

POLITECNICO DI MILANO

Scuola di Ingegneria Industriale e dell'Informazione

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica



Modelli matematici di crescita tumorale: analisi di stabilità per un modello continuo di tumore avascolare

Relatore

Prof. Davide Carlo Ambrosi

Correlatore

Dott.sa Chiara Giverso

Tesi di Laurea Magistrale di:

Funaro Laura, Matr. 786163

Anno Accademico 2013/2014

Indice dei contenuti

Capitolo 1	Biologia dei tumori	1
1.1	Struttura subcellulare fisiologica	1
1.1.1	Microarchitettura dei tessuti cellulari	2
1.1.2	Ciclo cellulare fisiologico, proliferazione e morte	3
1.2	La biologia del tumore	5
1.2.1	Carcinogenesi	5
1.2.2	Basi genetiche della carcinogenesi	7
1.2.3	Crescita di un tumore solido avascolare	9
1.3	Hallmarks del tumore	10
1.3.1	Immortalità	11
1.3.2	Proliferazione incontrollata	11
1.3.3	Invasione e metastasi	12
1.3.4	Resistenza all'apoptosi	12
1.3.5	Blocco dei geni oncosoppressori	13
1.3.6	Angiogenesi	13
1.3.7	Instabilità genomica	14
1.3.8	Infiammazione	14
1.3.9	Metabolismo energetico	15
1.3.10	Inibizione delle difese immunitarie	15
Capitolo 2	Nozioni preliminari di meccanica dei continui	16
2.1	Concetti base	16
2.2	Equazioni di bilancio	27
2.2.1	Prima legge della termodinamica	32
2.2.2	Seconda legge della termodinamica	33
Capitolo 3	Stato dell'arte dei modelli matematici per il cancro	35
3.1	Modelli a fase singola	35
3.1.1	Modelli diffusivi	36

3.1.2	Modelli meccanici	40
3.2	Modelli multifase	43
3.2.1	Modello a frontiera libera	44
3.2.2	Modello ad interfaccia diffusa	48
Capitolo 4	Analisi di stabilità per un modello meccanico di crescita tumorale	51
4.1	Modello matematico	51
4.2	Analisi di stabilità lineare	55
4.3	Perturbazione della soluzione quasi-stazionaria	58
4.4	Analisi di sensitività	61
4.5	Discussioni	67
Conclusioni	70
Bibliografia	71

Indice delle figure

Fig. 1.1	Schema riassuntivo del ciclo cellulare [68]	3
Fig. 1.2	(a) Le sei caratteristiche del cancro identificate nel 2000; (b) le quattro nuove caratteristiche identificate nel 2011 [31]	10
Fig. 2.1	(a) Configurazione e moto di un corpo continuo; (b) campo di spostamento \mathbf{U} di una particella [33]	18
Fig. 2.2	Deformazione di una curva materiale $\Gamma \subset \Omega_0$ in una curva spaziale $\gamma \subset \Omega$ [33] ..	19
Fig. 2.3	Deformazione di un elemento materiale con lunghezza $d\varepsilon$ in un elemento spaziale con lunghezza $\lambda d\varepsilon$ [33].....	21
Fig. 2.4	Deformazione di un elemento spaziale con lunghezza $d\varepsilon$ in un elemento materiale con lunghezza $\lambda d\varepsilon$ [33]	22
Fig. 2.5	Vettori di trazione che agiscono su elementi di superficie infinitesimale con il vettore normale uscente [33]	24
Fig. 2.6	Sforzi normale e di taglio alla posizione corrente \mathbf{x} [33]	26
Fig. 3.1	Schematizzazione modelli matematici continui trattati in questo capitolo	36
Fig. 3.2	Sezione di un carcinoma nodulare che mostra un nucleo necrotico ($r < R_i$), uno strato con cellule viventi non proliferanti ($R_i < r < R_g$), uno strato con cellule proliferanti ($R_g < r < R_0$) [29]	37
Fig. 3.3	Diagramma del moto di un corpo da una configurazione di riferimento k_0 ad una configurazione corrente k_t [3]	40
Fig. 3.4	Diagramma schematico che mostra il movimento delle cellule (freccie sottili) e il flusso del fluido extracellulare (freccie spesse) all'interno di un tumore avascolare con simmetria sferica [15]	46
Fig. 3.5	Diagramma che mostra come la funzione $\Sigma(\Phi_T)$ varia con Φ_T . Le freccie nere rappresentano le forze a cui sono soggette le cellule nere grazie alla presenza delle cellule grigie (e viceversa) [15]	48
Fig. 4.1	Struttura geometrica tridimensionale del sistema	52

Fig. 4.2	Rappresentazione dei domini utilizzati per l'analisi di stabilità lineare	56
Fig. 4.3	Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda > 0$) e modi stabili ($\lambda < 0$)	62
Fig. 4.4	Interfaccia perturbata con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nel diagramma di dispersione riportato in Fig. 4.3 ...	63
Fig. 4.5	Diagrammi di dispersione ottenuti variando il parametro β : (a) $\beta=5$, (b) $\beta=10$, (c) $\beta=20$	63
Fig. 4.6	Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.5	64
Fig. 4.7	Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda > 0$) e modi stabili ($\lambda < 0$)	64
Fig. 4.8	Diagrammi di dispersione ottenuti variando il parametro σ : (a) $\sigma=0.1$, (b) $\sigma=1$, (c) $\sigma=10$	65
Fig. 4.9	Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.8	65
Fig. 4.10	Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda > 0$) e modi stabili ($\lambda < 0$)	66
Fig. 4.11	Diagrammi di dispersione ottenuti mantenendo costante q e aumentando di pari passo i parametri R_{out} e R_T : (a) $R_{out}=40$ e $R_T=10$, (b) $R_{out}=75$ e $R_T=17.5$, (c) $R_{out}=100$ e $R_T=25$	66
Fig. 4.12	Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.11 ..	67

Sommario

Il presente lavoro di tesi ha lo scopo di studiare l'insorgenza di fenomeni d'instabilità all'interfaccia tra un tumore sferico avascolare e l'ambiente extracellulare. Tali fenomeni possono portare allo sviluppo di morfologie tumorali complesse. A tal fine, è stato formulato un modello matematico continuo ad interfaccia libera, che ben si presta a rappresentare la crescita di uno sferoide tumorale all'interno dell'ambiente poroso extracellulare. Il modello proposto comprende le equazioni di bilancio della massa e del momento per la popolazione tumorale e l'equazione di reazione-diffusione rappresentante l'evoluzione dei nutrienti. L'analisi matematica condotta ha portato alla definizione dei principali parametri adimensionali, legati alle interazioni mecano-chimiche intercorrenti tra cellule tumorali, ambiente extracellulare e nutrienti, ed alla geometria del sistema, che determinano l'evoluzione del sistema, consentendo di individuare i principali meccanismi biologici coinvolti nell'insorgenza di morfologie tumorali complesse.

Al fine di comprendere la derivazione del modello ed i principali aspetti biologici coinvolti, nei capitoli introduttivi vengono presentati le caratteristiche biologiche del tumore, la meccanica dei continui ed i principali modelli continui presenti in letteratura. In particolare, il Capitolo 1 è volto a presentare le basi biologiche di tale patologia, sia da un punto di vista microscopico che da un punto di vista macroscopico, seguito da una descrizione degli aspetti peculiari che caratterizzano le cellule tumorali. Nel Capitolo 2 vengono introdotti i concetti fondamentali della meccanica dei continui, utili per la comprensione dei principali modelli continui di crescita tumorale presentati nel Capitolo 3. Infine, nel Capitolo 4 viene proposto ed analizzato un modello continuo ad interfaccia libera per la descrizione della crescita tumorale. In particolare, per studiare come piccole perturbazioni dell'interfaccia libera del tumore possono portare, nel tempo, all'insorgenza di forme complesse in termini di struttura e morfologia dello sferoide tumorale, si è proposta un'analisi di stabilità lineare per il caso quasi-stazionario.

Parole chiave: tumore avascolare; modelli continui; analisi stabilità lineare.

Summary

The aim of this work is to study the onset of instability phenomena at the interface between a spherical avascular tumor and the extracellular environment. These phenomena can lead to the development of complex morphologies tumor. For this purpose, a continuous free interface mathematical model has been formulated, useful to represent the growth of a spheroid tumor within the porous extracellular. The proposed model includes the balance equations of mass and momentum for the population tumor and the reaction-diffusion equation representing the evolution of nutrients. The mathematical analysis conducted led to the definition of the main dimensionless parameters, related to the chemo-mechanical interactions existing among tumor cells, extracellular environment and nutrients, and the geometry of the system, that determine the evolution of the system, allowing us to identify the main mechanisms biological involved in the onset of tumor complex morphologies. In order to understand the derivation of the model and the main biological aspects involved, in the introductory chapters are presented the biological characteristics of the tumor, the continuum mechanics and the main continuous models in the literature. In particular, Chapter 1 is intended to present the biological basis of this disease, both from a microscopic point of view and from a macroscopic point of view, followed by a description of the peculiar aspects that characterize the tumor cells. In Chapter 2 are introduced the basic concepts of continuum mechanics, useful for understanding the main continuous models of tumor growth presented in Chapter 3. Finally, in Chapter 4 is proposed and analyzed a free interface continuous model for the description of tumor growth. In particular, to study how small perturbations of the free interface of the tumor can lead, in time, the onset of complex shapes in terms of structure and morphology of the spheroid tumor, it was suggested the linear stability analysis for the quasi-stationary case.

Key words: avascular tumor; continuum models; analysis of linear stability.

Capitolo 1

Biologia dei tumori

Il cancro rappresenta uno dei maggiori problemi di salute pubblica [64]. Pertanto negli ultimi anni sempre più ricercatori in ambito medico, biologico, ingegneristico e matematico hanno rivolto la loro attenzione allo studio dei processi coinvolti in questa malattia. In particolare, in ambito biologico è stato raggiunto un importante progresso nella comprensione delle dinamiche molecolari che lo caratterizzano, che ha portato ad una maggiore conoscenza delle sue cause.

In questo capitolo verranno presentati alcuni concetti biologici di base, la cui conoscenza è fondamentale per studiare i modelli matematici tumorali. Si introdurrà la biologia molecolare e cellulare di tessuti sani per poi soffermare l'attenzione su come tali processi fisiologici vengano alterati durante l'insorgenza e la progressione delle patologie tumorali.

1.1 Struttura subcellulare fisiologica

Una cellula è composta da un nucleo contenente il DNA cellulare, circondato dal citosol (il liquido all'interno della cellula) e ricoperto da una membrana cellulare caratterizzata da un doppio strato lipidico. Il citoplasma contiene gli organelli responsabili delle funzioni della cellula, come i mitocondri (sintetizzano l'ATP a partire dal glucosio e dall'ossigeno per fornire energia alla cellula) e il reticolo endoplasmatico (provvede alle condizioni ideali per la sintesi delle proteine e il loro trasporto), i quali sono supportati dal citoscheletro composto da microtubuli e fibre polimeriche di actina [21]. La membrana cellulare, che separa la cellula dall'ambiente circostante, è permeabile alla diffusione passiva di piccole specie molecolari come l'ossigeno e il glucosio, e consente il trasporto attivo di alcune specie molecolari come il potassio e il sodio attraverso opportune pompe molecolari, mentre è impermeabile alle molecole più grandi come i fattori di crescita. La membrana inoltre scambia forze meccaniche con la matrice extracellulare, la membrana basale e altre

cellule, e trasmette le informazioni del microambiente al nucleo della cellula [21].

1.1.1 Microarchitettura dei tessuti cellulari

Con il termine tessuto ci si riferisce ad un raggruppamento di cellule aventi forma, struttura e funzioni simili, tenute insieme da una sostanza intercellulare di composizione e consistenza variabile da tessuto a tessuto. Nel seguito, vengono analizzati i principali tessuti e le loro caratteristiche.

➤ Tessuto epiteliale

È costituito da cellule strettamente addossate, per cui gli spazi extracellulari sono estremamente ridotti. L'epitelio poggia sempre sul tessuto connettivo sottostante (lo stroma) che lo sostiene e lo nutre attraverso la membrana basale (una sottile membrana semipermeabile) interposta. Si distinguono *epiteli di rivestimento*, che rivestono le superfici corporee (con funzione protettiva, assorbente ecc.), *epiteli ghiandolari* (a funzione secretiva), *epiteli sensoriali* (come i recettori gustativi e quelli olfattivi) [70].

➤ Tessuto connettivo

Il tessuto connettivo è caratterizzato dalla presenza della matrice extracellulare (ECM), un insieme di fibre (collagene, reticolari, elastiche) immerse in una miscela di acqua e glicoproteine, nella quale alloggiano le cellule e le fibre caratteristiche del connettivo. Tale composizione consente di suddividere il tessuto connettivo in *tessuto connettivo propriamente detto* (che comprende connettivo lasso, connettivo denso, connettivo reticolare, connettivo elastico), *tessuto adiposo*, *tessuto cartilagineo*, *tessuto osseo*, *sangue* (considerando il plasma una particolare sostanza extracellulare liquida) [70].

➤ Tessuto muscolare

Il tessuto muscolare è costituito da cellule allungate e sottili, dette anche fibre muscolari. Queste fibre sono in grado di modificare la loro forma, accorciandosi e contraendosi, in risposta a determinati stimoli, e sono in grado di riprendere la forma originaria una volta

cessata la contrazione (o lo stiramento). Il tessuto muscolare può essere distinto in tre tipi diversi: il *muscolo scheletrico* (volontario), prende inserzione sullo scheletro, il *muscolo liscio* (involontario), si trova nella parete degli organi interni cavi, ed infine il *muscolo cardiaco* (striato ma involontario) [70].

1.1.2 Ciclo cellulare fisiologico, proliferazione e morte cellulare

La proliferazione cellulare è un processo complesso che consiste in una serie di fasi che scaturiscono nella divisione cellulare. Alla base della proliferazione vi è il *ciclo cellulare* che consta in una serie di processi (Fig. 1.1) che devono essere completati in modo tempestivo e coordinato. Nella prima fase del ciclo, fase G1, la cellula si accresce, le proteine sono sintetizzate, vengono costruiti nuovi organelli, e la cellula si prepara per la replicazione del DNA. Nella fase successiva, fase S, avviene la sintesi, ossia il DNA è copiato, mentre nella fase G2 si ha la preparazione finale all'interno del nucleo per la divisione della cellula. Nella fase finale, fase M, avviene la mitosi: vengono separate due copie del DNA e incorporate in due nuclei (mitosi) e gli organelli vengono divisi nelle due cellule figlie (citochinesi) [43].

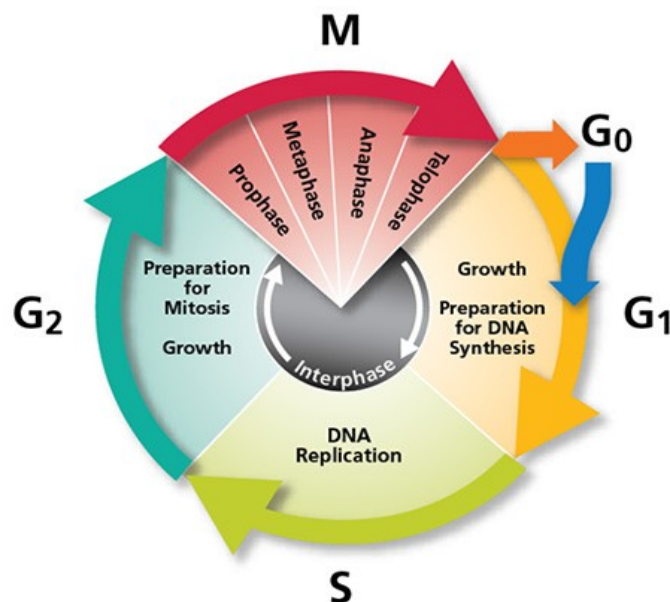


Fig. 1.1. Schema riassuntivo del ciclo cellulare [68].

Il ciclo cellulare contiene numerosi checkpoints (punti di controllo) che permettono alla cellula di controllare ed eventualmente intervenire sui danni del DNA, oppure controllare la progressione del ciclo cellulare. Nel checkpoint R (restrizione), a seguito della fase G1, la cellula può andare incontro a divisione e quindi proseguire nella fase S oppure uscire dal ciclo cellulare per entrare in uno stato di quiescenza, G0 [43].

Una volta terminato il loro ciclo vitale, le cellule possono andare incontro a morte cellulare. La morte cellulare può essere classificata in base al suo aspetto morfologico (ad esempio, apoptosi o necrosi), a criteri enzimologici (con e senza il coinvolgimento di nucleasi o di proteasi), ad aspetti funzionali (programmata o accidentale, fisiologica o patologica) o in base alle caratteristiche immunologiche (immunogena o non) [26]. Il termine "apoptosi", ad esempio, si utilizza per descrivere la situazione in cui una cellula persegue attivamente un percorso verso la morte sulla base della ricezione di determinati stimoli. In linea di massima, tre principali tipi di cambiamenti biochimici possono essere osservati durante l'apoptosi: 1) l'attivazione delle caspasi, che hanno il ruolo di rompere molte proteine cellulari vitali intaccandone la struttura nucleare e il citoscheletro, e sono anche in grado di attivare la DNAasi che degrada ulteriormente il DNA nucleare, 2) la rottura del DNA e delle proteine, 3) i cambiamenti della membrana e il riconoscimento da parte delle cellule fagocitiche [67].

Diversamente, in condizioni ambientali avverse (e.g., c'è un basso livello di ATP), la cellula può andare incontro ad una morte cellulare di tipo necrotico. La necrosi si caratterizza per: rigonfiamento cellulare, disfunzione (spesso associata a rigonfiamento e rottura) dei mitocondri, rottura della membrana e la fuoriuscita dei contenuti citoplasmatici nello spazio extracellulare, con conseguente lisi¹ della cellula. Contrariamente all'apoptosi, la necrosi non comporta l'attivazione della caspasi. L'induzione della necrosi avviene di solito in situazioni patologiche acute o accidentali (lesioni chimiche o fisiche) di danno cellulare [36].

¹ Si intende la demolizione e la dissoluzione di una cellula, causata dalla rottura della membrana cellulare.

1.2 La biologia del tumore

Un **tumore** (dal latino *tumor*, «rigonfiamento»), indica, in patologia, una massa anormale di tessuto che cresce in eccesso ed in modo scoordinato rispetto ai tessuti normali. La crescita incontrollata e scoordinata di un gruppo di cellule è determinata da alterazioni del loro proprio patrimonio genetico, ed è alla base di una vasta classe di malattie [69].

I tumori sono detti “solidi” o “liquidi” in base al loro sito di crescita all'interno del corpo. Più dell'80% dei tumori è causato dai tumori solidi che si sviluppano in una massa di cellule in particolari organi, tessuti o ghiandole. In contrasto, i tumori liquidi sviluppano nel flusso sanguigno e possono radicarsi in qualsiasi parte del corpo.

I tumori solidi si suddividono ulteriormente in carcinomi, sarcomi o linfomi, sulla base dei tipi cellulari coinvolti. Il *carcinoma* è un tumore maligno di origine epiteliale, e si suddivide in due principali sotto-categorie: adenocarcinoma, che si sviluppa in un organo o in una ghiandola, e il carcinoma a cellule squamose, che ha origine nell'epitelio squamoso[43]. Il *sarcoma* ha origine a partire da cellule del tessuto connettivo, e si suddivide in due categorie distinte, i tumori ossei maligni e i sarcomi dei tessuti molli [11]. I *linfomi* sono forme tumorali che sviluppano nelle ghiandole o nei nodi del sistema linfatico; tale sistema consiste in una rete di vasi, nodi, ed organi (in particolare la milza, le tonsille, e il timo) che purificano fluidi corporei e producono i globuli bianchi che combattono le infezioni.

I tumori liquidi si suddividono sostanzialmente in mielomi e leucemie. Il *mieloma* è un tumore che insorge nelle cellule del plasma del midollo osseo (cellule specializzate di tipo B che producono anticorpi che si attaccano agli agenti patogeni e li segnano per la distruzione) [55]. Le *leucemie* sono i tumori che nascono nelle cellule ematopoietiche che risiedono nel midollo osseo (il luogo dove avviene la produzione delle cellule del sangue).

1.2.1 Carcinogenesi

La **carcinogenesi** è un processo costituito da diversi stadi che si pensa scaturisca da mutazioni genetiche indotte da agenti fisici o chimici [21, 43]. Ogni successiva mutazione

promuove lo sviluppo di una cellula tumorale, permettendo così alla cellula stessa di clonarsi in maniera incontrollata [49]. Quindi, lo sviluppo del tumore può essere pensato come un'evoluzione Darwiniana su scala microscopica in cui ogni successiva generazione di cellule tumorali affina sempre più i modi per sfuggire ai processi cellulari fisiologici. Questo processo è noto come evoluzione clonale [48]. Se la cellula sopravvive e sfugge al meccanismo di riparazione del DNA, la cellula, e le sue discendenti, potrebbero nel tempo acquisire ulteriori mutazioni che le porterebbero ad ignorare i segnali di crescita inibitoria dalle cellule vicine, oltrepassando i controlli interni e i vari checkpoints e formando una colonia iperproliferativa di cellule anomale [43].

Tale processo di proliferazione incontrollata può essere diviso in tre stadi distinti: *iniziazione*, *promozione* e *progressione*. L'*iniziazione* è un evento irreversibile che avviene quando un agente chimico genotossico causa la mutazione del DNA [47]. Le mutazioni del DNA che si manifestano nelle cellule inizializzate possono conferire grossi vantaggi alla proliferazione perché permettono loro di evolvere e/o crescere più velocemente saltando i controlli di crescita delle cellule normali. Gli aspetti importanti coinvolti nell'*iniziazione* sono il metabolismo carcinogeno, la riparazione del DNA e la proliferazione cellulare.

La *promozione* è un processo reversibile in cui agenti chimici stimolano la proliferazione di cellule inizializzate. Tipicamente, gli agenti promotori non sono genotossici, ossia non sono capaci di formare addotti di DNA², o causare danni al DNA, ma sono capaci di stimolare la proliferazione cellulare. Quindi, l'esposizione agli agenti che promuovono il tumore risulta in una rapida crescita delle cellule inizializzate e porta all'eventuale formazione di tumori non invasivi [43].

La *progressione* si riferisce al processo di acquisizione di ulteriori mutazioni che portano a malignità e metastasi³. Molti agenti chimici possono portare alla progressione del tumore poiché, una volta assorbiti dalle cellule, vengono convertiti in metaboliti caricati positivamente che si legano ai gruppi caricati negativamente delle molecole come le proteine e gli acidi nucleici. Ciò porta alla formazione di addotti di mutazioni che

² Un addotto di DNA è un frammento di DNA covalentemente legato ad una sostanza chimica, in genere cancerogena.

³ Si definisce, con il termine metastasi, il trasferimento delle cellule maligne da un organo o da una sua parte ad un altro non direttamente collegato con esso.

permettono al tumore di crescere e invadere il tessuto circostante [44].

1.2.2 Basi genetiche della carcinogenesi

La carcinogenesi ha inizio, quindi, con il malfunzionamento di uno o più tipi di geni, in particolare quelli legati alla proliferazione cellulare: i *geni cancerogeni* ed i *geni inibitori della crescita cellulare*. I geni cancerogeni rispondono o inducono segnali di crescita e promuovono la progressione nel ciclo cellulare. I geni che regolano la proliferazione delle cellule, noti anche come inibitori della crescita cellulare (TSGs) rispondono a segnali inibitori, ritardano o sopprimono il ciclo cellulare, assicurando la riparazione del DNA, e possono innescare l'apoptosi in certe circostanze. Le mutazioni genetiche possono causare iperattività negli oncogeni e danneggiare la funzione dei geni oncosoppressori. Spesso, un singolo tratto della mutazione è sufficiente ad influire sulla funzionalità di un oncogene o neutralizzare un gene oncosoppressore [21].

L'espressione genica è essenziale per mantenere la corretta funzione cellulare, ed è controllata da recettori superficiali delle cellule a seguito dell'attivazione di alcuni segnali da parte di determinati fattori. La cellula integra queste informazioni con le sue caratteristiche genetiche e proteomiche usando una complessa rete di segnali, tra i quali i segnali *E-caderina/β-catenina*. L'E-caderina, usando la β-catenina come una proteina adattatrice, gioca un ruolo di segnalazione, inibendo la progressione del ciclo cellulare quando questa aderisce fisicamente alle cellule epiteliali [21].

Gli **oncogeni** derivano da normali geni ospite, chiamati anche protooncogeni, che vengono de-regolati a seguito di una mutazione; contribuiscono al processo di trasformazione e aumentano le possibilità che lo sviluppo (proliferazione e differenziamento) di una cellula si diriga in senso tumorale [43]. Di seguito, una descrizione degli oncogeni più rilevanti in ambito biologico tumorale.

