

POLITECNICO DI TORINO



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MATEMATICHE
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA MATEMATICA

Tesi di Laurea Magistrale

**Modellizzazione matematica dell'evoluzione
fenotipica di tumori in condizioni di ipossia**

RELATORE

Prof.re Tommaso Lorenzi

CORRELATORI

Prof.ssa Chiara Givero e

Prof.re Luigi Preziosi

CANDIDATA

Sara Spalice

matr. s264690

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

Abstract

Una delle caratteristiche distintive delle cellule cancerose è la loro capacità di adattamento in ambienti ipossici (ovvero ambienti caratterizzati da bassi livelli di ossigeno). Ciò permette loro di sopravvivere in condizioni poco favorevoli costituendo un meccanismo di selezione di cellule con un fenotipo più aggressivo.

In questo lavoro di tesi è stato sviluppato e analizzato un modello matematico per l'adattamento ad ipossia delle cellule tumorali legato alla capacità di eseguire uno switch metabolico. Quest'ultimo è regolato dal fattore di trascrizione alfa inducibile da ipossia (HIF-1 α) il cui accumulo in condizioni di scarsa ossigenazione è associato ad una maggiore malignità del tumore.

In questo modello matematico, lo stato fenotipico di ogni cellula tumorale è descritta da una variabile continua che rappresenta il livello di espressione normalizzato di HIF-1 α . In accordo con le evidenze sperimentali, livelli più bassi di HIF-1 α sono correlati con fenotipi ossidativi e meno invasivi, mentre livelli più alti di HIF-1 α corrispondono a fenotipi glicolitici e più invasivi.

Il modello comprende un sistema accoppiato di equazioni integro-differenziali che descrivono le dinamiche evolutive spazio-temporali delle cellule tumorali e le loro interazioni non lineari con ossigeno e glucosio, fattori abiotici che rivestono un ruolo chiave nella determinazione del metabolismo delle cellule tumorali. I risultati ottenuti dall'analisi qualitativa formale e dalle simulazioni numeriche delle equazioni del modello spiegano il ruolo di differenti processi eco-evolutivi che regolano l'adattamento delle cellule tumorali in condizioni ipossiche e la comparsa di un fenotipo più aggressivo.

La tesi è organizzata nel modo seguente. Nel primo capitolo di introduzione si descrive brevemente il problema biologico in esame, si contestualizza il problema matematico e si presenta il contributo della tesi. Nel secondo capitolo si introducono il modello matematico e le principali assunzioni fatte. Nel terzo capitolo viene

svolta un'analisi qualitativa formale del modello nel caso di un regime asintotico che sia biologicamente rilevante. Nel quarto capitolo si presentano e si discutono i risultati delle simulazione numeriche. Infine, nel quinto capitolo si riassumono i principali risultati ottenuti nel lavoro di tesi e si presentano alcune ipotesi di ricerche future.

Indice

1	Introduzione	4
1.1	Problema biologico esaminato	4
1.2	Contestualizzazione matematica	6
1.3	Contributo della tesi	7
2	Modello matematico	9
2.1	Dinamica delle cellule tumorali	9
2.2	Dinamica di ossigeno e glucosio	16
3	Analisi qualitativa formale	19
3.1	Caso 1: sole variazioni fenotipiche spontanee	26
3.1.1	Funzione di fitness G lineare in h	26
3.1.2	Funzione di fitness G quadratica in h	27
3.2	Caso 2: variazioni fenotipiche spontanee e indotte	28
3.3	Caso 3: variazioni fenotipiche spontanee e trasporto nello spazio fisico	29
3.4	Caso 4: variazioni fenotipiche spontanee, variazioni fenotipiche indotte e trasporto nello spazio fisico	30
4	Simulazioni numeriche	31
4.1	Caso 1: variazioni fenotipiche spontanee	35
4.2	Caso 2: variazioni fenotipiche spontanee e indotte	41
4.3	Caso 3: variazioni fenotipiche spontanee e trasporto nello spazio fisico	43
5	Conclusioni e possibili ricerche future	46
	Bibliografia	49

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Problema biologico esaminato

L'obiettivo del seguente lavoro è modellizzare l'evoluzione fenotipica di un tumore nelle vicinanze di un vaso sanguigno in base alla disponibilità di ossigeno e glucosio. Tramite equazioni integro-differenziali non locali, si studia la dinamica evolutiva delle cellule tumorali ponendo particolare attenzione al metabolismo adottato al variare delle concentrazioni dei fattori abiotici.

Le cellule normalmente utilizzano la respirazione aerobica per garantire la produzione di energia necessaria alla proliferazione, alla crescita e al sostentamento. Semplificando, questo processo richiede 2 molecole di glucosio e 6 di ossigeno con una resa di circa 36 molecole di ATP [24]. Nel caso in cui non ci sia sufficiente ossigeno le cellule possono produrre energia esclusivamente tramite la glicolisi, un processo metabolico meno efficiente ma più rapido che in totale richiede 1 molecola di glucosio per generare 2 molecole di ATP. Come mostrato in Figura 1.1, in condizioni anaerobiche la glicolisi è seguita da fermentazione con produzione di acido lattico. Invece, in condizioni aerobiche è seguita dal ciclo dell'acido citrico con ulteriore produzione di ATP. Per tale motivo, ossigeno e glucosio rivestono un ruolo cruciale nella descrizione del metabolismo delle cellule, dunque per la loro proliferazione. Infatti, in condizioni di ipossia (ovvero di scarsa ossigenazione), le cellule cancerose possono modificare il loro metabolismo per proliferare e adattarsi a condizioni ambientali stressanti. Il meccanismo di switch si basa sulla presenza del fattore di trascrizione HIF-1 α che determina la risposta adattiva in condizioni di ipossia. In presenza di ossigeno, il fattore HIF-1 α è rapidamente degradato dalla prolil-idrossilasi (PHD2),

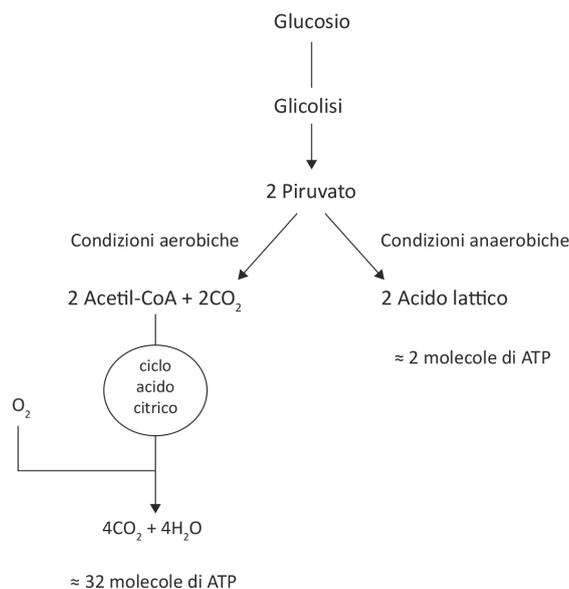


Figura 1.1: Pathways energetici secondo Nelson e Cox (2000). La glicolisi (seguita da fermentazione in assenza di ossigeno) è meno efficiente e acidifica l'ambiente circostante.

invece in condizioni di scarsa ossigenazione l'idrossilazione è inibita dunque l'HIF-1 α si accumula e si lega agli elementi di risposta ipossica. Per sopperire alla mancanza di ossigeno HIF-1 α attiva la trascrizione di geni target quali ad esempio: eritropoietina EPO (un ormone che stimola la produzione di globuli rossi), fattore di crescita dell'endotelio vascolare VEGF (un fattore angiogenico che stimola la formazione dei vasi sanguigni), esochinasi (enzima che catalizza la glicolisi)[25] e piruvato deidrogenasi chinasi 1 PDK1 (inibisce la conversione del piruvato nell'acetil-coenzima A per l'ossidazione nel mitocondrio) [23]. Ponendo particolare attenzione agli ultimi due esempi proposti, si deduce che HIF-1 α promuove la sopravvivenza delle cellule in condizioni ipossiche mediando una commutazione da metabolismo ossidativo a glicolitico, regolando inoltre l'attività delle proteine trasportatrici di glucosio (GLUT) [13].

Nel cancro, la cooptazione delle risposte fisiologiche all'ipossia giocano un ruolo importante nella progressione della malattia. Gli sforzi terapeutici sono diretti verso l'inibizione dell'HIF-1 α poiché la sovraespressione di tale fattore di trascrizione è risultato essere un indicatore di prognosi per i pazienti con cancro gastrico [14] ed è anche associata ad una maggiore mortalità nel cancro del seno e in altri tumori comuni [23].

Un altro tratto distintivo delle cellule tumorali è la capacità di cambiare fenotipo acquisendo un metabolismo glicolitico nonostante la presenza di ossigeno (effetto Warburg). Questo rimodellamento metabolico è stato a lungo discusso ma il suo funzionamento non risulta essere del tutto chiaro. Inoltre, tramite la tomografia ad emissione di positroni PET, è stato confermato un maggiore consumo di glucosio da parte delle cellule tumorali ma quale sia l'effettivo utilizzo della glicolisi e della fosforilazione ossidativa non può essere valutato con questa tecnica [4]. Per tali motivi, un modello matematico potrebbe essere di supporto nel descrivere la composizione fenotipica complessa di un tumore e la sua eterogeneità. Lo scopo è quello di capire quali siano i meccanismi responsabili della comparsa di un fenotipo più aggressivo e studiarne l'evoluzione in base ai fattori abiotici coinvolti.

1.2 Contestualizzazione matematica

Diversi modelli matematici sono stati proposti per descrivere l'evoluzione fenotipica della crescita tumorale. In questo lavoro di tesi sono presi in considerazione quelli proposti da Fiandanca G, Lorenzi T., Lorz A. e Villa C. [9, 15, 16, 27].

Gli articoli [9, 27] analizzano equazioni di reazione-diffusione non locali prendendo in considerazione la dinamica non lineare dei fattori abiotici che regolano l'evoluzione fenotipica del tumore.

In particolare, in [9] si utilizza una variabile fenotipica bidimensionale che rappresenta il livello di espressione normalizzato del gene HIF-1 α e il livello di espressione normalizzato di un gene resistente ad acidità. I fattori abiotici coinvolti sono ossigeno, glucosio e lattato con l'obiettivo di studiare quale sia il ruolo che rivestono ipossia e acidità nella comparsa di eterogeneità fenotipica intra-tumorale.

L'articolo [27] invece, si concentra sulle proprietà fenotipiche di tumori vascolarizzati stabilendo una relazione tra il grado di vascolarizzazione e la variabilità fenotipica intra-tumorale.

A differenza di questi due articoli, il lavoro presentato in [15] analizza le dinamiche di crescita di una popolazione cellulare in cui, oltre al termine di reazione, anche il campo di velocità dipende dalla variabile strutturale fenotipica. I fattori abiotici non rivestono alcun ruolo nella dinamica evolutiva. Infatti, nel modello si suppone che la variabile fenotipica possa rappresentare il livello di espressione di un gene che regola la motilità delle cellule e la loro proliferazione. Il modello è analizzato

principalmente nei casi di motilità cellulare limitata e illimitata, studiando la densità delle cellule e il tratto fenotipico dominante nella forma di onde viaggianti. In accordo con alcune evidenze sperimentali sulla crescita del glioma, si mostra che la parte centrale del tumore è composta principalmente da cellule con una più grande capacità proliferativa mentre il bordo del tumore è costituito da cellule con maggiore motilità.

In letteratura sono presenti anche modelli meccanici di crescita tumorale basati sulla teoria dei mezzi porosi. Tra questi lavori, si prendono in considerazione quelli di Astanin S. (2007), Astanin S. (2009), Astanin S. (2010) e Preziosi L. [1, 2, 3, 22].

In particolare, [1, 2] analizzano la formazione di corde tumorali lungo la fonte di nutrimento (ovvero lungo un vaso sanguigno) e prendono in considerazione il bilancio energetico di ATP di glicolisi e respirazione aerobica per descrivere la crescita, la proliferazione e il sostentamento delle cellule. Nel lavoro presentato in [2], lo switch metabolico si modella tramite l'utilizzo di due popolazioni. Per la produzione di ATP, la prima popolazione adotta il metabolismo aerobico mentre la seconda il metabolismo glicolitico. L'effetto Warburg è modellizzato imponendo che il passaggio dalla prima alla seconda popolazione sia irreversibile.

1.3 Contributo della tesi

Il punto di partenza del seguente modello matematico sono gli articoli [2, 9, 27].

In particolare, l'obiettivo di tale lavoro è quello di presentare un modello capace di tenere in considerazione l'eterogeneità intra-tumorale, superando la dicotomia dei modelli presenti in letteratura che studiano il caso di due popolazioni tumorali aventi rispettivamente metabolismo aerobico ed anaerobico [2]. Dunque si analizza un modello in cui una variabile interna tiene conto del processo evolutivo alla base della comparsa di variabilità fenotipica nei tumori [27].

Per investigare il ruolo dell'ipossia nello sviluppo di eterogeneità intra-tumorale presentiamo un sistema di equazioni integro-differenziali che descrive le dinamiche evolutive spazio-temporali delle cellule tumorali e le loro interazioni non lineari con ossigeno e glucosio.

Nel modello proposto, il tessuto è studiato come mezzo poroso e lo stato fenotipico di ogni cellula è descritto da una variabile continua che rappresenta il livello di espressione normalizzato del fattore HIF-1 α . Quest'ultima rappresenta la principale

novità rispetto all'approccio consolidato dei modelli presentati in [1, 2, 3, 22].

Un ruolo chiave è dato ai processi di glicolisi e respirazione aerobica i cui bilanci di ATP determinano la proliferazione delle cellule tumorali e il consumo dei fattori abiotici. In questo modello, a differenza di quelli già presenti in letteratura, si considera l'energia totale come una media pesata secondo l'espressione normalizzata del gene HIF-1 α dell'energia prodotta tramite respirazione aerobica e glicolisi.

Utilizzando l'approccio presentato in lavori precedenti [9, 15, 21, 27] si arricchisce lo studio con un'analisi qualitativa formale nell'ipotesi di condizioni stazionarie. Così facendo è possibile valutare la robustezza del modello e validarne le relative simulazioni. Come in [15] il movimento delle cellule dipende dalla variabile interna ma non si trascura l'aspetto meccanico del problema includendo un termine di trasporto che dipende dallo stress esercitato dalle cellule.

Infine, a differenza degli studi precedenti, l'effetto Warburg è preso in considerazione tramite un termine di trasporto nella variabile fenotipica.

Capitolo 2

Modello matematico

2.1 Dinamica delle cellule tumorali

Nel modello la variabile spaziale delle cellule tumorali è indicata con $\mathbf{x} \in \Omega \subset \mathbb{R}^d$, dove $d = 1, 2, 3$ e Ω è il dominio del tessuto considerato. Invece, la variabile interna $h \in [0, 1]$ rappresenta il fenotipo delle cellule tumorali che indica il livello d'espressione normalizzato del fattore di trascrizione HIF-1 α . In accordo con le evidenze scientifiche, le zone scarsamente ossigenate sono popolate da cellule che hanno un alto livello di fattore HIF-1 α mentre le zone normossiche, in cui si evince una più veloce divisione cellulare [10], sono caratterizzate da bassi valori di espressione del fattore di trascrizione HIF-1 α .

In generale, i tessuti molli sono composti principalmente da cellule e da matrice extracellulare (ECM), dunque si studia il tessuto come mezzo poroso multifasico. Si denoti con $\phi_t(t, \mathbf{x}) \in [0, 1]$ la frazione di volume delle cellule tumorali, con $\phi_s(t, \mathbf{x}) \in [0, 1]$ la frazione di volume delle cellule sane e con $\phi_m(t, \mathbf{x}) \in [0, 1]$ la frazione di volume di ECM:

$$\phi_t + \phi_s + \phi_m = \bar{\phi} \leq 1,$$

dove $\phi_t, \phi_s, \phi_m \in [0, \bar{\phi}]$.

