

POLITECNICO DI TORINO

Facoltà di Ingegneria
Corso di Laurea in Ingegneria Matematica

Tesi di Laurea

**Modellizzazione delle interazioni
meccaniche e chimiche nel
processo di formazione delle reti di
capillari**



Relatori:
prof. Luigi Preziosi
prof. Davide Ambrosi

Candidato:
Andrea TOSIN

14 Ottobre 2004

Sommario

La modellizzazione matematica è a buon diritto annoverata tra gli strumenti fondamentali dell'indagine scientifica, grazie alle importanti opportunità che essa offre alla comprensione e all'analisi delle più svariate problematiche applicative.

Fare modellizzazione matematica non significa però utilizzare in modo strumentale i modelli matematici già esistenti: sarebbe troppo semplicistico e, in fin dei conti, nemmeno molto attraente. Una dote indispensabile al modellista matematico è la capacità di ragionare non soltanto sulla fisica del fenomeno in oggetto ma anche sulla sua formalizzazione matematica, facendo evolvere in modo complementare questi due aspetti. Toccare con mano la formalizzazione matematica di un problema fisico aiuta a non maturare convinzioni fuorvianti: un modello matematico non è un'astrazione accademica, né peraltro si riduce ad un *software*, installato da qualche parte in un calcolatore, che alla semplice pressione di un tasto e spesso con irritante lentezza esegue un'ingente mole di calcoli. Un modello matematico traduce un modo di pensare, è una guida al ragionamento che permette di affrontare in maniera coerente e rigorosa i problemi sempre nuovi che continuamente si pongono nelle scienze applicate.

Per il ricercatore, la modellizzazione matematica è accattivante e stimolante grazie ad alcune sue caratteristiche assolutamente originali. Anzitutto essa richiede conoscenze teoriche solide e approfondite, indispensabili nell'ottica di un utilizzo creativo della matematica; inoltre non è mai fine a se stessa, ma necessita di una costante interazione con le scienze applicate sia per fornire loro un supporto che nel tempo si dimostra sempre più spesso determinante sia per essere contemporaneamente da queste stimolata a progredire e a svilupparsi; di fatto, impone una grande capacità di critica e di autocritica, perché la ricerca scientifica non è statica: vi è un continuo inseguirsi di perfezionamenti e di precisazioni di idee. A fronte di notevoli richieste, essa offre però possibilità molto vaste. Ci piace qui ricordarne una in particolare: la potenziale apertura verso qualsiasi campo scientifico applicativo, grazie ad un retroterra cognitivo teorico molto generale e per questo particolarmente potente e versatile.

La biologia è una delle più recenti conquiste della matematica applicata: la formalizzazione e la modellizzazione dei processi biologici sono ritenute pressoché

unanimente dalla comunità scientifica internazionale la nuova frontiera per la matematica del XXI secolo, esattamente come il grande traguardo del XVII secolo fu l'apertura verso la fisica.

Questa tesi si occupa in particolare del problema della formazione di reti vascolari *in vitro*, nota con il nome di *vasculogenesi*. Il Capitolo 1 ne introduce la fenomenologia, i riscontri sperimentali e le diverse spiegazioni sui meccanismi elementari che la regolano; il Capitolo 2 illustra e discute alcuni tra i principali modelli matematici proposti a riguardo in letteratura. Il Capitolo 3 propone un nuovo modello matematico con l'intento di fornire una visione unificata del problema e metterne contemporaneamente in luce gli aspetti essenziali; i risultati ottenuti dalle relative simulazioni numeriche sono infine mostrati e commentati nel Capitolo 4.

Indice

| | |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| Sommario | I |
| 1 Fenomenologia della vasculogenesi | 1 |
| 1.1 Introduzione | 1 |
| 1.2 Riscontri sperimentali | 3 |
| 1.3 L'interpretazione chemotattica | 5 |
| 1.4 L'interpretazione meccanica | 7 |
| 1.5 Transizione percolativa e formazione delle lacune | 7 |
| 2 Modelli in letteratura | 10 |
| 2.1 Generalità | 10 |
| 2.2 Il modello chemotattico | 10 |
| 2.2.1 Deduzione delle equazioni | 11 |
| 2.2.2 Condizioni iniziali e al bordo | 16 |
| 2.2.3 Discussione | 17 |
| 2.3 Il modello meccanico | 19 |
| 2.3.1 Deduzione delle equazioni | 19 |
| 2.3.2 Condizioni iniziali e al bordo | 26 |
| 2.3.3 Discussione | 27 |
| 3 Il modello chemomeccanico | 30 |
| 3.1 Presentazione e propositi | 30 |
| 3.2 Deduzione delle equazioni | 31 |
| 3.2.1 Riduzione bidimensionale del substrato | 31 |
| 3.2.2 Forze sul substrato e interazione con le cellule | 36 |
| 3.2.3 Spostamento e velocità delle cellule | 38 |
| 3.2.4 Produzione di chemoattrattore da parte delle cellule | 39 |
| 3.3 Analisi dimensionale | 41 |
| 3.4 Condizioni iniziali e al bordo | 44 |
| 3.5 Discussione | 44 |

| | | |
|----------|----------------------------------------------------|-----------|
| 4 | Simulazioni numeriche | 48 |
| 4.1 | Classificazione delle equazioni | 48 |
| 4.2 | Discretizzazione delle equazioni | 49 |
| 4.2.1 | Leggi di conservazione | 50 |
| 4.2.2 | Equilibrio del substrato | 54 |
| 4.2.3 | Diffusione e degrado del chemoattrattore | 60 |
| 4.2.4 | Moto delle cellule | 61 |
| 4.2.5 | Algoritmo di avanzamento in tempo | 62 |
| 4.3 | Risultati e commenti | 64 |
| | Bibliografia | 72 |

Capitolo 1

Fenomenologia della vasculogenesi

1.1 Introduzione

La vasculogenesi e l'angiogenesi sono due processi biologici mediante i quali si forma e si sviluppa nei vertebrati la rete dei vasi sanguigni. L'una svolge un ruolo predominante nella vita embrionale, quando gli angioblasti (le future cellule endoteliali¹) inizialmente disposti in una configurazione disordinata e casuale generano le prime strutture vascolari ordinate e funzionali in seguito a fenomeni di migrazione e coesione; l'altra interviene invece nelle successive fasi di sviluppo dell'organismo e consiste nella nascita di nuovi vasi sanguigni, che si originano da vasi preesistenti in risposta a stimoli esterni. Benché l'angiogenesi possa essere indotta in modo naturale dalla crescita e dallo sviluppo dell'organismo, è particolarmente conosciuta e studiata la sua variante tumorale, in cui si determina in una struttura vascolare la formazione di nuove ramificazioni richiamate da un tumore e finalizzate a portare nutrimento a quest'ultimo.

La difficile osservabilità di questi fenomeni rende la loro comprensione una delle maggiori frontiere nell'attuale ricerca medica, soprattutto nell'ambito dell'ingegneria tissutale, dove l'attenzione è rivolta alla formazione delle reti vascolari quali canali per il trasporto delle sostanze nutritive ai tessuti dell'organismo. I parziali insuccessi sperimentali ottenuti in questo campo sono probabilmente da imputare alla difficoltà di creare artificialmente una rete vascolare effettivamente funzionale, ossia dotata di un'architettura tale da riprodurre in dettaglio i corretti rapporti geometrici che contraddistinguono il sistema vascolare naturale e lo rendono capace di svolgere la sua funzione fisiologica (Figura 1.1).

Queste ragioni hanno portato alla nascita e allo sviluppo di una sempre più stretta collaborazione tra l'ambiente medico e quello matematico, con l'intento di

¹L'*endotelio* è una sottile lamina cellulare che riveste la superficie interna dei vasi sanguigni e delle cavità cardiache.

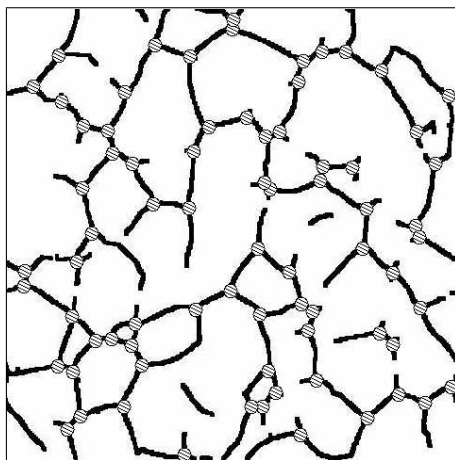


Figura 1.1. Le reti vascolari presentano una tipica struttura a grafo, sono cioè costituite da un insieme di nodi connessi da corde.

affrontare lo studio della vasculogenesi e dell'angiogenesi mediante la modellizzazione fisica e la simulazione numerica a partire da alcuni riscontri sperimentali di base. A questo proposito sono stati effettuati numerosi esperimenti di riproduzione *in vitro* della vasculogenesi e dell'angiogenesi, consistenti nell'osservazione al videomicroscopio di una coltura di cellule endoteliali lasciate sedimentare su una membrana proteica, la cosiddetta matrice extracellulare² (v. ad es. Meade-Tollin e Van Noorden [8]). Quest'ultima ha la funzione di favorire la motilità delle cellule ricreando artificialmente, grazie a particolari caratteristiche biochimiche e biomeccaniche, un ambiente simile ai tessuti di un organismo vivente. In questo modo è stato possibile seguire le fasi che portano le cellule endoteliali ad auto-organizzarsi in una rete vascolare funzionale, notando contestualmente come la capacità di formare tale rete sia da un lato una proprietà autonoma delle cellule e necessiti dall'altro di segnali di tipo permissivo, ma non istruttivo, provenienti dall'ambiente extracellulare. Le cellule hanno cioè bisogno di trovarsi in un ambiente biologico funzionale alla loro organizzazione in reti, senza tuttavia dover essere istruite né guidate dall'esterno.

Simili osservazioni hanno aperto una serie di interrogativi relativi al modo in cui le cellule cooperano per disporsi in reti e ai meccanismi che regolano la formazione e l'architettura delle reti negli opportuni rapporti geometrici. Una buona modellizzazione fisico-matematica può fornire risposte convincenti a queste domande, o quanto meno indirizzare verso la corretta interpretazione dei fenomeni ad esse collegati, in modo forse più preciso e più semplice di quanto non siano in grado di fare i tentativi di riproduzione artificiale delle reti vascolari.

²È frequente in letteratura l'uso dell'acronimo inglese ECM (*ExtraCellular Matrix*).

1.2 Riscontri sperimentali

L'osservazione della vasculogenesi *in vitro* è effettuata secondo il seguente apparato sperimentale di massima (Serini *et al.* [11]): su un disco di Petri, una speciale capsula cilindrica di vetro munita di coperchio, viene posta una porzione di matrice extracellulare delle dimensioni di alcuni millimetri di diametro per alcuni micrometri di spessore (quella commercialmente più diffusa e più utilizzata è il *Matrigel*); su di essa viene depositata una coltura di cellule endoteliali disperse in una soluzione fisiologica acquosa, le quali dapprima sedimentano per gravità e successivamente iniziano a muoversi sulla superficie orizzontale del substrato. Negli esperimenti di Serini *et al.* [11] si utilizzano cellule endoteliali umane provenienti da grosse vene (HUVEC, *Human Umbilical Vein Endothelial Cells*), mentre in altri casi (Vailhe *et al.* [12, 13]) vengono impiegate cellule BREC (*Bovin Retinal Endothelial Cells*) oppure (Vernon e Sage [15]) cellule BAEC (*Bovin Aortic Endothelial Cells*).

Gli esperimenti hanno permesso di constatare che il processo di formazione delle reti vascolari avviene essenzialmente durante quattro fasi (Figura 1.2):

- (i) in una prima fase, che dura dalle 3 alle 6 ore, il moto delle cellule è di tipo ameboide ed è caratterizzato da una velocità di gran lunga maggiore rispetto alle fasi successive; le cellule assumono una forma circolare e si muovono in modo indipendente le une dalle altre;
- (ii) successivamente, le cellule iniziano la formazione di strutture reticolari ordinate ancorandosi alla matrice extracellulare mediante appositi siti di adesione e con l'aiuto di speciali proteine denominate *integrine*. Si osserva tuttavia che l'effettiva formazione di reti, e non di semplici strutture disconnesse e in parte isolate, dipende in modo determinante dal numero di cellule inizialmente depositate sulla matrice extracellulare. In particolare, esiste un valore critico della densità iniziale di cellule al di sotto del quale non si ha la formazione di reti e oltre il quale si ottengono invece strutture connesse, fenomeno che va sotto il nome di *transizione percolativa* (Gamba *et al.* [3]);
- (iii) nel caso in cui la densità iniziale delle cellule sia sufficientemente elevata, alla formazione delle corde segue un processo di assottigliamento delle stesse dovuto ad interazioni meccaniche quali le mutue trazioni delle cellule e gli sforzi che intervengono tra queste ultime e la matrice extracellulare in seguito all'ancoraggio; durante questa fase la rete vascolare mantiene una forma globalmente immutata e ancora prevalentemente bidimensionale;
- (iv) infine, dopo aver formato la rete le cellule si ripiegano su se stesse (Figura 1.3) per costituire strutture vascolari tridimensionali che seguono il tracciato delle corde bidimensionali precedentemente generate.

L'intero processo si svolge nell'arco di 12-15 ore.

È piuttosto evidente che una delle variabili fondamentali per il monitoraggio della vasculogenesi durante le fasi (i), (ii) e (iii) che conducono all'effettiva formazione della rete è la densità di cellule per unità di area (cells/mm^2), la quale nel seguito sarà denotata con n .

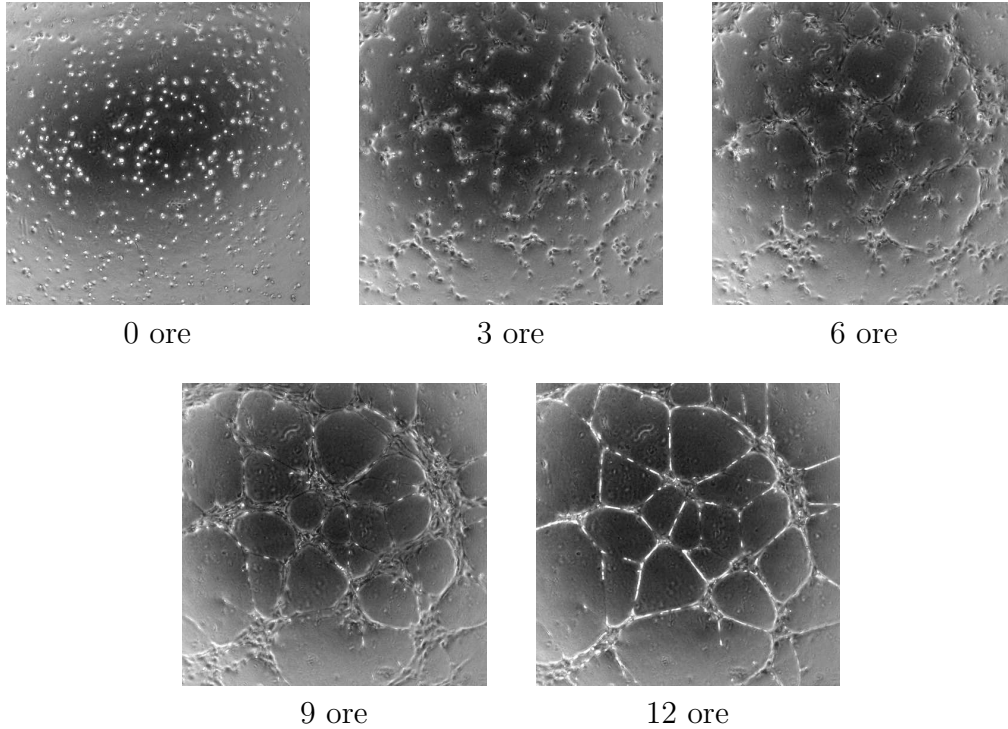


Figura 1.2. Fasi di formazione della rete vascolare. Le immagini sono state ottenute tramite fotografie al videomicroscopio durante l'osservazione *in vitro* della vasculogenesi.

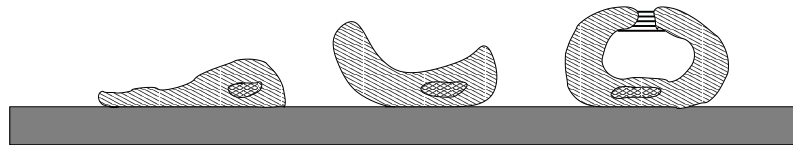


Figura 1.3. Rappresentazione schematica del modo in cui una cellula depositata sulla matrice extracellulare si ripiega a formare la sezione tridimensionale di un vaso sanguigno.

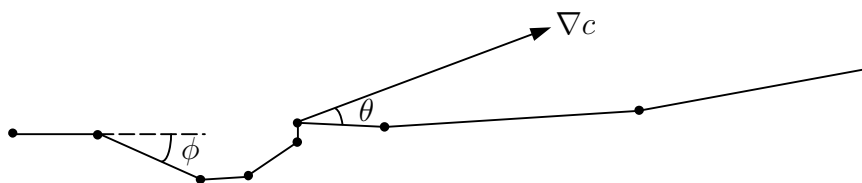


Figura 1.4. Gli angoli ϕ e θ lungo la traiettoria di una cellula. Qui c indica la concentrazione di VEGF.

1.3 L'interpretazione chemotattica

È stato sperimentalmente osservato che le cellule tendono in media a mantenere la direzione del loro moto fino a quando non incontrano altre cellule; naturalmente vi sono componenti casuali della velocità sovrapposte al comportamento medio, ma il loro contributo è di fatto non determinante per la dinamica complessiva del sistema. A questa particolare forma di inerzia delle cellule si dà il nome di *persistenza del moto*.

Inoltre, si è constatato che le cellule si dirigono in modo preferenziale verso le zone del substrato a maggiore densità cellulare. Per spiegare questo comportamento è stato addotto il fatto che esse comunicano tra loro mediante il rilascio e l'assorbimento di una sostanza chimica nota come VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), della quale avvertono le variazioni nell'ambiente circostante grazie a specifici recettori posti sulla loro superficie (*chemotassi endogena*). Il VEGF svolge il ruolo di chemoattrattore per le cellule e, almeno durante la fase ameboide, il movimento chemotattico è considerato da alcuni autori (Ambrosi, Bussolino, Preziosi [1], Gamba *et al.* [3], Serini *et al.* [11]) determinante per la formazione delle reti vascolari. Alcune statistiche condotte da Serini *et al.* [11] circa la distribuzione di due particolari angoli (Figura 1.4):

- ϕ , l'angolo formato tra due successive direzioni del moto di una stessa cellula, che dà una misura della persistenza, e
- θ , l'angolo formato tra la direzione del moto di una cellula in un punto e quella del gradiente di chemoattrattore nello stesso punto (tenendo conto che il VEGF, al pari di altre molecole solubili, degrada in un tempo finito nell'ambiente circostante a causa di processi di ossidazione), che dà una misura della chemotassi

confermerebbero questa ipotesi, mostrando un'alta correlazione tra θ e la direzione del gradiente di VEGF.

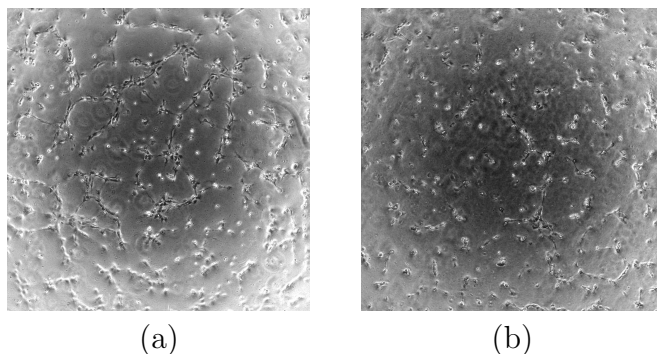


Figura 1.5. In (a), comportamento delle cellule in un ambiente non saturo di VEGF-A: è visibile l'inizio della formazione di alcune corde. In (b), ambiente saturo di VEGF-A: la generazione di strutture reticolari è fortemente inibita.

Peraltro, ulteriori esperimenti mettono in luce come il VEGF, e in particolare la sua variante di tipo A, sia essenziale per la crescita, la sopravvivenza e la motilità delle cellule: in ambienti saturi di VEGF-A si osserva una consistente inibizione della formazione di reti vascolari (Figura 1.5) giustificata da una totale scorrelazione tra θ e il gradiente di chemoattrattore, mentre in situazioni in cui le cellule sono impossibilitate a produrre VEGF-A si determina un effetto apoptotico.

Di fatto, secondo questa interpretazione la formazione delle strutture reticolari nelle corrette proporzioni geometriche è principalmente guidata dalla chemotassi durante le fasi iniziali di moto ameboide: il VEGF-A sarebbe in grado di influenzare sia la lunghezza delle corde sia le distanze intercapillari, caratteristiche essenziali per le funzionalità biologiche (scambi metabolici) della rete.

Ciononostante, il successivo ancoraggio delle cellule al substrato è ritenuto parimenti fondamentale per il consolidamento della struttura e la stabilità del sistema. L'ancoraggio rende le cellule non più libere di migrare ovunque: ogni loro movimento, eventualmente sollecitato ancora dai gradienti di chemoattrattore, induce ora uno stato di sforzo nella matrice extracellulare il cui effetto è di tendere e contemporaneamente assottigliare le corde della rete vascolare, conferendo a queste ultime maggiore robustezza e all'intera rete una configurazione più netta. Non è chiaro quale sia lo stimolo che induce le cellule ad aderire al substrato: potrebbe trattarsi di una risposta temporale, per cui dopo un certo periodo tutte le cellule aderirebbero alla matrice extracellulare indipendentemente dalla loro precedente evoluzione, oppure di una risposta alla densità cellulare, per cui l'ancoraggio di una cellula avverrebbe quando quest'ultima si trova in una zona caratterizzata da un opportuno valore di n . Appare comunque ragionevole ritenere che dopo l'adesione le cellule non si svincolino più dal substrato.

1.4 L'interpretazione meccanica

Altri autori (Manoussaki [7], Namy *et al.* [9]), pur partendo da una stessa descrizione fenomenologica della vasculogenesi, pongono maggiore enfasi sul ruolo svolto dalle interazioni meccaniche tra le cellule endoteliali e la matrice extracellulare piuttosto che sui meccanismi chemotattici di cui al precedente paragrafo. Pur non negando l'esistenza e l'importanza della risposta cellulare agli stimoli di fattori chimici quali il VEGF, essi ritengono che la funzione della matrice extracellulare non sia subordinata a quella della chemotassi nel processo di organizzazione delle cellule in reti vascolari funzionali.

In effetti, recenti studi hanno stabilito che sussiste un'importante comunicazione bidirezionale tra le cellule e il substrato, la quale dipende essenzialmente dal bilancio tra le forze di trazione esercitate dalle prime e la resistenza meccanica passiva opposta dal secondo. Queste interazioni si configurano come veri e propri regolatori delle funzioni cellulari di migrazione, adesione e proliferazione e hanno un ruolo nel definire la morfologia delle reti vascolari. In particolare, è provato che alcune caratteristiche meccaniche della matrice extracellulare sono in grado, al pari di quelle chimiche, di influenzare il moto delle cellule. Tra di esse ricordiamo:

- la maggiore rigidità o densità del substrato (*durotassi*, *aptotassi*), con una tendenza delle cellule a formare strutture reticolari dove lo spessore di quest'ultimo è più elevato;
- lo stato di tensione del substrato, per cui le cellule sono indotte a seguire le fibre maggiormente tese di quest'ultimo (effetto di *strain-dependent motion*);
- lo stato di deformazione del substrato, che dà luogo ad una convezione passiva delle cellule ancorate su di esso.

Secondo l'interpretazione meccanica, la ridisposizione spaziale delle cellule endoteliali è collegata ad una riorganizzazione costitutiva della matrice extracellulare indotta dai campi di trazione locali: la formazione e il progressivo allargamento di zone del substrato svuotate di fibrina (una proteina essenziale per la sopravvivenza delle cellule) sarebbero una conseguenza del rimodellamento del substrato stesso in una struttura “a solchi” che definirebbe l'architettura soggiacente alle reti vascolari.

1.5 Transizione percolativa e formazione delle lacune

Il concetto di *percolazione* è usato in meccanica statistica per descrivere la formazione di strutture connesse di particelle che inizialmente sono distribuite in modo

casuale, quando i parametri del sistema diventano prossimi a determinati valori critici. Di solito, queste strutture hanno l'aspetto di un grafo, cioè sono costituite da un insieme di nodi collegati da corde.

Come accennato in precedenza, anche la formazione di una rete vascolare è soggetta al fenomeno della transizione percolativa e il relativo parametro critico è la densità iniziale di cellule n_0 . Variandone il valore si osserva il passaggio tra due differenti dinamiche del sistema: quando n_0 è minore di una soglia critica $n_c \approx 100 \text{ cells/mm}^2$ si ha la generazione di numerosi aggregati disconnessi di cellule, mentre al crescere di n_0 si registra la formazione di una singola rete vascolare connessa, in cui lo spessore medio delle corde dipende dal numero di cellule inizialmente depositate sulla matrice extracellulare (Figura 1.6).