➤ Fattori di crescita

La crescita e la proliferazione cellulare sono soggetti alla regolazione di segnali esterni che sono tipicamente trasmessi nella cellula sotto forma di *fattori di crescita*, che si legano alla

cellula e che attivano specifici recettori. Nelle cellule normali e nei tessuti, i fattori di crescita sono prodotti da un solo tipo cellulare che agisce poi sulle altre cellule: si tratta della stimolazione *paracrina*. Tuttavia, molte cellule cancerogene possono secernere i propri fattori di crescita così come possono esprimere i recettori che sono stimolati dagli stessi: si parla pertanto di stimolazione *autocrina* [43].

➤ **Proteine G**

Le *proteine G* sono un sottogruppo di una superfamiglia di GTPasi, enzimi fondamentali per la segnalazione intracellulare che legano specifici recettori proteici inseriti nella membrana plasmatica. Una famiglia caratteristica appartenente a questa classe proteica è la famiglia delle proteine *Ras* (il nome *Ras* è anche usato per riferirsi alla famiglia di geni che codificano per queste proteine) [43]. Quando i geni *Ras* sono soggetti a mutazioni possono produrre proteine *Ras* permanentemente attive. Un segnale *Ras* iperattivo può portare all'insorgere del cancro: l'oncogene *Ras* è, infatti, il più comune nei tumori umani.

➤ **Fattori di trascrizione**

I *fattori di trascrizione* rappresentano un'altra classe di oncogeni, hanno il compito di codificare le proteine nucleari. Due esempi di questa classe di oncogeni sono AP-1 e *myc*. AP-1 ha svariate funzioni all'interno della cellula, incluse la promozione della proliferazione cellulare e la metastasi. La famiglia dei geni *myc*, codifica fattori di trascrizione che regolano la crescita e l'entrata nel ciclo cellulare [42].

Al contrario degli oncogeni, i **geni oncosoppressori** possono direttamente o indirettamente inibire la crescita cellulare. Quelli che inibiscono direttamente la crescita cellulare o promuovono la morte cellulare sono noti come *gatekeepers* e la loro attività è la limitazione della proliferazione delle cellule tumorali [43]. Quei geni oncosoppressori che non sopprimono la proliferazione in modo diretto ma funzionano per promuovere la stabilità genetica sono noti come *caretakers*. L'eliminazione di questi geni può, tuttavia, accelerare la progressione del tumore [43].

➤ **Oncosoppressore p53**

L'*oncosoppressore p53* è una proteina che funziona come fattore di trascrizione e che, quando attivata, stimola l'espressione di vari effettori che determinano l'arresto della crescita, promuovono la riparazione del DNA, e stimolano la morte cellulare per apoptosi. L'eliminazione della funzione del p53 porta ad un aumento di velocità nelle mutazioni e resistenza all'apoptosi [59]. La proteina p53 può essere divisa in tre domini strutturali essenziali per la funzione di oncosoppressore. L'estremità N-terminale consiste in un dominio di transattivazione che interagisce con vari fattori di trascrizione e proteine cellulari e virali che modificano la sua funzione. Il dominio centrale contiene la specifica sequenza di DNA di attività di legame. L'estremità C-terminale consta di varie attività tra cui l'attività di legame non specifica per il DNA [59].

1.2.3 Crescita di un tumore solido avascolare

Fin qui, lo studio sulla natura del tumore si è basato su un approccio a livello microscopico, andando ad investigarne le peculiarità strutturali e morfologiche. D'altra parte, tale studio non è sufficiente per avere una visione globale delle dinamiche biologiche in gioco. Perciò bisogna corredarlo con un approccio a carattere macroscopico in cui è possibile valutare la crescita del tumore a partire dalle prime fasi del suo sviluppo. Infatti il tumore non ha un proprio sistema vascolare e sfrutta la vascolatura del tessuto ospite per assorbire ossigeno, nutrienti e fattori di crescita [21]. Le cellule tumorali più interne vanno incontro all'ipossia; andando più in profondità, i livelli di ossigeno e glucosio scendono criticamente a livelli tanto bassi da causare la necrosi delle cellule. Queste dinamiche si manifestano fisicamente con un bordo di tumore esterno formato da cellule proliferanti, un gruppo più interno di cellule ipossiche, e un nucleo centrale necrotico. Prima della formazione del nucleo necrotico, la proliferazione attraverso il tumore causa un flusso di cellule verso l'esterno che espande il tumore stesso. Allo stesso tempo, le cellule proliferanti del tumore assorbono fluido dall'interstizio per agevolare la crescita e l'eventuale divisione; si ha così un flusso fluido all'interno del tumore. Una volta che il nucleo necrotico si è formato, la lisi della cellula riduce il volume cellulare del tumore e

rilascia del fluido che fuoriesce dal nucleo necrotico ed entra nell'interstizio. La successiva riduzione di pressione meccanica nel nucleo necrotico indirizza alcune cellule del flusso esterno verso l'interno del tumore. Man mano che il tumore si accresce, e il volume del suo nucleo necrotico aumenta, il flusso cellulare che deriva dalla proliferazione si bilancia con il flusso di fluido derivante dalla necrosi: questo da origine ad un tumore sferoidale allo stato di equilibrio [21].

1.3 Hallmarks del tumore

Da quanto descritto finora, le cellule tumorali differiscono dalle normali in quanto caratterizzate da una crescita incontrollata. Sono stati indirizzati, quindi, notevoli sforzi nell'identificazione delle caratteristiche fenotipiche di cellule trasformate in vitro e cellule tumorali derivate in vivo. Si è così ottenuta una lista di proprietà peculiari delle cellule tumorali che descrive l'insieme dei comportamenti osservati nelle cellule neoplastiche [43]. A tal proposito, sono state classificate dieci caratteristiche del cancro, distintive e complementari, che verranno discusse in maggiore dettaglio nei paragrafi successivi (Fig. 1.2).

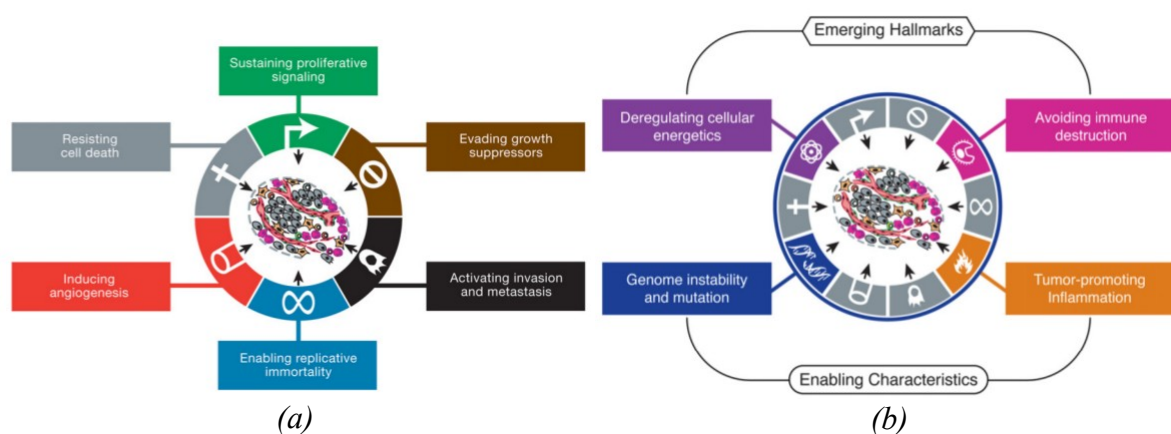


Fig. 1.2. (a) Le sei caratteristiche del cancro identificate nel 2000 [31]; (b) le quattro nuove caratteristiche identificate nel 2011 [31].

1.3.1 Immortalità

È generalmente riconosciuto che le cellule tumorali richiedono un notevole potenziale replicativo per generare tumori macroscopici. Questa capacità contrasta nettamente con il comportamento delle cellule nella maggior parte delle linee cellulari normali del corpo, che sono in grado di passare attraverso un numero limitato di cicli successivi di crescita e divisione cellulare. Questa limitazione è stata associata a due barriere distinte di proliferazione: l'invecchiamento cellulare (*senescenza*), un ingresso tipicamente irreversibile in uno stato non proliferativo ma vitale, e l'apoptosi. Di conseguenza, quando le cellule si riproducono in vitro, ripetuti cicli di divisione cellulare portano prima all'induzione della senescenza e poi, per quelle cellule che riescono ad aggirare questo ostacolo, ad una fase di apoptosi, in cui la grande maggioranza delle cellule nella popolazione muore. In rare occasioni le cellule bypassano l'apoptosi mostrando un notevole potenziale replicativo. Questo passaggio è stato definito immortalizzazione [8, 58].

1.3.2 Proliferazione incontrollata

Le cellule tumorali devono aggirare complessi meccanismi di controllo della proliferazione cellulare, molti dei quali dipendono dalle azioni dei geni oncosoppressori. Il soppressore tumorale preso come esempio esplicativo codifica la proteina p53, che opera come nodo di controllo centrale all'interno del circuito regolatore cellulare complementare. Tale circuito regola le decisioni delle cellule a proliferare o, in alternativa, attiva la senescenza e i programmi apoptotici [59]. La proteina p53 riceve input dai sensori che funzionano all'interno dei sistemi operativi intracellulari della cellula: se il grado del danno al genoma è eccessivo, o se i livelli del nucleotide e dei segnali che favoriscono la crescita, non sono ottimali, allora la proteina p53 può porre fine alla progressione del ciclo cellulare fino a quando queste condizioni non riprendono i livelli ottimali.

1.3.3 Invasione e metastasi

Il processo a più fasi di invasione e metastasi è schematizzato come una sequenza di passi discreti, spesso definita la *cascata di invasione-metastasi* [61]. Questo processo prevede una successione di alterazioni della fisiologia cellulare che inizia con l'intravasazione delle cellule tumorali nei vasi sanguigni e linfatici vicini, segue una fuoriuscita di cellule tumorali dal lume di tali vasi nel parenchima dei tessuti distanti (extravasazione), la formazione di piccoli noduli (micrometastasi), e, infine, la crescita delle microlesioni metastatiche in tumori distanti. Un meccanismo denominato "transizione epitelio-mesenchimale" (EMT), è un mezzo conosciuto attraverso il quale le cellule epiteliali trasformate sono in grado di acquisire le capacità di invadere e diffondere [39, 51, 63]. L'EMT può essere attivato transitoriamente o stabilmente, e in misura diversa, da cellule tumorali nel corso di invasione e metastasi. Il ruolo dei segnali che inducono una capacità di crescita invasiva (spesso attraverso un EMT) implica la possibilità di reversibilità, in quanto le cellule del carcinoma primario che hanno subito un EMT durante l'invasione iniziale e la diffusione metastatica possono passare attraverso il processo inverso, definito come transizione mesenchimale-epiteliale (MET). Questa plasticità può comportare la formazione di nuove colonie tumorali di cellule del carcinoma presentando una istopatologia simile a quella delle cellule di carcinoma del tumore primario che non ha subito un EMT [34].

1.3.4 Resistenza all'apoptosi

Vari studi sui circuiti di segnalazione che regolano l'apoptosi hanno rivelato come questa venga attivata in risposta a vari stress fisiologici che le cellule tumorali sperimentano nel corso della tumorigenesi o come risultato di terapia antitumorale [2, 40].

Il macchinario apoptotico è composto sia da regolatori a monte che da componenti effettori a valle. I regolatori, a loro volta, sono suddivisi in due circuiti principali, uno riceve ed elabora segnali extracellulari che inducono la morte (programma apoptotico estrinseco), e l'altro rileva e integra una varietà di segnali di origine intracellulare (programma apoptotico intrinseco). Ognuno culmina nell'attivazione di una proteasi normalmente latente (caspasi 8

e 9, rispettivamente), che procede per avviare una cascata di proteolisi che coinvolge caspasi effettrici responsabili per la fase di esecuzione dell'apoptosi, in cui la cellula viene progressivamente smontata e poi consumata, sia dalle cellule vicine che da fagociti [2].

1.3.5 Blocco dei geni oncosoppressori

Una caratteristica delle cellule tumorali è l'instabilità genetica che si manifesta a livello cromosomico nell'aneuploidia (la perdita o il guadagno di uno o più specifici cromosomi) o nella poliploidia (l'accumulo di un intero set extra di cromosomi). L'acquisizione di cromosomi extra è un meccanismo in cui le copie extra di un gene promotore della crescita possono essere acquisite dalle cellule cancerogene, dando loro un vantaggio selettivo sulla crescita. Le traslocazioni e gli inserimenti casuali di materiale genetico di un cromosoma all'interno di un altro possono ravvicinare geni distanti portando all'espressione di un gene anomalo. In condizioni fisiologiche, tutto il DNA all'interno della cellula è replicato in modo uniforme e solo una volta per ciclo cellulare. Invece nelle cellule cancerogene alcune regioni di un cromosoma possono andare incontro a cicli multipli di replicazione cosicché si ottengono più copie di un geni promotori della crescita. Le mutazioni possono manifestarsi come conseguenza dei difetti nella riparazione del DNA oppure nella diminuzione della fedeltà durante la replicazione del DNA [9, 19].

1.3.6 Angiogenesi

Come nei tessuti normali, i tumori richiedono sostentamento sotto forma di nutrienti e ossigeno, nonché una capacità di eliminare i rifiuti metabolici e anidride carbonica. Non appena il tumore cresce in dimensioni, i livelli di ossigeno intratumorale diminuiscono e il centro della massa tumorale diventa ipossica, portando ad una regolazione del fattore inducibile dell'ipossia (HIF1). Un importante target di trascrizione del HIF1 è il fattore di crescita VEGF, il quale induce una neovascolarizzazione dei tumori e permette loro di crescere oltre i limiti dimensionali imposti dalla diffusione dell'ossigeno [30]. La neovascolarizzazione tumorale è caratterizzata da una germinazione capillare precoce, da

una contorta ed eccessiva ramificazione dei vasi, che crescono distorti e dilatati, da un irregolare flusso di sangue, microemorragie, da livelli anormali di proliferazione delle cellule endoteliali e dall'apoptosi [45]. Il VEGF è presente in quasi tutti i tipi di tumori umani ed ha un'elevata concentrazione intorno i vasi sanguigni tumorali e le regioni ipossiche. I recettori VEGF si trovano nei vasi sanguigni all'interno o vicino il tumore.

1.3.7 Instabilità genomica

L'acquisizione delle molteplici caratteristiche precedentemente elencate dipende in gran parte da una serie di alterazioni nel genoma delle cellule neoplastiche. Alcuni genotipi mutanti conferiscono un vantaggio selettivo ai cloni delle cellule, di conseguenza la progressione del tumore può essere rappresentata come una successione di espansioni clonali, ognuna delle quali è innescata con la possibilità di abilitare un genotipo mutante. Nel corso di acquisizione del ruolo dei geni mutanti necessari per regolare la tumorigenesi, le cellule tumorali spesso aumentano le velocità di mutazione [46, 57]. Questa mutevolezza è ottenuta grazie ad una maggiore sensibilità agli agenti mutogeni; inoltre, l'accumulo di mutazioni può essere accelerato compromettendo i sistemi di sorveglianza che normalmente controllano l'integrità genomica e costringono le cellule geneticamente danneggiate in senescenza o apoptosi [35, 60].

1.3.8 Infiammazione

Storicamente, le risposte immunitarie sono state in gran parte pensate come il tentativo da parte del sistema immunitario di debellare i tumori. In effetti, vi è una corrispondenza tra le risposte infiammatorie e molti tipi di tumore [20, 24, 54].

L'infiammazione può contribuire alle capacità caratteristiche fornendo molecole bioattive al microambiente tumorale, tra cui fattori di crescita che sostengono la segnalazione proliferativa, fattori di sopravvivenza che limitano la morte delle cellule, fattori pro-angiogenici, enzimi di modifica della matrice extracellulare che favoriscono l'angiogenesi, invasione e metastasi, e segnali induttivi che portano all'attivazione di EMT [24, 54, 38].

È importante sottolineare che l'infiammazione è in alcuni casi evidente nelle prime fasi

della progressione neoplastica ed è in grado di favorire lo sviluppo di neoplasie [23, 54].

1.3.9 Metabolismo energetico

La proliferazione delle cellule, cronica e spesso incontrollata, coinvolge non solo il controllo della proliferazione cellulare ma anche corrispondenti adeguamenti del metabolismo energetico, al fine di alimentare la crescita e la divisione cellulare [43]. Otto Warburg fu il primo a osservare una caratteristica anomala del metabolismo energetico cellula tumorale [65]: anche in presenza di ossigeno, le cellule tumorali possono riprogrammare il metabolismo del glucosio, e quindi la loro produzione di energia, limitando il loro metabolismo energetico per gran parte alla glicolisi, portando ad uno stato che è stato definito “glicolisi aerobica” [37]. Inoltre, pare che l'ossigenazione, che va da normossia all'ipossia, non sia necessariamente statica nei tumori ma oscilla nel tempo e nello spazio, probabilmente a causa della instabilità e dell'organizzazione caotica della neovascolarizzazione associata al tumore [32].

1.3.10 Inibizione delle difese immunitarie

Fisiologicamente le cellule e i tessuti sono costantemente monitorati da un sistema immunitario sempre vigile, e tale sorveglianza immunitaria è responsabile del riconoscimento e dell'eliminazione della maggior parte delle cellule tumorali [43]. Il ruolo del controllo immunologico difettoso dei tumori sembra essere associato ai notevoli aumenti di alcuni tipi di cancro in soggetti immunocompromessi [64]. Tuttavia, la grande maggioranza di questi sono tumori indotti da virus, e ciò suggerisce che gran parte del controllo di questa classe di tumori normalmente dipende dalla riduzione del virus in individui infetti. Negli ultimi anni, tuttavia, un numero crescente di prove suggerisce che il sistema immunitario funziona come una barriera alla formazione e la progressione tumorale, almeno in alcune forme di cancro non indotte da virus [62].

Capitolo 2

Nozioni preliminari di meccanica dei continui

Il metodo della meccanica dei continui fornisce un mezzo potente ed efficace per descrivere con successo i fenomeni fisici senza necessitare di un'approfondita conoscenza della complessità della loro microstruttura [33].

Oggetto di studio della meccanica dei continui sono:

- i. lo studio del movimento e della deformazione (cinematica);
- ii. lo studio degli sforzi in un continuo;
- iii. la descrizione matematica delle leggi fondamentali della fisica che governano il movimento del continuo.

Di seguito verranno introdotte alcune notazioni base fondamentali [33] per la comprensione dei modelli meccanici a singola fase (che verranno descritti nel capitolo successivo).

2.1 Concetti base

L'assunzione fondamentale della teoria dei continui è considerare il corpo in esame, denominato con \mathcal{B} , come una continua distribuzione di materia in tempo e spazio. Nello studio del continuo ci si approccia a considerare massa e volume del corpo come funzioni continue e si parla quindi di corpo continuo. Gli approcci matematici per descrivere la natura di questo problema sono due: la *descrizione materiale* e quella *spaziale*.

Con la prima ci si riferisce alla descrizione Lagrangiana, rispetto alle coordinate materiali (X_1, X_2, X_3) e al tempo t , e si pone l'attenzione alla particella continua durante il suo movimento. Con la seconda ci si riferisce alla descrizione Euleriana, rispetto alle coordinate spaziali (x_1, x_2, x_3) e al tempo t , e si studia cosa accade in un punto dello spazio al variare del tempo. Nel seguito si consideri un corpo continuo \mathcal{B} con particella continua

$P \in \mathcal{B}$ in uno spazio Euclideo tridimensionale ad un istante di tempo t . Si introduce un sistema di riferimento dato dalle basi dei vettori ortonormali \mathbf{e}_a con $a=1, 2, 3$.

Quando il corpo \mathcal{B} si muove nello spazio da un istante di tempo ad un altro occupa una sequenza continua di regioni geometriche denominate Ω_0, \dots, Ω . Le regioni occupate dal corpo continuo \mathcal{B} ad un tempo t sono note come *configurazioni* di \mathcal{B} al tempo t : il corpo continuo \mathcal{B} può quindi avere infinite configurazioni nello spazio. La regione Ω_0 relativa al tempo $t=0$ è denominata configurazione di riferimento del corpo \mathcal{B} o **configurazione iniziale**. Ad ogni particella $P \in \mathcal{B}$ al tempo $t=0$, può essere associato un vettore di posizione (o posizione di riferimento) \mathbf{X} relativo all'origine fissata O . La configurazione di \mathcal{B} al tempo t è chiamata **configurazione corrente** (o **deformata**). Il punto \mathbf{x} ha la posizione di una particella occupata da $P \in \mathcal{B}$ a $t > 0$, e P può essere identificato dal vettore di posizione (o posizione di riferimento) \mathbf{x} del punto \mathbf{x} relativo all'origine fissata O .

Le componenti dei vettori $\mathbf{X} = X_A \mathbf{e}_A$ e $\mathbf{x} = x_a \mathbf{e}_a$ appartengono agli assi introdotti. Si identificano con X_A le coordinate materiali (o di riferimento) del punto \mathbf{X} e con x_a le coordinate spaziali (o correnti) del punto \mathbf{x} .

Per studiare il *moto* del corpo, si assuma che la mappa $\mathbf{X} = \mathbf{k}_0(P, t)$ individua una corrispondenza biunivoca tra una particella $P \in \mathcal{B}$ e il punto $\mathbf{X} \in \Omega_0$ che \mathcal{B} occupa ad un istante di tempo $t=0$, come mostrato in Fig. 2.1(a).

La posizione $\mathbf{x} = \mathbf{k}(P, t)$ che la particella P occupa al tempo t è descritta dalla relazione:

$$\mathbf{x} = \mathbf{k}(\mathbf{k}_0^{-1}(\mathbf{X}, t)) = \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t), \quad \text{ossia} \quad x_a = \chi_a(X_1, X_2, X_3, t) \quad \forall \mathbf{X} \in \Omega_0 \quad (2.1)$$

in cui $\boldsymbol{\chi} = \chi_a \mathbf{e}_a$ è un campo vettoriale che specifica la posizione \mathbf{x} di \mathbf{X} per ogni t fissato, ed è chiamato **moto del corpo \mathcal{B}** .

Tutti i successivi punti individuati dal moto del corpo \mathcal{B} formano una curva nello spazio Euclideo denominata **traiettoria della particella P** .

Il moto $\boldsymbol{\chi}$ è invertibile, pertanto la posizione del punto \mathbf{X} , associata alla posizione \mathbf{x} al tempo t , è data da:

$$\mathbf{X} = \boldsymbol{\chi}^{-1}(\mathbf{x}, t), \quad \text{ossia} \quad X_a = \chi_a^{-1}(x_1, x_2, x_3, t) \quad (2.2)$$

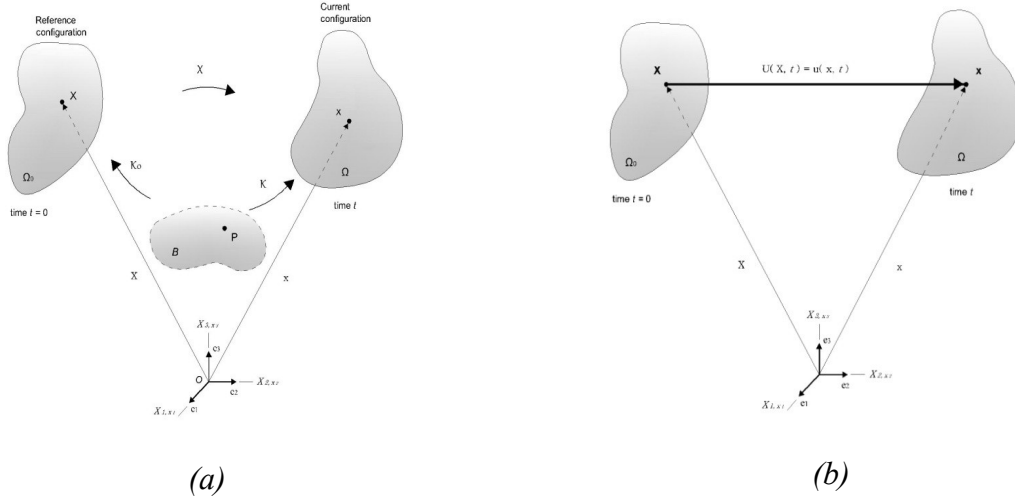


Fig. 2.1. (a) Configurazione e moto di un corpo continuo; (b) campo di spostamento \mathbf{U} di una particella [33].

