

# Modelli Matematici a Sostegno della Ricerca contro il Cancro

L. Preziosi

December 9, 2003

**Abstract**—Questo articolo, a prevalente carattere di rassegna, ha lo scopo di presentare gli ambiti matematici e gli approcci metodologici utilizzati nello sviluppo di modelli matematici a sostegno della ricerca contro il cancro. La necessità di un approccio interdisciplinare e multiscala è messo in evidenza. Infine, alcuni modelli operanti alla scala macroscopica e mesoscopica sono presentati a titolo di esempio.

The aim of this review paper is to discuss the mathematical frameworks and the methodological approaches used in developing mathematical models in the field of cancer research. The need for an interdisciplinary and multiscale approach is put in evidence. Some examples of models operating at the macroscopic and the mesoscopic scale are presented.

## 1. – Introduzione

Negli ultimi anni, grazie anche alla decodifica del genoma umano si è riscontrato un notevole aumento delle interazioni tra matematici e ricercatori in medicina e biologia. Infatti, con l'inizio dell'era post-genomica, medici e biologi si sono trovati ad avere a disposizione una quantità enorme di dati da comprendere e da mettere in ordine e quindi alla necessità di coinvolgere nella loro ricerca esperti di probabilità, statistica e crittografia. Ciò ha rappresentato lo spunto per rispondere anche ad un'esigenza di tipo evolucionistico tipica dei ricercatori nel campo bio-medico. Infatti, il medico avendo a disposizione una fotografia scattata in un istante dell'evoluzione, o, nei casi piu' fortunati, una serie di fotografie scattate durante un periodo di osservazione, ha tipicamente due esigenze: la prima è quella di capire come si è arrivati alla situazione che osserva, quindi un problema inverso; la seconda è quella di capire cosa succederà in un futuro, quindi un problema diretto. In particolare, avendo un buon modello a disposizione, se è preferibile intervenire e come ottimizzare il tipo di intervento, quindi un problema di ottimizzazione e controllo.

Da qui l'esigenza di interagire con i matematici e di sviluppare modelli matematici e simulazioni. C'è da tener presente che il mondo bio-medico non è estraneo al concetto di modello, anche se per loro modello è sinonimo di esperimento in vitro o su cavie. Infatti nella ricerca medica la prassi sperimentale porta

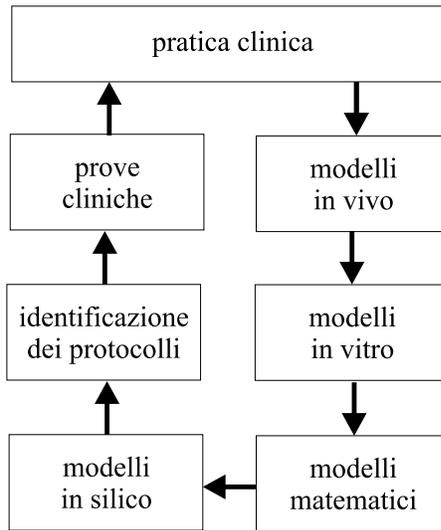


Figure 1: Livelli di modellizzazione.

dall'esperienza clinica a quella di laboratorio per tornare all'esperienza clinica sviluppandosi attraverso passi sequenziali di astrazione e semplificazione allo scopo di comprendere ad uno ad uno gli aspetti che costituiscono i complessi fenomeni che avvengono in natura. Oggi ci sono le premesse per aggiungere al processo di modellizzazione un anello matematico che rappresenti virtualmente il fenomeno medico di interesse (Fig. 1).

Riassumendo, dall'osservazione fenomenologica di un certo fenomeno sul paziente, i ricercatori in bio-medicina cercano di sviluppare modelli biologici, in vivo (per esempio, su cavie o embrioni di pollo) ed in vitro, che risultino più maneggevoli, riproducibili e relativamente inoffensivi. Matematici e fisici a questo punto possono generare modelli matematici sia a partire dall'osservazione fenomenologica diretta che dal modello biologico. Le simulazioni che ne derivano sono spesso chiamate dai biologi modelli in silico.

L'acquisizione di questa conoscenza è quindi testata utilizzando varie fasi sperimentali caratterizzate da una crescente complessità per essere (sperabilmente) applicata alla pratica clinica. E' chiaro che questo processo presenta anche un problema etico, perchè coinvolge progressivamente esperimenti su piccoli mammiferi, grandi mammiferi, su malati terminali e non, secondo diverse fasi di sperimentazione strettamente controllate.

L'inclusione della modellizzazione matematica e della simulazione numerica nel procedimento appena descritto può quindi accelerare il processo, aiutare nella comprensione dei meccanismi che controllano per esempio la crescita e la progressione dei tumori e quindi suggerire nuove direzioni terapeutiche. Inoltre le previsioni teoriche potrebbero aiutare ad ottimizzare i protocolli sperimentali, identificando in anticipo le vie più promettenti dal punto di vista clinico, ed i protocolli di somministrazione dei farmaci o a combinare in maniera ottimale diversi tipi di terapie. Infine potrebbero aiutare a ridurre il numero di esperimenti su animali e quindi il costo ed i tempi necessari per la fase sperimentale.

Lo scopo di questo articolo è quello di presentare alcuni ambiti di modellizzazione matematica sviluppati di recente alla scala cellulare e tissutale a sostegno della ricerca contro il cancro e di fornire al lettore interessato la bibliografia essenziale. Tranne per i numeri speciali di riviste, la bibliografia citata sarà limitata agli articoli pubblicati dopo il 2000 perchè il settore è in rapido sviluppo. In effetti il contenuto dei libri [1] e [40] mostra chiaramente come in meno di dieci anni si è avuto un aumento considerevole dell'interazione tra matematica e medicina, passando da un coinvolgimento solo intellettuale e una effettiva interazione e collaborazione su problemi concreti. Oltre ai libri appena citati la letteratura precedente al 2000 è reperibile nei numeri speciali [9], [10], [18] e [19].

## 2. – Scale di Modellizzazione

Fin dal primo passo del processo di modellizzazione, la descrizione fenomenologica, è evidente che lo studio dei fenomeni coinvolti nell'evoluzione dei tumori dipende dalla lente di ingrandimento, reale o ideale, utilizzata dal biologo nel descrivere i fenomeni in gioco. Si può infatti parlare di ciò che accade a livello sub-cellulare, a livello cellulare o a livello tissutale. Si realizza subito però che ciò che accade ai vari livelli è logicamente e funzionalmente interconnesso per cui l'evoluzione dei tumori è intrinsecamente un problema multiscala. I diversi livelli biologici possono più o meno essere collegati allo sviluppo di modelli microscopici, mesoscopici e macroscopici.

Infatti, a livello tissutale, corrispondente alla scala macroscopica, ci si può focalizzare su fenomeni quali

- la crescita degli sferoidi multicellulari nella fase avascolare, cioè quando la massa tumorale, relativamente piccola (circa 1mm di diametro) non è ancora circondata da una rete di capillari [6], [16], [17], [43];
- la formazione, la degradazione e la rottura di follicoli che circondano la massa tumorale [37];
- l'interazione meccanica tra il tumore ed i tessuti circostanti [5], [15];
- il processo di angiogenesi con cui il tumore stimola la formazione di una rete di capillari per rifornirsi di una maggior quantità di nutrienti [7], [35], [36], citePA;
- la crescita vascolare [38];
- il distacco di metastasi, il processo di penetrazione nel sistema vascolare, la loro diffusione e l'adesione in siti secondari [20].

Si deducono quindi dei modelli che spesso si scrivono come sistemi di equazioni alle derivate parziali.

