



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Facoltà di Scienze MM.FF.NN.

Corso di Laurea in Matematica pura e applicata

Modelli biomeccanici per la formazione di pattern

TESI DI LAUREA DI

Laura Nenzi

Matr. N. 565626

RELATORE

Prof. Francesco Fassò

CORRELATORE

Prof. Marco Favretti

Anno Accademico [2010/2011]

a mamma e papà

Tutto è numero

Indice

Introduzione	1
1 Il modello di Turing	3
1.1 Descrizione del modello	3
1.2 Analisi del modello	4
1.3 Esempio numerico di sistema di reazione-diffusione	7
2 Modello morfogenesi mesenchimale	12
2.1 Legge di conservazione della Matrice Extracellulare	15
2.2 Equazione di bilancio della densità cellulare	15
2.2.1 Termine reattivo	16
2.2.2 Flusso convettivo	16
2.2.3 Flusso non convettivo	16
2.2.3.1 Diffusione	16
2.2.3.2 Aptotassi	18
2.2.4 Equazione di bilancio delle cellule mesenchimali	19
2.3 Equazione di interazione meccanica tra cellule ed ECM	20
2.4 Modello meccanico per la morfogenesi mesenchimale	21
3 Analisi lineare	23
3.1 Adimensionalizzazione delle equazioni	23
3.1.1 Caso particolare unidimensionale	26
4 Conclusioni	28

Appendice	30
Bibliografia	33

Introduzione

In questa tesi saranno presentati due modelli matematici di equazioni alle derivate parziali applicati in un ambito biologico. La costruzione di modelli matematici è ormai un elemento essenziale nella descrizione di molti fenomeni delle scienze applicate.

Riporto alcune frasi dall'introduzione del libro "Equazioni a derivate parziali, metodi modelli ed applicazioni" [1] di Sandro Salsa che spiegano brevemente ma molto chiaramente cosa si intenda con il termine modello e come si proceda nella costruzione di esso; in particolare come si procede se si stanno studiando fenomeni governati principalmente dalla legge della meccanica dei continui.

Per “modello” intendiamo un insieme di equazioni e/o altre relazioni matematiche in grado di catturare le caratteristiche della situazione e poi descriverne, prevederne e controllarne lo sviluppo.[...] La modellizzazione matematica, seguita dall'analisi e dalla simulazione numerica e poi dal confronto sperimentale, è diventata una procedura diffusa, indispensabile all'innovazione, anche per motivi pratici ed economici. È chiaro che ciò è reso possibile dalla capacità di calcolo di cui oggi si dispone.

Un modello matematico è in generale costruito a partire da due mattoni principali: le leggi generali e le relazioni costitutive.

Qui ci occuperemo di modelli in cui le leggi generali sono quelle della Meccanica dei continui e si presentano come leggi di conservazione o di bilancio. Le relazioni costitutive sono di natura sperimentale e dipendono dalle caratteristiche contingenti del fenomeno in esame.

Il risultato della combinazione dei due mattoni è di solito un'equazione o un sistema di equazioni a derivate parziali.

La mia scelta è ricaduta su un problema ancora oggi tra i più misteriosi ed affascinanti della scienza: la morfogenesi, che in biologia è inteso come lo stu-

dio del processo che porta alla formazione della forma dell'individuo. Quali sono i meccanismi della morfogenesi? Come si formano i pattern negli stadi iniziali dell'embrione? Come si formano gli organi specializzati ed i tessuti? Gli aspetti da prendere in considerazione per venire a capo di domande di questo genere sono tantissimi ed si è ancora lontani da trovare risposta ad anche una sola di queste domande. Quello che sarà trattato in questa tesi è solo un piccolo esempio di come appunto si proceda nella costruzione di un modello matematico a partire da delle leggi e da delle considerazioni sperimentali e di come risulti complesso trasformare in equazioni processi reali.

Nel primo capitolo sarà descritto brevemente il modello di Turing presentato nel lontano 1952 [2]. Egli ebbe un'intuizione fondamentale che ancora oggi è alla base della maggior parte dei modelli che descrivono la formazione di pattern spaziali. Il modello di Turing è costituito da due equazione di reazione-diffusione. La descrizione di Turing è molto generale, cioè non si entra in dettaglio su specifici fenomeni chimico-fisici e quindi sulle relazioni costitutive che li governano ma da un'idea generale su quali elementi essenziali deve avere un modello per descrivere la formazioni di pattern spaziali. L'analisi lineare del modello sarà dettagliata e servirà a capire l'analisi del modello successivo molto più complesso. Seguirà infine un esempio numerico unidimensionale: sarà fatta l'analisi del modello linearizzato attorno ad un punto di equilibrio ed una simulazione numerica del sistema non linearizzato, sempre vicino al punto di equilibrio per mostrare l'emergere di un pattern.

Il secondo capitolo descrive il modello di Murray-Oster per la morfogenesi delle cellule mesenchimali (cellule embrionali) [5]. Ci si soffermerà dettagliatamente a descrivere le leggi e le relazioni costitutive che governano il fenomeno. Le variabili del modello saranno la densità delle cellule, la densità della matrice extracellulare (ECM) su cui poggiano le cellule ed il vettore spostamento dell'ECM. Quello che risulterà alla fine sarà un sistema di tre equazioni: un'equazione di continuità della matrice, un'equazione di bilancio meccanico delle forze tra cellule ed ECM ed un'equazione di bilancio per la densità della popolazione cellulare.