Si può ragionevolmente ipotizzare che la transizione percolativa in un simile sistema sia legata al fatto che la lunghezza media delle corde della rete vascolare si mantiene pressoché costante, pari a $200 \pm 20 \mu\text{m}$ per n_0 compreso tra 100 e 200 cells/mm^2 (Gamba *et al.* [3], Serini *et al.* [11]). In effetti, vi sono sostanzialmente due modi di disporre un numero crescente di cellule in una rete vascolare: il primo consiste nel forzare le connessioni tra cellule adiacenti, permettendo la formazione di corde arbitrariamente lunghe (Figura 1.7a, prima immagine); il secondo prevede invece di imporre un vincolo sulla lunghezza delle corde, per cui se il numero di cellule non è sufficientemente elevato si formano soltanto aggregati disconnessi (Figura 1.7b, prima immagine). Il processo di vasculogenesi naturale sembra seguire questa seconda strada e ciò dipende probabilmente dal fatto che esiste una lunghezza ottimale delle corde per garantire il corretto apporto nutritivo ai tessuti organici: corde troppo lunghe produrrebbero reti con spazi intercapillari eccessivamente ampi e dunque fisiologicamente non funzionali.

Un meccanismo simile è altresì alla base della formazione delle *lacune*. Se la densità iniziale n_0 cresce di molto oltre il valore critico ($n_0 \approx 300 \text{ cells/mm}^2$) le cellule si addensano e le corde si ispessiscono, pur continuando a mantenere la loro lunghezza media caratteristica; la rete vascolare assume allora l'aspetto di un continuo di cellule con grossi buchi centrali denominati appunto lacune (Figura 1.6; Figura 1.7b, ultima immagine). Anche in questo caso vi è, in linea di principio, un modo diverso di disporre le cellule, consistente di fatto nel creare una rete omogenea a maglie più fitte (Figura 1.7a, ultima immagine); ciononostante, la Natura sceglie ancora di preservare la lunghezza media delle corde in quanto distanze intercapillari eccessivamente ridotte sarebbero fisiologicamente inutili.

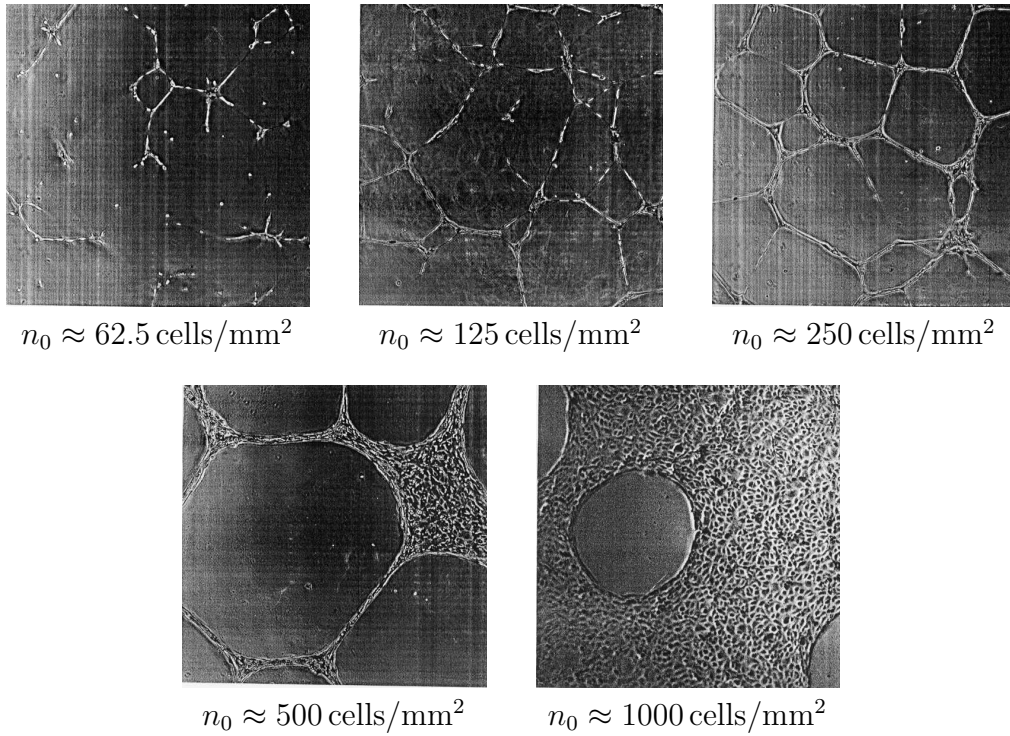


Figura 1.6. Differenti evoluzioni nella formazione della rete vascolare in funzione della densità iniziale di cellule.

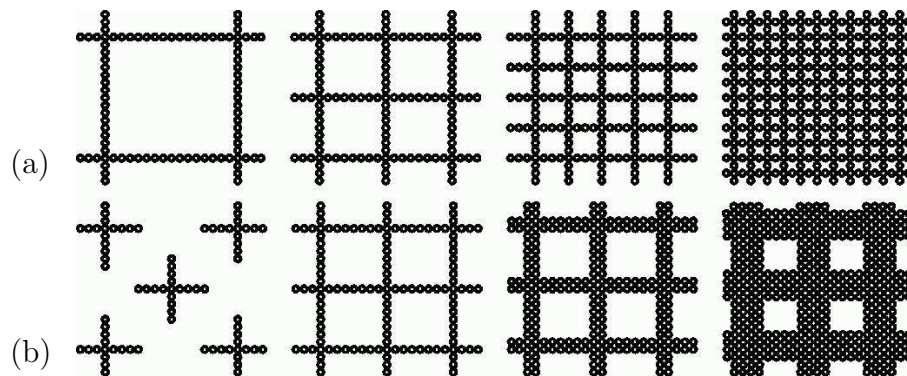


Figura 1.7. Disposizione di un numero crescente di cellule in una rete. In (a), formazione di una rete comunque connessa; in (b), fenomeno della transizione percolativa.

Capitolo 2

Modelli in letteratura

2.1 Generalità

I modelli matematici proposti in letteratura per la simulazione della vasculogenesi descrivono il complesso delle cellule endoteliali come un mezzo continuo in moto soggetto a forze di natura chimica e meccanica.

Nei modelli derivati dall'interpretazione chemotattica l'aspetto meccanico è per lo più trascurato e l'attenzione è rivolta allo studio delle prime fasi del processo di formazione delle reti vascolari [1, 3, 11]; viceversa, in quelli derivati dall'interpretazione meccanica la chemotassi è di fatto dimenticata e l'aspetto centrale è rappresentato dalla descrizione del comportamento del substrato, generalmente trattato come un solido elastico o viscoelastico [7, 9].

Tutti i modelli hanno in comune il fatto di essere bidimensionali e di utilizzare la densità n di cellule per unità di area quale variabile macroscopica per il monitoraggio del processo di aggregazione e formazione delle reti; a seconda poi che privilegino l'aspetto chimico o quello meccanico, essi includono tra le variabili di stato la velocità \mathbf{v} delle cellule oppure lo spostamento \mathbf{u} della matrice extracellulare dalla configurazione di equilibrio, esprimendo eventualmente l'una in funzione dell'altro attraverso opportune relazioni cinematiche.

2.2 Il modello chemotattico

Il modello chemotattico è stato proposto in [1, 3, 11] con il supporto della sperimentazione *in vitro* della vasculogenesi condotta dal gruppo di ricerca di Bussolino e Serini presso l'IRCC - Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro di Candiolo (TO).

Come già precedentemente ricordato, esso trascura del tutto le interazioni meccaniche tra le cellule e la matrice extracellulare, di conseguenza non è in grado

di descrivere la dipendenza della formazione delle reti vascolari dalla rigidità o dallo spessore del substrato. Tuttavia evidenzia il ruolo determinante svolto dalla chemotassi nelle prime fasi di moto ameboide delle cellule.

Il suo *framework* matematico è costituito dall'*equazione di Burgers*

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = \nu \Delta \mathbf{v},$$

detta *viscosa* se $\nu \neq 0$ e *non viscosa* se $\nu = 0$. Essa viene correntemente impiegata in svariati ambiti applicativi, tra i quali ricordiamo lo studio delle onde non lineari e quello della crescita di interfacce molecolari; è inoltre utilizzata per descrivere la formazione di particolari configurazioni nella distribuzione su larga scala delle masse dell'universo a partire da una condizione di densità costante (ciò che si ritiene essere avvenuto nei primi istanti di vita dell'universo).

Proprio quest'ultima applicazione ne ha suggerito l'impiego quale nucleo di un modello di vasculogenesi, data la sorprendente somiglianza tra le reti vascolari e le strutture derivanti dalle simulazioni numeriche condotte sul noto modello di Zeldovich (1990), che applica appunto tale equazione al contesto astrofisico precedentemente menzionato.

La dinamica di un sistema descritto dall'equazione di Burgers può essere sintetizzata nel modo seguente:

- il sistema è considerato come un fluido costituito di particelle che si muovono liberamente senza interagire;
- nella variante non viscosa dell'equazione, le particelle più veloci collidono con quelle più lente originando una rete di onde d'urto (matematicamente, delle discontinuità nella soluzione dell'equazione); nella variante viscosa, tale formazione è impedita dalla presenza di un termine diffusivo proporzionale a $\Delta \mathbf{v}$, che tende a regolarizzare la soluzione;
- si assume che le particelle, entrando in contatto, perdano la loro energia cinetica tendendo ad accumularsi; per questa ragione si dice che l'equazione di Burgers descrive un *modello di adesione*;

il punto fondamentale è che una simile dinamica ha l'effetto di amplificare le eventuali disomogeneità presenti nei dati iniziali.

Come vedremo tra breve, all'interno del modello di vasculogenesi l'equazione di Burgers ha un ruolo nella descrizione della persistenza del moto delle cellule.

2.2.1 Deduzione delle equazioni

La deduzione del modello chemotattico avviene in accordo alle seguenti assunzioni (Ambrosi, Bussolino, Preziosi [1]), derivate dai riscontri sperimentali illustrati nei §§ 1.2 e 1.3:

- (i) le cellule endoteliali esibiscono una persistenza nel moto;
- (ii) esse comunicano tra loro mediante il rilascio e l'assorbimento di un fattore chimico solubile; esperimenti indiretti suggeriscono che quest'ultimo possa essere il VEGF-A;
- (iii) il fattore chimico rilasciato dalle cellule diffonde nell'ambiente circostante e degrada nel tempo;
- (iv) le cellule endoteliali non si riproducono né muoiono durante il processo di formazione delle reti;
- (v) le cellule sono rallentate nel loro moto da un'interazione di tipo viscoso con il substrato;
- (vi) tra le cellule si manifestano forze meccaniche di pressione dovute alla reciproca incompenetrabilità.

Le variabili di stato sono dunque

- la densità n di cellule per unità di area,
- la velocità \mathbf{v} delle cellule,
- la concentrazione c del fattore chimico.

Trattandosi di un modello bidimensionale che descrive un'evoluzione temporale, esse sono funzioni di una coordinata spaziale $\mathbf{x} = (x, y) \in \mathbb{R}^2$ e del tempo $t \geq 0$:

$$n = n(\mathbf{x}, t), \quad \mathbf{v} = \mathbf{v}(\mathbf{x}, t), \quad c = c(\mathbf{x}, t).$$

L'impostazione è essenzialmente euleriana: nella deduzione delle equazioni in forma integrale utilizzeremo pertanto un volume di controllo geometrico Ω fisso nello spazio quale sottoinsieme limitato di \mathbb{R}^2 .

Conservazione della massa delle cellule

In accordo all'ipotesi (iv), la conservazione della massa delle cellule si scrive come

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} n \, d\mathbf{x} + \int_{\partial\Omega} n \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} \, d\sigma = 0$$

dove \mathbf{n} è il versore normale uscente da Ω ; assumendo formalmente che n e \mathbf{v} siano campi regolari, il teorema di Gauss applicato all'integrale di superficie e l'arbitrarietà di Ω danno infine

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{v}) = 0. \tag{2.1}$$

Persistenza del moto

La persistenza del moto è descritta dalla seguente equazione di bilancio della quantità $n\mathbf{v}$:

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} n\mathbf{v} d\mathbf{x} + \int_{\partial\Omega} n\mathbf{v} (\mathbf{v} \cdot \mathbf{n}) d\sigma = \int_{\partial\Omega} \mathbf{T}_{\text{cell}} \mathbf{n} d\sigma + \int_{\Omega} \mathbf{f}_{\text{chem}} d\mathbf{x} + \int_{\Omega} \mathbf{f}_{\text{diss}} d\mathbf{x}$$

ovvero, in forma differenziale,

$$\frac{\partial}{\partial t} (n\mathbf{v}) + \nabla \cdot (n\mathbf{v} \otimes \mathbf{v}) = \nabla \cdot \mathbf{T}_{\text{cell}} + \mathbf{f}_{\text{chem}} + \mathbf{f}_{\text{diss}}. \quad (2.2)$$

Si noti che se n fosse una densità di massa, tale grandezza rappresenterebbe la quantità di moto per unità di superficie delle cellule.

Grazie all'equazione (2.1), il primo membro può essere ulteriormente sviluppato come

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (n\mathbf{v}) + \nabla \cdot (n\mathbf{v} \otimes \mathbf{v}) &= \mathbf{v} \left(\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\mathbf{v}) \right) + n \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} \right) = \\ &= n \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} \right). \end{aligned} \quad (2.3)$$

Poiché $\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v}$ è l'accelerazione materiale (lagrangiana) delle cellule, esso rappresenta una sorta di inerzia del moto di queste ultime e traduce pertanto la persistenza prevista dall'ipotesi (i). In questa seconda forma è inoltre evidente il legame con l'equazione di Burgers.

Il termine \mathbf{f}_{chem} rappresenta la forza di volume avvertita dalle cellule in risposta al segnale chemotattico (ipotesi (ii)); per quanto detto in § 1.3, essa è modellizzata come proporzionale al gradiente di concentrazione del fattore chimico:

$$\mathbf{f}_{\text{chem}} = n\beta \nabla c. \quad (2.4)$$

Il termine \mathbf{f}_{diss} descrive invece l'interazione viscosa dissipativa delle cellule con il substrato (ipotesi (v)):

$$\mathbf{f}_{\text{diss}} = -n\gamma \mathbf{v}. \quad (2.5)$$

Infine, il termine $\nabla \cdot \mathbf{T}_{\text{cell}}$ include la relazione costitutiva che caratterizza le forze interne al continuo cellulare; in accordo all'ipotesi (vi), gli autori del modello chemotattico suggeriscono per il tensore degli sforzi un'espressione del tipo

$$\mathbf{T}_{\text{cell}} = -n\pi(n)\mathbf{I} \quad (2.6)$$

dove \mathbf{I} è la matrice identica e $\pi(n)$ un'opportuna funzione non negativa della densità cellulare n . In questo modo \mathbf{T}_{cell} risulta un tensore isotropo e pseudo-elastico, simile

a quello di un fluido barotropico; le interazioni tra le cellule sono limitate agli sforzi normali, mentre vengono trascurati eventuali sforzi di taglio.

Osserviamo che in base alla posizione (2.6) si ha

$$\nabla \cdot \mathbf{T}_{\text{cell}} = -\nabla (n\pi(n)) = -\frac{d}{dn} (n\pi(n)) \nabla n$$

cosicché, utilizzando altresì le (2.3), (2.4) e (2.5), l'equazione (2.2) assume la forma

$$n \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} \right) = -\frac{d}{dn} (n\pi(n)) \nabla n + n\beta \nabla c - n\gamma \mathbf{v}$$

ovvero, dividendo ambo i membri per n ,

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = -\frac{1}{n} \frac{d}{dn} (n\pi(n)) \nabla n + \beta \nabla c - \gamma \mathbf{v}.$$

È conveniente porre

$$\frac{1}{n} \frac{d}{dn} (n\pi(n)) \nabla n = \nabla p(n),$$

dove la funzione $p = p(n)$, detta *pressione intercellulare*, è definita implicitamente dalla relazione

$$\frac{dp}{dn} = \frac{1}{n} \frac{d}{dn} (n\pi(n)).$$

In questo modo l'equazione della persistenza diventa in definitiva

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = -\nabla p(n) + \beta \nabla c - \gamma \mathbf{v}. \quad (2.7)$$

Si osservi che eliminando il termine $-\nabla p(n)$ dalla (2.7) si ottiene un'equazione di tipo Burgers non viscosa, la quale ammette lo sviluppo di discontinuità nella soluzione in un tempo finito anche a partire da dati iniziali regolari. La caratterizzazione della funzione $p(n)$ deve perciò essere tale da assicurare l'esistenza di soluzioni stabili e limitate. Come mostrato da Kowalczyk [4], è allo scopo sufficiente che $p(n)$ soddisfaccia ad alcuni requisiti minimi, quali ad esempio l'essere convessa o tale che

$$\log n = o(p(n)) \quad (n \rightarrow +\infty).$$

Gli autori del modello suggeriscono che $p(n)$ sia molto prossima a zero per n al di sotto di una soglia di densità critica N e che poi cresca rapidamente quando n supera tale soglia. Una possibile forma per $p(n)$ che rispetti queste caratteristiche è ad esempio

$$p(n) = \begin{cases} an & \text{per } n \leq N \\ an + b(n - N)^3 & \text{per } n > N \end{cases} \quad (2.8)$$

per opportuni coefficienti a, b . Si noti che questa funzione è di classe C^1 ; il suo andamento è illustrato nella Figura 2.1.

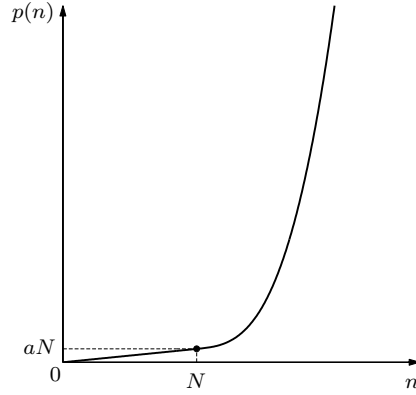


Figura 2.1. La pressione intercellulare $p(n)$ data dalla (2.8).

Diffusione e degrado del chemoattrattore

Un'equazione di evoluzione della concentrazione c del fattore chimico è deducibile dall'ipotesi (iii) come

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} c \, d\mathbf{x} = - \int_{\partial\Omega} \mathbf{\Phi}_c \cdot \mathbf{n} \, d\sigma + \int_{\Omega} \alpha n \, d\mathbf{x} - \int_{\Omega} \frac{c}{\tau} \, d\mathbf{x}$$

dove con $\mathbf{\Phi}_c$ abbiamo indicato il flusso di c attraverso il contorno del volume di controllo Ω . Portando in forma differenziale otteniamo

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{\Phi}_c + \alpha n - \frac{c}{\tau}$$

e infine, modellando $\mathbf{\Phi}_c$ secondo la *legge di Fick*:

$$\mathbf{\Phi}_c = -D\nabla c, \quad D \text{ costante}$$

ricaviamo l'equazione

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c + \alpha n - \frac{c}{\tau} \tag{2.9}$$

in cui D è il coefficiente di diffusione del chemoattrattore, mentre αn rappresenta la produzione del medesimo da parte delle cellule e $-\frac{c}{\tau}$ il suo degrado nel tempo, pensando ad un decadimento di tipo esponenziale¹ con tempo caratteristico τ .

¹Si osservi che l'equazione $\frac{dc}{dt} = -\frac{c}{\tau}$ ammette come integrale generale $c(t) = c_0 e^{-t/\tau}$, con $c_0 = c(0)$.

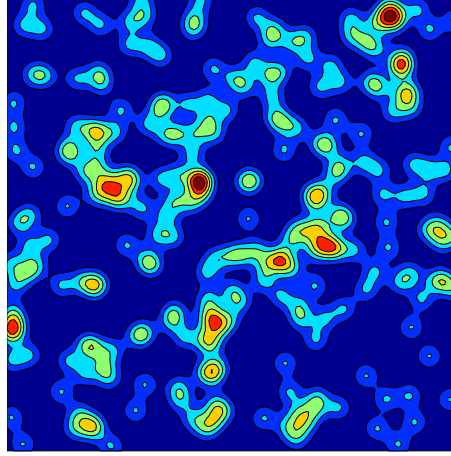


Figura 2.2. Un tipico diagramma a curve di livello della condizione iniziale per la densità n del modello chemotattico. I valori aumentano passando dal blu al rosso.

Mettendo insieme le equazioni (2.1), (2.7) e (2.9) si ricava il seguente sistema che definisce il modello chemotattico:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\mathbf{v}) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = -\nabla p(n) + \beta \nabla c - \gamma \mathbf{v} \\ \frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c + \alpha n - \frac{c}{\tau}. \end{cases} \quad (2.10)$$

2.2.2 Condizioni iniziali e al bordo

Per riprodurre nelle simulazioni le condizioni sperimentali descritte in § 1.2, gli autori del modello chemotattico utilizzano un dominio quadrato $Q \subset \mathbb{R}^2$ di lato L e prescrivono i seguenti dati iniziali:

$$n(\mathbf{x}, 0) = \frac{1}{2\pi r^2} \sum_{j=1}^M \exp\left(-\frac{|\mathbf{x} - \mathbf{x}_j(\omega)|^2}{2r^2}\right),$$

$$\mathbf{v}(\mathbf{x}, 0) = \mathbf{0},$$

$$c(\mathbf{x}, 0) = 0.$$

In particolare, la prima funzione corrisponde ad un insieme di M gaussiane bidimensionali di ampiezza dell'ordine del raggio cellulare medio $r \approx 20 \mu\text{m}$ centrate in

posizioni aleatorie $\mathbf{x}_j(\omega)$ con distribuzione uniforme su Q . Esse simulano la coltura di cellule endoteliali inizialmente depositate in modo casuale sul substrato (Figura 2.2).

Al bordo del dominio vengono invece imposte condizioni periodiche su tutte le variabili di stato; posto $Q = (0, L) \times (0, L)$ si ha dunque

$$\left. \begin{aligned} n(x, 0, t) &= n(x, L, t) \\ \mathbf{v}(x, 0, t) &= \mathbf{v}(x, L, t) \\ c(x, 0, t) &= c(x, L, t) \end{aligned} \right\} \forall x \in [0, L], \quad \left. \begin{aligned} n(0, y, t) &= n(L, y, t) \\ \mathbf{v}(0, y, t) &= \mathbf{v}(L, y, t) \\ c(0, y, t) &= c(L, y, t) \end{aligned} \right\} \forall y \in [0, L].$$

2.2.3 Discussione

Il modello chemotattico (2.10) può essere utilmente adimensionalizzato introducendo le variabili \mathbf{x}^* , t^* , n^* , \mathbf{v}^* , c^* definite dalle relazioni

$$\mathbf{x} = \ell \mathbf{x}^*, \quad t = T t^*, \quad n = N n^*, \quad \mathbf{v} = \frac{\ell}{T} \mathbf{v}^*, \quad c = C c^* \quad (2.11)$$

dove ℓ , T , N , C rappresentano valori caratteristici di lunghezza, tempo, densità cellulare e concentrazione di chemoattrattore. Sostituendo le (2.11) nelle (2.10) si ha, dopo alcuni passaggi algebrici,

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{\partial n^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (n^* \mathbf{v}^*) &= 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* &= -\nabla p^*(n^*) + \frac{\beta T^2 C}{\ell^2} \nabla c^* - \gamma^* \mathbf{v}^* \\ \frac{\ell^2}{DT} \frac{\partial c^*}{\partial t^*} &= \Delta c^* + \frac{\alpha N \ell^2}{DC} n^* - \frac{\ell^2}{D\tau} c^* \end{aligned} \right. \quad (2.12)$$

avendo definito

$$p^*(n^*) := \left(\frac{T}{\ell} \right)^2 p(N n^*), \quad \gamma^* := \gamma T.$$

Dalla terza delle (2.12) si vede che il modello contiene una scala di lunghezza caratteristica pari a

$$\ell = \sqrt{D\tau}; \quad (2.13)$$

misurazioni dirette (Serini *et al.* [11]) hanno permesso di rilevare che $D \approx 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ e $\tau \approx 64 \text{ min}$, cosicché l'equazione (2.13) fornisce $\ell \approx 200 \mu\text{m}$. Questo valore è in sostanziale accordo con la lunghezza media delle corde osservata sperimentalmente nel caso in cui la densità iniziale di cellule sia tale da consentire la formazione delle reti vascolari (cfr. §1.5); da ciò si può inferire che il parametro ℓ determina la distanza di effettiva interazione chimica tra le cellule.

La forza chemotattica e il tasso di produzione di chemoattrattore sono significativi nelle equazioni di bilancio (2.12) se i loro coefficienti risultano dell'ordine dell'unità. Eguagliando a uno i coefficienti di ∇c^* e di n^* rispettivamente nella seconda e terza equazione del sistema (2.12) si ricavano le seguenti ulteriori grandezze caratteristiche:

$$C = \alpha\tau N, \quad T = \sqrt{\frac{D}{\alpha\beta N}};$$

la concentrazione C dà una misura della quantità di fattore chimico prodotto da una densità N di cellule in un tempo τ , mentre il tempo T è legato alla durata complessiva del processo di formazione delle strutture vascolari.

Il modello adimensionale risulta in definitiva:

$$\begin{cases} \frac{\partial n^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (n^* \mathbf{v}^*) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* = -\nabla p^*(n^*) + \nabla c^* - \gamma^* \mathbf{v}^* \\ \frac{\tau}{T} \frac{\partial c^*}{\partial t^*} = \Delta c^* + n^* - c^*; \end{cases} \quad (2.14)$$

in realtà, considerato che la diffusione chimica è un processo molto più rapido del moto cellulare, è ragionevole ipotizzare $\tau \ll T$, per cui la derivata temporale nell'equazione di diffusione per c^* può eventualmente essere trascurata. Ciò corrisponde di fatto a ritenere che la concentrazione c^* si adegui istantaneamente in tutto il dominio alle variazioni di densità n^* . L'equazione per c^* perde infatti la sua natura parabolica e diventa semplicemente

$$\Delta c^* + n^* - c^* = 0,$$

che è un'equazione ellittica di Helmholtz².

