

MAGDALENA CUDAK
MARCELINA BITENC

Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesów Ochrony Środowiska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin

Charakterystyka metod numerycznych stosowanych do rozwiązywania bilansu populacji komórek

Wprowadzenie

Modele bilansu populacji komórek zawierają informacje o wzroście, podziale i narodzinach na poziomie pojedynczej komórki [1–6]. Zależą one od stanu fizjologicznego komórki x oraz stanu nieożywionego środowiska S [2–6]. Celem pracy jest analiza metod numerycznych stosowanych do rozwiązywania równań bilansu populacji komórek.

Ogólne równanie bilansu populacji w zapisie wektorowym dla reaktora przepływowego (CSTR) przyjmuje postać [2]

$$\frac{\partial N(\mathbf{x}, t)}{\partial t} + \nabla_x [r(\mathbf{x}, \mathbf{S})N(\mathbf{x}, t)] + \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{S})N(\mathbf{x}, t) + DN(\mathbf{x}, t) = \int_x^{x_{\max}} \Gamma(x', \mathbf{S})P(x', \mathbf{S})N(x', t)dx' \quad (1)$$

$$\text{z warunkiem} \quad N(\mathbf{x}, 0) = N_0(\mathbf{x}) \quad (2)$$

gdzie: $\mathbf{S} = [S_1, S_2, \dots, S_s]$ oznacza wektor stężenia pożywki, zawierający s składników abiotycznych; $\mathbf{x} = [x_1, x_2, \dots, x_r]$ oznacza r -wymiarowy wektor stanu fizjologicznego komórki; $r(\mathbf{x}, \mathbf{S}) = [r_1(x, \mathbf{S}), r_2(x, \mathbf{S}), \dots, r_r(x, \mathbf{S})]$ – wektor szybkości wzrostu pojedynczej komórki; $\Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{S})$ – funkcja intensywności podziału komórek zależna od \mathbf{x} i \mathbf{S} ; $P(x, \mathbf{S})$ – znormalizowana funkcja gęstości prawdopodobieństwa podziału spełniająca zasadę zachowania masy; D – odwrotność czasu przebywania; x' – fizjologiczny stan komórek macierzystych, x – fizjologiczny stan komórek potomnych [2].

Tempo utraty liczby komórek w wyniku ich równomiernego podziału jest równe połowie tempa wzrostu liczby nowych komórek, a szybkość utraty składników biomasy przez ich podział jest równa szybkości wytwarzania jej składników w wyniku narodzin komórek [2].

Zakładając równy podział komórki, różniczkowo-całkowe równanie cząstkowe (1) przyjmuje następującą postać [2]:

$$\frac{\partial N(\mathbf{x}, t)}{\partial t} + \nabla_x [r(\mathbf{x}, \mathbf{S})N(\mathbf{x}, t)] + \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{S})N(\mathbf{x}, t) + DN(\mathbf{x}, t) = 2^{r+1}\Gamma(2\mathbf{x}, \mathbf{S})N(2\mathbf{x}, t) \quad (3)$$

Równanie bilansu populacji jest kompletne, gdy zostanie uzupełnione o równanie opisujące dynamikę otoczenia nieożywionego

$$\frac{d\mathbf{S}}{dt} + D(\mathbf{S}_f - \mathbf{S}) - \int_{x_{n,\min}}^{x_{n,\max}} q(\mathbf{x}, \mathbf{S})N(\mathbf{x}, t)dx \quad (4)$$

z warunkiem początkowym

$$\mathbf{S}(0) = \mathbf{S}_0 \quad (5)$$

w którym $q(\mathbf{x}, \mathbf{S}) = [q_1(x, \mathbf{S}), q_2(x, \mathbf{S}), \dots, q_s(x, \mathbf{S})]$ oznacza s -wymiarowy wektor szybkości zużycia i -tego substratu przez pojedynczą komórkę. Pierwszy człon po prawej stronie równania opisuje jednostkowy strumień objętościowy liczony jako różnica na wlocie i wylocie z bioreaktora. Człon całkowity w równaniu (4) opisuje szybkość zużycia substratu prowadzącego do wzrostu komórek.

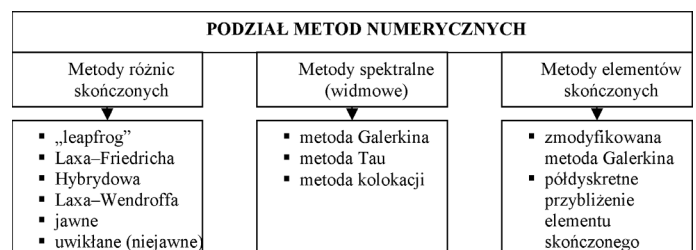
Podział metod numerycznych

Metody numeryczne umożliwiające rozwiązywanie równań bilansu populacji komórek można podzielić wg schematu przedstawionego na rys. 1 [1–3, 6].