Il terzo capitolo presenta l'analisi lineare del Modello di Murray-Oster [7, cap.6]; dopo l'adimensionalizzazione del sistema si passerà alla ricerca di un punto di equilibrio ed alla linearizzazione su di esso. L'analisi sarà limitata dalla complessità del sistema e l'ultima parte sarà fatta solo in maniera qualitativa e non analitica. Infine sarà presentato un caso particolare meno complesso unidimensionale e sarà fatta l'analisi del suo sistema linearizzato [21].

Capitolo 1

Il modello di Turing

1.1 Descrizione del modello

Turing teorizzò la formazione di pattern¹ per la prima volta nel 1952 [2]; secondo il modello di Turing i pattern derivano dall'accoppiamento dei fenomeni di diffusione e reazione fra morfogeni; secondo Turing i morfogeni sono delle sostanze chimiche che hanno la funzione di generare, durante i primi stadi dell'embrione, dei prepattern che sono successivamente interpretati come opportuni segnali per la differenziazione cellulare.

Il modello è un sistema di equazioni di reazione-diffusione (consideriamo per semplicità di avere solo due morfogeni):

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= f(u, v) + D_1 \Delta u \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= g(u, v) + D_2 \Delta v\end{aligned}\tag{1.1}$$

dove:

- u, v rappresentano le concentrazioni dei morfogeni e sono funzioni di spazio e tempo
- f, g sono le funzioni (non lineari) di reazione
- D_1, D_2 rappresentano le costanti positive di diffusione
- Δ è il laplaciano

¹con il termine pattern si intende un profilo ricorrente di un dato organismo; è un termine molto generale; infatti esempi di pattern sono le striature della zebra o le macchie del leopardo ma anche le ripetizioni di sequenze nucleotidiche o le impronte digitali.

L'intuizione di Turing è stata la seguente: se in assenza di diffusione ($D_1 = D_2 = 0$) u e v tendono ad un punto di equilibrio linearmente stabile allora, sotto certe condizioni che saranno esaminate, l'aggiunta del termine diffusivo (che normalmente viene considerato un fattore stabilizzante) può rendere instabile il punto fisso e portare alla successiva formazione di pattern.

Un esempio irrealistico [7, cap.2] ma che aiuta a capire qual'era l'idea di Turing è il seguente: si pensi ad un prato di erba secca dove c'è un grande numero di cavallette che possono generare condensa dal sudore se riscaldate, ora si supponga che da qualche punto del prato scoppi un incendio e le fiamme inizino a bruciare l'erba. I due reagenti (i morfogeni) sono: il fuoco (agente attivatore) e le cavallette (agente inibitore). Dunque il fuoco inizia a propagarsi e le cavallette scappano per non essere arrostite. Ci saranno quindi delle zone dove la densità del numero di cavallette aumenta; l'aumento della densità e la vicinanza con il fuoco scaldano le cavallette che iniziano a generare condensa; Quando il fuoco passa sopra ad una zona precedentemente bagnata dalle cavallette non brucia quella parte di erba; in questo modo le aree bruciate sono ristrette ad un dominio finito che dipende dai coefficienti di diffusione e dai parametri delle funzioni di reazione; perché ci sia possibilità di formazione di pattern è necessario (ma non sufficiente) che le cavallette scappino più velocemente di quanto velocemente si propaga il fuoco cioè deve avere che il coefficiente di diffusione dell'inibitore sia strettamente maggiore di quello dell'attivatore .

1.2 Analisi del modello

Vediamo in dettaglio quali sono le condizioni perché il sistema porti alla formazione di pattern.

Supponiamo che $D_1 < D_2$ e cioè che il morfogeno con concentrazione u sia l'attivatore e l'altro sia l'inibitore; per semplicità, dividiamo tutto il sistema per D_1 ottenendo:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} &= \gamma f(u, v) + \Delta u \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= \gamma g(u, v) + d\Delta v \end{aligned} \quad (1.2)$$

dove $\gamma = 1/D_1$ e $d = D_2/D_1$.

Nella biologia dello sviluppo i pattern, rispetto all'intero embrione, sono delle formazioni molto piccole; i "confini" quindi non giocano un ruolo essenziale. Pertanto, ai fini pratici il dominio può considerarsi infinito.

Si supponga che il sistema abbia un punto fisso in $(0,0)$; se il punto di equilibrio non fosse in $(0,0)$ basterebbe fare un opportuno cambio di variabili. Linearizziamo il sistema nell'intorno del punto fisso; ponendo per semplicità $\mathbf{w} = \begin{pmatrix} u \\ v \end{pmatrix}$ si ottiene:

$$\frac{\partial \mathbf{w}}{\partial t} = \gamma A \mathbf{w} + D \Delta \mathbf{w} \quad (1.3)$$

dove $A = \begin{pmatrix} f_u & f_v \\ g_u & g_v \end{pmatrix}$ è la matrice Jacobiana di (f, g) in $(0,0)$ e $D = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & d \end{pmatrix}$.

Troviamo le condizioni per cui l'equazione lineare senza termini diffusivi $\frac{\partial \mathbf{w}}{\partial t} = \gamma A \mathbf{w}$ abbia un equilibrio asintoticamente stabile nell'origine. Per il teorema spettrale di Liapunov questo è vero se entrambi gli autovalori di A hanno parte reale strettamente negativa.