Il campo vettoriale:

$$\mathbf{U}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{x}(\mathbf{X}, t) - \mathbf{X} \quad (2.3)$$

rappresenta il *campo di spostamento* di una particella del corpo e mette in relazione la sua posizione \mathbf{X} nella configurazione di riferimento alla sua posizione \mathbf{x} nella configurazione corrente al tempo t (Fig. 2.1(b)).

Il campo di spostamento \mathbf{U} è una funzione della posizione di riferimento \mathbf{X} e il tempo t , che caratterizza la descrizione materiale del campo di spostamento. Analogamente, il campo di spostamento nella descrizione spaziale, denotato con \mathbf{u} , è una funzione della posizione corrente \mathbf{x} e del tempo t :

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}, t) = \mathbf{x} - \mathbf{X}(\mathbf{x}, t) \quad (2.4)$$

Le equazioni (2.3) e (2.4) sono legate dalla relazione $\mathbf{U}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{U}[\boldsymbol{\chi}^{-1}(\mathbf{x}, t), t] = \mathbf{u}(\mathbf{x}, t)$.

Una volta introdotti i concetti di moto e di spostamento, si possono definire i campi di velocità ed accelerazione. La velocità e l'accelerazione di un punto \mathbf{X} al tempo t si possono calcolare rispettivamente come:

$$\mathbf{V}(\mathbf{X}, t) = \partial \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t) / \partial t, \quad \mathbf{A}(\mathbf{X}, t) = \partial^2 \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t) / \partial t^2 \quad (2.5)$$

Dove $\mathbf{V}(\mathbf{X}, t)$ e $\mathbf{A}(\mathbf{X}, t)$ rappresentano la descrizione materiale del campo di velocità e di

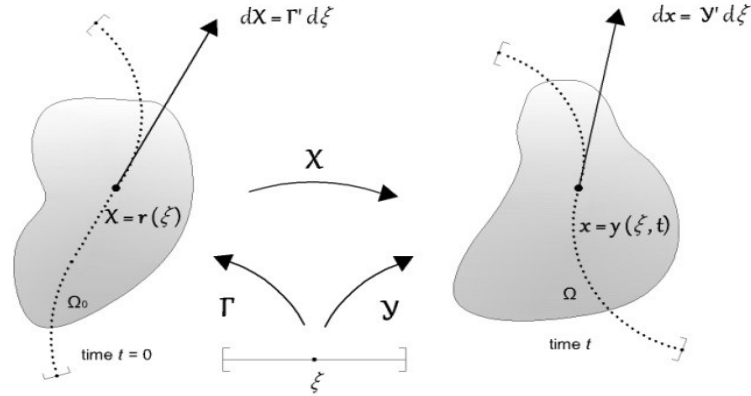


Fig. 2.2. Deformazione di una curva materiale $\Gamma \subset \Omega_0$ in una curva spaziale $\gamma \subset \Omega$ [33].

accelerazione, rispettivamente. Attraverso il moto χ è possibile ottenere la descrizione spaziale del *campo di velocità* e di *accelerazione*:

$$\mathbf{V}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{V}[\chi^{-1}(\mathbf{x}, t), t] = \mathbf{v}(\mathbf{x}, t), \quad \mathbf{A}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{A}[\chi^{-1}(\mathbf{x}, t), t] = \mathbf{a}(\mathbf{x}, t) \quad (2.6)$$

Si consideri una curva materiale $\mathbf{X} = \Gamma(\xi) \subset \Omega_0$. Tale curva è associata alla configurazione di riferimento Ω_0 del corpo continuo; quindi la curva materiale non è una funzione del tempo t (Fig. 2.2).

Durante il moto χ la curva materiale si deforma nella curva spaziale $\mathbf{x} = \gamma(\xi) \subset \Omega$ al tempo t . La curva spaziale al tempo t fissato è definita dalla seguente equazione parametrica:

$$\mathbf{x} = \boldsymbol{\gamma}(\xi, t) = \boldsymbol{\chi}(\Gamma(\xi), t) \quad (2.7)$$

Si indica il vettore spaziale tangente alla curva spaziale come $d\mathbf{x}$ e il vettore materiale tangente alla curva materiale come $d\mathbf{X}$:

$$d\mathbf{x} = \boldsymbol{\gamma}'(\xi, t) d\xi \quad d\mathbf{X} = \Gamma'(\xi) d\xi \quad (2.8)$$

A partire dalla (2.7) e dalla (2.8) si ottiene la seguente relazione fondamentale:

$$d\mathbf{x} = \mathbf{F}(\mathbf{X}, t) d\mathbf{X} \quad (2.9)$$

dove:

$$\mathbf{F}(\mathbf{X}, t) = \frac{\partial \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t)}{\partial \mathbf{X}} = \text{Grad } \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t) \quad (2.10)$$

La quantità \mathbf{F} è fondamentale nella meccanica dei continui ed è denominata **gradiente di deformazione**. Si suppone inoltre che la derivata del moto inverso $\boldsymbol{\chi}^{-1}$ rispetto alla posizione corrente \mathbf{x} di un punto materiale esiste, pertanto si pone:

$$\mathbf{F}^{-1}(\mathbf{x}, t) = \frac{\partial \boldsymbol{\chi}^{-1}(\mathbf{x}, t)}{\partial \mathbf{x}} = \text{grad } \boldsymbol{\chi}^{-1}(\mathbf{x}, t) \quad (2.11)$$

dove il tensore \mathbf{F}^{-1} è l'inverso del gradiente di deformazione.

Il determinante di \mathbf{F} o determinante Jacobiano $J(\mathbf{X}, t) = \det \mathbf{F}(\mathbf{X}, t)$ è legato al cambiamento in volume tra la configurazione di riferimento e quella corrente, $dv = d\mathbf{s} \cdot \mathbf{x} d\mathbf{x} = J d\mathbf{S} \cdot \mathbf{X}$. Per mezzo della (2.9) si ricava:

$$\underbrace{(\mathbf{F}^T d\mathbf{s} - J d\mathbf{S})}_0 \cdot d\mathbf{X} = 0 \quad (2.12)$$

Essendo il termine tra parentesi nullo, si ottiene:

$$d\mathbf{s} = J \mathbf{F}^{-T} d\mathbf{S} \quad (2.13)$$

equazione nota come **formula di Nanson**, la quale esprime la trasformazione subita da un elemento orientato di superficie di area $d\mathbf{S}$ nella configurazione indeformata e di area $d\mathbf{s}$ nella configurazione deformata.

Si considerino due punti ravvicinati nella regione Ω_0 , \mathbf{X} e \mathbf{Y} , e si consideri la variazione di distanza tra tali punti durante il cambiamento di configurazione da $t=0$ a t (Fig. 2.3).

La geometria nella configurazione di riferimento è descritta da:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X} + d\mathbf{X} = \mathbf{X} + d\varepsilon \mathbf{a}_0 \quad (2.14)$$

dove $d\varepsilon = |\mathbf{Y} - \mathbf{X}|$ e $\mathbf{a}_0 = \frac{\mathbf{Y} - \mathbf{X}}{|\mathbf{Y} - \mathbf{X}|}$ con \mathbf{a}_0 il versore normale nella direzione che congiunge \mathbf{X} ad \mathbf{Y} . Si consideri la posizione corrente di \mathbf{y} :

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\chi}(\mathbf{Y}, t) = \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X} + d\varepsilon \mathbf{a}_0, t) = \boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t) + d\varepsilon \mathbf{F}(\mathbf{X}, t) \mathbf{a}_0 + o(\mathbf{Y} - \mathbf{X}) \quad (2.15)$$

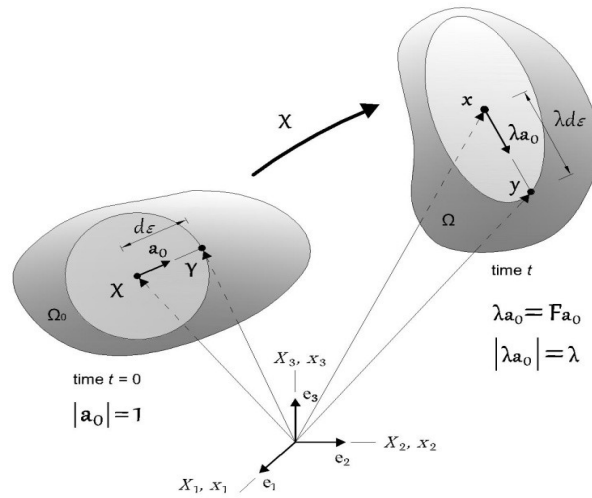


Fig. 2.3. Deformazione di un elemento materiale con lunghezza $d\varepsilon$ in un elemento spaziale con lunghezza $\lambda d\varepsilon$ [33].

dove il simbolo di Landau $o(\mathbf{Y}-\mathbf{X})$ si riferisce ad un piccolo errore che tende a zero più velocemente di $\mathbf{Y}-\mathbf{X} \rightarrow 0$. Quindi:

$$\mathbf{y} - \mathbf{x} = d\varepsilon \mathbf{F}(\mathbf{X}, t) \mathbf{a}_0 + o(\mathbf{Y} - \mathbf{X}) = \mathbf{F}(\mathbf{X}, t)(\mathbf{Y} - \mathbf{X}) + o(\mathbf{Y} - \mathbf{X}) \quad (2.16)$$

mostra chiaramente che il termine $\mathbf{F}(\mathbf{X}, t)(\mathbf{Y}, t)$ approssima linearmente il moto relativo $\mathbf{y}-\mathbf{x}$. Più \mathbf{Y} si avvicina a \mathbf{X} migliore è l'approssimazione, più piccola è la quantità $d\varepsilon = |\mathbf{Y} - \mathbf{X}|$.

Si definisce ora il **vettore di allungamento** $\lambda_{\mathbf{a}_0}$ in direzione del vettore unitario \mathbf{a}_0 in $\mathbf{X} \in \Omega_0$, cioè $\lambda_{\mathbf{a}_0}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{F}(\mathbf{X}, t) \mathbf{a}_0$.

La distanza tra i due punti \mathbf{x} e \mathbf{y} è:

$$|\mathbf{y} - \mathbf{x}| = [(\mathbf{y} - \mathbf{x}) \cdot (\mathbf{y} - \mathbf{x})]^{1/2} = (\lambda_{\mathbf{a}_0} \cdot \lambda_{\mathbf{a}_0})^{1/2} d\varepsilon = \lambda d\varepsilon, \quad \lambda = |\lambda_{\mathbf{a}_0}| \quad (2.17)$$

Il quadrato di λ si può esprimere come:

$$\lambda^2 = \lambda_{\mathbf{a}_0} \cdot \lambda_{\mathbf{a}_0} = \mathbf{F} \mathbf{a}_0 \cdot \mathbf{F} \mathbf{a}_0 = \mathbf{a}_0 \cdot \mathbf{F}^T \mathbf{F} \mathbf{a}_0 = \mathbf{a}_0 \cdot \mathbf{C} \mathbf{a}_0 \quad (2.18)$$

attraverso l'introduzione del **tensore di deformazione di Cauchy-Green destro**, $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$.

Sapendo che \mathbf{C} è definito simmetrico e positivo per ogni $\mathbf{X} \in \Omega_0$ ha:

$$\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F} = (\mathbf{F}^T \mathbf{F})^T = \mathbf{C}^T \quad \text{e} \quad \mathbf{u} \cdot \mathbf{C} \mathbf{u} > 0 \quad \forall \mathbf{u} \neq \mathbf{0} \quad (2.19)$$

Il **tensore di deformazione di Piola**, indicato con \mathbf{B} , è definito come l'inverso del tensore di Cauchy-Green, cioè $\mathbf{B} = \mathbf{C}^{-1}$ con $\mathbf{C}^{-1} = (\mathbf{F}^T \mathbf{F})^{-1} = \mathbf{F}^{-1} \mathbf{F}^{-T}$.

Come ulteriore misura della deformazione si può definire la **variazione di lunghezza quadratica**, vale a dire $(\lambda d\varepsilon)^2 - d\varepsilon^2$:

$$\frac{1}{2} [(\lambda d\varepsilon)^2 - d\varepsilon^2] = \frac{1}{2} [(d\varepsilon \mathbf{a}_0) \cdot \mathbf{F}^T \mathbf{F} (d\varepsilon \mathbf{a}_0) - d\varepsilon^2] = d\mathbf{X} \cdot \mathbf{E} d\mathbf{X} \quad (2.20)$$

dove $\mathbf{E} = \frac{1}{2} (\mathbf{F}^T \mathbf{F} - \mathbf{I})$ è il **tensore di strain di Green—St-Venant**.

Poiché \mathbf{I} e \mathbf{C} sono simmetrici, allora $\mathbf{E} = \mathbf{E}^T$.

In definitiva, i tensori \mathbf{C} , \mathbf{E} e i loro inversi rappresentano i tensori di deformazione del materiale.

Considerando la formulazione spaziale, si può definire la configurazione corrente (Fig. 2.4) come:

$$\mathbf{y} = \mathbf{x} + d\mathbf{x} = \mathbf{x} + d\tilde{\varepsilon} \mathbf{a} \quad (2.21)$$

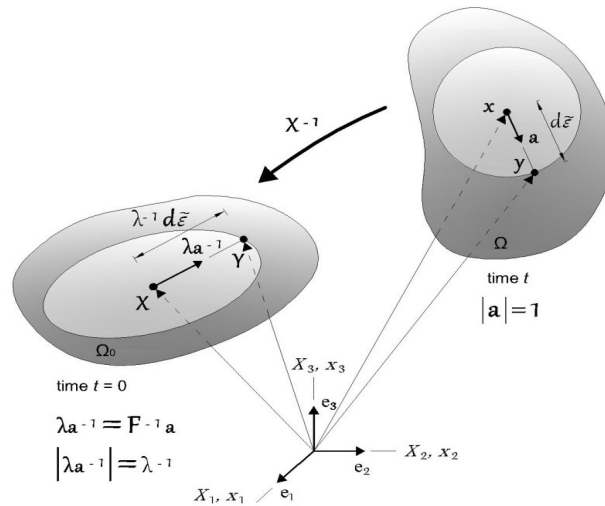


Fig. 2.4. Deformazione di un elemento spaziale con lunghezza $d\varepsilon$ in un elemento materiale con lunghezza $\lambda^{-1}d\varepsilon$ [33].

dove $d\tilde{\varepsilon}=|\mathbf{y}-\mathbf{x}|$ e $\mathbf{a}=\frac{\mathbf{y}-\mathbf{x}}{|\mathbf{y}-\mathbf{x}|}$.

Il vettore di posizione $\mathbf{Y}\in\Omega_0$, descritto dal moto inverso $\chi^{-1}(\mathbf{y}, t)$, è espresso come:

$$\mathbf{Y}=\chi^{-1}(\mathbf{y}, t)=\chi^{-1}(\mathbf{x}+d\tilde{\varepsilon}\mathbf{a}, t)=\chi^{-1}(\mathbf{x}, t)+d\tilde{\varepsilon}\mathbf{F}^{-1}(\mathbf{x}, t)\mathbf{a}+o(\mathbf{y}-\mathbf{x}) \quad (2.22)$$

In modo analogo alla trattazione precedente, si definisce il vettore di allungamento $\lambda_{\mathbf{a}}$ in direzione del vettore unitario \mathbf{a} in $\mathbf{x}\in\Omega$, $\lambda_{\mathbf{a}}^{-1}(\mathbf{x}, t)=\mathbf{F}^{-1}(\mathbf{x}, t)\mathbf{a}$. La distanza tra i punti \mathbf{X} e \mathbf{Y} è:

$$|\mathbf{Y}-\mathbf{X}|=[(\mathbf{Y}-\mathbf{X})\cdot(\mathbf{Y}-\mathbf{X})]^{1/2}=(\lambda_{\mathbf{a}}^{-1}\cdot\lambda_{\mathbf{a}}^{-1})^{1/2}d\tilde{\varepsilon}=\lambda^{-1}d\tilde{\varepsilon}, \quad \lambda^{-1}=|\lambda_{\mathbf{a}}^{-1}| \quad (2.23)$$

Il quadrato di λ^{-1} è ottenuto grazie alla seguente relazione:

$$\lambda^{-2}=\lambda_{\mathbf{a}}^{-1}\cdot\lambda_{\mathbf{a}}^{-1}=\mathbf{F}^{-1}\mathbf{a}\cdot\mathbf{F}^{-1}\mathbf{a}=\mathbf{a}\cdot\mathbf{F}^{-T}\mathbf{F}^{-1}\mathbf{a}=\mathbf{a}\cdot\mathbf{b}^{-1}\mathbf{a} \quad (2.24)$$

attraverso l'introduzione del **tensore di Cauchy-Green b sinistro**, $\mathbf{b}=\mathbf{F}\mathbf{F}^T$.

Sapendo che \mathbf{b} è definito simmetrico e positivo per ogni $\mathbf{x}\in\Omega$ si ha:

$$\mathbf{b}=\mathbf{F}\mathbf{F}^T=(\mathbf{F}\mathbf{F}^T)^T=\mathbf{b}^T \quad \text{e} \quad \mathbf{u}\cdot\mathbf{b}\mathbf{u}>0 \quad \forall \mathbf{u}\neq\mathbf{0} \quad (2.25)$$

Come ulteriore misura della deformazione si può definire la variazione di lunghezza quadratica, vale a dire $d\tilde{\varepsilon}^2-(\lambda^{-1}d\tilde{\varepsilon})^2$:

$$\frac{1}{2}[d\tilde{\varepsilon}^2-(\lambda^{-1}d\tilde{\varepsilon})^2]=\frac{1}{2}[d\tilde{\varepsilon}^2-(d\tilde{\varepsilon}\mathbf{a})\cdot\mathbf{F}^{-T}\mathbf{F}^{-1}(d\tilde{\varepsilon}\mathbf{a})]=d\mathbf{x}\cdot\mathbf{e}d\mathbf{x} \quad (2.26)$$

dove $\mathbf{e}=\frac{1}{2}(\mathbf{I}-\mathbf{F}^{-T}\mathbf{F}^{-1})$ è il **tensore di deformazione di Eulero-Almansi**.

In definitiva, i tensori \mathbf{b} , \mathbf{e} e i loro inversi rappresentano i tensori di deformazione dello spazio.

Il concetto di moto e di deformazione finora trattati, danno origine ad alcune interazioni, nella parte interna di un corpo, tra particelle vicine nella regione spaziale. Una delle conseguenze di tali interazioni è lo *sforzo*.

Si consideri, pertanto, un corpo continuo \mathcal{B} deformabile che occupa una regione arbitraria Ω di uno spazio fisico con un bordo di superficie $\partial\Omega$ al tempo t . Si supponga che, idealmente, il corpo venga tagliato da una superficie piana che attraversa ogni punto $\mathbf{x}\in\Omega$

con coordinate spaziali x_a al tempo t . Come mostrato in Fig. 2.5 la superficie piana divide il corpo deformabile in due porzioni. Si focalizza l'attenzione sulla parte di corpo continuo che giace in corrispondenza del vettore normale \mathbf{n} su \mathbf{x} , diretto lungo la normale uscente di un elemento di superficie infinitesima $ds \in \partial\Omega$. Poichè si considera l'interazione di due porzioni, le forze sono trasmesse attraverso l'interno della superficie piana. Si definisce una forza risultante infinitesimale $d\mathbf{f}$ che agisce su un elemento di superficie. Le quantità \mathbf{x} , ds e \mathbf{n} sono associate alla configurazione corrente (deformata) del corpo, mentre le quantità \mathbf{X} , dS e \mathbf{N} sono associate alla configurazione di riferimento.

Con riferimento alla Fig. 2.5, per ogni elemento di superficie vale $d\mathbf{f} = \mathbf{t}ds = \mathbf{T}dS$.

In questa notazione, $\mathbf{t} = \hat{\mathbf{t}}(\mathbf{x}, t, \mathbf{n})$ rappresenta il **vettore di trazione (reale) di Cauchy** (forza misurata per unità di superficie definita nella configurazione corrente), esercitato su ds con la normale \mathbf{n} uscente. Il vettore $\mathbf{T} = \hat{\mathbf{T}}(\mathbf{X}, t, \mathbf{N})$ rappresenta il **vettore di trazione (nominale) di Piola-Kirchhoff** (forza misurata per unità di superficie definita nella configurazione di riferimento), agisce sulla regione Ω ed è una funzione della posizione di riferimento \mathbf{X} e della normale \mathbf{N} uscente dal bordo $\partial\Omega_0$. I vettori \mathbf{t} e \mathbf{T} che attraversano gli elementi di superficie ds e dS con le rispettive normali \mathbf{n} e \mathbf{N} sono definiti come **trazioni di superficie** o **forze di contatto**, **vettori di sforzo** o **carichi**.

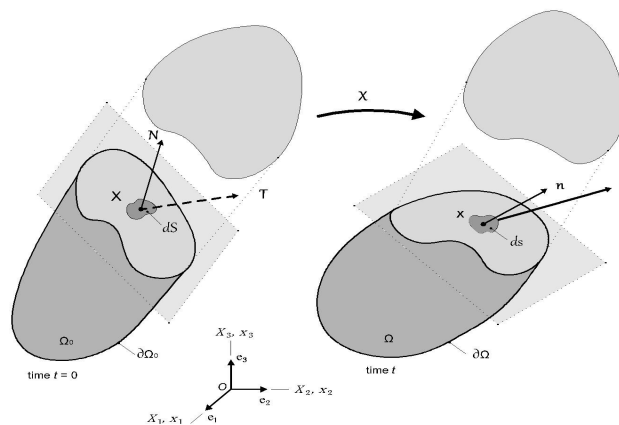


Fig. 2.5. Vettori di trazione che agiscono su elementi di superficie infinitesimale con il vettore normale uscente [33].

In ogni punto del continuo è definito un tensore simmetrico $\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x},t)$ detto **tensore degli sforzi di Cauchy**, tale che lo sforzo $\mathbf{t}(\mathbf{x},t,\mathbf{n})$ sia dato da:

$$\mathbf{t}(\mathbf{x},t,\mathbf{n})=\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x},t)\mathbf{n} \quad (2.27)$$

Si definisce inoltre il tensore simmetrico $\mathbf{P}(\mathbf{X},t)$ detto **tensore degli sforzi di Piola** tale che lo sforzo $\mathbf{T}(\mathbf{X},t,\mathbf{N})$ sia pari a:

$$\mathbf{T}(\mathbf{X},t,\mathbf{N})=\mathbf{P}(\mathbf{X},t)\mathbf{N} \quad (2.28)$$

Le relazioni (2.27) e (2.28), che combinano la trazione di superficie con il tensore degli sforzi, sono uno dei più importanti assiomi della meccanica dei continui, noto come **teorema degli sforzi di Cauchy** (o **legge di Cauchy**): tale legge afferma che se i vettori di trazione \mathbf{t} o \mathbf{T} dipendono dalla normale \mathbf{n} o \mathbf{N} , allora sono lineari in \mathbf{n} o \mathbf{N} , rispettivamente. Una diretta conseguenza della legge di Cauchy è la seguente relazione tra \mathbf{t} , \mathbf{T} e i corrispondenti vettori normali:

$$\mathbf{t}(\mathbf{x},t,\mathbf{n})=-\mathbf{t}(\mathbf{x},t,-\mathbf{n}) \quad (2.29)$$

$$\mathbf{T}(\mathbf{X},t,\mathbf{N})=-\mathbf{T}(\mathbf{X},t,-\mathbf{N}) \quad (2.30)$$

Questa conseguenza è nota come **legge di azione e reazione di Newton**.

Si cerca ora una relazione che lega il tensore degli sforzi di Cauchy $\boldsymbol{\sigma}$ con il tensore degli sforzi di Piola \mathbf{P} :

$$\mathbf{t}(\mathbf{x},t,\mathbf{n})\,ds=\mathbf{T}(\mathbf{X},t,\mathbf{N})\,dS \quad (2.31)$$

$$\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x},t)\mathbf{n}\,ds=\mathbf{P}(\mathbf{X},t)\mathbf{N}\,dS \quad (2.32)$$

Utilizzando la formula di Nanson (2.17), \mathbf{P} può essere riscritto come:

$$\mathbf{P}=\mathbf{J}\boldsymbol{\sigma}\mathbf{F}^{-T} \quad (2.33)$$

Tale trasformazione è nota come **trasformazione di Piola**.

L'espressione esplicita per il tensore degli sforzi di Cauchy risulta dalla relazione inversa:

$$\boldsymbol{\sigma}=\mathbf{J}^{-1}\mathbf{P}\mathbf{F}^T=\boldsymbol{\sigma}^T \quad (2.34)$$

che implica necessariamente $\mathbf{P}\mathbf{F}^T=\mathbf{F}\mathbf{P}^T$.

