

POLITECNICO DI TORINO

Laurea Magistrale in Ingegneria Matematica



Tesi di Laurea Magistrale

Analisi e modellizzazione tramite equazioni differenziali della crescita e della risposta all'immunoterapia del glioblastoma multiforme

Relatori

Prof. Chiara GIVERSO

Francesca BALLATORE

Candidato

Lorenzo SCOLARIS

Luglio 2024

Abstract

Il Glioblastoma Multiforme (GBM) è la patologia tumorale più diffusa tra quelle che colpiscono il cervello con decine di migliaia di casi ogni anno. Le terapie mediche allo stato attuale sono insufficienti nel contrastarne lo sviluppo, questo ha motivato una sempre maggiore ricerca su nuovi approcci terapeutici tra i quali il più prominente è l'immunoterapia. In questo contesto i modelli matematici possono essere un importante strumento che può assistere l'oncologia nello studio di nuove terapie fornendo previsioni e permettendo di ottimizzare gli studi clinici.

In questo lavoro vengono presentati due modelli basati sulle equazioni differenziali, il primo alle derivate ordinarie (ODE), il secondo alle derivate parziali (PDE), con l'obiettivo di descrivere la crescita delle cellule tumorali nel decorso della malattia e la loro interazione con il sistema immunitario ed un eventuale trattamento immunoterapico consistente in un'infusione di linfociti T citossici.

Nel capitolo 1 vengono preliminarmente forniti dei cenni sulla biologia del GBM e sullo stato dell'arte della scienza medica per il suo trattamento, nel capitolo 2 sono descritte le caratteristiche e i metodi della modellistica matematica per lo studio dei tumori.

Nel capitolo 3 viene quindi proposto un modello basato su un sistema di ODE capace di descrivere la proliferazione del tumore e l'effetto dell'infusione sulla popolazione di cellule maligne. Gli equilibri del sistema e l'effetto della terapia sulle traiettorie sono analizzati sia analiticamente che attraverso metodi numerici, vengono quindi ricavate le condizioni per l'efficacia della terapia e sono mostrati gli studi di biforcazione per i parametri.

Nel capitolo 4 si presenta un modello PDE basato sul precedente con l'aggiunta di un termine diffusivo per ciascuna equazione e di un termine chemiotattico per i linfociti con l'obiettivo di descrivere l'evoluzione spaziale del tumore. Per prima cosa sono studiati i termini diffusivi mostrando come la loro aggiunta non dia origine a instabilità. Viene quindi discussa l'introduzione di un'equazione di reazione-diffusione per descrivere l'evoluzione spazio-temporale di un chemioattraente secreto dal tumore.

Nel capitolo 5 viene ricavata la formulazione variazionale debole del problema da poter utilizzare per un metodo a elementi finiti (FEM). Per simulare il modello viene scritto un programma nel linguaggio Python utilizzando le librerie di FEniCS, una piattaforma di calcolo per la soluzione di PDE attraverso FEM. Il sistema è risolto dapprima numericamente in una semplice geometria bidimensionale per testare la stabilità del codice e il comportamento del modello e viene fatta una analisi di sensibilità in modo da quantificare l'importanza relativa di ciascun parametro sul decorso del trattamento del tumore. Il modello è quindi risolto nella geometria reale

tridimensionale del cervello ottenuta da immagini mediche di risonanza magnetica. Vengono utilizzati i tensori di diffusione ottenuti con una tecnica di risonanza, il DTI, capace di descrivere l'orientamento delle fibre nel cervello per caratterizzare il moto anisotropo delle cellule ed è analizzato anche in questo caso l'effetto della terapia nel contrastare l'espansione del tumore.

Il modello ODE presentato è capace di fornire indicazioni sul trattamento immunoterapico del GBM permettendo di individuare un valore soglia che è necessario raggiungere perchè esso sia efficace.

Le simulazioni sulla geometria del cervello permettono di prevedere le aree invase dal tumore durante la sua crescita e l'interazione con i linfociti che attaccano il tumore. Queste previsioni possono essere rese specifiche per ogni paziente utilizzando i dati del suo DTI, permettendo di fornire prognosi.

Gli studi di sensibilità forniscono inoltre un'indicazione sugli aspetti cruciali dell'interazione tra tumore e sistema immunitario che influenzano la progressione della malattia.

Questo lavoro si propone di fornire idee e previsioni quantitative per nuovi trattamenti immunoterapici del GBM, nella speranza che future ricerche mediche possano sviluppare terapie efficaci contro questa grave malattia.

Table of Contents

List of Tables	VII
List of Figures	VIII
Acronimi	XII
1 Contesto biologico	1
1.1 La patologia tumorale	1
1.2 Anatomia del cervello	4
1.3 Il Glioblastoma Multiforme	8
1.3.1 Terapie per il GBM	9
1.3.2 Immunoterapia	10
2 Modelli matematici	14
2.1 Modelli tumorali	14
2.2 Modelli per immunoterapia	17
3 Modello ODE globale per il trattamento tramite immunoterapia del glioma	21
3.1 Descrizione del modello ODE	21
3.1.1 Dinamica del sistema	22
3.2 Analisi del sistema ODE	22
3.2.1 Equilibri e stabilità	23
3.2.2 Studio numerico del sistema al variare di S	27
3.2.3 Studio numerico degli altri parametri	29
3.2.4 Risultati del modello	33
4 Modello locale in spazio e tempo	36
4.1 Derivazione dell'equazione di reazione-diffusione-trasporto	36
4.2 Modello diffusione-reazione	37
4.2.1 Equazione di Fisher-Kolmogorov	38

4.2.2	Stabilità lineare del sistema con diffusione	40
4.3	Modello trasporto-diffusione-reazione: introduzione della chemiotassi	42
5	Simulazioni numeriche	44
5.1	Implementazione numerica	44
5.2	Scelta dei parametri	46
5.3	Simulazioni 2D	48
5.3.1	Setup per le simulazioni numeriche	48
5.4	Simulazioni nella geometria semplificata	52
5.4.1	Espansione del tumore in assenza di terapia	52
5.4.2	Flusso chemiotattico su G	53
5.4.3	Introduzione del chemioattraente	54
5.4.4	Soluzione numerica del sistema completo	58
5.4.5	Analisi di sensibilità	59
5.5	Simulazioni nella geometria 3D del cervello	63
5.5.1	Setup per le simulazioni numeriche	63
5.5.2	Soluzione numerica del caso isotropo	68
5.5.3	Introduzione dell'anisotropia	72
5.5.4	Segmentazione in diversi tipi di tessuto	75
6	Conclusioni e futuri sviluppi	81
A	Documentazione codice	84
	Bibliography	119

List of Tables

1.1	Caratteristiche del Glioblastoma [5, 17, 20]	9
2.1	Caratteristiche dei modelli in silico per l'immunoterapia [29]	16
3.1	Set di parametri per lo studio del sistema ODE	22

List of Figures

1.1	Schema degli hallmarks, riprodotto con licenza [7]	3
1.2	Principali parti del cervello [9] (immagine rielaborata da [10]) . . .	5
1.3	Corteccia cerebrale: alcune aree di Brodman con le relative funzioni [9] (immagine rielaborata da [10])	6
1.4	Struttura tipica di un neurone (immagine riprodotta da [11])	6
1.5	Sezione coronale di un cervello in cui è evidenziata la divisione in materia grigia e materia bianca (immagine riprodotta da [12] con licenza https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)	7
1.6	Meccanismo di azione della terapia tramite OV _s (immagine tratta da [21])	12
1.7	Meccanismi di azione di alcune delle terapie descritte (immagine tratta da [23])	13
3.1	Valori di G all'equilibrio per diverse intensità di terapia	24
3.2	Valori di C all'equilibrio per diverse intensità di terapia	24
3.3	Diagramma di biforcazione	25
3.4	Intensità della terapia sufficiente per GAS	27
3.5	Intensità della terapia e ritratto di fase nel caso $S = 60 \cdot S_{cr}$	28
3.6	Intensità della terapia e ritratto di fase nel caso $S = 130 \cdot S_{cr}$	29
3.7	Biforcazioni di α_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$	30
3.8	Biforcazioni di k_G per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$	31
3.9	Biforcazioni di k_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$	31
3.10	Biforcazioni di μ_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$	32
3.11	Evoluzione del sistema per $S = b_C$ e $G(0)=0.005$	33
3.12	Evoluzione del sistema per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.3$	34
3.13	Evoluzione del sistema per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.3$	34
3.14	Evoluzione del sistema per $S = 130 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.5$	35
4.1	Controllo della condizione (4.38)	42
4.2	Controllo della condizione (4.39)	42

5.1	Condizioni iniziali per il tumore e termine sorgente S_T per $S_0 = 10^2$	50
5.2	Mesh base uniforme creata da FEniCS e i due successivi passi step di raffinamento della mesh	50
5.3	Crescita incontrollata per $t = 2400$ h	51
5.4	Avanzamento del fronte per concentrazioni maggiori di 0.1, 0.2 e 0.5 volte la carrying capacity	52
5.5	concentrazione e gradiente di G per $t = 2400$ h	53
5.6	Chemiotassi rispetto a G: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400$ h	54
5.7	Introduzione del chemioattraente: concentrazione G, di T e gradiente di T per $t = 2400$ h	55
5.8	Coefficiente χ costante: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400$ h	55
5.9	concentrazione T esternamente al tumore per $t = 1200$ h	57
5.10	Coefficiente χ saturato: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400$ h	57
5.11	Concentrazione di G al tempo $t = 600$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	58
5.12	Concentrazione di G al tempo $t = 1200$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	58
5.13	Concentrazione di G al tempo $t = 2400$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	59
5.14	Effetto della terapia sulla massa del tumore definita come integrale della densità normalizzata	59
5.15	Estensione del tumore al tempo $t = 600$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	60
5.16	Estensione del tumore al tempo $t = 1200$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	60
5.17	Estensione del tumore al tempo $t = 2400$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$	60
5.18	Effetto della terapia sull'estensione del tumore	61
5.19	PRCC massa del tumore	63
5.20	PRCC estensione del tumore	63
5.21	Viste laterale, frontale e dall'alto del dominio	64
5.22	Condizioni iniziali per il tumore con centro in (217 cm, 277 cm, 17 cm)	65
5.23	Nodi di forniti per la costruzione della mesh e dettaglio dei nodi per il raffinamento	66
5.24	Dettaglio della mesh con centro in (265 cm, 277 cm, 17 cm)	66
5.25	Sezione trasversale delle mesh utilizzate, in senso orario partendo dall'alto a sinistra centro del tumore in (217 cm, 277 cm, 17 cm), (265 cm, 277 cm, 17 cm), (289 cm, 273 cm, 17 cm), (193 cm, 277 cm, 17 cm)	67

5.26	Concentrazione di cellule tumorali, gradiente del chemioattraente e concentrazione del chemioattraente all'esterno del tumore per $t = 1200$ h	68
5.27	Espansione per $t = 2400$ h e progressione del del tumore	69
5.28	Dimensione del tumore: vista laterale, frontale e dall'alto	70
5.29	Estensione del tumore a $t = 600$ h per $S_0 = 0, 50, 1000$	70
5.30	Estensione del tumore a $t = 1200$ h per $S_0 = 0, 50, 1000$	71
5.31	Effetto della terapia sul numero di cellule	71
5.32	Effetto della terapia sul volume del tumore	72
5.33	tensore delle direzioni preferenziali: elementi diagonali $\mathbf{D}_{pd}^{11}, \mathbf{D}_{pd}^{22}, \mathbf{D}_{pd}^{33}$	74
5.34	tensori delle direzioni preferenziali: elementi non diagonali $\mathbf{D}_{pd}^{13}, \mathbf{D}_{pd}^{23}, \mathbf{D}_{pd}^{13}$	74
5.35	Segmentazione: sezione sagittale, coronale e trasversale	76
5.36	Fluido cerebrospinale: vista laterale, frontale e superiore	76
5.37	profili di crescita del tumore con diverse condizioni iniziali per $t = 0, 400, 800, 1200$ h	77
5.38	Sviluppo del tumore per diverse condizioni iniziali, $t = 600$ h	77
5.39	Sviluppo del tumore per diverse condizioni iniziali, $t = 1200$ h	78
5.40	Tumore nell'emisfero destro: $t = 600$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$	78
5.41	Tumore nell'emisfero destro: $t = 1200$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$	79
5.42	Tumore nell'emisfero sinistro: $t = 600$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$	79
5.43	Tumore nell'emisfero sinistro: $t = 1200$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$	79
5.44	Evoluzione del numero di cellule del tumore per i due siti e diverse intensità di terapia	80
5.45	Evoluzione del volume del tumore per i due siti e diverse intensità di terapia	80

Acronimi

GBM

Glioblastoma Multiforme

CNS

Sistema nervoso centrale (Central Nervous System)

BBB

Barriera ematoencefalica (Blood-Brain Barrier)

TGF- β

fattore di crescita trasformante beta (Transforming Growth Factor)

CTL

Citoxic T-Lymphocyte

CAR-T

linfociti-T chimerici (Chimeric Antigen Receptor T-Cell)

OVs

Virus oncolitici (Oncolytic Viruses)

TAMs

Tumor Associated Macrophage

WHO

World Health Organization

ABM

Agent Based Models

CPM

Cellular Potts Models

CA

Cellular Automata

ODE

Equazione differenziale ordinaria (Ordinary Differential Equation)

PDE

Equazione differenziale alle derivate parziali (Partial Differential Equation)

DDI

Instabilità di Turing (Diffusion Driven Instability)

DTI

Risonanza magnetica con tensore di diffusione (Diffusion Tensor Imaging)

MRI

Imaging a risonanza magnetica (Magnetic Resonance Imaging)

FEM

Metodo degli elementi finiti (Finite Element Method)

PRCC

Partial Rank Correlation Coefficient

Chapter 1

Contesto biologico

In questo capitolo verrà fornito un contesto biologico del problema a partire dalla descrizione dei meccanismi di formazione tumorale e dei tratti comuni del cancro proseguendo con alcune nozioni basiche di anatomia cerebrale. Verranno successivamente illustrate le principali caratteristiche del Glioblastoma Multiforme e delle terapie consolidate ed emergenti per il suo trattamento.

1.1 La patologia tumorale

Il cancro è un insieme di malattie caratterizzate da una crescita e diffusione incontrollata di cellule anomale che, se non contrastata, può portare al decesso [1]. E' diffuso in tutte le società umane e rappresenta la seconda causa di morte a livello mondiale dopo i disturbi cardiovascolari [2].

La nascita di un tumore, detto anche neoplasia, è un processo composto da diversi step causati da progressive alterazioni genetiche che portano alla formazione di cellule di malignità crescente a partire da un'unica cellula progenitrice [3]. Il primo cambiamento è solitamente l'alterazione dei meccanismi che regolano la naturale riproduzione cellulare, portando ad una proliferazione eccessiva sebbene le altre caratteristiche rimangano invariate, condizione nota come iperplasia. In seguito, anche dopo diversi anni, una delle cellule del tessuto iperplastico può subire nuove mutazioni genetiche che causano anomalie nella forma e nell'orientamento nelle sue discendenti, questa condizione viene definita displasia. Ulteriori mutazioni possono poi avvenire portando il processo ad essere irreversibile, alla nascita di un tumore che inizialmente è 'in situ'. Con la rottura della membrana basale e l'espansione nei tessuti circostanti il tumore diviene invasivo. La prima fase della crescita tumorale è avascolare: i nutrienti giungono alle cellule tumorali tramite diffusione raggiungendo solo quelle poste all'esterno della massa. La conformazione tipica in questa fase è

quella di uno sferoide con uno strato esterno nel quale le cellule proliferano mentre all'interno tendono a essere prima quiescenti e poi progressivamente a morire per effetto della privazione di ossigeno e nutrienti, formando un nucleo necrotico. La limitata efficienza dei processi diffusivi permettono al tumore una crescita fino ad una dimensione massima tipica di pochi millimetri. L'ipossia cellulare porta quindi ad una espansione nei tessuti e alla secrezione da parte delle cellule tumorali di segnali chimici come il 'vascular endothelial growth factor' (VEGF) che promuovono la formazione di una rete di nuovi vasi sanguigni. Essa attraversa il tumore nutrendolo e permettendo ad esso di riprendere la sua crescita. Questi nuovi vasi presentano caratteristiche anomale quali una struttura irregolare ed intricata rispetto a quelli fisiologici e una maggiore permeabilità. La fase di crescita vascolare porta inoltre alla possibilità per le cellule tumorali di invadere tessuti anche distanti sfruttando il sistema circolatorio: esse infatti possono penetrare nei vasi sfruttando la minore coesione della parete dei vasi tumorali. Le cellule migrate portano alla formazione di nuovi tumori detti metastasi in nuove parti dell'organismo aggravando ulteriormente la situazione [4, 5].

Hallmarks Perchè un tumore maligno si sviluppi sono necessarie diverse modifiche genetiche. Douglas Hanahan e Robert Weinberg hanno proposto un insieme di tratti che, sebbene possano essere acquisiti in diverso ordine e attraverso modifiche a differenti geni, sono virtualmente presenti in tutti i tipi di cancro [3]. Con il progredire della ricerca gli stessi autori hanno in seguito aggiunto altre caratteristiche comuni [6, 7] I tratti comuni proposti, alcuni dei quali descritti nel paragrafo precedente, sono:

- la produzione eccessiva e autonoma dei segnali di crescita e l'insensibilità agli inibitori fisiologici
- la disattivazione dei meccanismi di morte cellulare programmata (apoptosi)
- la tendenza all'invasione dei tessuti e a metastasizzare
- la capacità di replicazione infinita collegata ottenuta tramite enzimi chiamati telomerasi che ripristinano la lunghezza dei cromosomi permettendo illimitate mitosi
- la promozione dell'angiogenesi
- la transizione ad un metabolismo basato sulla glicolisi anaerobica anche in presenza di ossigeno, la ragione di questo cambio è ancora oggetto di studio sebbene sia stato proposto che questo faciliti l'anabolismo tramite la presenza di prodotti intermedi, esso causa inoltre un'abbassamento del pH nello spazio intercellulare che si traduce in un vantaggio competitivo nei confronti delle cellule sane più sensibili all'acidità

- la capacità di evadere la sorveglianza del sistema immunitario sia attraverso la produzione di fattori immunosoppressivi che attraverso l'effetto di cellule infiammatorie come i linfociti T regolatori (T-regs)
- l'alterazione dei processi di differenziazione delle cellule che possono cambiare il tipo di specializzazione o invertirla tornando ad uno stato di staminali
- la presenza di senescenza sia nelle cellule cancerose che in quelle associate al tumore

Hanahan e Weinberg inoltre propongono quattro cosiddette caratteristiche abilitanti che sono responsabili o influenzano delle caratteristiche del cancro:

- l'instabilità genomica che porta a mutazioni
- la capacità di produrre processi infiammatori
- la presenza di microbiomi in particolare batterici
- l'attività dei meccanismi di controllo genetico fisiologici

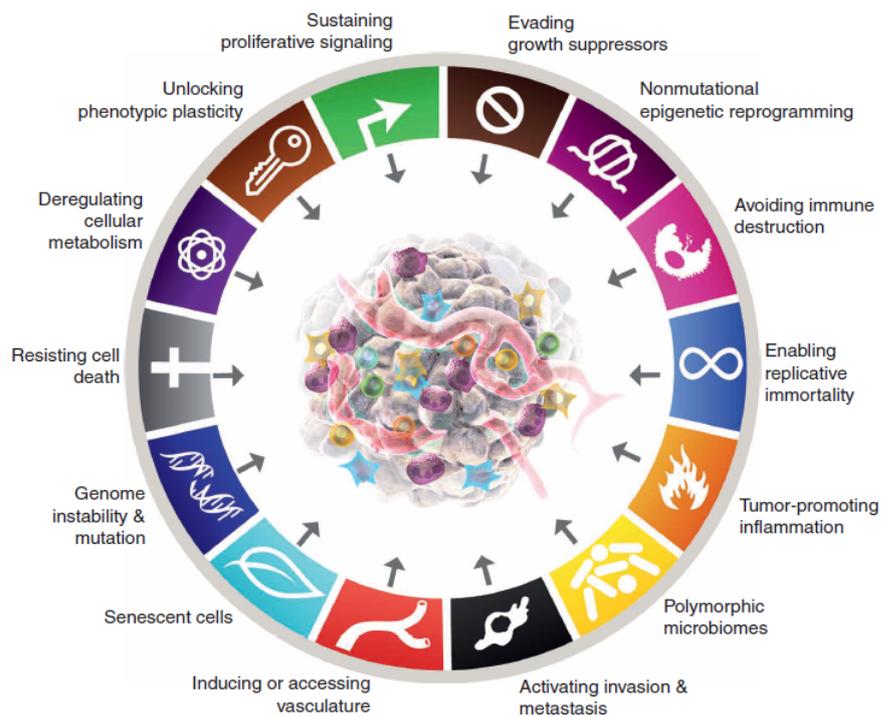


Figure 1.1: Schema degli hallmarks, riprodotto con licenza [7]

Classificazione I tumori maligni vengono solitamente classificati in base al tipo di tessuto cui appartengono le cellule in cui si sviluppa (tipo istologico) e in base alla posizione del corpo in cui si sviluppano. Dal primo punto di vista possono essere raggruppati in [1, 8] sei gruppi principali.

- **Carcinomi:** hanno origine dai tessuti epiteliali come la pelle, le membrane che rivestono gli organi o nelle ghiandole (definito adeno-carcinomi). Comprende oltre l'80 % delle diagnosi.
- **Sarcomi:** si sviluppano nei tessuti connettivi come ossa, muscoli, tendini, cartilagini o tessuto adiposo.
- **Mielomi:** colpiscono le plasmacellule del midollo osseo deputate a produrre immunoglobuline.
- **Leucemie:** tumori del sangue che si sviluppano solitamente nel midollo osseo e generano un alto numero di cellule ematiche anormali.
- **Linfomi:** si sviluppano nelle ghiandole del sistema linfatico o nei linfonodi e hanno origine da mutazioni dei linfociti.
- **Neoplasie di tipo misto.**

1.2 Anatomia del cervello

Il cervello è l'organo deputato al pensiero, al controllo dei movimenti e all'elaborazione degli stimoli raccolti dagli organi di senso. Esso è la parte più importante del sistema nervoso umano e, insieme al midollo spinale, compone il sistema nervoso centrale (CNS).

Struttura del cervello Il cervello umano presenta una particolare complessità, maggiore di quella di qualsiasi altro organo, esso può essere primariamente suddiviso in tre porzioni comuni a tutti i mammiferi [9].

- L'encefalo anteriore o cerebrum, situato superiormente e ulteriormente suddiviso nei due emisferi cerebrali, è la parte di maggiori dimensioni e si occupa dell'elaborazione di percezioni e pensieri oltre ad essere dove la memoria viene fisicamente conservata.
- Il cervelletto o cerebellum che compone la parte inferiore e posteriore del cervello svolge le funzioni di controllare e coordinare i movimenti volontari.

- Il tronco encefalico, dal quale si sviluppano encefalo e cervelletto durante lo sviluppo embrionale, connette questi ultimi e il midollo spinale fungendo da connessione per la trasmissione di informazioni. Svolge inoltre la funzione di regolare le funzioni vitali come la respirazione.

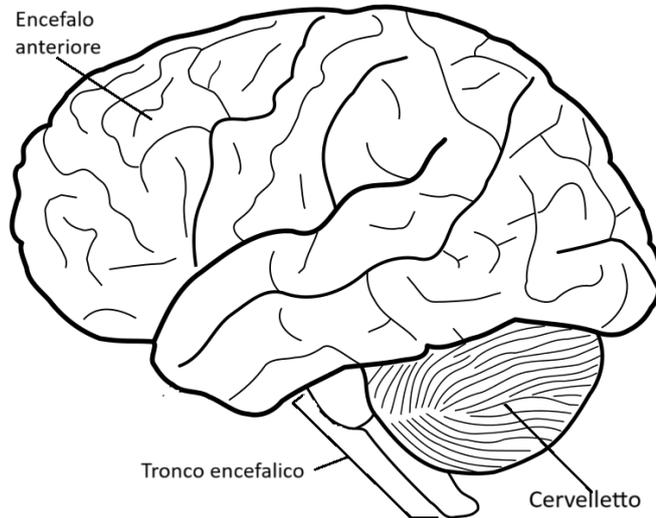


Figure 1.2: Principali parti del cervello [9] (immagine rielaborata da [10])

La struttura più importante del cerebrum è la corteccia cerebrale, essa è divisa in aree distinte per organizzazione e composizione delle cellule. Queste sono state individuate e classificate dal neuroanatomico tedesco Korbinian Brodmann che propose nel 1909 una suddivisione in 52 regioni. Studi successivi hanno mostrato come a ciascuna di queste corrispondano funzioni e compiti specifici come mostrato in figura 1.3.

Cellule del sistema nervoso Il sistema nervoso comprende due tipi principali di cellule, i neuroni e le cellule gliali, ciascuno presente in approssimativamente ugual numero all'interno del cervello (circa 85 miliardi) [9]. I neuroni sono responsabili delle funzioni peculiari del sistema nervoso: sono cellule eccitabili elettricamente che trasmettono gli impulsi nervosi. Questa capacità è permessa dalla presenza di filamenti che si dipartono da un corpo cellulare detto soma contenente il nucleo e gli altri organuli. I neuroni presentano generalmente un solo assone, solitamente poco ramificato e la cui lunghezza può raggiungere il metro, che trasporta il segnale in direzione centripeta dal soma verso il terminale. Altri filamenti chiamati dendriti presentano invece ramificazioni molto intricate e generalmente ricevono gli impulsi provenienti da un terminale assonico o da recettori sensoriali.

Le cellule gliali (o neuroglia) sono cellule che circondano i neuroni del sistema

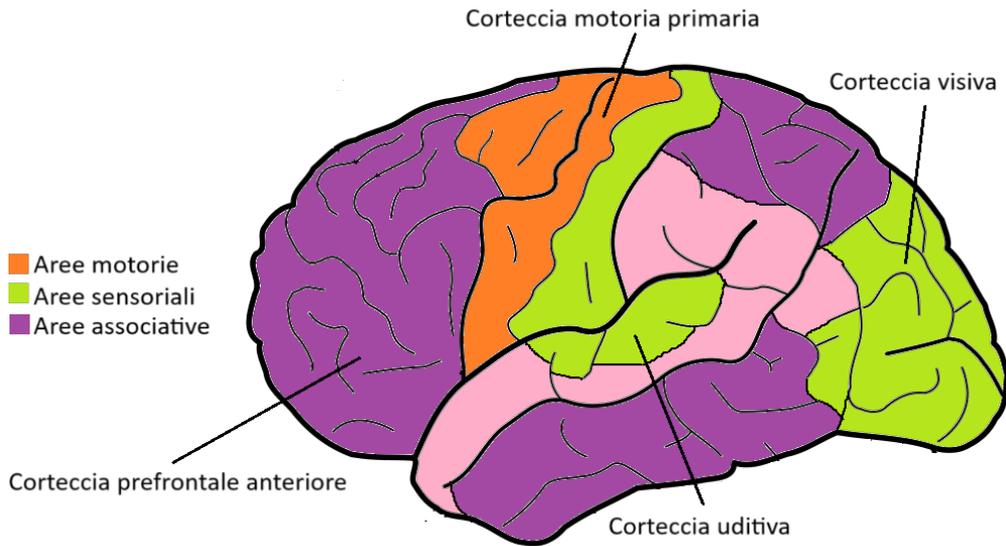


Figure 1.3: Corteccia cerebrale: alcune aree di Brodman con le relative funzioni [9] (immagine rielaborata da [10])

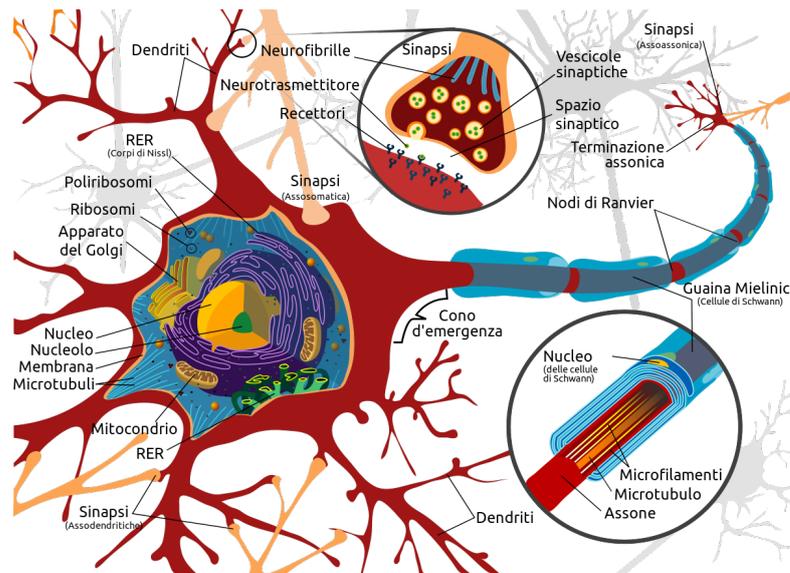


Figure 1.4: Struttura tipica di un neurone (immagine riprodotta da [11])

nervoso fornendo un supporto sia strutturale che fisiologico. I principali tipi di cellule gliali sono:

- astrociti: sono il tipo più numeroso, svolgono principalmente una funzione

strutturale riempiendo gli spazi tra i neuroni, regolano inoltre il contenuto chimico dello spazio intercellulare

- oligodendrociti e cellule di Schwann: presenti rispettivamente nel sistema nervoso centrale o in quello periferico, svolgono la stessa funzione di rivestire gli assoni neuronali di una guaina di mielina isolante che facilita la trasmissione degli impulsi elettrici
- cellule ependimali: rivestono le pareti dei ventricoli contenenti il liquido cerebrospinale, producono e facilitano inoltre la circolazione di quest'ultimo
- microglia: ripuliscono il tessuto cerebrale da residui di cellule morte o danneggiate tramite fagocitosi, svolgono inoltre una funzione di difesa immunitaria

Tessuti del cervello Il tessuto cerebrale si può dividere in due tipi: la materia grigia comprende le regioni in cui vi è una ampia presenza dei corpi cellulari dei neuroni e dei loro dendriti mentre la materia bianca, la cui colorazione è dovuta all'alta presenza di mielina, è tessuto composto prevalentemente da assoni neuronali e cellule gliali. La prima è presente prevalentemente nelle regioni esterne della corteccia cerebrale, nel cervelletto, nel tronco encefalico e nella zona centrale del midollo spinale dove forma una struttura ad 'H' mentre la seconda è presente in prevalenza nelle regioni profonde dell'encefalo e nell'esterno del midollo spinale.

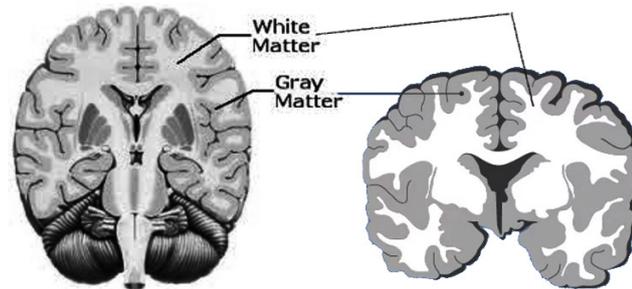


Figure 1.5: Sezione coronale di un cervello in cui è evidenziata la divisione in materia grigia e materia bianca (immagine riprodotta da [12] con licenza <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Il cervello è circondato da membrane dette meningi e separato da esse da uno spazio pieno del cosiddetto fluido cerebrospinale, lo stesso liquido riempie anche un sistema di cavità interne chiamate ventricoli ed ha una funzione di regolazione meccanica della pressione e di sostegno.

La barriera emato-encefalica Il cervello è separato dal sistema circolatorio da una membrana molto più selettiva di quella che riveste i capillari nelle altre parti del corpo: la barriera emato-encefalica (BBB). Questa è composta da cellule endoteliali e astrociti ed ha il compito di creare un ambiente stabile per le delicate funzioni dei neuroni e di proteggerli da tossine o patogeni. Questo isolamento, noto come privilegio immunitario, permette di evitare che la maggior parte delle infezioni raggiunga il cervello, impedisce tuttavia l'accesso ai linfociti e rende molto difficile la somministrazione di farmaci [13].

1.3 Il Glioblastoma Multiforme

I tumori delle cellule della glia (gliomi) sono i più comuni tra i tumori localizzati all'interno del tessuto cerebrale comprendendo l'80% dei casi. Essi possono essere ulteriormente classificati in astrocitomi, ependimomi e oligodendrogliomi a seconda del particolare tipo di cellula gliale da cui derivano, il più comune è l'astrocitoma[14][15]. Il WHO propone una classificazione in 4 livelli di gravità [16]:

- grado 1: tumori circoscritti e benigni, spesso curabili con sola resezione
- grado 2: tumori a basso grado. l'infiltrazione li rende incurabili con la sola chirurgia
- grado 3: tumori maligni con presenza di cellule anormali, alto rischio di diffusione e recidiva
- grado 4: maligni e anaplastici, mostrano angiogenesi patologica e necrosi, invasivi e resistenti alle terapie comuni.

Il glioblastoma multiforme (GBM), definito come un astrocitoma di grado 4, è il più aggressivo e uno dei più comuni tumori al cervello rappresentando più della metà dei gliomi e il 47% di tutti i casi [5, 17].

Il trattamento del glioblastoma è particolarmente difficile a causa di diversi fattori:

- le cellule tumorali sono resistenti alle terapie convenzionali
- la presenza di cellule staminali tumorali con capacità di auto-rinnovo
- il cervello è vulnerabile agli effetti collaterali di molte terapie convenzionali
- il cervello ha una capacità limitata di ripararsi
- molti farmaci non riescono ad attraversare la barriera emato-encefalica per agire sul tumore

Incidenza	3.21 casi su 100.000
Età mediana alla diagnosi	64 anni
Sintomi	Emicrania, vista offuscata, vomito, perdita di appetito, cambiamenti nella personalità, incapacità di apprendimento convulsioni, difficoltà nel linguaggio
Rapporto M:F	1.6:1
Localizzazione	Solitamente nella regione sopratensoriale più frequente nel lobo frontale, relativamente al volume più frequente nel lobo temporale [18]
Sopravvivenza	
Terapia palliativa	da alcune settimane fino a pochi mesi
Radioterapia	6-7 mesi
Radioterapia + chemioterapia	9-10 mesi [19]
Resezione chirurgica	6-10 mesi
Resezione + radioterapia	12 mesi
Resezione + radioterapia + chemioterapia	14 mesi
Mediana della storia clinica alla diagnosi	4 mesi

Table 1.1: Caratteristiche del Glioblastoma [5, 17, 20]

E' attualmente incurabile a causa della sua alta recidiva ossia la ricomparsa di un tumore dopo un periodo di tempo più o meno lungo dalla sua scomparsa a seguito del trattamento: questo è in particolare dovuto alla presenza di cellule simili a staminali, le 'Glioma Stem Cells'. Inoltre il GBM è un tumore "freddo", le cellule tumorali mutano poco il loro aspetto chimico e non sono perciò evidenti al sistema immunitario.

1.3.1 Terapie per il GBM

Il trattamento del GBM è allo stato attuale molto difficile, costoso e riesce solamente a prolungare l'aspettativa di vita di mesi (al più pochi anni) senza riuscire a debellare il tumore.

Trattamenti convenzionali

L'approccio prevalente al momento è quello multimodale: diverse terapie vengono utilizzate in sinergia. Questo approccio necessita di un protocollo personalizzato

per ciascun paziente in base alle sue condizioni. Ad ogni terapia sono associati vantaggi e svantaggi [14, 21]:

- Il trattamento chirurgico è fondamentale nel trattamento e consiste nell'asportazione della maggior porzione possibile della massa tumorale al minimo 70% senza compromettere la funzionalità del paziente. Una migliore prognosi è associata alla maggiore frazione di tumore asportata. La sua riuscita dipende anche dalla posizione del tumore. In molti casi non è sufficiente tuttavia a prevenire la recidiva tumorale e porta ad un rischio di deficit neurologico.
- La radioterapia ossia l'uso di radiazioni dirette verso un obiettivo preciso è parte standard del trattamento dal 2005. Viene utilizzata nel periodo post-operatorio in particolare nella modalità ipofrazionata (trattamento di durata ridotta in cui si somministrano meno trattamenti a più alta intensità) che rende possibile l'uso anche su pazienti anziani. Ha un significativo successo nell'aumentare la sopravvivenza e viene utilizzata come cura palliativa e come terapia primaria nel caso sia impossibile la resezione. Non ha tuttavia un'efficacia risolutiva nel limitare la recidiva e la combinazione con la chemioterapia è sconsigliata in pazienti particolarmente anziani o in caso di funzionalità compromessa.
- La chemioterapia, condotta attraverso la somministrazione di Temozolomide, un farmaco in grado di attraversare la BBB o wafer di Carmustina ossia impianti intratumorali chemioterapici biodegradabili, insieme alla radioterapia risultano tra i trattamenti più utilizzati nel post-operatorio per eliminare le cellule tumorali rimaste dopo il trattamento chirurgico. Può essere tuttavia causa di importanti reazioni avverse e il 55% dei GBM mostra una resistenza al trattamento con TMZ. Viene anche impiegata insieme alla radioterapia nei casi inoperabili.
- Il trattamento attraverso "Tumor treatment fields", applicazioni di corrente elettrica alternata a bassa intensità, ha mostrato un effetto significativo sulla sopravvivenza dei pazienti. La sua invasività (è necessario protrarre il trattamento quotidianamente per 18h) e il costo lo rendono tuttavia poco adottato come trattamento [21].
- L'uso di Bevacizumab, un farmaco anti-angiogenesi che agisce legandosi al VEGF, ha avuto effetti positivi nel limitare la progressione del tumore, non ha tuttavia avuto effetti significativi sulla sopravvivenza.

1.3.2 Immunoterapia

L'immunoterapia ha come obiettivo di generare una risposta immunitaria specifica che bersagli le cellule tumorali contrastando la crescita del tumore e lasciando illese

le cellule sane del tessuto in cui esse è infiltrato. Questo tipo di tecnica, sebbene non diffuso quanto i trattamenti convenzionali, è stato approvato per vari tipi di cancro come melanoma e tumore alla prostata. E' quindi sorto un interesse nel suo uso per il trattamento del GBM. Questo si scontra tuttavia con ostacoli come la presenza della BBB che garantisce un privilegio immunologico al cervello [22], la natura immunosoppressiva del GBM, l'eterogeneità intra-tumorale dello stesso e alla presenza di cellule staminali tumorali resistenti alle terapie. Vari studi clinici sono stati condotti e sono in sperimentazione. Questi si concentrano principalmente su quattro tecniche: vaccini, inibitori dei checkpoint immunitari, CAR-T e virus oncolitici.

- **Vaccini** I vaccini per il cancro sfruttano gli antigeni prodotti dal tumore per attivare la sorveglianza immunitaria rafforzando la risposta. Questo è reso più difficile dalla rarità degli antigeni specifici prodotti dal GBM che spesso variano nella loro espressione. Risultati incoraggianti sono stati ottenuti usando come target l'antigene EGFRvIII espresso in circa il 30% dei casi. I progressi tecnologici nel sequenziamento e nella bioinformatica hanno inoltre permesso la scoperta di neoantigeni, ossia antigeni prodotti da mutazioni somatiche del tumore. Questi possono essere utilizzati come trigger per le cellule T in maniera tale da rendere possibile un trattamento mirato altamente specifico. [14] Nonostante le ricerche siano in corso da diversi anni, l'uso di vaccini per il cancro è tuttavia ancora in fase di studio, con solo tre possibili candidati alla fase III di sperimentazione (al 2023, [22]).
- **Inibitori dei checkpoint immunitari** Durante la sua crescita, il GBM crea un microambiente altamente immunosoppressivo che impedisce l'intervento degli immunociti. Questo è l'effetto di sostanze dette citochine che agiscono attivando i checkpoint immunitari, recettori presenti su diversi immunociti come linfociti, cellule "natural killer" e dendritiche, inattivandole. Gli inibitori dei checkpoint immunitari sono anticorpi monoclonali che immessi nell'organismo si legano con questi recettori, impedendone l'attivazione e ripristinando la normale risposta immunitaria. Al 2023 diversi studi sono stati condotti e sono in corso studi alla fase III di sperimentazione, in particolare con come obiettivo la "programmed cell death protein 1" (PD-1), già sfruttata con risultati significativi in altri tipi di tumore, e la "T-lymphocyte-associated protein 4" (CTLA-4).
- **Virus oncolitici** Un'altra terapia emergente negli ultimi decenni per il trattamento dei tumori è l'utilizzo di virus oncolitici (OVs), iniettati per via endovenosa o intratumorale. Questi sono virus debolmente patogeni in grado di attaccare selettivamente le cellule cancerogene senza influenzare le cellule sane. Essi agiscono sia attraverso l'eliminazione diretta delle cellule obiettivo,

sia attraverso il rilascio nel corso dell'infezione di "damage-associated molecular patterns" e di "pathogen-associated molecular patterns", efficaci stimolanti del sistema immunitario che cambiano la natura del microambiente rendendolo "caldo". Questo tipo di trattamento, già utilizzato in altri casi come quello di tumore alla prostata, ha notevoli potenzialità nel contrastare la natura immunosoppressiva del GBM e allo stato attuale sono in corso diversi studi, prevalentemente in fase I e II di sperimentazione, che sfruttano vari ceppi virali.