Quindi le condizioni di stabilità sono:

$$Tr(A) = f_u + g_v < 0 \quad e \quad det(A) = f_u g_v - f_v g_u > 0. \quad (1.4)$$

D'ora in avanti il $det(A)$ sarà indicato con $|A|$.

Troviamo le condizioni per cui (1.3) abbia un equilibrio instabile nell'origine. Cerchiamo una soluzione monocromatica:

$$\mathbf{w}(\mathbf{x}, t) = \mathbf{a}_k \exp[\lambda t + i \mathbf{k} \cdot \mathbf{x}] \quad (1.5)$$

di vettore d'onda \mathbf{k} con numero d'onda $k = |\mathbf{k}|$. $Re \lambda$ determina la crescita temporale ed $0 \neq \mathbf{a}_k \in \mathbb{R}^2$ determina le ampiezze relative delle due componenti u e v . Sostituendo la (1.5) nella (1.3) si trova che essa è soluzione se e solo se:

$$\lambda \mathbf{a}_k = \gamma A \mathbf{a}_k - D k^2 \mathbf{a}_k; \quad (1.6)$$

quindi se e solo se λ è autovalore di $\gamma A - D k^2$ e cioè se λ è soluzione di:

$$det[\gamma A - D k^2 - \lambda \mathbb{I}] = 0$$

quindi otteniamo l'autovalore λ in funzione di k come radice di :

$$\lambda^2 + b(k^2) \lambda + h(k^2) = 0 \quad (1.7)$$

ove

$$\begin{aligned} b(x) &= x(1+d) - \gamma(f_u + g_v) \\ h(x) &= dx^2 - \gamma(df_u + g_v)x + \gamma^2 |A|. \end{aligned}$$

Quindi l'autovalore relativo a k è:

$$\lambda_k = \frac{-b(k^2) \pm \sqrt{b^2(k^2) - 4h(k^2)}}{2}$$

Se $k = 0$ ci si ritrova nella situazione dell'equazione linearizzata senza termini diffusivi; dunque $Re\lambda_0 < 0$ se e solo sono vere le condizioni (1.4). Ora perché l'equilibrio in $(0,0)$ diventi instabile in presenza della diffusione devo avere che $Re\lambda_k > 0$ per qualche $k \neq 0$; questo può succedere se o $b(k^2)$ o $h(k^2)$ sono negativi.

Valendo le condizioni (1.4) e $d > 0$ ho che per tutti i $k \neq 0$ $b(k^2) > 0$.

Quindi $h(k^2)$ deve essere negativo e siccome sempre per (1.4) $|A| > 0$ l'unica possibilità è che:

$$df_u + g_v > 0. \quad (1.8)$$

Poiché vogliamo un range di valori di k in cui $h(k^2)$ sia negativo osserviamo che il minimo di $h(k^2)$ è raggiunto in $k_{min}^2 = \gamma \frac{df_u + g_v}{2d}$ e vale :

$$h_{min} = \gamma^2 \left[|A| - \frac{(df_u + g_v)^2}{4d} \right]. \quad (1.9)$$

Quindi la condizione per cui $h(k^2) < 0$ per qualche $k \neq 0$ è:

$$\frac{(df_u + g_v)^2}{4d} > |A|. \quad (1.10)$$

Fissate f e g questo è soddisfatto se $d > d_c$ con d_c coefficiente di diffusione critico soluzione di $|A| = \frac{(df_u + g_v)^2}{4d}$.

Calcolando le soluzioni di $h(k^2) = 0$ si trova che $h(k^2) < 0$ se e solo se $k^2 \in (k_-^2, k_+^2)$ con

$$k_{\pm}^2 = \gamma \frac{df_u + g_v \pm \sqrt{(df_u + g_v)^2 - 4d|A|}}{2d} \quad (1.11)$$

e con $d > d_c$. Inoltre l'intervallo (k_-^2, k_+^2) contiene il numero d'onda critico:

$$k_c^2 = (k_{min}^2)_{|d=d_c} = \gamma \sqrt{\frac{f_u g_v - f_v g_u}{d_c}}.$$

Quindi le condizioni di instabilità sono:

$$df_u + g_v > 0 \quad e \quad \frac{(df_u + g_v)^2}{4d} > |A| \quad (1.12)$$

L'espressione $\lambda(k^2)$ che si deriva dalla (1.7) viene detta relazione di dispersione; l'analisi e lo studio di essa sono essenziali per avere informazioni su quali sono i numeri d'onda e le condizioni sui parametri che permettono la formazioni di pattern.

La condizione per la formazione dei pattern è che la soluzione trovata instabile, che cresce con il tempo, deve essere limitata dai termini non lineari delle funzioni di reazione e questo porterà alla formazione finale di una soluzione stazionaria spazialmente inhomogenea; l'analisi di questo ultima parte, vista la difficoltà dello studio analitico dei sistemi non lineari, viene fatta principalmente per via numerica perturbando il coefficiente di diffusione d vicino al parametro di biforcazione d_c [4].

Come ultima cosa si osservi che nel caso di un dominio finito i numeri d'onda sono discreti e quindi solo un numero finito di k appartenenti al range saranno rilevanti e porteranno alla formazione di pattern. Un punto molto a favore però dell'uso di un dominio finito è che questo limita molto i pattern ammissibili e quindi lo studio numerico risulta più facile.[7, cap2.]