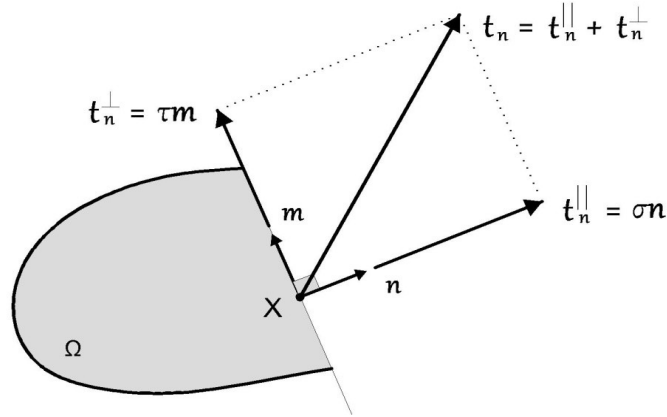


Fig. 2.6. Sforzi normale e di taglio alla posizione corrente \mathbf{x} [33].

Si supponga che il vettore di trazione di Cauchy $\mathbf{t}_n = \mathbf{t}(\mathbf{x}, t, \mathbf{n})$, per una posizione corrente $\mathbf{x} \in \Omega$ al tempo t , agisca su un elemento di superficie orientato in modo arbitrario. La superficie è caratterizzata da un vettore normale uscente \mathbf{n} e un vettore \mathbf{m} all'interno della superficie che soddisfa la proprietà $\mathbf{m} \times \mathbf{n} = 0$.

In accordo con la Fig. 2.6, \mathbf{t}_n può essere scomposto nella somma di un vettore parallelo alla normale \mathbf{n} , \mathbf{t}_n^{\parallel} ed uno perpendicolare, \mathbf{t}_n^{\perp} : $\mathbf{t}_n = \mathbf{t}_n^{\parallel} + \mathbf{t}_n^{\perp}$.

Dove $\mathbf{t}_n^{\parallel} = (\mathbf{n} \otimes \mathbf{n}) \mathbf{n} = \mathbf{P}_n^{\parallel} \mathbf{t}_n$ e $\mathbf{t}_n^{\perp} = (\mathbf{m} \otimes \mathbf{n}) \mathbf{m} = \mathbf{P}_n^{\perp} \mathbf{t}_n$, con \mathbf{P}_n^{\parallel} e \mathbf{P}_n^{\perp} tensori di proiezione di ordine due definiti da:

$$\mathbf{P}^{\parallel} = \mathbf{n} \otimes \mathbf{n} \quad \mathbf{P}^{\perp} = \mathbf{m} \otimes \mathbf{m} = \mathbf{I} - \mathbf{n} \otimes \mathbf{n} \quad (2.35)$$

Le lunghezze di \mathbf{t}_n^{\parallel} e \mathbf{t}_n^{\perp} sono chiamate rispettivamente **sforzo normale** σ e **sforzo di taglio** agenti sull'elemento di superficie considerato. Le loro espressioni sono date da:

$$\sigma = \mathbf{n} \cdot \mathbf{t}_n = \mathbf{n} \cdot \sigma \mathbf{n} \quad (2.36)$$

$$\tau = \mathbf{m} \cdot \mathbf{t}_n = \mathbf{m} \cdot \sigma \mathbf{n} \quad (2.37)$$

2.2 Equazioni di bilancio

Di seguito vengono presentate le fondamentali leggi di bilancio, valide in tutti i campi della meccanica dei continui e applicabili per ogni particolare materiale. Si discuteranno poi delle leggi alle quali ci si riferisce con disuguaglianze, come il bilancio di energia e il principio di entropia. Per comprendere le leggi di bilancio è fondamentale introdurre i concetti di sistema.

Si definisce **sistema** una certa quantità di massa o un particolare insieme della materia nello spazio, la massa o regione all'esterno del sistema si chiama **intorno** mentre la superficie che separa il sistema dall'intorno si chiama **confine**.

Un **sistema chiuso** (o **sistema in controllo di massa**) consiste in una quantità fissata di massa in una regione selezionata Ω nello spazio con un confine $\partial\Omega$ che dipende dal tempo t . La massa non può attraversare il confine (non entra e non esce), ma l'energia, sotto forma di calore o lavoro, può attraversare il bordo.

Un **sistema aperto** (o **sistema in controllo di volume**) consiste in una quantità fissata di volume di una regione Ω_c che è indipendente dal tempo, e la massa e l'energia possono attraversare il bordo $\partial\Omega_c$.

➤ Conservazione della massa in un sistema aperto

Ogni corpo continuo \mathcal{B} possiede una massa m . Si tratta di una proprietà fisica fondamentale che definisce la misura della quantità di materiale contenuta nel corpo \mathcal{B} . Per realizzare uno studio macroscopico si assume che la massa sia distribuita in modo continuo su una regione arbitraria Ω con un bordo $\partial\Omega$ al tempo t . La massa è una misura scalare che non subisce variazioni durante il movimento.

Ad un tempo t un sistema in controllo di volume contiene la massa:

$$m(t) = \int_{\Omega_c} \rho(\mathbf{x}, t) \, d v \quad (2.38)$$

Poiché la regione di integrazione Ω_c non dipende dal tempo t , si può scrivere:

$$\dot{m}(t) = \frac{D}{Dt} \int_{\Omega_c} \rho(\mathbf{x}, t) d v = \int_{\Omega_c} \frac{\partial \rho(\mathbf{x}, t)}{\partial t} d v \quad (2.39)$$

Applicando il teorema della divergenza è possibile esprimere il flusso di massa attraverso il bordo $\partial\Omega_c$ come:

$$\int_{\partial\Omega_c} \rho(\mathbf{x}, t) \mathbf{v}(\mathbf{x}, t) \cdot \mathbf{n} d s = \int_{\Omega_c} \nabla \cdot (\rho(\mathbf{x}, t) \mathbf{v}(\mathbf{x}, t)) d v \quad (2.40)$$

con \mathbf{n} il vettore normale uscente perpendicolare al bordo $\partial\Omega_c$.

Tale relazione afferma che la derivata in tempo materiale della massa all'interno di un volume di controllo Ω_c è uguale al flusso \mathbf{v} che entra in Ω_c e attraversa $\partial\Omega_c$.

Pertanto integrando l'equazione di continuità della massa, in assenza di sorgenti volumetriche:

$$\frac{\partial \rho(\mathbf{x}, t)}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho(\mathbf{x}, t) \mathbf{v}(\mathbf{x}, t)) = 0 \quad (2.41)$$

con le equazioni (2.39) e (2.40), si può scrivere la **conservazione della massa** per un sistema in controllo di volume nella forma globale:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_c} \rho(\mathbf{x}, t) d v = - \int_{\partial\Omega_c} \rho(\mathbf{x}, t) \mathbf{v}(\mathbf{x}, t) \cdot \mathbf{n} d s \quad (2.42)$$

➤ Bilancio del momento

Una condizione necessaria e sufficiente affinché le leggi di bilancio del momento siano soddisfatte è l'esistenza del campo tensoriale spaziale $\boldsymbol{\sigma}$ in modo da far valere la relazione $\mathbf{t}(\mathbf{x}, t, \mathbf{n}) = \boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x}, t) \mathbf{n}$. A partire dal teorema degli sforzi di Cauchy (2.27), (2.28) e utilizzando il teorema della divergenza, si ricava:

$$\int_{\partial\Omega} \mathbf{t}(\mathbf{x}, t, \mathbf{n}) d s = \int_{\partial\Omega} \boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x}, t) \mathbf{n} d s = \int_{\Omega} \nabla \cdot \boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x}, t) d v \quad (2.43)$$

con $\boldsymbol{\sigma}$ il tensore degli sforzi di Cauchy simmetrico. Si può dimostrare che $\boldsymbol{\sigma}$ soddisfa la **prima equazione del moto di Cauchy**:

$$\int_{\Omega} (\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma} + \mathbf{b} - \rho \dot{\mathbf{v}}) d v = \mathbf{0} \quad (2.44)$$

Si consideri una regione dello spazio con un volume di controllo Ω_c con bordo di superficie $\partial\Omega_c$ indipendente dal tempo t . Integrando su Ω_c l'equazione del moto di Cauchy (2.44) si ricava:

$$\int_{\Omega_c} \nabla \cdot \mathbf{v} d v + \int_{\Omega_c} \mathbf{b} d v = \int_{\Omega_c} \rho \dot{\mathbf{v}} d v \quad (2.45)$$

Applicando alla (2.45) il teorema della divergenza e il teorema degli sforzi di Cauchy si trova il **bilancio del momento lineare** per un volume di controllo nella forma:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_c} \rho \mathbf{v} d v = \int_{\partial\Omega_c} [\mathbf{t} - (\mathbf{v} \cdot \mathbf{n}) \rho \mathbf{v}] d s + \int_{\Omega_c} \mathbf{b} d v \quad (2.46)$$

Allo stesso modo si può ricavare il **bilancio del momento angolare**:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_c} \mathbf{r} \times \rho \mathbf{v} d v = \int_{\partial\Omega_c} \mathbf{r} \times (\mathbf{t} - (\mathbf{v} \cdot \mathbf{n}) \rho \mathbf{v}) d s + \int_{\Omega_c} \mathbf{r} \times \mathbf{b} d v \quad (2.47)$$

➤ Bilancio dell'energia meccanica

Il bilancio dell'energia è una conseguenza della prima equazione del moto di Cauchy (bilancio del momento lineare).

È necessario introdurre i concetti di *lavoro meccanico esterno*, *interno* ed *energia cinetica*. A tal proposito, si consideri un insieme di particelle che occupano una regione Ω nello spazio con un bordo di superficie $\partial\Omega$ e si definiscano le quantità in termini di coordinate spaziali. Il lavoro meccanico esterno P_{ext} è definito come l'energia in ingresso su una regione Ω al tempo t esercitata dal sistema di forze \mathbf{t} e \mathbf{b} :

$$P_{\text{ext}}(t) = \int_{\partial\Omega} \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} d s + \int_{\Omega} \mathbf{b} \cdot \mathbf{v} d v \quad (2.48)$$

Il lavoro meccanico interno P_{int} che descrive la risposta della regione Ω al tempo t , esercitato dal campo tensoriale, è descritto dallo scalare:

$$P_{\text{int}}(t) = \int_{\Omega} \boldsymbol{\sigma} : \mathbf{d} \, d v = \int_{\Omega} \text{tr}(\boldsymbol{\sigma}^T \mathbf{d}) \, d v \quad (2.49)$$

L'energia cinetica K di un corpo continuo che occupa una regione Ω al tempo \mathbf{t} è data da:

$$K(t) = \int_{\Omega} \frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2 \, d v = \int_{\Omega} \frac{1}{2} \rho \mathbf{v} \cdot \mathbf{v} \, d v \quad (2.50)$$

Facendo riferimento ai due approcci matematici introdotti all'inizio del capitolo, il bilancio dell'energia meccanica assume due forme diverse nel caso di descrizione spaziale e di descrizione materiale. In particolare, nel primo caso il bilancio dell'energia meccanica può essere scritto come:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega} \frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2 \, d v + \int_{\Omega} \boldsymbol{\sigma} : \mathbf{d} \, d v = \int_{\partial\Omega} \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} \, d s + \int_{\Omega} \mathbf{b} \cdot \mathbf{v} \, d v \quad (2.51)$$

Si può ora introdurre la quantità $e_c = e_c(\mathbf{x}, t)$ nota come **energia interna per unità di volume**: si tratta di una variabile di stato termodinamica. L'energia interna totale posseduta da un corpo continuo che occupa una regione Ω , indicata con ε , è esprimibile con:

$$\varepsilon(t) = \int_{\Omega} e_c(\mathbf{x}, t) \, d v \quad (2.52)$$

Il lavoro meccanico interno può essere espresso in termini di energia interna totale:

$$P_{\text{int}}(t) = \frac{D}{Dt} \varepsilon(t) \quad (2.53)$$

Quindi il bilancio di energia meccanica sarà:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega} \left(\frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2 + e_c \right) \, d v = \int_{\partial\Omega} \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} \, d s + \int_{\Omega} \mathbf{b} \cdot \mathbf{v} \, d v \quad (2.54)$$

Nel secondo caso, invece, bisogna introdurre alcune nozioni. Infatti, attraverso le relazioni $d\mathbf{f} = \mathbf{t} d s = \mathbf{T} d S$, $\mathbf{B}(\mathbf{X}, t) = J(\mathbf{X}, t) \mathbf{b}(\mathbf{x}, t)$ e la prima delle (2.6) l'energia meccanica esterna P_{ext} è:

$$P_{\text{ext}}(t) = \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{T} \cdot \mathbf{V} \, d S + \int_{\Omega_0} \mathbf{B} \cdot \mathbf{V} \, d V \quad (2.55)$$

L'energia cinetica K assume la seguente forma:

$$K(t) = \int_{\Omega_0} \frac{1}{2} \rho_0 \mathbf{V}^2 dV = \int_{\Omega_0} \frac{1}{2} \rho_0 \mathbf{V} \cdot \mathbf{v} dV \quad (2.56)$$

Il lavoro meccanico interno, P_{int} , viene ora espresso in termini del tensore degli sforzi \mathbf{P} di Piola-Kirchhoff:

$$P_{\text{int}}(t) = \int_{\Omega_0} \mathbf{P} : \dot{\mathbf{F}} dV = \int_{\Omega_0} \text{tr}(\mathbf{P}^T \dot{\mathbf{F}}) dV \quad (2.57)$$

Quindi il bilancio dell'energia meccanica in accordo con la descrizione materiale è:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_0} \frac{1}{2} \rho_0 \mathbf{V}^2 dV + \int_{\Omega_0} \mathbf{P} : \dot{\mathbf{F}} dV = \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{T} \cdot \mathbf{V} dS + \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{B} \cdot \mathbf{V} dV \quad (2.58)$$

Inoltre, attraverso la trasformazione $e(\mathbf{X}, t) = J(\mathbf{X}, t) e_c(\mathbf{x}, t)$ si può ricavare l'energia interna:

$$\varepsilon(t) = \int_{\Omega} e_c(\mathbf{x}, t) dv = \int_{\Omega_0} e_c(\boldsymbol{\chi}(\mathbf{X}, t), t) J(\mathbf{X}, t) dV = \int_{\Omega_0} e(\mathbf{X}, t) dV \quad (2.59)$$

L'energia totale sarà dunque:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_0} \left(\frac{1}{2} \rho_0 \mathbf{V}^2 + e \right) dV = \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{T} \cdot \mathbf{V} dS + \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{B} \cdot \mathbf{V} dV \quad (2.60)$$

➤ Bilancio dell'energia nei sistemi termodinamici continui

Un corpo continuo che possiede sia l'energia meccanica che quella termica si chiama **continuo termodinamico**. L'energia termica Q è definita da:

$$Q(t) = \int_{\partial\Omega} q_n ds + \int_{\Omega} r dv = \int_{\partial\Omega_0} Q_N dS + \int_{\Omega_0} R dV \quad (2.61)$$

Le funzioni scalari che dipendono dal tempo, q_n e Q_N , rappresentano i **flussi di calore** rispettivamente per la superficie corrente e quella di riferimento. I campi scalari che dipendono dal tempo $r=r(\mathbf{x}, t)$ e $R=R(\mathbf{X}, t)$ rappresentano le **sorgenti di calore**, rispettivamente, del volume corrente e di riferimento.

La controparte del teorema degli sforzi di Cauchy è il **teorema del flusso di calore di Stokes**, il quale afferma che le funzioni scalari q_n e Q_N sono funzioni lineari del vettore normale uscente:

$$q_n(\mathbf{x}, t, \mathbf{n}) = -\mathbf{q}(\mathbf{x}, t) \cdot \mathbf{n} \quad \text{e} \quad Q_N(\mathbf{X}, t, \mathbf{N}) = -\mathbf{Q}(\mathbf{X}, t) \cdot \mathbf{N} \quad (2.62)$$

Il campo vettoriale $\mathbf{q}=\mathbf{q}(\mathbf{x},t)$ è detto **flusso di calore di Cauchy**, mentre $\mathbf{Q}=\mathbf{Q}(\mathbf{X},t)$ rappresenta il **flusso di calore di Piola-Kirchhoff**.

2.2.1 Prima legge della termodinamica

Nella descrizione spaziale, il bilancio dell'energia termica è:

$$P_{\text{int}}(t) + Q(t) = \frac{D}{Dt} \varepsilon(t) \quad (2.63)$$

Per il bilancio dell'energia meccanica si ricava l'importante relazione:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega} \left(\frac{1}{2} \rho \mathbf{v}^2 + e_c \right) d v = \int_{\partial\Omega} (\mathbf{t} \cdot \mathbf{v} + q_n) d s + \int_{\Omega} (\mathbf{b} \cdot \mathbf{v} + r) d v \quad (2.64)$$

nota come **la prima legge della termodinamica**. La prima legge della termodinamica regola la trasformazione di un tipo di energia coinvolta in un processo termodinamico in un altro, ma non regola la direzione con cui tale energia si trasferisce. Un modo per esprimere in modo più esplicito il bilancio dell'energia termica è utilizzando il teorema del flusso del calore di Stokes (2.71) e il teorema della divergenza applicati all'energia termica Q :

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega} e_c d v = \int_{\Omega} (\boldsymbol{\sigma} : \mathbf{d} - \nabla \cdot \mathbf{q} + r) d v \quad (2.65)$$

che è una forma riduttiva del bilancio globale di energia nella descrizione spaziale.

Per scrivere il bilancio dell'energia in termini di coordinate materiali bisogna richiamare le forme equivalenti dell'energia totale, dell'energia meccanica esterna P_{ext} e dell'energia termica Q :

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_0} \left(\frac{1}{2} \rho_0 \mathbf{V}^2 + e \right) d V = \int_{\partial\Omega_0} (\mathbf{T} \cdot \mathbf{V} + Q_N) d S + \int_{\Omega_0} (\mathbf{B} \cdot \mathbf{V} + R) d V \quad (2.66)$$

Attraverso la stessa argomentazione trattata per la descrizione spaziale, la forma globale del bilancio dell'energia nella descrizione materiale è:

$$\frac{D}{Dt} \int_{\Omega_0} e \, dV = \int_{\Omega_0} (\mathbf{P} : \dot{\mathbf{F}} - \text{Div} \mathbf{Q} + R) \, dV \quad (2.67)$$

2.2.2 Seconda legge della termodinamica

Si introduce una variabile di stato fondamentale, l'**entropia**: è una misura quantitativa della casualità e del disordine microscopico. Si introducono le notazioni $\eta_c = \eta_c(\mathbf{x}, t)$ e $\eta = \eta(\mathbf{X}, t)$ rispettivamente per l'entropia del volume corrente e quello di riferimento. L'entropia posseduta da un corpo continuo \mathcal{B} che occupa una certa regione, denotata con S , è definita come:

$$S(t) = \int_{\Omega} \eta_c(\mathbf{x}, t) \, dv + \int_{\Omega_0} \eta(\mathbf{X}, t) \, dV \quad (2.68)$$

Si introduce ora l'entropia in ingresso in una certa regione del corpo continuo come quel valore di entropia trasferito attraverso il bordo di superficie e l'entropia generata (o distrutta) all'interno della regione:

$$\tilde{Q}(t) = - \int_{\partial\Omega} \mathbf{h} \cdot \mathbf{n} \, ds + \int_{\Omega} \tilde{r} \, dv = - \int_{\partial\Omega_0} \mathbf{H} \cdot \mathbf{N} \, dS + \int_{\Omega_0} \tilde{R} \, dV \quad (2.69)$$

I campi scalari $\tilde{r} = \tilde{r}(\mathbf{x}, t)$ e $\tilde{R} = \tilde{R}(\mathbf{X}, t)$ rappresentano le **sorgenti di entropia** per il volume corrente e quello di riferimento, rispettivamente. Il campo vettoriale $\mathbf{h} = \mathbf{h}(\mathbf{x}, t)$ rappresenta il **flusso di entropia di Cauchy** definito per la superficie corrente, $\mathbf{H} = \mathbf{H}(\mathbf{X}, t)$ rappresenta il **flusso di entropia di Piola-Kirchhoff** definito per la superficie di riferimento.

La **produzione totale di entropia** per qualsiasi processo termodinamico non ha mai un valore negativo, ed è descritta da tale espressione matematica:

$$\Gamma(t) = \frac{D}{Dt} S(t) - \tilde{Q}(t) \geq 0 \quad (2.70)$$

nota come **seconda legge della termodinamica**, che in forma globale assume la forma:

$$\Gamma(t) = \frac{D}{Dt} \int_{\Omega} \eta_c(\mathbf{x}, t) \, dv + \int_{\partial\Omega} \mathbf{h} \cdot \mathbf{n} \, ds - \int_{\Omega} \tilde{r} \, dv \geq 0 \quad (2.71)$$

La seconda legge della termodinamica non è una legge di bilancio: indica, infatti, un andamento nel tempo attraverso la descrizione del trasferimento di energia in sistemi viventi e non viventi, nei quali lo stato $\Gamma < 0$ non si verifica.

➤ **Disuguaglianza di Clausius-Duhem**

Spesso i flussi di entropia, \mathbf{h} , \mathbf{H} e le sorgenti di entropia \tilde{r} , \tilde{R} possono essere associati ai flussi di calore \mathbf{q} , \mathbf{Q} e alle sorgenti di calore r , R attraverso un fattore $1/\Theta$. Quindi $\Theta = \Theta(\mathbf{x}, t) > 0$ rappresenta un campo scalare noto come **temperatura assoluta**. Si può quindi scrivere la seconda legge della termodinamica in funzione della temperatura assoluta dopo aver posto $\mathbf{h} = \mathbf{q}/\Theta$, $\tilde{r} = r/\Theta$, $\mathbf{H} = \mathbf{Q}/\Theta$, $\tilde{R} = R/\Theta$:

$$\Gamma(t) = \frac{D}{Dt} \int_{\Omega} \eta_c dV + \int_{\partial\Omega} \frac{\mathbf{q}}{\Theta} \cdot \mathbf{n} dS - \int_{\Omega} \frac{r}{\Theta} dV \geq 0 \quad (2.72)$$

$$\Gamma(t) = \frac{D}{Dt} \int_{\Omega_0} \eta dV + \int_{\partial\Omega_0} \frac{\mathbf{Q}}{\Theta} \cdot \mathbf{N} dS - \int_{\Omega_0} \frac{R}{\Theta} dV \geq 0 \quad (2.73)$$

Le (2.72) e (2.73) sono note come **disuguaglianze di Clausius-Duhem** per la descrizione spaziale e materiale, rispettivamente.

Un'altra forma di scrittura equivalente alla seconda legge della termodinamica è data dalla **disuguaglianza di Clausius-Planck**:

$$D_{\text{int}} = \mathbf{P} : \dot{\mathbf{F}} - \dot{e} + \Theta \dot{\eta} \geq 0 \quad (2.74)$$

Introducendo l'**energia libera di Helmholtz** in termini di e e η :

$$\Psi = e - \Theta \eta \quad (2.75)$$

è possibile riscrivere la (2.75) nella forma:

$$D_{\text{int}} = \mathbf{P} : \dot{\mathbf{F}} - \dot{\Psi} - \eta \dot{\Theta} \geq 0 \quad (2.76)$$

A seguire ci focalizzeremo sullo studio dei modelli matematici continui con riferimenti alle nozioni teoriche di meccanica dei continui appena descritte.

Capitolo 3

Stato dell'arte dei modelli matematici

per il cancro

Negli ultimi anni, grazie agli innumerevoli progressi in campo medico, si è riscontrato un notevole aumento delle interazioni tra matematici e ricercatori in medicina e biologia.

L'interesse da parte del mondo matematico per le malattie tumorali è dovuto, in parte, all'indiscutibile impatto sociale che queste malattie hanno purtroppo sulla comunità e, dall'altro, alla complessità del problema che pertanto risulta molto stimolante dal punto di vista modellistico. Infatti, poiché le dinamiche cellulari all'interno dello sviluppo del tumore coinvolgono vari attori che ne influenzano la progressione (e.g., nutrienti, ossigeno, fattori di crescita), e poiché il tumore è un “raccoltore” di cellule diversificate che non si comportano tutte allo stesso modo, l'inclusione della modellistica matematica può, quindi, non solo fornire tecniche di supporto ai chimici ma anche aiutare nella comprensione dei meccanismi che ne controllano la crescita e la progressione e quindi suggerire nuove direzioni terapeutiche [53].

I modelli matematici utilizzati per studiare dal punto di vista macroscopico il comportamento dei tessuti si basano principalmente su equazioni di bilancio di massa, equazioni di reazione-diffusione ed in genere sugli strumenti della meccanica dei fluidi e dei solidi [53].