Tutti i processi appena menzionati chiaramente dipendono da quello che succede ad una scala più piccola, il livello cellulare. A questa scala bisogna tener conto che tutte le cellule evolvono, in particolare le cellule tumorali diventano sempre più

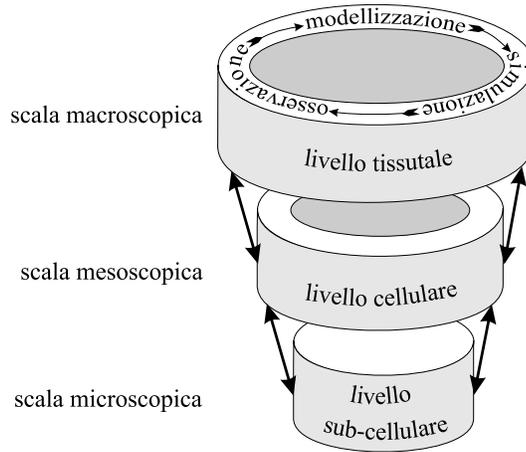


Figure 2: Scale di modellizzazione.

aggressive acquisendo capacità e proprietà diverse. Analogamente il sistema immunitario si attiva quando riconosce un aggressore. Dal punto di vista della modellizzazione questo comporta la necessità di introdurre tra le variabili indipendenti una nuova quantità che sia capace di descrivere lo stato di evoluzione di una popolazione cellulare, in modo da determinare l'evoluzione in termini di una descrizione statistica sullo stato di progressione o attivazione. Inoltre bisogna considerare l'effetto delle interazioni tra le cellule tumorali e le altre cellule del corpo umano, quali le cellule endoteliali, che sono i mattoni fondamentali della rete vascolare, e le cellule del sistema immunitario, per esempio macrofagi e linfociti. Le interazioni non sono semplici sia perchè sono spesso il risultato di una catena di eventi, sia perchè spesso le conseguenze di alcune azioni comportano reazioni contraddittorie. Per esempio l'attivazione dei linfociti killer, avviene tramite l'attivazione di quei linfociti helper che hanno riconosciuto il tumore. Oppure l'azione distruttiva dei macrofagi contro le cellule tumorali causa infiammazioni nel tessuto sano e quindi la formazione di nuovi capillari che risultano quindi di sostegno alla crescita tumorale, in quanto nella zona interessata arrivano più nutrienti. I modelli che sono stati sviluppati per trattare fenomeni a questa scala utilizzano spesso automi cellulari, random walk o modelli particellari o si sviluppano nell'ambito delle teorie cinetiche (si veda par. 5).

A sua volta il comportamento intercellulare dipende da quello che succede ad una scala ancora più piccola, il livello sub-cellulare, e quindi dai fenomeni che avvengono all'interno della cellula o alla membrana cellulare, quali meccanismi di degradazione del DNA, espressione genica, alterazione del ciclo cellulare, assorbimento dei nutrienti, produzione e trasduzione di quei segnali, che regolano importanti attività cellulari quali duplicazione, morte, movimento, adesione o distacco delle cellule. I modelli microscopici atti a descrivere i fenomeni che avvengono alla scala sub-cellulare spesso si scrivono come sistemi di equazioni alle derivate ordinarie, o utilizzano metodi statistici, automi cellulari e reti neurali.

Come già ricordato e messo in evidenza in Fig. 2, naturalmente quanto avviene ad una certa scala è fortemente legato alle altre scale. Risulta quindi impossibile descrivere l'intero fenomeno senza considerare quello che succede ad una

scala più piccola o più grande. Dal punto di vista matematico questo vuol dire che il problema è intrinsecamente multiscala e che l'uso di metodi e modelli matematici multiscala è quanto meno desiderabile, se non necessario. Un primo passo dovrebbe consistere nel collegare i modelli matematici sviluppati su scale diverse in quanto nella maggior parte dei casi i parametri necessari come input in un modello sono ottenuti dall'output di un altro modello ad una scala diversa.

Nei paragrafi che seguono cercheremo di dare un'idea di alcune classi di modelli che sono state sviluppate per trattare fenomeni a livello tissutale e cellulare.

### 3. – Modellizzazione della Crescita di Masse Tumorali

A livello tissutale il tumore è un insieme di milioni di cellule legate da vincoli di adesione che vivono in un ambiente acquoso riempito di una rete di proteine chiamata matrice extracellulare. La crescita della massa tumorale dipende dalla disponibilità e dall'assorbimento di ossigeno, glucosio ed altre proteine vitali e dalla produzione e ricezione di segnali chimici che controllano la crescita, stimolandola o inibendola. Ricordando quanto detto al paragrafo precedente, questi sono fenomeni che avvengono alla scala sub-cellulare.

Nello sviluppare modelli macroscopici si possono distinguere due tipi di attori:

1. Le popolazioni di cellule, il liquido intercellulare ed eventualmente la matrice extracellulare
2. I fattori chimici ed i nutrienti che influenzano il moto e la proliferazione delle cellule.

Per le entità appartenenti alla prima classe si possono scrivere delle equazioni di bilancio di massa, mentre per quelle appartenenti alla seconda classe si possono scrivere delle equazioni di reazione-diffusione. Questi modelli possono essere dedotti sia sulla base di principi della meccanica dei continui che sulla base di modelli di tipo particellare o di tipo random walk [7], [20], [25], [26], [36]. Il primo ambito è più adatto per descrivere meccanismi macroscopici, quali l'interazione con i tessuti circostanti, mentre il secondo ambito risulta più adatto per incorporare meccanismi cellulari e sub-cellulari.

Nel caso più semplice di una sola popolazione cellulare (il caso di più popolazioni è discusso in [6]) la struttura del modello è

$$(1) \quad \frac{\partial \phi}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}) = \Gamma,$$

$$(2) \quad \frac{\partial c_i}{\partial t} + \nabla \cdot (c_i \mathbf{w}) = \nabla \cdot (Q_i \nabla c_i) + G_i - D_i c_i, \quad i = 1, \dots, m,$$

dove  $\phi$  è la densità delle cellule tumorali,  $\mathbf{v}$  la velocità delle cellule,  $c_i$  sono le concentrazioni dei fattori chimici,  $\mathbf{w}$  la loro velocità di convezione,  $Q_i$  il loro coefficiente di diffusione, e  $D_i$  il loro coefficiente di degradazione. Infine, osserviamo esplicitamente che i termini di produzione  $G_i$  e  $\Gamma$  dipendono da  $\phi$  e  $\mathbf{c} = (c_1, \dots, c_m)$ .

Naturalmente questo insieme di equazioni necessita di una chiusura che descriva come si muovano le cellule e come sono trasportati i fattori chimici. Molto

spesso si assume che  $\mathbf{w}$  sia trascurabile e che  $\mathbf{v}$  sia decomponibile in un contributo legato alla densità ed in uno legato alla distribuzione di un qualche fattore chimico che influenzi il moto delle cellule, processo chiamato chemotassi

$$(3) \quad \mathbf{v} = \nabla f(\phi) + \sum_{i=1}^m w_i(c_i) \nabla c_i .$$

Per esempio, in [24] si assume che in assenza di gradienti chimici le cellule tendono a muoversi verso le regioni dove non si sentono compresse, quindi  $f(\phi) = -K\Sigma(\phi)$  dove  $\Sigma$  è una misura dello stato di compressione e  $K$  è una misura della motilità delle cellule legata alla presenza di matrice extra-cellulare che viene usata dalle cellule come substrato su cui attaccarsi e far leva per muoversi.

E' chiaro che i problemi matematici che derivano da (1)–(3) presentano tipicamente una frontiera libera con un dominio interno  $\mathcal{T}(t)$  (dove l'equazione (1) è definita) ed un dominio esterno divisi dal bordo del tumore che rappresenta una superficie materiale che si muove secondo

$$(4) \quad \mathbf{n} \cdot \frac{d\mathbf{x}}{dt} = \mathbf{n} \cdot \mathbf{v} .$$

Su di essa bisogna specificare la densità di cellule tumorali, per esempio la densità “naturale” che corrisponde ad assenza di compressione. L'equazione (2) è invece definita dappertutto e necessita di condizioni iniziali ed al contorno che chiaramente dipendono dal problema e dal fattore chimico, per esempio la perfusione di un nutriente attraverso le pareti di un capillare al bordo del dominio corrisponde ad una condizione di tipo Robin con un legame tra il flusso del nutriente e la differenza tra la concentrazione del nutriente all'interno del capillare ed al di fuori di esso.