1.3 Esempio numerico di sistema di reazione-diffusione

Prendiamo le funzioni reazione:

$$\begin{aligned} f(u, v) &= \gamma(au - bv - bu^3), \\ g(u, v) &= \gamma\left(\frac{ab}{2}u - 2bv\right), \end{aligned}$$

con a, b parametri da determinare.

Il sistema da studiare sarà:

$$\begin{aligned} u_t &= \gamma(au - bv - bu^3) + u_{xx} & t > 0, \quad x \in (0, 1); \\ v_t &= \gamma\left(\frac{ab}{2}u - 2bv\right) + v_{xx} & t > 0, \quad x \in (0, 1); \end{aligned} \quad (1.13)$$

con u_t si sta indicando la derivata temporale e con u_{xx} la derivata seconda spaziale.

Le condizioni iniziali e di bordo siano quelle di Neumann:

$$\begin{aligned} u(x, 0) &= \varphi(x), & v(x, 0) &= \psi(x), \\ u_x(0, t) &= u_x(1, t) = v_x(0, t) = v_x(1, t). \end{aligned} \quad (1.14)$$

Ora cerchiamo se è quali pattern genera il seguente sistema.

Il sistema ha una soluzione stazionaria per:

$$u_0 = 0 \text{ e } v_0 = 0. \quad (1.15)$$

La matrice Jacobiana delle funzioni di reazione in a $(0, 0)$ è:

$$A = \begin{pmatrix} a & -b \\ \frac{ab}{2} & -2b \end{pmatrix};$$

dalle condizioni (1.4) e (1.12):

$$\begin{aligned} Tr(A) < 0 & \rightarrow a < 2b, \\ det(A) > 0 & \rightarrow b > 4, \\ df_u + g_v > 0 & \rightarrow d > 1, \\ (df_u + g_v)^2 > 4d det(A) & \rightarrow [da - 2b]^2 > 2d(ab^2 - 4ab). \end{aligned} \quad (1.16)$$

L'insieme di queste disequazioni definisce un dominio nello spazio dei parametri (a, b, d) chiamato spazio di Turing in cui l'equilibrio è instabile per certi numeri k .

Ora scegliamo la coppia (a, b) in modo che soddisfi le condizioni (1.16); ad esempio $(a, b) = (3, 5)$.

Quindi il coefficiente di diffusione d dovrà essere maggiore di $d_c = \frac{5}{3}(3 + \sqrt{5}) \cong 8.72678$

Cerchiamo una soluzione monocromatica:

$$\begin{pmatrix} u \\ v \end{pmatrix} = \sum_{k=1}^N a_k \cos(kx). \quad (1.17)$$

Procedendo come nel caso generale dovremo cercare per quali k avrò che $h(k^2) = k^4 - 3k^2\gamma + \frac{10k^2\gamma}{d} + \frac{15\gamma^2}{2d} < 0$.

Avendo imposto le condizioni al contorno i k sono in numero discreto e sono (avendo scelto il dominio $(0, 1)$) t.c. $k = n\pi$ con $n \in \mathbb{N}$.

Per scegliere i valori migliore di d e γ conviene fare un'analisi grafica della parabola $\tilde{h}(x) = h(x\pi^2) = \pi^4 x^2 + \left(\frac{10\pi^2\gamma}{d} - 3\gamma\pi^2\right)x + \frac{15\gamma^2}{2d}$. Quello che voglio io è che esista un $x = n^2$, con $n \in \mathbb{N}$ t.c. $\tilde{h}(x) = h(n^2\pi^2) < 0$. La mia scelta è ricaduta sulla coppia $(d, \gamma) = (50, 10^3)$.

Dalla figura (1.2) si vede chiaramente che per $x = 9$ ho che $\tilde{h}(x) < 0$; facendo il calcolo analitico viene fuori che $\tilde{h}(x) = h(9\pi^2) = -90823.9$.

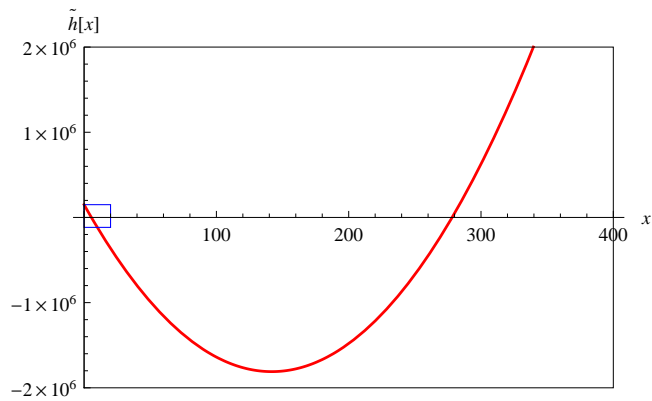


Figura 1.1: In rosso troviamo il grafico di $\tilde{h}[x] = \pi^4 x^2 + \left(\frac{10\pi^2\gamma}{d} - 3\gamma\pi^2\right)x + \frac{15\gamma^2}{2d}$ con $d = 50$ e $\gamma = 10^3$. Il quadratino blu corrisponde alla figura 1.2

