verificare che i vincoli siano soddisfatti. Viene pertanto derivato un problema differenziale per risolvere $\langle c_\beta \rangle^\beta - \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma$, di cui tralasciamo nell'ambito del nostro lavoro il completo svolgimento, che si può trovare in [WW98a]. Il risultato del problema ci permette di scrivere:

$$\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma (1 - \alpha_1^{-1}) \frac{l_{\beta\gamma}^2}{\mathbf{D}'_{eff} t^*} \ll 1 \quad (2.157)$$

$$\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \frac{(D_\beta - \alpha_1^{-1} D_\gamma)}{\mathbf{D}'_{eff}} \left(\frac{l_{\beta\gamma}}{L} \right)^2 \ll 1 \quad (2.158)$$

$$\varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma \frac{\alpha_1 K_A}{(\{c\} + \alpha_1 K_A)} \frac{l_{\beta\gamma}^2 \mu_A}{(\{c\} + \alpha_1 K_A) \mathbf{D}'_{eff}} \ll 1 \quad (2.159)$$

dove abbiamo già definito la scala di lunghezza $l_{\beta\gamma}$ in (2.89) e

$$L^2 = L_c L_{c1} \quad (2.160)$$

Il primo dei vincoli è automaticamente soddisfatto quando $\alpha_1 = 1$, mentre il secondo vincolo rappresenta gli effetti della diffusione ed è automaticamente soddisfatto se $D_\beta = \alpha_1^{-1} D_\gamma$. Il terzo vincolo rappresenta gli effetti della reazione ed è certamente soddisfatto se $\mu_A = 0$ o se la reazione è di ordine zero, ovvero quando $K_A = 0$. Bisogna inoltre osservare che i vincoli non considerano un'eventuale influenza delle condizioni iniziali e delle condizioni di bordo.

2.2.9 Conclusioni

In questo capitolo abbiamo sviluppato il metodo del Volume Averaging necessario per poter eseguire l'upscaling e passare dalla descrizione di un sistema multifasico a scala microscopica ad una descrizione dello stesso a scala macroscopica.

Abbiamo generalizzato il procedimento svolto da [WW98a], [WW98b] e [WQW02] applicandolo allo studio dei processi di diffusione e reazione all'interno di un sistema cellulare.

Nel seguito del nostro lavoro avremo l'occasione di utilizzare il Volume Averaging in diverse situazioni, per cui ci sembra opportuno a questo punto riassumere le ipotesi e i passaggi principali sui quali il metodo è costruito.

- Si definiscono in modo opportuno le scale del sistema cellulare che si sta considerando e si identificano le diverse fasi che lo costituiscono. Si costruisce un opportuno volume di controllo, nel quale si possono distinguere le diverse fasi del sistema.
- Si formulano le equazioni che, a livello di microscala, descrivono la diffusione e la reazione della concentrazione di una certa specie A all'interno del sistema cellulare. Per fare questo si introducono alcuni modelli specifici, ad esempio per i tassi di reazione e per la modellizzazione della membrana cellulare.
- Si definiscono le medie che vengono usate nel metodo: la media intrinseca e la media superficiale.
- Si esegue l'operazione di media sulle equazioni della microscala.

- Si effettuano opportune semplificazioni nel caso in cui siano validi alcuni vincoli sulle lunghezze di scala del sistema.
- Si definisce la media di equilibrio e la condizione di equilibrio di massa locale e si riscrive l'equazione facendo comparire il termine di deviazione dall'equilibrio.
- Si formulano opportuni vincoli che, se soddisfatti, permettono di trascurare i termini dipendenti dalla deviazione dall'equilibrio all'interno delle equazioni di trasporto.
- Le equazioni ottenute dipendono dalla deviazione dalla media intrinseca, per cui bisogna sviluppare un opportuno problema di chiusura per queste variabili.
- Il problema di chiusura viene formulato imponendo alcuni vincoli necessari sia per semplificare l'equazione stessa, sia per semplificare le condizioni di bordo.
- La soluzione del problema di chiusura fornisce degli opportuni vettori di mappa che collegano la descrizione dei processi a scala microscopica con quelli a scala macroscopica. Grazie a questi vettori è possibile definire il coefficiente di diffusione effettivo D_{eff} e altri parametri quali il tasso di metabolismo effettivo $\mu_{A,eff}$ e il coefficiente di saturazione effettivo $K_{A,eff}$.

Si conclude così il procedimento del Volume Averaging che ci ha permesso di ottenere una singola equazione definita a livello macroscopico per la concentrazione di una specie chimica trasportata all'interno di un sistema cellulare bifasico.

Capitolo 3

Panoramica dello stato dell'arte per i modelli di crescita e metabolismo cellulare

In questo capitolo analizziamo i modelli di crescita di biomassa presenti in letteratura. In particolare ci focalizziamo su due modelli: il primo tratta un problema accoppiato tra concentrazione di nutriente e frazione volumetrica di cellule; il secondo considera invece la matrice extracellulare, proponendo un'equazione di evoluzione per la concentrazione di proteoglicani. Per ciascun modello discutiamo inoltre le estensioni presenti in letteratura.

3.1 Un modello per la crescita cellulare a parametri concentrati

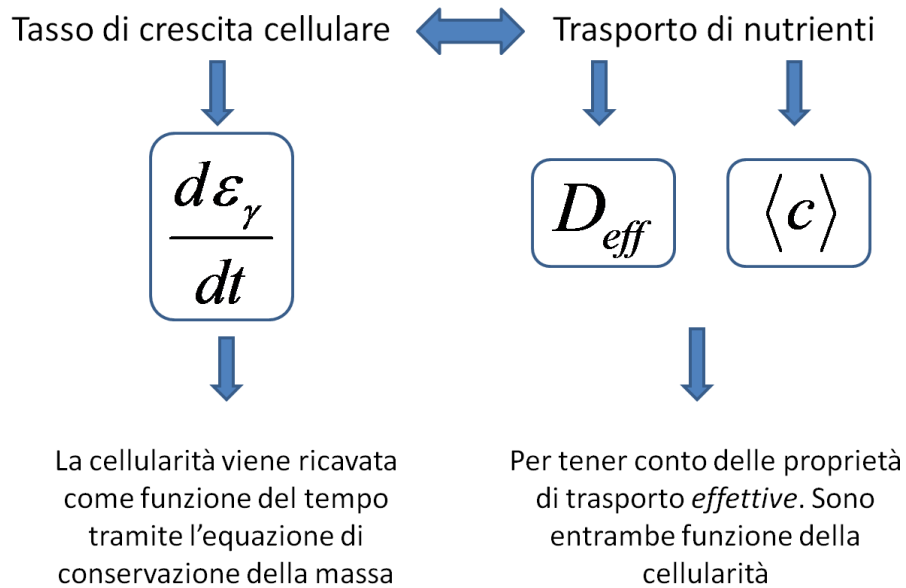
L'articolo [GL00] si focalizza sulla coltivazione e la crescita dei condrociti, le cellule che compongono, insieme all'ECM, il tessuto cartilagineo.

In questo contesto la crescita cellulare è sempre intesa come *proliferazione*, cioè generazione di cellule figlie. Le cellule crescono e possono generare altre cellule grazie alla presenza di *sostanze nutrienti* che vengono trasportate all'interno del sistema; per riferirci alla frazione volumetrica di cellule che compongono il tessuto utilizziamo il termine *cellularità*.

Lo scopo del lavoro è riuscire a creare un modello matematico che descriva la correlazione fra la **generazione dei condrociti** e il **consumo dei nutrienti**.

I punti fondamentali su cui si focalizza il lavoro di [GL00] sono i seguenti.

- La concentrazione c dei nutrienti viene descritta tramite un'equazione di *continuità*. Viene utilizzato il metodo del *Volume Averaging* per ottenere un'unica equazione a livello macroscopico che riesca ad esprimere il valore della concentrazione di nutrienti su un determinato volume di controllo.
- Il coefficiente di diffusione effettivo D_{eff} viene espresso come funzione della cellularità e della geometria del costruito.



- La variazione della cellularità viene descritta tramite la legge di conservazione della massa.

Lo scopo dell'articolo [GL00] è ricavare opportune espressioni funzionali per questi termini e legarle fra di loro in un unico modello.

3.1.1 Descrizione del sistema

In questo paragrafo descriviamo il sistema e le ipotesi generali che stanno alla base dei due modelli proposti in [GL00], il primo riguardante il trasporto di nutrienti e il secondo la crescita di condrociti.

Il sistema che viene preso in esame è formato da uno *scaffold* su cui vengono impiantati condrociti isolati. In accordo con quanto descritto nel paragrafo 2.1, alla mesoscala si possono distinguere tre principali componenti: la matrice polimerica, il fluido di nutrienti e la biomassa. Tuttavia, assumendo che la porosità dello scaffold sia molto elevata, pari a circa il 90%, è possibile descrivere il sistema come un sistema eterogeneo bifasico, anziché trifasico, ridefinendo le fasi nel modo seguente:

- una *fase vuota* composta dal fluido nutriente e dallo scaffold;
- una *fase cellulare* in cui distinguiamo la presenza di cellule, fluido nutriente, ECM, e una parte di matrice polimerica.

Le ipotesi su cui poi vengono costruiti i modelli prevedono una semplificazione di questa suddivisione, per cui si possono ridefinire le due fasi nel seguente modo:

- una *fase fluida* composta dal fluido nutriente e dallo scaffold, indicata tramite la lettera β ;

- una *fase di biomassa* composta dalle sole cellule, denominata con la lettera γ .

Per ogni costituente del sistema vengono effettuate opportune assunzioni specifiche che riportiamo di seguito.

- Scaffold. Viene assunto che la matrice polimerica del sistema sia sufficientemente porosa, in modo tale da fornire un adeguato spazio per la crescita cellulare. Viene ipotizzato che i pori siano abbastanza grandi da permettere il passaggio delle molecole dei nutrienti, così che queste possano raggiungere facilmente i condrociti in tutta l'area del costruito. Nelle sperimentazioni viene utilizzato uno scaffold in grado di biodegradarsi e nel modello viene assunto che il tempo di degradazione della matrice polimerica sia estremamente lento rispetto al tasso di crescita dei condrociti. Grazie a questa assunzione, nella stesura del modello la deformazione della matrice stessa può essere trascurata nell'intervallo di tempo interessato dalla crescita di condrociti. La matrice polimerica usata per l'esperimento ha una geometria cilindrica, con un diametro fissato (1 cm) e uno spessore che può variare da 0.088 a 0.307 cm.
- Cellularità. In accordo con i risultati sperimentali viene ipotizzata una distribuzione spaziale uniforme delle cellule sulla superficie offerta dallo scaffold. Ricordiamo che nel modello di [GL00] viene completamente trascurata la presenza e la produzione di matrice extracellulare.
- Nutrienti. La sorgente di nutrienti è posta all'esterno della matrice polimerica e non è soggetta ad alcun trasporto convettivo. Il trasporto delle sostanze nutritive avviene quindi per *diffusione*, dato che lo scaffold è immerso in un fluido che si trova in uno stato di quiete. Viene inoltre ipotizzato che la quantità di sostanze nutritive a disposizione delle cellule sia in eccesso rispetto al loro fabbisogno fisiologico. Le dimensioni dello scaffold sopra riportate indicano che la superficie laterale della matrice risulta molto meno estesa rispetto alla somma delle due aree di base, per cui si assume che il trasferimento di massa dal fluido nutriente avvenga primariamente tra la base superiore e la base inferiore della matrice polimerica. Supponendo che i processi di diffusione e reazione siano isotropi, si conclude che un modello monodimensionale fornisce risultati qualitativamente molto simili a quelli di un modello bidimensionale, per questo il sistema viene rappresentato con un modello 1D.

3.1.2 Concentrazione dei nutrienti e parametri effettivi

Analizziamo nello specifico il modello proposto per la concentrazione dei nutrienti dai cui poi si ricavano, tramite opportune tecniche matematiche, i parametri effettivi per la crescita cellulare. Tale risultato viene ottenuto mediante tre passaggi:

- Modello Continuo. Viene innanzitutto proposto un modello continuo quasi statico per il trasporto di nutrienti all'interno del costruito. La scala a cui si fa riferimento è quella mesoscopica, dove la biomassa è vista come un mezzo omogeneo, distinta però dalle fibre dello scaffold e dal fluido nutriente. Le

equazioni presentate in questo primo passaggio sono tratte dalla letteratura riguardante i bilanci materiali di una singola sostanza in un sistema bifasico, [WW98a].

- Volume Averaging Method. Al modello continuo viene quindi applicato il metodo del Volume Averaging che permette di trasportare le informazioni scritte dalla scala mesoscopica alla macroscale, come spiegato nel paragrafo 2.2. Questo passaggio permette di ottenere un'unica equazione spazio-dipendente per la concentrazione di nutrienti e permette inoltre di ricavare i problemi di chiusura che devono essere risolti per determinare i parametri effettivi del modello.
- Area Averaging Method. All'equazione ottenuta al passo precedente viene applicata un'opportuna operazione di media in modo tale da eliminare totalmente la dipendenza spaziale. Ricordiamo infatti che l'obiettivo di [GL00] è quello di ottenere un modello a parametri concentrati; a questo scopo viene quindi fornita un'espressione algebrica per la concentrazione di nutrienti esclusivamente in dipendenza dai parametri effettivi e dalla cellularità.

Sviluppiamo ora questi tre passaggi, introducendo, volta per volta, le ipotesi effettuate per ricavare le espressioni finali.

Modello Continuo

Presentiamo in questo paragrafo le equazioni che regolano il bilancio di massa per la concentrazione dei nutrienti alla scala mesoscopica. Viene ipotizzato che il fluido in cui è immerso lo scaffold contenga una sola specie di nutrienti, per questo il modello viene scritto per la concentrazione di una singola sostanza in un sistema bifasico. Inoltre, come già riportato nella descrizione del sistema, il fluido non è soggetto a fenomeni di trasporto convettivo, la mobilità del nutriente è quindi dovuta esclusivamente a fenomeni diffusivi.

Il consumo di nutriente è possibile solo all'interno della fase cellulare, dove i condrociti sono in grado di prelevare le sostanze dal fluido per la loro attività metabolica. Viene inoltre assunto che il consumo di substrato dovuto alle funzioni metaboliche sia molto maggiore del consumo per la generazione cellulare. Questa ipotesi verrà poi ripresa e discussa nelle osservazioni a valle della scrittura delle equazioni.

Infine viene scelto un opportuno volume di controllo V , rappresentativo della mesoscala, all'interno e ai bordi del quale vi è la presenza di entrambe le fasi del sistema. Chiamando V_β la porzione volumetrica occupata dalla fase fluida e V_γ la porzione occupata dalla biomassa, si assume che valga la seguente uguaglianza:

$$V = V_\beta(t) + V_\gamma(t). \quad (3.1)$$

Il volume di controllo è costante nel tempo, mentre le singole sottoparti delle due fasi sono variabili. La loro somma, tuttavia, è sempre pari al volume di controllo stesso. Per quanto riguarda le dimensioni di V , esse vengono scelte nella prospettiva dell'applicazione del metodo Volume Averaging. Il raggio r_0 di V viene infatti scelto

in modo tale che le variazioni di concentrazioni medie si registrino ad una distanza molto maggiore rispetto a r_0 . In termini matematici tale assunzione si traduce nelle disequazioni seguenti:

$$\frac{l_\gamma}{r_0} \gg \frac{r_0}{h} \quad \text{o} \quad \frac{l_\beta}{r_0} \gg \frac{r_0}{h} \quad (3.2)$$

dove h è l'altezza del costruito e per la definizione di l_γ e l_β facciamo riferimento all'immagine 3.1.

Infine specifichiamo che viene effettuata un'approssimazione quasi-statica, giustificata dal fatto che il trasporto di nutrienti è molto veloce rispetto al tasso di crescita delle cellule. Ciò comporta che in breve tempo, prima che la dinamica della crescita acquisti importanza, la concentrazione di nutrienti raggiunge una situazione stabile e per questo motivo nelle equazioni finali verrà trascurata la dipendenza temporale.

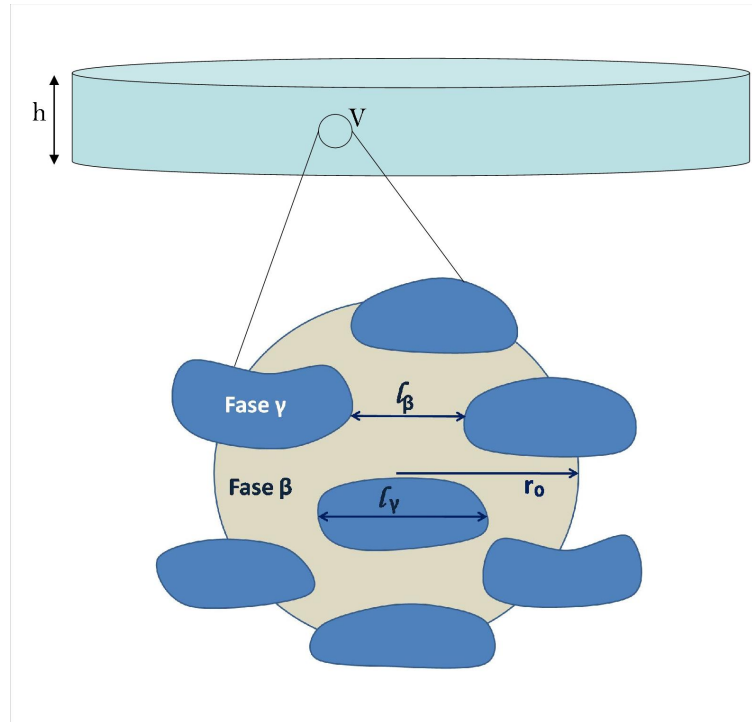


Figura 3.1: *Modello di Galban e Locke [GL00]. Sopra: costruito cilindrico di tessuto cartilagineo. Sotto: volume di controllo alla mesoscala, visualizzazione delle due fasi.*

Le variabili dipendenti del modello sono:

- La concentrazione di nutriente nella fase fluida, \tilde{c}_β
- La concentrazione di nutriente nella biomassa, \tilde{c}_γ

Il modello inizialmente viene scritto considerando la dipendenza dalle tre dimensioni spaziali, l'ipotesi di monodimensionalità del sistema sarà introdotta successivamente, quando risulterà necessario procedere con la risoluzione analitica delle equazioni stesse.

$$\nabla \cdot D_\beta \nabla \tilde{c}_\beta = 0 \quad \text{in } V_\beta \quad (3.3)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\beta \nabla \tilde{c}_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (3.4)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma = P(\tilde{c}_\gamma - K_{eq} \tilde{c}_\beta) \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (3.5)$$

$$\nabla \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma = k_m \tilde{c}_\gamma \quad \text{in } V_\gamma \quad (3.6)$$

$$\tilde{c}_\beta = F(\underline{r}) \quad \text{su } A_{\beta e} \quad (3.7)$$

$$\tilde{c}_\gamma = G(\underline{r}) \quad \text{su } A_{\gamma e} \quad (3.8)$$

dove:

- $A_{\beta\gamma}$ = superficie di interfaccia tra la fase fluida e la biomassa, [m^2];
- $A_{\beta e}$ = porzione di superficie del volume di controllo occupata dalla fase fluida, [m^2];
- $A_{\gamma e}$ = porzione di superficie del volume di controllo occupata dalla biomassa, [m^2];
- D_β = coefficiente di diffusione del nutriente nella fase fluida, [m^2/s];
- D_γ = coefficiente di diffusione del nutriente nella biomassa, [m^2/s];
- P = coefficiente di permeabilità, indice del trasferimento di massa, [m/s];
- K_{eq} = coefficiente di equilibrio, adimensionale, corrispondente alla costante α_1^{-1} introdotta nella relazione (2.43) della sezione 2.2;
- k_m = coefficiente di tasso metabolico, [$1/s$].

Osservazione:

Viene assunto che il consumo di substrato dovuto alle funzioni metaboliche sia molto maggiore del consumo per la generazione cellulare. Una prima interpretazione di questa ipotesi è che il tasso di consumo k_m sia indipendente dalla cinetica di crescita cellulare: il termine di assorbimento nella (3.6) è quindi indipendente dal tasso di variazione temporale di ε_γ , definita come frazione volumetrica della cellularità, la cui importanza sarà evidente in seguito.

Alternativamente può essere data un'interpretazione più interessante. La costante k_m viene infatti intesa come il tasso di assorbimento finalizzato esclusivamente alla produzione di ECM, mentre viene trascurato il tasso di reazione dovuto alla crescita cellulare. L'equazione (3.6) risulta quindi essere una semplificazione della seguente:

$$\nabla \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma = k_m \tilde{c}_\gamma + k_c \tilde{c}_\gamma \quad \text{in } V_\gamma \quad (3.9)$$

dove k_c è il tasso di assorbimento dovuto alla crescita cellulare. Operando la scelta di non trascurare k_c si arriverebbe a definire le costanti del modello a parametri concentrati per i nutrienti in dipendenza sia da k_m che da k_c . Tale divisione del tasso di reazione in due diversi contributi è interessante in quanto potrebbe poi risultare conveniente nella definizione di due diversi tassi di reazione per la fase γ : questi ultimi sarebbero utili per la stesura di un modello che tenga conto di tutti i processi che avvengono durante la crescita della cartilagine.

Volume Averaging Method

Applichiamo ora alle equazioni (3.3) - (3.8) il metodo del Volume Averaging. Tale operazione può essere effettuata grazie alla scelta del raggio del volume di controllo discussa precedentemente e permette di effettuare un procedimento di upscaling, di passare cioè dalla descrizione alla scala mesoscopica a una descrizione alla scala macroscopica. Rimandiamo alla sezione 2.2 per le ipotesi necessarie all'applicazione di questo metodo e ricordiamo qui solo l'assunzione riguardo all'equilibrio del sistema. Deve valere infatti, almeno in via approssimata, la seguente equazione:

$$\tilde{c}_\gamma = K_{eq} \tilde{c}_\beta \quad (3.10)$$

Seguendo quindi i passaggi riportati in sezione 2.2 si giunge alla seguente equazione per la media di equilibrio della concentrazione, come definita da (2.44):

$$\mathbf{D}_{eff} \Delta\{c\} = k_{eff} \{c\} \quad \text{in } V, \quad (3.11)$$

dove compaiono i due coefficienti D_{eff} e k_{eff} , parametri effettivi generati dall'applicazione del Volume Averaging. Sottolineiamo che nella notazione non compare più il simbolo \sim , poichè si è passati ad una descrizione alla scala macroscopica. Per i parametri, seguendo il metodo del Volume Averaging, si possono ottenere le seguenti equazioni:

$$\frac{\mathbf{D}_{eff}}{D_\beta} (\varepsilon_\gamma K_{eq} + \varepsilon_\beta) = (\varepsilon_\gamma \kappa + \varepsilon_\beta) + \frac{\kappa}{V} \int_{A_{\beta\gamma}} (\mathbf{n}_{\gamma\beta} \mathbf{b}_\gamma) dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}} (\mathbf{n}_{\beta\gamma} \mathbf{b}_\beta) dA \quad (3.12)$$

$$k_{eff} = \frac{\varepsilon_\gamma K_{eq} k_m}{\varepsilon_\gamma K_{eq} + \varepsilon_\beta} \quad (3.13)$$

dove $\kappa = (K_{eq} D_\gamma / D_\beta)$ e \mathbf{b}_γ e \mathbf{b}_β sono i campi vettoriali soluzioni dei problemi di chiusura (2.113) e (2.115) presentati in sezione 2.2.

Osserviamo che l'equazione per la concentrazione media dipende ancora dalla dimensione spaziale. L'obiettivo è quello di arrivare ad un modello a parametri concentrati, per poi inserire un'espressione analitica per le concentrazioni all'interno dell'equazione per $\frac{dc_\gamma}{dt}$.

Area Averaging Method

Nel seguente paragrafo viene applicato un operatore di media su un'area caratteristica del costruito per poter eliminare definitivamente la dipendenza spaziale e giungere quindi alla definizione di un modello a parametri concentrati. Tale operazione necessita delle ulteriori seguenti ipotesi:

- **Ipotesi 1: Uniformità.** Si ipotizza che la diffusione domini sul termine di reazione, tale assunzione si traduce nel seguente vincolo:

$$\frac{k_{eff} h^2}{D_{eff}} \ll 1 \quad (3.14)$$

Questa ipotesi è supportata da dati sperimentali in quanto, nelle misurazioni, si riscontra una distribuzione quasi uniforme della concentrazione di nutrienti all'interno del costruito. Questo risultato viene interpretato nel seguente modo: se a dominare fossero i fenomeni di reazione e quindi di assorbimento dei nutrienti da parte delle cellule, si registrerebbero gradienti elevati e perciò una concentrazione sensibilmente non uniforme; al contrario, se a dominare sono i fenomeni di diffusione, come è verosimilmente accettabile, i gradienti e le variazioni di concentrazione sono più lievi e perciò i nutrienti sono distribuiti quasi uniformemente nel costruito. La disequazione (3.14) indica che il rapporto tra i fenomeni reattivi e quelli diffusivi è molto inferiore a 1, cioè che i secondi prevalgono sui primi.

In questa situazione l'operazione di media risulta essere poco invasiva in quanto va ad agire su una grandezza che è approssimativamente uniforme nel dominio considerato. Ipotizzare un tasso di reazione inferiore rispetto al tasso di diffusione garantisce quindi una maggior aderenza con i dati sperimentali. L'operazione di media non elimina dal modello le informazioni sulla geometria del sistema che sono incorporate nella definizione dei coefficienti D_{eff} e k_{eff} .

- **Ipotesi 2: Isotropia del costruito.** Si passa da un sistema 3D ad uno 1D e si adimensionalizza l'equazione scegliendo un'opportuna dimensione caratteristica. Sotto l'ipotesi di isotropia e di unità cellulare sferica, il coefficiente di diffusione effettivo si sostituisce con il seguente coefficiente adimensionale, [WW98a]:

$$D^* = \frac{D_{eff}}{D_\beta} (\varepsilon_\gamma K_{eq} + \varepsilon_\beta) = \frac{2\kappa - (\kappa - 1)\varepsilon_\beta + \varepsilon_\beta \varepsilon_\gamma^{-1/2} \alpha}{2 + (\kappa - 1)\varepsilon_\beta + (2 - \varepsilon_\beta)\varepsilon_\gamma^{-1/2} \alpha} \quad (3.15)$$

dove $\alpha = (D_\gamma/r_0P)$.

La concentrazione di nutrienti adimensionalizzata viene indicata con $\mu = \{c\}/c_0$ e l'equazione viene riscritta nella sola variabile indipendente adimensionale $\delta = y/h$, dove ricordiamo che h è l'altezza del costruito e y è la coordinata verticale, come mostrato in figura 3.1.

$$\frac{d^2\mu}{d\delta^2} = \Phi^2\mu \quad (3.16)$$

Dove $\Phi^2 = \frac{k_{eff}}{D_{eff}} = \frac{\varepsilon_\gamma K_{eq} k_m h^2}{D^* D_\beta}$. Per chiudere il problema, all'equazione (3.16) devono essere aggiunte opportune condizioni al bordo espresse in variabili adimensionali per la cui definizione rimandiamo a [GL00].

Si procede quindi ottenendo una soluzione analitica per l'equazione (3.16) che viene poi mediata sulla dimensione caratteristica della variabile indipendente δ :

$$\langle \mu \rangle \equiv \frac{\int_0^1 \mu d\delta}{\int_0^1 d\delta} \quad (3.17)$$

$\langle \mu \rangle$ è la concentrazione di nutrienti adimensionale, mediata sull'area. Essa è inoltre funzione della cellularità attraverso i coefficienti Φ^2 , Φ e Sh . Si possono infatti

scrivere le seguenti relazioni:

$$\langle \mu \rangle = \langle \mu \rangle(\Phi^2, \Phi, Sh)$$

$$Sh = \frac{k_m T}{D_\beta D^*} [\varepsilon_\gamma (K_{eq} - 1) + 1]$$

Questi ultimi passaggi si riferiscono alla specifica geometria descritta in [GL00]. Osserviamo che in generale l'operazione che deve essere effettuata sulla variabile μ consiste in una media su tutto il costruito, passando da un modello in cui vi è dipendenza spaziale, al più tridimensionale, ad un modello a parametri concentrati. Riportiamo senza ulteriori dimostrazioni l'espressione algebrica ricavata in [GL00].

$$\langle \mu \rangle = \frac{Sh}{\Phi^2 + \Phi Sh \coth(\Phi)} \quad (3.18)$$

3.1.3 La crescita cellulare

La concentrazione di nutrienti e i parametri effettivi che sono stati ottenuti in questi paragrafi sono necessari per lo sviluppo di un secondo modello: il modello per la cellularità. Abbiamo ricavato che:

$$\langle \mu \rangle = \langle \mu \rangle(\Phi^2, Sh) = \langle \mu \rangle(D_{eff}, k_{eff}) = \langle \mu \rangle(\varepsilon_\gamma)$$

Ora dobbiamo definire un'equazione di evoluzione per la cellularità, indice di crescita dei condrociti all'interno del costruito. Il modello si basa su alcune ipotesi specifiche che riportiamo di seguito.

Innanzitutto ricordiamo un'assunzione che sta alla base del sistema: la fase γ è costituita primariamente da una singola specie, ovvero la colonia di cellule. Questa affermazione comporta che all'interno della biomassa si trascuri il contenuto dello scaffold ma, quello che è più importante, si trascuri il contenuto di ECM.

Nel modello viene inoltre introdotta la densità specifica cellulare:

$$\rho_\gamma = m_{cell}/V_\gamma.$$

Quest'ultima risulta circa pari alla densità specifica dell'acqua e viene ipotizzata uniforme e costante in tempo. Al valore di ρ_γ viene quindi sostituita una media dei valori che la densità cellulare può assumere nelle varie fasi di età della cellula. La grandezza ρ_γ risulta dunque rappresentativa sia di una cellula giovane che di una vecchia e viene posta esattamente pari alla densità dell'acqua.

Poichè la singola cellula non si muove, viene assunto inoltre che la velocità alla quale la cultura cellulare propaga nella fase fluida β sia uguale al tasso con cui varia l'interfaccia $\beta - \gamma$. Per quanto riguarda la crescita cellulare in un tessuto, dove il volume totale delle cellule all'interno di un dominio di controllo definisce la fase γ , questa assunzione rimane valida, poichè le cellule esistono unicamente nella fase γ e non vi è trasporto di cellule all'interfaccia [GL99].

Sulla base di queste assunzioni, per descrivere la crescita cellulare, viene utilizzato il tasso di variazione della frazione volumetrica cellulare, definito da:

$$\varepsilon_\gamma = V_\gamma(t)/V \quad (3.19)$$

Per questa variabile, nell'articolo [GL00] viene proposta un'equazione differenziale ordinaria, in dipendenza dalla sola variabile temporale, ricavata tramite un bilancio di massa.

Per ogni volume dV rappresentativo della mesoscala si può scrivere la seguente equazione:

$$V dV \rho_\gamma \frac{d\tilde{\varepsilon}_\gamma}{dt} = V_\gamma R_\gamma dV$$

dove R_γ è il *tasso di crescita* ed è stata utilizzata $\tilde{\varepsilon}_\gamma$ in accordo con la notazione alla mesoscala. Dato che l'equazione rimane valida per ogni scelta di dV si può semplificare tale termine in entrambi i membri dell'equazione ed estendere il risultato alla scala macroscopica:

$$\frac{d\varepsilon_\gamma}{dt} = \frac{\varepsilon_\gamma}{\rho_\gamma} R_\gamma$$

A questo punto entrano in gioco i modelli di crescita cellulare. In [GL00] vengono proposte tre differenti strade per specificare il tasso R_γ , riportiamo qui solo quella che è risultata essere la migliore dal confronto con i dati sperimentali.

Introduciamo il tasso di crescita secondo il modello Modified Contois, che si basa su una cinetica di inibizione, dovuta ad una sovrappopolazione del sistema. R_γ ha dunque la seguente forma:

$$R_\gamma = \left[\frac{k_g C_\gamma^n}{K_c \rho + C_\gamma^n} - k_d \right] \rho_\gamma \quad (3.20)$$

con $\rho = \rho_\gamma \varepsilon_\gamma$ e dove:

k_g = coefficiente di tasso di crescita omogeneo, [s^{-1}];

K_c = coefficiente di saturazione di Contois, adimensionale;

k_d = coefficiente di tasso di morte, [s^{-1}];

n = parametro semi-empirico.

C_γ è la concentrazione di nutrienti il cui modello è stato discusso nei paragrafi precedenti. Il termine deve essere convertito nella concentrazione media $\langle \mu \rangle$ per cui è stata ricavata l'espressione algebrica (3.18). Per fare questo bisogna nuovamente usare la decomposizione di Gray (2.34).

Si procede infine con un'opportuna adimensionalizzazione e si arriva all'espressione conclusiva:

$$\frac{d\varepsilon_\gamma}{dt'} = \left[\frac{\phi_g^2 \langle \mu \rangle^n}{K_c' \varepsilon_\gamma + \langle \mu \rangle^n} - \phi_d^2 \right] \varepsilon_\gamma \quad (3.21)$$

dove: $t' = tD_\beta/A$ è il tempo adimensionale;

$\phi_g^2 = k_g A/D_\beta$ è il modulo di Thiele di crescita (A = area di base del costrutto);

$\phi_d^2 = k_d A/D_\beta$ è il modulo di Thiele di apoptosi;

$K_c' = K_c \rho_\gamma / C_0 K_e q^n$ è la costante di Contois adimensionale.

3.1.4 Discussione

Nelle sezioni precedenti abbiamo presentato due modelli : il primo per la concentrazione di una singola sostanza chimica all'interno di un sistema multifasico, ricavato tramite una tecnica di Volume-Area Averaging e il secondo per la frazione volumetrica di cellule, espresso nella sola variabile indipendente temporale. Tali modelli sono stati risolti in [GL00] per diversi valori dello spessore del costrutto h al fine di stimare i parametri fisici di diffusione e di reazione presenti nelle formulazioni. Dal confronto con i dati sperimentali presenti in letteratura si può affermare che gli effetti della diffusione interna e del trasferimento di massa esterno del substrato sono ben rappresentati dal modello, anche se gli esperimenti indicano che esistono altri fattori che agiscono sulla crescita cellulare che non vengono considerati nel modello di [GL00]. Inoltre, anche se i risultati delle simulazioni indicano che vi è una variazione della crescita cellulare a seconda del volume del costrutto, quantitativamente i risultati numerici non riescono a spiegare quelli sperimentali: la variazione di cellularità ottenuta in [GL00] risulta infatti inferiore rispetto a quella delle misurazioni con cui gli autori confrontano i loro risultati, ad esempio [FVNL93]. Inoltre per ogni spessore fissato vi è la necessità di far variare i parametri di crescita. Nonostante il modello riesca quanto meno qualitativamente a riprodurre alcuni effetti agenti sulla crescita cellulare vi sono alcune considerazioni da sottolineare che saranno riprese nei successivi capitoli della tesi.

- **Mezzo bifasico.** La prima ipotesi che è stata effettuata sul sistema riguarda il contenuto delle due fasi che lo formano. In particolare si trascurano due importanti contributi: lo scaffold e la matrice extracellulare. Per quanto riguarda la matrice polimerica sottolineiamo che il suo contributo volumetrico può raggiungere anche il 60% – 70% del volume del costrutto [RBF⁺02], per cui in alcune applicazioni tralasciare questa parte risulta essere un'approssimazione errata, che porta necessariamente a risultati quantitativamente scorretti. La matrice extracellulare non viene considerata nella definizione della biomassa e di conseguenza nel modello non rientra alcun termine di crescita o di produzione di ECM. Anche questa approssimazione è molto limitativa poichè nel tessuto cartilagineo è noto che il rapporto tra cellule ed ECM è molto piccolo, a favore di un ingente contenuto di matrice extracellulare.
- **Singolo Nutriente.** Alla base dello sviluppo del modello per la concentrazione di substrato vi è l'ipotesi che nel fluido vi sia disciolta un'unica specie. Anche questa assunzione risulta limitante in quanto le cellule non necessitano di una sola sostanza chimica per attivare le proprie funzioni metaboliche ed inoltre esse non producono esclusivamente altre cellule o tessuto cartilagineo ma anche prodotti di scarto. Il modello per il substrato dovrebbe quindi tener conto della presenza di diverse concentrazioni di specie chimiche e dividere ciò che fa parte dei nutrienti per le cellule da ciò che rappresenta invece un prodotto del metabolismo dei condrociti.
- **Stimoli alla Crescita.** Gli stimoli presi in considerazioni in [GL00] sono essenzialmente due: la concentrazione di nutrienti trasportata attraverso un

fenomeno diffusivo e la concentrazione di condrociti stessa. Questi fattori rappresentato indubbiamente due aspetti fondamentali nella crescita del tessuto cartilagineo, tuttavia non sono gli unici. Lo stimolo importante che viene trascurato è indubbiamente quello dovuto agli sforzi di taglio che, all'interno di un certo range, agiscono fisiologicamente stimando la crescita e nella riparazione della cartilagine *in vivo*.

- **Parametri Fisici.** Seppur il metodo dell'Area Averaging produce delle stime accettabili per i parametri effettivi di diffusione e reazione tuttavia è lontano dalla realtà che tali coefficienti siano indipendenti dalla variabile spaziale. Vi è dunque la necessità di sviluppare un modello che tenga conto delle variazioni dei coefficienti fisici e della concentrazione di nutrienti in funzione della variabile spaziale, al fine di ottenere delle previsioni maggiormente corrette della crescita cellulare.

3.2 Modelli per la crescita cellulare: estensione al caso spazio dipendente

Il modello descritto nella sezione precedente è stato ripreso e riproposto dagli stessi autori con alcune modifiche in [GL99]. Ci proponiamo ora di mostrare in che modo il precedente modello viene esteso, quali vincoli vengono rilassati e quali invece vengono mantenuti rispetto al lavoro precedente.

La descrizione del sistema su cui si basa il modello rimane identica a quella descritta nel paragrafo 3.1.1, su tale sistema vengono poi introdotte due principali modifiche, che riportiamo di seguito.

- **Prodotti metabolici.** La soluzione in cui è immersa la biomassa non è costituita, come nel precedente caso, da soli nutrienti bensì anche da prodotti di scarto del metabolismo cellulare. Verranno quindi proposti due modelli separati per descrivere la concentrazione del substrato. Nel primo, come nel precedente paragrafo, si assume che i diversi tipi di nutrienti siano modellabili come una singola specie. Il secondo modello descrive la concentrazione di prodotti nel mezzo bifasico e, analogamente al primo, ne viene considerata la concentrazione di una singola specie. Inoltre, per quanto riguarda i parametri fisici di diffusione e di solubilità presenti nel modello, si assume che i coefficienti della specie dei prodotti metabolici presente in quantità maggiore (es. Lattato) siano uguali a quelli della maggior specie dei nutrienti (es. Glucosio).
- **Dipendenza temporale e spaziale.** Viene rimossa l'ipotesi di quasi-stazionarietà su cui si basava il modello descritto nella sezione 3.1, viene quindi introdotto un termine di derivata temporale delle concentrazioni di nutrienti e prodotti. Viene rimossa inoltre l'ipotesi di monodimensionalità del sistema e non viene effettuato il passaggio dell'Area Averaging. Queste modifiche comportano che le concentrazioni nel substrato e i parametri effettivi siano dipendenti sia dalla variabile spaziale che da quella temporale. Tali dipendenze si trasferiscono poi al modello per la crescita di biomassa, permettendo di

studiare gli effetti della variazione spaziale anche sulla frazione volumetrica di cellule.

Descriviamo nei prossimi paragrafi i modelli presentati in [GL99]: due per la concentrazione del substrato, uno per i nutrienti e uno per i prodotti, e il terzo per la frazione volumetrica di cellule. Le ipotesi che tali modelli hanno in comune con i precedenti (sezione 3.1) non verranno ridiscusse, sarà invece dato spazio ai cambiamenti che i nuovi modelli propongono.

3.2.1 Concentrazione del substrato: nutrienti e prodotti

Per la concentrazione di nutrienti e prodotti vengono riproposti i primi due step del paragrafo 3.1.2: verranno descritte le equazioni di bilancio alle quali sarà poi applicato il metodo del Volume Averaging.

Le ipotesi su cui si basa il modello per la concentrazione dei nutrienti sono del tutto analoghe a quelle del caso precedente, fatta eccezione per l'ipotesi di quasi stazionarietà. Passiamo quindi direttamente alla stesura della equazioni per la variabile \tilde{c} , ricordando che la descrizione proposta in queste equazioni si riferisce alla scala mesoscopica.

$$\frac{\partial \tilde{c}_\beta}{\partial t} = \nabla \cdot D_\beta \nabla \tilde{c}_\beta \quad \text{in } V_\beta \quad (3.22)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\beta \nabla \tilde{c}_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (3.23)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma = P(\tilde{c}_\gamma - K_{eq} \tilde{c}_\beta) \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (3.24)$$

$$\frac{\partial \tilde{c}_\gamma}{\partial t} = \nabla \cdot D_\gamma \nabla \tilde{c}_\gamma - k_m \tilde{c}_\gamma \quad \text{in } V_\gamma \quad (3.25)$$

$$\tilde{c}_\beta = F(\underline{r}, t) \quad \text{su } A_{\beta e} \quad (3.26)$$

$$\tilde{c}_\gamma = G(\underline{r}, t) \quad \text{su } A_{\gamma e} \quad (3.27)$$

Per quanto riguarda i prodotti invece si introducono le seguenti due variabili, scritte alla scala mesoscopica:

- \tilde{p}_β : concentrazione di prodotti nella fase β ;
- \tilde{p}_γ : concentrazione di prodotti nella fase γ .

Si assume che valgano le seguenti equazioni:

$$\frac{\partial \tilde{p}_\beta}{\partial t} = \nabla \cdot D_\beta \nabla \tilde{p}_\beta \quad \text{in } V_\beta \quad (3.28)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\beta \nabla \tilde{p}_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{p}_\gamma \quad \text{su } A_{\beta\gamma} \quad (3.29)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\gamma} \cdot D_\gamma \nabla \tilde{p}_\gamma = P(\tilde{p}_\gamma - K_{eq} \tilde{p}_\beta) \quad \text{su} \quad A_{\beta\gamma} \quad (3.30)$$

$$\frac{\partial \tilde{p}_\gamma}{\partial t} = \nabla \cdot D_\gamma \nabla \tilde{p}_\gamma + k_p \tilde{p}_\gamma \quad \text{in} \quad V_\gamma \quad (3.31)$$

$$\tilde{p}_\beta = F(\underline{r}, t) \quad \text{su} \quad A_{\beta e} \quad (3.32)$$

$$\tilde{p}_\gamma = G(\underline{r}, t) \quad \text{su} \quad A_{\gamma e}. \quad (3.33)$$

Come da ipotesi le costanti fisiche che compaiono nei due sistemi di equazioni sono le medesime. Rispetto al precedente modello descritto in 3.1.2 viene introdotto un nuovo coefficiente, k_p , che descrive il tasso di reazione dei prodotti. Notiamo che il termine di reazione dell'equazione (3.31) ha segno opposto rispetto al corrispettivo termine per i nutrienti nella (3.25), poichè nel primo caso si parla di generazione di sostanze da parte dei condrociti e nel secondo di consumo di sostanze per il metabolismo cellulare.

Applicando il metodo del Volume Averaging si giunge ai seguenti risultati, riferiti alla macroscale spaziale:

$$\frac{\partial \{c\}}{\partial t} = \mathbf{D}_{eff} \Delta \{c\} - k_{eff} \{c\} \quad (3.34)$$

$$\frac{\partial \{p\}}{\partial t} = \mathbf{D}_{eff} \Delta \{p\} + k_{peff} \{p\} \quad (3.35)$$

con \mathbf{D}_{eff} e k_{eff} definite da (3.12) e (3.13) mentre k_{peff} ha la seguente forma:

$$k_{eff} = \frac{\varepsilon_\gamma K_{eq} k_m}{\varepsilon_\gamma K_{eq} + \varepsilon_\beta} \quad (3.36)$$

3.2.2 Cellularità: inibizione dei prodotti sulla crescita cellulare

Per quanto riguarda il tasso di crescita del tessuto vengono fatte le medesime ipotesi della sezione 2.1.3. Il modello a cui facciamo riferimento è quindi il seguente:

$$\frac{d\varepsilon_\gamma}{dt} = \frac{\varepsilon_\gamma}{\rho_\gamma} R_\gamma \quad (3.37)$$

Per quanto riguarda la scelta del termine R_γ , in [GL99] viene proposta un'unica forma, sempre secondo il modello di *Modified Contois*, utilizzato anche in [GL00]. In questo caso tuttavia il tasso di crescita non dipende solo dal livello di saturazione dei nutrienti e dalla quantità di cellule, come avveniva nella (3.20), ma viene introdotta anche la concentrazione dei prodotti. Ricordiamo che il modello di Contois rappresenta una situazione in cui c'è inibizione alla crescita dovuta alla sovrappopolazione. Anche la quantità di prodotti agisce come termine di inibizione, poichè la presenza di tali sostanze diminuisce ulteriormente la capacità di diffusione dei

nutrienti e di conseguenza limita la crescita cellulare stessa. Inoltre è importante sottolineare che, in un sistema dove c'è una crescita *immobilizzata* di cellule, i gradienti delle concentrazioni dei prodotti sono elevati ai bordi del sistema stesso e ciò comporta che l'inibizione da parte di tali sostanze deve essere considerata anche quando la concentrazione di prodotti nella soluzione del substrato è inferiore al livello di inibizione.

R_γ si scrive dunque nella seguente forma:

$$R_\gamma = \left[\frac{k_g c_\gamma}{K_c \rho \left(1 + \frac{p_\gamma}{K_{pr}}\right) + c_\gamma} - k_d \right] \rho_\gamma \quad (3.38)$$

dove K_{pr} è la costante di suscettività dei prodotti. Il termine di concentrazione nella (3.38) deve essere tradotto nel rispettivo termine mediato e per far ciò si utilizza la decomposizione di Gray (2.34). Si giunge quindi a scrivere la seguente equazione adimensionale per la frazione volumetrica di cellule:

$$\frac{d\varepsilon_\gamma}{dt'} = \left[\frac{\phi_g^2 \{c\}}{K'_c \varepsilon_\gamma \left(1 + \frac{\{p\}}{K_{pr}}\right) + \{c\}} - \phi_d^2 \right] \varepsilon_\gamma \quad (3.39)$$

dove il tempo adimensionale t' e i coefficienti sono definiti come in (3.21) e $K'_{pr} = K_{pr}/C_0 K_{eq}$ è la costante adimensionale di suscettività dei prodotti.

Osservazione.

La dipendenza spaziale non compare esplicitamente nell'equazione (3.39), tuttavia essa è contenuta nei termini medi $\{c\}$ e $\{p\}$, soluzioni delle rispettive equazioni spazio-tempo dipendenti (3.34) e (3.35).

3.2.3 Discussione

Riassumiamo i risultati ottenuti in questa sezione per il modello per la crescita cellulare e per il coefficiente di diffusione effettivo. Le estensioni rispetto al caso proposto nella sezione precedente sono essenzialmente due:

- introduzione degli effetti della concentrazione dei prodotti;
- introduzione della variazione spaziale per le concentrazioni di cellule, nutrienti e prodotti all'interno dello scaffold.

Come nel caso precedente i risultati ottenuti dalla risoluzione del modello, confrontati con i valori sperimentali, prevedono solo qualitativamente l'andamento della crescita cellulare. Il modello proposto in [GL99] non riesce a riprodurre quantitativamente i risultati misurati negli esperimenti, poichè, per quanto più accurato del precedente [GL00], trascura ancora molti effetti indispensabili nella descrizione del fenomeno di crescita cellulare. Viene infatti trascurato il contributo essenziale della matrice extracellulare e dello scaffold, inoltre, a differenza di quanto accade per la cartilagine *in vivo*, il substrato non è sottoposto a fenomeni di trasporto convettivo e non è in grado di generare sullo scaffold gli sforzi fisiologici presenti *in vivo*.

Gli andamenti ottenuti in [GL99] sono simili a quelli ottenuti in [GL00], dove veniva applicato il metodo dell'Area Averaging. Dato che l'introduzione della variabile spaziale non porta a risultati quantitativamente migliori ma comporta la risoluzione di due ulteriori problemi alle derivate parziali, non sembra vantaggioso, allo stato attuale, implementare il modello spazio-dipendente.

In conclusione, prima di considerare la dipendenza spaziale delle concentrazioni all'interno dello scaffold è necessario sviluppare un modello che introduca la presenza, la produzione e gli effetti della matrice extracellulare sulla crescita del tessuto cartilagineo.

3.3 Un modello per la crescita di ECM

In questa sezione analizziamo i modelli per la crescita di ECM proposti in [DS03]. L'articolo si basa su un'importante considerazione: quando la cartilagine viene espianata e mantenuta in un cultura per tempi lunghi la composizione del tessuto raggiunge uno stato stazionario, caratterizzato non da una inattività dei processi, ma piuttosto da un bilancio tra anabolismo e catabolismo delle macromolecole presenti nel tessuto. Per quanto riguarda le principali componenti della matrice extracellulare specifichiamo che il tempo di turn-over dei proteoglicani è dell'ordine di giorni-settimane, mentre quello del collagene è dell'ordine di mesi-anni.

Un'altra considerazione importante alla base dei modelli sviluppati è nella *natura* delle molecole sintetizzate. Esse infatti attraversano un processo di sviluppo suddiviso in tre fasi differenti: le cellule, i condrociti, sintetizzano nuova matrice sotto forma di molecole *solubili*, che diffondono nel tessuto e successivamente si legano con la matrice preesistente, aumentando la componente *legata* della ECM. Infine, attraverso un processo di degradazione, le molecole si staccano dalla matrice e diffondono nuovamente nel tessuto come molecole *degradatae*, incapaci di legarsi nuovamente. Si assume che ogni passaggio di questa catena sia irreversibile e che siano passaggi *obbligati* per ogni singola nuova molecola sintetizzata. Dalle misurazioni che sono state effettuate sulla cartilagine *in vivo* si può dare una stima numerica di come dovrebbero essere suddivise le componenti della ECM nelle tre diverse componenti. Per quanto riguarda il collagene esso è presente al 95% in una forma insolubile e quindi legata, i proteoglicani sono invece al 60 – 80% in forma di aggregati stabili mentre il 20 – 40% della componente in grado di muoversi è sotto forma di molecole degradate.

Per comprendere a fondo i modelli è necessario specificare gli esperimenti a cui i modelli si applicano o, alternativamente, le situazioni con i quali essi vengono confrontati. Per quanto riguarda i modelli esposti in [DS03] essi fanno riferimento ad una cartilagine espianata e immersa in una soluzione di nutrienti in situazione statica. Sperimentalmente non viene utilizzato il supporto di uno scaffold e nei modelli non viene quindi presa in considerazione alcuna percentuale di matrice polimerica: le uniche componenti del costruito sono cellule e matrice extracellulare.

3.3.1 Il Modello Single Compartment: ipotesi ed equazioni

Il primo modello presentato in [DS03] viene denominato *Single Compartment Model*. Questa prima proposta mira ad ottenere un'equazione semplice che fornisca un'indicazione qualitativa sulle grandezze ottenibili alla macroscale. L'incognita del modello viene indicata con il simbolo $c(t)$ ed è la somma delle concentrazioni delle tre componenti, solubile, legata e degradata, che formano la matrice extracellulare. La concentrazione totale viene mediata sull'intero volume del costruito (l'operazione di media viene indicata con la notazione $\langle \cdot \rangle$) e vengono quindi scritte delle equazioni di bilancio a livello macroscopico, sulla scala dello spessore dell'intero costruito. Il modello propone inizialmente una forma per il tasso di variazione temporale della variabile $\langle c(t) \rangle$ come bilancio netto tra un termine di produzione e uno di perdita; successivamente viene applicata l'ipotesi di stazionarietà per ottenere un risultato che valga all'equilibrio. Ricordiamo che la situazione di equilibrio non sta a significare un metabolismo cellulare inattivo, ma un bilancio tra processi di formazione e di perdita delle componenti della ECM. Viene inoltre supposto che il tasso di perdita delle macromolecole sia del primo ordine e quindi lineare rispetto alla concentrazione media di molecole stesse.

Vediamo ora come le ipotesi appena riportate si ripercuotono nella stesura delle equazioni del modello. Dato che la variabile considerata è mediata sulla macroscale spaziale e perciò uniforme in tutto il costruito, nel modello non viene introdotta alcuna dipendenza dalla variabile spaziale, l'unica variabile indipendente è quella temporale.

$$\frac{d\langle c(t) \rangle}{dt} = \langle k_f \rangle - \langle r_l \rangle \quad (3.40)$$

$\langle k_f \rangle$ e $\langle r_l \rangle$ sono rispettivamente i tassi medi di formazione e di perdita della matrice stessa e dalle ipotesi di linearità riportate precedentemente possiamo riscrivere $\langle r_l \rangle$ nel seguente modo:

$$\langle r_l \rangle = \langle k_l \rangle \langle c(t) \rangle \quad (3.41)$$

L'ipotesi di stazionarietà può essere quindi introdotta in due modi differenti: annullando la derivata temporale della concentrazione media o alternativamente considerando nullo il bilancio tra i due tassi introdotti nell'equazione (3.40). Assumendo inoltre che i parametri $\langle k_f \rangle$ e $\langle k_l \rangle$ siano costanti si ottiene:

$$\langle c_\infty \rangle = \frac{\langle k_f \rangle}{\langle k_l \rangle} \quad (3.42)$$

dove $\langle c_\infty \rangle$ è la concentrazione media della matrice extracellulare all'equilibrio ed è pari al rapporto tra le costanti dei tassi medi di formazione e di perdita.

3.3.2 Il Modello Continuo: ipotesi ed equazioni

Il modello *Single Compartment* permette di ottenere una forma molto semplice per quanto riguarda la concentrazione media all'equilibrio; questa semplicità è tuttavia prezzo di un risultato poco accurato. L'articolo di [DS03] propone di espandere il

modello precedente, rimuovendo l'operazione di media spaziale e introducendo la dipendenza dalla variabile spaziale. Il modello prende il nome di *Modello Continuo*. Innanzitutto, per quanto riguarda le variabili dipendenti del problema, vengono ora considerate tre diverse concentrazioni puntuali, una per la componente solubile c_s , una per la componente legata c_b e infine per la componente degradata c_d . Come già effettuato nel modello precedente, il modello viene proposto in dipendenza anche dalla variabile temporale. Seguendo quanto riportato in [DS03] viene successivamente introdotta l'ipotesi di stazionarietà. In questa sezione riportiamo i passaggi effettuati per ottenere i risultati all'equilibrio poichè mostrano alcune relazione interessanti tra i vari fenomeni in gioco.

Come già accennato in questo secondo modello viene introdotta la dipendenza dalla variabile spaziale. Viene sviluppato un modello monodimensionale, dipendente dalla coordinata x longitudinale al costruito. L'ipotesi di monodimensionalità del problema è basata sull'assunzione che le variazioni delle concentrazioni si registrino nella sola direzione x , mentre i gradienti nelle direzioni trasversali a x possano essere trascurati. Le concentrazioni sono quindi uniformi su tutta l'area del costruito a \bar{x} fissata, fig 3.2.

Come abbiamo specificato nell'introduzione, il costruito cartilagineo è immerso in una soluzione di nutrienti o alternativamente di fluido sinoviale che si trova a riposo; per tale motivo non vi è presenza di fenomeni di trasporto convettivi delle molecole prodotte dai condrociti, il trasporto avviene esclusivamente per diffusione e interessa le componenti effettivamente mobili, cioè la porzione solubile e quella degradata.

Un'altra assunzione importante del modello riguarda il metabolismo cellulare, viene infatti supposto che i condrociti producano macromolecole che vanno ad aggiungersi unicamente alla componente solubile della matrice e che queste molecole debbano necessariamente legarsi prima di poter passare alla forma degradata. Le molecole legate non sono in grado di muoversi e affinché sia mantenuta l'integrità del costruito analizzato viene supposto che alle interfacce cartilagineo-fluido ci sia una concentrazione di legati diversa da zero. Per quanto riguarda la componente degradata, essa è considerata mobile ma ormai incapace di legarsi nuovamente alle altre molecole.

Risulta necessario a questo punto discutere brevemente le scale spaziali prese in considerazione in [DS03] per precisare un passaggio che gli autori compiono implicitamente all'interno del loro lavoro. Il modello si basa infatti su considerazioni a livello microscopico, in quanto si interessa dei processi di diffusione, reazione, trasporto che interessano le molecole prodotte dai condrociti e che avvengono al di fuori della membrana cellulare. La scala a cui si osservano quindi questi fenomeni è quella in cui si possono distinguere le due fasi della biomassa, cellule e ECM, cioè la scala *microscopica*. Seguendo questo ragionamento le incognite del modello dovrebbero essere scritte con la seguente notazione, come riportato nel paragrafo 2.1:

$$\hat{c}_i(\hat{x}, t)$$

dove $i = s, b, d$ a seconda che ci si riferisca rispettivamente alla concentrazione di solubili, legati o degradati. Tuttavia nell'articolo di [DS03] viene operato un up-

scaling implicito giustificato da un'ipotesi di omogeneità del costruito, per cui si può assumere che la matrice extracellulare permei tutto il volume disponibile. Tale ipotesi non è lontana dalla realtà di un tessuto cartilagineo espantato da un organismo vivente, dove non c'è la presenza di una matrice polimerica di supporto. Per avvalorare quanto detto ora ricordiamo che il rapporto fisiologico tra concentrazione di condrociti e di matrice extracellulare è pari a circa 0.03 – 0.05. Il modello viene quindi proposto in variabili macroscopiche ed esteso a tutta la dimensione del costruito, non solo al dominio circostante il singolo condrocita. Ci si riferisce alle concentrazioni delle molecole di proteoglicani con la seguente notazione, sempre in accordo con la sezione 2.1:

$$c_i(x, t)$$

dove $i = s, b, d$.

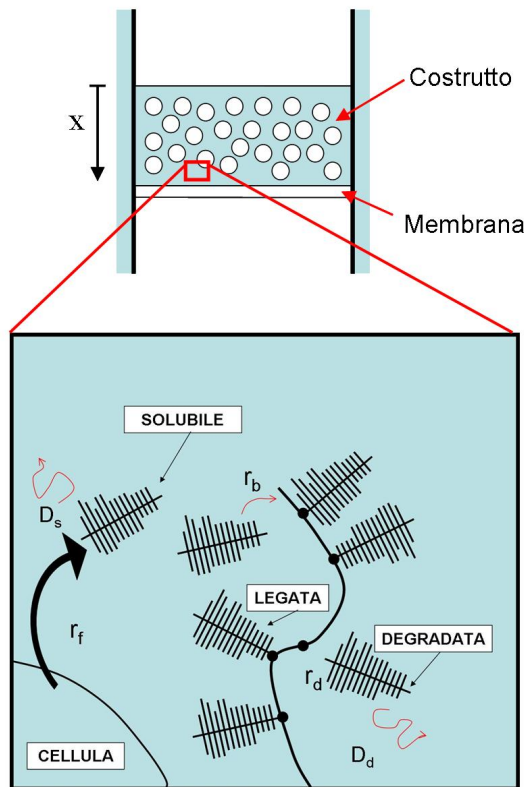


Figura 3.2: Modello di Dimicco e Sah [DS03]. Sopra: immagine alla macroscale, costruito contenuto da pareti rigide, superficie superiore libera, superficie inferiore delimitata da una membrana. Sotto: immagine della microscala, presenza delle tre diverse componenti di ECM.

Passiamo quindi alla stesura delle equazioni e, come nel caso del modello precedente, evidenziamo il modo in cui le ipotesi poste influenzano la scrittura del modello.

Per quanto riguarda la componente solubile possiamo scrivere:

$$\frac{\partial c_s(x, t)}{\partial t} = k_f + D_s \frac{\partial^2 c_s(x, t)}{\partial x^2} - r_b \quad (3.43)$$

dove osserviamo che non compare alcun termine di trasporto convettivo, data la situazione statica in cui si trova il fluido in cui la cartilagine è immersa; compare tuttavia un termine diffusivo dovuto alla mobilità delle molecole solubili. Il termine k_f è invece il tasso di produzione di nuova matrice extracellulare; il tasso di perdita r_b è interpretabile come un tasso di transizione dalla componente solubile a quella legata e si può riscrivere sotto l'ipotesi che sia linearmente dipendente dalla concentrazione di solubili stessa.

Possiamo scrivere:

$$\frac{\partial c_s(x, t)}{\partial t} = k_f + D_s \frac{\partial^2 c_s(x, t)}{\partial x^2} - k_b c_s \quad (3.44)$$

Per quanto riguarda la parte legata abbiamo:

$$\frac{\partial c_b(x, t)}{\partial t} = r_b - r_d \quad (3.45)$$

dove evidenziamo che il tasso di formazione r_b è esattamente lo stesso termine che compariva nell'equazione per la componente solubile, ma con segno opposto. Per quanto riguarda la componente legata, non essendo mobile, non abbiamo alcun termine diffusivo, mentre il tasso di perdita r_d tiene conto della transizione a molecole degradate e, come è stato assunto per il termine r_b , anche in questo caso la perdita è linearmente dipendente dalla concentrazione di legati. Riscriviamo dunque l'equazione nella seguente forma:

$$\frac{\partial c_b(x, t)}{\partial t} = k_b c_s - k_d (c_b - c_{b\infty}^0) \quad (3.46)$$

In questa equazione vediamo comparire la quantità $c_{b\infty}^0$ che rappresenta una sottoparte della popolazione legata a cui non è permesso degradarsi.

Infine per la componente degradata possiamo scrivere:

$$\frac{\partial c_d(x, t)}{\partial t} = r_d + D_s \frac{\partial^2 c_d(x, t)}{\partial x^2} \quad (3.47)$$

dove notiamo non compare alcun termine di perdita: la componente degradata infatti non è in grado di ritornare alla forma legata e, in assenza di trasporto convettivo, essa non risulta soggetta a fenomeni di trascinamento e perdita.

Introduciamo ora nel modello l'ipotesi di stazionarietà: ricordiamo che l'obiettivo del lavoro di [DS03] è lo studio della concentrazione di ECM una volta che il costrutto abbia raggiunto una situazione di equilibrio. Annulliamo dunque tutte le derivate temporali presenti nelle equazioni (3.44), (3.46) e (3.47) e identifichiamo le concentrazioni stazionarie attraverso il pedice ∞ :

$$k_f + D_s \frac{\partial^2 c_{s\infty}(x, t)}{\partial x^2} - k_b c_{s\infty} = 0 \quad (3.48)$$

$$k_b c_{s\infty} = k_d (c_{b\infty} - c_{b\infty}^0) \quad (3.49)$$

$$k_d (c_{b\infty} - c_{b\infty}^0) = -D_s \frac{\partial^2 c_{d\infty}(x, t)}{\partial x^2} \quad (3.50)$$

Sostituendo la (3.49) e la (3.50) nella (3.48) otteniamo:

$$k_f + D_s \frac{\partial^2 c_{s\infty}(x, t)}{\partial x^2} + D_s \frac{\partial^2 c_{d\infty}(x, t)}{\partial x^2} = 0 \quad (3.51)$$

Questa equazione indica che il fenomeno di sintesi di nuova matrice e i processi di trasporto diffusivo che interessano le molecole mobili della ECM si controbilanciano all'equilibrio. Da notare che in questa equazione vengono paragonati due tipologie di fenomeni che appartengono a sfere differenti: un fenomeno biologico di reazione riassunto nel termine k_f dipendente dalle caratteristiche del metabolismo dei condrociti e un fenomeno fisico-meccanico costituito dai due termini gradiente che modellano il trasporto diffusivo. Inoltre nell'uguaglianza (3.51) vengono accostati dei processi che interessano scale differenti. Il tasso di reazione costante è tipico infatti di un modello sviluppato alla macroscale, dove l'effetto osservabile è quello della crescita del costrutto cartilagineo; d'altra parte la diffusione delle molecole di proteoglicani è invece un fenomeno tipico della microscale, dove vi è la possibilità di distinguere le diverse componenti della biomassa e quindi registrare i movimenti compiuti dalle molecole della ECM.

Da ultimo specifichiamo le condizioni di bordo che devono soddisfare le concentrazioni, in particolare le componenti mobili sono nulle e quella legata è pari alla concentrazione di riferimento $c_{b\infty}^0$.

$$c_{s\infty}(x = -h) = c_{s\infty}(x = h) = 0$$

$$c_{b\infty}(x = -h) = c_{b\infty}(x = h) = c_{b\infty}^0$$

$$c_{d\infty}(x = -h) = c_{d\infty}(x = h) = 0$$

3.3.3 Discussione

Presentiamo ora una breve discussione delle ipotesi e dei risultati dei due modelli di Dimicco e Sah appena presentati. Ricordiamo che il primo prende il nome di Single Compartment Model ed è stato utilizzato per descrivere il tasso netto di metabolismo della matrice extracellulare, mentre il secondo, il modello continuo, è un'espansione del primo e prende in considerazione il metabolismo, le interazioni e la diffusione di macromolecole in un tessuto cartilagineo in condizioni stazionarie. Per sviluppare i due modelli sono state fatte tre importanti assunzioni.

La prima riguarda la scelta della scala spaziale, infatti entrambi i modelli sono sviluppati alla macroscale. Per il modello Single Compartment la scelta della macroscale spaziale è basata sull'operazione di media che viene supposta a priori. Interessa, infatti, ottenere equazioni valide per una concentrazione mediata e non puntuale, per poter confrontare i risultati con quelli della macroscale. Nell'altro caso, per quanto riguarda il modello continuo, l'ipotesi di estendere le equazioni alle

scale più grandi è basata su un'assunzione di omogeneità del costruito. Ricordiamo che tale ipotesi è sostenibile nel momento in cui si lavora con un costruito cartilagineo in assenza di scaffold, in presenza quindi di soli condrociti e ECM. In tale situazione assumere che tutto il costruito sia permeato dalla ECM non si allontana dalla realtà in quanto il contenuto fisiologico di condrociti in una cartilagine è estremamente ridotto. Tuttavia nel corso della tesi avremo a che fare con esperimenti costruiti con l'utilizzo di una matrice polimerica che non può essere trascurata poiché arriva ad occupare anche il 60–80% del volume disponibile [RBF⁺02]. L'ipotesi di omogeneità del costruito dovrà quindi essere riconsiderata e ridiscussa nei capitoli successivi, a seconda degli esperimenti a cui i modelli dovranno essere applicati. La seconda ipotesi è stata effettuata a priori e riguarda la chimica delle reazioni che regolano il metabolismo e il passaggio delle macromolecole da uno stato al successivo. In particolare la complessità delle reazioni biosintetiche, di legame e di degrado, viene trascurata, e si considerano reazioni ad un passo con coefficienti di tasso costanti e uniformi. Nella realtà, per quanto riguarda la cartilagine *in vivo*, il metabolismo dei condrociti varia sensibilmente scendendo in profondità, quando ci si allontana dalla superficie articolare e inoltre non ha caratteristiche costanti in tempo. Per questi motivi anche i tassi di reazione e i coefficienti di diffusione dovrebbero essere considerati variabili sia in tempo che in spazio.