In alcuni modelli il limite superiore è dato da $\bar{\phi}(x) < 1$, dipendente dallo spazio in modo che alcune regioni del dominio siano occupate da altre costituenti, ad esempio da vasi sanguigni.

È possibile riscalarle le variabili come segue $\tilde{\phi}_t := \phi_t/\bar{\phi}$, $\tilde{\phi}_s := \phi_s/\bar{\phi}$ e $\tilde{\phi}_m := \phi_m/\bar{\phi}$ per riottenere $\tilde{\phi}_t + \tilde{\phi}_s + \tilde{\phi}_m = 1$.

Il modello proposto si concentra sulla dinamica delle cellule tumorali considerando la loro evoluzione all'interno di una impalcatura fissa costituita da cellule sane ed ECM. Dunque, per semplificare la notazione si utilizzerà $\phi_t = \phi$.

Infine, si indichi con $f(t, \mathbf{x}, h)$ la distribuzione fenotipica locale delle cellule tumorali dove $t \in [0, T]$, con $T > 0$. Allora, ad ogni istante t si può ridefinire la frazione di volume delle cellule tumorali e introdurre lo stato fenotipico medio:

$$\phi(t, \mathbf{x}) = \int_0^1 f(t, \mathbf{x}, h) dh \quad \text{e} \quad H(t, \mathbf{x}) := \frac{1}{\phi(t, \mathbf{x})} \int_0^1 hf(t, \mathbf{x}, h) dh.$$

La seguente equazione differenziale descrive l'evoluzione di $f(t, \mathbf{x}, h)$:

$$\partial_t f + \nabla_x \cdot (f \mathbf{v}) + \partial_h(fw) - \beta \partial_{hh}^2 f = Gf. \quad (2.1)$$

L'equazione deve essere completata con opportune condizioni al bordo e condizioni iniziali che verranno specificate in seguito.

Il secondo termine sul lato sinistro dell'equazione (2.1) $\nabla_x \cdot (f \mathbf{v})$ rappresenta il trasporto delle cellule nello spazio fisico, ovvero il movimento delle cellule nel dominio Ω . La velocità è tale che $\mathbf{v} \equiv \mathbf{v}(h, \phi(t, \mathbf{x}))$. Il termine di trasporto nello spazio fenotipico $\partial_h(fw)$ rappresenta la variazione del fenotipo h . Quest'ultima tiene conto delle variazioni fenotipiche indotte dall'effetto Warburg con tasso $w \equiv w(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) \geq 0$. Il termine di diffusione $\beta \partial_{hh}^2 f$ descrive i cambiamenti della distribuzione f dovuti a variazioni fenotipiche spontanee che avvengono con tasso β . Infine, Gf rappresenta un termine di sorgente e/o pozzo. La funzione G modella la fitness (ovvero il tasso netto di proliferazione) delle cellule nello stato fenotipico h , al tempo t e in posizione \mathbf{x} in base alle condizioni locali date da $\phi(t, \mathbf{x})$, alle concentrazioni di ossigeno e di glucosio e al fenotipo h .

La fitness può essere descritta come somma di due contributi: $(p(\bar{\phi} - \phi))_+$ relativo alla proliferazione effettiva e d relativo alla morte di cellule, ovvero:

$$G = (p(\bar{\phi} - \phi))_+ - d, \quad (2.2)$$

dove $p \equiv p(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x}))$ e $d \equiv d(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x}))$.

Si noti che la funzione p è moltiplicata per $\bar{\phi} - \phi$ in modo da inibire la proliferazione nel caso in cui il tessuto sia densamente popolato. Infatti, $\bar{\phi}$ è la massima frazione di volume che le cellule tumorali possono occupare.

L'evoluzione delle cellule tumorali varia in base alla disponibilità di ossigeno e glucosio. Siano $c_o(t, \mathbf{x})$ e $c_g(t, \mathbf{x})$ rispettivamente la concentrazione di ossigeno e di glucosio all'interno del dominio Ω .

Bilancio di ATP Le seguenti assunzioni sono fatte a partire dagli articoli [2, 9, 27].

Dato che la realizzazione di processi indispensabili per la cellula - proliferazione, crescita e sostentamento - avvengono tramite consumo di ATP, descriviamo in modo semplificato due possibili pathways energetici tramite cui le cellule producono ATP e illustrati in Figura 1.1:

- 1) in condizioni aerobiche $\text{Glc} + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + N \text{ ATP}$ (la respirazione aerobica comprende glicolisi, ciclo di Krebs e catena respiratoria; $h \rightarrow 0$), dove N varia tra 34 e 38. In [24] si suggerisce di utilizzare $N = 36$;
- 2) in condizioni anaerobiche $\text{Glc} \rightarrow 2 \text{ acido lattico} + 2\text{ATP}$ (la respirazione anaerobica comprende glicolisi e fermentazione; $h \rightarrow 1$).

In particolare, la glicolisi produce 2 molecole di ATP ed è uno step fondamentale sia di respirazione cellulare aerobica che anaerobica. In assenza di ossigeno non si ha ulteriore produzione di ATP ma si produce lattato tramite la fermentazione. Invece, in presenza di ossigeno, tramite l'ossidazione nella respirazione cellulare si produce più energia sotto forma di ATP e CO_2 . Dunque, per metabolismo glicolitico si intende il pathway energetico che produce ATP avviene esclusivamente tramite glicolisi.

Siano rispettivamente q_o^{ATP} ed q_g^{ATP} le quantità adimensionalizzate di ATP prodotte dai pathways appena descritti.

Si assuma che esistano due valori soglia della concentrazione di ossigeno O_m e O_M che definiscono tre possibili stati: ipossia $c_o \leq O_m$; scarsa ossigenazione $O_m < c_o \leq O_M$ e normossia $c_o > O_M$.

La funzione $a(c_o) \equiv a(c_o(t, \mathbf{x}))$ tiene conto della disponibilità di ossigeno:

$$a(c_o) = \begin{cases} 0 & \text{se } c_o \leq O_m \\ \frac{c_o - O_m}{O_M - O_m} & \text{se } O_m < c_o \leq O_M \\ 1 & \text{se } c_o > O_M. \end{cases} \quad (2.3)$$

In alternativa, è ragionevole supporre che la disponibilità di ossigeno sia modellata tramite classiche equazioni di Michaelis Menten:

$$a(c_o) = \frac{c_o}{M_o + c_o} \quad (2.4)$$

e, analogamente per la funzione $b(c_g) \equiv b(c_g(t, \mathbf{x}))$ che tiene conto della disponibilità di glucosio:

$$b(c_g) = \frac{c_g}{M_g + c_g}. \quad (2.5)$$

In alcuni casi è ragionevole supporre che il glucosio necessario per fare avvenire le reazioni metaboliche sia sempre sufficiente:

$$b(c_g) = 1. \quad (2.6)$$

Allora, se la quantità adimensionalizzata di ATP prodotta dai pathways è:

$$q_o^{ATP}(c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = 36a(c_o)b(c_g), \quad q_g^{ATP}(c_g(t, \mathbf{x})) = 2b(c_g),$$

il tasso di produzione di ATP è

$$q_o(c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = \kappa_o q_o^{ATP} \quad \text{e} \quad q_g(c_g(t, \mathbf{x})) = \kappa_g q_g^{ATP}, \quad (2.7)$$

dove κ_o e κ_g sono tassi che tengono conto della velocità delle reazioni.

Per unità di glucosio, la glicolisi (seguita da fermentazione) risulta essere un pathway inefficiente se comparato alla quantità di ATP prodotta tramite respirazione aerobica. Nonostante ciò, il tasso del metabolismo del glucosio nella glicolisi è più elevato; la produzione di lattato da glucosio avviene 10-100 volte più velocemente della completa ossidazione del glucosio nei mitocondri. Infatti, la quantità totale di ATP sintetizzata in un'unità di tempo è comparabile nei due pathways [17]. Ad esempio, si può supporre che κ_g sia un numero che varia tra 10 e 100.

Proliferazione e morte cellulare Si assuma che l'ATP non possa essere accumulata e che sia totalmente consumata dalle cellule. Per semplicità, si supponga che ogni cellula consumi una quantità di ATP ad un tasso pari a θ per il sostentamento e per la crescita e che la restante parte sia consumata per la proliferazione [2].

In accordo con le evidenze sperimentali, si supponga che cellule con alto livello di espressione del fattore HIF-1 α , ovvero $h \rightarrow 1$, siano caratterizzate da un più alto livello di produzione energetica tramite via anaerobica mentre cellule con basso livello di espressione del fattore HIF-1 α , ovvero $h \rightarrow 0$, siano caratterizzate da un più alto livello di produzione energetica tramite via aerobica.

Poiché la proliferazione dipende dall'energia totale disponibile e la variabile continua h tiene conto della eterogeneità fenotipica intra-tumorale, definiamo il tasso di energia totale prodotta da una cellula con fenotipo h come una somma pesata secondo

il fenotipo di q_o e q_g :

$$q \equiv q(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = n_o(h)q_o(c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) + n_g(h)q_g(c_g(t, \mathbf{x})), \quad (2.8)$$

dove:

$$\begin{aligned} n_o(0) &= 1, & n_o(1) &= 0 & \text{e } n'_o(h) &< 0, & \forall h \in (0, 1) \\ n_g(0) &= 0, & n_g(1) &= 1 & \text{e } n'_g(h) &> 0, & \forall h \in (0, 1). \end{aligned} \quad (2.9)$$

Ovvero, l'energia prodotta dalla cellula dipende sia dalle condizioni ambientali (ipossia, ossigenazione moderata, normossia e presenza di glucosio) sia dal livello di espressione del gene HIF-1 α che contribuisce nella scelta del pathway energetico. Ad esempio, dato che l'energia q deve essere crescente sia in q_o che in q_g e crescente in h in base ai valori di q_o e q_g , si può considerare $q = (1 - h^2)q_o + [1 - (1 - h)^2]q_g$, q .

Si consideri il tasso di energia normalizzato e adimensionalizzato rispetto al tasso θ necessario al sostentamento e alla crescita delle cellule tumorali. Allora la funzione parte positiva $(\tilde{q} - 1)_+$ tiene conto dell'ATP disponibile per la proliferazione. Dunque, si assuma che la funzione di proliferazione p sia proporzionale all'energia disponibile:

$$p(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = \eta(\tilde{q}(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) - 1)_+. \quad (2.10)$$

dove η è un fattore di scala.

In generale, tale parametro potrebbe dipendere da h poiché è noto che le cellule tumorali con elevato livello di espressione HIF-1 α tendono a proliferare meno e sono più mobili [8, 18, 19].

In seguito, \tilde{q}_o , \tilde{q}_g e \tilde{q} rappresentano le quantità adimensionalizzate rispetto a θ di q_o , q_g e q .

Per quanto riguarda il termine di morte d , si assuma che le cellule muoiano per apoptosi con tasso ξ . Inoltre, anche nel caso in cui l'energia prodotta non sia sufficiente al sostentamento della cellula, ovvero $\tilde{q} < 1$, si andrà incontro a morte per cui:

$$d(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = \xi + \xi_q(1 - \tilde{q}(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})))_+, \quad (2.11)$$

dove ξ_q è un fattore di scala.

Anche questo parametro potrebbe dipendere dal fenotipo h al fine di esprimere la resistenza ad apoptosi che sviluppano le cellule con elevato livello di espressione del

gene HIF-1 α [11]. Per semplicità, si è preferito utilizzare ξ_q costante e pari a ξ . In conclusione, la funzione di fitness (2.2) con queste ipotesi diventa:

$$G(h, \phi(t, \mathbf{x}), c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = \eta(\bar{\phi} - \phi(t, \mathbf{x}))(\tilde{q}(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) - 1)_+ - \xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})))_+, \quad (2.12)$$

o, in modo più compatto,

$$G(h, \phi, c_o, c_g) = \eta(\bar{\phi} - \phi)_+(\tilde{q}(h, c_o, c_g) - 1)_+ - \xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(h, c_o, c_g))_+$$

Trasporto nello spazio fisico Per quanto riguarda la velocità \mathbf{v} , si assuma che le cellule tendano a muoversi attraverso l'impalcatura porosa del tessuto, supposta fissa, verso zone meno popolate del tessuto (ovvero le cellule si muovono in direzione opposta al gradiente di $\phi(t, \mathbf{x})$). Inoltre, si assuma che \mathbf{v} dipenda esplicitamente dalla variabile interna h poiché alcuni studi mostrano che il fattore HIF-1 α promuove la migrazione cellulare [?]. Allora \mathbf{v} è definita come segue:

$$\mathbf{v}(h, \phi(t, \mathbf{x})) = -\mu(h)\nabla_x(\phi(t, \mathbf{x})), \quad (2.13)$$

dove

$$\mu(0) > 0, \quad \frac{d\mu(h)}{dh} > 0 \text{ per ogni } h \in (0, 1].$$

poiché valori più elevati di h corrispondono ad una motilità $\mu(h)$ maggiore [15].

Ad esempio $\mu(h) = \alpha(\bar{\mu} + h)$ oppure $\mu(h) = \alpha(\bar{\mu} + n_g(h))$, dove $\bar{\mu} > 0$ è un valore piccolo adimensionale e α è un fattore di scala.

In alternativa, si assuma che il tumore si comporti come un fluido elastico [2]. Dunque si consideri la più semplice equazione costitutiva per il tensore degli sforzi $\mathbb{T}_\phi = -\Sigma\mathbb{I}$, dove Σ è una funzione i cui valori positivi indicano compressione. Per quanto riguarda l'espressione di Σ , si propone quella riportata in [5]:

$$\Sigma = E(\bar{\phi} - \phi_n) \left(\frac{\phi - \phi_n}{\bar{\phi} - \phi} \right)_+ \quad (2.14)$$

dove E è una sorta di modulo di Young per compressioni moderate e ϕ_n rappresenta un valore di soglia, detto frazione di volume stress-free.

Nel caso in cui $\phi \approx \phi_n$, è possibile approssimare l'espressione (2.14) come segue:

$$\Sigma = E(\phi - \phi_n)_+. \quad (2.15)$$

Allora si ha:

$$\mathbf{v}(h, \phi(t, \mathbf{x})) = -\mu(h)\nabla_x(\Sigma(\phi)),$$

dove $\mu(h)$ è la 'motilità' delle cellule che tiene conto della permeabilità del tessuto e $\Sigma(\phi)$ è la funzione scalare descritta in (2.15).

Trasporto nello spazio fenotipico Nell'equazione (2.1) è presente un termine di trasporto $\partial_h fw$ nella variabile fenotipica. In particolare, il termine w rappresenta il tasso con il quale avviene il cambio fenotipico indotto e tiene conto dell'effetto Warburg.

Poiché il gene HIF-1 α si accumula in condizioni di ipossia, si può supporre che il cambio fenotipico avvenga quando il tasso di produzione d'energia prodotta unicamente tramite respirazione aerobica $\tilde{q}_o = \frac{q_o}{\theta}$ non sia sufficiente al sostentamento e alla crescita della cellula. Inoltre w è tale che:

$$w(0, c_o, c_g) = w(1, c_o, c_g) = 0 \quad (2.16)$$

in modo che l'azione non sia catalitica e anche perché la variabile fenotipica h rappresenta il livello di espressione normalizzato del gene HIF-1 α , dunque $h \in [0, 1]$.