In sintesi, i primi stadi del processo di formazione delle reti vascolari sono descritti dal modello chemotattico nel seguente modo. Le disomogeneità nella distribuzione iniziale delle cellule generano gradienti di concentrazione del chemoattrattore, i quali accelerano le cellule originariamente in quiete. Esse iniziano così a muoversi attrverso il campo di concentrazione del fattore chimico, seguendo i tracciati lungo i quali la concentrazione è più elevata; contestualmente, modificano la configurazione del campo producendo nuovo chemoattrattore. La dinamica non lineare dell'equazione di Burgers accentua poi le iniziali disomogeneità acuendo i massimi e livellando progressivamente i minimi, fino a dar luogo eventualmente a strutture reticolari di lunghezza media caratteristica ℓ .

²Ciò non significa che il campo c^* perde la sua natura evolutiva nel tempo, in quanto l'equazione contiene comunque il termine n^* che dipende da t^* .

A questo proposito, si osservi che le disomogeneità nella distribuzione della densità iniziale delle cellule sono essenziali per l'innescare del processo di vasculogenesi. Supponiamo infatti che si abbia $n^*(\mathbf{x}, 0) = n_0^*$ costante; sostituendo nel modello (2.14) si ottiene

$$\begin{cases} \nabla \cdot \mathbf{v}^* &= 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* &= \nabla c^* - \gamma^* \mathbf{v}^* \\ \Delta c^* + n_0^* - c^* &= 0, \end{cases}$$

avendo osservato che $\nabla p^*(n_0^*) = \mathbf{0}$ perché $p^*(n_0^*)$ è costante in \mathbf{x} e avendo ommesso per semplicità la $\frac{\partial c^*}{\partial t^*}$ nell'ultima equazione. Questo sistema ammette la soluzione $\mathbf{v}^* = \mathbf{0}$, $c^* = n_0^*$, la quale è in effetti caratterizzata da una velocità nulla delle cellule.

Per un'analisi più approfondita delle proprietà matematiche del modello chemotattico (stabilità lineare) si rimanda a Kowalczyk *et al.* [5]; per la visione dei risultati delle simulazioni ad Ambrosi, Bussolino, Preziosi [1], Gamba *et al.* [3] e Serini *et al.* [11].

2.3 Il modello meccanico

2.3.1 Deduzione delle equazioni

Nel modello meccanico la formazione delle reti vascolari è descritta in termini di variazioni della densità locale di cellule e di matrice extracellulare, nonché dello stato di tensione di quest'ultima. Le variabili di stato utilizzate sono pertanto

- la densità n di cellule per unità di area,
- la densità ρ della matrice extracellulare,
- lo spostamento \mathbf{u} della matrice extracellulare dalla configurazione iniziale a quella deformata;

come nel caso del modello chemotattico, esse sono funzioni di una coordinata spaziale bidimensionale $\mathbf{x} = (x, y) \in \mathbb{R}^2$ e del tempo $t \geq 0$:

$$n = n(\mathbf{x}, t), \quad \rho = \rho(\mathbf{x}, t), \quad \mathbf{u} = \mathbf{u}(\mathbf{x}, t).$$

In particolare, se \mathbf{x}_0 denota la posizione originale di un punto del substrato e $\mathbf{x}(t)$ la posizione al tempo t dello stesso punto in seguito ad una deformazione, allora

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}_0, t) = \mathbf{x}(t) - \mathbf{x}_0;$$

questo campo \mathbf{u} determina nella matrice extracellulare un corrispondente campo di deformazione descritto, nell'ipotesi di piccoli spostamenti, dal tensore

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2} (\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T).$$

Osservazione. La deduzione delle equazioni del modello meccanico avverrà nel seguito direttamente in forma differenziale, in accordo al modo di procedere degli autori negli articoli originali. Ciononostante, per maggior chiarezza espositiva si farà talvolta riferimento ad un volume di controllo Ω , definito come nel modello chemotattico, sottintendendo la formulazione integrale di tali equazioni.

Conservazione della massa del substrato

Come detto in § 1.4, il movimento delle cellule provoca una riorganizzazione costitutiva del substrato, cioè una ridistribuzione della sua massa, funzionale alla successiva formazione delle reti vascolari. Osservazioni sperimentali hanno mostrato che questa è la principale causa di variazione della densità locale della matrice extracellulare (eventuali effetti di degrado della matrice causati dalla proteasi³ sono trascurabili, anche perché controllabili dall'esterno attraverso specifici inibitori), perciò per la variabile ρ viene proposta un'equazione di conservazione del tipo

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{w}) = 0$$

dove $\mathbf{w} := \frac{d\mathbf{u}}{dt}$ è la velocità del substrato. Come osservato da Manoussaki in [7], da questa definizione segue a rigore $\mathbf{w} = \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{w} \cdot \nabla \mathbf{u}$, ossia $(\mathbf{I} - \nabla \mathbf{u}) \mathbf{w} = \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}$; usando l'ipotesi di deformazioni infinitesime è però possibile trascurare $\nabla \mathbf{u}$ rispetto a \mathbf{I} , cosicché si ottiene $\mathbf{w} \approx \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}$ e dunque

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}_t) = 0. \quad (2.15)$$

Questa forma dell'equazione di continuità di ρ coincide con quella presentata da Namy, Ohayon e Tracqui in [9].

Conservazione della massa delle cellule

Anche per la densità n è possibile scrivere un'equazione di continuità avente la forma

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{J}_{\text{cell}} = \Gamma,$$

³La *proteasi* è un enzima che catalizza il distacco di aminoacidi dalle proteine (delle quali la matrice extracellulare è in gran parte composta) per favorire il nutrimento delle cellule.

dove \mathbf{J}_{cell} denota il flusso di cellule attraverso il volume di controllo Ω e Γ un eventuale termine di crescita della popolazione cellulare dovuta a fenomeni di proliferazione.

In linea di principio, \mathbf{J}_{cell} è semplicemente $n\mathbf{v}$ come nel modello chemotattico; tuttavia, non è qui possibile utilizzare una simile espressione per il flusso in quanto ora la velocità \mathbf{v} delle cellule non figura tra le variabili di stato del modello. Viene perciò proposta dagli autori una chiusura di quest'ultimo basata su una modellazione fenomenologica di \mathbf{J}_{cell} .

Namy e i suoi coautori [9] suggeriscono di decomporre \mathbf{J}_{cell} nella somma di tre contributi:

$$\mathbf{J}_{\text{cell}} = \mathbf{J}_h + \mathbf{J}_c + \mathbf{J}_D.$$

Il termine \mathbf{J}_h è detto *flusso aptotattico* e descrive la tendenza delle cellule a migrare verso zone del substrato a più elevata densità ρ ; esso è dunque modellato come proporzionale al gradiente di ρ secondo un coefficiente h :

$$\mathbf{J}_h = hn\nabla\rho. \quad (2.16)$$

Questo contributo è trascurato in Manoussaki [7].

Il termine \mathbf{J}_c rende invece conto della convezione passiva delle cellule aderenti alla matrice extracellulare in conseguenza dei movimenti di quest'ultima e si scrive pertanto come

$$\mathbf{J}_c = n\mathbf{w} = n\mathbf{u}_t. \quad (2.17)$$

Infine, il termine \mathbf{J}_D traduce l'effetto di *strain-dependent motion* (cfr. § 1.4); esso viene rappresentato come

$$\mathbf{J}_D = -\nabla \cdot (\mathbf{D}(\mathbf{E})n), \quad (2.18)$$

essendo $\mathbf{D}(\mathbf{E})$ un tensore di diffusione che descrive il moto preferenziale delle cellule verso le zone del substrato ove le fibre presentano un elevato grado di allineamento dovuto al campo di deformazione \mathbf{E} . L'espressione analitica di \mathbf{D} , ricavata da Cook (1995) e riottenuta in sintesi da Manoussaki in [7], è

$$\mathbf{D}(\mathbf{E}) = D_0 \begin{pmatrix} 1 + \frac{1}{2}(\epsilon_x - \epsilon_y) & \gamma_{xy} \\ \gamma_{xy} & 1 - \frac{1}{2}(\epsilon_x - \epsilon_y) \end{pmatrix} \quad (2.19)$$

dove i termini ϵ_x , ϵ_y , γ_{xy} indicano le componenti del tensore \mathbf{E} secondo la notazione classica della meccanica strutturale e D_0 è un parametro scalare.

Per quanto riguarda poi il termine di proliferazione cellulare Γ , Manoussaki suggerisce un'espressione lineare in n del tipo

$$\Gamma = rn, \quad (2.20)$$

essendo r il tasso di crescita intrinseca delle cellule, mentre Namy e i suoi coautori osservano che il tempo tipico della proliferazione è di circa 30 ore, di molto superiore a quello necessario per la formazione della rete vascolare, per cui pongono $\Gamma = 0$.

Bilancio delle forze tra le cellule e il substrato

L'interazione tra le cellule e il substrato è tradotta da un'equazione di equilibrio per la matrice extracellulare del tipo

$$\nabla \Sigma(n) + \nabla \cdot \mathbf{T}_{\text{ECM}} + \mathbf{f}_{\text{ext}} = \mathbf{0}, \quad (2.21)$$

in cui i vari termini hanno i seguenti significati:

- $\nabla \Sigma(n)$ è la forza di trazione esercitata dalle cellule sul substrato, espressa attraverso il gradiente di una funzione scalare $\Sigma(n)$ che può essere pensata come un campo di pressione;
- \mathbf{T}_{ECM} è il tensore degli sforzi della matrice extracellulare, cosicché $\nabla \cdot \mathbf{T}_{\text{ECM}}$ rappresenta la risposta meccanica del substrato alle trazioni di cui sopra;
- \mathbf{f}_{ext} è un'azione esterna dovuta all'adesione della matrice al disco di Petri.

Osservazione. Negli articoli originali [7] e [9] gli autori del modello meccanico presentano la precedente equazione di equilibrio nella forma

$$\nabla \cdot (\mathbf{T}_{\text{cell}} + \mathbf{T}_{\text{ECM}}) + \mathbf{f}_{\text{ext}} = \mathbf{0}, \quad (2.22)$$

salvo poi porre $\mathbf{T}_{\text{cell}} = \Sigma(n)\mathbf{I}$ e ottenere così la (2.21). Riteniamo tuttavia che la (2.22) sia fuorviante rispetto all'effettivo significato attribuito all'equazione e alla funzione $\Sigma(n)$, in quanto essa fa pensare piuttosto ad un bilancio delle forze sulla “miscela” costituita dal continuo cellulare e dal substrato, con \mathbf{T}_{cell} rappresentante il campo di sforzi *tra* le cellule. Per questo preferiamo scrivere il bilancio delle forze direttamente nella forma (2.21).

Manoussaki propone per $\Sigma(n)$ la seguente espressione:

$$\Sigma(n) = \frac{\tau_0 n}{1 + \alpha n^2}, \quad n \geq 0 \quad (2.23a)$$

il cui andamento è illustrato nella Figura 2.3a. Come si vede, $\Sigma(n)$ cresce fino al valore massimo $\frac{\tau_0}{2\sqrt{\alpha}}$ (raggiunto in corrispondenza di $n = \frac{1}{\sqrt{\alpha}}$) e tende quindi a zero per $n \rightarrow +\infty$. Ciò equivale ad assumere che la trazione che le cellule sono in grado di esercitare abbia un limite superiore e saturi ad alti valori della densità n . I parametri τ_0, α sono degli scalari ed esprimono rispettivamente una misura della trazione specifica delle cellule e della sua saturazione.

Namy e i suoi coautori suggeriscono invece la seguente funzione:

$$\Sigma(n) = \tau \rho n (N - n), \quad 0 \leq n < N \quad (2.23b)$$

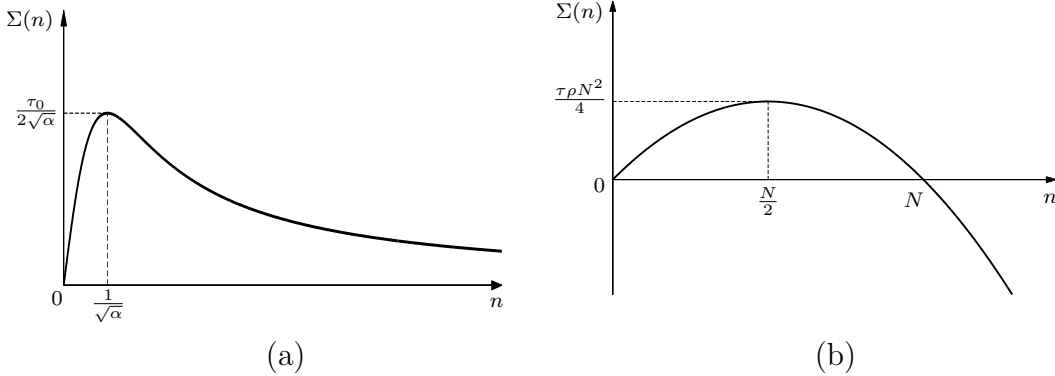


Figura 2.3. Sforzo di trazione cellulare $\Sigma(n)$ proposto (a) da Manoussaki in [7] e (b) da Namy *et al.* in [9].

rappresentata nella Figura 2.3b. L'andamento è ora parabolico con valore massimo $\frac{\tau\rho N^2}{4}$ (raggiunto per $n = \frac{N}{2}$) e la dinamica si differenzia dal caso precedente in quanto ad alte densità non si ha più un'inibizione della trazione cellulare (infatti $\Sigma'(n)$ non tende a zero per $n \rightarrow +\infty$). Inoltre, la funzione (2.23b) introduce una dipendenza della trazione cellulare dalla densità del substrato. La costante τ conserva invece un significato analogo a quello di τ_0 nella funzione (2.23a).

Osservazione. Non è chiaro come sia possibile, almeno in linea teorica, controllare la trazione cellulare $\Sigma(n)$ mediante la costante N in modo che la condizione $n < N$ richiesta dalla (2.23b) sia sempre soddisfatta durante tutta l'evoluzione del fenomeno. Questo punto è peraltro essenziale, in quanto se n cresce oltre la soglia individuata da N la funzione $\Sigma(n)$ diventa negativa (Figura 2.3b), cioè lo sforzo esercitato dal continuo cellulare sul substrato cambia natura passando da trazione a compressione.

Per quanto riguarda il tensore \mathbf{T}_{ECM} , gli autori del modello meccanico adottano la seguente decomposizione (Figura 2.4):

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}} = \mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{elast}} + \mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{visc}}. \quad (2.24)$$

Il primo termine è dato dalla legge di Hooke:

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{elast}} = 2\mu\mathbf{E} + \lambda(\text{tr } \mathbf{E})\mathbf{I}, \quad (2.25)$$

essendo μ, λ i coefficienti di Lamé del substrato. Esprimendo questi ultimi in funzione del modulo di Young E e del coefficiente di Poisson ν :

$$\mu = \frac{E}{2(1+\nu)}, \quad \lambda = \frac{\nu E}{(1+\nu)(1-2\nu)}$$

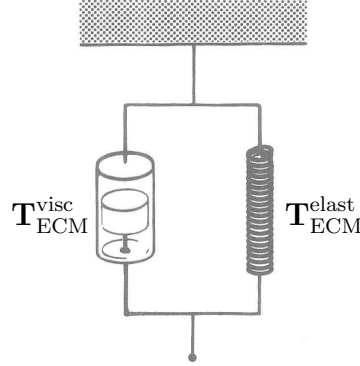


Figura 2.4. Rappresentazione schematica di un materiale dal comportamento viscoelastico per il quale valga la decomposizione (2.24).

si ha

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{elast}} = \frac{E}{1+\nu} \left(\mathbf{E} + \frac{\nu}{1-2\nu} \theta \mathbf{I} \right) \quad (2.26)$$

avendo definito $\theta := \text{tr } \mathbf{E} = \nabla \cdot \mathbf{u}$.

Il secondo termine introduce una componente viscosa dello sforzo, modellata come proporzionale alla velocità di variazione del tensore \mathbf{E} :

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{visc}} = \mu_1 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu_2 \frac{\partial \theta}{\partial t} \mathbf{I}, \quad (2.27)$$

con μ_1, μ_2 costanti scalari rappresentanti rispettivamente le viscosità di taglio e volumetrica.

Mettendo insieme le equazioni (2.26) e (2.27) si ottiene

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}} = \mu_1 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu_2 \frac{\partial \theta}{\partial t} \mathbf{I} + \frac{E}{1+\nu} \left(\mathbf{E} + \frac{\nu}{1-2\nu} \theta \mathbf{I} \right), \quad (2.28)$$

che è la forma di \mathbf{T}_{ECM} usata da Manoussaki in [7]. Namy, Ohayon e Tracqui [9] aggiungono un'ulteriore componente elastica dipendente dai termini del secondo ordine dello sviluppo di \mathbf{E} per tenere in conto gli effetti di interazione a lungo raggio:

$$\mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{elast}, II} = \frac{E}{1+\nu} \left(-\beta_1 \Delta \mathbf{E} - \frac{\nu}{1-2\nu} \beta_2 \Delta \theta \mathbf{I} \right) \quad (2.29)$$

essendo β_1, β_2 costanti non negative.

Infine, la forza esterna di adesione al disco di Petri viene rappresentata come proporzionale alla velocità del substrato da Manoussaki [7]:

$$\mathbf{f}_{\text{ext}} = -\frac{s}{\rho} \mathbf{w} = -\frac{s}{\rho} \mathbf{u}_t \quad (2.30a)$$

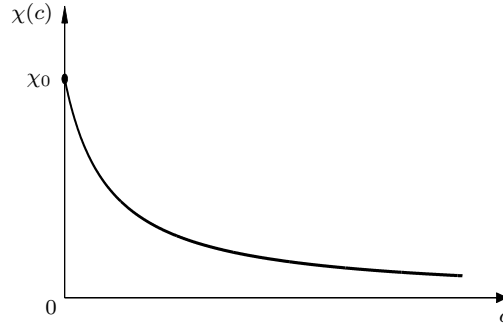


Figura 2.5. La funzione $\chi(c)$ (equazione (2.31)) proposta da Manoussaki in [7] per modulare l'effetto dei gradienti di chemoattrattore sulle cellule.

o come proporzionale al suo spostamento da Namy e coautori [9]:

$$\mathbf{f}_{\text{ext}} = -\frac{s}{\rho}\mathbf{u} \quad (2.30b)$$

con il parametro s dipendente da E e da ν . Nel primo caso tale forza ha una natura viscosa, nel secondo elastica.

Chemotassi

Nella deduzione del suo modello, Manoussaki considera inoltre l'effetto del fattore chimico VEGF sulle cellule, inserendo in \mathbf{J}_{cell} un termine di flusso chemotattico avente la forma

$$\mathbf{J}_{\text{chem}} = n\chi(c)\nabla c, \quad \chi(c) = \frac{\chi_0}{1 + \beta c}; \quad (2.31)$$

la funzione $\chi(c)$ (Figura 2.5) definisce una dinamica in cui l'effetto dei gradienti chimici è avvertito solo per bassi valori della concentrazione c del chemoattrattore.

L'evoluzione nello spazio e nel tempo di $c = c(\mathbf{x}, t)$ è descritta da un'equazione di diffusione molto simile alla (2.9):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c + \gamma n - \delta \frac{nc}{K_m + c} \quad (2.32)$$

con l'unica differenza che al posto del termine di degrado $-\frac{c}{\tau}$ è qui presente il termine $-\delta \frac{nc}{K_m + c}$ che modella l'assorbimento di chemoattrattore da parte delle cellule.

Le equazioni (2.15), (2.16)-(2.18), (2.23b), (2.28) e (2.29), (2.30b) danno luogo al

seguente sistema, che definisce il modello meccanico di Namy, Ohayon e Tracqui [9]:

$$\left\{ \begin{array}{l} \nabla[\tau \rho n (N - n)] + \nabla \cdot \left[\mu_1 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu_2 \frac{\partial \theta}{\partial t} \mathbf{I} + \right. \\ \quad \left. + \frac{E}{1 + \nu} \left(\mathbf{E} - \beta_1 \Delta \mathbf{E} + \frac{\nu}{1 - 2\nu} (\theta - \beta_2 \Delta \theta) \mathbf{I} \right) \right] = \frac{s}{\rho} \mathbf{u} \\ \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot [n \mathbf{u}_t - \nabla \cdot (\mathbf{D}(\mathbf{E})n) + hn \nabla \rho] = 0 \\ \frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}_t) = 0; \end{array} \right. \quad (2.33)$$

combinando le equazioni (2.15), (2.17)-(2.20) e (2.31), (2.23a), (2.28), (2.30a), (2.32) si ottiene invece il modello di Manoussaki [7]:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{u}_t) = \nabla \cdot [\nabla \cdot (\mathbf{D}(\mathbf{E})n) - n \chi(c) \nabla c] + rn \\ \frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}_t) = 0 \\ \frac{s}{\rho} \mathbf{u}_t = \nabla \left(\frac{\tau_0 n}{1 + \alpha n^2} \right) + \\ \quad + \nabla \cdot \left[\mu_1 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu_2 \frac{\partial \theta}{\partial t} \mathbf{I} + \frac{E}{1 + \nu} \left(\mathbf{E} + \frac{\nu}{1 - 2\nu} \theta \mathbf{I} \right) \right] \\ \frac{\partial c}{\partial t} = D \Delta c + \gamma n - \delta \frac{nc}{K_m + c}. \end{array} \right. \quad (2.34)$$

Nelle simulazioni numeriche presentate in [7], l'autrice omette tuttavia sia il termine di proliferazione cellulare sia la parte chemotattica, ricadendo così di fatto in un modello puramente meccanico direttamente confrontabile con il precedente (2.33).

2.3.2 Condizioni iniziali e al bordo

Anche gli autori di entrambi i modelli meccanici utilizzano un dominio quadrato $Q = (0, L) \times (0, L) \subset \mathbb{R}^2$ per le loro equazioni e prescrivono le seguenti condizioni iniziali:

- una perturbazione casuale nell'intorno di uno stato stazionario n_0 per la densità delle cellule,

$$n(\mathbf{x}, 0) = n_0 + \nu(\mathbf{x})$$

dove $\nu(\mathbf{x})$ è, per ogni $\mathbf{x} \in Q$, una variabile aleatoria avente distribuzione uniforme sull'intervallo $[-pn_0, pn_0]$ con $p \in [0, 1]$;

- una distribuzione omogenea della densità della matrice extracellulare,

$$\rho(\mathbf{x}, 0) = \rho_0;$$

- uno stato indeformato della matrice extracellulare,

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}, 0) = \mathbf{0}.$$

Suggeriscono inoltre quali condizioni al contorno:

- un flusso nullo di cellule e di matrice extracellulare attraverso il bordo del dominio,

$$\mathbf{J}_{\text{cell}} \cdot \mathbf{n} = 0, \quad \rho \mathbf{u}_t \cdot \mathbf{n} = 0$$

essendo \mathbf{n} il versore normale esterno a ∂Q ;

- uno spostamento nullo del bordo della matrice extracellulare,

$$\mathbf{u}|_{\partial Q} = \mathbf{0}.$$

2.3.3 Discussione

Così come fatto in precedenza per il modello chemotattico, è possibile portare in forma adimensionale anche i modelli meccanici (2.33) e (2.34); tuttavia, non si perviene all'identificazione di alcun parametro particolarmente significativo per la dinamica del sistema, per cui le adimensionalizzazioni hanno in questo caso una valenza più che altro tecnica e non verranno qui descritte. Il lettore interessato può comunque reperirle rispettivamente in [7] e [9].

È invece di un certo interesse discutere altri aspetti maggiormente connessi alla deduzione teorica dei due modelli presentati nel paragrafo precedente.

Osserviamo anzitutto che la relazione costitutiva elastica lineare (2.25), coinvolgendo i coefficienti di Lamé, comporta come unità di misura degli sforzi il N/m^2 ; questi ultimi sono pertanto definiti come *forze per unità di superficie* e dunque la matrice extracellulare è pensata come un solido tridimensionale (perché se fosse bidimensionale allora gli sforzi dovrebbero essere definiti come *forze per unità di lunghezza*). Ciò non è però coerente né con l'equazione (2.19), che definisce il tensore $\mathbf{D}(\mathbf{E})$ come bidimensionale e chiama in causa solo le deformazioni $\epsilon_x, \epsilon_y, \gamma_{xy}$, né con il fatto che le simulazioni sono poi condotte su un dominio bidimensionale. Peraltro, questa incongruenza non è di poco conto, perché in linea di principio non può essere risolta continuando ad utilizzare le equazioni di equilibrio del substrato valide nel caso tridimensionale nelle quali semplicemente si elimini la dipendenza delle variabili di stato dalla coordinata z e si sopprima arbitrariamente la terza componente dei vettori. Il punto cruciale, spesso trascurato, è che bisogna anche ridefinire in

modo coerente il significato fisico dei tensori, soprattutto di quello degli sforzi, e delle loro componenti superstiti, esprimendo eventualmente in funzione di queste ultime quelle che vengono perse (non semplicemente cancellate) nella riduzione di dimensione. Questo aspetto è taciuto nell'articolo di Manoussaki [7], mentre è in parte analizzato da Namy e coautori in [9].