- CAR-T L'uso di 'Chimeric Antigen Receptor T-Cells' è un trattamento basato sull'ingegneria genetica dei linfociti T. Le cellule T vengono raccolte e separate dal sangue del paziente e vengono ingegnerizzate introducendovi il recettore CAR capace di riconoscere antigeni specifici prodotti dalle cellule tumorali, collegato tramite regioni intermembrana a domini intracellulari di attivazioni. Le cellule ingegnerizzate vengono quindi reintrodotti nel paziente dove la stimolazione del recettore specifico innesca proliferazione, rilascio di citochine e citotossicità che permettono di combattere più efficacemente le cellule tumorali. Diversi recettori sono obiettivo del recettore ingegnerizzato, in particolare il EGFRvIII, già oggetto di studio per terapie vaccinali ed è stata proposta la possibilità di renderli polivalenti. La terapia, già efficace nel trattamento di linfomi [8], è in fase di studio per superare le difficoltà poste dalla presenza della BBB che ostacola l'accesso degli immunociti al cervello e dall'immunosoppressività del microambiente del GBM.

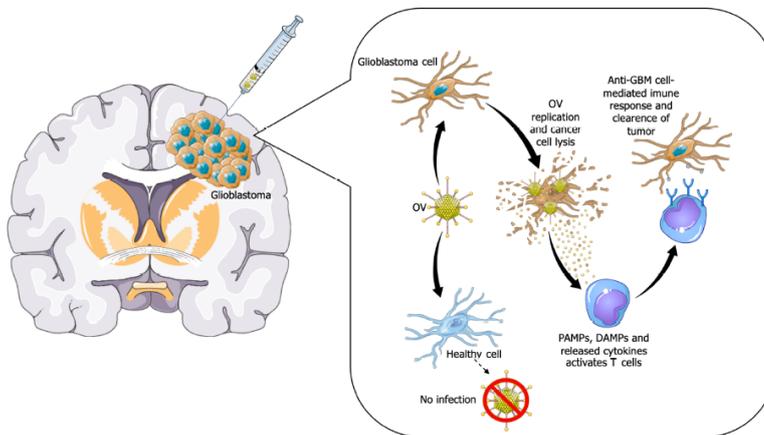


Figure 1.6: Meccanismo di azione della terapia tramite OV (immagine tratta da [21])

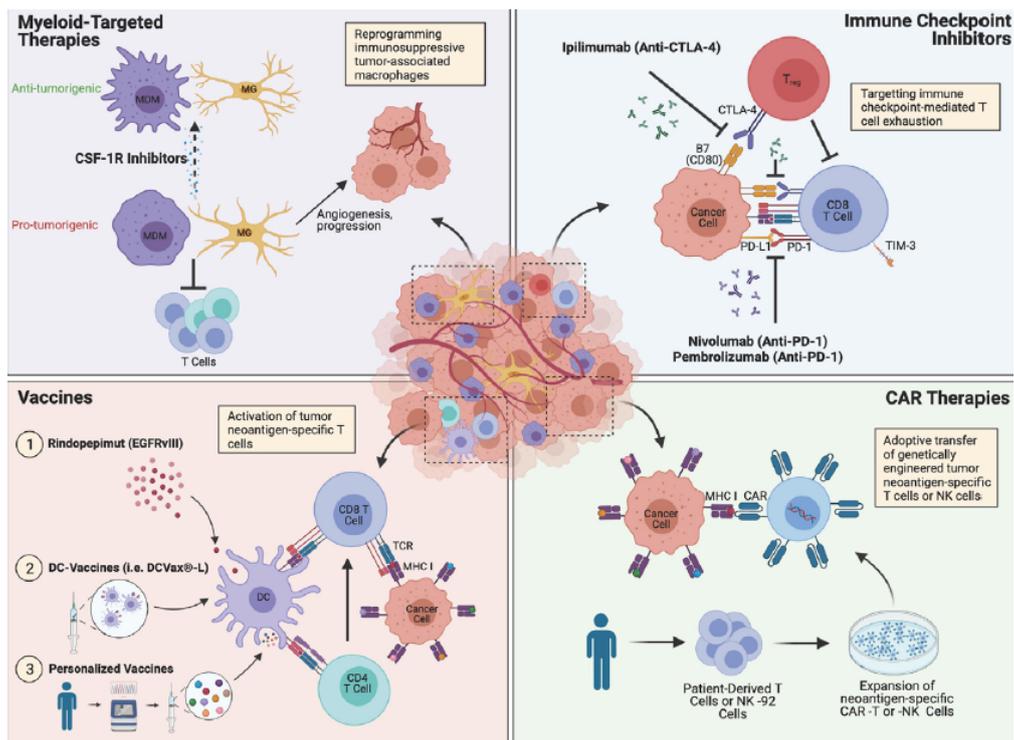


Figure 1.7: Meccanismi di azione di alcune delle terapie descritte (immagine tratta da [23])

Chapter 2

Modelli matematici

In questo capitolo verranno descritte le caratteristiche di alcuni dei modelli più usati per la descrizione del cancro. Verranno prima illustrati sinteticamente i modelli per la crescita tumorale e successivamente saranno approfonditi i modelli relativi al GBM e all'immunoterapia.

2.1 Modelli tumorali

Lo standard attuale della ricerca, i metodi tradizionali 'in vitro' e 'in vivo', possono essere inadeguati nell'offrire una visione globale capace di fornire intuizioni significative di certi fenomeni: questo ha motivato l'uso degli strumenti offerti dalla modellistica matematica e dalla computazione a supporto della medicina. Le tecniche in silico sono sempre più utilizzate in campo oncologico per la loro capacità di sintesi che consente una migliore comprensione. Esse favoriscono nuove ipotesi e previsioni e facilitano l'ottimizzazione degli studi clinici [24, 25, 26].

Gli approcci possibili possono essere divisi in modelli "black-box" e modelli "white-box" meccanicistici [25]: i primi sono basati esclusivamente sui dati medici o sperimentali disponibili, è il caso ad esempio delle reti neurali usate nel deep learning, i secondi invece sono costruiti basandosi sulla conoscenza biologica e su principi fisici. Con la progressione della ricerca la tendenza è in ogni caso verso l'incorporare aspetti di ciascuno dei due estremi (questo viene di conseguenza indicato con "grey-box modelling"[25]). Un primo tipo approccio meccanicistici sono i modelli discreti "cell based" (CBM) che comprendono i cellular automata (CA), i cellular potts model (CPM) e gli agent based models (ABM).

Ideati negli anni '40, i CA consistono in una griglia regolare nella quale ad ogni cella è associato un numero finito di stati. Il sistema evolve nel tempo seguendo delle regole fisse che determinano il nuovo stato delle celle basandosi unicamente sullo stato precedente della stessa e di quelle adiacenti. Anche i CPM si basano

su una griglia regolare. In essi ogni cellula è composta da più celle identificate da uno stesso valore di un'attributo detto spin, a sua volta ogni cellula può essere di diversi tipi. L'avanzamento del sistema è stocastico e solitamente basato sulla minimizzazione di un'energia potenziale. Gli ABM infine consentono la simulazione del comportamento e dell'interazione di un certo numero di agenti (ad esempio descriventi cellule) che si muovono nello spazio senza essere vincolati su una griglia. Gli agenti possono essere caratterizzati, oltre che dalla posizione, dall'orientamento e/o dalle dimensioni. Questi modelli sono solitamente usati per descrivere di fenomeni a livello cellulare simulando al più un ridotto numero di cellule nella primissima fase di crescita del tumore. Nei casi in cui si voglia simulare un grande numero di cellule con interazioni complesse, tuttavia, l'utilizzo di CBM diviene computazionalmente infattibile: una possibile alternativa all'interno dei modelli meccanicistici è l'uso di modelli continui.

I due tipi fondamentali di modelli continui sono le equazioni differenziali ordinarie e alle derivate parziali (ODE e PDE) [27, 28]. Le prime descrivono il sistema alla scala della numerosità totale delle popolazioni cellulari e richiedono l'assunzione che il microambiente tumorale sia uniforme, un'importante limitazione, esse permettono tuttavia uno studio numerico computazionalmente semplice. Alcuni dei modelli classici per la proliferazione tumorale sono la crescita esponenziale $\dot{T} = rT$ (che porta ad una crescita illimitata ed quindi ammissibile solo per tempi piccoli), la crescita logistica $\dot{T} = rT(1 - \frac{T}{k})$ e di Gompertz $\dot{T} = -rT \log(\frac{T}{k})$, le ultime tendono ad un asintoto k che prende il nome di carrying capacity e che rispecchia le limitate risorse ambientali mentre per T piccolo seguono un andamento esponenziale. L'utilizzo di una modellizzazione tramite ODE permette solo una descrizione globale, può essere utile tuttavia entrare nel dettaglio dell'organizzazione spaziale delle cellule per descrivere ad esempio le aree soggette all'invasione o la dipendenza dal punto di infusione dell'efficacia di una terapia. Per far questo è necessario il ricorso alle PDE. Un approccio tramite PDE spesso usato per modellizzare l'invasione dei tessuti da parte di un tumore sono i modelli di diffusione-reazione (2.1) dove per il termine di proliferazione può essere usata una delle leggi di crescita descritte per le ODE e D è il cosiddetto tensore di diffusione che contiene le informazioni sulle direzioni preferenziali e sulla velocità di migrazione delle cellule tumorali.

$$\frac{\partial T(\bar{x}, t)}{\partial t} = \overbrace{\nabla \cdot (D \nabla T(\bar{x}, t))}^{\text{diffusione}} + \overbrace{gT(\bar{x}, t)}^{\text{proliferazione}} \quad (2.1)$$

Altri modelli PDE sono basati sulla meccanica dei continui e permettono di aggiungere alla descrizione l'effetto meccanico della pressione che esercitano i tessuti circostanti e che contrasta la crescita del tumore [26, 27]. I modelli continui descrivono una media delle interazioni tra le varie cellule e sono incapaci di cogliere

alcune caratteristiche delle eterogeneità o il comportamento delle singole cellule. I modelli meccanicistici ibridi combinano i modelli discreti e continui per descrivere efficacemente fenomeni caratteristici di diverse scale. Tipicamente le cellule sono descritte in modo discreto mentre variabili continue vengono usate per grandezze ambientali come ossigeno e nutrienti o per i segnali chimici. Nella tabella 2.1 sono riassunti pro e contro delle diverse scelte modellistiche per in contesto meccanicistico [29].

ODE	
<ul style="list-style-type: none"> + Costo computazionale molto basso + Relativamente semplici da sviluppare + Si prestano a modellizzare grandi scale poco adatte alle rappresentazioni discrete + Permettono descrizioni meccanicistiche o ottenute da dati empirici + Alto potenziale in contesto clinico e a supporto diagnostico 	<ul style="list-style-type: none"> - Non fornisce descrizioni spaziali - Soluzioni deterministiche - I parametri possono essere difficili da ottenere sperimentalmente e non avere un significato fisico
PDE	
<ul style="list-style-type: none"> + Basso costo computazionale + Relativamente semplici da sviluppare + Si prestano a modellizzare grandi scale poco adatte alle rappresentazioni discrete + Permettono descrizioni meccanicistiche o ottenute da dati empirici 	<ul style="list-style-type: none"> - È difficile descrivere l'eterogeneità - Soluzioni deterministiche - I parametri possono essere difficili da ottenere sperimentalmente e non avere un significato fisico
ABM	
<ul style="list-style-type: none"> + Descrizione esplicita dell'eterogeneità e dei meccanismi biologici + Permettono descrizioni stocastiche e non deterministiche 	<ul style="list-style-type: none"> - Computazionalmente onerosi - Poco adatti per descrivere sistemi su grandi scale - La descrizione multiscala è difficile
Modelli ibridi	
<ul style="list-style-type: none"> + Descrizione esplicita dell'eterogeneità e dei meccanismi biologici + Permettono descrizioni stocastiche e non deterministiche + Adatti a descrivere i complessi meccanismi biologici + Intrinsecamente multiscala 	<ul style="list-style-type: none"> - Difficili da implementare - Computazionalmente onerosi - Richiedono metodi numerici appositi - La modellizzazione parametrica può essere difficile

Table 2.1: Caratteristiche dei modelli in silico per l'immunoterapia [29]

Il vasto spettro di caratteristiche del GBM ha motivato il suo studio attraverso molti metodi diversi [30].

Tra i CBM sviluppati per il GBM, in [31] viene proposto un CA per descrivere l'evoluzione di un glioma da una piccola popolazione iniziale fino al suo sviluppo finale, mentre in [32] e [33] vengono usati modelli ABM per studiarne la fase di crescita avascolare. In [34] viene usato un CPM in cui ogni cellula ha un vettore interno di polarità e interagisce sia con le altre cellule che con la matrice extracellulare per studiare i meccanismi di invasione dei tessuti. Tra i modelli basati sulle PDE sono particolarmente significativi i lavori di K. R. Swanson [35, 36, 37, 38, 39] in cui attraverso sistemi diffusione-reazione viene simulata l'espansione in diverse aree del cervello prevedendo l'aspettativa di sopravvivenza. Un'altro modello di questo tipo è quello discusso in [40] nel quale sono considerati anche i moti dovuti a chemiotassi, aptotassi e all'effetto delle cellule sane per riprodurre i pattern di migrazione delle cellule tumorali in vitro. Lo studio di follow-up [41] fa uso di un modello ibrido ABM-PDE in cui le cellule sono modellizzate come ellissoidi per studiare l'effetto tramite iniezioni di chemioattraente e glucosio per concentrare le cellule tumorali massimizzando l'efficacia della rimozione chirurgica.

2.2 Modelli per immunoterapia

L'emergere dell'immunoterapia come trattamento per la cura del cancro ha motivato la ricerca di modelli matematici che descrivessero la complessa interazione tra tumori e sistema immunitario. I modelli sviluppati per descrivere i trattamenti immunoterapici devono in primo luogo essere in grado di descrivere la crescita del tumore e le sue interazioni con la risposta immunitaria fisiologica in assenza di terapia. A causa della complessità dei meccanismi biologici, riveste particolare importanza la scelta dei parametri indispensabili per non complicare oltre misura lo studio ed evitare il rischio di overfitting [29]. Le popolazioni cellulari sono spesso oggetti primari di modellizzazione, in particolare le cellule tumorali e la loro interazione con gli immunociti. Questi ultimi possono essere rappresentati cumulativamente come cellule effettrici o distintamente, soprattutto per linfociti-T citossici (CTL) e macrofagi. Questa interazione è spesso mediata da sostanze secrete da entrambi come le citochine e gli antigeni, anch'essi tipicamente presenti nei modelli [28, 42].

Un primo approccio modellistico è stato attraverso l'uso di sistemi di ODE di tipo predatore-preda che nel caso più semplice si riduce a due sole equazioni per il tumore e gli immunociti [43]. Uno dei primi modelli di interazione è quello descritto da Kirschner e Panetta in [44] mostrato nella (2.2): esso presenta tre popolazioni: cellule cancerose (T), cellule effettrici generiche del sistema immunitario (E) e la

citochina IL-2 (I_L), una terapia esterna è modellizzata dai termini s_i mentre il rate di crescita tumorale è logistico.

$$\begin{aligned}\frac{dE}{dt} &= cT - \mu_2 E + \frac{p_1 E I_L}{g_1 + I_L} + s_1 \\ \frac{dT}{dt} &= \left(1 - \frac{T}{k}\right) T - \frac{aET}{g_2 + T}, \\ \frac{dI_L}{dt} &= \frac{p_2 ET}{g_3 + T} - \mu_3 I_L + s_2,\end{aligned}\tag{2.2}$$

Nonostante la sua semplicità il sistema riesce a riprodurre alcuni fenomeni come la ricorrenza di un tumore o la crescita incontrollata degli immunociti per un sovradosaggio nella terapia. Nei sistemi di questo tipo, con un numero ridotto di equazioni, il comportamento delle soluzioni può spesso essere analizzato attraverso uno studio di biforcazione; questo permette l'individuazione di valori soglia che determinano il comportamento della soluzione indicando quali caratteristiche dei tumori siano maggiormente predittive della loro pericolosità e dell'efficacia di una terapia [28]. Sistemi di forma simile sono anche stati usati per descrivere l'immunoterapia attraverso OV's agenti sia direttamente sulle cellule tumorali [45] che mediante l'azione delle difese immunitarie [46]. Il modello sviluppato da Bunimovich [46] è stato inoltre elaborato in [47] usandolo come base per un sistema diffusione-reazione di PDE per descrivere la concentrazione spaziale variante nel tempo del tumore. Diversi meccanismi dell'interazione tumore/organismo possono essere descritti attraverso un sistema di ODE, eventualmente aumentando il numero di equazioni o introducendo delay. In [48] e [49] viene proposto un sistema di sei equazioni comprendenti linfociti distinti in $CD8^+$ e cellule NK e l'infusione di farmaci chemioterapici e immunoterapici. Arciero, Jackson e Kirschner in [50] presentano un sistema di cinque equazioni per tumore, immunociti, TGF- β , IL-2 e siRNA per la previsione attraverso il tuning dei parametri della risposta ad un trattamento anti-checkpoint immunitari. I modelli sviluppati in [51] e [52] hanno come obiettivo la descrizione dei meccanismi di resistenza insorgenti nelle cellule tumorali che sopravvivono all'attacco dei linfociti.

In [53] viene proposto un modello di interazione nel quale gli immunociti (E) non si muovono solo per diffusione ma seguono un flusso chemiotattico verso un chemioattraente (α) prodotto dalle cellule tumorali (T). L'altra popolazione

presente (C) rappresenta i complessi immunocita-cellula tumorale.

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial E}{\partial t} &= \nabla^2 E - \gamma \nabla \cdot (E \nabla \alpha) + \sigma h(x) + \frac{\rho C}{\eta + T} - \sigma E - \mu ET + \epsilon C \\
 \frac{\partial \alpha}{\partial t} &= \delta \nabla^2 \alpha + \kappa C - \xi \alpha \\
 \frac{\partial T}{\partial t} &= \omega \nabla^2 T + \beta_1 (1 - \beta_2 T) T - \phi ET + \lambda C \\
 \frac{\partial C}{\partial t} &= \mu ET - \psi C
 \end{aligned}
 \tag{2.3}$$

Un altro esempio è il modello presentato in [54] ottenuto aggiungendo termini diffusivi al sistema (2.2) descritto in [44]. Il modello discusso in [55] è un sistema di 13 equazioni di reazione-diffusione modellizzanti una terapia di blocco dei checkpoint immunitari considerando diverse citochine, diversi tipi di linfociti e cellule tumorali dendritiche. Esso viene risolto numericamente assumendo l'ipotesi di simmetria radiale. Altri approcci comprendono lo sviluppo di un modello ibrido discreto-continuo nel quale le cellule (macrofagi dormienti, attivati, TAMs e cellule tumorali vive e morte) sono posizionate su un reticolo discreto mentre i diversi tipi di segnali chimici e l'ossigeno vengono prodotti e diffondono in modo continuo attraverso lo spazio [56]. I risultati ottenuti predicono correttamente la formazione di zone immunosoppressive all'interno del microambiente tumorale. Un simile metodo viene adottato anche in [57] e [58] per simulare in silico l'efficacia di un possibile vaccino. In [59] infine, viene proposto un sistema integro-differenziale per tre popolazioni (linfociti, cellule tumorali e chemioattraente) ottenuto dal limite continuo di un modello ibrido discreto per un tumore in fase avascolare sotto l'effetto di chemioterapia e trattamento anti-checkpoint.

Tra i modelli sviluppati specificamente per i tumori al cervello, in [60] viene presentato un sistema di ODE sviluppato per descrivere gliomi di III grado e GBM (differenziati dai valori del coefficiente di crescita) e la loro interazione con linfociti citotossici attivati mediate due diverse citochine (TGF- β e IFN- γ) e dai complessi di istocompatibilità MHC-I e MHC-II II. Per la terapia viene ipotizzata una infusione intracranica di linfociti che supera la BBB. Vengono così riprodotti a riprodurre vari scenari immunoterapeutici e le previsioni del modello sono validate dal confronto con set di dati medici. Su questo modello sono state compiute varie elaborazioni: in [61] viene elaborato con l'aggiunta di una popolazione di cellule staminali tumorali mentre nel [62] con lo scopo di semplificare il modello vengono mantenute solo le popolazioni cellulari mentre l'azione delle citochine e degli antigeni viene modellizzata tramite l'introduzione di delay delle equazioni. Un'altro modello sempre basato su di un sistema di ODE è quello presentato in [63]: esso prevede nove equazioni per diversi tipi di linfociti, cellule dendritiche

e citochine e ha come obiettivo lo studio dell'immunoterapia in sinergia con la chemioterapia. In [64] viene discusso un modello ibrido di ABM e equazioni con delay per simulare l'efficacia di un vaccino.

S. Banerjee, S. Khajanchi e S. Chaudhuri hanno proposto un modello per l'interazione tra sistema immunitario e glioma consistente in un sistema di di ODE accoppiate per 5 popolazioni: cellule di GBM (G), macrofagi (M), linfociti (C_T), $TGF - \beta$ (T_β) e Interluchina γ [65].

$$\begin{aligned}
 \frac{dG}{dt} &= r_1 G \left(1 - \frac{G}{G_{\max}}\right) - \frac{(\alpha_1 M + \alpha_2 C_T) G}{(e_1 + T_\beta)(G + k_1)} \\
 \frac{dM}{dt} &= r_2 M \left(1 - \frac{M}{M_{\max}}\right) + a_1 \left(\frac{I_\gamma}{k_4 + I_\gamma}\right) \left(\frac{1}{T_\beta + e_2}\right) - \alpha_3 \frac{GM}{k_2 + G} + T_{11} \\
 \frac{dC_T}{dt} &= \frac{a_2 G}{k_5 + T_\beta} - \mu_1 C_T - \alpha_4 \frac{G}{k_3 + G} C_T + T_{11} \\
 \frac{dT_\beta}{dt} &= s_1 + b_1 G - \mu_2 T_\beta \\
 \frac{dI_\gamma}{dt} &= b_2 C_T - \mu_3 I_\gamma
 \end{aligned} \tag{2.4}$$

I coefficienti del modello sono ottenuti dal fit di dati sperimentali sia in vitro che su cavie animali e il trattamento immunoterapico è modellizzato da un termine sorgente nelle popolazioni di immunociti (T_{11}). Successivi studi sono stati compiuti a partire da questo. In particolare, in [66] il modello è stato semplificato portandolo a tre equazioni (glioma, linfociti, macrofagi) trascurando gli effetti delle citochine. Nell'articolo [67] invece il modello è stato adattato a descrivere l'evoluzione spaziotemporale delle varie specie e aggiungendo per ciascuna equazione del sistema (2.4) un termine di diffusione.

Chapter 3

Modello ODE globale per il trattamento tramite immunoterapia del glioma

In questo capitolo verrà studiato un modello ODE di interazione tra linfociti e cellule tumorali sviluppato per descrivere l'effetto di una terapia consistente in una infusione di linfociti. Gli equilibri del sistema e le loro rispettive stabilità saranno studiate con metodi sia analitici che numerici. Verranno inoltre mostrati i diagrammi di biforcazione del sistema per i vari parametri e i ritratti di fase per diverse intensità della terapia. Negli studi numerici di questa sezione vengono utilizzati i parametri riportati in sezione 5.2.

3.1 Descrizione del modello ODE

Viene proposto un modello globale di trattamento del GBM usando infusioni di linfociti-T: esso ha la forma di un sistema di equazioni differenziali ordinarie. Le popolazioni sono: cellule del glioma (G) e linfociti (C).

$$\frac{\partial G}{\partial t} = rG \left(1 - \frac{G}{G_{max}}\right) - \alpha_G C \frac{G}{k_G + G} \quad (3.1)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} = b_C + S_T - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} \quad (3.2)$$

Dove $S_T \equiv S_T(t)$ è il tasso di infusione dei linfociti.

3.1.1 Dinamica del sistema

Le cellule del glioma crescono seguendo un tasso di crescita logistico $rG(1 - \frac{G}{G_{max}})$. Questo implica che una piccola popolazione segua una crescita quasi esponenziale di parametro r che poi rallenta fino a tendere fermarsi per un asintoto di valore G_{max} . Una popolazione più grande di G_{max} invece decrescerà fino a tendere allo stesso asintoto.

L'eliminazione delle cellule di glioma operata dalle T-cells è modellata dal termine $\alpha_G C \frac{G}{k_G + G}$. Il tasso di cellule uccise viene quindi considerato essere proporzionale al numero di linfociti mentre la dipendenza da G segue una dinamica di tipo Michelis-Menten.

Riguardo la dinamica dei linfociti T citossici, in condizioni fisiologiche essi hanno una popolazione stabile naturalmente presente nel CNS, questo è modellizzato dal termine sorgente costante b_C da cui il valore della popolazione di base è $C_{base} = b_C/\mu_C$. L'altra loro sorgente è un'infusione esterna, questo è modellato dal termine S_T nell'equazione che può essere assunto costante oppure come una forzante dipendente dal tempo descrivente una terapia. Avendo biologicamente una vita limitata di media $1/\mu_C$, le T-cell seguono quindi un decadimento esponenziale. Un'ulteriore rimozione è causata dall'incontro con le cellule tumorali: questa interazione è modellata analogamente a quella per G da un termine di Michelis-Menten in G e lineare in C : $\alpha_C C \frac{G}{k_C + G}$.

3.2 Analisi del sistema ODE

Nel seguito di questo capitolo verrà utilizzato il set di parametri riportato in tabella 3.1, questi verranno discussi in sezione 5.2.

r	0.01 h^{-1}
G_{max}	882650 cells
α_G	$0.12 \text{ cells h}^{-1}$
k_G	27362.15 cells
b_C	740 cells h^{-1}
μ_C	0.0074 h^{-1}
α_C	$0.168 \text{ cells h}^{-1}$
k_C	334524.35 cells

Table 3.1: Set di parametri per lo studio del sistema ODE

Allo scopo di facilitare l'analisi il sistema viene adimensionalizzato. Vengono

quindi introdotte le seguenti relazioni

$$G = \tilde{G}G_{max} \quad (3.3)$$

$$C = \tilde{C}C_{max} \quad (3.4)$$

$$t = \tau\tilde{t} \quad (3.5)$$

La numerosità delle cellule tumorali viene quindi adimensionalizzata con la sua carrying capacity. Le altre quantità vengono invece adimensionalizzate considerando:

$$C_{max} := \frac{G_{max}r}{\alpha_G} \quad (3.6)$$

$$\tau := \frac{1}{r} \quad (3.7)$$

Viene inoltre definita per semplicità la terapia totale $S := S_T + b_C$ con $S \geq b_C$. Il sistema diventa quindi

$$\begin{aligned} \frac{d\tilde{G}}{d\tilde{t}} &= \tilde{G} (1 - \tilde{G}) - \tilde{C} \frac{\tilde{G}}{\tilde{G} + \tilde{k}_G} \\ \frac{d\tilde{C}}{d\tilde{t}} &= \tilde{S} - \tilde{\mu}_C \tilde{C} - \tilde{\alpha}_C \tilde{C} \frac{\tilde{G}}{\tilde{k}_C + \tilde{G}} \end{aligned} \quad (3.8)$$

dove $\tilde{\alpha}_C = \alpha_C/r$, $\tilde{k}_G = k_G/G_{max}$, $\tilde{k}_C = k_C/G_{max}$, $\tilde{\mu}_C = \mu_C/r$ e $\tilde{S} = S \frac{\alpha_G}{G_{max}r^2}$. Nel seguito si tralasceranno le tilde per sinteticità.

3.2.1 Equilibri e stabilità

In questa sezione lo studio del sistema (3.8) è ristretto al caso di una sorgente S di linfociti costante nel tempo, dal punto di vista biologico è naturale supporre $S \geq b_C$. Verranno ora studiati gli equilibri del sistema: se uno stato (G^*, C^*) è un equilibrio, allora il valore C^* può essere esplicitamente calcolato come una funzione di G^* e S :

$$C^* = \frac{S}{\mu_C + \alpha_C \frac{G^*}{G^* + k_C}}$$

Sostituendo nell'equazione per G , e aggiungendo l'ipotesi che le grandezze siano biologicamente plausibili (ossia ≥ 0), si ottiene come per bassi valori di S vi siano tre equilibri, uno "sano" per $(G, C) = (0, S/\mu_C)$, uno "malato" in cui il tumore è sviluppato e un altro ramo di equilibri che verranno chiamati "critici" in cui G è compreso tra 0 e il valore di equilibrio malato (il motivo di questa denominazione è perchè si mostreranno appartenere alla retta critica che separa i bacini di attrazione). All'aumentare dei valori di terapia l'equilibrio malato e quello intermedio collidono e scompaiono lasciando, per valori sufficientemente alti di terapia, l'equilibrio sano come unico esistente. Nelle figure 3.1-3.2 sono mostrati tutti gli equilibri, fisici e non fisici del sistema.

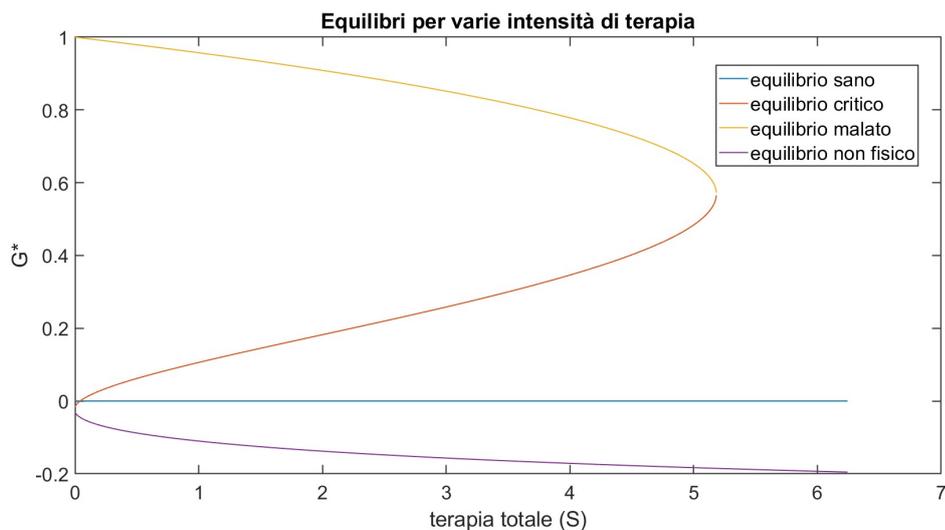


Figure 3.1: Valori di G all'equilibrio per diverse intensità di terapia

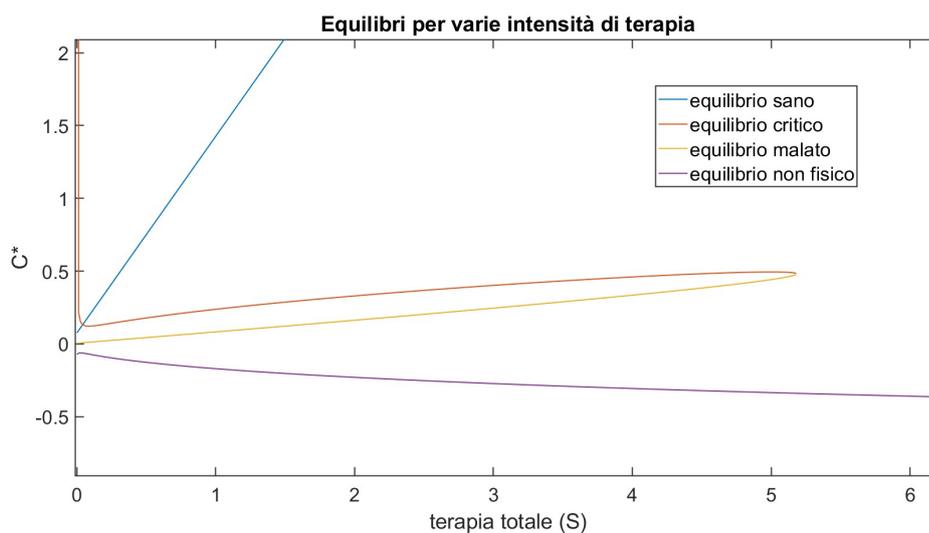


Figure 3.2: Valori di C all'equilibrio per diverse intensità di terapia

La jacobiana del sistema vale

$$J|_{G^*, C^*} = \begin{bmatrix} 1 - 2G^* - \frac{C^*}{(G^* + k_G)} + \frac{C^* G^*}{(G^* + k_G)^2}; & -\frac{G^*}{G^* + k_G} \\ -\frac{\alpha_C C^*}{(G^* + k_C)} + \frac{\alpha_C C^* G^*}{(G^* + k_C)^2}; & -\mu_C - \alpha_C \frac{G^*}{G^* + k_C} \end{bmatrix} \quad (3.9)$$

nel punto di equilibrio sano, ossia per $(G, C) = (0, S/\mu_C)$, risulta quindi essere:

$$J|_{G=0, C=S/\mu_C} = \begin{bmatrix} 1 - \frac{S}{k_G \mu_C} & 0 \\ -\frac{\alpha_C S}{k_C \mu_C} & -\mu_C \end{bmatrix} \quad (3.10)$$

dato che un autovalore è sempre negativo (pari a $-\mu_C$), si può direttamente ricavare come l'equilibrio sano sia stabile se e solo se la terapia totale S è maggiore di un valore critico

$$S_{cr} := k_G \mu_C \quad (3.11)$$

Considerando unità di misura dimensionali $S_{cr, dim} = G_{max} k_G r \mu_c \alpha_G^{-1}$ e per il set di parametri in tabella 3.1 risulta valere $S_{cr} < b_C$ e di conseguenza l'equilibrio sano è stabile $\forall S$.

Per quanto riguarda gli altri rami di equilibri, il loro studio analitico è più complesso da condurre esplicitamente e si è preferito procedere per via numerica. Si è risolto il sistema di equazioni numericamente e, sostituendo i valori degli equilibri trovati numericamente usando i parametri in 3.1 nella jacobiana del sistema è stato possibile determinare la stabilità dei vari equilibri. Nel range di valori di S studiato la Jacobiana presenta quasi ovunque autovalori con parte reale non nulla permettendo l'applicazione del teorema di Hartman-Grobman e lo studio di stabilità attraverso l'analisi del segno degli autovalori. Lo studio degli equilibri del sistema verrà in seguito compiuto analogamente anche per variazioni degli altri parametri del sistema. Nell'immagine 3.3 è mostrato il diagramma di biforcazione ottenuto attraverso Matlab, nello zoom è mostrato come non vi sia biforcazione $\forall S > b_T$.

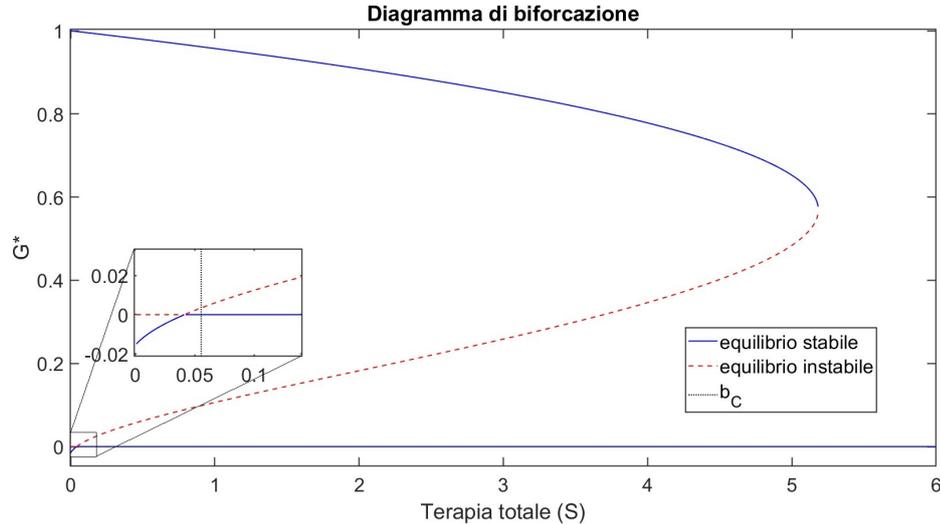


Figure 3.3: Diagramma di biforcazione

Dall'analisi del sistema linearizzato si sono ricavate quindi le informazioni sulla stabilità locale nel senso di Lyapunov per il sistema. Sia l'equilibrio sano che quello malato risultano quindi stabili mentre l'equilibrio critico è sempre instabile. Si cercherà ora di ottenere informazioni sul comportamento globale delle soluzioni.

Proposizione Esiste una intensità di terapia sopra la quale il sistema (3.8) ammette un unico punto di equilibrio nel quale $G=0$, che è globalmente asintoticamente stabile su $\mathcal{D} := [0,1] \times [0, S/\mu_C]$.

Dimostrazione: Per provare questo si osserva che l'insieme $\mathcal{D} := [0,1] \times [0, C_{sup}]$ dove $C_{sup} := S/\mu_C$ è invariante per il sistema dinamico.

$$\dot{G}|_{G=1} = -C \frac{1}{1+k_G} < 0$$

$$\dot{C}|_{C=C_{sup}} = S - \alpha_C \frac{G}{G+k_C} - \mu_C C_{sup} = -\alpha_C \frac{G}{G+k_C} \leq 0$$

$$\dot{G}|_{G=0} = 0$$

$$\dot{C}|_{C=0} = S > 0$$

Ora, in \mathcal{D} vale $\dot{C}_T > S - (\mu_C + \alpha_C)C_T$ da cui

$$C > \frac{S}{\mu_C + \alpha_C} - \frac{S}{\mu_C + \alpha_C} e^{-(\mu_C + \alpha_C)t} \quad (3.12)$$

da cui, dato che la traiettoria appartiene a \mathcal{D} per qualsiasi $c.i. \in \mathcal{D}$, varrà definitivamente $C > \frac{S}{\mu_C + \alpha_C} - \epsilon$ per ϵ arbitrario. Per G vale invece

$$\dot{G} \leq \frac{G}{4} - C \frac{G}{1+k_G} \quad (3.13)$$

e definitivamente

$$\dot{G} \leq \frac{G}{4} - \left(\frac{S}{\mu_C + \alpha_C} - \epsilon \right) \frac{1}{1+k_G} \quad (3.14)$$

da cui, per l'arbitrarietà di ϵ si ottiene che

$$S > \frac{1}{4}(\mu_C + \alpha_C)(1+k_G) \quad (3.15)$$

è condizione sufficiente perchè $G \rightarrow 0$, $C \rightarrow S/\mu_C$ per qualsiasi condizione iniziale $(G(0), C(0))$. \square

Tornando alle quantità dimensionali la (3.15) diventa

$$S > \frac{r}{4\alpha_G G_{max}} (\mu_C + G_{max} \alpha_C) (G_{max} + k_G) \sim 3.21 \cdot 10^3 \text{ cell h}^{-1}$$

L'entità dell'infusione è paragonabile a casi presenti in letteratura [68] in cui sono stati sperimentati su pazienti trattamenti consistenti in infusioni di entità pari a 10^7 linfociti in un giorno (a cadenza settimanale) pari in media ad un'infusione oraria di $5.95 \cdot 10^5$ cellule.

In figura 3.4 è mostrato il valore numerico della condizione (3.15), confrontata con le biforcazioni del sistema.