I fenomeni che avvengono all'interno del tumore dipendono in maniera fondamentale da quello che succede all'esterno del tumore. Per esempio, la duplicazione delle cellule è influenzata dalla perfusione di nutrienti attraverso le pareti dei capillari e la loro diffusione nell'ambiente circostante [13], [14]. La duplicazione è inibita dallo stato di compressione dei tessuti circostanti [2], [17]. Il tumore per crescere deve distruggere la matrice extracellulare che lo circonda [20], [21]. Questo processo, chiamato metallo-proteasi, avviene attraverso la secrezione di enzimi che diffondono all'esterno e rompono la matrice extracellulare permettendo così la crescita del tumore. Infine nel processo di angiogenesi fattori chimici vengono prodotti all'interno del tumore e diffondono all'esterno dove stimolano i capillari esistenti a produrre nuovi capillari per fornire al tumore una maggiore quantità di nutriente [24], [35], [36], [39]. Questi capillari penetrano nel tumore dando inizio alla fase vascolare.

A titolo di esempio presentiamo un modello che mostra come una cattiva percezione dello stato di compressione del tessuto può essere responsabile della formazione di iperplasie e displasie. In effetti, una cellula normale si duplica solo se c'è una buona ragione per farlo, per esempio se una cellula nelle vicinanze è morta o se bisogna riparare una lesione o una ferita. Una volta svolto il compito, le cellule rientrano in uno stato di quiescenza e non si duplicano più. Se il meccanismo di percezione dell'ambiente circostante non funziona, le cellule continuano a duplicarsi formando tessuto in eccesso.

Il modello è una semplificazione di quello considerato in [21] e considera la presenza di una popolazione di cellule normali e di una popolazione di cellule “malate” con rapporto di volume rispettivamente uguale a  $\phi_N$  e  $\phi_T$  (in [21] si considerano anche la matrice extracellulare prodotta dalle due popolazioni cellulari e gli enzimi che degradano la matrice extracellulare)

$$(5) \quad \frac{\partial \phi_N}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_N \mathbf{v}) = \gamma_N K_\sigma(\Sigma) \phi_N - \delta_N \phi_N,$$

$$(6) \quad \frac{\partial \phi_T}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_T \mathbf{v}) = \gamma_T K_\sigma(\Sigma - \Sigma_T) \phi_T - \delta_T \phi_T,$$

dove  $\Sigma$  è una misura dello stato di sforzo legato alla compressione totale  $\phi = \phi_T + \phi_N$ ,  $K_\sigma$  è un mollificatore della funzione di Heaviside. In particolare,

$$K_\sigma(\Sigma) = \begin{cases} 1 & \text{se } \Sigma \leq 0; \\ 0 & \text{se } \Sigma > \sigma; \end{cases}$$

almeno continua e

$$(7) \quad \mathbf{v} = -w \nabla \Sigma (\phi_N + \phi_T) = -w \Sigma' (\phi_N + \phi_T) (\nabla \phi_N + \nabla \phi_T),$$

che corrisponde al fatto che le cellule tendono ad evitare le zone troppo affollate. Il primo termine a secondo membro mimica il meccanismo di mitosi che si attiva solo se  $\Sigma < \sigma$  per cellule normali, mentre per cellule anormali si attiva fin quando  $\Sigma < \Sigma_T + \sigma$ .

Se inizialmente  $\phi_T$  ha supporto compatto, avrà sempre supporto compatto, in quanto l'equazione che governa la sua evoluzione è parabolica degenera. D'altro canto, lo stato totale di compressione  $\phi = \phi_T + \phi_N$  non si annulla mai per cui anche se l'equazione che governa  $\phi$  è anch'essa parabolica degenera, la sua soluzione è regolare.

Durante l'evoluzione si può identificare una prima fase in cui le cellule del tumore cominciano a rimpiazzare le cellule normali senza causare alcuna compressione nel tessuto (Figure 3a). Successivamente comincia una fase di compressione in cui le cellule cominciano ad allontanarsi dalle regioni compresse. Alla fine la soluzione tende ad assumere la forma di un'onda viaggiante con il tessuto normale che viene rimpiazzato da quello anormale (Fig. 3b). Il risultato ottenuto utilizzando il modello è coerente con la descrizione fenomenologica mostrata dagli schizzi in Fig. 3a. In particolare si osserva la compressione del tessuto nelle zone vicine all'iperplasia sia nelle simulazioni con negli schizzi.

Il fatto che il modello matematico derivi da equazioni di bilancio di massa comporta che spesso alcune equazioni di evoluzione sono degeneri, possono cambiare tipo o anche presentare equazioni paraboliche di tipo forward-backward. I problemi analitici che ne derivano sono quindi molto interessanti sia dal punto di vista teorico che applicativo, perchè ognuna delle caratteristiche appena menzionate ha una applicazione importante. Per esempio, la densità di una specie cellulare può effettivamente andare a zero in alcune zone, comportando la completa assenza di cellule di quel tipo. Anzi conoscere quali zone siano completamente libere da cellule tumorali è una delle risposte che un chirurgo vorrebbe avere prima di una

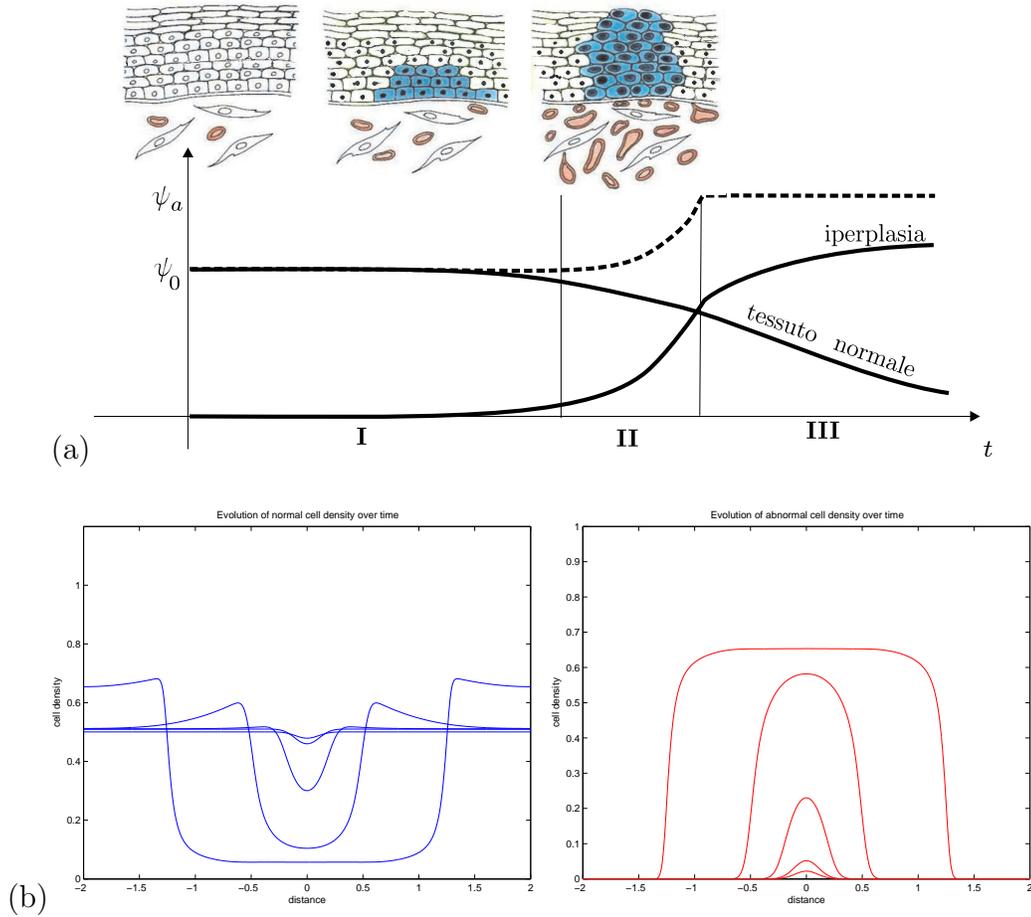


Figure 3: Formazione di un iperplasia. La fase I corrisponde ad una lenta sostituzione di cellule sane con cellule malate con assenza di compressione. Durante la fase II il tessuto si comprime e durante la fase III cresce mantenendosi sovra-compresso. In (b) è rappresentata la densità di cellule normali ed anormali a diversi istanti.

asportazione per poter salvare la maggior parte di tessuto sano possibile. La possibilità di avere equazioni di tipo backward-forward è legata a caratteristiche di adesione delle cellule. Infatti le cellule si ignorano se troppo lontane, ma tendono ad aggregarsi se avvicinandosi avvertono la presenza di altre cellule affini. Infine, rispondono alla compressione se la loro densità diventa troppo alta. Comunque molto poco è stato fatto dal punto di vista analitico, principalmente su problemi a frontiera mobile per equazioni di tipo diffusivo lineare o quasi lineare [28].