L'ultima importante assunzione riguarda il disegno dell'esperimento. Ricordiamo infatti che la cartilagine viene immersa in un fluido a riposo e non viene sottoposta ad alcuno sforzo meccanico. Questa situazione si allontana sensibilmente da quanto avviene *in vivo*: la cartilagine è sottoposta a continui carichi e tale stimolo influenza la struttura molecolare del tessuto. Inoltre quando esso viene compresso la permeabilità idraulica decresce e ciò porterebbe ad una conseguente variazione dei coefficienti di diffusività e trasporto convettivo delle molecole.

Da queste considerazioni si evince che un aspetto importante da sviluppare è la dipendenza del modello dai diversi parametri metabolici, il cui studio potrebbe portare a risultati maggiormente accurati. Un'analisi indipendente potrebbe essere portata avanti per quanto riguarda invece le proprietà del trasporto diffusivo delle specifiche macromolecole. Infine per ampliare il modello continuo si potrebbe analizzare più accuratamente i processi di legame e la distribuzione spaziale della nuova matrice sintetizzata, per ottenere un risultato maggiormente coerente con le caratteristiche reali di un tessuto cartilagineo.

3.4 Modelli per la crescita di ECM: estensione al caso della perfusione

I modelli proposti precedentemente e riportati in [DS03] sono stati ripresi in letteratura e ampliati. In questa sezione riassumiamo il modello proposto in [KS07] che tratta anch'esso la crescita di matrice extracellulare in un tessuto cartilagineo. L'obiettivo di questo modello è di estendere quello proposto da [DS03] mantenendo la dipendenza temporale e spaziale delle concentrazioni di componenti della matrice. Rispetto al precedente il modello di [KS07] introduce due aspetti importanti: la presenza di una membrana semipermeabile e la perfusione di un flusso di nutrienti.

L'esperimento a cui il modello vuole rifarsi è quello di un costrutto cartilagineo inserito in un bioreattore e perfuso da un flusso di nutrienti, dove la superficie del costrutto in cui il flusso entra è considerata libera mentre quella uscente è a contatto con la membrana. Ai fini del nostro lavoro non ci soffermiamo sugli effetti della semi-permeabilità della membrana, che influenza soprattutto le condizioni al bordo, riportiamo e discutiamo invece come lo stimolo degli sforzi viene introdotto nel modello, quali parametri sono legati a tale fenomeno e come le variazioni di questi parametri agiscono sulla crescita di ECM.

3.4.1 Le ipotesi del modello

Riportiamo in questo paragrafo le ipotesi del modello, tuttavia, essendo il presente una estensione del modello di Dimicco e Sah, le assunzioni che sono già state discusse nella sezione precedente verranno riprese sinteticamente.

Come nel modello [DS03], infatti, anche in questo caso le incognite dipendenti del problema sono tre, rappresentati le concentrazioni di molecole di proteoglicani suddivise nei tre gruppi, solubili, legate e degradate. Lo spessore del costrutto non varia nel tempo e le proprietà di trasporto sono uniformi e costanti. La componente solubile e quella degradata sono mobili e in particolare sono soggette a due fenomeni di trasporto: il primo ha natura diffusiva, regolato da specifici coefficienti di diffusività, il secondo è invece di natura convettiva, dovuto alla presenza della perfusione e influenzato dalla velocità media del flusso di nutrienti.

Nel modello viene considerata sia la dipendenza temporale, sia quella spaziale; in particolare, per quest'ultima, viene assunto che le variazioni delle concentrazioni si registrino nella sola direzione longitudinale x , parallela a quella della velocità di perfusione, lungo la quale viene misurato lo spessore del costrutto. Precisiamo che la velocità di perfusione v è assunta essere costante nel tempo. Nella direzione radiale viene ipotizzato che le variazioni delle concentrazioni siano trascurabili, ipotesi che rimane valida se il profilo di velocità del flusso entrante è uniforme.

Infine anche in questo modello, come in quello precedente, la nuova matrice sintetizzata va ad aggiungersi alla componente solubile della ECM.

Per quanto riguarda la scelta delle scale spaziali vale la medesima considerazione effettuata per il modello continuo nel paragrafo 3.3.2. Anche in questo caso le equazioni si riferiscono a fenomeni che avvengono alla microscala spaziale, come la diffusione e il trasporto di proteoglicani nel dominio circostante le cellule. Tuttavia sotto un'ipotesi di omogeneità del tessuto, le equazioni vengono estese alla macroscala, e si lavora quindi sull'intero spessore h del costrutto. La notazione per la scrittura del modello è coerente con quella di variabili alla macroscala, viene infatti utilizzata la seguente simbologia per le incognite dipendenti del problema:

$$c_i(x, t)$$

dove $i = s, b, d$.

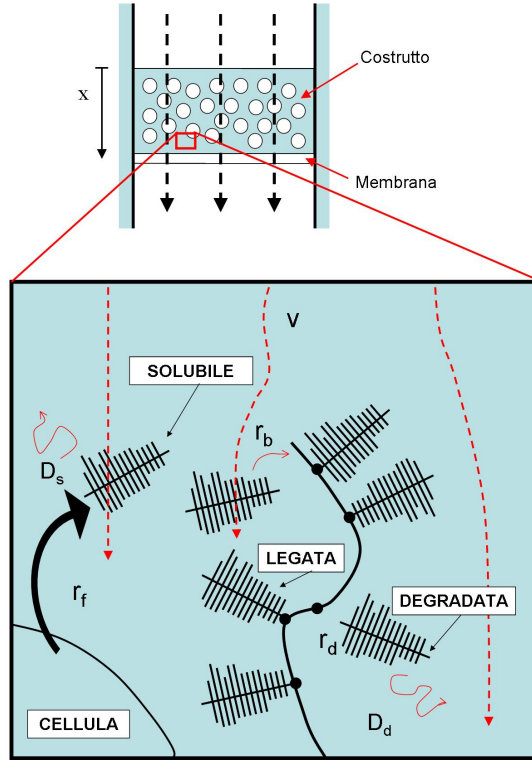


Figura 3.3: Modello di Klein e Sah [KS07]. Sopra: immagine alla macroscala, costrutto contenuto da pareti rigide sottoposto a perfusione diretta, superficie superiore libera, superficie inferiore delimitata da una membrana. Sotto: immagine della microscala, presenza delle tre diverse componenti di ECM.

3.4.2 Le equazioni di bilancio

Riportiamo ora le equazioni di bilancio del modello per ciascuna delle componenti considerate.

- **Componente Solubile**

Le molecole solubili sono sottoposte ai seguenti processi: biosintesi da parte dei condrociti, diffusione all'interno del costrutto, trasporto dovuto alla perfusione, passaggio a molecole legate. Tutti questi fenomeni vengono tenuti in considerazione nella seguente equazione:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = r_f - r_b + D_s \frac{\partial^2 c_s}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_s}{\partial x} \quad (3.52)$$

dove i simboli che compaiono hanno il seguente significato:

c_s =concentrazione della componente solubile, $[g/cm^3]$;

r_f =tasso volumetrico di formazione dei PG, $[g/(cm^3s)]$;

r_b =tasso volumetrico di passaggio da componente solubile e componente legata, $[g/(cm^3s)]$;

D_s =coefficiente di diffusione della componente solubile, $[cm^2/s]$;

v =velocità di perfusione, $[cm/s]$;

Notiamo che l'effetto del trasporto convettivo è descritto attraverso il termine

$$-v \frac{\partial c_s}{\partial x}.$$

Questo contributo ha segno negativo e perciò modella un fenomeno di perdita della componente solubile, dovuto al trascinamento da parte del flusso di nutrienti. La membrana semipermeabile posta al bordo del costruito permette alle molecole di fuoriuscire dal costruito stesso. Analizziamo ora in particolare il termine di reazione r_f che compare nell'equazione (3.52). In generale i tassi di reazione possono essere funzioni sia dello spazio sia del tempo e dipendono dalle concentrazioni locali di specifiche componenti. Come già supposto in [DS03], anche in questo caso il tasso di reazione della nuova matrice sintetizzata ha un contributo costante e linearmente dipendente da una concentrazione fissa di materiale del costruito c_0 . L'effetto di perfusione acquista a questo punto un'importanza particolare. Come verificato in numerosi esperimenti, i carichi e gli sforzi generati sulle pareti di un costruito cartilagineo influenzano la biosintesi e il metabolismo cellulare, in particolare sono di stimolo alla produzione sia di condrociti sia di ECM. Per tale motivo vi è la necessità di inserire un contributo aggiuntivo al termine r_f che tenga conto appunto dell'effetto di perfusione. Viene quindi ipotizzato che vi sia una dipendenza lineare tra r_f e la velocità v , tramite una costante b . Tale termine viene aggiunto esclusivamente nel tasso di reazione della componente solubile poichè viene assunto che la perfusione e gli sforzi agiscano esclusivamente come stimolo alla biosintesi e non come stimolo ai fenomeni di transizione delle molecole da un tipo all'altro.

Possiamo quindi scrivere r_f nel seguente modo:

$$r_f = k_f c_0 + bv \tag{3.53}$$

dove

k_f è la costante del tasso di formazione, $[s^{-1}]$;

c_0 è la densità di biomassa nel costruito all'istante iniziale, $[g\ cm^{-3}]$;

b è il parametro che lega perfusione e sintesi, $[g\ cm^{-4}]$;

La relazione (3.53) può quindi essere sostituita all'interno dell'equazione (3.52) e si ottiene:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = k_f c_0 + bv - r_b + D_s \frac{\partial^2 c_s}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_s}{\partial x} \tag{3.54}$$

- Componente Legata

Si assume che la componente legata sia immobile e perciò non soggetta a feno-

meni di trascinamento o diffusione; la variazione temporale di questa componente sarà regolata di conseguenza unicamente dal tasso netto di produzione di matrice legata.

$$\frac{dc_b}{dt} = r_b - r_d \quad (3.55)$$

Specifichiamo il significato dei simboli nuovi:

c_b =concentrazione della componente legata, [$g\ cm^{-3}$];

r_d =tasso volumetrico di passaggio dalla componente legata a quella degradata, [$g\ cm^{-3}\ s^{-1}$].

Il tasso di legame dipende dalla concentrazione di molecole in grado di legarsi, che sono esclusivamente quelle facenti parte della componente solubile. Di conseguenza si può riscrivere r_b nel seguente modo:

$$r_b = k_b c_s \quad (3.56)$$

dove k_b è la costante del tasso di passaggio da solubili e legati, [s^{-1}];

Riscriviamo quindi l'equazione (3.56) sostituendo la relazione appena proposta:

$$\frac{dc_b}{dt} = k_b c_s - r_d \quad (3.57)$$

- Componente Degradata

Infine analizziamo la componente degradata, sottoposta anch'essa, poichè mobile, a fenomeni di diffusione e trascinamento, come la parte solubile. Anche in questo caso il trasporto convettivo è modellato con un termine di perdita, dovuto appunto al trascinamento e alla fuoriuscita attraverso la membrana.

$$\frac{\partial c_d}{\partial t} = r_d + D_d \frac{\partial^2 c_d}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_d}{\partial x} \quad (3.58)$$

Specifichiamo il significato dei nuovi simboli: c_d è la concentrazione della componente degradata, [$g\ cm^{-3}$];

D_d è il coefficiente di diffusione della componente degradata, [$cm^2\ s^{-1}$]. Per quanto riguarda il tasso di produzione di componente degradata r_d , esso dipende dalla concentrazione di molecole che sono in grado di degradarsi. L'assunzione del modello di [KS07] è che l'unica componente in grado di degradarsi sia quella legata. Riscriviamo quindi r_d :

$$r_d = k_d c_b \quad (3.59)$$

Significato dei simboli:

k_d =costante del tasso di passaggio da legati a degradati, [s^{-1}].

Riscriviamo la (3.60):

$$\frac{\partial c_d}{\partial t} = k_d c_b + D_d \frac{\partial^2 c_d}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_d}{\partial x} \quad (3.60)$$

Il modello si compone quindi delle seguenti equazioni:

$$\begin{aligned}\frac{\partial c_s}{\partial t} &= k_f c_0 + b v - k_b c_s + D_s \frac{\partial^2 c_s}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_s}{\partial x} \\ \frac{d c_b}{d t} &= k_b c_s - k_d c_b \\ \frac{\partial c_d}{\partial t} &= k_d c_b + D_d \frac{\partial^2 c_d}{\partial x^2} - v \frac{\partial c_d}{\partial x}\end{aligned}\tag{3.61}$$

Per completare la stesura del modello mancano due ulteriori elementi: le condizioni al contorno e le condizioni iniziali. Per quanto riguarda le prime in [KS07] si assume che in corrispondenza della superficie libera le concentrazioni di molecole solubili e degradate siano nulle e che il flusso di molecole legate sia nullo. Per quanto riguarda invece la superficie membranale bisogna tenere conto dei coefficienti di riflessione delle molecole, della velocità di perfusione e del grado di permeabilità della membrana stessa. La trattazione completa delle condizioni di bordo riportata in [KS07] non viene qui ripresa nel dettaglio poichè esula dall'interesse del nostro lavoro.

Per quanto riguarda invece le condizioni iniziali si possono imporre le seguenti:

$$\begin{aligned}c_s(0, x) &= 0 \\ c_b(0, x) &= c_{b0} \\ c_d(0, x) &= 0\end{aligned}\tag{3.62}$$

Adimensionalizzazione

Procediamo a questo punto con l'adimensionalizzato delle equazioni (3.61): questo passaggio metterà in evidenza alcune costanti adimensionali interessanti per la trattazione successiva.

Introduciamo le seguenti variabili adimensionali:

- $c'_i = \frac{c_i}{c_0}$ dove c_0 è una concentrazione di riferimento e $i = s, b, d$; ipotizziamo di utilizzare c_0 anche per adimensionalizzare la densità ρ_γ ,
- $t' = \frac{t D^*}{h^2}$, in tutte le equazioni operiamo la scelta $D^* = D_s$,
- $x' = \frac{x}{h}$

e le sostituiamo nelle equazioni (3.61). Otteniamo:

$$\begin{aligned}\frac{\partial c'_s}{\partial t'} &= \alpha \left(1 - \frac{k_b}{k_f} c'_s \right) + \frac{\partial^2 c'_s}{\partial x'^2} - \beta \left(\frac{\partial c'_s}{\partial x'} - \delta \right) \\ \frac{\partial c'_b}{\partial t'} &= \alpha \left(\frac{k_b}{k_f} c'_s - \frac{k_d}{k_f} c'_b \right) \\ \frac{\partial c'_d}{\partial t'} &= \alpha \frac{k_d}{k_f} c'_b + \frac{D_d}{D_s} \frac{\partial^2 c'_d}{\partial x'^2} - \beta \frac{\partial c'_d}{\partial x'}\end{aligned}\tag{3.63}$$

dove:

- $\alpha = \frac{k_f h^2}{D_s}$ è chiamato modulo di Thiele, numero adimensionale che confronta i fenomeni di reazione con quelli di diffusione;
- $\beta = \frac{hv}{D_s}$ è un numero di Peclet, che confronta il tasso di trasporto convettivo con il tasso di trasporto diffusivo;
- $\delta = \frac{bh}{c_0}$ è una stima dell'effetto relativo della perfusione sulla biosintesi di ECM.

3.4.3 Discussione

Riportiamo in questo paragrafo una discussione critica delle assunzioni che sono state poste alla base del modello, per chiarificare dove e con che modalità esso potrebbe essere migliorato.

Per prima cosa ricordiamo che, come nel modello di [DS03], le proprietà fisiche del costrutto sono costanti in tempo e uniformi in spazio. Lo spessore del costrutto viene infatti fissato ad un valore h e tale assunzione non si discosta eccessivamente dalla realtà, per diversi tipi di cartilagine. Tuttavia dobbiamo specificare che tale ipotesi è sensibilmente lontana dalla realtà quando ci troviamo in presenza di tessuti in crescita, caso che sarà preso in considerazione nei capitoli successivi della tesi. A tal proposito si potrebbe tenere conto di un bordo variabile nel tempo all'interno del modello, per far rientrare nella formulazione i cambiamenti che avvengono nelle dimensioni del costrutto. Un altro parametro fisico considerato costante è la diffusività, essa tuttavia varia sensibilmente con l'accumulo di matrice all'interno del tessuto e questi cambiamenti influenzano a loro volta il profilo della concentrazione di proteoglicani. Inoltre la diffusività agisce sui due parametri adimensionali α e β , complicando maggiormente l'effetto di queste variazioni sulle incognite del problema. Bisognerebbe quindi tenere conto dei cambiamenti del coefficiente di diffusione in spazio e in tempo, aggiungendo al modello opportune equazioni differenziali per i coefficienti D_i .

Nella determinazione delle proprietà fisiche, bisogna considerare anche la modalità con cui il tessuto cresce: in una prima fase espansiva, infatti, le concentrazioni molecolari non variano sensibilmente a favore di una variazione del volume occupato dal costrutto; segue alla prima una fase di maturazione in cui, al contrario, il volume rimane pressochè costante e a variare sono proprio le concentrazioni molecolari. Quest'ultima considerazione induce a ragionare su quali variabili debbano essere introdotte per modellare la crescita di ECM in un costrutto. Infatti, in modelli finalizzati a prevedere la crescita sul breve periodo, si può pensare di operare con opportune frazioni volumetriche piuttosto che con concentrazioni; al contrario, sul lungo periodo, per registrare le effettive variazioni che avvengono all'interno del costrutto, si può tornare ad operare con le concentrazioni.

Un altro aspetto importante da tenere in conto è che questo modello non considera

la componente di collagene che forma l'ECM. La matrice di collagene e l'orientamento delle fibre viene trascurato in [KS07] ma è evidente che ha un'influenza sia sulla crescita naturale della cartilagine, sia sulle variazioni delle proprietà meccaniche.

Il modello di [KS07] rappresenta un'espansione del precedente [DS03] poichè tiene conto di un fenomeno di perfusione del costruito. Tuttavia le deformazioni solide e gli sforzi di compressione che si generano a causa di questo flusso di nutrienti non sono inseriti direttamente all'interno del modello e perciò non è possibile stimare quale sia la conseguenza effettiva di questo stimolo sulla crescita del costruito. Il fenomeno della perfusione può inoltre avere un effetto netto positivo o negativo sulle concentrazioni, poichè agisce a due livelli: un effetto di perdita dovuto al fatto che il flusso trascina le molecole mobili e un effetto anabolitico poichè contribuisce al tasso di formazione di nuova matrice. Tuttavia, i dati degli esperimenti proposti in letteratura, [RMC⁺06], mostrano come gli sforzi di taglio, generati sulle pareti del costruito per effetto della perfusione, contribuiscano ad aumentare la produzione di ECM all'interno della cartilagine. Inoltre nel modello [KS07] viene ipotizzato che il flusso di nutrienti abbia un profilo di ingresso uniforme; se al contrario ci fossero variazioni importanti della velocità di perfusione in direzione radiale, sarebbe necessaria una analisi bidimensionale, con l'utilizzo di coordinate cilindriche.

Al fine di ottenere informazioni più dettagliate sullo stimolo della perfusione, si potrebbero aggiungere al modello proposto delle equazioni per la stima degli sforzi e della pressione idrodinamica. Specifichiamo inoltre che dati sperimentali registrano un effetto degli stimoli fluidodinamici non solo sul tasso di formazione della matrice nuova ma anche sul tasso di passaggio da componente legata a componente degradata.

3.5 Conclusioni

Riassumiamo schematicamente quali punti importanti devono essere considerati e discussi per lo sviluppo di modelli di crescita innovativi, che verranno proposti nel corso nella tesi:

- **Componenti del sistema.** Nessuno dei modelli descritti precedentemente tiene conto contemporaneamente di tutte le componenti che possono costituire il sistema. Ricordiamo che nell'esperimento sono coinvolti lo scaffold, la matrice extracellulare, le cellule e il fluido di nutrienti. I modelli descritti in [GL00] e [GL99] trascurano l'ECM, il modello [KS07] non considera la crescita cellulare ed entrambi non introducono la frazione volumetrica occupata dallo scaffold. Considerare i tassi di crescita di ECM e cellule in due modelli separati non è corretto, poichè il rapporto tra essi si basa sulla *reciprocità dinamica ed il coordinamento dei segnali e della comunicazione tra i due è quindi essenziale per il corretto funzionamento di un tessuto* [MRRA09]. Il primo obiettivo di un nuovo modello deve essere quello di considerare la biomassa composta contemporaneamente da cellule e ECM. Successivamente deve essere introdotta anche la presenza dello scaffold, in quanto è necessario poter

quantificare il volume libero nel quale il tessuto può espandere. Ricordiamo che trascurare lo scaffold vuol dire, in alcuni casi, trascurare il 60% – 80% del volume totale [CRS10].

- **Scelta delle Incognite.** Nel corso dei seguenti capitoli verranno sviluppati diversi modelli che si riferiscono a differenti scale temporali. Come già accennato precedentemente, a seconda che ci si riferisca al breve periodo o al lungo periodo, sarà necessario scegliere le incognite più opportune. Dalle considerazioni effettuate a valle della validazione del modello e degli esperimenti riportati in [KS07], per il breve periodo appare più consona la scelta di operare con frazioni volumetriche; al contrario, sul lungo periodo, sembra più adeguato risolvere le equazioni per le concentrazioni. Per quanto riguarda la cellularità essa è espressa in termini di frazione volumetrica, adatta per il breve periodo. Per il lungo periodo si potrebbe ridefinire un'opportuna concentrazione di cellule che porta a rivedere l'ipotesi di uniformità e costanza della densità specifica ρ_γ , effettuata nella sezione 3.1.3. Non è più ovvio infatti che, dilatando i tempi, una media sulle densità specifiche assunte alle diverse età sia rappresentativa di tutte le età stesse. Tuttavia i modelli presenti in letteratura, per qualsiasi intervallo di tempo, analizzano la crescita di cellule tramite la sua frazione volumetrica: questa scelta verrà mantenuta nei modelli che svilupperemo in seguito.

Per quanto riguarda la matrice extracellulare invece sono state fornite delle equazioni in funzione delle concentrazioni, nella sezione 3.4. Definire una frazione volumetrica della ECM per i modelli sul breve periodo porta a considerare in questo caso la densità specifica di ECM stessa, che permetterebbe di passare da un modello per le concentrazioni ad uno per le frazioni volumetriche e viceversa. Tuttavia la matrice è costituita da diverse componenti, le cui concentrazioni e disposizione nella cartilagine *in vivo* variano sensibilmente sia in spazio che in tempo. Nonostante questa differenziazione, per omogenizzare la descrizione del sistema biomassa come composto da cellule e matrice extracellulare, nei modelli successivi analizzeremo il contributo di ECM tramite la sua frazione volumetrica.

- **Scale Spaziali.** Il modello per l'ECM si basa sull'assunzione forte che ciò che succede alla scala microscopica può essere trasferito direttamente a scala macroscopica. Per quanto riguarda la concentrazione di nutrienti e prodotti il procedimento di upscaling è giustificato in modo più rigoroso dall'applicazione del Volume Averaging che, tuttavia, è sottoposto a numerosi vincoli. Infine, per la cellularità, si passa direttamente da una descrizione a scala mesoscopica ad una a scala macroscopica, basandosi sull'ipotesi di arbitrarietà del volume di controllo scelto e quindi, nuovamente, sull'assunzione di uniformità del costruito. Queste ipotesi dovranno essere tenute in considerazione sia nell'operazione di upscaling, sia in quella di downscaling, all'interno dei modelli che saranno sviluppati nei prossimi capitoli.
- **Sforzi di Taglio.** Il modello di [KS07] risulta indubbiamente utile ai fini del nostro scopo, in particolar modo per capire quali effetti della perfusione

devono essere inseriti in un modello di crescita del tessuto cartilagineo. Ricordiamo che i risultati sperimentali hanno evidenziato la particolare importanza che gli sforzi di taglio assumono nel processo di crescita. Tuttavia il modello di [KS07] non è sufficientemente raffinato da includere la trattazione di tali stimoli: gli effetti degli sforzi di taglio e della pressione idrostatica sono inseriti nelle equazioni solo indirettamente, attraverso la velocità di perfusione v . Nel caso della cellularità, i modelli di [GL00] e [GL99] sono ricavati in assenza di trasporto convettivo e perciò non vi sono termini che dipendono da variabili fluidodinamiche del sistema. Ricordiamo tuttavia che numerosi esperimenti indicano che gli sforzi hanno un'influenza importante nella determinazione quantitativa della crescita del tessuto [RMC⁺06]. Nella proposta di un modello alternativo sarà quindi data particolare importanza alla modalità di introduzione degli sforzi di taglio all'interno del tasso di crescita del tessuto.

- **Parametri Fisici.** Nel modello di [KS07] si tiene conto di numerosi coefficienti fisici: i tassi di formazione, di perdita, di transizione, i coefficienti di diffusione. Il valore numerico assegnato a tali parametri è ottenuto da considerazioni sui risultati sperimentali effettuati alla microscala. Di nuovo l'assunzione che tali valori numerici possano ben predire i risultati alla macroscala deve essere valutata con attenzione, poichè potrebbe essere causa di soluzioni quantitativamente scorrette. Inoltre, per sviluppare un modello a parametri concentrati, è necessario considerare coefficienti indipendenti dalla variabile spaziale; tuttavia nella discussione dei modelli è stato più volte affermato che tali parametri variano sensibilmente nello spazio e nel tempo. L'ipotesi di uniformità e costanza deve quindi essere ridiscussa e, se è il caso, rimossa nello sviluppo di modelli spazio dipendenti.

Capitolo 4

Sintesi di un nuovo modello per la crescita tissutale a scala macroscopica

4.1 Introduzione

L'obiettivo di questo capitolo è proporre un nuovo modello per la crescita cellulare, al fine di migliorare alcuni degli aspetti problematici emersi nella trattazione del precedente capitolo. In particolare ci focalizziamo su quattro punti principali:

- la scelta delle fasi in cui suddividere il sistema;
- gli stimoli efficaci alla crescita di biomassa;
- la composizione della biomassa;
- la definizione delle relazioni costitutive dei parametri fisici che regolano il fenomeno.

Analizziamo ora in dettaglio ciascuno di questi punti. Il contesto in cui si inseriscono queste considerazioni si basa sulle analisi riportate in [RMC⁺06], dove viene studiata la crescita di biomassa prodotta da condrociti seminati su uno scaffold all'interno di un bioreattore. In seguito nella sezione 4.2 riporteremo tutti i dati relativi all'esperimento.

Scelta delle fasi. Il primo aspetto da considerare riguarda quali e quante fasi costituiscono il sistema. Alla mesoscala, in generale, si possono individuare tre fasi distinte: lo scaffold, la biomassa e il fluido di nutrienti. Ricordiamo che in [GL00] e in [GL99] è stata effettuata un'ipotesi preliminare che prevedeva di poter trascurare la frazione volumetrica occupata dallo scaffold, grazie all'alto coefficiente di porosità che caratterizzava la matrice. In base ai dati riportati in [RMC⁺06] tuttavia, possiamo affermare che, nel sistema da noi considerato, lo scaffold occupa il 23% del volume totale. La porosità dello scaffold è quindi sufficientemente elevata da poter

garantire la crescita di biomassa e il passaggio dei nutrienti, ma non abbastanza da poter esser trascurata o incorporata nelle altre fasi. Lo scaffold viene quindi trattato come una fase a se stante del sistema ed è inoltre caratterizzato da un tempo di degradazione molto elevato, ipotesi effettuata anche in [GL00]. Grazie a quest'ultima affermazione, possiamo quindi assumere che, nell'intervallo temporale studiato, la frazione volumetrica dello scaffold si mantiene costante, al contrario delle frazioni di biomassa e fluido nutriente che invece sono tempo-dipendenti. Indichiamo con ε_b , ε_f e ε_s le tre frazioni volumetriche rispettivamente di biomassa, fluido e scaffold. Ad ogni istante di tempo t e in ogni punto \mathbf{x} del costruito esse devono verificare la seguente relazione:

$$\varepsilon_b + \varepsilon_f(\mathbf{x}, t) + \varepsilon_s(\mathbf{x}, t) = 1 \quad (4.1)$$

dove $\varepsilon_s = 0.23$.

Stimoli alla crescita della biomassa. La seconda questione, sorta nella trattazione del precedente capitolo, riguarda la scelta degli stimoli che influenzano la crescita di biomassa. Negli esperimenti riportati in [RMC⁺06] si afferma l'importanza degli effetti della perfusione diretta sul fenomeno di crescita del tessuto. In particolare si registrano due fenomeni; il primo è un effetto di perdita, in quanto l'azione del fluido di perfusione genera un fenomeno di *washout*, ossia un fenomeno di trascinamento dei costituenti della biomassa all'esterno del costruito, interessando, in particolare, la componente cellulare di biomassa. Il fenomeno di *washout* produce sia un effetto negativo che un effetto positivo sullo sviluppo della biomassa, infatti, grazie alla perfusione diretta, vengono trascinati all'esterno del costruito anche i prodotti di scarto e i cataboliti del metabolismo cellulare.

Il flusso inoltre è causa di un secondo effetto *positivo* in quanto genera, sulle membrane cellulari, degli sforzi di taglio che stimolano le cellule stesse alla produzione di nuove componenti del tessuto. In particolare, in [RMC⁺06], si ottiene che, all'aumentare degli sforzi di taglio, aumenta conseguentemente anche la frazione volumetrica di biomassa generata. Il modello che intendiamo sviluppare in questo capitolo vuole quindi tener conto dell'effetto positivo che gli sforzi di taglio generano sulla crescita del costruito. La modalità di inserimento di tali stimoli meccanici all'interno del modello per il tasso di variazione di ε_b verrà specificata nei seguenti paragrafi.

L'altro importante stimolo, necessario alla crescita di biomassa, è la presenza di sostanze nutrienti, che vengono introdotte nel sistema dal fluido di perfusione. Rifacendosi al lavoro presentato in [GL00], nel nostro modello consideriamo una singola specie di nutrienti, le cui proprietà fisiche verranno identificate con quelle della sostanza presente in maggior quantità, ossia l'ossigeno. Trascureremo invece la concentrazione di prodotti di scarto, che consideriamo presenti in quantità minime e soggetta al fenomeno di *washout*.

Composizione della biomassa. La terza questione su cui ci soffermeremo nello svolgimento di questo capitolo riguarda la composizione specifica della biomassa. Abbiamo potuto notare che in letteratura sono presenti dei modelli per il tasso di crescita esclusivamente o di cellule, [GL00][GL99], o di matrice extracellulare,

identificata a sua volta con la concentrazione di GAG, [DS03][KS07]. La biomassa tuttavia è formata sia da cellule che da matrice cellulare, caratterizzate da differenti modalità e proprietà di crescita. A tal proposito, dedicheremo una sezione di questo capitolo alla trattazione di un modello che prevede la presenza di entrambi i contributi trattati separatamente.

Leggi costitutive dei parametri fisici. L'ultima questione da considerare riguarda la definizione delle leggi costitutive dei parametri fisici che caratterizzano la crescita di biomassa. Chiamato K un generico parametro, definiremo $K = K(\mathbf{p}, \tau)$, dove \mathbf{p} è un vettore di coefficienti specifici del parametro stesso e τ è lo sforzo di taglio generato dal flusso di perfusione. Andando a studiare la distribuzione puntuale degli sforzi sul costruito, si recupera una dipendenza indiretta dei parametri fisici dalla variabile spaziale. L'importanza di tale dipendenza è stata discussa nel capitolo precedente proprio perché essa viene trascurata nei modelli presenti in letteratura, [GL00] [GL99] [KS07] [DS03].

Specifichiamo infine la notazione che utilizzeremo per indicare le grandezze che caratterizzano il sistema:

- $\varepsilon_b(\mathbf{x}, t)$, frazione volumetrica di biomassa. Tale grandezza è definita come rapporto tra il volume occupato dalla biomassa sul volume totale, costante: $\varepsilon_b(\mathbf{x}, t) = V_b(\mathbf{x}, t)/V$. Essa è correlata alla frazione volumetrica del fluido ε_f dalla relazione (4.1) ed è una grandezza adimensionale.
- $\mathbf{v}(\mathbf{x}, t)$, velocità del fluido di perfusione. Le dimensioni di questa grandezza sono $[ms^{-1}]$.
- $\tau(\mathbf{x}, t)$, sforzi di taglio associati al flusso di perfusione, espressa in $[Pa]$.
- $c(\mathbf{x}, t)$, concentrazione di nutrienti nel costruito. Si è scelto di esprimere tale grandezza nelle seguenti dimensioni $[kgm^{-3}]$.

4.2 Analisi di breve periodo

4.2.1 Dati sperimentali

In questo paragrafo intendiamo specificare nel dettaglio l'esperimento al quale ci riferiremo e quali sono le grandezze di interesse che sono state misurate. I dati sono interamente tratti da [RMC⁺06], dove viene considerato un bioreattore, suddiviso in quattro camere di coltura, contenenti dei costrutti a forma di dischi, con spessore pari a 1 mm e diametri pari a 2, 3, 4 o 7 mm (figura 4.1). All'interno di ogni camera vi sono tre costrutti delle medesime dimensioni e ciascuna di esse viene perfusa da un flusso di nutrienti attraverso una pompa peristaltica, che impone una portata pari a 0.5ml/mm³. In ogni camera, a seconda del diametro dei costrutti, varia la velocità di ingresso del fluido. Ciascuna camera di coltura è quindi caratterizzata da un diverso livello di stimolo idrodinamico imposto.

I costrutti sono costituiti da scaffold, dischi sterili di matrice porosa polimerica e

biodegradabile, e su ciascuno di essi viene seminata una concentrazione di condrociti con densità cellulare pari a 80000 cell/mm^3 (figura 4.1), che corrisponde ad una frazione volumetrica iniziale di 0.02145. I costrutti vengono quindi incubati per quindici giorni e, al termine dell'esperimento, attraverso un'analisi biochimica, vengono misurati il contenuto di DNA, indice della quantità di cellule, e il contenuto di GAG, indice della quantità di matrice extracellulare. Da queste grandezze misurate vengono quindi calcolate le frazioni volumetriche di cellule e condrociti dopo quindici giorni di coltura. La somma di questi due indici fornisce infine il valore della frazione volumetrica totale di biomassa.

Per la caratterizzazione fluidodinamica dei costrutti sono stati risolti opportuni modelli CFD per scaffold caratterizzati da porosità media pari al 77% e da dimensione dei pori pari a $100 \mu\text{m}$, in base alle misurazioni effettuate in [Cio06]. Tramite questi modelli, viene misurata la distribuzione degli sforzi sulle pareti della matrice polimerica e ne vengono estratte opportune quantità medie. Gli sforzi medi sullo scaffold vengono considerati come una buona stima degli sforzi medi agenti sulle membrane cellulari. Tutti i dati, ricavati in [RMC⁺06], sono riportati nelle tabelle 4.1 e 4.2.

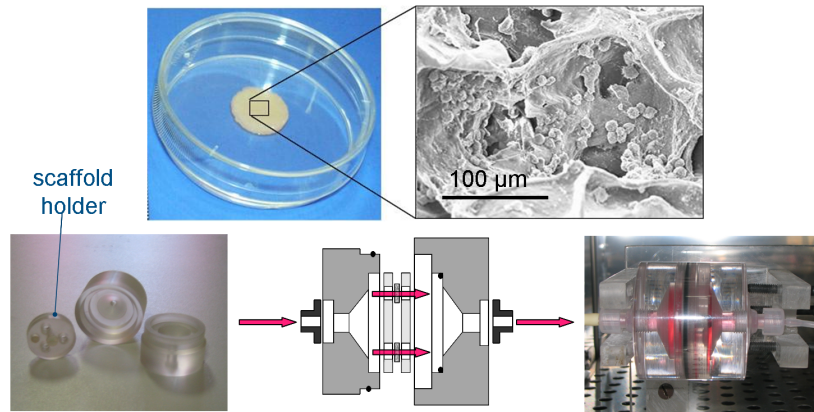


Figura 4.1: Sopra, a sinistra: immagine alla macroscale dello scaffold. Sopra, a destra: immagine alla microscale dello scaffold seminato dalle cellule. Sotto, a sinistra: dischi di supporto che vengono inseriti nel bioreattore. Sotto, a destra: schematizzazione e fotografia della camera di coltura del bioreattore.

| Diametro (mm) | Indice i | Velocità in ingresso v_i ($\mu\text{m/s}$) | Sforzi medi τ_i (mPa) |
|---------------|------------|--|----------------------------|
| 2 | 1 | 884 | 56 |
| 3 | 2 | 393 | 25 |
| 4 | 3 | 221 | 14 |
| 7 | 4 | 72 | 4.6 |

Tabella 4.1: Configurazione dello scaffold per la calibrazione del modello.[RMC⁺06]

| Indice i | $\varepsilon_{\text{cell},i}^m$ | $\varepsilon_{\text{ECM},i}^m$ | $\varepsilon_{b,i}^m$ |
|------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0.0343 | 0.0366 | 0.0709 |
| 2 | 0.0216 | 0.0231 | 0.0447 |
| 3 | 0.0164 | 0.0187 | 0.0351 |
| 4 | 0.0094 | 0.0125 | 0.0219 |

Tabella 4.2: Frazioni volumetriche misurate dopo 15 gg. [RMC⁺ 06]

4.2.2 Modello di crescita della biomassa

La prima analisi che vogliamo affrontare riguarda la crescita di biomassa nel breve periodo, identificato con le prime due settimane di coltura del costrutto. Le grandezze in gioco sono essenzialmente quattro: la prima, quella di cui vogliamo effettivamente studiarne l'evoluzione, è la frazione volumetrica di biomassa, $\varepsilon_b(\mathbf{x}, t)$; in seguito, vi sono gli stimoli associati alla sua crescita, ossia il flusso di perfusione con velocità $\mathbf{v}(x, t)$, gli sforzi di taglio $\tau(\mathbf{x}, t)$ e, infine, la concentrazione dei nutrienti $c(\mathbf{x}, t)$.

Ci soffermiamo innanzitutto sulla definizione di un modello di crescita per la variabile ε_b , scritto alla scala macroscopica. In base al principio di conservazione della massa si ottiene:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt} = (R_b - R_d)\varepsilon_b \quad (4.2)$$

dove R_b è il fattore di regolazione di crescita e R_d è il coefficiente del tasso di apoptosi, costante e pari a $R_d = k_d = 3.85 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$. Rifacendoci al modello *modified Contois* riportato in [GL00], definiamo R_b nel seguente modo:

$$R_b = \frac{k_g c}{k_s \rho_b \varepsilon_b + c} \quad (4.3)$$

dove k_g è il coefficiente del tasso di crescita di dimensioni [s^{-1}], k_s è la costante di saturazione adimensionale e ρ_b è la densità specifica della biomassa. Il modello si basa sull'ipotesi che ρ_b sia una grandezza costante in tempo e uniforme in spazio, analogamente a quanto assunto in [GL00].

Per quanto riguarda gli stimoli, nell'equazione appena riportata vediamo comparire esplicitamente la concentrazione del nutriente c . La questione importante che rimane da analizzare è l'inserimento degli sforzi di taglio. Abbiamo visto che i modelli presenti in letteratura non introducono tale componente ([GL00], [GL99]) o, alternativamente, lo inseriscono indirettamente attraverso il modulo della velocità di perfusione v senza tuttavia giustificare adeguatamente tale scelta ([KS07]). Tra varie proposte sulle modalità di inserimento degli sforzi di taglio, si è deciso di introdurli nella definizioni dei coefficienti k_g e k_s , che vengono quindi espressi in funzione di τ [CRS10]. R_b assume quindi la seguente forma:

$$R_b = \frac{k_g(\tau; \mathbf{p})c}{k_s(\tau; \mathbf{q})\rho_b \varepsilon_b + c} \quad (4.4)$$

dove \mathbf{p} e \mathbf{q} sono opportuni vettori di costanti specifiche di ogni parametro.

4.2.3 Adimensionalizzazione

Poichè la frazione di biomassa è esigua, nel breve periodo possiamo assumere che la concentrazione di nutrienti sia costante in tempo e uniforme in spazio, porremo quindi $c = c_0$, dove c_0 è la concentrazione di ossigeno in ingresso. Possiamo inoltre supporre che la frazione volumetrica di biomassa sia sufficientemente piccola da non influenzare il flusso e di conseguenza gli sforzi di taglio. Anche τ sarà quindi una grandezza costante in tempo e uniforme in spazio. Ricordiamo che in [RMC⁺06] vengono costruiti quattro scaffold con diametri differenti ma perfusi da un flusso a portata costante. Ognuno dei costrutti è quindi caratterizzato da una certa velocità di ingresso. In [RMC⁺06] viene calcolata la distribuzione degli sforzi di taglio e vengono estratti delle opportune quantità rappresentative mediate di tali grandezze che verranno qui sostituite alla variabile τ . I valori, riportati in tabella 4.1, verranno utilizzati per definire la grandezza τ nei quattro casi.

In base a queste considerazioni e ai dati di [RMC⁺06] viene quindi calibrato il modello (4.4). Tuttavia, per poter effettuare un confronto e una discussione significativa dei parametri di calibrazione, vi è la necessità di effettuare un'ulteriore modifica sull'equazione (4.2), con lo scopo di scrivere il modello interamente in variabili adimensionali. Operare con grandezze adimensionali è importante in quanto ci permette di definire nuovi parametri del modello espressi in funzione di sforzi adimensionali e, di conseguenza, ci permette di evitare che tali coefficienti dipendano dall'unità di misura in cui vengono misurati gli stimoli meccanici.

Definiamo quindi delle opportune variabili caratteristiche del sistema: t^* , per il tempo [s], c^* per la concentrazione [g/cm^3] e τ^* per gli sforzi di taglio [$g/cm.s^2$]. Definiamo quindi le seguenti variabili adimensionali:

$$\tau' = \tau/\tau^*$$

$$t' = t/t^*$$

$$c' = c/c^*$$

$$\rho'_b = \rho_b/c^*$$

Utilizzando (4.4), sostituiamo in (4.2). Si ottiene:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt'} = \frac{k'_g(\tau'; \mathbf{P}')c'\varepsilon_b}{k'_s(\tau'; \mathbf{Q}')\rho'_b\varepsilon_b + c'} - k'_d\varepsilon_b \quad (4.5)$$

con $k'_g = t^*k_g$ e $k'_d = t^*k_d$, adimensionali. Nell'equazione (4.5), il termine di sinistra è adimensionale in quanto sia ε_b che t' sono grandezze adimensionali, così come il termine a destra, scritto interamente in variabili e coefficienti adimensionali.

Nel breve periodo si sceglie c^* pari alla concentrazione di ingresso c_0 e τ^* pari all'ordine di grandezza degli sforzi misurati, ossia 10 mPa . L'equazione (4.5) mette in luce il parametro fondamentale per ottenere un buon modello adimensionale: il tempo caratteristico t^* . Poniamo quindi $t^* = k_g^{*-1}$ e ci concentriamo sul tasso di crescita di riferimento k_g^* . Quest'ultimo è la grandezza caratteristica che adimensionalizza il corrispettivo valore k_g , si ha infatti $k_g = k'_g/k_g^*$. L'obiettivo è definire

k_g^* in modo tale che sia dello stesso ordine di k_g e che, conseguentemente, risulti $k_g' \sim 1$. Utilizzando i dati sperimentali, valutiamo l'ordine della costante k_g in base all'equazione (4.2). Trascurando il termine di perdita si ha:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt} \sim R_b \varepsilon_b. \quad (4.6)$$

Valutiamo gli ordini di grandezza in due casi: riferendoci ai dati in tabella 4.1, consideriamo i valori misurati a velocità minima e, successivamente, quelli a velocità massima.

- $v_4 = 72 \mu m/s$. In queste condizioni, dai dati sperimentali riportati in tabella 4.1, si ha che la frazione volumetrica di biomassa passa da un valore iniziale di 0.02145 ad un valore finale di 0.0219. Possiamo quindi considerare che la variazione totale di biomassa abbia circa l'ordine di 10^{-3} . Il fenomeno è studiato su un arco di tempo di 15 giorni, che espresso in secondi è circa dell'ordine di 10^6 . Si ottiene quindi:

$$\frac{\Delta\varepsilon_b}{\Delta t} \sim \frac{10^{-3}}{10^6} = 10^{-9}.$$

Ci occupiamo ora del termine a destra dell'equazione (4.6). Dai risultati sperimentali si ha che $\varepsilon_b \sim 10^{-2}$, sostituendo in (4.6) risulta:

$$\begin{aligned} 10^{-9} &\sim 10^{-2} R_b, \\ R_b &\sim 10^{-7}. \end{aligned} \quad (4.7)$$

A questo punto riproponiamo R_b nella sua forma dimensionale:

$$R_b = \frac{k_g c}{k_s \rho_b \varepsilon_b + c}. \quad (4.8)$$

Dai dati sperimentali si ha che la concentrazione in ingresso è pari a $3.2 \cdot 10^{-6} g/cm^3$ e ρ_b è uguale alla densità dell'acqua, $1 g/cm^3$. Per quanto riguarda l'ordine di grandezza di k_s , facciamo riferimento al valore della costante di saturazione di Contois utilizzato in [GL99], pari a 3. Facendo uno studio degli ordini di grandezza di R_b in base a (4.8) si ottiene:

$$R_b \sim \frac{10^{-6} k_g}{10^0 10^0 10^{-2} + 10^{-6}} \quad (4.9)$$

Dalla (4.7) e dalla (4.9) risulta infine:

$$k_g \sim 10^{-3}$$

- $v_1 = 884 \mu m/s$. L'unico ordine di grandezza dei dati sperimentali che cambia rispetto al caso precedente è la frazione volumetrica di biomassa. Essa infatti passa da 0.02145 a 0.0709, variando quindi di un ordine pari a 10^{-2} . Per il termine a sinistra nell'equazione (4.6) si ha quindi:

$$\frac{\Delta\varepsilon_b}{\Delta t} \sim \frac{10^{-2}}{10^6} = 10^{-8}.$$

Ripetendo il ragionamento del caso precedente si ottiene:

$$k_g \sim 10^{-2}$$

In conclusione possiamo affermare che k_g varia da un'ordine di grandezza pari a 10^{-3} ad un ordine di 10^{-2} . Ponendo quindi $k_g^* = 10^{-3}$ ci si aspetta di ottenere k_g' dell'ordine di $10^0 - 10^1$.

Precisiamo che la strategia appena presentata non è l'unico modo per ricavare l'ordine di grandezza delle costanti in gioco, altri ragionamenti potrebbero portare a conclusioni differenti, ad esempio si potrebbe ricavare per altre vie la stima di k_s , senza affidarsi ai valori riportati in letteratura.

Riassumiamo infine i valori che sono stati scelti per le grandezze caratteristiche e li riportiamo in tabella 4.3.

| Nome | Valore numerico | Unità di misura |
|-------------------|----------------------|-----------------|
| $t^{*-1} = k_g^*$ | 10^{-3} | $[1/s]$ |
| $c^* = c_0$ | $3.20 \cdot 10^{-6}$ | $[g/cm^3]$ |
| τ^* | 10 | $[mPa]$ |

Tabella 4.3: *Grandezze caratteristiche del modello.*

Con tali scelte, per la concentrazione di nutrienti, otteniamo: $c' = 1$. Abbiamo infatti affermato che nel breve periodo si può assumere che la concentrazione di ossigeno nel costrutto rimanga costante e specificatamente pari alla concentrazione in ingresso, cioè c_0 . L'equazione (4.5) viene quindi riscritta nel seguente modo:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt'} = \frac{k_g'(\tau_i'; \mathbf{p}')\varepsilon_b}{k_s'(\tau_i'; \mathbf{q}')\rho_b\varepsilon_b + 1} - k_d'\varepsilon_b \quad (4.10)$$

con $i = 1, \dots, 4$.

4.2.4 Calibrazione del modello

Procediamo quindi con la calibrazione del modello (4.10), utilizzando le coppie di dati $(\tau_i, \varepsilon_{b,i}^m)$ con $i = 1, \dots, 4$ di tabella 4.1 e (4.2). L'ultima questione che rimane da specificare riguarda la forma che assumono i parametri k_g' e k_s' in dipendenza dai coefficienti \mathbf{p}' , \mathbf{q}' e τ' . Dopo lo studio di differenti proposte, si è giunti alla conclusione che la scelta più efficace per la forma dei parametri sia una regressione lineare nella variabile τ' , come riportato in [CRS10]. Porremo quindi:

$$k_g'(\tau'; \mathbf{p}') = [p_0 \ p_1] = p_0 + p_1\tau'$$

$$k_s'(\tau'; \mathbf{q}') = [q_0 \ q_1] = q_0 + q_1\tau'.$$

Sottolineiamo che, grazie all'adimensionalizzazione, possiamo affermare che i parametri p_0 , p_1 , q_0 e q_1 sono adimensionali, esattamente come adimensionali sono

i coefficienti k'_s e k'_g e gli sforzi τ' . Definiamo il vettore $Y = [p_0, p_1, q_0, q_1]$, che rappresenta il vettore dei parametri in base al quale vogliamo adattare il modello (4.10). Calcoliamo Y_{fit} soluzione del seguente problema di minimizzazione:

$$Y_{fit} = \arg \min \frac{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_b(T, c, \tau_i; Y) - \varepsilon_{b,i}^m \right)^2}{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{b,i}^m \right)^2} \quad (4.11)$$

Grazie all'adimensionalizzazione, il vettore di valori Y_{fit} non dipende dalle unità di misura in cui vengono espressi gli sforzi τ_i .

I risultati sono stati ottenuti con l'utilizzo del software Matlab. L'algoritmo prevede la risoluzione dell'equazione (4.10), per ogni valore di τ'_i , mediante un metodo Runge-Kutta esplicito del quarto ordine, implementato dalla funzione `ode45`. Il vettore Y_{fit} viene quindi ricavato grazie alla funzione `lsqcurvefit` che risolve un problema di programmazione non lineare nel senso dei minimi quadrati. Il vettore dei parametri iniziale viene posto pari a $Y_0 = [1 \ 0 \ 1 \ 0]$. In figura 4.2 riportiamo uno schema esplicativo dei passi dell'algoritmo risolutivo.

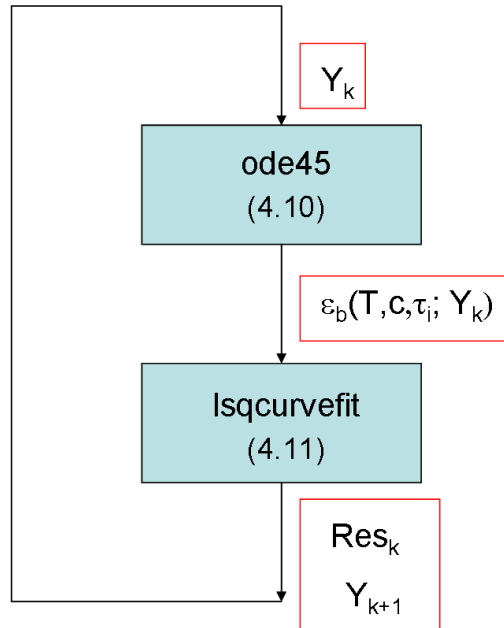


Figura 4.2: Schema esplicativo dei passi dell'algoritmo risolutivo del problema (4.11).

In figura 4.3 sono riportate le quattro curve $\varepsilon_b(t, c, \tau_i; Y_{fit})$, risolte su un arco temporale di quindici giorni. Nel grafico sono stati inoltre cerchiati i valori $\varepsilon_{b,i}^m$ in base ai quali è stato calcolato Y_{fit} .

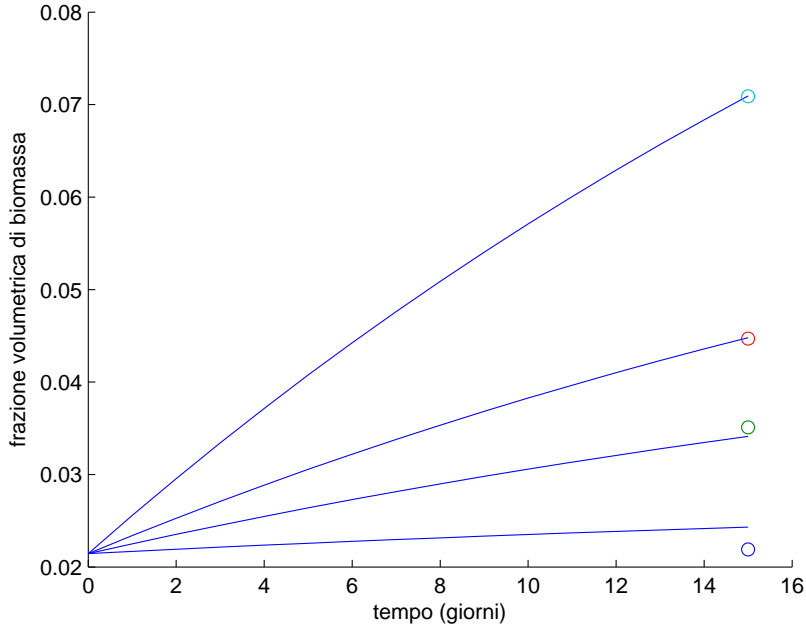


Figura 4.3: *Frazione volumetrica di biomassa al variare del tempo.*

Riportiamo in tabella 4.4 il valore numerico dei parametri calcolati e il residuo quadratico normalizzato con la seguente formula:

$$Res = \frac{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_b(T, c, \tau_i; Y_{fit}) - \varepsilon_{b,i}^m \right)^2}{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{b,i}^m \right)^2} \quad (4.12)$$

| p_0 | p_1 | q_0 | q_1 | $Resq$ |
|--------|--------|--------|--------|-------------------------|
| 1.0112 | 1.8518 | 0.5295 | 0.0200 | $0.77613 \cdot 10^{-3}$ |

Tabella 4.4: *Parametri ottenuti con il procedimento di best fit.*

Come si può ben visualizzare dal grafico 4.3, il modello predice in modo soddisfacente la frazione volumetrica di biomassa al tempo $T = 15$ giorni, infatti il residuo, normalizzato con la somma dei quadrati dei dati sperimentali, è dell'ordine di 10^{-3} . Il modello predice un aumento della crescita all'aumentare degli sforzi, confermato dai dati sperimentali.

Possiamo inoltre verificare che l'ordine di grandezza del coefficiente k_g è pari a quello teorico, ricavato nella sezione precedente. Ricordiamo che dall'analisi degli ordini di grandezza risultava $k_g \sim 10^{-3}$ nel caso a velocità minima e $k_g \sim 10^{-2}$ nel caso a velocità più elevata. Questo salto nell'ordine di grandezza è riprodotto dai risultati

della calibrazione grazie al coefficiente p_1 , circa pari a 2, che moltiplica lo sforzo di taglio adimensionale. Nel caso a velocità minima si ha infatti:

$$k_g = k_g^* k_g' = 10^{-3}(1.0112 + 1.8518 \cdot 0.46) \sim 10^{-3}.$$

Mentre nel caso a velocità maggiore si ottiene:

$$k_g = k_g^* k_g' = 10^{-3}(1.0112 + 1.8518 \cdot 5.6) \sim 10^{-2}.$$

Possiamo in conclusione affermare che i risultati sono coerenti con l'analisi teorica svolta in precedenza.

4.2.5 Modello di crescita differenziato per cellule e matrice extracellulare.

Il modello (4.10) risponde in modo soddisfacente all'obiettivo di previsione sul breve periodo per la crescita di biomassa. Esso propone una forma unica per il tasso di crescita della biomassa che tuttavia è formata da due contributi distinti: cellule e matrice extracellulare. D'altra parte, dai risultati sperimentali di [RMC⁺06], si evince che le due componenti della cartilagine non seguono la stessa cinetica di crescita. Riferendoci alla tabella 4.2, si può infatti notare che, per sforzi bassi, la frazione volumetrica delle cellule non cresce ma al contrario, al tempo finale, risulta inferiore al valore iniziale, che ricordiamo essere pari a 0.02145. Questo fenomeno può essere giustificato da un effetto di trascinamento a cui le cellule sono sottoposte per la perfusione del flusso di nutrienti. Solo quando gli sforzi raggiungono il valore mediano più elevato, $\tau_1 = 56 \text{ mPa}$, i risultati mostrano una frazione volumetrica cellulare superiore a quella iniziale.

In modo totalmente diverso si comporta la matrice extracellulare. Al contrario dei condrociti, all'istante iniziale, sul costruito, non viene seminata alcuna quantità di matrice extracellulare. Essa perciò parte da un valore di frazione volumetrica iniziale nullo. I risultati sperimentali mostrano che, per ogni valore di sforzo, all'istante finale, la matrice extracellulare è presente in quantità superiori alle cellule. I rapporti tra le frazioni volumetriche delle due componenti della biomassa all'istante finale sono riportati in tabella 4.5.

| Indice i | $\varepsilon_{\text{ECM},i}^m / \varepsilon_{\text{cell},i}^m$ |
|------------|--|
| 1 | 1.069 |
| 2 | 1.070 |
| 3 | 1.143 |
| 4 | 1.331 |

Tabella 4.5: *Rapporto tra le frazioni volumetriche calcolate in [RMC⁺06].*

L'obiettivo di questo paragrafo è produrre un modello che sappia recuperare la diversa dinamica di crescita che caratterizza le due differenti componenti della biomassa.

Tale scopo sarà raggiunto mediante un'integrazione delle informazioni sulla cellularità, riportate nel capitolo precedente e derivate dai lavori [GL00] e [GL99], con quelle riguardanti la matrice extracellulare presentate in [KS07] e [DS03]. Assumiamo quindi che, ad ogni istante t e in ogni punto \mathbf{x} , valga la seguente relazione:

$$\varepsilon_b(\mathbf{x}, t) = \varepsilon_{\text{ECM}}(\mathbf{x}, t) + \varepsilon_{\text{cell}}(\mathbf{x}, t). \quad (4.13)$$

Di conseguenza si può scrivere:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt} = \frac{d\varepsilon_{\text{cell}}}{dt} + \frac{d\varepsilon_{\text{ECM}}}{dt}. \quad (4.14)$$

Dobbiamo quindi definire separatamente un modello per $\frac{d\varepsilon_{\text{cell}}}{dt}$ e un modello per $\frac{d\varepsilon_{\text{ECM}}}{dt}$.

Ci focalizziamo innanzitutto sul tasso di crescita delle cellule. Ricordiamo che il tasso di variazione della grandezza ε_b , come presentato in (4.5), è stato scelto in base alle considerazioni riportate in [GL00]. In tale articolo, alla base del modello, vi era l'ipotesi che la biomassa fosse formata in prevalenza da cellule e che perciò fosse possibile trascurare la componente extracellulare. Utilizziamo quindi le equazioni (4.2) e (4.8) esclusivamente per la variabile $\varepsilon_{\text{cell}}$ e scriviamo:

$$\frac{d\varepsilon_{\text{cell}}}{dt} = \frac{k_g c \varepsilon_{\text{cell}}}{k_s \rho_{\text{cell}} \varepsilon_{\text{cell}} + c} - k_d \varepsilon_{\text{cell}} \quad (4.15)$$

Per la matrice extracellulare invece, torniamo a considerare le equazioni (3.61) del modello di [KS07]. In quest'ultimo la matrice viene suddivisa in tre componenti: solubile, legata e degradata. Definiamo c_{ECM} la concentrazione totale di matrice extracellulare come somma delle tre concentrazioni, c_s , c_b e c_d , definite in (3.52), (3.55), (3.60). Si può scrivere:

$$\frac{dc_{\text{ECM}}}{dt} = \frac{dc_s}{dt} + \frac{dc_b}{dt} + \frac{dc_d}{dt}. \quad (4.16)$$

Trascurando i termini di derivata spaziale, sostituiamo, nell'equazione appena scritta, le relazioni (3.61). Si ottiene:

$$\frac{dc_{\text{ECM}}}{dt} = k_f c + bv. \quad (4.17)$$

dove c viene scelta in questo caso come la concentrazione dei nutrienti all'istante iniziale e k_f è il coefficiente del tasso di crescita della matrice extracellulare espresso in $[1/s]$. Il termine bv è stato inserito in [KS07] per tener conto degli effetti di perfusione del flusso di nutrienti. Ricordiamo tuttavia che nelle conclusioni effettuate a valle dei risultati ottenuti in [KS07] si afferma che gli effetti dello stimolo idrodinamico non sono ben predetti dai termini di perfusione inseriti nel modello. Eliminiamo quindi bv dall'equazione (4.17), proponendoci di tener conto degli stimoli meccanici attraverso termini alternativi. Sostituiamo $c_{\text{ECM}} = \rho_{\text{ECM}} \varepsilon_{\text{ECM}}$ e ipotizziamo che ρ_{ECM} sia costante in tempo, si ottiene:

$$\frac{d\varepsilon_{\text{ECM}}}{dt} = k_f \frac{c}{\rho_{\text{ECM}}}. \quad (4.18)$$

La crescita di biomassa sarà quindi data dal seguente sistema di equazioni:

$$\frac{d\varepsilon_{\text{ECM}}}{dt} = k_f \frac{c}{\rho_{\text{ECM}}}. \quad (4.19)$$

$$\frac{d\varepsilon_{\text{cell}}}{dt} = \frac{k_g c \varepsilon_{\text{cell}}}{k_s \rho_{\text{cell}} \varepsilon_{\text{cell}} + c} - k_d \varepsilon_{\text{cell}} \quad (4.20)$$

$$\varepsilon_b(\mathbf{x}, t) = \varepsilon_{\text{ECM}}(\mathbf{x}, t) + \varepsilon_{\text{cell}}(\mathbf{x}, t). \quad (4.21)$$

Analogamente a quanto fatto nel paragrafo precedente, riscriviamo le equazioni in variabili adimensionali:

$$\frac{d\varepsilon_{\text{ECM}}}{dt'} = \frac{k'_f}{\rho'_{\text{ECM}}}. \quad (4.22)$$

$$\frac{d\varepsilon_{\text{cell}}}{dt'} = \frac{k'_g \varepsilon_{\text{cell}}}{k'_s \rho'_{\text{cell}} \varepsilon_{\text{cell}} + 1} - k'_d \varepsilon_{\text{cell}} \quad (4.23)$$

dove $k'_f = k_f/k_g^*$, $k'_g = k_g/k_g^*$, $k'_d = k_d/k_g^*$, k_g^* è riportata in tabella 4.3 e le variabili adimensionali sono definite analogamente a quanto fatto per la (4.10).

Prima di procedere alla calibrazione, specifichiamo anche per questo modello la forma che assumono i parametri presenti nelle equazioni (4.22) e (4.23):

$$\begin{aligned} k'_g(\tau'; \mathbf{p}') &= [p_0 \ p_1] \\ k'_s(\tau'; \mathbf{q}') &= [q_0 \ q_1] \\ k'_f(\tau'; \mathbf{s}') &= [s_0 \ s_1] \end{aligned}$$

Lo stimolo idrodinamico viene introdotto nell'equazione (4.22) grazie al coefficiente k'_f che dipende dallo sforzo τ' . In base ai dati riportati nelle tabelle 4.1 e (4.2) si definiscono i due seguenti problemi di minimizzazione:

$$X_{fit} = \arg \min \frac{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{\text{cell}}(T, c, \tau_i; X) - \varepsilon_{\text{cell},i}^m \right)^2}{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{\text{cell},i}^m \right)^2} \quad (4.24)$$

con $X = [p_0, p_1, q_0, q_1]$ e

$$W_{fit} = \arg \min \frac{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{\text{ECM}}(T, c, \tau_i; W) - \varepsilon_{\text{ECM},i}^m \right)^2}{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{\text{ECM},i}^m \right)^2} \quad (4.25)$$

con $W = [s_0, s_1]$.

Con questo modello abbiamo sei parametri da stimare utilizzando otto coppie di dati. Il problema risulta più robusto di (4.11), dove bisognava stimare quattro parametri in base a quattro coppie di dati.

I risultati sono ottenuti con le medesime funzioni del software Matlab utilizzate nel paragrafo precedente e sono riportati nelle figure 4.4, 4.5 e 4.6.