In particolare, il tasso w decresce all'aumentare dell'ossigeno disponibile, ad esempio

$$w(h, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = \gamma\Gamma(h)(1 - n_o(h)\tilde{q}_o(c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})))_+, \quad (2.17)$$

dove γ è un parametro connesso al tasso di transizione fenotipica indotta e $\Gamma(h)$ è una funzione regolare tale che $\Gamma(0) = \Gamma(1) = 0$.

Ad esempio: $\Gamma(h) = n_o(h)n_g(h)$.

Un'alternativa valida è supporre che il cambio fenotipico avvenga quando l'energia prodotta esclusivamente tramite glucosio sia sufficiente al sostentamento e alla crescita della cellula. Dunque il tasso w è indipendente dalla presenza di ossigeno e cresce all'aumentare della disponibilità di glucosio. Ad esempio:

$$w(h, c_g(t, \mathbf{x})) = \gamma\Gamma(h)(n_g(h)\tilde{q}_g(c_g(t, x)) - 1)_+. \quad (2.18)$$

Questa seconda opzione risulta ragionevole alla luce di quanto introdotto nel primo capitolo riguardo l'effetto Warburg. Infatti, pur non essendoci ancora una completa descrizione del fenomeno, è ormai fatto noto che le cellule tumorali acquisiscono un metabolismo maggiormente anaerobico anche in condizioni normossiche.

Condizioni al bordo e condizioni iniziali delle cellule tumorali

L'equazione di partenza (2.1)

$$\partial_t f + \nabla_x \cdot (f \mathbf{v}) + \partial_h(fw) - \beta \partial_{hh}^2 f = Gf,$$

deve essere completata con opportune condizioni al bordo in h e in \mathbf{x} .

Nello spazio fenotipico si utilizza la variabile $h \in [0, 1]$.

Per garantire che il termine di trasporto $\partial_h(fw)$ e quello di diffusione $\beta \partial_{hh}^2 f$ non dia-
no alcun contributo nell'equazione di ϕ ottenuta integrando la (2.1) in h , i adottano
condizioni di Robin

$$f(t, \mathbf{x}, 0)w(0, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) - \beta \partial_h f(t, \mathbf{x}, 0) = 0, \quad \forall \mathbf{x} \in \bar{\Omega} \text{ e } \forall t \in (0, T]$$

$$f(t, \mathbf{x}, 1)w(1, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) - \beta \partial_h f(t, \mathbf{x}, 1) = 0, \quad \forall \mathbf{x} \in \bar{\Omega} \text{ e } \forall t \in (0, T].$$

Nel caso in esame si ha $w(0, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = w(1, c_o(t, \mathbf{x}), c_g(t, \mathbf{x})) = 0$ (2.16),
dunque la condizione al bordo si semplifica in

$$\partial_h f(t, \mathbf{x}, 0) = \partial_h f(t, \mathbf{x}, 1) = 0, \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega \text{ e } \forall t \in (0, T].$$

Per quanto riguarda lo spazio fisico, si impongono condizioni di flusso nullo:

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{v} = 0, \quad \text{per } x \in \partial\Omega.$$

Infine si completa l'equazione con un'opportuna condizione iniziale:

$$f(0, \mathbf{x}, h) = f_0(\mathbf{x}, h) := C \exp\left(-\frac{\mathbf{x}}{\sigma_1} - \frac{(h - \bar{h}^0)^2}{\sigma_2}\right),$$

dove la costante C è tale che $0 < \int_0^1 f_0(\mathbf{x}, h) dh = \phi_0(x) < \bar{\phi}$, σ_1 e σ_2 sono costanti
positive e $\bar{h}^0 \in (0, 1)$ [15].

Tale condizione iniziale simula uno scenario biologico per cui al tempo iniziale $t = 0$
il maggior numero di cellule si trova in $\mathbf{x} = \mathbf{0}$ dove si assume che sia posizionato
il vaso sanguigno e nello stato fenotipico \bar{h}^0 . Infatti, il numero di cellule decade
esponenzialmente in spazio e ad ogni posizione x il fenotipo delle cellule è descritto
da una gaussiana centrata in \bar{h}^0 .

2.2 Dinamica di ossigeno e glucosio

In seguito si analizza la dinamica dei fattori abiotici $c_o(t, \mathbf{x})$ e $c_g(t, \mathbf{x})$.

Si assuma che ossigeno e glucosio siano consumati dalle cellule e che possano entrare

nel dominio spaziale solo tramite un vaso sanguigno posto sul bordo sinistro del dominio.

La loro dinamica non lineare è descritta dalla seguente equazione di convezione-diffusione:

$$\partial_t c_i = D_i \nabla^2 c_i - \sigma_i \zeta_i - \lambda_i c_i, \quad i \in \{o, g\}, \quad (2.19)$$

con D_i coefficiente di diffusione, σ_i termine di consumo legato alle cellule tumorali, ζ_i fattore di conversione e λ_i decadimento naturale dei rispettivi fattori abiotici. Il consumo di nutrienti è modellizzato in base alla quantità di ATP prodotta [2].

Il tasso di ossigeno consumato durante la respirazione aerobica da ogni cellula è:

$$Q_o = \frac{6}{36} q_o,$$

mentre il tasso di glucosio consumato nei due pathways è in totale pari a:

$$Q_g = \frac{1}{36} q_o + \frac{1}{2} q_g$$

Dato che il consumo di ossigeno e glucosio è studiato dal punto di vista macroscopico si ha che:

$$\sigma_o = \frac{6}{36} \int q_o n_o(h) f dh \quad (2.20)$$

e

$$\sigma_g = \frac{1}{36} \int q_o n_o(h) f dh + \frac{1}{2} \int q_g n_g(h) f dh. \quad (2.21)$$

Condizioni al bordo e condizioni iniziali per ossigeno e glucosio

Le equazioni (2.19) devono essere completate con condizioni al bordo e condizioni iniziali. Si suppongono condizioni al bordo di Dirichlet

$$c_o(t, \mathbf{x}) = \bar{c}_o(\mathbf{x}) \quad \text{e} \quad c_g(t, \mathbf{x}) = \bar{c}_g(\mathbf{x}), \quad \text{per } \mathbf{x} \in \partial\Omega \text{ e } \forall t > 0,$$

e

$$c_o(0, \mathbf{x}) = c_o^0(\mathbf{x}) \quad \text{e} \quad c_g(0, \mathbf{x}) = c_g^0(\mathbf{x}), \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega.$$

Ad esempio, considerando il caso 1D con $\Omega = [0, L]$ si ha:

$$c_i(t, 0) = \bar{c}_i, \quad \forall t > 0 \quad \text{e} \quad c_i(t, L) = \underline{c}_i, \quad \forall t > 0,$$

e

$$c_i(0, x) = c_i^0(x), \quad \forall x \in (0, L)$$

dove \bar{c}_i e \underline{c}_i dipendono dalla posizione della sorgente dei fattori abiotici, ovvero dalla posizione del vaso sanguigno.

Capitolo 3

Analisi qualitativa formale

Problema in oggetto. Si consideri il modello (2.1) posto su un dominio spaziale monodimensionale, ossia $\Omega = [0, L]$, e si assumano le concentrazioni di ossigeno e glucosio essere all'equilibrio, ossia si faccia l'ipotesi che, anzichè essere governate dalle equazioni (2.19), le funzioni $c_g(t, x)$ e $c_o(t, x)$ siano funzioni assegnate

$$c_g(t, x) = c_g^\infty(x) \quad \text{e} \quad c_o(t, x) = c_o^\infty(x),$$

con $c_g^\infty : \Omega \rightarrow \mathbb{R}^+$ e $c_o^\infty : \Omega \rightarrow \mathbb{R}^+$. In questo scenario, la dinamica della funzione $f = f(t, x, h)$ è descritta dalla seguente equazione

$$\begin{cases} \partial_t f - \gamma \hat{\mu}(h) \partial_x [f \partial_x(\phi)] + \alpha \partial_h (f \hat{w}) = Gf + \beta \partial_{hh}^2 f, & x \in (0, L), y \in (0, 1), \\ \phi = \int_0^1 f(t, x, h) dh, \end{cases} \quad (3.1)$$

la quale è soggetta alle condizioni al bordo e alle condizioni iniziali dettagliate nel capitolo precedente. Qui si utilizza $\gamma \hat{\mu}(h) \equiv \mu(h)$ definita in (2.1) e $\alpha \hat{w} \equiv w$ è definita in (2.17) o in (2.18). D'ora in poi, per semplicità di lettura si utilizzerà la notazione γw e αw .

Si ricordi inoltre che la funzione di fitness è definita come segue

$$G = G(x, h, \phi) = \eta(\bar{\phi} - \phi)_+ (\tilde{q}(x, h) - 1)_+ - \xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(x, h))_+, \quad (3.2)$$

dove

$$\tilde{q} = \tilde{q}(x, h) = \frac{q(x, h)}{\theta} = \frac{n_o(h)q_o(c_o^\infty(x), c_g^\infty(x)) + n_g(h)q_g(c_g^\infty(x))}{\theta}, \quad (3.3)$$

ed è quindi funzione della variabile spaziale x attraverso le funzioni $c_g^\infty(x)$ e $c_o^\infty(x)$.

Problema riscaldato. Il movimento delle cellule e le variazioni fenotipiche indotte hanno luogo, tipicamente, su scale temporali più lente rispetto a fenomeni di proliferazione e morte cellulare. Inoltre, le variazioni fenotipiche spontanee si verificano, generalmente, su scale temporali più lente rispetto a variazioni fenotipiche indotte. Pertanto, si considera qui il caso in cui

$$\alpha := \varepsilon, \quad \gamma := \varepsilon \quad \text{e} \quad \beta := \varepsilon^2,$$

dove $0 < \varepsilon \ll 1$. In questo caso, introducendo il riscaldamento temporale $t \mapsto \frac{t}{\varepsilon}$, al fine di considerare la dinamica del sistema su scale temporali corrispondenti a molteplici generazioni cellulari, si ottiene la seguente versione riscaldata della EDP (3.1) per la funzione $f_\varepsilon = f_\varepsilon(t, x, h) = f(\frac{t}{\varepsilon}, x, h)$:

$$\begin{cases} \varepsilon \partial_t f_\varepsilon - \varepsilon \mu(h) \partial_x f_\varepsilon (\partial_x(\phi_\varepsilon)) - \varepsilon \mu(h) f_\varepsilon \partial_{xx}^2(\phi_\varepsilon) + \varepsilon \partial_h(w f_\varepsilon) = G f_\varepsilon + \varepsilon^2 \partial_{hh}^2 f_\varepsilon, \\ \phi_\varepsilon = \int_0^1 f_\varepsilon(t, x, h) dh, \end{cases} \quad (3.4)$$

la quale è anch'essa posta su $(0, L) \times (0, 1)$ ed è soggetta a condizioni al bordo e a condizioni iniziali della medesima forma di quelle a cui è soggetta la EDP (3.1). L'obiettivo è ora di analizzare il comportamento asintotico di f_ε per $\varepsilon \rightarrow 0$, il che corrisponde, da un punto di vista biologico, a studiare la dinamica fenotipica e spaziale delle cellule tumorali nel limite di molte generazioni, nello scenario biologicamente rilevante in cui le variazioni fenotipiche siano rare rispetto a fenomeni di proliferazione e morte cellulare e, nello specifico, le variazioni fenotipiche indotte siano più frequenti di quelle spontanee.

Analisi asintotica formale per $\varepsilon \rightarrow 0$. Si inizi notando che, sotto le ipotesi sulle funzioni μ , w e G dettagliate nel capitolo precedente, la EDP (3.4) soggetta alle condizioni al bordo e alle condizioni iniziali in oggetto è tale che se

$$0 \leq \phi_\varepsilon(0, x) < \bar{\phi} \quad \forall x \in (0, L), \quad (3.5)$$

allora

$$0 \leq \phi_\varepsilon(\cdot, x) \leq \bar{\phi} \quad \forall x \in \times[0, L]. \quad (3.6)$$

Le ipotesi (3.5) sono biologicamente ben fondate dal momento che $\phi_\varepsilon(0, x)$ modella la frazione di volume di cellule tumorali inizialmente presenti alla posizione spaziale

x e, inoltre, il parametro $\bar{\phi}$ modella la massima frazione di volume di cellule tumorali mantenibile a ogni posizione spaziale. Le stime a priori date da (3.6) garantiscono che $(\bar{\phi} - \phi_\varepsilon)_+ \equiv (\bar{\phi} - \phi_\varepsilon)$, il che permette di considerare la seguente forma semplificata della definizione G

$$G = G(x, h, \phi) = \eta(\bar{\phi} - \phi)(\tilde{q}(x, h) - 1)_+ - \xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(x, h))_+. \quad (3.7)$$

Si ponga poi l'attenzione sullo scenario in cui, ad ogni posizione spaziale x , il più delle cellule tumorali si trovi inizialmente in un determinato stato fenotipico, il quale possa eventualmente differire tra le posizioni spaziali. In tal caso, si può assumere $f_\varepsilon(0, x, h)$ essere una funzione sufficientemente regolare che, per ogni valore x , è di tipo gaussiano in h , con varianza di piccola entità. Nello specifico, si consideri una funzione di tipo gaussiano la cui varianza, in quanto piccola, sia rappresentata mediante il parametro ε stesso per ogni $x \in (0, L)$, il cui valor medio sia descritto da una certa funzione $\bar{h}^0 : [0, L] \rightarrow [0, 1]$, e il cui integrale sia tale che le ipotesi (3.5) siano soddisfatte. In particolare, si assuma che $f_\varepsilon(0, x, h)$ sia della forma seguente

$$f_\varepsilon(0, x, h) = e^{u_\varepsilon^0(x, h)/\varepsilon}, \quad (3.8)$$

dove $u_\varepsilon^0(x, h)$ è una funzione (sufficientemente) regolare e uniformemente strettamente concava in h (ossia, una funzione strettamente concava di h per ogni $x \in [0, L]$ e ogni $\varepsilon > 0$) tale che

$$e^{u_\varepsilon^0(x, h)/\varepsilon} \xrightarrow[\varepsilon \rightarrow 0]{*} \phi(0, x)\delta(h - \bar{h}^0(x)) \quad \forall x \in [0, L] \quad (3.9)$$

e altresì tale che le ipotesi (3.5) siano, a loro volta, soddisfatte.