Non sarà inutile ricordare a questo punto che altri autori sostituiscono talvolta l'equazione (2.15) di bilancio della massa della matrice extracellulare con un'equazione che mette in relazione la densità ρ e la dilatazione θ utilizzando appunto una tecnica di riduzione dimensionale (v. ad es. Ambrosi, Bussolino, Preziosi [1]). Più in dettaglio, consideriamo la relazione costitutiva elastica (2.25) e supponiamo che la componente σ_z del tensore degli sforzi $\mathbf{T}_{\text{ECM}}^{\text{elast}}$ sia nulla; allora

$$2\mu\epsilon_z + \lambda(\epsilon_x + \epsilon_y + \epsilon_z) = 0,$$

da cui si vede che la deformazione lungo z non è zero ma nemmeno indipendente dalle deformazioni lungo gli altri due assi:

$$\epsilon_z = -\frac{\lambda}{2\mu + \lambda}(\epsilon_x + \epsilon_y) = -\frac{\nu}{1 - \nu}(\epsilon_x + \epsilon_y).$$

Introducendo l'equazione di bilancio della massa del substrato in coordinate lagrangiane:

$$\rho_0 = \rho \det(\mathbf{I} + \nabla \mathbf{u}),$$

con $\rho_0 = \rho(\mathbf{x}, 0)$ rappresentante la densità iniziale della matrice extracellulare, e invocando l'ipotesi di deformazioni infinitesime si può scrivere

$$\begin{aligned} \det(\mathbf{I} + \nabla \mathbf{u}) &\approx (1 + \epsilon_x)(1 + \epsilon_y)(1 + \epsilon_z) \approx \\ &\approx 1 + \epsilon_x + \epsilon_y + \epsilon_z = \\ &= 1 + \frac{1 - 2\nu}{1 - \nu}(\epsilon_x + \epsilon_y), \end{aligned}$$

avendo trascurato i termini di ordine superiore al primo nelle componenti del tensore **E**. Infine, ricordando che $(1 + x)^{-1} = 1 - x + o(x)$ per $x \rightarrow 0$, si ottiene

$$\rho \approx \rho_0 \left(1 - \frac{1 - 2\nu}{1 - \nu}(\epsilon_x + \epsilon_y) \right).$$

Un altro aspetto interessante a proposito della dinamica prevista dai modelli in oggetto consiste in un risultato che sembra avvalorare la tesi secondo cui le interazioni meccaniche sono fondamentali per la formazione della rete vascolare e non subordinate alla chemotassi. La relativa argomentazione è fornita da Manoussaki in [7] e deriva da uno studio di stabilità lineare sul sistema (2.34); ne illustriamo qui i punti salienti, rinviando all'articolo originale per maggiori dettagli e riferimenti.

Supponiamo che $(n_0, \rho_0, \mathbf{u}_0, c_0)$ rappresenti una soluzione stazionaria del sistema (2.34); sia inoltre

$$(n', \rho', \mathbf{u}', c') = (\bar{n}, \bar{\rho}, \bar{\mathbf{u}}, \bar{c}) e^{\sigma t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}}$$

una perturbazione ad andamento esponenziale nell'intorno di tale soluzione, con \bar{n} , $\bar{\rho}$, $\bar{\mathbf{u}}$, \bar{c} coefficienti costanti. Sostituendo

$$(n, \rho, \mathbf{u}, c) = (n_0, \rho_0, \mathbf{u}_0, c_0) + (\bar{n}, \bar{\rho}, \bar{\mathbf{u}}, \bar{c}) e^{\sigma t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}}$$

nelle equazioni (2.34) e linearizzando il sistema risultante, si ottiene una relazione di dispersione che associa il tasso di crescita temporale σ della perturbazione al corrispondente numero d'onda \mathbf{k} : $\sigma = \sigma(|\mathbf{k}|^2)$.

Per avere la formazione di reti vascolari viene richiesto che almeno per alcuni numeri d'onda \mathbf{k} il corrispondente tasso σ sia positivo, in modo che la relativa perturbazione si amplifichi; ciò si verifica se

$$\frac{\tau_0}{E} > \frac{1}{1 - \nu^2} \frac{1}{n_0} \frac{(1 + \alpha n_0^2)^2}{1 - \alpha n_0^2}.$$

Questo risultato mette a confronto il modulo di Young E del substrato con la trazione specifica τ_0 delle cellule e suggerisce che le reti si formano se quest'ultima è sufficientemente elevata o se la matrice extracellulare non è troppo rigida. Manoussaki fa notare come la precedente condizione sia indipendente dai parametri che figurano nell'equazione di evoluzione del chemoattrattore, i quali non contribuiscono alla positività del tasso di crescita di una perturbazione iniziale.

Capitolo 3

Il modello chemomeccanico

3.1 Presentazione e propositi

In questo capitolo proponiamo un nuovo modello matematico per la descrizione e lo studio della vasculogenesi, da intendersi come un'evoluzione di quello chemotattico presentato in §2.2; in particolare, l'aspetto innovativo è costituito dalla presa in conto delle interazioni meccaniche tra le cellule e il substrato.

In accordo a quanto descritto nei §§ 1.2 e 1.3, il nostro principale obiettivo consiste nel simulare il succedersi delle fasi chimica e meccanica, prevedendo un iniziale moto ameboide durante il quale le cellule sono guidate essenzialmente dai gradienti di chemoattrattore endogeno seguito poi dall'ancoraggio alla matrice extracellulare con conseguente sviluppo di sforzi tra le cellule e il substrato. In questo modo intendiamo privilegiare una dinamica in cui nessuno dei due aspetti chimico e meccanico può sussistere senza il contributo dell'altro: dapprima la chemotassi ordina in un abbozzo di rete le cellule inizialmente disposte in modo casuale e successivamente l'ancoraggio al substrato tende le corde e stabilizza la struttura, consentendole di assumere una configurazione più netta.

Per non complicare inutilmente il modello con aspetti che, seppur documentati sperimentalmente, appaiono secondari in relazione agli obiettivi appena illustrati, abbiamo scelto di inquadrare la parte meccanica nell'ambito dell'elasticità lineare, descrivendo il comportamento della matrice extracellulare unicamente attraverso la legge di Hooke. D'altra parte, con riferimento ai modelli meccanici presentati nel precedente Capitolo, si può osservare che un modello viscoelastico sarebbe necessario solo se i tempi di rilassamento del substrato fossero confrontabili (o maggiori) con l'ordine temporale del fenomeno in oggetto. Tuttavia, la formazione delle reti vascolari avviene su tempi dell'ordine di 10^4 s, mentre i tempi di rilassamento di un materiale viscoelastico sono al più dell'ordine di 10^3 s, per cui un modello puramente elastico appare adatto e sufficiente.

Anche l'ancoraggio delle cellule endoteliali al substrato è modellato in quest'ottica mediante una forza elastica che dipende dai reciproci spostamenti delle prime e del secondo dalla posizione iniziale.

In questo senso il nostro modello è “minimale”, perché include solo gli elementi strettamente indispensabili alla simulazione del comportamento del sistema. Peraltro, grazie a questa minimalità esso dovrebbe permettere di focalizzare gli aspetti realmente importanti ai fini della modellizzazione fisico-matematica.

3.2 Deduzione delle equazioni

Per introdurre nel modello chemotattico le interazioni meccaniche è necessario aggiungere alle (2.10) un'equazione rappresentante la risposta passiva della matrice extracellulare alle sollecitazioni indotte dalle cellule. Trascurando eventuali effetti inerziali, essa avrà in generale la forma di un'equazione di bilancio delle forze:

$$\nabla \cdot \mathbf{T} + \mathbf{f} = \mathbf{0}$$

con \mathbf{T} il tensore degli sforzi del substrato ed \mathbf{f} la risultante delle azioni agenti su quest'ultimo. In \mathbf{f} è compresa, tra le altre, la forza di interazione scambiata tra le cellule e la matrice, la quale dovrà chiaramente comparire anche nell'equazione del moto delle cellule.

Pensando ad un modello bidimensionale, proponiamo anzitutto una riduzione dallo spazio al piano dell'equazione di equilibrio della matrice extracellulare, ovvero in particolare del tensore degli sforzi \mathbf{T} ; successivamente ci occuperemo di dare un'espressione analitica ad \mathbf{f} .

3.2.1 Riduzione bidimensionale del substrato

La riduzione bidimensionale della matrice extracellulare può essere fatta assimilando quest'ultima ad una *lastra piana* (v. ad es. Carpinteri [2]), elemento strutturale cilindrico in cui lo spessore è trascurabile rispetto alle dimensioni delle basi essendo di almeno un ordine di grandezza inferiore a queste ultime. Una simile approssimazione è compatibile con le dimensioni della matrice extracellulare utilizzata negli esperimenti di vasculogenesi *in vitro*, poiché essa ha uno spessore di alcune decine di micrometri a fronte di alcuni millimetri di larghezza di base (cfr. § 1.2).

L'equilibrio di una lastra piana ad una sollecitazione $\mathbf{f} = f_x \mathbf{i} + f_y \mathbf{j}$ tangente alle basi viene scritto considerando nel solido tridimensionale di Cauchy i soli sforzi σ_x , σ_y , $\tau_{xy} = \tau_{yx}$ e integrando questi ultimi sullo spessore della lastra, così da ottenere le corrispondenti caratteristiche membranali bidimensionali della sollecitazione interna N_x , N_y , $T_{xy} = T_{yx}$ (Figura 3.1).

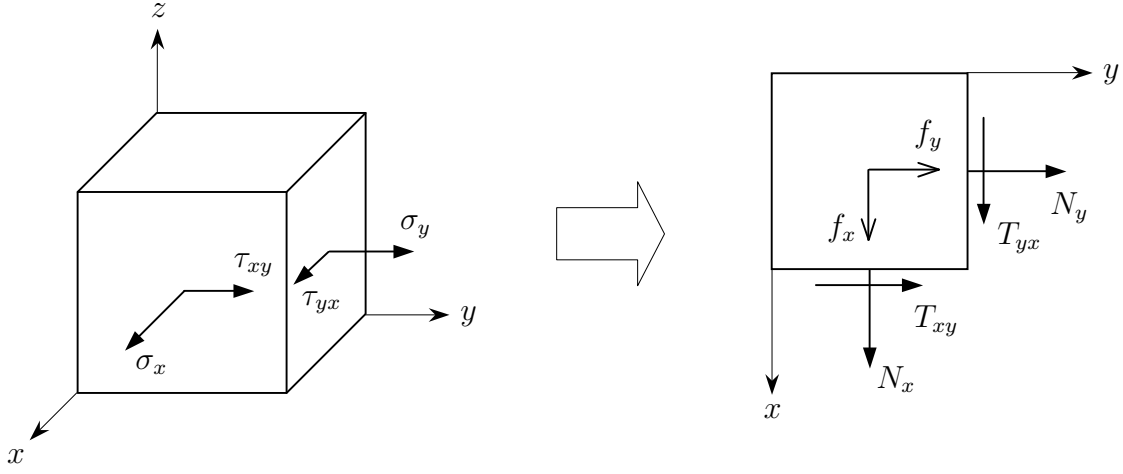


Figura 3.1. A sinistra, gli sforzi membranali σ_x , σ_y , $\tau_{xy} = \tau_{yx}$ in un elemento infinitesimo del solido tridimensionale di Cauchy; a destra, le corrispondenti caratteristiche della sollecitazione N_x , N_y , $T_{xy} = T_{yx}$ integrate sullo spessore in un elemento infinitesimo di lastra piana.

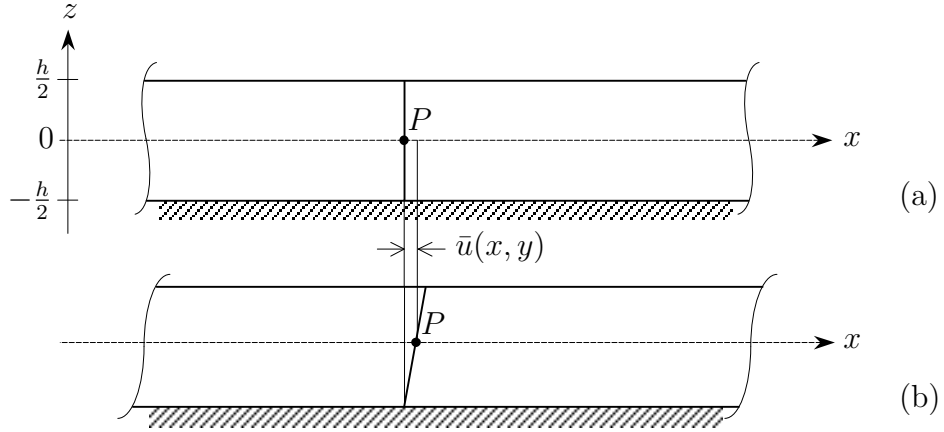


Figura 3.2. In (a), sezione trasversale nel piano xz della lastra indeformata; in (b), sezione deformata a causa di una sollecitazione tangente al piano orizzontale xy . La base inferiore della lastra ($z = -\frac{h}{2}$) è supposta fissa.

Consideriamo dunque una lastra piana di spessore h vincolata sulla faccia inferiore e sollecitata da forze distribuite tangenzialmente alle basi. Nella Figura 3.2a ne è illustrata la sezione sul piano xz , con l'asse x coincidente con la traccia del piano medio della lastra. Stante l'ipotesi di spostamenti infinitesimi, è possibile assumere la planarità della sezione anche dopo la deformazione (Figura 3.2b); ciò comporta che gli spostamenti tangenziali della lastra lungo le direzioni x e y , che denotiamo rispettivamente con $u = u(x, y, z)$ e con $v = v(x, y, z)$, abbiano un andamento lineare con lo spessore, ovvero rispetto a z , mentre per la particolare sollecitazione applicata lo spostamento ortogonale al piano xy , che indichiamo con $w = w(x, y, z)$, risulta nullo. Usando la condizione di vincolo sulla base inferiore della lastra:

$$u\left(x, y, -\frac{h}{2}\right) = v\left(x, y, -\frac{h}{2}\right) = 0$$

e indicando con $\bar{u}(x, y)$, $\bar{v}(x, y)$ gli spostamenti tangenziali del piano medio alla quota $z = 0$ possiamo dunque scrivere

$$u(x, y, z) = \bar{u}(x, y)\varphi(z), \quad v(x, y, z) = \bar{v}(x, y)\varphi(z), \quad w(x, y, z) = 0,$$

dove abbiamo posto $\varphi(z) := 1 + \frac{2}{h}z$, cosicché lo stato deformativo della lastra risulta

$$\begin{aligned} \epsilon_x &= \frac{\partial u}{\partial x} = \frac{\partial \bar{u}}{\partial x}\varphi(z), & \gamma_{xy} &= \frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} = \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial y} + \frac{\partial \bar{v}}{\partial x}\right)\varphi(z) \\ \epsilon_y &= \frac{\partial v}{\partial y} = \frac{\partial \bar{v}}{\partial y}\varphi(z), & \gamma_{xz} &= \frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} = \frac{2}{h}\bar{u}(x, y) \\ \epsilon_z &= \frac{\partial w}{\partial z} = 0, & \gamma_{yz} &= \frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} = \frac{2}{h}\bar{v}(x, y). \end{aligned} \tag{3.1}$$

Come si vede, esso non è piano a causa della presenza delle deformazioni angolari γ_{xz} e γ_{yz} , le quali tuttavia non rientrano nella definizione dello stato di tensione membranale che qui interessa. Esse sono inoltre le uniche deformazioni proporzionali agli spostamenti del piano medio e non alle loro derivate, per cui possono essere trascurate rispetto alle altre grazie all'ipotesi di spostamenti infinitesimi.

Imponendo ulteriormente $\sigma_z = 0$ per avere uno stato tensionale piano¹, la relazione costitutiva elastica lineare consente di esprimere le tre componenti significative della deformazione come

$$\epsilon_x = \frac{1}{E}(\sigma_x - \nu\sigma_y), \quad \epsilon_y = \frac{1}{E}(\sigma_y - \nu\sigma_x), \quad \gamma_{xy} = \frac{1 + \nu}{E}\tau_{xy}$$

¹Trascurando γ_{xz} e γ_{yz} si assume implicitamente $\tau_{xz} \approx 0$ e $\tau_{yz} \approx 0$ e inoltre lo stato deformativo definito dalle (3.1) risulta piano; peraltro, l'ulteriore ipotesi $\sigma_z = 0$ induce uno stato tensionale a sua volta piano. A questo proposito, è bene osservare che a rigore uno stato non può essere allo stesso tempo deformativo piano e tensionale piano; tuttavia, lo spessore h della lastra è ipotizzato talmente piccolo da consentire lo sviluppo di tensioni σ_z molto basse e dunque di fatto trascurabili.

le quali, invertite rispetto alle tensioni, danno

$$\sigma_x = \frac{E}{1-\nu^2} (\epsilon_x + \nu\epsilon_y), \quad \sigma_y = \frac{E}{1-\nu^2} (\epsilon_y + \nu\epsilon_x), \quad \tau_{xy} = \frac{E}{1+\nu} \gamma_{xy}.$$

Inserendo le (3.1) in queste equazioni troviamo

$$\sigma_x = \frac{E}{1-\nu^2} \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial x} + \nu \frac{\partial \bar{v}}{\partial y} \right) \varphi(z)$$

$$\sigma_y = \frac{E}{1-\nu^2} \left(\frac{\partial \bar{v}}{\partial y} + \nu \frac{\partial \bar{u}}{\partial x} \right) \varphi(z)$$

$$\tau_{xy} = \frac{E}{1+\nu} \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial y} + \frac{\partial \bar{v}}{\partial x} \right) \varphi(z)$$

da cui, osservando che l'integrazione del fattore $\varphi(z)$ sullo spessore $[-\frac{h}{2}, \frac{h}{2}]$ dà

$$\int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \varphi(z) dz = \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \left(1 + \frac{2}{h} z \right) dz = \left[z + \frac{1}{h} z^2 \right]_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} = h,$$

otteniamo le caratteristiche bidimensionali della sollecitazione interna della lastra:

$$N_x = \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \sigma_x dz = \frac{Eh}{1-\nu^2} \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial x} + \nu \frac{\partial \bar{v}}{\partial y} \right)$$

$$N_y = \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \sigma_y dz = \frac{Eh}{1-\nu^2} \left(\frac{\partial \bar{v}}{\partial y} + \nu \frac{\partial \bar{u}}{\partial x} \right)$$

$$T_{xy} = \int_{-\frac{h}{2}}^{\frac{h}{2}} \frac{1}{2} \tau_{xy} dz = \frac{Eh}{2(1+\nu)} \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial y} + \frac{\partial \bar{v}}{\partial x} \right).$$

Il fattore $\frac{1}{2}$ che compare nell'ultima espressione è stato introdotto per rendere formalmente più espressivi i calcoli che seguono.

Definendo il *coefficiente di rigidezza estensionale* della lastra

$$F := \frac{Eh}{1-\nu^2}$$

e le deformazioni bidimensionali del piano medio

$$\bar{\epsilon}_x := \frac{\partial \bar{u}}{\partial x}, \quad \bar{\epsilon}_y := \frac{\partial \bar{v}}{\partial y}, \quad \bar{\gamma}_{xy} = \bar{\gamma}_{yx} := \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \bar{u}}{\partial y} + \frac{\partial \bar{v}}{\partial x} \right)$$

possiamo riscrivere le precedenti equazioni nella forma

$$N_x = F(\bar{\epsilon}_x + \nu\bar{\epsilon}_y), \quad N_y = F(\bar{\epsilon}_y + \nu\bar{\epsilon}_x), \quad T_{xy} = F(1 - \nu)\bar{\gamma}_{xy}; \quad (3.2)$$

denotando con

$$\mathbf{T} = \begin{pmatrix} N_x & T_{xy} \\ T_{xy} & N_y \end{pmatrix}, \quad \mathbf{E} = \begin{pmatrix} \bar{\epsilon}_x & \bar{\gamma}_{xy} \\ \bar{\gamma}_{yx} & \bar{\epsilon}_y \end{pmatrix}$$

i tensori degli sforzi e delle deformazioni della lastra bidimensionale, le (3.2) forniscono allora la relazione costitutiva

$$\mathbf{T} = F(1 - \nu)\mathbf{E} + \nu F(\text{tr } \mathbf{E}) \mathbf{I}.$$

Essa consente di scrivere l'equazione di equilibrio della lastra in termini delle deformazioni bidimensionali come

$$\nabla \cdot [F(1 - \nu)\mathbf{E} + \nu F(\text{tr } \mathbf{E}) \mathbf{I}] + \mathbf{f} = \mathbf{0} \quad (3.3)$$

ovvero, se i coefficienti F e ν sono costanti,

$$F(1 - \nu)\nabla \cdot \mathbf{E} + \nu F\nabla(\text{tr } \mathbf{E}) + \mathbf{f} = \mathbf{0};$$

introducendo la relazione cinematica

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T), \quad \mathbf{u} = (\bar{u}, \bar{v})^T$$

abbiamo infine, dopo alcuni passaggi algebrici,

$$F\frac{1 - \nu}{2}\Delta \mathbf{u} + F\frac{1 + \nu}{2}\nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) + \mathbf{f} = \mathbf{0}, \quad (3.4)$$

equazione del tutto simile a quella che si ottiene per il solido tridimensionale di Cauchy ma con coefficienti diversi che tengono conto della natura bidimensionale del problema².

²È soprattutto l'unità di misura dei coefficienti a rendere conto della bidimensionalità del problema. Nel caso tridimensionale si ottiene infatti l'equazione

$$\mu\Delta \mathbf{u} + (\lambda + \mu)\nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) + \mathbf{f} = \mathbf{0}$$

con $[\mu] = [\lambda] = \text{N/m}^2$, mentre nel caso bidimensionale si ha $[F] = \text{N/m}$; ciò è diretta conseguenza del fatto che mentre gli sforzi σ_x , σ_y , τ_{xy} sono definiti come forze per unità di superficie, le caratteristiche della sollecitazione N_x , N_y , T_{xy} risultano forze per unità di lunghezza a causa dell'integrazione sullo spessore della lastra.

Osservazione. L'equazione (3.4) va a rigore intesa in un sistema di riferimento lagrangiano, in quanto lo spostamento \mathbf{u} è definito anche in questo caso dalla relazione

$$\mathbf{u}(\mathbf{x}_0, t) = \mathbf{x}(t) - \mathbf{x}_0$$

dove $\mathbf{x}_0, \mathbf{x}(t)$ hanno lo stesso significato già descritto in § 2.3.1. Tuttavia, per spostamenti infinitesimi sarà possibile all'occorrenza confondere i punti \mathbf{x}_0 e $\mathbf{x}(t)$ senza commettere errori importanti.

3.2.2 Forze sul substrato e interazione con le cellule

Ci occupiamo ora di definire le forze agenti sulla matrice extracellulare e le interazioni scambiate tra quest'ultima e le cellule.

Apportiamo anzitutto una leggera modifica al tensore degli sforzi del continuo cellulare rispetto a quanto descritto in § 2.2.1 a proposito del modello chemotattico; in particolare, poniamo

$$\mathbf{T}_{\text{cell}} = -p(n)\mathbf{I}.$$

Si tratta evidentemente di una modifica più concettuale che sostanziale, ma in questo modo la pressione $p(n)$ può essere interpretata direttamente in termini di sforzo di compressione tra le cellule³.

Riportiamo quindi di seguito la nuova equazione di persistenza del moto delle cellule che ne risulta e l'equazione di equilibrio della matrice extracellulare (3.4):

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = -\frac{1}{n} \nabla p(n) + \beta \nabla c - \gamma \mathbf{v} \quad (3.5a)$$

$$\mathbf{0} = F \frac{1-\nu}{2} \Delta \mathbf{u} + F \frac{1+\nu}{2} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + \mathbf{f}. \quad (3.5b)$$

Affinché esse siano confrontabili, è necessario renderne coerenti le unità di misura⁴ riscrivendo la (3.5a) in forma conservativa. Introdotta la massa cellulare m_c e moltiplicata formalmente l'equazione (3.5a) per la quantità $m_c n$, che assume il significato di densità superficiale di massa del continuo cellulare, si ottiene:

$$\frac{\partial}{\partial t} (m_c n \mathbf{v}) + \nabla \cdot (m_c n \mathbf{v} \otimes \mathbf{v}) = -m_c \nabla p(n) + \beta m_c n \nabla c - \gamma m_c n \mathbf{v}$$

avendo ricordato che, grazie all'equazione di continuità (2.1) della variabile n , le espressioni $n \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} \right)$ e $\frac{\partial}{\partial t} (n \mathbf{v}) + \nabla \cdot (n \mathbf{v} \otimes \mathbf{v})$ sono equivalenti, come dimostrato dalla (2.3).

³In realtà l'unità di misura di p non è il $\text{N/m} = \text{kg/s}^2$, come ci si aspetterebbe per uno sforzo in un continuo bidimensionale, ma il s^{-2} per via del fatto che n non è una vera e propria densità di massa ma piuttosto una densità numerica.

⁴Si noti che, così come sono scritte, le equazioni (3.5a) e (3.5b) comprendono termini misurati rispettivamente in m/s^2 e in N/m^2 .

Questa equazione contempla come campi di forza esterni agenti sulle cellule rispettivamente quello dovuto ai gradienti di chemoattrattore $\beta m_c n \nabla c$ e quello prodotto dall'attrito viscoso con il substrato $-\gamma m_c n \mathbf{v}$. In particolare, il secondo è scambiato dalle cellule con la matrice extracellulare, cioè è una forza interna al sistema cellule + matrice, per cui esso deve figurare, con il segno cambiato, anche nell'espressione di \mathbf{f} presente nell'equazione (3.5b). Non solo, ma deve inoltre essere più propriamente riscritto come $-\gamma m_c n (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t)$ perché ora, a differenza del modello chemotattico, il substrato è un elemento attivo del sistema e dunque l'interazione dipende dalla velocità relativa delle cellule rispetto ad esso. Si osservi che \mathbf{u}_t rappresenta effettivamente la velocità del substrato entro i limiti in cui vale l'approssimazione discussa in § 2.3.1 a proposito dell'equazione di continuità (2.15) del modello meccanico.