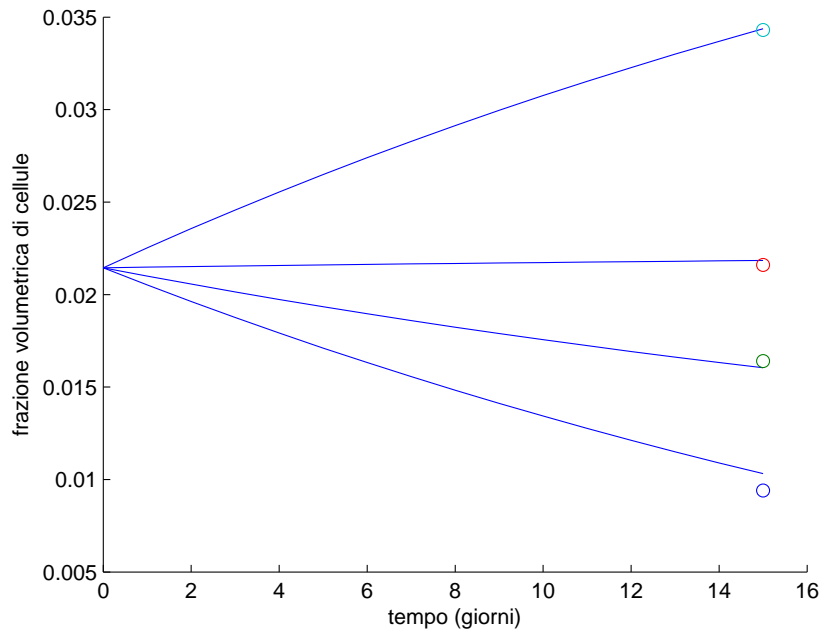


Figura 4.4: *Frazione volumetrica di cellule al variare del tempo.*

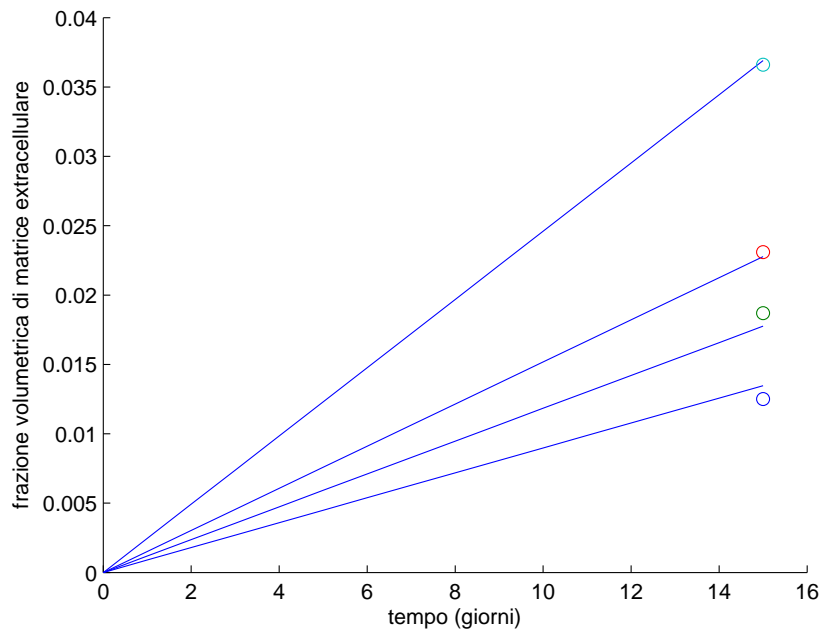


Figura 4.5: *Frazione volumetrica di ECM al variare del tempo.*

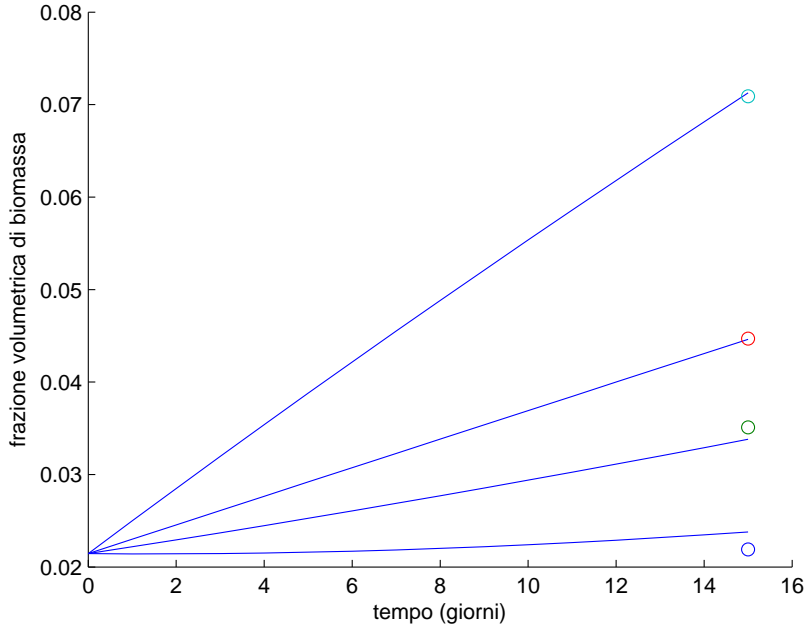


Figura 4.6: *Frazione volumetrica di biomassa al variare del tempo.*

Riportiamo in tabella (4.6) i valori numerici dei parametri calcolati e il residuo quadratico normalizzato calcolato dalla formula:

$$Resq = \frac{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{\text{cell}}(T, c, \tau_i; X_{fit}) + \varepsilon_{\text{ECM}}(T, c, \tau_i; W_{fit}) - \varepsilon_{b,i}^m \right)^2}{\sum_{i=1}^4 \left(\varepsilon_{b,i}^m \right)^2} \quad (4.26)$$

| p_0 | p_1 | q_0 | q_1 | s_0 | s_1 | $Resq$ |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------------------|
| -1.0627 | 1.1972 | 0.5952 | 0.0478 | 2.7424 | 1.0993 | $0.61644 \cdot 10^{-3}$ |

Tabella 4.6: *Parametri ottenuti con il procedimento di best fit.*

Come nel caso precedente, anche il modello (4.22)-(4.23) predice, con un buon grado di accuratezza, la frazione volumetrica di biomassa totale dopo quindici giorni di incubazione; il residuo totale calcolato è dell'ordine di 10^{-3} . In questo caso, diversamente dal caso precedente, otteniamo un valore ottimo di p_0 negativo:

$$p_0 = -1.0627.$$

Per i valori di sforzo inferiori, $\tau' = \tau'_3$ e $\tau' = \tau'_4$, abbiamo:

$$p_1 \tau' < |p_0|$$

e, di conseguenza, un tasso di crescita cellulare k'_g negativo. Questo risultato non rappresenta un problema dal punto di vista matematico e, inoltre, è in accordo con i risultati sperimentali, in quanto la frazione volumetrica cellulare al tempo finale è minore rispetto a quella impiantata inizialmente sui costrutti. Dal punto di vista di fisico tuttavia, un tasso di crescita negativo sembra essere un risultato incongruente poichè nel modello (4.23) vi è già la presenza del termine k'_d che dovrebbe tener conto della perdita. Tale fattore di apoptosi, tuttavia, non è in grado di giustificare la decrescita cellulare misurata sperimentalmente, poichè essa è dovuta, verosimilmente, non ad un fenomeno di degradazione e morte cellulare, ma all'effetto di trascinarsi generato dalla perfusione diretta del costrutto. La negatività del coefficiente p_0 è necessaria quindi per tener conto del fenomeno di *washout* che il coefficiente k'_d da solo non è in grado di riprodurre.

Affinchè la stima dei coefficienti non risulti influenzata dal fenomeno di *washout*, sarebbe opportuno costruire gli esperimenti in modo tale da limitare tale fenomeno ed ottenere di conseguenza dei dati sperimentali che non risentano di tale perdita. L'esperimento con cui sono stati ricavati i risultati prevede che il costrutto venga perfuso dal flusso di nutrienti subito dopo l'attecchimento delle cellule sullo scaffold. Inizialmente nel costrutto non è presente alcun contributo di matrice extracellulare, che è responsabile della coesione e dell'integrità del tessuto. Senza la presenza di matrice extracellulare, le cellule sono quindi maggiormente esposte al fluido di nutrienti che, di conseguenza, trascina all'esterno del costrutto una considerevole parte di condrociti. Per ovviare a tale problema si potrebbe costruire l'esperimento in due fasi. Nella prima parte sarebbe opportuno immergere lo scaffold, seminato con i condrociti, in una soluzione di nutrienti in condizioni statiche, in modo tale da permettere la generazione di matrice extracellulare senza esporre le cellule all'effetto di *washout*. Solo dopo la formazione di un contributo di matrice extracellulare sufficiente a garantire un livello minimo di coesione del tessuto, si potrebbe passare alla seconda fase, perfondendo il costrutto con il flusso di nutrienti, in modo tale da permettere una crescita fisiologica. Discutiamo infine un altro aspetto interessante che caratterizza questo secondo approccio. Separando i contributi delle cellule e della matrice extracellulare, si ottiene infatti un controllo sul rapporto tra le due componenti del sistema. Riportiamo in tabella 4.7 i valori numerici dei rapporti misurati in [RMC⁺06] e i corrispettivi valori calcolati dal modello (4.22)-(4.23). Si può vedere come la separazione dei contributi riesca a riprodurre in modo soddisfacente l'andamento del rapporto tra le due frazioni volumetriche.

| Indice i | $\varepsilon_{\text{ECM},i}^m / \varepsilon_{\text{cell},i}^m$ | $\varepsilon_{\text{ECM},i} / \varepsilon_{\text{cell},i}$ |
|------------|--|--|
| 1 | 1.069 | 1.0737 |
| 2 | 1.070 | 1.0426 |
| 3 | 1.143 | 1.1064 |
| 4 | 1.331 | 1.3058 |

Tabella 4.7: Rapporto tra le frazioni volumetriche calcolate in [RMC⁺06] e stimate dal modello (4.22)-(4.23).

4.3 Analisi sul lungo periodo

L'analisi di breve periodo effettuata nei paragrafi precedenti è stata necessaria per poter ricavare il valore numerico dei coefficienti che determinano il modello di crescita di biomassa. L'obiettivo è ora quello di simulare la crescita di cellule e matrice extracellulare su un periodo di tempo più lungo, nel quale velocità, concentrazione e sforzi di taglio non possono più essere considerati costanti ma tempo e spazio-dipendenti. A questo proposito risulta necessario definire dei modelli opportuni nelle tre variabili: \mathbf{v} , c e τ . Nel lungo periodo la crescita di biomassa è tale da influenzare e modificare le altre grandezze che a loro volta influenzano la frazione volumetrica stessa. Dobbiamo quindi studiare il modello accoppiato in cui rientrano tutte le grandezze in gioco.

Per prima cosa definiamo la geometria su cui andiamo a studiare il problema. Gli esperimenti a cui ci riferiamo hanno una geometria tridimensionale, la biomassa cresce infatti su costrutti a forma di disco. Tuttavia, a livello delle simulazioni numeriche, è possibile assumere l'ipotesi di simmetria assiale e studiare il problema in una emi-sezione bidimensionale del costrutto, come mostrato in figura 4.7.

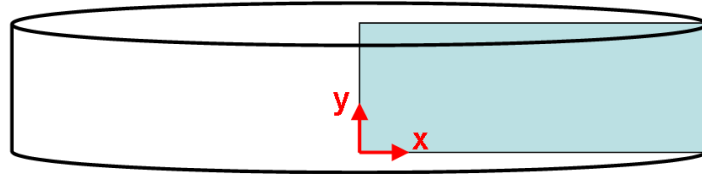


Figura 4.7: Sezione del costrutto dove viene risolto il problema accoppiato biomassa-velocità-sforzi-concentrazione.

Nelle prossime sezioni presenteremo separatamente i modelli per la biomassa e gli sforzi di taglio, per la velocità e per la concentrazione. Anticipiamo che tali grandezze variano in un dominio bidimensionale trifasico, composto da scaffold, biomassa e fluido. A tal proposito verrà opportunamente applicato il metodo del Volume Averaging, separatamente all'equazione per il campo di moto e all'equazione della concentrazione di nutrienti. Lo scopo finale è scrivere un modello accoppiato alla macroscale spaziale.

4.3.1 Biomassa e sforzi di taglio

Per quanto riguarda il modello per la crescita cellulare, in base alla trattazione effettuata per il breve periodo, viene utilizzata la seguente equazione:

$$\frac{d\varepsilon_b}{dt} = \frac{k_g(\tau; \mathbf{p})c\varepsilon_b}{k_s(\tau; \mathbf{q})\rho_b\varepsilon_b + c} - k_d\varepsilon_b \quad (4.27)$$

dove c e τ ora non sono più costanti e uniformi ma funzioni di spazio e tempo. Oltre a fornire opportuni modelli per \mathbf{v} e c , risulta necessario esplicitare una specifica espressione per gli sforzi di taglio τ . Un modello accettabile per questi ultimi è rappresentato dalla legge di Darcy scritta nel modo seguente:

$$\tau(\varepsilon_b, |\mathbf{v}|) = \frac{\mu |\mathbf{v}|}{\sqrt{K(\varepsilon_f)}}, \quad (4.28)$$

dove ε_f è la frazione volumetrica occupata dal fluido e correlata a ε_b da $\varepsilon_f = 1 - \varepsilon_b - \varepsilon_s$. K è la costante di Carman-Kozeny, ossia la permeabilità idraulica effettiva, che viene definita tramite la seguente forma:

$$K = K_p \frac{\varepsilon_f^3}{(1 - \varepsilon_f)^2} \quad (4.29)$$

dove K_p è la costante di Kozeny che sarà ricavata in seguito. Volendo quindi mettere in evidenza la dipendenza di τ dalla frazione volumetrica di biomassa si può scrivere:

$$\tau(\varepsilon_b, |\mathbf{v}|) = \frac{\mu |\mathbf{v}| (\varepsilon_b + \varepsilon_s)}{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b) \sqrt{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b) K_p}}, \quad (4.30)$$

Come si può vedere dalla relazione appena presentata, gli sforzi di taglio dipendono sia dalla frazione volumetrica di biomassa, sia dalla velocità del fluido. Essi rappresentano quindi un primo elemento di accoppiamento tra le grandezze del sistema. Nell'equazione (4.30) compare la costante K_p , che necessita di essere caratterizzata per poter successivamente calcolare il coefficiente K . A questo scopo utilizziamo nuovamente una tecnica di minimizzazione ai minimi quadrati. Utilizziamo gli sforzi τ , ricavati dall'equazione (4.30) imponendo $\varepsilon_b = 0$ e $|\mathbf{v}| = v_i$, e li confrontiamo con i valori τ_i , dove v_i e τ_i sono i dati riportati in tabella 4.1. Troviamo quindi $K_{p,fit}$, soluzione del seguente problema di minimizzazione:

$$K_{p,fit} = \arg \min \sum_{i=1}^4 \left(\tau(0, v_i) - \tau_i \right)^2 \quad (4.31)$$

Il risultato dell'adattamento è $K_{p,fit} = 1.9673 \cdot 10^{-7}$, con un residuo quadratico normalizzato dell'ordine di 10^{-6} . Nel grafico 4.8 sono riportati gli sforzi al variare della biomassa, calcolati con l'equazione (4.30) inserendo la costante $K_{p,fit}$, ogni curva del grafico si riferisce ad un differente valore di velocità v_i .

Gli sforzi di taglio aumentano al crescere della biomassa, la sua frazione volumetrica infatti aumenta a scapito di quella del fluido di nutrienti, incrementando quindi la resistenza idraulica del flusso e gli sforzi. Il modello di crescita viene validato sul range di sforzi intorno a $[4.6, 56] \text{ mPa}$. Per tempi lunghi perciò, dove la biomassa cresce in modo consistente, si può presupporre che solo gli esperimenti corrispondenti alle velocità più basse, ovvero v_3 e v_4 , riproducano degli sforzi che siano compresi nell'intervallo validato.

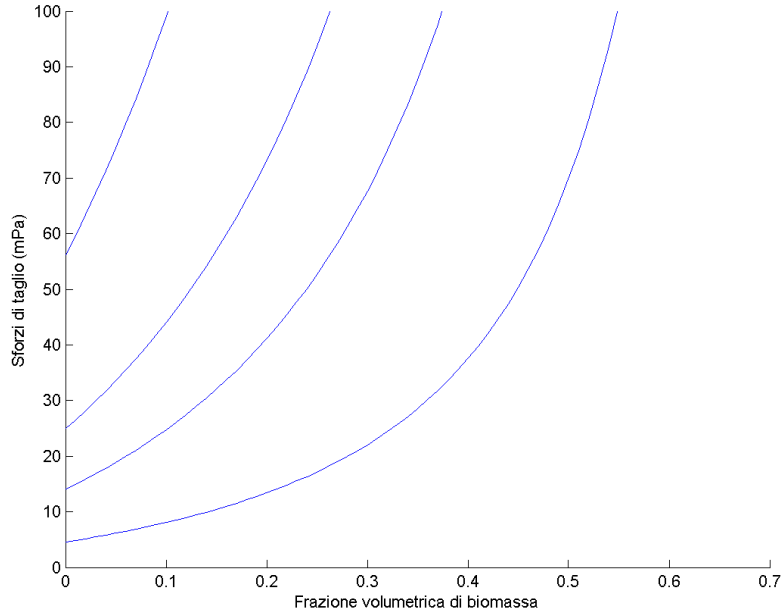


Figura 4.8: Sforzi di taglio al variare della frazione volumetrica di biomassa.

4.3.2 Campo di velocità

Ci concentriamo ora sulla definizione di un'equazione per la velocità del flusso di nutrienti \mathbf{v} , alla macroscale spaziale e ci riferiamo a quanto riportato in [CRS10]. Il fenomeno che dobbiamo descrivere consiste in un fluido di perfusione che scorre attraverso la matrice porosa dello scaffold. Per ottenere il modello sono necessarie due principali assunzioni.

- Per prima cosa ipotizziamo che il fenomeno si svolga a basso regime di perfusione. Ciò permette di trascurare i termini inerziali nell'equazione del momento.
- In secondo luogo, considerando la biomassa rigida e impermeabile al fluido, possiamo considerare il sistema bifasico anziché trifasico, diviso quindi in una parte solida, scaffold e biomassa e in una liquida, il fluido nutriente.

Partendo dalle equazioni di Stokes con la correzione di Brinkman e applicando il metodo del Volume Averaging, si giunge al seguente sistema espresso in funzione di quantità mediate:

$$\begin{cases} \nabla \cdot \mathbf{v} = 0, \\ \frac{d\mathbf{v}}{dt} = \nabla p - \mu \varepsilon_f K^{-1} \mathbf{v} + \mu \Delta \mathbf{v} \end{cases} \quad (4.32)$$

dove μ è la viscosità dinamica del fluido, p la pressione e K la costante di permeabilità idraulica definita in funzione di ε_f dalla (4.29). Il sistema deve essere poi correlato di opportune condizioni al bordo e di condizioni iniziali, che riportiamo

di seguito. Facciamo riferimento alla figura 4.9 per identificare le diverse parti che compongono il bordo del dominio.

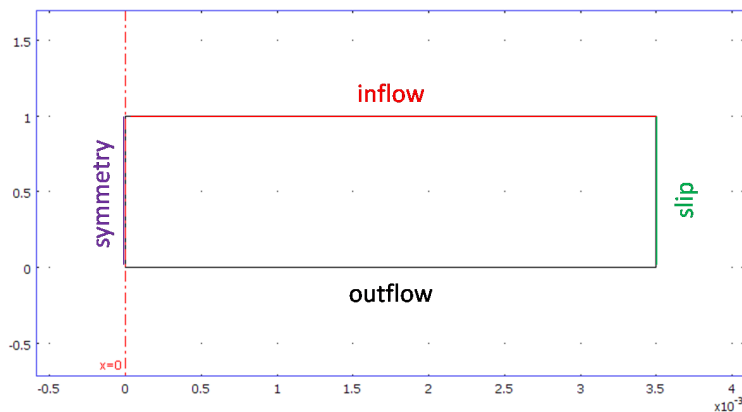


Figura 4.9: Bordi del dominio.

$$\left\{ \begin{array}{lll} \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} = 0 & x = 0 & \text{simmetria} \\ p = 0 & y = 0 & \text{outlet} \\ v_x = 0, v_y = -v_i & y = 10^{-3} & \text{inlet} \\ \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} = 0 & x = 3.5 \cdot 10^{-3} & \text{slip} \end{array} \right. \quad (4.33)$$

Osserviamo che sul bordo di inflow abbiamo imposto un profilo di velocità piatto. La velocità del flusso di nutrienti dipende quindi dalla crescita cellulare tramite $\varepsilon_f = 1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b$ e tramite $K = K(\varepsilon_f)$. Ricordiamo che a sua volta la frazione volumetrica di biomassa è influenzata dal campo di moto attraverso gli sforzi di taglio τ definiti dalla (4.30). I due problemi, quello in velocità e quello in ε_b , sono quindi strettamente accoppiati.

Profilo di velocità in ingresso

Abbiamo affermato che sul bordo di inflow del costruito viene imposto un profilo di velocità piatto con modulo pari a v_i . Per confermare questa scelta costruiamo una simulazione che tenga conto di come si sviluppa il flusso all'interno del tubo che porta il nutriente fino al costruito. Il problema viene risolto su un dominio bidimensionale, riportato in figura 4.10, che rappresenta una sezione trasversale di un cilindro di diametro $d = 7 \text{ mm}$. Indichiamo con Ω_1 la parte di dominio colorata in rosso, essa rappresenta il tubo dove si sviluppa il flusso di nutrienti, mentre la parte in blu viene chiamata Ω_2 ed è occupata dal costruito. Il profilo in ingresso

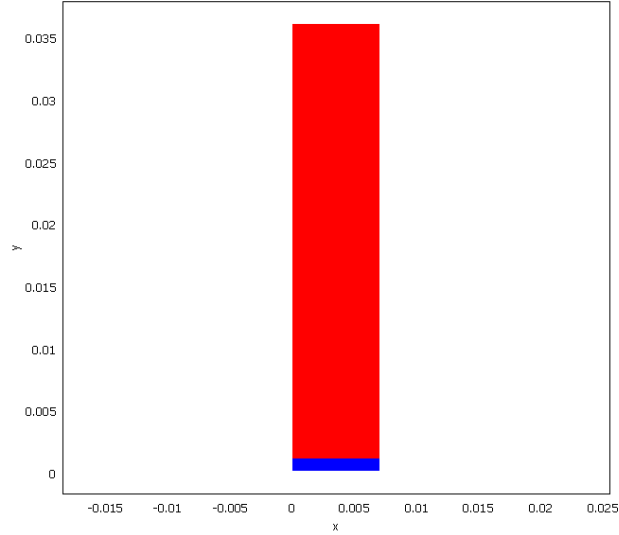


Figura 4.10: Dominio del problema per determinare il profilo di velocità in ingresso. Ω_2 è il sotto-dominio corrispondente al costruito, Ω_1 è il sotto-dominio corrispondente al tubo dove si sviluppa il flusso di nutrienti.

sulla superficie superiore del tubo è di tipo parabolico ed è stato ricavato imponendo una portata pari a:

$$Q = 0.25d^2\pi v_i$$

con $v_i = 884 \mu m/s$.

Il problema che viene risolto su $\Omega = \Omega_1 \cup \Omega_2$ è il seguente: trovare (\mathbf{v}, p) tali che

$$\begin{cases} \nabla \cdot \mathbf{v} = 0, \\ \frac{d\mathbf{v}}{dt} = \nabla p - \mu\varepsilon_f(K^*)^{-1}\mathbf{v} + \mu\Delta\mathbf{v} \end{cases} \quad (4.34)$$

con le seguenti condizioni di bordo:

$$\begin{cases} \mathbf{v} = 0 & x = 0 & \text{no slip} \\ p = 0 & y = 0 & \text{outlet} \\ v_x = 0, v_y = v_{in} & y = 0.0036 & \text{inlet} \\ \mathbf{v} = 0 & x = 0.007 & \text{no slip} \end{cases} \quad (4.35)$$

dove K^* è un coefficiente definito a tratti:

$$K^* = \begin{cases} K_p \frac{\varepsilon_f^3}{(1 - \varepsilon_f)^2} & \text{in } \Omega_2 \\ 10^{20} & \text{in } \Omega_1 \end{cases} \quad (4.36)$$

e v_{in} è la velocità di ingresso a profilo parabolico, calcolata come:

$$v_{in} = \frac{3}{2} \frac{v_i}{r^2} x^2 - \frac{3v_i}{r} x \quad (4.37)$$

dove $r = 0.0035$.

Osserviamo che nel dominio Ω_1 il termine $\mu \varepsilon_f (K^*)^{-1} \mathbf{v}$ dell'equazione (4.34) è trascurabile, il sistema si riconduce quindi allo studio di un flusso di Stokes. In Ω_2 , invece, viene risolto il problema di Stokes-Brinkman, equivalente al (4.32). Il modello (4.34) vuole simulare lo sviluppo di un flusso in un tubo che termina con un filtro poroso, rappresentato in questo caso dal costruito scaffold-cartilagine.

La simulazione è stata effettuata con il software Comsol e riportiamo in figura 4.11 e 4.12 i risultati ottenuti.

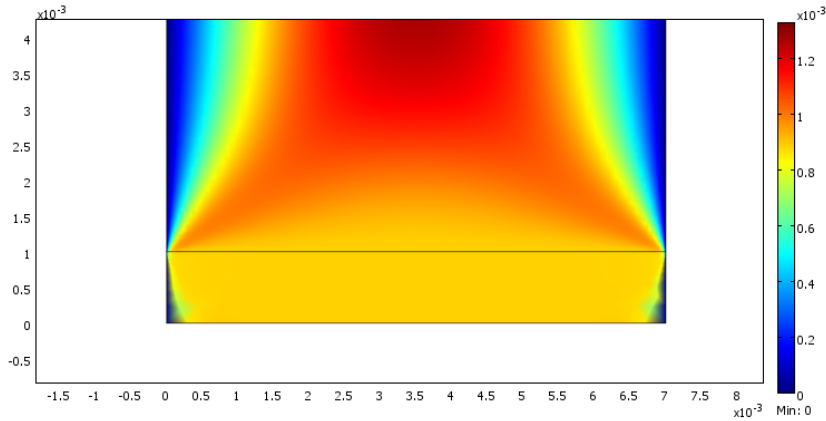


Figura 4.11: Zoom del campo di velocità (in modulo), soluzione del problema (4.34) sul dominio di figura 4.10.

Nel grafico 4.11, viene riportato il campo di velocità in tutto in dominio Ω . Si può notare che la velocità mantiene un profilo parabolico quasi in tutta la lunghezza del tubo mentre diventa uniforme in corrispondenza del mezzo poroso. Nel grafico di figura 4.12, abbiamo rappresentato la componente y del campo di moto esattamente lungo la linea di interfaccia tra i due domini, linea che corrisponde alla superficie di ingresso del fluido nel costruito. Si può notare che il flusso di nutrienti entra nel mezzo poroso con un profilo piatto con modulo circa pari a $884 \mu m/s$, a meno degli strati limite viscosi che si formano in prossimità delle pareti.

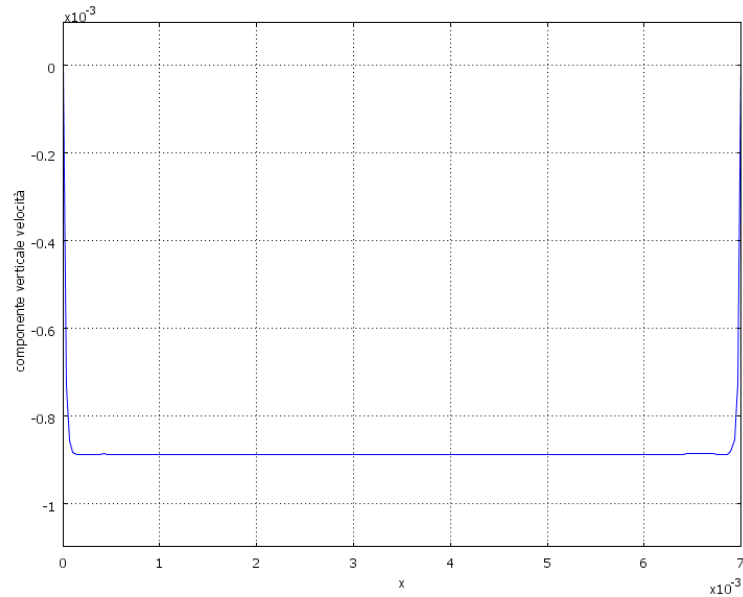


Figura 4.12: Velocità normale in ingresso al costruito.

4.3.3 Concentrazione di ossigeno

Per ricavare l'equazione di trasporto per la concentrazione dell'ossigeno all'interno del sistema, si applica il metodo del Volume Averaging sul volume di controllo riportato in figura 4.13.

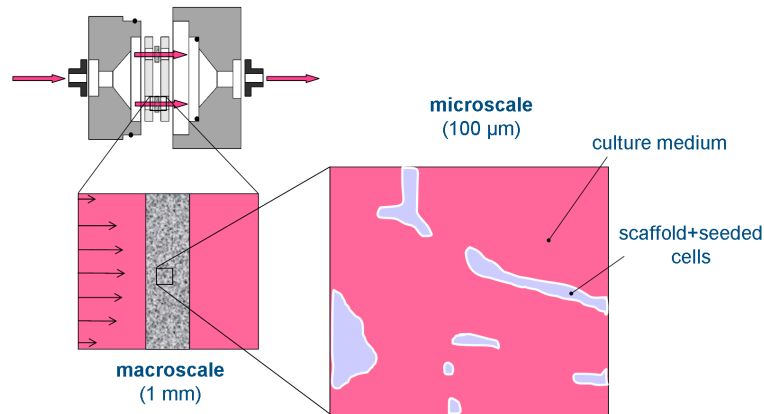


Figura 4.13: Sistema sperimentale e schematizzazione delle scale spaziali.

L'applicazione del metodo e la definizione del problema di chiusura locale risultano piuttosto complessi, in quanto si deve lavorare su un sistema trifasico, composto da fluido, biomassa e scaffold.

Definiamo la concentrazione media volumetrica di ossigeno, secondo la notazione usata nella sezione 2.2:

$$c = \langle c \rangle = \varepsilon_s \langle c_s \rangle^s + \varepsilon_b \langle c_b \rangle^b + \varepsilon_f \langle c_f \rangle^f \quad (4.38)$$

dove $\langle c_b \rangle^b$, $\langle c_f \rangle^f$ sono le concentrazioni medie intrinseche di ossigeno rispettivamente nella fase di biomassa e nella fase fluida, mentre $\langle c_s \rangle^s$ è la concentrazione media intrinseca nello scaffold.

Osservando il problema specifico, possiamo porre le seguenti assunzioni, che permettono di semplificare l'applicazione del Volume Averaging:

1. La matrice dello scaffold è impermeabile all'ossigeno. Questo equivale ad assumere che la diffusione dell'ossigeno all'interno dello scaffold sia trascurabile. Per cui poniamo $D_s = 0$ e la concentrazione di ossigeno nello scaffold risulta nulla, $\langle c_s \rangle^s = 0$.
2. La diffusività dell'ossigeno nella fase fluida è all'incirca equivalente a quella all'interno della biomassa: $D_f = D_b$. Bisogna osservare che questa proprietà non è valida per molecole di dimensioni considerevolmente maggiori di quella dell'ossigeno, quali ad esempio il glucosio.

Per poter ricondurci ad un sistema bifasico e sviluppare il metodo del Volume Averaging definiamo una *fase fluida equivalente* formata dal mezzo fluido di coltura e dalla biomassa. La seconda fase che consideriamo è quella dello scaffold. Pertanto, secondo la notazione sviluppata nella sezione 2.2, per lo studio di questo particolare sistema bifasico, poniamo la fase extracellulare β pari alla fase fluida equivalente (fluido + biomassa, fb), $\beta = fb$ e la fase cellulare γ uguale alla fase solida dello scaffold, $\gamma = s$.

Definiamo la concentrazione media di volume nella fase equivalente:

$$c_{fb} = \langle c_{fb} \rangle = \varepsilon_b \langle c_b \rangle^b + \varepsilon_f \langle c_f \rangle^f \quad (4.39)$$

Possiamo inoltre pensare che la fase fluida equivalente sia a sua volta il risultato dell'applicazione del Volume Averaging sul sistema bifasico fluido-biomassa. In questo caso le due fasi del sistema si possono definire nel seguente modo: la fase extracellulare corrisponde alla fase fluida pura, $\beta = f$ e la fase intracellulare corrisponde alla biomassa, $\gamma = b$.

Si osserva che la (4.38) si può semplificare nel seguente modo:

$$c = \varepsilon_b \langle c_b \rangle^b + \varepsilon_f \langle c_f \rangle^f \quad (4.40)$$

poichè, per l'ipotesi (1), abbiamo $\langle c_s \rangle^s = 0$. Allora risulta

$$c = c_{fb} \quad (4.41)$$

Il metodo del Volume Averaging prevede il calcolo del flusso diffusivo effettivo,

$$\Phi = -\mathbf{D}_{eff} \nabla c \quad (4.42)$$

ma, grazie al risultato (4.41), è possibile porre

$$-\mathbf{D}_{eff}\nabla c = -\mathbf{D}_{fb}\nabla c_{fb} \quad (4.43)$$

dove \mathbf{D}_{fb} rappresenta il coefficiente di diffusione effettivo relativo alla fase fluida equivalente.

Dalla (4.43) risulta chiaro che, per calcolare il coefficiente di diffusione effettivo \mathbf{D}_{eff} relativo al sistema bifasico fluido equivalente-scaffold, è sufficiente ricavare il coefficiente \mathbf{D}_{fb} per il sistema bifasico fluido-biomassa. Applichiamo pertanto il metodo del Volume Averaging a quest'ultimo e ricaviamo, tramite la risoluzione del problema di chiusura locale, il coefficiente \mathbf{D}_{fb} .

Dobbiamo immediatamente osservare che, quando nella sezione 2.2 abbiamo impostato il metodo del Volume Averaging per il ricavo del problema di chiusura locale, abbiamo ipotizzato che $\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma = 1$. In questo caso ci troviamo in una situazione differente, in quanto il sistema bifasico che stiamo considerando non occupa il volume di controllo nella sua interezza. Infatti risulta che:

$$\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma = \varepsilon_f + \varepsilon_b = 1 - \varepsilon_s \quad (4.44)$$

dove ricordiamo che ε_s rappresenta la frazione volumetrica occupata dallo scaffold. E' dunque necessario ridefinire alcune quantità usate nel ricavo del Volume Averaging per mantenere la coerenza e la correttezza della definizione del problema di chiusura. In particolare ricordiamo che, all'equilibrio deve essere verificato:

$$\langle c_\beta \rangle^\beta = \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma \quad (4.45)$$

Per il sistema bifasico fluido-biomassa risulta ragionevole porre $\alpha_1 = 1$, grazie all'ipotesi (2), da cui si ha che:

$$\langle c_f \rangle^f = \langle c_b \rangle^b \quad (4.46)$$

Ricordiamo la definizione della concentrazione media di equilibrio (2.44)

$$\{c\} = \varepsilon_\beta \langle c_\beta \rangle^\beta + \varepsilon_\gamma \alpha_1 \langle c_\gamma \rangle^\gamma = \varepsilon_f \langle c_f \rangle^f + \varepsilon_b \langle c_b \rangle^b \quad (4.47)$$

Sostituendo al condizione di equilibrio (4.46) nella (4.47) si ottiene:

$$\{c\} = (\varepsilon_f + \varepsilon_b) \langle c_f \rangle^f \quad (4.48)$$

dove il coefficiente $(\varepsilon_f + \varepsilon_b) \neq 1$ per la (4.44). Per cui, per poter ritrovare la condizione di equilibrio (2.45) che permette di esprimere la media intrinseca di ciascuna fase in funzione della media di equilibrio $\{c\}$, sembra ragionevole ridefinire:

$$\frac{\{c\}}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)} = \langle c_f \rangle^f = \langle c_b \rangle^b \quad (4.49)$$

e ricavare il modello ad una sola equazione e il corrispondente problema di chiusura in funzione della quantità $\{c\}/(\varepsilon_f + \varepsilon_b)$. Si arriva ad una nuova equazione, corrispondente alla (2.127):

$$\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)} \{c\} \right) = \nabla \cdot \left(\frac{\mathbf{D}'_{fb}}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)} \cdot \nabla \{c\} + \mathbf{v} \{c\} \right) - \varepsilon_b \frac{\mu_A \{c\}}{\{c\} + (\varepsilon_f + \varepsilon_b) K_A} \quad (4.50)$$

dove \mathbf{v} è il campo di moto soluzione di (4.32) e, secondo la (2.128),

$$\frac{\mathbf{D}'_{fb}}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)} = (\varepsilon_f D_f + \varepsilon_b D_b) \mathbf{I} + \frac{D_f}{V} \int_{A_{fb}} \mathbf{n}_{fb} \mathbf{b}_f dA + \frac{D_b}{V} \int_{A_{bf}} \mathbf{n}_{bf} \mathbf{b}_b dA \quad (4.51)$$

è il risultato del problema di chiusura locale.

Ricordiamo che \mathbf{v} è la velocità del fluido ricavata tramite la soluzione del problema (4.32), mentre il tasso di consumo di ossigeno per unità di volume, funzione della concentrazione di ossigeno locale, $R(c)$, è in accordo con la cinetica di Michaelis-Menten:

$$R(c) = \frac{R_m c}{K_m + c} \quad (4.52)$$

dove

$$R_m = \mu_A = \mu_{O_2} \quad (4.53)$$

$$K_m = K'_{A,eff} = K'_{O_2,eff} = (\varepsilon_f + \varepsilon_b) K_{O_2} \quad (4.54)$$

Si ricava che, ponendo come fatto nella sezione (2.2)

$$\mathbf{D}_{fb} = \frac{\mathbf{D}'_{fb}}{\varepsilon_f + \varepsilon_b} \quad (4.55)$$

e facendo le opportune semplificazioni all'interno della (4.50), la seguente nuova equazione:

$$\frac{\partial \{c\}}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{fb} \cdot \nabla \{c\} + \mathbf{v} \{c\}) - \varepsilon_b \frac{\mu_{O_2} \{c\}}{\{c\} + K'_{O_2,eff}} \quad (4.56)$$

Inoltre è immediato osservare che, poichè dalla (2.138) si ha

$$\langle c \rangle = (\varepsilon_\beta + \alpha_1^{-1} \varepsilon_\gamma) \{c\} \quad (4.57)$$

nel nostro caso possiamo scrivere che

$$\langle c_{fb} \rangle = (\varepsilon_f + \varepsilon_b) \frac{\{c\}}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b)} = \{c\} \quad (4.58)$$

e il modello ad un'unica equazione (4.56) può essere riscritto in termini della concentrazione media di volume:

$$\frac{\partial c_{fb}}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{fb} \cdot \nabla c_{fb} + \mathbf{v} c_{fb}) - \varepsilon_b \frac{\mu_{O_2} c_{fb}}{c_{fb} + K'_{O_2,eff}} \quad (4.59)$$

A questo punto il passaggio dal sistema bifasico fluido-biomassa, a quello bifasico fluido equivalente-scaffold risulta immediato. Infatti, per la risoluzione del problema di chiusura (4.51) scegliamo di calcolare una soluzione analitica approssimata secondo il modello di Maxwell [CRS10]. Ricordando che $\mathbf{D}_{eff} = \mathbf{D}_{fb}$, risulta:

$$\frac{\mathbf{D}_{eff}}{D_{fb}} = \frac{\mathbf{D}_{fb}}{D_{fb}} = \frac{\mathbf{D}'_{fb}}{(\varepsilon_f + \varepsilon_b) D_{fb}} = \frac{3\kappa - 2\varepsilon_\beta(\kappa - 1)}{3 + \varepsilon_\beta(\kappa - 1)} \quad (4.60)$$

dove abbiamo posto

$$D_{fb} = D_f = D_b \quad (4.61)$$

Infatti dall'ipotesi (2) leggiamo che la diffusività dell'ossigeno nel fluido è all'incirca equivalente a quella nella biomassa e definiamo D_{fb} come la diffusività dell'ossigeno all'interno di un mezzo composto esclusivamente da fluido nutriente o da biomassa o da un miscuglio delle due fasi.

Facendo riferimento al sistema bifasico fluido equivalente-biomassa, abbiamo che:

$$\kappa = \frac{D_\gamma}{\alpha_1 D_\beta} = \frac{D_s}{\alpha_1 D_{fb}} = 0 \quad (4.62)$$

poichè $D_s = 0$ per l'ipotesi (1).

Per $\kappa = 0$ il modello di Maxwell si semplifica e può essere scritto secondo la (4.60):

$$\frac{\mathbf{D}_{eff}}{D_{fb}} = \frac{\mathbf{D}_{eff}}{D_f} = \frac{2(1 - \varepsilon_\gamma)}{2 + \varepsilon_\gamma} = \frac{2(1 - \varepsilon_s)}{2 + \varepsilon_s} \quad (4.63)$$

dove abbiamo sostituito $D_{fb} = D_f$, diffusività dell'ossigeno all'interno del fluido nutriente, che può essere facilmente determinata tramite misure sperimentali. Osserviamo che, in questo caso, il coefficiente di diffusione effettivo dipende solamente dalla frazione di volume dello scaffold, ε_s , che si mantiene costante nel tempo. Questa è una conseguenza del fatto che abbiamo posto $D_s = 0$ e, dunque, $\kappa = 0$.

L'equazione per la concentrazione media $c = \langle c \rangle$ si ricava immediatamente grazie alla (4.41) e alla (4.43), per cui:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla c + \mathbf{v}c) - \varepsilon_b \frac{\mu_{O_2} c}{c + K'_{O_2,eff}} \quad (4.64)$$

Il problema viene completato con le seguenti condizioni di bordo, definite per il dominio Ω riportato in figura 4.9:

$$\begin{aligned} \mathbf{n} \cdot (\mathbf{D}_{eff} \cdot \nabla c) &= 0 & x = 0, x = 0.0035, y = 0 \\ c &= c_0 & y = 0.001 \end{aligned} \quad (4.65)$$

I valori di μ_{O_2} e $K'_{O_2,eff}$ e c_0 , concentrazione di ossigeno all'ingresso del dominio, sono forniti tramite misure sperimentali condotte da [CKS⁺08].

Dal modello formulato possiamo osservare che l'equazione per la concentrazione (4.64) è accoppiata con l'equazione che risolve il campo di velocità tramite il coefficiente di trasporto \mathbf{v} . Inoltre, a moltiplicare il tasso di reazione troviamo la frazione volumetrica di biomassa, ε_b , che a sua volta dipende da \mathbf{v} e dalla concentrazione di ossigeno stessa: tutti e tre i problemi sono dunque fortemente accoppiati.

4.4 Simulazioni e risultati dell'analisi di lungo periodo

Riassumendo quanto fatto nei paragrafi precedenti, possiamo formulare il seguente problema, in cui la crescita di biomassa, la concentrazione di ossigeno e il campo di

moto risultano completamente accoppiati tra di loro:

$$\begin{aligned}
 \nabla \cdot \mathbf{v} &= 0, \\
 \frac{d\mathbf{v}}{dt} &= \nabla p - \mu \varepsilon_f K^{-1} \mathbf{v} + \mu \Delta \mathbf{v} \\
 \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-\mathbf{D}_{eff} \nabla c + \mathbf{v}c) + \varepsilon_b R(c) &= 0 \\
 \frac{d\varepsilon_b}{dt} &= \frac{k_g(\tau; \mathbf{p}) c \varepsilon_b}{k_s(\tau; \mathbf{q}) \rho_b \varepsilon_b + c} - k_d * \varepsilon_b \\
 \tau(\varepsilon_b, |\mathbf{v}|) &= \frac{\mu |\mathbf{v}| (\varepsilon_b + \varepsilon_s)}{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b) \sqrt{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b) K_p}}
 \end{aligned} \tag{4.66}$$

4.4.1 Descrizione dei principali schemi numerici implementati da Comsol

Il sistema (4.66) è tempo dipendente e per la sua risoluzione abbiamo utilizzato il software commerciale Comsol Multiphysics. Questo software permette di simulare e risolvere, tramite analisi agli elementi finiti, svariati problemi di fisica ed ingegneria, in particolare è ideale per trattare problemi in cui diversi fenomeni si trovano tra loro accoppiati. Comsol è dotato di un'interfaccia tramite la quale l'utente può definire il problema da risolvere, costruire il dominio di risoluzione e genere una partizione dello stesso. Una volta che il problema viene risolto tramite opportuni risolutori agli elementi finiti, la soluzione può essere post-processata.

In questo paragrafo vogliamo riassumere brevemente le tecniche di approssimazione numerica che il software implementa per la discretizzazione spaziale e temporale del problema e gli algoritmi di risoluzione utilizzati per la risoluzione dei sistemi lineari corrispondenti.

Per semplicità, ci riferiamo ad un problema modello:

$$\begin{cases} u_t - \alpha u_{xx} = g(u) & 0 < x < 1, 0 < t < T \\ u(x, 0) = u_0(x) \\ u(0, t) = u(1, t) = 0 \end{cases} \tag{4.67}$$

Il primo passo prevede di discretizzare il problema (4.67) in spazio, tramite elementi finiti Lagrangiani. Viene dunque definita una partizione del dominio $(0, 1)$ in intervalli non sovrapposti ed equamente distribuiti I_i , $i = 1, \dots, N_h$ di lunghezza $h = 1/N_h$. Si cerca una soluzione approssimata $u_h(t, x) \simeq u(t, x)$, tale che

$$\begin{aligned}
 u_h(t) &\in X_{h,0}^r(0, 1) = \\
 &\{v_h \in C^0([0, 1]) : v_h|_{I_i} \in \mathbb{P}^r(I_i), i = 1, \dots, N_h, v_h(0) = v_h(1) = 0\}, \tag{4.68}
 \end{aligned}$$

dove $\mathbb{P}^r(I)$ è lo spazio delle funzioni polinomiali di ordine $r \in \mathbb{N}$ sull'intervallo I . Sia $\{\phi_i(x)\}_{i=1}^{N_h}$ una base Lagrangiana di $X_{h,0}^r(0, 1)$. Il problema di determinare $u_h(t)$ è

allora equivalente a cercare un vettore di funzioni del tipo $U(t) : (0, T) \rightarrow \mathbb{R}^{N_h}$ tale che:

$$\begin{cases} M\dot{U} + AU = G(U), & 0 < t < T \\ U(0) = U_0 \end{cases} \quad (4.69)$$

dove $U(t) = \{u_i(t)\}_{i=1}^{N_h}$ con $u_h(t, x) = \sum_{i=1}^{N_h} u_i(t)\phi_i(x)$ e $M, A \in \mathbb{R}^{N_h \times N_h}$ matrici di numeri reali:

$$M_{ij} = \int_0^1 \phi_j \phi_i dx, \quad A_{ij} = \alpha \int_0^1 \phi_{x_j} \phi_{x_i} dx$$

$G(U) : \mathbb{R}^{N_h} \rightarrow \mathbb{R}^{N_h}$ è un vettore di funzioni non lineari tale che:

$$G_i(U) = \int_0^1 g(u_h) \phi_i dx.$$

Se $u_0(x) \in L^2(0, 1)$, lo stato iniziale U_0 può essere determinato tramite una proiezione, precisamente:

$$U_0 = \{u_{h,0,i}\}_{i=1}^{N_h} \text{ con } \int_0^1 u_{h,0,i} \phi_i dx = \int_0^1 u_0 \phi_i dx, \quad i = 1, \dots, N_h$$

Il problema (4.69) è chiamato semi-discreto, in quanto discretizzato solo nella variabile spaziale, ed è equivalente ad un problema di Cauchy N_h -dimensionale del primo ordine. Si procede quindi con la discretizzazione in tempo del problema (4.69) tramite differenze finite backward (BFD) di ordine $(p+1)$, ($p = 0, 1, \dots, 5$).

Data una sequenza di istanti temporali t_n , definiti tramite un passo costante τ , si cerca una sequenza di vettori U_n tale che:

$$MU_{n+1} = M \left(\sum_{j=0}^p a_j U_{n-j} \right) + \tau b_{-1} (G(U_{n+1}) - AU_{n+1}) \quad (4.70)$$

dove a_j, b_{-1} sono coefficienti costanti che caratterizzano una determinata famiglia di schemi numerici BFD e sono univocamente determinati tramite opportuni vincoli, necessari per garantire il massimo ordine di accuratezza $(p+1)$. Il problema (4.70) richiede che, ad ogni passo temporale, venga risolto un sistema di equazioni algebriche non lineari di dimensioni N_h . Infatti, riordinando i termini dell'equazione (4.70), si ottiene un problema del tipo $F(U_{n+1}) = 0$ dove $F(V) : \mathbb{R}^{N_h} \rightarrow \mathbb{R}^{N_h}$ è

$$F(V) = (M + \tau b_{-1} A)V - \tau b_{-1} G(V) - M \sum_{j=0}^p a_j U_{n-j}$$

Per la risoluzione dell'equazione $F(V) = 0$ viene applicato il metodo di Newton, che è un metodo robusto ed assicura proprietà di convergenza del secondo ordine; descriviamolo brevemente.

Sia $J_F(V)|_{ij} = \partial F_i / \partial V_j$ la matrice Jacobiana relativa a $F(V)$. Con un semplice calcolo si può mostrare che, nel nostro caso

$$J_F(U) = (M + \tau b_{-1} A) - \tau b_{-1} J_G(U), \quad \text{dove } J_G(U)|_{ij} = \int_0^1 g'(u_h) \phi_j \phi_i dx$$

Allora, ad un generico istante temporale, t_{n+1} , la soluzione del problema $F(U_{n+1}) = 0$ è approssimata tramite il seguente algoritmo:

1. Definire $V_0 = U_n$
2. iterare per $k = 0, 1, 2, \dots$
 - (a) trovare W_{k+1} tale che $J_F(V_k)W_{k+1} = -F(V_k)$
 - (b) definire $\lambda_0 = 1$ e E_0 tale che $\|E_0\| = 1$
 - (c) iterare per $m = 0, 1, 2, \dots$
 - i. calcolare $V_{m+1} = V_k + \lambda_m W_{k+1}$
 - ii. trovare E_{m+1} tale che $J_F(V_k)E_{m+1} = -F(V_{m+1})$
 - iii. se $\|E_{m+1}\| \leq \min(\|E_m\|, tol)$ allora passare a (d)
altrimenti ridurre λ_m (ad esempio $\lambda_{m+1} = \lambda_m/2$) e ritornare al punto (i)
 - (d) calcolare $V_{k+1} = V_k + \lambda_m W_{k+1}$
 - (e) se $\|V_{k+1} - V_k\|/\|V_{k+1}\| \leq tol$ allora andare al punto (3)
altrimenti ritornare al punto (a)
3. definire $U_{n+1} = V_{k+1}$

L'algoritmo di Newton richiede che, ad ogni iterazione, venga risolto un sistema lineare definito dalla matrice $J_F(V_k)$. Lo scopo è raggiunto tramite metodi di fattorizzazione diretta, implementati nella PARDISO.

4.4.2 I dati del problema

Prima di procedere con i risultati ottenuti, facciamo un breve riassunto dei dati del problema.

Riportiamo in tabella 4.8 i dati per la risoluzione del campo di velocità, in tabella 4.9 quelli per il trasporto di ossigeno e per ultimo in tabella 4.10 i dati necessari per la risoluzione del tasso di variazione della frazione volumetrica di biomassa.

| Parametro | Dimensioni | Definizione | Valore | Riferimento |
|-----------|-------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|
| μ | $[g/(cms)]$ | Viscosità dinamica del fluido | $8.26 \cdot 10^{-3}$ | [RBF ⁺ 02] |
| K_p | $[cm^2]$ | Permeabilità di Darcy | $1.9 \cdot 10^{-7}$ | Stimata |

Tabella 4.8: *Dati per il campo di velocità*

| Parametro | Dimensioni | Definizione | Valore | Riferimento |
|-----------------|---------------|-----------------------------------|----------------------|-----------------------|
| ε_s | $[\]$ | Frazione di volume dello scaffold | 0.23 | [RMC ⁺ 06] |
| D_f | $[cm^2/s]$ | Diffusività dell' O_2 | $2.10 \cdot 10^{-5}$ | [PB04] |
| R_m | $[g/(cm^3s)]$ | Consumo massimo di O_2 | $1.6 \cdot 10^{-6}$ | [CKS ⁺ 08] |
| K_m | $[g/cm^3]$ | Costante di saturazione | $1.6 \cdot 10^{-6}$ | [CKS ⁺ 08] |
| c_0 | $[g/cm^3]$ | Concentrazione iniziale | $3.20 \cdot 10^{-6}$ | [PB04] |

Tabella 4.9: *Dati per il trasporto di ossigeno*

| Parametro | Dimensioni | Definizione | Valore | Riferimento |
|--------------------|-------------|---|----------------------|-----------------------|
| ε_{b0} | $[\]$ | Frazione di volume di biomassa iniziale | 0.02145 | [RMC ⁺ 06] |
| p_0 | $[\]$ | Tasso di crescita in condizioni statiche | 1.0112 | Stimato |
| p_1 | $[\]$ | Correzione del primo ordine del tasso di crescita | 1.8518 | Stimato |
| q_0 | $[\]$ | Costante di saturazione in condizioni statiche | 0.5295 | Stimata |
| q_1 | $[\]$ | Correzione del primo ordine della costante di saturazione | 0.020 | Stimata |
| ρ | $[kg/dm^3]$ | Densità di biomassa di riferimento | 1 | [Cio06] |
| r_d | $[1/s]$ | Tasso di apoptosi | $3.85 \cdot 10^{-7}$ | [GL00] |

Tabella 4.10: *Dati per lo studio della variazione della frazione volumetrica di biomassa*

Per risolvere il problema costruiamo la geometria che rappresenta l'emi-sezione bidimensionale dello scaffold, illustrata in figura 4.7. Fissiamo il diametro del costrutto pari a 7 mm e l'altezza pari a 1 mm . Il dominio viene successivamente triangolato tramite la funzione mesh di Comsol, e si ottiene la griglia di calcolo riportata in figura 4.14.

La geometria viene mantenuta fissa nel corso delle simulazioni e si modifica il valore della velocità di ingresso del fluido di perfusione. La variazione della velocità di perfusione permette di analizzare come la crescita di biomassa viene influenzata dall'aumento degli sforzi di taglio.

4.4.3 Crescita della frazione di biomassa al variare della velocità di perfusione

Risolviamo il problema (4.66) variando il modulo della velocità normale di ingresso; facciamo riferimento alla tabella 4.1 e consideriamo inizialmente il valore di velocità maggiore, $884\mu\text{m/s}$ e in seguito quello minore, $72\mu\text{m/s}$.

Siamo interessati a visualizzare l'andamento del tasso di crescita della frazione di biomassa all'interno del sistema. Per far questo selezioniamo alcuni punti nel co-

strutto sui quali analizziamo la variazione della biomassa nel corso dell'evoluzione temporale 4.14. Avendo un profilo piatto in ingresso ci aspettiamo che la frazione volumetrica sia differente in corrispondenza di punti che si trovano ad altezze diverse, mentre sia simile per punti allineati orizzontalmente. Ci aspettiamo inoltre che la differenziazione della biomassa provochi, di conseguenza, una differenziazione verticale della concentrazione di ossigeno e del valore degli sforzi.

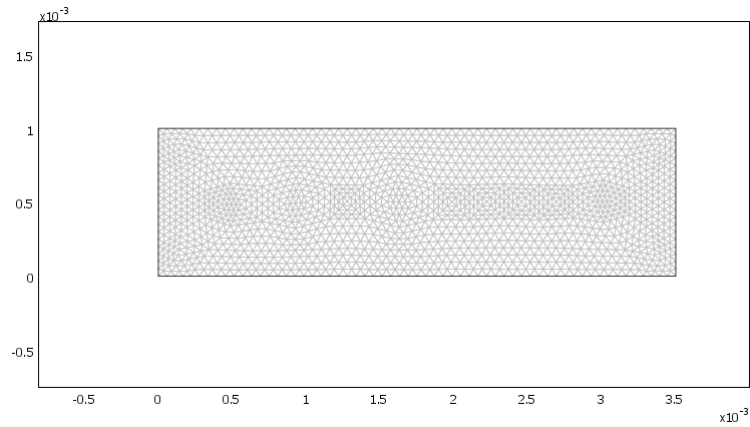


Figura 4.14: *Mesh di calcolo*

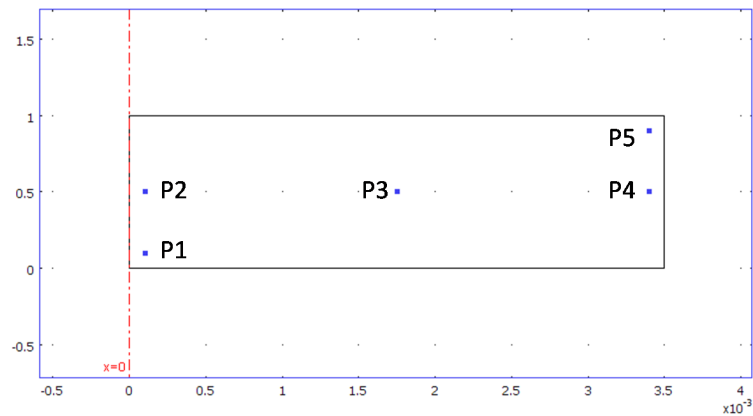


Figura 4.15: *Punti scelti per analizzare la crescita di biomassa*

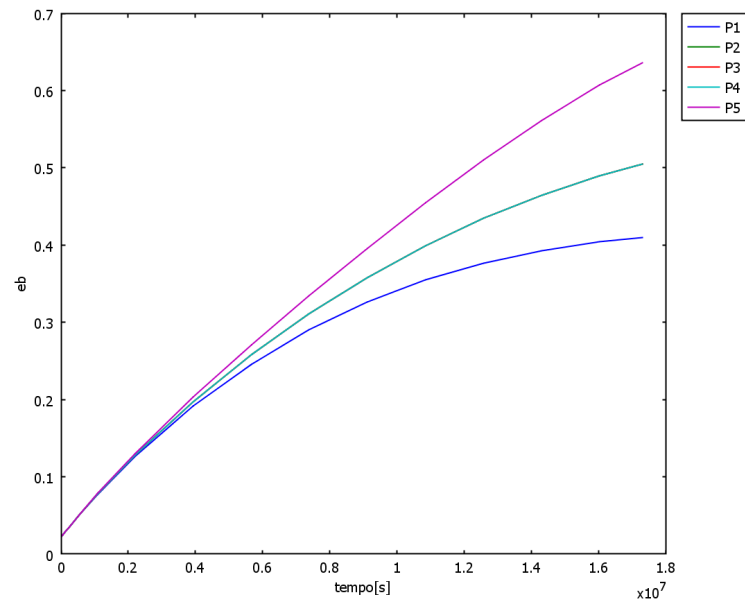


Figura 4.16: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa, periodo di 200 giorni, velocità inlet $884\mu\text{m/s}$

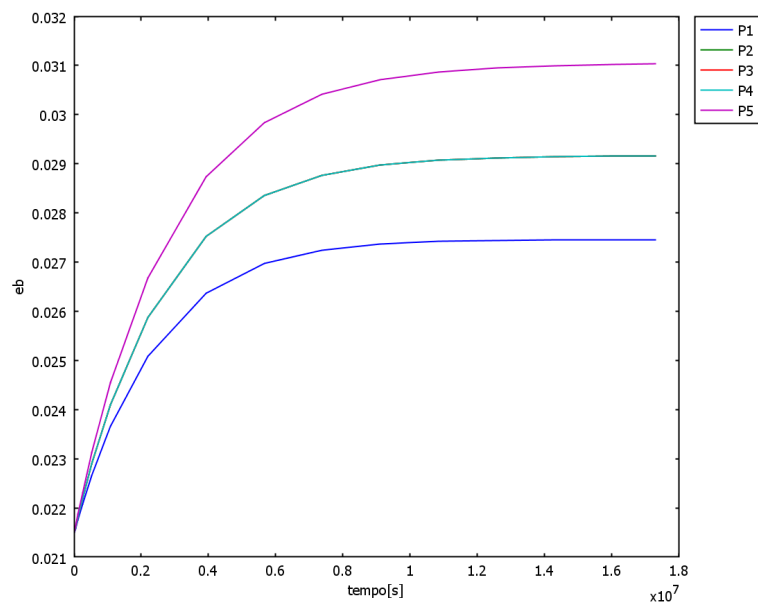


Figura 4.17: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa, periodo di 200 giorni, velocità inlet $72\mu\text{m/s}$

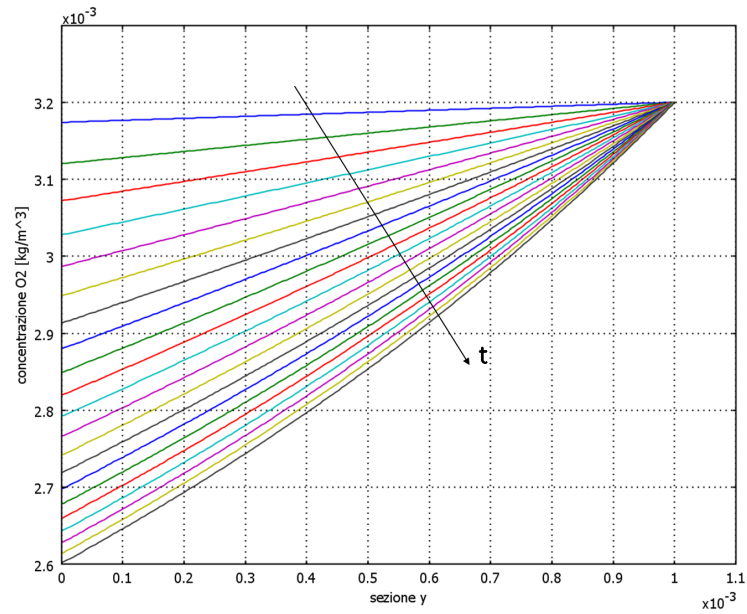


Figura 4.18: Andamento della concentrazione di O_2 lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $884\mu m/s$

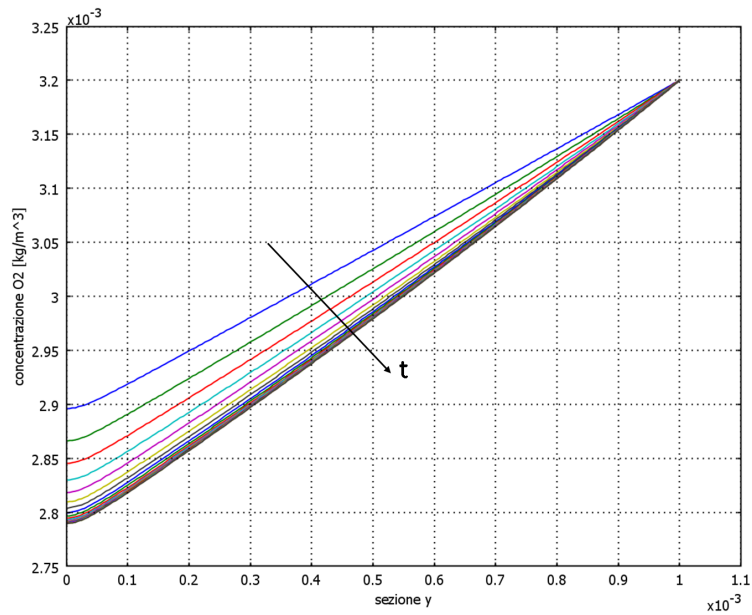


Figura 4.19: Andamento della concentrazione di O_2 lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $72\mu m/s$

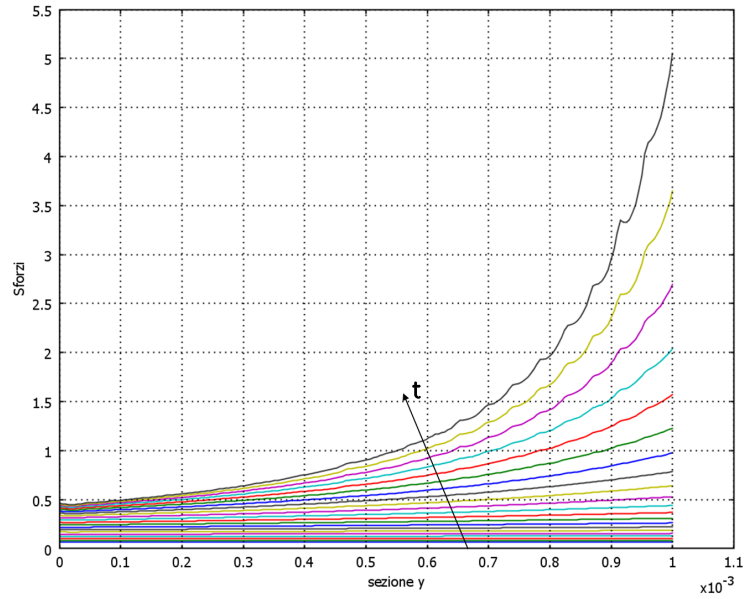


Figura 4.20: Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $884\mu\text{m/s}$

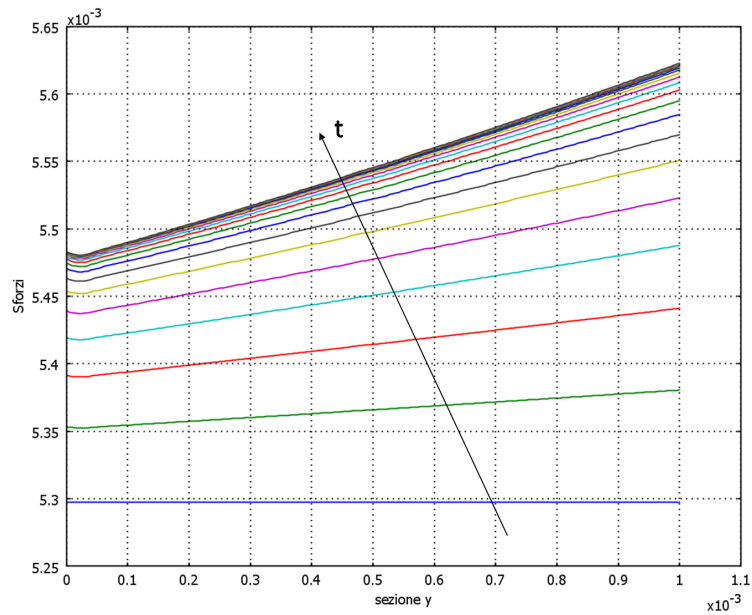


Figura 4.21: Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni; velocità inlet $72\mu\text{m/s}$

Osservazioni:

Analizziamo le due situazioni risolte, al variare della velocità di inlet. Nei grafici di figura 4.16 e 4.17 viene riportato l'andamento della crescita della frazione di biomassa al variare del tempo, per un periodo pari a 200 giorni, nei cinque diversi punti visualizzati in figura 4.15.

Caso 1, $v_i = 884\text{mm/s}$ Nel caso di velocità di inlet pari a $884\ \mu\text{m/s}$ possiamo osservare dal grafico 4.16 che la frazione di biomassa cresce e raggiunge valori compresi fra 0.4 e 0.7. In 200 giorni il valore di ε_b è aumentato circa 20 volte.

Possiamo osservare una netta distinzione della crescita nei punti P_1 , P_3 e P_5 , posti lungo la diagonale del costruito. Il punto P_1 , che si trova più lontano dal bordo di inflow, raggiunge un livello di saturazione fissato poco sopra lo 0.4, mentre il punto P_5 sembra seguire un andamento all'incirca rettilineo e solo verso la fine dei 200 giorni si comincia ad intravedere una certa variazione della pendenza, anche se non si raggiunge nessun livello di saturazione. Come ci aspettavamo, i punti P_2 e P_4 non si leggono dal grafico, in quanto sono posti alla stessa altezza del punto P_3 e quindi soggetti alle stesse condizioni di perfusione e di crescita, in quanto il profilo di velocità di ingresso è piatto.

Entrando nel merito della situazione, possiamo osservare che il punto P_1 , dove si ha la frazione di biomassa minore, è soggetto ad una bassa concentrazione di ossigeno e a sforzi di intensità minore rispetto agli altri punti. Queste osservazioni sono supportate dai risultati ottenuti tramite le simulazioni numeriche. In particolare il grafico in figura 4.18 visualizza la concentrazione di ossigeno lungo la sezione verticale del costruito, allo scorrere del tempo. Possiamo osservare che nella parte inferiore del dominio, la concentrazione di O_2 raggiunge livelli più bassi all'aumentare del tempo ($2.6 \cdot 10^{-6}\text{g/cm}^3$), per cui la biomassa ha a disposizione meno nutriente per le funzioni di riproduzione e crescita tissutale. Il grafico in figura 4.20 riporta invece l'andamento degli sforzi lungo la sezione al variare del tempo. Anche in questo caso si osserva che la zona prossima al bordo di outflow è soggetto a sforzi di intensità più bassa.

La situazione opposta si verifica invece per il punto P_5 , che nel corso del tempo è soggetto ad una concentrazione di ossigeno all'incirca costante, pari a $3.2 \cdot 10^{-6}\text{g/cm}^3$ e a sforzi di taglio di intensità crescente. Dopo 200 giorni gli sforzi raggiungono valori di 5Pa , pari a cento volte gli sforzi iniziali. Riferendosi a quanto riportato in [CRS10], valori di sforzi idrodinamici così elevati non sembrerebbero garantire idonee condizioni per la crescita e la riproduzione cellulare, in quanto è riconosciuto sperimentalmente che sforzi di taglio eccessivi inibiscono la sintesi degli sGAG e di collagene di tipo II, tipico della cartilagine articolare. Tuttavia il nostro modello non è grado di catturare e descrivere questo comportamento biologico, in quanto è stato costruito e validato per uno specifico range di sforzi compreso tra 4.6 e 56 mPa .