W metodzie różnic skończonych wielowymiarowa równomiernie rozmieszczona siatka podzielona jest na $M + 1$ punktów w każdym wymiarze przestrzeni stanu fizjologicznego [1, 2]. Sąsiadujące punkty są odległe od siebie o $h = 1/M$, przy czym h może być różne dla każdego wymiaru. Pierwszy punkt siatki ($i = 1$) jest zawsze zerowy, natomiast punkt ostatni ($i = M+1$) odpowiada jedności. Zatem dla każdej współrzędnej stanu fizjologicznego: $x_i = (i+1)h$. Rozwiązanie równania bilansu populacji komórki dla n -tego kroku czasu $t_n = ndt$ jest aproksymowana przez rozwiązanie numeryczne dla wcześniej określonych punktów siatki. Analizując jedną zmienną i oznaczając przez „ \sim ” aproksymację numeryczną można przyjąć [2], że:

$$N(x_i, t_n) \approx \tilde{N}(x_i, t_n) \equiv \tilde{N}_i^n \quad (6)$$

$$S(t_n) \approx \tilde{S}(t_n) \equiv \tilde{S}^n \quad (7)$$



Rys. 1. Schemat podziału metod rozwiązywania równań bilansu populacji [1–3,6]

Problem matematyczny można rozwiązać numerycznie używając jednostopniowego, czasowo-jawnego schematu hybrydowego, łączącego schematy *Laxa–Friedricha* i *leapfrog*. W metodzie tej do obliczenia wartości dla ostatniego punktu siatki N_m^{n+1} oraz S^{n+1} należy najpierw uzyskać rozwiązanie dla pośredniego kroku czasowego oraz pośredniego punktu siatki $N_{m+1/2}^{n+1/2}$ oraz $N_{m-1/2}^{n+1/2}$ [1, 2].

Dokładność otrzymanych wyników można zwiększyć stosując metodę *Laxa-Wendroffa* [2]. W tej metodzie najpierw wykonuje się obliczenia dla $n + 1$ kroku czasowego rozwijając funkcję gęstości w szereg *Taylora* drugiego rzędu z uwzględnieniem rozwiązania dla n -tego kroku czasowego.

$$\tilde{N}_i^{n+1} + \tilde{N}_i^n + dt\tilde{N}_{i,j}^n + \frac{dt^2}{2}\tilde{N}_{u,j}^n \quad (8)$$

$$\tilde{S}_i^{n+1} + \tilde{S}_i^n + dt\tilde{S}_i^n + \frac{dt^2}{2}\tilde{S}_u^n \quad (9)$$

Indeksy t oraz tt określają odpowiednio pierwszą i drugą pochodną po czasie dla n – tego kroku czasowego oraz i -tego punktu siatki. Przybliżenia pierwszej pochodnej przestrzennej nie można przedstawić dla pierwszego ($i = 1$) i ostatniego ($i = M+1$) punktu siatki, gdyż punkty ($i - 1$) dla $i = 1$ oraz ($i+1$) dla $i = M+1$ nie należą do tego obszaru. Dla niezerowej wartości funkcji szybkości wzrostu w punktach granicznych, można bezpośrednio zastosować warunki stanu oraz określić jako zerowe wartości funkcji rozkładu stanu dla tych warunków granicznych [2].

W jednostopniowej metodzie czasowo-jawnej rozwiązania dla n -tego kroku czasowego uzyskuje się przez estymację kroku wcześniejszego, natomiast w wariancie wielokrotnym aproksymuje się tych kroków więcej [2]. Najważniejszą wadą tych metod jest niska stabilność graniczna narzucająca ograniczenia dotyczące maksymalnego kroku czasu dla danego punktu siatki. Dla tego typu metod stwierdzono zależność granic stabilności od rzędu dokładności aproksymacji dla pochodnej przestrzennej i rzędu wielomianów lokalnych elementów skończonych. Im wyższy rząd tym niższa stabilność graniczna. Metody czasowo-uwikłane są generalnie bardziej stabilne, lecz mniej efektywne i wymagają rozwiązania układu równań w każdym kroku czasowym [2, 3].