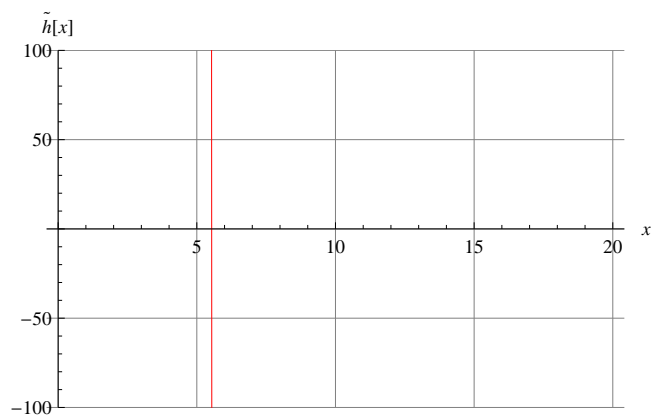


Figura 1.2: Questo disegno corrisponde al quadratino blu della figura 1.1. Dal disegno si vede chiaramente che per $x = 9$ la parabola è minore di zero.

Ho quindi trovato tutte le condizioni perchè il mio sistema non lineare con i parametri assegnati abbia la possibilità (ma non la certezza) di generare dei pattern vicino al punto di equilibrio $(0,0)$. Il mio sistema di reazione-diffusione è quindi:

$$\begin{aligned} u_t &= 10^3(3u - 5v - 5u^3) + u_{xx} & t > 0, \quad x \in (0, 1) \\ v_t &= 10^3(7.5u - 10v) + v_{xx} & t > 0, \quad x \in (0, 1) \end{aligned} \quad (1.18)$$

Ora tramite Mathematica è stata fatta un'analisi numerica del sistema non lineare prendendo come condizioni al contorno sempre quelle di Neumann:

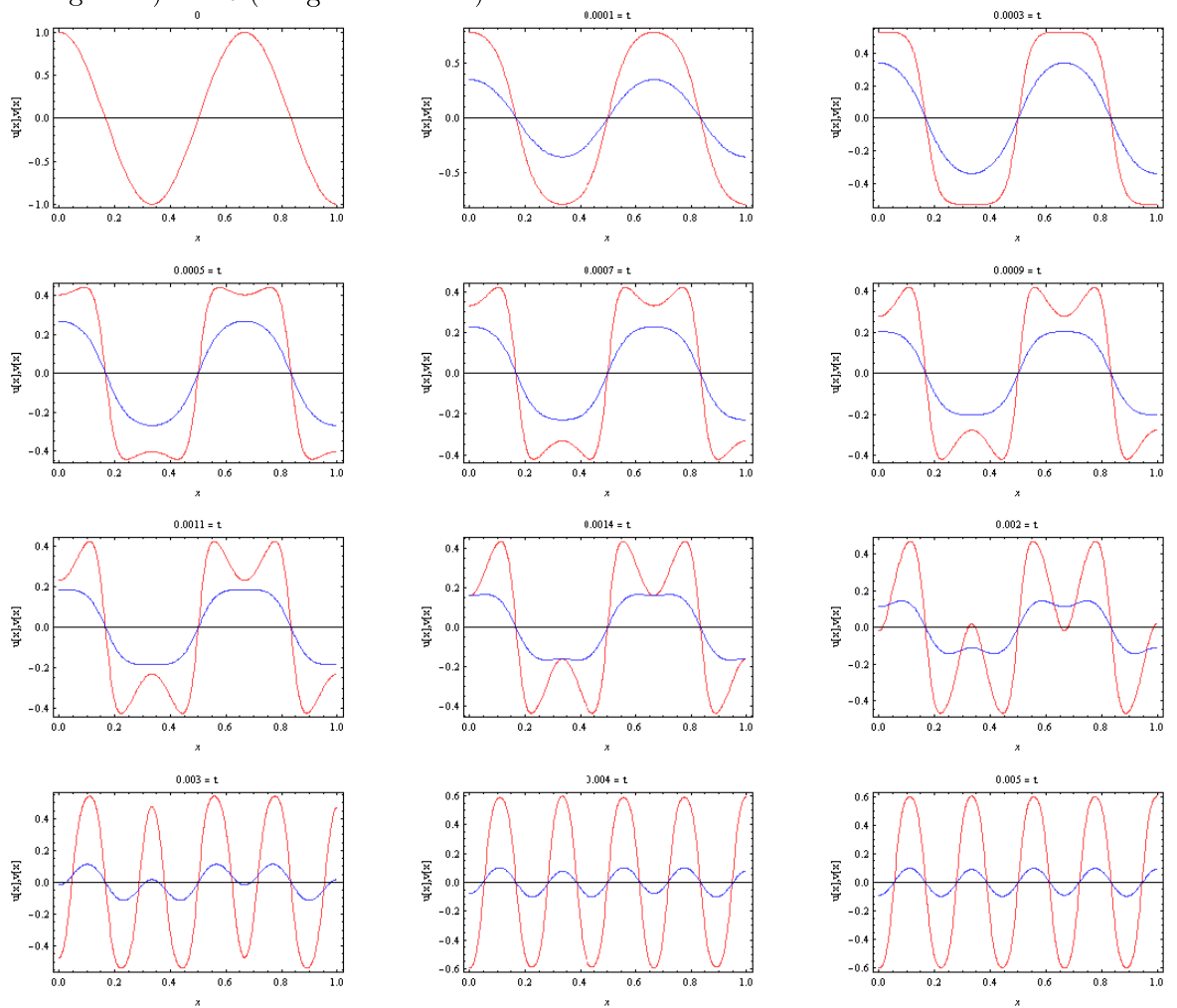
$$u_x(0, t) = u_x(1, t) = v_x(0, t) = v_x(1, t)$$