Caso 2, $v_i = 72\text{mm/s}$ Per quanto riguarda il caso di velocità di inlet pari a $72\ \mu\text{m/s}$, si registrano nuovamente gli stessi andamenti, anche se questi si manifestano con un'intensità minore, come viene registrato dai grafici 4.17 ,4.19 e 4.21. In

particolare di nuovo osserviamo la differenziazione di crescita di biomassa nei tre punti posti lungo la diagonale del costruito ma, rispetto al caso precedente, i valori raggiunti non superano lo 0.031, con una crescita pari al 44% rispetto alla frazione volumetrica iniziale. Inoltre anche il punto P_5 raggiunge un livello di saturazione all'aumentare del tempo.

Il grafico 4.19 mostra che la concentrazione di ossigeno decresce lungo la sezione del costruito, mentre dal grafico 4.21 leggiamo che anche gli sforzi sono soggetti ad un gradiente, ma si mantengono in un range ristretto, non superando il valore di 5.65 mPa , per cui rispetto al valore iniziale sono aumentati solamente del 6%.

Dalle immagini di figura 4.16 e 4.17 si può considerare che, in entrambi i casi, i valori finali raggiunti dalla frazione volumetrica di biomassa non sono consoni ai fini dello studio. Nel caso a velocità maggiore infatti abbiamo una crescita troppo elevata che arriva, sulla superficie superiore, a riempire quasi interamente i pori dello scaffold, producendo un forte aumento degli sforzi e riducendo al minimo la frazione volumetrica di fluido, che non può più penetrare e portare nutriente alla biomassa che si trova all'interno del costruito. Nello spessore di 1 mm si riscontrano quindi delle dinamiche di crescita fortemente differenziate: tra la superficie superiore e quella inferiore la frazione volumetrica di biomassa raddoppia e gli sforzi variano di un ordine di grandezza. Nel caso a velocità minima, d'altra parte, dopo 200 giorni di incubazione, la biomassa è presente in quantità minime rispetto al volume totale, scostandosi relativamente poco dalla frazione volumetrica di cellule impiantata al tempo iniziale. In questo caso non è possibile che si sviluppi un costruito cartilagineo con la struttura fisiologica che il tessuto presenta *in vivo*. L'obiettivo dell'analisi dei modelli matematici è riuscire a focalizzare quali siano i parametri in ingresso al sistema da tarare in modo tale che l'esperimento abbia esito positivo. Questo preliminare studio dei risultati potrebbe dunque essere finalizzato allo scopo di identificare un valore di velocità e quindi di portata volumetrica tale per cui si ottenga un'adeguata crescita di biomassa. Con il termine *adeguata* intendiamo un valore di biomassa che sia sufficientemente elevato da permettere al costruito di organizzarsi e di strutturarsi in modo fisiologico ma, al tempo stesso, che sia sufficientemente limitato in modo tale da non riempire tutto il costruito occludendo i pori e impendendo il passaggio di nutrienti.

Abbiamo quindi studiato il comportamento delle variabili a seconda della velocità in ingresso. Nelle figure 4.22-4.30 viene riportata la crescita di biomassa al variare del tempo. Ogni grafico si riferisce ad un diverso valore di velocità partendo da $75\mu\text{m/s}$ ad un massimo di $925\mu\text{m/s}$ con un passo di $50\mu\text{m/s}$. Nei grafici 4.31 e 4.32 vengono riportati rispettivamente gli sforzi e la concentrazione lungo una sezione verticale del costruito al tempo finale pari a 200 giorni, al variare della velocità in ingresso. Si può notare che la differenziazione tra i punti del costruito situati a diverse altezze aumenta all'aumentare del gradiente di concentrazione e del valore degli sforzi di taglio. Un'adeguata crescita di biomassa potrebbe essere rappresentata dai grafici riferiti a velocità di ingresso da $575\mu\text{m/s}$ a $675\mu\text{m/s}$, dove si raggiunge un buon grado di saturazione della frazione volumetrica con valore circa pari a 0.3. A questi livelli di perfusione gli sforzi finali sono contenuti in un intorno dell'intervallo di validazione identificato dal grafico 4.8.

Le simulazioni effettuate confermano l'esistenza di un legame diretto fra la crescita di biomassa, la concentrazione di ossigeno e l'intensità degli sforzi; al variare di una di queste quantità, anche le altre risultano soggette a variazioni proporzionali. Il risultato è coerente con la definizione del problema (4.66), nel quale le variabili sono fortemente accoppiate fra di loro. Sulla base di queste osservazioni abbiamo deciso di svolgere ulteriori simulazioni per indagare, in particolare, quali siano gli effetti specifici di ciascun contributo sulla variazione della crescita di biomassa.

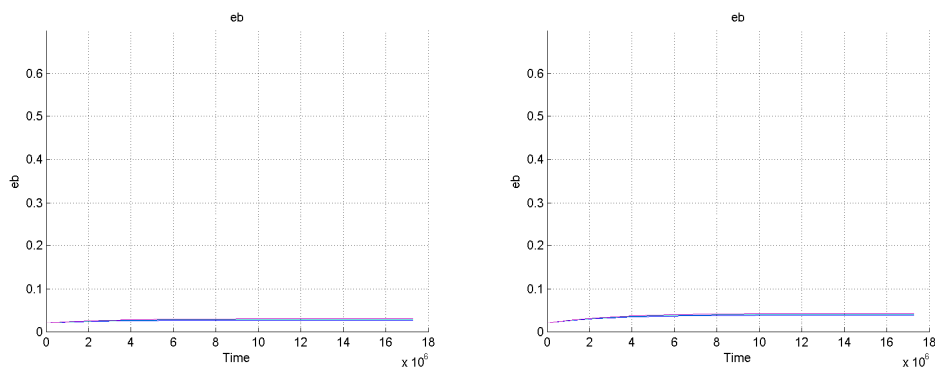


Figura 4.22: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità a $75\mu\text{m/s}$ e a $125\mu\text{m/s}$.

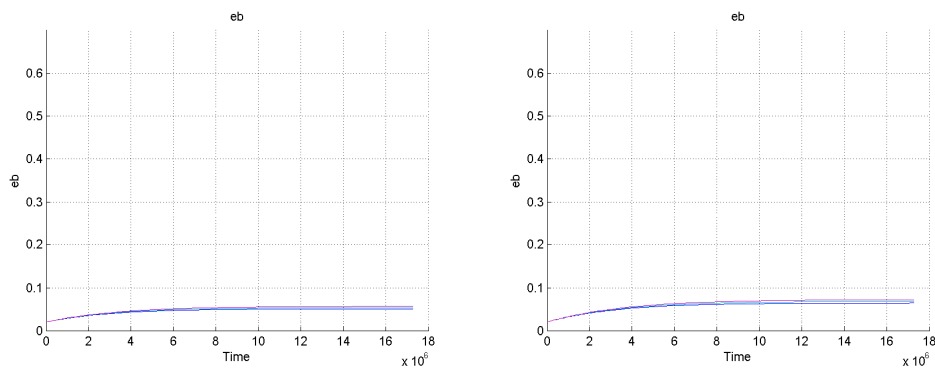


Figura 4.23: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $175\mu\text{m/s}$ a $225\mu\text{m/s}$.

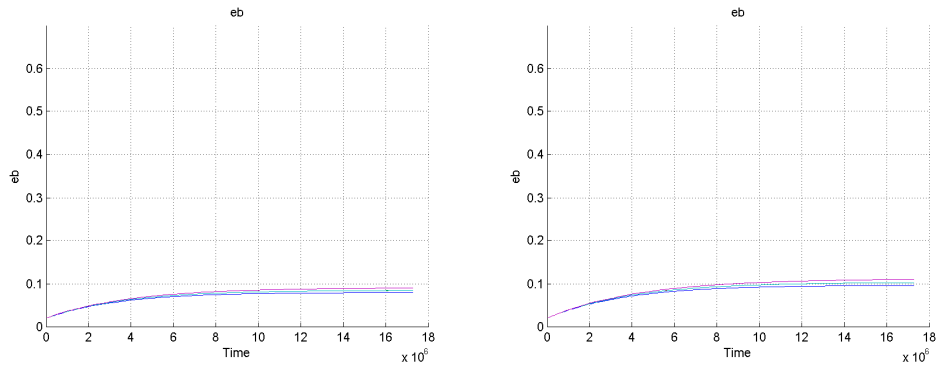


Figura 4.24: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $275\mu\text{m/s}$ a $325\mu\text{m/s}$.

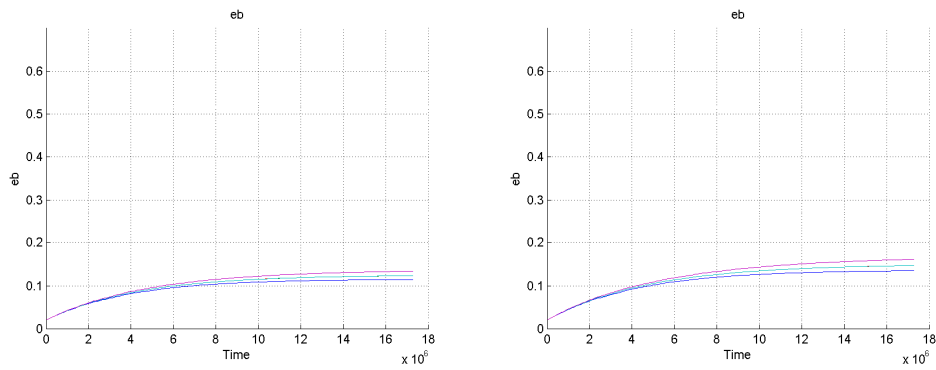


Figura 4.25: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $375\mu\text{m/s}$ a $425\mu\text{m/s}$.

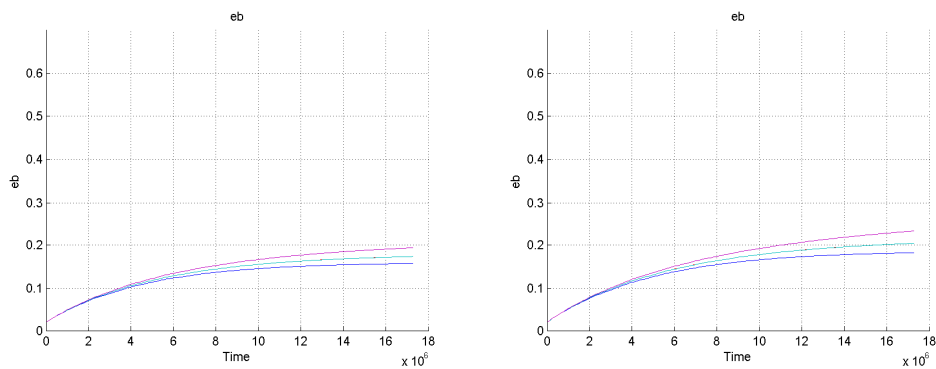


Figura 4.26: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $475\mu\text{m/s}$ a $525\mu\text{m/s}$.

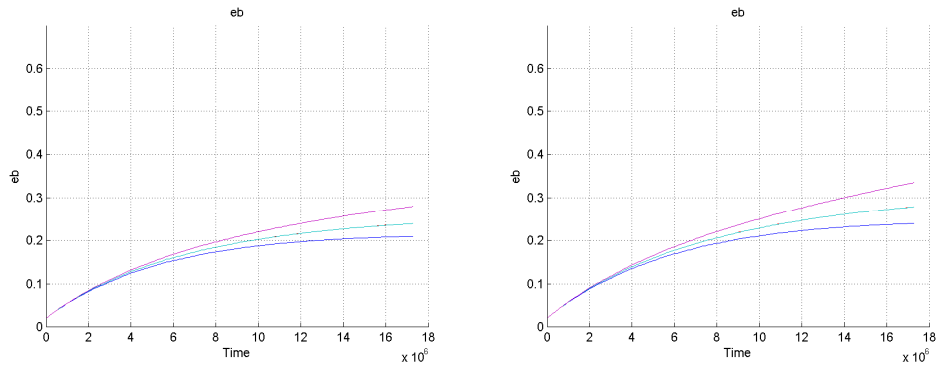


Figura 4.27: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $575\mu\text{m/s}$ a $625\mu\text{m/s}$.

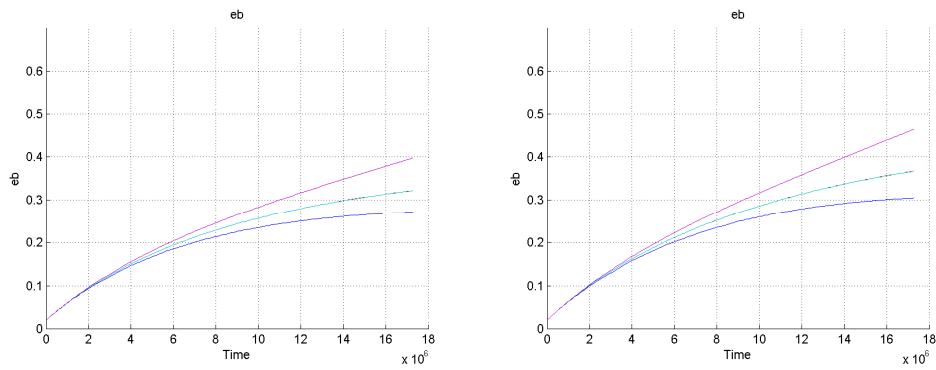


Figura 4.28: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $675\mu\text{m/s}$ a $725\mu\text{m/s}$.

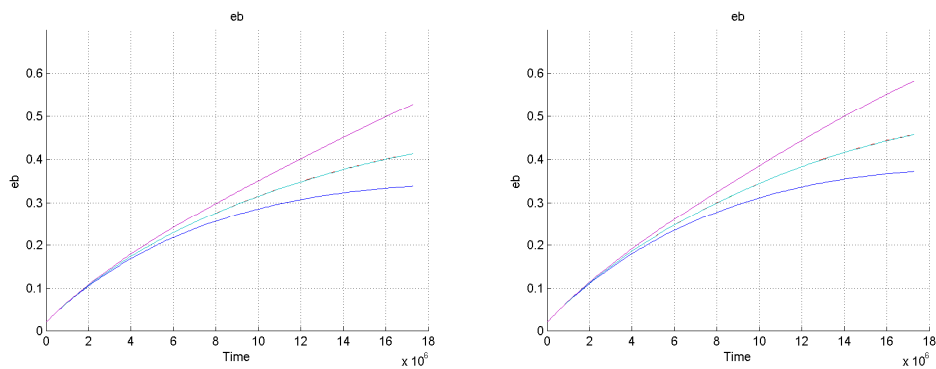


Figura 4.29: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da $775\mu\text{m/s}$ a $825\mu\text{m/s}$.

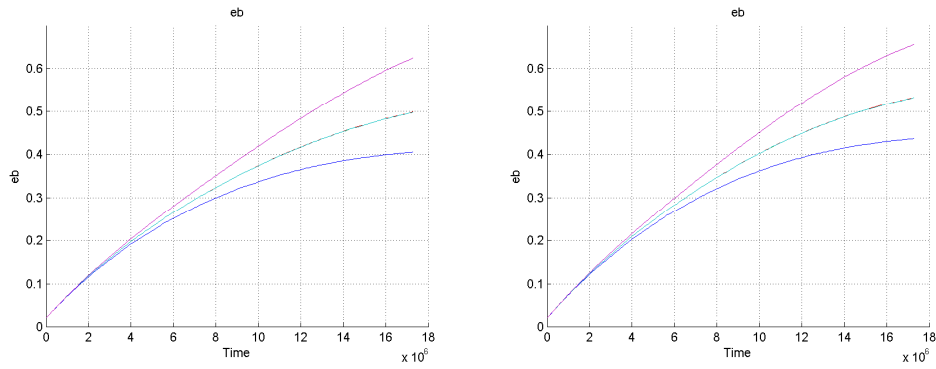


Figura 4.30: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a diverse velocità da 875 μm/s a 925 μm/s.

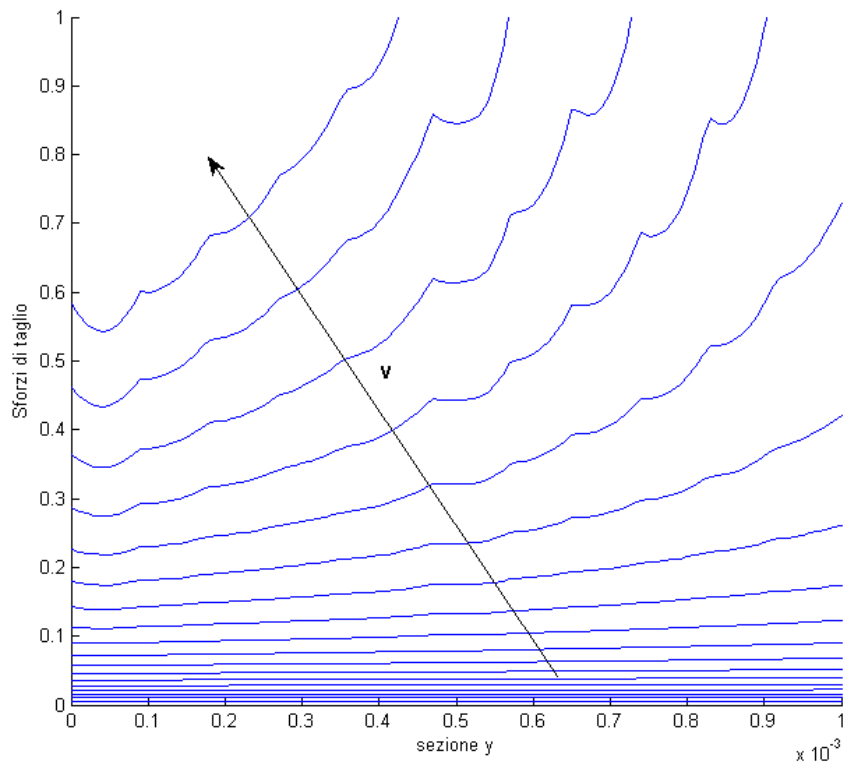


Figura 4.31: Andamento degli sforzi lungo la sezione verticale del costruito al tempo finale al crescere della velocità; velocità a partire da 75 μm/s a 925 μm/s.

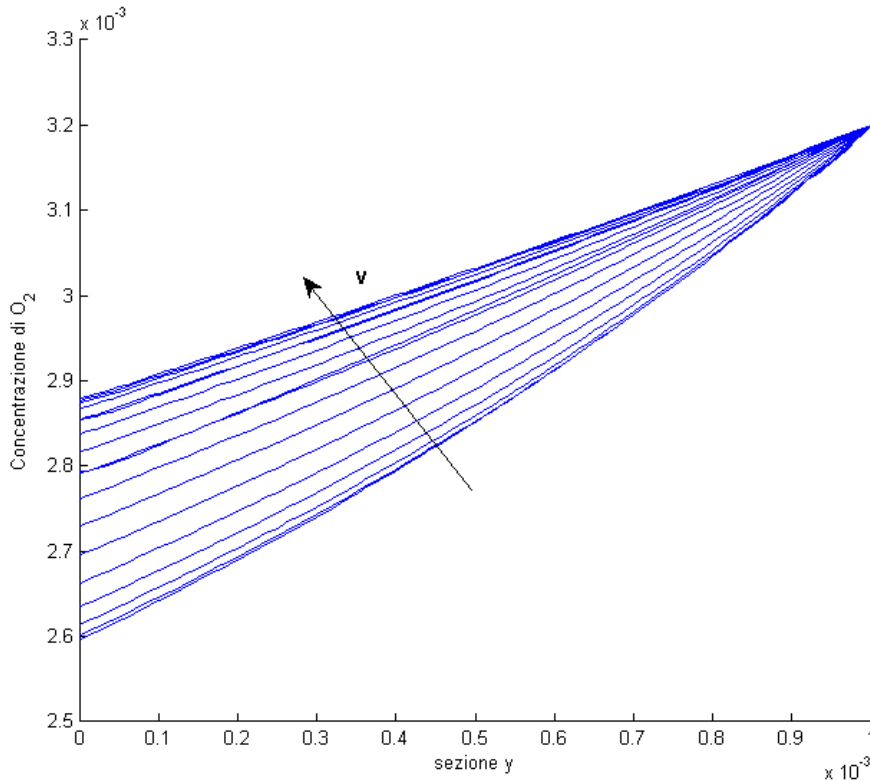


Figura 4.32: Andamento della concentrazione di O₂ lungo la sezione verticale del costruito al tempo finale al crescere della velocità; velocità a partire da 75 $\mu\text{m/s}$ a 925 $\mu\text{m/s}$.

4.4.4 Analisi degli stimoli per la crescita della biomassa

In questo paragrafo vogliamo analizzare nel dettaglio la dinamica di crescita, andando a studiare separatamente come agiscono gli sforzi e la concentrazione sulla biomassa. Costruiamo quindi due blocchi di simulazioni: nel primo fissiamo il valore degli sforzi di taglio pari al valore mediano calcolato sullo scaffold al tempo iniziale; nel secondo fissiamo invece la concentrazione ad un valore omogeneo in tutto il costruito pari al livello imposto all'ingresso. Nel primo caso studieremo quindi l'effetto della variazione di concentrazione sulla crescita di biomassa, nel secondo studieremo invece le conseguenze dello stimolo meccanico. Precisiamo che queste simulazioni non corrispondono a casi sperimentali reali, esse sono disegnate unicamente per approfondire l'analisi della dinamica di crescita riprodotta dal modello.

La concentrazione di nutrienti: crescita di biomassa a sforzi costanti

Analizziamo il caso a sforzi costanti. Anche in questo paragrafo scegliamo di visualizzare i risultati a due livelli di velocità di ingresso sperimentali: il livello minimo, con $v = 72 \mu\text{m/s}$, e il livello massimo, con $v = 884 \mu\text{m/s}$. Viene risolto il seguente

problema accoppiato:

$$\left\{ \begin{array}{l} \nabla \cdot \mathbf{v} = 0, \\ \frac{d\mathbf{v}}{dt} = \nabla p - \mu\varepsilon_f K^{-1} \mathbf{v} + \mu \Delta \mathbf{v} \\ \frac{\partial c_{fb}}{\partial t} + \nabla \cdot (-\mathbf{D}_{eff} \nabla c_{fb} + \mathbf{v} c_{fb}) + \varepsilon_b R(c) = 0 \\ \frac{d\varepsilon_b}{dt} = \frac{k_g(\tau; \mathbf{p}) c \varepsilon_b}{k_s(\tau; \mathbf{q}) \rho_b \varepsilon_b + c} - k_d \varepsilon_b \\ \tau(\varepsilon_b, |\mathbf{v}|) = \bar{\tau} \end{array} \right. \quad (4.71)$$

dove $\bar{\tau}$ è un valore costante pari a 4.6 *mPa* nel caso a velocità minima e 56 *mPa* nel caso a velocità massima.

Riportiamo nelle figure 4.34 e 4.33 la crescita della frazione volumetrica di biomassa sul tempo, visualizzata nei cinque punti di figura 4.15. Nei grafici 4.36 e 4.35 viene invece disegnata la concentrazione di ossigeno lungo una sezione verticale del dominio a diversi istanti temporali.

Dai risultati possiamo fare due principali considerazioni.

Crescita e saturazione. Risulta evidente che, per velocità 884 $\mu\text{m}/\text{s}$, che l'imposizione di sforzi costanti nel tempo provoca una minor crescita di biomassa, che arriva a saturazione in tempi più brevi rispetto ai casi riportati in figura 4.16. In particolare notiamo la frazione volumetrica di biomassa in figura 4.33 si stabilizza ad valori tra 0.13 e 0.15, mentre in figura 4.16 i valori finali sono contenuti nell'intervallo [0.4, 0.7]. Ricordiamo inoltre che dai dati riportati in tabella 4.2 viene misurata $\varepsilon_b = 0.0709$ dopo un intervallo di quindici giorni. Mantenendo gli sforzi costanti, dopo 200 giorni, la biomassa raggiunge un valore solamente pari al doppio di quello registrato nel breve periodo. Si può concludere che, senza aumento degli sforzi di taglio, la biomassa non cresce adeguatamente e raggiunge, in tempi relativamente brevi, un livello di saturazione basso. Lo stimolo della concentrazione del nutriente non è quindi sufficiente allo sviluppo della cartilagine.

Differenziazione trasversale. Vi è inoltre da considerare che la minor crescita di biomassa, dovuta ad un mancato aumento degli sforzi di taglio, provoca anche una minor variazione nel gradiente trasversale di concentrazione, come dimostra un confronto tra i grafici di figura 4.35 e quelli di figura 4.18. Tuttavia, nonostante la variazione trasversale di ossigeno sia limitata, possiamo registrare delle differenze nella crescita di biomassa a seconda della coordinata verticale a cui la misuriamo. La differenziazione verticale della biomassa è quindi molto sensibile alla diminuzione della concentrazione del nutriente.

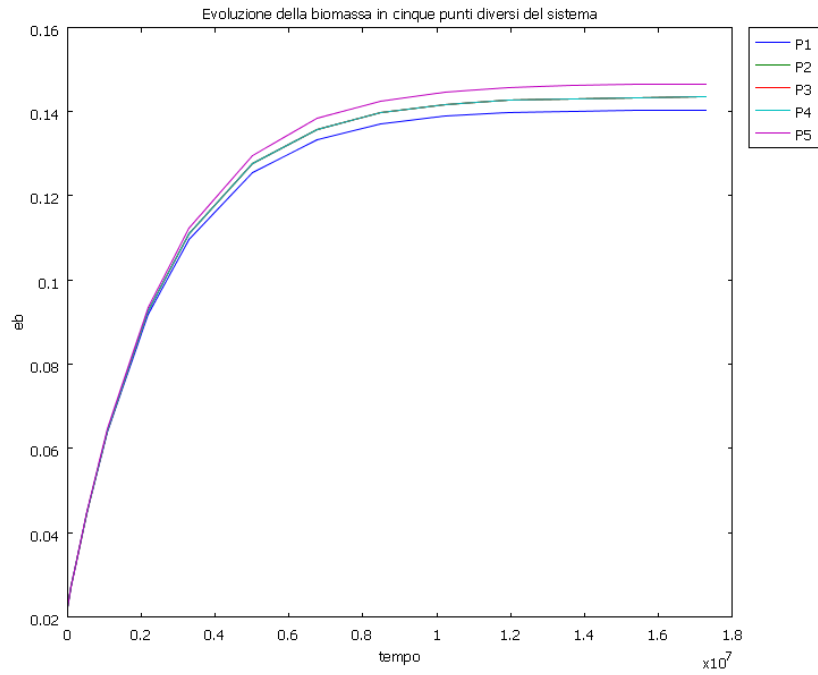


Figura 4.33: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a sforzi costanti; periodo di 200 giorni. Velocità inlet pari a $884\mu\text{m/s}$.

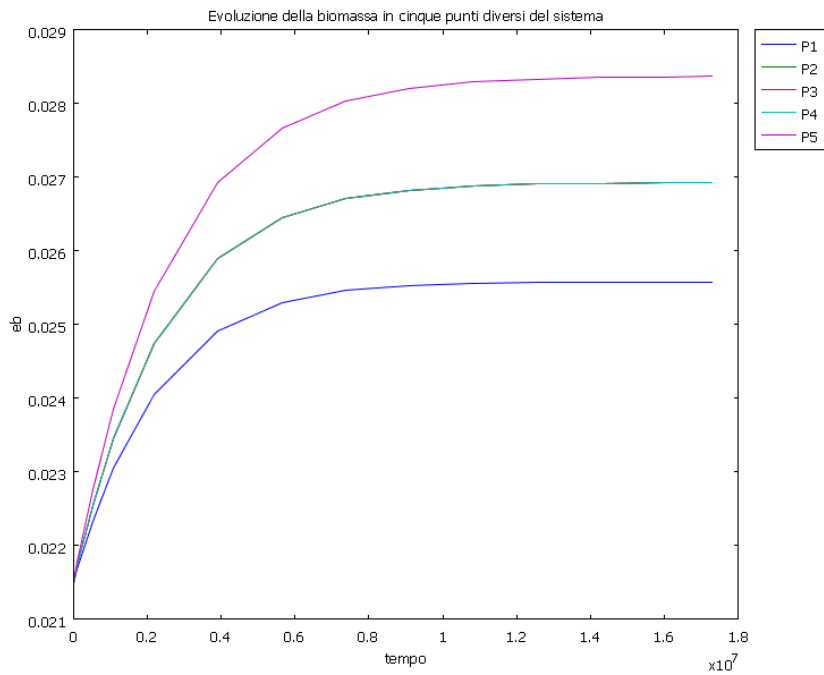


Figura 4.34: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a sforzi costanti; periodo di 200 giorni. Velocità inlet pari a $72\mu\text{m/s}$.

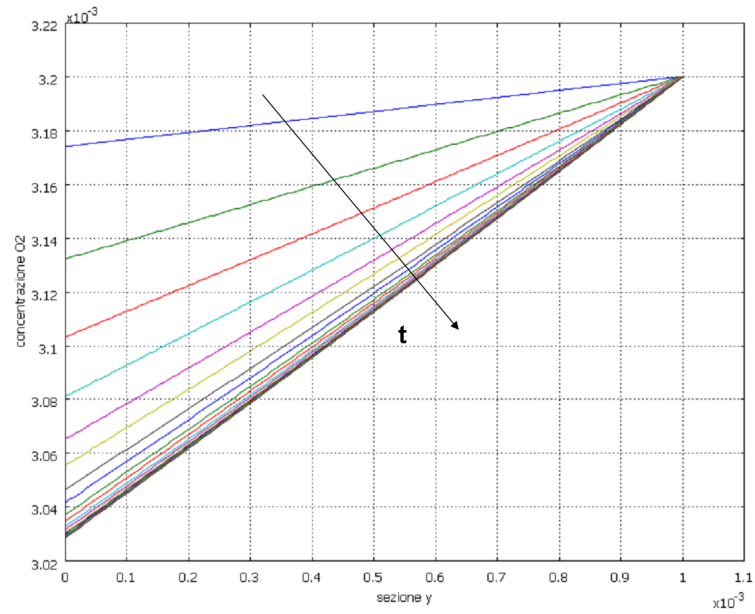


Figura 4.35: Andamento della concentrazione di O_2 a sforzi costanti lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Velocità inlet $884 \mu\text{m/s}$.

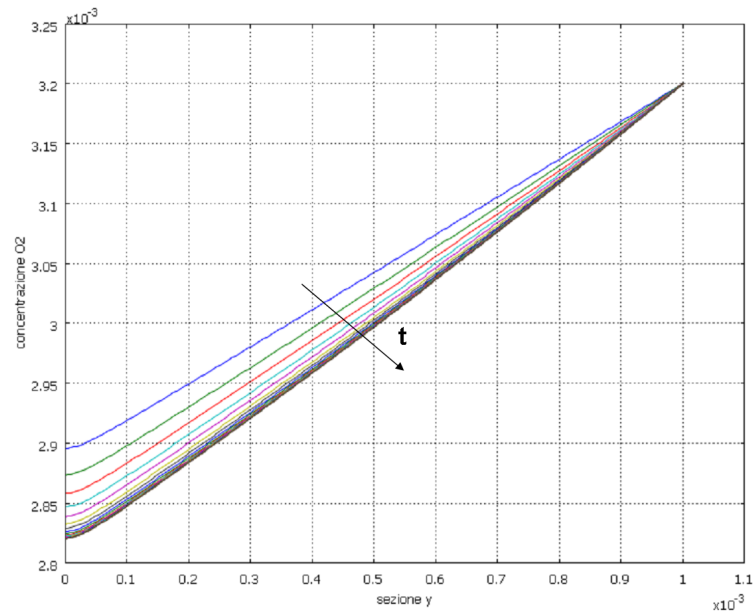


Figura 4.36: Andamento della concentrazione di O_2 a sforzi costanti lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Velocità inlet $72 \mu\text{m/s}$.

Lo sforzo di taglio: crescita di biomassa a concentrazione costante

La seconda analisi prevede di porre $c = c_0$, costante e uniforme, con $c_0 = 3.2g/cm^3$. Anche in questo caso studiamo l'evoluzione della biomassa per le velocità d'ingresso $72\mu m/s$ e $884\mu m/s$. Il problema che risolviamo in questo caso è costituito dal seguente sistema di equazioni:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \mathbf{v} &= 0, \\ \frac{d\mathbf{v}}{dt} &= \nabla p - \mu\varepsilon_f K^{-1} \mathbf{v} + \mu\Delta \mathbf{v} \\ c &= c_0 \\ \frac{d\varepsilon_b}{dt} &= \frac{k_g(\tau; \mathbf{p})c\varepsilon_b}{k_s(\tau; \mathbf{q})\rho_b\varepsilon_b + c} - k_d\varepsilon_b \\ \tau(\varepsilon_b, |\mathbf{v}|) &= \frac{\mu|\mathbf{v}|(\varepsilon_b + \varepsilon_s)}{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b)\sqrt{(1 - \varepsilon_s - \varepsilon_b)K_p}} \end{aligned} \tag{4.72}$$

Riportiamo nelle figure 4.38, 4.37 e 4.40, 4.39, rispettivamente, la frazione volumetrica di biomassa misurata al variare del tempo nei punti riportati in 4.15 e la distribuzione degli sforzi di taglio lungo una sezione verticale del dominio, disegnati per un arco temporale temporale di 200 giorni con passo pari a 10 giorni.

Possiamo trarre le considerazioni seguenti.

Uniformità. Le crescite di biomassa disegnate in figura 4.38 e 4.37 nei cinque diversi punti della sezione si equivalgono, nel grafico infatti sono sovrapposte su un'unica linea. Anche per quanto riguarda gli sforzi di taglio, si può notare che aumentano in valore nel tempo ma sono uniformemente distribuiti lungo tutta la sezione verticale. L'omogeneità della frazione volumetrica di biomassa e degli sforzi è un effetto dell'uniformità della distribuzione di concentrazione di ossigeno. Poniamoci infatti agli istanti iniziali, c è fissato al valore c_0 in ogni punto, da ciò consegue che la frazione volumetrica di biomassa cresce in modo omogeneo su tutto il costruito, producendo quindi una distribuzione di sforzi analogamente uniforme. Non vi è quindi alcun fattore che possa generare la differenziazione che si riscontra nelle figure 4.17, 4.16, 4.21 e 4.20.

Crescita di biomassa. In figura 4.37, i valori massimi raggiunti dalla frazione volumetrica di biomassa dopo 200 giorni corrispondono a quelli massimi riportati nei grafici 4.16. Ricordiamo che, nel caso a sforzi costanti, la crescita di biomassa, in particolare per $v = 884\mu m/s$ risulta molto inferiore rispetto al caso standard, come si evince dal confronto tra i grafici 4.35 e 4.16. Si può quindi concludere che l'aumento degli sforzi di taglio è necessario per uno sviluppo adeguato della frazione volumetrica di biomassa.

Dall'analisi degli stimoli risulta evidente che la differenziazione trasversale, visibile nelle figure 4.17 e 4.16, sia un effetto proprio dell'accoppiamento tra i fenomeni e

le grandezze che compongono il sistema. Tale differenziazione è infatti minima a sforzi costanti e completamente assente a concentrazione costante.

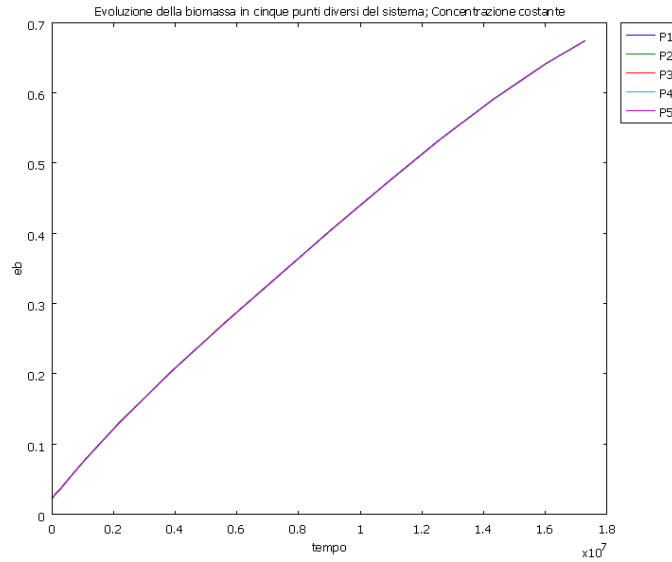


Figura 4.37: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a concentrazione costante; periodo di 200 giorni. Velocità inlet 884 $\mu\text{m/s}$.

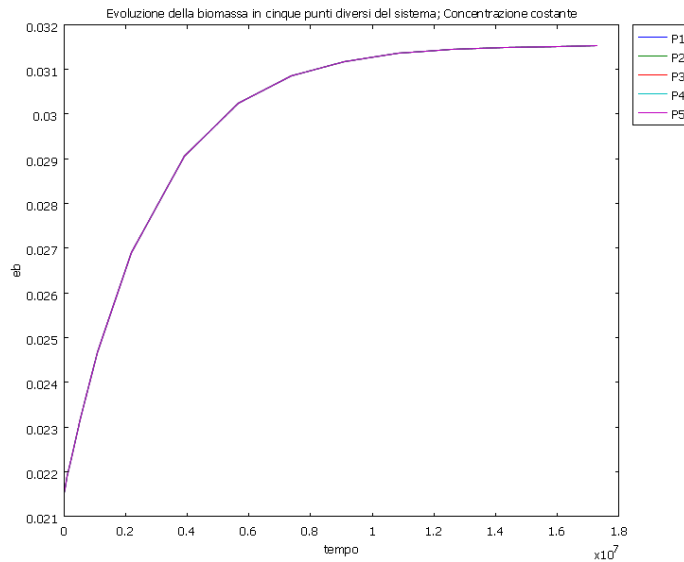


Figura 4.38: Tasso di crescita della frazione volumetrica di biomassa a concentrazione costante; periodo di 200 giorni. Velocità inlet 72 $\mu\text{m/s}$.

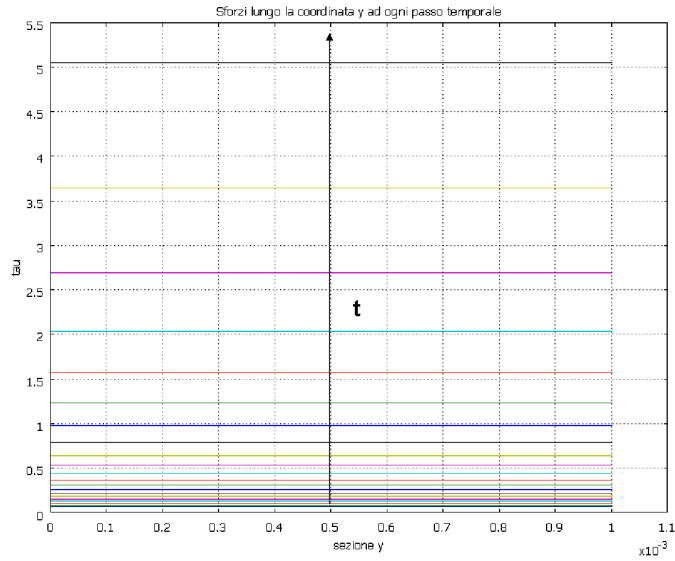


Figura 4.39: Andamento degli sforzi a concentrazione costante lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni. Velocità inlet $884 \mu\text{m/s}$.

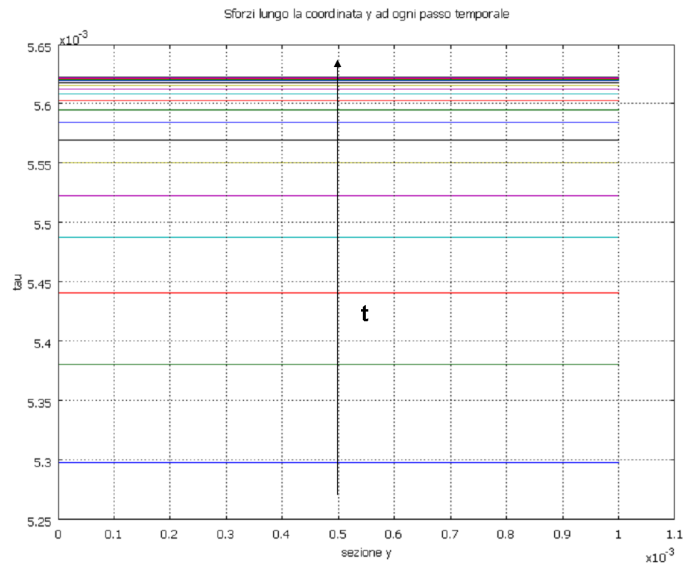


Figura 4.40: Andamento degli sforzi a concentrazione costante lungo la sezione verticale del costruito al crescere del tempo t ; Finestra temporale di 200 giorni con passo di 10 giorni. Velocità inlet $72 \mu\text{m/s}$.

Capitolo 5

Modelli computazionali per l'analisi di un costrutto cellulare su scala microscopica

Nel capitolo precedente abbiamo formulato un modello PDE per la descrizione della crescita tissutale, che abbiamo risolto a livello di scala macroscopica tramite l'applicazione del metodo Volume Averaging; lo stesso modello viene ora considerato a scala microscopica. In questo caso si deve risolvere un problema alle derivate parziali in cui i coefficienti risultano discontinui a livello di interfacce interne al dominio di calcolo. Nello specifico del nostro lavoro si prenda come esempio il problema della diffusione della concentrazione di ossigeno all'interno dello scaffold: a scala microscopica si osserva un salto del coefficiente di diffusione dell'ossigeno a livello della separazione fra biomassa e scaffold stesso.

Nella risoluzione numerica di questi problemi tramite un metodo agli elementi finiti standard, si tiene conto della discontinuità dei dati imponendo che la mesh di calcolo ricostruisca l'interfaccia; in questo caso si dice che l'interfaccia viene *risolta* dalla griglia numerica.

Osserviamo che nel nostro lavoro si devono risolvere problemi complessi, tempo dipendenti e non lineari, dove anche l'interfaccia si muove nel tempo: pensiamo nuovamente alla crescita della biomassa all'interno del sistema. In questi casi sembra essere vantaggioso lavorare con una mesh fissata nel tempo, che non descrive la posizione e il successivo spostamento dell'interfaccia interna. Questa scelta evita di dover costruire una nuova mesh risoltrice dell'interfaccia ad ogni passo temporale, operazione che risulterebbe molto costosa, e inoltre permette di lavorare con mesh strutturate.

Ci concentriamo, pertanto, sull'analisi e lo sviluppo di metodi elementi finiti *unfitted*, dove l'interfaccia attraversa e taglia internamente gli elementi della griglia di calcolo.

In questo ambito non si può lavorare con elementi finiti standard, che non sarebbero in grado di catturare la discontinuità presente all'interno degli elementi e ci si appoggia pertanto a metodi più raffinati come l'Extended Finite Element Method (XFEM). Per la loro implementazione vengono considerate, oltre alle funzioni di

base polinomiali standard, ulteriori funzioni di base discontinue, definite esclusivamente sugli elementi della mesh attraversati dall'interfaccia interna. Introduciamo ora il problema modello che vogliamo risolvere.

5.1 Formulazione del problema modello

Sia Ω un dominio limitato di \mathbb{R}^2 ; chiamiamo $\partial\Omega$ la frontiera del dominio e Γ un bordo interno a Ω , sufficientemente regolare, che divide il dominio in due parti aperte e disgiunte, Ω_1 e Ω_2 , come è mostrato in figura 5.1.

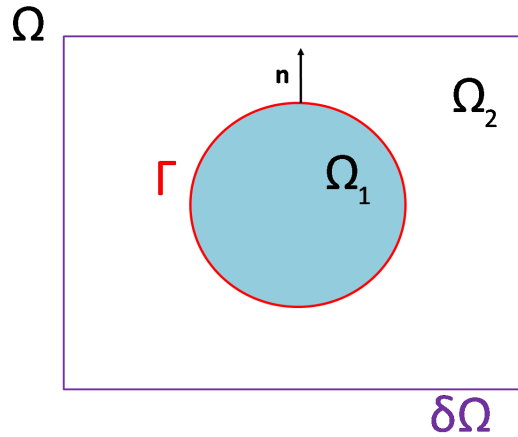


Figura 5.1: Dominio Ω con interfaccia interna Γ

Data una generica funzione u sufficientemente regolare definita su tutto Ω , definiamo il salto della funzione u a cavallo dell'interfaccia Γ :

$$[u] := u_1|_{\Gamma} - u_2|_{\Gamma} \quad (5.1)$$

dove $u_i = u|_{\Omega_i}$ con $i = 1, 2$.

Consideriamo un problema di diffusione stazionario, dove i coefficienti presentano discontinuità a cavallo del bordo Γ :

$$\begin{cases} -\nabla \cdot (\alpha \nabla u) + \sigma u = f & \text{in } \Omega_1 \cup \Omega_2 \\ u = 0 & \text{su } \partial\Omega \\ [u] = 0 & \text{su } \Gamma \\ [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u] = 0 & \text{su } \Gamma \end{cases} \quad (5.2)$$

Il coefficiente di diffusività α è definito come segue:

$$\alpha = \begin{cases} \alpha_1 & \text{su } \Omega_1 \\ \alpha_2 & \text{su } \Omega_2 \end{cases} \quad (5.3)$$

Per semplificare la trattazione scegliamo $\alpha_1, \alpha_2, \sigma \in \mathbb{R}^+$, costanti.

Osserviamo che \mathbf{n} è la normale uscente dal dominio Ω_1 e $\nabla_{\mathbf{n}}u = \nabla u \cdot \mathbf{n}$. Le ultime due equazioni del problema (5.2) rappresentano la continuità della soluzione e del flusso normale associato a quest'ultima in corrispondenza dell'interfaccia Γ . Sottolineiamo che quando abbiamo $\alpha_1 \neq \alpha_2$ la continuità dei flussi comporta un salto nella derivata normale della soluzione a cavallo dell'interfaccia. I metodi di risoluzione approssimata del problema (5.2) devono quindi saper riprodurre questo salto in modo adeguato.

Definiamo gli spazi funzionali che verranno utilizzati per l'analisi del problema (5.2). Per un generico dominio Ω semplicemente connesso, indichiamo gli spazi di Sobolev con la notazione standard $H^m(\Omega)$ con norma associata $\|\cdot\|_{m,\Omega}$. Definiamo $H_0^m(\Omega)$ nel seguente modo:

$$H_0^m(\Omega) = \{u \in H^m(\Omega) : u|_{\partial\Omega} = 0\}, \quad (5.4)$$

Indichiamo con la notazione $(\cdot, \cdot)_{0,\Omega}$ il prodotto scalare in $L^2(\Omega) = H^0(\Omega)$. Dato un dominio aperto e limitato $\Omega = \cup_{i=1}^2 \Omega_i$ dove Ω_1 e Ω_2 sono due componenti disgiunte di Ω , definiamo $H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2)$ come segue:

$$H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2) = \{u : u|_{\Omega_i} \in H^m(\Omega_i) \forall i = 1, 2\} \quad (5.5)$$

Definiamo inoltre la norma associata a tale spazio:

$$\|u\|_{m,\Omega_1 \cup \Omega_2} = \left(\sum_{i=1}^2 \|u_i\|_{m,\Omega_i}^2 \right)^{1/2} \quad \forall u \in H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2) \quad (5.6)$$

Ricaviamo la seguente formulazione debole del problema (5.2):

trovare $u \in V \equiv H_0^1(\Omega)$ tale che

$$a(u, v) = f(v) \quad \forall v \in V. \quad (5.7)$$

con

$$a(u, v) = \int_{\Omega} \alpha \nabla u \nabla v + \int_{\Omega} \sigma uv \quad (5.8)$$

$$f(v) = \int_{\Omega} f v \quad (5.9)$$

Assumiamo che la forzante f appartenga a $L^2(\Omega)$ e che i coefficienti del problema siano positivi, ovvero $\alpha > 0$ e $\sigma > 0$.

Utilizzando il lemma di Lax-Milgram e le classiche stime di regolarità delle soluzioni su domini connessi e regolari si può dimostrare che il problema (5.7) è ben posto e, se l'interfaccia è sufficientemente regolare, vale la seguente stima di stabilità:

$$\|u\|_{1,\Omega} + \|u\|_{2,\Omega_1 \cup \Omega_2} \leq C \|f\|_{0,\Omega} \quad (5.10)$$

5.2 Tecniche di tipo Fictitious Domain per la soluzione di PDE in domini di forma complessa

5.2.1 Generalizzazione del metodo elementi finiti per l'approssimazione di problemi con interfacce non fittate dalla griglia di calcolo (XFEM)

Per risolvere il problema (5.7) è necessario fornire un'opportuno metodo di approssimazione numerica. Abbiamo già osservato che il metodo in questione deve essere in grado di catturare il salto della derivata normale della soluzione a cavallo dell'interfaccia Γ .

In un metodo ad elementi finiti standard ciò è possibile quando la discretizzazione del dominio Ω risolve l'andamento del bordo Γ ma, questa operazione, nei problemi in cui la posizione dell'interfaccia varia nel tempo, risulta essere troppo costosa.

In letteratura sono presenti alcuni metodi che permettono di approssimare soluzioni discontinue in corrispondenza di Γ , senza dover utilizzare una mesh che risolva l'interfaccia. Nella nostra trattazione seguiremo quanto è stato proposto da Hansbo e Hansbo in [HH02] e da Reusken in [Reu08]. In particolare cercheremo di unire quanto analizzato nei due articoli, per ottenere una trattazione del metodo XFEM per problemi con interfacce interne che possa essere considerata completa ed esauritiva per i nostri scopi.

Costruiamo una mesh conforme \mathcal{T}_h sul dominio Ω , come quella riportata in figura 5.2, per il caso bidimensionale.

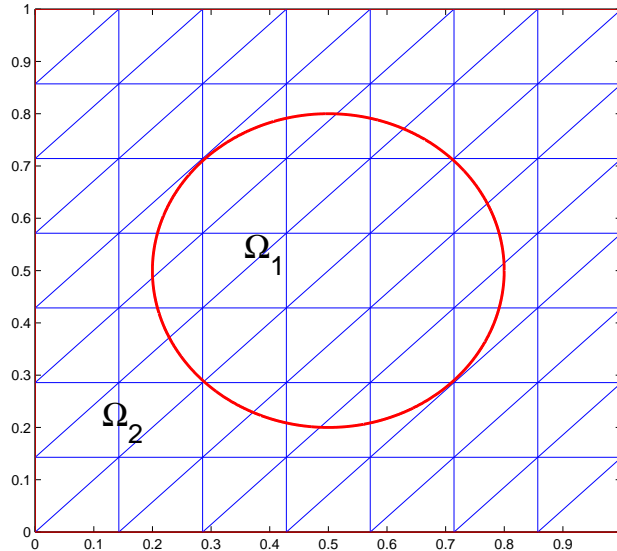


Figura 5.2: Esempio di triangolazione uniforme sul dominio Ω , l'interno del cerchio è il dominio Ω_1 , l'esterno il dominio Ω_2 .

Indichiamo con la lettera K un generico elemento di \mathcal{T}_h con diametro h_K e sia $h = \max_{K \in \mathcal{T}_h} h_K$. Affinchè la discretizzazione non sia degenerare deve valere:

$$h_K/\rho_K \leq C \quad \forall K \in \mathcal{T}_h$$

essendo ρ_K il diametro della palla più grande inscritta in K . Definiamo inoltre $K_i = K \cap \Omega_i$ l'intersezione di un generico elemento K con il dominio Ω_i . Introduciamo la funzione $\kappa = (\kappa_1, \kappa_2)$ che, sul singolo elemento K , viene definita dalla seguente:

$$\kappa_i|_K = \frac{|K_i|}{|K|} \quad (5.11)$$

dove $|K|$ indica la misura dell'elemento K . Chiamiamo quindi G_h l'insieme degli elementi che vengono intersecati dall'interfaccia Γ . G_h è definito come segue:

$$G_h = \{K \in \mathcal{T}_h : K \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.12)$$

Per gli elementi appartenenti a G_h possiamo quindi definire Γ_K come la parte di Γ contenuta in K , cioè $\Gamma_K = \Gamma \cap K$. In merito alla modalità con cui l'interfaccia attraversa la griglia di calcolo, è necessario introdurre alcune assunzioni.

Ipotesi 5.2.1. *La mesh \mathcal{T}_h è costruita in modo tale che:*

1. *Per ogni triangolo K , assumiamo che l'interfaccia Γ intersechi il bordo ∂K al massimo due volte e ogni lato aperto al massimo una volta.*
2. *Dato un triangolo $K \in G_h$, sia $\Gamma_{K,h}$ il segmento che collega i punti di intersezione tra Γ e ∂K , come mostrato in figura.*

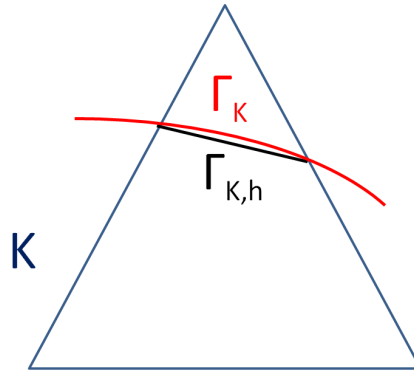


Figura 5.3: *Triangolo $K \in G_h$, dove $\Gamma_{K,h}$ è il segmento che collega i punti di intersezione tra Γ e ∂K*

Si può esprimere Γ_K come un funzione di lunghezza su $\Gamma_{K,h}$ in coordinate locali:

$$\Gamma_{K,h} = \{(\xi, \eta) : 0 \leq \xi \leq |\Gamma_{K,h}|, \eta = 0\}$$

$$\Gamma_K = \{(\xi, \eta) : 0 \leq \xi \leq |\Gamma_{K,h}|, \eta = \delta(\xi)\}.$$

Queste due ipotesi sono sempre verificate se la mesh è abbastanza fitta, se $\partial\Omega$ ha un numero limitato di angoli e se la curvatura Γ è limitata. Tali richieste non sono eccessivamente restrittive e indicano sostanzialmente che l'insieme dei segmenti $\Gamma_{K,h}$ approssima bene l'interfaccia Γ .

Introduciamo lo spazio degli elementi finiti standard:

$$V_h = \{v \in C(\Omega) : v|_K \in \mathcal{P}_1 \ \forall K \in \mathcal{T}_h\} \quad (5.13)$$

alcune funzioni di base di V_h sono rappresentate in figura 5.4 per il caso monodimensionale,

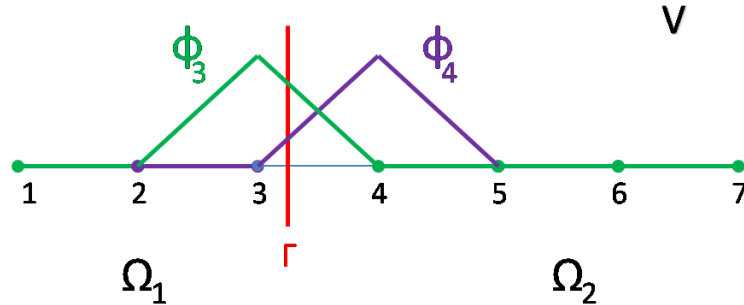


Figura 5.4: 1D. Spazio V delle funzioni di base degli elementi finiti standard. In particolare vengono visualizzate le funzioni in corrispondenza dei nodi di griglia 3 e 4.

Nel seguito della trattazione per semplicità di notazione porremo:

$$\boxed{V = V_h} \quad (5.14)$$

Omettiamo il pedice h anche per le funzioni dello spazio discreto e per gli operatori definiti su questo spazio; ad esempio, la generica funzione discreta v_h e l'operatore d'interpolazione I_h verranno riscritti come segue:

$$\boxed{v = v_h} \quad (5.15)$$

$$\boxed{I = I_h} \quad (5.16)$$

Come abbiamo già avuto modo di evidenziare, per approssimare funzioni appartenenti a $H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2)$ i cui gradienti sono discontinui su Γ , lo spazio degli elementi finiti standard V , definito su una griglia che risolve l'interfaccia, non è appropriato. Infatti, il loro utilizzo comporta un ordine di convergenza in norma H^1 con andamento di \sqrt{h} , che risulta essere non ottimale [GR07]. L'idea alla base del metodo XFEM è di estendere lo spazio V di approssimazione aggiungendo ulteriori funzioni di base che siano discontinue a cavallo dell'interfaccia Γ , allo scopo di migliorare la qualità dell'approssimazione numerica. Introduciamo la notazione che useremo nel seguito della trattazione.

Sia $\mathcal{V} = \{x_k\}_{k \in \mathcal{I}}$, $\mathcal{I} = \{1, \dots, n\}$ l'insieme dei vertici della triangolazione \mathcal{T}_h . Definiamo le funzioni di base nodali di V come $\{\phi_k\}_{k \in \mathcal{I}}$. Sia $R_i : L^2(\Omega) \rightarrow L^2(\Omega)$, $i = 1, 2$ l'operatore di restrizione così definito:

$$R_i v = \begin{cases} v|_{\Omega_i} & \text{su } \Omega_i \\ 0 & \text{su } \Omega \setminus \Omega_i \end{cases} \quad (5.17)$$

Inoltre definiamo

$$\mathcal{T}_{hi} := \cup \{K | K \cap \Omega_i \neq \emptyset\}, \quad i = 1, 2. \quad (5.18)$$

Nel caso in esame, in cui l'interfaccia Γ non è risolta dalla mesh, le triangolazioni \mathcal{T}_{hi} assumono due caratteristiche importanti: per prima cosa \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} sono strettamente sovrapposte e in secondo luogo si ha che Ω_i è strettamente contenuto in \mathcal{T}_{hi} per $i = 1, 2$. In termini matematici si scrive:

$$\Omega_\Gamma := \mathcal{T}_{h1} \cap \mathcal{T}_{h2} \neq \emptyset \quad (5.19)$$

$$\Omega_i \subset \mathcal{T}_{hi} \text{ per } i = 1, 2. \quad (5.20)$$

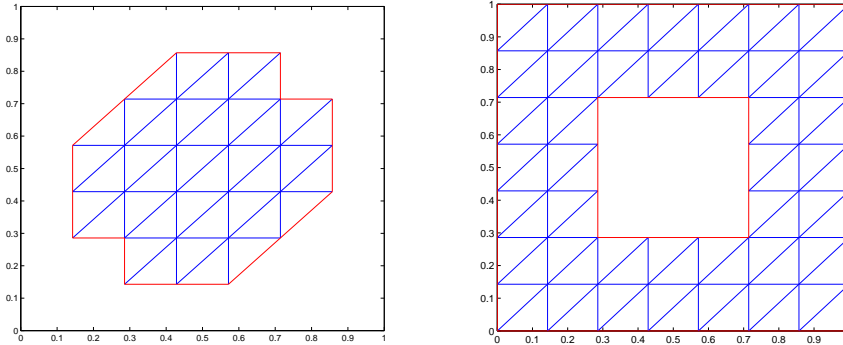


Figura 5.5: Con riferimento al dominio di figura 5.2, a sinistra esempio di triangolazione \mathcal{T}_{h1} : vengono selezionati solo i triangoli K la cui intersezione con Ω_1 è diversa dall'insieme vuoto. A destra esempio di triangolazione \mathcal{T}_{h2} : vengono selezionati solo i triangoli K la cui intersezione con Ω_2 è diversa dall'insieme vuoto.

Introduciamo lo spazio degli elementi finiti definiti sulle griglie \mathcal{T}_{hi} :

$$V_i^e := \{v \in C(\mathcal{T}_{hi}) | v|_K \in \mathcal{P}_1 \quad \forall K \in \mathcal{T}_{hi}\}, \quad i = 1, 2. \quad (5.21)$$

Nel corso della trattazione avremo bisogno anche di un operatore di estensione $E_i : R_i V \rightarrow V_i^e$, $i = 1, 2$, dato da:

$$E_i R_i v = v|_{\mathcal{T}_{hi}} \text{ per } v \in V, \quad i = 1, 2. \quad (5.22)$$

Definiamo ora l'operatore di interpolazione nodale, $I : C(\overline{\Omega}_1) \cap C(\overline{\Omega}_2) \rightarrow V$, $(Iv)(x_k) = v(x_k) \forall x_k \in \mathcal{V}$. Introduciamo due sottoinsiemi dell'insieme dei nodi \mathcal{I} , per i quali le funzioni di base ivi definite hanno intersezione non nulla con l'interfaccia Γ :

$$\mathcal{I}_1^\Gamma = \{k \in \mathcal{I} \mid x_k \in \Omega_2 \text{ e } \text{supp}(\phi_k) \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.23)$$

$$\mathcal{I}_2^\Gamma = \{k \in \mathcal{I} \mid x_k \in \Omega_1 \text{ e } \text{supp}(\phi_k) \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.24)$$

Sottolineiamo che l'insieme \mathcal{I}_1^Γ è formato dagli indici appartenenti al dominio Ω_2 sui quali vivono funzioni di base il cui supporto ha un'intersezione non nulla con l'interfaccia Γ e viceversa per l'insieme \mathcal{I}_2^Γ . Definiamo gli spazi V_i^Γ :

$$V_i^\Gamma := \text{span}\{R_i\phi_k \mid k \in \mathcal{I}_i^\Gamma\}, \quad i = 1, 2. \quad (5.25)$$

le cui funzioni di base vengono rappresentate in 5.6 per il caso monodimensionale,

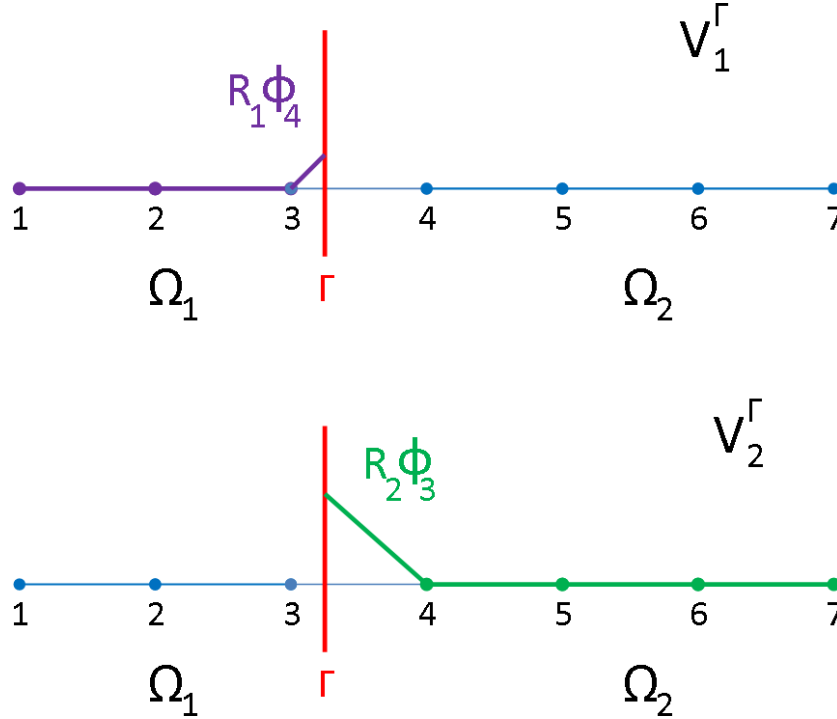


Figura 5.6: Sopra: spazio V_1^Γ . Lo spazio è stato costruito considerando che $\mathcal{I}_1^\Gamma = 4$ e calcolando $R_1\phi_4$. Sotto: spazio V_2^Γ . Lo spazio è stato costruito considerando che $\mathcal{I}_2^\Gamma = 3$ e calcolando $R_2\phi_3$.

Lo spazio degli *elementi finiti esteso* è dato da:

$$V^\Gamma := R_1V \oplus R_2V \quad (5.26)$$

ed è visualizzato, sempre nel caso unidimensionale, nelle figure 5.7 e 5.8.

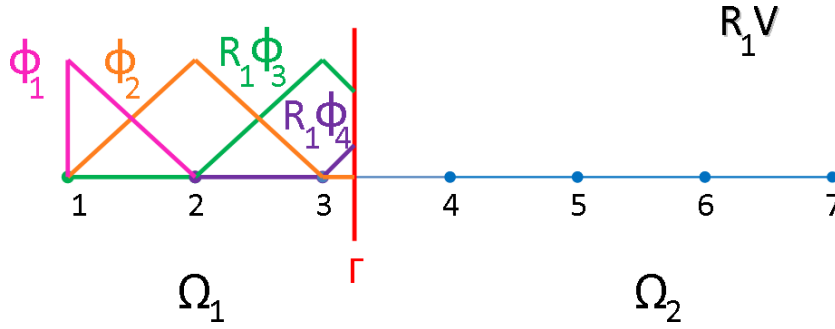


Figura 5.7: 1D. Spazio R_1V , restrizione dello spazio V sul dominio Ω_1 .

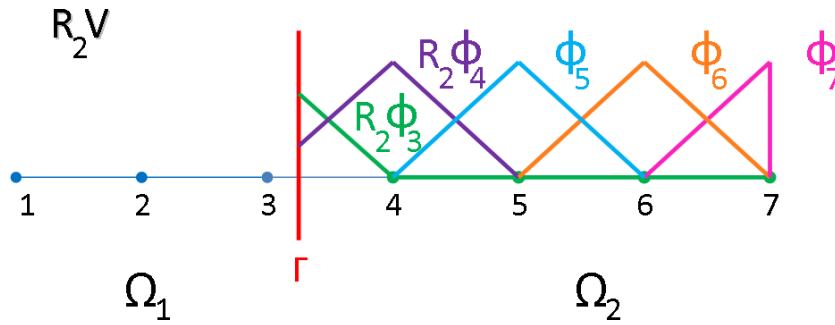


Figura 5.8: 1D. Spazio R_2V , restrizione dello spazio V sul dominio Ω_2 .

Elenchiamo alcune proprietà che risulteranno essere utili nel corso dell'analisi:

$$R_i R_j v = 0 \quad \forall v \text{ e } i \neq j, \quad (5.27)$$

$$R_i R_i v = R_i v \quad \forall v \quad i = 1, 2, \quad (5.28)$$

$$R_1 v + R_2 v = v \quad \forall v \in V^\Gamma, \quad (5.29)$$

$$R_i V^\Gamma = R_i V \quad i = 1, 2, \quad (5.30)$$

$$E_i R_i V = v|_{\mathcal{T}_{hi}} \text{ se } v|_{\mathcal{T}_{hi}} \in V_i^e, \quad (5.31)$$

$$v(x_k) = 0 \quad \forall v \in V_i^\Gamma \quad i = 1, 2 \text{ e } x_k \in \mathcal{V} \quad (5.32)$$

La definizione dello spazio XFEM (5.26) viene utilizzata sia da Hansbo e Hansbo in [HH02] che da Reusken in [Reu08]. In particolare, nel lavoro di Reusken, lo spazio V^Γ viene caratterizzato tramite un'ulteriore proprietà che riportiamo qui di seguito.