Sotto le suddette ipotesi, ci si aspetta che, nel limite per $\varepsilon \rightarrow 0$, le soluzioni della EDP (3.4) si concentrino come masse di Dirac [16, 21], ossia,

$$f_\varepsilon(t, x, h) \approx \phi(t, x)\delta(h - \bar{h}(x)), \quad (3.10)$$

dove, da un punto di vista biologico, i punti di concentrazione rappresentati dalla funzione $\bar{h} : [0, L] \rightarrow [0, 1]$ coincidono con gli stati fenotipici in cui si trova la maggioranza delle cellule tumorali alle diverse posizioni spaziali x all'istante di tempo t . In questo contesto, analogamente a quanto fatto in [6, 15, 16, 27], si introduce l'ansatz WKB

$$f_\varepsilon(t, x, h) = e^{u_\varepsilon(t, x, h)/\varepsilon} \quad (3.11)$$

e si deriva un'equazione per $u_\varepsilon(t, x, h)$. Infatti, seppur caratterizzare le proprietà di u_ε per $\varepsilon \rightarrow 0$ sia equivalente a caratterizzare le proprietà di f_ε per $\varepsilon \rightarrow 0$, studiare il comportamento asintotico di u_ε è decisamente più semplice e, di conseguenza, più conveniente [16]. Sostituendo l'ansatz (3.11) nella EDP (3.4) e usando le seguenti espressioni

$$\partial_t f_\varepsilon = \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_t u_\varepsilon, \quad \partial_x f_\varepsilon = \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_x u_\varepsilon, \quad \partial_h f_\varepsilon = \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_h u_\varepsilon, \quad \partial_{hh}^2 f_\varepsilon = \left(\frac{\partial_h u_\varepsilon}{\varepsilon} \right)^2 f_\varepsilon + \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_{hh}^2 u_\varepsilon,$$

si ottiene

$$\begin{aligned} \varepsilon \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_t u_\varepsilon - \varepsilon \mu(h) \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_x u_\varepsilon \partial_x (\phi_\varepsilon \Sigma(\phi_\varepsilon)) - \varepsilon \mu(h) f_\varepsilon \partial_{xx}^2 (\phi_\varepsilon \Sigma(\phi_\varepsilon)) + \varepsilon w \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_h u_\varepsilon + \varepsilon f_\varepsilon \partial_h w \\ = G f_\varepsilon + \varepsilon^2 \left(\frac{\partial_h u_\varepsilon}{\varepsilon} \right)^2 f_\varepsilon + \varepsilon^2 \frac{f_\varepsilon}{\varepsilon} \partial_{hh}^2 u_\varepsilon, \end{aligned} \quad (3.12)$$

ovvero la seguente equazione per u_ε

$$\begin{aligned} \partial_t u_\varepsilon - \mu(h) \partial_x u_\varepsilon \partial_x (\phi_\varepsilon) - \varepsilon \mu(h) \partial_{xx}^2 (\phi_\varepsilon) + w \partial_h u_\varepsilon + \varepsilon \partial_h w \\ = G + (\partial_h u_\varepsilon)^2 + \varepsilon \partial_{hh}^2 u_\varepsilon. \end{aligned} \quad (3.13)$$

Di qui, facendo tendere $\varepsilon \rightarrow 0$, si ottiene, formalmente, la seguente equazione

$$\partial_t u - \mu(h) (\partial_x \phi) \partial_x u + w \partial_h u = G + (\partial_h u)^2, \quad (x, h) \in (0, L) \times (0, 1), \quad (3.14)$$

dove u e ϕ sono, rispettivamente, i termini di ordine zero delle espansioni di u_ε e ϕ_ε . Dal momento che, come detto prima, si assume $u_\varepsilon(0, x, h) = u_\varepsilon^0(x, h)$ e u_ε^0 è una funzione uniformemente strettamente concava in h , se anche la funzione G è strettamente concava in h , ossia¹

$$\partial_{hh}^2 G(x, h, \phi) < 0 \quad \forall (x, \phi) \in [0, L] \times [0, \bar{\phi}], \quad (3.15)$$

allora, sulla scorta dei risultati presentati in [6, 15, 16, 21, 27], ci si aspetta che la funzione $u(t, x, h)$ sia anch'essa uniformemente strettamente concava in h , ossia formalmente si ha che per ogni $x \in [0, L]$ esiste un unico stato fenotipico, il quale è descritto dalla funzione $\bar{h}(x)$, tale che

$$u(t, x, \bar{h}(x)) =: \max_{h \in [0, 1]} u(t, x, h) \quad \forall x \in [0, L]$$

¹Dal momento che la funzione G è definita secondo (3.2) e la funzione \tilde{q} è definita secondo (3.3), se, ad esempio, $q = (1 - h^2)q_o + [1 - (1 - h)^2]q_g$ allora, l'ipotesi (3.15) è verificata. Infatti, per ogni $\phi \in [0, \bar{\phi}]$ si ha che $\partial_{hh}^2 G = \eta(\bar{\phi} - \phi)(-2q_o - 2q_g) < 0$ se $q > \theta$, $\partial_{hh}^2 G = -\xi_q(2q_o + 2q_g) < 0$ se $q < \theta$ e $\partial_{hh}^2 G = -\xi < 0$ se $q = \theta$.

e

$$\partial_h u(t, x, \bar{h}) = 0 \quad \forall x \in [0, L].$$

Inoltre, sulla base delle stime a priori date da (3.6) e la forma dell'ansatz (3.11), ci si aspetta altresì che, formalmente, valgano le seguenti relazioni

$$0 \leq \phi(\cdot, x) \leq \bar{\phi} \quad \forall x \in \times[0, L] \quad (3.16)$$

e che il seguente vincolo debba essere soddisfatto

$$\max_{h \in [0, 1]} u(t, x, h) = u(t, x, \bar{h}) = 0, \quad \forall x \in \text{supp}(\phi), \quad (3.17)$$

dove $\text{supp}(\phi(t, \cdot))$ denota il supporto di $\phi(t, x)$, ossia l'insieme degli $x \in (0, L)$ tale che $\phi(t, x) > 0$. Di qui ne consegue che, formalmente,

$$\partial_h u(t, x, \bar{h}) = 0 \quad \text{e} \quad \partial_x u(t, x, \bar{h}) = 0 \quad \forall x \in \text{supp}(\phi) \quad (3.18)$$

e, di conseguenza, valutando l'equazione (3.14) in $\bar{h}(t, x)$ si trova la relazione seguente

$$G(x, \bar{h}(t, x), \phi) = 0 \quad \forall x \in \text{supp}(\phi(t, \cdot)). \quad (3.19)$$

Equazione del trasporto per $\bar{h}(t, x)$. Si consideri ora $x \in \text{supp}(\phi(t, \cdot))$. Al fine di ottenere una equazione che descriva la dinamica di $\bar{h}(t, x)$, si inizia differenziando la (3.14) rispetto ad h e poi si valuta l'equazione così ricavata in \bar{h} . Così facendo si ottiene

$$\partial_{ht}^2 u(t, x, \bar{h}) - \mu(\bar{h})(\partial_x \phi) \partial_{hx}^2 u(t, x, \bar{h}) + \partial_h(w \partial_h u)(t, x, \bar{h}) = \partial_h G. \quad (3.20)$$

Successivamente, si differenziano la (3.17)₁ rispetto a t e la (3.18)₂ rispetto ad h così da ottenere le derivate miste in funzione di $\bar{h}(t, x)$:

$$\partial_{ht}^2 u(t, x, \bar{h}) + \partial_{hh}^2 u(t, x, \bar{h}) \partial_t \bar{h} = 0 \quad \Rightarrow \quad \partial_{ht}^2 u(t, x, \bar{h}) = -\partial_{hh}^2 u(t, x, \bar{h}) \partial_t \bar{h}. \quad (3.21)$$

e

$$\begin{aligned} & \partial_{hx}^2 u(t, x, \bar{h}(t, x)) + \partial_{hh}^2 u(t, x, \bar{h}(t, x)) \partial_x \bar{h}(t, x) = 0 \\ \Rightarrow & \quad \partial_{hx}^2 u(t, x, \bar{h}(t, x)) = -\partial_{hh}^2 u(t, x, \bar{h}(t, x)) \partial_x \bar{h}(t, x). \end{aligned} \quad (3.22)$$

Sostituendo le due espressioni date da (3.21) e (3.22) nella (3.20), dato che $\partial_{hh}^2 u < 0$ (si ricordi che ci si aspetta che u sia strettamente concava), si può ottenere la seguente equazione di trasporto per $\bar{h}(t, x)$:

$$\partial_t \bar{h} - \mu(\bar{h})(\partial_x \phi) \partial_x \bar{h} = (-\partial_{hh}^2 u(t, x, \bar{h}))^{-1} (\partial_h G(x, \bar{h}, \phi) - \partial_h(w \partial_h u)(t, x, \bar{h})), \quad (3.23)$$

dove $x \in \text{supp}(\phi)$.

Limiti asintotici di $\phi(t, x)$ e $\bar{h}(t, x)$ per $t \rightarrow \infty$. Siano $\phi^\infty(x)$ e $h^\infty(x)$ i valori asintotici a cui convergano $\phi(t, x)$ e $\bar{h}(t, x)$ per $t \rightarrow \infty$. Utilizzando la relazione (3.19) e l'equazione di stato stazionario corrispondente all'equazione del trasporto (3.23), si giunge alla conclusione che, formalmente, $\phi^\infty(x)$ e $\bar{h}^\infty(x)$ debbano soddisfare il seguente sistema di equazioni:

$$\begin{cases} G(x, \bar{h}^\infty, \phi^\infty) = 0, \\ [-\mu(h)(\partial_x \phi^\infty) \partial_x h]_{h=\bar{h}^\infty} = \mathcal{F}(x, \bar{h}^\infty, u^\infty, \phi^\infty), \end{cases} \quad x \in \text{supp}(\phi^\infty). \quad (3.24)$$

dove

$$\mathcal{F}(x, h, u^\infty, \phi^\infty) := (-\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h))^{-1} (\partial_h G(x, h, \phi^\infty) - \partial_h (w \partial_h u^\infty)(t, x, h))$$

e $u^\infty(x, h)$ soddisfa, formalmente, l'equazione di stato stazionario corrispondente all'equazione del trasporto (3.14) soggetta al vincolo (3.17), ossia la seguente equazione di Hamilton-Jacobi con vincolo:

$$\begin{cases} G(x, h, \phi^\infty) + (\partial_h u^\infty(x, h))^2 - w \partial_h u^\infty(h) = 0, \\ \max_{h \in [0, 1]} u^\infty(x, h) = u^\infty(x, \bar{h}^\infty(x)) = 0, \end{cases} \quad x \in \text{supp}(\phi^\infty). \quad (3.25)$$

Si analizzi ora la prima equazione del sistema (3.24), ossia l'equazione:

$$G(x, \bar{h}^\infty, \phi^\infty) = 0, \quad x \in \text{supp}(\phi^\infty). \quad (3.26)$$

Sostituendo nella suddetta equazione la definizione (3.7) della funzione G si ottiene

$$0 = G(x, \bar{h}^\infty(x), \phi^\infty(x)) = \eta(\bar{\phi} - \phi^\infty(x))(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)_+ - \xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)))_+, \quad (3.27)$$

per $x \in \text{supp}(\phi^\infty)$, dove \tilde{q} è definita secondo (3.3) e dipende da $q_o = q_o(c_o^\infty(x), c_g^\infty(x))$ e $q_g = q_g(c_g^\infty(x))$.

Per quanto riguarda le funzioni parte positiva prese in considerazione nel modello, si hanno solo tre possibilità mutualmente esclusive:

- $\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty) = 1$, ossia $(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)_+ = (1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)))_+ = 0$;
- $(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)_+ = 0$ e $(1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)))_+ > 0$;
- $(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)_+ > 0$ e $(1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)))_+ = 0$.

Di seguito si analizzano le tre possibilità sostituendole nell'equazione (3.27).

Nel primo caso si ottiene:

$$0 = -\xi,$$

assurdo dato che $\xi > 0$.

Nel secondo caso si ottiene:

$$0 = -\xi - \xi_q(1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x))), \quad (3.28)$$

assurdo dato che $\xi > 0$, $\xi_q > 0$ e $(1 - \tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x))) > 0$.

Di conseguenza,

$$\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) > 1, \quad \forall x \in \text{supp}(\phi^\infty) \quad (3.29)$$

e, quindi, nel terzo caso, che è dunque l'unico caso ammissibile, si ottiene la seguente relazione

$$0 = \eta(\bar{\phi} - \phi^\infty(x))(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1) - \xi, \quad x \in \text{supp}(\phi^\infty), \quad (3.30)$$

che si vede come un'equazione per $\phi^\infty(x)$. Chiaramente, dal momento che $\phi^\infty(x) \geq 0$ per ogni $x \in [0, L]$ (vedasi (3.16)), se

$$\bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} < 0$$

allora l'equazione (3.30) non ammette soluzioni $\phi^\infty(x)$ non-negative e, di conseguenza, si ha necessariamente che $x \notin \text{supp}(\phi^\infty)$, ossia $\phi^\infty(x) = 0$. Altrimenti,

$$\phi^\infty(x) = \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)}. \quad (3.31)$$

Ergo, in definitiva,

$$\phi^\infty(x) = \max \left\{ 0, \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} \right\}, \quad x \in [0, L]. \quad (3.32)$$

Osservazione D'ora in poi, per compattare la notazione si indicherà ancora con \tilde{q} la funzione $\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x))$ ovvero la (3.3) valutata in \bar{h}^∞ :

$$\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) = \frac{q(x, \bar{h}^\infty(x))}{\theta} = \frac{n_o(\bar{h}^\infty(x))q_o(c_o^\infty(x), c_g^\infty(x)) + n_g(\bar{h}^\infty(x))q_g(c_g^\infty(x))}{\theta} \quad (3.33)$$

e con \bar{h}^∞ e ϕ^∞ , rispettivamente le funzioni $\bar{h}^\infty(x)$ e $\phi^\infty(x)$ con $x \in \text{supp}(\phi^\infty)$.

3.1 Caso 1: sole variazioni fenotipiche spontanee

Si analizzi la seconda equazione del sistema (3.24) nel caso in cui non ci sia movimento nello spazio fisico e non ci siano variazioni fenotipiche indotte, ovvero $v(x) \equiv 0$ e $w \equiv 0$:

$$[\partial_h G(h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0. \quad (3.34)$$

Utilizzando la (3.7), si ottiene

$$\eta(\bar{\phi} - \phi^\infty) \partial_h (\tilde{q} - 1)_+(\bar{h}^\infty) - \xi_q \partial_h (1 - \tilde{q})_+(\bar{h}^\infty) = 0. \quad (3.35)$$

In particolare:

$$\partial_h (\tilde{q} - 1)_+ = \begin{cases} \partial_h \tilde{q} & \text{se } \tilde{q} > 1, \\ 0 & \text{se } \tilde{q} \leq 1. \end{cases} \quad \text{e} \quad \partial_h (1 - \tilde{q})_+ = \begin{cases} -\partial_h \tilde{q} & \text{se } 1 > \tilde{q}, \\ 0 & \text{se } 1 \leq \tilde{q}. \end{cases} \quad (3.36)$$

Poiché in (3.29) abbiamo concluso che \bar{h}^∞ si ha $\tilde{q} > 1$, l'equazione (3.35) si semplifica in:

$$\eta(\bar{\phi} - \phi^\infty) \partial_h \tilde{q}(\bar{h}^\infty) = 0 \quad (3.37)$$

Infine, dato che $\eta > 0$ e $\bar{\phi} - \phi^\infty > 0$ si ha che:

$$\bar{h}^\infty = \operatorname{argmax}_{h \in [0,1]} \tilde{q}. \quad (3.38)$$

In conclusione, il fenotipo \bar{h}^∞ è quello che massimizza la funzione \tilde{q} ovvero la funzione di proliferazione $(\bar{\phi} - \phi^\infty)p = \eta(\bar{\phi} - \phi^\infty)(\tilde{q} - 1)_+ = \eta(\bar{\phi} - \phi^\infty)(\tilde{q} - 1)$.

Tramite questo risultato, dalla (3.32) si può dedurre che il fenotipo \bar{h}^∞ sia quello che massimizza la frazione di volume occupata dalle cellule tumorali, ovvero quello per cui ϕ^∞ si avvicina il più possibile alla carrying capacity $\bar{\phi}$.

3.1.1 Funzione di fitness G lineare in h

Si studi il caso appena analizzato con l'ipotesi aggiuntiva che $q = (1 - h)q_o + hq_g = h(q_g - q_o) + q_o$.

Dato che $G(x, h, \phi)$ è una funzione monotona in h sul compatto $[0, 1]$ ammette unico punto di massimo, allora si può ipotizzare che u sia ancora una funzione strettamente concava in h e studiare il sistema (3.24)

$$\begin{cases} G(x, \bar{h}^\infty, \phi^\infty) = 0 \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0. \end{cases}$$

Le osservazioni precedenti risultano ugualmente valide per cui in \bar{h}^∞ si ha che $\tilde{q} > 1$ e la prima equazione restituisce $\phi^\infty = \max \left\{ 0, \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta} \frac{1}{(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} \right\}$.