e come condizioni iniziali il punto di equilibrio $(0,0)$ perturbato tramite la funzione $\cos(3\pi x)$ cioè:

$$u(x, 0) = \cos(6\pi x), \quad v(x, 0) = 0.$$

I risultati ottenuti sono stati esattamente quelle che ci si aspetta: le concentrazioni u e v tendono a stabilizzarsi verso delle concentrazioni spaziali disomogenee.

Figura 1.3: Grafici delle concentrazioni di u e v al variare di x (all'interno dell' stesso grafico) e di t (tra grafici diversi).



Capitolo 2

Modello per la morfogenesi mesenchimale

Quello che viene presentato qui è un modello di meccanica dei continui applicato alla morfogenesi¹ delle cellule mesenchimali. Le cellule mesenchimali sono le cellule del mesoderma, uno dei tre foglietti embrionali; sono cellule pluripotenti² e dalla loro differenziazione derivano tutte le cellule del tessuto connettivo (ossa, sangue, cartilagine.....) che è formato oltre che da queste cellule anche da una matrice extracellulare (ECM)³. Durante i primi stadi dello sviluppo dell'embrione le cellule mesenchimali poggianti sull'ECM, tendono a distribuirsi in maniera disomogenea portando alla formazione di pattern. Lo studio della morfogenesi in questo caso corrisponde proprio allo studio di come si dispongono queste cellule e quindi di come formano dei pattern. Il modello che presentiamo qui fu sviluppato per la prima volta da Murray e Oster nel 1983 [5]. L'approccio che ebbero Murray e Oster per lo studio della formazione dei pattern di queste cellule si discosta da quello di Turing che fino a quel momento aveva dominato la scena dell'embriologia. Essi considerano, oltre all'aspetto chimico e diffusivo, anche il ruolo che giocano le forze meccaniche nella formazione dei pattern, aspetto che era stato per molti anni ignorato dagli embriologi nonostante fosse ovvio che la genetica e la chimica, aventi ruoli essenziali nell'embriologia, dovessero comunque

¹La morfogenesi di una popolazione di cellule corrisponde allo studio della loro distribuzione spaziale.

²Le cellule pluripotenti sono cellule staminali che possono dare origine a tutte le cellule dei tre foglietti embrionali ma non possono dare origine all'intero embrione.

³L'ECM è formata da un gel molto idratato (la sostanza amorfa) che ha la funzione di resistere alle compressioni e da una componente fibrillare deputata invece a resistere alle trazioni[17].

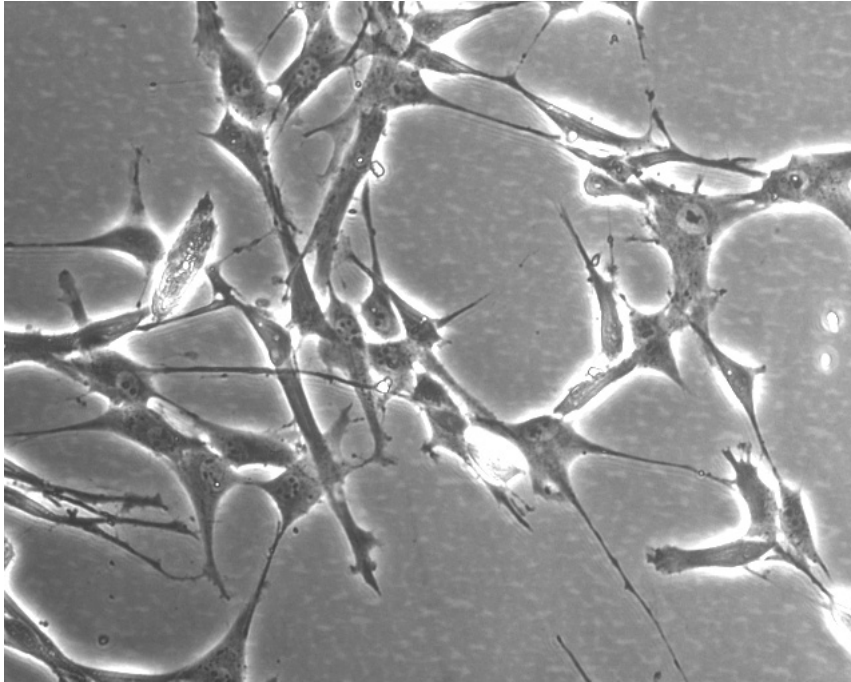


Figura 2.1: Cellule Mesenchimali su un substrato elastico; si vedono molto bene i folopodi che si diramano da centro del corpo cellulare

sottostare alle leggi della meccanica. Da un certo punto di vista partire dalle leggi chimico-fisiche può semplificare le cose: esse non sono così flessibili e limitano molto cosa è possibile fare. Un altro aspetto fondamentale di questo approccio, mancante nella teoria di Turing, è che i modelli che ne derivano sono formulati in termini di quantità misurabili quali la densità delle cellule, le forze, la deformazione del tessuto [9].