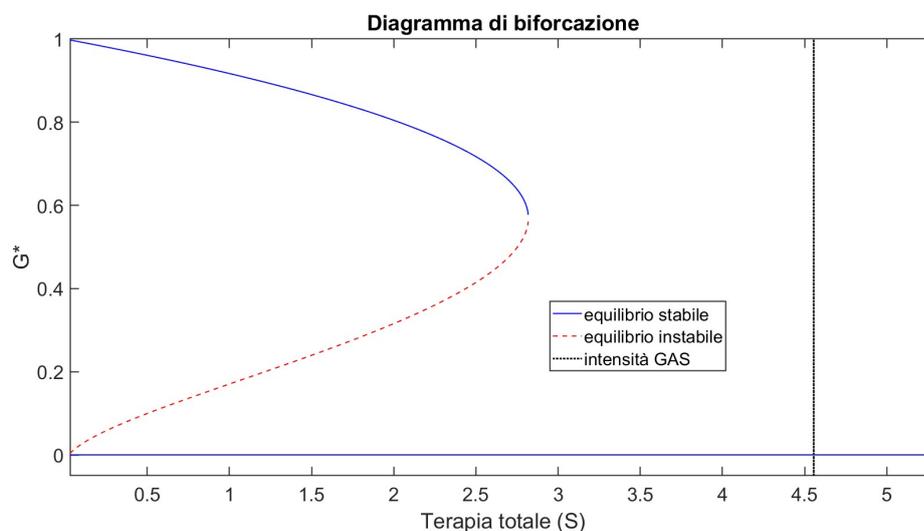


Figure 3.4: Intensità della terapia sufficiente per GAS

3.2.2 Studio numerico del sistema al variare di S

I risultati mostrati nella sezione precedente si limitano ad analisi del comportamento locale delle traiettorie mentre il risultato globale presente non fornisce informazioni per valori di terapia inferiori. In questa sezione si cerca di studiare il comportamento asintotico delle soluzioni del sistema in tutta la regione \mathcal{D} dello spazio delle fasi. Dal momento che uno studio analitico del sistema è difficile a causa delle non-linearità presenti, si procede per via numerica. Utilizzando Matlab, si ottengono i ritratti di fase per varie intensità del parametro S. Per ottenere i ritratti di fase il sistema (3.1) viene risolto numericamente nell'intervallo [0 h, 10000 h]. Nelle figure 3.5-3.6, per ogni scelta del parametro S vengono visualizzate diverse traiettorie corrispondenti a diverse scelte di condizioni iniziali (per ottenere un ritratto più espressivo le

condizioni iniziali vengono scelte equispaziate sul perimetro di un rettangolo nel piano delle fasi C-G, corrispondente all'insieme $[0,1] \times [0, C_{sup}]$.

Come osservato nel grafico 3.3, nel sistema è presente una biforcazione. E' necessario quindi distinguere due casi.

Per primo viene studiato il caso in cui l'intensità di terapia è relativamente bassa e sono presenti tre equilibri: come mostrato in figura 3.5, si hanno due punti di equilibrio stabile, ciascuno dei due è attrattivo e quasi ogni punto dello spazio delle fasi genera una traiettoria che tende asintoticamente ad uno di essi, vi è inoltre un terzo punto di equilibrio instabile che giace sulla linea critica che separa i due bacini di attrazione.

Nel secondo caso, mostrato in figura 3.6 per valori di terapia superiori alla collisione dell'equilibrio tumore sviluppato e critico che risulta nella loro scomparsa, si ha un unico punto di equilibrio con $(G^*, C^*) = (0, \frac{S}{\mu_C})$. Esso risulta essere globalmente asintoticamente stabile e essere attrattivo in tutta la regione di spazio considerata.

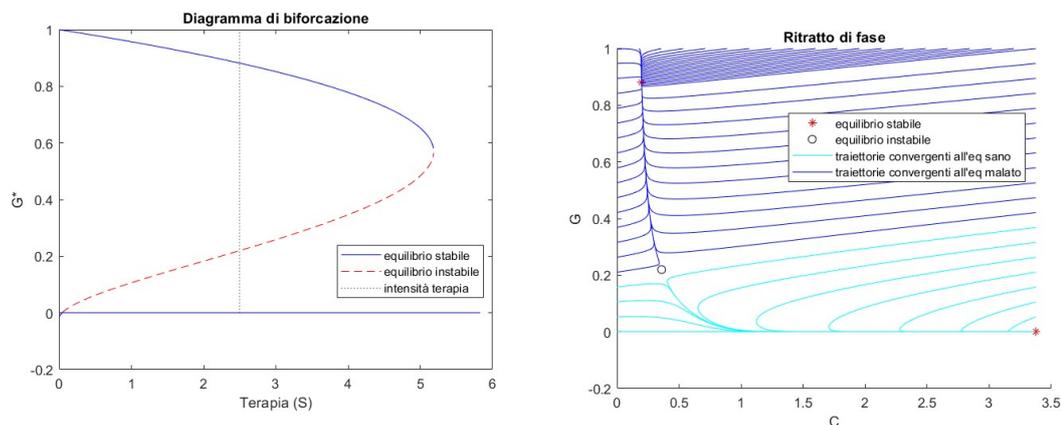


Figure 3.5: Intensità della terapia e ritratto di fase nel caso $S = 60 \cdot S_{cr}$

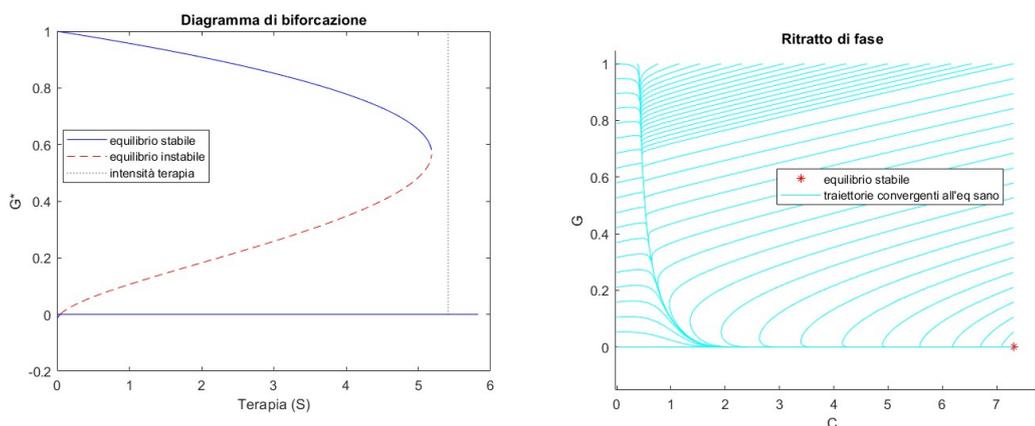


Figure 3.6: Intensità della terapia e ritratto di fase nel caso $S = 130 \cdot S_{cr}$

3.2.3 Studio numerico degli altri parametri

Si studiano ora gli equilibri del sistema al variare degli altri parametri. Con metodi analoghi allo studio di biforcazione del sistema sotto l'effetto della terapia viene studiato il comportamento del sistema per variazioni dei parametri α_C , k_G , k_C , e μ_C . Per ciascuno di questi valori il sistema ottenuto ponendo a zero le derivate temporali viene risolto numericamente. La stabilità degli equilibri così ottenuti viene studiata attraverso il segno degli autovalori della Jacobiana del sistema, ottenuti anche essi attraverso metodi numerici. Anche in questo caso il risultato è garantito dal teorema di Hartman-Grobman dal momento che gli autovalori trovati hanno quasi ovunque parte reale non nulla. Nei paragrafi successivi sono mostrati i risultati ottenuti. Per ogni parametro sono condotti due studi per valori di terapia corrispondenti ai due casi descritti nella sezione precedente 3.2.2 ossia per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$. In ogni grafico viene indicata la baseline presente in tabella 3.1.

Variazione del parametro α_C

Per il parametro di eliminazione dei linfociti α_C si ha dalla (3.10) come la stabilità dell'equilibrio sano sia indipendente da esso e perciò non possono essere presenti biforcazioni in $G = 0$ per nessuna intensità di S . Nelle figure 3.7 sono mostrati i grafici di biforcazione per il parametro α_C . Per valori intermedi di terapia la crescita del parametro fa tendere asintoticamente l'equilibrio malato a 1 e l'equilibrio critico asintoticamente a 0 mentre al decrescere del parametro gli equilibri malato e critico collidono in una biforcazione nodo-sella lasciando l'equilibrio sano come unico presente. Per $S = 130 \cdot S_{cr}$ il grafico di biforcazione è simile al precedente, con la

differenza che la biforcazione nodo-sella si verifica per valori di α_C maggiori della baseline del parametro.

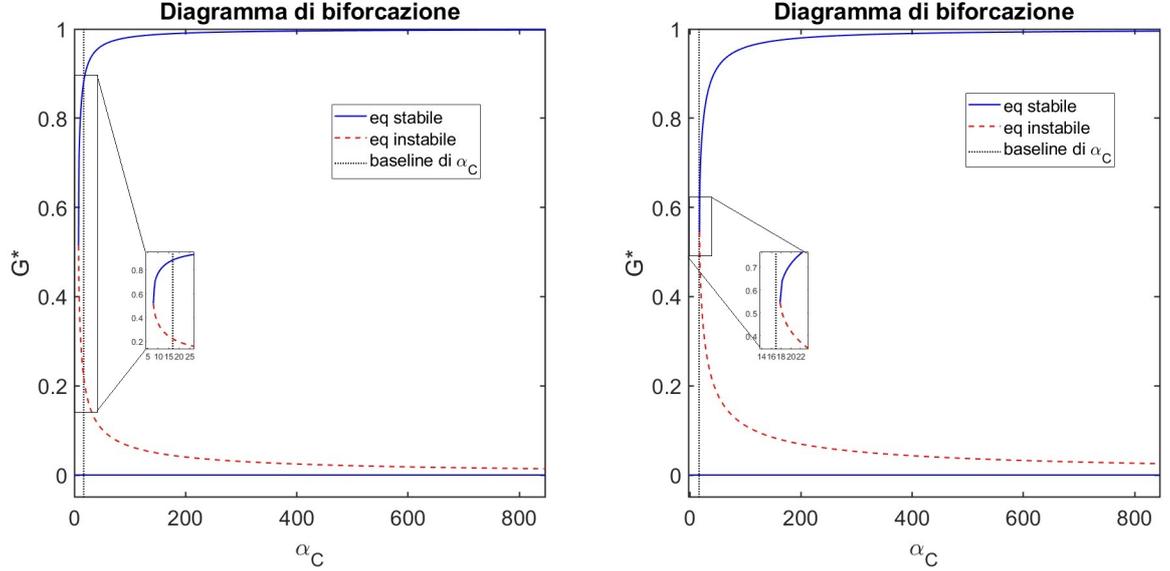


Figure 3.7: Biforcazioni di α_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$

Variatione di k_G

Nelle figure 3.8 sono mostrati i grafici di biforcazione per il coefficiente di Michelis-Menten per il glioma k_G . Per valori di S bassi, il crescere di k_G origina una biforcazione transcritica del ramo di equilibri sani con un equilibrio stabile non fisico facendo scomparire l'equilibrio critico e rendendo instabile $G = 0$ mentre l'equilibrio malato tende asintoticamente a 1. Per $S = 130 \cdot S_{cr}$ alla baseline è presente solo l'equilibrio sano mentre al crescere di k_G si originano le biforcazioni nodo sella che fa comparire l'equilibrio malato (che tenderà ad uno per $k_G \rightarrow +\infty$) e critico che colliderà con l'equilibrio sano nella biforcazione transcritica rendendolo instabile.

Variatione di k_C

Dalla (3.10) si può osservare come anche il coefficiente di Michelis-Menten per i linfociti k_C non influisca sul segno degli autovalori della jacobiana nell'equilibrio sano, garantendo l'assenza di biforcazioni in $G = 0$. Per $S = 60 \cdot S_{cr}$ infatti l'origine rimane un equilibrio instabile $\forall k_C > 0$ e non sono presenti biforcazioni per valori di k_C minori o uguali alla baseline mentre per valori superiori gli equilibri critico e malato collidono scomparendo. Il caso $S = 130 \cdot S_{cr}$ è simile al precedente ma la

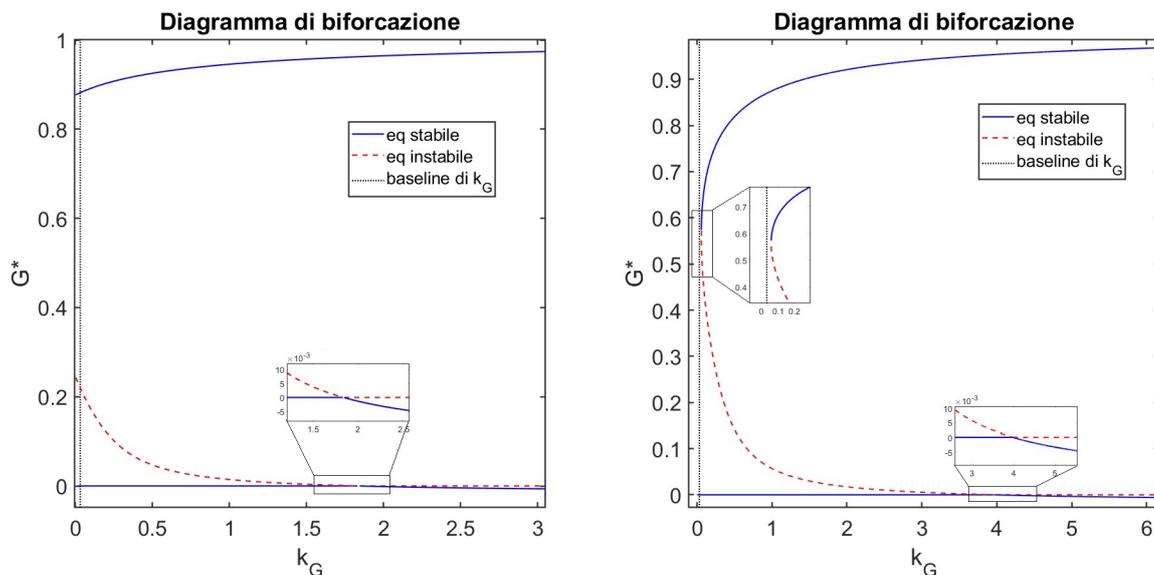


Figure 3.8: Biforcazioni di k_G per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$

biforcazione nodo-sella si trova al decrescere di k_C . I diagrammi di biforcazione sono mostrati nelle figure 3.9.

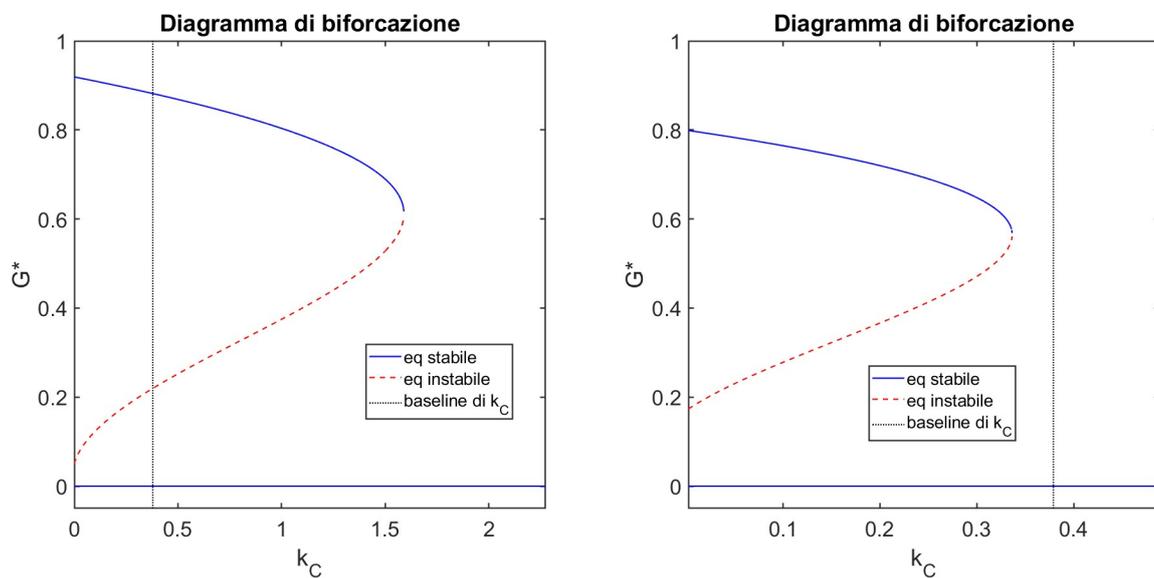


Figure 3.9: Biforcazioni di k_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$

Variazione di μ_C

Per quanto riguarda la variabile μ_C i diagrammi di biforcazione sono mostrati nelle figure 3.10. Per $S = 60 \cdot S_{cr}$ sono presenti l'equilibrio sano (instabile), malato (stabile) e critico (instabile) per valori uguali o inferiori alla baseline mentre per valori superiori si ha la biforcazione transcritica dell'equilibrio sano che diventa instabile facendo scomparire l'equilibrio critico instabile. Per $S = 130 \cdot S_{cr}$, infine, l'origine è l'unico equilibrio per μ_C uguale o inferiore alla baseline mentre al suo crescere si verificano la biforcazione nodo-sella che fa nascere l'equilibrio critico instabile e malato stabile e la biforcazione transcritica in $G=0$ che rende questo equilibrio instabile mentre quello critico scompare.

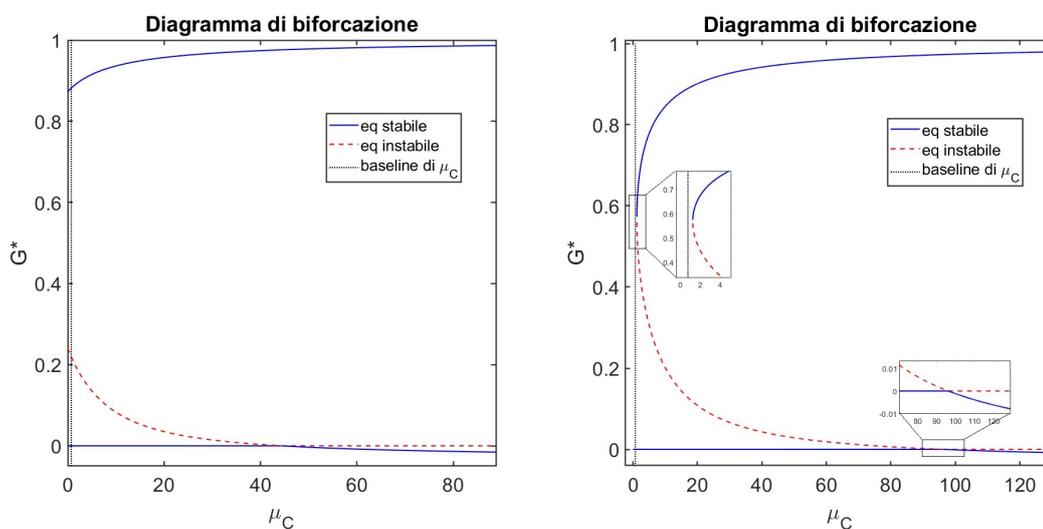


Figure 3.10: Biforcazioni di μ_C per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $S = 130 \cdot S_{cr}$

3.2.4 Risultati del modello

Vengono ora mostrati i risultati della simulazione del modello ottenuti risolvendo numericamente il sistema (3.8) tramite Matlab. Le popolazioni G e C sono adimensionalizzate mentre il tempo è riportato in ore. In ogni simulazione è stata considerata una condizione iniziale per i linfociti pari alla baseline $C(0) = b_C \mu_C$.

Nelle figure 3.11 sono mostrati i risultati della crescita del tumore e dei linfociti in assenza di terapia, viene considerata una condizione iniziale $G=0.005$. Come si può osservare il sistema immunitario si rivela insufficiente nel contrastare lo sviluppo del glioma che si sviluppa fino quasi alla sua carrying capacity.

Nelle figure 3.12-3.13 sono mostrati i risultati della crescita del tumore per una intensità di terapia $S = 60 \cdot S_{cr}$, vengono considerate due diverse condizioni iniziali con G pari a $G(0)=0.2$ e $G(0)=0.3$ rispettivamente al di sotto e al di sopra della curva critica descritta in sezione 3.2.2. Come si può osservare nel primo caso la terapia è sufficiente, riesce ad arrestare la crescita del tumore e ad eradicarlo, nel secondo caso invece si rivela insufficiente.

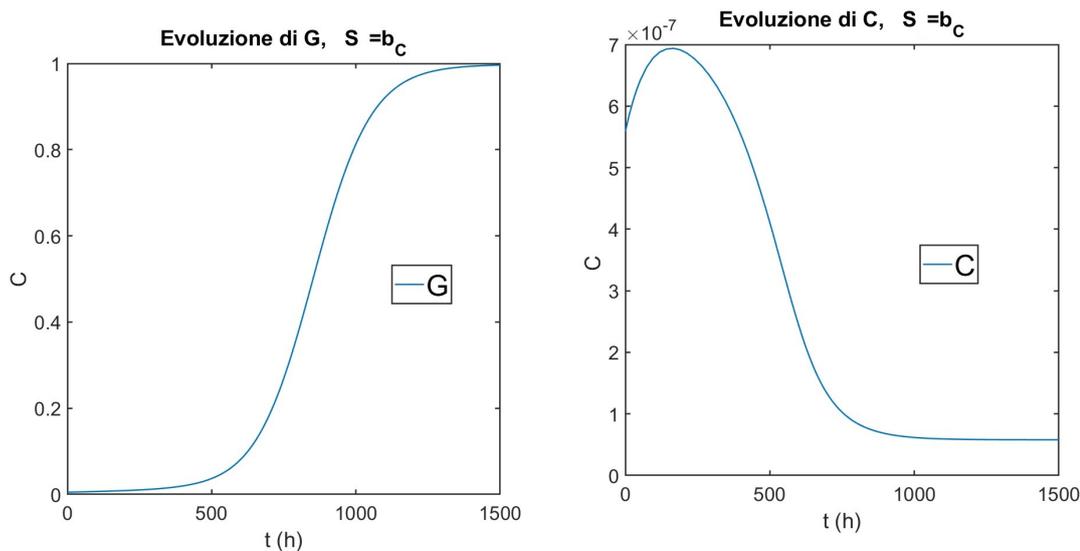


Figure 3.11: Evoluzione del sistema per $S = b_C$ e $G(0)=0.005$

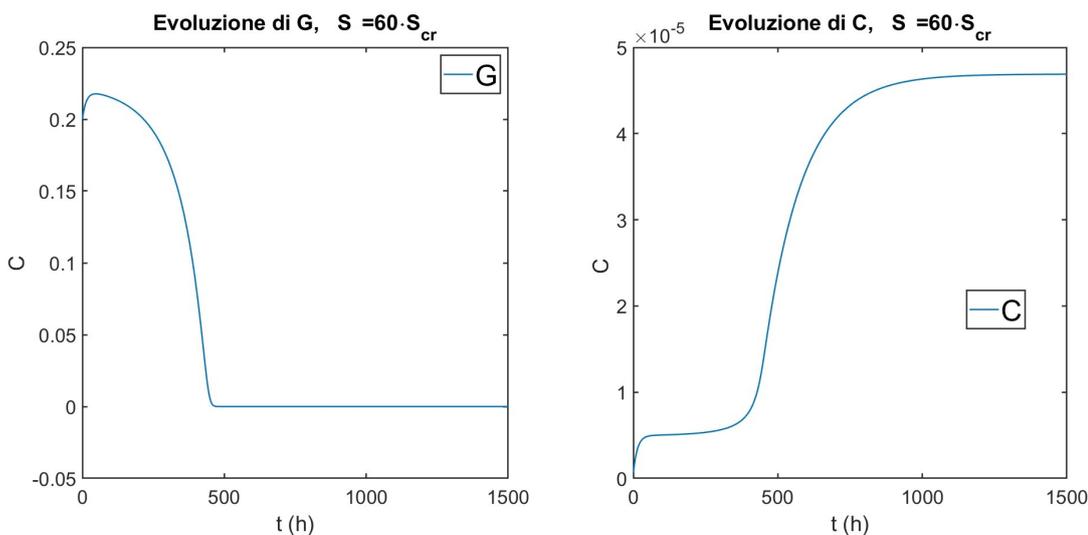


Figure 3.12: Evoluzione del sistema per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.3$

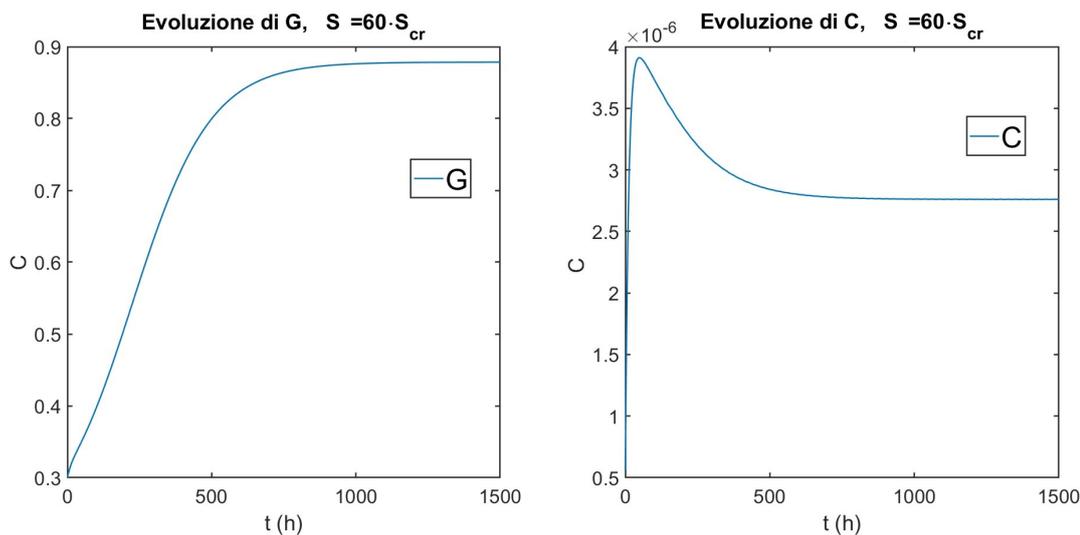


Figure 3.13: Evoluzione del sistema per $S = 60 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.3$

Nelle figure 3.14 è mostrata l'evoluzione di G e C per una intensità di terapia $S = 130 \cdot S_{cr}$, viene considerata una condizione iniziale $G(0)=0.5$. Come si può osservare la terapia riesce ad arrestare la crescita del tumore e ad eradicarlo.

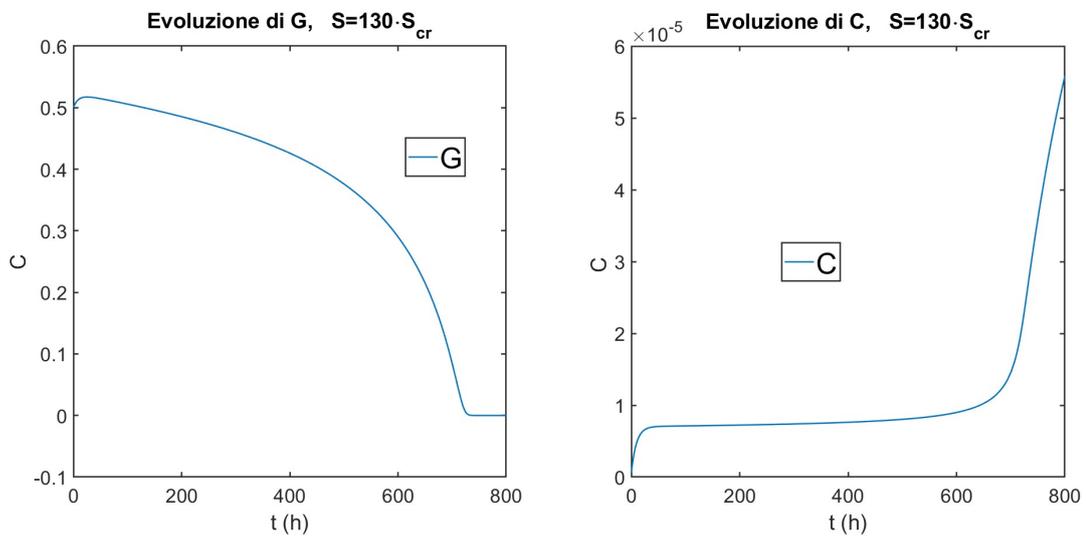


Figure 3.14: Evoluzione del sistema per $S = 130 \cdot S_{cr}$ e $G(0) = 0.5$

Chapter 4

Modello locale in spazio e tempo

In questo capitolo dopo un breve cenno sulla derivazione delle equazioni di reazione-diffusione verrà discusso un modello di PDE basato su quello mostrato nel capitolo precedente con l'aggiunta di termini diffusivi e chemiotattici. Verrà condotta un'analisi numerica per escludere la presenza di instabilità diffusive di Turing e verranno mostrate diverse possibilità per il termine di chemiotassi.

4.1 Derivazione dell'equazione di reazione-diffusione-trasporto

I sistemi di equazioni differenziali alle derivate parziali trattate saranno equazioni di reazione-diffusione-trasporto. Seguendo il procedimento illustrato in [69] viene mostrata la derivazione. Dato un campo scalare $\psi \in \mathcal{C}^2$, è possibile definire la sua quantità all'interno di un volume arbitrario fissato \mathcal{V} come

$$\mathcal{M}_{\mathcal{V}} := \int_{\mathcal{V}} \psi d\mathcal{V} \quad (4.1)$$

Viene ipotizzato che la quantità vari per effetto di due cause: un termine sorgente di produzione o degradazione S e un flusso J che attraversa la frontiera del volume.

$$\frac{d}{dt} \int_{\mathcal{V}} \psi d\mathcal{V} = -J + S = - \int_{\partial\mathcal{V}} j \cdot nd\Sigma + \int_{\mathcal{V}} \Gamma d\mathcal{V} \quad (4.2)$$

dove j è il valore puntuale del flusso. Supponendo il volume fissato nel tempo si possono scambiare derivata e integrale

$$\frac{d}{dt} \int_{\mathcal{V}} \psi d\mathcal{V} = \int_{\mathcal{V}} \frac{\partial\psi}{\partial t} d\mathcal{V} \quad (4.3)$$

da cui, applicando il teorema della divergenza su J e portando i termini a destra

$$\int_{\mathcal{V}} \left[\frac{\partial \psi}{\partial t} + \nabla \cdot j - \Gamma \right] d\mathcal{V} = 0 \quad (4.4)$$

sfruttando l'arbitrarietà del volume si può passare in forma locale ottenendo l'equazione di bilancio

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \nabla \cdot j = \Gamma \quad (4.5)$$

il flusso può essere modellizzato come la somma di due contributi $j = j_d + j_t$. Il contributo diffusivo legato al moto randomico delle quantità in esame, siano esse cellule o fattori, si può esprimere tramite la legge di Fick

$$j_d = -\mathbf{D}\nabla\psi \quad (4.6)$$

dove \mathbf{D} è detto tensore di diffusione mentre il termine di trasporto è modellato come un movimento delle particelle su cui è definito il campo scalare $j_t = \mathbf{v}\psi$ dove $\mathbf{v} = \mathbf{v}(\mathbf{x}, t) \in \mathcal{C}^1$ è la velocità di trasporto. Un'equazione di reazione-diffusione-transporto ha quindi la forma

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}\psi) = \nabla \cdot (\mathbf{D}\nabla\psi) + \Gamma \quad (4.7)$$

Se il tensore di diffusione è un multiplo scalare della matrice identità $\mathbf{D} = D\mathbf{1}$, la diffusione viene detta isotropa e l'equazione (4.7) si semplifica in

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}\psi) = D\nabla^2\psi + \Gamma \quad (4.8)$$

4.2 Modello diffusione-reazione

In questo capitolo si adatterà il modello dato dal sistema (3.1) per ottenere un modello locale capace di cogliere il comportamento disomogeneo nello spazio e di modellizzare con maggiore accuratezza una terapia consistente nell'infusione di linfociti.

Seguendo il procedimento adottato in [67], usiamo il sistema 3.1 per descrivere la concentrazione puntuale di linfociti e cellule tumorali. Le variabili saranno quindi funzioni dello spazio e del tempo $G = G(\mathbf{x}, t)$ e $C = C(\mathbf{x}, t)$ e verrà mantenuta la normalizzazione della concentrazione di G per la carrying capacity. Al modello verrà in primo luogo aggiunta una diffusione per le due popolazioni che può essere isotropa o anisotropa.

$$\begin{aligned} \frac{\partial G}{\partial t} &= \nabla \cdot [D_G \nabla G] + rG(1 - G) - \alpha_G C \frac{G}{G + k_G} \\ \frac{\partial C}{\partial t} &= \nabla \cdot [D_C \nabla C] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_G + G} + S_T \end{aligned} \quad (4.9)$$

Dove $S_T \equiv S_T(x, t)$

4.2.1 Equazione di Fisher-Kolmogorov

La prima equazione del sistema (4.9), trascurando i termini legati all'azione dei linfociti e considerando una diffusione isotropa, è la cosiddetta equazione di Fisher-Kolmogorov.

$$\frac{\partial G}{\partial t} = D_G \nabla^2 G + rG(1 - G) \quad (4.10)$$

Verrà cercata ora una soluzione dell'equazione nella forma di travelling wave. Una travelling wave è una funzione che propaga nello spazio senza cambiare il proprio profilo ad una velocità costante c . Perchè questo avvenga, la funzione deve essere nella forma $G(x, t) = G(x - ct, 0)$. Ponendo $z := x - ct$, si definisce $g(z) = G(x, t)$. Questo tipo di soluzione è frequentemente utile nella modellizzazione di fenomeni biologici come la trasmissioni di impulsi nervosi, la diffusione di epidemie, di specie non native in nuovi territori e la crescita di popolazioni cellulari. Si cercherà ora di trovare soluzioni in questa forma della (4.10) seguendo il procedimento illustrato in [69]. Viene considerato per primo il caso unidimensionale, dove $G = G(x, t)$ e $\nabla^2(\cdot) = \frac{\partial^2}{\partial x^2}$. E' conveniente inoltre adimensionalizzare le variabili ponendo $\tilde{t} = tr$ e $\tilde{x} = x/\sqrt{r/D_G}$. Lasciando cadere la tilde l'equazione assume quindi la forma

$$\frac{\partial G}{\partial t} = \frac{\partial^2 G}{\partial x^2} + G(1 - G) \quad (4.11)$$

Supponendo una soluzione in forma di travelling wave valgono:

$$\frac{\partial G}{\partial t} = \frac{\partial g}{\partial z} \frac{\partial z}{\partial t} = -cg' \quad \frac{\partial G}{\partial x} = g' \quad \frac{\partial^2 G}{\partial x^2} = g'' \quad (4.12)$$

sostituendo

$$g'' + cg' + g(1 - g) = 0 \quad (4.13)$$

l'equazione (4.13) è di secondo ordine, per facilitarne la trattazione viene ora trasformata in un sistema di primo ordine ponendo $h = g'$

$$\begin{cases} h' &= -ch - g(1 - g) \\ g' &= h \end{cases} \quad (4.14)$$

Gli stati stazionari per il sistema sono $(h^*, h^*) = (0, 0)$ $(h^*, h^*) = (0, 1)$, la jacobiana del sistema nei due punti è

$$J_{h,g} = \begin{bmatrix} -c & 1 - 2h \\ 1 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.15)$$

Vengono calcolati gli autovalori per i due punti di equilibrio sono

$$\lambda_{0,1} = \left(-c \pm \sqrt{c^2 + 4}\right) / 2 \quad e \quad \lambda_{0,0} = \left(-c \pm \sqrt{c^2 - 4}\right) / 2 \quad (4.16)$$

Supponendo $c > 0$, dal momento che $c^2 + 4 > c^2$, l'equilibrio $(0,1)$ è sempre un punto di sella. L'equilibrio $(0,0)$ invece è un fuoco stabile per $c < 2$ (quando il determinante è negativo) mentre è un nodo stabile per $c > 2$ (dal momento che $c^2 - 4 < c^2 \quad \forall c \in \mathbb{R}$). Trovare una soluzione della (4.13) equivale a trovare una traiettoria nel piano delle fasi gh che connetta $(0,0)$ e $(0,1)$. Nel caso in cui l'origine sia un fuoco, tutte le traiettorie ad essa convergenti presentano delle oscillazioni intorno ad essa, assumendo valori di g negativi, le soluzioni associate a questo caso sono quindi non fisiche. Una travelling wave fisicamente ammissibile può quindi spostarsi solo con velocità $c > 2$ ed è possibile dimostrare come questa sia unica dato un valore di c . Tornando alle unità di misura dimensionali, le soluzioni del sistema in questa forma avranno quindi velocità minima pari a

$$c = 2\sqrt{rD_G} \quad (4.17)$$

Dal momento che il modello è sviluppato per descrivere la crescita e diffusione nel cervello tridimensionale, è naturale cercare di adattare questo risultato a più dimensioni. Nella fase iniziale di crescita tumorale la massa ha una forma sferica, è quindi naturale cercare soluzioni che propagano nello spazio lungo la direzione radiale, mettendosi nel caso di simmetria sferica, in questo modo è possibile ridurre il sistema ad una dimensione. Viene utilizzato il sistema di coordinate polari. È conveniente inoltre adimensionalizzare le variabili ponendo $\tilde{t} = tr$ e $\tilde{\rho} = \rho\sqrt{r/D_G}$. Dal momento che il laplaciano in simmetria sferica è $\nabla^2(\cdot) = \nabla_\rho^2(\cdot) = \frac{1}{\rho^2} \frac{\partial}{\partial \rho} \rho^2 \frac{\partial}{\partial \rho}(\cdot)$ e lasciando cadere la tilde l'equazione(4.10) assume quindi la forma

$$\frac{\partial G}{\partial t} = \frac{1}{\rho^2} \frac{\partial}{\partial \rho} \left(\rho^2 \frac{\partial^2 G}{\partial \rho^2} \right) + G(1 - G) \quad (4.18)$$

dove $G = G(\rho, t)$. Supponendo una soluzione in forma di travelling wave nella forma $G(\rho, t) = G(\rho - ct)$. Definendo $z := \rho - ct$, nel caso in cui esista una travelling wave si procede analogamente al caso 1D ottenendo:

$$g'' + \left(c + \frac{2}{\rho}\right) g' + g(1 - g) = 0 \quad (4.19)$$

La presenza del coefficiente non costante $\left(c + \frac{2}{\rho}\right)$ impedisce l'applicazione dei risultati precedenti se non ipotizzando trascurabile la quantità $\frac{2}{\rho}$ nel limite di piccole propagazioni del fronte d'onda. In questo caso la minima velocità di propagazione adimensionalizzata della travelling wave è

$$c_{3d} := 2 - \frac{2}{\rho} \quad (4.20)$$

mentre si ricade nel caso precedente per $\frac{2}{\rho} \ll 1$. Il caso bidimensionale si risolve analogamente risultando nell'equazione

$$g'' + \left(c + \frac{1}{\rho}\right)g' + g(1 - g) = 0 \quad (4.21)$$

da cui considerando piccole variazioni si ha

$$c_{2d} := 2 - \frac{1}{\rho} \quad (4.22)$$

Le velocità dimensionali risultano essere rispettivamente

$$c_{3d,d} := \left(2 - \frac{2}{\rho} \sqrt{\frac{D_G}{r}}\right) \sqrt{r D_G} \quad (4.23)$$

$$c_{2d,d} := \left(2 - \frac{1}{\rho} \sqrt{\frac{D_G}{r}}\right) \sqrt{r D_G} \quad (4.24)$$

4.2.2 Stabilità lineare del sistema con diffusione

Verrà ora studiata l'eventuale presenza di eventuali instabilità di Turing nel caso in cui sia presente una diffusione isotropa. Questo fenomeno, chiamato anche Diffusion driven instability, consiste in una situazione in cui uno stato stazionario di un'equazione diffusione-reazione è stabile considerando solo i termini di reazione mentre la diffusione ha un'azione destabilizzante. Questo porta alla formazione di instabilità in un range limitato di lunghezze d'onda che generano solitamente pattern spaziali ondulatori.

Dalla sezione 3.2.1 vi sono due rami di equilibri stabili: il ramo $(G^*, C^*) = (0, S/\mu_1)$ per valori sufficientemente alti di S e il ramo "tumore sviluppato" per valori sufficientemente piccoli di S. In particolare la presenza di questo tipo di instabilità nel primo punto di equilibrio è da escludere in quanto causerebbe oscillazioni negative che renderebbero la soluzione priva di senso fisico. Il primo caso può essere studiato analiticamente mentre il secondo solamente numericamente.