La differenza rispetto al caso precedente risiede nella derivata rispetto alla variabile h della funzione G che restituisce

$$\bar{h}^\infty = \operatorname{argmax}_{h \in [0,1]} \tilde{q},$$

ma

$$\partial_h \tilde{q} = \frac{q_g - q_o}{\theta} \quad (3.39)$$

da cui

$$\bar{h}^\infty = \begin{cases} 1, & \text{se } q_g > q_o \\ 0, & \text{se } q_g < q_o. \end{cases} \quad (3.40)$$

Se invece $q_o = q_g$, allora $\tilde{q} = \frac{q_o}{\theta}$ è una funzione costante che non dipende da h e qualsiasi valore di h soddisfa la seconda equazione del sistema.

Si osservi che situazioni intermedie non sono possibili poiché, per come è stato definito il modello si ha sempre che $o(\tilde{q} - 1)_+ > 0$ o $(1 - \tilde{q})_+ > 0$ o $\tilde{q} = 1$. Dunque dal punto di vista biologico, lo scenario ipotizzato risulta poco rilevante.

3.1.2 Funzione di fitness G quadratica in h

Si noti che, anche utilizzando una funzione quadratica in h del tipo $q = (1 - h^2)q_o + h^2q_g = h^2(q_g - q_o) + q_o$, il massimo della funzione è determinato dal segno di $q_g - q_o$. Se invece si utilizza la funzione

$$q = (1 - h^2)q_o + [1 - (1 - h)^2]q_g = (-q_o - q_g)h^2 + 2hq_g + q_o \quad (3.41)$$

si ha una funzione parabolica con concavità verso il basso e un unico punto di massimo nel vertice della parabola dato da $\partial_h q = 2h(-q_o - q_g) + 2q_g = 0$.

Lo scenario ipotizzato è quello per cui la funzione G in ogni punto dello spazio abbia un unico punto di massimo in $h \in [0, 1]$, ovvero si suppone che ci sia un solo tratto che massimizza la fitness e che esso sia un valore variabile, non necessariamente uno dei due estremi.

La funzione può essere riscritta come

$$q = r(q_o, q_g) - s(q_o, q_g)(h - \hat{h}(q_o, q_g))^2 \quad (3.42)$$

dove

$$r(q_o, q_g) = q_o + \frac{q_g^2}{q_o + q_g}, \quad s(q_o, q_g) = q_o + q_g \quad \text{e} \quad \hat{h}(q_o, q_g) = \frac{q_g}{q_o + q_g}, \quad (3.43)$$

dunque $h = \hat{h}(q_o, q_g) = \frac{q_g}{q_o + q_g}$ è lo stato fenotipico per cui si ottiene la massima energia $r(q_o, q_g) = q_o + \frac{q_g^2}{q_o + q_g}$.

Si osservi che $\hat{h}(q_o, q_g) \xrightarrow{q_g \rightarrow \infty} 1$ e $\hat{h}(q_o, q_g) \xrightarrow{q_o \rightarrow \infty} 0$, coerentemente con quanto osservato precedentemente nella breve introduzione al problema biologico.

3.2 Caso 2: variazioni fenotipiche spontanee e indotte

Si analizzi la seconda equazione del sistema (3.24) nel caso in cui, oltre alle variazioni spontanee ci siano anche quelle indotte, ovvero $v(x) \equiv 0$ e $w \neq 0$.

La prima equazione del sistema (3.24) è modificata dall'introduzione di $w \neq 0$ e si risolve nello stesso modo, invece dalla seconda non si riesce ad ottenere una caratterizzazione esplicita di $\bar{h}^\infty(x)$. Esplicitando la seconda equazione del sistema (3.24) si ottiene:

$$[\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} - [\partial_h w(x, h) \partial_h u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} - w(x, \bar{h}^\infty) [\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0 \quad (3.44)$$

Tenendo conto del vincolo $\max_{h \in [0,1]} u^\infty(x, h) = u^\infty(x, \bar{h}) = 0$ (3.25), in particolare si ha che \bar{h}^∞ è un punto di massimo per $u^\infty(x, h)$ da cui

$$\partial_h u^\infty(x, \bar{h}^\infty) = 0 \quad (3.45)$$

e la (2.17) diventa

$$[\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} - w(x, \bar{h}^\infty) [\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0. \quad (3.46)$$

Inoltre, ci si aspetta che u sia una funzione strettamente concava $\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h) < 0$. Infine, tenendo conto della definizione del tasso w in (2.17) e dell'assunzione di partenza per cui $w \neq 0$, si ha che $w > 0$. Allora

$$-w(x, \bar{h}^\infty) [\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} > 0$$

e la (3.46) diventa:

$$\begin{aligned} [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} + \left| w(x, \bar{h}^\infty) [\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} \right| &= 0 \\ \Rightarrow [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &< 0. \end{aligned} \quad (3.47)$$

Nel caso in cui la q sia definita come in (3.1.2), dalla (3.47) si ha che

$$\eta(\bar{\phi} - \phi^\infty) \partial_h [\tilde{q}(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} < 0 \quad \Rightarrow \quad \bar{h}^\infty > \frac{q_g}{q_o + q_g}. \quad (3.48)$$

poiché $\eta > 0$, $\bar{\phi} - \phi^\infty > 0$ e $\partial_h \tilde{q} = \frac{-2h(q_o + q_g) + 2q_g}{\theta}$.

Ovvero, a differenza del caso precedente, il modello non seleziona le cellule che massimizzano il tasso netto di proliferazione G . In altre parole, la presenza del termine di drift $\gamma \partial_h(fw)$ modifica la posizione del punto in cui si concentra la massa di Dirac [6].

3.3 Caso 3: variazioni fenotipiche spontanee e trasporto nello spazio fisico

Si analizzi la seconda equazione del sistema (3.24) nel caso in cui, oltre alle variazioni spontanee, ci sia anche movimento delle cellule tumorali nello spazio fisico $v(x) \not\equiv 0$ e $w \equiv 0$.

Analogamente al caso precedente, la prima equazione del sistema (3.24) è modificata dall'introduzione di $w \not\equiv 0$ e si risolve nello stesso modo, invece dalla seconda non si riesce ad ottenere una caratterizzazione esplicita di $\bar{h}^\infty(x)$. Esplicitando la seconda equazione:

$$[\partial_h G(x, \phi, h) - \partial_{hh}^2 u^\infty(t, x, h) \mu(h) (\partial_x \phi) \partial_x h]_{h=\bar{h}^\infty} = 0. \quad (3.49)$$

Poiché ci si aspetta che u sia strettamente concava, si ha che:

$$\begin{aligned} [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &< 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &> 0 \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &> 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &< 0 \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &= 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &= 0 \end{aligned} \quad (3.50)$$

Come nel caso precedente, il modello non seleziona le cellule che massimizzano il tasso netto di proliferazione G a meno che $\mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) = 0$. In altre parole, il movimento delle cellule nello spazio fisico modifica la posizione del punto in cui si concentra la massa di Dirac.

3.4 Caso 4: variazioni fenotipiche spontanee, variazioni fenotipiche indotte e trasporto nello spazio fisico

Nel caso in cui ci siano variazioni fenotipiche spontanee, variazioni fenotipiche e movimento delle cellule nello spazio fisico, il sistema da risolvere è:

$$\begin{cases} G(x, \phi^\infty, \bar{h}^\infty) = 0 \\ [\partial_h G(x, \phi^\infty, h) - \partial_h(w \partial_h u^\infty(x, h)) - \partial_{hh}^2 u^\infty(x, h) \mu(h) (\partial_x \phi^\infty \partial_x h)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0, \end{cases} \quad (3.51)$$

ovvero la prima equazione e la sua relativa analisi restano invariate mentre, sviluppando la seconda equazione con le osservazioni già fatte nei casi precedenti, si ottiene

$$\{\partial_h G(x, h, \phi^\infty) - \partial_{hh}^2 u^\infty(x, h) [w(x, h) - \mu(h) (\partial_x \phi^\infty \partial_x h)]\}_{h=\bar{h}^\infty} = 0 \quad (3.52)$$

A meno che

$$[w(x, h) - \mu(h) (\partial_x \phi^\infty \partial_x h)]_{h=\bar{h}^\infty} = 0,$$

anche in questo caso il modello non seleziona le cellule che massimizzano il tasso netto di proliferazione G . Il termine di trasporto nel fenotipo h e il movimento delle cellule modificano la posizione del punto in cui si concentra la massa di Dirac. In particolare,

$$[\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} = \left| [\partial_{hh}^2 u^\infty(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} \right| \left| [\mu(h) (\partial_x \phi^\infty \partial_x h) - w(x, h)]_{h=\bar{h}^\infty} \right|$$

cioè

$$\begin{aligned} [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} < 0, & \quad \text{se} \quad \mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) < w(x, \bar{h}^\infty) \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} > 0, & \quad \text{se} \quad \mu(\bar{h}^\infty) (\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) > w(x, \bar{h}^\infty). \end{aligned} \quad (3.53)$$

Capitolo 4

Simulazioni numeriche

Parametrizzazione, condizioni al bordo e condizioni iniziali Nelle simulazioni numeriche svolte si utilizzano le concentrazioni di ossigeno e glucosio fissate così da poter confrontare i risultati numerici con quelli ottenuti analiticamente nel Capitolo 3. Inoltre si studia il caso monodimensionale in spazio, ovvero $\Omega = [0, L]$, e variabile fenotipica $h \in [0, 1]$.

Viste le osservazioni fatte nella sezione 3.1.2, le funzioni in (2.9) sono definite nel modo seguente:

$$n_o(h) = 1 - h^2 \quad \text{e} \quad n_g(h) = 1 - (1 - h)^2. \quad (4.1)$$

I valori scelti per le condizioni al bordo $x = 0$ in (2.2) corrispondono ai livelli medi di ossigeno e di glucosio in prossimità di un vaso sanguigno riportati in [12]

$$c_o(t, 0) = \bar{c}_o = 2.08 \times 10^{-6} \text{gcm}^{-3} \quad \text{e} \quad c_g(t, 0) = \bar{c}_g = 1.35 \times 10^{-4} \text{gcm}^{-3}. \quad (4.2)$$

In accordo con i dati sperimentali mostrati in [12], lontano dal vaso sanguigno (ovvero $L = 4 \times 10^{-4}$ m) le concentrazioni di ossigeno e glucosio corrispondono rispettivamente allo 0.1% e all'1% di \bar{c}_o e \bar{c}_g , dunque

$$c_o(t, L) = \underline{c}_o = 2 \times 10^{-10} \text{g cm}^{-3} \quad \text{e} \quad c_g(t, L) = \underline{c}_g = 10^{-2} \text{g cm}^{-3},$$

come suggerito anche in [9].

Le simulazioni svolte considerano le concentrazioni di ossigeno e di glucosio assegnate. Inoltre, si considera il caso in cui le concentrazioni di ossigeno e glucosio sono normalizzate rispetto alla condizione al bordo in $x = 0$. Conoscendo i valori al bordo, si assume che l'andamento dei fattori abiotici decada in spazio come un

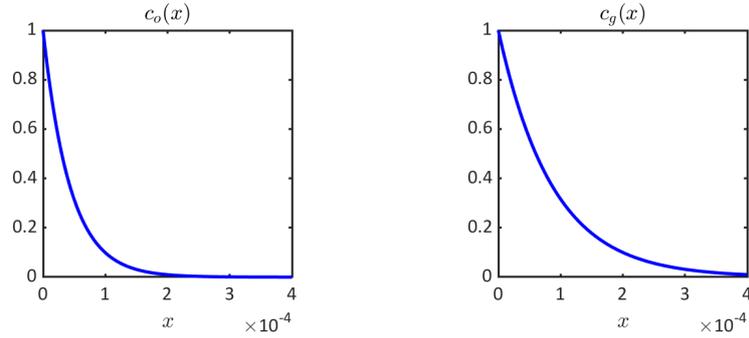


Figura 4.1: Concentrazioni normalizzate di ossigeno e glucosio nello stato d'equilibrio.

esponenziale decrescente, dunque

$$\tilde{c}_o(x) = \exp\left(-\frac{x}{L} \ln(\tilde{c}_o)\right) \quad \text{e} \quad \tilde{c}_g(x) = \exp\left(-\frac{x}{L} \ln(\tilde{c}_g)\right),$$

dove

$$\tilde{c}_o = \frac{c_o}{\bar{c}_o} \quad \text{e} \quad \tilde{c}_g = \frac{c_g}{\bar{c}_g}.$$

Poiché si utilizzano solo le concentrazioni normalizzate, per semplificare la notazione, d'ora in avanti si utilizzeranno c_o e c_g .

Per quanto riguarda le funzioni che tengono conto della disponibilità di ossigeno e glucosio (2.3)(2.6)(2.4)(2.5), in ogni simulazione presentata si specifica quali funzioni sono state scelte.

Inizialmente si utilizzano le equazioni di Michaelis-Menten (2.4) (2.5) in quanto più regolari (Figura 4.2a, 4.2b) ma nelle simulazioni successive si valutano anche le funzioni definite a tratti (2.3) (2.6)(Figura 4.2c, 4.2d). Come mostrato in Figura 4.3, in base alle funzioni $a(c_o)$ e $b(c_g)$ scelte, variano anche le funzioni q_o , q_g e $\tilde{q}(\bar{h}^\infty(x))$ definite rispettivamente in (2.7) e (3.33).

La funzione q scelta per le simulazioni è quella definita in (3.41). Alcuni parametri non noti, come ad esempio κ_o e θ , sono stati scelti arbitrariamente, in accordo con le osservazioni del problema biologico e i risultati attesi dall'analisi qualitativa formale.

La condizione iniziale di f in Figura 4.4 è

$$f(0, x, h) = f_0(x, h) := 0.5 \exp\left(-\frac{x}{\sigma_1} - \frac{(h - 0.5)^2}{\sigma_2}\right),$$

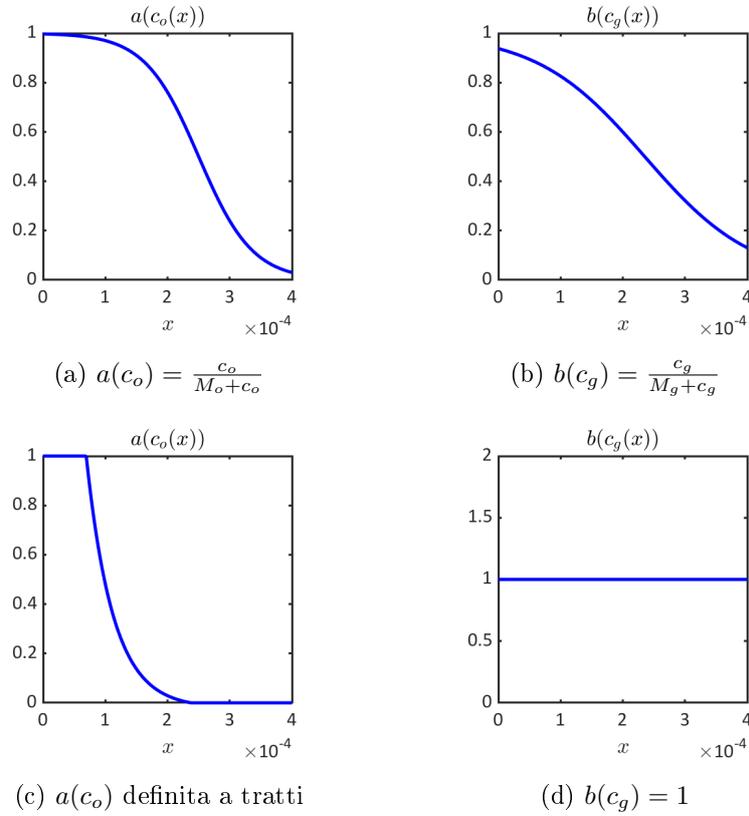


Figura 4.2: Funzioni di disponibilità dei fattori abiotici

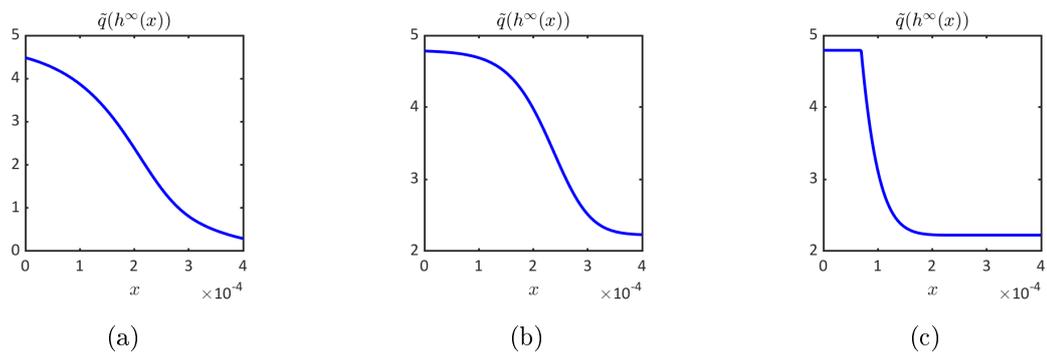


Figura 4.3: Funzioni $\tilde{q}(\bar{h}^\infty(x))$ nel caso si utilizzino: (a) $a(c_o) = \frac{c_o}{M_o + c_o}$ e $b(c_g) = \frac{c_g}{M_g + c_g}$, (b) nel caso si utilizzino $a(c_o) = \frac{c_o}{M_o + c_o}$ e $b(c_g) = 1$ e (c) nel caso si utilizzino $a(c_o)$ definita a tratti in (2.3) e $b(c_g) = 1$.