Grazie a due esperimenti in vivo all'inizio degli anni '80 si è capito che:

1. Le cellule mesenchimali migrano all'interno di un substrato costituito dalla matrice extracellulare (ECM) [10].
2. Le cellule mesenchimali sono in grado di generare forze di trazione di grandi intensità [11].

Le cellule mesenchimali quindi si muovono esercitando delle forze sull'ECM; esse hanno delle lunghe protuberanze, dette filopodi, che possono allungarsi in tutte le direzioni, far presa sul substrato sottostante e tirare. Oster [12] discute specificatamente i meccanismi alla base del movimento della singola cellula. Il movimento delle cellule mesenchimali deforma la matrice a causa

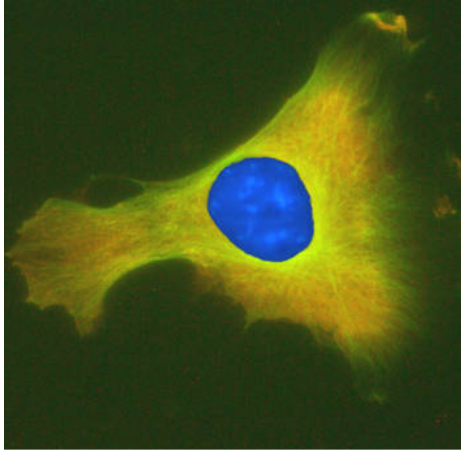


Figura 2.2: Cellula staminale mesenchimale al microscopia in fluorescenza

delle forze di trazione che producono i filopodi e la deformazione induce un effetto anisotropo che si ripercuote sul movimento cellulare

Alla base della costruzione di questo modello troviamo quindi l'interazione meccanica esistente tra il movimento delle cellule mesenchimali (mezzo granuloso) e l'ECM (mezzo continuo).

D'ora in poi il termine generico cellule starà ad indicare le cellule mesenchimali.

Il modello di Murray-Olster consiste di tre equazioni:

- l'equazione di continuità dell'ECM
- l'equazione di bilancio meccanico delle forze tra cellule ed ECM
- l'equazione di bilancio per la densità della popolazione cellulare

Per un richiamo delle leggi di conservazione e di bilancio si veda l'appendice.

La descrizione sarà fatta di tipo spaziale, euleriana.

2.1 Legge di conservazione della Matrice Extracellulare

Siano:

- ρ la densità dell'ECM,
- \mathbf{w} la velocità spaziale dell'ECM,

allora l'equazione di conservazione è:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{w}) = 0, \quad (2.1)$$

dove $\rho \mathbf{w}$ rappresenta il flusso convettivo.

Non è considerato il tasso di secrezione di materiale cellulare da parte delle cellule perché osservazioni sperimentali mostrano che durante la formazione dei pattern dei rivestimenti degli organi nei primi stadi dell'embrione la secrezione cellulare è approssimabile a zero [13].

2.2 Equazione di bilancio della densità cellulare

L'equazione di bilancio della densità cellulare è:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -\nabla \cdot (n\mathbf{e} + \mathbf{J}^{nc}) + M \quad (2.2)$$

dove sono indicate con:

- n la densità cellulare, funzione di spazio e tempo,
- \mathbf{e} la velocità spaziale delle cellule,
- \mathbf{J}^{nc} il flusso non convettivo delle cellule,
- M il tasso di proliferazione cellulare,

\mathbf{J}^{nc} è somma dei termini che rappresentano i flussi dei vari fattori, eccetto quello convettivo considerato a parte, che contribuiscono al movimento delle cellule mesenchimali. La costruzione del modello consiste principalmente nel determinare \mathbf{J}^{nc} ed M come funzioni di x, t, e ed n e delle loro derivate spaziali. Questo processo corrisponde a trovare le equazioni costitutive del modello.

2.2.1 Termine reattivo

I tipici modelli di crescita sono quello malthusiano e quello logistico cioè:

- (Crescita Malthusiana lineare) $M(n) = rn$
- (Crescita Logistica) $M(n) = rn(N - n)$

Ove r è il tasso di proliferazione iniziale ed N è la densità cellulare massima.

Nel modello di Murray-Oster il termine M è dovuto alla riproduzione cellulare tramite mitosi e la crescita è supposta di tipo logistico.

2.2.2 Flusso convettivo

È il fattore più importante che bisogna considerare perché corrisponde al trasporto fisico passivo delle cellule mesenchimali attraverso il substrato deformato, l'ECM.⁴ I movimenti “attivi” delle cellule sono molto lenti e piccoli cioè le cellule si muovono per lo più perché trasportate dall'ECM; si approssima quindi $\mathbf{e} \simeq \mathbf{w}$. Nella (2.2) il flusso convettivo $n\mathbf{e}$ viene sostituito da $n\mathbf{w}$.

2.2.3 Flusso non convettivo

I fattori che contribuiscono al movimento delle cellule mesenchimali, oltre alla convezione, sono moltissimi; Murray e Oster considerano però, per non rendere il modello troppo complicato, solo i due più importanti: la diffusione e l'apoptosi. \mathbf{J}^{nc} risulterà quindi la somma del flusso \mathbf{J}_D causato dalla diffusione e di quello \mathbf{J}_h causato dall'apoptosi, cioè: $\mathbf{J}^{nc} = \mathbf{J}_D + \mathbf{J}_h$. Vediamo in dettaglio, separatamente, i due fattori.