Per modellizzare le trazioni dovute all'ancoraggio delle cellule al substrato, assumiamo che su quest'ultimo agisca un'ulteriore forza $\mathbf{f}_{\text{elast}}$, ora di natura elastica, dipendente dagli spostamenti della matrice e delle cellule dalle rispettive posizioni iniziali considerate a partire dal momento in cui avviene l'ancoraggio. Detto $\mathbf{u}_c = \mathbf{u}_c(\mathbf{x}, t)$ il campo degli spostamenti cellulari, poniamo

$$\mathbf{f}_{\text{elast}} = -\kappa n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c)$$

dove κ è una costante elastica di proporzionalità che traduce la rigidità dell'ancoraggio. Evidentemente, anche questa è una forza interna al sistema cellule + substrato, per cui dovrà a sua volta comparire, con il segno cambiato, nell'equazione del moto delle cellule.

Infine, ricordando che la riduzione bidimensionale della matrice extracellulare è stata effettuata ipotizzando uno spostamento nullo della base inferiore, per coerenza è necessario includere in \mathbf{f} un'ulteriore componente reattiva \mathbf{f}_{ext} che tenga conto di questa assunzione, la quale può eventualmente essere riletta in termini di adesione del substrato al sottostante disco di Petri. Poniamo perciò

$$\mathbf{f}_{\text{ext}} = -s\mathbf{u},$$

notando contestualmente che questa forza, non essendo scambiata tra il substrato e le cellule, non deve essere inserita nell'equazione (3.5a).

Prima di concludere, osserviamo che la forza elastica $\mathbf{f}_{\text{elast}}$ entra in azione solo ad ancoraggio avvenuto delle cellule al substrato; in altre parole, questa forza non è presente durante l'iniziale fase chemotattica e, anzi, il suo innesco determina proprio il passaggio alla fase meccanica. Immaginando che esista un istante di tempo $t_{\text{soglia}} \geq 0$ a partire dal quale si abbia l'ancoraggio di tutte le cellule al substrato, è possibile modellizzare la transizione dalla dinamica di pura chemotassi a quella chemomeccanica moltiplicando la forza $\mathbf{f}_{\text{elast}}$ per la funzione indicatrice dell'intervallo

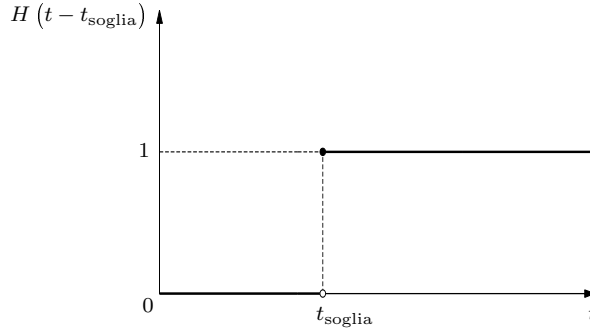


Figura 3.3. La funzione indicatrice dell'intervallo $[t_{\text{soglia}}, +\infty)$.

$[t_{\text{soglia}}, +\infty)$ (Figura 3.3):

$$H(t - t_{\text{soglia}}) = \begin{cases} 0 & \text{se } t < t_{\text{soglia}} \\ 1 & \text{se } t \geq t_{\text{soglia}}. \end{cases}$$

In questo modo si ottiene

$$\mathbf{f}_{\text{elast}} H(t - t_{\text{soglia}}) = \begin{cases} \mathbf{0} & \text{per } t < t_{\text{soglia}} \\ -\kappa n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) & \text{per } t \geq t_{\text{soglia}}, \end{cases}$$

che corrisponde a quanto descritto in precedenza.

3.2.3 Spostamento e velocità delle cellule

L'espressione della forza elastica $\mathbf{f}_{\text{elast}}$ introduce quale nuova variabile di stato lo spostamento \mathbf{u}_c delle cellule dalle rispettive posizioni occupate al momento dell'ancoraggio. In analogia con lo spostamento \mathbf{u} , esso è naturalmente definibile in senso lagrangiano come

$$\mathbf{u}_c(\mathbf{x}_0, t) = \mathbf{x}(t) - \mathbf{x}_0,$$

dove \mathbf{x}_0 , $\mathbf{x}(t)$ rappresentano ora le posizioni nel piano occupate rispettivamente all'istante iniziale e al generico istante t da uno stesso punto del continuo cellulare (ovvero, parlando in modo un po' improprio ma più espressivo, da una stessa cellula). Di conseguenza, \mathbf{u}_c si ottiene integrando la velocità euleriana \mathbf{v} lungo le traiettorie seguite dalle cellule a partire dall'istante t_{soglia} di ancoraggio:

$$\mathbf{u}_c(\mathbf{x}_0, t) = \int_{t_{\text{soglia}}}^t \mathbf{v}(\mathbf{x}(\tau), \tau) d\tau$$

con la condizione $\mathbf{x}(t_{\text{soglia}}) = \mathbf{x}_0$, ossia $\mathbf{u}_c(\mathbf{x}_0, t_{\text{soglia}}) = \mathbf{0}$. Derivando due volte rispetto a t la precedente espressione si ottiene l'equazione

$$\frac{\partial^2 \mathbf{u}_c}{\partial t^2} = \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v}, \quad (t \geq t_{\text{soglia}}) \quad (3.6)$$

che governa l'evoluzione spazio-temporale del campo \mathbf{u}_c .

Si osservi che, a rigore, il primo membro della (3.6) è lagrangiano mentre il secondo è euleriano. L'equazione (3.6) stabilisce quindi che la quantità $\frac{\partial^2 \mathbf{u}_c}{\partial t^2}$ valutata all'istante t in un punto \mathbf{x}_0 della configurazione di riferimento del continuo cellulare è uguale alla quantità $\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v}$ valutata allo stesso istante t ma nel punto $\mathbf{x}(t)$ del piano corrispondente alla posizione che il punto del continuo cellulare inizialmente partito da \mathbf{x}_0 occupa al tempo t in conseguenza del suo moto.

Se poniamo

$$\mathbf{x}(t) = \mathbf{x}_0 + \boldsymbol{\delta}, \quad \boldsymbol{\delta} \in \mathbb{R}^2$$

possiamo sviluppare in serie di Taylor la velocità \mathbf{v} nell'intorno di \mathbf{x}_0 :

$$\mathbf{v}(\mathbf{x}(t), t) = \mathbf{v}(\mathbf{x}_0, t) + \boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)} + o(|\boldsymbol{\delta}|), \quad (|\boldsymbol{\delta}| \rightarrow 0)$$

cosicché abbiamo

$$\begin{aligned} \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} &= \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t}(\mathbf{x}_0, t) + \frac{\partial}{\partial t}(\boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)}) + \\ &+ [\mathbf{v}(\mathbf{x}_0, t) + \boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)}] \cdot \nabla [\mathbf{v}(\mathbf{x}_0, t) + \boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)}] + o(|\boldsymbol{\delta}|) = \\ &= \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t}(\mathbf{x}_0, t) + \mathbf{v}(\mathbf{x}_0, t) \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)} + \\ &+ \left[\frac{\partial}{\partial t}(\boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)}) + (\boldsymbol{\delta} \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)}) \cdot \nabla \mathbf{v}|_{(\mathbf{x}_0, t)} \right] + o(|\boldsymbol{\delta}|); \end{aligned}$$

nell'ipotesi di spostamenti infinitesimi è possibile trascurare i termini proporzionali a $\boldsymbol{\delta}$, per cui vediamo che il secondo membro della (3.6) può essere calcolato in \mathbf{x}_0 al pari del primo senza commettere errori importanti.

3.2.4 Produzione di chemoattrattore da parte delle cellule

Nel modello chemotattico classico presentato in §2.2.1, l'equazione (2.9) di diffusione e degrado del chemoattrattore contiene il termine di sorgente αn , il quale è direttamente proporzionale alla densità cellulare n . Ciò equivale ad assumere implicitamente che ogni cellula produca il fattore chimico in modo indipendente dalle altre, cosicché in un volume di controllo la quantità complessiva di chemoattrattore prodotto è semplicemente proporzionale al numero di cellule ivi contenute.

Questa scelta, peraltro condivisibile per un primo approccio al problema, non prevede di fatto alcuna forma di interazione tra le cellule. Considerato invece che il

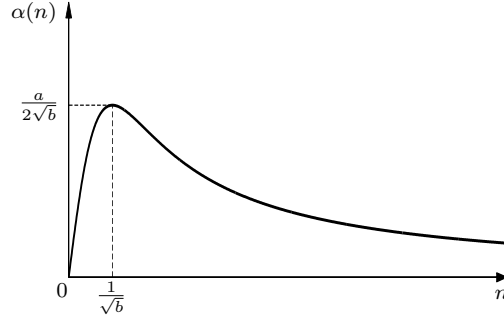


Figura 3.4. La funzione $\alpha(n)$ (equazione (3.7)) proposta come termine di produzione di chemoattrattore nel modello chemomeccanico.

chemoattrattore è un mezzo di cui queste ultime si servono per comunicare tra loro, sembra ragionevole ipotizzare che ogni cellula sia in grado di “sentire” la densità n presente nell’ambiente circostante e regolare di conseguenza la propria produzione di fattore chimico. In quest’ottica, quanto più le cellule si trovano disposte in aggregati ormai funzionali alla formazione delle reti vascolari tanto meno esse dovrebbero avvertire la necessità di richiamare a sé altre cellule e quindi di produrre ulteriore chemoattrattore⁵.

Una simile fenomenologia può essere modellizzata generalizzando l’equazione (2.9) come

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c + \alpha(n) - \frac{c}{\tau},$$

dove $\alpha(\cdot)$ è una funzione a valori reali che dovrebbe possedere le seguenti caratteristiche:

- (i) essere sempre non negativa sull’intervallo $[0, +\infty)$;
- (ii) tendere a zero quando il suo argomento tende a zero, in modo che la produzione $\alpha(n)$ di fattore chimico sia bassa per bassi valori della densità cellulare;
- (iii) tendere a zero quando il suo argomento tende a infinito, affinché la produzione $\alpha(n)$ si arresti quando le cellule raggiungono elevati livelli di aggregazione.

Tra le molteplici funzioni soddisfacenti a questi requisiti suggeriamo ad esempio

$$\alpha(n) = \frac{an}{1 + bn^2} \tag{3.7}$$

⁵È importante precisare che, almeno allo stato attuale, questa non è un’evidenza sperimentale ma piuttosto un’ipotesi teorica, tuttavia sorprendentemente avvalorata dalle simulazioni numeriche (cfr. il successivo Capitolo 4).

con a, b parametri positivi opportuni, la quale cresce fino al valore $\frac{a}{2\sqrt{b}}$ (raggiunto per $n = \frac{1}{\sqrt{b}}$) e tende quindi a zero per $n \rightarrow +\infty$ con ordine di infinitesimo 1 (Figura 3.4).

Tenendo presenti le considerazioni sin qui esposte, il nostro modello chemomeccanico risulta in definitiva

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{v}) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = -\frac{1}{n} \nabla p(n) + \beta \nabla c - \gamma (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t) + \\ \quad + \frac{\kappa}{m_c} (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}) \\ \mathbf{0} = F \frac{1-\nu}{2} \Delta \mathbf{u} + F \frac{1+\nu}{2} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + \gamma m_c n (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t) + \\ \quad - \kappa n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}) - s \mathbf{u} \\ \frac{\partial c}{\partial t} = D \Delta c + \alpha(n) - \frac{c}{\tau} \\ \frac{\partial^2 \mathbf{u}_c}{\partial t^2} = \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v}, \quad (t \geq t_{\text{soglia}}). \end{array} \right. \quad (3.8)$$

3.3 Analisi dimensionale

L'adimensionalizzazione del modello (3.8) che qui proponiamo utilizza come riferimento quella descritta in §2.2.3 per il modello chemotattico, a parte una lieve modifica relativa alla scelta del tempo caratteristico.

Si definiscano le variabili adimensionali \mathbf{x}^* , t^* , n^* , \mathbf{v}^* , c^* , \mathbf{u}^* , \mathbf{u}_c^* mediante le relazioni

$$\mathbf{x} = \ell \mathbf{x}^*, \quad t = T t^*, \quad n = N n^*, \quad \mathbf{v} = \frac{\ell}{T} \mathbf{v}^*, \quad c = C c^*, \quad \mathbf{u} = \ell \mathbf{u}^*, \quad \mathbf{u}_c = \ell \mathbf{u}_c^*$$

dove ℓ , T , N , C sono valori caratteristici di lunghezza, tempo, densità cellulare e concentrazione di chemoattrattore. Sostituendo nelle (3.8), dopo alcuni passaggi si

perviene a

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (n^* \mathbf{v}^*) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* = -\frac{1}{N} \left(\frac{T}{\ell} \right)^2 \frac{1}{n^*} \nabla p(Nn^*) + \frac{\beta C T^2}{\ell^2} \nabla c^* - \gamma T (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad + \frac{\kappa T^2}{m_c} (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H(Tt^* - Tt_{\text{soglia}}^*) \\ \mathbf{0} = \Delta \mathbf{u}^* + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}^*) + \frac{2\gamma m_c N \ell^2}{F(1-\nu)T} n^* (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad - \frac{2\kappa N \ell^2}{F(1-\nu)} n^* (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H(Tt^* - Tt_{\text{soglia}}^*) - \frac{2s\ell^2}{F(1-\nu)} \mathbf{u}^* \\ \frac{\ell^2}{DT} \frac{\partial c^*}{\partial t^*} = \Delta c^* + \frac{\ell^2}{DC} \alpha(Nn^*) - \frac{\ell^2}{D\tau} c^* \\ \frac{\partial^2 \mathbf{u}_c^*}{\partial t^{*2}} = \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^*, \quad (t^* \geq t_{\text{soglia}}^*). \end{array} \right.$$

Dalla quarta equazione si deducono la lunghezza caratteristica

$$\ell = \sqrt{D\tau}$$

e il tempo caratteristico

$$T = \tau;$$

definendo poi le seguenti funzioni:

$$H^*(t^* - t_{\text{soglia}}^*) := H(Tt^* - Tt_{\text{soglia}}^*),$$

$$p^*(n^*) := \frac{1}{N} \left(\frac{T}{\ell} \right)^2 p(Nn^*) = \frac{\tau}{ND} p(Nn^*),$$

$$\alpha^*(n^*) := \frac{\ell^2}{DC} \alpha(Nn^*) = \frac{\tau}{C} \alpha(Nn^*)$$

e i seguenti parametri adimensionali:

$$\begin{aligned} \beta^* &:= \frac{\beta C T^2}{\ell^2} = \frac{\beta C \tau}{D}, & s^* &:= \frac{2s\ell^2}{F(1-\nu)} = \frac{2sD\tau}{F(1-\nu)} \\ \gamma_1^* &:= \gamma T = \gamma \tau, & \gamma_2^* &:= \frac{2\gamma m_c N \ell^2}{F(1-\nu)T} = \frac{2\gamma m_c ND}{F(1-\nu)} \\ \kappa_1^* &:= \frac{\kappa T^2}{m_c} = \frac{\kappa \tau^2}{m_c}, & \kappa_2^* &:= \frac{2\kappa N \ell^2}{F(1-\nu)} = \frac{2\kappa ND\tau}{F(1-\nu)} \end{aligned}$$

si può riscrivere il modello chemomeccanico nella forma

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (n^* \mathbf{v}^*) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* = -\frac{1}{n^*} \nabla p^*(n^*) + \beta^* \nabla c^* - \gamma_1^* (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad + \kappa_1^* (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H^*(t^* - t_{\text{soglia}}^*) \\ \mathbf{0} = \Delta \mathbf{u}^* + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}^*) + \gamma_2^* n^* (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad - \kappa_2^* n^* (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H^*(t^* - t_{\text{soglia}}^*) - s^* \mathbf{u}^* \\ \frac{\partial c^*}{\partial t^*} = \Delta c^* + \alpha^* (n^*) - c^* \\ \frac{\partial^2 \mathbf{u}_c^*}{\partial t^{*2}} = \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^*, \quad (t^* \geq t_{\text{soglia}}^*). \end{array} \right. \quad (3.9)$$

Osservazione. La scelta di $\ell = \sqrt{D\tau}$ quale lunghezza caratteristica del modello, benché particolarmente significativa dal punto di vista fisico (cfr. § 2.2.3), non è forse la più indicata per le simulazioni numeriche. Se come dominio dimensionale delle equazioni si sceglie il quadrato $Q = (0, L) \times (0, L)$, dove L rappresenta il lato della porzione di matrice extracellulare utilizzata negli esperimenti al videomicroscopio, in forma adimensionale si ottiene $Q^* = (0, r^*) \times (0, r^*)$ con $r^* = L/\ell$; considerato che $L \approx 2 \text{ mm}$ mentre $\ell \approx 200 \mu\text{m}$, risulta $r^* \approx 10$, cioè il dominio adimensionale Q^* non ha il lato di lunghezza unitaria. Per ottenere un dominio adimensionale quadrato di lato unitario è sufficiente assumere L come lunghezza caratteristica del modello. Introducendo il numero

$$\xi^* := \frac{L^2}{D\tau}$$

si ha così:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (n^* \mathbf{v}^*) = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^* = -\frac{1}{n^*} \nabla p^*(n^*) + \beta^* \nabla c^* - \gamma_1^* (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad + \kappa_1^* (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H^*(t^* - t_{\text{soglia}}^*) \\ \mathbf{0} = \Delta \mathbf{u}^* + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}^*) + \gamma_2^* n^* (\mathbf{v}^* - \mathbf{u}_{t^*}^*) + \\ \quad - \kappa_2^* n^* (\mathbf{u}^* - \mathbf{u}_c^*) H^*(t^* - t_{\text{soglia}}^*) - s^* \mathbf{u}^* \\ \xi^* \frac{\partial c^*}{\partial t^*} = \Delta c^* + \alpha^* (n^*) - \xi^* c^* \\ \frac{\partial^2 \mathbf{u}_c^*}{\partial t^{*2}} = \frac{\partial \mathbf{v}^*}{\partial t^*} + \mathbf{v}^* \cdot \nabla \mathbf{v}^*, \quad (t^* \geq t_{\text{soglia}}^*) \end{array} \right. \quad (3.10)$$

dove, rispetto al sistema (3.9), i seguenti parametri devono essere ridefiniti:

$$p^*(n^*) := \frac{1}{N} \left(\frac{T}{L} \right)^2 p(Nn^*) = \frac{\tau}{ND\xi^*} p(Nn^*),$$

$$\alpha^*(n^*) := \frac{L^2}{DC} \alpha(Nn^*) = \frac{\tau\xi^*}{C} \alpha(Nn^*)$$

$$\gamma_2^* := \frac{2\gamma m_c NL^2}{F(1-\nu)T} = \frac{2\gamma m_c NL^2}{F(1-\nu)\tau},$$

$$\kappa_2^* := \frac{2\kappa NL^2}{F(1-\nu)}.$$

Si osservi che, stanti i valori $L \approx 2 \text{ mm}$, $D \approx 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ e $\tau \approx 64 \text{ min}$ misurati sperimentalmente, il numero ξ^* è fissato a

$$\xi^* = \frac{4 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2}{10^{-11} \text{ m}^2/\text{s} \cdot 64 \cdot 60 \text{ s}} \approx 100.$$

Se invece si pone $\xi^* = 1$ si riottiene il modello (3.9).

D'ora in avanti faremo riferimento al modello (3.10) omettendo gli asterischi sulle variabili e sui parametri adimensionali per snellire convenientemente la notazione.

3.4 Condizioni iniziali e al bordo

Come dominio del modello (3.10) utilizziamo il quadrato $Q = (0, 1) \times (0, 1)$ con condizioni al bordo periodiche su tutte le variabili di stato. Prescriviamo poi condizioni iniziali nulle per la velocità \mathbf{v} , il campo di chemoattrattore c e gli spostamenti \mathbf{u} e \mathbf{u}_c , mentre per la densità cellulare n scegliamo la somma di gaussiane suggerita dagli autori del modello chemotattico (cfr. § 2.2.2).

3.5 Discussione

Il modello (3.10) comprende due termini di interazione tra le cellule e il substrato, rispettivamente la forza di attrito viscoso e quella di ancoraggio elastico. È importante precisare che la prima non è semplicemente un “residuo” del modello chemotattico, ma ha la funzione di introdurre un meccanismo di dissipazione energetica nella dinamica del sistema. Senza l'attrito viscoso le cellule non perderebbero infatti energia durante il moto in quanto la sola forza elastica è per sua natura conservativa.

In particolare, a seconda dei valori assunti dal coefficiente di smorzamento viscoso γ_1 e dalla costante elastica κ_1 esistono tre diverse dinamiche dissipative, che possono essere studiate in modo semplificato considerando l'equazione di persistenza del moto delle cellule nella seguente forma ridotta:

$$\frac{d\mathbf{v}}{dt} = -\gamma_1 \mathbf{v} - \kappa_1 \mathbf{u}_c$$

con $\gamma_1, \kappa_1 \geq 0$. Essa, nell'approssimazione $\dot{\mathbf{u}}_c \approx \mathbf{v}$ (ovvero nell'intorno della posizione di equilibrio $\mathbf{u}_c = \mathbf{v} = \mathbf{0}$), descrive un sistema oscillante che risulta dissipativo se e solo se le radici dell'equazione caratteristica

$$\lambda^2 + \gamma_1 \lambda + \kappa_1 = 0 \quad (3.11)$$

hanno tutte parte reale negativa. Risolvendo la (3.11) si trova

$$\lambda_{1,2} = \frac{-\gamma_1 \pm \sqrt{\gamma_1^2 - 4\kappa_1}}{2}$$

da cui si vede che se $\gamma_1 = 0$ allora $\lambda_{1,2} = \pm i\sqrt{\kappa_1}$ e il sistema non è in nessun caso dissipativo, mentre se $\gamma_1 \neq 0$ si può scrivere

$$\lambda_{1,2} = -\frac{\gamma_1}{2} \left(1 \mp \sqrt{1 - \frac{4\kappa_1}{\gamma_1^2}} \right)$$

e si hanno i seguenti casi:

- (i) $\gamma_1 = 2\sqrt{\kappa_1}$, che dà $\lambda_{1,2}$ reali negative coincidenti; il sistema è criticamente smorzato;
- (ii) $\gamma_1 > 2\sqrt{\kappa_1}$, che dà $\lambda_{1,2}$ reali negative distinte; il sistema è sovrasmorzato;
- (iii) $\gamma_1 < 2\sqrt{\kappa_1}$, che dà $\lambda_{1,2}$ complesse coniugate con parte reale negativa; il sistema è sottosmorzato.

La differenza tra i casi (ii) e (iii) consiste nel fatto che nel primo lo smorzamento abbatte del tutto il carattere oscillante della soluzione (Figura 3.5).

Discorso diverso merita il termine $-\mathbf{su}$ che compare nell'equazione di equilibrio del substrato, la cui funzione è invece strettamente legata alla dinamica prevista dall'elasticità lineare. Trascurando il termine viscoso $\gamma_2 n (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t)$ e supponendo inoltre $t \geq t_{\text{soglia}}$, tale equazione si riscrive nella forma

$$\Delta \mathbf{u} + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) - \kappa_2 n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) - \mathbf{su} = \mathbf{0}; \quad (3.12)$$

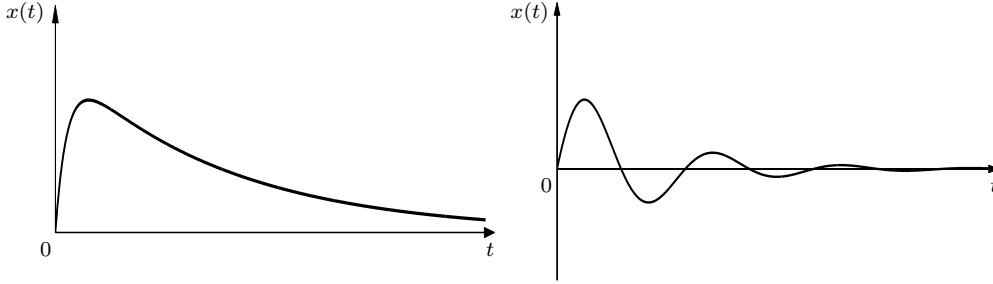


Figura 3.5. A sinistra, sistema sovrasmorzato; a destra, sistema sottosmorzato.

ponendo poi $\mathbf{u} = (u, v)^T$ e $\mathbf{u}_c = (u_c, v_c)^T$, possiamo esplicitarne le componenti come

$$\begin{cases} \Delta u + \frac{1+\nu}{1-\nu} \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial x \partial y} \right) - (\kappa_2 n + s) u = -\kappa_2 n u_c \\ \Delta v + \frac{1+\nu}{1-\nu} \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x \partial y} + \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} \right) - (\kappa_2 n + s) v = -\kappa_2 n v_c, \end{cases}$$

da cui, rappresentando le funzioni u , v , u_c e v_c in serie di Fourier sul quadrato $Q = (0, 1) \times (0, 1)$:

$$\begin{aligned} u(x, y) &= \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{u}_{hk} e^{i2\pi(hx+ky)}, & u_c(x, y) &= \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{u}_{c,hk} e^{i2\pi(hx+ky)} \\ v(x, y) &= \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{v}_{hk} e^{i2\pi(hx+ky)}, & v_c(x, y) &= \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{v}_{c,hk} e^{i2\pi(hx+ky)} \end{aligned}$$

e supponendo per semplicità che il coefficiente n sia costante, diciamo uguale a \bar{n} , otteniamo il seguente sistema algebrico:

$$\begin{cases} \left[4\pi^2 \left(\frac{2}{1-\nu} h^2 + k^2 \right) + (\kappa_2 \bar{n} + s) \right] \hat{u}_{hk} + 4\pi^2 \frac{1+\nu}{1-\nu} h k \hat{v}_{hk} = \kappa_2 \bar{n} \hat{u}_{c,hk} \\ \left[4\pi^2 \left(h^2 + \frac{2}{1-\nu} k^2 \right) + (\kappa_2 \bar{n} + s) \right] \hat{v}_{hk} + 4\pi^2 \frac{1+\nu}{1-\nu} h k \hat{u}_{hk} = \kappa_2 \bar{n} \hat{v}_{c,hk} \end{cases}$$

che consente di esprimere i coefficienti di Fourier \hat{u}_{hk} , \hat{v}_{hk} dello spostamento del substrato in funzione di quelli dello spostamento delle cellule.