Prima di completare questo capitolo è bene citare che il modello in (5)–(7) è un caso particolare di una nuova classe di modelli recentemente sviluppata nell’ambito della teoria delle miscele [6], [15], [17], [30], [37], ottenuta abbinando al sistema di equazioni di reazione-diffusione (2) le equazioni di bilancio di massa e delle forze per tutte le popolazioni cellulari coinvolte (l’inerzia può essere trascurata)

$$(8) \quad \frac{\partial \phi_j}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_j \mathbf{v}_j) = \Gamma_j$$

$$(9) \quad \nabla \cdot \mathbf{T}_j + \phi_j \mathbf{f}_j + \mathbf{m}_j^\sigma = \mathbf{0}, \quad \text{per } j = 1, \dots, P,$$

dove  $\mathbf{m}_j^\sigma$  sono le forze di interazione con gli altri costituenti,  $\mathbf{T}_j$  sono i tensori degli sforzi (parziali) e  $\mathbf{f}_j$  sono le forze di volume, per esempio le forze chemotattiche.

Questo metodo ha, per esempio, il vantaggio di legare il movimento dell'insieme di cellule alle forze esercitate dalle cellule sulla matrice extracellulare o sui tessuti esterni. Diventa quindi possibile studiare problemi nei quali un ruolo fondamentale viene giocato dalle interazioni meccaniche con l'ambiente esterno, per esempio, compressione di tessuti, frattura di capsule, crescita intraduttale o interazioni con cartilagini ed ossa, collasso di capillari o loro inspessimento strutturale.

Nel caso di una miscela bi-componente e tenendo conto della struttura porosa delle masse tumorali l'equazione (2) può essere legata al seguente sistema

$$(10) \quad \frac{\partial \phi}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}) = \Gamma,$$

$$(11) \quad \nabla \cdot (\phi \mathbf{v} + (1 - \phi) \mathbf{w}) = 0,$$

$$(12) \quad \nabla \cdot \mathbf{T}_m = 0,$$

$$(13) \quad \mathbf{w} - \mathbf{v} = -\kappa(\phi) \nabla P,$$

dove  $\mathbf{w}$  è la velocità del liquido extracellulare,  $\kappa$  è legato alla permeabilità e  $P$  è la pressione interstiziale. Il sistema (10)–(13) necessita della definizione di un'equazione costitutiva per il tensore degli sforzi dello sferoide multicellulare  $\mathbf{T}_m$  che sia capace di descrivere il comportamento meccanico di un materiale che cresce. Questo problema è stato posto per esempio in [3], [4], [5], [27], [32].

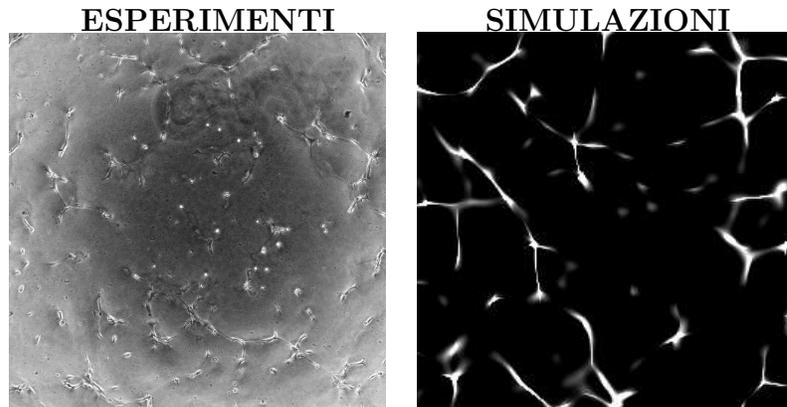
#### 4. – Modellizzazione della Formazione della Rete di Capillari

Come già accennato al par. 2 un passaggio fondamentale nella evoluzione di un tumore è la formazione di una rete di capillari che circonda il tumore. Questo processo è simulato in vitro disseminando un certo numero di cellule endoteliali (elementi fondamentali nella costruzione delle pareti interne dei capillari) in maniera casuale su una superficie piana costituita da un substrato gelatinoso. Le cellule migrano e si aggregano formando strutture vascolari complesse (Fig. 4).

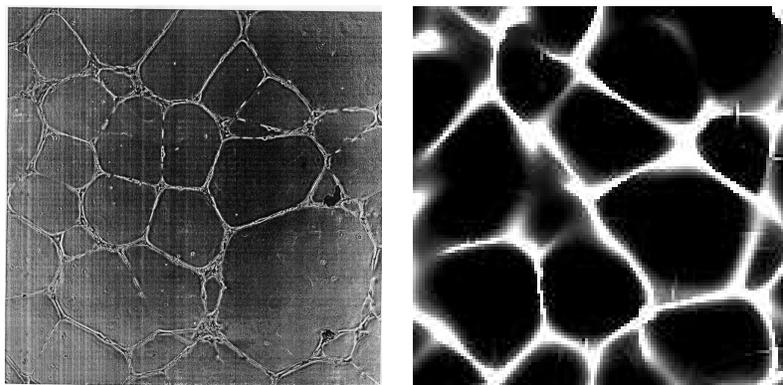
Dal punto di vista matematico il problema è interessante sia perchè è un esempio di processo che può essere descritto utilizzando diversi approcci (automi cellulari, metodi particellari o equazioni alle derivate parziali) sia perchè i modelli di chemotassi presentano delle caratteristiche interessanti dal punto di vista dello studio analitico (si veda per esempio [42]).

Se si osservano le traiettorie individuali delle cellule si può osservare una marcata persistenza nel moto con una piccola componente casuale ed una tendenza a muoversi verso le zone con più alta concentrazione di cellule (Fig. 5).

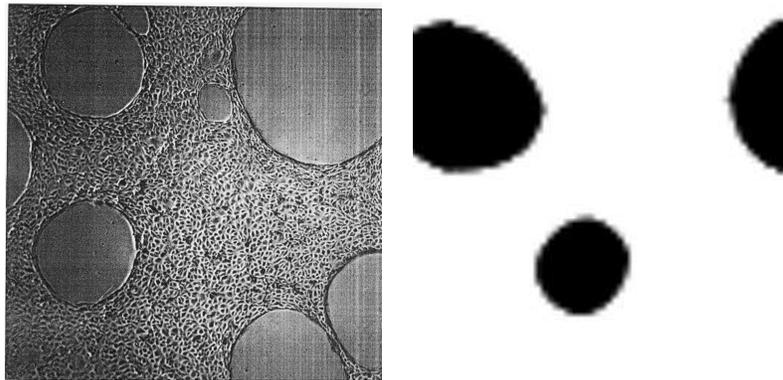
Come mostrato in Fig. 4, dopo alcune ore le cellule formano una rete che tende ad essere connessa come un insieme di nodi collegati con corde. Si osserva sperimentalmente che



(a)  $\bar{n} = 50$  cellule/mm<sup>2</sup>



(b)  $\bar{n} = 250$  cellule/mm<sup>2</sup>



(c)  $\bar{n} = 1000$  cellule/mm<sup>2</sup>

Figure 4: Formazione di capillari in vitro utilizzando il numero di cellule citato in figura. La colonna di sinistra si riferisce agli esperimenti eseguiti da F. Bussolino e G. Serini, Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro di Candiolo (TO), mentre la colonna di destra si riferisce alle simulazioni numeriche ottenute utilizzando il modello (14) ed i valori dei parametri misurati sperimentalmente.