Teorema 5.2.2. *Si verifica che:*

$$V^\Gamma = V \oplus V_1^\Gamma \oplus V_2^\Gamma. \quad (5.33)$$

Inoltre, nella decomposizione

$$v = w + \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^{(1)} R_1 \phi_k + \sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} \beta_k^{(2)} R_2 \phi_k, \quad (5.34)$$

con $v \in V^\Gamma$, $w \in V$, si ha che:

$$w = Iv, \quad \beta_k^{(1)} = (E_i R_i v)(x_k) - v(x_k) \quad \forall k \in \mathcal{I}_i^\Gamma, \quad i = 1, 2. \quad (5.35)$$

Dimostrazione. Osservando che $V_i^\Gamma \subset R_i V$, $V \subset R_1 V \oplus R_2 V$ e grazie alla (5.26), si può concludere che $V + V_1^\Gamma + V_2^\Gamma \subset V^\Gamma$. Mostriamo ora che ogni $v \in V^\Gamma$ può essere scomposto come:

$$v = w + v_1^\Gamma + v_2^\Gamma \quad \text{con } w \in V, \quad v_i^\Gamma \in V_i^\Gamma \quad (5.36)$$

e questa decomposizione è unica, secondo la forma (5.34) e (5.35). Ipotizziamo che si possa scrivere una decomposizione come quella formalizzata nella (5.36). Poichè $v_i^\Gamma(x_k) = 0$ per ogni $x_k \in \mathcal{V}$, si ottiene $w = Iv$. Dall'osservazione che $v - Iv \in V^\Gamma = R_1 V \oplus R_2 V$ e $\text{supp}(v - Iv) \subset \Omega_\Gamma$ segue che $v - Iv \in V_1^\Gamma + V_2^\Gamma$ e dunque si può concludere che effettivamente esiste una decomposizione come la (5.36). Prendiamo

$$v = R_1 v + R_2 v = R_1 Iv + R_2 Iv + R_1 \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^{(1)} \phi_k \right) + R_2 \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} \beta_k^{(2)} \phi_k \right) \quad (5.37)$$

con appropriati coefficienti $\beta_k^{(i)}$. Allora deve essere verificato che:

$$E_i R_i v = E_i R_i Iv + E_i R_i \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} \phi_k \right), \quad i = 1, 2, \quad (5.38)$$

Usando la proprietà (5.31), si ottiene:

$$E_i R_i v = (Iv)|_{\Omega_i^e} + \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} (\phi_k)|_{\mathcal{T}_{hi}} \right), \quad i = 1, 2. \quad (5.39)$$

Se sostituiamo un vertice x_k con $k \in \mathcal{I}_i^\Gamma$, allora $\beta_k^{(i)} = (E_i R_i v)(x_k) - (Iv)|_{\mathcal{T}_{hi}}(x_k) = (E_i R_i v)(x_k) - v(x_k)$, che completa la dimostrazione. \square

In previsione di applicare il metodo a casi in cui la posizione dell'interfaccia vari nel tempo ci soffermiamo ora su una questione importante. Chiariamo infatti che cosa succede quando Γ_K arriva a coincidere esattamente con il bordo dell'elemento K . Per visualizzare meglio ciò che accade in questa situazione prendiamo in esame il

caso monodimensionale quando il punto Γ coincide con un nodo di griglia x_k , come riportato in figura 5.9.

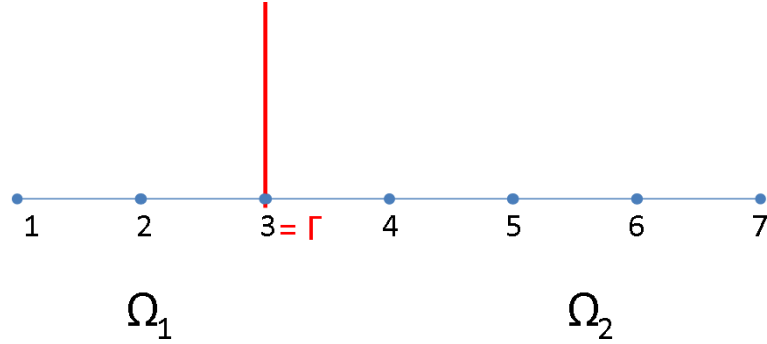


Figura 5.9: 1D. Dominio Ω , $\Gamma \equiv x_3$.

In base alla definizione (5.18) di \mathcal{T}_{hi} , il dominio viene suddiviso, in questo caso, in due parti aperte disgiunte, come visualizzato in figura 5.10. Notiamo che in questo caso la sottogriglia \mathcal{T}_{hi} coincide esattamente con il dominio Ω_i per $i = 1, 2$.

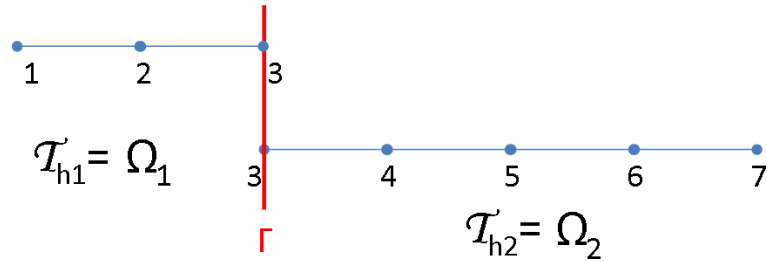


Figura 5.10: 1D. Suddivisione del dominio Ω nelle due sottogriglie \mathcal{T}_{h1} , \mathcal{T}_{h2} .

In base alla decomposizione dello spazio $V^\Gamma = R_1V \oplus R_2V$ si ottengono le funzioni di base riportate in figura 5.11 e 5.12.

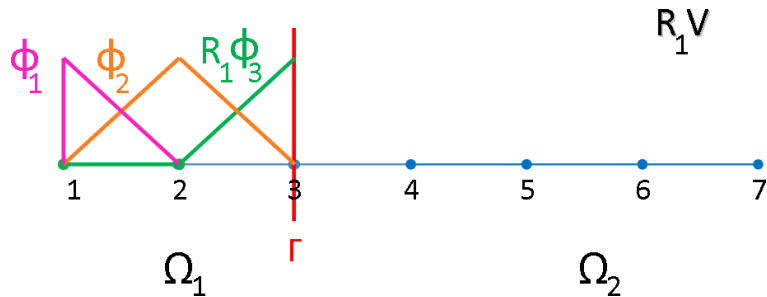


Figura 5.11: 1D. Funzioni di base dello spazio R_1V .

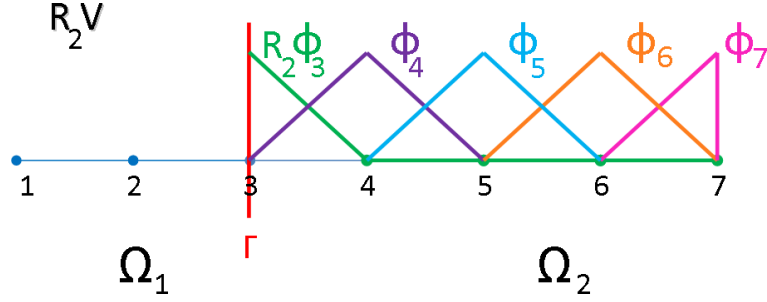


Figura 5.12: 1D. Funzioni di base dello spazio R_2V .

Nel caso in cui Γ coincida con un nodo di griglia, il metodo XFEM corrisponde esattamente ad un metodo ad elementi finiti standard per un problema in cui la griglia risolve l'interfaccia interna. Le funzioni di base degli spazi R_1V e R_2V sono infatti le funzioni di base standard di primo grado costruite rispettivamente sui domini Ω_1 e Ω_2 . La dimensione dello spazio V^Γ è esattamente pari a $n + 1$, dove n corrisponde al numero di nodi della griglia \mathcal{T}_h .

Esprimiamo ora V^Γ mediante la decomposizione $V^\Gamma = V \oplus V_1^\Gamma \oplus V_2^\Gamma$ e consideriamo che cosa accade a questi spazi se ci poniamo nel caso di figura 5.9. Lo spazio V non subisce cambiamenti e viene costruito mediante le funzioni di base standard su tutto Ω , come visualizzato in figura 5.4. Gli spazi V_1^Γ e V_2^Γ vengono costruiti in base all'insieme degli indici \mathcal{I}_1^Γ e \mathcal{I}_2^Γ , definiti rispettivamente dalla (5.23) e (5.24). In base a queste definizioni \mathcal{I}_1^Γ e \mathcal{I}_2^Γ risulterebbero vuoti e così anche gli spazi V_1^Γ e V_2^Γ , lo spazio V^Γ coinciderebbe con lo spazio V , di dimensione n . Tuttavia abbiamo mostrato che la dimensione corretta dello spazio V^Γ risulta essere $n+1$. Per risolvere questo problema è necessario modificare la definizione di uno dei due insiemi \mathcal{I}_i^Γ . Se $\Gamma \equiv x_k$ allora possiamo scrivere:

$$\Gamma \notin \Omega_1 \quad \Gamma \notin \Omega_2$$

$$\Gamma \in \bar{\Omega}_1 \quad \Gamma \in \bar{\Omega}_2$$

Ridefiniamo quindi \mathcal{I}_2^Γ nel seguente modo:

$$\mathcal{I}_2^\Gamma = \{k \in \mathcal{I} : x_k \in \bar{\Omega}_1 \text{ e } \text{supp}(\phi_k) \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.40)$$

Utilizzando quest'ultima le funzioni di base di V_1^Γ e V_2^Γ corrispondono a quelle riportate in figura 5.13.

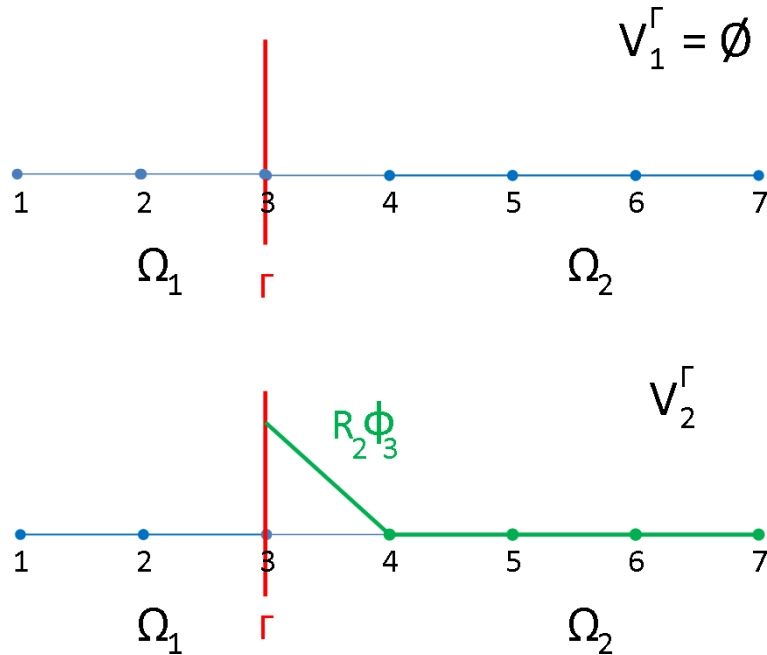


Figura 5.13: 1D. Funzioni di base degli spazi V_1^Γ e V_2^Γ .

Anche nel caso di interfaccia fittata, la decomposizione dello spazio $V^\Gamma = V \oplus V_1^\Gamma \oplus V_2^\Gamma$ è equivalente a $V^\Gamma = R_1V \oplus R_2V$, notiamo infatti che la funzione di base $R_2\phi_3 \in R_2V$ di figura 5.12 può essere scritta come differenza delle funzioni $\phi_3 \in V$ e $R_2\phi_3 \in V_2^\Gamma$, riportate rispettivamente in figura 5.4 e 5.13.

Concludiamo quindi ribadendo che, nel caso in cui Γ coincida con un nodo di griglia, il metodo XFEM non presenta problemi e si riconduce ad un metodo elementi finiti standard per un problema con interfaccia interna.

5.2.2 Il metodo di Nitsche per l'accoppiamento di problemi su interfacce non fittate

La definizione di un problema alle derivate parziali con coefficienti discontinui prevede che sulle interfacce interne al dominio vengano imposte condizioni di raccordo, che devono poi essere opportunamente incluse nella formulazione debole. Dopo un'analisi critica della letteratura abbiamo deciso di studiare in modo approfondito e di implementare il metodo di Nitsche e una sua particolare variante, proposta da Hansbo e Hansbo in [HH02]. In questa sezione ci concentreremo sulla formulazione debole del problema (5.2) e sulla sua successiva discretizzazione tramite gli elementi finiti estesi che abbiamo introdotto precedentemente.

Cominciamo l'analisi introducendo le definizioni di alcune medie pesate che vengono utilizzate nel metodo di Nitsche e nella variante proposta da [HH02]: $[ab]$, $\{v\}_\omega$ e

$\{v\}^\omega$.

$$\begin{aligned} [v] &:= (R_1 v - R_2 v)|_\Gamma \\ \{v\}_\omega &:= (\omega_1 v_1 + \omega_2 v_2)|_\Gamma \end{aligned} \quad (5.41)$$

$$\{v\}^\omega := (\omega_2 v_1 + \omega_1 v_2)|_\Gamma \quad (5.42)$$

$$[ab] = [a] \{b\}_\omega + [b] \{a\}^\omega \quad (5.43)$$

ω_1 e ω_2 sono due costanti positive scelte in modo tale da rispettare i seguenti vincoli:

$$0 \leq \omega_1 \leq 1 \quad i = 1, 2 \quad (5.44)$$

$$\omega_1 + \omega_2 = 1 \quad (5.45)$$

La differenza fra il metodo di Nitsche classico e la sua variante proposta da Hansbo-Hansbo e riportata in [HH02], consiste nella scelta dei pesi ω_1, ω_2 per la definizione delle medie pesate (5.42), (5.41). In particolare abbiamo che:

$$\text{Pesi Nitsche : } \{v\}_N : \begin{cases} \omega_1|_K = 1/2 \\ \omega_2|_K = 1/2 \end{cases} \quad \forall K \quad (5.46)$$

$$\text{Pesi HH : } \{v\}_{HH} : \begin{cases} \omega_1|_K = \kappa_1 = |K_1|/|K| \\ \omega_2|_K = \kappa_2 = |K_2|/|K| \end{cases} \quad \forall K \quad (5.47)$$

Applichiamo il metodo di Nitsche al problema riportato in (5.2) e otteniamo la seguente forma bilineare e termine noto:

$$a_h(u, v) = \int_{\Omega_1} \alpha_1 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega_2} \alpha_2 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega} \sigma uv + \int_{\Gamma} \gamma h^{-1} [u] [v] - \int_{\Gamma} [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} uv] \quad (5.48)$$

$$f(v) = \int_{\Omega} f v \quad (5.49)$$

L'identità algebrica (5.43), ci permette di scrivere:

$$[\alpha \nabla_{\mathbf{n}} uv] = \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}_\omega [v] + [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u] \{v\}^\omega \quad (5.50)$$

e introducendo il termine (5.50) nella (5.48) si ottiene:

$$\begin{aligned} a_h(u, v) &= \int_{\Omega_1} \alpha_1 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega_2} \alpha_2 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega} \sigma uv \\ &\quad + \int_{\Gamma} \gamma h^{-1} [u] [v] - \int_{\Gamma} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}_\omega [v] \end{aligned} \quad (5.51)$$

Il secondo termine della (5.50) si annulla poichè all'interfaccia Γ abbiamo imposto che $[\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u] = 0$. Introduciamo un termine per simmetrizzare la forma variazionale

che in conclusione risulta:

$$\begin{aligned}
 a_h(u, v) = & \int_{\Omega_1} \alpha_1 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega_2} \alpha_2 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega} \sigma uv \\
 & + \int_{\Gamma} \gamma h^{-1} [u] [v] - \int_{\Gamma} \{ \alpha \nabla_{\mathbf{n}} u \}_{\omega} [v] - \underbrace{\int_{\Gamma} \{ \alpha \nabla_{\mathbf{n}} v \}_{\omega} [u]}_{\text{termine simmetria}}
 \end{aligned} \tag{5.52}$$

Il termine di simmetria non influisce sulla consistenza del problema in quanto all'interfaccia abbiamo imposto che $[u] = 0$.

Costruiamo una griglia di calcolo, secondo il procedimento sviluppato nella sezione precedente e discretizziamo il problema, introducendo lo spazio XFEM, definito in (5.26). Il problema (5.52) viene riformulato come segue:

trovare $u_h \in V^\Gamma$:

$$a_h(u_h, v_h) = f(v_h) \quad \forall v_h \in V^\Gamma \tag{5.53}$$

dove $a_h(\cdot, \cdot)$ è definito dalla (5.52) e $f(v_h)$ dalla (5.49).

Il metodo che deriva dall'abbinamento del metodo di Nitsche per il trattamento delle interfacce con il metodo XFEM per la discretizzazione e risoluzione numerica, verrà d'ora in poi chiamato metodo *Unfitted Interface Penalty* (UIP).

La soluzione approssimata u_h può essere definita in due diversi modi, corrispondentemente alle definizioni date per V^Γ , ovvero la (5.26) e la (5.33). Per semplicità di notazione d'ora in poi tralasciamo di riportare il pedice h alle funzioni discrete. Porremo quindi:

$$\boxed{u = u_h} \quad \boxed{v = v_h}$$

Riferendoci allo spazio definito dalla (5.26) possiamo affermare che ciascuna generica funzione v appartenente allo spazio $V^\Gamma = R_1V \oplus R_2V$ può essere scritta come:

$$v = \sum_{k \in \mathcal{V}} v_{1k} R_1 \phi_k + \sum_{k \in \mathcal{V}} v_{2k} R_2 \phi_k \tag{5.54}$$

I coefficienti v_{ik} con $i = 1, 2$ sono i valori nodali della funzione v e in base a questi possiamo costruire i seguenti vettori:

$$\mathbf{v}_1 = [v_{1,1} \dots v_{1,N_1}]' \tag{5.55}$$

$$\mathbf{v}_2 = [v_{2,1} \dots v_{2,N_2}]' \tag{5.56}$$

$$\mathbf{v} = [\mathbf{v}'_1, \mathbf{v}'_2]' \tag{5.57}$$

N_1 e N_2 sono rispettivamente la dimensione di R_1V e R_2V . Osserviamo che deve essere verificato che $N = N_1 + N_2$, dove N è la dimensione dello spazio V^Γ .

Definiamo la matrice che deriva dalla discretizzazione della forma bilineare (5.52); l'elemento generico della matrice in posizione jk è così ricavato:

$$[A^H]_{jk} = a_h(\phi_k^H, \phi_j^H) \quad \text{per } k, j = 1, \dots, N_1 + N_2 \tag{5.58}$$

le funzioni $\{\phi_j^H\}_{j=1}^{N_1+N_2}$ sono costruite nel seguente modo

$$\{\phi_j^H\}_{1 \leq j \leq N} = \{R_1 \phi_j\}_{1 \leq j \leq N_1} \cup \{R_2 \phi_j\}_{1 \leq j \leq N_2} \quad (5.59)$$

Abbiamo indicato la matrice degli elementi finiti e il vettore delle incognite tramite l'apice H per indicare che questi sono stati costruiti utilizzando le basi definite sia da [HH02] che da [Reu08], per distinguerle dalle basi presenti esclusivamente in [Reu08] e che utilizzeremo di seguito. Costruiamo il vettore dei termini noti e indichiamo con \mathbf{F}_1^H e \mathbf{F}_2^H i vettori di componenti

$$[\mathbf{F}_i^H]_j = f(R_i \phi_j) \quad (5.60)$$

rispettivamente per $i = 1, 2$, con $f(\cdot)$ definita dalla (5.49). Indichiamo dunque con \mathbf{F}^H il seguente vettore:

$$\mathbf{F}^H = [\mathbf{F}_1^H, \mathbf{F}_2^H]'. \quad (5.61)$$

Il metodo UIP si traduce nella risoluzione del seguente sistema lineare:

$$A^H \mathbf{v} = \mathbf{F}^H \quad (5.62)$$

Una costruzione del sistema algebrico del tutto simile può essere fatta anche nel caso in cui V^Γ sia definito secondo la (5.33). La differenza consiste nella definizione delle funzioni di base che verranno utilizzate. In particolare definiamo:

$$\{\phi_j^R\}_{1 \leq j \leq N} = \{\phi_j\}_{1 \leq j \leq n} \cup \{R_1 \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \cup \{R_2 \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_2^\Gamma} \quad (5.63)$$

Se chiamiamo N_1^Γ la dimensione dello spazio $\{R_1 \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_1^\Gamma}$ e N_2^Γ la dimensione di $\{R_2 \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_2^\Gamma}$, allora deve essere verificato che $N = n + N_1^\Gamma + N_2^\Gamma$. Una qualsiasi funzione $v \in V^\Gamma$ può essere espressa come:

$$v = \sum_{k \in \mathcal{V}} w_k \phi_k + \sum_{i=1}^2 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} R_i \phi_k \quad (5.64)$$

I coefficienti $w_k, \beta_k^{(i)}$ con $i = 1, 2$, sono i valori nodali della funzione v e, in base a questi, possiamo costruire i seguenti vettori:

$$\mathbf{w} = [w_1 \dots w_n]' \quad (5.65)$$

$$\mathbf{w}_1 = [\beta_1^{(1)} \dots \beta_{N_1^\Gamma}^{(1)}]' \quad (5.66)$$

$$\mathbf{w}_2 = [\beta_1^{(2)} \dots \beta_{N_2^\Gamma}^{(2)}]' \quad (5.67)$$

$$\mathbf{z} = [\mathbf{w}', \mathbf{w}_1', \mathbf{w}_2']' \quad (5.68)$$

La matrice costruita a partire dalla forma bilineare (5.52) risulta:

$$[A^R]_{jk} = a_h(\phi_k^R, \phi_j^R) \text{ per } k, j = 1, \dots, N \quad (5.69)$$

dove le funzioni di base sono definite secondo la (5.63). La costruzione del termine noto, allo stesso modo, può essere definita come segue:

$$[\mathbf{F}]_j = f(\phi_j) \quad \text{con } j = 1, \dots, n, \quad (5.70)$$

$$[\mathbf{F}_1^\Gamma]_j = f(R_1 \phi_j) \quad \text{con } j = 1, \dots, N_1^\Gamma, \quad (5.71)$$

$$[\mathbf{F}_2^\Gamma]_j = f(R_2 \phi_j) \quad \text{con } j = 1, \dots, N_2^\Gamma, \quad (5.72)$$

dove $f(\cdot)$ è sempre definita dalla (5.49). Indichiamo dunque con \mathbf{F}^R il seguente vettore:

$$\mathbf{F}^R = [\mathbf{F}, \mathbf{F}_1^\Gamma, \mathbf{F}_2^\Gamma]'. \quad (5.73)$$

Il metodo Extended Finite Element (XFEM), scritto per le basi di V^Γ proposte da [Reu08] nella (5.33), si traduce nella risoluzione del seguente sistema lineare:

$$A^R \mathbf{z} = \mathbf{F}^R \quad (5.74)$$

Il nostro lavoro prosegue con l'analisi completa del metodo UIP, a partire da quanto svolto da [HH02] e da [Reu08] nei loro articoli. I due lavori affrontano problematiche diverse che, opportunamente amalgamate ed estese, possono fornire un'analisi accurata e precisa del metodo UIP. In particolare per lo studio della buona posizione e della stabilità ci concentriamo sull'analisi del condizionamento del problema che scaturisce dalla discretizzazione di (5.52). Poichè gli spazi (5.26) e (5.33) sono equivalenti, come è stato dimostrato dal teorema 5.2.2, ci aspettiamo che la soluzione calcolata tramite (5.62) e quella calcolata da (5.74) siano identiche. Inoltre, a causa della loro equivalenza formale, esiste un'equivalenza anche per quel che riguarda le proprietà numeriche, in particolare che il numero di condizionamento di A^H e A^R seguono lo stesso andamento.

Per studiare correttamente le proprietà della matrice degli elementi finiti facciamo un'ultima importante osservazione. Consideriamo che la matrice A generica, sia essa A^H o A^R , possa essere scomposta come somma di tre matrici:

$$A = L + M + S$$

dove L è la matrice di stiffness, M è la matrice di massa e S è la matrice che include i termini di media e di salto. Esplicitiamo la definizione delle matrici e per semplicità di notazione indichiamo le funzioni di base ϕ^H o alternativamente ϕ^R con φ .

$$[L]_{ij} = \int_{\Omega_1} \alpha_1 \nabla \varphi_j \nabla \varphi_i + \int_{\Omega_2} \alpha_2 \nabla \varphi_j \nabla \varphi_i \quad (5.75)$$

$$[M]_{ij} = \int_{\Omega} \sigma \varphi_j \varphi_i \quad (5.76)$$

$$[S]_{ij} = \int_{\Gamma} \gamma h^{-1} [\varphi_j] [\varphi_i] - \int_{\Gamma} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \varphi_j\}_\omega [\varphi_i] - \int_{\Gamma} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \varphi_i\}_\omega [\varphi_j] \quad (5.77)$$

Pertanto lo studio del numero di condizionamento della matrice A si concentrerà sull'analisi di queste tre matrici, in particolare sullo studio dello spettro di L e di M .

5.3 Analisi dello schema Unfitted Interface Penalty

5.3.1 Proprietà generali del metodo XFEM

Presentiamo in questo paragrafo le proprietà di approssimazione del metodo XFEM. Esse risulteranno fondamentali per l'analisi delle proprietà di buona approssimazione e del condizionamento del problema (5.53). Riportiamo innanzitutto il risultato sulle proprietà di approssimazione dello spazio V^Γ ([Reu08]) vale infatti il seguente teorema:

Teorema 5.3.1. *Dati due numeri interi l, m tali che $0 \leq l < m \leq 2$, si ha:*

$$\inf_{v \in V^\Gamma} \|u - v\|_{l, \Omega_1 \cup \Omega_2} \leq h^{m-l} \|u\|_{m, \Omega_1 \cup \Omega_2}$$

per ogni $u \in H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2)$.

Dimostrazione. Introduciamo l'operatore di estensione $\mathcal{E}_i^m : H^m(\Omega_i) \rightarrow H^m(\Omega)$ per $i = 1, 2$, tale che $(\mathcal{E}_i^m w)|_{\Omega_i} = w$ e $\|\mathcal{E}_i^m w\|_m \leq c \|w\|_{m, \Omega_i}$. Per $m = 1, 2$, sia $\mathcal{Q}^m : H^m(\Omega) \rightarrow V$ un operatore di quasi-interpolazione tale che $\|w - \mathcal{Q}^m w\|_l \leq ch^{m-l} \|w\|_m \forall w \in H^m(\Omega)$, $0 \leq l < m \leq 2$. Sia $m = 1, 2$ e $u \in H^m(\Omega_1 \cup \Omega_2)$ dati. Definiamo $v^* \in V^\Gamma$ tramite la seguente:

$$v^* = \sum_{i=1}^2 R_i \mathcal{Q}^m \mathcal{E}_i^m R_i u$$

Per definizione degli operatori, vale la seguente catena di disuguaglianze:

$$\begin{aligned} \|u - v^*\|_{l, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &= \sum_{i=1}^2 \|u - v^*\|_{l, \Omega_i}^2 \\ &= \sum_{i=1}^2 \|u - \mathcal{Q}^m \mathcal{E}_i^m R_i u\|_{l, \Omega_i}^2 \\ &= \sum_{i=1}^2 \|\mathcal{E}_i^m R_i u - \mathcal{Q}^m \mathcal{E}_i^m R_i u\|_{l, \Omega_i}^2. \end{aligned}$$

Considerando che $\Omega_i \subset \Omega$, vale:

$$\|u - v^*\|_{l, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \leq \sum_{i=1}^2 \|\mathcal{E}_i^m R_i u - \mathcal{Q}^m \mathcal{E}_i^m R_i u\|_{l, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2.$$

Utilizzando le stime classiche per gli operatori di quasi-interpolazione si ottiene:

$$\|u - v^*\|_{l, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \leq ch^{2(m-l)} \sum_{i=1}^2 \|\mathcal{E}_i^m R_i u\|_{m, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2$$

Sfruttando infine le proprietà dell'operatore \mathcal{E}_i^m si dimostra la tesi del teorema:

$$\|u - v^*\|_{L^2(\Omega_1 \cup \Omega_2)}^2 \leq ch^{2(m-1)} \sum_{i=1}^2 \|R_i u\|_{m, \Omega_i}^2 = ch^{2(m-1)} \|u\|_{m, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2.$$

□

Il nostro lavoro si prefigge l'obiettivo di analizzare la matrice di stiffness L e la matrice di massa M relative allo spazio XFEM.

Analisi della matrice di massa

Cominciamo con il dimostrare che la matrice di massa, riscalata tramite la sua diagonale, presenta un numero di condizionamento indipendente dal passo di griglia e dai supporti delle funzioni di base $R_i \phi_k$. Prima di giungere a questo risultato è necessario presentare alcuni lemmi intermedi riportati in [Reu08].

Lemma 5.3.2. *Sia K un triangolo non degenere e siano $v, w : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ funzioni lineari. Allora esiste $\tilde{c} < 1$ tale che:*

$$|(v, w)|_{0, K} \leq \tilde{c} \|v\|_{0, K} \|w\|_{0, K} \quad (5.78)$$

Lemma 5.3.3. *Indicato con Δ_x il patch degli elementi associati al vertice $x \in \mathcal{V}$ e con $\Omega_R = \Omega \setminus \Omega_\Gamma$, l'insieme degli elementi che non vengono intersecati dall'interfaccia, assumiamo che valga la seguente:*

$$\Delta_x \cap \Omega_R \neq \emptyset \quad \forall x \in \mathcal{V}. \quad (5.79)$$

Allora esiste $c_{CS} < 1$ indipendente dal passo di griglia h tale che:

$$(v, w)_0 \leq c_{CS} \|v\|_0 \|w\|_0 \quad \forall v \in V, w \in V_1^\Gamma \oplus V_2^\Gamma.$$

Grazie al risultato del teorema 5.2.2 possiamo scrivere una generica funzione $v \in V^\Gamma$ nel seguente modo:

$$v = \sum_{k=1}^n w_k \phi_k + \sum_{i=1}^2 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} R_i \phi_k =: w + w_1 + w_2 \quad (5.80)$$

Utilizzando il lemma 5.3.3 si ricava il seguente:

Lemma 5.3.4. *Data $v \in V^\Gamma$, $w \in V$, $w_1 \in V_1^\Gamma$ e $w_2 \in V_2^\Gamma$, definite dalla (5.80), valgono le seguenti relazioni:*

$$(1 - c_{CS}) \left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2 \right) \leq \|v\|_0^2 \leq 2 \left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2 \right)$$

Dimostrazione. Il risultato viene dimostrato considerando che gli spazi V_1^Γ e V_2^Γ sono L^2 -ortogonali, poichè i supporti delle rispettive funzioni di base sono disgiunti, e utilizzando il risultato del lemma 5.3.3. Valgono dunque le seguenti:

$$\begin{aligned}\|v\|_0^2 &\leq 2\left(\|w\|_0^2 + \|w_1 + w_2\|_0^2\right) \\ &= 2\left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2\right)\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\|v\|_0^2 &= \|w\|_0^2 + \|w_1 + w_2\|_0^2 + 2(w, w_1 + w_2)_0 \\ &\geq \|w\|_0^2 + \|w_1 + w_2\|_0^2 - 2c_{CS}\|w\|_0\|w_1 + w_2\|_0 \\ &\geq (1 - c_{CS})\left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2\right).\end{aligned}$$

□

Dato che la funzione w appartiene allo spazio V , spazio ad elementi finiti standard, esistono $c_1, c_2 \in \mathbb{R}^+$, indipendenti dal passo di griglia h tali che:

$$c_1 \sum_{k=1}^n w_k^2 \|\phi_k\|_0^2 \leq \|w\|_0^2 \leq c_2 \sum_{k=1}^n w_k^2 \|\phi_k\|_0^2 \quad (5.81)$$

Un risultato analogo può essere dimostrato per le funzioni w_i appartenenti a V_i^Γ .

Lemma 5.3.5. Data $w_i = \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} R_i \phi_k$ per $i = 1, 2$, vale la seguente:

$$\tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \left(\beta_k^{(i)}\right)^2 \|R_i \phi_k\|_0^2 \leq \|w_i\|_0^2 \leq d \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \left(\beta_k^{(i)}\right)^2 \|R_i \phi_k\|_0^2. \quad (5.82)$$

con $d=1,2,3$ a seconda della dimensione dello spazio del problema considerato.

Dimostrazione. Riportiamo la dimostrazione nel caso bidimensionale ($d = 2$) e per $i = 1$; il caso $i = 2$ è del tutto analogo. Prendiamo quindi w_1 :

$$w_1 = \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k R_1 \phi_k,$$

per ogni $K \in \Omega_\Gamma$ ci sono al massimo 2 valori in \mathcal{I}_1^Γ tali che $(R_1\phi_k)|_K \neq 0$. Per dimostrare la disuguaglianza a destra della (5.82), possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} \|w_1\|_0^2 &= \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k R_1 \phi_k \right\|_{0,K}^2 \\ &\leq \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} |\beta_k| \|R_1 \phi_k\|_{0,K} \right)^2 \\ &\leq 2 \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \phi_k\|_{0,K}^2 \\ &\leq 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \phi_k\|_0^2 \end{aligned}$$

Passiamo quindi a considerare il limite inferiore della (5.82). Innanzitutto consideriamo che vale:

$$\left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k R_1 \phi_k \right\|_{0,K} = \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \phi_k \right\|_{0,K \cap \Omega_1}$$

Ci sono due diverse forme che può assumere $K \cap \Omega_1$; esse vengono indicate in figura 5.14 e chiamate T_1 e T_2 .

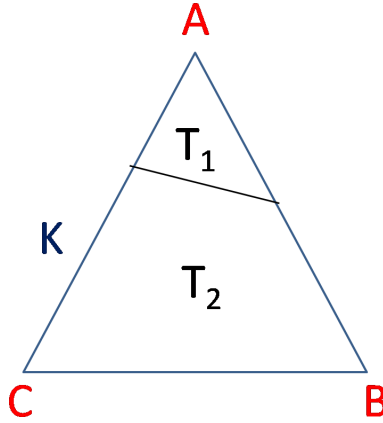


Figura 5.14: Triangolo $K \in G_h$ suddiviso nelle due parti T_1 e T_2 dall'interfaccia Γ .

Per $K \cap \Omega_1 = T_1$ abbiamo due valori di $k \in \mathcal{I}_1^\Gamma$ tali che $(\phi_k)|_{K \cap \Omega_1} \neq 0$, in riferimento alla figura 5.14 essi sono k_B e k_C in corrispondenza rispettivamente dei vertici B e C . In questo caso possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \phi_k \right\|_{0,K \cap \Omega_1}^2 &= \left\| \beta_{k_B} \phi_{k_B} + \beta_{k_C} \phi_{k_C} \right\|_{0,K \cap \Omega_1}^2 \\ &= \beta_{k_B}^2 \|\phi_{k_B}\|_{0,K \cap \Omega_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \|\phi_{k_C}\|_{0,K \cap \Omega_1}^2 + 2(\beta_{k_B} \phi_{k_B}, \beta_{k_C} \phi_{k_C})_0 \end{aligned}$$

Utilizzando il lemma 5.3.2 possiamo scrivere:

$$\begin{aligned}
 \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \phi_k \right\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 &\geq \beta_{k_B}^2 \|\phi_{k_B}\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \|\phi_{k_C}\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 \\
 &\quad - 2\tilde{c} \|\beta_{k_B} \phi_{k_B}\|_{0, K \cap \Omega_1} \|\beta_{k_C} \phi_{k_C}\|_{0, K \cap \Omega_1} \\
 &\geq (1 - \tilde{c}) \left(\beta_{k_B}^2 \|\phi_{k_B}\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \|\phi_{k_C}\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 \right) \\
 &= (1 - \tilde{c}) \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \phi_k\|_{0, K}^2
 \end{aligned}$$

Se invece $K \cap \Omega_1 = T_2$ (fig. 5.14), vi è un solo vertice tale che $(\phi_k)|_{K \cap \Omega_1} \neq 0$ e precisamente il vertice A . Si ha dunque:

$$\begin{aligned}
 \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \phi_k \right\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 &= \beta_{k_A}^2 \|R_1 \phi_{k_A}\|_{0, K}^2 \\
 &= \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|\phi_k\|_{0, K \cap \Omega_1}^2
 \end{aligned}$$

In generale si può quindi dire che esiste \tilde{c}_1 tale che:

$$\left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \phi_k \right\|_{0, K \cap \Omega_1}^2 \geq \tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \phi_k\|_{0, K}^2$$

che conclude la dimostrazione del limite inferiore. \square

Grazie alla decomposizione (5.80) e utilizzando i risultati (5.81) e (5.82), è possibile dimostrare il risultato sul numero di condizionamento della matrice di massa.

Consideriamo \mathbf{z} , definito da (5.68), vettore dei valori nodali di una generica funzione $v \in V^\Gamma$, costruita attraverso le basi di Reusken.

Detta N la dimensione dello spazio V^Γ , definiamo quindi $\mathcal{P} : \mathbb{R}^N \rightarrow V^\Gamma$ tale che:

$$\mathcal{P}\mathbf{z} = v. \tag{5.83}$$

La matrice di massa M può essere espressa nei seguenti termini:

$$\mathbf{z}' M \mathbf{z} = (\mathcal{P}\mathbf{z}, \mathcal{P}\mathbf{z})_0 \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N. \tag{5.84}$$

Definiamo D_M la matrice costruita considerando solo i termini diagonali di M :

$$D_M = \begin{pmatrix} D & & \emptyset \\ & D_1 & \\ \emptyset & & D_2 \end{pmatrix} \tag{5.85}$$

con

$$(D)_{k,k} = \|\phi_k\|_0^2, \quad 1 \leq k \leq n,$$

$$(D_i)_{k,k} = \|R_i \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^\Gamma \text{ per } i = 1, 2.$$

Per le matrici M e D_M vale il seguente risultato:

Teorema 5.3.6. *Esistono due costanti $c_1 > 0$ e c_2 indipendente dal passo di griglia h tali che:*

$$c_1 \mathbf{z}' D_M \mathbf{z} \leq \mathbf{z}' M \mathbf{z} \leq c_2 \mathbf{z}' D_M \mathbf{z} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N \quad (5.86)$$

Dimostrazione. La tesi viene ricavata utilizzando le relazioni (5.80), (5.81) e (5.82). Valgono infatti le seguenti:

$$\begin{aligned} \mathbf{z}' M \mathbf{z} &= \|v\|_0^2 \leq 2 \left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2 \right) \\ &\leq 2 \left(c_2 \sum_{k=1}^n w_k^2 \|\phi_k\|_0^2 + 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} (\beta_k^{(1)})^2 \|R_1 \phi_k\|_0^2 + 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} (\beta_k^{(2)})^2 \|R_2 \phi_k\|_0^2 \right) \end{aligned}$$

Dalle definizioni (5.65), (5.66) e (5.67) rispettivamente di \mathbf{w} , \mathbf{w}_1 e \mathbf{w}_2 , si ricava:

$$\begin{aligned} &\leq c \left(\mathbf{w}' D \mathbf{w} + \mathbf{w}'_1 D_1 \mathbf{w}_1 + \mathbf{w}'_2 D_2 \mathbf{w}_2 \right) \\ &= c \mathbf{z}' D_M \mathbf{z}, \end{aligned}$$

con c indipendente da h . Inoltre, utilizzando il lemma 5.3.4, vale:

$$\mathbf{z}' M \mathbf{z} = \|v\|_0^2 \geq (1 - c_{CS}) \left(\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2 \right).$$

Sfruttando di nuovo le disuguaglianze (5.81) e (5.82), otteniamo la tesi con $c_1 \geq 0$ e c_2 indipendente da h . \square

Analisi della matrice di stiffness

Dimostriamo ora un risultato analogo a quello ricavato nel teorema 5.3.6 anche per la matrice di stiffness L , costruita tramite la definizione (5.75). Il procedimento che seguiamo ricalca quello svolto nel paragrafo precedente, dove abbiamo analizzato la matrice di massa.

Lemma 5.3.7. *Assumiamo che valga la seguente condizione:*

$$\Omega_R = \Omega \setminus \Omega_\Gamma \neq \emptyset$$

Allora $\exists c_{CS2} < 1$:

$$(\nabla v, \nabla w)_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \leq c_{CS2} \|\nabla v\|_0 \|\nabla w\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \quad \forall v \in V, \quad \forall w \in V_1^\Gamma \oplus V_2^\Gamma \quad (5.87)$$

Dimostrazione. Osserviamo che $w = w_1 + w_2$, con $w_1 \in V_1^\Gamma$ e $w_2 \in V_2^\Gamma$, da cui si ricava che $\nabla w = \nabla w_1 + \nabla w_2$. Grazie all'ortogonalità degli spazi V_1^Γ e V_2^Γ possiamo scrivere:

$$\|\nabla w\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 = \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2$$

Inoltre, poichè v appartiene allo spazio degli elementi finiti lineari standard V , si verifica che:

$$\|\nabla v\|_{0,K}^2 = \|\nabla v\|_{0,K_1}^2 + \|\nabla v\|_{0,K_2}^2$$

Dove con K_1 e con K_2 abbiamo indicato le due parti in cui il singolo elemento di griglia K viene suddiviso dall'interfaccia Γ , come illustrato in figura 5.15.

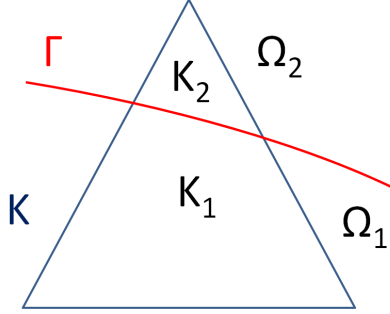


Figura 5.15: Parti K_1 e K_2 in cui il triangolo di griglia K viene suddiviso dal passaggio dell'interfaccia Γ .

Consideriamo:

$$(\nabla v, \nabla w)_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2} = \sum_{K \in \Omega_\Gamma} (\nabla v, \nabla w)_{0,K_1 \cup K_2} = \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left((\nabla v, \nabla w_1)_{0,K_1} + (\nabla v, \nabla w_2)_{0,K_2} \right) \quad (5.88)$$

Osserviamo che i gradienti di funzioni lineari sono funzioni costanti; in particolare, su ciascuna parte K_i possiamo scrivere la seguente disuguaglianza:

$$\begin{aligned} (\nabla v, \nabla w_i)_{0,K_i} &= \int_{K_i} \nabla v \nabla w_i \leq \int_{K_i} |\nabla v \nabla w_i| \\ &= |\cos \theta_K^{(i)}| |\nabla v| |\nabla w_i| |K_i| = |\cos \theta_K^{(i)}| \|\nabla v\|_{0,K_i} \|\nabla w_i\|_{0,K_i} \end{aligned} \quad (5.89)$$

con $i = 1, 2$ e dove abbiamo definito $\theta_K^{(i)}$ l'angolo formato dal vettore ∇v con il vettore ∇w_i , valutato sull'elemento K_i . Utilizzando questo risultato all'interno della (5.88) si ottiene:

$$\begin{aligned}
 (\nabla v, \nabla w)_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} &= \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left((\nabla v, \nabla w_1)_{0, K_1} + (\nabla v, \nabla w_2)_{0, K_2} \right) \\
 &\leq \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left(|\cos \theta_K^{(1)}| \|\nabla v\|_{0, K_1} \|\nabla w_1\|_{0, K_1} + |\cos \theta_K^{(2)}| \|\nabla v\|_{0, K_2} \|\nabla w_2\|_{0, K_2} \right) \\
 &\leq \max_K c_K^\theta \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left(\|\nabla v\|_{0, K_1} \|\nabla w_1\|_{0, K_1} + \|\nabla v\|_{0, K_2} \|\nabla w_2\|_{0, K_2} \right) \\
 &\leq \max_K c_K^\theta \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \|\nabla v\|_{0, K} \|\nabla w\|_{0, K_1 \cup K_2}
 \end{aligned} \tag{5.90}$$

dove

$$\max_K c_K^\theta = \max(|\cos \theta_K^{(1)}|, |\cos \theta_K^{(2)}|) \leq 1$$

Nell'ultimo passaggio della (5.90) abbiamo usato la seguente proprietà algebrica:

$$b^2 = \sum_i a_i^2, \quad d^2 = \sum_i c_i^2 \Rightarrow \sum_i a_i c_i \leq bd. \tag{5.91}$$

Usando nuovamente la (5.91), otteniamo:

$$\begin{aligned}
 (\nabla v, \nabla w)_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} &\leq \max_K c_K^\theta \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \|\nabla v\|_{0, K} \|\nabla w\|_{0, K_1 \cup K_2} \\
 &\leq \max_K c_K^\theta \|\nabla v\|_{0, \Omega_\Gamma} \|\nabla w\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}
 \end{aligned}$$

ed estendendo la norma di $\|\nabla v\|_{0, \Omega_\Gamma}$ su tutto il dominio Ω , arriviamo a:

$$\begin{aligned}
 (\nabla v, \nabla w)_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} &\leq \max_K c_K^\theta \|\nabla v\|_{0, \Omega} \|\nabla w\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \\
 &\leq c_{CS2} \|\nabla v\|_{0, \Omega} \|\nabla w\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}
 \end{aligned}$$

con $c_{CS2} < 1$. \square

Grazie al lemma 5.3.7, è possibile ricavare un risultato analogo al lemma 5.3.4, ma formulato questa volta per i gradienti delle funzioni di base di V^Γ .

Lemma 5.3.8. *Data $v \in V^\Gamma$, $w \in V$, $w_1 \in V_1^\Gamma$ e $w_2 \in V_2^\Gamma$, definite dalla (5.80), vale che:*

$$\begin{aligned}
 \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &\geq (1 - c_{CS2}) \left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2 \right) \\
 \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &\leq 2 \left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2 \right)
 \end{aligned}$$

dove c_{CS2} è la costante della disuguaglianza stretta di Cauchy-Schwarz fornita dal lemma 5.3.7.

Dimostrazione. Di nuovo osserviamo che gli spazi V_1^Γ e V_2^Γ sono L^2 -ortogonali, poichè i supporti delle rispettive funzioni di base sono disgiunti. Per la stima del limite superiore abbiamo:

$$\begin{aligned} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 &\leq 2\left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1 + \nabla w_2\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2\right) \\ &\leq 2\left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2\right) \end{aligned}$$

Per la stima del limite inferiore si utilizza il risultato del lemma 5.3.7:

$$\begin{aligned} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 &\geq \|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1 + \nabla w_2\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 - 2(\nabla w, \nabla w_1 + \nabla w_2)_{0,\Omega_1\cup\Omega_2} \\ &\geq \|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1 + \nabla w_2\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 - 2c_{CS2}\|\nabla w\|_0\|\nabla w_1 + \nabla w_2\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2} \\ &\geq (1 - c_{CS2})\left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2\right) \end{aligned}$$

□

Proseguiamo dimostrando un risultato corrispondente al lemma 5.3.5, riformulato per i gradienti delle funzioni di base degli spazi V_i^Γ , con $i = 1, 2$.

Lemma 5.3.9. *Dato $\nabla w_i = \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i)} R_i \nabla \phi_k$ per $i = 1, 2$, $\exists \tilde{c}_1 > 0$ indipendente dalla posizione dell'interfaccia Γ , tale che:*

$$\tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \left(\beta_k^{(i)}\right)^2 \|R_i \nabla \phi_k\|_0^2 \leq \|\nabla w_i\|_0^2 \leq d \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \left(\beta_k^{(i)}\right)^2 \|R_i \nabla \phi_k\|_0^2. \quad (5.92)$$

con $d = 1, 2, 3$ a seconda della dimensione dello spazio del problema considerato.

Dimostrazione. Riportiamo la dimostrazione nel caso bidimensionale ($d = 2$) e per $i = 1$; il caso $i = 2$ è del tutto analogo.

Prendiamo w_1 e proviamo il limite superiore della (5.92). Osserviamo che, per ogni elemento $K \in \Omega_\Gamma$, ci sono al massimo due valori nell'insieme \mathcal{I}_1^Γ tali che $(R_1 \nabla \phi_k)|_K \neq 0$. Scriviamo:

$$\begin{aligned} \|\nabla w_1\|_0^2 &= \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k R_1 \nabla \phi_k \right\|_{0,K_1}^2 \\ &\leq \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \left(\sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} |\beta_k| \|R_1 \nabla \phi_k\|_{0,K_1} \right)^2 \\ &\leq 2 \sum_{K \in \Omega_\Gamma} \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \nabla \phi_k\|_{0,K_1}^2 \\ &\leq 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \|R_1 \nabla \phi_k\|_0^2 \end{aligned}$$

Passiamo ora all'analisi del limite inferiore. La dimostrazione ricalca quanto fatto per il lemma 5.3.5. Osserviamo che, anche in questo caso, possiamo scrivere:

$$\left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k R_1 \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1} = \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}$$

Consideriamo le stesse situazioni presentate nella dimostrazione del lemma 5.3.5, facendo riferimento alla figura 5.14. Per il caso $K \cap \Omega_1 = T_1$ abbiamo due valori di $k \in \mathcal{I}_1^\Gamma$ tali che $(\nabla \phi_k)|_{K \cap \Omega_1} \neq 0$, in corrispondenza dei vertici B e C . In questo caso possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 &= \left\| \beta_{k_B} \nabla \phi_{k_B} + \beta_{k_C} \nabla \phi_{k_C} \right\|_{0, K_1}^2 \\ &= \beta_{k_B}^2 \left\| \nabla \phi_{k_B} \right\|_{0, K_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \left\| \nabla \phi_{k_C} \right\|_{0, K_1}^2 + \\ &\quad + 2(\beta_{k_B} \nabla \phi_{k_B}, \beta_{k_C} \nabla \phi_{k_C})_{0, K_1} \end{aligned}$$

Utilizzando la disuguaglianza di Cauchy-Schwarz (5.89) possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 &\geq \beta_{k_B}^2 \left\| \nabla \phi_{k_B} \right\|_{0, K_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \left\| \nabla \phi_{k_C} \right\|_{0, K_1}^2 \\ &\quad - 2|\cos \theta_K^{(1)}| \left\| \beta_{k_B} \nabla \phi_{k_B} \right\|_{0, K_1} \left\| \beta_{k_C} \nabla \phi_{k_C} \right\|_{0, K_1} \\ &\geq (1 - |\cos \theta_K^{(1)}|) \left(\beta_{k_B}^2 \left\| \nabla \phi_{k_B} \right\|_{0, K_1}^2 + \beta_{k_C}^2 \left\| \nabla \phi_{k_C} \right\|_{0, K_1}^2 \right) \end{aligned}$$

$$\left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 \geq (1 - |\cos \theta_K^{(1)}|) \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \left\| R_1 \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2$$

Osserviamo che, in questo caso, si ha $|\cos \theta_K^{(1)}| < 1$. Infatti funzioni di base valutate su uno stesso elemento di griglia non possono avere i gradienti a due a due paralleli. Nel caso in cui si ha $K \cap \Omega_1 = T_2$ (fig. 5.14), vi è un solo vertice tale che $(\nabla \phi_k)|_{K_1} \neq 0$ e precisamente il vertice A . Possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} \left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 &= \beta_{k_A}^2 \left\| R_1 \nabla \phi_{k_A} \right\|_{0, K_1}^2 \\ &= \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \left\| \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 \end{aligned}$$

In generale si può affermare che esiste una costante \tilde{c}_1 tale che:

$$\left\| \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2 \geq \tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \beta_k^2 \left\| R_1 \nabla \phi_k \right\|_{0, K_1}^2$$

che conclude la dimostrazione del limite inferiore. \square

Utilizzando il risultato del lemma 5.3.9, possiamo dimostrare un risultato sul numero di condizionamento della matrice di stiffness analogo a quello ottenuto per la matrice di massa nel teorema 5.3.6.

Consideriamo nuovamente il vettore \mathbf{z} definito da (5.68), contenente i valori nodali di una generica funzione $v \in V^\Gamma$, costruita attraverso le basi di Reusken.

Vale la seguente uguaglianza:

$$\mathbf{z}^T L \mathbf{z} = \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2$$

Definiamo D_L la matrice diagonale a blocchi:

$$D_L = \begin{pmatrix} L_V & & \emptyset \\ & D_{L_1} & \\ \emptyset & & D_{L_2} \end{pmatrix} \quad (5.93)$$

con

$$\begin{aligned} \mathbf{w}^T L_V \mathbf{w} &= \|\nabla w\|_0^2 \quad w \in V \\ (D_{L_i})_{k,k} &= \|R_i \nabla \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^\Gamma \text{ per } i = 1, 2. \end{aligned} \quad (5.94)$$

dove \mathbf{w} è definito dalla (5.65).

Osserviamo che, in questo caso, il primo blocco della matrice D_L non è un blocco diagonale; la matrice risulta pertanto dipendente dal passo di griglia h .

Per le matrici L e D_L possiamo enunciare il seguente risultato:

Teorema 5.3.10. *Esistono due costanti $c_1 > 0$ e c_2 indipendente dalla posizione dell'interfaccia Γ e dal passo di griglia h , tali che:*

$$c_1 \mathbf{z}' D_L \mathbf{z} \leq \mathbf{z}' L \mathbf{z} \leq c_2 \mathbf{z}' D_L \mathbf{z} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N \quad (5.95)$$

Dimostrazione. La tesi viene ricavata utilizzando la relazione (5.92) e il risultato del lemma 5.3.8. Vale che:

$$\begin{aligned} \mathbf{z}' L \mathbf{z} &= \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \leq 2 \left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2 \right) \\ &\leq 2 \left(\|\nabla w\|_0^2 + 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} (\beta_k^{(1)})^2 \|R_1 \nabla \phi_k\|_0^2 + 2 \sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} (\beta_k^{(2)})^2 \|R_2 \nabla \phi_k\|_0^2 \right) \end{aligned}$$

Dalle definizioni (5.94), (5.66) e (5.67) rispettivamente di \mathbf{w} , \mathbf{w}_1 e \mathbf{w}_2 , si ricava:

$$\begin{aligned} &\leq c \left(\mathbf{w}' L_V \mathbf{w} + \mathbf{w}'_1 D_{L_1} \mathbf{w}_1 + \mathbf{w}'_2 D_{L_2} \mathbf{w}_2 \right) \\ &= c \mathbf{z}' D_L \mathbf{z}, \end{aligned}$$

Utilizzando il lemma 5.3.8, vale:

$$\mathbf{z}' L \mathbf{z} = \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \geq (1 - c_{CS2}) \left(\|\nabla w\|_0^2 + \|\nabla w_1\|_0^2 + \|\nabla w_2\|_0^2 \right).$$

Sfruttando nuovamente la disuguaglianza (5.92), otteniamo la tesi con $c_1 > 0$. \square

5.3.2 Notazione e proprietà generali del metodo UIP

Nella sezione 5.2.2 abbiamo descritto la formulazione del metodo di Nitsche per un problema a coefficienti discontinui su un'interfaccia Γ . Abbiamo successivamente presentato nel paragrafo 5.3.1 la tecnica XFEM e le sue proprietà di approssimazione. Ci poniamo ora l'obiettivo di analizzare quali proprietà caratterizzano il metodo UIP che prevede l'applicazione delle tecniche XFEM a problemi con interfacce trattati secondo la formulazione di Nitsche (5.52).

Presentiamo in questo paragrafo la notazione e gli strumenti specifici necessari per sviluppare l'analisi di continuità, coercività e buona posizione del metodo UIP.

Introduciamo le seguenti norme che dipendono dalla mesh che si sta considerando:

$$\|v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 := \sum_{K \in G_h} h_K^{-1} \|v\|_{0,\Gamma_K}^2 \quad (5.96)$$

$$\|v\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 := \sum_{K \in G_h} h_K \|v\|_{0,\Gamma_K}^2. \quad (5.97)$$

Ricordiamo che G_h rappresenta l'insieme dei triangoli di griglia che vengono attraversati dall'interfaccia interna (definizione (5.12)).

Osserviamo che:

$$(u, v)_\Gamma \leq \|u\|_{1/2,h,\Gamma} \|v\|_{-1/2,h,\Gamma} \quad (5.98)$$

Definiamo quindi la norma indotta dalla forma variazionale (5.52):

$$\|v\|^2 := \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\{\nabla_n v\}_\omega\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 + \|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2 \quad (5.99)$$

Presentiamo ora tre relazioni importanti per l'analisi del metodo UIP che si riferiscono a tre differenti norme della generica funzione $v \in V^\Gamma$.

Innanzitutto ci occupiamo di riportare il risultato presentato in [HH02] per $\|\{\nabla_n v\}_H\|_{-1/2,h,\Gamma}^2$ e di estenderlo al caso $\|\{\nabla_n v\}_N\|_{-1/2,h,\Gamma}^2$.

Successivamente consideriamo una maggiorazione per $\|v\|_{0,\Gamma_K}$, ricavata sempre in [HH02].

Infine dimostriamo una disuguaglianza inversa che vale per $\|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}$ e che non viene citata nei lavori presenti in letteratura ma che è fondamentale per l'analisi del condizionamento del metodo UIP.

Consideriamo innanzitutto $\|\{\nabla_n v\}_H\|_{-1/2,h,\Gamma}^2$ e dimostriamo che tale termine può essere maggiorato tramite la norma L^2 del gradiente di v . La relazione vale sia che si scelgano i pesi di Nitsche (5.46) che di Hansbo-Hansbo (5.47). Nel secondo caso tuttavia otterremo un risultato più forte, poichè la costante della disuguaglianza non dipende dalle caratteristiche geometriche della griglia, al contrario di quanto vale per i pesi di Nitsche.

Lemma 5.3.11. *Per $v \in V^\Gamma$ e per $\{\cdot\}_N$ definita tramite i pesi w_1 e w_2 di Nitsche (5.46) vale:*

$$\|\{\nabla_n v\}_N\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 \leq C_I^N \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \quad \forall v \in V^\Gamma \quad (5.100)$$

con $C_I^N = C_I^N(h, |K_i|)$, cioè C_I^N dipendente dal passo di griglia h e dai supporti delle funzioni di base $R_i \phi_k$.

Dimostrazione. Poichè abbiamo scelto lo spazio V^Γ come lo spazio degli elementi finiti continui e lineari, il gradiente della funzione v risulta costante sul singolo elemento di griglia K_i , da cui ricaviamo che:

$$h_K \|\omega_i \nabla_n v_i\|_{0,\Gamma_K}^2 \leq h_K \omega_i^2 |\Gamma_K| |\nabla v_i|^2 = h_K \omega_i^2 \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \quad (5.101)$$

Poniamo le seguenti assunzioni:

$$\begin{aligned} |\Gamma_K| &\leq h_K \\ |K_i| &\leq h_K^2 \\ |K| &\geq ch_K^2 \end{aligned} \quad (5.102)$$

Si ottiene:

$$\begin{aligned} h_K \|\omega_i \nabla_n v_i\|_{0,\Gamma_K}^2 &\leq h_K \omega_i^2 \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &= h_K \frac{1}{4} \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &\leq \frac{1}{4} \frac{h_K^2}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &= C(h_K, |K_i|) \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \end{aligned}$$

dove abbiamo usato la prima disuguaglianza di (5.102).

In questo caso si osserva che $C = C(h_K, |K_i|)$.

La tesi si ottiene sommando su tutti gli elementi di griglia:

$$\|\{\nabla_n v\}_N\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 \leq C_I^N(h_K, |K_i|) \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \quad \forall v \in V^h. \quad (5.103)$$

Utilizzando le definizioni (5.11) delle grandezze κ_i , possiamo affermare che la costante C_I^N assume la seguente espressione:

$$C_I^N = \frac{1}{4} h^2 \max_{K \in \mathcal{T}_{hi}} \frac{1}{|K_i|} = \frac{1}{4\kappa} \quad (5.104)$$

dove abbiamo posto

$$\kappa = \min_{i=1,2} \min_{K \in \mathcal{T}_{hi}} \kappa_i \quad (5.105)$$

□

La costante C_I^N dipende sia dal passo di griglia h sia dalle aree $|K_i|$ degli elementi tagliati. In particolare si ha che se c'è un elemento K tale che $|K_i|$ tende a zero per $i = 1$ o $i = 2$ allora C_I^N tende all'infinito:

$$\lim_{|K_i| \rightarrow 0} C_I^N = \infty$$

Ciò significa che quando l'interfaccia Γ si avvicina ad un lato interno della griglia \mathcal{T}_h , vi è un elemento tale che $\kappa_i = |K_i|/|K|$ tende a zero e di conseguenza la disuguaglianza (5.100) perde di significato.

Per i pesi di Hansbo-Hansbo si può invece dimostrare che vale:

Lemma 5.3.12. *Per $v \in V^\Gamma$ e per $\{\cdot\}_H$ definita tramite i pesi w_1 e w_2 di HH (5.47) vale:*

$$\|\{\nabla_n v\}_H\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 \leq C_I \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \quad \forall v \in V^h \quad (5.106)$$

con C_I indipendente sia da h che dai supporti $|K_i|$.

Dimostrazione. Poichè abbiamo scelto lo spazio V^Γ come lo spazio degli elementi finiti continui e lineari, il gradiente della funzione v risulta costante sul singolo elemento di griglia K_i , da cui ricaviamo che:

$$h_K \|\omega_i \nabla_n v_i\|_{0,\Gamma_K}^2 \leq h_K \omega_i^2 |\Gamma_K| |\nabla v_i|^2 = h_K \omega_i^2 \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \quad (5.107)$$

Dalle assunzioni (5.102) ricaviamo in questo caso:

$$\begin{aligned} h_K \|\omega_i \nabla_n v_i\|_{0,\Gamma_K}^2 &\leq h_K \omega_i^2 \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &= h_K \frac{|K_i|^2}{|K|^2} \frac{|\Gamma_K|}{|K_i|} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &\leq h_K \frac{|h_K|^2}{c^2 h_K^4} h_K \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \\ &= \frac{1}{c^2} \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 = C \|\nabla v_i\|_{0,K_i}^2 \end{aligned}$$

Evidenziamo il fatto che la costante C non dipende dai parametri geometrici.

Analogamente a quanto fatto per il caso di Nitsche, la tesi si ottiene sommando su tutti gli elementi di griglia:

$$\|\{\nabla_n v\}_H\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 \leq C_I \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \quad \forall v \in V^h \quad (5.108)$$

dove la C_I è una costante numerica. \square

La seconda norma che consideriamo è la seguente: $\|v\|_{0,\Gamma_K}$. Riportiamo il risultato e rimandiamo a [HH02] per la sua dimostrazione.

Lemma 5.3.13. *Dato $K \in \mathcal{T}_h$, triangolazione costruita secondo le ipotesi del metodo XFEM, esiste una costante C tale che:*

$$\|v\|_{0,\Gamma_K}^2 \leq C \|v\|_{0,K} \|v\|_{1,K} \quad (5.109)$$

Da questo risultato si ricava un'altra importante relazione, che verrà poi utilizzata nell'analisi del metodo UIP. Si può dimostrare che vale:

$$\|v_i\|_{0,\Gamma_K}^2 \leq C(h_K^{-1}\|v_i\|_{0,K}^2 + h_K\|v_i\|_{1,K}^2) \quad \forall v_i \in R_i V \quad \text{per } i = 1, 2. \quad (5.110)$$

Infine prendiamo in esame la norma L^2 del gradiente: $\|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2$. In generale, per uno spazio elementi finiti standard, si può dimostrare che vale una disuguaglianza inversa che lega la norma del gradiente di v con la norma L^2 di v , a meno di una costante dipendente dal passo di discretizzazione h [QV04]. Nel contesto degli XFEM, la disuguaglianza inversa necessita di essere modificata opportunamente. Per dimostrare questo risultato abbiamo bisogno di definire la seguente norma:

$$\|v\|_{0,\cup \mathcal{T}_{hi}}^2 := \sum_{i=1,2} \sum_{K \in \mathcal{T}_{hi}} \|E_i R_i v\|_{0,K}^2 \quad (5.111)$$

dove \mathcal{T}_{hi} sono definite in (5.18) e l'operatore E_i è definito da (5.22). Sottolineiamo che la norma appena definita differisce dalla norma $\|\cdot\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}$ poichè viene costruita mediante la sommatoria delle norme L^2 sui triangoli K , appartenenti a \mathcal{T}_{hi} , presi interamente e non solo sulle restrizioni K_i . Vale il seguente risultato:

Lemma 5.3.14. *Data $v \in V^\Gamma$, vale la seguente disuguaglianza inversa:*

$$\|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \leq Ch^{-2} \|v\|_{0,\cup \mathcal{T}_{hi}}^2 \quad (5.112)$$

Dimostrazione. Per definizione si ha che:

$$\begin{aligned} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &= \sum_{i=1,2} \|\nabla R_i v\|_{0,\Omega_i}^2 \\ &= \sum_{i=1,2} \sum_{K \in \mathcal{T}_{hi}} \|\nabla R_i v\|_{0,K_i}^2 \end{aligned}$$

Essendo $K_i \subseteq K$, vale:

$$\begin{aligned} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &\leq \sum_{i=1,2} \sum_{K \in \mathcal{T}_{hi}} \|\nabla E_i R_i v\|_{0,K}^2 \\ &= \sum_{i=1,2} \|\nabla E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2 \end{aligned}$$

Le quantità $\|\nabla E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}$ corrispondono esattamente alle norme sugli spazi ad elementi finiti standard, di primo grado, definiti sulle griglie quasi-uniformi \mathcal{T}_{hi} . Possiamo dunque utilizzare la disuguaglianza inversa, per la cui dimostrazione rimandiamo a [QV04]:

$$\|\nabla E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2 \leq Ch^{-2} \|E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2 \quad (5.113)$$

Vale dunque:

$$\begin{aligned} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 &\leq Ch^{-2} \sum_{i=1,2} \|E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2 \\ &= Ch^{-2} \|v\|_{0,\cup \mathcal{T}_{hi}}^2 \end{aligned}$$

che dimostra la tesi. \square

Vi sono ulteriori relazioni, utili per l'analisi del condizionamento del problema (5.53), che valgono in generale per tutte le funzioni di uno spazio ad elementi finiti. Riportiamo di seguito i risultati omettendo le dimostrazioni.

- *Disuguaglianza di Poincarè*[QV04].

Sia Ω un insieme limitato di \mathbb{R}^d , allora esiste una costante C_Ω , dipendente dal dominio, tale che:

$$\|v\|_{0,\Omega} \leq C_\Omega \|v\|_{1,\Omega} \quad \forall v \in H_{\Gamma_D}^1(\Omega) \quad (5.114)$$

dove $\Gamma_D \subseteq \partial\Omega$. Essendo $R_i V \subset H_{\partial\Omega \cap \partial\Omega_i}^1(\Omega_i)$, la disuguaglianza di Poincarè vale per ogni $v_i \in R_i V$.

- *Equivalenza norma L^2 - norma euclidea*[QV04].

Sia V_h uno spazio ad elementi finiti standard su un dominio Ω . Esistono due costanti $c_2, c_1 \geq 0$ indipendenti dalla geometria della mesh, tali che:

$$c_1 h^d |\mathbf{v}|^2 \leq \|v\|_{0,\Omega}^2 \leq c_2 h^d |\mathbf{v}|^2 \quad \forall v \in V_h \quad (5.115)$$

dove h è il passo di griglia, d la dimensione del problema e \mathbf{v} il vettore dei valori nodali di v . Gli spazi ad elementi finiti standard che vengono utilizzati all'interno del metodo XFEM sono esattamente: V , $E_1 R_1 V$ e $E_2 R_2 V$ definiti rispettivamente sulle griglie \mathcal{T}_h , \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} . Possiamo quindi affermare che l'equivalenza (5.115) vale per ogni funzione appartenente a V oppure a $E_1 R_1 V$ oppure a $E_2 R_2 V$.