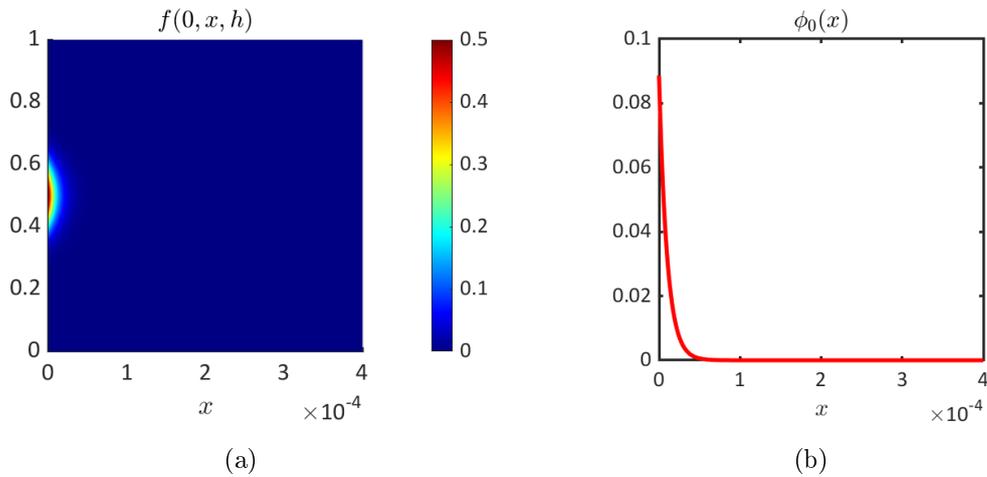


Figura 4.4: Distribuzione iniziale $f(0, x, h)$ (a) e della frazione di volume delle cellule tumorali $\phi_0(x)$ (b).

con σ_1 e σ_2 costanti positive. Dunque il numero di cellule decresce esponenzialmente in spazio e ad ogni posizione x lo stato fenotipico è distribuito secondo una gaussiana di media 0.5 e varianza σ_2 .

La costante $C = 0.5$ è scelta in modo che sia rispettata la condizione iniziale $0 < \phi_0(x) < 1$. Infatti, $\phi_0(x)$ è un esponenziale decrescente in spazio che nel punto di massimo $x = 0$ vale $\phi_0(0) = 0.09$ come mostrato in Figura (4.4).

Metodo numerico Le seguenti simulazioni numeriche sono state svolte con l'utilizzo del software Comsol Multiphysics® [29]. COMSOL Multiphysics è un programma di simulazione numerica basato sul metodo degli elementi finiti il quale consente di ottenere soluzioni approssimate di problemi matematici descritti tramite sistemi di equazioni alle derivate parziali, eventualmente accoppiate con equazioni alle derivate ordinarie o integrali. Per discretizzare le equazioni del modello è necessario creare la griglia (mesh) del dominio. Nelle prime simulazioni di questo lavoro, comprendenti solamente il termine diffusivo (4.1), è stato sufficiente utilizzare una mesh triangolare non strutturata con 11735 gradi di libertà, mentre nei casi in cui si è considerato il termine di trasporto in fenotipo o in spazio (4.2)(4.3), è stata utilizzata una mesh adattiva. Le mesh adattive possono essere generate automaticamente all'interno del programma, specificando un'opportuna espressione per l'errore da minimizzare e il fattore di riduzione dell'intervallo.

Il time step utilizzato è adattativo ed opportunamente selezionato in modo da rispettare la stabilità dell'algoritmo BDF (backward differentiation formula) di ordine massimo 5. Per quanto riguarda il calcolo di $\phi(t, x) = \int_0^1 f(t, x, h)dh$ si utilizza l'operatore di accoppiamento non locale *proiezione lineare*, implementato in Comsol, con ordine di integrazione pari a 4. Per definirne la derivata nel caso in cui si considera anche il movimento delle cellule nello spazio fisico (4.3) è stato necessario proiettare ϕ sulle funzioni di base degli elementi finiti utilizzati (ossia esprimere ϕ come combinazione lineare delle funzioni di base). In questo caso sono stati utilizzati elementi finiti di ordine 3 che hanno restituito risultati più soddisfacenti. Inoltre, per stabilizzare la soluzione numerica, è stato necessario aggiungere un termine di diffusione artificiale nella variabile spaziale. Dal punto di vista del fenomeno biologico modellizzato si ottiene uno scenario realistico. Infatti, l'utilizzo di questo metodo consolidato di stabilizzazione equivale ad includere un movimento casuale delle cellule tumorali nella direzione spaziale.

Infine, i parametri utili per l'implementazione del modello in Comsol sono riportati nella tabella 4.1. I risultati delle seguenti simulazioni sono valutati per $t \in [0, T]$, dove T è un tempo sufficientemente grande per il quale si può supporre che la soluzione numerica abbia raggiunto lo stato stazionario e sia quindi confrontabile con i valori analitici ottenuti nel Capitolo 3.

4.1 Caso 1: variazioni fenotipiche spontanee

Nel caso in cui l'equazione considerata comprenda solo il termine di reazione e il termine di diffusione nello stato fenotipico, si risolve la seguente equazione:

$$\partial_t f - \beta \partial_{hh}^2 f = Gf.$$

Per tempi molto lunghi, dall'analisi svolta nella sezione 3.1, si è concluso che

$$\bar{h}^\infty = \frac{q_g}{q_o + q_g} \quad e \phi^\infty(x) = \max \left\{ 0, \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta} \frac{1}{(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} \right\}, \quad x \in [0, L], \quad (4.3)$$

dove si ricorda che $\tilde{q} = \frac{n_o(\bar{h}^\infty(x))q_o(c_o^\infty(x), c_g^\infty(x)) + n_g(\bar{h}^\infty(x))q_g(c_g^\infty(x))}{\theta}$.

In particolare, si noti che per come sono state definite le funzioni q_o e q_g in (2.7) si

Parametro	Valore	Riferimento
M_o	$6.4 \times 10^{-9} \text{ g cm}^{-3}$	[12]
M_g	$9 \times 10^{-6} \text{ g cm}^{-3}$	[12]
β	$3 \times 10^{-19} \text{ s}^{-1}$	ad hoc
γ	10^{-12} s^{-1}	ad hoc
α	$10^{-18} \text{ m}^3 \text{ s kg}^{-1}$	ad hoc
η	$3.54 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$	-
O_m	$8.2 \times 10^{-9} \text{ g cm}^{-3}$	[26]
O_M	$4.3 \times 10^{-7} \text{ g cm}^{-3}$	[26]
ξ	$2.5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$	[7]
ξ_q	ξ	-
E	100 Pa	ad hoc
κ_o	$1/3 \text{ s}^{-1}$	ad hoc
κ_g	$10 \times \kappa_o$	ad hoc
L	$4 \times 10^{-4} \text{ m}$	[9]
$\bar{\mu}$	0.001	[15]
$\bar{\phi}$	1	-

Tabella 4.1: Parametri

ha che:

$$\begin{aligned} \frac{q_g}{q_o + q_g} &= \frac{2\kappa_g b(c_g)}{36\kappa_o a(c_o)b(c_g) + 2\kappa_g b(c_g)} \\ &= \frac{1}{\frac{9}{5}a(c_o) + 1} \end{aligned} \quad (4.4)$$

dunque \bar{h}^∞ dipende solo dal tipo di funzione $a(c_o)$ scelto.

Le simulazioni che seguono sono state svolte nel caso in cui $\kappa_o = \frac{1}{3} \text{ s}^{-1}$ e $\theta = 0.85 \text{ s}^{-1}$ in modo che sia rispettata la condizione (3.29).

Di seguito si confrontano i risultati analitici $\phi^\infty(x)$ e $\bar{h}^\infty(x)$ rispettivamente con la frazione di volume $\phi(T, x)$ e con la funzione $h^{max}(T, x) = \max_{h \in [0,1]} f(T, x, h)$, dove T è l'ultimo istante simulato. Dato che ci si aspetta che la soluzione si concentri come una gaussiana nel fenotipo $\bar{h}^\infty(x)$, è ragionevole confrontare il risultato ottenuto analiticamente con il valore medio della soluzione numerica. Nella maggior parte dei casi il fenotipo medio $H(T, x) = \frac{\int_0^1 f(T, x, h) h dh}{\phi(T, x)}$ è preferibile ad $h^{max}(T, x)$ poiché è un valore generalmente meno soggetto ad oscillazioni.

Le seguenti simulazioni sono svolte utilizzando un tasso di morte ξ che sia confrontabile con il tasso di proliferazione $\eta p(\bar{\phi} - \phi)$, ovvero $\xi = 2.5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$. Il risultato della simulazione svolta è in accordo con quanto concluso nell'analisi qualitativa formale, come è mostrato in Figura 4.5.

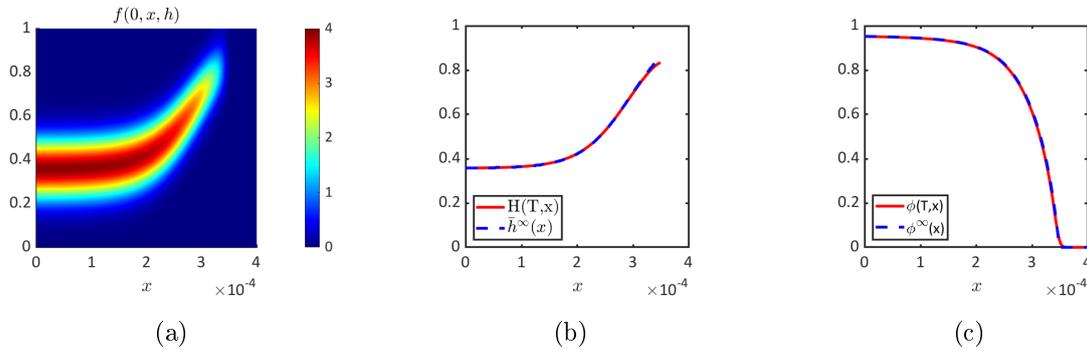


Figura 4.5: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra risultati analitici e simulazioni, rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c).

Il valore di $\phi^\infty(x)$ raggiunge lo zero nella parte finale del dominio spaziale. Allora, dato che la soluzione non occupa l'intero dominio Ω , si valutano il fenotipo medio $H(T, x)$ e quello ottenuto analiticamente $\bar{h}^\infty(x)$ solo fino all'ultimo punto del domi-

nio \hat{x} tale che $\phi(T, \hat{x}) > 0$. In particolare non si ha una sovrapposizione precisa delle due curve nei punti finali del dominio poiché, dove il valore della frazione di cellule è pari a zero, si hanno delle oscillazioni nel calcolo di $H(T, x)$.

In Figura 4.6 si riporta l'evoluzione di $f(t, x, h)$ e $\phi(t, x)$ per alcuni istanti temporali. Come già osservato, la soluzione inizialmente è concentrata in $x = 0$ e in $h = 0.5$. Nei grafici 4.6c e 4.6d che mostrano l'evoluzione al tempo $t_1 = 150$ day, si nota che le cellule tumorali hanno già occupato buona parte della frazione di volume attesa subendo solo piccole variazioni nel fenotipo. Nei grafici in 4.6e e 4.6f al tempo $t_2 = 800$ day si osserva che le cellule continuano a proliferare iniziando a modificare il loro metabolismo in modo più evidente. Nei grafici in Figura 4.6g e 4.6h la frazione di volume analitica è stata quasi raggiunta e contemporaneamente si osserva che il fenotipo h tende a diminuire in prossimità del vaso sanguigno e ad aumentare man mano che ci si avvicina al bordo più distante in $x = L$. Infine, negli ultimi due grafici in 4.6i e 4.6j è stata raggiunta la condizione d'equilibrio. La distribuzione delle cellule tumorali è concentrata nel fenotipo atteso e si raggiunge la frazione di volume $\phi^\infty(x)$. In particolare, è interessante notare come nella zona più vicina al vaso sanguigno già ai primi tempi simulati ci sia una corrispondenza precisa tra la frazione di volume attesa e quella simulata mentre il fenotipo ancora non è giunto all'equilibrio. Questo conferma che la frazione di volume restituisce un'informazione parziale del problema in esame.

Genericamente si ritiene che il glucosio sia un fattore sufficientemente presente nei tessuti biologici e che non sia il fattore discriminante nella scelta del path energetico. Allora, è stata effettuata una simulazione nel caso in cui la funzione che tiene conto della disponibilità di glucosio è sempre pari al massimo, ovvero $b(c_g) = 1$ (2.6). I risultati ottenuti sono mostrati in Figura 4.7.

Al bordo destro le curve non sono esattamente sovrapposte poiché la distribuzione raggiunge il bordo dove subentrano alcuni errori al bordo e il fenotipo medio risulta essere un dato meno accurato.

Si nota che, utilizzando $b(c_g) = 1$, la frazione di volume delle cellule riempie quasi completamente lo spazio disponibile, con una piccola variazione di circa 0.06 ai due bordi del dominio.