- i) la lunghezza media di una corda  $\bar{\ell}$  è approssimativamente indipendente dalla densità iniziale delle cellule ( $\bar{\ell} \simeq 200 \pm 20 \mu\text{m}$ ).
- ii) si formano network connessi solo al di sopra di una densità critica  $n_c \sim 100 \text{ cells}/\text{mm}^2$ . A densità più basse si osserva solo la formazione di strutture isolate (Fig. 4a).
- iii) A densità più alte di cellule le corde si inspessiscono cercando di mantenere la grandezza delle lacune nonostante l'aumentato numero di cellule, fin quando (intorno a  $400 \text{ cellule}/\text{mm}^2$ ) la struttura che si genera diventa simile ad un formaggio svizzero (Fig. 4c).

Il modello proposto in [29] è basato sull'assunzione che le cellule endoteliali comunichino attraverso l'emissione e la ricezione di un segnale chimico di tipo chemotattico, chiamato vascular endothelial growth factor ed abbreviato VEGF. Questa ipotesi è stata confermata sperimentalmente (Fig. 5 e [41]). Le cellule sono quindi accelerate dai gradienti della concentrazione  $c$  del fattore chimico che è rilasciato dalle cellule stesse, si diffonde nell'ambiente circostante e si degrada naturalmente. La chemotassi tende quindi a far aggregare le cellule per cui è necessario introdurre un termine di pressione  $p(n)$ , dove  $n$  è la densità delle cellule, che si attivi quando le cellule vengono in contatto e che controlli il loro sovraffollamento.

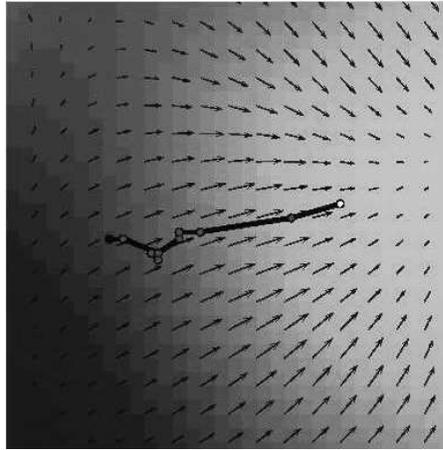


Figure 5: Traiettorie di una cellula nel campo di chemoattrattore generato dall'insieme di cellule endoteliali.

Il modello si scrive quindi

$$(14) \quad \begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\mathbf{v}) = 0, \\ \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = \mu \nabla c - \beta \mathbf{v} - \nabla p(n), \\ \frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c + an - \frac{c}{\tau}. \end{cases}$$

dove il parametro  $\mu$  misura la forza della risposta cellulare allo stimolo chemotattico,  $\beta$  è il coefficiente di attrito con il substrato gelatinoso,  $D$  è il coefficiente di diffusione,  $a$  è il tasso di rilascio del fattore chimico e  $\tau$  è il suo tempo di decadimento.

Le condizioni iniziali sono

$$(15) \quad n = \frac{1}{2\pi r^2} \sum_{j=1}^N \exp \left[ -\frac{(\mathbf{x} - \mathbf{x}_j)^2}{2r^2} \right],$$

$$(16) \quad \mathbf{v} = \mathbf{0},$$

ossia  $N$  cellule di raggio ( $r \sim 30\mu\text{m}$ ) sono distribuite casualmente nei punti  $\mathbf{x}_j$  con velocità nulla.

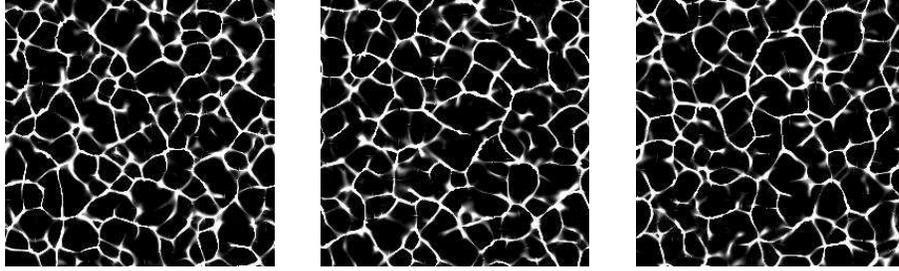


Figure 6: Dipendenza della realizzazione dalla condizione iniziale.

L'accoppiamento con l'equazione di diffusione (14)<sub>3</sub> introduce nel problema una lunghezza naturale  $\ell = \sqrt{D\tau}$ , che corrisponde al raggio di interazione chimico. Le simulazioni mostrano che questa lunghezza corrisponde alla scala caratteristica delle strutture delle reti vascolari reali. Chiaramente la precisa realizzazione dipende dalla distribuzione iniziale, ma le caratteristiche fisiologiche generali (per esempio, la dimensione caratteristica  $\ell$ ) sono del tutto indipendenti come evidente in Figura 6. E' interessante sapere che dal punto di vista fisiologico dimensioni dell'ordine di  $\ell \sim 200\mu\text{m}$  sono anche quelle ottimali, nel senso che una rete più rada causerebbe la morte del tessuto al centro della maglia ed una rete più fitta sarebbe uno spreco dal punto di vista funzionale.

Il modello non solo è in grado di prevedere l'esatta dinamica partendo da condizioni iniziali realistiche come mostrato in Fig. 4, ma anche le transizioni che si osservano quando si usa un numero "inadatto" di cellule.

In particolare, metodi classici della meccanica statistica sono stati utilizzati in [29] per caratterizzare quantitativamente la transizione percolativa che si osserva per basse quantità di cellule. Sia partendo dalle simulazioni numeriche che dai dati sperimentali si dimostra che questa transizione avviene intorno a  $n_c \sim 100 \text{ cells/mm}^2$  e che alla criticità la dimensione frattale delle strutture è  $D_f = 1.50 \pm 0.02$  a piccole scale e  $D_f = 1.87 \pm 0.03$  a grandi scale.

Metodi di stabilità lineare sono stati usati invece in [33] per studiare il passaggio da una distribuzione uniforme di cellule ad una caratterizzata dalla presenza di lacune (si veda Fig. 4c).

L'esistenza di una transizione percolativa a basse densità e della formazione di lacune ad alte densità sembrano essere legate entrambe alla tendenza del sistema a mantenere per quanto possibile la dimensione caratteristica delle strutture,

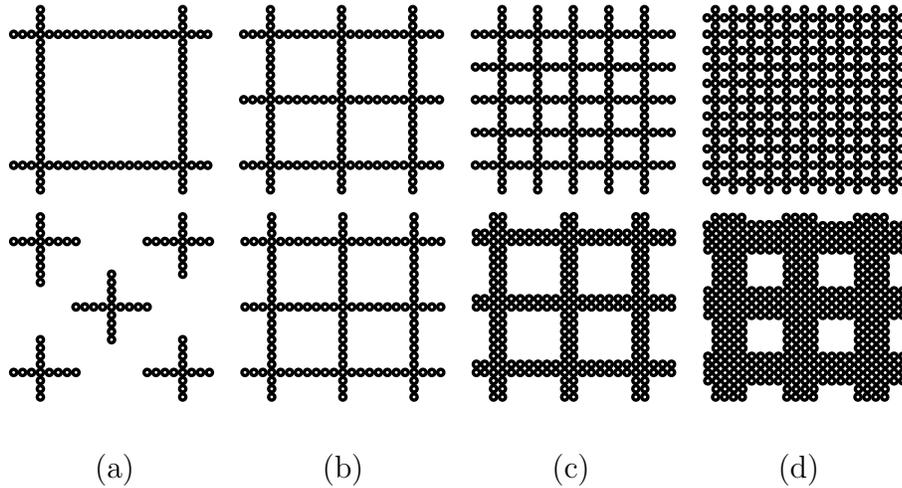


Figure 7: Schematizzazione della dipendenza della formazione di reti dalla densità iniziale.

piuttosto che a raggiungere una distribuzione uniforme. Infatti, partendo da una densità ottimale di cellule (diciamo  $150 \text{ cells/mm}^2$ , Fig. 7b), se si dimezza il numero di cellule la dinamica corrispondente alla prima riga in Figura 7 comporterebbe la tendenza del sistema a mantenere le caratteristiche percolative, ingrandendo le maglie della rete. Quello che invece avviene in natura e viene predetto dal modello matematico è che il sistema cerca di mantenere le grandezze per quanto possibile, ma essendo il numero delle cellule insufficiente, la struttura perde il suo carattere di connessione. Per un motivo molto simile, se si raddoppia il numero di cellule a partire dallo schema di partenza, nella situazione della prima riga si tenderebbe a raggiungere una struttura uniforme, mentre nella seconda una struttura che, mantenendo le grandezze caratteristiche, tende ad inspessire le corde, fino a raggiungere la formazione di lacune quando si raddoppia ancora il numero di cellule.