W przypadku metody *Galerkina*, całość zastępuje się sumą ilorazów różnicowych uwzględniających szybkość wzrostu komórki oraz zewnętrzne i wewnętrzne zmienne stanu [6]. Użytkuje się zbiór N równań różniczkowych zwyczajnych w postaci równania

$$\tilde{N}(\mathbf{x}, t) = \sum_{i=1}^N a_i(t)\phi_i(\mathbf{x}) \quad (10)$$

gdzie $a_i(t)$ oznacza współczynnik ekspansji w czasie; $\phi_i(\mathbf{x})$ oznacza funkcje bazowe.

Natomiast w metodzie *Tau* wykonuje się obliczenia $N+2$ członów równania (5), dla których wartości dwóch ostatnich członów oblicza się za pomocą następujących równań

$$\sum_{i=1}^{N+2} a_i(t)\phi_i(0) = 0 \quad (11)$$

$$\sum_{i=1}^{N+2} a_i(t)\phi_i(1) = 0 \quad (12)$$

W metodach *Galerkina* i *Tau* niewiadomymi są współczynniki ekspansji. Funkcja próby w metodzie *Galerkina* musi indywidualnie spełniać warunki graniczne i jest taka sama jak funkcja bazowa. Metoda ta nie wymaga warunku ortonormal-

ności. Natomiast w metodzie *Tau* funkcje bazowe i funkcje próby należą do całkowitego i ortonormalnego zbioru funkcji. W metodzie kolokacji funkcjami bazowymi są zawsze funkcje delta *Diraca*, które gwarantują, że równanie różniczkowe jest dokładnie spełnione w punktach kolokacji [3, 6].

Wadą metod *Galerkina* i *Tau* jest znaczny wzrost wymaganego czasu obliczeniowego dla aproksymacji wielowymiarowych [3, 6]. Problemu tego można uniknąć stosując metodę kolokacji, w której niewiadomymi są wartości rozwiązania cząstkowego równania różniczkowego dla punktów kolokacji. Dla każdego punktu kolokacji x_j w czasie t , oblicza się N równań różniczkowych. Pierwsza pochodna przestrzenna w czasie t dla każdego punktu kolokacji może być rozwiązana dla znanych współczynników ekspansji w czasie t [6].

Podstawą metody elementów skończonych jest podział analizowanego obszaru na elementy [3]. Nie muszą one być jednakowe w całej objętości. Dla przestrzeni jednowymiarowej są to odcinki, dwuwymiarowej – trójkąty lub czworokąty, trójwymiarowej – czworosciany. Łączą się one ze sobą skończoną liczbą punktów (węzłów). Obiera się pewne funkcje jednoznacznie określające rozkłady analizowanej wielkości fizycznej wewnątrz elementu, w zależności od wartości tych wielkości w węzłach. Równania różniczkowe opisujące badane zjawiska przekształca się poprzez zastosowanie tzw. funkcji wagowych, które są równaniami algebraicznymi [3, 7].

Podsumowanie

Granica stabilności wszystkich metod widmowych i elementów skończonych oraz większości metod różnic skończonych jest odwrotnie proporcjonalna do maksymalnej wartości całkowitej szybkości wzrostu pojedynczych komórek (sumy szybkości wzrostu pojedynczej komórki w każdym elemencie wektora fizjologicznego stanu) i zależy od specyfiki poszczególnych metod. Metody różnic skończonych wykazują wyższą granicę stabilności niż metody elementów skończonych [3, 6].

Przy takich samych granicach stabilności w podziale równomiernym, jak i nierównomiernym, stabilność metod różnic i elementów skończonych oraz niektórych metod spektralnych nie zależy od matematycznego charakteru członu opisującego powstawanie komórek. Dla pewnych aproksymacji *Galerkina* i kolokacji wykorzystujących sinusoidalne funkcje próby, stabilność graniczna w podziale nierównomiernym komórek jest wyższa niż w podziale równomiernym [3, 6].

LITERATURA

1. N.V. Mantzaris, J.-J. Liou, P. Daoutidis, F. Srienc: J. Biotechnol. **71**, 157 – 174 (1999).
2. N.V. Mantzaris, P. Daoutidis, F. Srienc: Comp. Chem. Eng. **25**, 1411 (2001).
3. N.V. Mantzaris, P. Daoutidis, F. Srienc: Comp. Chem. Eng. **25**, 1463 (2001).
4. A.G. Fredrickson, N.V. Mantzaris: Chem. Eng. Sci. **57**, 2265 (2002).
5. M.A. Henson: Curr. Opin. Biotech. **14**, 460 (2003).
6. N.V. Mantzaris, P. Daoutidis, F. Srienc: Comp. Chem. Eng. **25**, 1441 (2001).
7. D.L. Marchisio, R.D. Vigil, R.O. Fox: J. Colloid Interf. Sci. **258**, 322 (2003).