In particolare, in questo capitolo ci focalizzeremo sulle principali classi di modelli continui (si veda Fig. 3.1), considerando sia i *modelli a fase singola* (diffusivi e meccanici), sia i *modelli multifase* (a frontiera libera e ad interfaccia diffusa).

3.1 Modelli a fase singola

Da un punto di vista matematico, la maggior parte dei modelli che descrivono l'evoluzione dei tumori solidi si basano sull'assunzione, semplificativa, per cui il tumore risulta essere

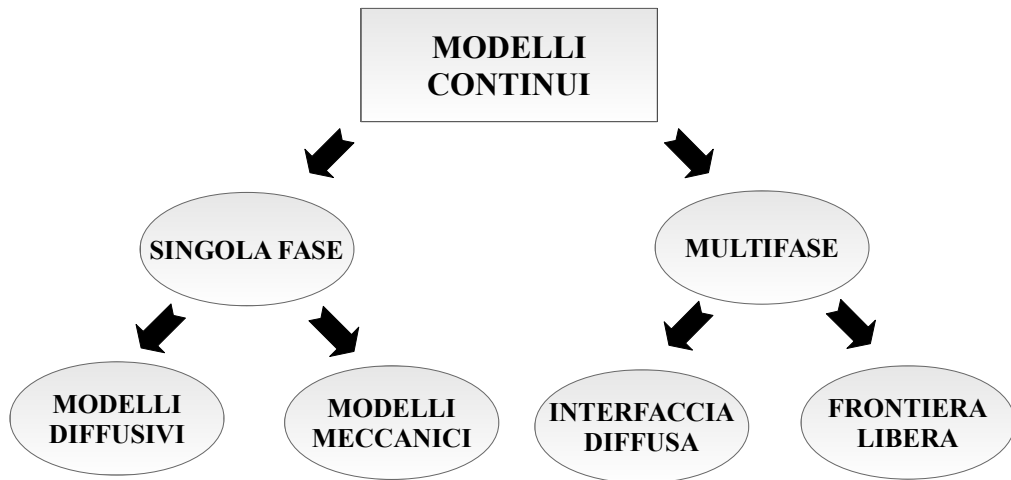


Fig. 3.1. Schematizzazione dei modelli matematici continui trattati in questo capitolo.

composto da una singola specie (singola fase) cellulare. I modelli matematici di questo tipo comprendono equazioni di reazione-diffusione per la distribuzione, all'interno del tumore, delle sostanze chimiche di interesse (e.g., ossigeno, fattori di crescita), equazioni di bilancio di massa e momento per la fase in esame, e equazioni integro-differenziali per descrivere la crescita volumetrica del tumore.

3.1.1 Modelli diffusivi

I modelli matematici a fase singola sono stati i primi modelli presentati con l'intento di descrivere il processo di diffusione nei tessuti già a partire dagli inizi del secolo scorso. I modelli successivi a quelli puramente diffusivi si focalizzarono anche sulle dinamiche di crescita [6]. Nel corso della seconda metà del XX secolo, si sviluppò l'interesse verso i tumori avascolari e sferoidi multicellulari come sistema modello per lo studio della crescita tumorale [25, 28]. Il modello continuo più semplice rappresenta le cellule tumorali con una struttura sferoidale senza un accesso diretto alla rete vascolare [41]. Grazie all'adesione tra più cellule costrette nello stesso spazio si creano delle strutture multicellulari cancerogene: le cellule più esterne tendono a proliferare mentre quelle più interne muoiono a causa della mancanza di nutrienti. Uno strato di cellule quiescenti separa il nucleo necrotico dallo strato di cellule proliferanti.

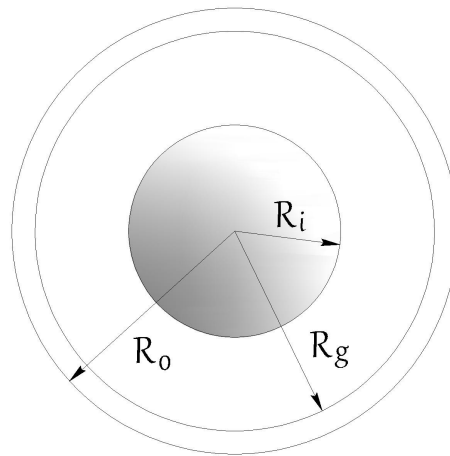


Fig. 3.2. Sezione di un carcinoma nodulare che mostra un nucleo necrotico ($r < R_i$), uno strato con cellule viventi non proliferanti ($R_i < r < R_g$), uno strato con cellule proliferanti ($R_g < r < R_o$) [29].

La tipica conformazione di uno sferoide tumorale, descritto da Greenspan [29], è riportato in Fig. 3.2: si tratta di una sfera con un diametro di pochi millimetri formata da tre gusci concentrici. Lo strato più esterno e sottile [41] è formato da cellule che proliferano secondo una legge esponenziale. Nel guscio contiguo sono presenti cellule viventi che però non presentano mitosi e proliferazione. Infine il guscio più interno è costituito da un nucleo necrotico.

La derivazione del modello si ottiene formulando opportune leggi di conservazione della massa ed equazioni di reazione-diffusione. Tale approccio è riscontrabile nei lavori di Adam [1] che si basa sulla risposta immunitaria, di Byrne and Chaplain [12, 13, 14] che hanno inoltre studiato la crescita e la stabilità di tumori sferoidali con e senza necrosi oltre che agli effetti di substrati cellulari e inibitori, di Cristini et al [22], che hanno sviluppato un modello diffusivo che consiste in un sistema di equazioni differenziali parziali che descrivono la produzione e/o inattivazione degli enzimi degradativi dalle cellule tumorali, la degradazione della matrice e la risposta migratoria delle cellule tumorali.

➤ **Esempio di modello matematico diffusivo: tumore avascolare**

Per semplicità si assuma che la massa solida tumorale sia allo stadio avascolare (fornitura e nutrizione di ossigeno solo per diffusione). Nel modello vengono prese in considerazione

quattro variabili: la densità delle cellule tumorali (n), la concentrazione degli MDEs (enzimi di degradazione della matrice cellulare extracellulare) (m), la densità della matrice extracellulare (f) e la concentrazione dei TAFs (fattori angiogenici tumorali) (c), ognuna delle quali è funzione della variabile spaziale x e del tempo t [5].

Si definisce aptotassi la motilità direzionale delle cellule in risposta ai gradienti di siti di adesione cellulare: è il maggior componente del movimento nell'invasione delle cellule tumorali. Si consideri, quindi, il flusso aptotassico come:

$$J_{hapto} = \chi_{hapto} n \nabla f \quad (3.1)$$

dove $\chi_{hapto} > 0$ è il coefficiente aptotassico, assunto costante.

L'altro contributo per la motilità delle cellule tumorali è la semplice diffusione: permette di investigare le interazioni cellula-matrice in assenza di proliferazione cellulare. Il flusso associato è dato da:

$$J_{random} = -D(f, m) \nabla n \quad (3.2)$$

con $D(f, m)$ che può assumere un valore costante noto come coefficiente di diffusione casuale delle cellule tumorali, $D(f, m) = D_n$, oppure essere funzione della concentrazione sia di MDE che di ECM.

Si definisce chemotassi il meccanismo con cui una cellula (o un organismo) avverte gradienti di segnali chimici extracellulari e si muove nella direzione di tali gradienti [17]. Il flusso corrispondente sarà:

$$J_{chemo} = n \chi_{chemo}(c) \nabla c \quad (3.3)$$

L'equazione della conservazione della densità delle cellule tumorali è data da:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (J_{random} + J_{hapto} + J_{chemo}) + \sum \Gamma_i(v_i) = 0 \quad (3.4)$$

con $\sum \Gamma_i(v_i)$ per rappresentare le sorgenti volumetriche della massa.

L'ECM contiene molte macromolecole che sappiamo essere degradate dagli MDEs: si supponga che gli enzimi degradino la matrice appena entrano in contatto e che quindi il

processo di degradazione possa essere descritto dall'equazione:

$$\frac{\partial f}{\partial t} = -d m f \quad (3.5)$$

dove d è una costante positiva.

Gli MDEs sono prodotti (o attivati) da parte delle cellule tumorali, diffondono attraverso il tessuto e subiscono una qualche forma di decadimento (passiva o attiva). L'equazione che regola l'evoluzione della loro concentrazione è:

$$\frac{\partial m}{\partial t} = D_m \nabla^2 m + g(n, m) - h(n, m, f) \quad (3.6)$$

dove D_m è una costante positiva, il coefficiente di diffusione degli MDEs, g è una funzione che modella la produzione degli MDEs attivi e h è una funzione che modella la degradazione degli MDEs.

Per semplicità si assuma lineare la relazione tra la densità delle cellule tumorali ed il livello degli MDEs attivi nei tessuti circostanti, quindi inizialmente queste funzioni saranno $g = \mu n$ per la produzione degli MDE dalle cellule tumorali e $h = \lambda m$ per la degradazione naturale.

L'equazione di conservazione della concentrazione dei TAFs è data da:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c - F(c)G(n) - H(c) \quad (3.7)$$

con $F(c)$ funzione dell'assorbimento dei fattori angiogenici da parte delle cellule tumorali, $G(c)$ funzione della densità delle cellule tumorali e $H(c)$ il decadimento. In conclusione, il sistema di equazioni che descrive le interazioni delle cellule tumorali, dell'ECM e degli MDEs è:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \overbrace{\nabla \cdot (D(f, m) \nabla n)}^{\text{semplice diffusione}} - \overbrace{\chi_{\text{hapto}} \nabla \cdot (n \nabla f)}^{\text{apoptosi}} - \overbrace{\nabla \cdot (n \chi_{\text{chemo}}(c) \nabla c)}^{\text{chemotassi}} - \overbrace{\sum \Gamma_i(v_i)}^{\text{sorgenti volumetriche}} \quad (3.8)$$

$$\frac{\partial f}{\partial t} = \overbrace{-\delta m f}^{\text{degradazione}} \quad (3.9)$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = \overbrace{D_m \nabla^2 m}^{\text{diffusione}} + \overbrace{\mu n}^{\text{produzione}} - \overbrace{\lambda m}^{\text{decadimento}} \quad (3.10)$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \overbrace{D_c \nabla^2 c}^{\text{diffusione}} - \overbrace{F(c)G(n)}^{\text{perdita}} - \overbrace{H(c)}^{\text{decadimento}} \quad (3.11)$$

Il modello diffusivo proposto consiste in un sistema di equazioni differenziali parziali e studia la risposta delle cellule tumorali ai gradienti di concentrazione dell'ECM, degli MDEs e dei TAFs tramite i fenomeni di apoptosi, diffusione semplice e chemiotassi.

3.1.2 Modelli meccanici

La seconda classe di modelli a singola fase è quella dei modelli meccanici in si considerano leggi di bilancio di massa e del momento che tengono in conto delle interazioni meccaniche con l'ambiente esterno [3].

La teoria dei materiali con configurazioni multiple è molto utile per investigare il processo di crescita nei sistemi viventi. Si vogliono ora applicare le nozioni sulle configurazioni multiple per studiare le proprietà meccaniche di un corpo continuo che va incontro a crescita e divisione.

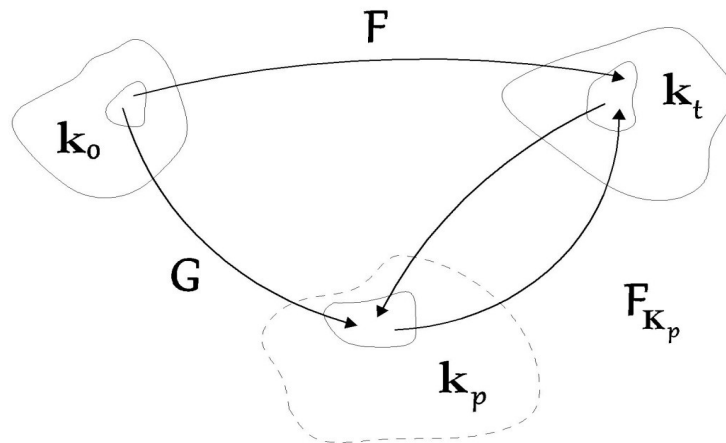


Fig. 3.3. Diagramma del moto di un corpo da una configurazione di riferimento k_0 ad una configurazione corrente k_t [3].

➤ **Esempio di modello meccanico: configurazioni multiple**

Si consideri il moto di un corpo da una configurazione di riferimento k_0 ad una configurazione corrente k_t , come mostrato in Fig. 3.3. Si definisce “configurazione naturale” l'insieme di tutte le particelle all'interno del corpo che si trovano nel loro stato naturale al tempo t . Ogni particella del corpo in esame può subire una crescita oppure un riassorbimento, quindi lo stato di sforzo può essere diverso da zero. È possibile misurare lo stato di deformazione dalla configurazione naturale k_p alla configurazione corrente attraverso il tensore \mathbf{F}_{k_p} , mentre il percorso da k_0 a k_p è descritto dal tensore \mathbf{G} . Grazie alla decomposizione moltiplicativa vale la relazione:

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}_{k_p} \mathbf{G} \quad (3.12)$$

Si assume che la massa si conservi passando dalla configurazione k_p alla configurazione k_t , e che il tensore \mathbf{F}_{k_p} non sia pertanto collegato alla crescita ma alla risposta dello sforzo del materiale, mentre il tensore \mathbf{G} è collegato alla crescita ed è chiamato *tensore di crescita*.

Introduciamo inoltre:

$$J_G =: \det \mathbf{G} = \frac{dV_p}{dV} = \frac{dM}{dM_0} \quad (3.13)$$

dove dV è il volume occupato da una generica particella al tempo $t=0$, dV_p il volume di una generica particella nella configurazione naturale, dM la massa della particella nella configurazione corrente e dM_0 la massa iniziale della particella. Se $J_G < 1$ si ha il riassorbimento, al contrario se $J_G > 1$ si ha la crescita cellulare.

• **Bilancio di massa**

Il moto dalla configurazione k_0 alla configurazione k_t obbedisce alla seguente equazione del bilancio di massa:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{v}) \equiv \dot{\rho} + \rho \nabla \cdot \mathbf{v} = \Gamma \rho \quad (3.14)$$

con Γ un termine di sorgente che indica la crescita volumetrica.

Si può introdurre una legge di bilancio di massa per i nutrienti, che diffondono all'interno del liquido interstiziale, la cui concentrazione $n(\mathbf{x}, t)$ è governata dalla seguente equazione di reazione-diffusione:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\mathbf{v}) - \nabla \cdot (D(n) \nabla n) = -\gamma n \rho \quad (3.15)$$

Assumendo che la concentrazione dei nutrienti si mantenga costante sul bordo del tumore, la condizione al bordo da imporre sarà:

$$n|_{\text{bordo}} = n_0 \quad (3.16)$$

- **Bilancio del momento lineare**

Nel caso dei tessuti biologici, le velocità caratteristiche sono talmente basse che si possono trascurare i termini inerziali. Inoltre, come è solito che accada nello studio della meccanica dei solidi, si possono trascurare le forze peso, e quindi il bilancio del momento è descritto dalla seguente relazione:

$$\text{div } \boldsymbol{\sigma} = 0 \quad (3.17)$$

con $\boldsymbol{\sigma}$ il tensore degli sforzi di Cauchy.

Introducendo $\mathbf{D}_G := \text{sym}(\dot{\mathbf{G}} \mathbf{G}^{-1})$ e passando attraverso la formulazione lagrangiana del bilancio di massa (3.14), in [3] è stato dimostrato che:

$$\text{tr } \mathbf{D}_G = \Gamma \quad (3.18)$$

Pertanto per crescite isotropiche, vale a dire $\mathbf{G} = g\mathbf{I}$, dove g è uno scalare, si può scrivere:

$$\frac{3\dot{g}}{g} = \Gamma \quad (3.19)$$

che esprime la relazione tra il growth rate Γ e le componenti del tensore di crescita.

L'introduzione di un approccio meccanico è utile per descrivere quei fenomeni che richiedono lo studio dello stato di sforzo all'interno e all'esterno del corpo. Ad esempio, il

modello permette di descrivere come la crescita incontrollata di un tumore interagisca con l'ambiente circostante, crescita che si sviluppa dalla necrosi dei tessuti ospite, da membrane in cui il tumore cresce facilmente, dal collasso di vasi sanguigni che si formano durante la fase di angiogenesi.

3.2 Modelli multifase

I modelli analizzati finora trattano la massa tumorale come composta da una singola fase, in termini di materia, che si espande e si contrae localmente a seguito delle variazioni a cui le cellule sono sottoposte: gradienti di concentrazioni, forze esercitate, fenomeni di chemiotassi e apoptosi. Ciò porta ad una modellazione della natura biologica del tumore più semplice, basata su assunzioni e ipotesi, rispetto a quella realistica; il tumore infatti consiste in una miscela di fasi che include, tra le altre, differenti genotipi e fenotipi cellulari. Nell'approccio multifase, un tumore solido è descritto come un mezzo saturo che comprende una fase solida (cellule, ECM, etc) e una fase liquida (acqua). Il sistema risulta essere governato da equazioni di bilancio di massa e del momento per ciascuna fase, scambi di massa e di moto all'interfaccia tra le fasi, e delle leggi costitutive per chiudere il modello matematico [41].

Nei primi lavori, Please et al [50] applicarono un modello multifase ad un tumore in crescita considerando le cellule cancerogene e il fluido extracellulare come due fasi separate e continue. Breward et al [10] descrissero il cancro attraverso un approccio bifase che comprendeva il tessuto tumorale e il tessuto morto incorporando un modello di adesione del tipo cellula-cellula. Ambrosi e Preziosi [4] svilupparono un modello multifase in cui il tumore viene trattato come un materiale poroso deformabile. Byrne e Preziosi [15] hanno studiato gli effetti della proliferazione cellulare sottoposta a sforzi e a carichi esterni sulla crescita del tumore sferico. Roose et al [56] studiarono lo stato di sforzo generato dallo sviluppo di un tumore solido utilizzando un modello poro-elastico. Green et al svilupparono e analizzarono un modello multifase per investigare l'effetto delle interazioni tra cellule e matrice extracellulare sulla formazione e struttura di aggregati multicellulari in vitro [27]. Più recentemente sono stati sviluppati alcuni modelli multifase di tipo

tridimensionale [7, 66].

3.2.1 Modello a frontiera libera

Per semplicità, si assume che il tumore sia formato da due fasi distinte: una fase solida (le cellule tumorali viventi) ed una fase liquida (il fluido extracellulare in cui le cellule vivono). Ciò significa che si considera la fase avascolare della crescita del tumore e si assume che le cellule morte si trasformino in prodotti di scarto [15, 16]. Il movimento delle cellule e del fluido intercellulare è talmente lento da poter trascurare i termini inerziali e quindi scrivere:

$$\rho_T \left[\frac{\partial \phi_T}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_T \mathbf{v}_T) \right] = \Gamma_T \quad (3.20)$$

$$\rho_l \left[\frac{\partial \phi_l}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_l \mathbf{v}_l) \right] = -\Gamma_T \quad (3.21)$$

$$\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma}_m = 0 \quad (3.22)$$

$$\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma}_T + \mathbf{m}_T = 0 = \nabla \cdot \boldsymbol{\sigma}_l + \mathbf{m}_l \quad (3.23)$$

in cui i pedici T e l rappresentano rispettivamente le quantità associate alla fase cellulare e alla fase liquida. Inoltre, ρ_i , con $i = \{l, m, T\}$ è la densità “reale” cioè la somma della densità del liquido e delle cellule tumorali supposte costanti; ϕ_i è il volume occupato da uno dei due costituenti rispetto al volume totale; \mathbf{v}_i è la velocità del costituente; $\boldsymbol{\sigma}_T$ è il tensore dello sforzo relativo alla fase cellulare e $\boldsymbol{\sigma}_m$ è il tensore dello sforzo della miscela; Γ_T è la sorgente di massa assorbita dalla fase liquida; \mathbf{m}_l è la quantità del momento associato alle interazioni all'interfaccia tra i costituenti. Se la miscela è satura, vale l'introduzione del seguente vincolo geometrico:

$$\sum_{i=1}^N \phi_i = 1 \quad \text{con } i = \{l, m, T\} \quad (3.24)$$

Le equazioni costitutive del sistema in esame possono essere rappresentate tramite un contributo di pressione nel seguente modo:

$$\boldsymbol{\sigma}_T = -\phi_T p \mathbf{I} + \tilde{\boldsymbol{\sigma}}_T \quad (3.25)$$

$$\boldsymbol{\sigma}_m = -p \mathbf{I} + \tilde{\boldsymbol{\sigma}}_T \quad (3.26)$$

$$\mathbf{m}_l = p \nabla \phi_T + \tilde{\mathbf{m}}_T \quad (3.27)$$

La (3.26) implica che l'equazione del momento della miscela (3.22) possa essere scritta nella maniera equivalente:

$$\nabla p = \nabla \cdot \tilde{\boldsymbol{\sigma}}_m \quad (3.28)$$

Ci si focalizza ora sull'equazione costitutiva del tensore degli sforzi $\boldsymbol{\sigma}_T$. È utile introdurre la grandezza $\hat{\boldsymbol{\sigma}}_T$ che dipende dal gradiente di velocità attraverso la sua parte simmetrica \mathbf{D}_T , quindi $\hat{\boldsymbol{\sigma}}_T$ sarà una funzione isotropica di \mathbf{D}_T :

$$\hat{\boldsymbol{\sigma}}_T(\phi_T, \mathbf{D}_T) = (-\Sigma + \lambda_T \nabla \cdot \mathbf{v}_T) \mathbf{I} + 2\mu_T \mathbf{D}_T \quad (3.29)$$

dove Σ, λ, μ sono funzioni del volume parziale ϕ_T .

Analizzando le interazioni all'interfaccia, si può scrivere:

$$\mathbf{m}_T + \mathbf{m}_l = (\boldsymbol{\alpha}_T + \boldsymbol{\alpha}_l)(\Gamma_T - \Gamma_l)(\mathbf{v}_l - \mathbf{v}_T) \quad (3.30)$$

con $\boldsymbol{\alpha}_j$ una costante ($j=T, l$).

Utilizzando la definizione di permeabilità $K = \mu \phi_l^2 / \Lambda_T$, la legge di Darcy assume la seguente forma:

$$\phi_l(\mathbf{v}_l - \mathbf{v}_T) = -\frac{K}{\mu(1-\gamma)} \nabla P \quad (3.31)$$

dove $\gamma = \frac{K \Gamma_T}{2\mu \phi_l^2}$.

Infine, si considera l'evoluzione dei nutrienti. Dal momento che le molecole diffondono in un fluido in movimento e sono assorbite dalle cellule tumorali, la concentrazione dei nutrienti è governata dalla seguente equazione di trasporto-diffusione:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{v}_l) = \nabla \cdot (k_n \nabla n) - \delta_n \phi_T n \quad (3.32)$$

Riassumendo, il modello multifase per uno sferoide cellulare può essere scritto come:

$$\frac{\partial \phi_T}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_T \mathbf{v}_T) = \frac{\Gamma_T}{\rho_T} \quad (3.33)$$

$$\nabla \cdot (\mathbf{v}_T - \hat{K} \nabla p) = \left(\frac{1}{\rho_T} - \frac{1}{\rho_l} \right) \Gamma_T \quad (3.34)$$

$$\nabla p = \frac{\partial \Sigma}{\partial \phi_T} \nabla \phi_T + \nabla (\lambda_T \nabla \cdot \mathbf{v}_T) + \nabla \cdot [\mu_T (\nabla \mathbf{v}_T + (\nabla \mathbf{v}_T)^T)] \quad (3.35)$$

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot \left(n \mathbf{v}_T - \frac{n \hat{K}}{1 - \phi_T} \nabla p \right) = \nabla \cdot (k_n \nabla n) - \delta_n \phi_T n \quad (3.36)$$

L'interfaccia del sistema si muove in accordo con il moto della fase cellulare (Fig. 3.4), pertanto vale:

$$\mathbf{n} \cdot \frac{d \mathbf{x}_T}{dt} = \mathbf{n} \cdot \mathbf{v}_T \quad (3.37)$$

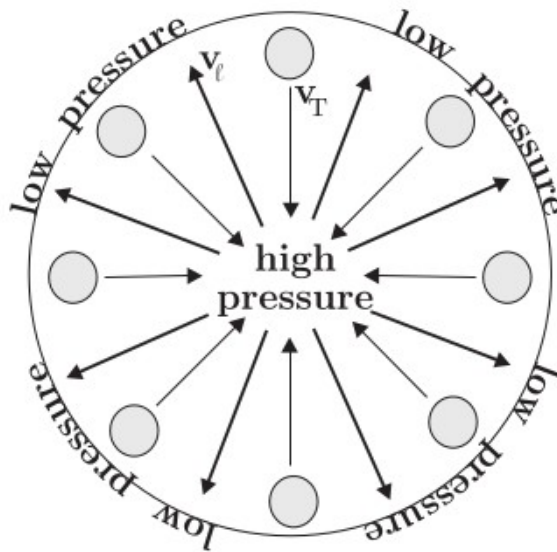


Fig. 3.4. Diagramma schematico che mostra il movimento delle cellule (freccette sottili) e il flusso del fluido extracellulare (freccette spesse) all'interno di un tumore avascolare con simmetria sferica [15].