Per studiare la presenza di instabilità diffusive si cercano soluzioni nell'intorno di un punto di equilibrio stabile (G^*, C^*) nella forma $G = G^* + \tilde{G}$ e $C = C^* + \tilde{C}$ con $\tilde{G} = \hat{G}e^{\lambda t + i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}}$ e $\tilde{C} = \hat{C}e^{\lambda t + i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}}$ tali per cui $\lambda > 0$ e per le quali. Il problema linearizzato risulta essere:

$$\lambda \begin{pmatrix} \hat{G} \\ \hat{C} \end{pmatrix} e^{\lambda t + i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}} = -k^2 \begin{bmatrix} D_G & 0 \\ 0 & D_C \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \hat{G} \\ \hat{C} \end{pmatrix} e^{\lambda t + i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}} + \mathbf{J}|_{G^*, C^*} \begin{pmatrix} \hat{G} \\ \hat{C} \end{pmatrix} e^{\lambda t + i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}} \quad (4.25)$$

dove $k^2 = \|\underline{k}\|_2^2$ da cui per ottenere soluzioni non banali si impone

$$\det \begin{bmatrix} \lambda + k^2 D_G - \mathbf{J}|_{G^*, C^*}^{1,1} & -\mathbf{J}|_{G^*, C^*}^{1,2} \\ -\mathbf{J}|_{G^*, C^*}^{2,1} & \lambda + k^2 D_C - \mathbf{J}|_{G^*, C^*}^{2,2} \end{bmatrix} = 0 \quad (4.26)$$

esplicitando per $(G^*, C^*) = (0, S/\mu_C)$ si ottiene

$$\left(\frac{\alpha_G S}{\mu_C k_G} C^* - r + D_G k^2 + \lambda \right) (\mu_C + D_C k^2 + \lambda) = 0. \quad (4.27)$$

Dal momento che dalla (3.10) segue che l'equilibrio $(0, S/\mu_C)$ è stabile se e solo se

$$r - \frac{\alpha_G S}{\mu_C k_G} C^* < 0, \quad (4.28)$$

$$\frac{\alpha_G S}{\mu_C k_G} C^* - r > 0 \quad (4.29)$$

allora e

$$\frac{\alpha_G S}{\mu_C k_G} C^* - r + k^2 D_G > 0, \quad (4.30)$$

di conseguenza tutte le soluzioni che sono stabili per il sistema senza diffusione sono tali per cui $\lambda < 0$. Non sono quindi presenti instabilità di Turing negli equilibri $(G^*, C^*) = (0, S/\mu_C)$ per qualsiasi valore di S.

Per quanto riguarda l'equilibrio "superiore", l'analisi è più difficile. Considerando il caso del set di parametri in 5.2 e variando solamente la terapia totale S si procede per via numerica. Dalla (4.26), si ha

$$\lambda^2 + \lambda \left(k^2 (D_G + D_C) - \mathbf{J}^{1,1} - \mathbf{J}^{2,2} \right) + (k^2 D_G - \mathbf{J}^{1,1})(k^2 D_C - \mathbf{J}^{2,2}) - \mathbf{J}^{1,2} \mathbf{J}^{2,1} = 0 \quad (4.31)$$

definendo

$$T(k^2) = k^2 (D_G + D_C) - \text{tr}(\mathbf{J}) \quad (4.32)$$

e

$$Q(k^2) := (k^2 D_G - \mathbf{J}^{1,1})(k^2 D_C - \mathbf{J}^{2,2}) - \mathbf{J}^{1,2} \mathbf{J}^{2,1} \quad (4.33)$$

vale

$$\lambda = \frac{1}{2} \left(-T(k^2) \pm \sqrt{T(k^2)^2 - 4Q(k^2)} \right) \quad (4.34)$$

perchè esista una soluzione λ reale della (4.34) deve valere

$$T(k^2)^2 - 4Q(k^2) > 0 \quad (4.35)$$

inoltre perchè sia $\lambda > 0$ deve valere

$$T(k^2) < 0 \parallel Q(k^2) < 0 \quad (4.36)$$

Dal momento che $tr(\mathbf{J}) < 0$ per ipotesi di stabilità senza diffusione, e $D_G, D_C > 0$, vale $T(k^2) := k^2(D_G + D_C) - tr(\mathbf{J}) > 0 \forall k$ e la condizione (4.36) equivale a $Q(k^2) < 0$.

$Q(k^2) < 0$ è inoltre condizione sufficiente per la (4.35). Si studia quindi il problema

$$\text{trovare } k^2 > 0 \text{ t.c. } k^4 D_G D_C - k^2 (D_G \mathbf{J}^{2,2} + D_C \mathbf{J}^{1,1}) + det(\mathbf{J}) < 0. \quad (4.37)$$

Dal momento che si tratta di una parabola con concavità positiva in k^2 , l'esistenza di soluzioni della (4.37) equivale a imporre.

$$K_1 := (D_G \mathbf{J}^{2,2} + D_C \mathbf{J}^{1,1})^2 - 4 D_G D_C det \mathbf{J} > 0 \quad (4.38)$$

perchè il minimo della parabola sia negativo e

$$K_2 := D_G \mathbf{J}^{2,2} + D_C \mathbf{J}^{1,1} > 0 \quad (4.39)$$

perchè esistano $k^2 > 0$ per i quali la parabola sia negativa. Per avere instabilità diffusiva quindi, entrambe le quantità K_1 e K_2 devono essere positive.

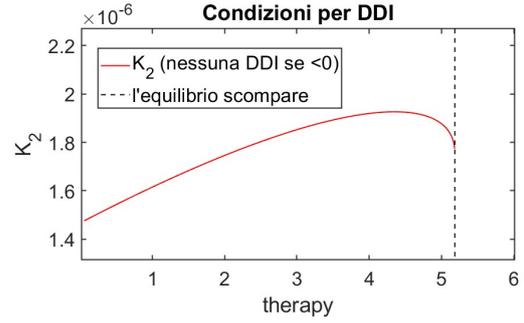
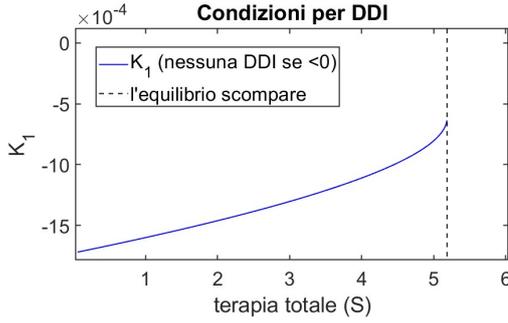


Figure 4.1: Controllo della condizione (4.38) **Figure 4.2:** Controllo della condizione (4.39)

Nelle figure 4.1 e 4.2 sono riportate la (4.38) e la (4.39) per il range di terapia in cui l'equilibrio superiore esiste ed è stabile: dal momento che la seconda di esse è sempre negativa nell'intervallo, il sistema non dà origine a instabilità di Turing.

4.3 Modello trasporto-diffusione-reazione: introduzione della chemiotassi

Il modello finora ipotizza come il moto dei linfociti sia un random walk casuale. A livello biologico, tuttavia, gli immunociti si muovono verso i siti di infiammazione

per combattere le minacce per l'organismo. Il meccanismo attraverso il quale ciò avviene è la chemiotassi. La chemiotassi è il processo per cui le cellule migrano quando sono esposte a gradienti chimici esterni [70]. Questo fenomeno è stato oggetto di studio [71, 72] e classicamente modellizzato attraverso un termine di trasporto nell'equazione (4.7) pari a $v = \chi \nabla T$ dove T è il chemioattraente. χ è detto coefficiente chemiotattico e può essere preso scalare (isotropo) o tensoriale (anisotropo). In generale il coefficiente chemiotattico è funzione delle variabili per modellizzare diversi tipi di fenomeno.

Una prima semplice possibilità per aggiungere un meccanismo chemiotattico è porre $T \equiv G$ modellizzando un flusso dei linfociti che si dirige direttamente verso concentrazioni più alte di cellule tumorali supponendo che la velocità convettiva sia proporzionale al gradiente di concentrazione di G e avente stessa direzione e verso. Il risultante modello prevede quindi sempre due popolazioni. L'equazione per G rimane inalterata mentre per C diventa

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_C \nabla^2 C - \nabla \cdot [\chi(G, C) C \nabla G] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} + S_T(x, t) \quad (4.40)$$

Questa modellizzazione, per quanto semplice da implementare, consente di avere un moto dei linfociti solo nelle regioni in cui vi è presenza di cellule tumorali senza poterli richiamare da regioni più distanti, è inoltre poco realistica dal punto di vista biologico in quanto i linfociti rispondono chemiotatticamente a fattori chimici che si legano a recettori sulla loro superficie [73]. Un'altra possibilità è quella di introdurre tra le variabili indipendenti un chemioattraente (T) insieme ad un'equazione che ne descriva il comportamento. Viene quindi aggiunto un termine di trasporto all'equazione dei linfociti e l'equazione completa per i linfociti diventa

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_C \nabla^2 C - \nabla \cdot [\chi(G, C, T) C \nabla T] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} + S_T(x, t) \quad (4.41)$$

Il chemioattraente viene modellizzato con un'equazione di diffusione-reazione: esso viene prodotto ad un tasso lineare dalle cellule tumorali, diffonde e si degrada seguendo un decadimento esponenziale

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot [D_T \nabla T] + p_T G - \mu_T T \quad (4.42)$$

Con questa scelta il modello diventa:

$$\begin{aligned} \frac{\partial G}{\partial t} &= D_G \nabla^2 G + rG(1 - G) - \alpha_G C \frac{G}{k_G + G} \\ \frac{\partial C}{\partial t} &= D_C \nabla^2 C - \nabla \cdot [\chi(G, C, T) C \nabla T] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} + S_T(x, t) \\ \frac{\partial T}{\partial t} &= D_T \nabla^2 T + p_T G - \mu_T T \end{aligned} \quad (4.43)$$

Chapter 5

Simulazioni numeriche

In questa sezione verrà risolto numericamente il modello (4.43) descritto nella sezione 4. Verranno inizialmente descritti i metodi numerici e mostrati i risultati delle simulazioni del modello in una geometria semplificata 2D. L'importanza relativa dei diversi parametri verrà analizzata attraverso uno studio di sensibilità sui risultati delle simulazioni condotte con diversi set di parametri. In seguito il sistema verrà simulato in 3D nella geometria del cervello sia nell'ipotesi di isotropia sia sfruttando i dati del DTI per individuare le direzioni preferenziali.

5.1 Implementazione numerica

Il modello basato su equazioni di diffusione-trasporto-reazione viene risolto attraverso un codice scritto nel linguaggio Python facendo uso delle librerie di FEniCS project. FEniCS è una piattaforma computazionale per risolvere PDE sviluppata a partire dal 2003 da una collaborazione internazionale che comprende numerose università e istituti di ricerca [74]. FEniCS si basa sul metodo a elementi finiti (FEM), una tecnica che approssima la soluzione dei problemi continui attraverso una discretizzazione in spazi di dimensione finita trattabili attraverso sistemi di equazioni algebriche [75]. Il punto di partenza per il FEM è la formulazione delle PDE in forma variazionale debole [76, 77]. Un problema differenziale con dipendenza dal tempo per una funzione incognita $u(\mathbf{x}, t)$ può essere scritto in tale formulazione come:

$$\text{trovare } u \in \mathcal{V} \text{ t.c. } \left(\frac{\partial u}{\partial t}, v \right) = a(u, v) + F(v) \quad \forall v \in \mathcal{V} \quad (5.1)$$

dove V è uno spazio vettoriale, (\cdot, \cdot) è un prodotto scalare, $a(\cdot, \cdot)$ è una forma lineare nel secondo argomento e F è un funzionale lineare. Con il FEM è possibile risolvere il problema in un intervallo temporale $[t_1, t_2]$. Per introdurre una semidiscretizzazione

omogenea del tempo si fissa un numero totale di step T e si definisce $\Delta t := \frac{t_2 - t_1}{N}$ denotando $u^n(\mathbf{x}) := u(\mathbf{x}, n\Delta t)$. La derivata temporale nella (5.1) può essere espressa attraverso diverse tecniche, una comune scelta è l'uso di differenze del primo ordine.

$$\frac{\partial u}{\partial t}(n\Delta t) \sim \frac{u^n - u^{n-1}}{\Delta t} \quad (5.2)$$

il problema assume quindi la forma

$$\text{trovare } u^n \in \mathcal{V} \text{ t.c. } \left(\frac{u^n - u^{n-1}}{\Delta t}, v \right) = a(u^n, v) + F(v) \quad \forall v \in \mathcal{V} \quad (5.3)$$

L'uso dell'incognita u^n all'interno della forma $a(\cdot, \cdot)$ corrisponde alla scelta del cosiddetto metodo di Eulero implicito. Il problema (5.3) viene inoltre proiettato su un sottospazio vettoriale di dimensione N finita $V_h \subset V$ dotato di una base $\{\phi_j\}_{j=1:N}$ ottenendo il problema variazionale discreto

$$\text{trovare } u_h \in V_h \text{ t.c. } (u_h^n, \phi_j) = (u_h^{n-1}, \phi_j) + \Delta t a(u_h^n, \phi_j) + \Delta t F(\phi_j) \quad \forall j = 1 : N \quad (5.4)$$

che può essere risolto come sistema di equazioni algebriche.

Ricavo della forma variazionale per il modello Nel caso dello studio del modello (5.10) oggetto di questo capitolo, si considera un dominio Ω e una mesh \mathcal{T} che sarà formata da elementi triangolari nel caso 2D e tetraedrici nel caso 3D. Per ciascuna concentrazione viene utilizzato il sottospazio delle funzioni continue lineari a tratti sulle celle della mesh.

$$\mathcal{V}_h := \{v \in \mathcal{C}^0(\Omega) \text{ t.c. } v|_T \in \mathbb{P}_1(T) \forall T \in \mathcal{T}\} \quad (5.5)$$

mentre il problema variazionale discretizzato consiste in

trovare $u_1^n, u_2^n, u_3^n \in \mathcal{V}_h$ tali che:

$$\begin{aligned} \int_{\Omega} \left[\frac{u_1^n - u_1^{n-1}}{\Delta t} v_1 - \nabla \cdot [D_G \nabla u_1^n] v_1 + R_1(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_1 + \right. \\ \left. + \frac{u_2^n - u_2^{n-1}}{\Delta t} v_2 - \nabla \cdot [D_C \nabla u_1^n] v_2 + \nabla \cdot [\chi u_2^n \nabla u_3^n] v_2 + R_2(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_2 + \right. \\ \left. + \frac{u_3^n - u_3^{n-1}}{\Delta t} v_3 - \nabla \cdot [D_T \nabla u_1^n] v_3 + R_3(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_3 \right] d\Omega = 0 \end{aligned} \quad (5.6)$$

dove R_1, R_2, R_3 contengono i termini di reazione. Tuttavia $\mathcal{V}_h \not\subset \mathcal{C}^2(\Omega)$ e di conseguenza, non sono definite le derivate seconde dei termini u_1, u_2, u_3 quando si

prendono termini del primo ordine. Per rilassare le ipotesi di regolarità si integra per parti. Il contributo dovuto al primo laplaciano diventa

$$\int_{\Omega} \nabla \cdot [D_G \nabla u_1^n] v_1 d\Omega = - \int_{\Omega} D_G \nabla u_1^n \cdot \nabla v_1 d\Omega + \int_{\partial\Omega} v_1 \nabla u_1^n \cdot d\Sigma \quad (5.7)$$

Imponendo delle condizioni di Neumann alla frontiera si ha $\int_{\partial\Omega} v_1 \nabla u_1^n \cdot \mathbf{n} d\Sigma = 0$

$$\int_{\Omega} \nabla \cdot [D_G \nabla u_1^n] v_1 d\Omega = - \int_{\Omega} D_G \nabla u_1^n \cdot \nabla v_1 d\Omega \quad (5.8)$$

Procedendo analogamente per gli altri termini diffusivi e di trasporto e sostituendo nella (5.6) si ottiene la formulazione variazionale debole per il problema usata da FEniCS per la risoluzione numerica.

$$\begin{aligned} \int_{\Omega} \left[\frac{u_1^n - u_1^{n-1}}{\Delta t} v_1 + D_G \nabla u_1^n \cdot \nabla v_1 + R_1(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_1 + \right. \\ \left. + \frac{u_2^n - u_2^{n-1}}{\Delta t} v_2 + D_C \nabla u_2^n \cdot \nabla v_2 - \chi u_2^n \nabla u_3^n \cdot \nabla v_2 + R_2(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_2 + \right. \\ \left. + \frac{u_3^n - u_3^{n-1}}{\Delta t} v_3 + D_T \nabla u_3^n \cdot \nabla v_3 + R_3(u_1^n, u_2^n, u_3^n) v_3 \right] d\Omega = 0 \end{aligned} \quad (5.9)$$

5.2 Scelta dei parametri

L'identificazione e la comprensione accurata degli opportuni parametri numerici è fondamentale per la costruzione di modelli predittivi robusti e affidabili, essi sono tuttavia difficili da ottenere attraverso misurazioni dirette e devono essere ricavati da esperimenti in vitro o da stime. Trovandosi nell'impossibilità di condurre esperimenti, i parametri sono stati ottenuti da risultati da varie fonti presenti in letteratura che in questa sezione verranno discusse.

Coefficienti di crescita del tumore Per il sistema di ODE globale che descrive il numero totale di cellule tumorali nel cervello il coefficiente di proliferazione è posto pari a $r=0.01\text{h}^{-1}$ e la carrying capacity viene posta pari a $G_{max}=882650$ cells dal fit di curve di crescita di esperimenti in vitro [65]. Per le simulazioni in 2D e 3D nella geometria del cervello il cui l'oggetto di studio è la concentrazione puntuale è posto $r=0.003125 \text{ h}^{-1}$ [36] mentre viene considerato $G_{max} = 2.39 \cdot 10^8$ cells/mL assumendo un raggio cellulare di $10 \mu\text{m}$ [38].

Coefficienti di eliminazione delle cellule tumorali Il coefficiente eliminazione delle cellule tumorali è ottenuto da [65], $\alpha_G = 0.12 \text{ cells h}^{-1}$, vengono quindi trascurati gli effetti immunosoppressivi dovuti al TGF-beta. Il coefficiente di saturazione di tipo Michelis-Menten del termine di eliminazione delle cellule tumorali viene posto pari a $k_G=0.031G_{max}$ come ottenuto da esperimenti in vitro [65].

Coefficienti di eliminazione dei linfociti Il coefficiente di eliminazione dei linfociti è considerato pari a $\alpha_C = 0.168 \text{ cells/h}^{-1}$ mentre il coefficiente di Michaelis-Menten è posto pari a $k_C = 0.379 G_{max}$ è ottenuto da esperimenti in vitro [65].

Decadimento dei linfociti L'emivita dei linfociti è di 3.9 giorni [65], il coefficiente di morte naturale dei linfociti è perciò $\mu_C = 0.0074 \text{ h}^{-1}$.

Baseline linfociti Il CNS di un individuo in salute contiene circa $1.5 \cdot 10^5$ linfociti [78], considerando in atto un processo infiammatorio viene ipotizzato che questo numero raddoppi come effetto della risposta immunitaria innata. Per imporre un valore stabile (in assenza della loro eliminazione da parte delle cellule tumorali e di terapia) per il numero di linfociti pari a $3.0 \cdot 10^5$ cellule, nel modello globale viene quindi posto $b_T = 3.0 \cdot 10^5 \mu_C \text{ cells} = 740 \text{ cells h}^{-1}$. Dividendo il valore totale per un volume del cervello stimato in 1200mL si ottiene una densità di 250 cells/mL da cui viene imposto un valore per le simulazioni in 2D e 3D $b_T = 250 \frac{\text{cell}}{\text{mL}} \mu_C \sim 1.85 \frac{\text{cell}}{\text{h mL}}$.

Decadimento del chemioattraente Il coefficiente di decadimento del chemioattraente è ottenuto da [65], dal momento che il tasso di decadimento del TGF-beta è troppo alto per dare un gradiente di concentrazione significativo al di fuori della zona di concentrazione del tumore si è scelto di usare il tasso di decadimento della citochina IL-2 pari a $\mu_T = 0.102 \text{ h}^{-1}$.

Coefficienti diffusivi Viene scelto un coefficiente di diffusione pari a $D_G = 5.417 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ h}^{-1}$ per le cellule tumorali [36]. La diffusività dei linfociti in presenza di tumore è stata osservata raggiungere $10^{-2} \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ in esperimenti in vitro [53], viene quindi scelto $D_G = 4.167 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ h}^{-1}$. Le citochine hanno una diffusività di ordini di grandezza maggiore rispetto alle cellule [53]. Per il coefficiente di diffusione viene stimato un coefficiente come nello studio [67] pari a 16 volte il coefficiente di diffusione dei linfociti.

Coefficienti di chemiotassi Il valore del coefficiente chemiotattico e di saturazione dei recettori nel caso della geometria semplificata 2D verranno stimati nella sezione 5.4.3, i valori ottenuti sono $\chi_{2D} = 4.9 \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{h} \cdot \text{pg}}$, $\epsilon_{2D} = 0.056 \text{ pg}^{-1}$.

Analogamente al caso bidimensionale, il valore del coefficiente chemiotattico e di saturazione dei recettori usati nelle simulazioni nella geometria 3D del cervello verranno stimati nella sezione 5.5.1 ottenendo $\chi_{3D} = 1.66 \frac{\text{mm}^2}{\text{h} \cdot \text{pg}}$, $\epsilon_{3D} = 0.16 \text{ pg}^{-1}$.

5.3 Simulazioni 2D

L'obiettivo di questa sezione è descrivere la crescita di un tumore in un dominio semplificato 2D sotto le ipotesi di una diffusione isotropa e l'effetto dell'applicazione della terapia. Il sistema di equazioni simulato è

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial G}{\partial t} &= D_G \nabla^2 G + rG(1 - G) - \alpha_G C \frac{G}{k_G + G} \\
 \frac{\partial C}{\partial t} &= D_C \nabla^2 C - \nabla \cdot [\chi(G, C, T) C \nabla T] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} + S_T(x, t) \\
 \frac{\partial T}{\partial t} &= D_T \nabla^2 T + p_T G - \mu_T T
 \end{aligned}
 \tag{5.10}$$

La concentrazione di cellule tumorali viene normalizzata per la sua carrying capacity e la concentrazione di linfociti per una costante $C_{max} := 10^6$ cells. Per interpretare l'output di un modello diffusivo per la concentrazione è necessario fissare un valore soglia per determinare dove effettivamente si trova il tumore in quanto non vi è un interfaccia netta tra esso e il tessuto sano. La regione di spazio dove la concentrazione G supera tale valore sarà quella occupata dal tumore [35]. Viene considerato un valore soglia di 8000 cells/mL in analogia con quanto riportato in altri lavori in letteratura [36]. Dal momento che verrà usata una carrying capacity pari a $G_{max} = 2.39 \cdot 10^8$ cells [79], questo corrisponde ad un valore di 0.0335 per la concentrazione normalizzata.

5.3.1 Setup per le simulazioni numeriche

Dominio

Viene supposto che nella sua crescita libera il tumore segua una simmetria radiale. Dato ciò, per rendere meno onerosa computazionalmente la simulazione, come dominio viene preso un settore circolare di ampiezza $\frac{\pi}{2}$. Le prove vengono condotte considerando un tempo massimo per la simulazione pari a 2400 ore (pari a 100 giorni, mediana di sopravvivenza per GBM non trattato). La dimensione tipica di un GBM al momento del decesso del paziente è di 3 cm, il raggio del settore circolare viene quindi preso di questa dimensione.

Terapia

Il trattamento del GBM tramite infusione di linfociti è oggetto di diversi studi clinici tuttora in corso [21] in particolare in combinazione con tecniche di ingegneria genetica usando CAR-T. Diverse modalità di somministrazione sono state proposte: le T-cell possono essere iniettate in sede periferica attraverso un'infusione

intravenosa [80], spinte ad attraversare la BBB da segnali chimici [65] o infuse direttamente all'interno del cervello attraverso un catetere [68]. In questo lavoro verrà modellizzato quest'ultimo approccio tramite una sorgente di linfociti limitata nello spazio.

Per la forzante S modellizzante l'infusione intracranica si è scelta una gaussiana costante nel tempo

$$S_T(x, y) = S_0 \exp \left[\frac{(x - x_T)^2 + (y - y_T)^2}{2\sigma_S^2} \right] \text{ cells h}^{-1}\text{mL}^{-1} \quad (5.11)$$

con $\sigma_S = 0.044\text{cm}$. Le diverse intensità di terapia sono modellizzate dal coefficiente S_0 . Il centro della gaussiana rappresenta la posizione del capo del catetere attraverso cui viene infusa la terapia, viene stabilito arbitrariamente il punto di applicazione $(x_T, y_T) = (1.1 \text{ cm}, 1.1 \text{ cm})$. Dall'integrale gaussiano si ottiene il tasso totale di linfociti infusi nell'approssimazione che il contributo non compreso nel dominio sia trascurabile

$$S_{tot} = C_{max} S_0 (2\pi)^{n/2} \sigma_S^n \sim 0.0122 S_0 C_{max} \text{ cells} \quad (5.12)$$

Condizioni iniziali Come condizione iniziale per la concentrazione delle cellule tumorali viene presa una gaussiana centrata nell'origine del piano XY.

$$G(x, y, t = 0) = G_0 \exp \left[\frac{x^2 + y^2}{2\sigma_G^2} \right] \text{ cells mL}^{-1} \quad (5.13)$$

con $\sigma_G = 0.124\text{cm}$, la concentrazione massima è quindi presente per $(x, y) = (0 \text{ cm}, 0 \text{ cm})$ e viene presa pari a $G_0 = 0.5$ ossia la concentrazione è pari a metà della carrying capacity.

Per l'infusione di linfociti e per il chemioattraente, vengono imposte una concentrazioni iniziali nulle:

$$C(x, y, t = 0) \equiv 0 \text{ cells mL}^{-1}$$

$$T(x, y, t = 0) \equiv 0 \text{ pg mL}^{-1}$$

Condizioni al bordo Per quanto riguarda le condizioni al contorno, vengono imposte condizioni al contorno di Neumann per tutte le variabili.

$$\nabla G \cdot \mathbf{n} = \nabla C \cdot \mathbf{n} = \nabla T \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (5.14)$$

Questo equivale a imporre che il flusso entrante o uscente dalla frontiera del dominio sia nullo per tutte le variabili. Il significato fisico di questa condizione è che nessun fattore chimico o cellula possa uscire dal dominio [81].

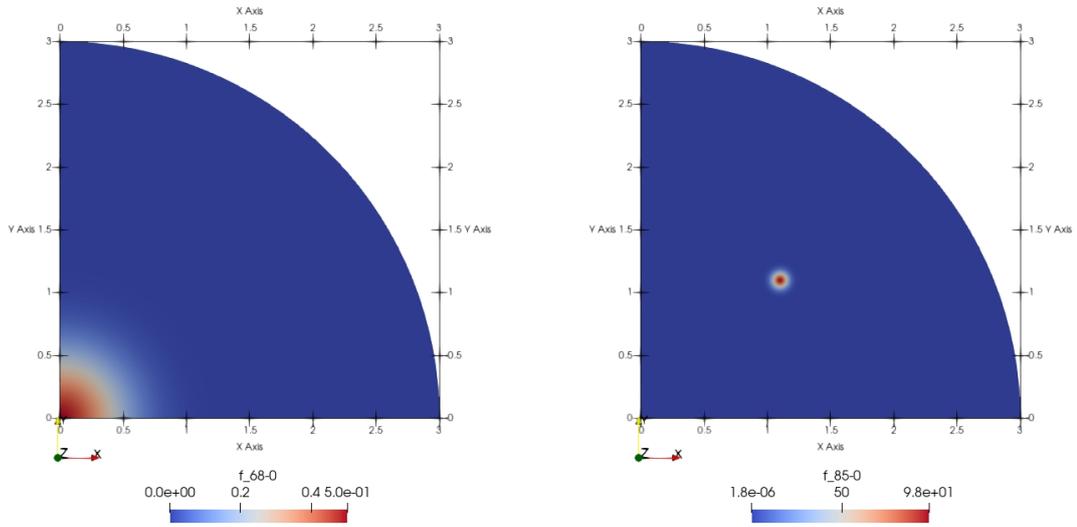


Figure 5.1: Condizioni iniziali per il tumore e termine sorgente S_T per $S_0 = 10^2$

Mesh

Per quanto riguarda la mesh, viene utilizzata come base quella creata automaticamente da FEniCS, essa viene raffinata in due step successivi dove necessario come mostrato nelle figure 5.2.

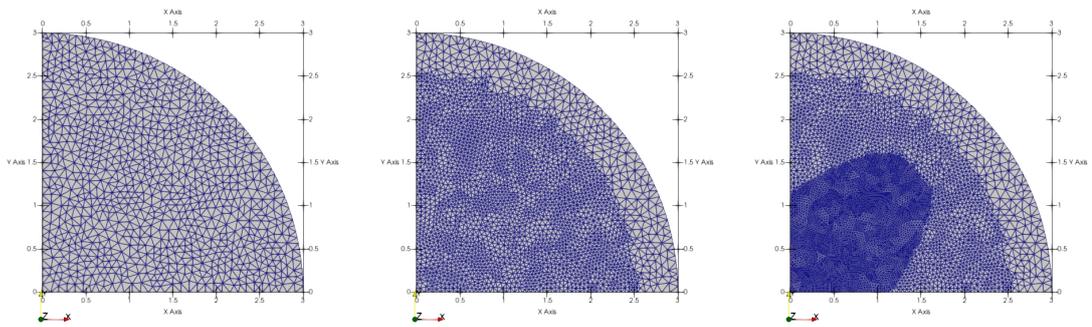


Figure 5.2: Mesh base uniforme creata da FEniCS e i due successivi passi step di raffinamento della mesh

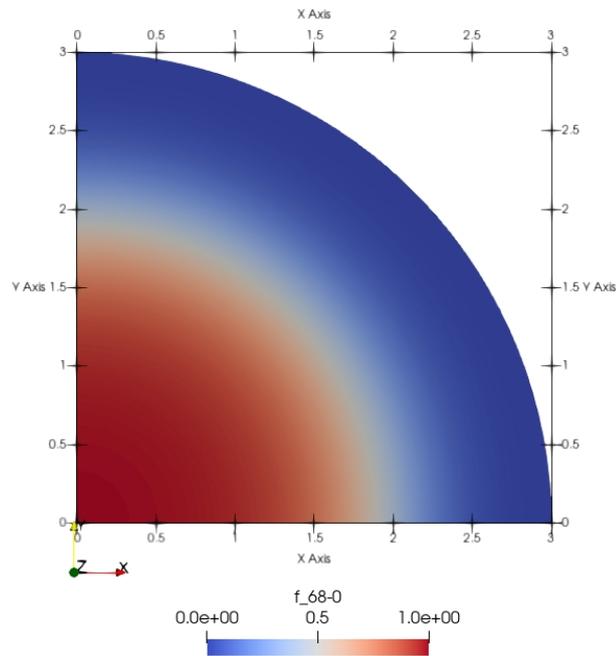


Figure 5.3: Crescita incontrollata per $t = 2400$ h

In figura 5.3 è mostrato lo stato di un tumore per $t = 2400$ h senza trattamento (ossia ponendo $S_T = 0$), la massima concentrazione di cellule tumorali è sempre contenuta nella circonferenza di raggio $r = 2.5$ cm. Le celle presenti in questa regione vengono quindi raffinate.

E' noto che la presenza di un termine di trasporto sia fonte di instabilità numeriche che possono essere trattate in maniera opportuna e stabilizzato attraverso apposite tecniche numeriche. In questo lavoro si è tuttavia deciso di limitare l'effetto di queste instabilità raffinando la mesh. Viene quindi eseguito un ulteriore raffinamento. Dalla simmetria radiale del dominio è ragionevole supporre che il flusso di linfociti sia particolarmente rilevante in prossimità del segmento di estremi $(1.1 \text{ cm}, 1.1 \text{ cm})$ e $(0 \text{ cm}, 0 \text{ cm})$. Nel secondo step vengono quindi raffinate le celle che si trovano in una regione che lo comprende. Viene preso un margine ampio per non incorrere in instabilità numeriche anche nei casi in cui siano variati i parametri di interazione e di chemiotassi.

5.4 Simulazioni nella geometria semplificata

5.4.1 Espansione del tumore in assenza di terapia

Viene in primo luogo confrontato il risultato ottenuto dalla sezione 4.2.1 con il risultato numerico per l'espansione del tumore ottenuto risolvendo nel setup descritto l'equazione

$$\frac{\partial G}{\partial t} = D_G \nabla^2 G + rG(1 - G). \quad (5.15)$$

Dalla (4.17) (4.24) la velocità radiale prevista per l'espansione del fronte dell'onda nell'ipotesi in cui $\frac{D_G}{\rho} \ll 1$ è $c = 2\sqrt{rD_G}$ mentre nell'ipotesi di piccole variazioni di ρ $c' = 2\sqrt{rD_G} - \frac{D_G}{\rho}$. Sostituendo i valori numerici nella (4.24) si ottiene $c' \sim 8.23 \cdot 10^{-4} \text{cm h}^{-1} - \frac{D_G}{\rho}$. Le immagini 5.4 mostrano l'espansione del fronte d'onda ottenuta visualizzando i punti del dominio con concentrazione di cellule superiore a valori soglia per gli istanti temporali $t_1 = 1200\text{h}$ e $t_2 = 2400\text{h}$. Le espansioni dei fronti d'onda sono di $0.889 \pm 0.01 \text{ cm}$, i fronti d'onda si propagano con una velocità media $c_{num} = 7.40 \cdot 10^{-4} \text{cm h}^{-1}$ la differenza con il valore di velocità c previsto in prima approssimazione è di circa l'11%. Dal momento che nella simulazione i fronti d'onda si spostano in un intervallo $1 < \rho < 2.5$ si ha $c' \sim 7.85 \pm 0.08 \cdot 10^{-4} \text{cm h}^{-1}$. L'errore relativo tra il risultato teorico e quello numerico è di circa il 5.7%. Si suppone che le differenze siano dovute alle approssimazioni tra le ipotesi del risultato teorico quali il considerare un dominio finito, il supporre un raggio costante durante la propagazione e gli errori di approssimazione numerica.

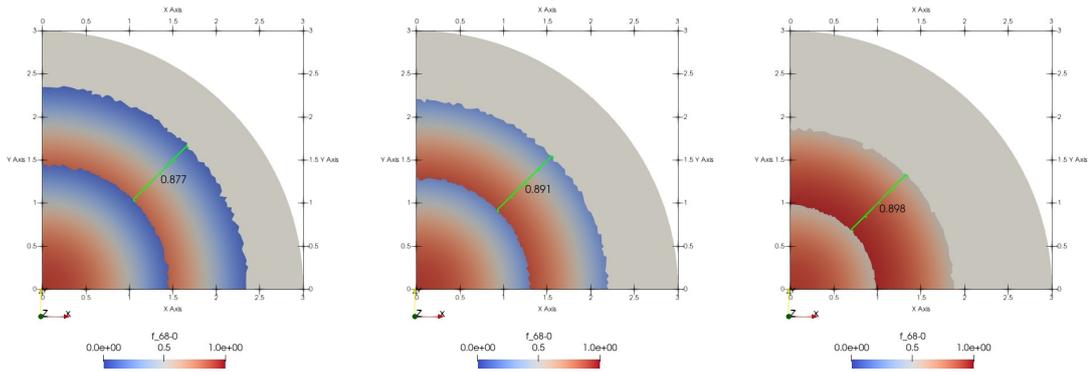


Figure 5.4: Avanzamento del fronte per concentrazioni maggiori di 0.1, 0.2 e 0.5 volte la carrying capacity

5.4.2 Flusso chemiotattico su G

Come prima simulazione dell'interazione tra cellule tumorali e linfociti viene inizialmente considerato il sistema (4.9) con l'aggiunta del termine chemiotattico con dipendenza dal gradiente delle cellule tumorali descritto in (4.40)

$$\begin{aligned} \frac{\partial G}{\partial t} &= \underbrace{D_G \nabla^2 G}_{\text{diffusione}} + \underbrace{rG(1-G)}_{\text{crescita logistica}} - \underbrace{\alpha_G C \frac{G}{k_G + G}}_{\text{eliminazione per C}} \\ \frac{\partial C}{\partial t} &= \underbrace{D_C \nabla^2 C}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\nabla \cdot [\chi(G, C, T) C \nabla G]}_{\text{chemiotassi}} + \underbrace{b_C}_{\text{baseline}} - \underbrace{\mu_C C}_{\text{morte naturale}} - \underbrace{\alpha_C C \frac{G}{k_C + G}}_{\text{eliminazione per G}} + \underbrace{S_T(x, t)}_{\text{terapia}} \end{aligned} \quad (5.16)$$

Si procede alla soluzione numerica del sistema descritto. Si utilizza la libreria FEniCS per scrivere un codice a elementi finiti che permetta di risolvere le equazioni del modello in una semplice geometria 2D: un settore circolare. Il setup è quello descritto nella sezione precedente. Viene ipotizzato un coefficiente χ costante. Con lo scopo di trovare un valore per il coefficiente chemiotattico viene condotta una simulazione in cui il tumore cresce senza essere sottoposto a terapia e viene cercato il massimo valore assunto dal suo gradiente. Il sistema viene quindi risolto per le sole cellule tumorali (ossia imponendo $\alpha_G = 0$). In figura 5.5 è mostrato il modulo

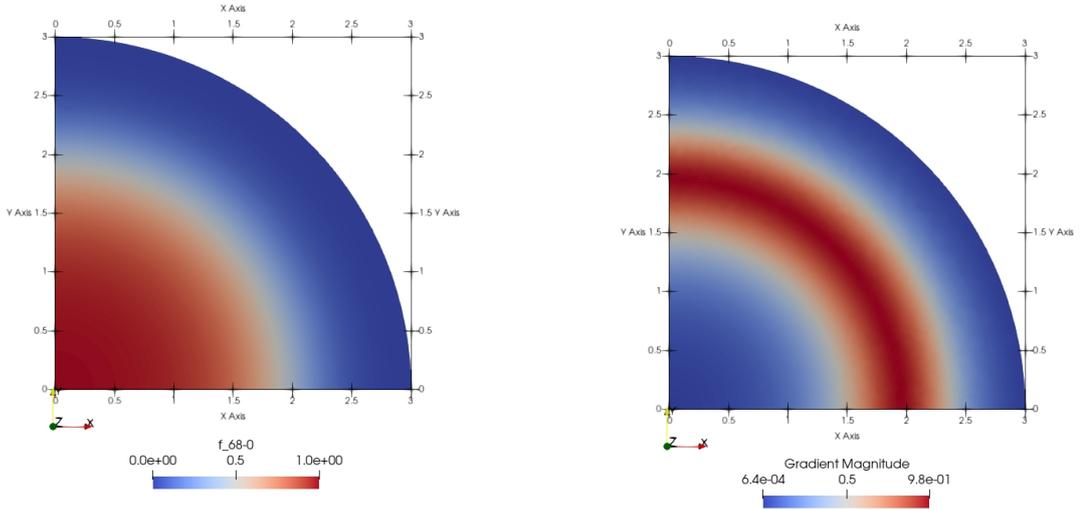


Figure 5.5: concentrazione e gradiente di G per $t = 2400$ h

del gradiente per $t = 2400$ h: esso assume un valore massimo di $\overline{\nabla T} \sim 9.8 \frac{\text{cells}}{\text{cm}}$.

La velocità dei linfociti [82] nel loro moto può arrivare a $v = 120 \frac{\mu m}{min}$ mentre più tipicamente è $< 20 \frac{\mu m}{min}$. Si prende come riferimento un valore conservativo pari $v = 4 \frac{\mu m}{min} = 0.024 \frac{cm}{h}$, dal rapporto $\frac{v}{\nabla T} \sim 2.45 \cdot 10^{-3} \frac{cm^2}{h \text{ cells}}$ si assume quindi un valore costante per il parametro: $\chi(G, C, T) = 2.45 \cdot 10^{-3} \frac{cm^2}{h \text{ cells}}$. Per visualizzare l'effetto della chemiotassi inserita il sistema viene risolto numericamente trascurando le eliminazioni reciproche tra le due popolazioni (ossia ponendo $\alpha_C = \alpha_G = 0$). Nelle figure 5.6 sono mostrate le concentrazioni di C per $t=600, 1200, 2400h$. Come si può osservare nel primo istante temporale, l'infusione di linfociti non è attratta in modo visibile dal tumore mentre anche per tempi superiori il flusso chemiotattico è di modesta entità. Per ottenere un effetto più rilevante e per meglio rispecchiare i meccanismi biologici si introduce quindi la terza popolazione nel modello.