5.3.3 Consistenza, limitatezza, stabilità e convergenza del metodo UIP

Avendo definito gli strumenti necessari, procediamo ora con la vera e propria analisi del metodo Unfitted Interface Penalty. Analizziamo in questo paragrafo tre proprietà fondamentali: la consistenza, la continuità, legata alla limitatezza, e la coercività, legata alla stabilità. Queste caratteristiche sono necessarie per affermare la buona posizione del problema discreto.

Riprendiamo quindi le definizioni (5.52) e (5.49) rispettivamente della forma variazionale $a_h(\cdot, \cdot)$ e del funzionale $f(\cdot)$ e ipotizziamo di utilizzare le medie definite secondo i pesi di Hansbo-Hansbo. Per semplicità di notazione ci riferiamo ai termini $\{\cdot\}_{HH}$ omettendo il pedice HH . D'ora in poi porremo quindi:

$$\boxed{\{\cdot\}} = \{\cdot\}_{HH}. \quad (5.116)$$

Per il problema debole discreto (5.53) vale il seguente risultato di consistenza [HH02].

Lemma 5.3.15. *Il problema discreto (5.53) è consistente; data \bar{u} soluzione di (5.2) vale infatti:*

$$a_h(\bar{u}, v) = f(v), \quad \forall v \in V^\Gamma \quad (5.117)$$

Dimostrazione. Se \bar{u} è soluzione di (5.2), possiamo affermare che $[\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}] = 0$, vale dunque:

$$\begin{aligned} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}\} &= \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}\} - \kappa_1 [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}] \\ &= \kappa_1 \alpha_1 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_1 + \kappa_2 \alpha_2 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_2 - \kappa_1 \alpha_1 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_1 + \kappa_2 \alpha_2 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_2 \\ &= \alpha_2 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_2 \end{aligned}$$

Utilizzando sempre la condizione $[\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}] = 0$, si ottiene:

$$\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}\} = \alpha_2 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_2 = \alpha_1 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_1$$

Sapendo che vale $[\bar{u}] = 0$, applicando la formula di Green e inserendo le relazioni appena trovate nella definizione di $a_h(\cdot, \cdot)$ (5.52), possiamo scrivere:

$$\begin{aligned} a_h(\bar{u}, v) &= (\alpha \nabla \bar{u}, \nabla v)_{\Omega_1 \cup \Omega_2} - (\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}\}, v_1 - v_2)_{\Gamma} \\ &= (\alpha \nabla \bar{u}, \nabla v)_{\Omega_1 \cup \Omega_2} - (\alpha_1 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_1, v_1)_{\Gamma} + (\alpha_2 \nabla_{\mathbf{n}} \bar{u}_2, v_2)_{\Gamma} \\ &= -(\nabla \cdot (\alpha \nabla \bar{u}), v)_{\Omega_1 \cup \Omega_2} = f(v) \end{aligned}$$

che dimostra la tesi. \square

Il funzionale bilineare $a_h(\cdot, \cdot)$ è limitato e continuo. Possiamo infatti enunciare il seguente risultato:

Lemma 5.3.16. *La forma discreta $a_h(\cdot, \cdot)$, definita dalla (5.52), è continua, esiste cioè $0 < M < +\infty$ tale che:*

$$|a_h(u, v)| \leq M \|u\| \|v\| \quad \forall u \in V^{\Gamma}, \forall v \in V^{\Gamma} \quad (5.118)$$

Dimostrazione. Definiamo $\lambda = \gamma h_K^{-1}$.

$$\begin{aligned} |a_h(u, v)| &= \left| \int_{\Omega_1} \alpha_1 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega_2} \alpha_2 \nabla u \nabla v + \int_{\Omega} \sigma uv \right. \\ &\quad \left. - \int_{\Gamma} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}_{\omega} [u] - \int_{\Gamma} \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}_{\omega} [v] + \int_{\Gamma} \lambda [u] [v] \right| \\ &\leq \max_{\Omega} \alpha \|\nabla u\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} + \sigma \|u\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \|v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \\ &\quad + \| [u] \|_{1/2, h, \Gamma} \| \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}_{\omega} \|_{-1/2, h, \Gamma} \\ &\quad + \| [v] \|_{1/2, h, \Gamma} \| \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}_{\omega} \|_{-1/2, h, \Gamma} + \gamma \| [u] \|_{1/2, h, \Gamma} \| [v] \|_{1/2, h, \Gamma} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&\leq \max \left(\max_{\Omega} \alpha, \sigma, 1, \gamma \right) \left(\|\nabla u\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2} \|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2} \right. \\
&\quad + \|u\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2} \|v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2} + \|[u]\|_{1/2,h,\Gamma} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}_{\omega}\|_{-1/2,h,\Gamma} \\
&\quad \left. + \|[v]\|_{1/2,h,\Gamma} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}_{\omega}\|_{-1/2,h,\Gamma} + \|[u]\|_{1/2,h,\Gamma} \|[v]\|_{1/2,h,\Gamma} \right)
\end{aligned}$$

In conclusione:

$$|a_h(u, v)| \leq 2 \max \left(\max_{\Omega} \alpha, \sigma, 1, \gamma \right) \|u\| \|v\| \quad (5.119)$$

Definiamo allora la costante di continuit :

$$M = 2 \max \left(\max_{\Omega} \alpha, \sigma, 1, \gamma \right) \quad (5.120)$$

□

Vale inoltre la seguente stima di coercivit :

Lemma 5.3.17. *La forma discreta $a_h(\cdot, \cdot)$   coerciva. Esiste $\alpha_C \geq 0$ tale che:*

$$a_h(v, v) \geq \alpha_C \|v\|^2 \quad \forall v \in V^{\Gamma} \quad (5.121)$$

Dimostrazione. Valgono i seguenti passaggi:

$$\begin{aligned}
a_h(v, v) &= \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
&\quad - 2([v], \{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\})_{\Gamma} + \|\lambda^{1/2} [v]\|_{0,\Gamma}^2 \\
&\geq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
&\quad - 2\|[v]\|_{1/2,h,\Gamma} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2,h,\Gamma} + \|\lambda^{1/2} [v]\|_{0,\Gamma}^2 \\
&\geq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
&\quad - \frac{1}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 - \varepsilon \|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2 + \|\lambda^{1/2} [v]\|_{0,\Gamma}^2 \\
&\geq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
&\quad - \frac{1}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 + \sum_{K \in G_h} \left(\lambda - \frac{\varepsilon}{h_K} \right) \|[v]\|_{0,\Gamma_K}^2
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1}{2} \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \frac{1}{2} \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
 &\quad - \frac{2}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 + \frac{1}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 \\
 &\quad + (\gamma - \varepsilon) \| [v] \|_{1/2, h, \Gamma}^2
 \end{aligned}$$

A questo punto utilizziamo il risultato della disuguaglianza inversa (5.106), che ci permette di scrivere:

$$-\frac{2}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 \geq -\frac{2}{\varepsilon} C_I \|\alpha \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \geq -\frac{2}{\varepsilon} C_I \max_{\Omega} \alpha \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \quad (5.122)$$

Introduciamo la stima (5.122) all'interno della stima di coercività,

$$\begin{aligned}
 a_h(v, v) &\geq \frac{1}{2} \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
 &\quad + \left(\frac{1}{2} - \frac{2C_I \max_{\Omega} \alpha}{\varepsilon} \right) \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\
 &\quad + \frac{1}{\varepsilon} \|\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 + (\gamma - \varepsilon) \| [v] \|_{1/2, h, \Gamma}^2
 \end{aligned}$$

Per annullare il terzo termine del membro di destra, poniamo

$$\varepsilon = 4C_I \max_{\Omega} \alpha \quad (5.123)$$

e per garantire la positività dell'ultimo termine della stima deve essere soddisfatto che:

$$\gamma - \varepsilon > 0$$

$$\gamma > 4C_I \max_{\Omega} \alpha \quad (5.124)$$

In questo modo si garantisce la positività di tutti i coefficienti presenti nella stima di coercività, per cui possiamo concludere che:

$$a_h(v, v) \geq \min \left(\frac{1}{2} \min_{\Omega} \alpha, \sigma, \frac{(\min_{\Omega} \alpha)^2}{4C_I \max_{\Omega} \alpha}, \gamma - 4C_I \max_{\Omega} \alpha \right) \|v\|^2 \quad (5.125)$$

Si può osservare che il minimo fra i coefficienti presenti nella stima di coercività (5.125), nel caso in cui il coefficiente del termine di reazione è sufficientemente elevato, risulta essere $\frac{(\min_{\Omega} \alpha)^2}{4C_I \max_{\Omega} \alpha}$, per cui:

$$a_h(v, v) \geq \alpha_C \|v\|^2 \quad (5.126)$$

dove

$$\alpha_C = \frac{(\min_{\Omega} \alpha)^2}{4C_I \max_{\Omega} \alpha} \quad (5.127)$$

□

Riportiamo ora alcune osservazioni. Il coefficiente di coercività dipende dal rapporto fra i due coefficienti di diffusione ed è tanto più piccolo quanto più il salto fra i coefficienti è grande. Questo potrebbe creare dei problemi di stabilità, che verranno analizzati meglio in seguito.

Il parametro γ deve essere scelto in modo da garantire la positività del coefficiente moltiplicativo del termine $\| [v] \|_{1/2,h,\Gamma}^2$. Abbiamo ricavato la condizione (5.124) che ci dice quando la positività è garantita. Si osserva che γ è direttamente proporzionale al massimo fra i coefficienti di diffusione del problema e alla costante della disuguaglianza inversa, C_I .

Le proprietà di continuità e coercività sono state ricavate ipotizzando di utilizzare la formulazione del problema secondo i pesi di Hansbo-Hansbo. I risultati valgono analogamente nel caso dei pesi di Nitsche a patto di inserire, nella stima di coercività, al posto della costante C_I , la costante C_I^N . Abbiamo dimostrato che per il metodo di Nitsche vale $C_I^N = C_I^N(h_K, |K_i|)$, da cui si può concludere che il valore di γ dipende dalla dimensione della griglia tramite i parametri $|K|$ e h_K^2 e dalla posizione dell'interfaccia tramite $\kappa_i = |K_i|/|K|$. In particolare, abbiamo osservato che il valore di C_I^N è tanto più grande, quanto più i pesi κ_i sono sbilanciati fra loro. Di conseguenza, anche γ avrà un andamento del tutto simile. Lo stesso comportamento non si registra per il metodo Hansbo-Hansbo, dove la C_I è indipendente dalla posizione dell'interfaccia.

Un discorso analogo può essere fatto per la costante di coercività. Infatti di nuovo si ha che $\alpha_C = \alpha_C(C_I)$. In particolare, per il metodo di Nitsche, troviamo:

$$\alpha_C = \alpha_C(C_I^N) = \alpha_C(4\kappa)$$

dove κ è definito nella (5.105).

Viceversa, per il metodo di Hansbo-Hansbo, la costante di coercività dipende esclusivamente dal salto dei coefficienti di diffusione del problema ed è insensibile alla posizione dell'interfaccia.

Per ultimo osserviamo che la costante M dipende dal valore che viene attribuito a γ e può dunque variare a seconda del metodo che si sta considerando.

Osserviamo che il problema (5.53) consiste in un'approssimazione di tipo Petrov-Galerkin del problema (5.2) in uno spazio V^Γ che non è H^1 -conforme. Per la buona posizione di (5.53) non è quindi sufficiente utilizzare il lemma di Lax-Milgram. In alternativa, utilizziamo il teorema 2.22 di [EG04] che si basa sulla generalizzazione del lemma di Lax-Milgram tramite opportune condizioni inf-sup. A partire da questo risultato concludiamo che (5.121) assicura che $Ker(A) = \emptyset$ dove A è la matrice che corrisponde ad $a_h(\cdot, \cdot)$.

Lemma 5.3.18. *Dato il problema (5.53), con V^Γ spazio di Hilbert, $a_h(\cdot, \cdot)$ continua e coerciva su V^Γ e $f(\cdot)$ continuo su V^Γ , esiste unica $u \in V^\Gamma$ soluzione di (5.53).*

Vale inoltre la seguente stima di stabilizzazione:

$$\| \|u\| \| \leq \frac{M}{\alpha_C} \|f\|_{0,\Omega}. \quad (5.128)$$

In base ai risultati ricavati per M e per α_C possiamo scrivere:

$$\frac{M}{\alpha_C} = 2 \max_{\Omega} \alpha \frac{4C_I \max_{\Omega} \alpha}{(\min_{\Omega} \alpha)^2} = 8C_I \left(\frac{\max_{\Omega} \alpha}{\min_{\Omega} \alpha} \right)^2 \quad (5.129)$$

La relazione appena riportata mostra che la stima di stabilità della soluzione discreta dipende dal salto dei coefficienti di diffusione: maggiore è tale quantità, maggiore è la possibilità di riscontrare oscillazioni nella soluzione del problema.

Vale inoltre il seguente risultato sull'errore di convergenza, ottenuto grazie al teorema 5.3.1. Per la dimostrazione rimandiamo a [HH02].

Teorema 5.3.19. *Detta \bar{u} la soluzione di (5.2) e u la soluzione di (5.53), valgono i seguenti risultati sulla stima dell'errore a priori:*

$$\|u - \bar{u}\|_0 \leq Ch^2 \|\bar{u}\|_{2, \Omega_1 \cup \Omega_2} \quad (5.130)$$

e

$$\|u - \bar{u}\|_1 \leq Ch \|\bar{u}\|_{2, \Omega_1 \cup \Omega_2} \quad (5.131)$$

Il teorema 5.3.19 mostra che lo spazio XFEM V^Γ presenta un ordine di convergenza ottimale dell'errore di approssimazione.

5.3.4 Analisi del numero di condizionamento

In questo paragrafo ricaviamo una stima per i numeri di condizionamento delle matrici A^H e A^R , definite dalle (5.58) e (5.69). Ricordiamo che queste due matrici sono generate dal medesimo spazio a elementi finiti estesi ma sono descritte da basi differenti. Il teorema 5.2.2 indica quali relazioni legano i valori nodali delle funzioni espresse tramite la base di Reusken con quelli espressi tramite la base di Hansbo-Hansbo. In virtù di questo risultato è possibile ricavare la stima del numero di condizionamento per la sola matrice A^R e affermare che, a meno di costanti moltiplicative, il risultato vale anche per la matrice A^H .

Per semplicità, ci riferiamo ad A^R con la notazione A e, in riferimento alla (5.68), indichiamo con \mathbf{z} il vettore delle componenti nodali della generica funzione $v \in V^\Gamma$ espressa tramite le basi di Reusken. Chiamiamo λ_j il j -esimo autovalore della matrice A a cui viene associato un autovettore \mathbf{z}_j , vale che

$$\mathbf{z}'_j A \mathbf{z}_j = \lambda_j \mathbf{z}'_j \mathbf{z}_j. \quad (5.132)$$

Il numero di condizionamento è definito dalla seguente formula:

$$\mathcal{K}(A) = \frac{\lambda_{max}(A)}{\lambda_{min}(A)} \quad (5.133)$$

dove λ_{max} e λ_{min} sono rispettivamente il massimo e il minimo degli autovalori della matrice A . Posto N pari alla dimensione dello spazio V^Γ e perciò pari anche alla dimensione della matrice A , per definizione si ha che:

$$\lambda_{max} = \max_j \lambda_j = \sup_{\mathbf{z} \in \mathbb{R}^N} \frac{\mathbf{z}' A \mathbf{z}}{|\mathbf{z}|^2} \quad (5.134)$$

$$\lambda_{min} = \min_j \lambda_j = \inf_{\mathbf{z} \in \mathbb{R}^N} \frac{\mathbf{z}' A \mathbf{z}}{|\mathbf{z}|^2} \quad (5.135)$$

Al fine di stimare il numero di condizionamento cerchiamo una stima dei due autovalori, massimo e minimo, sfruttando l'uguaglianza:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \quad (5.136)$$

dove v è la funzione di V^Γ costruita a partire dai valori nodali contenuti nel vettore \mathbf{z} . Cerchiamo quindi due costanti C_{min} e C_{max} , eventualmente dipendenti dai parametri geometrici, tali che:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \geq C_{min} |\mathbf{z}|^2 \quad (5.137)$$

e

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \leq C_{max} |\mathbf{z}|^2 \quad (5.138)$$

Stima dell'autovalore minimo

Vale la seguente stima per l'autovalore minimo di A :

$$\lambda_{min} \geq \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2}\right) (1 - c_{CS}) C_{min}(h, \kappa). \quad (5.139)$$

con α_C costante di coercività ricavata nel lemma 5.3.17, C_p è la costante di Poincarè (5.114), c_{CS} è definita dal lemma 5.3.3 e $C_{min}(h, \kappa)$ è dipendente dal passo di griglia h e dalle aree degli elementi $|K_i|$.

Ricaviamo il risultato (5.139) cercando un'opportuna minorazione per l'espressione $\mathbf{z}' A \mathbf{z}$. Partiamo dall'uguaglianza (5.136) e sfruttiamo la proprietà di coercività (5.126) ricavata per $a_h(\cdot, \cdot)$ nella sezione 5.3.3. Possiamo dunque scrivere:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \geq \alpha_C |||v|||^2, \quad (5.140)$$

con α_C definita dalla (5.127). Sostituiamo la norma $||| \cdot |||$ con la sua definizione (5.99), otteniamo:

$$a_h(v, v) \geq \alpha_C (\|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\{\nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 + \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2). \quad (5.141)$$

Poichè i termini $\|\{\nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2$ e $\|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2$ sono non negativi possiamo semplificare l'espressione (5.141) e scrivere:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \geq \alpha_C (\|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2). \quad (5.142)$$

L'argomento di destra della relazione (5.142) è formato da due termini: il primo, la norma L^2 del gradiente, rappresenta il contributo della diffusione, il secondo è invece il contributo della reazione. Si potrebbe in questo caso osservare che $\|\nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2$ è un termine non negativo e di conseguenza semplificarlo come è già stato fatto per le

norme dei salti e delle medie. Tuttavia nel caso in cui il coefficiente reattivo σ del problema (5.2) fosse nullo, la norma $\|\cdot\|$ andrebbe ridefinita nel seguente modo:

$$\|v\|^2 := \|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\{\nabla_{\mathbf{n}}v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 + \|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2 \quad (5.143)$$

Al posto della (5.142) si otterrebbe quindi:

$$\mathbf{z}'A\mathbf{z} = a_h(v, v) \geq \alpha_C (\|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2). \quad (5.144)$$

A questo punto non si potrebbe più ripetere il ragionamento fatto in precedenza e basato sulla non negatività della norma del gradiente. Volendo invece ottenere una stima generale per l'autovalore minimo che risulti valida sia nel caso in cui il coefficiente di reazione sia diverso da zero, sia nel caso in cui sia nullo, non semplifichiamo la norma del gradiente nella relazione (5.142), bensì ne cerchiamo una minorazione dipendente dalla norma euclidea del vettore \mathbf{z} .

Poichè $v \in V^\Gamma$ e $V^\Gamma \subset H_0^1(\Omega)$, nella relazione (5.142), possiamo utilizzare la disuguaglianza di Poincarè (5.114) per minorare il termine della norma L^2 del gradiente:

$$\mathbf{v}'A\mathbf{v} = a(v, v) \geq \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2}\right) \|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2. \quad (5.145)$$

Utilizziamo le funzioni $w \in V$, $w_1 \in V_1^\Gamma$ e $w_2 \in V_2^\Gamma$, definite dalla (5.80) e minoriamo grazie al lemma 5.3.4, si ottiene:

$$\|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \geq (1 - c_{CS}) (\|w\|_0^2 + \|w_1\|_0^2 + \|w_2\|_0^2) \quad (5.146)$$

La funzione w appartiene a V , spazio ad elementi finiti standard, vale quindi la relazione (5.81):

$$\|w\|_0^2 \geq c_1 \sum_{k=1}^n w_k^2 \|\phi_k\|_0^2 \quad (5.147)$$

Per le funzioni w_1 e w_2 utilizziamo invece il risultato del lemma 5.3.5, si ottiene:

$$\|w_i\|_0^2 \geq \tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \left(\beta_k^{(i)}\right)^2 \|R_i \phi_k\|_0^2 \text{ per } i = 1, 2. \quad (5.148)$$

Inserendo le stime (5.147) e (5.148) nella (5.146) si ottiene:

$$\begin{aligned} \|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 &\geq (1 - c_{CS}) \left(c_1 \sum_{k=1}^n w_k^2 \|\phi_k\|_0^2 \right. \\ &\quad \left. + \tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} \left(\beta_k^{(1)}\right)^2 \|R_1 \phi_k\|_0^2 + \tilde{c}_1 \sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} \left(\beta_k^{(2)}\right)^2 \|R_2 \phi_k\|_0^2 \right) \end{aligned} \quad (5.149)$$

Definiamo $\tilde{c}_{k,min}$ e C_{min} nel seguente modo:

$$\tilde{c}_{k,min}(h, \kappa) = \tilde{c}_1 \min_{i=1,2} \|R_i \phi_k\|_0 \geq ch^d \kappa \quad (5.150)$$

$$C_{min}(h, \kappa) = \min_k (c_1 \|\phi_k\|, \tilde{c}_{k,min}) \gtrsim h^d \min(c_1, c\kappa) \quad (5.151)$$

dove κ è definita dalla (5.105). La relazione (5.149) diventa:

$$\|v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \geq (1 - c_{CS}) C_{min}(h, \kappa) \left(\sum_{k=1}^n w_k^2 + \sum_{k \in \mathcal{I}_1^\Gamma} (\beta_k^{(1)})^2 + \sum_{k \in \mathcal{I}_2^\Gamma} (\beta_k^{(2)})^2 \right). \quad (5.152)$$

Riprendendo la definizione di \mathbf{z} (5.68) e sostituendo il risultato (5.152) nella (5.145), si ottiene infine:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a(v, v) \geq \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2} \right) (1 - c_{CS}) C_{min}(h, \kappa) |\mathbf{z}|^2. \quad (5.153)$$

e perciò

$$\lambda_{min} \geq \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2} \right) (1 - c_{CS}) C_{min}(h, \kappa). \quad (5.154)$$

Ridefiniamo

$$\tilde{\alpha}_C = \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2} \right) (1 - c_{CS}).$$

Risulta importante sottolineare che $C_{min}(h, \kappa)$ dipende dal passo di griglia h e dalle aree $|K_i|$, in particolare, C_{min} tende ad annullarsi se almeno una di queste aree tende a zero. Infatti quando c'è un elemento K tale che $|K_i|$ è molto piccolo, la porzione di interfaccia Γ_K tende a coincidere con un lato di K stesso. In questo caso l'autovalore minimo tende ad annullarsi e si perde quindi la definita positività della matrice A .

Stima dell'autovalore massimo

Vale la seguente stima per l'autovalore massimo di A :

$$\lambda_{max} \leq \tilde{M} h^d (h^{-2} + 1 + h^{-2} \tilde{C}_I + h^{-2}). \quad (5.155)$$

Come abbiamo fatto per l'autovalore minimo, ci occupiamo ora di ricavare la stima (5.155) partendo nuovamente dall'uguaglianza (5.136). Utilizzando la proprietà di continuità (5.118) di $a_h(\cdot, \cdot)$ possiamo affermare che vale la seguente:

$$\mathbf{z}' A \mathbf{z} = a_h(v, v) \leq M \|v\|^2. \quad (5.156)$$

Da cui, sostituendo la definizione di $\|\cdot\|$, si ottiene:

$$a(v, v) \leq M \left(\underbrace{\|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2}_1 + \underbrace{\|v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2}_2 + \underbrace{\|\{\nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2}_3 + \underbrace{\|v\|_{1/2,h,\Gamma}^2}_4 \right). \quad (5.157)$$

Analizziamo separatamente i quattro addendi che formano il termine di destra della disuguaglianza (5.157) e per ciascuno di essi cerchiamo una maggiorazione in funzione della norma euclidea $|\mathbf{z}|^2$, dove \mathbf{z} è il vettore delle componenti nodali associate a v secondo la base di Reusken.

1. Consideriamo dapprima il termine della norma L^2 del gradiente di v e utilizziamo il risultato del lemma 5.3.14:

$$\|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \leq Ch^{-2}\|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2, \quad (5.158)$$

Per definizione della norma $\|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2$ vale che:

$$\|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2 = \sum_{i=1,2} \|E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2. \quad (5.159)$$

Essendo $\|E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2$ la norma L^2 dello spazio elementi finiti standard di primo grado costruiti sulla triangolazione T_{hi} possiamo applicare la maggiorazione della relazione (5.115) e scrivere:

$$\begin{aligned} \|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2 &= \sum_{i=1,2} \|E_i R_i v\|_{0,\mathcal{T}_{hi}}^2 \\ &\leq ch^d \sum_{i=1,2} |\mathbf{v}_i|^2 \\ &\leq ch^d |\mathbf{v}|^2 \end{aligned}$$

dove d è la dimensione spaziale e \mathbf{v}_1 , \mathbf{v}_2 e \mathbf{v} sono definiti rispettivamente in (5.55), (5.56) e (5.57). Data l'equivalenza tra la base di Reusken e la base di Hansbo-Hansbo, vale la seguente:

$$\|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2 \leq ch^d |\mathbf{z}|^2 \quad (5.160)$$

Inserendo la stima (5.160) nella (5.158), possiamo affermare che vale:

$$\|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \leq ch^{d-2} |\mathbf{z}|^2 \quad (5.161)$$

2. Analizziamo il secondo contributo della stima (5.157): $\|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2$. Considerando che $(\Omega_1 \cup \Omega_2) \subset \cup_i \mathcal{T}_{hi}$ e utilizzando la maggiorazione ricavata precedentemente nella (5.160), vale la seguente:

$$\|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \leq \|v\|_{0,\cup\mathcal{T}_{hi}}^2 \leq ch^d |\mathbf{z}|^2 \quad (5.162)$$

3. Analizziamo il terzo termine: $\|\{\nabla_{\mathbf{n}} v_h\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2$. Questo contributo si può direttamente stimare utilizzando la disuguaglianza inversa di Hansbo-Hansbo (5.106) e successivamente utilizzando la stima per $\|\nabla v_h\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2$ ottenuta al punto 1. Si ottiene:

$$\|\{\nabla_{\mathbf{n}} v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 \leq C_I \|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \leq \tilde{C}_I h^{d-2} |\mathbf{z}|^2 \quad (5.163)$$

4. Da ultimo stimiamo il termine: $\|[v_h]\|_{1/2,h,\Gamma}^2$. Scomponiamo innanzitutto la norma del salto in due parti distinte, otteniamo:

$$\|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2 = \|R_1 v - R_2 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 \leq 2(\|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 + \|R_2 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2) \quad (5.164)$$

Ricaviamo una stima per il termine $\|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2$, essendo la stima analoga anche per $\|R_2 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2$. Per definizione si ha che:

$$\|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 = \sum_{K \in G_h} h_K^{-1} \|R_1 v\|_{0,\Gamma_K}^2 \quad (5.165)$$

che esplicitamente si può riscrivere nel seguente modo:

$$\|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 = \sum_{K \in G_h} h_K^{-1} \int_{\Gamma_K} R_1 v^2 \quad (5.166)$$

Utilizzando la disuguaglianza di traccia (5.110) otteniamo:

$$\|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 = \sum_{K \in G_h} h_K^{-1} \int_{\Gamma_K} R_1 v^2 \leq \sum_{K \in G_h} \left[\|\nabla R_1 v\|_{0,K}^2 + h_K^{-2} \|R_1 v\|_{0,K}^2 \right]. \quad (5.167)$$

Estendiamo la sommatoria a tutti i triangoli della griglia \mathcal{T}_{h_1} , per definizione si ottiene:

$$\begin{aligned} \|R_1 v\|_{1/2,h,\Gamma}^2 &\leq \sum_{K \in G_h} \left[\|\nabla R_1 v\|_{0,K}^2 + h_K^{-2} \|R_1 v\|_{0,K}^2 \right] \\ &\leq \sum_{K \in \mathcal{T}_{h_1}} \left[\|\nabla R_1 v\|_{0,K}^2 + h_K^{-2} \|R_1 v\|_{0,K}^2 \right] \\ &\leq \|\nabla v\|_{0,\Omega_1}^2 + h^{-2} \|v\|_{0,\Omega_1}^2 \end{aligned}$$

Inseriamo la stima appena ricavata e l'analoga per il caso $i = 2$, nella relazione (5.164):

$$\| [v] \|_{1/2,h,\Gamma}^2 \leq 2 \left(\|\nabla v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + h^{-2} \|v\|_{0,\Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \right) \quad (5.168)$$

Per il primo termine dell'argomento di destra, sfruttiamo ora il risultato del lemma (5.3.14), mentre per il secondo termine consideriamo che

$$(\Omega_1 \cup \Omega_2) \subset \bigcup_i \mathcal{T}_{hi},$$

vale dunque:

$$\| [v] \|_{1/2,h,\Gamma}^2 \leq ch^{-2} \|v\|_{0,\cup \mathcal{T}_{hi}}^2 \quad (5.169)$$

Utilizzando la relazione (5.160) ricaviamo:

$$\| [v] \|_{1/2,h,\Gamma}^2 \leq ch^{d-2} |\mathbf{z}|^2 \quad (5.170)$$

Infine inseriamo le stime (5.161), (5.162), (5.163) e (5.170) nella (5.157), otteniamo:

$$a(v, v) \leq \widetilde{M} h^d (h^{-2} + 1 + \widetilde{C}_I h^{-2} + h^{-2}) |\mathbf{z}|^2. \quad (5.171)$$

Abbiamo quindi ricavato la stima per λ_{max} :

$$\lambda_{max} \leq \widetilde{M}h^d(h^{-2} + 1 + h^{-2}\widetilde{C}_I + h^{-2}). \quad (5.172)$$

Dalla relazione (5.155) possiamo dunque affermare che l'autovalore massimo è indipendente dai pesi κ_i ma dipende dal passo di griglia h , specificatamente λ_{max} scala come h^{d-2} . In una dimensione quindi ci aspettiamo di osservare che l'autovalore massimo scali come h^{-1} .

Numero di condizionamento

Dalle stime dell'autovalore massimo e dell'autovalore minimo possiamo ottenere una stima per il condizionamento della matrice A . Inserendo le relazioni (5.155) e (5.139) nella definizione di $\mathcal{K}(A)$ (5.133) otteniamo:

$$\mathcal{K}(A) = \frac{\lambda_{max}(A)}{\lambda_{min}(A)} \leq \frac{\widetilde{M}h^d(h^{-2} + 1 + h^{-2}\widetilde{C}_I + h^{-2})}{\widetilde{\alpha}_C C_{min}(h, \kappa)}. \quad (5.173)$$

Il numero di condizionamento dipende dai seguenti fattori:

- *Passo di griglia h* . Si può affermare che vale:

$$\mathcal{K}(A) \leq \frac{\widetilde{M}(h^{d-2} + 1 + h^{-2}\widetilde{C}_I + h^{-2})}{\widetilde{\alpha}_C C_{min}(h, \kappa)} \sim \frac{h^{d-2}}{C_{min}(h, \kappa)} \quad (5.174)$$

Dalla (5.151) si ha $C_{min}(h, \kappa) \gtrsim h^d \min(c_1, c\kappa)$. La dipendenza del numero di condizionamento dal passo di griglia h deriva sia dall'autovalore massimo, sia dall'autovalore minimo. Abbiamo:

$$\mathcal{K}(A) \sim \frac{h^{d-2}}{h^d} \div h^{-2}, \quad (5.175)$$

ci aspettiamo dunque che il numero di condizionamento aumenti al diminuire del passo h .

- *Posizione dell'interfaccia Γ* . Fissiamo ora il passo di griglia e ci focalizziamo sui termini dipendenti dalle aree degli elementi che vengono attraversati dall'interfaccia. Si ottiene:

$$\mathcal{K}(A) \leq \frac{\widetilde{M}(h^{d-2} + 1 + h^{-2}\widetilde{C}_I + h^{-2})}{\widetilde{\alpha}_C C_{min}(h, \kappa)} \sim \frac{1}{C_{min}(h, \kappa)} \quad (5.176)$$

Essendo il massimo autovalore indipendente dalla posizione dell'interfaccia, il numero di condizionamento dipende dalle aree $|K_i|$ attraverso il termine C_{min} , presente nella stima del minimo autovalore. Quest'ultimo dipende infatti dalle norme $\|R_i \phi_k\|_{0,K}^2$ che a loro volta sono funzione della misura dell'elemento $K_i = K \cap \Omega_i$. Se vi è almeno un elemento K tale per cui $|K_i|$ tende a zero per $i = 1$ o $i = 2$, allora la costante C_{min} tende a zero. Questo provoca

un'aumento del numero di condizionamento quando l'interfaccia Γ si avvicina a coincidere con una faccia di un elemento della griglia.

$$\mathcal{K}(A) \sim \frac{1}{\min(c_1, c\kappa)} \quad (5.177)$$

- *Discontinuità del coefficiente di diffusione.* Immaginiamo ora di fissare h e la posizione dell'interfaccia e utilizziamo la costante di stabilità (5.129) della soluzione approssimata. Per il numero di condizionamento si può affermare che vale la seguente:

$$\mathcal{K}(A) \leq \frac{\widetilde{M}(h^{d-2} + 1 + h^{-2}\widetilde{C}_I + h^{-2})}{\widetilde{\alpha}_C C_{\min}(h, \kappa)} \sim \frac{M}{\alpha_C} = 8C_I \left(\frac{\max_{\Omega} \alpha}{\min_{\Omega} \alpha} \right)^2 \quad (5.178)$$

Consideriamo il coefficiente di diffusione definito come in (5.3) e poniamo arbitrariamente $\alpha_1 = \min_{\Omega} \alpha$ e $\alpha_2 = \max_{\Omega} \alpha$: il numero di condizionamento dipende quadraticamente da α_2/α_1 . Se il salto tra i due coefficienti è elevato, il numero di condizionamento della matrice viene amplificato di un fattore proporzionale al quadrato del salto stesso.

5.3.5 Stabilizzazione del metodo UIP

Dalle osservazioni appena riportate si evince che è necessario fornire un'opportuno metodo che stabilizzi il numero di condizionamento, al variare della posizione di Γ e in presenza di elevati salti tra i coefficienti di diffusione. Questi due aspetti risultano molto importanti alla luce delle applicazioni del metodo che stiamo analizzando. Pensiamo infatti alla crescita di biomassa all'interno del costruito, l'interfaccia che separa le diverse componenti del sistema non è fissata a priori ma varia nel tempo a seconda della dinamica di crescita biologica. Nell'applicazione del metodo UIP, allo stato attuale, si dovrebbe controllare ad ogni istante temporale che l'interfaccia non si avvicini eccessivamente ad una delle facce che compone la griglia di discretizzazione. Ottenere un metodo di approssimazione ben condizionato indipendentemente dalla posizione dell'interfaccia renderebbe possibile calcolare la soluzione a diversi istanti temporali senza dover modificare ad ogni istante la discretizzazione del dominio spaziale. Inoltre, prendendo in considerazione i coefficienti di diffusione, possiamo osservare che il sistema analizzato nei primi capitoli è caratterizzato da fasi con diffusività molto diverse: nella fase fluida infatti il nutriente può diffondere facilmente, al contrario, viene assunto che lo scaffold sia impermeabile a qualsiasi sostanza. Rendere il numero di condizionamento del problema approssimato indipendente dal salto dei coefficienti è un'altra proprietà necessaria per poter applicare il metodo ai casi presi in esame nei primi capitoli.

L'idea per la stabilizzazione del sistema consiste nella costruzione di un preconditionatore che sia in grado di limitare il numero di condizionamento della matrice del metodo UIP. Introduciamo la notazione necessaria per lo sviluppo e l'analisi del preconditionatore. Ricordiamo la definizione del vettore \mathbf{z} , le cui componenti corrispondono ai valori nodali della generica funzione v contenuta nello spazio discreto

V^Γ . Introduciamo l'operatore $\mathcal{P}_\sigma : \mathbb{R}^N \rightarrow V^\Gamma$ tale che:

$$\mathcal{P}_\sigma \mathbf{z} = \sigma^{1/2} v, \quad (5.179)$$

con σ coefficiente di reazione del problema (5.2). Detta M_σ la matrice di massa pesata con il coefficiente σ , vale la seguente equazione:

$$\mathbf{z}' M_\sigma \mathbf{z} = (\mathcal{P}_\sigma \mathbf{z}, \mathcal{P}_\sigma \mathbf{z})_0 \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N. \quad (5.180)$$

Chiamiamo D_M la matrice costruita con i valori diagonali di M_σ :

$$D_M = \begin{pmatrix} D_\sigma & & \emptyset \\ & D_{\sigma 1} & \\ \emptyset & & D_{\sigma 2} \end{pmatrix} \quad (5.181)$$

con

$$(D_\sigma)_{k,k} = \|\sigma^{1/2} \phi_k\|_0^2, \quad 1 \leq k \leq n,$$

$$(D_{\sigma,i})_{k,k} = \|\sigma^{1/2} R_i \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^\Gamma \text{ per } i = 1, 2.$$

Vale il seguente risultato:

Corollario 5.3.20. *Esistono due costanti $c_1 > 0$ e c_2 indipendente dal passo di griglia h tali che:*

$$c_1 \mathbf{z}' D_M \mathbf{z} \leq \mathbf{z}' M_\sigma \mathbf{z} \leq c_2 \mathbf{z}' D_M \mathbf{z} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N \quad (5.182)$$

Dimostrazione. La dimostrazione è una banale conseguenza del teorema 5.3.6. \square

Ricaviamo ora anche per la matrice di stiffness L_α un risultato analogo a quanto fatto per la matrice di massa. Definiamo innanzitutto l'operatore \mathcal{P}_α tale che:

$$\mathcal{P}_\alpha \mathbf{z} = \alpha^{1/2} \nabla v, \quad (5.183)$$

L_α può essere espressa nei seguenti termini:

$$\mathbf{z}' L_\alpha \mathbf{z} = (\mathcal{P}_\alpha \mathbf{z}, \mathcal{P}_\alpha \mathbf{z})_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N. \quad (5.184)$$

Definiamo inoltre D_L nel seguente modo:

$$D_L = \begin{pmatrix} D_\alpha & & \emptyset \\ & D_{\alpha 1} & \\ \emptyset & & D_{\alpha 2} \end{pmatrix} \quad (5.185)$$

con

$$(D_\alpha)_{k,k} = \|\alpha^{1/2} \nabla \phi_k\|_0^2, \quad 1 \leq k \leq n,$$

$$(D_{\alpha,i})_{k,k} = \|\alpha^{1/2} \nabla R_i \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^\Gamma \text{ per } i = 1, 2.$$

Vale il seguente risultato:

Corollario 5.3.21. *Esistono due costanti $c_1 > 0$ e $c_2(h)$, indipendenti da κ (definito in (5.105)), tali che:*

$$c_1 \mathbf{z}' D_L \mathbf{z} \leq \mathbf{z}' L_\alpha \mathbf{z} \leq c_2(h) \mathbf{z}' D_L \mathbf{z} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N \quad (5.186)$$

Dimostrazione. La dimostrazione è banale conseguenza del teorema 5.3.10. \square

Grazie ai corollari 5.3.20 e 5.3.21 si può dimostrare che la matrice $P = D_L + D_M$ è un preconditionatore ottimale per A rispetto alla posizione dell'interfaccia. Vale infatti il seguente risultato:

Lemma 5.3.22. *Data $A \in \mathbb{R}^{N \times N}$, definita dalla formula (5.69), costruiamo $P = D_L + D_M$, dove D_M e D_L sono le matrici definite rispettivamente nella (5.181) e nella (5.185). Esistono allora $c_1 > 0$ e $c_2 = c_2(h)$, indipendenti dalla posizione dell'interfaccia, tali che:*

$$c_1 \mathbf{z}' P \mathbf{z} \leq \mathbf{z}' A \mathbf{z} \leq c_2(h) \mathbf{z}' P \mathbf{z} \quad \forall \mathbf{z} \in \mathbb{R}^N \quad (5.187)$$

Dimostrazione. Dimostriamo dapprima il limite superiore dell'equazione (5.187). Vale la seguente catena di disuguaglianze:

$$\begin{aligned} \mathbf{z}' A \mathbf{z} &= \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\ &\quad - 2(\{\alpha \nabla_n v\}, [v])_\Gamma + \gamma \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2 \\ \mathbf{z}' A \mathbf{z} &\leq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\ &\quad + 2\|\{\alpha \nabla_n v\}\|_{-1/2, h, \Gamma} \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma} + \gamma \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2 \\ &\leq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\ &\quad + \|\{\alpha \nabla_n v\}\|_{-1/2, h, \Gamma}^2 + \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2 + \gamma \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2 \\ &\leq \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + C_I \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + (1 + \gamma) \|[v]\|_{1/2, h, \Gamma}^2 \end{aligned}$$

Utilizzando la relazione (5.168) per il termine di salto e successivamente la disugua-

gianza di Poincarè (5.114), si ottiene:

$$\begin{aligned}
\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} &\leq \|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + C_I\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + (1+\gamma)\|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2 \\
&\leq \|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + C_I\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + 2(1+\gamma)(\|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + h^{-2}\|v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2) \\
&\leq \|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + C_I\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + 2(1+\gamma)(1+h^{-2}C_p^2)\|\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\leq \|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + C_I\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + \frac{2(1+\gamma)(1+h^{-2}C_p^2)}{\min_{\Omega}\alpha}\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2
\end{aligned}$$

Si ottiene:

$$\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \leq \left(1 + C_I + \frac{2(1+\gamma)}{\min_{\Omega}\alpha}(1+h^{-2})\right)\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2$$

Poniamo

$$c = 1 + C_I + \frac{2(1+\gamma)}{\min_{\Omega}\alpha}(1+h^{-2})$$

e utilizziamo le definizioni delle matrici L_{α} e M_{σ} rispettivamente (5.184) e (5.180), vale:

$$\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \leq c(\mathbf{z}'L_{\alpha}\mathbf{z} + \mathbf{z}'M_{\sigma}\mathbf{z})$$

Sfruttiamo i risultati (5.3.20) e(5.3.21), otteniamo:

$$\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \leq c_2(\mathbf{z}'D_L\mathbf{z} + \mathbf{z}'D_M\mathbf{z})$$

che dimostra il limite superiore della tesi, con $c_2 = c_2(h)$.

Ci concentriamo ora sul limite inferiore della tesi e riprendiamo la dimostrazione della proprietà di coercività 5.3.17, vale:

$$\begin{aligned}
\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} &\geq \frac{1}{2}\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2}v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + \left(\frac{1}{2} - \frac{2C_I \max_{\Omega}\alpha}{\varepsilon}\right)\|\alpha^{1/2}\nabla v\|_{0,\Omega_1\cup\Omega_2}^2 \\
&\quad + \frac{1}{\varepsilon}\|\{\alpha\nabla_{\mathbf{n}}v\}\|_{-1/2,h,\Gamma}^2 + (\gamma - \varepsilon)\|[v]\|_{1/2,h,\Gamma}^2
\end{aligned}$$

ε e γ sono stati scelti in modo tale che $\varepsilon = 4C_I \max_{\Omega} \alpha$ e $\gamma - \varepsilon > 0$. Grazie a queste assunzioni, la norma delle medie e la norma dei salti possono essere minorate con zero, si ottiene:

$$\begin{aligned} \mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} &\geq \frac{1}{2} \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 + \|\sigma^{1/2} v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \\ &\geq \frac{1}{2} (\mathbf{z}'L_{\alpha}\mathbf{z} + \mathbf{z}'M_{\sigma}\mathbf{z}) \end{aligned}$$

Dai risultati 5.3.20 e 5.3.21 si ottiene la tesi:

$$\mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \geq \frac{1}{2} \tilde{c}_1 (\mathbf{z}'D_L\mathbf{z} + \mathbf{z}'D_M\mathbf{z}) = c_1 \mathbf{z}'P\mathbf{z}$$

con $c_1 = 0.5\tilde{c}_1$. \square

Prendiamo in considerazione il caso di un problema puramente diffusivo, cioè $\sigma = 0$. Dalla definizione di D_L , D_M e P , si ha: $P = D_L$, inoltre, seguendo la dimostrazione del lemma 5.3.22 si ricava:

$$\frac{1}{2} \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2 \leq \mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \leq \left(1 + C_I + \frac{2(1 + \gamma)}{\min_{\Omega} \alpha} (1 + h^{-2})\right) \|\alpha^{1/2} \nabla v\|_{0, \Omega_1 \cup \Omega_2}^2$$

e perciò

$$c_1 (\mathbf{z}'D_L\mathbf{z}) \leq \mathbf{z}'\mathbf{A}\mathbf{z} \leq c_2(h) (\mathbf{z}'D_L\mathbf{z}). \quad (5.188)$$

Si dimostra quindi che il preconditionatore da utilizzare in questo caso è identico alla sola matrice D_L . La scelta di P è quindi coerente con il caso a reazione nulla.

In base al lemma 5.3.22 e alle stime ricavate nella dimostrazione per le costanti c_1 e $c_2(h)$ della relazione (5.187), possiamo affermare che vale la seguente stima sul numero di condizionamento della matrice $P^{-1}A$:

$$\mathcal{K}(P^{-1}A) \leq \frac{c_2(h)}{c_1} = \frac{1}{c_1} \left(1 + C_I + \frac{2(1 + \gamma)}{\min_{\Omega} \alpha} (1 + h^{-2})\right) \quad (5.189)$$

Analizziamo anche in questo caso, come già per la matrice A , la stima del numero di condizionamento al variare di tre parametri specifici: il passo di griglia h , la posizione dell'interfaccia e il salto tra i coefficienti α .

- *Passo di griglia h .* Il preconditionatore ottenuto non è ottimale rispetto al passo di griglia h , infatti esso scala come h^{-2} , il medesimo ordine che ritroviamo nello studio del condizionamento della sola matrice A . Ricordiamo però che il nostro obiettivo consiste nel ricavare un preconditionatore che stabilizzi il problema rispetto alla posizione dell'interfaccia.
- *Posizione dell'interfaccia Γ .* È noto che la posizione dell'interfaccia Γ influisce sulle misure dei triangoli K_i e perciò sui valori che assumono i pesi di Hansbo-Hansbo $w_i|_K = \kappa_i|_K = |K_i|/|K|$. In particolare è stato ricavato che il numero di condizionamento della matrice A tende ad annullarsi se anche uno

solo dei coefficienti κ_i tende a zero. Consideriamo ora la matrice preconditionata: nella stima di $\mathcal{K}(P^{-1}A)$ non vi è alcuna dipendenza dalle aree $|K_i|$ e perciò alcuna dipendenza dai coefficienti κ_i . La matrice P rappresenta un preconditionatore ottimale per la matrice A per quanto riguarda la posizione dell'interfaccia, poichè il condizionamento della matrice $P^{-1}A$ è indipendente da essa, infatti $P^{-1}A$ non diventa singolare se Γ tende ad avvicinarsi ad una faccia di un elemento di griglia. L'utilizzo di P consente quindi di risolvere il problema di mal condizionamento legato alla posizione di Γ .

- *Discontinuità del coefficiente di diffusione.* La stima del numero di condizionamento (5.189) dipende dal salto dei coefficienti di diffusione attraverso il termine $\min_{\Omega} \alpha$ e il termine γ , per il quale viene ricavato, nella stima di coercività:

$$\gamma \geq 4C_I \max_{\Omega} \alpha.$$

Consideriamo ora il coefficiente di diffusione come definito come in (5.3) e immaginiamo di avere $\max_{\Omega} \alpha = \alpha_2$ e $\min_{\Omega} \alpha = \alpha_1$. Se il salto tra i due valori α_1 e α_2 è elevato possiamo affermare che il numero di condizionamento presenta al più il seguente andamento asintotico:

$$\mathcal{K}(P^{-1}A) \sim \frac{\gamma}{\min_{\Omega} \alpha} \sim \frac{\max_{\Omega} \alpha}{\min_{\Omega} \alpha} = \frac{\alpha_2}{\alpha_1} \quad (5.190)$$

Ricordiamo che per la matrice A abbiamo ottenuto (equazione (5.178)):

$$\mathcal{K}(A) \sim \left(\frac{\alpha_2}{\alpha_1} \right)^2$$

La dipendenza del numero di condizionamento dal salto dei coefficienti di diffusione passa dall'ordine al più quadratico (matrice A), all'ordine al più lineare (matrice $P^{-1}A$). Il preconditionatore P non risolve interamente il problema di mal condizionamento rispetto al salto dei coefficienti di diffusione, tuttavia attenua l'effetto che questo provoca sulla risoluzione del sistema lineare.

5.4 Un caso test monodimensionale per la validazione dei risultati teorici

In questa sezione ci proponiamo di validare numericamente teorici della sezione precedente. Inizialmente confrontiamo il metodo di Nitsche classico con il metodo proposto da Hansbo e Hansbo; in seguito ci concentriamo sull'analisi del numero di condizionamento della matrice degli elementi finiti A e lo confrontiamo con il numero di condizionamento della matrice preconditionata $P^{-1}A$.

Per effettuare le varie analisi, implementiamo e risolviamo un problema test monodimensionale riportato in [HH02]. Fissando l'interfaccia in $x = 1/2$ poniamo:

$$\begin{cases} -\sum_i \frac{d}{dx} \left(\alpha_i \frac{du_i}{dx} \right) = 1 & \text{in } \Omega = (0, 1) \\ [u(1/2)] = 0 \\ \alpha_1 \frac{du_1}{dx}(1/2) = \alpha_2 \frac{du_2}{dx}(1/2) \end{cases} \quad (5.191)$$

Prima di procedere con i test veri e propri, facciamo alcune osservazioni.

Nel caso monodimensionale, gli elementi di griglia sono intervalli e l'interfaccia interna si riduce ad essere un punto, per cui vi è un unico intervallo tagliato da Γ . Inoltre i pesi κ_i da analizzare si riducono ai pesi $\kappa_i|_{h_d}$ dove h_d è l'intervallo contenente il punto di discontinuità. Per semplificare la notazione poniamo $\kappa_i|_{h_d} = \bar{\kappa}_i$.

Osserviamo inoltre che il $\min_{\Omega} \kappa_i|_K$ risulta essere $\min(\bar{\kappa}_1, \bar{\kappa}_2)$.

Il problema è stato implementato e risolto tramite l'utilizzo del software Matlab. Qui di seguito riportiamo le soluzioni ottenute al variare del salto fra i coefficienti di diffusione α_1 e α_2 .

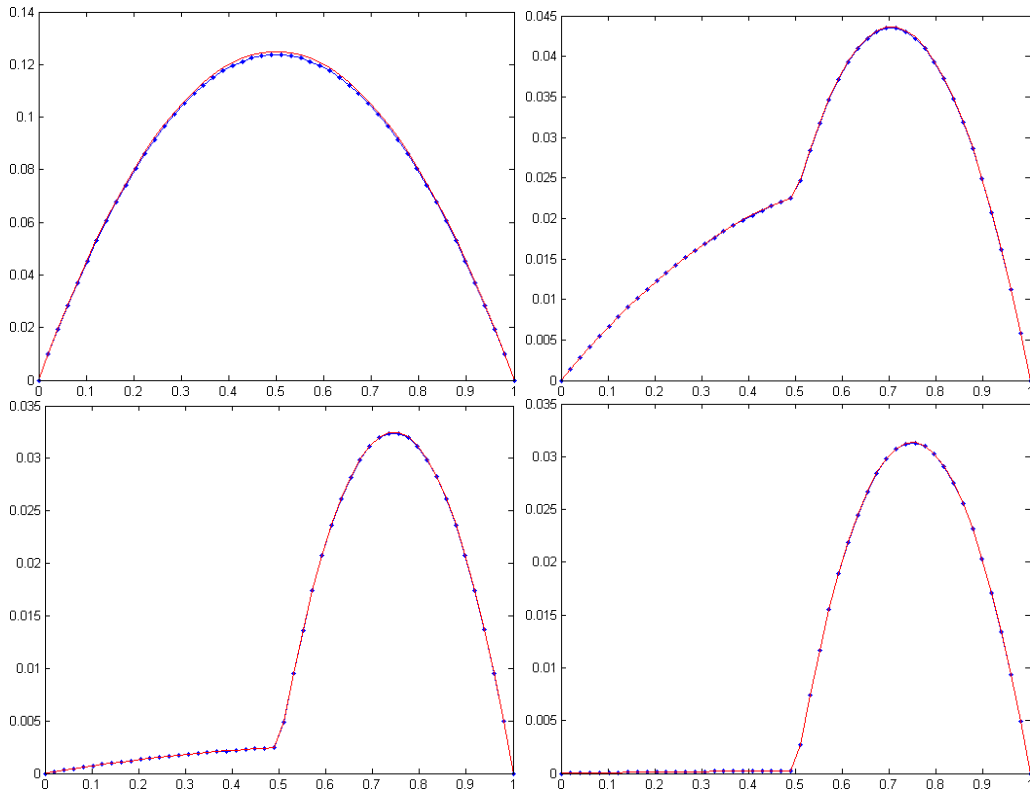


Figura 5.16: Soluzioni ottenute tramite il programma Matlab. In rosso viene visualizzata la soluzione esatta. Passo di griglia $h = 0.0204$. In alto a sinistra: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In alto a destra: $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 1$. In basso a sinistra: $\alpha_1 = 100$ e $\alpha_2 = 1$. In basso a destra: $\alpha_1 = 1000$ e $\alpha_2 = 1$.

I grafici riportati ci permettono di fare una prima importante osservazione. Nell'analisi del metodo UIP abbiamo ricavato una stima di stabilità (equazione (5.129)) dalla quale risulta che la costante di stabilità è proporzionale al salto dei coefficienti di diffusione,

$$\left(\frac{\max_{\Omega} \alpha}{\min_{\Omega} \alpha} \right)^2$$

Pertanto ci aspettiamo che, all'aumentare del salto fra i coefficienti, il problema possa presentare instabilità nella soluzione. Contrariamente a ciò, i grafici in 5.16 mostrano che il programma risolve in modo accurato il problema, anche nel caso in cui il salto fra i coefficienti è dell'ordine di 10^4 . Il sistema $A\mathbf{v} = \mathbf{F}$, sia esso (5.62) o (5.74), viene risolto tramite il comando backslash di Matlab: questo comando riesce a trattare anche problemi in cui la matrice del sistema risulta essere mal condizionata. Per questo motivo l'accuratezza della soluzione non può essere considerata indice della stabilità del sistema.

5.4.1 Confronto tra il metodo di Nitsche classico e il metodo di Hansbo e Hansbo

La formulazione debole del problema (5.52) viene costruita tramite l'implementazione del metodo di Nitsche, di cui abbiamo analizzato una variante, proposta da Hansbo e Hansbo in [HH02]. La differenza fra i due metodi consiste nella definizione dei pesi ω_i , come è stato spiegato nella sezione 5.2.2. In questa prima parte vogliamo cercare di confrontare i due metodi e di visualizzare quali aspetti positivi introduce la variante proposta da [HH02].

Come abbiamo già evidenziato tramite l'analisi teorica, la scelta dei pesi si ripercuote sulla definizione della costante C_I della disuguaglianza inversa, definita in (5.104) per il metodo di Nitsche e in (5.108) per il metodo di Hansbo-Hansbo. Se per [HH02] la costante C_I è una costante numerica, nel metodo classico di Nitsche si verifica che $C_I^N = C_I^N(h, \kappa_i)$. Nel seguito dell'analisi del metodo UIP abbiamo ricavato una stima di stabilità, (5.129), nella quale possiamo vedere che la costante M/α_C è direttamente proporzionale a C_I . Sarebbe interessante visualizzare l'andamento della costante C_I per poter concludere come varia la costante di stabilità stessa. Per far questo ci serviamo della definizione del coefficiente γ , ricavato nella sezione 5.3.3; Per garantire la coercività della forma variazionale, γ deve assumere un certo valore (equazione (5.124)). Dall'espressione possiamo osservare che $\gamma \propto C_I$, pertanto l'andamento di γ rispecchia l'andamento di C_I .

Il test che effettuiamo vuole indagare la dipendenza del parametro γ , e quindi della costante C_I , dai pesi $\bar{\kappa}_i$. In particolare, al variare dei pesi $\bar{\kappa}_i$, calcoliamo il valore di γ per il quale l'autovalore minimo della matrice A risulta essere positivo, ovvero quando si raggiunge la coercività della forma variazionale.

| Pesi | $\bar{\kappa}_1$ | $\bar{\kappa}_2$ | $\#$ condizionamento | γ |
|---------|------------------|------------------|----------------------|----------|
| Nitsche | 0.001 | 0.999 | $2.2773 \cdot 10^7$ | 256 |
| HH | 0.001 | 0.999 | $4.9117 \cdot 10^3$ | 2 |
| Nitsche | 0.5 | 0.5 | 51.2842 | 2 |
| HH | 0.5 | 0.5 | 51.2842 | 2 |

Tabella 5.1: Risultati del confronto tra l'utilizzo dei pesi di Nitsche e dei pesi di Hansbo-Hansbo

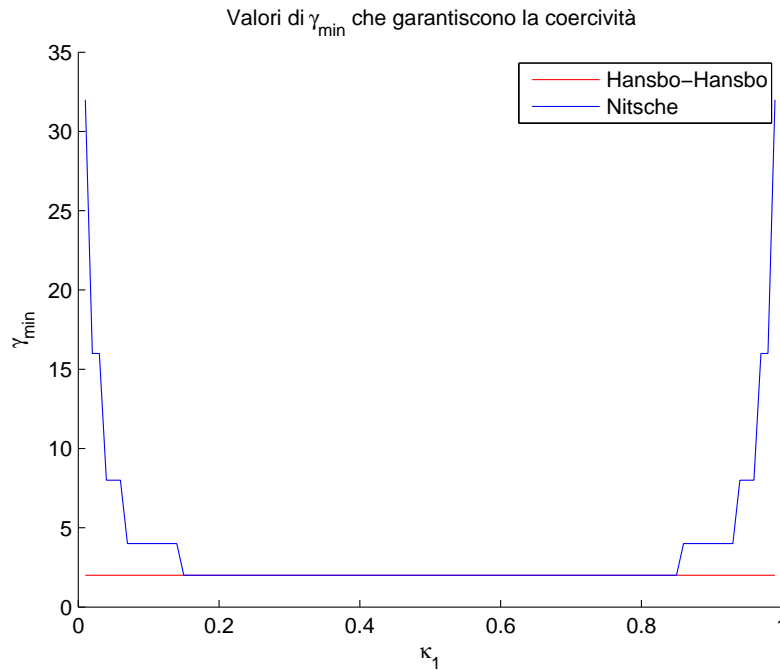


Figura 5.17: Valori di γ minimo. Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$.

Della tabella 5.1 e dal grafico 5.17 possiamo osservare che nel metodo di Nitsche classico, più i pesi sono sbilanciati fra loro, più il parametro γ assume un valore elevato. Questo stesso comportamento non si verifica per il caso del metodo H-H. In particolare si osserva che, per quest'ultimo, la scelta di γ risulta indipendente dal valore dei pesi $\bar{\kappa}_i$, come ci aspettavamo.

Possiamo dunque concludere che la variante proposta da Hansbo e Hansbo garantisce la coercività del problema indipendentemente dal valore assunto dai pesi. Inoltre anche la costante di stabilità è indipendente dai $\bar{\kappa}_i$ e questo garantisce una maggior stabilità rispetto al classico metodo di Nitsche. Per questo motivo i test che verranno effettuati nel seguito vengono implementati ponendo i pesi ω_i secondo la definizione (5.47).

5.4.2 Minimo e massimo autovalore

In questa sezione facciamo riferimento alla teoria riportata nel paragrafo 5.3.4 e proviamo sperimentalmente gli andamenti ricavati nelle stime (5.155) e (5.139) rispettivamente per il massimo e per il minimo autovalore della matrice A del metodo UIP. Riportiamo i risultati ottenuti mediante l'utilizzo sia delle basi di Hansbo-Hansbo, sia delle basi di Reusken e visualizziamo le variazioni degli autovalori in funzione del peso $\bar{\kappa}_i$ e del passo di griglia h .

Autovalore massimo.

La stima (5.155) non presenta alcun termine dipendente dai pesi $\bar{\kappa}_i$. Ci aspettiamo quindi che λ_{max} presenti un andamento all'incirca costante al variare di $\bar{\kappa}_1$. Nei grafici di figura 5.18 e 5.19 possiamo verificare le affermazioni appena riportate sull'andamento dell'autovalore massimo.

Nei grafici 5.18 e 5.19 visualizziamo inoltre la dipendenza dal passo di griglia h . In particolare nel caso monodimensionale ci aspettiamo di vedere il seguente andamento:

$$\lambda_{max} \sim h^{d-2} \sim h^{-1} \quad (5.192)$$

In particolare selezionando i valori dell'autovalore massimo per $\bar{\kappa}_1 = \bar{\kappa}_2 = 0.5$ e visualizzandoli in un grafico logaritmico al variare del passo h si ottiene una retta con coefficiente angolare unitario, come ci si aspetta dall'analisi teorica. Il risultato è riportato in figura 5.20.

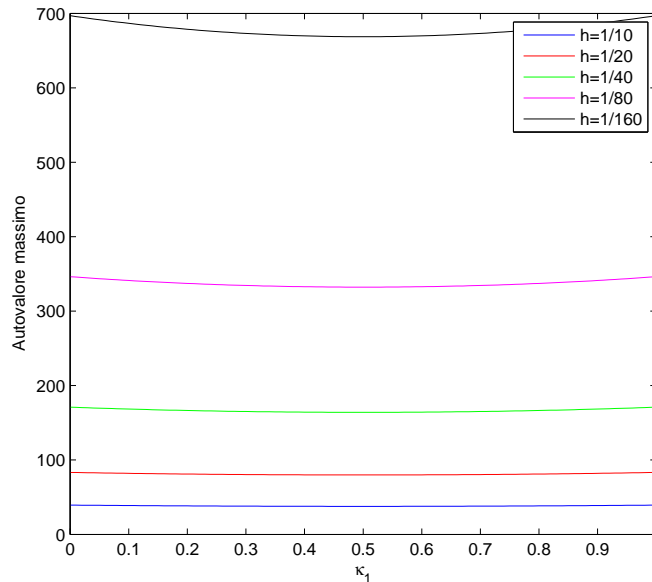


Figura 5.18: Autovalore massimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h . Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.

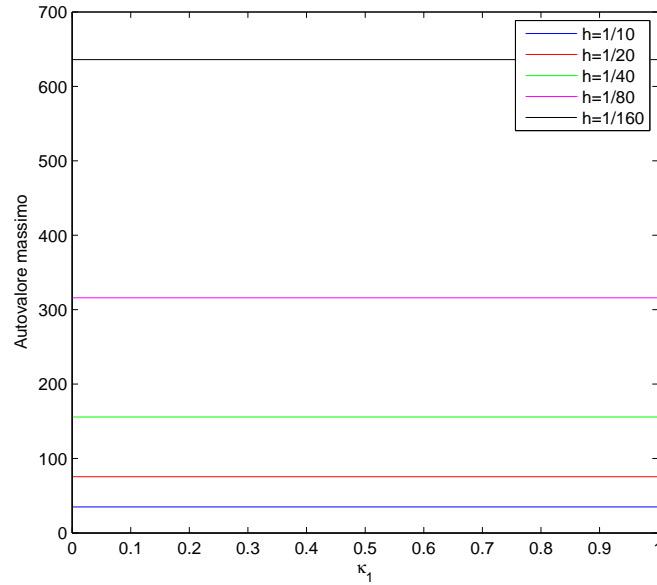


Figura 5.19: Autovalore massimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h . Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.

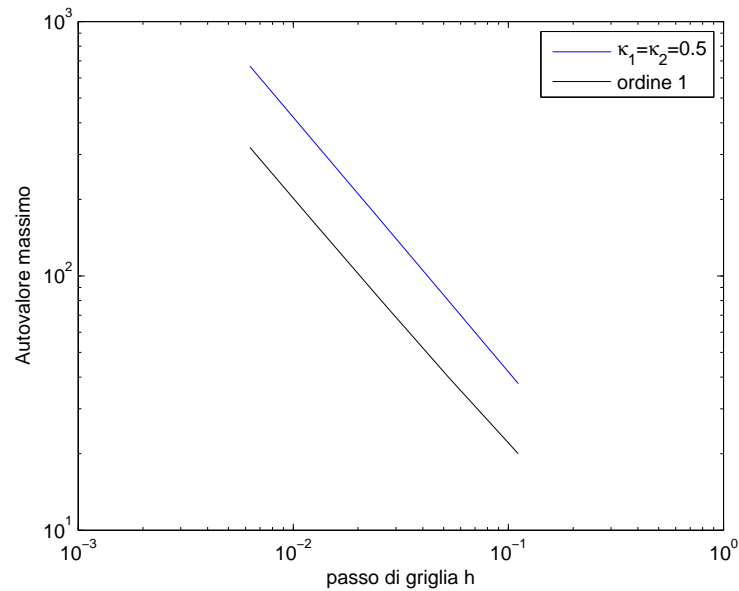


Figura 5.20: Grafico logaritmico dell'autovalore massimo al variare del passo di discretizzazione h .

Autovalore minimo.

Per l'autovalore minimo abbiamo ricavato la disuguaglianza (5.139), dove la dipendenza dai pesi $\bar{\kappa}_i$ e dal passo di griglia h è contenuta implicitamente nel termine C_{min} ed è noto che questo fattore tende a zero quando uno tra i pesi $\bar{\kappa}_i$ tende ad annullarsi. Ci aspettiamo quindi che l'autovalore minimo, come il termine C_{min} , tenda a zero quando l'interfaccia si avvicina ad un nodo di griglia. In figura 5.21 e 5.22 riportiamo i risultati ottenuti, per le basi di Hansbo-Hansbo e per le basi di Reusken, nel caso monodimensionale. Possiamo affermare che l'andamento previsto per via teorica viene confermato dalle simulazioni.

Come suggerito dalla formula (5.151), nel caso in cui è fissato il passo di griglia, si ha:

$$\lambda_{min} \sim \min(c_1, c\kappa).$$

I risultati mostrati nei grafici 5.21 e 5.22 confermano che l'autovalore minimo presenta due andamenti: costante quando $c_1 \leq c\kappa$ e lineare in κ quando $c_1 \geq c\kappa$.

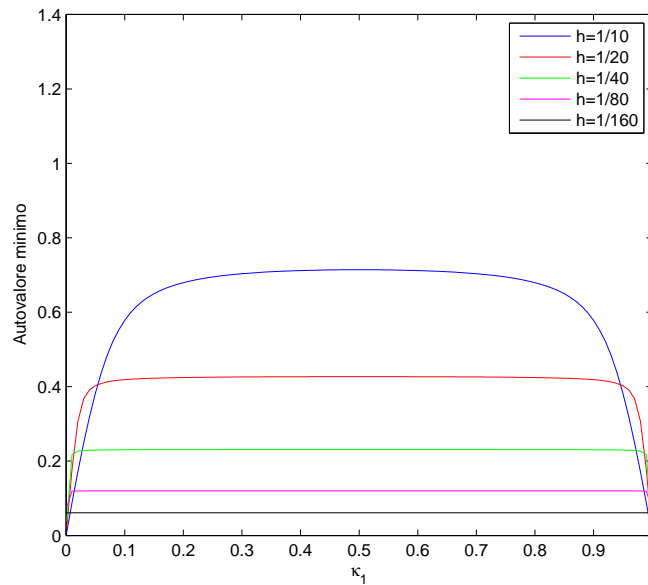


Figura 5.21: Autovalore minimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h . Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.