Le condizioni al bordo dell'interfaccia per chiudere il sistema di equazioni sopra descritto valgono nel caso non viscoso:

$$p = p_{ext}; \quad \Sigma(\phi_T) = \Sigma_{ext} \quad \phi_T = \Sigma^{-1}(\Sigma_{ext}) \quad (3.38)$$

Nel caso in cui il bordo non sia soggetto a sforzo allora:

$$p = 0; \quad \Sigma(\phi_T) = 0 \quad \phi_T = \Sigma^{-1}(0) \quad (3.39)$$

Si impone la condizione di Dirichlet per l'equazione dei nutrienti:

$$n = n_{ext} \quad (3.40)$$

E inoltre:

$$\phi_T = \phi_{ext} \quad (3.41)$$

Di fondamentale importanza risulta essere la scelta della funzione $\Sigma(\phi_T)$. Se le cellule sono adese le une alle altre all'interno del fluido extracellulare, le uniche forze a cui le stesse sono sottoposte sono di compressione e di trazione. Le ipotesi di lavoro del sistema sono le seguenti:

- Due cellule distanti fra loro non interagiscono;
- Se la distanza tra due cellule scende al di sotto di un valore soglia allora si attraggono l'un l'altra;
- Quando due cellule sono attratte l'una all'altra, entra in gioco una forza di adesione;
- Se due cellule sono troppo vicine, sono sottoposte ad una forza di repulsione;
- La forza di repulsione assume un valore infinito nel limite quando le cellule sono impaccate tanto da riempire l'intero volume di controllo.

Una funzione $\Sigma(\phi_T)$ che soddisfa le ipotesi appena elencate è riportata in Fig. 3.5 ed è rappresentabile dalla seguente espressione:

$$\Sigma = \begin{cases} \alpha \frac{(\phi_T - \phi_0)^2 (\phi_T - \phi_2)}{(1 - \phi_T)^\beta} & \text{se } \phi_T > \phi_0 \\ 0 & \text{altrove} \end{cases} \quad (3.42)$$

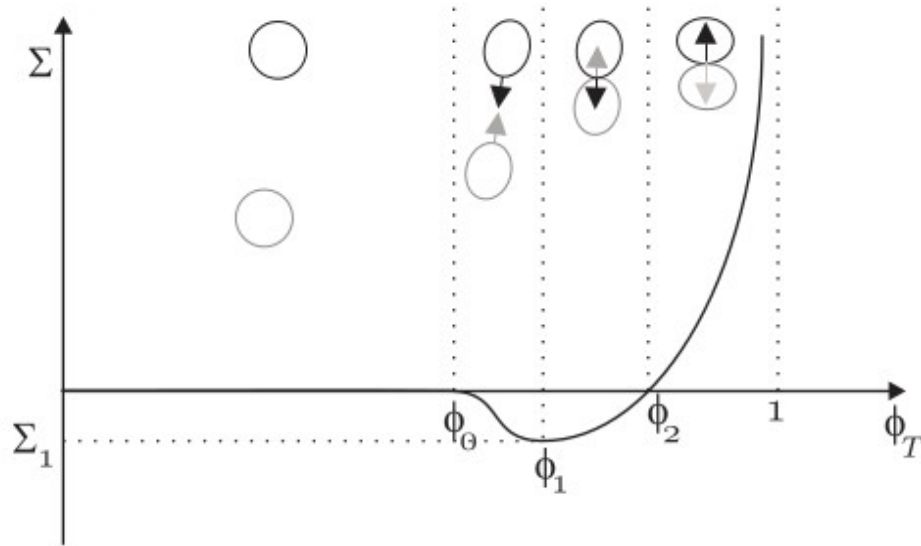


Fig. 3.5. Diagramma che mostra come la funzione $\Sigma(\Phi_T)$ varia con Φ_T . Le frecce nere rappresentano le forze a cui sono soggette le cellule nere grazie alla presenza delle cellule grigie (e viceversa) [15].

La teoria delle miscele per un problema ad interfaccia libera del tipo sopra descritto, permette di considerare, eventualmente, più fasi (e.g., vasi, matrice); permette inoltre di includere strutture all'interfaccia in quanto tracciata esplicitamente.

3.2.2 Modello ad interfaccia diffusa

Per semplicità, si consideri una miscela binaria costituita da una fase solida formata dalle cellule cancerogene, con un volume parziale ϕ_c e una velocità locale media \mathbf{v}_c , ed una fase liquida data dal fluido interstiziale con un volume parziale ϕ_l ed una velocità \mathbf{v}_l che può inoltre contenere le cellule morte ed eventualmente altri tipi cellulari [18]. Entrambe le fasi occupano tutto lo spazio disponibile imponendo il vincolo di saturazione $\phi_c + \phi_l = 1$. Supponendo che la densità delle due fasi sia pari a quella dell'acqua, la conservazione della massa, per la fase solida e la fase liquida, è governata dalle seguenti equazioni:

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) = \Gamma_c \quad (3.43)$$

$$\frac{\partial \phi_l}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_l \mathbf{v}_l) = \Gamma_l \quad (3.44)$$

Supponendo che le cellule che muoiono diventino liquido e che l'accrescimento della componente cellulare avvenga assorbendo del liquido, si può porre $\Gamma_c = -\Gamma_l$. Inoltre il vincolo di saturazione impone la seguente condizione di incomprimibilità:

$$\nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_l \mathbf{v}_l) = 0 \quad (3.45)$$

Le cellule aderiscono le une alle altre per mezzo di molecole di adesione. Si consideri quindi l'interazione tra le cellule caratterizzata dall'energia libera della fase cellulare:

$$F_c = \int_{\Omega} \left(\psi(\phi_c) + \frac{\epsilon^2}{2} |\nabla \phi_c|^2 \right) d\Omega \quad (3.46)$$

dove ψ è l'energia libera per unità di volume per un tessuto omogeneo e ϵ^2 rappresenta l'energia di superficie.

Il movimento relativo delle due fasi è dato da:

$$\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_l = -\frac{(1-\phi_c)}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right) \quad (3.47)$$

In assenza di forze esterne e considerando un'elevata viscosità della miscela, la simmetria del sistema impone che il centro della massa della miscela non sia in movimento, vale a dire $\mathbf{v}_c + \mathbf{v}_l = 0$. In questo caso, la velocità della fase cellulare è data dalle legge di Darcy come segue:

$$\mathbf{v}_c = -K(\phi_c) \nabla \Sigma \quad (3.48)$$

dove:

$$K(\phi_c) = \frac{(1-\phi_c)^2}{M} \quad (3.49)$$

con l'eccesso di pressione esercitata dalle cellule definita da:

$$\Sigma = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c = f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c \quad (3.50)$$

con $f(\phi_c) = \partial \psi / \partial \phi_c$ la pressione in un sistema omogeneo.

La dinamica della fase cellulare è descritta da:

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} = K(\phi_c) \nabla \cdot (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c) + \Gamma_c \quad (3.51)$$

La concentrazione di nutrienti all'equilibrio è data da:

$$D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n + S_n (n_s - n) = 0 \quad (3.52)$$

con S_n un coefficiente di diffusione costante.

Le condizioni al bordo che governano le equazioni del sistema in esame sono:

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial \mathbf{n}} = \frac{\partial \phi_l}{\partial \mathbf{n}} = 0 \quad (3.53)$$

con \mathbf{n} il versore normale, e le seguenti condizioni iniziali:

$$\phi_c(0) = \phi_{c_0} \quad \text{e} \quad \phi_l(0) = \phi_{l_0} \quad (3.54)$$

Il modello ad interfaccia diffusa descritto si discosta molto dalla teoria delle miscele applicata a modelli con frontiera libera in quanto non essendoci un'interfaccia, vengono a mancare le condizioni al bordo da imporre sulla stessa. Il grosso vantaggio è che le condizioni all'interfaccia emergono in maniera naturale; l'aspetto negativo invece è che non essendoci una frontiera libera, la transizione è graduale e non si possono inserire fenomeni all'interfaccia.

Capitolo 4

Analisi di stabilità per un modello meccanico di crescita tumorale

Nel seguente lavoro, verrà presentato un modello meccanico a frontiera libera per descrivere la crescita di un tumore in simmetria sferica nella fase avascolare. Verrà quindi considerato un mezzo poroso che occupa l'intero sistema in esame, nel quale si troveranno localizzate, in domini differenti, le cellule tumorali, le cellule sane e le cellule necrotiche. A seguire, verrà proposta l'analisi di stabilità lineare del problema quasi-stazionario per determinare, in ultima analisi, i diagrammi di dispersione che caratterizzano l'andamento dello sviluppo del fronte tumorale.

4.1 Modello matematico

Si consideri la popolazione cellulare tumorale come un corpo continuo tridimensionale immerso in un mezzo poroso rigido ed omogeneo rappresentante l'ambiente extracellulare (Fig. 4.1). Le cellule tumorali occupano una regione $\Omega_T(t)$, immerse in un dominio spaziale $\Omega_S(t)$ costituito da cellule sane. All'interno della regione $\Omega_T(t)$ si trova il dominio contenente le cellule necrotiche, $\Omega_N(t)$. L'interfaccia libera tra le cellule e l'ambiente esterno è chiamata $\partial\Omega_T(t)$ e rappresenta il fronte tumorale in accrescimento. Si suppone che ai bordi del dominio esterno vi sia la rete vascolare in grado di fornire i nutrienti per la crescita tumorale. Il mezzo poroso è omogeneamente distribuito in $\Omega(t) = \Omega_T(t) \cup \Omega_S(t) \cup \Omega_N(t)$, non si degrada né accresce e non si deforma.

I nutrienti diffondono in tutte le regioni con un coefficiente di diffusione D_n , dal confine esterno fisso $\partial\Omega_S(t)$, e sono consumati dalle cellule tumorali in $\Omega_T(t)$, con una velocità di assorbimento γ_n . Trascurando il decadimento fisiologico della sostanza, la concentrazione per unità di volume della specie chimica in esame, indicata con $n(\mathbf{x}, t)$, obbedisce al seguente sistema di equazioni di reazione-diffusione:

$$\dot{n}(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} D_n \nabla^2 n(\mathbf{x}, t) & \text{in } \Omega_N(t) \\ D_n \nabla^2 n(\mathbf{x}, t) - \gamma_n n(\mathbf{x}, t) & \text{in } \Omega_T(t) \\ D_n \nabla^2 n(\mathbf{x}, t) & \text{in } \Omega_S(t) \end{cases} \quad (4.1)$$

La diffusione dei nutrienti, influenza notevolmente la crescita delle cellule tumorali, e ne influenza anche il movimento attraverso il processo di chemotassi. Considerando una sorgente di massa volumetrica, Γ , e un flusso di massa non convettivo, \mathbf{m} , e prendendo in considerazione una distribuzione omogenea di cellule tumorali all'interno della regione $\Omega_T(t)$, l'equazione di bilancio della massa che rappresenta l'evoluzione della densità della popolazione cellulare, n , segue la relazione seguente:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \mathbf{v} = \nabla \cdot \mathbf{m} + \Gamma \quad \text{in } \Omega_T(t) \quad (4.2)$$

Ci occuperemo di seguito del caso in cui la crescita del tumore avviene per un flusso di massa legato al moto chemotattico delle cellule. Si parla, a tal proposito, di modello di crescita chemotattica: l'espansione della popolazione cellulare tumorale è guidata da un flusso di massa non convettivo e non si verifica alcun processo mitotico all'interno del volume di controllo. Trascurando il movimento casuale delle cellule, si può introdurre una legge costitutiva per il flusso di massa \mathbf{m} in termini chemotattici, vale a dire $\mathbf{m} = \chi \rho \nabla n$, con χ il coefficiente chemotattico.

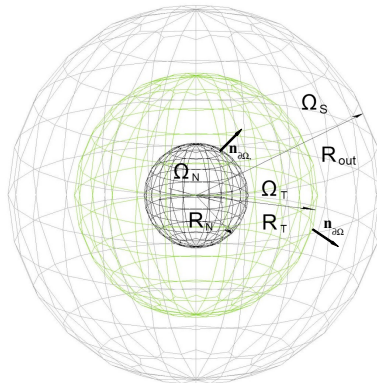


Fig. 4.1. Struttura geometrica tridimensionale del sistema.

Il termine di velocità che compare nell'equazione è associato alle proprietà meccaniche del materiale in esame. Supponendo che l'aggregato vivente possa essere descritto macroscopicamente come un fluido Newtoniano che si muove a velocità molto basse, il moto della popolazione cellulare nel mezzo poroso può essere descritto dalla classica legge di Darcy, che mette in relazione la velocità con il campo di pressione:

$$\mathbf{v} = -k \nabla p \quad (4.3)$$

Con k il coefficiente di permeabilità del materiale. Inoltre, assumendo l'incomprimibilità della materia biologica, che è composta maggiormente di acqua, vale a dire $\partial \rho / \partial t = 0$ nella (4.1), la relazione tra il campo di pressione p e la concentrazione dei nutrienti n è ottenuta introducendo la legge di Darcy (4.3) nell'equazione di bilancio della massa (4.2), e sostituendo la relazione costitutiva per \mathbf{m} . Per una popolazione tumorale omogenea, considerando il modello di crescita chemotattica, si ottiene:

$$\nabla^2 p = -\frac{\chi}{k} \nabla^2 n \quad \text{in } \Omega_T(t) \quad (4.4)$$

Mentre l'equazione del moto all'interfaccia è data da:

$$\mathbf{n}_{\partial \Omega_T} \cdot \frac{d \mathbf{x}_T}{dt} = \mathbf{n}_{\partial \Omega_T} \cdot \mathbf{v} |_{\partial \Omega_T} \quad \text{in } \partial \Omega_T(t) \quad (4.5)$$

Riassumendo, le equazioni (4.1) e (4.4) descrivono l'evoluzione macroscopica del sistema. Tale sistema di equazioni differenziali parziali deve essere completato con una serie di condizioni al bordo. In particolare, per il campo di pressione si assume che l'equazione di Young-Laplace sia valida all'interfaccia mobile $\partial \Omega_T(t)$. Chiamando C la curvatura locale dell'interfaccia mobile, σ la tensione superficiale dell'interfaccia e p_0 la pressione esterna assunta costante, l'equilibrio meccanico è garantito dalla condizione:

$$p |_{\partial \Omega_T} = p_0 - \sigma_T C \quad (4.6)$$

Una seconda condizione da imporre per il campo di pressione definisce la velocità normale all'interfaccia in Ω_N nulla:

$$\mathbf{v} |_{\partial \Omega_N} \cdot \mathbf{n}_{\partial \Omega_N} = 0 \quad \nabla p |_{\partial \Omega_N} \cdot \mathbf{n}_{\partial \Omega_N} = 0 \quad (4.7)$$

Per il campo di concentrazione dei nutrienti valgono le condizioni di continuità della concentrazione o dei flussi in $\partial\Omega_S$, $\partial\Omega$ e $\partial\Omega_N$:

$$n|_{\partial\Omega_S} = n_{out} \quad (4.8)$$

$$[[n]]|_{\partial\Omega_T} = 0 \quad (4.9)$$

$$[[D_n \nabla n]]|_{\partial\Omega_T} \cdot \mathbf{n}_{\partial\Omega_T} = 0 \quad (4.10)$$

$$[[n]]|_{\partial\Omega_N} = 0 \quad (4.11)$$

$$[[D_n \nabla n]]|_{\partial\Omega_N} \cdot \mathbf{n}_{\partial\Omega_N} = 0 \quad (4.12)$$

Nel proseguimento del lavoro si lavorerà con le equazioni adimensionalizzate ottenute riscrivendo il sistema di equazioni (4.1)-(4.4) in termini di variabili adimensionalizzate rispetto alla lunghezza caratteristica l_c , al tempo t_c , alla velocità v_c , alla pressione p_c e alla concentrazione chimica n_c :

$$l_c = \sqrt{D_n \gamma_n^{-1}}, \quad t_c = \gamma_n^{-1}, \quad v_c = \sqrt{D_n \gamma_n}, \quad p_c = D_n k^{-1}, \quad n_c = n_{out}(t=0) \quad (4.13)$$

Il processo di adimensionalizzazione porta alla definizione dei due parametri:

$$\beta = \frac{\chi n_c}{D_n}, \quad \sigma = \sigma_T \frac{k \gamma_n^{1/2}}{D_n^{3/2}} \quad (4.14)$$

Il parametro β rappresenta il rapporto tra l'energia richiesta per l'espansione della popolazione cellulare tumorale e l'energia fornita dai nutrienti, mentre σ dipende dalla tensione superficiale della popolazione cellulare, dalla velocità di assorbimento e dal coefficiente di diffusione.

Il sistema (4.1) si riduce quindi alle seguenti equazioni:

$$\dot{n} = \begin{cases} \nabla^2 n(x, t) & \text{in } \Omega_N \\ \nabla^2 n(x, t) - n(x, t) & \text{in } \Omega_T \\ \nabla^2 n(x, t) & \text{in } \Omega_S \end{cases} \quad (4.15)$$

Mentre l'equazione (4.4) diventa:

$$\nabla^2 p = -\beta \nabla^2 n \quad \text{in } \Omega_T \quad (4.16)$$

con le seguenti condizioni al bordo adimensionali:

$$n|_{\partial\Omega_s}=1 \quad (4.17)$$

$$[[n]]|_{\partial\Omega_T}=0 \quad (4.18)$$

$$[[\nabla n \cdot \mathbf{n}]]|_{\partial\Omega_T}=0 \quad (4.19)$$

$$[[n]]|_{\partial\Omega_N}=0 \quad (4.20)$$

$$[[\nabla n \cdot \mathbf{n}]]|_{\partial\Omega_N}=0 \quad (4.21)$$

$$p|_{\partial\Omega_T}=p_0-\sigma C \quad (4.22)$$

$$\nabla p \cdot \mathbf{n}|_{\partial\Omega_N}=0 \quad (4.23)$$

4.2 Analisi di stabilità lineare

In questo paragrafo si studia la stabilità della soluzione quasi stazionaria, ottenuta assumendo che il processo di diffusione sia più veloce del movimento della popolazione tumorale, così da poter trascurare la derivata in tempo nel sistema (4.15).

L'analisi viene eseguita considerando i seguenti domini, come riportati in Fig. 4.2:

$$\Omega_N(t)=\{(r, \theta, \varphi): r < R_N(t), 0 < \varphi < \pi, 0 < \theta < 2\pi\}$$

nel caso del nucleo necrotico,

$$\Omega_T(t)=\{(r, \theta, \varphi): R_N < r \leq R_T, 0 < \varphi < \pi, 0 < \theta < 2\pi\}$$

nel caso della popolazione cellulare tumorale,

$$\Omega_S(t)=\{(r, \theta, \varphi): R_T < r \leq R_{out}, 0 < \varphi < \pi, 0 < \theta < 2\pi\}$$

nel caso della concentrazione dei nutrienti.

Viene pertanto naturale passare alle coordinate sferiche. Le soluzioni del problema quasi-stazionario dipenderanno solo da r , cioè saranno soluzioni a simmetria radiale

$$n(r, \theta, \varphi)=n(r):$$

$$\nabla^2 n = \underbrace{\frac{\partial^2 n}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n}{\partial r}}_{\text{parte radiale}} + \frac{1}{r^2} \underbrace{\left(\frac{1}{(\sin \varphi)^2} \frac{\partial^2 n}{\partial \theta^2} + \frac{\partial^2 n}{\partial \varphi^2} + \cot \varphi \frac{\partial n}{\partial \varphi} \right)}_{\text{parte sferica (operatore di Laplace - Beltrami)}} \quad (4.24)$$

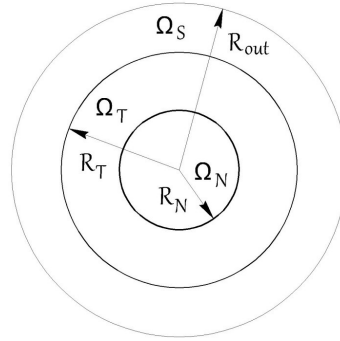


Fig. 4.2. Rappresentazione dei domini utilizzati per l'analisi di stabilità lineare.

L'operatore di Laplace mantiene pertanto solamente la componente radiale ed il problema (4.15) quasi-stazionario diventa:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{\partial^2 n}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n}{\partial r} = 0 & \text{per } r \leq R_N \\ \frac{\partial^2 n}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n}{\partial r} - n = 0 & \text{per } R_N < r \leq R_T \\ \frac{\partial^2 n}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n}{\partial r} = 0 & \text{per } R_T < r \leq R_{out} \end{array} \right. \quad (4.25)$$

Pertanto le soluzioni risultano essere:

$$n^*(r, t) = \left\{ \begin{array}{ll} A_T \frac{e^r}{r} + B_T \frac{e^{-r}}{r} \equiv n_T & \text{per } R_N < r \leq R_T \\ \frac{A_N}{r} + B_N \equiv n_N & \text{per } r \leq R_N \\ \frac{A_S}{r} + B_S \equiv n_S & \text{per } R_T < r \leq R_{out} \end{array} \right. \quad (4.26)$$

Considerando la limitatezza delle concentrazioni, per $r \rightarrow 0$ $A_N = 0$, per cui $n_N = B_N$ e pertanto:

$$n^*(r, t) = \left\{ \begin{array}{ll} A_T \frac{e^r}{r} + B_T \frac{e^{-r}}{r} & \text{per } R_N < r \leq R_T \\ B_N & \text{per } r \leq R_N \\ \frac{A_S}{r} + B_S & \text{per } R_T < r \leq R_{out} \end{array} \right. \quad (4.27)$$

Ponendo $n_0 = A_T \frac{e^{R_r}}{R_T} + B_T \frac{e^{-R_r}}{R_T}$ la concentrazione sul bordo $\partial\Omega_T(t)$ e, imponendo le condizioni (4.17)-(4.21) al sistema di equazioni (4.27), ricavo i coefficienti:

$$A_S = \frac{R_T R_{out}(n_0 - 1)}{R_{out} - R_T} \quad (4.28)$$

$$B_S = \frac{R_{out} - R_T n_0}{R_{out} - R_T} \quad (4.29)$$

$$A_T = -\frac{e^{R_r}(R_N + 1)R_{out}}{den} \quad (4.30)$$

$$B_T = -\frac{e^{2R_N + R_r}(R_N - 1)R_{out}}{den} \quad (4.31)$$

$$B_N = -\frac{2e^{R_N + R_r}R_{out}}{den} \quad (4.32)$$

con:

$$den = (e^{2R_N} - e^{2R_r})(1 + R_N R_{out} - R_N R_T) - (e^{2R_N} + e^{2R_r})(R_N + R_{out} - R_T)$$

Noto $n^*(r, t)$ posso calcolare il campo di pressione quasi-stazionario $p^*(r, t)$.

Risolvendo la (4.16) del sistema adimensionalizzato ricavo:

$$p = \frac{E}{r} + K - \beta n \quad (4.33)$$

Imponendo la (4.22) e la (4.23) nella (4.33), si ricavano le costanti:

$$E = 0 \quad (4.34)$$

$$K = \frac{\sigma}{R_T} + \beta n_0 \quad (4.35)$$

Attraverso la (4.3) è possibile calcolare la velocità quasi-stazionaria del fronte che è diretta

radialmente, cioè $\mathbf{v} = v_r \cdot \mathbf{e}_r$, con $v_r = -\frac{\partial}{\partial r} p|_{R_T}$:

$$v_r = \beta A_T \left(\frac{e^{R_r}}{R_T} - \frac{e^{R_r}}{R_T^2} \right) - \beta B_T \left(\frac{e^{-R_r}}{R_T} + \frac{e^{-R_r}}{R_T^2} \right) \quad (4.36)$$

A questo punto, è possibile perturbare il sistema.