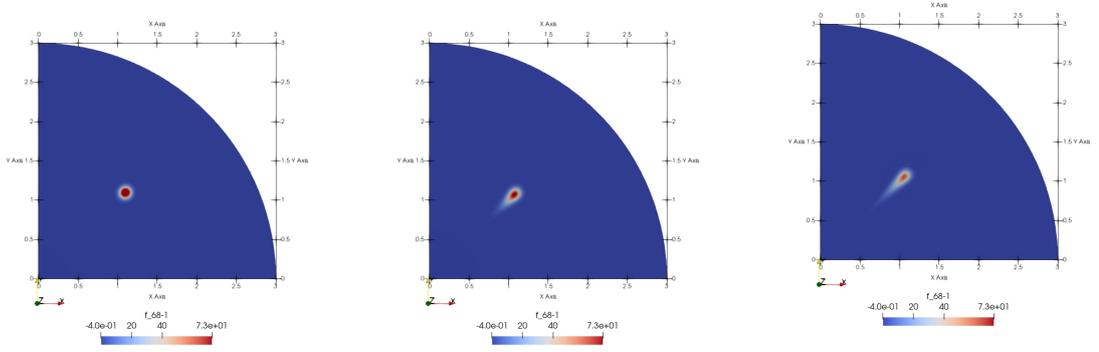


Figure 5.6: Chemiotassi rispetto a G: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400 h$

5.4.3 Introduzione del chemioattraente

Viene introdotto un chemioattraente come descritto in (4.41) e (4.42) Il sistema di equazioni è:

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial G}{\partial t} &= \underbrace{D_G \nabla^2 G}_{\text{diffusione}} + \underbrace{rG(1-G)}_{\text{crescita logistica}} - \underbrace{\alpha_C C \frac{G}{k_G + G}}_{\text{eliminazione per C}} \\
 \frac{\partial C}{\partial t} &= \underbrace{D_C \nabla^2 C}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\nabla \cdot [\chi(G, C, T) C \nabla T]}_{\text{chemiotassi}} + \underbrace{b_C}_{\text{baseline}} - \underbrace{\mu_C C}_{\text{morte naturale}} - \underbrace{\alpha_C C \frac{G}{k_C + G}}_{\text{eliminazione per G}} + \underbrace{S_T(x, t)}_{\text{terapia}} \\
 \frac{\partial T}{\partial t} &= \underbrace{D_T \nabla^2 T}_{\text{diffusione}} + \underbrace{p_T G}_{\text{produzione}} - \underbrace{\mu_3 T}_{\text{decadimento}}
 \end{aligned}
 \tag{5.17}$$

Viene ipotizzato un coefficiente χ costante. Analogamente a quanto fatto per la chemiotassi su G, il sistema viene risolto per le sole popolazioni G e T per poter stimare il coefficiente di chemiotassi mentre la concentrazione di C viene posta a zero imponendo $b_C = 0$ e $S(\mathbf{x}) \equiv 0$.

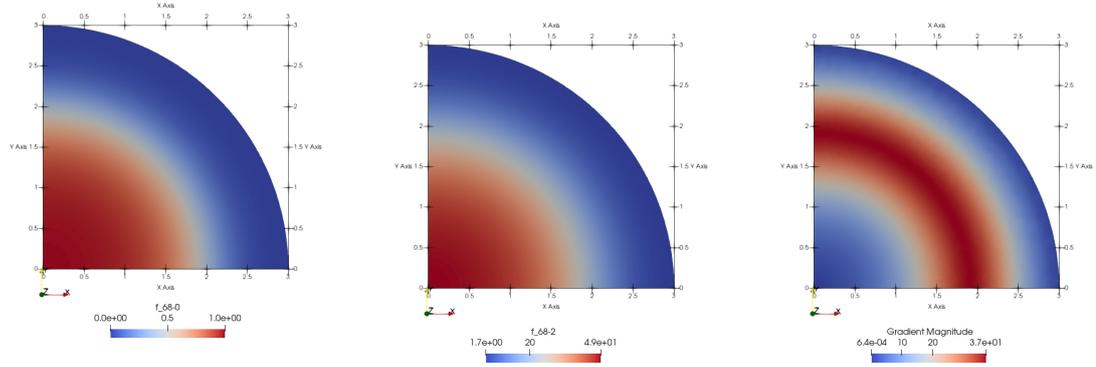


Figure 5.7: Introduzione del chemoattraente: concentrazione G, di T e gradiente di T per $t = 2400$ h

Analogamente a quanto fatto per la chemiotassi su G, per il coefficiente chemiotattico viene ricavato un valore $\chi = 4.9 \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{h pg}}$. Il sistema completo individuato dalle equazioni (5.17) viene quindi risolto imponendo il parametro stimato per la chemiotassi e ponendo $\alpha_G = \alpha_C = 0$ per osservare il moto dei linfociti. Nelle figure 5.8 è visualizzata la concentrazione di C. Come si può osservare i linfociti tendono

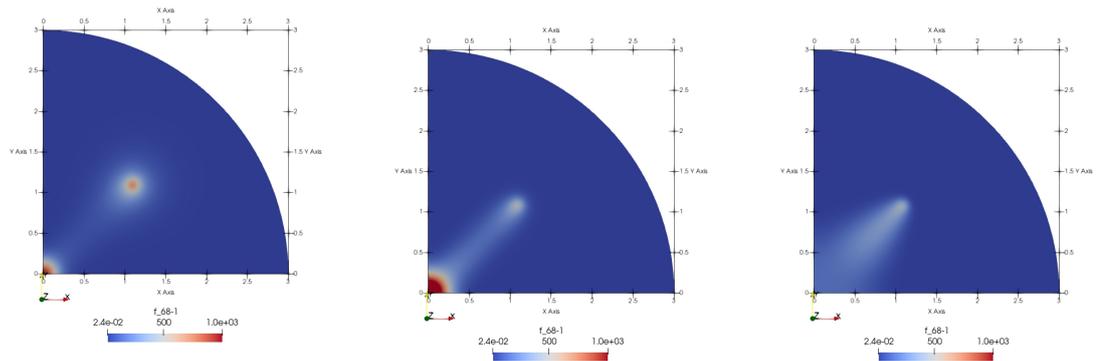


Figure 5.8: Coefficiente χ costante: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400$ h ad avanzare liberamente, attraversando il tumore fino a concentrarsi in prossimità

del suo centro. Per ovviare a questo comportamento poco plausibile fisicamente, viene proposta l'introduzione di un coefficiente di chemiotassi dipendente da T secondo una dinamica di saturazione dei recettori seguendo il modello presentato in [72]:

$$\chi(G, C, T) = \tilde{\chi}/(1 + \epsilon T)^2. \quad (5.18)$$

Il coefficiente ϵ rappresenta il coefficiente di saturazione dei recettori. Per il parametro $\tilde{\chi}$ viene preso lo stesso valore del caso costante: $\tilde{\chi} = 4.9 \cdot 10^{-4}$ (nel seguito verrà omessa la tilde). Il sistema assume quindi la forma

$$\begin{aligned} \frac{\partial G}{\partial t} &= \underbrace{D_G \nabla^2 G}_{\text{diffusione}} + \underbrace{rG(1-G)}_{\text{crescita logistica}} - \underbrace{\alpha_G C \frac{G}{k_G + G}}_{\text{eliminazione per C}} \\ \frac{\partial C}{\partial t} &= \underbrace{D_C \nabla^2 C}_{\text{diffusione}} - \underbrace{\nabla \cdot \left[\frac{\chi}{(1 + \epsilon T)^2} C \nabla T \right]}_{\text{trasporto chemiotattico}} + \underbrace{b_C}_{\text{baseline}} - \underbrace{\mu_C C}_{\text{decadimento}} - \underbrace{\alpha_C C \frac{G}{k_C + G}}_{\text{eliminazione per G}} + \underbrace{S_T(x)}_{\text{terapia}} \\ \frac{\partial T}{\partial t} &= \underbrace{D_T \nabla^2 T}_{\text{diffusione}} + \underbrace{p_T G}_{\text{produzione}} - \underbrace{\mu_T T}_{\text{decadimento}} \end{aligned} \quad (5.19)$$

Nell'immagine 5.9 viene mostrato la concentrazione di chemioattraente T nella zona esterna al tumore (ottenuto attraverso una soglia come descritto in precedenza). Come si può osservare, la concentrazione di chemioattraente in corrispondenza della superficie del tumore è pari a $\bar{T} = 3.5$ pg. In mancanza di parametri specifici in letteratura, si ipotizza che in corrispondenza di questa superficie i linfociti subiscano un rallentamento arbitrario pari al 30% della velocità massima, viene quindi scelto un valore $\epsilon = 0.056$ pg⁻¹

Nelle figure 5.10 è mostrato il risultato della simulazione analoga alla precedente ma con l'introduzione del coefficiente variabile: si può osservare come, nonostante il movimento dei linfociti sia ancora significativo, non vi sia più l'eccessiva concentrazione di linfociti al centro del tumore, ma questi rimangano principalmente nelle regioni esterne del tumore.

Verifica della condizione CFL

La condizione di Courant-Friedrichs-Lewy (CFL) è una condizione necessaria per la convergenza di metodi numerici per la soluzione di problemi di trasporto che corrisponde intuitivamente al garantire che un segnale non propaghi in celle non adiacenti in uno step temporale. Definendo il numero di Courant come

$$C := \Delta t \frac{\sum^i u_i}{\Delta x_i} \quad (5.20)$$

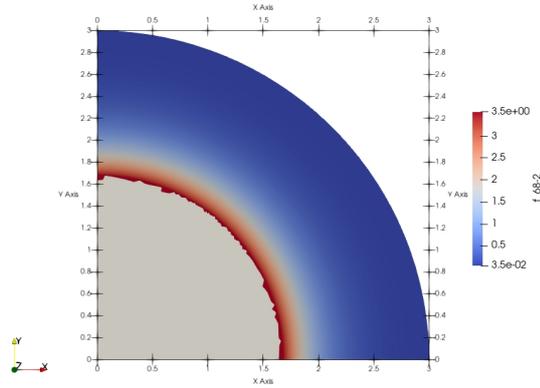


Figure 5.9: concentrazione T esternamente al tumore per $t = 1200$ h

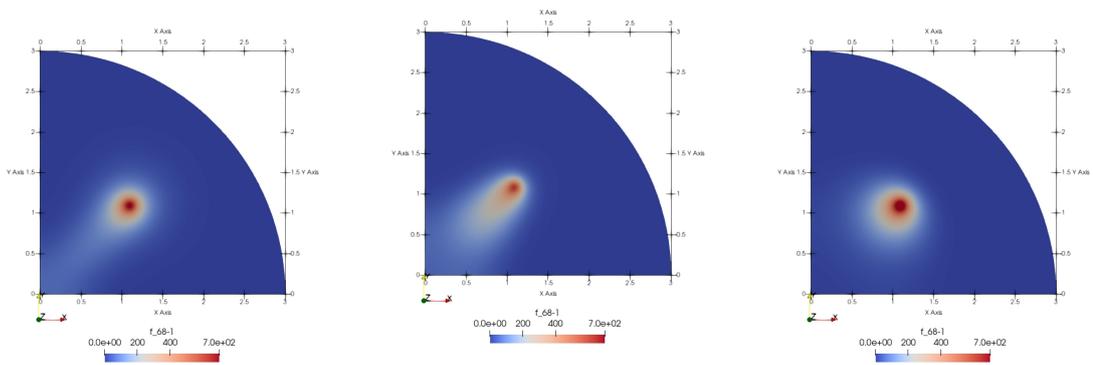


Figure 5.10: Coefficiente χ saturato: concentrazione C per $t = 600, 1200, 2400$ h

dove u_i sono le componenti della velocità, Δx_i è il valore di discretizzazione spaziale per le varie dimensioni del dominio e Δt è il passo di discretizzazione temporale. La condizione è $C < C_{max}$ dove C_{max} è una costante che dipende dalla natura del problema e dallo schema numerico usato (per schemi espliciti di solito $C_{max} = 1$ mentre per schemi impliciti può essere preso più grande). In questo caso per costruzione ci si aspetta un flusso di intensità $u \leq 0.024 \frac{\text{cm}}{\text{h}}$. Per la mesh usata in questa sezione, il minimo valore di h (lato più lungo di una cella triangolare) è pari a $h_{min} = 0.019$ cm. Si usa questo valore per stimare i valori di discretizzazione spaziale: $\Delta x \sim \Delta y \sim h_{min}$. Con le stime descritte, il numero di Courant risulta $C \leq 1.26\Delta t$. Nelle simulazioni viene usato $\Delta t = 0.2$ h da cui $C \sim 0.258 < 1 \leq C_{max}$ rispettando perciò la condizione CFL. Considerando anche il fatto che lo schema

numerico utilizzato è il metodo di Eulero implicito, il numero di Courant è preso particolarmente piccolo. Questo permette di assicurare la stabilità anche nel caso dell'analisi di sensibilità in cui verranno usati valori di χ notevolmente più alti.

5.4.4 Soluzione numerica del sistema completo

Il sistema (5.19) viene risolto nelle condizioni di setup descritte usando per i parametri i valori discussi in sezione 5.2. Per la normalizzazione della terapia viene considerato un valore $C_{max} = 10^6$ cells. Nelle immagini 5.11-5.13 sono visualizzate le concentrazioni di cellule tumorali per diversi tempi, mettendo a confronto casi con diversa intensità di terapia per evidenziarne l'effetto.

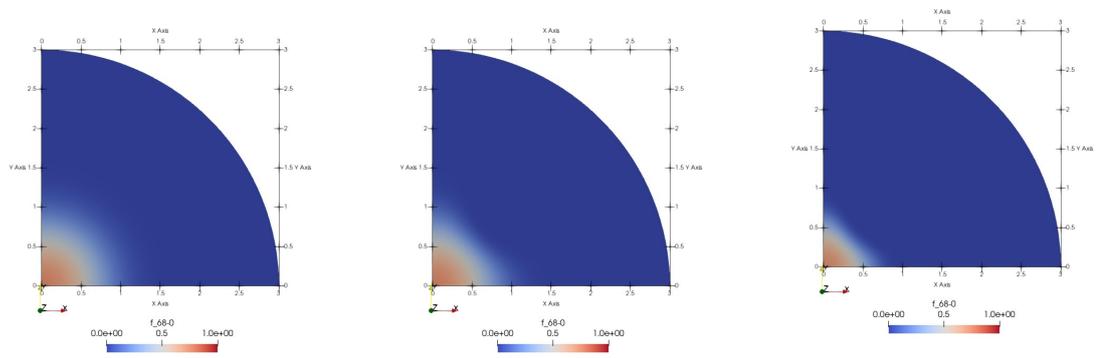


Figure 5.11: Concentrazione di G al tempo $t = 600$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

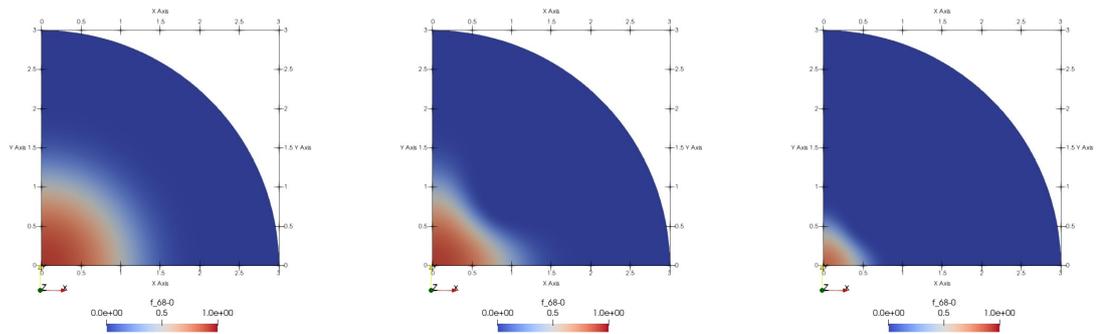


Figure 5.12: Concentrazione di G al tempo $t = 1200$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

Nelle figure 5.15-5.17 sono mostrati le estensioni del tumore per diversi tempi, mettendo a confronto casi con diversa intensità di terapia per evidenziarne l'effetto.

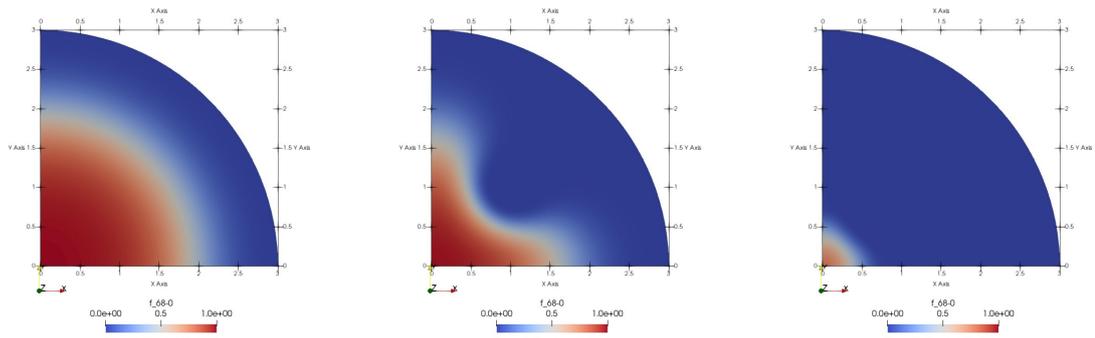


Figure 5.13: Concentrazione di G al tempo $t = 2400$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

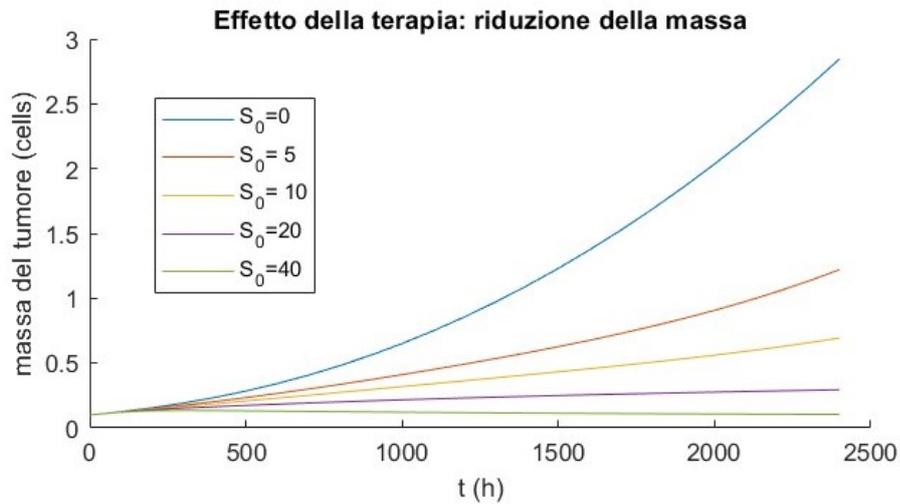


Figure 5.14: Effetto della terapia sulla massa del tumore definita come integrale della densità normalizzata

5.4.5 Analisi di sensibilità

Il modello descritto comprende diversi parametri ricavati da diverse fonti. Viene ora condotto uno studio di sensibilità con lo scopo di determinare quali tra questi hanno un maggiore effetto sul risultato. Viene seguito il procedimento descritto in [83] per calcolare il 'partial ranking correlation coefficient' (PRCC): vengono scelti M diversi parametri da studiare. Si scelgono per ogni parametro dei vettori $\mathbf{z}_j = \{z_{j1}, z_{j2}, \dots, z_{jN}\}$ di valori presi equispaziati in un intervallo specifico per ciascun parametro e permutati random. Vengono ora considerate le combinazioni di parametri aventi secondo indice uguale, $\{z_{jk}\}_{k=1:M}$ ottenendo il cosiddetto

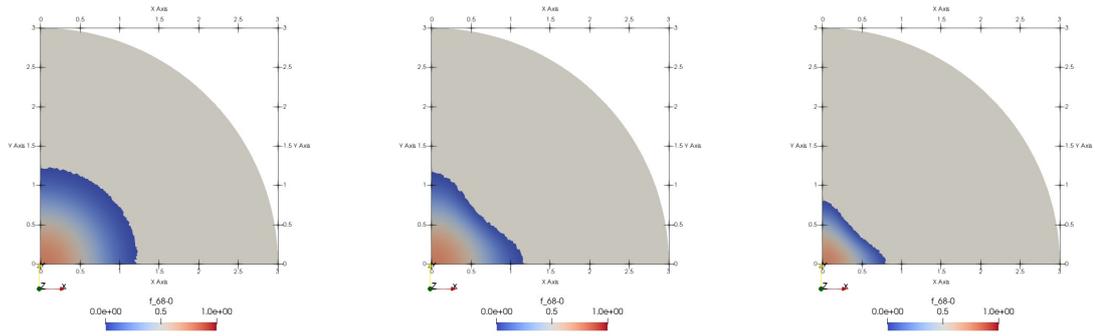


Figure 5.15: Estensione del tumore al tempo $t = 600$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

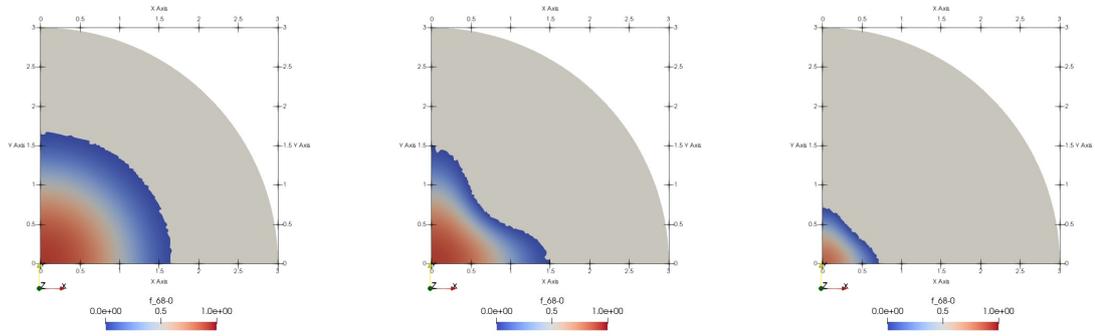


Figure 5.16: Estensione del tumore al tempo $t = 1200$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

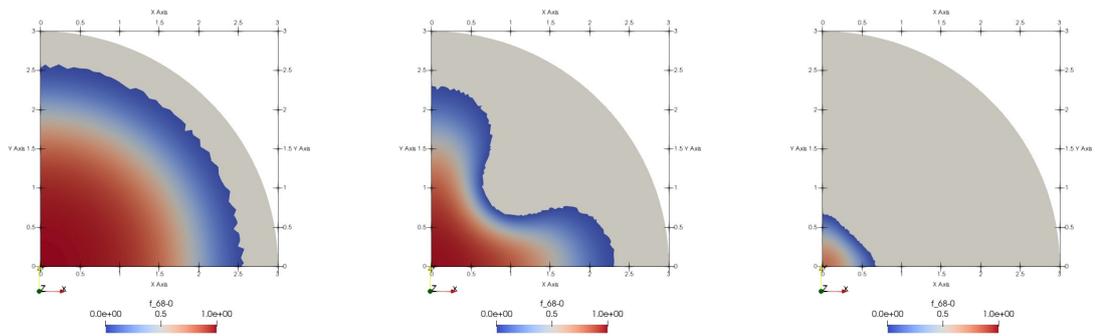


Figure 5.17: Estensione del tumore al tempo $t = 2400$ h per diversi valori di terapia, $S_0 = 0, 5, 40$

latin hypercube sample (LHS). Il modello viene quindi risolto numericamente per ciascuna combinazione di parametri così definite. Sul risultato del modello viene

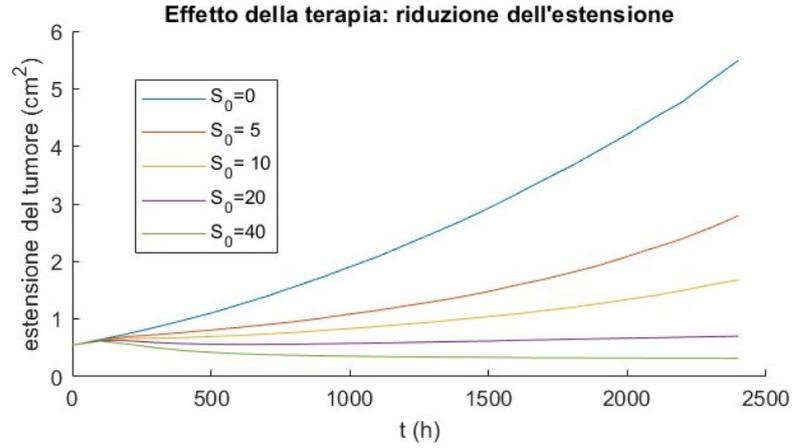


Figure 5.18: Effetto della terapia sull'estensione del tumore

definita una funzione obiettivo a valori reali: l'insieme dei valori della funzione obiettivo per le diverse prove forma il vettore $\mathbf{y} = \{y_1, y_2, \dots, y_N\}$. A questo punto per ogni vettore di parametri \mathbf{z}_j viene calcolato l'indice di correlazione di Pearson con il vettore di obiettivi \mathbf{y} .

$$r_{z_j y} = \frac{\text{Cov}(\mathbf{z}_j, \mathbf{y})}{\sqrt{\text{Var}(\mathbf{z}_j) \text{Var}(\mathbf{y})}} = \frac{\sum_{i=1}^N (z_{ij} - \bar{z}_j)(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (z_{ij} - \bar{z}_j)^2 \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}} \quad (5.21)$$

dove con \bar{z}_j e \bar{y} si intendono i valori medi dei vettori di z_j e y . Questo metodo è efficace per parametri del modello con un'influenza monotona sul risultato. Scegliendo come obiettivi la massa del tumore (definita come integrale della variabile G del modello) e il suo volume (definito come integrale di una funzione soglia su G), è naturale studiare i parametri α_G , α_C , k_G e k_C . Per quanto riguarda la chemiotassi, viene supposto che la sua introduzione abbia l'effetto di combattere la crescita del tumore e che quindi il parametro di chemiotassi χ possa essere analogamente studiato, questo verrà poi verificato a posteriori. Anche l'effetto dei coefficienti di diffusione D_G e D_C verrà stimato a posteriori.

Vengono scelte come funzioni obiettivo

$$M(G(x, y)) = \int_{\mathcal{D}} G(x, y) dx dy$$

e

$$V_\tau(G(x, y)) = \int_{\mathcal{D}} \mathbf{1}_\tau(G(x, y)) dx dy$$

$$\text{dove } \mathbf{1}_\tau(G(x, y)) = \begin{cases} 1, & G(x, y) \geq \tau \\ 0, & G(x, y) < \tau \end{cases}$$

I valori del test per i parametri α_2 , α_4 , k_1 , k_3 e χ vengono presi in un range di valori tra 0.1 e 1.5 volte i loro valori presenti in 5.2. Le funzioni obiettivo vengono calcolate sulla soluzione $G(x,y)$ per diversi istanti temporali (in particolare per $t=200, 400, 600$ h). Il numero di prove su cui viene eseguito il test è pari a $N = 1200$.

Nelle immagini 5.19-5.20 Vengono visualizzati i risultati del test. Come attendibile, le variabili α_G ha una forte correlazione negativa con tutti gli obiettivi mentre il parametro α_C risulta correlato positivamente soprattutto alla massa del tumore mentre ha un effetto minore ma pur sempre presente sulla sua estensione. Il parametro k_G è correlato positivamente con una simile intensità rispetto ai due obiettivi. Il parametro k_C è invece correlato negativamente soprattutto rispetto alla massa. Il parametro χ risulta essere correlato negativamente, mostrando come la motilità dei linfociti sia di aiuto nell'eradicazione delle cellule tumorali.

Per quanto riguarda il parametro D_C , una maggiore diffusione dei linfociti risulta in un effetto positivo sull'eliminazione del tumore rispetto a entrambe le metriche, in particolare per tempi bassi, prima che diventi predominante il flusso chemiotattico. Il coefficiente di diffusione delle cellule tumorali è sempre correlato positivamente, tuttavia rispetto alla massa risulta essere il parametro meno influente del modello mentre rispetto all'estensione del tumore risulta essere uno dei due più influenti (per $t=200$ h il più influente). Il parametro di saturazione dei recettori ϵ risulta avere un effetto di ridotta entità e discorde sui due obiettivi: positivo rispetto alla massa e negativo rispetto al volume.

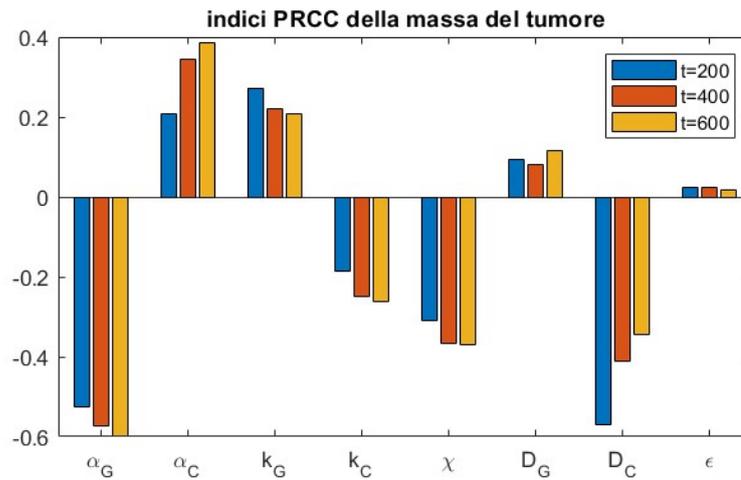


Figure 5.19: PRCC massa del tumore

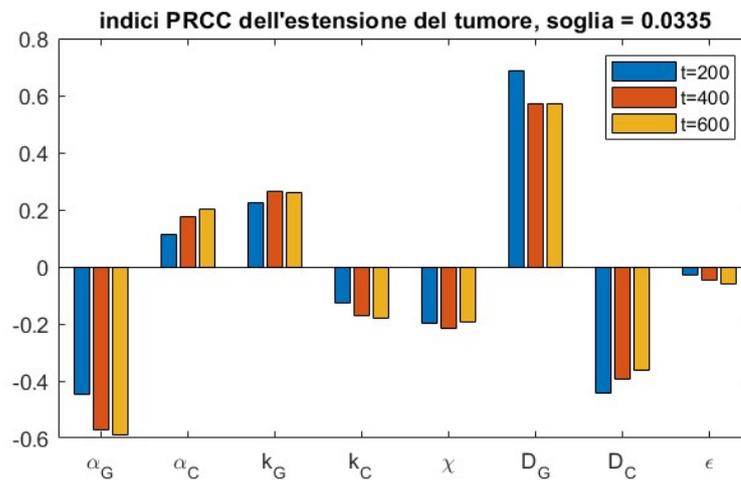


Figure 5.20: PRCC estensione del tumore

5.5 Simulazioni nella geometria 3D del cervello

Si procede alla soluzione numerica del sistema descritto in (5.19) adottando gli stessi riscalamenti descritti per il caso 2D.

5.5.1 Setup per le simulazioni numeriche

Dominio Il sistema viene risolto numericamente in un dominio rappresentante un cervello, costruito a partire dai dati di MRI di pazienti dell'Istituto Neurologico

Carlo Besta in Milano. I dati sono stati resi anonimi e i pazienti hanno firmato il consenso per l'utilizzo delle immagini a scopo di ricerca. Nelle immagini 5.21 è mostrato il dominio visto dalle direzioni dei vari assi. In questa sezione l'unità di misura per la lunghezza nelle immagini è il mm.

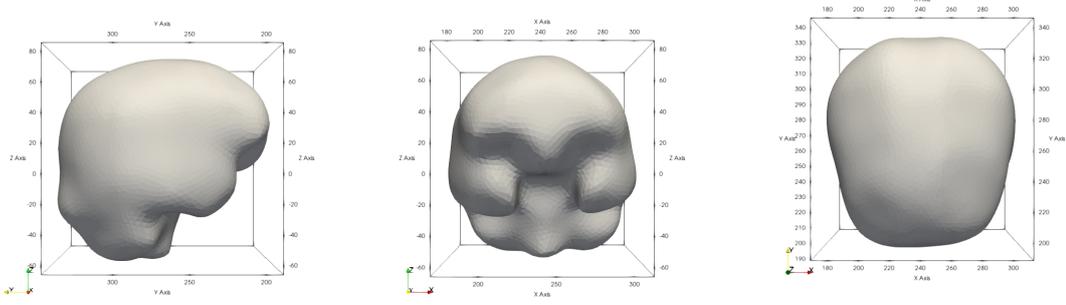


Figure 5.21: Viste laterale, frontale e dall'alto del dominio

Terapia Analogamente alla simulazione in 2D per la forzante S modellizzante l'infusione di linfociti si è scelta una gaussiana costante nel tempo

$$S_T(x, y, z) = S_0 \exp \left[\frac{(x - x_T)^2 + (y - y_T)^2 + (z - z_T)^2}{2\sigma_S^2} \right] h^{-1} \quad (5.22)$$

con $\sigma_S = 0.44$ mm. Verranno considerate diverse scelte per il punto di applicazione (x_T, y_T, z_T) mantenendo però la distanza di 14 mm dal centro del tumore.

Dall'integrale gaussiano, si ottiene un'approssimazione del tasso totale di linfociti infusi nell'ipotesi che il contributo non compreso nel dominio sia trascurabile:

$$S_{tot} \sim C_{max} S_0 (2\pi)^{n/2} \sigma_S^n \sim 1.34 \cdot 10^{-3} S_0 C_{max} h^{-1} = 1.34 \cdot 10^3 S_0 \text{ cells h}^{-1} \quad (5.23)$$

Condizioni iniziali Come condizione iniziale per la concentrazione delle cellule tumorali viene presa una gaussiana centrata nel punto (x_G, y_G, z_G) .

$$G(x, y, z, t = 0) = G_0 \exp \left[\frac{(x - x_G)^2 + (y - y_G)^2 + (z - z_G)^2}{2\sigma_G^2} \right] \quad (5.24)$$

con $\sigma_G = 0.44$ mm, la concentrazione massima viene presa pari a $G_0 = 0.5$ come nel caso 2D.

Dal momento che verrà studiato il comportamento del modello in condizioni di anisotropia non uniforme nello spazio, tumori che si sviluppano in diverse regioni

del dominio si espanderanno differentemente. Per poter mettere a confronto queste differenze, il sistema sarà risolto per diverse scelte per le condizioni iniziali. Nella figura 5.22 viene mostrata la condizione iniziale nell'emisfero destro nel punto (217 cm, 277 cm, 17 cm) dove le linee di contorno si riferiscono alle concentrazioni di 0.035 (limite del tumore), 0.2 e 0.4 volte la carrying capacity. Per il tumore vengono usate anche altre condizioni iniziali con centro nei punti (265 cm, 277 cm, 17 cm), (193 cm, 277 cm, 17 cm) e (289 cm, 273 cm, 17 cm).

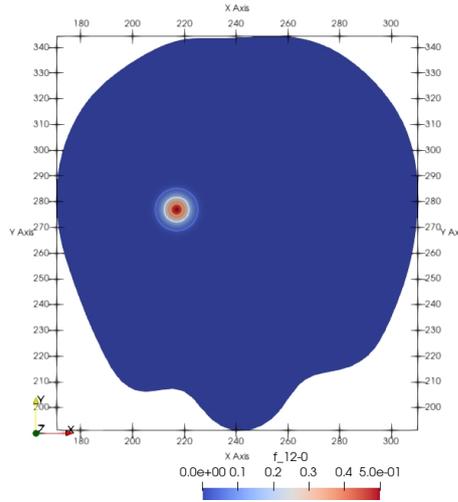


Figure 5.22: Condizioni iniziali per il tumore con centro in (217 cm, 277 cm, 17 cm)

Per quanto riguarda il chemioattraente e la concentrazione di linfociti viene imposta una condizione iniziale nulla

$$C(x, y, z, t = 0) \equiv 0 \quad T(x, y, z, t = 0) \equiv 0. \quad (5.25)$$

Condizioni al bordo Anche in questo caso al contorno vengono imposte condizioni di Neumann per tutte le variabili.

$$\nabla G \cdot \mathbf{n} = \nabla C \cdot \mathbf{n} = \nabla T \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (5.26)$$

Mesh

Per quanto riguarda la mesh, viene utilizzata una mesh con densità di celle disomogenea analogamente a quanto fatto per il caso con la geometria semplificata in 2D. Viene utilizzato il programma Tetgen [84] per costruire una mesh tetraedrica del cervello raffinata nelle regioni di interesse. Il programma fornisce una mesh

conforme a partire da una lista di punti (nodi) forniti. Per raffinare la mesh si deve associare ad ogni nodo da raffinare un valore h che stabilisce la massima lunghezza degli spigoli delle celle adiacenti al nodo stesso. Viene raffinata una regione sferica in cui avverrà l'espansione del tumore con $h = 0.6$ mm e poi la regione in cui vi sarà il moto dei linfociti con $h = 0.3$ mm. Nelle figure 5.23 sono mostrati i nodi con cui viene costruita la mesh nel caso di tumore laterale a sinistra e il dettaglio del raffinamento.

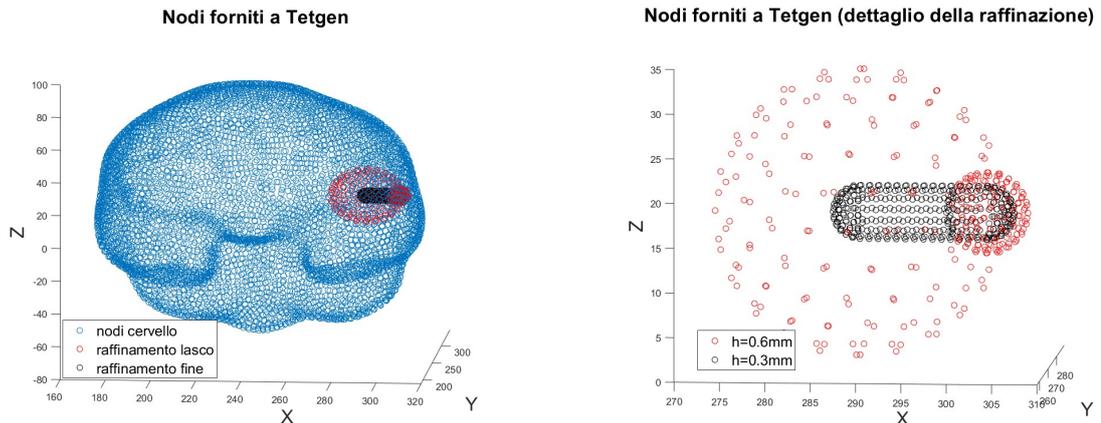


Figure 5.23: Nodi di forniti per la costruzione della mesh e dettaglio dei nodi per il raffinamento

Nelle figure 5.25 sono mostrate le sezioni trasversali delle mesh secondo piani passanti per il centro del tumore. Nella figura 5.24 è mostrato un dettaglio del raffinamento.