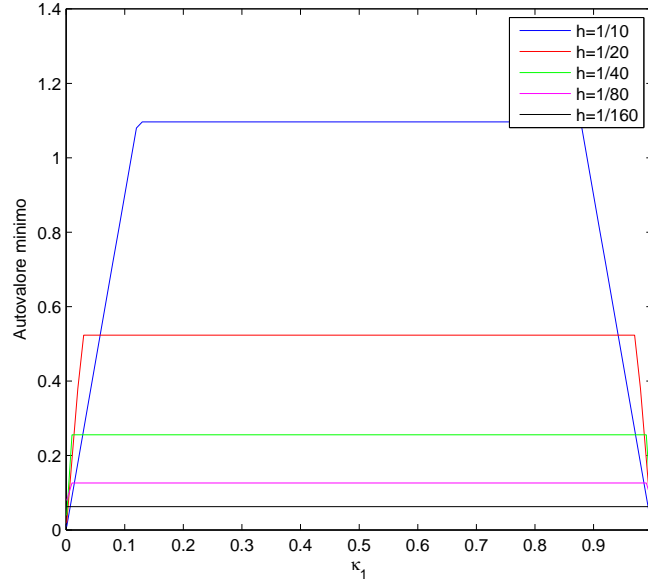


Figura 5.22: Autovalore minimo al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, ogni linea corrisponde ad un differente passo di discretizzazione h . Coefficiente di diffusione: $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.

5.4.3 Condizionamento del sistema

Analizziamo ora il numero di condizionamento della matrice A e lo confrontiamo con quello della matrice preconditionata $P^{-1}A$ alla luce della teoria riportata nel paragrafo 5.3.5. Dallo studio teorico sappiamo che il preconditionatore P definito nel lemma 5.3.22 stabilizza la matrice A rispetto alla posizione dell'interfaccia e al salto tra i coefficienti. Calcoliamo dunque i numeri di condizionamento delle matrici e della matrice preconditionata nel caso monodimensionale al variare del peso κ_1 e del rapporto $\max_{\Omega} \alpha / \min_{\Omega} \alpha$.

L'andamento in funzione della posizione dell'interfaccia viene riportato in figura 5.23 e 5.24, i risultati sono ottenuti mediante l'utilizzo sia delle basi di Hansbo-Hansbo, sia delle basi di Reusken.

Dai grafici possiamo vedere che, come ricavato nell'analisi teorica, il preconditionatore stabilizza la matrice quando κ_1 , o alternativamente κ_2 , tendono a 0.

Riportiamo in figura 5.25 e 5.26 l'andamento del numero di condizionamento in funzione di κ_1 quando il salto tra i coefficienti di diffusione è elevato. Poniamo $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$.

Come si può vedere, pur non essendo ottimale, il preconditionatore controlla il numero di condizionamento quando il salto tra i coefficienti è elevato, in particolare modo quando il peso corrispondente al coefficiente di diffusione minimo tende ad annullarsi.

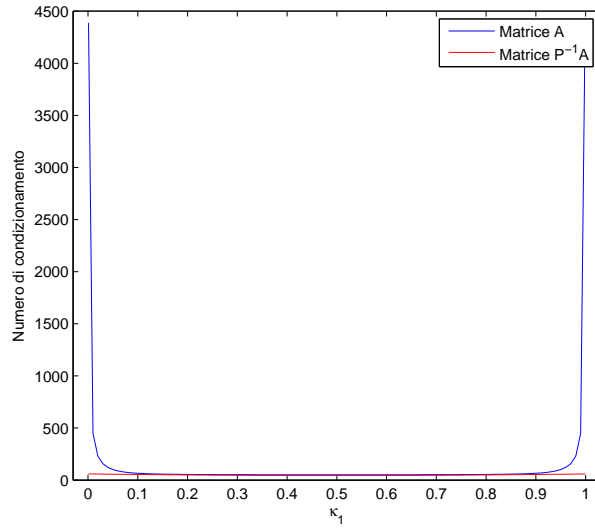


Figura 5.23: Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.05$; $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Hansbo-Hansbo.

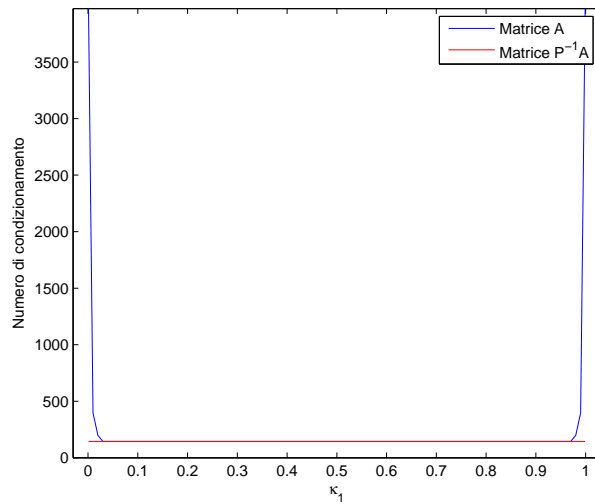


Figura 5.24: Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A. Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.05$; $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. Basi di Reusken.

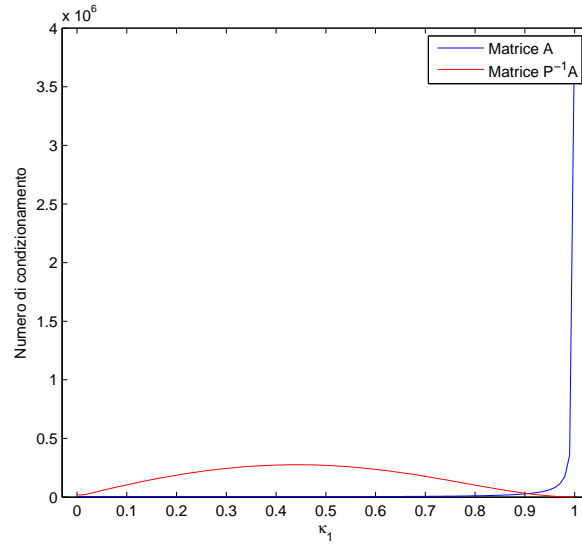


Figura 5.26: Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A . Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.

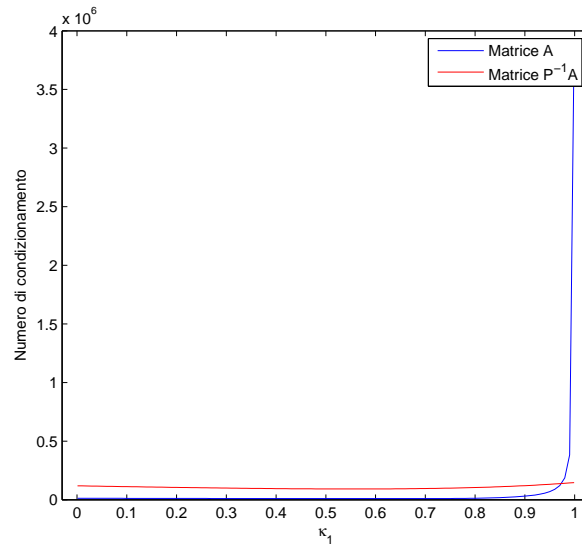


Figura 5.25: Numero di condizionamento al variare del peso $\bar{\kappa}_1$, Linea blu: matrice A . Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Hansbo-Hansbo.

Riportiamo inoltre i due grafici delle soluzioni dei sistemi $Az = F$ e $P^{-1}Az = P^{-1}F$, scritta mediante le basi di Reusken, con $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$ e per due diversi

valori di κ_1 . I sistemi vengono risolti mediante il metodo del gradiente coniugato, fissando il numero massimo di iterazioni a 50. Dai risultati sperimentali si ottiene che il sistema preconditionato converge in un numero di iterazioni minore al numero massimo, mentre il sistema non preconditionato non converge. Nei grafici 5.27 e 5.28 è possibile visualizzare che le soluzioni riportate in colore blu, calcolate tramite la matrice A , presentano oscillazioni che la soluzione del sistema preconditionato non riporta.

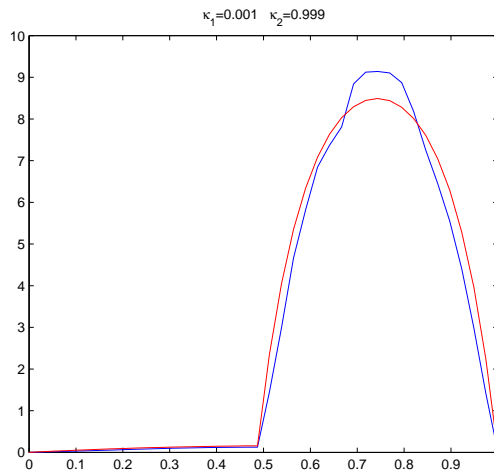


Figura 5.27: Soluzione del problema. Linea blu: matrice A . Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.

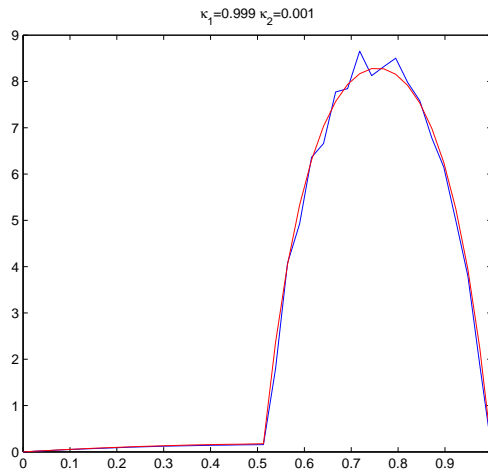


Figura 5.28: Soluzione del problema. Linea blu: matrice A . Linea rossa: matrice preconditionata $P^{-1}A$. Passo di griglia fissato a $h = 0.01$; $\alpha_1 = 1$ e $\alpha_2 = 0.001$. Basi di Reusken.

5.5 Un caso test bidimensionale

5.5.1 Risoluzione di problemi con interfaccia interna parametrizzata

In questa sezione riportiamo alcuni esempi di simulazioni nel caso bidimensionale in cui l'interfaccia è descritta da una funzione geometrica. Risolviamo un problema di pura diffusione sul quadrato di lato unitario, con condizioni di Dirichlet omogenee ai bordi del dominio:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \nabla \cdot (\alpha \nabla u) = f & \text{in } \Omega = [0, 1] \times [0, 1] \\ u = 0 & \text{su } \partial\Omega \\ [u] = 0 & \text{su } \Gamma \\ [\alpha \nabla u] = 0 & \text{su } \Gamma \end{array} \right. \quad (5.193)$$

Mostreremo i risultati in diversi casi: per interfacce coincidenti e non coincidenti, per coefficienti di diffusione discontinui e continui, per griglie lasche e per griglie fini.

Riportiamo la filosofia di implementazione con cui sono stati ottenuti i risultati. Innanzitutto specifichiamo che sono state scelte le basi di Hansbo-Hansbo poichè permettono una suddivisione intuitiva della matrice ad elementi finiti. Supponiamo di avere una griglia \mathcal{T}_h , suddivisa nelle sotto-griglie \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} in base a quanto riportato nel paragrafo 5.2.1. Indichiamo con I_1 l'insieme dei nodi appartenenti alla griglia \mathcal{T}_{h1} , avente cardinalità pari a N_1 e I_2 l'insieme dei nodi appartenenti a \mathcal{T}_{h2} con cardinalità N_2 . Consideriamo il sistema lineare $A^H \mathbf{v} = F^H$ ricavato nella (5.62), la matrice A^H , simmetrica e definita positiva, può essere suddivisa in quattro blocchi distinti.

$$A^H = \begin{bmatrix} A_1 & B \\ B^T & A_2 \end{bmatrix} \quad (5.194)$$

dove $A_1 \in \mathbb{R}^{N_1 \times N_1}$, $A_2 \in \mathbb{R}^{N_2 \times N_2}$ e $B \in \mathbb{R}^{N_1 \times N_2}$. Le matrici vengono costruite nel seguente modo:

$$[A_1]_{jk} = a_h(R_1 \phi_k, R_1 \phi_j) \quad \forall j, k \in I_1 \quad (5.195)$$

$$[A_2]_{jk} = a_h(R_2 \phi_k, R_2 \phi_j) \quad \forall j, k \in I_2 \quad (5.196)$$

$$[B]_{jk} = a_h(R_1 \phi_k, R_2 \phi_k) \quad \forall j \in I_1, \forall k \in I_2 \quad (5.197)$$

I termini del blocco B sono determinati solo dagli integrali dei salti e delle medie pesate sull'interfaccia Γ , gli integrali su Ω si annullano essendo disgiunti i supporti di $R_1 \phi_k$ e di $R_2 \phi_k$ per qualunque valore assunto dagli indici. Analogamente anche il preconditionatore può essere visualizzato con la seguente struttura a blocchi:

$$P = \begin{bmatrix} P_1 & 0 \\ 0 & P_2 \end{bmatrix} \quad (5.198)$$

dove P_1 e P_2 sono le diagonali delle matrici di stiffness, calcolate rispettivamente sulle funzioni di base $R_1\phi_k$ con $k \in I_1$ e $R_2\phi_k$ con $k \in I_2$. Ricordiamo infine che il vettore termine noto F^H è suddiviso in due parti:

$$F^H = \begin{bmatrix} F_1 \\ F_2 \end{bmatrix} \quad (5.199)$$

dove F_1 e F_2 sono rispettivamente calcolati sulle basi $R_1\phi_k$ per $k \in I_1$ e $R_2\phi_k$ per $k \in I_2$. Il codice di calcolo deve quindi occuparsi di sviluppare i seguenti passaggi:

1. definizione delle quantità geometriche: dominio Ω , interfaccia interna Γ e conseguentemente sottodomini Ω_1 e Ω_2 ;
2. definizione delle griglie di calcolo: definizione della griglia di calcolo \mathcal{T}_h e suddivisione di tale mesh nelle due sotto-griglie \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} .
3. calcolo dei blocchi delle matrici: calcolo della matrice A^H , del vettore termine noto F^H e del preconditionatore P ;
4. assemblaggio delle matrici;
5. risoluzione del sistema lineare.

Si è scelto di implementare i primi 3 passi mediante l'utilizzo del software FreeFem++, mentre i punti 4 e 5 vengono risolti tramite Matlab. In particolare vogliamo fare una precisazione riguardo alla suddivisione nelle griglie \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} , ricavate al passo 2. Definita la geometria dell'interfaccia e costruita la griglia \mathcal{T}_h è possibile calcolare il valore dei pesi κ_1 e κ_2 su ogni triangolo K . In base a questi pesi la griglia \mathcal{T}_h viene troncata in modo tale da ottenere le sotto-griglie \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} . Seguendo la definizione, per costruire la griglia \mathcal{T}_{hi} è sufficiente selezionare i triangoli tali per cui κ_i è strettamente positivo. Tuttavia, come proposto in [Reu08], abbiamo deciso di introdurre un coefficiente di tolleranza che permette di migliorare il condizionamento della matrice. Per costruire la griglia \mathcal{T}_{hi} selezioniamo i triangoli K che presentano un coefficiente $\kappa_i > \varepsilon$ dove ε è una tolleranza proporzionale al passo di griglia h . Questa scelta permette di eliminare dalla matrice A e dalla matrice M le colonne all'incirca nulle e perciò permette di migliorare ulteriormente il condizionamento del sistema.

Interfaccia rettilinea.

Analizziamo il caso in cui l'interfaccia corrisponde ad una linea retta verticale posta a $x = 0.51$. Il quadrato di lato unitario viene diviso in una parte sinistra $\Omega_1 = [0, 0.51] \times [0, 1]$ e in una parte destra $\Omega_2 = [0.51, 1] \times [0, 1]$. Consideriamo due situazioni: nel primo caso risolviamo il sistema quando l'interfaccia non viene risolta dalla mesh, nel secondo mostriamo invece che il metodo funziona ugualmente nel caso in cui Γ venga risolta dalla griglia.

Costruiamo una discretizzazione del dominio omogenea, con passo h pari a $1/15$ e la suddividiamo in \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} . Il risultato è riportato in figura 5.29.

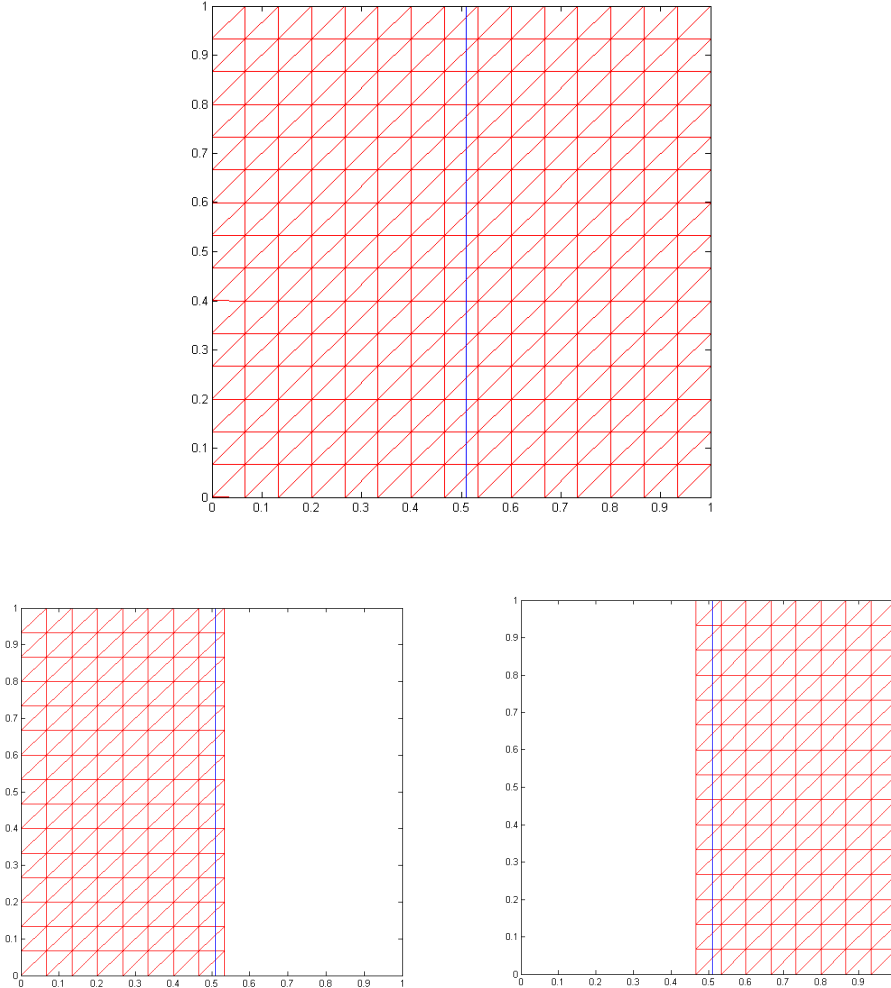


Figura 5.29: Discretizzazione del dominio Ω , interfaccia $\Gamma : x - 0.51 = 0$ non risolta dalla mesh. In alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h . In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1} . In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2} .

Risolviamo il problema (5.193) in due casi, a seconda dei valori assegnati al coefficiente di diffusione: nel primo poniamo $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ e nel secondo $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$. Il termine noto f viene posto costante uguale a 1. I risultati sono riportati in figura 5.30.

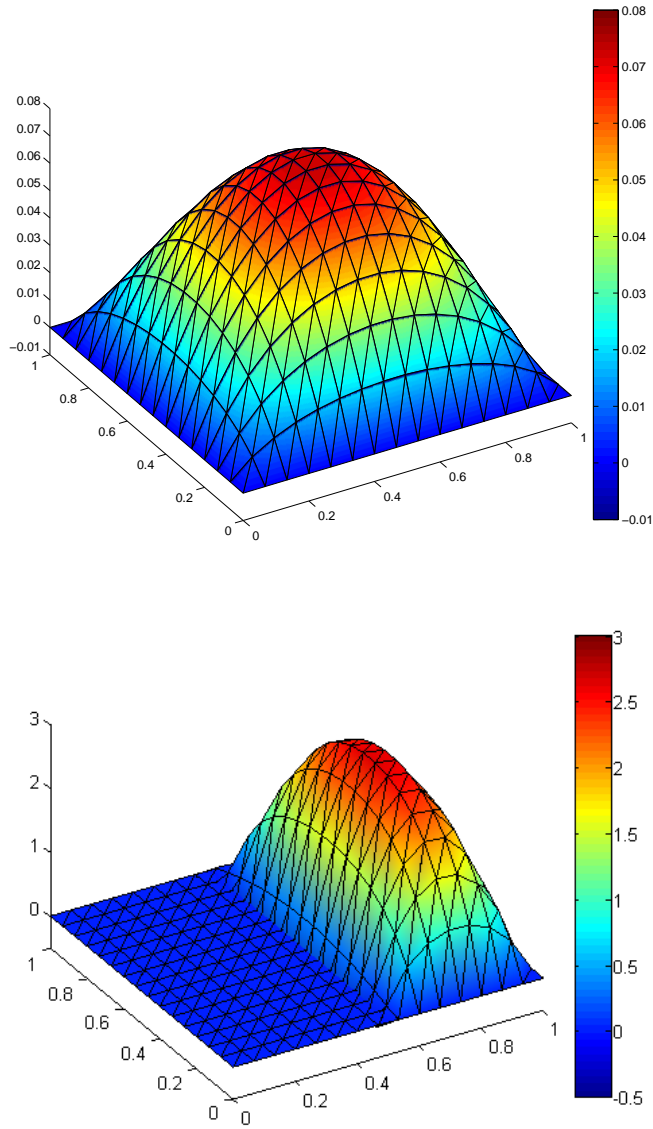


Figura 5.30: Soluzioni approssimate del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.29. In alto: soluzione del sistema preconditionato per $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In basso: soluzioni del sistema preconditionato per $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$.

Consideriamo in particolare il secondo grafico di figura 5.30, si può notare che la soluzione è continua a cavallo dell'interfaccia e presenta un salto dei gradienti non in prossimità dei lati della griglia ma esattamente nella posizione dove è stata collocata l'interfaccia Γ . Il raccordo tra la soluzione per $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$ avviene infatti a $x = 0.51$ mentre i nodi si trovano allineati sulla verticale $x = 0.4667$ e $x = 0.5333$.

Suddividiamo ora ogni lato del dominio in 10 intervalli, mediante una triangolazione uniforme. Come riportato in figura 5.31, possiamo notare che ogni pezzo dell'interfaccia Γ coincide con un lato della griglia. Risolviamo anche in questo caso due problemi: il primo per $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ e il secondo $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$ le cui soluzioni sono riportate in figura 5.32.

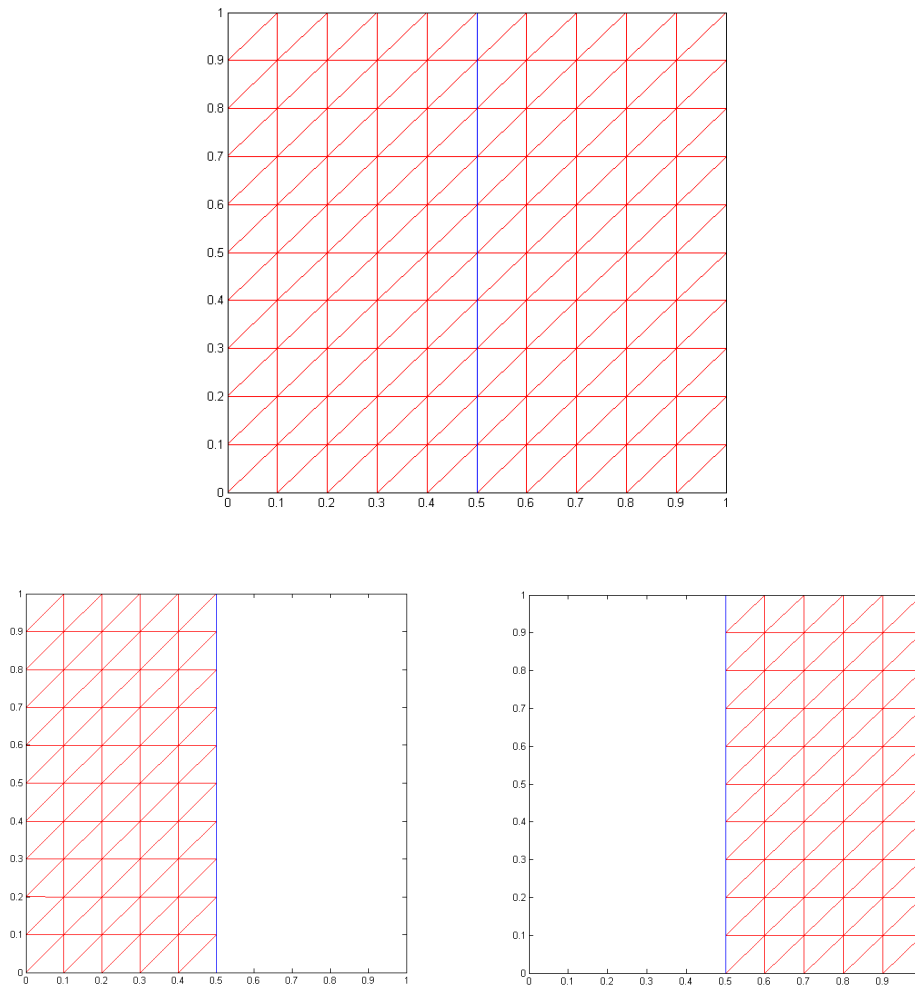


Figura 5.31: Discretizzazione del dominio Ω , interfaccia $\Gamma : x - 0.5 = 0$ risolta dalla mesh. In alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h . In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1} . In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2} .

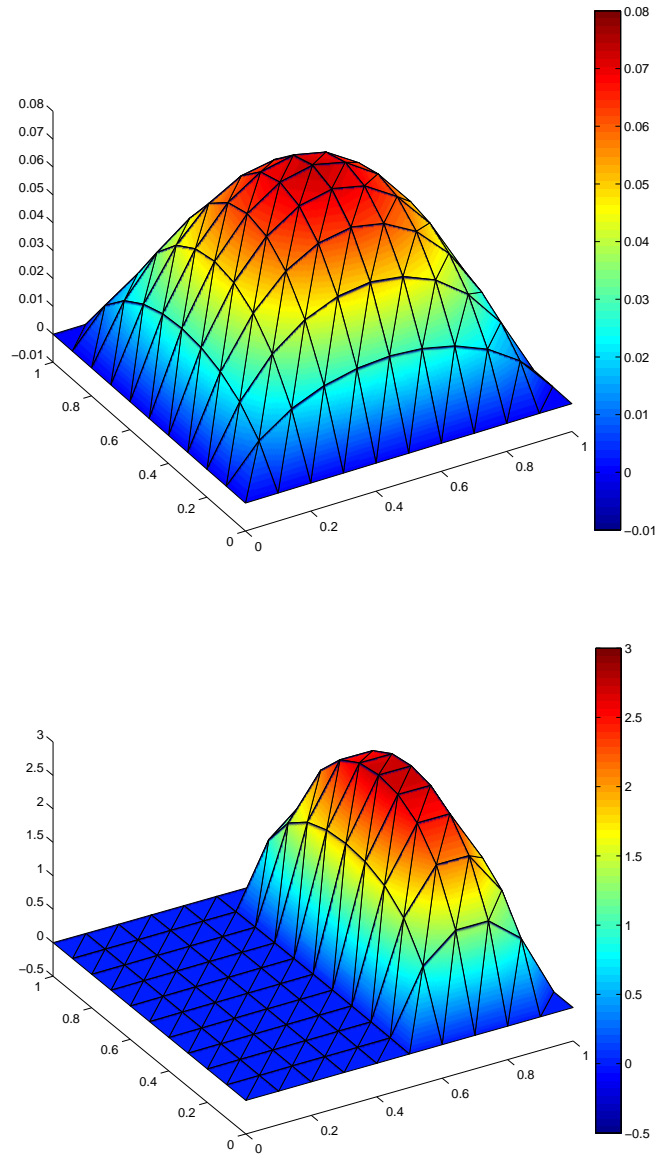


Figura 5.32: Soluzioni approssimate del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.31. In alto: soluzione del sistema preconditionato per $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$. In basso: soluzioni del sistema preconditionato per $\alpha_1 = 10$ e $\alpha_2 = 0.01$.

Dalle soluzioni si può osservare che lo spazio XFEM non ha alcuna difficoltà a risolvere problemi con interfaccia fittata. Inoltre, nel caso α_1 e α_2 coincidenti, si ottiene la medesima soluzione che si avrebbe con un metodo classico.

Le soluzioni sono state ottenute utilizzando il comando `pcg` di Matlab che implementa il metodo del gradiente coniugato. Il comando prende in ingresso la matrice

A^H e il vettore termine noto F^H e risolve il sistema $A^H \mathbf{v} = F^H$, con numero massimo di iterazioni pari alla dimensione N della matrice A^H e con tolleranza pari a 10^{-6} . Si può inoltre specificare la scelta del preconditionatore che di default viene posto uguale alla matrice identità. Applichiamo il comando `pcg` ad entrambi i sistemi, $A^H \mathbf{v} = F^H$ e $P^{-1} A^H \mathbf{v} = P^{-1} F^H$, e ad entrambi i problemi, con interfaccia fittata e interfaccia non fittata.

Osserviamo che i grafici visualizzati precedentemente riportano il risultato del sistema preconditionato con la matrice P ; non vengono riportate le soluzioni del sistema non preconditionato poichè nella maggior parte dei problemi l'algoritmo non converge.

Riportiamo in tabella 5.2 le seguenti informazioni fornite dal comando `pcg`: il numero di iterazioni effettuate dall'algoritmo e il parametro `stop` che indica il motivo per cui l'algoritmo è terminato. Quest'ultimo può assumere i seguenti valori: 0 se l'algoritmo converge con un numero di iterazioni inferiore al valore massimo, 1 se l'algoritmo non converge nel numero massimo di iterazioni. Si può notare che il numero di iterazioni nel caso di sistema non preconditionato è sempre di molto superiore a quello del sistema preconditionato. In particolare nei casi in cui abbiamo coefficienti α discontinui possiamo notare che lo `stop` del sistema non preconditionato è pari a 1: questo significa che l'algoritmo non riesce a convergere nel numero di iterazioni massimo, neanche nel caso in cui l'interfaccia è fittata.

| Γ fittata | N | α | Precond | # iterazioni | stop |
|------------------|-----|----------------------------------|---------|--------------|------|
| No | 288 | $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ | No | 169 | 0 |
| No | 288 | $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ | Sì | 54 | 0 |
| No | 288 | $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | No | // | 1 |
| No | 288 | $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | Sì | 191 | 0 |
| Sì | 132 | $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ | No | 113 | 0 |
| Sì | 132 | $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ | Sì | 32 | 0 |
| Sì | 132 | $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | No | // | 1 |
| Sì | 132 | $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | Sì | 75 | 0 |

Tabella 5.2: Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.

Interfaccia circolare.

Analizziamo ora il caso in cui Γ sia una circonferenza interna al dominio Ω e chiamiamo la parte interna alla circonferenza $\Omega_1 = \{(x, y) \in \Omega : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2 < 0\}$ e la parte esterna $\Omega_2 = \{(x, y) \in \Omega : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2 > 0\}$. Riportiamo due esempi: nel primo caso costruiamo una griglia di partenza lasca per visualizzare in che modo il bordo Γ viene approssimato dal metodo UIP; il secondo caso viene definito su una griglia fitta ed è finalizzato a mostrare la buona approssimazione nel metodo. In entrambi i casi poniamo $\alpha_1 = 0.01$ e $\alpha_2 = 10$ e il termine noto f costante uguale a 1.

Presentiamo innanzitutto i risultati nel caso di griglia lasca. Dividiamo ogni lato

del quadrato unitario in 8 intervalli e costruiamo le griglia \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} come mostrato in figura 5.33. Notiamo che vi sono alcuni triangoli, che pur avendo intersezione non nulla con il dominio Ω_i , non vengono selezionati nella griglia \mathcal{T}_{hi} poichè la loro frazione di area di intersezione è inferiore alla soglia fissata ε .

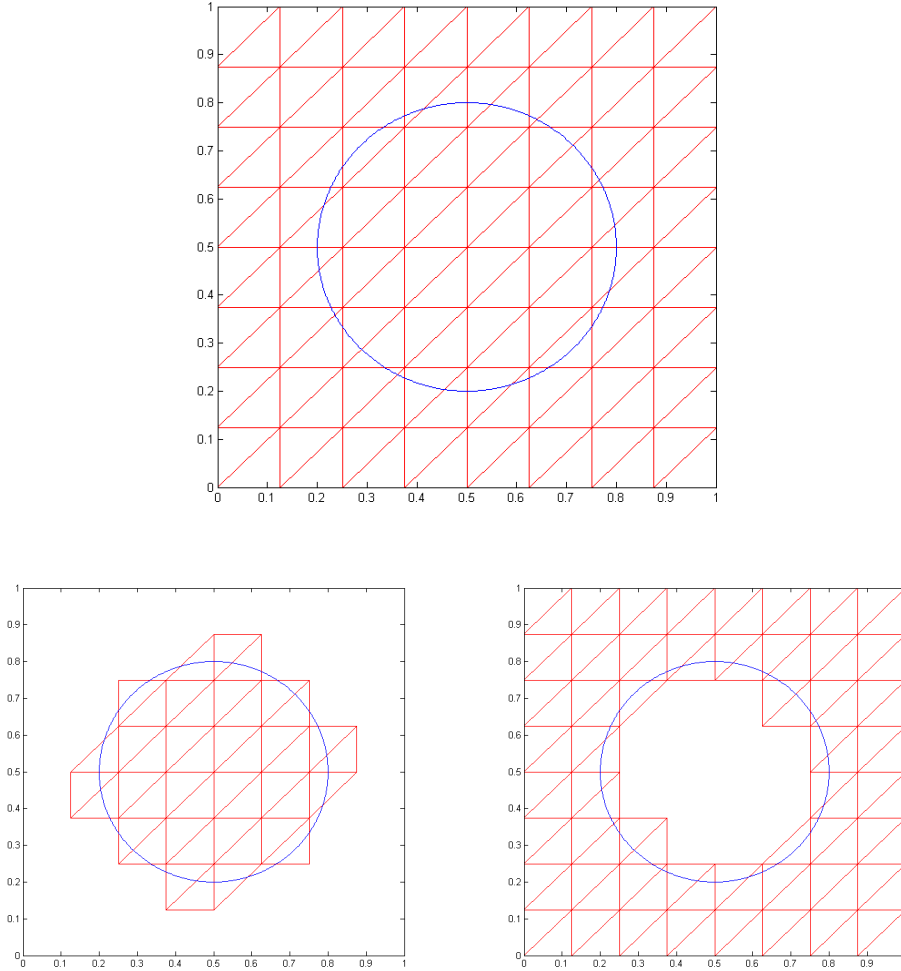


Figura 5.33: Discretizzazione del dominio Ω , interfaccia $\Gamma : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2$. In alto: triangolazione lasca e uniforme \mathcal{T}_h . In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1} . In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2} .

In figura 5.34 riportiamo il risultato calcolato tramite il metodo UIP. Abbiamo utilizzato due differenti mappe di colori per mettere in evidenza la linea con cui viene approssimata l'interfaccia Γ . É possibile vedere che Γ viene approssimata mediante l'unione dei segmenti $\Gamma_{K,h}$. Notiamo inoltre che in prossimità dei triangoli esclusi dalla griglia \mathcal{T}_{h1} l'approssimazione dell'interfaccia segue esattamente i lati della mesh.

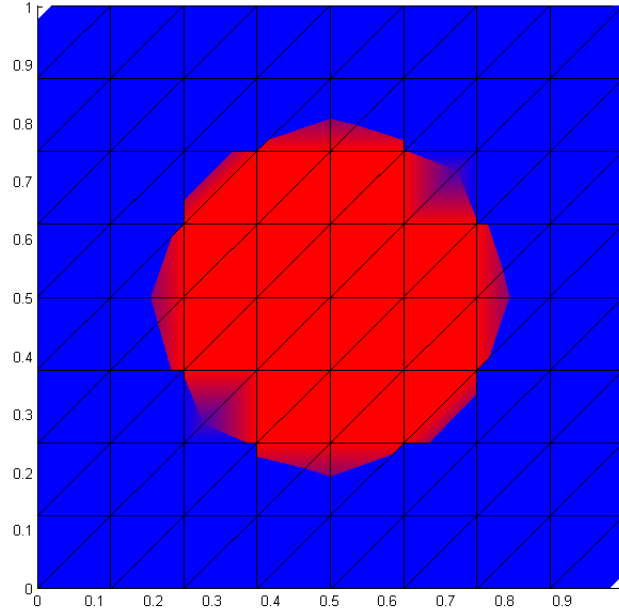


Figura 5.34: Soluzione approssimata del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.33 per $\alpha_1 = 0.01$ e $\alpha_2 = 10$.

Consideriamo ora una mesh più fitta e suddividiamo il lato del quadrato in 20 intervalli. Otteniamo le griglie e la soluzione riportate rispettivamente in figura 5.35 e 5.36. Si può vedere che la linea di discontinuità del gradiente attraversa i triangoli e ricostruisce in buona approssimazione il cerchio Γ .

Le soluzioni riportate sono state ottenute utilizzando nuovamente il comando `pcg` di Matlab, preconditionando il sistema con la matrice P . Riportiamo anche in questo caso gli indici i parametri dell'algoritmo `pcg` applicato al sistema non preconditionato e a quello preconditionato con un numero massimo di iterazioni pari a N , dimensione della matrice A^H , e tolleranza pari a 10^{-6} . I dati sono inseriti in tabella 5.3 e anche in questo caso possiamo notare che l'algoritmo non preconditionato non riesce a convergere in un numero di iterazioni inferiore ad N , al contrario di quanto accade per il caso preconditionato.

| Griglia | N | Precond | # iterazioni | stop |
|---------|-----|---------|--------------|------|
| Lasca | 107 | No | // | 1 |
| Lasca | 107 | Sì | 101 | 0 |
| Fine | 503 | No | // | 1 |
| Fine | 503 | Sì | 314 | 0 |

Tabella 5.3: Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.

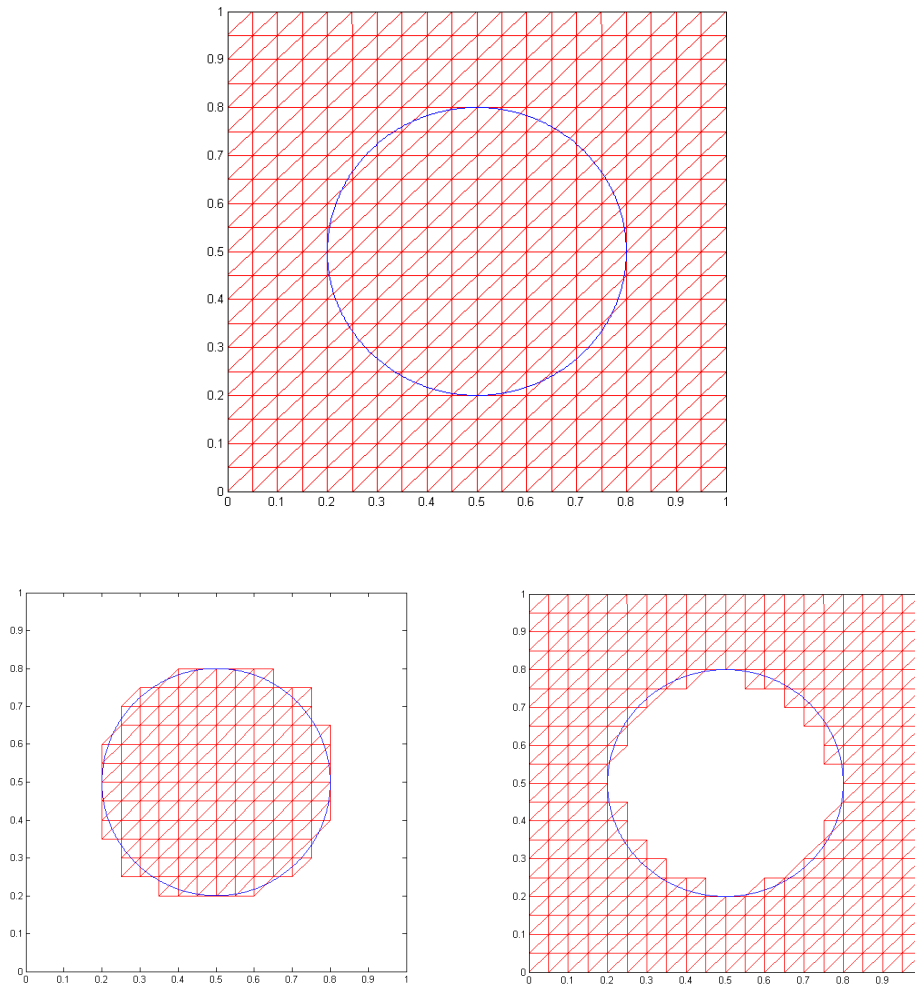


Figura 5.35: Discretizzazione del dominio Ω , interfaccia $\Gamma : (x - 0.5)^2 + (y - 0.5)^2 = 0.3^2$. In alto: triangolazione fine e uniforme \mathcal{T}_h . In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1} . In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2} .

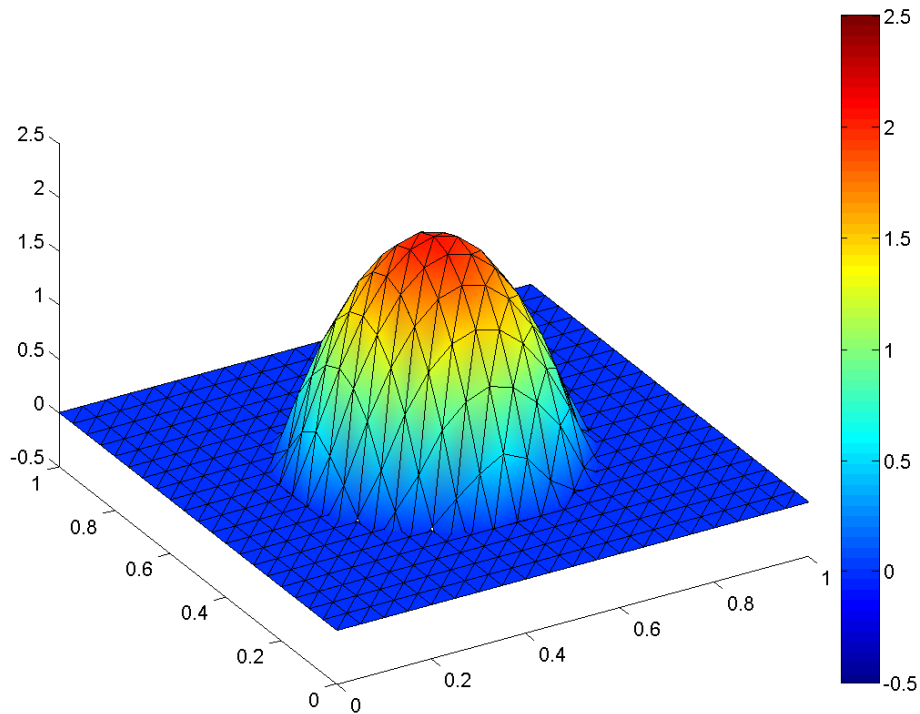


Figura 5.36: Soluzione approssimata del problema (5.193) sulla griglia di figura 5.35 per $\alpha_1 = 0.01$ e $\alpha_2 = 10$.

5.5.2 Risoluzione del problema a partire da un'immagine

In questa sezione ci occupiamo del caso in cui il dominio di risoluzione del problema è descritto da un'immagine. Questa situazione è la più interessante nel contesto del nostro lavoro di tesi, in quanto la descrizione del bioreattore a scala microscopica, in cui si distinguono le diverse fasi del sistema, può essere effettuata solo attraverso opportune immagini. Queste vengono acquisite tramite scansioni μ -Ct [Cio06] e, successivamente, vengono rielaborate e trasformate in immagini bianco-nero. Nel lavoro di tesi triennale [CC07] ci siamo occupate in modo approfondito dello studio e dalla rielaborazione delle immagini e i risultati raggiunti possono essere ripresi in questo contesto. In realtà il passo di elaborazione dell'immagine non rientra fra gli obiettivi di questo lavoro e, pertanto, analizziamo un esempio semplice, in cui si considera un'immagine contenente un solo elemento di forma regolare. La figura viene ridimensionata e convertita in bianco-nero e il risultato è riportato in 5.37.

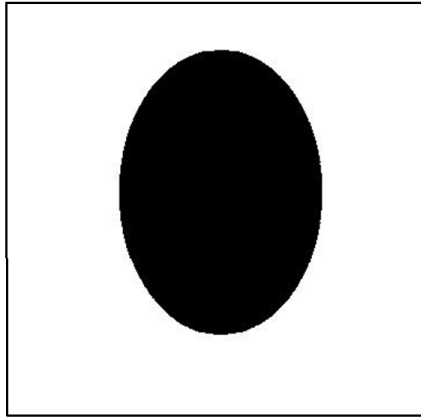


Figura 5.37: Immagine in bianco e nero su cui si vuole risolvere il problema

La particolarità del problema in esame è che non si conosce una parametrizzazione per descrivere l'interfaccia che separa la zona del pieno dalla zona del vuoto. Con pieno indichiamo la parte in nero, occupata ad esempio da materiale cellulare e in bianco la parte vuota, che rappresenta ad esempio la fase extracellulare. La ricostruzione della geometria è un lavoro non banale, soprattutto se si pensa al caso in cui l'immagine provenga da rilevamenti sperimentali: gli elementi presenti nella figura possono essere molteplici e di forma geometrica particolare. Bisogna dunque cercare una strategia risolutiva diversa: la strada seguita prevede la costruzione di una funzione indicatrice, definita a partire dall'immagine. Si costruisce un dominio rettangolare, di dimensione pari al numero di pixel dell'immagine e si definisce un'opportuna triangolazione del dominio, che chiamiamo \mathcal{T}_{hG} . La mesh \mathcal{T}_{hG} viene importata in Matlab e viene sovrapposta all'immagine: ogni triangolo della griglia viene etichettato con 0 o 1 a seconda che il suo baricentro si trovi nella parte piena o nella parte vuota. Si ottiene in questo modo la funzione indicatrice, che vediamo rappresentata in figura 5.38, e che viene successivamente importata in FreeFem++. La funzione indicatrice ci permette di dividere la griglia \mathcal{T}_{hG} , selezionando i triangoli che coprono l'elemento dell'immagine. L'operazione viene effettuata tramite la funzione `trunc` di FreeFem++ e si ottiene la nuova griglia \mathcal{T}_{hG} , riportata in figura 5.38. La differenza rispetto al caso di interfaccia parametrica è che si ottiene un'approssimazione dell'interfaccia meno regolare, formata da una linea spezzata che presenta diversi spigoli. La risoluzione prosegue con la costruzione di una griglia più lasca \mathcal{T}_h , sul dominio normalizzato $[0, 1] \times [0, 1]$; la funzione indicatrice viene utilizzata per il calcolo dei pesi κ_i , su ciascun triangolo di \mathcal{T}_h . A questo punto il programma segue il procedimento di prima: i pesi vengono utilizzati per costruire le mesh \mathcal{T}_{h1} e \mathcal{T}_{h2} .

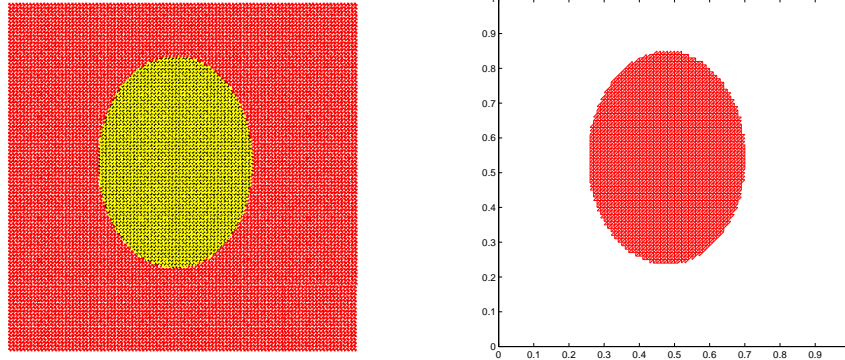


Figura 5.38: A sinistra: funzione indicatrice; ad ogni triangolo della griglia \mathcal{T}_{hG} viene assegnata una flag a seconda della posizione del suo baricentro. A destra: troncatura della griglia \mathcal{T}_{hG} .

Si costruiscono in FreeFem++ la matrice a blocchi A^H (5.194) e il preconditionatore P (5.198) che vengono successivamente importati in Matlab. Riportiamo di seguito la soluzione ottenuta per il problema (5.193) risolto sul dominio di figura 5.37; i parametri vengono fissati a $\alpha_1 = 0.01$, $\alpha_2 = 10$, $f = 1$ e la griglia \mathcal{T}_h viene costruita ponendo $N_1 = N_2 = 20$.

| α | Precond | stop | ‡ iterazioni |
|----------------------------------|---------|------|--------------|
| $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | No | 1 | // |
| $\alpha_1 = 0.01, \alpha_2 = 10$ | Sì | 0 | 879 |

Tabella 5.4: Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.

Come per i casi precedenti, la risoluzione del sistema è stata effettuata tramite il comando `pcg` di Matlab, fissando una tolleranza per l'algoritmo pari a 10^{-6} . Abbiamo analizzato sia il caso in cui la matrice A^H viene preconditionata con P , sia il caso senza preconditionatore. Il risultato mostra che nel primo caso si ha convergenza in un numero piuttosto elevato di iterazioni, mentre nel secondo l'algoritmo non converge. I risultati sono ottenuti ponendo un numero massimo di iterazioni pari a 1000.

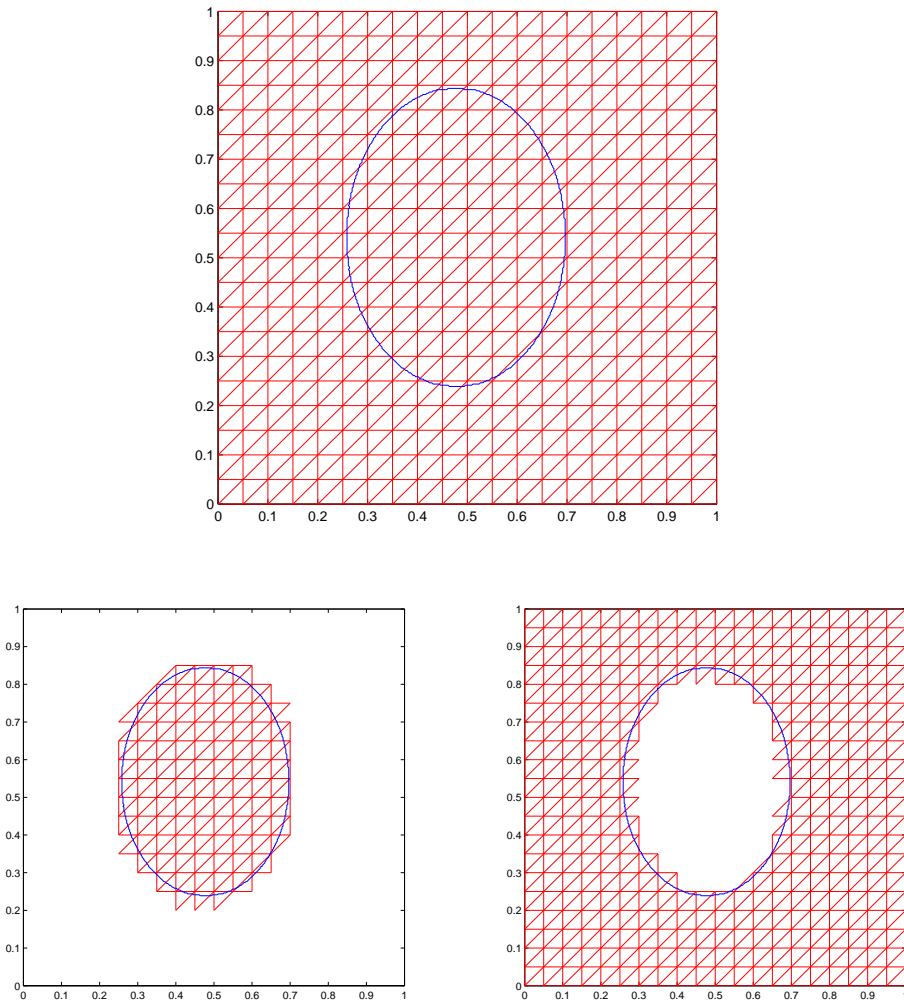


Figura 5.39: Discretizzazione del dominio di figura 5.37; in alto: triangolazione uniforme \mathcal{T}_h con $N_1 = N_2 = 20$. In basso a sinistra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h1} . In basso a destra: sotto-griglia \mathcal{T}_{h2} . Il bordo dell'elemento viene visualizzato tramite la funzione `bwboundaries` di Matlab.

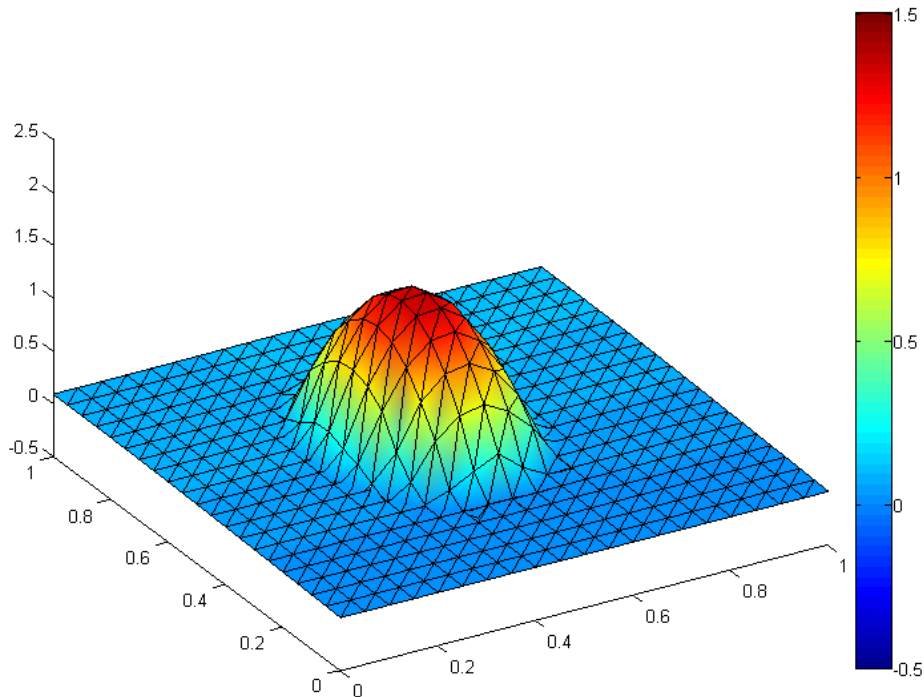


Figura 5.40: Soluzione del problema (5.193)

5.6 Problemi parabolici con interfaccia variabile nel tempo

L'analisi del metodo UIP è stata sviluppata per il caso stazionario, tuttavia, come abbiamo riportato nell'introduzione, nelle applicazioni ai problemi della crescita tissutale, bisogna risolvere equazioni tempo dipendenti. In letteratura sono presenti alcuni lavori che applicano il metodo XFEM a problemi parabolici, [RN09], [SD07]. Essi tuttavia definiscono i problemi su un dominio con geometria fissata: l'interfaccia interna Γ che separa Ω in due parti non si muove nel tempo. Al contrario, il dominio fisico su cui è definito il problema è formato da fasi che modificano la loro geometria nel tempo: la biomassa cresce e aumenta il proprio volume a discapito dello spazio occupato dal fluido di nutrienti. L'interfaccia tra le diverse fasi che compongono il sistema varia la propria posizione e la propria geometria ad ogni istante temporale.

Questa sezione si prefigge lo scopo di analizzare il metodo UIP applicato ad un problema parabolico con interfaccia variabile nel tempo, proponendo una formulazione debole discreta che permetta il calcolo della soluzione approssimata e dimostrandone le proprietà di stabilità e di convergenza.

5.6.1 Problema modello

Consideriamo il seguente problema:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \partial_t u - \nabla \cdot (\alpha \nabla u) + \sigma u = f & \text{in } \Omega \ \forall t \in (0, T] \\ u(\mathbf{x}, 0) = u_0(\mathbf{x}) & \text{per } \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}, t) = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \partial\Omega, t \in (0, T] \\ [u(\mathbf{x}, t)] = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \Gamma(t), t \in (0, T] \\ [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u(\mathbf{x}, t)] = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \Gamma(t), t \in (0, T] \end{array} \right. \quad (5.200)$$

dove $\Gamma(t)$ è un'interfaccia che si sposta nel tempo e che divide il dominio Ω in due sottoinsiemi $\Omega_1(t)$ e $\Omega_2(t)$ tali che:

$$\Omega_1(t) + \Omega_2(t) = \Omega,$$

con Ω non dipendente dalla variabile temporale. Il coefficiente di diffusività $\alpha = \alpha(\mathbf{x}, t)$ è definito come segue:

$$\alpha(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} \alpha_1 \text{ su } \Omega_1(t) \\ \alpha_2 \text{ su } \Omega_2(t) \end{cases} \quad (5.201)$$

dove α_1 e α_2 sono due costanti positive. La dipendenza temporale del coefficiente α è implicita: la diffusività dipende dal tempo in quanto essa assume valori diversi sui domini Ω_i che cambiano ad ogni istante.

Moltiplicando l'equazione differenziale del problema (5.200), ad ogni istante $t \in (0, T]$, per una funzione test $v(\mathbf{x})$ e integrando sul dominio Ω si ottiene la formulazione debole continua:

$\forall t \in (0, T]$ trovare $u(t) \in H_0^1(\Omega)$ tale che

$$(\partial_t u(t), v)_0 + a(u(t), v) = f(v) \ \forall v \in H_0^1(\Omega) \quad (5.202)$$

dove $a(\cdot, \cdot)$ è equivalente alla forma bilineare (5.8) del caso stazionario e $f(v)$ è il funzionale associato al termine noto $f = f(\mathbf{x}, t)$.

5.6.2 Generalizzazione del metodo UIP al caso parabolico

Procediamo con la discretizzazione del problema (5.202) generalizzando il metodo UIP presentato per il caso stazionario nelle sezioni precedenti. Trattiamo la dipendenza temporale mediante un metodo di discretizzazione a differenze finite e utilizziamo il metodo XFEM per la discretizzazione spaziale. Suddividiamo l'intervallo di tempo $[0, T]$ in N_τ intervalli equispaziati $[t_n, t_{n+1}]$ con $n = 0, \dots, N_\tau$.

Definiamo il passo temporale $\tau = T/N_\tau$, da cui si ricava $t_n = n\tau$. Per una generica grandezza $\phi(t_n)$ utilizziamo la seguente notazione:

$$\phi(t_n) = \phi^n.$$

Procediamo ora con la discretizzazione spaziale.

Per non confondere la soluzione approssimata e lo spazio discreto con la soluzione esatta e lo spazio continuo reintroduciamo la notazione che fa uso dei pedici h . Lo spazio ad elementi finiti standard di primo grado verrà quindi indicato con la notazione V_h e la generica funzione discreta con v_h .

Costruiamo una griglia di discretizzazione uniforme \mathcal{T}_h del dominio Ω che, per ogni istante t_n , rispetta le ipotesi 5.2.1 riportate nel caso stazionario e che regolano l'interazione degli elementi di griglia con l'interfaccia Γ_n . Sottolineiamo che la griglia \mathcal{T}_h non dipende dal tempo e viene perciò definita una sola volta.

Riferendosi al caso stazionario, per ogni istante di tempo t_n e per $i = 1, 2$ definiamo i seguenti strumenti necessari per la formulazione del problema debole discreto:

- Le sottogriglie \mathcal{T}_{hi}^n

$$\mathcal{T}_{hi}^n := \cup\{K|K \cap \Omega_i^n \neq \emptyset\}, \quad i = 1, 2. \quad (5.203)$$

- Gli operatori di restrizione R_i^n

$$R_i^n v = \begin{cases} v|_{\Omega_i^n} & \text{su } \Omega_i^n \\ 0 & \text{su } \Omega \setminus \Omega_i^n \end{cases} \quad i = 1, 2. \quad (5.204)$$

- Gli insiemi degli indici $\mathcal{I}_i^{\Gamma,n}$.

Detto \mathcal{I} l'insieme degli indici dei vertici, definiamo:

$$\mathcal{I}_1^{\Gamma,n} = \{k \in \mathcal{I} : x_k \in \Omega_2 \text{ e } \text{supp}(\phi_k) \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.205)$$

$$\mathcal{I}_2^{\Gamma,n} = \{k \in \mathcal{I} : x_k \in \Omega_1 \text{ e } \text{supp}(\phi_k) \cap \Gamma \neq \emptyset\} \quad (5.206)$$

- Gli spazi $V_i^{\Gamma,n}$

$$V_i^{\Gamma,n} := \text{span}\{R_i^n \phi_k | k \in \mathcal{I}_i^{\Gamma,n}\} \quad i = 1, 2. \quad (5.207)$$

A questo punto è possibile introdurre lo spazio XFEM all'istante t_n :

$$V_h^{\Gamma,n} = V_h \oplus V_1^{\Gamma,n} \oplus V_2^{\Gamma,n} = R_1^n V_h \oplus R_2^n V_h \quad (5.208)$$

dove V_h è lo spazio discreto ad elementi finiti standard di primo grado sulla griglia \mathcal{T}_h , introdotto nella (5.13).

Osserviamo che lo spazio $V_h^{\Gamma,n}$ in cui viene cercata la soluzione cambia ad ogni istante temporale. Una situazione analoga si riscontra nei problemi di adattività di griglia dove, ad ogni passo iterativo, viene modificata la mesh di calcolo e di

conseguenza lo spazio discreto. Prendiamo quindi spunto dalla letteratura inerente a questo argomento ([Pic98], [EV09]) per scrivere la formulazione debole discreta del problema parabolico.

Per ogni istante t_n con $n = 1, \dots, N_\tau$ cerchiamo $u_h^n \in V_h^{\Gamma, n}$ tale che:

$$(D_\tau u_h^n, v_h^n)_0 + a_h^n(u_h^n, v_h^n) = f(v_h^n) \quad \forall v_h^n \in V_h^{\Gamma, n}, \quad (5.209)$$

dove $D_\tau u_h^n$ è un'opportuna discretizzazione della derivata temporale $\frac{\partial u_h^n}{\partial t}$ e $a_h^n(\cdot, \cdot)$ corrisponde alla forma bilineare del metodo di Nitsche, presentato nella sezione 5.2.2, con interfaccia corrispondente a Γ^n . Scegliamo $D_\tau u_h^n$ e $a_h^n(\cdot, \cdot)$ nel seguente modo:

$$D_\tau u_h^n = \frac{u_h^n - u_h^{n-1}}{\tau} \quad (5.210)$$

$$a_h^n(u, v) = (\alpha \nabla u, \nabla v)_{0, \Omega_1^n \cup \Omega_2^n} + (\sigma u, v)_0 + \gamma h^{-1}([u], [v])_{0, \Gamma^n} \quad (5.211)$$

$$- (\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u\}, [v])_{0, \Gamma^n} - (\{\alpha \nabla_{\mathbf{n}} v\}, [u])_{0, \Gamma^n}$$

Costruiamo la funzione $u_{h\tau}$ interpolando linearmente nel tempo agli istanti t_n le soluzioni approssimate u_h^n :

$$u_{h\tau} = \rho(t) u_h^n(\mathbf{x}) + (1 - \rho(t)) u_h^{n-1}(\mathbf{x}), \quad t_n \leq t \leq t_{n+1}, \quad \mathbf{x} \in \Omega. \quad (5.212)$$

dove scegliamo $\rho(t)$ nel seguente modo:

$$\rho(t) = \frac{t - t_{n-1}}{t_n - t_{n-1}} \quad (5.213)$$

La formulazione (5.209) viene tradotta nel seguente problema:

cerchiamo $u_{h\tau}(t)$ della forma (5.212) tale che $u_{h\tau}(0) = \Pi_h^0 u_0$ dove Π_h^0 è un'opportuno interpolatore del dato iniziale sullo spazio $V_h^{\Gamma, 0}$ e $u_{h\tau}$ verifica

$$(\partial_t u_{h\tau}, v_h^n)_0 + a_h^n(u_{h\tau}, v_h^n) = f(v_h^n) \quad \forall v_h^n \in V_h^{\Gamma, n}, \quad (5.214)$$

infatti, sviluppando esplicitamente la derivata temporale di $u_{h\tau}$, si ottiene:

$$\partial_t u_{h\tau} = \frac{u_h^n - u_h^{n-1}}{\tau} = D_\tau u_h^n \quad (5.215)$$

5.6.3 Analisi di stabilità e convergenza del metodo UIP

Analizziamo ora le proprietà dello schema numerico proposto in (5.214): ricaviamo la stima di stabilità e l'ordine di convergenza dell'errore di approssimazione.

Stabilità.