Siccome θ (tasso di energia necessario per il sostentamento e per la crescita delle cellule) è stato scelto arbitrariamente a patto che la (3.29) sia rispettata, è interes-

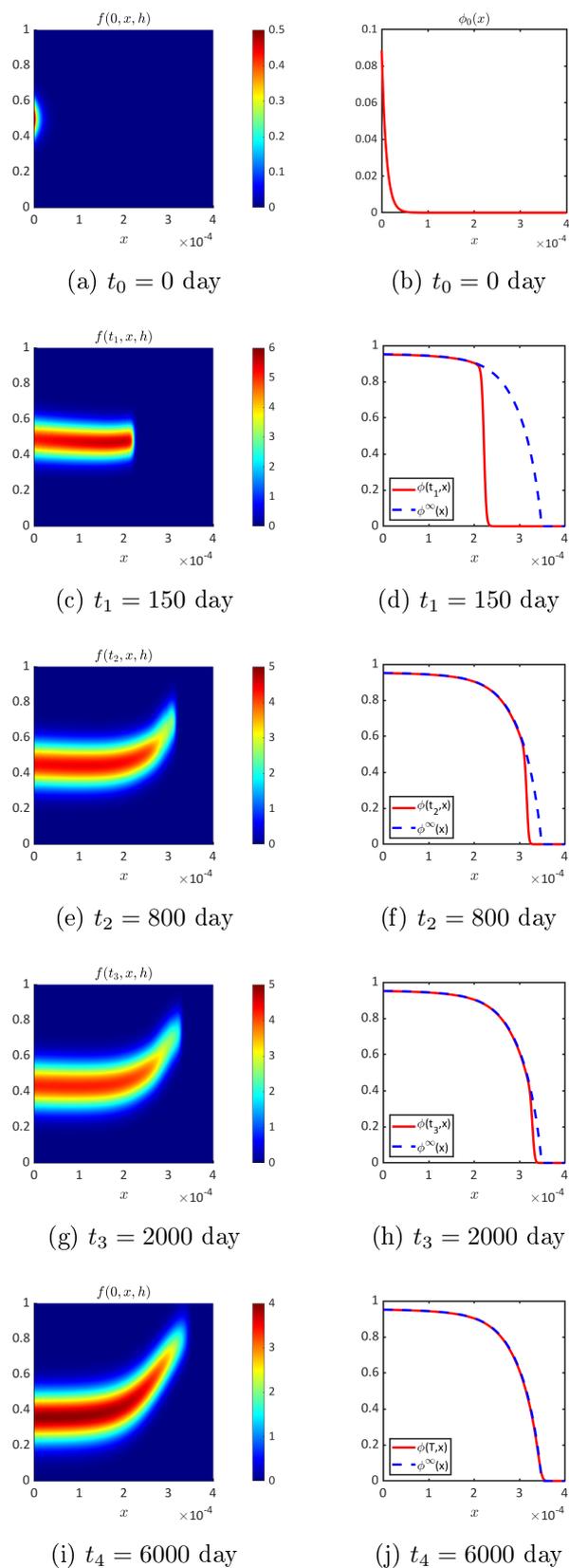


Figura 4.6: Evoluzione nel tempo di $f(t, x, h)$ (grafici a sinistra) e di $\phi(t, x)$ (grafici a destra).

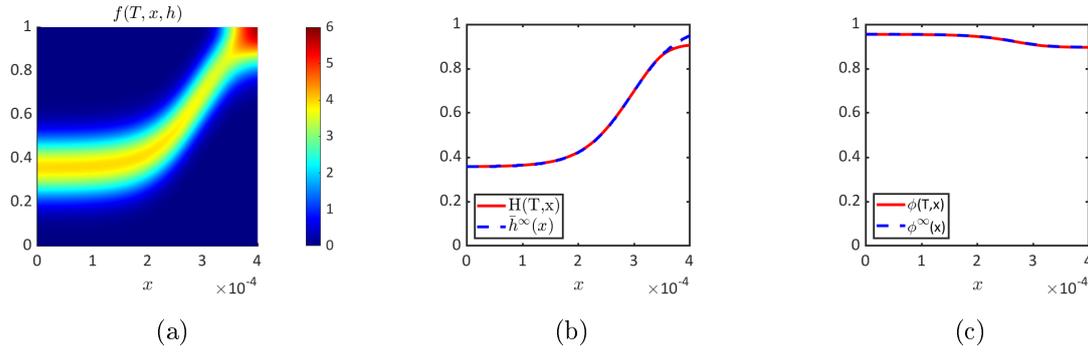


Figura 4.7: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra risultati analitici e simulazioni rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$.

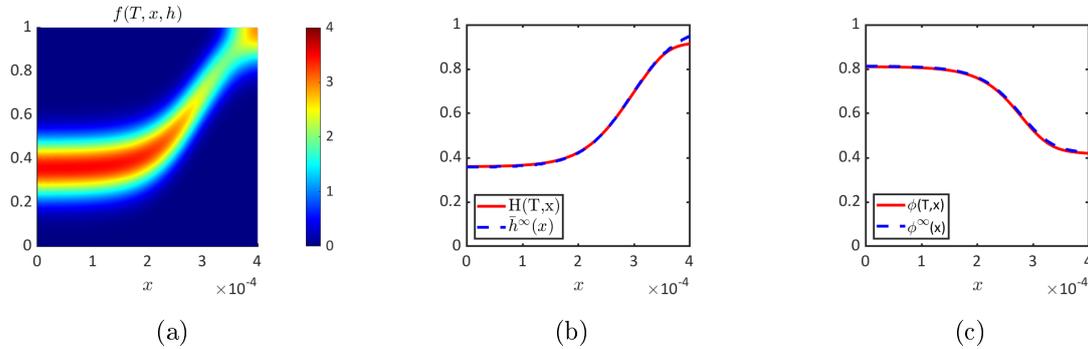


Figura 4.8: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra risultati analitici e simulazioni rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$ e $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$.

sante notare come tale parametro influenzi l'andamento di $\bar{h}^\infty(x)$, $H(T, x)$, $\phi^\infty(x)$ e di $\phi(T, x)$.

I risultati in cui in cui $b(c_g) = 1$ e $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ sono mostrati in Figura 4.8.

In particolare, coerentemente con quanto previsto in (4.4), le funzioni \bar{h}^∞ e $H(T, x)$ non variano. Invece varia l'andamento della frazione di cellule nello spazio, infatti i valori assunti variano tra 0.8 e 0.4 circa anziché tra 0.96 e 0.9.

Per completezza, in Figura 4.9 si presentano i risultati di una simulazione svolta nel caso in cui la funzione che tiene conto della disponibilità di ossigeno sia definita a tratti come in (2.3).

Nel primo grafico in Figura 4.9 si osserva che il fenotipo medio $H(T, x)$ non raggiun-

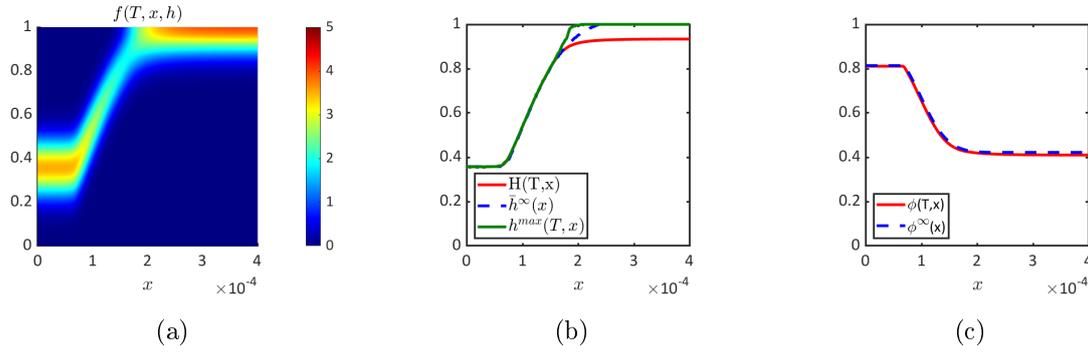


Figura 4.9: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra risultati analitici e simulazioni rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$, $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ e $a(c_o)$ è definita a tratti.

ge $\bar{h}^\infty(x)$ ma $h^{max}(T, x) = \max_{h \in [0,1]} f(T, x, h)$ all'ultimo istante temporale simulato si avvicina maggiormente al valore atteso. Il risultato è ragionevole poiché la soluzione si concentra sul bordo dove il valore medio non fornisce un risultato accurato del fenotipo medio. Inoltre, il livello di espressione del gene HIF-1 α cresce in spazio più rapidamente rispetto ai casi precedenti. Si osserva la stessa differenza nell'andamento della frazione di volume per il valore minimo 0.4 circa. Dunque si conclude che utilizzando la funzione $a(c_o)$ a tratti (come in Figura 4.2c), dove si distingue una condizione di normossia, una di ossigenazione moderata e una di ipossia, il tumore cresce meno in termini di frazione di volume (confrontare 4.8c e 4.9c) ma assume generalmente un metabolismo maggiormente anaerobico (confrontare 4.8b e 4.9b).

4.2 Caso 2: variazioni fenotipiche spontanee e indotte

Nel caso in cui ci siano sia variazioni fenotipiche spontanee che variazioni fenotipiche indotte si risolve la seguente equazione:

$$\partial_t f + \partial_h(fw) - \beta \partial_{hh}^2 f = Gf.$$

Per tempi molto lunghi, dall'analisi svolta sezione 3.2, si è concluso che:

$$\bar{h}^\infty(x) > \frac{q_g}{q_o + q_g} \quad \text{e} \quad \phi^\infty = \max \left\{ 0, \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta} \frac{1}{(\tilde{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} \right\}.$$

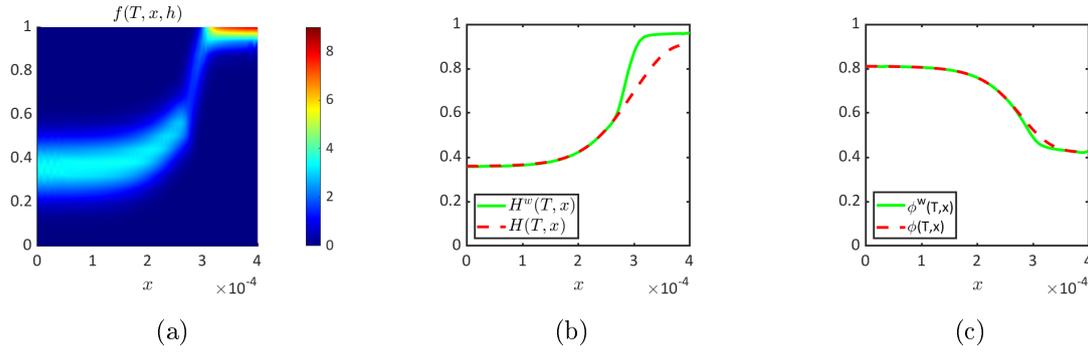


Figura 4.10: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra risultati analitici e simulazioni rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$, $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ e w definita in (2.17).

ovvero il termine di trasporto nella variabile h modifica i punti in cui si concentra la distribuzione di cellule tumorali.

La simulazione seguente è svolta nel caso in cui $a(c_o) = \frac{c_o}{M_o + c_o}$, $b(c_g) = 1$ e $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$.

Poiché entrambe le opzioni proposte in (2.17) e (2.18) sono ragionevoli, si presentano i risultati di entrambe le simulazioni rispettivamente in Figura 4.10 e 4.12.

Dato che in questo caso non si dispone di una caratterizzazione analitica esplicita di $\bar{h}^\infty(x)$ e di $\phi^\infty(x)$ si confrontano i risultati ottenuti nella nuova simulazione con $H(T, x)$ e $\phi^\infty(x)$ nel caso precedente di sole variazioni fenotipiche spontanee. In seguito, per indicare i risultati ottenuti nel caso $w \neq 0$, si utilizzerà l'apice w : $H^w(T, x)$ e $\phi^w(T, x)$.

In particolare, confrontando il fenotipo medio $H^w(T, x)$ con il fenotipo medio $H(T, x)$, che approssima ragionevolmente $\frac{q_g}{q_o + q_g}$, si osserva che la condizione (3.48) è rispettata. Nel caso in cui la presenza del termine di trasporto sia determinata da una sorta di insufficienza di ossigeno descritta in (2.17), si nota che inizialmente le curve di fenotipo medio e frazione di volume si sovrappongono esattamente a quelle del caso di sola diffusione, vedi Figura 4.10b e 4.10c. Infatti, analizzando il tasso w_1 in Figura 4.11, il termine di trasporto è presente solo nella zona finale del dominio preso in considerazione dove effettivamente il fenotipo medio cresce più rapidamente raggiungendo un plateau di circa 0.96 (i.e. metabolismo quasi esclusivamente anaerobico) per $x \approx 3 \times 10^{-4} \text{ m}$. Invece, nel caso in cui si utilizza il tasso w definito in 2.18, il fenotipo medio è ovunque maggiore di quello ottenuto in caso di sola

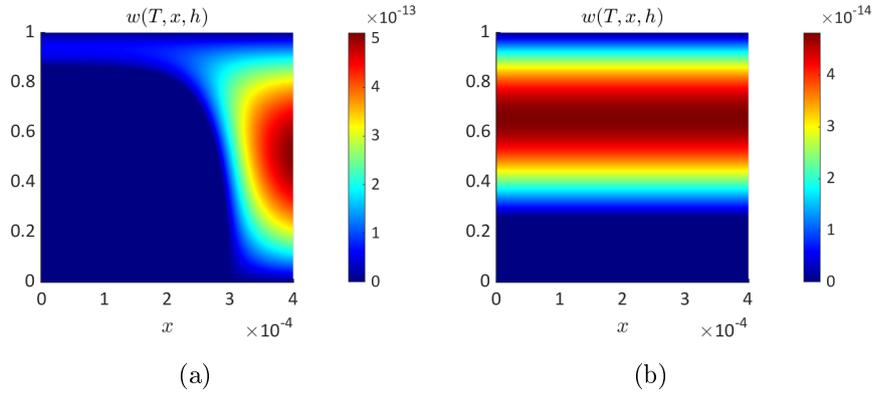


Figura 4.11: Confronto dei tassi w definiti rispettivamente in (2.17) (a) e in (2.18) (b).

diffusione e raggiunge il plateau di circa 0.96 per $x > 3 \times 10^{-4}$ m, come mostrato in Figura 4.12b. Nel primo caso si nota una crescita inferiore in termine di frazione di volume (Figura 4.12c) e l'adozione di un metabolismo maggiormente anaerobico, genericamente più aggressivo. Nel secondo caso invece, la frazione di volume non varia ma il metabolismo adottato è ovunque maggiormente anaerobico rispetto al caso in cui si considera solo la diffusione.

4.3 Caso 3: variazioni fenotipiche spontanee e trasporto nello spazio fisico

Nel caso in cui ci siano sia variazione fenotipiche spontanee che trasporto nello spazio fisico, si risolve la seguente equazione:

$$\partial_t f + \partial_x(fv) - \beta \partial_{hh}^2 f = Gf.$$

Per tempi molto lunghi, dall'analisi svolta nella sezione (3.3), si è concluso che:

$$\phi^\infty = \max \left\{ 0, \bar{\phi} - \frac{\xi}{\eta} \frac{1}{(\bar{q}(x, \bar{h}^\infty(x)) - 1)} \right\}$$

e

$$\begin{aligned} [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &< 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty)(\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &> 0 \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &> 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty)(\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &< 0 \\ [\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} &= 0, & \text{se } \mu(\bar{h}^\infty)(\partial_x \phi^\infty \partial_x \bar{h}^\infty) &= 0 \end{aligned}$$

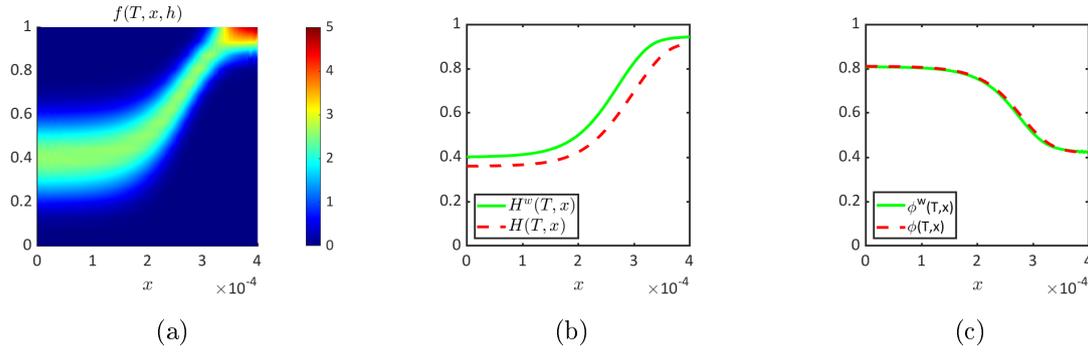


Figura 4.12: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra simulazioni con $w \neq 0$ e simulazioni con $w = 0$ rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$, $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ e w definita in (2.18).