C'è da tener presente però che nel corpo umano il substrato non è omogeneo e sono presenti interazioni con le cellule e la matrice extracellulare del tessuto che influenzano la formazione di reti vascolari. Si formano così strutture tipo quella presentata in Fig.9a. Il modello (14) può essere opportunamente generalizzato per descrivere situazioni anisotrope assumendo semplicemente che il moto delle cellule in una direzione è privilegiata o ostacolata (Fig. 8).

E' interessante notare che in principio, si potrebbe descrivere lo stesso fenomeno utilizzando un metodo particellare o un approccio cinetico scrivendo per la funzione di distribuzione della popolazione di cellule endoteliali  $f(t, \mathbf{x}, \mathbf{v})$  un'equazione di evoluzione con un termine forzante che tenga conto dell'attrito con il substrato gelatinoso  $\mathbf{F}_1 = -\beta\mathbf{v}$  e dell'azione chemotattica  $\mathbf{F}_2 = \mu\nabla c$ . Introducendo anche un operatore collisionale dissipativo  $J$  che conservi la massa e la quantità di moto, ma che dissipi energia nella collisione tra cellule si avrebbe il seguente modello

$$(17) \quad \frac{\partial f}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla f + \nabla_{\mathbf{v}} \cdot [(-\beta\mathbf{v} + \mu\nabla c)f] = J,$$

dove  $\nabla_{\mathbf{v}} \cdot \mathbf{w}$  è la divergenza di  $\mathbf{w}$  rispetto a  $\mathbf{v}$ . Il legame interscala tra (14) e (17)

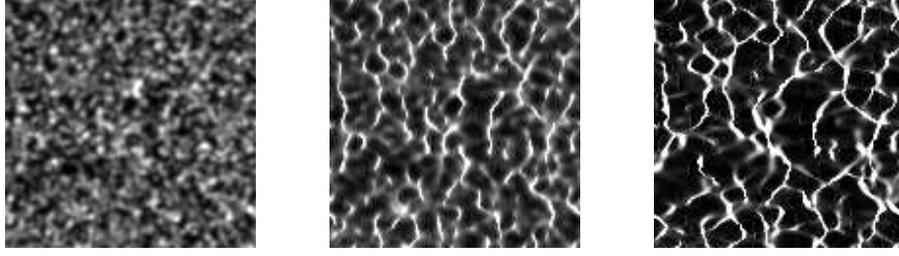


Figure 8: Formazione di strutture anisotrope a partire dalla condizione iniziale a sinistra.

può essere ottenuto tramite limiti idrodinamici. Infatti integrando (17) sullo spazio delle velocità si ha la prima equazione in (14), mentre integrando (17) dopo averla moltiplicata per  $\mathbf{v}$  si ha

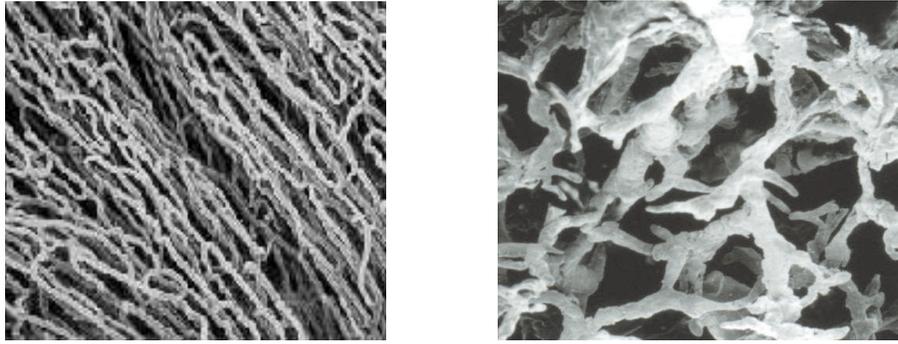
$$(18) \quad \frac{\partial}{\partial t}(n\mathbf{u}) + \nabla(n\mathbf{u} \otimes \mathbf{u}) = n\mu\nabla c - n\beta\mathbf{u} - \nabla \cdot \mathbf{\Pi},$$

che può essere paragonata a (14)<sub>2</sub>.

Prima di concludere questa breve presentazione sui modelli di formazione dei vasi sanguigni è utile citare in questo ambito un altro problema aperto di grande interesse medico e pertinenza matematica. Le reti vascolari stimulate da tumori attraverso il processo di angiogenesi sono molto diverse da quelle fisiologiche (Figura 9), in quanto si osservano

1. Aumento della permeabilità;
2. Aumento della proliferazione;
3. Dilatazione;
4. Flusso sanguigno anormale;
5. Aumento della tortuosità
6. Aumento del disordine;
7. Diramazioni anormali;
8. Perdita di gerarchia;
9. Presenza di vasi ciechi.

Le prime 4 proprietà sono di tipo fisiologico o meccanico, mentre le ultime 5 sono di tipo geometrico. Dal punto di vista medico è importante sapere quali siano le caratteristiche discriminanti per identificare l'anormalità di un sistema vascolare e quali sono i valori normali in modo da controllare, caso per caso, di quanto si discosti dai valori normali, come si fa in genere per tutti gli altri tipi di analisi. Anche perchè sembra che queste caratteristiche cambiano da tumore a tumore: più



(a)

(b)

Figure 9: Reti vascolari. (a) Pelle (b) Tumore.

un tumore è aggressivo, più cresce in maniera “disordinata” e la rete vascolare di cui si fornisce è “disordinata”.

Se si riuscisse ad identificare le caratteristiche morfologiche che maggiormente caratterizzano lo stato di anomalia sarebbe possibile identificare le morfologie anomale, misurando queste quantità con tecniche non invasive, per esempio tramite un’angiografia, e forse anche di quantificare lo stato di progressione e di aggressività del tumore sulla base di concetti geometrici.

## 5. – Modelli di Progressione Tumorale

Guardando alla popolazione di cellule tumorali alla scala cellulare è possibile realizzare che il loro comportamento non è sempre lo stesso e che anche dal punto di vista morfologico presentano delle differenze, per esempio presenza di recettori specifici sulla membrana o di organi al loro interno. Entrando più nello specifico, la progressione di una cellula normale in una cellula tumorale comporta il passaggio di diversi passaggi chiave e l’attivazione di alcuni meccanismi. Per esempio, uno dei processi evolutivi consiste nell’acquisizione sequenziali delle seguenti caratteristiche

1. Insensibilità ai segnali che controllano la crescita (si ricordi il modello (5)–(6));
2. Produzione di segnali promotori della crescita;
3. Capacità di evitare l’apoptosi (morte naturale delle cellule);
4. Acquisizione di una capacità illimitata di replicazione;
5. Produzione dei segnali che stimolano l’angiogenesi (angiogenic switch);
6. Indipendenza dal legame di adesione con altre cellule, invasione del tessuto circostante e distacco di metastasi.