È interessante osservare che \hat{u}_{00} e \hat{v}_{00} , determinando le componenti costanti degli sviluppi di u e v , rappresentano il moto rigido della matrice extracellulare; essi si ottengono ponendo $h = k = 0$ nelle precedenti relazioni:

$$\hat{u}_{00} = \frac{\kappa_2 \bar{n}}{\kappa_2 \bar{n} + s} \hat{u}_{c,00}, \quad \hat{v}_{00} = \frac{\kappa_2 \bar{n}}{\kappa_2 \bar{n} + s} \hat{v}_{c,00}.$$

Se $s = 0$ allora

$$\hat{u}_{00} = \hat{u}_{c,00}, \quad \hat{v}_{00} = \hat{v}_{c,00},$$

cioè \hat{u}_{00} e \hat{v}_{00} sono indipendenti dai parametri dell'equazione (3.12) e possono diventare arbitrariamente grandi, essendo controllati unicamente dalla forzante \mathbf{u}_c . Ciò permette al moto rigido eventualmente di predominare sulle componenti di deformazione elastica, come naturale conseguenza del fatto che il substrato non risulta più vincolato in alcun modo⁶. Si osservi peraltro che la soluzione di un problema elastico lineare consiste nella configurazione che minimizza l'energia di deformazione elastica e chiaramente il moto rigido, se consentito, è il modo migliore per raggiungere tale minimo. Viceversa, un valore non nullo di s smorza i coefficienti \hat{u}_{00} e \hat{v}_{00} ; al limite, per s sufficientemente grande il moto rigido è quasi del tutto abbattuto.

Concludiamo con un'osservazione a proposito della riduzione bidimensionale della matrice extracellulare. I calcoli effettuati in § 3.2.1 che conducono alla scrittura dell'equazione (3.3) sono validi non solo nel caso in cui lo spessore h sia costante, ma anche se si suppone che esso vari da punto a punto del substrato, cioè che sia una funzione $h = h(x, y)$. In quest'ultimo caso, però, il coefficiente di rigidità estensionale F non è costante:

$$F = \frac{Eh(x, y)}{1 - \nu^2}$$

e l'equazione (3.3) deve dunque essere sviluppata come

$$F(1 - \nu)\nabla \cdot \mathbf{E} + \nu F \nabla(\text{tr } \mathbf{E}) + \nabla h \cdot \left[\frac{E}{1 + \nu} \mathbf{E} + \frac{\nu E}{1 - \nu^2} (\text{tr } \mathbf{E}) \mathbf{I} \right] + \mathbf{f} = \mathbf{0};$$

questa forma potrebbe essere utilizzata per studiare effetti di aptotassi e durotassi mediante il modello chemomeccanico. In particolare, si potrebbero simulare alcuni esperimenti documentati in letteratura (Namy *et al.* [9], Vernon *et al.* [14]) in cui lo spessore della matrice extracellulare viene fatto variare da $10 \mu\text{m}$ a $500 \mu\text{m}$ su una lunghezza di 17mm . In simili situazioni si riscontra la formazione di strutture reticolari con corde più lunghe dove lo spessore è più elevato e si osserva invece una pressoché totale assenza di reti dove il substrato è più sottile.

⁶In assenza della forza di adesione al disco di Petri, le sole condizioni periodiche al bordo non costituiscono un vincolo strutturale per la matrice extracellulare.

Capitolo 4

Simulazioni numeriche

4.1 Classificazione delle equazioni

Il modello chemomeccanico adimensionale di cui si cercano soluzioni numeriche è:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{v}) = 0 \quad (4.1a)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} = & -\frac{1}{n} \nabla p(n) + \beta \nabla c - \gamma_1 (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t) + \\ & + \kappa_1 (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}) \end{aligned} \quad (4.1b)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{0} = \Delta \mathbf{u} + \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + \gamma_2 n (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t) + \\ - \kappa_2 n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}) - s \mathbf{u} \end{aligned} \quad (4.1c)$$

$$\xi \frac{\partial c}{\partial t} = \Delta c + \alpha(n) - \xi c \quad (4.1d)$$

$$\frac{\partial^2 \mathbf{u}_c}{\partial t^2} = \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v}, \quad (t \geq t_{\text{soglia}}). \quad (4.1e)$$

Le equazioni (4.1a) e (4.1b) sono di tipo iperbolico e rappresentano le leggi di conservazione della densità cellulare n e della persistenza del moto delle cellule; l'equazione (4.1c) è invece parabolica nella variabile \mathbf{u} e descrive l'equilibrio della matrice extracellulare sottoposta alle interazioni con le cellule e alle forze di adesione esterne; si osservi che se si pone $\gamma_2 = 0$, cioè se si trascura l'attrito viscoso tra le cellule e il substrato, essa diventa ellittica. In effetti, le equazioni che traducono un equilibrio statico tra forze sono di solito ellittiche; la possibile natura parabolica

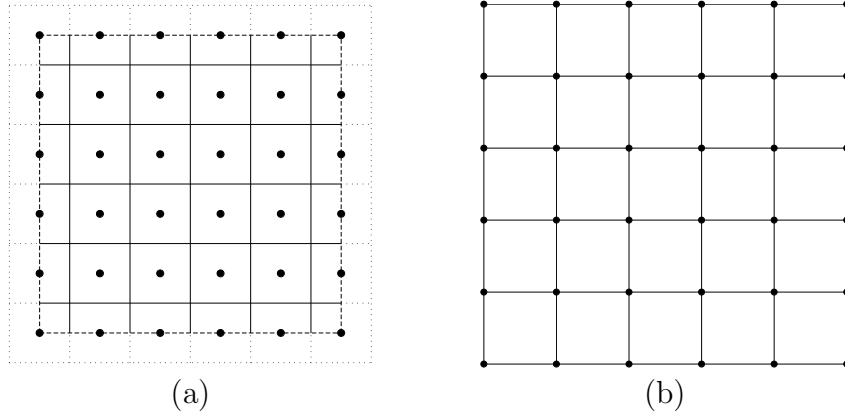


Figura 4.1. Rappresentazione schematica della griglia di calcolo sul quadrato $Q = (0, 1) \times (0, 1)$ utilizzata per la discretizzazione delle equazioni (4.1a)-(4.1e). In (a), la griglia pensata per un approccio ai volumi finiti, con i punti (i, j) coincidenti con i baricentri delle celle. In (b), la stessa griglia pensata per un approccio alle differenze finite, con i punti (i, j) posti ai vertici delle celle. Si noti come, a rigore, nei due casi la frontiera ∂Q non coincide: in (b) il dominio ha entrambe le dimensioni più corte di Δx rispetto ad (a).

della (4.1c) dipende esclusivamente dalla relazione costitutiva che esprime la forza di attrito viscoso in funzione della velocità del substrato.

Anche l'equazione (4.1d) è parabolica e traduce la diffusione e il degrado del chemoattrattore nello spazio e nel tempo; infine, l'equazione (4.1e) esprime la relazione cinematica che intercorre tra lo spostamento lagrangiano \mathbf{u}_c delle cellule e la loro velocità euleriana \mathbf{v} . Si osservi che su \mathbf{u}_c agisce solo l'operatore differenziale $\frac{\partial^2}{\partial t^2}$ e nessun operatore spaziale: per questa variabile di stato la coordinata \mathbf{x} funge dunque da parametro.

Dall'analisi dimensionale discussa in § 3.3 risulta che tra i parametri γ_1 , γ_2 , κ_1 e κ_2 del modello sussiste la relazione

$$\frac{\gamma_1}{\gamma_2} = \frac{\kappa_1}{\kappa_2} = \frac{\tau^2 F(1 - \nu)}{2m_c N L^2}.$$

4.2 Discretizzazione delle equazioni

Le equazioni (4.1a)-(4.1e) sono discretizzate sul dominio quadrato $Q = (0, 1) \times (0, 1)$ mediante una griglia cartesiana ortogonale $N \times N$ (Figura 4.1). I passi di discretizzazione spaziale lungo le direzioni x e y sono assunti uguali e pari a

$$\Delta x = \Delta y = \frac{1}{N},$$

cosicché i punti (x_i, y_j) della griglia possono essere identificati attraverso le relazioni

$$\begin{aligned} x_i &= i \Delta x, & i &= 0, \dots, N \\ y_j &= j \Delta y, & j &= 0, \dots, N; \end{aligned}$$

analogamente, detto Δt il passo di avanzamento temporale risulta

$$t^m = m \Delta t, \quad m \geq 0.$$

Se $u = u(x, y, t)$ denota una generica variabile di stato, utilizzeremo la notazione u_{ij}^m per indicare un'approssimazione del valore esatto $u(x_i, y_j, t^m)$ nel punto di griglia (i, j) all'istante discreto m .

4.2.1 Leggi di conservazione

Consideriamo il sistema costituito dalle equazioni (4.1a) e (4.1b), riscrivendo quest'ultima in forma conservativa:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n \mathbf{v}) = 0 \\ \frac{\partial}{\partial t} (n \mathbf{v}) + \nabla \cdot (n \mathbf{v} \otimes \mathbf{v}) = -\nabla p(n) + \beta n \nabla c + \\ \quad -\gamma_1 n (\mathbf{v} - \mathbf{u}_t) + \kappa_1 n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}); \end{cases} \quad (4.2)$$

posto $\mathbf{v} = (v_1, v_2)^T$, $\mathbf{u} = (u_1, u_2)^T$, $\mathbf{u}_c = (u_{c,1}, u_{c,2})^T$ e denotato con $\mathbf{w} = (n, nv_1, nv_2)^T$ il vettore delle variabili conservate, le (4.2) sono equivalenti alla forma compatta

$$\frac{\partial \mathbf{w}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{F}(\mathbf{w}) = \mathbf{\Gamma} \quad (4.3)$$

dove

$$\mathbf{F}(\mathbf{w}) = \begin{bmatrix} nv_1 & nv_2 \\ nv_1^2 + p(n) & nv_1 v_2 \\ nv_1 v_2 & nv_2^2 + p(n) \end{bmatrix}$$

è il tensore dei flussi (funzione non lineare di \mathbf{w}) e

$$\mathbf{\Gamma} = \begin{bmatrix} 0 \\ \beta n \frac{\partial c}{\partial x} - \gamma_1 n \left(v_1 - \frac{\partial u_1}{\partial t} \right) + \kappa_1 n (u_1 - u_{c,1}) H(t - t_{\text{soglia}}) \\ \beta n \frac{\partial c}{\partial y} - \gamma_1 n \left(v_2 - \frac{\partial u_2}{\partial t} \right) + \kappa_1 n (u_2 - u_{c,2}) H(t - t_{\text{soglia}}) \end{bmatrix}$$

è il vettore dei termini di sorgente.

Discretizzando la (4.3) in tempo con uno schema implicito si ottiene l'equazione

$$\frac{\mathbf{w}^{m+1} - \mathbf{w}^m}{\Delta t} + \nabla \cdot \mathbf{F}(\mathbf{w}^{m+1}) = \mathbf{\Gamma}^{m+1},$$

che affrontiamo con un metodo a passi frazionari introducendo il livello temporale intermedio $m + \frac{1}{2}$:

$$\frac{\mathbf{w}^{m+\frac{1}{2}} - \mathbf{w}^m}{\Delta t} + \nabla \cdot \mathbf{F}(\mathbf{w}^{m+\frac{1}{2}}) = \mathbf{0} \quad (4.4a)$$

$$\frac{\mathbf{w}^{m+1} - \mathbf{w}^{m+\frac{1}{2}}}{\Delta t} = \mathbf{\Gamma}^{m+1}. \quad (4.4b)$$

Per la risoluzione della (4.4a) adottiamo uno schema numerico ai volumi finiti di Godunov, che qui illustriamo nelle sue linee essenziali riferendoci per semplicità al caso monodimensionale e rinviando a LeVeque [6] per maggiori dettagli.

Si consideri la legge di conservazione scalare

$$u_t + f_x(u) = 0, \quad (4.5)$$

dove $u = u(x, t)$ denota la funzione incognita ed $f = f(u)$ il flusso funzione eventualmente non lineare di u . Si suddivida quindi il dominio spaziale in intervalli (*celle*) $I_j = [x_{j-1/2}, x_{j+1/2}]$ di ampiezza costante Δx e l'asse temporale in intervalli $[t^m, t^{m+1}]$ di ampiezza Δt . Integrando la (4.5) sul volume finito spazio-temporale $[x_{j-1/2}, x_{j+1/2}] \times [t^m, t^{m+1}]$:

$$\int_{x_{j-1/2}}^{x_{j+1/2}} \int_{t^m}^{t^{m+1}} u_t \, dt \, dx + \int_{t^m}^{t^{m+1}} \int_{x_{j-1/2}}^{x_{j+1/2}} f_x(u) \, dx \, dt = 0$$

si ottiene

$$\begin{aligned} \int_{x_{j-1/2}}^{x_{j+1/2}} [u(x, t^{m+1}) - u(x, t^m)] \, dx + \\ + \int_{t^m}^{t^{m+1}} [f(u(x_{j+1/2}, t)) - f(u(x_{j-1/2}, t))] \, dt = 0. \end{aligned}$$

Definendo quindi la *media di cella* di u all'istante t^m :

$$U_j^m := \frac{1}{\Delta x} \int_{x_{j-1/2}}^{x_{j+1/2}} u(x, t^m) \, dx$$

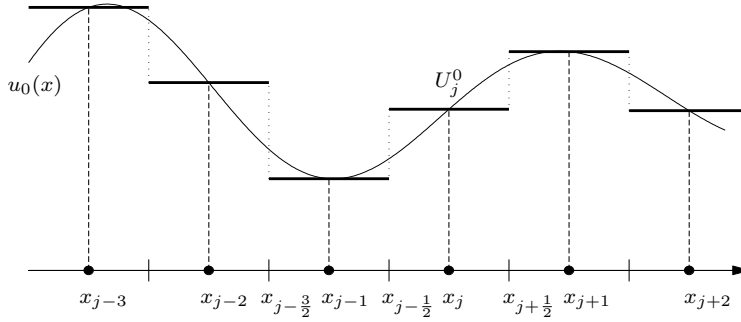


Figura 4.2. Discretizzazione del dato iniziale nel metodo di Godunov nel caso in cui si assuma $U_j^0 = u_0(x_j)$.

e il flusso medio all'interfaccia $x_{j-1/2}$ tra gli istanti t^m e t^{m+1} :

$$F_{j-1/2} := \frac{1}{\Delta t} \int_{t^m}^{t^{m+1}} f(u(x_{j-1/2}, t)) dt,$$

si ricava il seguente schema di calcolo:

$$U_j^{m+1} = U_j^m - \frac{\Delta t}{\Delta x} (F_{j+1/2} - F_{j-1/2}), \quad m \geq 0, \forall j. \quad (4.6)$$

Il metodo di Godunov per l'integrazione numerica della (4.5) è basato su tale schema previa definizione di un particolare tipo di flusso numerico F . Con riferimento alla Figura 4.2, si supponga che per l'equazione (4.5) venga prescritto un dato iniziale $u(x, 0) = u_0(x)$ e lo si approssimi con una funzione $U^0(x)$, costante entro ciascuna cella I_j , definita da

$$U^0(x) = U_j^0 \quad \text{per } x \in I_j, \forall j,$$

dove U_j^0 può essere il valore assunto da $u_0(x)$ nel punto medio della cella I_j :

$$U_j^0 = u_0(x_j)$$

oppure, soprattutto nel caso di dato iniziale non ovunque continuo, la media integrale di $u_0(x)$ sulla cella I_j :

$$U_j^0 = \frac{1}{\Delta x} \int_{x_{j-1/2}}^{x_{j+1/2}} u_0(x) dx.$$

La funzione $U^0(x)$ è in generale discontinua in corrispondenza delle interfacce $x_{j-1/2}$ delle celle I_j (punti di salto), per cui tale sarà anche la funzione $U^m(x)$ data da

$$U^m(x) = U_j^m \quad \text{per } x \in I_j, \forall j$$

che rappresenta la soluzione numerica al tempo m fornita dallo schema (4.6) a partire dal dato iniziale $U^0(x)$.

La definizione del flusso numerico F è essenziale per l'avanzamento temporale dello schema. A questo proposito, il metodo di Godunov prevede di integrare, al generico istante m e per ogni j , la legge di conservazione (4.5) sull'intervallo spaziale $I_{j-1} \cup I_j = [x_{j-3/2}, x_{j+1/2}]$, avanzando di un Δt e assumendo come dato iniziale la funzione $U^m(x)$ ristretta a $I_{j-1} \cup I_j$; si tratta cioè di risolvere il seguente *problema di Riemann*:

$$\begin{cases} \tilde{u}_t + f_x(\tilde{u}) = 0 & \text{in } (I_{j-1} \cup I_j) \times [0, \Delta t) \\ \tilde{u}(x, 0) = U^m(x) = \begin{cases} U_{j-1}^m & \text{se } x \in I_{j-1} \\ U_j^m & \text{se } x \in I_j \end{cases} & \text{per } t = 0. \end{cases} \quad (4.7)$$

Immaginando di ottenerne la soluzione esatta $\tilde{u}(x, t)$ su $(I_{j-1} \cup I_j) \times [0, \Delta t)$, si definisce il flusso numerico del problema originario come

$$F_{j-1/2} = F(U_{j-1}^m, U_j^m) := f(\tilde{u}(x_{j-1/2}, \Delta t)),$$

detto flusso a due punti in quanto il valore $F_{j-1/2}$ è chiaramente funzione dei due valori U_{j-1}^m, U_j^m assunti dal dato iniziale di (4.7) rispettivamente a sinistra e a destra della discontinuità di $U^m(x)$ contenuta in $I_{j-1} \cup I_j$.

Ripetendo questo procedimento per ogni j , si determinano tutti i flussi numerici necessari allo schema (4.6) per effettuare un passo di avanzamento temporale e determinare così la nuova funzione $U^{m+1}(x)$. Tuttavia, poiché ogni discontinuità presente in $U^m(x)$ viene fatta evolvere in modo indipendente dalle altre, è necessario che la risoluzione del problema di Riemann (4.7) avvenga su un intervallo di tempo sufficientemente piccolo perché le discontinuità non interferiscano. Ciò si ottiene scegliendo Δt in modo che sia soddisfatta la *condizione CFL*:

$$\frac{a_{\max} \Delta t}{\Delta x} \leq 1, \quad (4.8)$$

dove a_{\max} rappresenta la massima velocità (in modulo) delle caratteristiche del problema (4.7).

Solitamente il problema di Riemann (4.7) non viene risolto in forma esatta, ma è affrontato a sua volta numericamente attraverso appositi solutori approssimati. Per l'equazione (4.4a) utilizziamo il solutore di Roe, la cui descrizione è reperibile in LeVeque [6]; scegliamo inoltre Δt in modo che la condizione CFL sia soddisfatta con il primo membro della (4.8) fissato a 0.9.

Nota la soluzione $\mathbf{w}^{m+\frac{1}{2}}$ al passo temporale intermedio $m + \frac{1}{2}$, si ottiene la \mathbf{w}^{m+1} dall'equazione (4.4b) come

$$\mathbf{w}^{m+1} = \mathbf{w}^{m+\frac{1}{2}} + \Delta t \mathbf{\Gamma}^{m+1}$$

ovvero esplicitamente:

$$n_{ij}^{m+1} = n_{ij}^{m+\frac{1}{2}}$$

$$(n\mathbf{v})_{ij}^{m+1} = \frac{(n\mathbf{v})_{ij}^{m+\frac{1}{2}} + \Delta t n_{ij}^{m+1} \left[\beta (\nabla c^{m+1})_{ij} + \gamma_1 (\mathbf{u}_{ij})_t^{m+1} + \kappa_1 (\mathbf{u}_{ij}^{m+1} - \mathbf{u}_{c,ij}^{m+1}) H(t^{m+1}) \right]}{1 + \gamma_1 \Delta t}$$

per ogni $i, j = 0, \dots, N$. In particolare, il termine $(\nabla c^{m+1})_{ij}$ che compare nel calcolo di $(n\mathbf{v})_{ij}^{m+1}$ viene discretizzato con uno schema alle differenze finite centrate:

$$\left(\frac{\partial c^{m+1}}{\partial x} \right)_{ij} \approx \frac{c_{i+1,j}^{m+1} - c_{i-1,j}^{m+1}}{2\Delta x}$$

$$\left(\frac{\partial c^{m+1}}{\partial y} \right)_{ij} \approx \frac{c_{i,j+1}^{m+1} - c_{i,j-1}^{m+1}}{2\Delta y}$$

e la derivata temporale $(\mathbf{u}_{ij})_t^{m+1}$ con il rapporto incrementale

$$(\mathbf{u}_{ij})_t^{m+1} \approx \frac{\mathbf{u}_{ij}^{m+1} - \mathbf{u}_{ij}^m}{\Delta t}.$$

Infine, le condizioni periodiche al bordo vengono imposte introducendo gli ulteriori livelli spaziali $i = N + 1$ e $j = N + 1$ e richiedendo che

$$\begin{aligned} \mathbf{w}_{0,j}^{m+1} &= \mathbf{w}_{N,j}^{m+1} \\ \mathbf{w}_{1,j}^{m+1} &= \mathbf{w}_{N+1,j}^{m+1} \end{aligned} \quad \forall j = 0, \dots, N$$

per la periodicità lungo x e analogamente

$$\begin{aligned} \mathbf{w}_{i,0}^{m+1} &= \mathbf{w}_{i,N}^{m+1} \\ \mathbf{w}_{i,1}^{m+1} &= \mathbf{w}_{i,N+1}^{m+1} \end{aligned} \quad \forall i = 0, \dots, N$$

per la periodicità lungo y .

4.2.2 Equilibrio del substrato

Riscriviamo l'equazione (4.1c) mettendo in evidenza a primo membro l'incognita principale \mathbf{u} :

$$\begin{aligned} \gamma_2 n \mathbf{u}_t - \Delta \mathbf{u} - \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + \kappa_2 n \mathbf{u} H(t - t_{\text{soglia}}) + s \mathbf{u} = \\ = \kappa_2 n \mathbf{u}_c H(t - t_{\text{soglia}}) + \gamma_2 n \mathbf{v}. \end{aligned} \quad (4.9)$$

Per la sua risoluzione è necessario distinguere due casi, a seconda che sia $t < t_{\text{soglia}}$ oppure $t \geq t_{\text{soglia}}$. Tuttavia, possiamo discutere in dettaglio solo quest'ultimo e far discendere da esso il primo come caso particolare.

Sia dunque $t \geq t_{\text{soglia}}$; allora $H(t - t_{\text{soglia}}) = 1$ e quindi l'equazione (4.9) si presenta in forma completa:

$$\gamma_2 n \mathbf{u}_t - \Delta \mathbf{u} - \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) + (\kappa_2 n + s) \mathbf{u} = n(\kappa_2 \mathbf{u}_c + \gamma_2 \mathbf{v}).$$

Una prima discretizzazione implicita in tempo conduce a

$$\begin{aligned} \gamma_2 n^{m+1} \frac{\mathbf{u}^{m+1} - \mathbf{u}^m}{\Delta t} - \Delta \mathbf{u}^{m+1} - \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}^{m+1}) + (\kappa_2 n^{m+1} + s) \mathbf{u}^{m+1} = \\ = n^{m+1} (\kappa_2 \mathbf{u}_c^{m+1} + \gamma_2 \mathbf{v}^{m+1}) \end{aligned} \quad (4.10)$$

ovvero, dopo alcuni passaggi,

$$\begin{aligned} -\Delta t \Delta \mathbf{u}^{m+1} - \Delta t \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}^{m+1}) + [n^{m+1} (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) + \Delta t s] \mathbf{u}^{m+1} = \\ = n^{m+1} [\gamma_2 \mathbf{u}^m + \Delta t (\kappa_2 \mathbf{u}_c^{m+1} + \gamma_2 \mathbf{v}^{m+1})]. \end{aligned}$$

Poniamo per comodità $\mathbf{g} := n^{m+1} [\gamma_2 \mathbf{u}^m + \Delta t (\kappa_2 \mathbf{u}_c^{m+1} + \gamma_2 \mathbf{v}^{m+1})]$ ed evidenziamo l'incognita principale \mathbf{u}^{m+1} definendo $\mathbf{w} := \mathbf{u}^{m+1}$; abbiamo così che \mathbf{w} soddisfa all'equazione ellittica

$$-\Delta t \Delta \mathbf{w} - \Delta t \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{w}) + [n^{m+1} (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) + \Delta t s] \mathbf{w} = \mathbf{g} \quad (4.11)$$

con condizioni al bordo periodiche discendenti da quelle imposte sul campo \mathbf{u} . Ciò suggerisce che uno schema computazionalmente efficiente per risolvere la (4.11) possa essere basato sul metodo spettrale di Fourier, il quale non è tuttavia direttamente applicabile perché l'equazione in questione non è a coefficienti costanti a causa della presenza a primo membro di un termine proporzionale a $n^{m+1} \mathbf{w}$. Per aggirare questa difficoltà è possibile ad esempio cercare la soluzione della (4.11) come soluzione stazionaria della nuova equazione, ora parabolica,

$$\frac{\partial \mathbf{w}}{\partial t'} - \Delta t \Delta \mathbf{w} - \Delta t \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{w}) + [n^{m+1} (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) + \Delta t s] \mathbf{w} = \mathbf{g} \quad (4.12)$$

affrontando quest'ultima con uno schema a passi frazionari. In particolare, nel primo passo si elimina il termine $n^{m+1} (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) \mathbf{w}$ e si risolve l'equazione risultante con il metodo spettrale di Fourier; quindi lo si reintroduce nel secondo passo, correggendo la soluzione precedentemente determinata.