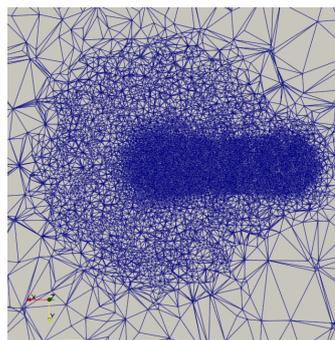


Figure 5.24: Dettaglio della mesh con centro in (265 cm, 277 cm, 17 cm)

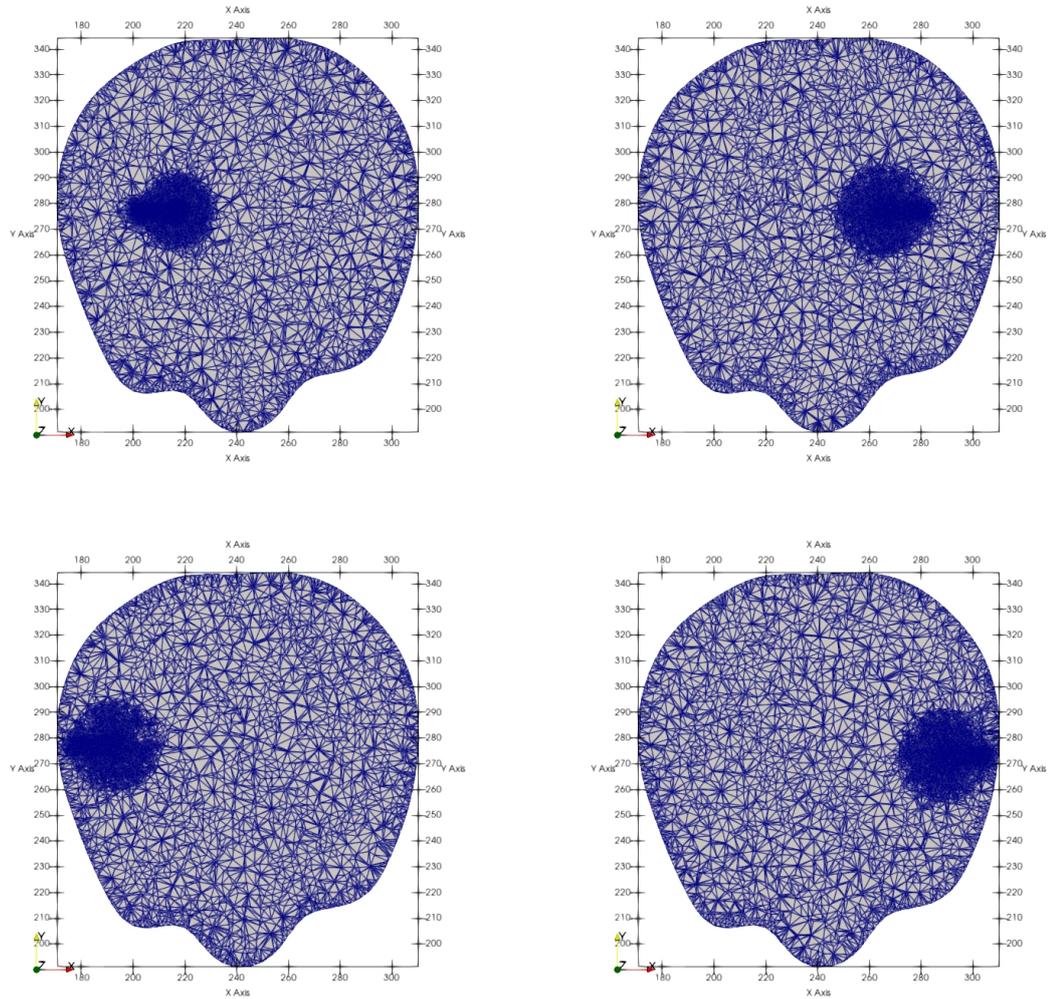


Figure 5.25: Sezione trasversale delle mesh utilizzate, in senso orario partendo dall'alto a sinistra centro del tumore in (217 cm, 277 cm, 17 cm), (265 cm, 277 cm, 17 cm), (289 cm, 273 cm, 17 cm), (193 cm, 277 cm, 17 cm)

Parametri di chemiotassi

Per ricavare il valore dei coefficienti di chemiotassi si è svolta una simulazione semplificata risolvendo il modello per le sole variabili C e T ponendo $b_C = 0$, $S(\mathbf{x}) \equiv 0$ analogamente al caso 2D. Come mostrato in figura 5.26, il gradiente del chemioattraente per $t=1200$ h assume un valore massimo di $\overline{\nabla T} = 0.144$ pg mm⁻¹, analogamente a quanto fatto per il caso 2D si assume quindi un valore per il

parametro: $\chi = \frac{0.24\text{mm/h}}{\sqrt{\nabla T}} = 1.66 \text{ mm}^2\text{h}^{-1}\text{pg}^{-1}$. nella figura 5.26 viene mostrata la concentrazione del chemioattraente per $t = 1200 \text{ h}$ all'esterno del tumore, supponendo come nel caso 2D che i linfociti perdano il 30% della loro velocità all'interno del tumore viene ricavato un valore $\epsilon = 0.16 \text{ pg}^{-1}$

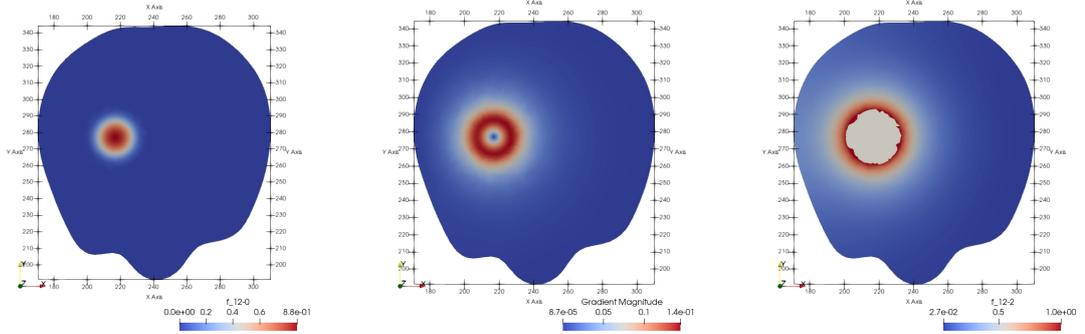


Figure 5.26: Concentrazione di cellule tumorali, gradiente del chemioattraente e concentrazione del chemioattraente all'esterno del tumore per $t = 1200 \text{ h}$

Verifica della condizione CFL

Nel caso isotropo per costruzione ci si aspetta un flusso di intensità $u \leq 0.24 \frac{\text{mm}}{\text{h}}$. Come nel caso in 2D si usa la minima lunghezza degli spigoli delle celle per stimare la discretizzazione spaziale. Il valore che viene passato a Tetgen è $h_{min} = 0.3 \text{ mm}$, si usa questo valore per stimare: $\Delta x \sim \Delta y \sim h_{min}$. Con le stime descritte, il numero di Courant risulta $C \leq 0.8\Delta t$. Nelle simulazioni viene usato $\Delta t = 0.167 \text{ h}$ da cui $C \sim 0.133 < 1 \leq C_{max}$ rispettando perciò la condizione CFL. Questo valore ha un margine significativo in modo tale da permettere di mantenere lo stesso setup della simulazione anche nei casi anisotropi in cui la stabilità numerica potrebbe essere minore.

5.5.2 Soluzione numerica del caso isotropo

Il sistema (5.19) viene risolto numericamente nella geometria del cervello per una diffusione isotropa con i parametri discussi in sezione 5.2 nella condizioni di setup descritte nella sezione precedente.

Crescita libera

Per prima viene condotta una simulazione preliminare in cui il tumore cresce senza essere influenzato dalla terapia. Nelle immagini 5.27 è mostrato il risultato per il

tempo finale di 2400h in una sezione assiale del cervello passante per il centro delle condizioni iniziali del tumore e la progressione a partire dalla dimensione iniziale per $t = 0, 600, 1200, 1800, 2400$ h.

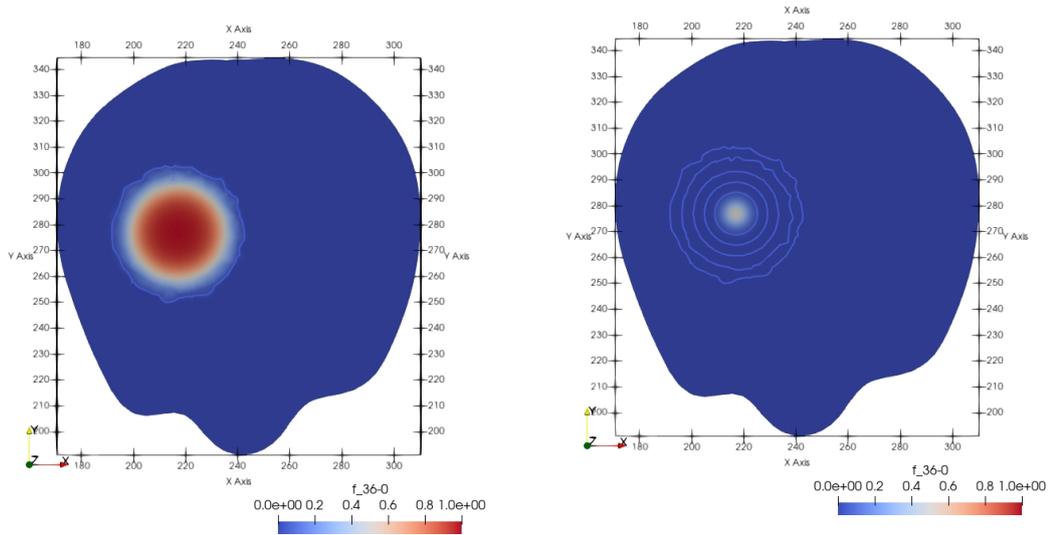


Figure 5.27: Espansione per $t = 2400$ h e progressione del del tumore

Per dare un senso fisico a questo risultato, dal momento che la diffusione fa propagare istantaneamente l'informazione e quindi G assume un valore non nullo in tutto il dominio, come già osservato è necessario imporre un criterio per determinare dove effettivamente si trova il tumore: questo viene fatto imponendo un valore soglia: la porzione di spazio dove la concentrazione G supera tale valore sarà quella occupata dal tumore. Viene considerato una soglia di 8000 cell/mL come valore soglia [36]. Data la carrying capacity di [79] questo corrisponde per la concentrazione normalizzata ad una valore di 0.0335. Il risultato analizzato con questo criterio viene visualizzato nelle figure 5.28. Il tumore assume la forma di uno sferoide il cui diametro varia tra circa 1.6 cm per $t = 0$ h a circa 4.5 centimetri di diametro per $t = 2400$ h mostrando una velocità media di espansione del suo raggio pari a $6 \cdot 10^{-4}$ cm/h, un glioblastoma può raggiungere fino a 6 cm di diametro nella sua crescita prima di causare la morte del paziente [36] e può espandersi con una velocità pari a $7.5 \cdot 10^{-4}$ cm/h [35], il risultato è quindi compatibile con la naturale progressione della malattia.

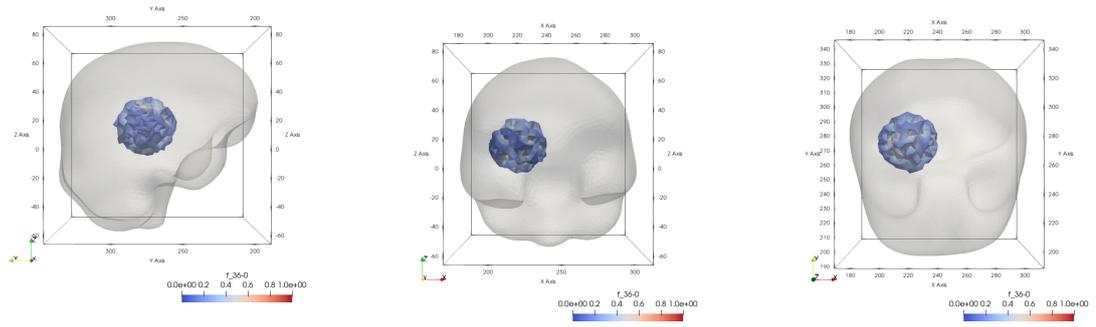


Figure 5.28: Dimensione del tumore: vista laterale, frontale e dall'alto

Effetto della terapia

Nelle immagini 5.29-5.30 sono mostrati gli effetti della terapia per un tumore posto esternamente per diversi valori di S_0 .

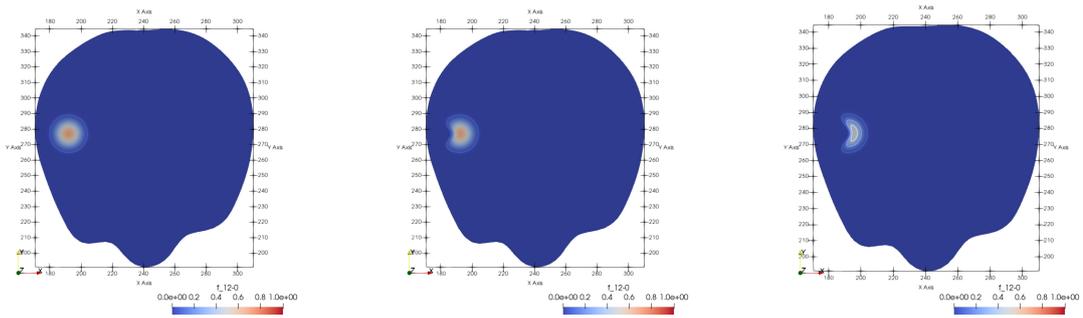


Figure 5.29: Estensione del tumore a $t = 600$ h per $S_0 = 0, 50, 1000$

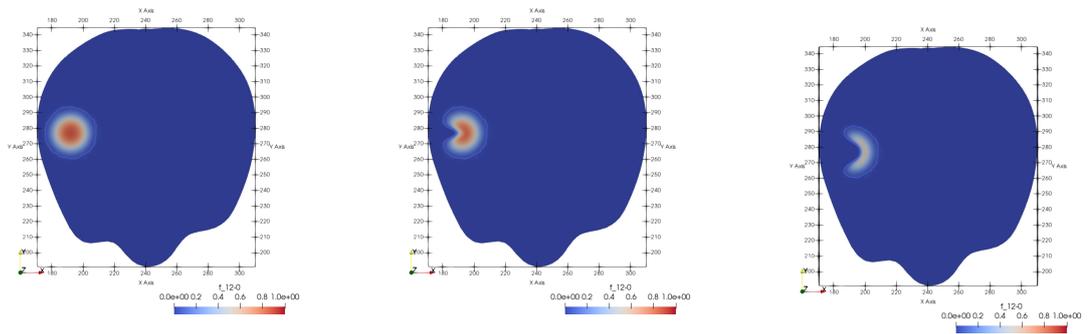


Figure 5.30: Estensione del tumore a $t = 1200$ h per $S_0 = 0, 50, 1000$

Nelle figure 5.31-5.32 è mostrata l'evoluzione della popolazione cellulare e del volume invaso dal tumore per diversi ordini di grandezza di S_0 . Come si può osservare, sebbene i trattamenti non riescano ad arrestare la crescita del tumore, riescono a rallentarla sostanzialmente.

I casi corrispondono ad un numero totale di linfociti infusi pari a $S_{tot} = 0$ cells/h, $1.34 \cdot 10^5$ cells/h, $1.34 \cdot 10^6$ cells/h, $1.34 \cdot 10^7$ cells/h. Nella ricerca medica sono stati sperimentati trattamenti consistenti in infusioni fino a 10^7 linfociti (CAR-T) in un giorno [68] a intervalli settimanali.

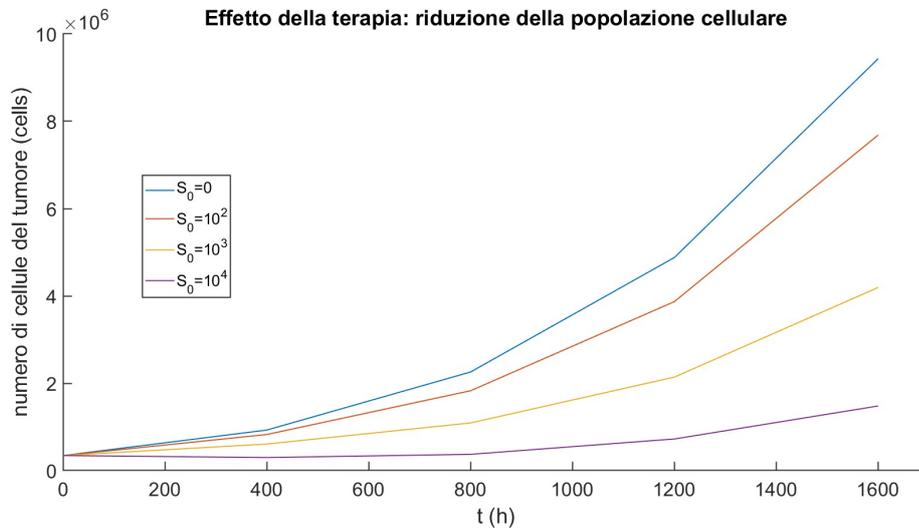


Figure 5.31: Effetto della terapia sul numero di cellule

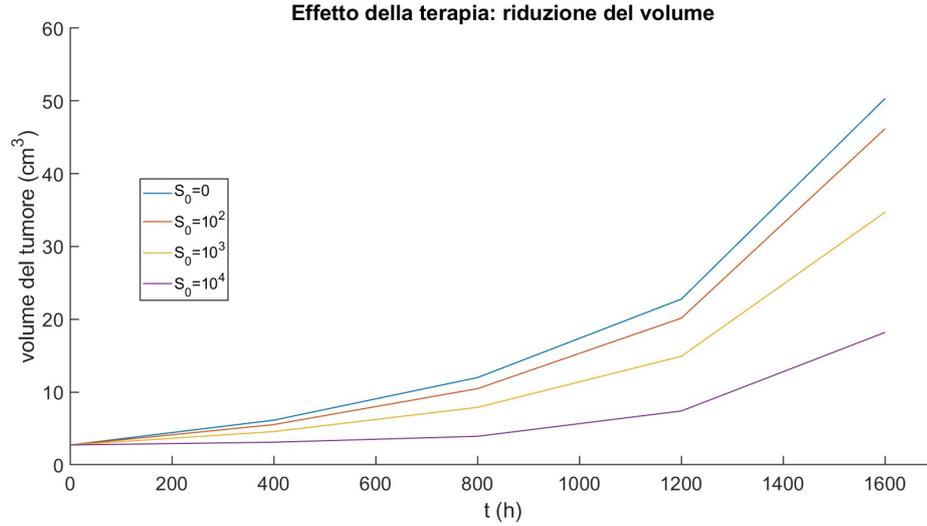


Figure 5.32: Effetto della terapia sul volume del tumore

5.5.3 Introduzione dell'anisotropia

Nella sezione precedente si è considerato una diffusione isotropa, ipotizzando quindi che cellule e fattori si muovano nello stesso modo in tutte le direzioni, a livello biologico tuttavia i tessuti del cervello sono composti di fibre orientate che generano un comportamento anisotropo.

Diffusion tensor imaging L'imaging del tensore di diffusione (DTI) è una tecnica che permette di misurare l'anisotropia nella diffusione delle molecole d'acqua per le diverse direzioni in ogni punto del cervello di un soggetto. Questo viene realizzato attraverso la combinazione di diverse immagini pesate in diffusione (un minimo di sei ma solitamente più per aumentare la precisione del risultato) ottenute tramite metodi di risonanza che sfruttano lo spin delle particelle di cui sono composte le molecole d'acqua. Il risultato è un tensore simmetrico \mathbf{D}_0 con diversi valori per ogni punto.

Per ottenere il corretto valore di diffusione per ogni punto è necessario fare una media pesata con la diffusione dell'acqua in condizioni isotrope usando la frazione di acqua libera ρ in ogni punto (ricavata anche questa da risonanza magnetica) [26].

$$\mathbf{D}_w = (1 - \rho)\mathbf{D}_0 + \rho d_{fw}\mathbf{I} \quad (5.27)$$

dove d_{fw} è il coefficiente di diffusione dell'acqua.

E' comunemente accettato come anche le cellule di glioma seguano nel loro moto le direzioni preferenziali ottenute dal DTI per l'acqua, è stato mostrato inoltre come si ottenga una migliore descrizione quando l'anisotropia del tensore usato per le diffusioni cellulari è aumentata rispetto al tensore per l'acqua ottenuto dal DTI [39]. Un possibile modo per aumentare l'anisotropia è moltiplicare per un fattore maggiore di uno l'autovalore più grande di \mathbf{D}_w , tuttavia questo non tiene conto della presenza di più di una direzione principale, ad esempio nei casi in cui diversi fasci di fibre si intersecano. Seguendo il procedimento di [39] si possono quindi definire gli indici lineare c_l , planare c_p e sferico c_s .

$$\begin{aligned} c_l &= \frac{\lambda_1 - \lambda_2}{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3} \\ c_p &= \frac{2(\lambda_2 - \lambda_3)}{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3} \\ c_s &= \frac{3\lambda_3}{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3} \end{aligned} \quad (5.28)$$

dove $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ sono gli autovalori del tensore \mathbf{D}_w ottenuto dal DTI ordinati per modulo. Il tensore delle direzioni preferenziali viene quindi costruito come

$$\mathbf{D}_{pd} = a_1(r)\lambda_1\hat{e}_1 \otimes \hat{e}_1 + a_2(r)\lambda_2\hat{e}_2 \otimes \hat{e}_2 + a_3(r)\lambda_3\hat{e}_3 \otimes \hat{e}_3 \quad (5.29)$$

dove \hat{e}_i è l'autovettore di \mathbf{D}_w associato a λ_i e $a_i(r)$ sono dei coefficienti dipendenti da un parametro di tuning r come

$$\begin{aligned} a_1 &= r(c_l + c_p) + c_s \\ a_2 &= c_l + rc_p + c_s \\ a_3 &= c_l + c_p + c_s = 1 \end{aligned} \quad (5.30)$$

Questo permette nel caso un autovalore sia dominante (cioè per $c_l \sim 1$) di aumentare la diffusione nella direzione principale, nel caso dell'intersezione di fibre in due direzioni differenti ($c_p \sim 1$) evitare la diffusione nella direzione normale al piano generato dai due autovettori principali, nel caso in cui non vi sia una direzione preferenziale ($c_s \sim 1$) il tensore viene lasciato invariato. Per ottenere i tensori di diffusione per le varie popolazioni, il tensore delle direzioni preferenziali viene a questo punto diviso per un terzo della sua traccia in modo da normalizzare la diffusione media e moltiplicato per i coefficienti di diffusione.

$$\begin{aligned} \mathbf{D}_G &= D_g \frac{3\mathbf{D}_{pd}}{tr(\mathbf{D}_{pd})} \\ \mathbf{D}_C &= D_c \frac{3\mathbf{D}_{pd}}{tr(\mathbf{D}_{pd})} \\ \mathbf{D}_T &= D_t \frac{3\mathbf{D}_{pd}}{tr(\mathbf{D}_{pd})} \end{aligned} \quad (5.31)$$

e analogamente per il tensore χ utilizzato per la chemiotassi.

Nelle figure 5.33 e 5.34 sono mostrati i valori delle componenti del tensore normalizzato $\frac{\mathbf{D}_{pd}}{tr(\mathbf{D}_{pd})}$ per un fattore di amplificazione dell'anisotropia pari a $r=5$. Dal momento che i dati delle risonanze sono ottenuti da un paziente affetto da un GBM in fase avanzata i tensori non presentano simmetria assiale, per ottenere simulazioni più realistiche le simulazioni sono state condotte evitando la zona alterata per condizioni iniziali del tumore e per la sorgente di linfociti.

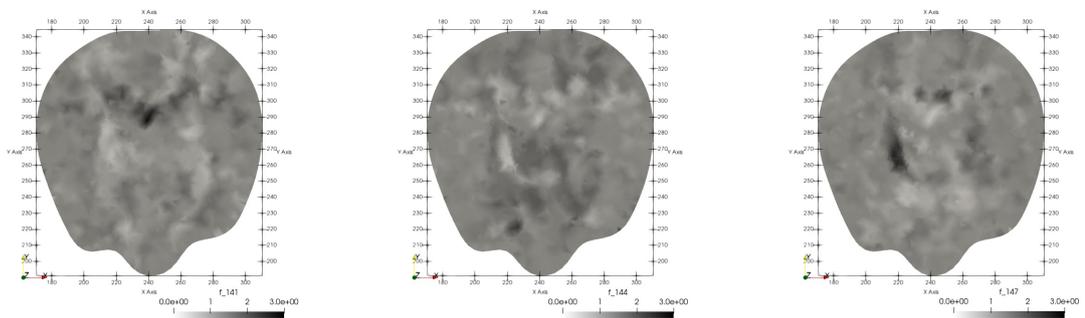


Figure 5.33: Tensore delle direzioni preferenziali: elementi diagonali \mathbf{D}_{pd}^{11} , \mathbf{D}_{pd}^{22} , \mathbf{D}_{pd}^{33}

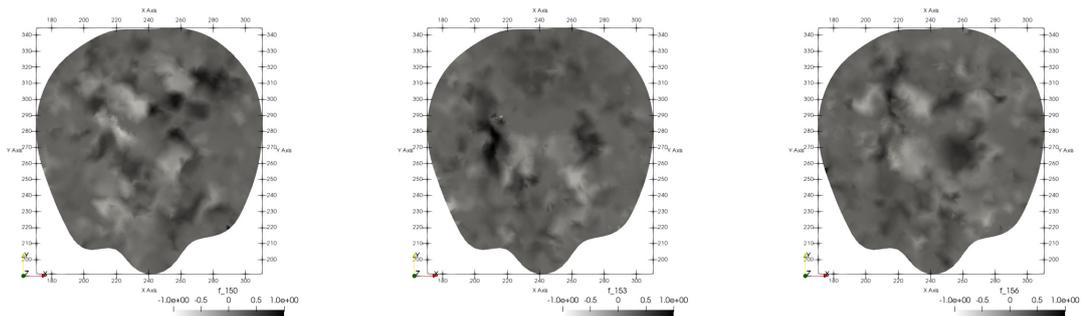


Figure 5.34: Tensori delle direzioni preferenziali: elementi non diagonali \mathbf{D}_{pd}^{13} , \mathbf{D}_{pd}^{23} , \mathbf{D}_{pd}^{13}

Crescita con anisotropia

Il sistema con l'aggiunta dell'anisotropia è

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial G}{\partial t} &= \nabla \cdot [\mathbf{D}_G \nabla G] + rG(1 - G) - \alpha_G C \frac{G}{k_G + G} \\
 \frac{\partial C}{\partial t} &= \nabla \cdot [\mathbf{D}_C \nabla C] - \nabla \cdot \left[\chi \frac{1}{(1 + \epsilon T)^2} C \nabla T \right] + b_C - \mu_C C - \alpha_C C \frac{G}{k_C + G} + S_T(x) \\
 \frac{\partial T}{\partial t} &= \nabla \cdot [\mathbf{D}_T \nabla T] + p_T G - \mu_T T
 \end{aligned}
 \tag{5.32}$$

5.5.4 Segmentazione in diversi tipi di tessuto

Si è fatto uso dei dati del DTI per aggiungere le direzioni preferenziali nel moto delle diverse popolazioni. Il moto diffusivo di cellule e nutrienti all'interno del cervello tuttavia non varia unicamente in direzione ma anche in velocità. Il cervello infatti non ha una composizione omogenea ma è formato da materia grigia e bianca mentre i ventricoli e altre cavità intorno al cervelletto sono colmi di fluido cerebrospinale, in questi mezzi le cellule si muovono diversamente [36].

Segmentazione Utilizzando il software Slicer, è stato possibile associare ad ogni cella di cui è composto il dominio utilizzato finora al tipo di materia di cui è composta. La segmentazione considerata consiste in una divisione in tre tipi: materia grigia, materia bianca e fluido cerebrospinale. Nelle figure 5.35 sono mostrate e le tre sezioni ortogonali del cervello segmentato: le regioni in grigio scuro sono quelle di materia grigia, quelle in grigio chiaro quelle di materia bianca, in azzurro i ventricoli riempiti di liquido cerebrospinale. Sono inoltre presenti delle celle più scure dovute a smoothing del dominio: queste zone saranno escluse dalle simulazione imponendo valori nulli ai tensori. Nelle figure 5.36 sono mostrate le tre viste del cervello con evidenziate le regioni occupate dal fluido cerebrospinale. Nella terza figura dell'immagine 5.35 si può osservare come la segmentazione automatica non abbia differenziato le strutture in profondità all'interno dell'emisfero destro, questo a causa del tumore di cui soffriva il paziente da cui sono tratte le immagini di risonanza. Per le simulazioni numeriche si eviterà di scegliere la zona non segmentata come sito del tumore.

Le cellule tumorali in particolare diffondono nella materia bianca con una velocità quasi quintupla che nella materia grigia [35]. Nelle regioni composte da fluido cerebrospinale sono supposte non essere attraversabili dalle cellule che si muovono solitamente formando legami con il substrato. Viene inoltre supposto che in queste regioni il chemioattraente non penetri la barriera formata dalle cellule ependimali

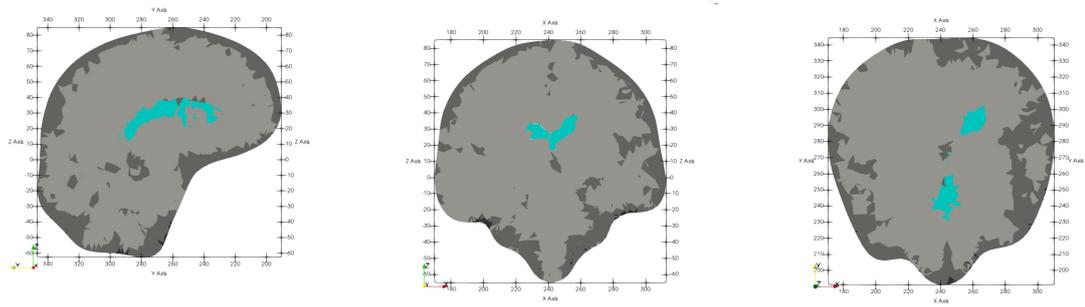


Figure 5.35: Segmentazione: sezione sagittale, coronale e trasversale

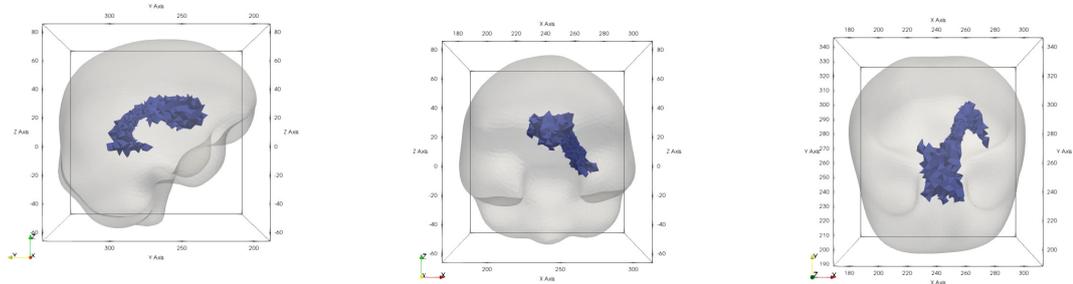


Figure 5.36: Fluido cerebrospinale: vista laterale, frontale e superiore

che rivestono la parete dei ventricoli e quindi non possa diffondersi. Il tensore delle direzioni preferenziali viene a questo punto modificato come segue:

- Per ogni voxel composto da materia bianca il tensore viene lasciato invariato.
- Per ogni voxel composto da materia grigia tutte le componenti del tensore vengono moltiplicate per 0.2 in accordo con stime presenti in letteratura [35, 36].
- Nei voxel contenenti fluido cerebrospinale tutte le componenti del tensore sono poste a zero.

Come nel caso di anisotropia senza segmentazione, per ottenere i tensori di diffusione e di permeabilità si moltiplica quindi il tensore così ottenuto per i coefficienti. È importante osservare come sia la segmentazione sia i risultati del DTI sono specifici per un singolo paziente in quanto effetto della struttura interna del suo cervello, questa cambia significativamente da individuo a individuo e anche nello stesso

in base all'età. Per utilizzare il metodo descritto per previsioni su un paziente è necessario utilizzare i dati della risonanza magnetica dello stesso.

Crescita senza l'applicazione di terapia Il sistema (5.32) viene quindi risolto numericamente senza la terapia per diverse condizioni iniziali traslate nello spazio usando il tensore con la segmentazione e con un parametro di amplificazione dell'anisotropia $r = 5$. Nelle figure sono mostrati i profili di crescita assunti dal tumore per $t=0,400,800,1200$ h plottati sulla segmentazione in una sezione trasversale. Si può osservare come i profili si discostino molto più marcatamente dalla condizione isotropa sferica e come la presenza di zone di materia grigia rallenti l'espansione spaziale del tumore.

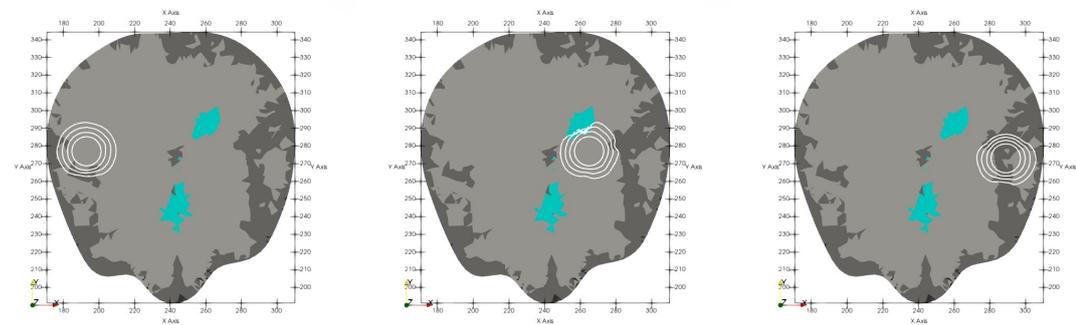


Figure 5.37: profili di crescita del tumore con diverse condizioni iniziali per $t = 0, 400, 800, 1200$ h

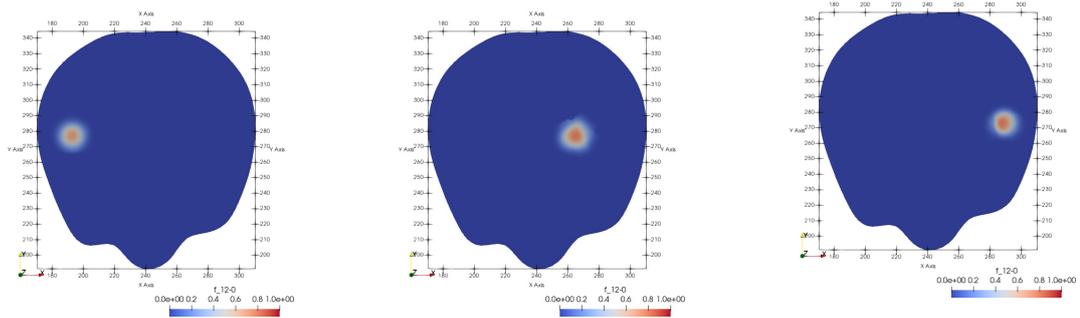


Figure 5.38: Sviluppo del tumore per diverse condizioni iniziali, $t = 600$ h

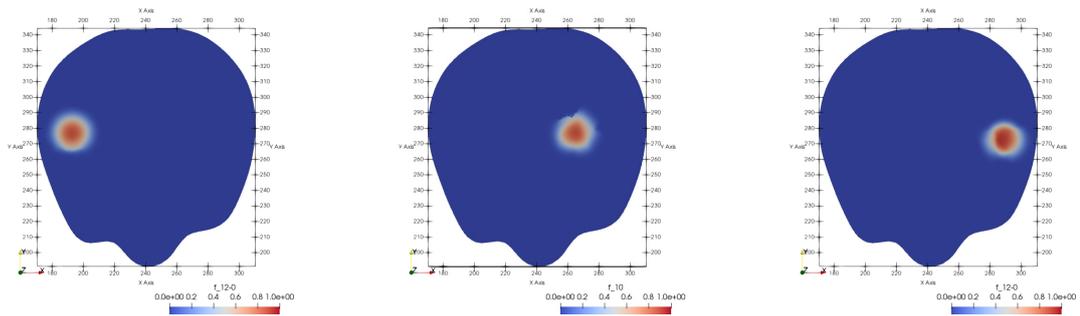


Figure 5.39: Sviluppo del tumore per diverse condizioni iniziali, $t = 1200$ h

Effetto della terapia

Nelle figure 5.40-5.43 sono mostrate le concentrazioni per $t = 600, 1200$ h confrontando i casi con e senza terapia. I due grafici 5.44 e 5.45 mostrano l'evoluzione del numero di cellule e del volume del tumore. Come si può osservare anche una terapia di intensità pari a $S_0 = 10^3$ risulta insufficiente nell'arrestare la crescita del tumore riuscendo tuttavia a rallentarne l'espansione. Si può inoltre osservare la differenza tra la crescita del tumore a seconda del tipo di tessuto nel quale si sviluppa: il tumore sito nell'emisfero sinistro infatti è circondato da zone con più alta presenza di materia bianca e per $t=1200$ h ha un volume di circa il 20.77% più alto e una popolazione cellulare del 12.5% più numerosa.

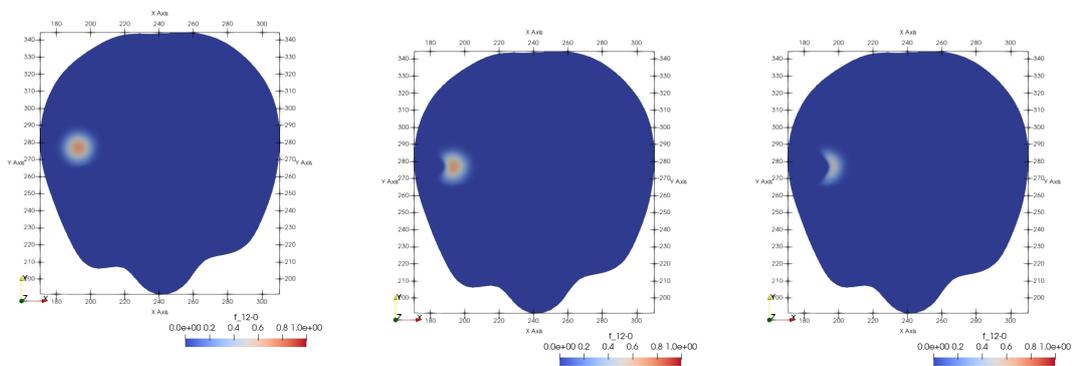


Figure 5.40: Tumore nell'emisfero destro: $t = 600$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$

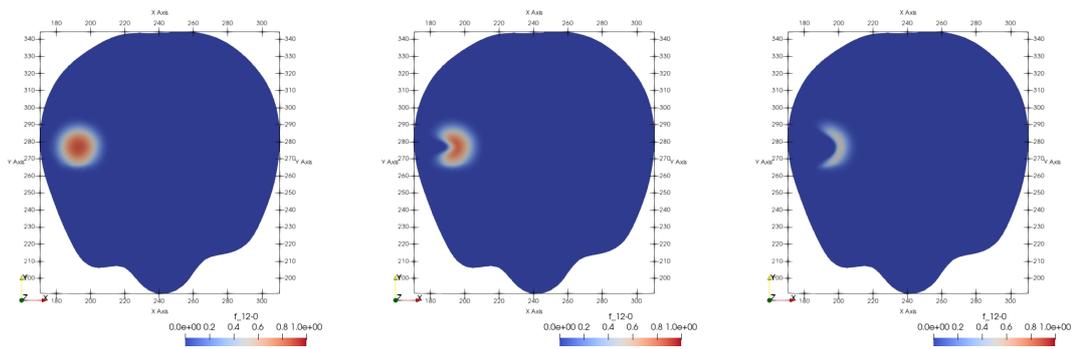


Figure 5.41: Tumore nell'emisfero destro: $t = 1200$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$

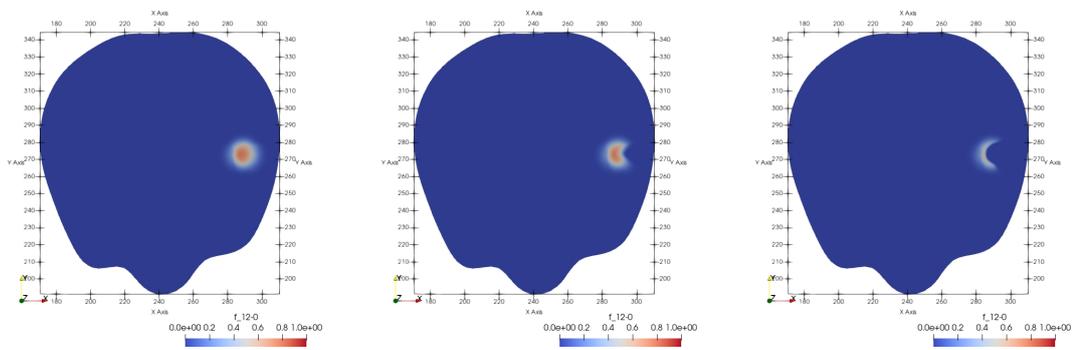


Figure 5.42: Tumore nell'emisfero sinistro: $t = 600$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$

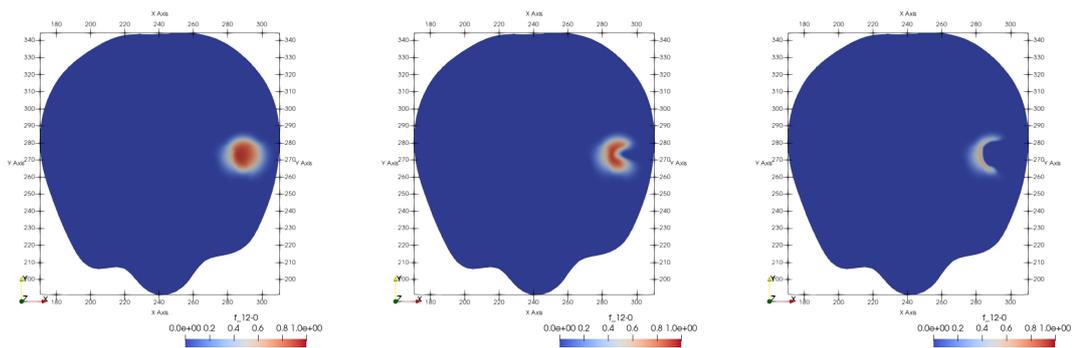


Figure 5.43: Tumore nell'emisfero sinistro: $t = 1200$ h, $S_0 = 0, 50, 1000$

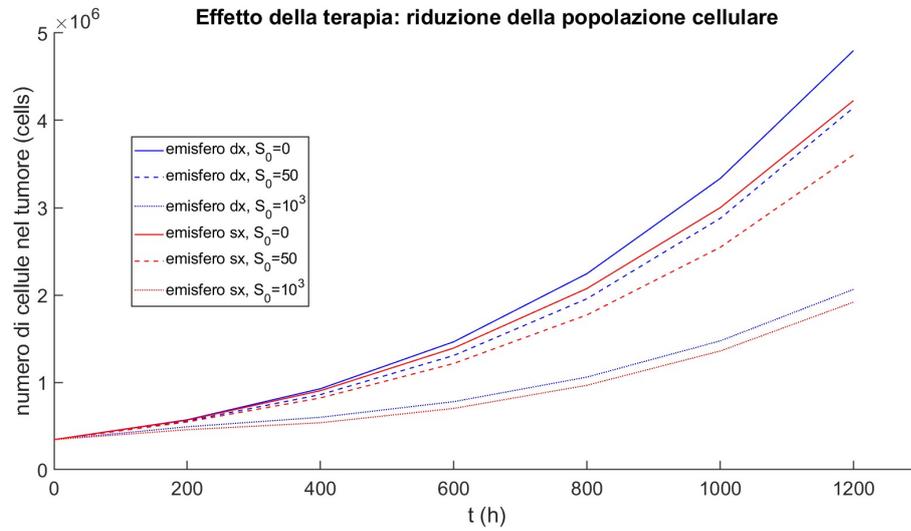


Figure 5.44: Evoluzione del numero di cellule del tumore per i due siti e diverse intensità di terapia

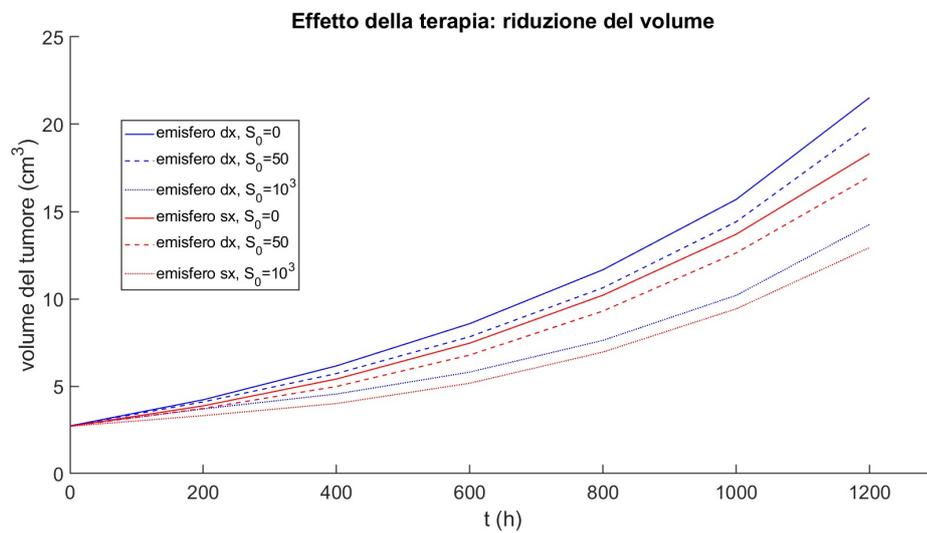


Figure 5.45: Evoluzione del volume del tumore per i due siti e diverse intensità di terapia

Chapter 6

Conclusioni e futuri sviluppi

Il Glioblastoma Multiforme (GBM) rappresenta una delle forme tumorali più letali e la più aggressiva tra quelle che si sviluppano nel cervello. Nonostante i progressi nella medicina la prognosi rimane tendenzialmente infausta motivando la ricerca di nuovi approcci terapeutici, in questo contesto, l'immunoterapia emerge come una strategia promettente.