Come le cellule tumorali, anche le cellule del sistema immunitario sono soggette a maturazione ed attivazione. Per queste ragioni i modelli che intendono descrivere la progressione del tumore necessitano dell’introduzione di una nuova variabile

indipendente che abbia il compito di descrivere lo stato intrinseco (o gli stati intrinseci) delle cellule e la dipendenza del loro comportamento da tale stato. Questo stato intrinseco può riferirsi all'aggressività, all'attività, alla maturazione delle cellule e così via.

Questa esigenza è nota ai biologi tanto che in [31] gli autori si spingono a rappresentare la situazione in un disegno simile a quello in Fig. 10 in cui si può vedere come una distribuzione iniziale di poche cellule possa evolvere in cloni con diversi stati di progressione. Poco prima Bellomo in collaborazione con un immunologo [11] aveva sviluppato proprio quei modelli matematici che i biologi desideravano avere a disposizione (si veda il volume [12] ed i lavori più recenti [2], [8], [22], [23], [34]). In Figura 10 è rappresentato il risultato di una simulazione che risponde ai requisiti richiesti da Greller, Tobin e Poste [31].

I passi chiave nella modellizzazione del processo di progressione sono quindi la selezione delle popolazioni cellulari di interesse per l'evoluzione, l'identificazione delle loro attività specifiche e la descrizione dei loro meccanismi di progressione, proliferazione ed interazione. Naturalmente, il comportamento delle cellule dipende dal loro stato di attivazione. La struttura del modello è quindi la seguente

$$\begin{aligned}
 (19) \quad & \frac{\partial f_i}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial u} [c_i(t, u) f_i(t, u)] = \mathcal{S}_i + f_i(t, u) \sum_{j=1}^n \int_{-1}^1 p_{ij}(u, w) f_j(t, w) dw \\
 & + \sum_{j=1}^n \left[ \int_{-1}^1 \int_{-1}^1 \eta_{ij}(v, w) \Psi_{ij}(v, w; u) f_i(t, v) f_j(t, w) dv dw \right. \\
 & \left. - f_i(t, u) \int_{-1}^1 \eta_{ij}(u, w) f_j(t, w) dw \right],
 \end{aligned}$$

dove il secondo termine a primo membro rappresenta l'operatore di evoluzione intrinseco che descrive come evolverebbe la progressione delle cellule in assenza di interazioni e proliferazione o morte. Il secondo termine a secondo membro è l'operatore di proliferazione stimolata dall'interazione con altre cellule o morte dovuta all'azione citotossica delle altre cellule.  $\eta_{ij}(v, w)$  denota il numero di incontri per unità di volume ed unità di tempo tra coppie di cellule delle popolazioni  $(i, j)$  con stati  $v$  e  $w$ , rispettivamente e  $\psi_{ij}(v, w; u)$  denota la probabilità di transizione della cellula della popolazione  $i$  allo stato  $u$ , dato il suo stato iniziale  $v$  e lo stato  $w$  della cellula della popolazione  $j$  con cui ha interagito. Gli ultimi due termini sono legati alle interazioni che cambiano solo lo stato delle cellule che interagiscono. Infine  $\mathcal{S}_i$  è un termine di sorgente o pozzo che può essere sia di tipo esterno (per esempio, produzione di cellule del sistema immunitario da parte del midollo osseo, azione chemioterapeutica o radioterapeutica) o interna (per esempio, duplicazione e morte naturale delle cellule)  $\mathcal{S}_i = \gamma_i(t, u) f_i(t, u)$ .

E' da menzionare che partendo dall'osservazione che in molti casi l'interazione tra cellule è mediata da fattori chimici e citochine rilasciate dalle cellule e diffuse nell'ambiente esterno, ultimamente è stata sviluppata una nuova classe di modelli che rientra nella classe dei modelli cinetici di campo medio [8], [23], [33].

I modelli presentati sono degli esempi di quanto sviluppato recentemente in un campo in rapida evoluzione interfacciandosi con il mondo bio-medico. Nel fare ciò bisogna essere però consapevoli del fatto che i problemi bio-medici presentano

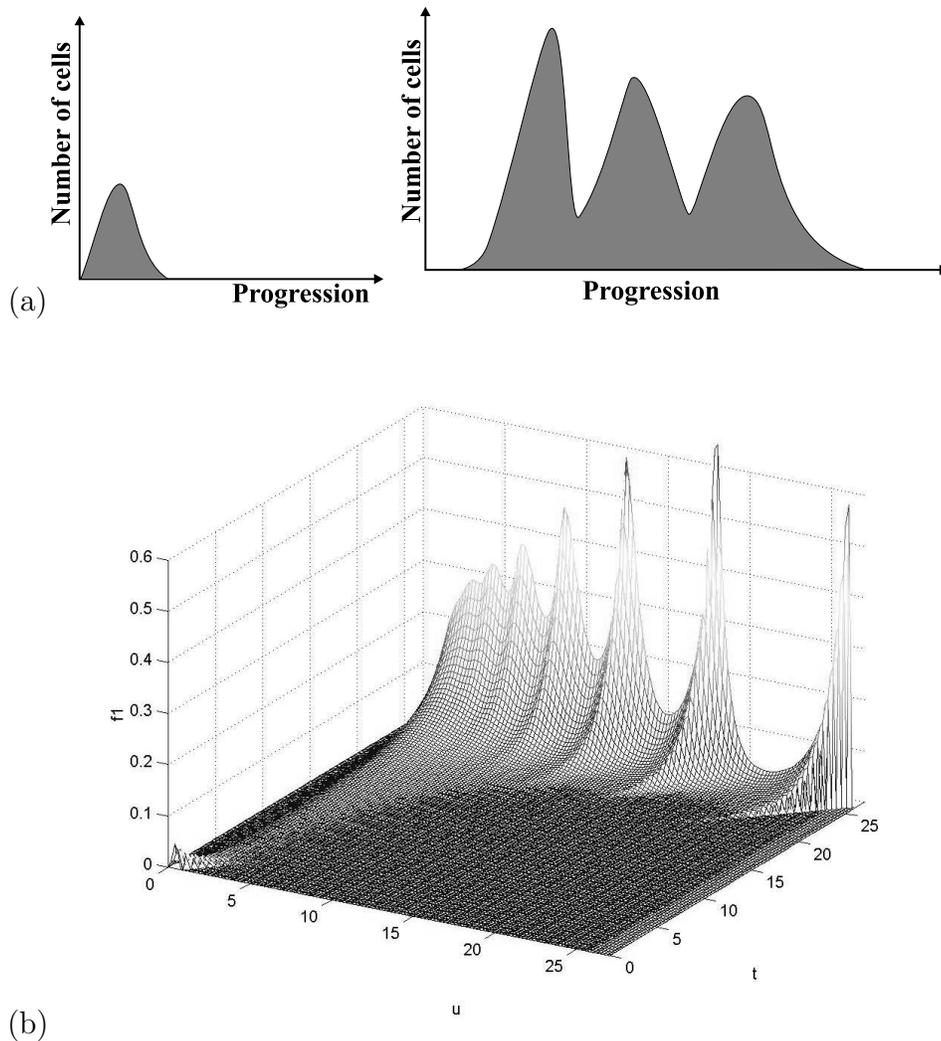


Figure 10: Evoluzione dello stato di progressione come descritto fenomenologicamente da Greller, Tobin e Poste [31] (a) e come ottenuto usando il modello dedotto in [2].

un tipo di difficoltà completamente nuova. Descrivere il comportamento della materia vivente è molto più complesso di quanto sia trattare con la materia inerte. Il comportamento delle cellule dipende da moltissimi segnali biochimici e stimoli meccanici che esse ricevono continuamente, per cui le stesse relazioni causa-effetto non sono così semplici. I sistemi biologici sono per esempio sensibilissimi a determinati stimoli ed allo stesso tempo robusti rispetto a grosse perturbazioni di fondo. Nella collaborazione interdisciplinare, il matematico deve quindi essere pronto a mettersi sempre in discussione, a vincere la naturale tendenza di adattare le proprie conoscenze al problema specifico, ad esaminare sempre nuove vie, a sviluppare nuove teorie e metodologie, ad adattarsi ai tempi di reazione del mondo della bio-medicina che sono molto più rapidi di quelli caratteristici della matematica. Tenendo conto di questi aspetti la matematica può concretamente contribuire allo sviluppo della ricerca contro il cancro e della ricerca bio-medica in genere.