Con il passaggio dalla (4.11) alla (4.12), \mathbf{w} viene formalmente resa funzione della variabile temporale fittizia (cioè non fisica) t' ; per contro, \mathbf{g} non diventa funzione di t' perché essa non dipende da \mathbf{w} .

Il procedimento descritto consiste nella risoluzione in cascata delle seguenti due equazioni:

$$\frac{\mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} - \mathbf{w}^{m'}}{\Delta t'} - \Delta t \Delta \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} - \Delta t \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla \left(\nabla \cdot \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} \right) + \Delta t s \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} = \mathbf{g} \quad (4.13a)$$

$$\frac{\mathbf{w}^{m'+1} - \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}}}{\Delta t'} + n^{m+1} (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) \mathbf{w}^{m'+1} = \mathbf{0}. \quad (4.13b)$$

Si noti che il passo di tempo $\Delta t'$ è relativo esclusivamente al processo iterativo che porta la (4.12) al raggiungimento della condizione stazionaria, per cui può essere scelto in modo indipendente dal Δt utilizzato nella prima discretizzazione temporale (4.10). Quest'ultimo deve invece essere il medesimo impiegato nell'integrazione delle leggi di conservazione, ossia quello che discende dalla condizione CFL (4.8).

Posto $\mathbf{w} = (w_1, w_2)^T$ e $\mathbf{g} = (g_1, g_2)^T$, si rappresentino \mathbf{w} e \mathbf{g} in serie di Fourier sul quadrato Q ad un generico istante $(t')^{m'} = m' \Delta t'$:

$$\mathbf{w}^{m'}(x, y) = \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'} e^{i2\pi(hx+ky)}, \quad \mathbf{g}(x, y) = \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{\mathbf{g}}_{hk} e^{i2\pi(hx+ky)}$$

con

$$\hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'} = \left(\hat{w}_{1,hk}^{m'}, \hat{w}_{2,hk}^{m'} \right)^T, \quad \hat{\mathbf{g}}_{hk} = (\hat{g}_{1,hk}, \hat{g}_{2,hk})^T;$$

riscrivendo la (4.13a) come

$$\begin{aligned} & - \Delta t' \Delta t \Delta \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} - \Delta t' \Delta t \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla \left(\nabla \cdot \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} \right) + \\ & + (1 + \Delta t' \Delta t s) \mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}} = \mathbf{w}^{m'} + \Delta t' \mathbf{g} \end{aligned} \quad (4.14)$$

e introducendovi le precedenti espressioni si perviene al sistema algebrico

$$\mathbf{A} \hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'+\frac{1}{2}} = \hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'} + \Delta t' \hat{\mathbf{g}}_{hk}, \quad (4.15)$$

dove $\mathbf{A} \in \mathbb{R}^{2 \times 2}$ è una matrice simmetrica i cui elementi sono dati da

$$a_{11} = 1 + \Delta t' \Delta t \left[4\pi^2 \left(\frac{2}{1-\nu} h^2 + k^2 \right) + s \right],$$

$$a_{12} = a_{21} = 4\pi^2 \Delta t' \Delta t \frac{1+\nu}{1-\nu} hk,$$

$$a_{22} = 1 + \Delta t' \Delta t \left[4\pi^2 \left(h^2 + \frac{2}{1-\nu} k^2 \right) + s \right].$$

Gli autovalori λ_1, λ_2 di \mathbf{A} hanno espressioni analitiche relativamente semplici:

$$\lambda_1 = 1 + \Delta t' \Delta t [4\pi^2 (h^2 + k^2) + s],$$

$$\lambda_2 = 1 + \Delta t' \Delta t \left[\frac{8\pi^2}{1 - \nu} (h^2 + k^2) + s \right]$$

dalle quali si vede che¹ $\lambda_1, \lambda_2 > 0$ per ogni valore di h, k . In particolare, risulta $\det \mathbf{A} = \lambda_1 \lambda_2 > 0$, cosicché la matrice \mathbf{A} è invertibile e il sistema (4.15) univocamente determinato. Risolvendolo si ottiene esplicitamente

$$\hat{w}_{1,hk}^{m'+\frac{1}{2}} = \frac{a_{22} (\hat{w}_{1,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{1,hk}) - a_{12} (\hat{w}_{2,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{2,hk})}{a_{11}a_{22} - a_{12}^2} \quad (4.16)$$

$$\hat{w}_{2,hk}^{m'+\frac{1}{2}} = \frac{\hat{w}_{2,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{2,hk} - a_{12} \hat{w}_{1,hk}^{m'+\frac{1}{2}}}{a_{22}}. \quad (4.17)$$

I coefficienti $\{\hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'}\}$ e $\{\hat{\mathbf{g}}_{hk}\}$ sono calcolati utilizzando l'algoritmo FFT (*Fast Fourier Transform*), che comporta un costo computazionale di $O(N \log_2 N)$ operazioni e richiede perciò un numero ottimale di punti di griglia pari a $N = 2^l$, $l \in \mathbb{N}$; nelle nostre simulazioni abbiamo utilizzato $l = 7$, cioè $N = 128$. Successivamente, si ricavano i valori nodali $\{\mathbf{w}_{ij}^{m'+1/2}\}$ di $\mathbf{w}^{m'+1/2}$ mediante l'algoritmo inverso IFFT (*Inverse Fast Fourier Transform*) applicato ai coefficienti $\{\hat{\mathbf{w}}_{hk}^{m'+1/2}\}$ dati dalle (4.16), (4.17). Infine, l'equazione (4.13b) consente di ricavare i valori nodali $\{\mathbf{w}_{ij}^{m'+1}\}$ di $\mathbf{w}^{m'+1}$ come

$$\mathbf{w}_{ij}^{m'+1} = \frac{\mathbf{w}^{m'+\frac{1}{2}}}{1 + \Delta t' (\gamma_2 + \Delta t \kappa_2) n_{ij}^{m+1}}. \quad (4.18)$$

Le iterazioni identificate dall'indice m' devono essere ripetute fino al soddisfacimento di una condizione del tipo

$$\left| \mathbf{w}^{m'+1} - \mathbf{w}^{m'} \right| < \epsilon, \quad (4.19)$$

dove ϵ è un parametro positivo piccolo a piacere che determina la tolleranza sulla convergenza della successione $\{\mathbf{w}^{m'}\}$ verso la condizione stazionaria cercata. Quest'ultima rappresenta il nuovo campo di spostamento del substrato \mathbf{u}^{m+1} dopo un passo temporale effettivo di ampiezza Δt .

Se $t < t_{\text{soglia}}$ allora $H(t - t_{\text{soglia}}) = 0$ e l'equazione (4.9) è in forma ridotta:

$$\gamma_2 n \mathbf{u}_t - \Delta \mathbf{u} - \frac{1 + \nu}{1 - \nu} \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + s \mathbf{u} = \gamma_2 n \mathbf{v};$$

¹Si ricordi in particolare che il modulo di Poisson ν di un qualsiasi materiale è soggetto alle limitazioni $0 \leq \nu < \frac{1}{2}$ (si veda in proposito Carpinteri [2]), per cui risulta $1 - \nu > 0$.

essa può essere risolta in modo del tutto analogo a quanto appena descritto, ponendo formalmente $\kappa_2 = 0$ nelle (4.16), (4.17) e (4.18).

Consideriamo ora il caso particolare in cui $\gamma_2 = 0$, che corrisponde a quanto assunto nelle simulazioni numeriche presentate nel seguito. Come precedentemente osservato, l'equazione (4.1c) diventa ellittica e prende la forma

$$\Delta \mathbf{u} + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) - \kappa_2 n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) H(t - t_{\text{soglia}}) - s\mathbf{u} = \mathbf{0}. \quad (4.20)$$

Se $t < t_{\text{soglia}}$ essa si semplifica ulteriormente in

$$\Delta \mathbf{u} + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) - s\mathbf{u} = \mathbf{0}$$

che, con le condizioni al bordo periodiche, ammette l'unica soluzione $\mathbf{u} = \mathbf{0}$. Ciò è coerente con il fatto che in tal caso si ricade in una dinamica di pura chemotassi in cui non si ha interazione tra le cellule e il substrato, dunque nemmeno deformazione di quest'ultimo.

Se invece $t \geq t_{\text{soglia}}$ allora la (4.20) è in forma completa:

$$\Delta \mathbf{u} + \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) - \kappa_2 n (\mathbf{u} - \mathbf{u}_c) - s\mathbf{u} = \mathbf{0}. \quad (4.21)$$

La presenza del termine $-\kappa_2 n \mathbf{u}$ con coefficiente non costante impone nuovamente l'utilizzo di uno schema a passi frazionari per poter sfruttare il metodo spettrale di Fourier. Introdotto dunque il tempo fittizio t' , si cerca la soluzione della (4.21) come soluzione stazionaria dell'equazione parabolica

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t'} - \Delta \mathbf{u} - \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) + \kappa_2 n \mathbf{u} + s\mathbf{u} = \kappa_2 n \mathbf{u}_c$$

da risolversi in due passi. Posto $\mathbf{g} := \kappa_2 n \mathbf{u}_c$, si ha successivamente

$$\frac{\mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}} - \mathbf{u}^{m'}}{\Delta t'} - \Delta \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}} - \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}}) + s\mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}} = \mathbf{g} \quad (4.22a)$$

$$\frac{\mathbf{u}^{m'+1} - \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}}}{\Delta t'} + \kappa_2 n \mathbf{u}^{m'+1} = \mathbf{0} \quad (4.22b)$$

ovvero, per quanto riguarda la (4.22b),

$$-\Delta t' \Delta \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}} - \Delta t' \frac{1+\nu}{1-\nu} \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}}) + (1 + s\Delta t') \mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}} = \mathbf{u}^{m'} + \Delta t' \mathbf{g};$$

in analogia con la (4.14), si ricavano i coefficienti di Fourier di $\mathbf{u}^{m'+\frac{1}{2}}$ a partire da quelli di $\mathbf{u}^{m'}$ e di \mathbf{g} modificando leggermente le formule (4.16), (4.17):

$$\hat{u}_{1,hk}^{m'+\frac{1}{2}} = \frac{a_{22} (\hat{u}_{1,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{1,hk}) - a_{12} (\hat{u}_{2,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{2,hk})}{a_{11}a_{22} - a_{12}^2}$$

$$\hat{u}_{2,hk}^{m'+\frac{1}{2}} = \frac{\hat{u}_{2,hk}^{m'} + \Delta t' \hat{g}_{2,hk} - a_{12} \hat{u}_{1,hk}^{m'+\frac{1}{2}}}{a_{22}}$$

dove ora si ha

$$a_{11} = 1 + \Delta t' \left[4\pi^2 \left(\frac{2}{1-\nu} h^2 + k^2 \right) + s \right],$$

$$a_{12} = 4\pi^2 \Delta t' \frac{1+\nu}{1-\nu} hk,$$

$$a_{22} = 1 + \Delta t' \left[4\pi^2 \left(h^2 + \frac{2}{1-\nu} k^2 \right) + s \right].$$

Dopodiché, la (4.22b) consente di ricavare $\mathbf{u}^{m'+1}$ come

$$\mathbf{u}_{ij}^{m'+1} = \frac{\mathbf{u}_{ij}^{m'+\frac{1}{2}}}{1 + \Delta t' \kappa_2 n_{ij}}.$$

Le iterazioni identificate dall'indice m' devono nuovamente essere ripetute fino al soddisfacimento di una condizione analoga alla (4.19) tra $\mathbf{u}^{m'}$ e $\mathbf{u}^{m'+1}$.

Osservazione. La risoluzione di un'equazione parabolica con lo schema a passi frazionari può essere interpretata in modo più astratto come la risoluzione dell'equazione

$$\frac{\partial u}{\partial t} + Lu = f, \quad (4.23)$$

in cui u è una generica funzione incognita (eventualmente a valori vettoriali), f un termine noto ed L un operatore lineare che viene decomposto in una somma di due ulteriori operatori:

$$Lu = L_1 u + L_2 u. \quad (4.24)$$

Separando L_1 ed L_2 si cerca di ridurre un problema complesso a due problemi più semplici, confinando in ognuno di essi gli effetti e le problematiche associati a ciascun operatore (non linearità, diffusione, trasporto, ...). In tal senso, L_1 ed L_2 possono essere scelti secondo considerazioni fisiche operate sulla base del problema che si sta risolvendo.

La decomposizione (4.24) consente una discretizzazione temporale della (4.23) del tipo

$$\begin{cases} \frac{u^{m+\frac{1}{2}} - u^m}{\Delta t} + L_1 u^{m+\frac{1}{2}} = f^{m+1} \\ \frac{u^{m+1} - u^{m+\frac{1}{2}}}{\Delta t} + L_2 u^{m+1} = 0. \end{cases} \quad (4.25)$$

Lo schema (4.25) è noto come *splitting di Yanenko*; ricavando $u^{m+\frac{1}{2}}$ dalla seconda equazione:

$$u^{m+\frac{1}{2}} = u^{m+1} + \Delta t L_2 u^{m+1}$$

e sostituendolo nella prima:

$$\frac{u^{m+1} - u^m}{\Delta t} + L_1 u^{m+1} = f^{m+1} - \Delta t L_1 (L_2 u^{m+1})$$

si vede che esso rappresenta una discretizzazione implicita della (4.23) a meno del termine di errore $\Delta t L_1 (L_2 u^{m+1})$. Lo schema a passi frazionari (4.25) è quindi consistente con l'equazione (4.23) e accurato al primo ordine in tempo. Si può inoltre dimostrare (Quarteroni [10]) che se L_1 ed L_2 sono entrambi operatori ellittici allora esso è incondizionatamente stabile rispetto a Δt .

4.2.3 Diffusione e degrado del chemoattrattore

Stanti le condizioni periodiche al bordo su c , è conveniente risolvere anche l'equazione (4.1d) con il metodo spettrale di Fourier. Effettuando una prima discretizzazione implicita in tempo si ha

$$\xi \frac{c^{m+1} - c^m}{\Delta t} = \Delta c^{m+1} + \alpha(n^{m+1}) - \xi c^{m+1}$$

ovvero, mettendo in evidenza l'incognita c^{m+1} :

$$-\Delta t \Delta c^{m+1} + \xi (1 + \Delta t) c^{m+1} = \xi c^m + \Delta t \alpha(n^{m+1}).$$

Posto quindi

$$A(\mathbf{x}, t) := \alpha(n(\mathbf{x}, t))$$

risulta $\alpha(n^{m+1}) = A^{m+1}$; rappresentando c^m e A^m in serie di Fourier su Q :

$$c^m(x, y) = \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{c}_{hk}^m e^{i2\pi(hx+ky)}, \quad A^m(x, y) = \sum_{h,k=-\infty}^{+\infty} \hat{A}_{hk}^m e^{i2\pi(hx+ky)},$$

si perviene all'equazione algebrica

$$[4\pi^2 \Delta t (h^2 + k^2) + \xi (1 + \Delta t)] \hat{c}_{hk}^{m+1} = \xi \hat{c}_{hk}^m + \Delta t \hat{A}_{hk}^{m+1}$$

che fornisce immediatamente

$$\hat{c}_{hk}^{m+1} = \frac{\xi \hat{c}_{hk}^m + \Delta t \hat{A}_{hk}^{m+1}}{4\pi^2 \Delta t (h^2 + k^2) + \xi (1 + \Delta t)}. \quad (4.26)$$

Una FFT sulle sequenze $\{c_{ij}^m\}$ e $\{A_{ij}^{m+1}\}$ consente di ottenere i coefficienti $\{\hat{c}_{hk}^m\}$ e $\{\hat{A}_{hk}^{m+1}\}$; successivamente, una IFFT sulla sequenza $\{\hat{c}_{hk}^{m+1}\}$ calcolata mediante la (4.26) permette di ricavare i valori nodali $\{c_{ij}^{m+1}\}$ della soluzione c al tempo $m + 1$.

4.2.4 Moto delle cellule

Risolviamo infine l'equazione (4.1e) rispetto a \mathbf{u}_c con uno schema alle differenze finite. Scritte le due componenti scalari come

$$\frac{\partial^2 u_{c,1}}{\partial t^2} = \frac{\partial v_1}{\partial t} + v_1 \frac{\partial v_1}{\partial x} + v_2 \frac{\partial v_1}{\partial y}$$

$$\frac{\partial^2 u_{c,2}}{\partial t^2} = \frac{\partial v_2}{\partial t} + v_1 \frac{\partial v_2}{\partial x} + v_2 \frac{\partial v_2}{\partial y}$$

e tenuto conto di quanto osservato in § 3.2.3, abbiamo rispettivamente

$$\begin{aligned} \frac{u_{c,1ij}^{m+1} - 2u_{c,1ij}^m + u_{c,1ij}^{m-1}}{\Delta t^2} &= \frac{v_{1ij}^{m+1} - v_{1ij}^m}{\Delta t} + \\ &+ v_{1ij}^{m+1} \frac{v_{1i+1,j}^{m+1} - v_{1i-1,j}^{m+1}}{2\Delta x} + v_{2ij}^{m+1} \frac{v_{1i,j+1}^{m+1} - v_{1i,j-1}^{m+1}}{2\Delta y} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{u_{c,2ij}^{m+1} - 2u_{c,2ij}^m + u_{c,2ij}^{m-1}}{\Delta t^2} &= \frac{v_{2ij}^{m+1} - v_{2ij}^m}{\Delta t} + \\ &+ v_{1ij}^{m+1} \frac{v_{2i+1,j}^{m+1} - v_{2i-1,j}^{m+1}}{2\Delta x} + v_{2ij}^{m+1} \frac{v_{2i,j+1}^{m+1} - v_{2i,j-1}^{m+1}}{2\Delta y} \end{aligned}$$

da cui

$$\begin{aligned} u_{c,1ij}^{m+1} &= 2u_{c,1ij}^m - u_{c,1ij}^{m-1} + \Delta t (v_{1ij}^{m+1} - v_{1ij}^m) + \\ &+ \frac{\Delta t^2}{2} \left(v_{1ij}^{m+1} \frac{v_{1i+1,j}^{m+1} - v_{1i-1,j}^{m+1}}{\Delta x} + v_{2ij}^{m+1} \frac{v_{1i,j+1}^{m+1} - v_{1i,j-1}^{m+1}}{\Delta y} \right) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} u_{c,2ij}^{m+1} &= 2u_{c,2ij}^m - u_{c,2ij}^{m-1} + \Delta t (v_{2ij}^{m+1} - v_{2ij}^m) + \\ &+ \frac{\Delta t^2}{2} \left(v_{1ij}^{m+1} \frac{v_{2i+1,j}^{m+1} - v_{2i-1,j}^{m+1}}{\Delta x} + v_{2ij}^{m+1} \frac{v_{2i,j+1}^{m+1} - v_{2i,j-1}^{m+1}}{\Delta y} \right). \end{aligned}$$

4.2.5 Algoritmo di avanzamento in tempo

Nella Figura 4.3 è mostrato in forma di diagramma di flusso l'algoritmo di avanzamento in tempo con il quale vengono risolte le equazioni del modello chemo-meccanico. A lato dei blocchi sono indicate le variabili note dopo ciascun passo computazionale.

Supponendo di conoscere la soluzione ad un certo istante m , il passo temporale successivo viene calcolato in accordo alla seguente procedura:

- si risolve dapprima l'equazione del substrato, compiendo nel caso generale un numero di iterazioni interne sufficiente al raggiungimento della condizione stazionaria; si ottiene così il nuovo campo di spostamento \mathbf{u}^{m+1} , che risulta in equilibrio con i campi n^m , \mathbf{v}^m e \mathbf{u}_c^m calcolati al passo precedente;
- si risolve quindi il primo passo frazionario delle leggi di conservazione, per il quale è necessaria la conoscenza delle sole variabili n^m e \mathbf{v}^m , ottenendo i campi intermedi $n^{m+\frac{1}{2}}$ e $\mathbf{v}^{m+\frac{1}{2}}$; si osserva tuttavia che $n^{m+\frac{1}{2}}$ coincide già con il campo finale n^{m+1} ;
- si risolve poi l'equazione di diffusione e degrado del chemoattrattore, per la quale è necessaria la densità n^{m+1} , ricavando il nuovo campo di concentrazione c^{m+1} ;
- si completa la risoluzione delle leggi di conservazione effettuando il secondo passo frazionario, che richiede la conoscenza di n^{m+1} , c^{m+1} , \mathbf{u}^{m+1} , \mathbf{u}_c^{m+1} ; grazie alla precedente successione di operazioni, di questi campi solo \mathbf{u}_c non è ancora stato aggiornato;
- nota la nuova velocità \mathbf{v}^{m+1} , si aggiorna infine anche il campo di spostamento delle cellule \mathbf{u}_c .

La condizione di uscita dalle iterazioni è ottenuta fissando un tempo finale t_{fin} della simulazione.

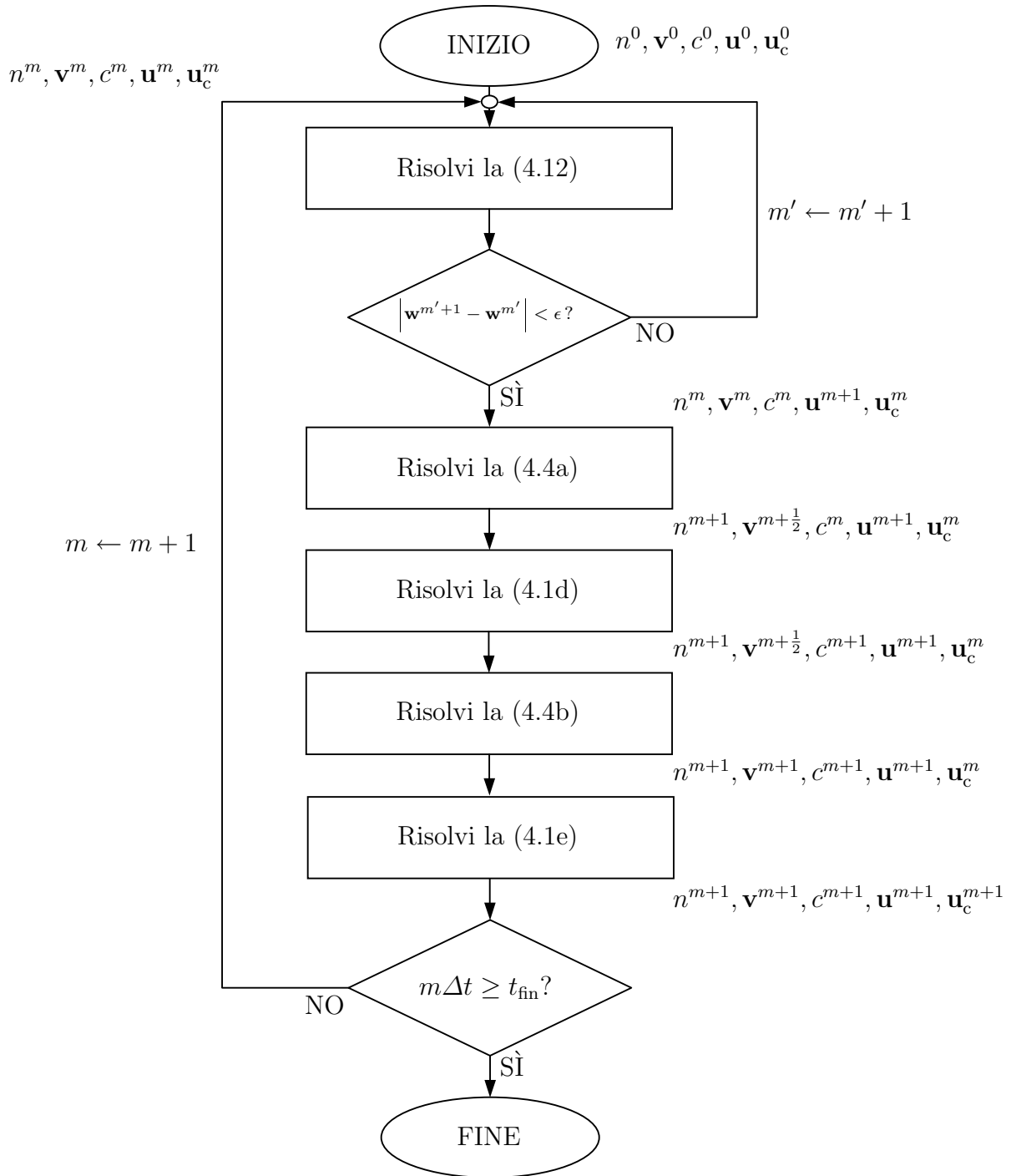


Figura 4.3. Il diagramma di flusso che illustra la successione in cui sono risolte numericamente le equazioni del modello chemomeccanico.