Il lavoro presentato ha l'obiettivo di sviluppare modelli matematici che possano fornire una descrizione delle complesse interazioni tumorali e immunitarie. I modelli proposti, il primo basato sulle ODE e il secondo sulle PDE, si focalizzano sulle interazioni tra cellule tumorali e linfociti con l'obiettivo di descrivere una particolare forma di immunoterapia, l'infusione di linfociti T citotossici, che è oggetto di numerosi studi a livello mondiale.

Il modello ODE consiste di due equazioni, una per la popolazione di cellule tumorali e una per il numero di linfociti nel CNS e l'eventuale infusione viene modellizzata attraverso un termine sorgente costante nel tempo nella seconda equazione. Il comportamento del sistema è quindi studiato per varie intensità di terapia. Viene ricavata analiticamente una soglia che assicura l'evoluzione del sistema verso il punto di equilibrio sano in cui la popolazione di cellule tumorali è nulla, il corrispondente numero di linfociti iniettato è paragonabile a quello sperimentato in studi clinici. Attraverso metodi numerici vengono inoltre ricavati i diagrammi di biforcazione del sistema per variazioni di ciascun parametro.

Il modello PDE, estende l'analisi all'evoluzione spaziale del tumore. Vengono aggiunti alle equazioni del modello precedente termini diffusivi ed è mostrato come essi non generino instabilità ondulatorie negli equilibri, essi sono in particolare da escludere nell'equilibrio sano in quanto darebbero luogo a soluzioni non fisiche. All'equazione per i linfociti è inoltre aggiunto un termine di chemiotassi e sono

discusse le possibilità modellistiche per il chemioattraente.

Il secondo modello sarà risolto attraverso un codice ad elementi finiti in Python facente uso delle librerie di FEniCS, per fare ciò ne viene ricavata la formulazione variazionale debole, il modello PDE viene simulato preliminarmente in una semplice geometria bidimensionale, un settore circolare, per testare la stabilità del codice e il comportamento del modello. Viene quindi mostrato come il glioma proliferi espandendosi nello spazio mentre i linfociti si spostino per chemiotassi andando ad attaccare le cellule tumorali. A partire dalla simulazione in 2D viene condotta un'analisi di sensibilità, i parametri studiati che risultano avere maggiore effetto sul volume del tumore, il più importante indicatore della prognosi, risultano essere il tasso di eliminazione delle cellule cancerose da parte dei linfociti e la diffusività del glioma suggerendo questi aspetti come obiettivo primario di terapie sinergiche.

Il sistema viene poi simulato in una geometria tridimensionale del cervello ottenuta dai dati di risonanze magnetiche di un paziente affetto da GBM, l'infusione terapeutica viene supposta essere condotta direttamente nel cervello come in casi descritti in letteratura medica e modellizzata attraverso un termine sorgente costante nel tempo e gaussiano in spazio per l'equazione dei linfociti. Le simulazioni sono inizialmente condotte nell'ipotesi di diffusione isotropa e i risultati sono confrontati con la naturale progressione del GBM per accertarne la verosimiglianza. Sempre in queste ipotesi è mostrato l'effetto della terapia per diverse intensità.

Con l'obiettivo di rendere più accurata la previsione delle aree invase dal tumore, viene fatto uso dei dati del DTI per descrivere l'anisotropia in accordo con l'ipotesi che sia le cellule che i fluidi all'interno del cervello abbiano in ogni punto direzioni preferenziali per lo spostamento in base alla disposizione spaziale delle fibre dei tessuti. Viene inoltre considerata la divisione del cervello in diversi tipi di tessuto (è stata considerata una divisione in materia bianca, materia grigia e fluido cerebrospinale) e i tensori di diffusione e di chemiotassi vengono modificati opportunamente in base al tipo di tessuto di cui è composto ciascun voxel.

Vengono quindi mostrati i risultati delle simulazioni nel setup appena descritto sia per la crescita libera in assenza di terapia, sia per la risposta a diverse intensità di infusione che presentano significative differenze in base alla zona di crescita del tumore e rispetto al caso isotropo. In tutti i casi considerati la terapia riesce a rallentare la crescita del tumore in misura variabile a seconda del numero di linfociti iniettati, non ha tuttavia successo nell'eradicare completamente il tumore. Il metodo utilizzato è specifico per ogni soggetto e per ottenere previsioni su un paziente è necessario ottenere le informazioni sulla struttura e sulla disposizione delle fibre nel suo cervello tramite tecniche di risonanza magnetica descritte, queste potrebbero anche essere usate per ottenere informazioni sulla concentrazione iniziale di cellule tumorali per ottenere simulazioni più accurate. Vi sono inoltre altri possibili approfondimenti sui modelli proposti.

In questo lavoro sono state considerate solo infusioni costanti nel tempo, nella

tecnica medica tuttavia la somministrazione della terapia viene fatta ad intervalli che possono essere anche di diversi giorni. Lo studio dell'effetto di una somministrazione di terapia non costante nel tempo potrebbe essere svolto per il modello ODE per individuare un regime di trattamento che minimizzi l'intervento riducendo il rischio di effetti avversi nell'ambito della teoria dei controlli. Anche il modello ODE potrebbe essere elaborato considerando diverse tecniche di infusione, per garantire una maggiore stabilità numerica potrebbe inoltre essere opportuno ricorrere a tecniche di stabilizzazione come la formulazione streamline upwind Petrov–Galerkin (SUPG).

Nella trattazione si è considerata solo l'interazione tra linfociti e cellule tumorali trascurando il contributo delle altre popolazioni come macrofagi e staminali e la presenza delle citochine che mediano le interazioni tra cellule. In particolare potrebbe essere modellizzato l'effetto del TGF- β , una citochina secreta dal tumore che contribuisce sostanzialmente nel rendere immunosoppresso il microambiente del GBM.

Potrebbe essere di particolare interesse inoltre modellizzare l'interazione tra l'immunoterapia e altre forme di trattamento, come la radioterapia e la chemioterapia per sviluppare strategie multimodali.

Appendix A

Documentazione codice

Si riporta il codice matlab per lo studio numerico degli equilibri per il sistema ODE

```
1 %% Definizione parametri ecc (COMANDI ALLA RIGA 30)
2
3 clc
4 clear all
5 close all
6
7 %coeff modello
8
9 %cmax = gmax*r1/alpha2; %normalizzaz
10 gmax = 882650; %aumentare se instabilità numerica
11
12 r1 = 0.01;
13
14 alpha2 = 1;% 0.12/gmax*cmax/r1;
15 alpha4 = 0.1694/r1;
16
17 k1 = 27000/gmax;
18 mu = 0.0074/r1;
19 k3 = 334450/gmax;
20
21 r1=0.01/r1; % non-dim
22 gmax=882650/gmax; %normalizzaz
23
```

```

24 S_cr=r1*k1*mu/alpha2; %punto di biforcazione per la
    terapia (G_eq=0 passa da intabile a stabile,
    analitico)
25 S_base=1.3333*S_cr; % dal rapporto numerico
26
27 %% SCEGLIERE LO STUDIO DA FARE
28
29 %PARAMETRI STUDIO BIFORCAZIONE
30 variabile= 'S' ; %ammesse 'terapia' (S), '\alpha_2', '\
    alpha_4', 'k_1', 'k_3', '\mu_C'
31
32 therapy = 150*S_cr; S_base; %terapia per cui si studiano
    gli altri parametri (oppure valore massimo di S
    nello studio)
33 %se si studia S, un valore superiore a 130*S_base mostra
    tutte le biforcazioni
34
35 % studio la variabile da 0 a range volte la variabile (S
    parte dalla baseline)
36 start_variabile = 0;
37 range = 4;
38
39 numstep=100; %step dello studio
40
41 %% Ciclo FOR per trovare equilibri
42
43 % plottare una linea grigia (per il valore originale del
    parametro)
44 if strcmp(variabile,'S')
45 linea = false;
46 variabile='terapia totale (S)';
47 elseif strcmp(variabile,'terapia')
48 variabile='terapia totale (S)';
49 linea = false;
50 else
51 linea=true;
52 end
53
54
55
56

```

```

57 if strcmp(variabile, '\alpha_G')
58     baseline = alpha2;
59     end_variabile=alpha2*range;
60 elseif strcmp(variabile, '\alpha_C')
61     end_variabile=alpha4*range;
62     baseline = alpha4;
63 elseif strcmp(variabile, 'k_G')
64     end_variabile=k1*range;
65     baseline = k1;
66 elseif strcmp(variabile, 'k_C')
67     end_variabile=k3*range;
68     baseline = k3;
69 elseif strcmp(variabile, '\mu_C')
70     end_variabile=mu*range;
71     baseline = mu;
72 elseif strcmp(variabile, 'terapia totale (S)')
73     start_variabile=S_base;
74     end_variabile=teraphy;
75 else
76     disp("ERRoRE: variabile non prevista, ammesse 'S
77     ', '\alpha_G', '\alpha_C', 'k_G', 'k_C', '\mu_C'")
78     return
79 end
80
81 variabiles=linspace(start_variabile,end_variabile,
82     numstep); %valori per cui studio la stabilità
83 %serve per richiamare la funzione Autovalori
84 parameters=zeros(numstep,5); parameters(:,1) = alpha2;
85     parameters(:,2) = alpha4; parameters(:,3) = k1;
86     parameters(:,4) = k3; parameters(:,5) = mu;
87     parameters(:,6) = teraphy;
88
89
90 for i=1:numstep
91     syms GG
92     %find equilibrium points for the system
93
94     if strcmp(variabile, '\alpha_G')
95         alpha2 = variabiles(i);
96         parameters(i,1) = variabiles(i);

```

```

93     elseif strcmp(variabile, '\alpha_C')
94         alpha4 = variabiles(i);
95         parameters(i,2) = variabiles(i);
96     elseif strcmp(variabile, 'k_G')
97         k1 = variabiles(i);
98         parameters(i,3) = variabiles(i);
99     elseif strcmp(variabile, 'k_C')
100        k3 = variabiles(i);
101        parameters(i,4) = variabiles(i);
102    elseif strcmp(variabile, '\mu_C')
103        mu = variabiles(i);
104        parameters(i,5) = variabiles(i);
105    elseif strcmp(variabile, 'terapia totale (S)')
106        teraphy = variabiles(i);
107        parameters(i,6) = variabiles(i);
108    else
109        disp("ERRORE: variabile non prevista, ammesse 'S
110', '\alpha_G', '\alpha_C', 'k_G', 'k_C', '\mu_C'")
111        return
112    end
113    S = vpasolve(((1-GG/gmax) * (GG + k1) * (alpha4 * GG
114+ (GG + k3) * mu) * r1 - alpha2 * (GG + k3) * teraphy
115, GG);
116
117    G_eq(1,i)=0; %healty equilibrium
118
119    if imag(S(2))==0 %check if the equilibrium point is
120    real
121    G_eq(2,i)=S(2); %inner equilibrium
122    else
123    G_eq(2,i)=nan;
124    end
125
126    if imag(S(3))==0 %check if the equilibrium point is
127    real
128    G_eq(3,i)=S(3); %upper equilibrium
129    else
130    G_eq(3,i)=nan;
131    end
132
133    %G_eq(4,i)=S(1); %non-physic <0

```

```
129 end
130
131
132
133 %% Plot equilibri
134 %plotta gli equilibri (tutti)
135 plot(variabili,G_eq)
136 title('equilibri per varie intensità di terapia')
137 ylabel('G*')
138 xlabel(variabile)
139
140 %% studio autovalori
141 for i=1:length(G_eq(3,:))
142 upper_eigen(i,:)=AutovaloriJacobi_totale(G_eq(3,i),
    parameters(i,:));
143 end
144
145 for i=1:length(G_eq(2,:))
146 lower_eigen(i,:)=AutovaloriJacobi_totale(G_eq(2,i),
    parameters(i,:));
147 end
148
149 for i=1:length(G_eq(1,:))
150 zero_eigen(i,:)=AutovaloriJacobi_totale(0,parameters(i
    ,:));
151 end
152
153 for i=1:numstep
154 zero_stability = (zero_eigen(:,1)<0).*(zero_eigen
    (:,2)<0); %1 se stab
155 lower_stability = (lower_eigen(:,1)<0).*(lower_eigen
    (:,2)<0); %1 se stab
156 upper_stability = (upper_eigen(:,1)<0).*(upper_eigen
    (:,2)<0); %1 se stab
157 end
158
159 %% Plot vari
160 % figure
161 % plot(variabili,zero_eigen)
162 % title('stabilità dell equilibrio sano')
163 % ylabel('autovalori')
```

```
164 % xlabel(variabile)
165 %
166 %
167 % figure
168 % plot(variabile, upper_eigen)
169 % title('stabilità dell equilibrio malato')
170 % ylabel('autovalori')
171 % xlabel(variabile)
172 %
173 %
174 % figure
175 % plot(variabile, lower_eigen)
176 % title('stabilità dell equilibrio interno')
177 % ylabel('autovalori')
178 % xlabel(variabile)
179
180
181 G_stab_plot=zeros(3,numstep);
182 G_instab_plot=zeros(3,numstep);
183
184
185
186 for ii=1:numstep
187     if zero_stability(ii) == 1 %IF 0 is stab
188         G_stab_plot(1,ii)=G_eq(1,ii);
189         G_instab_plot(1,ii)=nan;
190     else
191         G_instab_plot(1,ii)=G_eq(1,ii);
192         G_stab_plot(1,ii)=nan;
193     end
194
195     if upper_stability(ii) == 1 %IF upper is stab
196         G_stab_plot(2,ii)=G_eq(3,ii);
197         G_instab_plot(2,ii)=nan;
198
199     else
200         G_instab_plot(2,ii)=G_eq(3,ii);
201         G_stab_plot(2,ii)=nan;
202     end
203
204     if lower_stability(ii) == 1 %IF inner is stab
```

```

205         G_stab_plot(3,ii)=G_eq(2,ii);
206         G_instab_plot(3,ii)=nan;
207     else
208         G_instab_plot(3,ii)=G_eq(2,ii);
209         G_stab_plot(3,ii)=nan;
210     end
211 end
212
213
214
215
216
217 %% plot biforcazione
218
219
220
221 size_fonts = 20;
222 size_lines = 1.3;
223
224
225 figure
226 plot(variabili,G_stab_plot(1,:)/gmax,'-b','LineWidth',
      size_lines)
227 pbaspect([1 1 1])
228 hold on
229 plot(variabili,G_instab_plot(1,:)/gmax,'--r','LineWidth
      ',size_lines)
230 if linea
231 plot(linspace(baseline,baseline),linspace(-0.05,1),':k',
      'LineWidth',size_lines)
232 end
233 plot(variabili,G_stab_plot(2,:)/gmax,'-b','LineWidth',
      size_lines)
234 plot(variabili,G_stab_plot(3,:)/gmax,'-b','LineWidth',
      size_lines)
235 plot(variabili,G_instab_plot(2,:)/gmax,'-b','LineWidth'
      ,size_lines)
236 plot(variabili,G_instab_plot(3,:)/gmax,'--r','LineWidth
      ',size_lines)
237

```

```
238 %plot(1.1*linspace(Bifo_tera,Tera_lin),linspace(0,0),'-b
    ')
239
240
241
242
243 title('Diagramma di biforcazione','FontSize',size_fonts)
244 ylabel('G*','FontSize',size_fonts)
245 xlabel(variabile,'FontSize',size_fonts)
246
247 if linea
248     stringa = strcat(['baseline di ' variabile]);
249     leg=legend({'eq stabile','eq instabile',stringa},'
        FontSize',size_fonts*0.8);
250 else
251     leg=legend( {'eq stabile','eq instabile'},'FontSize',
        size_fonts*0.8);
252 end
253
254
255
256 set(gca,'LineWidth',size_lines)
257 set(gca,"FontSize",size_fonts)
258
259 xlim([0, max(variabili)])
260 ylim([-0.05 1])
261
262
263
264
265
266
267 if false
268     axes('position',[.25 .36 .1 .2])
269     box on % put box around new pair of axes
270     indexOfInterest = (variabili < 15) & (variabili > 25);
271
272     plot(variabili,G_stab_plot(1,:)/gmax,'-b','LineWidth',
        size_lines)
273     hold on
```

```
274 plot(variabili,G_instab_plot(1,:)/gmax,'-r','LineWidth'  
      ,size_lines)  
275 if linea  
276 plot(linspace(baseline,baseline),linspace(0,1),':k','  
      LineWidth',size_lines)  
277 end  
278 plot(variabili,G_stab_plot(2,:)/gmax,'-b','LineWidth',  
      size_lines)  
279 plot(variabili,G_stab_plot(3,:)/gmax,'-b','LineWidth',  
      size_lines)  
280 plot(variabili,G_instab_plot(2,:)/gmax,'-r','LineWidth'  
      ,size_lines)  
281 plot(variabili,G_instab_plot(3,:)/gmax,'--r','LineWidth'  
      ',size_lines)  
282 axis tight  
283 end  
284  
285  
286  
287 if false  
288 axes('position',[.65 .20 .2 .1])  
289 box on % put box around new pair of axes  
290 indexOfInterest = (variabili < 15) & (variabili > 25);  
291  
292 plot(variabili,G_stab_plot(1,:)/gmax,'-b','LineWidth',  
      size_lines)  
293 hold on  
294 plot(variabili,G_instab_plot(1,:)/gmax,'--r','LineWidth'  
      ',size_lines)  
295 if linea  
296 plot(linspace(baseline,baseline),linspace(0,1),':k','  
      LineWidth',size_lines)  
297 end  
298 plot(variabili,G_stab_plot(2,:)/gmax,'-b','LineWidth',  
      size_lines)  
299 plot(variabili,G_stab_plot(3,:)/gmax,'-b','LineWidth',  
      size_lines)  
300 plot(variabili,G_instab_plot(2,:)/gmax,'--r','LineWidth'  
      ',size_lines)  
301 plot(variabili,G_instab_plot(3,:)/gmax,'--r','LineWidth'  
      ',size_lines)
```

```

302 axis tight
303 end
304
305
306
307 hold off

```

```

1 function [lambda] = AutovaloriJacobi_totale(G,parameters
  )
2
3
4 r1=0.01;
5 gmax = 882650; %aumentare se instabilità numerica
6
7 alpha2 = parameters(1);
8 alpha4 = parameters(2);
9 k_1 = parameters(3);
10 k_3 = parameters(4);
11 mu = parameters(5);
12 tera = parameters(6);
13
14
15
16
17 gmax = 1;
18 r1=0.01/r1;
19
20 C= (tera)/(mu+alpha4*G/(G+k_3));
21
22 J=[r1-2*(G*r1)/gmax - (alpha2*C)*k_1/(G + k_1)^2,...
23   (-alpha2*G)/(G + k_1);...
24   (0-alpha4*C)*(k_3/(G+k_3)^2), ...
25   (0 - alpha4)*G*(G + k_3) - mu];
26
27 lambda1=eig(J);
28
29 [V,D] = eig(J);
30
31 lambda=diag(D);
32

```

33 end

Si riporta il codice Python per lo studio di sensibilità nella geometria semplificata

```

1
2 from fenics import *
3 from mshr import *
4 import sys
5 import numpy as np
6
7
8 sys.setrecursionlimit(1000000000)
9
10
11 #dimension (future expansion 3d)
12 N_dim = 2
13
14 #intervallo temporale
15
16 #inner cycle: single simulation
17 T = 610 # OBJ 2400 h (100h-4gg) (survival rate GBM is le than
18 100gg—> 2400h)
19 inner_steps = 2*T # number of time steps inner cycle (5*T validato
20 equiv a 10*T)
21 dt = T / inner_steps # time step size
22
23 #outer cycle: parameters range
24 outer_step = 1200
25
26 #save times ( <T )
27 t_save1=200
28 t_save2=400
29 t_save3=600
30
31 tres = 0.0335 #treeshold volume for output
32
33 name_folder = 'Analisi_Sensibilità'+str(outer_step)+'X2' #name folder
34
35 #mesh
36
37 #quarter (sym) radius circle r=3cm
38 r=3.
39 domain = Circle(Point(0., 0.), r) - Rectangle(Point(0., r), Point(-r,
40 -r)) - Rectangle(Point(r, 0.), Point(-r, -r))
41 mesh = generate_mesh(domain,18)

```

```

42
43
44 #mesh refine step 1: circle surrounding tumor
45 cell_markers = MeshFunction("bool", mesh, mesh.topology().dim())
46 cell_markers.set_all(False)
47 for cell in cells(mesh):
48     mp=cell.midpoint()
49     if mp[0]**2+mp[1]**2 < 2.5*2.5:
50         cell_markers[cell] = True
51 mesh = refine(mesh, cell_markers)
52
53
54 #mesh refine step 2: ellipse surrounding tcell path
55 cell_markers = MeshFunction("bool", mesh, mesh.topology().dim())
56 cell_markers.set_all(False)
57 for cell in cells(mesh):
58     mp=cell.midpoint()
59     if (mp[0]**2+mp[1]**2 < 2*2) and (16*mp[1]**2+16*mp[0]**2-23*mp[0]*
60         mp[1] < 20):
61         cell_markers[cell] = True
62 mesh = refine(mesh, cell_markers)
63
64 #define FEM
65
66 # Define function space for system of concentrations
67 P1 = FiniteElement('CG', triangle, 1)
68 element = MixedElement([P1, P1, P1])
69 V = FunctionSpace(mesh, element)
70 dofmap = V.dofmap() #for future indicator
71
72 #for outut, h5 write doesn't support mixed space
73 W=FunctionSpace(mesh,P1)
74
75
76
77 # Define test functions
78 v_1, v_2, v_3 = TestFunctions(V)
79
80 # Define functions for concentrations
81 u = Function(V)
82 u_n = Function(V)
83 u_1, u_2, u_3 = split(u)
84
85
86 #DIFFUSION COEFFs
87
88 D_g = 5.417*10**(-5)*Identity(N_dim) #diffusion tensor G #
      swanson2003

```

```

89 D_c = 4.167*10**(-4)*Identity(N_dim) #diffusion tensor C #matzavinos
    2004
90
91 dig= 5.417*10**(-5) #intensity diffusion C
92 dic= 4.167*10**(-4) #intensity diffusion G
93
94 D_i=16*D_c #diffusion tensor T #ratio kahjanchi 2021b
95
96
97 #COEFF MODEL
98
99 #non-dimension
100 G_tilde=882650 #G_max
101 C_tilde = 10**6
102 CC = 2.39*10**8
103
104 #G
105 r_1 = 0.003125 #tumor growth (NO ZERO) (swanson 2003)
106 G_max = 1#882650/G_tilde #capacity tumore (NO ZERO, gira ma da sempre
    NaN)
107 alpha_2 = 10**(-14*0)*0.12/CC*C_tilde #killing rate linfociti (NO
    ZERO)
108 e_1 = 10000 #half saturation (TGF-B immunosoppressivo)
109 k_1 = 27000/G_tilde #Michelis Menten su G del killing rate
110
111 #C
112 mu_1 = 0.0074 #deca linfociti
113 alpha_4 = 10**(-14*0)*0.1694 #tumor kills linpho (NO ZERO)
114 k_3 = 334450/G_tilde #michelis menten su alpha_4
115 baseline_C=250*mu_1/C_tilde
116
117
118 T_max = 1/48.8 #volume filling chemiotaxi (T)
119
120 C_max = C_tilde/8 #volume filling chemiotaxi (G+C)
121
122 eps = 0.056 #saturation receptor
123 chi = 4.9*10**(-4) #chemiotaxi
124
125
126 #T
127 s_1 = 0*63305 #baseline production
128 b_1 = 5.75*10**-6 *G_tilde #tumor production
129 mu_2 = 0.102 #decay TGF
130
131 t_base=0*s_1/mu_2 #baseline Tgf
132
133 #COEFF THERAPY
134

```

```

135
136 #INITIAL CONDITIONS COEFFs
137
138 T_0 = 0.5 #i.e. G_max/2 #initial tumor concentration
139 C_0= 7.8 #CI gauss linfociti
140
141
142 Tera_c = 5 # *C_max #source infusion tcell
143 var = (0.044)**2 #dispersione gaussiana infus teraphy and tumor ci
144
145
146 #INITIAL CONDITIONS
147
148 dom= 8.0 # 8cm (nondimension gaussians)
149
150 u_0 = Expression(( 't_0*exp(-(pow(x[0]/dom,2)+pow(x[1]/dom,2))/(2*dell
    ))', 'base/mu_1+c_0*exp(-(pow(x[0]-1.1,2)+pow(x[1]-1.1,2))/(2*sig))
    ', 't_base'), mu_1=mu_1, base=baseline_C, t_base=t_base, dell= var,
    sig=var , t_0=T_0 , dom=dom, c_0=C_0, degree=1)
151
152 #u_n = project(u_0,V)
153
154 #SOURCE TERMS #
155
156 #source tumor (null)
157 f_1 = Constant(0)
158
159 #source C_T
160
161 f2 = Expression(( 'base + tera*exp(-(pow(x[0]-1.1,2)+pow(x[1]-1.1,2))
    /(2*dell))', '0', '0'), base=baseline_C, dell=var, tera=Tera_c,
    degree=1)
162
163 #project on space (3 components space)
164 f2v = project(f2,V)
165
166 #component
167 f_2, __, _ = f2v.split()
168
169 #source TGF
170 f_3 = Constant(0)
171
172
173 #SENSITIVITY PARAMETERS
174
175 np.random.seed(0)
176
177 #range of alpha_2
178 alpha2_min = alpha_2/10

```

```

179 alpha2_max = alpha_2*2
180 Dalpha2 = (alpha2_max - alpha2_min) / outer_step
181 Valpha2 = np.arange(outer_step)
182
183 #range of alpha_4
184 alpha4_min = alpha_4/10
185 alpha4_max = alpha_4*2
186 Dalpha4 = (alpha4_max - alpha4_min) / outer_step
187 Valpha4 = np.random.permutation(outer_step)
188
189 #range of k1
190 k1_min = k_1/10
191 k1_max = k_1*2
192 Dk1 = (k1_max - k1_min) / outer_step
193 Vk1 = np.random.permutation(outer_step)
194
195 #range di k2
196 k3_min = k_3/10
197 k3_max = k_3*2
198 Dk3 = (k3_max - k3_min) / outer_step
199 Vk3 = np.random.permutation(outer_step)
200
201
202 # range di chi
203 chi_min = chi/10
204 chi_max = chi*2
205 Dchi = (chi_max - chi_min) / outer_step
206 Vchi = np.random.permutation(outer_step)
207
208 # range di Dg
209 dig_min = dig/10
210 dig_max = dig*2
211 Ddig = (dig_max - dig_min) / outer_step
212 Vdig = np.random.permutation(outer_step)
213
214 # range di Dc
215 dic_min = dic/10
216 dic_max = dic*2
217 Ddic = (dic_max - dic_min) / outer_step
218 Vdic = np.random.permutation(outer_step)
219
220 # range di Vf
221 Vf_min = eps/10
222 Vf_max = eps*2
223 DVf = (Vf_max - Vf_min) / outer_step
224 VVf = np.random.permutation(outer_step)
225
226
227

```

```

228
229 def volume(uuu):
230     chi0 = Function(V)
231     for cell in cells(mesh): # set the characteristic functions
232         mp=cell.midpoint()
233         if uuu(mp) > tres:
234             chi0.vector()[dofmap.cell_dofs(cell.index())] = 1
235     TS, _, _ = project(chi0, V).split()
236
237     vol = assemble(TS*dx(mesh))
238
239     return vol
240
241
242 #save column titles
243
244 vtkfile_dummy = File(name_folder + '/dummy.pvd') #crea la cartella
245     sense
246 with open(name_folder + '/registro_'+name_folder+'.txt', 'a') as f:
247     #f.write('alpha2 alpha4 k1 k3 chi Massa Volume T= ' + str(T))
248     f.write('alpha2='+str(alpha_2)+' alpha4='+str(alpha_4)+' k1='+str
249     (k_1)+' k3='+str(k_3)+' chi='+str(chi)+' DG='+str(dig) + ' DC='+str
250     (dic) + ' eps='+str(eps) + ' M:' + str(t_save1) + ' ' + str(t_save2
251     ) + ' ' + str(t_save3) + ' V:' + str(t_save1) + ' ' + str(t_save2)
252     + ' ' + str(t_save3))
253
254 #compute save steps
255
256 n_out_1= np.floor(t_save1*inner_steps/T).astype(int).item()
257 n_out_2= np.floor(t_save2*inner_steps/T).astype(int).item()
258 n_out_3= np.floor(t_save3*inner_steps/T).astype(int).item()
259
260
261 for nn in range(outer_step):
262
263     #update variables
264
265     alpha_2 = alpha2_min + Dalpha2 * Valpha2[nn]
266     alpha_4 = alpha4_min + Dalpha4 * Valpha4[nn]
267     k1 = k1_min + Dk1 * Vk1[nn]
268     k3 = k3_min + Dk3 * Vk3[nn]
269     chi = chi_min + Dchi * Vchi[nn]
270
271     D_g = (dig_min + Ddig * Vdig[nn])*Identity(N_dim) #diffusion
272     tensor G
273     D_c = (dic_min + Ddic * Vdic[nn])*Identity(N_dim) #diffusion
274     tensor C
275

```

```

270 dig = (dig_min + Ddig * Vdig[nn])
271 dic = (dic_min + Ddic * Vdic[nn])
272 Vf = (Vf_min + DVf * VVf[nn])
273
274 #build name of save folder
275
276 folder = str(Valpha2[nn]) + '-' + str(Valpha4[nn]) + '-' + str(
Vkl[nn]) + '-' + str(Vk3[nn]) + '-' + str(Vchi[nn]) + '-' + str(
Vdig[nn]) + '-' + str(Vdic[nn]) + '-' + str(VVf[nn])
277
278
279 vtkfile_u_1 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/' + str(
nn) + 'G.pvd')
280 vtkfile_u_2 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/' + str(
nn) + 'C.pvd')
281 vtkfile_u_3 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/' + str(
nn) + 'T.pvd')
282 #vtkfile_CHI = File(name_folder + '/images/' + folder + '/' + str
(nn) + 'chi.pvd')
283
284
285 #reinitialize IC
286
287 u_n = project(u_0,V)
288 u_n1, u_n2, u_n3 = split(u_n)
289
290 #write variational problem
291
292 F = ((u_1 - u_n1) / dt)*v_1*dx \
293 + dot(D_g*grad(u_1), grad(v_1))*dx \
294 - r_1*u_1*(1-u_1/G_max)*v_1*dx \
295 + alpha_2*u_2*u_1/((k1+u_1))*v_1*dx\
296 + ((u_2 - u_n2) / dt)*v_2*dx \
297 + dot(D_c*grad(u_2), grad(v_2))*dx \
298 - chi/(1+Vf*u_3)**2*u_2*dot(grad(u_3), grad(v_2))*dx\
299 + alpha_4*u_1/(k3+u_1)*u_2*v_2*dx\
300 + mu_1*u_2*v_2*dx\
301 + ((u_3 - u_n3) / dt)*v_3*dx \
302 + dot(D_i*grad(u_3), grad(v_3))*dx \
303 - b_1*u_1*v_3*dx\
304 + mu_2*u_3*v_3*dx \
305 - f_2*v_2*dx
306
307 #INNER CYCLE
308
309 #reinitialized time
310 t = 0
311
312 #define problem/solver

```

```

313     j = derivative(F, u)
314     problem = NonlinearVariationalProblem(F, u, J=j)
315     solver = NonlinearVariationalSolver(problem)
316     prm = solver.parameters
317
318     #SNES
319     prm['nonlinear_solver'] = 'snes'
320     prm['snes_solver']['line_search'] = 'basic'
321     prm['snes_solver']['absolute_tolerance'] = 1E-8
322     prm['snes_solver']['relative_tolerance'] = 1E-6
323     prm['snes_solver']['maximum_iterations'] = 100
324     #prm['snes_solver']['relaxation_parameter'] = 1.0
325     #prm['snes_solver']['linear_solver'] = 'mumps'
326     prm['snes_solver']['linear_solver'] = 'gmres'
327     prm['snes_solver']['error_on_nonconvergence'] = False
328     prm['snes_solver']['preconditioner'] = 'hypr_amg'
329
330     #NEWTON
331     #prm['nonlinear_solver'] = 'newton'
332     #prm['newton_solver']['linear_solver'] = 'mumps'
333     #prm['newton_solver']['absolute_tolerance'] = 1E-8
334     #prm['newton_solver']['relative_tolerance'] = 1E-6
335
336
337
338
339     for n in range(inner_steps):
340         print(n)
341         # Update current time
342         t += dt
343         # Solve variational problem for time step
344
345         #NEWTON
346         #solve(F == 0, u, solver_parameters={"newton_solver":{"
relative_tolerance": 1e-8, "absolute_tolerance":1e-6}})
347
348
349         solver.solve()
350
351         u_n.assign(u)
352
353     #Save
354     if n==n_out_1:
355         uu1,uu22,uu33 = u.split()
356         G_test1 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/
Gtest1.xml')
357         G_test1 << project(uu1,W)
358         vtkfile_u_1 << (uu1, t)
359         vtkfile_u_2 << (uu22, t)

```

```

360         vtkfile_u_3 << (uu33, t)
361         M100 = assemble(uu11*dx(mesh))
362         V100 = volume(uu11)
363
364         if n==n_out_2:
365             uu11,uu22,uu33 = u.split()
366             G_test2 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/'
Gtest2.xml')
367             G_test2 << project(uu11,W)
368             vtkfile_u_1 << (uu11, t)
369             vtkfile_u_2 << (uu22, t)
370             vtkfile_u_3 << (uu33, t)
371             M200 = assemble(uu11*dx(mesh))
372             V200 = volume(uu11)
373
374         if n==n_out_3:
375             uu11,uu22,uu33 = u.split()
376             G_test3 = File(name_folder + '/images/' + folder + '/'
Gtest3.xml')
377             G_test3 << project(uu11,W)
378             vtkfile_u_1 << (uu11, t)
379             vtkfile_u_2 << (uu22, t)
380             vtkfile_u_3 << (uu33, t)
381             M400 = assemble(uu11*dx(mesh))
382             V400 = volume(uu11)
383
384         #data elab and save (if not save step at times)
385         uu11,uu22,uu33 = u.split()
386
387         Massa_tumore = assemble(uu11*dx(mesh))
388         Volume_tumore = volume(uu11)
389
390         #save new output line
391
392         with open(name_folder + '/registro_'+name_folder+'.txt', 'a') as
f:
393             #f.write('\n' + str(alpha_2) + ' ' + str(alpha_4) + ' ' + str
(k1) + ' ' + str(k3) + ' ' + str(chi) + ' ' + str(Massa_tumore) +
' ' + str(Volume_tumore))
394             f.write('\n' + str(alpha_2) + ' ' + str(alpha_4) + ' ' + str(
k1) + ' ' + str(k3) + ' ' + str(chi) + ' ' + str(dig) + ' ' + str(
dic) + ' ' + str(Vf) + ' ' + str(M100) + ' ' + str(M200) + ' ' +
str(M400) + ' ' + str(V100) + ' ' + str(V200) + ' ' + str(V400))
395

```

Si riporta il codice Python per la simulazione del modello nella geometria del cervello

```

1      """
2      G' = div(D_t*grad(G)) + r_G*T(1-G/G_max) -alpha_2*C*G/(G+k_3)/(T+
      e_1)
3      C' = div(D_c*grad(C)) - chi*div(C*grad(I)) -alpha_4*C*G/(G+k_3) -
      mu_1*C + tera
4      T' = div(D_i*grad(T)) + s_1 + b_1*G - mu_2*T
5
6      BC neumann
7      IC gaussiana per il tumore
8      """
9
10
11     from fenics import *
12     from mshr import *
13     import sys
14     import numpy as np
15     from numpy import linalg as LA
16
17
18
19
20
21
22     #print(sys.getrecursionlimit())
23
24     sys.setrecursionlimit(1000000)
25
26
27
28     CN=0 # 1 for CRANK-NICOLSON, 0 for E-impl
29
30     #dimension (future expansion 3d)
31     N_dim = 3
32
33     #MESH SPACE n TIME
34
35     #time discretization
36
37     T = 1200 # 2400 #0          # OBJ 2400 h (100h-4gg) (survival rate GBM
      is le than 100gg--> 2400h)
38     step_hour = 12
39     num_steps = step_hour*T # number of time steps
40     save = num_steps//6 #saving step
41
42
43     det = T / num_steps # time step size
44
45     chi = 1.6 #chemiotaxi

```

```

46 |
47 | tres = 0.0335
48 |
49 |
50 |
51 |
52 | eps = 0.16 # 70% #saturation receptor
53 |
54 |
55 |
56 |
57 |
58 | r_ani = 5. #20.
59 |
60 | gamma = 5. #ratio white-grey, swanson2000
61 |
62 |
63 | #folder = 'Matter_noter'+ '_T' + str(T) + '_X' + str(step_hour) + '
        _chi' + str(chi)+ '_eps' + str(eps) +'intensity'+str(intensity) +
        'aniX' + str(r_ani)
64 |
65 | #folder = 'ani_incremented_by=' + str(r_ani)
66 |
67 | folder = 'debug'
68 |
69 |
70 |
71 | #MESH SELECTION
72 |
73 | #ATTIVATORE LINFOCITI
74 | noter = 10**(-15*0)
75 | intensity = 10**5 # 1000 # 50 #
76 |
77 |
78 | #folder_mesh = 'MESH/Tumore_center_specchiato'
79 | #folder_mesh = 'MESH/Tumore_center'
80 | folder_mesh = 'MESH/Tumore_side'
81 | #folder_mesh = 'MESH/Tumore_side_specchiato'
82 | #folder_mesh = 'MESH/Tumore_X30'
83 |
84 | folder = 'Brain_matter_latoDx_tera10e5_aniX5_t=1200'
85 | #folder = 'ics30_matter_noter_aniX5_t=1200'
86 |
87 |
88 | #tumor latoDx
89 | x_o= 193.
90 | y_o= 277.
91 | z_o= 17.
92 | x_t= -14.