## Acknowledgements

Parzialmente finanziato dalla Comunità Europea attraverso un Research Training Network su “Using Mathematical Modelling e Computer Simulazione to Improve Cancer Therapy.”

## REFERENCES

- [1] J. Adam - N. Bellomo Eds., **un Survey of Models on Tumor Immune Systems Dynamics**, Birkhäuser, Boston, 1996.
- [2] Ambrosi D. - Bellomo N. - L. Preziosi, *Modelling the immune response to tumor etherogeneity and progression*, J. Theor. Medicine, **4**, (2002), 51-66.
- [3] D. Ambrosi - F. Mollica, *On the mechanics of a growing tumor*, Int. J. Engng. Sci., **40**, (2002), 1297-1316.
- [4] D. Ambrosi - F. Mollica, *Mechanical models in tumour growth*, in **Cancer Modelling and Simulation**, Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [5] D. Ambrosi - F. Mollica - P. Netti, J. Math. Biol., in press.
- [6] D. Ambrosi - L. Preziosi, *On the closure of mass balance models for tumour growth*, Math. Models Methods Appl. Sci., **12**, (2002), 737-754.
- [7] A.R.A. Anderson - M.A.J. Chaplain, *Continuous and discrete mathematical models of tumour-induced angiogenesis*, Bull. Math. Biol., **60** (1998), 857-899.
- [8] L. Arlotti - N. Bellomo - E. De Angelis, *Generalized kinetic (Boltzmann) models: mathematical structures and applications*, Math. Models Meth. Appl. Sci., **12**, (2002), 567-591.
- [9] N. Bellomo Ed., *Math. Comp. Modelling* **23** (1996).
- [10] N. Bellomo - E. De Angelis Eds., *Math. Comp. Model.*, (2003).
- [11] N. Bellomo - G. Forni, *Dynamics of tumor interaction with the host immune system*, Math. Comp. Modelling, **20** (1994), 107-122.
- [12] N. Bellomo - M. Lo Schiavo, **Lecture Notes on the Generalized Boltzmann Equation**, World Scientific (2000).
- [13] A. Bertuzzi - A. Fasano - A. Gandolfi - D. Marangi, *Cell kinetics in tumour cords studied by a model with variable cell cycle length*, Math. Biosci., **177& 178** (2002), 103-125.

- [14] A. Bertuzzi - A. D'Onofrio - A. Fasano -A. Gandolfi, *Regression and regrowth of tumour cords following single-dose anticancer treatment*, Bull. Math. Biol., **65** (2003), 903-931.
- [15] C.J.W. Breward, H.M. Byrne, and C.E. Lewis, *Modeling the interactions between tumour cells and a blood vessel in a microenvironment within a vascular tumour*, Eur. J. Appl. Math., **12** (2001), 529-556.
- [16] H.M. Byrne, *Modelling avascular tumor growth*, in **Cancer Modelling and Simulation**, Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [17] H.M. Byrne - L. Preziosi, IMA J. Math. Appl. Med. Biol., in press.
- [18] M.A.J. Chaplain Ed., *Special Issue Math. Models Methods Appl. Sci.*, **9** (1999).
- [19] M.A.J. Chaplain Ed., *Special Issue on Mathematical Modelling and Simulations of Aspects of Cancer Growth*, J. Theor. Medicine, **4** (2002).
- [20] M.A.J. Chaplain - A.R.A. Anderson, *Mathematical modelling of tissue invasion in Cancer Modelling and Simulation*, Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [21] M.A.J. Chaplain - L. Preziosi, *Misperception of stress as a cause of hyperplasia and dysplasia*, (2004).
- [22] E. De Angelis - P.E. Jabin, *Qualitative analysis of a mean field model of tumor-immune system competition*, Math. Models Meth. Appl. Sci., **13** (2003), 197-220.
- [23] E. De Angelis - L. Mesin, *Mathematical frameworks and applications on tumors and immune system interactions*, Math. Models Methods Appl. Sci., **11** (2001), 1609–1630.
- [24] E. De Angelis - L. Preziosi, *Advection-diffusion models for solid tumour evolution in vivo and related free boundary problem*, Math. Models Methods Appl. Sci., **10** (2000), 379-407.
- [25] A. Deutsch, **Cellular Automata and Biological Pattern Formation**, Birkhäuser, Boston, 2003.
- [26] A. Deutsch, *A new mechanism of aggregation in a lattice-gas cellular automaton model*, Math. Comp. Mod., **31** (2002), 35-40.
- [27] A. Farina - L. Preziosi, *On Darcy's law for growing porous media*, Int. J. Non-linear Mech., **37** (2001), 485-491.
- [28] A. Friedman - F. Reitich, *On the existence of spatially patterned dormant malignancies in a model for the growth of non-necrotic vascular tumours*, Math. Models Methods Appl. Sci., **11** (2001), 601-625.

- [29] A. Gamba - D. Ambrosi - F. Bussolino - A. Coniglio - A. de Candia - S. Di Talia - E. Giraudo - G. Serini - L. Preziosi, *Percolation, self-organization and Burgers dynamics in blood vessel formation*, Phys. Rev. Lett., **90** (2003), 118101.
- [30] L. Graziano - L. Preziosi, *Multiphase models of tumour growth: General framework and particular cases*, in **Proceedings of the 5th Conference of the ESMTB**, Springer, (2003).
- [31] L. Greller - F. Tobin - G. Poste, *Tumor heterogeneity and progression: Conceptual foundation for modeling*, Invasion and Metastasis, **16** (1006), 177-208.
- [32] J.D. Humphrey - K.R. Rajagopal, *A constrained mixture model and remodeling of soft tissues*, Math. Models Meth. Appl. Sci., **12** (2002), 407-430.
- [33] R. Kowalczyk - A. Gamba - L. Preziosi, *On the stability of homogeneous solutions to some aggregation models* Discrete and Continuous Dynamical Systems B, **4** (2004), 203-220.
- [34] M. Lachowicz, *From microscopic to macroscopic description for general kinetic models*, Math. Models Meth. Appl. Sci., **12**, 993-1011, (2002).
- [35] H. Levine - S. Pamuk - B. Sleeman - M. Nilsen-Hamilton, *Mathematical modeling of capillary formation and development in tumor angiogenesis: Penetration into the stroma*, Bull. Math. Biol., **63** (2001), 801-863.
- [36] H.A. Levine - B.D. Sleeman, *Modelling tumour induced angiogenesis*, in **Cancer Modelling and Simulation**, Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [37] S.R. Lubkin - T. Jackson, *Multiphase mechanics of capsule formation in tumours*, J. Biomech. Engng., **124** (2002), 237-243.
- [38] S.R. McDougall - A.R.A. Anderson - M.A.J. Chaplain - J.A. Sherratt, Bull. Math. Biol., **64** (2002), 673-702.
- [39] S. Pamuk, *Qualitative analysis of a mathematical model for capillary formation in tumor angiogenesis*, Math. Models Meth. Appl. Sci., **13** (2003), 19-34.
- [40] L. Preziosi, Ed., **Cancer Modelling and Simulation**, Chapman & Hall/CRC Press, (2003).
- [41] G. Serini - D. Ambrosi - A. Gamba - E. Giraudo - L. Preziosi - F. Bussolino, *Modelling the early stages of vascular network assembly* EMBO J. Biol., **22**, (2003), 1771-1779.
- [42] J.J.L. Velázquez, *Stability of some mechanisms of chemotactic aggregation*, SIAM J. Appl. Math., **62** (2002), 1581-1633.
- [43] J. Ward - J. King, *Mathematical modelling of the effects of mitotic inhibitors on avascular tumour growth*, J. Theor. Med., **1** (1999), 171-211.