4.3 Risultati e commenti

Abbiamo effettuato alcune simulazioni numeriche basate sul modello chemomeccanico descritto dalle equazioni (4.1a)-(4.1e), utilizzando in ciascuna di esse i parametri riassunti di seguito nella Tabella 4.1. Come pressione intercellulare abbiamo considerato la funzione

$$p(n) = \begin{cases} 10^{-10}n & \text{per } 0 \leq n < 500 \\ 10^{-10}n + 10^{-5}(n - 500)^3 & \text{per } n \geq 500, \end{cases}$$

constatando però che durante tutto il tempo della simulazione il valore di n non ha mai superato la soglia 500; di fatto, quindi, è sempre stata attiva la pressione definita semplicemente come $p(n) = 10^{-10}n$.

Nella Figura 4.4 è mostrato il confronto tra le fasi di formazione della rete vascolare filmate al videomicroscopio e quelle previste dal modello; in particolare, i risultati della Figura 4.4a sono stati ottenuti modellando il termine di produzione endogena di chemoattrattore mediante la funzione $\alpha(n)$ espressa dalla (3.7), con $a = 30$ e $b = 0.2$, mentre quelli della Figura 4.4b derivano dall'aver assunto la più classica $\alpha(n) = n$, con alcune modifiche degli altri parametri resesi necessarie per avere dinamiche simili nei due casi. Si può constatare come i risultati delle simulazioni siano tra loro qualitativamente piuttosto diversi; in particolare, la tipologia di rete mostrata nella Figura 4.4a è molto più simile a quella osservata sperimentalmente, il che avvalora l'intuizione fenomenologica illustrata in § 3.2.4 a proposito del meccanismo di regolazione della produzione di chemoattrattore da parte delle cellule. Effettuando varie simulazioni per diversi valori dei parametri a e b abbiamo potuto constatare che per ottenere tale tipologia di rete la seguente condizione è necessaria:

$$\max_{\mathbf{x} \in Q} n(\mathbf{x}, 0) \gg \frac{1}{\sqrt{b}},$$

dove $\frac{1}{\sqrt{b}}$ è il punto di massimo della funzione (3.7). Se essa non è soddisfatta si ricade in una tipologia di rete analoga a quella della Figura 4.4b, probabilmente come conseguenza del fatto che la funzione $\alpha(n)$ data dalla (3.7) è equivalente alla funzione lineare an per $n \rightarrow 0$.

La Figura 4.5 mostra invece l'influenza delle interazioni meccaniche sulla formazione delle reti vascolari: se l'ancoraggio delle cellule al substrato è troppo rigido la rete non si forma (Figura 4.5a); viceversa, se a parità di tutte le altre condizioni agisce soltanto la forza di gradiente chemotattico, o comunque se l'ancoraggio è troppo debole, si osserva un'accelerazione nella formazione delle corde seguita da un processo di deformazione progressiva che conduce ad un'incipiente distruzione delle reti appena costituite (Figura 4.5c). Solo quando sussiste un corretto rapporto tra la forza chemotattica e quella meccanica si ha la formazione di una struttura reticolare ben definita (Figura 4.5b).

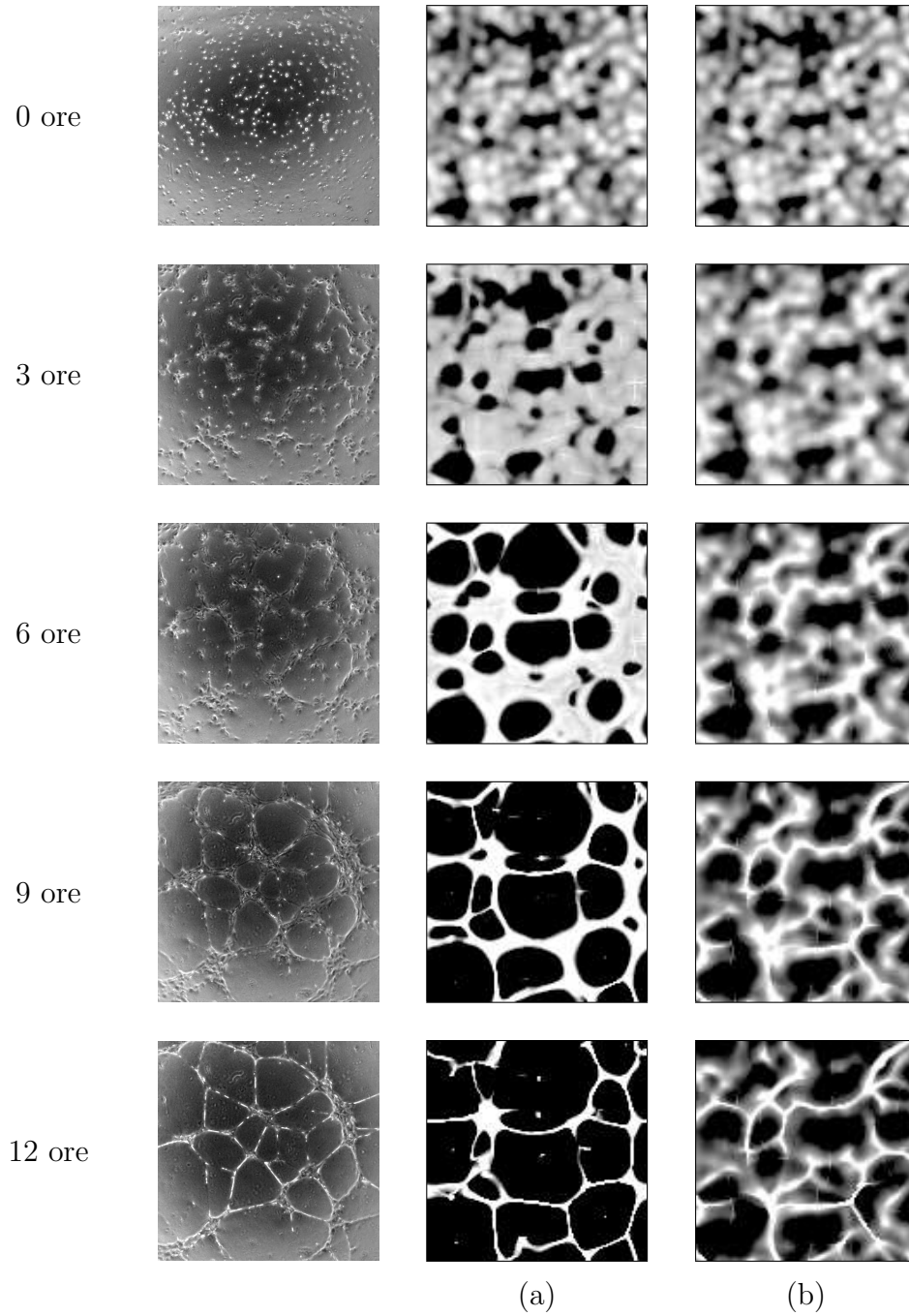


Figura 4.4. Confronto tra il processo di formazione delle reti capillari osservato al videomicroscopio (a sinistra) e quello simulato mediante il modello chemomeccanico ((a) e (b)).

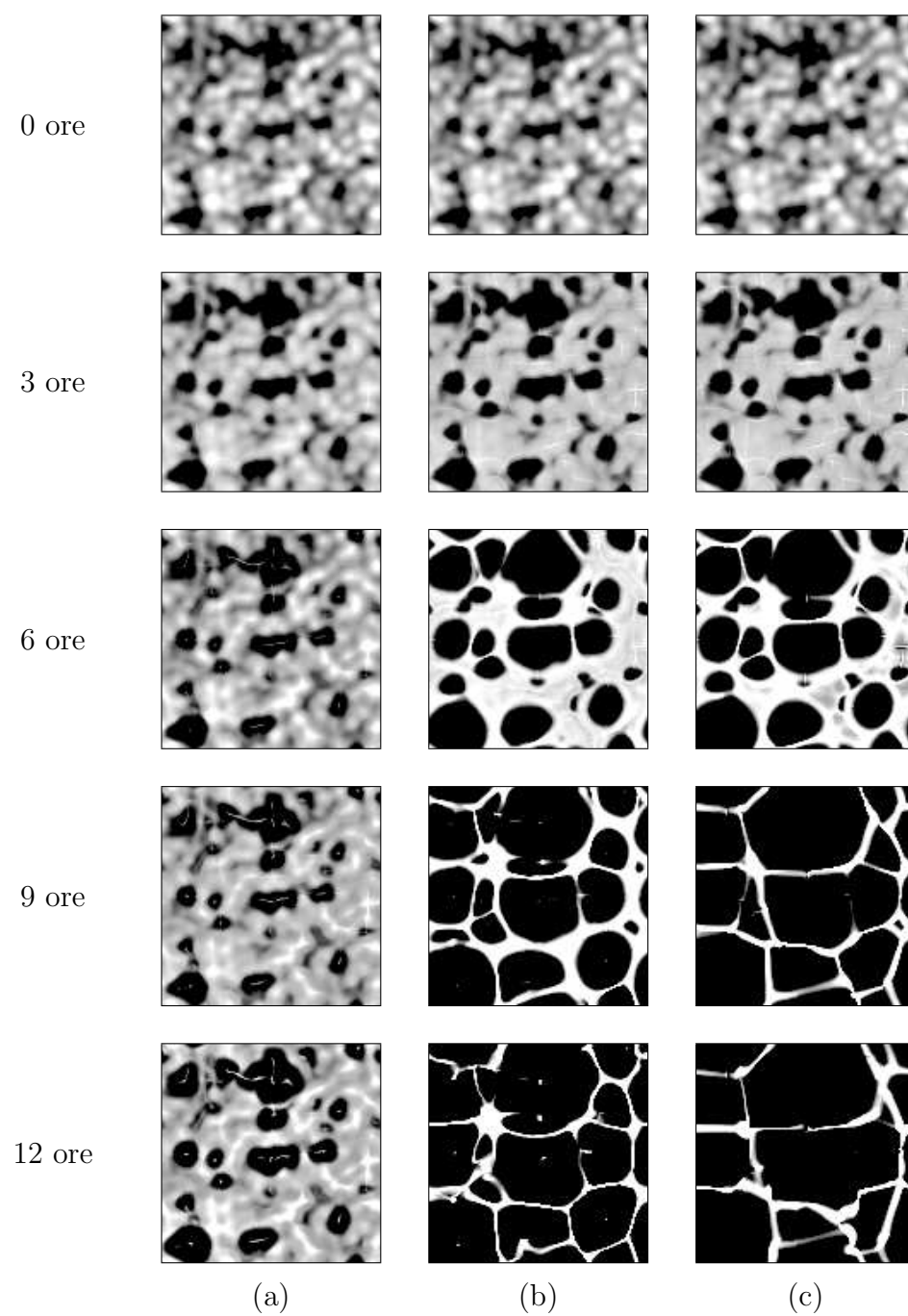


Figura 4.5. Influenza delle interazioni meccaniche sulla formazione della rete.

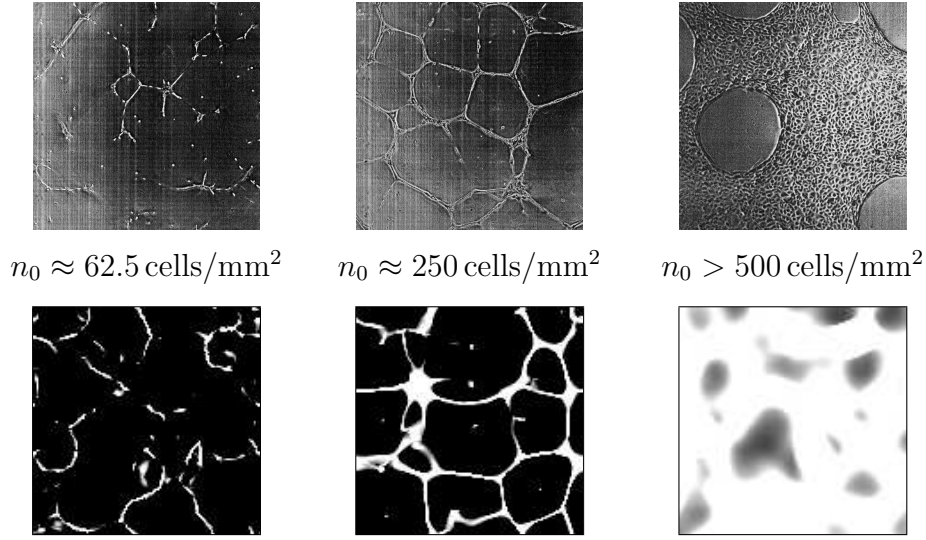


Figura 4.6. Dipendenza della formazione della rete vascolare dalla densità iniziale come filmata al videomicroscopio (in alto) e simulata con il modello chemo-meccanico (in basso). Le immagini delle simulazioni fanno riferimento al tempo computazionale $t = 12$.

Il raffronto tra le Figure 4.4a, 4.4b e 4.5b, 4.5c suggerisce che la tipologia di rete dipende essenzialmente dalla funzione $\alpha(n)$, dunque dai meccanismi chemotattici, mentre le interazioni meccaniche giocano un ruolo fondamentale nel garantire la stabilità della struttura.

La Figura 4.6 mostra un confronto tra le osservazioni sperimentali e le previsioni del modello circa le diverse evoluzioni nella formazione della rete vascolare in funzione della densità iniziale di cellule.

Infine, la Figura 4.7 illustra il campo di spostamento \mathbf{u} della matrice extracellulare ad istanti di tempo successivi durante il processo di formazione della rete (il riferimento è alla simulazione della Figura 4.4a). In ogni immagine vengono mostrate le curve di livello di $|\mathbf{u}|$; le frecce sovrapposte indicano la direzione e il verso del vettore di spostamento locale e hanno una lunghezza proporzionale al modulo di quest'ultimo. Attualmente non esistono purtroppo misurazioni con cui confrontare le previsioni del modello, ma l'IRCC si è detta interessata a lavorare ad un opportuno esperimento.

Concludiamo con un'osservazione in merito al tempo t_{soglia} di ancoraggio delle cellule al substrato. Come indicato nella Tabella 4.1, in tutte le simulazioni che hanno visto coinvolte le interazioni meccaniche si è fissato $t_{\text{soglia}} = 0$, ammettendo in questo modo che le cellule sperimentino l'adesione al substrato fin dagli istanti

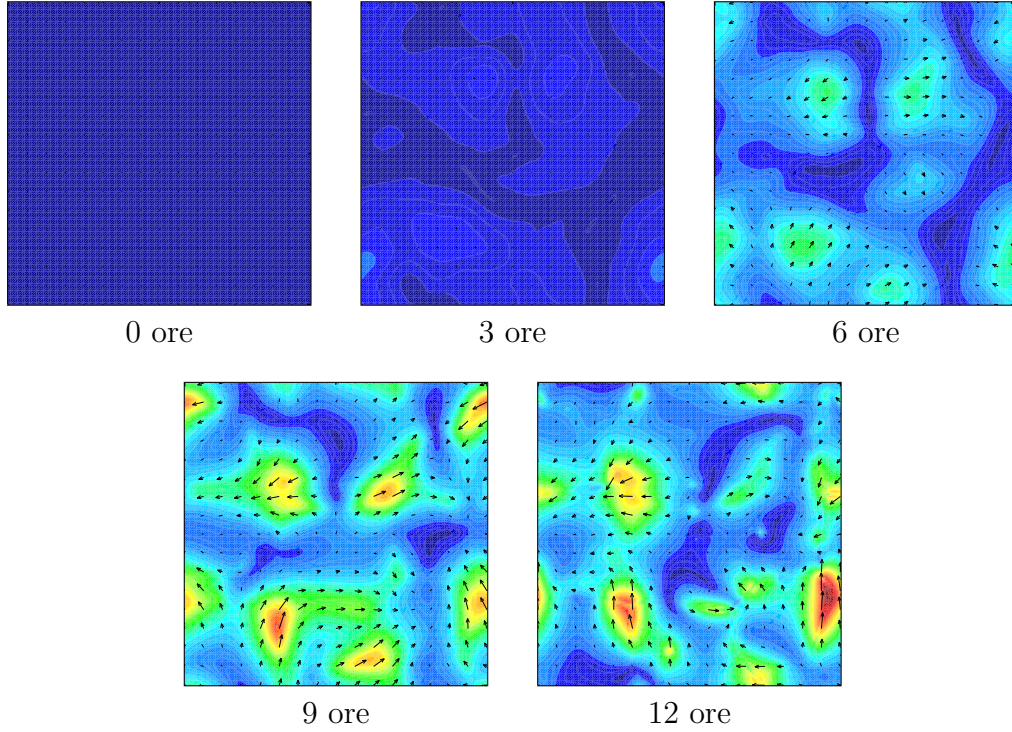


Figura 4.7. Campo di spostamento \mathbf{u} della matrice extracellulare durante la formazione delle reti vascolari. Le curve di livello denotano valori crescenti dal blu al rosso.

iniziali del loro moto. Questa scelta è stata principalmente suggerita dai risultati, qualitativamente peggiori, che si sono ottenuti ponendo $t_{\text{soglia}} > 0$ (ad esempio $t_{\text{soglia}} = 3$). In particolare, in alcuni casi le simulazioni hanno fornito reti con deformazioni incipienti molto simili a quelle della Figura 4.5c, come se l’ancoraggio elastico attivato “in ritardo” rispetto alla forza di gradiente chimico non riuscisse a stabilire con quest’ultima un corretto rapporto di interazione; in altri casi, aumentando la rigidità dell’ancoraggio per ovviare a tale inconveniente, sono risultate reti non del tutto formate a causa della prevalenza, ora eccessiva, della forza elastica su quella chemotattica. In definitiva, è sembrato che le forze chimica e meccanica riescano a raggiungere livelli di interazione adeguati per la buona formazione delle reti solo se evolvono insieme fin dai primi istanti del fenomeno.

È possibile che questa conclusione dipenda in parte dall’aver trascurato nelle simulazioni i termini di attrito viscoso delle cellule con il substrato; teniamo tuttavia a precisare che essa, qualora corretta, non pregiudica comunque la caratterizzazione della vasculogenesi in termini di avvicinamento delle dinamiche chemotattica

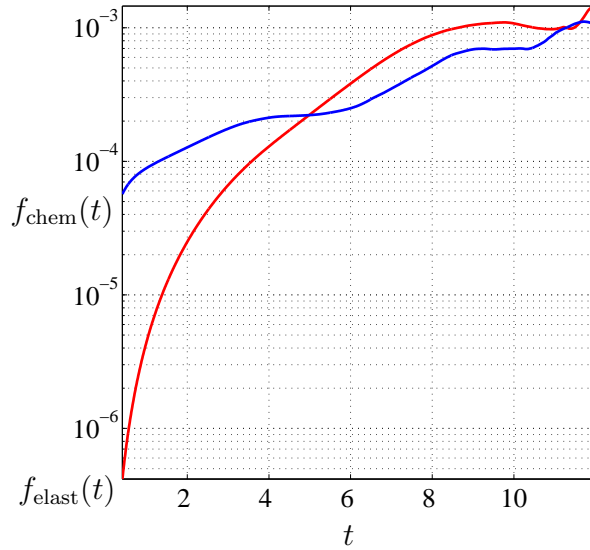


Figura 4.8. Andamento nel tempo in scala semilogaritmica del modulo delle forze chemotattica ed elastica mediate in spazio sul quadrato Q . La curva blu è riferita a $f_{\text{chem}}(t)$, quella rossa a $f_{\text{elast}}(t)$.

prima e chemomeccanica poi. A questo proposito, può essere significativo analizzare e confrontare gli andamenti temporali, mediati in spazio, dei moduli delle forze chemotattica \mathbf{f}_{chem} ed elastica $\mathbf{f}_{\text{elast}}$ durante la formazione delle reti. Con riferimento alla simulazione mostrata nella Figura 4.4a, abbiamo calcolato le seguenti funzioni:

$$f_{\text{chem}}(t) = \left| \frac{1}{m(Q)} \int_Q \mathbf{f}_{\text{chem}}(\mathbf{x}, t) d\mathbf{x} \right|$$

$$f_{\text{elast}}(t) = \left| \frac{1}{m(Q)} \int_Q \mathbf{f}_{\text{elast}}(\mathbf{x}, t) d\mathbf{x} \right|,$$

dove $m(Q) = 1$ è la misura (area) del dominio Q , approssimando gli integrali con la formula di quadratura bidimensionale di Eulero su $N \times N$ punti:

$$\int_0^1 \int_0^1 \mathbf{f}_{\text{chem}}(x, y, t) dx dy \approx \frac{1}{N^2} \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} \mathbf{f}_{\text{chem}}(x_i, y_j, t),$$

$$\int_0^1 \int_0^1 \mathbf{f}_{\text{elast}}(x, y, t) dx dy \approx \frac{1}{N^2} \sum_{j=0}^{N-1} \sum_{i=0}^{N-1} \mathbf{f}_{\text{elast}}(x_i, y_j, t).$$

Come si vede dal grafico riportato nella Figura 4.8, nei primi momenti della simulazione (circa $0 \leq t \leq 3$) la forza di gradiente chimico cresce più rapidamente di quella

elastica, determinando di fatto una fase di predominanza della chemotassi; solo successivamente la forza elastica assume rilevanza, fino a dar luogo ad una situazione di sostanziale equilibrio.

Tabella 4.1. Riassunto dei parametri utilizzati nelle simulazioni numeriche.

| <i>Parametri del modello</i> | <i>Simboli</i> | <i>Fig. 4.4a</i> <i>Fig. 4.5b</i> <i>Fig. 4.7</i> | <i>Fig. 4.4b</i> | <i>Fig. 4.5a</i> | <i>Fig. 4.5c</i> |
|--------------------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------|------------------|------------------------|------------------------|
| Numero iniziale di cellule | M | 800 | 800 | 800 | 800 |
| Pressione intercellulare | $p(n)$ | $10^{-10}n$ | $10^{-10}n$ | $10^{-10}n$ | $10^{-10}n$ |
| Produzione di chemoattrattore | $\alpha(n)$ | $\frac{30n}{1+0.2n^2}$ | n | $\frac{30n}{1+0.2n^2}$ | $\frac{30n}{1+0.2n^2}$ |
| Modulo di Poisson del substrato | ν | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Coefficiente del gradiente chimico | β | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| Coefficienti di attrito viscoso | γ_1, γ_2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Coefficienti di ancoraggio elastico | κ_1, κ_2 | 0.2 | 0.1 | 1 | 0 |
| Coefficiente di adesione al disco di Petri | s | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Rapporto tra lunghezze caratteristiche | ξ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Istante di ancoraggio | t_{soglia} | 0 | 0 | 0 | > 12 |

Bibliografia

- [1] Ambrosi D., Bussolino F. e Preziosi L. (2004). A review of vasculogenesis models. *Theor. Medicine*.
- [2] Carpinteri A. (1992). **Scienza delle Costruzioni**. Pitagora Editrice, Bologna.
- [3] Gamba A., Ambrosi D., Coniglio A., de Candia A., Di Talia S., Giraudo E., Serini G., Preziosi L. e Bussolino F. (2003). Percolation, morphogenesis, and Burgers dynamics in blood vessels formation. *Phys. Rev. Lett.* **90**, 118101.
- [4] Kowalczyk R. Preventing blow-up in a chemotaxis model (di prossima pubblicazione).
- [5] Kowalczyk R., Gamba A. e Preziosi L. (2004). On the stability of homogeneous solutions to some aggregation models. *Discr. Cont. Dyn. Sys. B* **4**, 203-220.
- [6] LeVeque R.J. (1990). **Numerical Methods for Conservation Laws**. Birkhäuser, Zurich.
- [7] Manoussaki D. (2003). A mechanochemical model of angiogenesis and vasculogenesis. *ESAIM: Math. Model. Num. Anal.* **37(4)**, 581-600.
- [8] Meade-Tollin L.C. e Van Noorden C.J.F. (2000). Time lapse phase contrast video microscopy of directed migration of human microvascular endothelial cells on Matrigel. *Acta Histochem.* **102**, 299-307.
- [9] Namy P., Ohayon J. e Tracqui P. (2004). Critical conditions for pattern formation and *in vitro* tubulogenesis driven by cellular traction fields. *J. Theor. Biol.* **227(1)**, 103-120.
- [10] Quarteroni A. (2000). **Modellistica Numerica per Problemi Differenziali**. Springer-Verlag Italia, Milano.
- [11] Serini G., Ambrosi D., Giraudo E., Gamba A., Preziosi L. e Bussolino F. (2003). Modeling the early stages of vascular network assembly. *EMBO J.* **22**, 1771-1779.
- [12] Vailhe B., Lecomte M., Wiernsperger N. e Tranqui L. (1998/1999). The formation of tubular structures by endothelial cells is under the control of fibrinolysis and mechanical factors. *Angiogenesis* **2**, 331-344.
- [13] Vailhe B., Vittet D. e Feige J.J. (2001). *In vitro* models of vasculogenesis and angiogenesis. *Lab. Investig.* **81**, 439-452.
- [14] Vernon R.B., Angello J.C., Iruela-Arispe M.L., Lane T.F. e Sage E.H. (1992).

- Reorganization of basement membrane matrices by cellular traction promotes the formation of cellular networks *in vitro*. *Lab. Investig.* **66**, 536-547.
- [15] Vernon R.B. e Sage E.H. (1995). Between molecules and morphology. Extracellular matrix and creation of vascular form. *Amer. J. Path.* **144**, 873-883.