4.3 Perturbazione della soluzione quasi-stazionaria

Chiamiamo $R_T=R^*$ la posizione dell'interfaccia non perturbata. Si consideri una perturbazione dell'interfaccia mobile del tipo:

$$R(\theta, \varphi, t) = \underbrace{R^*}_{\text{posizione stazionaria}} + \underbrace{\varepsilon e^{\lambda t} Y_l^m(\varphi, \theta)}_{\text{perturbazione}} \quad (4.37)$$

con l'amplificazione definita da $\lambda \varepsilon$ e l'armonica sferica definita da $Y_l^m(\varphi, \theta)$, con $|m| \ll l$ e $|\varepsilon| \ll 1$.

L'introduzione delle armoniche sferiche è indispensabile in questo contesto al fine di voler risolvere equazioni in coordinate sferiche. Infatti, le armoniche sferiche rappresentano delle funzioni definite su una sfera, e sono la controparte della serie di Fourier in 1D.

In generale, i campi perturbati della concentrazione (valido per la concentrazione calcolata in ognuno dei tre domini, n_N, n_T, n_S) e della pressione, possono essere scritti nella forma:

$$n(r, \theta, \varphi, t) = n^*(r, t) + \varepsilon n_1(r) e^{\lambda t} Y_l^m(\varphi, \theta) \quad (4.38)$$

$$p(r, \theta, \varphi, t) = p^*(r, t) + \varepsilon p_1(r) e^{\lambda t} Y_l^m(\varphi, \theta) \quad (4.39)$$

Dal problema espresso nella (4.1), e sfruttando la seguente relazione:

$$\nabla_{\Omega}^2 Y_l^m(\varphi, \theta) + l(l+1) Y_l^m(\varphi, \theta) = 0 \quad (4.40)$$

dove $\nabla^2 \Psi = \underbrace{\nabla_r^2 \Psi}_{\text{parte radiale}} + \underbrace{\frac{1}{r^2} \nabla_{\Omega}^2 \Psi}_{\text{parte angolare}}$, si ottiene che la concentrazione n_l della (4.38) è

soluzione delle seguenti ODE:

$$\frac{\partial n_{1S}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n_{1S}}{\partial r} - (\lambda r^2 + l(l+1)) n_{1S} = 0 \quad \text{se } R_T < r \leq R_{out} \quad (4.41)$$

$$\frac{\partial n_{1T}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n_{1T}}{\partial r} - [(\lambda + 1)r^2 + l(l+1)] n_{1T} = 0 \quad \text{se } R_N < r \leq R_T \quad (4.42)$$

$$\frac{\partial n_{1N}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial n_{1N}}{\partial r} - (\lambda r^2 + l(l+1)) n_{1N} = 0 \quad \text{se } r \leq R_N \quad (4.43)$$

Indicando con $i_l(r)$ la funzione di Bessel sferica modificata del primo ordine e $k_l(r)$ la funzione di Bessel sferica modificata del secondo ordine, le soluzioni della (4.41)-(4.43) sono, rispettivamente:

$$n_{1S}(r) = A i_l(r\sqrt{\lambda}) + B k_l(r\sqrt{\lambda}) \quad (4.44)$$

$$n_{1T}(r) = C i_l(r\sqrt{\lambda+1}) + D k_l(r\sqrt{\lambda+1}) \quad (4.45)$$

$$n_{1N}(r) = F i_l(r\sqrt{\lambda}) \quad (4.46)$$

I coefficienti che appaiono nelle espressioni (4.44)-(4.46) possono essere determinati dalla condizione al bordo:

$$n_1(R_{out}) = 0 \quad (4.47)$$

e dalle condizioni di continuità sul bordo:

$$\llbracket n_1 \rrbracket |_{R_T} = 0 \quad (4.48)$$

$$\left\llbracket \frac{\partial n_1}{\partial r} \right\rrbracket |_{R_T} = n_0 \quad (4.49)$$

$$\llbracket n_1 \rrbracket |_{R_N} = 0 \quad (4.50)$$

$$\left\llbracket \frac{\partial n_1}{\partial r} \right\rrbracket |_{R_N} = 0 \quad (4.51)$$

che si ottengono dalle condizioni al bordo (4.17)-(4.21) tramite opportuni sviluppi in serie di Taylor e considerando solo termini del primo ordine.

I conti per determinare i coefficienti che appaiono nelle espressioni (4.44)-(4.46) sono stati sviluppati implementando un opportuno codice in *Mathematica*.

Il campo di pressione perturbato può essere determinato a partire dalla (4.16) e dalla condizione espressa nella (4.40):

$$r^2 \frac{\partial h_1^2}{\partial r^2} + 2r \frac{\partial h_1}{\partial r} - h_1[l(l+1)] = 0 \quad (4.52)$$

con $h_1 = p_1 + \beta n_{1T}$.

La soluzione della (4.52) nota come equazione di Eulero-Cauchy, è data da:

$$h_1(r) = Q r^l + W r^{-l-1} \quad (4.53)$$

Il campo di pressione avrà quindi l'espressione:

$$p_1(r) = Q r^l + W r^{-l-1} - \beta [C i_l(r \sqrt{\lambda+1}) + D k_l(r \sqrt{\lambda+1})] \quad (4.54)$$

I coefficienti che appaiono nell'espressione (4.54) possono essere determinati dalla condizione al bordo (4.22) che può essere riscritta nella seguente forma equivalente:

$$p|_{R_T + \varepsilon e^{\lambda t} Y_T^m(\varphi, \theta)} = p_0 - \sigma C|_{R_T + \varepsilon e^{\lambda t} Y_T^m(\varphi, \theta)} \quad (4.55)$$

$$\text{con } C|_{R_T + \varepsilon e^{\lambda t} Y_T^m(\varphi, \theta)} = \frac{1}{R_T} - \frac{\varepsilon e^{\lambda t} Y_T^m(\varphi, \theta)}{2 R_T^2} (2 - (l+1)l).$$

Pertanto si ottiene:

$$p_1|_{R_T} = -\frac{\sigma}{2 R_T^2} (2 - (l+1)l) - \frac{\partial p}{\partial r}|_{R_T} \quad (4.56)$$

Altra condizione da imporre è:

$$\llbracket \nabla p \cdot \mathbf{n} \rrbracket|_{R_N} = 0 \quad \frac{\partial p_1}{\partial r}|_{R_N} = 0 \quad (4.57)$$

Imponendo la (4.56) e la (4.57) nella (4.54) si ricavano i coefficienti Q e W:

$$\begin{aligned} Q = & - \{ R_N^{(-2l-1)} \sigma (2 - (l+1)l) l (2l+1) - 2\beta l (2l+1) R_N^{(-2l-1)} [C e^{R_T} (R_T - 1) + \\ & - D e^{-R_T} (R_T + 1)] - 2\beta l (2l+1) R_N^{(-2l-1)} R_T^2 [C i_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) + D k_l(R_T \sqrt{\lambda+1})] + \\ & + 2\beta R_T R_N^{-l} (2 R_T^{(l+1)} R_N^{(-2l-1)} + R_T^{-l}) [C (l(2l+1) i_l(R_N \sqrt{\lambda+1}) + \sqrt{\lambda+1} R_N i_{l+1}(R_N \sqrt{\lambda+1})) + \\ & + D (l(2l+1) k_l(R_N \sqrt{\lambda+1}) - \sqrt{\lambda+1} R_N k_{l+1}(R_N \sqrt{\lambda+1}))] \} / 2l(2l+1) R_T (R_T^{(l+1)} R_N^{(-2l-1)} + R_T^l) \end{aligned} \quad (4.58)$$

$$\begin{aligned} W = & - \{ \sigma (2 - (l+1)l) l (2l+1) - 2\beta l (2l+1) [C e^{R_T} (R_T - 1) + D e^{-R_T} (R_T + 1)] + \\ & - 2\beta l (2l+1) R_T^2 [C i_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) + D k_l(R_T \sqrt{\lambda+1})] + \\ & + 2\beta R_T^{(l+2)} R_N^{-l} [C (l(2l+1) i_l(R_N \sqrt{\lambda+1}) + \sqrt{\lambda+1} R_N i_{l+1}(R_N \sqrt{\lambda+1})) + \\ & + D (l(2l+1) k_l(R_N \sqrt{\lambda+1}) - \sqrt{\lambda+1} R_N k_{l+1}(R_N \sqrt{\lambda+1}))] \} / 2l(2l+1) R_T (R_T^{(l+1)} R_N^{(-2l-1)} + R_T^l) \end{aligned} \quad (4.59)$$

Infine si può determinare l'equazione di dispersione imponendo la condizione all'interfaccia mobile, che porta:

$$\lambda = -p^{*''}(R_T) - p_1'(R_T) \quad (4.60)$$

con:

$$p_1'(R_T) = QI R_T^{(-l-1)} - WI R_T^{(-l-2)} + \quad (4.61)$$

$$- \beta \left[C \left(\frac{l}{R_T} i_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) + \frac{\sqrt{\lambda+1}}{2l+1} i_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) \right) + D \left(\frac{l}{R_T} k_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) + \frac{\sqrt{\lambda+1}}{2l+1} k_l(R_T \sqrt{\lambda+1}) \right) \right]$$

$$p^{*''}(R_T) = \beta n_T^{*''}(R_T) \quad (4.62)$$

$$n_T^{*''}(R_T) = A_T \frac{e^{R_T}}{R_T^2} [R_T(R_T-2)(R_T-1)+1] + B_T \frac{e^{-R_T}}{R_T^2} [R_T(R_T+2)(R_T+1)-1] \quad (4.63)$$

L'equazione di dispersione (4.60) lega l'ampiezza di λ alle funzioni armoniche sferiche, come funzione dei parametri adimensionali β , σ , R_T , R_N e R_{out} .

4.4 Analisi di sensitività

L'equazione di dispersione (4.60) è funzione dei cinque parametri che descrivono l'evoluzione del sistema, β , σ , R_T , R_{out} , R_N . In particolare, i parametri β , σ , sono legati alle caratteristiche chimiche e meccaniche, mentre i parametri R_T , R_{out} , R_N sono legati alle dimensioni delle strutture rispetto alla lunghezza diffusiva.

I diagrammi di dispersione ottenuti attraverso la relazione (4.60) sono riportati nelle Fig. 4.3, Fig. 4.5(a)-(c), Fig. 4.8(a)-(c), Fig. 4.11(a)-(c). Si introducono a tal proposito i concetti di *modi stabili* e *modi instabili*:

- Modi instabili ($\lambda > 0$): si definiscono modi instabili i modi (l, m) per i quali il fattore di amplificazione λ , calcolato attraverso l'equazione di dispersione, sia positivo. Infatti, una piccola perturbazione dell'interfaccia tra lo sferoide tumorale e l'ambiente circostante verrà amplificata, portando a drastiche modifiche della morfologia del tumore stesso. Se anche un solo modo (l, m) ha $\lambda > 0$, allora il sistema è linearmente instabile;

- Modi stabili ($\lambda < 0$): si definiscono modi stabili i modi (l, m) per i quali il fattore di amplificazione λ , calcolato attraverso l'equazione di dispersione, sia negativo. In questo caso, alcuna perturbazione dell'interfaccia tra lo sferoide tumorale e l'ambiente circostante verrà amplificata, mantenendo la morfologia del tumore in uno stato di equilibrio. Se tutti i modi (l, m) rispettano la condizione $\lambda < 0$, il sistema è detto linearmente stabile.

Inoltre si definisce il *modo caratteristico* (l, m) come il modo per cui l'ampiezza di λ è massima. Nei diagrammi di dispersione a seguire, la componente l del modo caratteristico (l, m) varierà lungo le righe mentre la componente m varierà lungo le colonne.

➤ Varia β

Si fa variare β rispetto al suo valore iniziale di riferimento. I valori numerici imposti per effettuare questa analisi sono $R_{out}=20$, $R_T=5$, $R_N=0.2$, $\sigma=0.01$, mentre i valori per cui si fa variare β sono: $\beta=5$ (Fig. 4.5(a)), $\beta=10$ (Fig. 4.5(b)), $\beta=20$ (Fig. 4.5(c)).

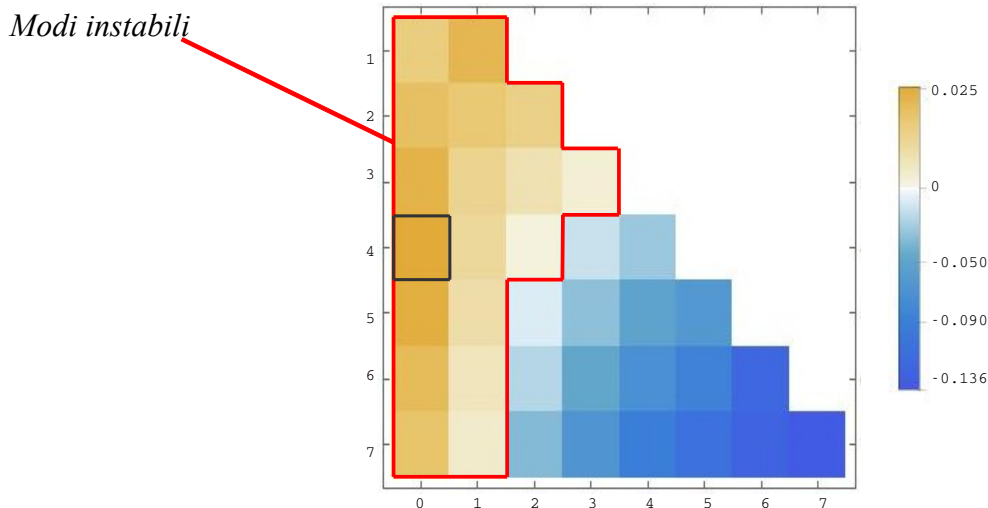


Fig. 4.3. Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda > 0$) e modi stabili ($\lambda < 0$).

Interfaccia perturbata associata all'instabilità massima

$$l=4, m=0$$

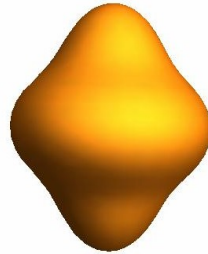


Fig. 4.4. Interfaccia perturbata con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nel diagramma di dispersione riportato in Fig. 4.3.

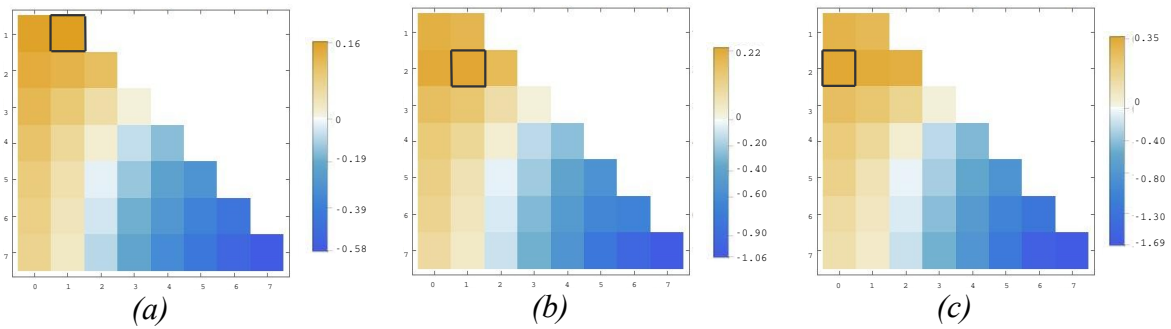


Fig. 4.5. Diagrammi di dispersione ottenuti variando il parametro β : (a) $\beta=5$, (b) $\beta=10$, (c) $\beta=20$.

L'aumentare di β comporta un aumento in termini di energia all'interfaccia tra il fronte tumorale e i nutrienti. Si nota un aumento del valore dell'ampiezza massima di λ nelle tre analisi: $\lambda=0.1$. (a), $\lambda=0$. (b), $\lambda=0.30$ (c) a cui segue un aumento dell'amplificazione del sistema; i modi instabili più rilevanti a titolo esplicativo, sono per $l=1$ e $m=1$ (Fig. 4.5(a)), $l=2$ e $m=1$ (Fig. 4.5(b)), $l=2$ e $m=0$ (Fig. 4.5(c)).

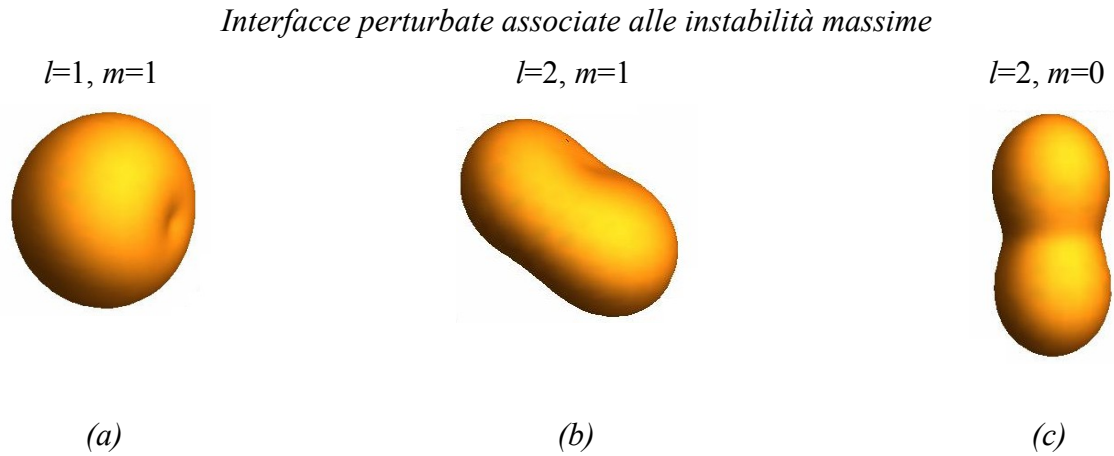


Fig. 4.6. Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.5.

➤ **Varia σ**

Si fa variare σ rispetto al suo valore iniziale di riferimento. I valori numerici imposti per effettuare questa analisi sono $R_{out}=20$, $R_T=5$, $R_N=0.2$, $\beta=1$, mentre i valori numerici per cui si fa variare σ sono: $\sigma=0.1$ (Fig. 4.8(a)), $\sigma=1$ (Fig. 4.8(b)), $\sigma=10$ (Fig. 4.8(c)).

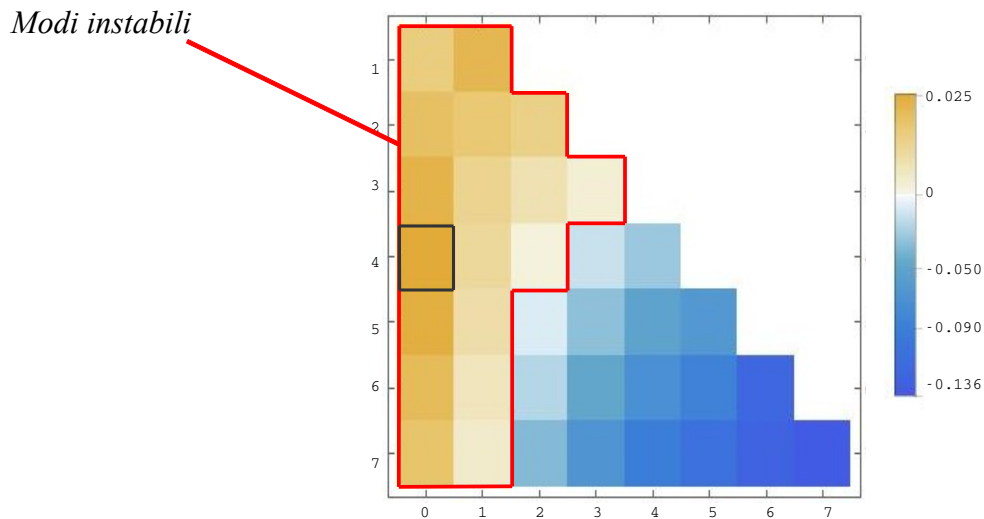


Fig. 4.7. Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda>0$) e modi stabili ($\lambda<0$).

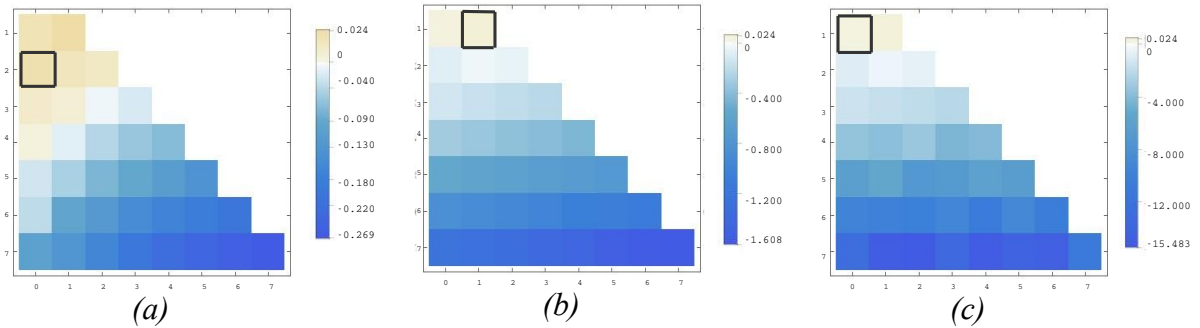


Fig. 4.8. Diagrammi di dispersione ottenuti variando il parametro σ : (a) $\sigma=0.1$, (b) $\sigma=1$, (c) $\sigma=10$.

Una variazione di σ comporta un'instabilità del fronte tumorale. Infatti, al suo aumento, nonostante diminuiscano man mano i modi instabili, la presenza di anche uno solo di questi comporta un effetto di non stabilità. Si nota un valore costante dell'ampiezza massima di λ (~ 0.024) nelle tre analisi riportate, mentre le principali instabilità si hanno per $l=2$ e $m=0$ (Fig. 4.8(a)), per $l=1$ e $m=1$ (Fig. 4.8(b)) e per $l=1$ e $m=0$ (Fig. 4.8(c)).

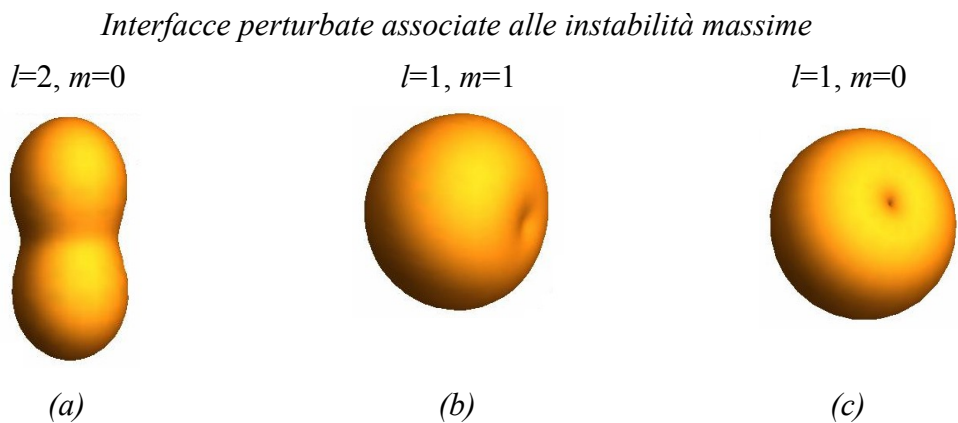


Fig. 4.9. Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.8.

➤ **Variano R_{out} e R_T**

Si fanno variare R_{out} e R_T rispetto al loro valore iniziale di riferimento. In particolare, si

mantiene costante il loro rapporto $q=R_{out}/R_T$ e si aumentano di pari passo le variazioni. I valori numerici imposti per effettuare questa analisi sono $R_N=0.2$, $\beta=1$, $\sigma=0.01$, mentre i valori di R_{out} e R_T sono: $R_{out}=40$ e $R_T=10$ (Fig. 4.11(a)), $R_{out}=70$ e $R_T=17.5$ (Fig. 4.11(b)), $R_{out}=100$ e $R_T=25$ (Fig. 4.11(c)).

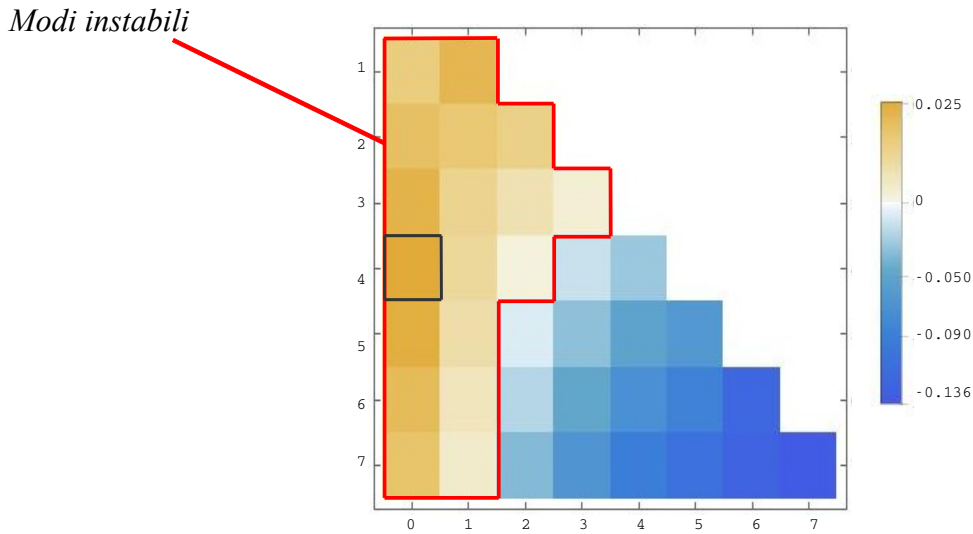


Fig. 4.10. Diagramma di dispersione per valori iniziali dei parametri del modello fissati con modi instabili ($\lambda > 0$) e modi stabili ($\lambda < 0$).