In questo caso con l'apice v si indicano i risultati ottenuti dalle simulazioni in cui $v \neq 0$ mentre i valori senza l'apice fanno riferimento ai risultati delle simulazioni con sola diffusione. In Figura 4.13 si mostrano i risultati nel caso in cui $\xi = 2.5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$, $b(c_g) = 1$, $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ e la velocità è definita in (2.13) tramite la derivata in x di $\phi^v(t, x)$.

Dato che $\mu(\bar{h}^\infty) > 0$ e le simulazioni nel caso di sola diffusione hanno restituito risultati soddisfacenti, si può supporre ragionevolmente che in base ai grafici in Figura 4.13, $\partial_x \phi(T, x) < 0$ e $\partial_x \bar{h}(T, x) > 0$. Dunque dalla (3.50).

$$[\partial_h G(x, h, \phi^\infty)]_{h=\bar{h}^\infty} > 0 \quad \Rightarrow \quad \bar{h}^\infty < \frac{q_g}{q_o + q_g},$$

come si può osservare nel grafico in 4.13b. In Figura 4.14 sono mostrati due grafici in cui si confrontano le frazioni di volume, rispettivamente nel caso in cui la velocità sia identicamente nulla e il caso in cui sia non nulla, per uno stesso tempo fissato t . Nel grafico 4.14a si osserva che per un generico tempo $t_1 = 700 \text{ day}$ in cui nessuna delle due simulazioni ha raggiunto lo stato stazionario, la frazione di volume di cellule tumorali del modello che tiene conto della velocità si è espansa in una maggiore porzione del dominio Ω . Invece, il grafico 4.14b mostra che in $T = 2600 \text{ day}$ la frazione di volume di cellule tumorali del modello che tiene conto della velocità ha raggiunto lo stato stazionario mentre nell'altro caso la simulazione è ancora in evoluzione.

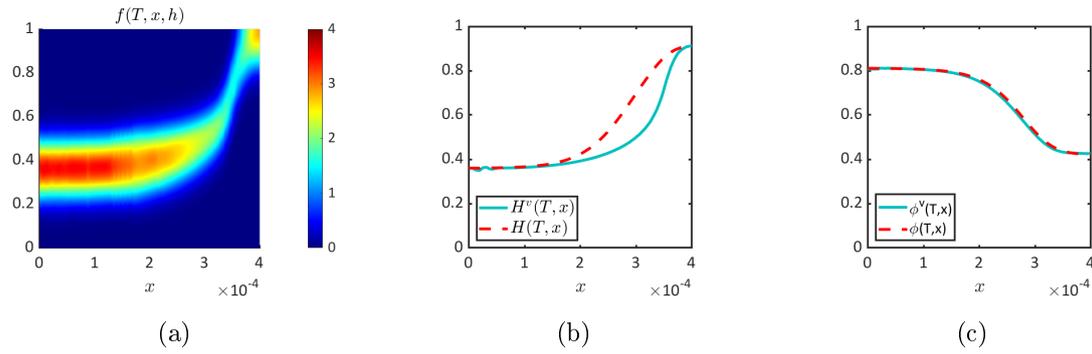


Figura 4.13: Distribuzione delle cellule tumorali al tempo T (a) e confronto tra simulazioni con $v \neq 0$ e simulazioni con $v \equiv 0$ rispettivamente del fenotipo selezionato (b) e della frazione di volume (c) nel caso in cui $b(c_g) = 1$, $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$ e v definita in (2.13).

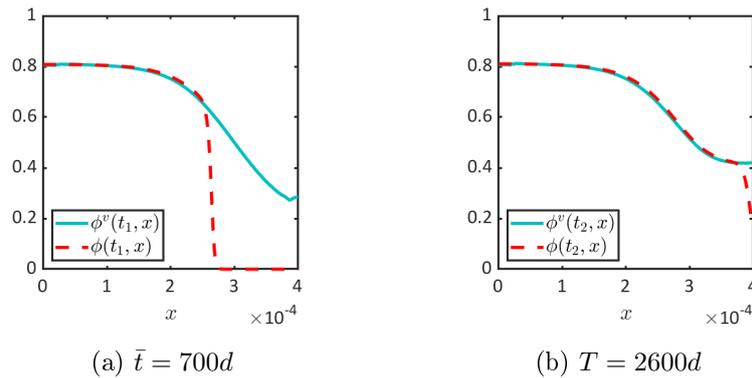


Figura 4.14: Confronto tra la frazione di volume ottenuta dalla simulazione con $v \neq 0$ e $v \equiv 0$ per due tempi differenti $t_1 = 700 \text{ day}$ (a) e $t_2 = 2600 \text{ day}$ (b) con $\xi = 2.5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$, $b(c_g) = 1$ e $\theta = 3 \text{ s}^{-1}$.

Capitolo 5

Conclusioni e possibili ricerche future

Conclusioni In questo lavoro di tesi è stato proposto un modello matematico che analizza l'evoluzione delle cellule tumorali e la loro capacità di adattamento in ambienti ipossici.

Il modello presentato e l'analisi svolta confermano la comparsa di variabilità intratumorale e la necessità di indagare maggiormente modelli non locali che comprendono una variabile interna fenotipica. Si è mostrato infatti che la sola frazione di volume delle cellule tumorali restituisce un'informazione parziale del fenomeno biologico preso in esame.

L'analisi qualitativa formale è stata di grande supporto durante il lavoro di tesi. I risultati teorici ottenuti sono stati uno strumento fondamentale nella comprensione del modello proposto e soprattutto nel corso della validazione delle simulazioni numeriche. Queste ultime confermano che le zone scarsamente ossigenate sono maggiormente popolate da cellule tumorali che hanno una più elevata espressione di fattore HIF-1 α e dunque un metabolismo maggiormente anaerobico che di solito è associato a fenotipi più aggressivi. In particolare, si è visto che l'ossigeno rappresenta il fattore abiotico determinante nell'evoluzione fenotipica delle cellule tumorali. Invece, il glucosio riveste un ruolo di maggiore rilievo nella descrizione della frazione di volume $\phi^\infty(x)$. Per tale motivo sono state esplorate diverse funzioni che tengono conto della disponibilità dei fattori abiotici coinvolti. Per quanto riguarda la transizione fenotipica, le funzioni proposte prendono separatamente in considerazione ossigeno e glucosio. Entrambi i casi hanno restituito risultati ragionevoli dal punto di vista biologico e coerenti con l'analisi qualitativa. Per ottenere una conclusione che sia maggiormente robusta, i risultati andrebbero comparati con evidenze sperimentali

con l'obiettivo di supportare la comprensione di quale sia la causa dell'adozione di un metabolismo maggiormente anaerobico anche in condizioni non ipossiche. L'inclusione della variazione fenotipica dovuta allo stress ipossico è comunque da tenere in considerazione per spiegare le anomalie metaboliche caratteristiche delle cellule tumorali.

In generale, il modello proposto è affetto da una discreta variabilità data dalla presenza di parametri chiave e funzioni non noti. Si potrebbe dunque analizzare maggiormente il loro impatto all'interno del modello o ricercare più approfonditamente esperimenti che diano indicazioni in merito al range di validità di tali parametri.

Probabilmente le simulazioni svolte con il set di parametri scelto e nel caso in cui la convezione domina sulla diffusione non sono gestite in modo adeguato dal software utilizzato. Per tale motivo non sono stati riportate le simulazioni svolte nel caso in cui ci sia trasporto sia nello spazio fenotipico che in quello fisico. I tempi di simulazione risultano eccessivamente lunghi e i risultati non sono completamente soddisfacenti. È necessario indagare più approfonditamente il set di parametri scelto e il termine di velocità preso in considerazione. Un'alternativa è la risoluzione del modello in MATLAB.

Per valutare il caso in cui le concentrazioni di ossigeno e di glucosio sono in equilibrio è necessario rivedere i parametri chiave delle reazioni considerate. Infine, è stato simulato anche il caso in cui ossigeno e glucosio non sono assegnati ma la scelta del fattore di scala che moltiplica il termine di consumo non lineare deve essere maggiormente approfondita. Dunque, poiché i risultati sono parziali, non vengono riportati.

Possibili ricerche future Si conclude con alcuni spunti di ricerche future.

L'estensione naturale del lavoro svolto è considerare il caso bidimensionale in spazio, ad esempio modellizzando l'evoluzione di una corda tumorale o di un tumore vascolarizzato. Così facendo si potrebbero confrontare i risultati ottenuti con i modelli proposti in [2, 1, 27].

Un'altra opzione prevede di estendere il modello proposto al caso di due variabili interne. La seconda variabile potrebbe tenere conto della resistenza ad acidità che sviluppano i tumori poiché è noto che lo switch metabolico causi un'acidificazione del tessuto circostante. Questo significherebbe dover includere tra i fattori abiotici considerati anche il lattato, elemento di scarto della glicolisi e responsabile dell'aci-

dificazione [28]. Seguendo questa linea si potrebbe studiare il caso di afflusso non costante di ossigeno e glucosio.

Un ultimo spunto di ricerca proposto si concentra invece sul considerare le relazioni tra la frazione di volume di cellule tumorali e la frazione di volume di cellule sane. Sarebbe utile inserire maggiori dettagli riguardo la velocità delle cellule e studiare le interazioni meccaniche tra cellule. Inoltre, sempre considerando il mezzo poroso saturo, si può estendere il modello con un vincolo di saturazione non costante ma variabile in spazio, ovvero $\bar{\phi}(x)$.

Bibliografia

- [1] Astanin, S. and Tosin, A., *Mathematical model of tumour cord growth along the source of nutrient*, Math. Mod. Nat. Phen., in press. (2007)
- [2] Astanin S. and Preziosi L., *Mathematical modelling of the Warburg effect in tumour cords*, Journal of Theoretical Biology 258 578–590 (2009).
- [3] Astanin S. and Preziosi L., *Multiphase Models of Tumour Growth Selected Topics in Cancer Modeling* pp 1-31 (2010)
- [4] Bellance N., Jose C., Rossignol R. *Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation: A tumor's dilemma?* Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics Volume 1807, Issue 6, Pages 552-561 (2011)
- [5] Chaplain M.A.J., Graziano L., Preziosi L., *Mathematical Modelling of the Loss of Tissue Compression Responsiveness and its Role in Solid Tumour Development*
- [6] Chisholm R., Lorenzi T. and Lorz A., *Effect of an advection term in nonlocal Lotka-Volterra equations*, COMMUN. MATH. SCI. International Press Vol. 14, No. 4, pp. 1181–1188 (2016)
- [7] DeAngelis D.L., Mulholland P.J., *Surface—Subsurface Exchange and Nutrient Spiraling in Streams and Ground Waters*, (2000).
- [8] Feng W., Xue T., Huang S., Shi Q., Tang C., Cui G., Yang G., Gong H., Guo H., *HIF-1 α promotes the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells via the IL-8–NF- κ B axis*, Cell Mol Biol Lett. 23-26, 2018.
- [9] Fiandanca G., Delitala M. and Lorenzi T, *A mathematical study of the influence of hypoxia and acidity on the evolutionary dynamics of cancer*, arXiv preprint (2020).

- [10] Giatromanolaki A., Koukourakis M., Sivridis E., Turley H., Talks K., Pezzella F., Gatter K. and Harris A., *Relation of hypoxia inducible factor 1 α and 2 α in operable non-small cell lung cancer to angiogenic/molecular profile of tumours and survival*, British Journal of Cancer, 85 (2001), p. 881.
- [11] Greijer A. E. and Van der Wall E., *The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis*, Journal of Clinical Pathology, Vol. 57 Issue 10 (2004).
- [12] Hamid R. Molavian, Mohammad Kohandel, Michael Milosevic and Sivabal Sivaloganathan, *Fingerprint of cell metabolism in the experimentally observed interstitial pH and pO₂ in solid tumors*, Cancer Research, 69(23), 9141-9147 (2009)
- [13] Hayashi M., Sakata M., Takeda T. et al., *Induction of glucose transporter 1 expression through hypoxia-inducible factor 1 α under hypoxic conditions in trophoblast-derived cells*, Journal of Endocrinology, Vol. 183, no. 1, pp. 145–154, 2004.
- [14] Isobe T., Aoyagi K., Koufuji K., Shirouzu K., Kawahara A., Kawahara A., Taira T., Kage M., *Clinicopathological significance of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) expression in gastric cancer.*, International journal of clinical oncology (2013)
- [15] Lorenzi T., Perthame B. and Ruan X., *Invasion fronts and adaptive dynamics in a model for the growth of cell populations with heterogeneous mobility*, arXiv:2007.13084v2 [math.AP] 20 Oct 2020.
- [16] Lorz A., Mirrahimi S. e Perthame B., *Dirac mass dynamics in multidimensional nonlocal parabolic equations* arXiv:1011.1768v3 [math.AP] (2020)
- [17] Liberti M.V. e Locasale J.W., *The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells?*, doi: 10.1016/j.tibs.2015.12.001 (2016)
- [18] Maimon E. Hubbi and Gregg L. Semenza, *Regulation of cell proliferation by hypoxia-inducible factors*, American Journal of Phisiology, Vol. 309 Issue 12 Pages C775-C782, (2015).

- [19] Nora H. Barrak, Maitham A. Khajah and Yunus A. Luqmani, *Hypoxic environment may enhance migration/penetration of endocrine resistant MCF7- derived breast cancer cells through monolayers of other non-invasive cancer cells in vitro*, Scientific Reports volume 10, Article number: 1127 (2020)
- [20] Kim J. and Dang C.V., *Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect*, Cancer Research, Vol. 66 (18), 8927-8930, 2006.
- [21] Perthame B., *Transport Equations in Biology*, Birkhauser (2007)
- [22] Preziosi L. e Tosin A., *Multiphase modelling of tumour growth and extracellularmatrix interaction: mathematical tools and applications*, Journal of Mathematical Biology, Vol. 58, Article number: 625 (2009).
- [23] Semenza G.L., *The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE*, N Engl J Med 2011;365:537-47.
- [24] Smallbone, K., Gatenby, R.A., Gillies, R.J., Maini, P.K., Gavaghan,D.J., *Metabolic changes during carcinogenesis: potential impact on invasiveness*. J.Theor.Biol. (2007) 244,703–713.
- [25] Shiratori, R., Furuichi, K., Yamaguchi, M. et al. *Glycolytic suppression dramatically changes the intracellular metabolic profile of multiple cancer cell lines in a mitochondrial metabolism-dependent manner*. Sci Rep 9, 18699 (2019).
- [26] Vaupel P., Thews O. and Hoeckel M., *Treatment resistance of solid tumors: role of hypoxia and anemia*, Medical Oncology, 18, 243 (2001)
- [27] Villa C., Chaplain M.A.J. and Lorenzi T., *Modelling the emergence of phenotypic heterogeneity in vascularised tumours*, arXiv preprint (2020)
- [28] Tang X., Joseph E Lucas, Ling-Yu Chen J., LaMonte G., Wu J., Changsheng Wang M., Koumenis C. and Chi J.T., *Functional interaction between responses to lactic acidosis and hypoxia regulates genomic transcriptional outputs*, Cancer Research, 72(2), 491-502 (2012)
- [29] COMSOL Multiphysics[®], url: <https://www.comsol.it>