```

```
93 |
94 |
95 |
96 | #tumor latoSx
97 | #x_o= 289.
98 | #y_o= 273.
99 | #z_o= 17.
100 | #x_t= +14.
101 |
102 |
103 | #tumor centroSx
104 | ##x_o= 265.
105 | #y_o= 277.
106 | #z_o= 17.
107 | #x_t= +14.
108 |
109 |
110 |
111 |
112 |
113 | #tumor ics30
114 | #x_o= 257.
115 | #y_o= 238.
116 | #z_o= 30.
117 |
118 |
119 |
120 |
121 |
122 |
123 |
124 | #terapy application point
125 | #x_t = +14.
126 | y_t = 0.
127 | z_t = 0.
128 |
129 | #terapy application pointics30
130 | #x_t = 9.9 # -(0-14.)
131 | #y_t = -9.9 # 0.
132 | #z_t = 0.
133 |
134 |
135 |
136 |
137 |
138 |
139 |
140 |
141 |
```

```
142
143
144
145
146
147
148 print(folder)
149
150
151
152
153 mesh= Mesh()
154 with XDMFFile(folder_mesh + "/dominio2.xdmf") as infile:
155     infile.read(mesh)
156
157
158 vtkfile = File(folder + '/mesh.pvd')
159 #vtkfile << mesh
160
161
162 print('hmin='+str(mesh.hmin()))
163
164 #define FEM e related
165
166 # Define function space for system of concentrations
167 P1 = FiniteElement('CG', tetrahedron, 1)
168 element = MixedElement([P1, P1, P1])
169 V = FunctionSpace(mesh, element)
170 dofmap = V.dofmap() #for future indicator
171
172 #for outut, h5 write doesn't support mixed space
173 W=FunctionSpace(mesh,P1)
174
175 P0 = FiniteElement('DG', tetrahedron, 0)
176 U=FunctionSpace(mesh,P0)
177
178 # Define test functions
179 v_1, v_2, v_3 = TestFunctions(V)
180
181 # Define functions for concentrations
182 u = Function(V)
183 u_n = Function(V)
184
185 dmp = U.dofmap()
186
187
188 #EXTRACT DTI
189
190 dFW = 259.2 #diffusion free water
```

```

191 volBrain = assemble(1*dx(mesh)) #volume cervello
192
193
194
195 meshf_segmentazione = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh
    +"/label.xml")
196 segmentazione = MeshFunction("double", mesh, meshf_segmentazione)
197
198 mvc_Pfw = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/meshpFW.
    xml")
199 meshf_Pfw = MeshFunction("double", mesh, mvc_Pfw)
200 Pfw_P0 = Function(U)
201
202 mvc_FWxx = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWxx.xml")
203 dNFW11 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWxx)
204 values_x = Function(U)
205
206 mvc_FWyy = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWyy.xml")
207 dNFW22 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWyy)
208 values_y = Function(U)
209
210 mvc_FWzz = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWzz.xml")
211 dNFW33 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWzz)
212 values_z = Function(U)
213
214 mvc_FWxy = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWxy.xml")
215 dNFW12 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWxy)
216 values_xy = Function(U)
217
218 mvc_FWxz = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWxz.xml")
219 dNFW13 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWxz)
220 values_xz = Function(U)
221
222 mvc_FWyz = MeshValueCollection("double", mesh, folder_mesh +"/
    meshFWyz.xml")
223 dNFW23 = MeshFunction("double", mesh, mvc_FWyz)
224 values_yz = Function(U)
225
226 #save values as Functionj
227 for cell in cells(mesh):
228     Pfw_P0.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = meshf_Pfw[cell]
229     values_x.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW11[cell]
230     values_y.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW22[cell]
231     values_z.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW33[cell]

```

```

232 values_xy.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW12[cell]
233 values_xz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW13[cell]
234 values_yz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = dNFW23[cell]
235
236 #find means
237 mean_Pfw = assemble(Pfw_P0*dx(mesh)) / volBrain
238 mean_xx = (1-mean_Pfw)*assemble(values_x*dx(mesh)) / volBrain +
    mean_Pfw*dFW
239 mean_yy = (1-mean_Pfw)*assemble(values_y*dx(mesh)) / volBrain +
    mean_Pfw*dFW
240 mean_zz = (1-mean_Pfw)*assemble(values_z*dx(mesh)) / volBrain +
    mean_Pfw*dFW
241 mean_xy = (1-mean_Pfw)*assemble(values_xy*dx(mesh)) / volBrain
242 mean_xz = (1-mean_Pfw)*assemble(values_xz*dx(mesh)) / volBrain
243 mean_yz = (1-mean_Pfw)*assemble(values_yz*dx(mesh)) / volBrain
244
245
246 print('mean_phi = '+str(mean_Pfw)+'\n')
247 print('mean_x = '+str(mean_xx)+'\n')
248 print('mean_y = '+str(mean_yy)+'\n')
249 print('mean_z = '+str(mean_zz)+'\n')
250 print('mean_xy = '+str(mean_xy)+'\n')
251 print('mean_xz = '+str(mean_xz)+'\n')
252 print('mean_yz = '+str(mean_yz)+'\n')
253
254
255 #funzioni che conterranno la matrice rielaborata tenendo conto della
    segmentazione (P0)
256 dep_xx= Function(U) #P0
257 dep_yy= Function(U)
258 dep_zz= Function(U)
259 dep_xy= Function(U)
260 dep_yz= Function(U)
261 dep_xz= Function(U)
262
263 #funzioni che conterranno la matrice rielaborata (P0)
264 uni_xx= Function(U)
265 uni_yy= Function(U)
266 uni_zz= Function(U)
267 uni_xy= Function(U)
268 uni_yz= Function(U)
269 uni_xz= Function(U)
270
271
272 #varie
273 traccia = Function(U)
274 traccia_abs = Function(U)
275 raggiospettrale = Function(U)
276 anisotropia = Function(U)

```

```

277 celle_corrette = Function(U)
278
279 segme = Function(U)
280 e_L = Function(U)
281 e_P = Function(U)
282
283
284 contacorre = 0
285 contatraccia = 0
286 contacelle = 0
287 contatuttinulli = 0
288
289 for cell in cells(mesh):
290     #contacelle=contacelle+1
291
292     #meshf_Pfw[cell] = mean_Pfw #omogeneizzare l'acqua
293
294     #LEGGERE LABEL SEGMENTAZIONE
295
296     segme.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = segmentazione[cell]
297
298     #LEGGERE DATI DTI
299
300     au_xx = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW11[cell] + meshf_Pfw[cell]*dFW #
301         # matrici non normalizzata
302     au_yy = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW22[cell] + meshf_Pfw[cell]*dFW
303     au_zz = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW33[cell] + meshf_Pfw[cell]*dFW
304     au_xy = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW12[cell]
305     au_xz = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW13[cell]
306     au_yz = (1-meshf_Pfw[cell])*dNFW23[cell]
307
308     #DECOMPOSIZIONE EIG
309
310     D_init= np.array([[au_xx, au_xy, au_xz], [au_xy, au_yy, au_yz], [au_xz,
311         au_yz, au_zz]])
312     eigenvalues, eigenvectors = LA.eig(D_init)
313     idx = eigenvalues.argsort()[::-1]
314     eigenvalues = eigenvalues[idx]
315     eigenvectors = eigenvectors[:,idx]
316
317     #INCREMENTO ANISOTROPIA
318
319     # create matrix from eigenvectors
320     Q = eigenvectors
321
322     # create inverse of eigenvectors matrix ()
323     R = np.transpose(Q)

```

```
324 l1 = eigenvalues [0]
325 l2 = eigenvalues [1]
326 l3 = eigenvalues [2]
327
328 if l3 > 0 :
329     c1 = (l1 - l2) / (l1+l2+l3)
330     cp = 2* (l2 - l3) / (l1+l2+l3)
331     cs = 3* l3 / (l1+l2+l3)
332 else:
333     c1 = 0
334     cp = 0
335     cs = 0
336
337 e_L.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = c1
338 e_P.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = cp
339
340 # coefficienti degli autovalori
341 a1 = r_anì * (c1 + cp) + cs
342 a2 = c1 + r_anì * cp + cs
343 a3 = c1 + cp + cs
344
345 #nuovi autovalori
346 newvalues = np.array([a1*l1, a2*l2, a3*l3])
347
348 L = np.diag(newvalues)
349
350 #NUOVA MATRICE DI DIFFUSIONE
351 D_reco = Q.dot(L).dot(R)
352
353
354 if LA.norm(D_reco)==0:
355     contatuttinulli=contatuttinulli+1
356
357 au_xx = D_reco[0,0]
358 au_yy = D_reco[1,1]
359 au_zz = D_reco[2,2]
360 au_xy = D_reco[0,1]
361 au_xz = D_reco[0,2]
362 au_yz = D_reco[1,2]
363
364
365 spec_radius = np.max(abs(eigenvalues))
366
367 #TRACCIA
368 tr = (abs(au_xx)+abs(au_yy)+abs(au_zz))/3
369
370 # NORMALIZZO PER LA TRACCIA, SE LA TRACCIA è NULLA ALMENO UN
    AUTOVALORE è NON POSITIVO (poichè sym): ERRORE DA CORREGGERE
371 if tr > 0:
```

```

372 xx = au_xx / tr
373 yy = au_yy / tr
374 zz = au_zz / tr
375 xy = au_xy / tr
376 xz = au_xz / tr
377 yz = au_yz / tr
378 else:
379     xx = 3*mean_xx/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
380     yy = 3*mean_yy/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
381     zz = 3*mean_zz/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
382     xy = 0
383     xz = 0
384     yz = 0
385
386
387 #INIZIANO LE CORREZIONI PROPOSTE
388
389 eigenvalues2 , eigenvectors2 = LA.eig(np.array([[xx,xy,xz],[xy,yy,yz],
390         ],[xz,yz,zz])))
391
392 if np.min(eigenvalues2) <= 0: #CORREZIONE: LA MATRICE DI DIFFUSIONE
393     é DEFINITA POSITIVA (probabilmente includerebbe il controllo
394     precedente)
395     contacorre = contacorre + 1
396     xx=3*mean_xx/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
397     yy=3*mean_yy/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
398     zz=3*mean_zz/(mean_xx+mean_yy+mean_zz)
399     xy=0.
400     yz=0.
401     xz=0.
402     celle_corrette.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = -1
403 else:
404     celle_corrette.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
405
406 #save la matrice rielaborata A SECONDA DELLA SEGMENTAZIONE
407
408 if segmentazione[cell] == 25: #GREY matter
409     dep_xx.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = xx /gamma
410     dep_yy.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = yy /gamma
411     dep_zz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = zz /gamma
412     dep_xy.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = xy /gamma
413     dep_yz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = yz /gamma
414     dep_xz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = xz /gamma
415 elif segmentazione[cell] == 14: #WHITE matter
416     dep_xx.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = xx
417     dep_yy.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = yy
418     dep_zz.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = zz
419     dep_xy.vector()[dmp.cell_dofs(cell.index())] = xy

```

```

418 dep_yz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = yz
419 dep_xz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = xz
420 else: #fluid o label sconosciuti
421 dep_xx.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
422 dep_yy.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
423 dep_zz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
424 dep_xy.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
425 dep_yz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
426 dep_xz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = 0
427
428 #TENSORE DELLE DIREZIONI PREFERENZIALI SENZA TENERE CONTO DELLA
    SEGMENTAZIONE
429 uni_xx.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = xx
430 uni_yy.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = yy
431 uni_zz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = zz
432 uni_xy.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = xy
433 uni_yz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = yz
434 uni_xz.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = xz
435
436
437
438
439
440 #utilità
441 tr_fin = (xx+yy+zz)/3
442 eigenvalues_test, eigenvectors_test = LA.eig(np.array([[xx-tr_fin, xy
    , xz], [xy, yy-tr_fin, yz], [xz, yz, zz-tr_fin]]))
443 anisotropia.vector() [dmp.cell_dofs(cell.index())] = np.max(
    eigenvalues_test)
444
445
446
447 print('contacelle='+str(contacelle)+'\n')
448 print('contacorre='+str(contacorre)+'\n')
449 print('contatraccia='+str(contatraccia)+'\n')
450 print('contatuttinulli='+str(contatuttinulli)+'\n')
451
452
453 Ds_xx = interpolate(dep_xx,W) #P1
454 Ds_yy = interpolate(dep_yy,W)
455 Ds_zz = interpolate(dep_zz,W)
456 Ds_xy = interpolate(dep_xy,W)
457 Ds_yz = interpolate(dep_yz,W)
458 Ds_xz = interpolate(dep_xz,W)
459
460
461 D_xx = interpolate(dep_xx,W) #P1
462 D_yy = interpolate(dep_yy,W)
463 D_zz = interpolate(dep_zz,W)

```

```

464 D_xy = interpolate(dep_xy,W)
465 D_yz = interpolate(dep_yz,W)
466 D_xz = interpolate(dep_xz,W)
467
468
469
470
471 #MATRICE DI DIFFUSIONE ANISOTROPA DA USARE NELLA VARIAZIONALE
472 Diff = as_matrix(( (Ds_xx, Ds_xy, Ds_xz), (Ds_xy, Ds_yy, Ds_yz), (
    Ds_xz, Ds_yz, Ds_zz) ))
473 Diff_uni = as_matrix(( (D_xx, D_xy, D_xz), (D_xy, D_yy, D_yz), (D_xz,
    D_yz, D_zz) ))
474
475
476 #vtkfile = File(folder + '/'+'divisione_' + folder +'.pvd')
477 #vtkfile << segme
478
479
480
481 vtkfile = File(folder + '/Dxx.pvd')
482 vtkfile << D_xx
483
484 vtkfile = File(folder + '/Dyy.pvd')
485 vtkfile << D_yy
486
487 vtkfile = File(folder + '/Dzz.pvd')
488 vtkfile << D_zz
489
490 vtkfile = File(folder + '/DSxx.pvd')
491 vtkfile << Ds_xx
492
493 vtkfile = File(folder + '/DSyy.pvd')
494 vtkfile << Ds_yy
495
496 vtkfile = File(folder + '/DSzz.pvd')
497 vtkfile << Ds_zz
498
499
500 #DIFFUSION COEFFs
501
502 molt = 100.
503
504 D_g = molt * 5.417*10**(-5)*Diff #*Identity(N_dim) #diffusion tensor
    G #swanson2003
505 D_c = molt * 4.167*10**(-4)*Diff #*Identity(N_dim) #diffusion tensor
    C #matzavinos 2004
506 D_i = molt * 16. * D_c #diffusion tensor T #ratio kahjanchi 2021b
507
508

```

```

509 #COEFF KAHJANCHI MODEL
510
511 #non-dimension
512 G_tilde = 882650
513 C_tilde = 10**6
514 CC = 2.39*10**8
515
516
517 #G
518 r_1 = 0.003125 #tumor growth (NO ZERO) (swanson 2003)
519 G_max = 1 #882650/G_tilde #capacity tumore (NO ZERO, gira ma da
    sempre NaN)
520 alpha_2 = noter*0.12/CC*C_tilde #killing rate linfociti (NO ZERO)
521 e_1 = 10000 #half saturation (TGF-B immunosoppressivo)
522 k_1 = 27000/G_tilde #Michelis Menten su G del killing rate
523
524 #C
525 mu_1 = 0.0074 #deca linfociti
526 alpha_4 = noter*0.1694 #tumor kills linpho (NO ZERO)
527 k_3 = 334450/G_tilde #michelis menten su alpha_4
528 baseline_C=250*mu_1/C_tilde
529
530 C_max = 0 #volume filling chemiotaxi (negligible)
531
532 #T
533 s_1 = 0*63305 #baseline production
534 b_1 = 5.75*10**-6 *G_tilde #tumor production
535 mu_2 = 0.102 #decay TGF
536
537 t_base=s_1/mu_2 #baseline Tgf
538
539 #COEFF THERAPY
540
541 C_0= 0*intensity/mu_1 #CI picco gauss linfociti (tagliato dal 2D)
542
543
544 #INITIAL CONDITIONS COEFFs
545
546 T_0 = 0.5 #i.e. G_max/2 #initial tumor concentration
547
548 Tera_c = intensity # *C_max #source infusion tcell
549
550
551 var=(0.044)**2*64**(0) #dispersione gaussiana ci
552 var_C = (0.044)**2 #gaussiana terapia
553
554
555 #INITIAL CONDITIONS
556

```

```

557
558 dom= 10*8.0 # 8cm (nondimension gaussians)
559 rescale = 10.
560
561 u_0 = Expression(( 't_0*exp(-(pow((x[0]-x_o)/dom,2)+pow((x[1]-y_o)/dom
,2)+pow((x[2]-z_o)/dom,2))/(2*dell) )', 'base/mu_1+c_0*exp(-(pow((x
[0]-x_o-x_t)/rescale,2)+pow((x[1]-y_o)/rescale,2)+pow((x[2]-z_o)/
rescale,2))/(2*sig))', 't_base'), mu_1=mu_1, base=baseline_C,
rescale=rescale, x_o=x_o, y_o=y_o, z_o=z_o, x_t=x_t, t_base=t_base,
dell = var, sig=var_C, t_0=T_0, dom=dom, c_0=C_0, degree=1)
562
563 #u_n = project(u_0,V, solver_type="mumps")
564 u_n = interpolate(u_0,V)
565
566
567 #SOURCE TERMS #
568
569 #source tumor (null)
570 f_1 = Constant(0)
571
572 #source C_T
573 rescale = 10. #adimensional gauss source C
574
575
576 f2 = Expression(( 'base + tera*exp(-(pow((x[0]-x_o-x_t)/rescale,2)+pow
((x[1]-y_o-y_t)/rescale,2)+pow((x[2]-z_o-z_t)/rescale,2))/(2*dell)
)', '0', '0'), x_o=x_o, y_o=y_o, z_o=z_o, x_t=x_t, y_t=y_t, z_t=z_t,
base=baseline_C, rescale=rescale, dell=var_C, tera=Tera_c, degree
=1)
577
578 #project on space (3 components space) e extract component
579 #f2v = project(f2,V, solver_type="mumps")
580 f2v = interpolate(f2,V)
581 f_2, __, _ = f2v.split()
582
583 #vtkfile_source = File(folder + '/source.pvd')
584 #vtkfile_source << (f_2)
585
586 #source TGF
587 f_3 = Constant(0)
588
589
590 #split components vector
591 u_1, u_2, u_3 = split(u)
592 u_n1, u_n2, u_n3 = split(u_n)
593
594 # Define expressions used in variational forms
595 dt = Constant(det)
596 ci=Constant(chi)

```

```

597
598 # Define variational problem
599
600 F = (1+CN)*((u_1 - u_n1) / dt)*v_1*dx \
601       + inner(grad(u_1), D_g*grad(v_1))*dx \
602             - r_1*u_1*(1-u_1/G_max)*v_1*dx \
603             + alpha_2*u_2*u_1/((k_1+u_1))*v_1*dx\
604 + (1+CN)*((u_2 - u_n2) / dt)*v_2*dx \
605       + inner(grad(u_2), D_c*grad(v_2))*dx \
606       - ci*(1+eps*u_3)**2*u_2*dot(Diff*grad(u_3), grad(v_2))*dx\
607             + alpha_4*u_1/(k_3+u_1)*u_2*v_2*dx\
608             + mu_1*u_2*v_2*dx\
609 + (1+CN)*((u_3 - u_n3) / dt)*v_3*dx \
610       + inner(grad(u_3), D_i*grad(v_3))*dx \
611       - b_1*u_1*v_3*dx\
612       + mu_2*u_3*v_3*dx \
613 + (1+CN)*(-f_1*v_1*dx - f_2*v_2*dx -f_3*v_3*dx)
614
615 # Create VTK files for visualization output
616 vtkfile_u_1 = File(folder + '/G'+folder+'.pvd')
617 vtkfile_u_2 = File(folder + '/C'+folder+'.pvd')
618 vtkfile_u_3 = File(folder + '/T'+folder+'.pvd')
619
620
621
622 j = derivative(F, u)
623
624 problem = NonlinearVariationalProblem(F, u, J=j)
625 solver = NonlinearVariationalSolver(problem)
626 prm = solver.parameters
627
628 #NEWTON
629 #prm['nonlinear_solver']='newton'
630 #prm['newton_solver']['linear_solver'] = 'mumps'
631 #prm['newton_solver']['absolute_tolerance'] = 1E-8
632 #prm['newton_solver']['relative_tolerance'] = 1E-6
633
634 #SNES
635 prm['nonlinear_solver'] = 'snes'
636 prm['snes_solver']['line_search'] = 'basic'
637 prm['snes_solver']['absolute_tolerance'] = 1E-10
638 prm['snes_solver']['relative_tolerance'] = 1E-8
639 prm['snes_solver']['maximum_iterations'] = 100
640 #prm['snes_solver']['relaxation_parameter'] = 1.0
641 #prm['snes_solver']['linear_solver'] = 'mumps'
642 prm['snes_solver']['linear_solver'] = 'gmres'
643 prm['snes_solver']['error_on_nonconvergence'] = False
644 prm['snes_solver']['preconditioner'] = 'hypre_amg'
645

```

```

646 # Time-stepping
647 t = 0
648
649
650
651
652 def Volume(uuu, tres):
653     ind0 = Function(V)
654     for cell in cells(mesh): # set the characteristic functions
655         mp=cell.midpoint()
656         if uuu(mp) > tres:
657             ind0.vector()[dofmap.cell_dofs(cell.index())] = 1
658     TS, __, __ = interpolate(ind0, V).split()
659
660     vol = assemble(TS*dx(mesh))
661
662     return vol
663
664
665
666
667
668
669 with open(folder + '/registro_' + folder + '.txt', 'a') as f:
670     f.write(folder + ' Massa, Vol0.0335, Vol0.1, Vol0.2')
671
672
673
674
675 for n in range(num_steps):
676     #print(n)
677     # Update current time
678     t += det
679     # Solve variational problem for time step
680
681
682     #solve(F == 0, u, solver_parameters={"newton_solver":{"
683     relative_tolerance": 1e-9, "absolute_tolerance":1e-7}})
684
685     solver.solve()
686
687     if (n+1)%save==0 or n==0: # Save solution to file (VTK)
688         _u_1, _u_2, _u_3 = u.split()
689         vtkfile_u_1 << (_u_1, t)
690         vtkfile_u_2 << (_u_2, t)
691         vtkfile_u_3 << (_u_3, t)
692         Massa = assemble(_u_1*dx(mesh))
693         Vol1 = Volume(_u_1,0.0335)
694         Vol2 = Volume(_u_1,0.1)

```

```

694     Vol3 = Volume(_u_1,0.2)
695     T_test1 = File(folder + '/T_'+str(t)+'.xml')
696     T_test1 << interpolate(_u_3,W)
697     C_test1 = File(folder + '/C_'+str(t)+'.xml')
698     C_test1 << interpolate(_u_2,W)
699     G_test1 = File(folder + '/G_'+str(t)+'.xml')
700     G_test1 << interpolate(_u_1,W)
701     with open(folder + '/registro_'+folder+'.txt', 'a') as f:
702         f.write('\n t= ' +str(t) + ' ' + str(Massa) + ' ' + str(Vol1
) + ' ' + str(Vol2) + ' ' + str(Vol3) )
703
704     # Update previous solution
705     u_n.assign(u)
706
707
708 #save last step
709 _u_1, _u_2 , _u_3 = u.split()
710 vtkfile_u_1 << (_u_1, t)
711 vtkfile_u_2 << (_u_2, t)
712 vtkfile_u_3 << (_u_3, t)
713
714 G_test1 = File(folder + '/G_'+str(t)+'.xml')
715 G_test1 << interpolate(_u_1,W)
716 C_test1 = File(folder + '/C_'+str(t)+'.xml')
717 C_test1 << interpolate(_u_2,W)
718 T_test1 = File(folder + '/T_'+str(t)+'.xml')
719 T_test1 << interpolate(_u_3,W)

```

Bibliography

- [1] National Cancer Institute. *SEER Training Modules: What Is Cancer?* URL: <https://training.seer.cancer.gov/disease/cancer> (cit. on pp. 1, 4).
- [2] E. Bidram et al. «A concise review on cancer treatment methods and delivery systems». In: *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 54 (Dec. 2019) (cit. on p. 1).
- [3] R.A. Weinberg D. Hanahan. «The Hallmarks of Cancer». In: *Cell* 100 (Jan. 2000) (cit. on pp. 1, 2).
- [4] R.A. Weinberg. «How Cancer Arises». In: *Scientific American* 275 (Sept. 1996) (cit. on p. 2).
- [5] American Association of Neurological Surgeons. *Glioblastoma Multiforme*. URL: <https://www.aans.org/en/Patients/Neurosurgical-Conditions-and-Treatments/Glioblastoma-Multiforme> (cit. on pp. 2, 8, 9).
- [6] R.A. Weinberg D. Hanahan. «Hallmarks of Cancer: The Next Generation». In: *Cell* 144 (Mar. 2011) (cit. on p. 2).
- [7] D. Hanahan. «Hallmarks of Cancer: New Dimensions». In: *Cancer Discovery* 100 (Jan. 2022) (cit. on pp. 2, 3).
- [8] Humanitas Research Hospital. *Cancro e tumore*. URL: <https://www.humanitas.it/malattie/cancro-e-tumore> (cit. on pp. 4, 12).
- [9] M. A. Paradiso M. F. Bear B. W. Connors. *Neuroscience: Exploring the brain*. Wolters Kluwer, 2016 (cit. on pp. 4–6).
- [10] *Human Brain sketch with eyes and cerebellum*. URL: https://it.m.wikipedia.org/wiki/File:Human_Brain_sketch_with_eyes_and_cerebellum.svg (cit. on pp. 5, 6).
- [11] *Complete neuron cell diagram*. URL: https://it.m.wikipedia.org/wiki/File:Complete_neuron_cell_diagram_it.svg (cit. on p. 6).
- [12] Prasanna Tadi. Anthony A. Mercadante. *Neuroanatomy, Gray Matter*. Jan. 2024. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553239/figure/article36416.image.f1/> (cit. on p. 7).

- [13] A.K. Dotiwala et al. *Anatomy, Head and Neck: Blood Brain Barrier*. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519556/> (cit. on p. 8).
- [14] L. Rong, N. Li, and Z. Zhang. «Emerging therapies for glioblastoma: current state and future directions». In: *J Exp Clin Cancer Res* 41:142 (2022) (cit. on pp. 8, 10, 11).
- [15] A. B. Mahmoud et al. «Advances in immunotherapy for glioblastoma multi-forme». In: *Front. Immunol.* 13 (2023) (cit. on p. 8).
- [16] D. N. Louis et al. «The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary». In: *Neuro-Oncology* 23 (June 2021) (cit. on p. 8).
- [17] W. Yang et al. «Sex differences in GBM revealed by analysis of patient imaging, transcriptome, and survival data». In: *Sci Transl Med* 11 (Jan. 2019) (cit. on pp. 8, 9).
- [18] S. Larjavaara et al. «Incidence of gliomas by anatomic location». In: *Neuro Oncology* 9 (July 2007) (cit. on p. 9).
- [19] C. Nieder et al. «Treatment of Unresectable Glioblastoma Multiforme». In: *Anticancer Research* 25 (Aug. 2005) (cit. on p. 9).
- [20] E. M. Corrales-Garcia P. D. Delgado-Lopez. «Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities». In: *Clin Transl Oncol* 18 (Mar. 2016) (cit. on p. 9).
- [21] S. L. R. Pinheiro et al. «Immunotherapy in glioblastoma treatment: Current state and future prospects». In: *World Journal of Clininic Oncology* 14 (2023), pp. 1–34 (cit. on pp. 10, 12, 48).
- [22] E. Agosti et al. «Glioblastoma Immunotherapy: A Systematic Review of the Present Strategies and Prospects for Advancements». In: *International Journal of Molecular Sciences* 24 (2023) (cit. on p. 11).
- [23] D. F. Quail M.W. Yu. «Immunotherapy for Glioblastoma: Current Progress and Challenges». In: *Front. Immunol.* 12 (May 2021) (cit. on p. 13).
- [24] A. Yin et al. «A Review of Mathematical Models for Tumor Dynamics and Treatment Resistance Evolution of Solid Tumors». In: *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 8 (Oct. 2019) (cit. on p. 14).
- [25] L. Geris S. Bekisz. «Cancer modeling: From mechanistic to data-driven approaches, and from fundamental insights to clinical applications». In: *Journal of Computational Science* 46 (Oct. 2020) (cit. on p. 14).
- [26] F. Ballatore. «A continuum mechanical model to predict the growth of Glioblastoma Multiforme and the deformation of white matter tracts». In: *Tesi di laurea magistrale, Politecnico di Torino* (2021) (cit. on pp. 14, 15, 72).

- [27] A. M. Jarrett et al. «Mathematical Models of Tumor Cell Proliferation: A Review of the Literature». In: *Expert Rev Anticancer Ther.* December 18 (Dec. 2018) (cit. on p. 15).
- [28] A. Konstorum et al. «Addressing current challenges in cancer immunotherapy with mathematical and computational modelling». In: *Journal of The Royal Society Interface* 14 (May 2017) (cit. on pp. 15, 17, 18).
- [29] J. D. et al. «Mathematical modeling of cancer immunotherapy for personalized clinical translation». In: *Natural Computer Science* December 2 (Dec. 2022) (cit. on pp. 16, 17).
- [30] J. C. L. Alfonso et al. «The biology and mathematical modelling of glioma invasion: a review». In: *J. R. Soc. Interface* 14 (Oct. 2017) (cit. on p. 17).
- [31] S. Torquato et al. «Simulated Brain Tumor Growth Dynamics Using a Three-Dimensional Cellular Automaton». In: *J. theor. Biol.* 203 (Jan. 2000) (cit. on p. 17).
- [32] T. S. Deisboeck Y. Mansury. «Modeling Tumors as Complex BioSystems: An Agent-Based Approach». In: *Complex Systems Science in Biomedicine* (Springer) (Feb. 2006) (cit. on p. 17).
- [33] L. Zhang et al. «Simulating Brain Tumor Heterogeneity with a Multiscale Agent-Based Model: Linking Molecular Signatures, Phenotypes and Expansion Rate». In: *Math Comput Model.* 49 (Jan. 2009) (cit. on p. 17).
- [34] A. Szabó et al. «Invasion from a cell aggregate – the roles of active cell motion and mechanical equilibrium». In: *Phys Biol.* 9 (Feb. 2012) (cit. on p. 17).
- [35] K. R. Swanson et al. «A quantitative model for differential motility of gliomas in grey and white matter». In: *Cell Prolif.* 33 (2000), pp. 317–329 (cit. on pp. 17, 48, 69, 75, 76).
- [36] K. R. Swanson et al. «Virtual brain tumours (gliomas) enhance the reality of medical imaging and highlight inadequacies of current therapy». In: *British Journal of Cancer* 86 (2002), pp. 14–18 (cit. on pp. 17, 46–48, 69, 75, 76).
- [37] K. R. Swanson. «Quantifying glioma cell growth and invasion in vitro». In: *Mathematical and Computer Modelling* 47 (2008), pp. 638–648 (cit. on p. 17).
- [38] F. Gu et al. «Applying a patient-specific bio-mathematical model of glioma growth to develop virtual [18F]-FMISO-PET images». In: *Mathematical Medicine and Biology* 29 (2012), pp. 31–48 (cit. on pp. 17, 46).
- [39] K.R. Swanson et al. «Simulation of Anisotropic Growth of Low-Grade Gliomas Using Diffusion Tensor Imaging». In: *Magnetic Resonance in Medicine* 54 (Aug. 2005) (cit. on pp. 17, 73).

- [40] Y. Kim et al. «A mathematical model for pattern formation of glioma cells outside the tumor spheroid core». In: *Journal of Theoretical Biology* 260 (July 2009) (cit. on p. 17).
- [41] Y. Kim. «Regulation of cell proliferation and migration in glioblastoma: new therapeutic approach». In: *Front Oncol.* 18 (Mar. 2013) (cit. on p. 17).
- [42] X. Tang. «A brief review: The application of mathematical modeling in cancer immunotherapy». In: *November Theoretical and Natural Science* 9 (May 2023) (cit. on p. 17).
- [43] V. A. Kuznetsov et al. «Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis». In: *Bull Math Biology* 56 (Mar. 1994) (cit. on p. 17).
- [44] J. C. Panetta D. Kirschner. «Modeling immunotherapy of the tumor-immune interaction». In: *Journal of Mathematical Biology* 37 (Nov. 1998) (cit. on pp. 17, 19).
- [45] D. Wodarz. «Computational modeling approaches to the dynamics of oncolytic viruses». In: *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2016 8 (May 2016) (cit. on p. 18).
- [46] S. Bunimovich-Mendrazitskya et al. «Mathematical Model of BCG Immunotherapy in Superficial Bladder Cancer». In: *Bulletin of Mathematical Biology* 69 (Apr. 2007) (cit. on p. 18).
- [47] S. Bunimovich-Mendrazitskya et al. «Treatment of Bladder Cancer Using BCG Immunotherapy: PDE Modeling». In: *Functional Differential Equations* 26 (May 2020) (cit. on p. 18).
- [48] L.G. de Pillis et al. «Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations». In: *Journal of Theoretical Biology* 238 (Sept. 2005) (cit. on p. 18).
- [49] L.G. de Pillis et al. «Mathematical model creation for cancer chemo-immunotherapy». In: *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 10 (Sept. 2009) (cit. on p. 18).
- [50] J.C. Arciero. «Computational modeling approaches to the dynamics of oncolytic viruses». In: *Discrete and Continuous Dynamical Systems-B* 4 (Feb. 2003) (cit. on p. 18).
- [51] Al-Tameemi et al. «Evasion of tumours from the control of the immune system: consequences of brief encounters». In: *Biology Direct* 7 (2012) (cit. on p. 18).
- [52] K. J. Mahasa et al. «Mathematical Model of Tumor-Immune Surveillance». In: *Journal of Theoretical Biology*, 7 September 2016 404 (Sept. 2016) (cit. on p. 18).

- [53] A. Matzavinos and M. A. J. Chaplain. «Mathematical modelling of the spatio-temporal response of cytotoxic T-lymphocytes to a solid tumour». In: *Mathematical Medicine and Biology* 21 (2004), pp. 1–34 (cit. on pp. 18, 47).
- [54] S. Suddin et al. «Reaction-Diffusion on a Spatial Mathematical Model of Cancer Immunotherapy with Effector Cells and IL-2 Compounds' Interactions». In: *International Journal of Differential Equations* 2021 (Jan. 2021) (cit. on p. 19).
- [55] X. Lai et al. «Combination therapy of cancer with cancer vaccine and immune checkpoint inhibitors: A mathematical model». In: *PLoS ONE* 12 (May 2017) (cit. on p. 19).
- [56] D. K. Wells et al. «Spatial and Functional Heterogeneities Shape Collective Behavior of Tumor-Immune Networks». In: *PLoS Comput Biol* 11 (Feb. 2015) (cit. on p. 19).
- [57] F. Pappalardo et al. «Modeling and simulation of cancer immunoprevention vaccine». In: *Bioinformatics* 21 (Apr. 2005) (cit. on p. 19).
- [58] F. Pappalardo et al. «In silico Modeling and In vivo Efficacy of Cancer-Preventive Vaccinations». In: *Cancer Research* 70 (Oct. 2010) (cit. on p. 19).
- [59] T. Lorenzi et al L. Almeida. «A Hybrid Discrete–Continuum Modelling Approach to explore the Impact of T-Cell Infiltration on Anti-tumour Immune Response». In: *Bulletin of Mathematical Biology* 84 (Oct. 2022) (cit. on p. 19).
- [60] N. Kronik et al. «Improving alloreactive CTL immunotherapy for malignant gliomas using a simulation model of their interactive dynamics». In: *Cancer Immunol Immunother* 57 (Sept. 2008) (cit. on p. 19).
- [61] J. Burke K. Abernathy. «Modeling the Treatment of Glioblastoma Multiforme and Cancer Stem Cells with Ordinary Differential Equations». In: *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2016 (Feb. 2016) (cit. on p. 19).
- [62] M. J. Piotrowska. «Tractable Model of Malignant Gliomas Immunotherapy with Discrete Time Delays». In: *Mathematical Population Studies* 21 21 (July 2014) (cit. on p. 19).
- [63] O.Nave. «A mathematical model for treatment using chemo-immunotherapy». In: *Heliyon* 8 (Apr. 2022) (cit. on p. 19).
- [64] P. P. Lee P. S. Kim. «Modeling Protective Anti-Tumor Immunity via Preventative Cancer Vaccines Using a Hybrid Agent-based and Delay Differential Equation Approach». In: *PLoS Comput Biol* 8 (Oct. 2012) (cit. on p. 20).
- [65] S. Banerjee, S. Khajanchi, and S. Chaudhuri. «A Mathematical Model to Elucidate Brain Tumor Abrogation by Immunotherapy with T11 Target Structure». In: *PLoS ONE* 20 (May 2015) (cit. on pp. 20, 46, 47, 49).

- [66] S. Khajanchi. «Modeling the dynamics of glioma-immune surveillance». In: *Chaos, Solitons and Fractals* 114 (Sept. 2018) (cit. on p. 20).
- [67] S. Khajanchi and J. J. Nieto. «Spatiotemporal dynamics of a glioma immune interaction model». In: *Scientific Reports volume 11* (Nov. 2021) (cit. on pp. 20, 37, 47).
- [68] C. E. Brown et al. «Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy». In: *The New England Journal of Medicine* 375 (Dec. 2016) (cit. on pp. 27, 49, 71).
- [69] L. Mesin. *Mathematical models for biomedicine*. Ilmiolibro self publishing, 2017 (cit. on pp. 36, 38).
- [70] A.M. Fong et al. «Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and GRK6-deficient mice». In: *Proc Natl Acad Sci USA* 99 (May 2002) (cit. on p. 43).
- [71] K. J. Painter. «Mathematical models for chemotaxis and their applications in self-organisation phenomena». In: *Journal of Theoretical Biology* 418 (Nov. 2019) (cit. on p. 43).
- [72] T. Hillen and K. J. Painter. «A user's guide to PDE models for chemotaxis». In: *J. Math. Biol.* 58 (July 2009) (cit. on pp. 43, 56).
- [73] A. Bagorda and C. A. Parent. «Eukaryotic Chemotaxis at a glance». In: *J Cell Sci.* 121 (Aug. 2008) (cit. on p. 43).
- [74] *FEniCS Project website*. URL: <https://fenicsproject.org/> (cit. on p. 44).
- [75] G. Wells A. Logg K. A. Mardal. *Automated Solution of Differential Equations by the Finite Element Method*. Springer, 2012 (cit. on p. 44).
- [76] A. Logg H. P. Langtangen. *Solving PDEs in Python: The FEniCS Tutorial I*. Saint Philip Street Press, 2008 (cit. on p. 44).
- [77] A. Quarteroni. *Modellistica numerica per problemi differenziali*. Springer, 2008 (cit. on p. 44).
- [78] F. L. Evans et al. «Protective and Regenerative Roles of T Cells in Central Nervous System Disorders». In: *Frontiers in Immunology* 10 (2019), pp. 1–34 (cit. on p. 47).
- [79] D. Basanta et al. «The role of IDH1 mutated tumour cells in secondary glioblastomas: an evolutionary game theoretical view». In: *Phys. Biol.* 8 (2011) (cit. on pp. 48, 69).
- [80] N. Ahmed et al. «HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor–Modified Virus-Specific T Cells for progressive Glioblastoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial». In: *JAMA Oncol.* 3 (Aug. 2017) (cit. on p. 49).

- [81] R. S. Cantrell and C. Cosner. *Spatial Ecology via Reaction-Diffusion Equations*. Wiley Online Library, 2004 (cit. on p. 49).
- [82] K. Letendre et al. «Bringing Statistics Up to Speed with Data in Analysis of Lymphocyte Motility». In: *PLoS ONE* 10 (May 2015) (cit. on p. 54).
- [83] S. Marino et al. «A Methodology For Performing Global Uncertainty And Sensitivity Analysis In Systems Biology». In: *Journal of Theoretical Biology* 254 (2008), pp. 178–196 (cit. on p. 59).
- [84] *TetGen: A Quality Tetrahedral Mesh Generator and a 3D Delaunay Triangulator*. URL: <https://wias-berlin.de/software/index.jsp?id=TetGen&lang=1> (cit. on p. 65).