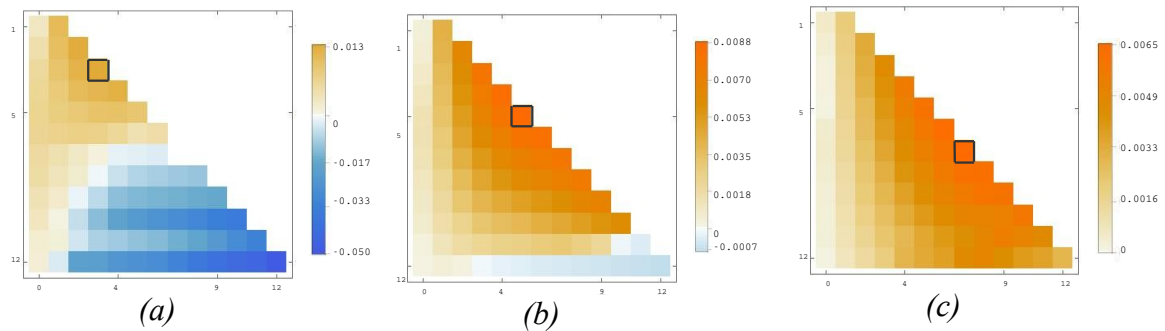


Fig. 4.11. Diagrammi di dispersione ottenuti mantenendo costante q e aumentando di pari passo i parametri R_{out} e R_T : (a) $R_{out}=40$ e $R_T=10$, (b) $R_{out}=75$ e $R_T=17.5$, (c) $R_{out}=100$ e $R_T=25$.

L'aumento dei parametri dimensionali, comporta un fenomeno di instabilità nelle tre analisi effettuate, con una diminuzione del valore dell'ampiezza massima di λ : $\lambda=0.013$ (a),

$\lambda=0.0011$ (b), $\lambda=0.00. 0$ (c). Questa analisi determina uno sviluppo del sistema in termini di crescita oppure una diminuzione della distanza di diffusione. I modi instabili più rilevanti a titolo esplicativo, sono per $l=3$ e $m=3$ (Fig. 4.11(a)), $l=5$ e $m=5$ (Fig. 4.11(b)), $l=7$ e $m=7$ (Fig. 4.11(c)).

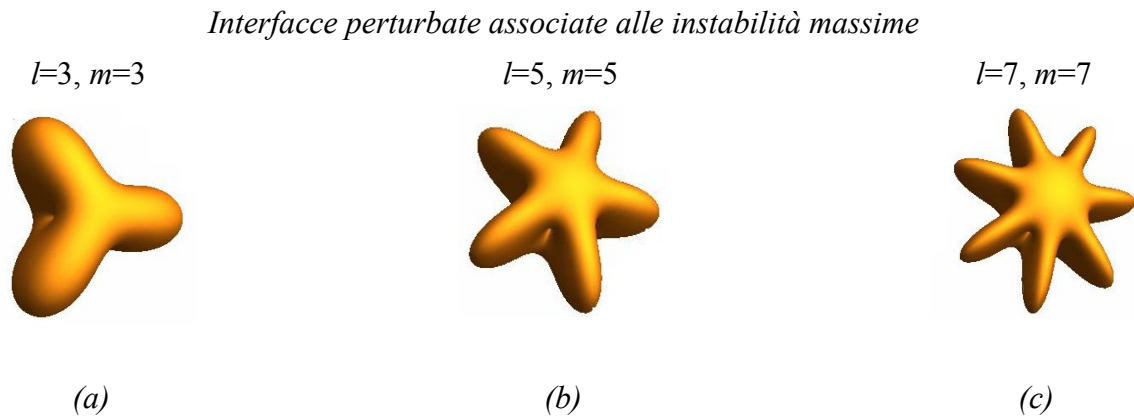


Fig. 4.12. Interfacce perturbate con parte reale dell'armonica sferica relativa al modo caratteristico individuato nei diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.11.

4.5 Discussioni

L'analisi di stabilità lineare del problema quasi-stazionario porta alla definizione dell'equazione di dispersione e dei relativi diagrammi, i quali riportano il valore massimo dell'amplificazione nel tempo della perturbazione, λ , al variare dei modi (l, m) delle armoniche sferiche in cui la perturbazione iniziale può essere decomposta. I diagrammi di dispersione riportati in Fig. 4.3, Fig. 4.5, Fig. 4.8 e Fig. 4.11, per diversi valori dei parametri adimensionali, mostrano come il fronte tumorale sia sempre instabile, essendo il λ relativo al modo $l=1$ positivo, per qualsiasi scelta dei parametri.

Infatti, nonostante un aumento del parametro σ abbia un effetto stabilizzante sulla propagazione delle perturbazioni (si veda Fig. 4.8), comportando una diminuzione del range dei modi instabili, l'instabilità relativa alle armoniche Y_2^0, Y_1^1, Y_1^0 porterà, in ogni caso, ad un'evoluzione instabile del profilo sferico tumorale. In particolare nel caso dei

parametri utilizzati in Fig. 4.8, il modo caratteristico individuato dall'armonica sferica

Y_1^1 porterà ad una traslazione del centro di massa del tumore, il cui fronte tenderà ad assumere una configurazione prossima a quella riportata in Fig. 4.9(b). Biologicamente, i diagrammi riportati in Fig. 4.8 mostrano come una minore tensione superficiale dello sferoide tumorale o una minore permeabilità dell'ambiente circostante portino all'insorgenza di morfologie complesse caratterizzate dall'instabilità di modi più elevati.

Per quanto riguarda β , l'altro parametro meccano-chimico del modello, si può osservare da Fig. 4.5 come il range dei modi instabili risulta invariato al suo aumento. Dall'analisi condotta, il parametro β influenza il modo caratteristico dell'instabilità (che comunque si verifica per bassi valori di l ed m), e soprattutto l'amplificazione λ della perturbazione.

Infatti, all'aumentare di β , la perturbazione verrà rapidamente amplificata contestualmente alla maggiore velocità di espansione del fronte (vedi eq. (4.36)). Questo parametro rappresenta il rapporto tra l'energia richiesta per l'espansione chemotattica della popolazione cellulare tumorale e l'energia fornita dai nutrienti tramite la loro diffusione, pertanto colonie tumorali maggiormente sensibili allo stimolo chemotattico vedranno una maggiore amplificazione nel tempo di eventuali piccole perturbazioni dell'interfaccia. Allo stesso modo, ambienti in cui la diffusione dei nutrienti sia limitata, porteranno alla rapida insorgenza di instabilità al bordo tumore-ambiente circostante.

Infine, risulta interessante osservare come si comporta il sistema al variare dei parametri geometrici, legati alla grandezza delle strutture rispetto alla lunghezza diffusiva dei nutrienti. In particolare, il diagramma di dispersione riportato in Fig. 4.11 mostra come all'aumentare dei parametri adimensionali R_{out} e R_T (mantenendo costante il loro rapporto), si assista ad un aumento considerevole del range dei modi instabili e ad un modo caratteristico individuato da l ed m via via crescenti (Fig. 4.11(a) modo caratteristico individuato da $l=3$ e $m=3$ con $R_{out}=40$ e $R_T=10$, Fig. 4.11(b) modo caratteristico con $l=5$ e $m=5$ con $R_{out}=70$ e $R_T=17.5$, ed infine Fig. 4.11(c) modo caratteristico con $l=7$ e $m=7$ con $R_{out}=100$ e $R_T=25$). La Figura 4.12 riporta il profilo del tumore perturbato con il modo caratteristico individuato dai diagrammi in Fig. 4.11: si osserva come all'aumentare dei

parametri legati alla grandezza delle strutture si assiste allo sviluppo di un maggior numero di protuberanze/fingers. Pertanto nel caso di tumori avascolari di dimensioni maggiori o nel caso di lunghezze diffusive dei nutrienti molto ridotte, sarà possibile osservare l'insorgenza di un numero maggiore di fingers all'interfaccia.

Va osservato che i risultati ottenuti, riguardano il caso quasi-stazionario e non tengono conto dell'insorgenza di fenomeni legati alla non-linearità del problema. Pertanto, sarebbe interessante studiare tale modello nel caso non stazionario, mediante apposite simulazioni numeriche, in quanto non risulta possibile la trattazione analitica.

Conclusioni

Dopo aver condotto uno studio della biologia tumorale e un'analisi dei modelli matematici continui presenti in letteratura per la descrizione dell'evoluzione dei tumori, in questo lavoro di tesi è stato proposto un modello meccanico continuo ad interfaccia libera per descrivere il processo di espansione di un tumore avascolare all'interno dell'ambiente circostante. La dinamica del modello è descritta da parametri mecano-chimici e da parametri geometrici, che tengono conto delle interazioni meccaniche e chimiche tra cellule tumorali ed ambiente circostante, della diffusione dei nutrienti e della geometria del sistema. L'analisi di stabilità lineare del problema quasi-stazionario in simmetria sferica ha portato alla definizione dell'equazione di dispersione e dei relativi diagrammi, che consentono di determinare i modi instabili e quelli stabili e l'eventuale esistenza di un modo caratteristico. Tale analisi ha dimostrato come il fronte tumorale sia sempre instabile, per qualsiasi scelta dei parametri. In particolare un aumento del parametro mecano-chimico β , rappresentate il rapporto tra l'energia richiesta per l'espansione chemotattica della popolazione tumorale e l'energia fornita dalla diffusione dei nutrienti, influenza la dinamica di amplificazione del fronte perturbato, senza però andare a modificare il range dei modi instabili/stabili. Al contrario, una diminuzione del parametro mecano-chimico σ o un aumento dei parametri geometrici del sistema, determina un comportamento instabile del fronte per un maggior numero di modi. I risultati confermano pertanto l'effetto stabilizzante della tensione superficiale che agisce all'interfaccia tra cellule tumorali ed ambiente circostante. L'aumento dei parametri geometrici del sistema porta, invece, ad un drastico cambiamento del modo caratteristico, evidenziando la formazione di un numero maggiore di "fingers" nei casi in cui la dimensione delle strutture sia molto superiore alla lunghezza diffusiva dei nutrienti.

Sviluppi futuri di questo lavoro dovranno riguardare la determinazione dei parametri del modello da prove sperimentali, per poter stabilire se le situazioni predette dal modello possono essere osservate biologicamente. Le predizioni dell'analisi di stabilità lineare andranno poi confrontate con opportune simulazioni numeriche ottenute per il problema non stazionario, nel caso non lineare.

Bibliografia

- [1] Adam J. A. (1988). *A mathematical model of tumor growth by diffusion*. Math. Comput. Modelling, **11**, 455-456.
- [2] Adams J. M. and Cory S. (2007). *The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy*. Oncogene, **26**, 1324–1337.
- [3] Ambrosi D. and Mollica F. (2002). *On the mechanics of a growing tumor*. Int. Journal of Eng. Science, **40**, 1297-1316.
- [4] Ambrosi D. and Preziosi L. (2002). *On the closure of mass balance models for tumor growth*, Math. Models. Methods Appl. Sci., **12**, 737-754.
- [5] Anderson A. R. A., Chaplain M. A. J., New Man L., Steele R. J. C., Thompson A. M. (2000). *Mathematical Modelling of Tumour Invasion and Metastasis*, **2**, 129-154.
- [6] Araujo R. P. and McElwain D. L. S. (2004). *A History of the Study of Solid Tumour Growth: the Contribution of Mathematical Modelling*, Bull. Math.Biol., **66**, 1039–1091.
- [7] Bearer E. L., Lowengrub J. S., Chuang Y. L., Frieboes H. B., Jin F., Wise S. M., Ferrari M., Agus D. B., Cristini V. (2009). *Multiparameter computational modeling of tumor invasion*, Cancer Res., **69**, 4493–4501.
- [8] Bearss D. J., Hurley L. H. and Von Hoff D. D., *Telomere maintenance mechanisms as a target for drug development*. Oncogene, **19**, 6632-6641.
- [9] Bhowmick N.A., Neilson E.G. and Moses H.L. (2004). *Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression*. Nature, **432**, 332–337.
- [10] Breward C. J. W., Byrne H. M., Lewis, C. E. (2003). *A multiphase model describing vascular tumour growth*, Bull. Math. Biol., **1**, 1-28.
- [11] Burningham et al. (2012). *The Epidemiology of Sarcoma*, Clinical Sarcoma Res., **2**, 1-16.
- [12] Byrne H. M., Chaplain M. A. J. (1997). *Free boundary value problems associated with the growth and development of multicellular spheroids*, Eur. J. Appl. Math., **8**, 639-658.

-
- [13] Byrne H. M., Chaplain M. A. J., (1995). *Growth of nonnecrotic tumors in the presence and absence of inhibitors*, Math. Biosci., **130**, 151-181.
- [14] Byrne H. M., Chaplain M. A. J., (1996). *Growth of necrotic tumors in the presence and absence of inhibitors*, Math. Biosci., **135**, 187-216.
- [15] Byrne H. M., Preziosi L., (2003). *Modelling solid tumour growth using the theory of mixtures*, Math. Med. and Biol., **20**, 341-366.
- [16] Byrne H., King, McElwain, Preziosi L. (2003). *A two-phase model of solid tumor growth*, App. Math., **16**, 567–573.
- [17] Chaplain M. A. J., Stuart A. M., (1993). *A model mechanism for the chemotactic response of endothelial cells to tumour angiogenesis factor*, IMA J. Appl. Med. Bio., **10**, 149-168.
- [18] Chatelain C., Balois T., Ciarletta P. and Ama B. M. (2011). *Emergence of microstructural patterns in skin cancer: a phase separation analysis in a binary mixture*, New Journal of Physics, **13**, 1-21.
- [19] Cheng N., Chytil A., Shyr Y., Joly A. and Moses H.L. (2008). *Transforming growth factor-beta signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion*. Mol. Cancer Res., **6**, 1521–1533.
- [20] Colotta F., Allavena P., Sica A., Garlanda C., and Mantovani A. (2009). *Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability*. Carcinogenesis, **30**, 1073–1081.
- [21] Cristini V. and Lowengrub J. (2010). *Multiscale modeling of cancer-An Integrated Experimental And Mathematical Modeling Approach*. Cambridge University Press, 8-23.
- [22] Cristini V., Lowengrub J., Nie Q., (2003). *Non linear simulation of tumor growth*, J. Math. Biol., **46**, 191-224.
- [23] De Visser K.E., Eichten A., and Coussens L.M. (2006). *Paradoxical roles of the immune system during cancer development*. Nat. Rev. Cancer, **6**, 24–37.

-
- [24] DeNardo D.G., Andreu P. and Coussens L.M. (2010). *Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity*. *Cancer Metastasis Rev.*, **29**, 309–316.
- [25] Folkman J., P. Cole, S. Zimmerman (1966). *Tumor behavior in isolated perfused organs: in vitro growth and metastases of biopsy material in rabbit thyroid and canine intestinal segment.*, *Ann. Surg.*, **164**, 491–502.
- [26] G. Kroemer et al. (2009). *Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009*. *Cell Death and Differentiation*, **16**, 3-11.
- [27] Green J. E. F., Waters S. L., Shakesheff K. M., Byrne H. M. (2009). *A mathematical model of liver cell aggregation in vitro* *Bull. Math. Biol.*, **71**, 906–930.
- [28] Greene H. S. N. (1941). *Heterologous transplantation of mammalian tumors*. *J. Exp. Med.*, **73**, 475–486.
- [29] Greenspan H. P. (1972). *Models for the growth of a solid tumor by diffusion*, *Stud. Appl. Math.*, **4**, 317-340.
- [30] Hanahan D. and Folkman J. (1996). *Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis*. *Cell.*, **86**, 353–364.
- [31] Hanahan D. and Weinberg R. A. (2011), *Hallmarks of Cancer: The Next Generation*. *Cell.*, **144**, 646-674.
- [32] Hardee, M.E., Dewhirst, M.W., Agarwal, N., and Sorg, B.S. (2009). *Novel imaging provides new insights into mechanisms of oxygen transport in tumors*. *Curr. Mol. Med.*, **9**, 435–441.
- [33] Holzapfel G. A. (2000). *Nonlinear Solid Mechanics: A Continuum Approach for Engineering*, Wiley.
- [34] Hugo H., Ackland M.L., Blick T., Lawrence M.G., Clements J.A., Williams E.D., and Thompson E.W. (2007). *Epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions in carcinoma progression*. *J. Cell. Physiol.*, **213**, 374–383.
- [35] Jackson S.P. and Bartek J. (2009). *The DNA-damage response in human biology and*

- disease. *Nature*, **461**, 1071–1078.
- [36] Jain M. V. et al. (2013). *Interconnections between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: implications for cancer therapy development*, *J. Cell. Mol. Med.*, **17**, 12-29.
- [37] Jones R.G. and Thompson C.B. (2009). *Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth*. *Genes Dev.*, **23**, 537–548.
- [38] Karnoub A.E. and Weinberg R.A. (2006–2007). *Chemokine networks and breast cancer metastasis*. *Breast Dis.*, **26**, 75–85.
- [39] Klymkowsky M.W. and Savagner P. (2009). *Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe*. *Am. J. Pathol.*, **174**, 1588–1593.
- [40] Lowe S.W., Cepero E. and Evan G. (2004). *Intrinsic tumour suppression*. *Nature*, **432**, 307–315.
- [41] Lowengrub J. S., Frieboes H. B., Jin F., Chuang Y-L., Li X., Macklin P., Wise S. M., Cristini V.(2010). *Nonlinear modelling of cancer: bridging the gap between cells and tumours*, *Nonlinearity*, **23**, 1-91.
- [42] Lüscher B. and Larsson L.G. (2007). *The world according to MYC-Conference on MYC and the Transcriptional Control of Proliferation and Oncogenesis*. *EMBO*, **8**, 1110–1114.
- [43] Martinez J.D., Parker M. T., Fultz K. E., Ignatenko N. A., Gerner E. W. (2003). *Molecular Biology of Cancer*. *Chemotherapeutic Agents*, **5**, 1-50.
- [44] Minamoto T., Mai M., and Ronai Z. (1999), *Environmental factors as regulators and effectors of multistep carcinogenesis*. *Carcinogenesis*, **20**, 519–527.
- [45] Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C., Dvorak A.M. and Dvorak, H.F. (2010). *Heterogeneity of the tumor vasculature*. *Semin. Thromb. Hemost.*, **36**, 321–331.
- [46] Negrini S., Gorgoulis V.G. and Halazonetis T.D. (2010). *Genomic instability-an evolving hallmark of cancer*. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 220–228.
- [47] Nelson M. A., Futscher B. W., Kinsella T., Wymer J., and Bowden G. T. (1992), *Detection of mutant Ha-ras genes in chemically initiated mouse skin epidermis before the development of benign tumors*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 6398-6402.

-
- [48] Nowell P. C. (2004). *The clonal evolution of tumor cell populations*. Science, **194**, 23-28.
- [49] Peto J. (2001). *Cancer epidemiology in the last century and the next decade*. Nature, **411**.
- [50] Please C. P., Pettet G. J., McElwain D. L. S. (1998). *A new approach to modeling the formation of necrotic regions in tumors*, Appl. Math., **11**, 89-94.
- [51] Polyak K., Haviv I., and Campbell I.G. (2009). *Co-evolution of tumor cells and their microenvironment*. Trends Genet., **25**, 30–38.
- [52] Preziosi L. (2005). *Modelli Matematici a Sostegno della Ricerca contro il Cancro*. Boll. UMI Ser., **8**, 55-76.
- [53] Preziosi L. (2011). *Modelli differenziali nelle scienze biomediche*, La matematica, Einaudi, **4**, 1-24.
- [54] Qian B.Z. and Pollard J.W. (2010). *Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis*. Cell, **141**, 39–51.
- [55] Rajkumar S. V. (2006). *Treatment of multiple myeloma*, Nat. Rev. Clin. Oncol., **8**, 479–491.
- [56] Roose T., Netti P. A., Munn L. L., Boucher Y., Jain R. (2003). *Solid stress estimated by spheroid growth using a linear poroelastic model*, Microvascular Res., **66**, 204-12.
- [57] Salk J.J., Fox E.J., and Loeb L.A. (2010). *Mutational heterogeneity in human cancers: origin and consequences*. Ann. Rev. Pathol., **5**, 51–75.
- [58] Shay, J.W., and Wright, W.E. (2000). *Hayflick, his limit, and cellular ageing*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., **1**, 72–76.
- [59] Sherr C.J., and McCormick F. (2002). *The RB and p53 pathways in cancer*. Cancer Cell, **2**, 103–112.
- [60] Sigal A. and Rotter V. (2000). *Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome*. Cancer Res., **60**, 6788–6793.
- [61] Talmadge J.E. and Fidler, I.J. (2010). *AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective*. Cancer Res., **70**, 5649–5669.
- [62] Teng M.W.L., Swann J.B., Koebel C.M., Schreiber R.D. and Smyth M.J. (2008).

- Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer.* J. Leukoc. Biol., **84**, 988–993.
- [63] Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y., and Nieto M.A. (2009). *Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease.* Cell, **139**, 871–890.
- [64] Vajdic C.M. and van Leeuwen M.T. (2009). *Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation.* Int. J. Cancer, **125**, 1747–1754.
- [65] Warburg O. (1956). *On the origin of cancer cells.* Science, **123**, 309-314.
- [66] Wise S. M., Lowengrub J. S., Frieboes H. B., Cristini V. (2008). *Three-dimensional multispecies nonlinear tumor growth: I. Model and numerical method,* J. Theor. Biol., **253**, 524–543.
- [67] Wong R. S. Y. (2011). *Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment,* Journal of Exp. & Clinical Cancer Res., **30**, 1-14.
- [68] www.chromocyte.com
- [69] www.wikipedia.com
- [70] Zanichelli. (2012). *Igiene e cultura medico-sanitaria Unità 1 Organizzazione strutturale e funzione del corpo umano.* Franco Lucisano Editore, Igiene e cultura medico-sanitaria.

Ringraziamenti

Si conclude qui il mio percorso universitario, affrontato tra peripezie, ansie e soddisfazioni. Vorrei, quindi, spendere due parole per ringraziare coloro i quali mi hanno aiutato, supportato e sopportato in questi ultimi tre anni.

Anzitutto un doveroso ringraziamento va al Prof. Maurizio Grasselli per il sostegno e gli spunti fornitomi durante la stesura del lavoro. Ringrazio il Prof. Pasquale Ciarletta per avermi dato la possibilità di realizzare questa tesi seguendomi con attenzione e professionalità e stimolando il mio interesse. Ringrazio il Prof. Davide Carlo Ambrosi per essersi assunto la responsabilità di essere nominato relatore del lavoro. Grazie infinite.

Ringrazio la Dott.sa Chiara Giverso, per la sempre pronta disponibilità dimostratami e per l'aiuto datomi durante la stesura del lavoro. Grazie Chiara.

Ringrazio di cuore zio Enzo e zia Rosaria, la mia "altra" famiglia, perché mi hanno dato la possibilità di raggiungere un obiettivo così importante e dal valore inestimabile. Vi sarò sempre riconoscente dell'impegno e dell'amore speso per me.

Ringrazio mio padre e mia madre, che mi hanno sostenuto in questi anni come solo dei "veri" genitori sanno fare.

Ringrazio nonna Pina, nonno Vittorio e nonno Carlo che anche a distanza sono stati sempre presenti.

Ringrazio Domenico, il mio grande amore, il mio compagno di vita, il mio amico, che con estrema pazienza mi ha sempre incoraggiato a non mollare, nonostante le difficoltà incontrate e i 1161 km di distanza.

Ringrazio Luana, la mia amica di sempre, la mia valvola di sfogo e di pettegolezzi.

Infine, un ultimo ringraziamento va a me stessa perché se sono arrivata ad ottenere questo nuovo traguardo, in fondo, è anche un po' merito mio.