Procediamo con la derivazione della stima di stabilità. Nella (5.209) prendiamo $v_h^n = u_h^n$ e per semplicità poniamo $f = 0$, si ottiene:

$$\frac{1}{\tau} \|u_h^n\|_0^2 + a_h^n(u_h^n, u_h^n) \leq \frac{1}{\tau} \|u_h^{n-1}\|_0 \|u_h^n\|_0 \quad (5.216)$$

Utilizzando la proprietà di coercività (5.121) ricavata nel caso stazionario e che rimane invariata per $a_h^n(\cdot, \cdot)$, possiamo scrivere:

$$\|u_h^n\|_0^2 + \tau \alpha_C \| \|u_h^n\| \| \|_n^2 \leq \frac{1}{2} \|u_h^{n-1}\|_0^2 + \frac{1}{2} \|u_h^n\|_0^2 \quad (5.217)$$

dove $\| \| \cdot \| \|_n$ è la norma indotta dalla forma bilineare $a_h^n(\cdot, \cdot)$. Si ottiene:

$$\|u_h^n\|_0^2 + 2\tau \alpha_C \| \|u_h^n\| \| \|_n^2 \leq \|u_h^{n-1}\|_0^2 \quad (5.218)$$

Dalla definizione della norma $\| \| \cdot \| \|_n$ e utilizzando la disuguaglianza di Poincarè, si ottiene:

$$\|u_h^n\|_0^2 + 2\tau \alpha_C \left(1 + \frac{1}{C_p^2}\right) \|u_h^n\|^2 \leq \|u_h^{n-1}\|_0^2 \quad (5.219)$$

Vale infine la seguente stima di stabilità:

$$\|u_h^n\|_0^2 \leq C \|u_h^{n-1}\|_0^2 \quad (5.220)$$

dove

$$C = \frac{1}{1 + \alpha_C(1 + 1/C_p^2)} < 1 \quad (5.221)$$

Convergenza

Data $u(t)$ soluzione esatta del problema (5.200), definiamo e^n l'errore di approssimazione al passo t_n :

$$e^n = u_h^n - u(t_n) = u_{h\tau}(t_n) - u(t_n) \quad (5.222)$$

Se consideriamo l'errore come una funzione tempo dipendente possiamo scrivere:

$$e(t) = u_{h\tau}(t) - u(t) \quad (5.223)$$

Prima di procedere con l'analisi di convergenza introduciamo l'operatore di proiezione di Riesz sullo spazio $V_h^{\Gamma, n}$ che indichiamo con Π_h^n :

$$\Pi_h^n : H_0^1(\Omega) \rightarrow V_h^{\Gamma, n} : a_h^n(\Pi_h^n v, v_h^n) = a_h^n(v, v_h^n) \quad \forall v_h^n \in V_h^{\Gamma, n} \quad (5.224)$$

Definiamo quindi l'operatore $\Pi_{h\tau}$ che interpola linearmente agli istanti di tempo t_n le funzioni $\Pi_h^n v$:

$$\Pi_{h\tau} v(t) = \rho(t) \Pi_h^n v(t) + (1 - \rho(t)) \Pi_h^{n-1} v(t_{n-1}) \quad t_{n-1} \leq t \leq t_n \quad (5.225)$$

dove, in corrispondenza con la definizione (5.212) di $u_{h\tau}$, scegliamo la funzione $\rho(t)$ è scelta come nella (5.213). Utilizzando la funzione $\Pi_{h\tau}u(t)$ dividiamo l'errore di approssimazione e^n in due contributi:

$$e^n = (u_{h\tau}(t_n) - \Pi_{h\tau}u(t_n)) + (\Pi_{h\tau}u(t_n) - u(t_n)) = w(t_n) + z(t_n) \quad (5.226)$$

dove abbiamo posto

$$w(t_n) = u_{h\tau}(t_n) - \Pi_{h\tau}u(t_n) \quad (5.227)$$

$$z(t_n) = \Pi_{h\tau}u(t_n) - u(t_n) \quad (5.228)$$

Prendiamo in considerazione il termine $z(t_n)$, esso può essere interpretato come un errore di interpolazione associato all'operatore $\Pi_{h\tau}$. Sfruttando le proprietà dell'approssimazione sullo spazio $V_h^{\Gamma,n}$ ricavate in (5.3.1) nel caso stazionario, possiamo ottenere una stima per la norma L^2 di $z(t_n)$.

$$\|z(t_n)\|_0^2 = \|u(t_n) - \Pi_{h\tau}u(t_n)\|_0^2 = \|u(t_n) - \Pi_h^n u(t)\| \lesssim h^4 |u(t_n)|_2^2$$

Per un generico istante M si può scrivere:

$$\|z^M\|_0^2 \lesssim h^4 \sup_{t \in (0,T]} |u(t)|_2^2 \quad (5.229)$$

Consideriamo ora il secondo contributo dell'errore, $w(t_n)$. Per ogni $v_h^n \in V_h^{\Gamma,n}$, sfruttando la definizione di $w(t_n)$ (5.227), la definizione degli operatori $\Pi_{h\tau}$ e Π_h^n in (5.225) e (5.224) e la consistenza del metodo di Nitsche con la formulazione (5.202) possiamo affermare che vale la seguente catena di uguaglianze:

$$\begin{aligned} (\partial_t w(t_n), v_h^n) + a_h^n(w(t_n), v_h^n) &= (\partial_t u_{h\tau}(t_n), v_h^n) + a_h^n(u_{h\tau}(t_n), v_h^n) \\ &\quad - (\partial_t \Pi_{h\tau}u(t_n), v_h^n) + a_h^n(\Pi_{h\tau}u(t_n), v_h^n) \\ &= f(v_h^n) - a_h^n(u(t_n), v_h^n) - (\partial_t \Pi_h^n u(t_n), v_h^n) \\ &= (\partial_t u(t_n), v_h^n) - (\partial_t \Pi_h^n u(t_n), v_h^n) \end{aligned}$$

Per la definizione (5.228) di $z(t_n)$ si ottiene:

$$(\partial_t w(t_n), v_h^n) + a_h^n(w(t_n), v_h^n) = (\partial_t u(t_n), v_h^n) - (\partial_t \Pi_{h\tau}u(t_n), v_h^n) = -(\partial_t z(t_n), v_h^n) \quad (5.230)$$

Prendiamo ora $v_h^n = w(t_n) = w^n$.

$$(\partial_t w^n, w^n) + a_h^n(w^n, w^n) = -(\partial_t z^n, w^n) \quad (5.231)$$

Per definizione di $D_\tau v(t)$, vale la seguente identità:

$$(\partial_t w^n, w^n) = (D_\tau w^n, w^n) = \frac{1}{2} D_\tau \|w^n\|_0^2 + \frac{\tau}{2} \|D_\tau w^n\|_0^2$$

Inserendo questa relazione nella precedente, si ottiene:

$$\frac{1}{2}D_\tau \|w^n\|_0^2 + \frac{\tau}{2} \|D_\tau w^n\|_0^2 + a_h^n(w^n, w^n) = -(\partial_t z^n, w^n)$$

Minorando il termine a sinistra e maggiorando il termine a destra, possiamo affermare che valgono le seguenti:

$$\begin{aligned} \frac{1}{2}D_\tau \|w^n\|_0^2 + \alpha_C \|w^n\|_n^2 &\leq \|\partial_t z(t_n)\|_0 \|w^n\|_0 \\ &\leq \frac{1}{4\epsilon} \|\partial_t z(t_n)\|_0^2 + \epsilon \|w^n\|_n^2 \end{aligned}$$

$$D_\tau \|w^n\|_0^2 + 2(\alpha_C - \epsilon) \|w^n\|_n^2 \leq C(\epsilon^{-1}) \|\partial_t z(t_n)\|_0^2$$

dove $C(\epsilon^{-1})$ è inversamente proporzionale a ϵ . Sommando da $n = 1$ fino ad un certo indice M fissato si ottiene:

$$\|w^M\|_0^2 - \|w^0\|_0^2 + 2\tau(\alpha_C - \epsilon) \sum_{n=1}^M \|w^n\|_n^2 \leq \tau C(\epsilon^{-1}) \sum_{n=1}^M \|\partial_t z^n\|_0^2 \quad (5.232)$$

Osserviamo che $w^0 = u_{h\tau}(0) - \Pi_{h\tau} u(0) = u_h^0 - \Pi_h^0 u_0 = 0$. Cerchiamo una maggiorazione per il termine $\|\partial_t z^n\|_0^2$. Dalla definizione di z^n e utilizzando l'uguaglianza (5.215) possiamo scrivere:

$$\|\partial_t z^n\|_0^2 = \|D_\tau \Pi_h^n u(t_n) - \partial_t u(t_n)\|_0^2$$

Assumiamo che la soluzione esatta $u(t)$ sia sufficientemente regolare in tempo affinché valga la seguente:

$$\partial_t u(t_n) = D_\tau u(t_n) - \tau \partial_{tt} u(t^*) \quad t^* \in [t_{n-1}, t_n]$$

Inserendo questa relazione nella precedente si ottiene:

$$\begin{aligned} \|\partial_t z^n\|_0 &\leq \|D_\tau \Pi_h^n u(t_n) - D_\tau u(t_n)\|_0 + \tau \sup_{t \in [t_{n-1}, t_n]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0 \\ &\leq \frac{1}{\tau} \|\Pi_h^n u(t_n) - u(t_n)\|_0 + \|\Pi_h^{n-1} u(t_{n-1}) - u(t_{n-1})\|_0 \\ &\quad + \tau \sup_{t \in [t_{n-1}, t_n]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0 \\ &\lesssim \frac{1}{\tau} h^2 \sup_{t \in [t_{n-1}, t_n]} |u(t)|_2 + \tau \sup_{t \in [t_{n-1}, t_n]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0 \end{aligned}$$

Inseriamo la relazione appena trovata nella (5.232):

$$\|w^M\|_0^2 + 2\tau(\alpha_C - \epsilon) \sum_{n=1}^M \|w^n\|_n^2$$

$$\begin{aligned} &\lesssim (M\tau)C(\epsilon^{-1}) \sum_{n=1}^M \left[\frac{1}{\tau^2} h^4 \sup_{t \in (0,T]} |u(t)|_2^2 + \tau^2 \sup_{t \in (0,T]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0^2 \right] \\ \|w^M\|_0^2 &\lesssim TC(\epsilon^{-1}) \sum_{n=1}^M \left[\frac{1}{\tau^2} h^4 \sup_{t \in (0,T]} |u(t)|_2^2 + \tau^2 \sup_{t \in (0,T]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0^2 \right] \end{aligned} \quad (5.233)$$

Utilizzando le stime (5.233) e (5.229) nella (5.226), si ottiene:

$$\begin{aligned} \|e^M\|_0^2 &\lesssim h^4 \sup_{t \in (0,T]} |u(t)|_2^2 \\ &+ TC(\epsilon^{-1}) \sum_{n=1}^M \left[\frac{1}{\tau^2} h^4 \sup_{t \in (0,T]} |u(t)|_2^2 + \tau^2 \sup_{t \in (0,T]} \|\partial_{tt} u(t)\|_0^2 \right] \end{aligned} \quad (5.234)$$

La stima (5.234) è composta da tre termini, ciascuno caratterizzato da un diverso ordine infinitesimo rispetto ad h o in τ :

$$\|e^M\|_0 \sim O(h^2) + O\left(\frac{h^2}{\tau}\right) + O(\tau) \quad (5.235)$$

Imponendo che il rapporto tra il passo di griglia h e il passo temporale τ sia costante, otteniamo che la soluzione u_h^n converge alla soluzione esatta $u(t_n)$ per ogni $n = 1, \dots, N_\tau$ con un ordine *non ottimale*. Questa osservazione apre nuovi interessanti sviluppi del nostro lavoro.

5.6.4 Formulazione algebrica

Riportiamo la formulazione debole discreta (5.209):

$$(D_\tau u_h^n, v_h^n)_{0, \Omega_1^n \cup \Omega_2^n} + a_h^n(u_h^n, v_h^n) = f(v_h^n) \quad \forall v_h^n \in V_h^{\Gamma, n}, \quad (5.236)$$

con $D_\tau u_h^n = (u_h^n - u_h^{n-1})/\tau$. Ricaviamo la formulazione algebrica associata alla discretizzazione sopra riportata. Innanzitutto scriviamo la generica funzione $v_h^n \in V_h^{\Gamma, n}$ in dipendenza dai suoi valori nodali:

$$v_h^n = \sum_{k \in \mathcal{V}} w_k^n \phi_k + \sum_{i=1}^2 \sum_{k \in \mathcal{I}_i^\Gamma} \beta_k^{(i,n)} R_i^n \phi_k \quad (5.237)$$

dove $\{\phi_k\}$ sono le funzioni di base dello spazio V_h di dimensione n_h . Indichiamo con N_h^n , $N_1^{\Gamma, n}$ e $N_2^{\Gamma, n}$ le dimensioni rispettivamente di $V_h^{\Gamma, n}$, $V_1^{\Gamma, n}$, $V_2^{\Gamma, n}$. I coefficienti w_k^n , $\beta_k^{(i,n)}$ con $i = 1, 2$, sono i valori nodali della funzione v_h^n e, in base a questi, possiamo costruire i seguenti vettori:

$$\mathbf{w}^n = [w_1^n \dots w_{n_h}^n]' \quad (5.238)$$

$$\mathbf{w}_1^n = [\beta_1^{(1,n)} \dots \beta_{N_1^{\Gamma, n}}^{(1,n)}]' \quad (5.239)$$

$$\mathbf{w}_2^n = [\beta_1^{(2,n)} \dots \beta_{N_2^{\Gamma,n}}^{(2,n)}]' \quad (5.240)$$

Costruiamo quindi il vettore \mathbf{z}^n :

$$\mathbf{z}^n = [(\mathbf{w}^n)', (\mathbf{w}_1^n)', (\mathbf{w}_2^n)']' \quad (5.241)$$

Costruiamo l'insieme delle funzioni di base dello spazio $V_h^{\Gamma,n}$:

$$\{\varphi_j^n\}_{1 \leq j \leq N_h^n} = \{\phi_j\}_{1 \leq j \leq n_h} \cup \{R_1^n \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_1^{\Gamma,n}} \cup \{R_2^n \phi_j\}_{j \in \mathcal{I}_2^{\Gamma,n}} \quad (5.242)$$

Ad ogni passo temporale n la formulazione debole (5.209) si traduce nella seguente formulazione algebrica:

$$\left(\frac{M^n}{\tau} + A^n \right) \mathbf{z}^n = \mathbf{F}^n + \frac{\widetilde{M}^n}{\tau} \mathbf{z}^{n-1} \quad (5.243)$$

con

$$[A^n]_{jk} = a_h^n(\varphi_k^n, \varphi_j^n) \text{ per } k, j = 1, \dots, N_h^n \quad (5.244)$$

$$[M^n]_{jk} = (\varphi_k^n, \varphi_j^n)_0 \text{ per } k, j = 1, \dots, N_h^n \quad (5.245)$$

$$[\widetilde{M}^n]_{jk} = (\varphi_k^{n-1}, \varphi_j^n)_0 \text{ per } k = 1, \dots, N_h^{n-1}, j = 1, \dots, N_h^n \quad (5.246)$$

e

$$[\mathbf{F}^n]_j = f(\varphi_j^n) \text{ per } j = 1, \dots, N_h^n \quad (5.247)$$

La matrice di risoluzione del sistema algebrico (5.243) è composta dalla matrice di massa e dalla matrice indotta dalla forma bilineare a_h^n . Come dimostrato nella sezione 5.3.4 per il caso stazionario, queste matrici sono mal condizionate quando l'interfaccia si avvicina ad un lato di griglia. In un problema parabolico, dove Γ è funzione del tempo, lo spostamento dell'interfaccia può arrivare a rendere il sistema mal condizionato. Ad ogni passo t_n preconditioniamo il sistema analogamente a quanto fatto nel caso stazionario, utilizzando la seguente matrice diagonale:

$$P^n = D_M^n + D_L^n \quad (5.248)$$

dove

$$D_M^n = \begin{pmatrix} D & \emptyset \\ \emptyset & D_1^n \\ \emptyset & \emptyset & D_2^n \end{pmatrix} \quad (5.249)$$

con

$$(D)_{k,k} = \|\phi_k\|_0^2, \quad 1 \leq k \leq n_h, \\ (D_i^n)_{k,k} = \|R_i^n \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^{\Gamma,n} \text{ e } i = 1, 2.$$

e

$$D_L^n = \begin{pmatrix} D_\alpha^n & \emptyset \\ \emptyset & D_{\alpha 1}^n \\ \emptyset & \emptyset & D_{\alpha 2}^n \end{pmatrix} \quad (5.250)$$

con

$$(D_\alpha^n)_{k,k} = \|\alpha^{1/2} \nabla \phi_k\|_0^2, \quad 1 \leq k \leq n_h,$$

$$(D_{\alpha,i}^n)_{k,k} = \|\alpha^{1/2} \nabla R_i^n \phi_k\|_0^2, \quad k \in \mathcal{I}_i^{\Gamma,n} \text{ e } i = 1, 2.$$

Grazie a P^n è possibile stabilizzare il sistema (5.243) ad ogni passo t_n . Nel caso parabolico, il metodo UIP stabilizzato presenta il vantaggio di essere di facile implementazione: ad ogni passo temporale, necessita infatti del calcolo di tre matrici, dell'estrazione della loro diagonale e della risoluzione di un sistema ben condizionato rispetto alla posizione dell'interfaccia.

5.6.5 Simulazioni numeriche

Riportiamo ora i risultati ottenuti dalle simulazioni del caso parabolico. Il codice è stato sviluppato mediante l'utilizzo di Freefem++ e Matlab. Viene calcolata la soluzione approssimata del seguente problema:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{\partial u}{\partial t} - \nabla \cdot (\alpha \nabla u) = f & \text{in } \Omega \quad \forall t \in (0, 1] \\ u(\mathbf{x}, 0) = u_0(\mathbf{x}) & \text{per } \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}, t) = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \partial\Omega, t \in (0, 1] \\ [u(\mathbf{x}, t)] = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \Gamma(t), t \in (0, 1] \\ [\alpha \nabla_{\mathbf{n}} u(\mathbf{x}, t)] = 0 & \text{per } \mathbf{x} \in \Gamma(t), t \in (0, 1] \end{array} \right. \quad (5.251)$$

dove

$$\begin{aligned} f(\mathbf{x}, t) &= 1 \text{ per } \mathbf{x} \in \Omega, t \in (0, 1] \\ u_0 &= 0 \text{ per } \mathbf{x} \in \Omega \\ \alpha(\mathbf{x}, t) &= \begin{cases} \alpha_1 & \text{su } \Omega_1(t) \\ \alpha_2 & \text{su } \Omega_2(t) \end{cases} \end{aligned}$$

Lo spostamento dell'interfaccia viene poi specificato per ciascuno dei casi test considerati.

Caso test 1: interfaccia rettilinea

Nel primo caso test prendiamo in considerazione un'interfaccia rettilinea verticale. All'istante t_0 essa si trova in posizione $\Gamma = x - 0.8$ e si sposta con una velocità ν_Γ pari a -0.59 unità al secondo. Dividiamo l'intervallo temporale in 10 sottointervalli, da cui risulta $\tau = 0.1$. All'istante temporale t_n l'interfaccia si trova nella seguente posizione:

$$\Gamma^n = x - (0.8 + n\tau\nu_\Gamma)$$

Il coefficiente di diffusione è definito come segue:

$$\alpha(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 10 & \text{su } \Omega_1(t) \\ 0.01 & \text{su } \Omega_2(t) \end{cases}$$

La griglia di discretizzazione spaziale che viene utilizzata è la medesima riportata in figura 5.29. Nei grafici 5.41, 5.42 e 5.43, riportiamo la soluzione approssimata u_h^n calcolata ad ogni istante temporale t_n . In tabella 5.5 riportiamo il valore dei dati relativi alla convergenza del gradiente coniugato applicato al sistema algebrico non preconditionato e a quello preconditionato. Gli indici **stop** e **stopP**, rispettivamente per il sistema algebrico non preconditionato e preconditionato, indicano se il metodo è riuscito a convergere entro il numero di iterazioni massimo fissato a $N_h^n = 288$. Le variabili **iter** e **iterP** indicano invece il numero di iterazioni effettuate se il sistema è arrivato a convergenza. Come nel caso stazionario (sezione 5.5.1), anche in queste simulazioni le griglie sono state costruite escludendo i triangoli con area minore di una tolleranza ϵ dipendente dal passo di griglia h . Grazie a questi tagli viene ridotto il numero di condizionamento del sistema non preconditionato, notiamo infatti che tale sistema converge per quasi tutti gli istanti temporali. Tuttavia vi è un'iterazione in cui converge unicamente il sistema stabilizzato ed inoltre si può notare che il numero di iterazioni di quest'ultimo è sempre inferiore, a volte pari quasi alla metà di quelle effettuate per il caso non preconditionato.

| | t_1 | t_2 | t_3 | t_4 | t_5 | t_6 | t_7 | t_8 | t_9 | t_{10} |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| stop | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| stopP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| iter | 231 | 241 | 222 | 215 | 218 | 227 | 242 | // | 147 | 177 |
| iterP | 152 | 177 | 165 | 176 | 174 | 172 | 165 | 158 | 90 | 97 |

Tabella 5.5: Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.

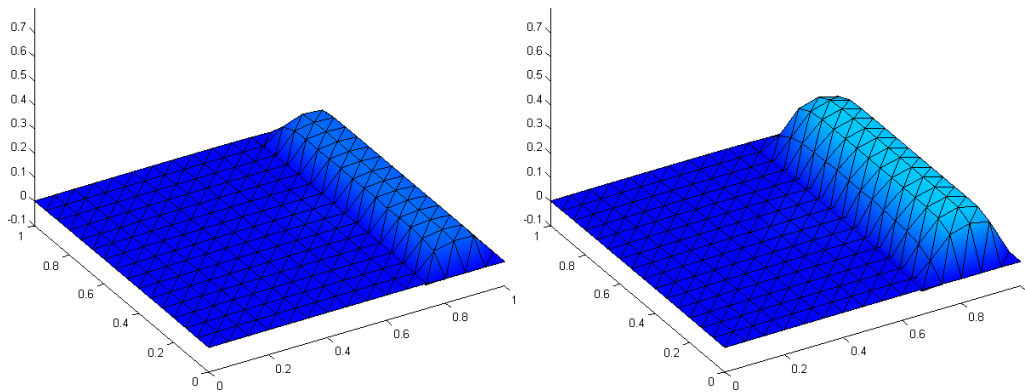


Figura 5.41: Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, 2$

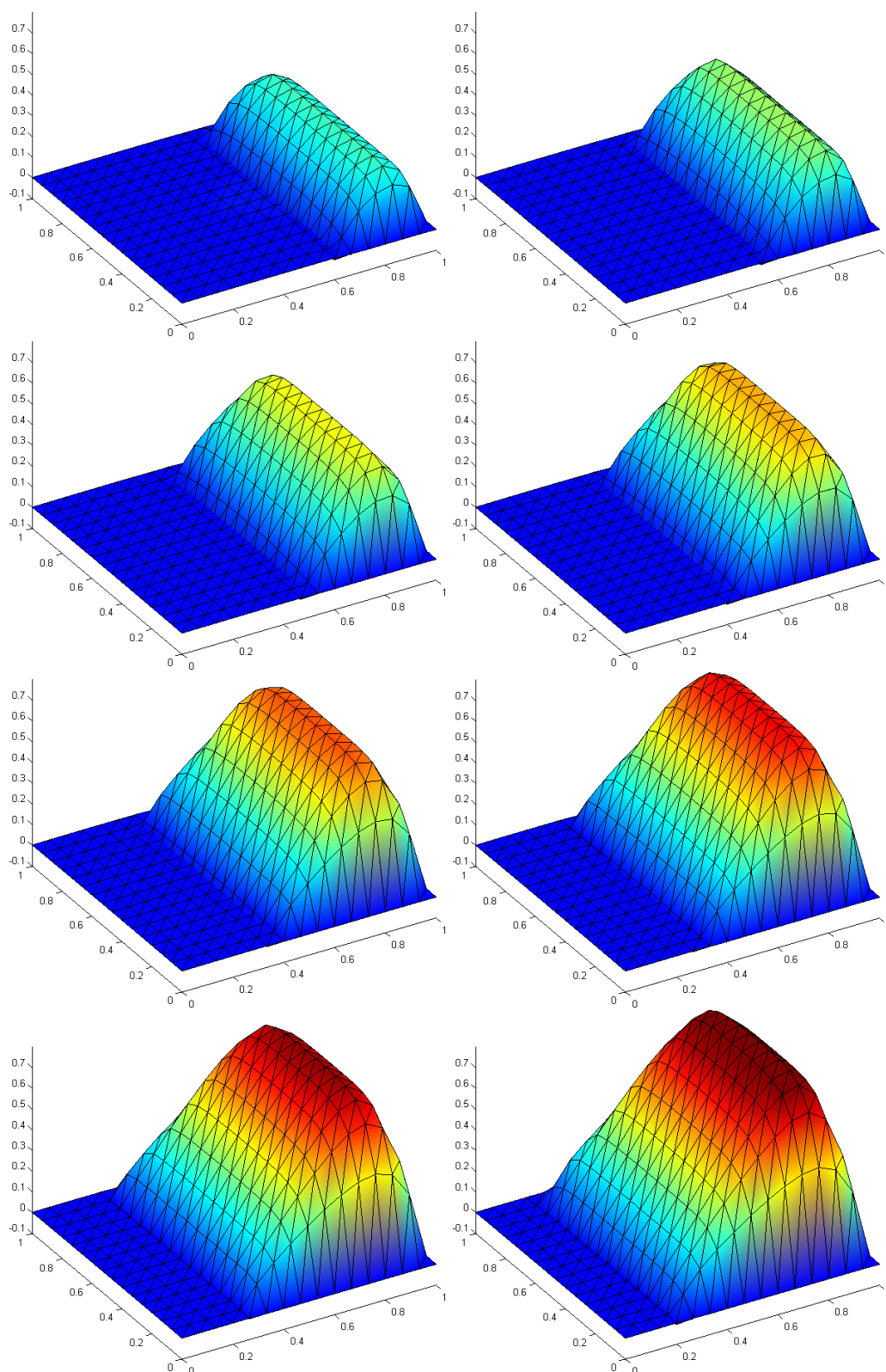


Figura 5.42: Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 3, \dots, 10$

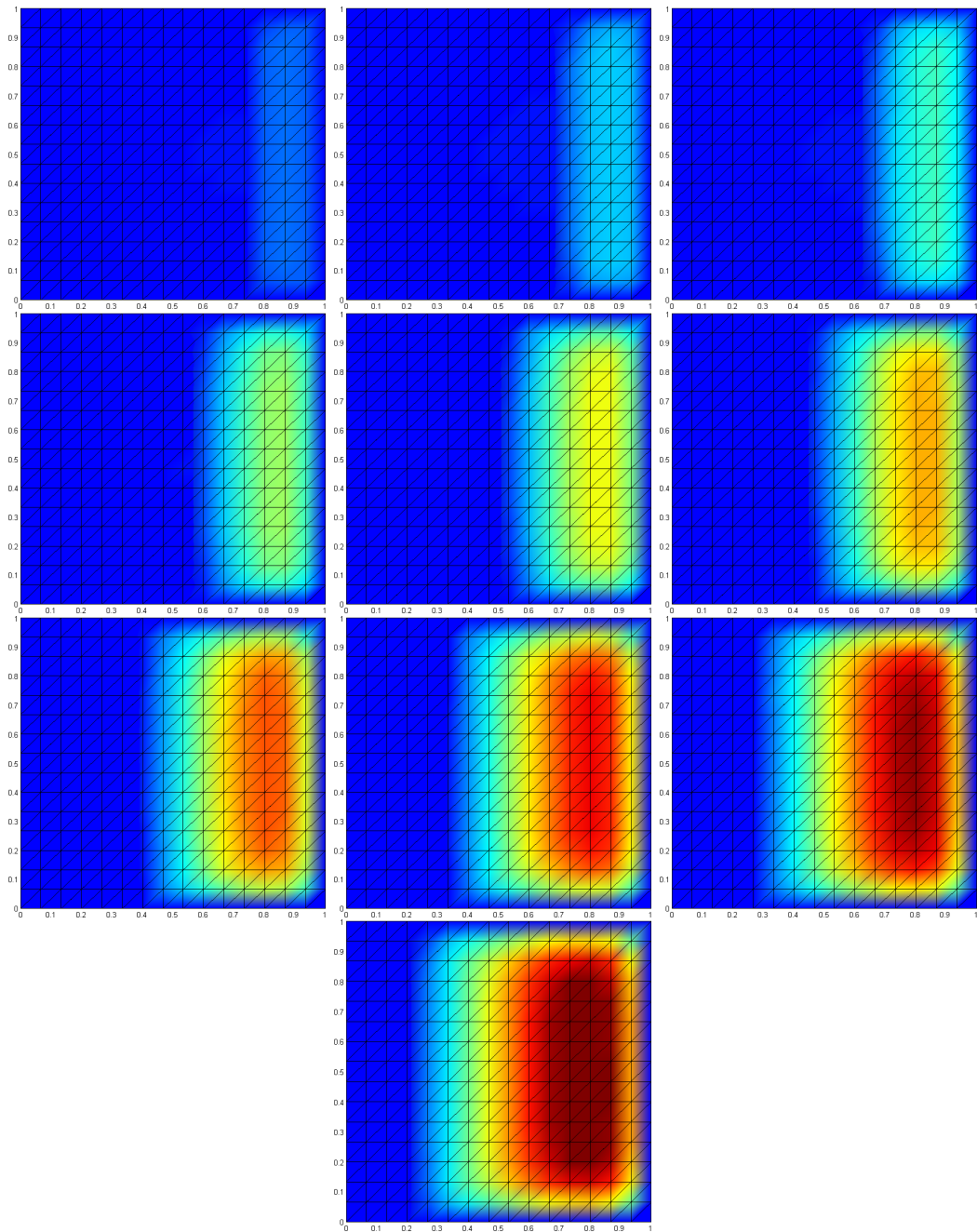


Figura 5.43: Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia rettilinea agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, \dots, 10$, visualizzate in grafici bidimensionali

Caso test 2: interfaccia circolare

In questo secondo caso prendiamo in considerazione un'interfaccia circolare il cui raggio aumenta ad ogni istante temporale. L'interfaccia ha il centro fissato in

$(0.5, 0.5)$ e il suo raggio aumenta da 0.2 a 0.45 con velocità 0.25. Anche in questo caso, dividiamo l'intervallo temporale in 10 sottointervalli, $\tau = 0.1$. All'istante temporale t_n il raggio di Γ^n è pari a $0.2 + n\tau\nu_\Gamma$.

Imponiamo i seguenti valori per il coefficiente di diffusione:

$$\alpha(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 0.01 & \text{su } \Omega_1(t) \\ 10 & \text{su } \Omega_2(t) \end{cases}$$

Per la discretizzazione spaziale utilizziamo la mesh riportata in figura 5.35. I risultati ottenuti sono riportati nelle figure 5.44 e 5.45. In tabella 5.6 sono riportati i dati relativi all'utilizzo dell'algoritmo del gradiente coniugato. Anche in questo caso possiamo notare che vi è un'iterazione in cui, nonostante l'esclusione degli elementi con aree molto piccole, il sistema non preconditionato non converge nel numero massimo di iterazioni fissato a $N_h^n = 503$, al contrario di quanto accade per il sistema preconditionato.

| | t_1 | t_2 | t_3 | t_4 | t_5 | t_6 | t_7 | t_8 | t_9 | t_{10} |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| stop | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| stopP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| iter | 226 | 247 | 302 | 299 | // | 327 | 324 | 374 | 303 | 321 |
| iterP | 225 | 166 | 237 | 201 | 322 | 214 | 218 | 191 | 180 | 181 |

Tabella 5.6: Risultato dell'applicazione del metodo iterativo gradiente coniugato al sistema non preconditionato e al sistema preconditionato.

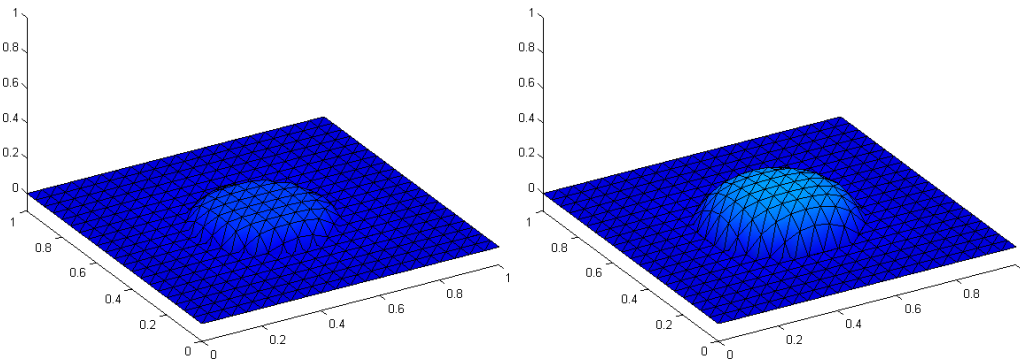


Figura 5.44: Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia circolare agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 1, 2$

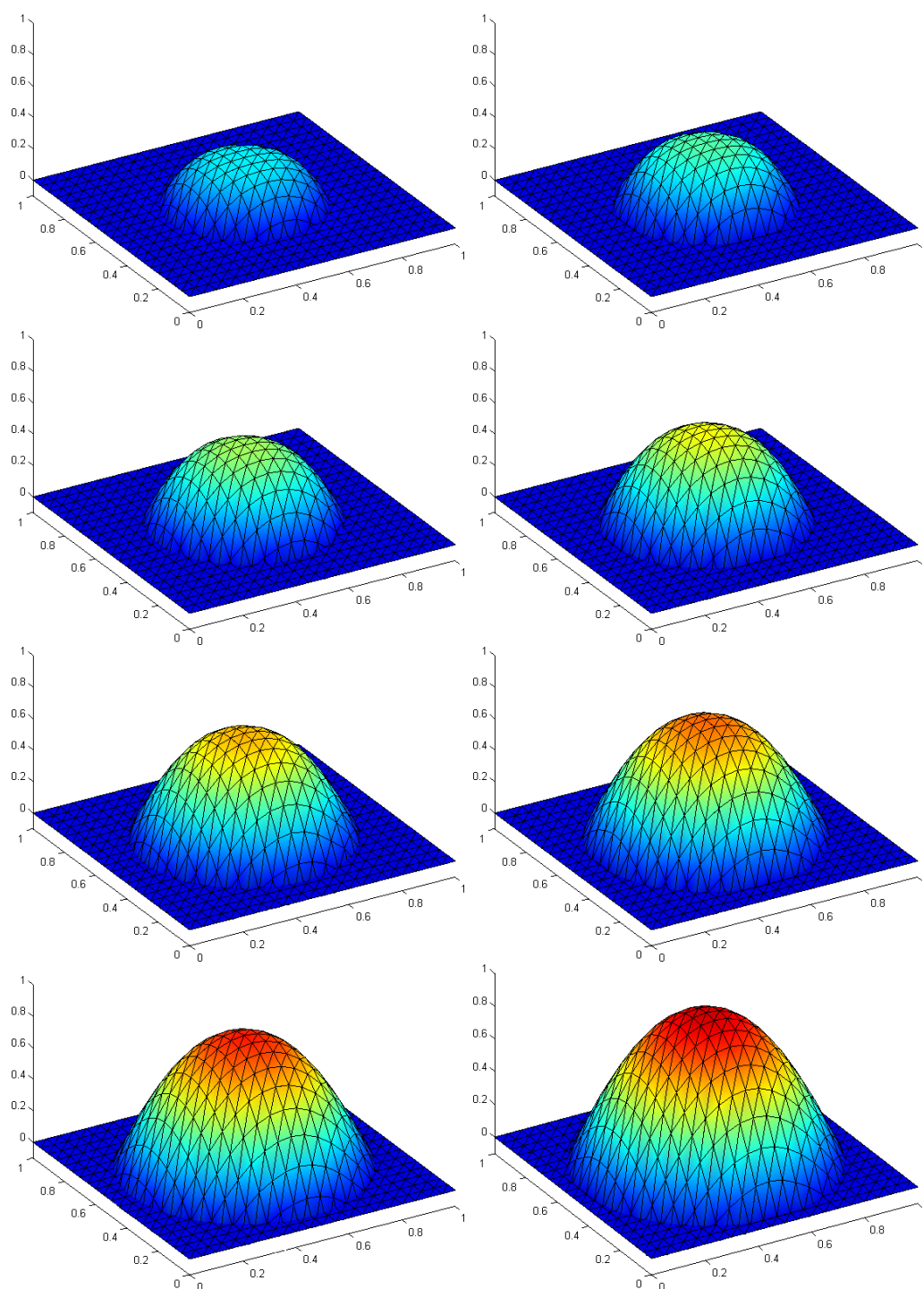


Figura 5.45: Soluzioni approssimate del problema (5.251) con interfaccia circolare agli istanti temporali $t_n = n\tau$ con $n = 3, \dots, 10$

Conclusioni

La nostro lavoro si colloca nell'ambito della modellistica matematico-numerica applicata al campo dell'ingegneria tissutale. Quest'ultima è una branca dell'ingegneria biomedica che si occupa della ricostruzione *in vitro* di tessuti e organi biologici. Negli ultimi anni l'ingegneria dei tessuti è stata oggetto di una rapida espansione, in quanto si propone come valida alternativa alle tecniche chirurgiche di trapianto autologo ed eterologo utilizzate per la sostituzione di organi e tessuti danneggiati. In particolare, nel nostro lavoro abbiamo considerato la ricostruzione del tessuto cartilagineo articolare mediante l'utilizzo di bioreattori, ambienti sterili che sono in grado di ricreare le condizioni chimico-fisiche per il corretto sviluppo fisiologico del tessuto. All'interno del bioreattore viene posta una matrice polimerica, porosa e biodegradabile, lo scaffold. Su questa matrice vengono seminate le cellule ed essa sostituisce, nelle prime fasi di crescita, la matrice extracellulare. Lo scaffold viene immerso in un liquido, che prende il nome di mezzo di coltura, nel quale si trovano disciolte diverse sostanze nutritive, come il glucosio e l'ossigeno, e che rifornisce le cellule del nutrimento necessario.

La comprensione completa di questa scienza e del suo ambiente sperimentale necessita del supporto di modelli matematici che siano in grado di fornire le equazioni fondamentali per descrivere i fenomeni di crescita e di trasporto che avvengono durante la sintesi del tessuto *in vitro*. Per garantire una crescita corretta e corrispondente a quanto avviene nel sistema *in vivo*, bisogna saper calibrare i parametri che regolano e determinano il sistema sperimentale utilizzato. Per questo motivo un buon modello matematico deve sapere predire i risultati in modo quantitativo. Per rispondere a queste esigenze nel nostro lavoro di tesi abbiamo sviluppato i seguenti punti, afferenti ciascuno ad una differente tipologia di modellistica:

1. Modellistica matematica: abbiamo proposto un modello matematico multi-scala per un sistema multifasico;
2. Modellistica fisiologica: abbiamo identificato le variabili dipendenti e ricavato il sistema di equazioni che caratterizzano il fenomeno fisico alla macroscale;
3. Modellistica numerica: abbiamo studiato un'opportuna tecnica numerica per la risoluzione delle equazioni del modello concentrandoci in particolare su tecniche innovative per il trattamento della microscala.

Modellistica matematica. I fenomeni che avvengono durante la sintesi del tessuto cartilagineo presentano due aspetti modellistici importanti: essi sono caratterizzati da scale spaziali differenti e avvengono in un dominio eterogeneo e multifasico.

Abbiamo prodotto un modello multiscala in grado di individuare le scale spaziali e temporali che caratterizzano il sistema e che è capace di accoppiare tra loro fenomeni fisici afferenti a diverse scale. Per raggiungere questo obiettivo abbiamo studiato in modo approfondito il metodo del Volume Averaging, grazie al quale è possibile effettuare i passaggi da una scala all'altra del costruito, l'*upscaling* e il *downscaling*. Nella prima parte del lavoro abbiamo risolto il sistema sperimentale alla scala caratteristica del costruito, la macroscale. Il metodo del VA ci ha permesso di eseguire l'*upscaling* e di trasportare ad una scala superiore le informazioni e le proprietà del sistema definite alla microscale. Le equazioni alla macroscale sono state risolte sia sul breve periodo che sul lungo periodo e hanno fornito come risultato le grandezze mediate sul costruito.

Questa fase di modellistica è stata molto importante in quanto ci ha permesso di considerare la coesistenza di diverse scale spaziali e temporali, tutte parimenti importanti per indagare il comportamento complessivo del sistema. La risoluzione del problema alla macroscale ci ha permesso di riconoscere quali sono le variabili che determinano la crescita del tessuto e di verificare le interazioni che sussistono fra esse.

Il processo di *downscaling* prevede invece il passaggio da scale superiori a scale inferiori, sulle quali si vuole analizzare il sistema in maniera più dettagliata. Lo studio di questo passaggio è necessario ai fini di un confronto tra le immagini microscopiche del tessuto e i risultati numerici, per poter controllare il corretto sviluppo del costruito in ogni sua parte.

Modellistica fisiologica. Lo sviluppo di questo punto ci ha portato ad individuare le grandezze che caratterizzano la crescita del tessuto cartilagineo. I risultati sperimentali riportati in [RMC⁺06] mostrano che il volume di biomassa prodotta dipende dalla percentuale di cellule presenti, dalla concentrazione di sostanze nutrienti (ossigeno, glucosio) e dalla presenza di sforzi di taglio generati sulle membrane cellulari dal movimento del fluido di nutrienti. Da queste considerazioni abbiamo ricavato che le grandezze fondamentali per la caratterizzazione del sistema sono tre: la frazione volumetrica di biomassa, la concentrazione di sostanze nutrienti e il campo degli sforzi di taglio.

Abbiamo formulato un innovativo modello per la crescita di frazione volumetrica. Esso viene costruito a partire da interessanti spunti presenti in letteratura ([GL00], [GL99], [DS03] e [KS07]) ma si differenzia da essi in modo sostanziale. Il nostro modello prevede infatti l'introduzione diretta della dipendenza dagli sforzi di taglio tramite la definizione di opportuni coefficienti numerici, seguendo quanto fatto anche in [CRS10]. Il modello è stato calibrato grazie ai risultati sperimentali riportati in [RMC⁺06] e i risultati numerici che abbiamo ottenuto ci hanno permesso di verificare che, in accordo con quanto registrato dai dati sperimentali, il modello predice un aumento della crescita di biomassa all'aumentare dell'intensità degli sforzi e della concentrazione di ossigeno. Inoltre il valore numerico dei parametri del modello ottenuti tramite la calibrazione è in accordo con gli ordini di grandezza ricavati in via teorica.

Successivamente abbiamo sviluppato un'originale variante del modello, nella qua-

le abbiamo voluto evidenziare il contributo separato della parte cellulare e della matrice extracellulare, che insieme formano la biomassa. Infatti dai risultati sperimentali di [RMC⁺06] si evince che le due componenti non seguono la stessa cinetica di crescita. Il modello è stato costruito mediante un'integrazione delle informazioni sulla cellularità, riportate nei lavori di [GL00] e di [GL99], con quelle riguardanti la matrice extracellulare presentate in [KS07] e [DS03]. Nuovamente i parametri del modello sono stati calibrati utilizzando i risultati sperimentali di [RMC⁺06]. I risultati ottenuti ci hanno permesso di concludere quali miglioramenti potrebbero essere effettuati sul sistema sperimentale, al fine di ottenere una maggiore crescita cellulare. In ultimo, separando i contributi delle cellule e della matrice extracellulare, si ottiene un controllo sull'andamento del rapporto tra le due componenti del sistema.

L'analisi di breve periodo è stata necessaria per poter ricavare il valore numerico dei coefficienti che determinano il modello di crescita di biomassa. L'obiettivo successivo è stato quello di simulare la crescita di cellule e di matrice extracellulare su un periodo di tempo più lungo, nel quale velocità, concentrazione e sforzi di taglio sono tempo e spazio dipendenti. Nel lungo periodo la crescita di biomassa è tale da influenzare e modificare le altre grandezze che a loro volta influenzano la frazione volumetrica stessa. Abbiamo quindi definito e studiato un modello accoppiato in cui rientrano in gioco tutte le grandezze. Per le simulazioni numeriche abbiamo studiato casi differenti, che si distinguono per il valore del modulo di velocità in ingresso del flusso di perfusione.

Nel caso in cui studiamo il modello per la velocità di ingresso maggiore, i risultati mostrano che la frazione volumetrica di biomassa cresce di circa 20 volte il valore iniziale; in particolare, nelle zone in cui la frazione volumetrica è inferiore si registra anche una minore concentrazione di ossigeno e una minore intensità degli sforzi e viceversa nelle zone dove la frazione volumetrica è maggiore. Questo dimostra il legame diretto che sussiste tra le tre grandezze in esame.

Bisogna però osservare che dopo 200 giorni, nelle zone a più alto tasso di crescita, gli sforzi raggiungono valori 100 volte più grandi di quelli iniziali. Riferendosi a quanto riportato in [CRS10], valori di sforzi idrodinamici così elevati non garantiscono idonee condizioni per la crescita e la riproduzione cellulare, in quanto è riconosciuto sperimentalmente che sforzi di taglio eccessivi inibiscono la sintesi del tessuto. Dobbiamo evidenziare che il nostro modello non è grado di catturare e descrivere questo comportamento biologico, in quanto è stato costruito e validato esclusivamente per uno specifico range di sforzi.

A partire da queste osservazioni abbiamo svolto ulteriori simulazioni per indagare gli effetti specifici di ciascun contributo sulla variazione di biomassa e approfondire l'analisi della dinamica di crescita del tessuto. Abbiamo costruito due simulazioni: nella prima fissando il valore dello sforzo di taglio, per studiare l'effetto della variazione della concentrazione, la seconda fissando il valore della concentrazione per studiare l'effetto dello sforzo di taglio. Il risultato che abbiamo ottenuto è che l'imposizione di sforzi costanti nel tempo provoca una minor crescita di biomassa. L'uniformità della distribuzione di concentrazione di ossigeno determina invece l'omogeneità della frazione volumetrica di biomassa e dell'intensità degli sforzi al-

l'interno del costruito.

Sebbene le simulazioni effettuate, sia sul breve che sul lungo periodo, ci abbiano permesso di verificare che il modello porta a risultati coerenti con il sistema sperimentale, questa validazione è stata fatta solo da un punto di vista qualitativo. La validazione dei risultati dal punto di vista quantitativo è subordinata alla presenza di dati sperimentali non ancora disponibili.

Il modello potrebbe essere ampliato e arricchito, tramite l'introduzione di ulteriori grandezze che influenzano e che sono a loro volta influenzate dalla crescita di biomassa. Pensiamo, ad esempio, alla presenza di altre sostanze nutritive, quali il glucosio, o a sostanze di scarto, prodotte dal metabolismo cellulare. Questo comporterebbe l'aumento del numero di parametri presenti nel modello e, per la loro taratura, bisognerebbe avere a disposizione un quantitativo sufficiente di dati sperimentali, in numero maggiore rispetto a quelli riportati in [RMC⁺06] e utilizzati per la calibrazione del nostro modello.

Tra modellistica fisica e sperimentazione deve esserci un continuo e proficuo scambio di informazioni, grazie al quale ciascuna delle due discipline può aspirare a raggiungere risultati sempre più corretti ed utili.

Modellistica numerica. Nell'ultima parte della tesi ci siamo concentrate sulle problematiche numerico-computazionali che scaturiscono dalla risoluzione dei modelli matematici per l'ingegneria dei tessuti. Per poter risolvere le equazioni definite alla microscala spaziale ed i problemi di chiusura che forniscono i parametri effettivi del modello alla macroscala, è necessario disporre di opportune tecniche numeriche che sappiano approssimare la soluzione di equazioni caratterizzate da parametri discontinui su interfacce interne al dominio.

Il lavoro si incentra sull'analisi e lo sviluppo di metodi *Unfitted Finite Elements*, dove l'interfaccia attraversa e taglia internamente gli elementi della griglia di calcolo. In questo ambito non si può lavorare con elementi finiti standard, che non sarebbero in grado di catturare la discontinuità presente all'interno degli elementi e ci si appoggia pertanto a metodi basati su spazi di tipo *Extended Finite Elements (XFEM)*. Questi particolari elementi finiti sono un'estensione degli elementi finiti classici al caso in cui lo spazio in cui si cerca la soluzione sia discontinuo. Nella loro implementazione vengono considerate, oltre alle funzioni di base polinomiali standard, ulteriori funzioni di base discontinue, definite esclusivamente sugli elementi della mesh attraversati dalla discontinuità interna.

La formulazione debole del problema viene ricavata applicando il metodo di Nitsche; quest'ultimo prevede che le condizioni di bordo definite sull'interfaccia interna vengano incluse nella forma bilineare, tramite opportuni termini di salto e media pesata. L'unione tra lo spazio XFEM e la formulazione debole di Nitsche origina il metodo *Unfitted Interface Penalty (UIP)*. I metodi UIP rappresentano un tema di studio attuale nell'ambito della modellistica numerica: il nostro lavoro ha sviluppato un'analisi teorica dettagliata del metodo, seguendo quanto fatto in [HH02] e [Reu08]. In particolare abbiamo studiato il numero di condizionamento del problema algebrico che deriva dalla discretizzazione spaziale. Il condizionamento della matrice risulta funzione della posizione dell'interfaccia interna; in particolare la modalità con cui

l'interfaccia taglia i triangoli di griglia può portare a situazioni in cui il problema risulta essere altamente mal condizionato.

Per stabilizzare il problema abbiamo definito e costruito un opportuno preconditionatore (caratterizzato da una matrice diagonale): i risultati numerici dimostrano che quest'ultimo rende stabile il sistema, che non risente più della posizione dell'interfaccia. Questo metodo di stabilizzazione presenta il vantaggio di essere facilmente implementabile.

Forti del risultato ottenuto abbiamo affrontato anche lo studio del caso parabolico, nel quale l'interfaccia varia la sua posizione nel tempo. Da un punto di vista sperimentale, questa situazione è la più interessante in quanto nell'ambito dell'ingegneria tissutale dobbiamo analizzare grandezze in continua evoluzione ed espansione: pensiamo ad esempio alla crescita di biomassa all'interno del sistema.

Abbiamo analizzato la stabilità e la convergenza del metodo, per provarne la buona posizione. La semplice estensione del codice implementato per il caso stazionario ci ha permesso di sviluppare inoltre alcune simulazioni numeriche. I risultati mostrano che il condizionamento del problema stabilizzato risulta essere indipendente dalla posizione dell'interfaccia interna.

Il nostro lavoro di tesi può essere considerato *completo* in quanto è riuscito ad integrare differenti livelli di modellistica. Ciascuno di questi può essere sottoposto ad ulteriori miglioramenti e sviluppi.

Sviluppi della modellistica matematica. Dall'applicazione del metodo del Volume Averaging scaturisce il problema di chiusura che coinvolge i termini di deviazione dalla media. Lo sviluppo di questa parte prevede l'analisi e la risoluzione approssimata dell'equazione di chiusura integro-differenziale definita su un dominio con interfacce interne.

Sviluppi della modellistica fisiologica. La prima modifica da effettuare sul modello fisico per la crescita di biomassa riguarda l'introduzione di un meccanismo che sappia riprodurre il riassorbimento di biomassa in presenza di sforzi elevati. Questo miglioramento permetterebbe di estendere il range di validità di sforzo del modello. Un secondo ampliamento di questa parte prevede il confronto sul lungo periodo tra i risultati del modello e i dati sperimentali. La disponibilità di tali dati permetterebbe inoltre di effettuare un confronto significativo tra il modello unificato e il modello a contributi separati.

Sviluppi della modellistica numerica. Per problemi con interfaccia interna sono state recentemente proposte differenti tecniche di stabilizzazione ([BH09b], [HL02]). Per validare la bontà della stabilizzazione tramite preconditionatore sarebbe opportuno effettuare un confronto che sappia evidenziare quali vantaggi il metodo da noi proposto presenta rispetto agli altri.

Un'altro aspetto importante riguarda l'analisi del caso parabolico: la formulazione da noi proposta presenta lo svantaggio di avere un ordine di convergenza non ottimale, bisognerebbe quindi fornire una tecnica per migliorare tale ordine.

Una volta perfezionata il metodo numerico si potrebbe procedere con l'applicazione ai casi reali, dove la geometria del dominio viene ricavata grazie alle immagini acquisite tramite tecniche μ -Ct.

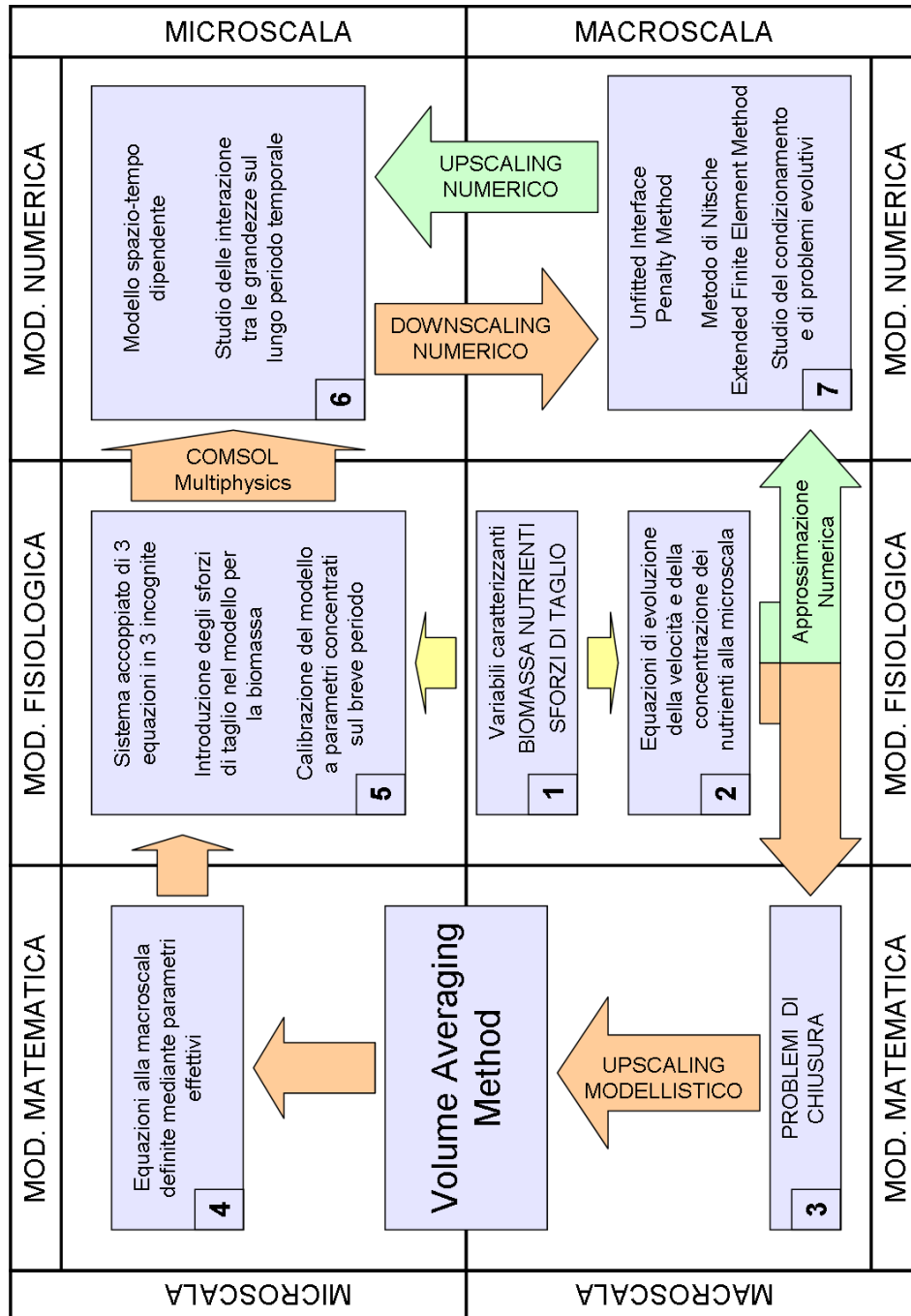


Figura 5.46: Schema esplicativo dei risultati del lavoro.

Ringraziamenti

Il più grande ringraziamento va al professor Zunino. Non solo per la disponibilità e per la cura con cui ha seguito i passi del nostro lavoro, ma anche per la fiducia che ha sempre dimostrato in noi. Quando il nostro morale era basso il prof ha sempre dimostrato entusiasmo e ha sempre creduto nelle nostre capacità e nel valore del nostro lavoro. Grazie veramente!

Un grazie sentito al professor Sacco, per la sua disponibilità e il suo prezioso aiuto. Grazie dell'attenzione e dell'interessamento che ha riservato a noi e al nostro lavoro di tesi.

Grazie alla professoressa Raimondi per aver gentilmente messo a disposizione i dati sperimentali utilizzati nella tesi.

Grazie a tutti i compagni di corso che hanno condiviso con noi un pezzetto di questo cammino universitario, a tutti i ragazzi dell'aula tesisti che hanno reso piacevole il clima di questi mesi. Un grazie particolare ad Anita, Lucia e Susanna, per essere state compagne ma anche amiche e per aver condiviso i momenti belli e quelli difficili del percorso universitario.

Grazie ai Bio, a Teo, Ricky, Gigi, Paola, Ponza e Fra, per aver tante volte trascorso insieme i momenti di pausa, per tutte le volte che abbiamo riso...fino alle lacrime!

Ringraziamenti di Claudia

Un grazie a tutti gli amici che mi hanno ascoltata e sopportata in questi mesi: per aver condiviso con me i viaggi in treno, per le corse serali, le gite in bici e le chiacchierate, per le merende del pomeriggio e per le serate al coro gospel. Un grazie a Gloria, per essere cresciute insieme durante tutti questi anni, e a Don Simone, per avermi insegnato una matematica che sovverte qualsiasi logica.

Il grazie più profondo va ai miei genitori, per avermi sempre sostenuta nelle mie scelte, per aver rispettato i miei silenzi e per esserci sempre stati. Grazie perché il vostro amore incondizionato mi ha sempre fatto sentire fortunata. Spero di rendervi orgogliosi!

Grazie ai miei fratelli, Pietro e Riccardo per aver sempre sopportato il mio disordine e per tutte le volte che mi hanno fatto sorridere con le loro battute.

Grazie a mia cognata Vania, per essere una presenza così fresca nella nostra famiglia e per tutte le volte che mi ha ascoltata!

Un grazie speciale a Giulio, perché non c'è distanza che non possa essere colmata con la fantasia e così mi è sempre stato accanto. Grazie semplicemente perché si prende cura di me e per farmi sentire amata. Grazie per essere il mio personalissimo coach!

Infine il grazie più grande a Laura, per essere stata una collega di tesi ma soprattutto un'amica meravigliosa, per tutte le volte che abbiamo condiviso un successo, una difficoltà, una stanchezza, una gioia o un'ansia. Per essere in grado di ascoltarmi e di capire quello che voglio dire anche quando le mie spiegazioni sono complicate. Se su questa strada non mi sono mai sentita sola è perché l'abbiamo percorsa insieme!

Ringraziamenti di Laura

Grazie *Clà!* Queste 200 e rotte pagine parlano di te e di me, dell'impegno, della fatica, dell'entusiasmo, della gioia per i risultati raggiunti. Parlano delle giornate passate insieme (solito posto, solita ora), parlano delle nostre chiacchierate, del confortarsi e sostenersi vicendevolmente.

E lo fanno con il linguaggio della passione che ci accomuna: la matematica.

Grazie per l'amica che sai essere, per il tuo saper ascoltare, comprendere e consigliare.

Grazie per aver condiviso con me questi anni universitari, per avermi sempre incoraggiata, anche quando le paturnie prendevano il sopravvento.

Oggi siamo giunte ad un traguardo importante, consapevoli che quello che abbiamo costruito insieme è la base di un'amicizia che ci accompagnerà per il resto della vita.

Grazie *mamma e papà*. Mi avete insegnato tutto. Mi avete sostenuta, incoraggiata e sempre supportata (e sopportata!).

Ovviamente, senza di voi oggi non sarei qui.

Grazie *Aly*. So che non è facile condividere la stanza con la sottoscritta ... e che il bene che ci vogliamo non ha bisogno di troppe parole.

Grazie *Sa*. Se chiudo gli occhi non c'è un'immagine fra i miei più bei ricordi in cui tu non ci sia.

Grazie *Gre*, per essere cara come sei.

Grazie *Dovi, Maddy, Ton, Franci*. Grazie *Anna, Ciolly, Maske, Sere*. Grazie *Ery, Vero*.

Mi avete resa migliore volendomi bene.

Grazie *Meri*. Per l'amicizia, le confidenze ... e per le bellissime vittorie di questa stagione!

Grazie *Tia, Roby, Mau, Cecio, Mazzu, Bellu*. Grazie *Gabry, Luca, Richy*.

I miei mitici amici!!!

Grazie *Matteo*. Mi hai fatto conoscere le sfumature del grano.

Grazie al mio *oratorio*. Vorrei elencarvi tutti tutti, dai più piccoli ai più grandi.

Siete la mia maxi famiglia!

Dulcis in fundo...

Grazie *Mamo*. Le parole per ringraziare te non le so trovare... o forse scriverei altre 200 pagine e non mi sembra il caso!

Grazie perchè tu non solo mi sei stato a fianco in questi bellissimi 10 anni: tu sei il mio fianco. E ora comincia il bello!!

Grazie *nonna*. Questo lavoro è per te. Sei stata sempre la mia più grande tifosa e sostenitrice. E so che ora, da lassù, lo sei ancora di più.

Bibliografia

- [BBH09] R. Becker, E. Burman, and P. Hansbo. A Nitsche extended finite element method for incompressible elasticity with discontinuous modulus of elasticity. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 198(41-44):3352 – 3360, 2009.
- [BH09a] E. Burman and P. Hansbo. Fictitious domain finite element methods using cut elements: I. A stabilized Lagrange multiplier method. PrePrint, 2009.
- [BH09b] E. Burman and P. Hansbo. Fictitious domain finite element methods using cut elements: II. A stabilized Nitsche method. PrePrint, 2009.
- [CC07] L. Cattaneo and C. M. Colciago. Analisi della diffusività di materiali porosi a partire da immagini. Master’s thesis, Politecnico di Milano, 2007.
- [CCCT07] C. A. Chung, C. W. Chen, C. P. Chen, and C. S. Tseng. Enhancement of cell growth in tissue-engineering constructs under direct perfusion: modeling and simulation. *Biotechnology and Bioengineering*, 97(6):1603–1616, 2007.
- [Cio06] M. Cioffi. *Computational modelling of transport phenomena within engineered tissue*. PhD thesis, Politecnico di Milano, 2006.
- [CKS⁺08] M. Cioffi, J. Kuffer, S. Strobel, G. Dubini, I. Martin, and D. Wendt. Computational evaluation of oxygen and shear stress distribution in 3d perfusion culture system: macro-scale and micro-structured models. *Journal of Biomechanics*, 41(14):2918–2925, 2008.
- [CM06] *COMSOL Multiphysics User’s Guide*. August 2006. Version 3.3.
- [CRS10] Mathematical modeling and simulation of engineered tissue growth under flow perfusion in bioreactors. Technical Report 12/2010, 2010.
- [DS03] M. A. Dimicco and R. L. Sah. Dependence of cartilage matrix composition on biosynthesis, diffusion, and reaction. *Transport in Porous Media*, 50(1-2):57–73, 2003.
- [EG04] A. Ern and J.L. Guermond. *Theory and practice of finite element methods*, volume 159 of *Applied Mathematical Sciences*. Springer, 2004.

- [EV09] A. Ern and M. Vohralik. A posteriori error estimation based on potential and flux reconstruction for the heat equation. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 48(1):198–233, 2009.
- [FVNL93] L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, and R. Langer. Cultivation of cell-polymer cartilage implants in bioreactors. *Journal of Cellular Biochemistry*, 51(3):257–264, 1993.
- [GL99] C. J. Galban and B. R. Locke. Effects of spatial variation of cells and nutrient and product concentrations coupled with product inhibition on cell growth in a polymer scaffold. *Biotechnology and Bioengineering*, 64(6):633–643, 1999.
- [GL00] C. J. Galban and B. R. Locke. Analysis of cell growth kinetics and substrate diffusion in a polymer scaffold. *Biotechnology and Bioengineering*, 65(2):121–132, 2000.
- [GR07] S. Gross and A. Reusken. Finite element discretization error analysis of a surface tension force in two-phase incompressible flows. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 45:1679–1700, 2007.
- [HH02] A. Hansbo and P. Hansbo. An unfitted finite element method, based on Nitsche’s method, for elliptic interface problems. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 191(47-48):5537–5552, 2002.
- [HL02] P. Hansbo and M. G. Larson. Discontinuous Galerkin methods for incompressible and nearly incompressible elasticity by Nitsche’s method. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 191:1985–1908, 2002.
- [KS07] T. J. Klein and R. L. Sah. Modulation of depth-dependent properties in tissue-engineered cartilage with a semi-permeable membrane and perfusion: a continuum model of matrix metabolism and transport. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 6(1-2):21–32, 2007.
- [LBL10] A. Lesman, Y. Blinder, and S. Levenberg. Modeling of flow-induced shear stress applied on 3d cellular scaffold: Implications for vascular tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering*, 105(3):645 – 654, 2010.
- [Mau09] B. Maury. Numerical analysis of a finite element/volume penalty method. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 47(2):1126 – 1148, 2009.
- [MRRA09] S. Mantero, A. Remuzzi, M. T. Raimondi, and A. Ahluwalia. *Fondamenti di Ingegneria dei Tessuti per la Medicina Rigenerativa*. Patron Editore, 2009.
- [OWS00] J. A. Ochoa, S. Whitaker, and P. Stroeve. Determination of cell membrane permeability in concentration cell ensembles. *Biophysical Journal*, 52:763 – 774, 2000.

- [PB04] B. Palsson and S. Bhatia. *Tissue engineering*, chapter Scaling up for ex vivo cultivation. Pearson Education, 2004.
- [Pic98] M. Picasso. Adaptive finite element for a linear parabolic problem. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 167(3-4):223–237, 1998.
- [QV04] A. Quarteroni and A. Valli. *Numerical Approximation of Partial Differential Equations*. Springer, 2004.
- [RBF⁺02] M. Raimondi, F. Boschetti, L. Falcone, G. Fiore, A. Remuzzi, E. Marinoni, M. Marrazzi, and R. Pietrabissa. Mechanobiology of engineered cartilage cultured under a quantified fluidodynamic environment. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 1(1):69–82, 2002.
- [Reu08] A. Reusken. Analysis of an extended pressure finite element space for two-phase incompressible flows. *Computing and Visualization in Science*, (4-6):293–305, 2008.
- [RMC⁺06] M. Raimondi, M. Moretti, M. Cioffi, C. Giordano, F. Boschetti, K. Laganà, and R. Pietrabissa. The effect of hydrodynamic shear on 3d engineered chondrocyte systems subject to direct perfusion. *Biorheology*, 43(3-4):215–222, 2006.
- [RN09] A. Reusken and T. H. Nguyen. Nitsche’s method for a transport problem in two-phase incompressible flows. *Journal of Fourier Analysis and Applications*, 15(5):663–683, 2009.
- [SD07] R. K. Sinha and B. Deka. An unfitted finite-element method for elliptic and parabolic interface problems. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 27(3):529–549, 2007.
- [STPO07] B. G. Sengers, M. Taylor, C. P. Please, and R. O. C. Oreffo. Computational modeling of cell spreading and tissue regeneration in porous scaffold. *Biomaterials*, 28(10):1926–1940, 2007.
- [Whi99] S. Whitaker. *The Method of Volume Averaging (Theory and Applications of Transport in Porous Media)*. Kluwer Academic Publishers, 1999.
- [WQW02] B. D. Wood, M. Quintard, and S. Whitaker. Calculation of effective diffusivities for biofilms and tissues. *Biotechnology and Bioengineering*, 77:495–516, 2002.
- [WW98a] B. D. Wood and S. Whitaker. Diffusion and reaction in biofilm. *Chemical Engineering Science*, 53(5):397–425, 1998.
- [WW98b] B. D. Wood and S. Whitaker. Multi-species diffusion and reaction in biofilms and cellular media. *Chemical Engineering Science*, 55(17):3397–3418, 1998.

- [WW99] B. D. Wood and S. Whitaker. Cellular growth in biofilm. *Biotechnology and Bioengineering*, 64(6):656–670, 1999.