2.2.3.1 Diffusione

La diffusione corrisponde al movimento casuale delle cellule, cioè al fatto che le cellule tendono a disperdersi in maniera random; il fenomeno classico di diffusione si basa sull'idea che le particelle diffondono dalle zone a più alta concentrazione a quelle a più bassa concentrazione con flusso lineare

⁴Ricordiamo che l'ECM è la matrice extracellulare su cui poggiano le cellule mesenchimali

nella velocità. In generale bisognerebbe introdurre una matrice semidefinita positiva per cui $\mathbf{J}_D = -A\nabla n$ ma in questo modello si assume il fenomeno di diffusione isotropo per cui viene preso $A = D_1\mathbb{I}$ con $D_1 > 0$ costante.

Nel caso preso in considerazione però non si ha solo una diffusione di tipo classico perché i filopodi (i "tentacoli" con cui si aiutano a muovere le cellule mesenchimali) allungandosi possono sentire non solo la densità delle cellule vicine (componente a corto raggio) ma anche di quelle più lontane (componente a lungo raggio).

Il flusso diffusivo con questa nuova componente diventa:

$$\mathbf{J}_D = -D_1\nabla n + D_2\nabla(\Delta n), \quad (2.3)$$

con $D_1 > 0$ e $D_2 > 0$ costanti e $\Delta =$ laplaciano.

Vediamo come si può giustificare questa formula attraverso delle considerazioni energetiche seguendo [6, cap. 11] e [19].

Fissato t assumiamo che la densità di energia interna in un volume V sia funzione solo della densità di massa ed indichiamola con $E_V[n] = \int_V e(n)dx$, dove $e(n)$ corrisponde alla densità di energia interna per unità di volume. Inoltre ricordiamo che il potenziale chimico è la derivata variazionale dell'energia interna cioè:

$$\mu(n) = \frac{\delta E(n)}{\delta n},$$

e si calcola come:

$$\frac{d}{ds}E[n + hs]_{|s=0} = \frac{d}{ds} \left(\int_V e(n + hs)dx \right)_{|s=0} = \int_V e'(n)hdx = \int_V \frac{\delta E(n)}{\delta n} hdx,$$

dove $h : V \rightarrow \mathbb{R}$ t.c. $h = 0$ su ∂V . Quindi $\mu(n) = \frac{\delta E}{\delta n} = e'(n)$.

Il gradiente del potenziale chimico produce un flusso $\mathbf{J} = -k\nabla\mu(n)$, con k preso per semplicità costante.

Nella diffusione classica $e(n) = n^2/2$; infatti se calcolo il potenziale ottengo $\mu(n) = n$ e $\mathbf{J} = -k\nabla\mu(n) = -k\nabla n$ che è proprio la formula per la diffusione classica.

Nel modello però viene considerata anche la componente a lungo raggio e bisogna variare un po' la formula dell'energia. Prendiamo un funzionale energia più realistico, scelto inoltre in modo da essere invariante per riflessioni e rotazioni,

$$E_V[n] = \int_V \left(\frac{n^2}{2} + \frac{1}{2} \alpha \nabla n \cdot \nabla n \right) dx \quad (2.4)$$

Allora:

$$\begin{aligned} \frac{d}{ds} E_V [n + hs]_{|s=0} &= \frac{d}{ds} \int_V \left[\frac{(n + hs)^2}{2} + \frac{1}{2} \alpha (\nabla n + s \nabla h) \cdot (\nabla n + s \nabla h) \right]_{|s=0} dx \\ &= \int_V [nh + \alpha [\nabla n + s \nabla h) \cdot \nabla h]_{|s=0}] dx \\ &= \int_V [nh + \alpha \nabla n \cdot \nabla h] dx \\ &= \int_V \{nh + \alpha [\nabla \cdot (h \nabla n) - \nabla^2 nh]\} dx \end{aligned}$$

perché $\nabla n \cdot \nabla h = \sum_i \frac{\partial n}{\partial x_i} \frac{\partial h}{\partial x_i} = \sum_i \frac{\partial}{\partial x_i} \left(\frac{\partial n}{\partial x_i} h \right) - \frac{\partial^2 n}{\partial x_i^2} h$.

Ora applicando il teorema della divergenza e ricordando che $h = 0$ su ∂V ho che:

$$\int_V \nabla \cdot (h \nabla n) dx = \int_{\partial V} h \nabla n dx = 0$$

quindi:

$$\frac{d}{ds} E_V [n + hs]_{|s=0} = \int_V [nh - \alpha \Delta nh] dx$$

Il potenziale chimico è dunque:

$$\mu(n) = \frac{\delta E}{\delta n} = n - \alpha \Delta n.$$

In conclusione è:

$$\mathbf{J}_D = -k \nabla \mu(n) = -k \nabla (n - \alpha \Delta n) = -k \nabla n + \alpha k \nabla (\Delta n)$$

con α e k costanti positive.

2.2.3.2 Aptotassi

L'aptotassi corrisponde al movimento cellulare lungo il gradiente di siti di adesione presenti sull'ECM.

Sia ρ la densità dell'ECM; si pensi a ρ come "all'attrattore" delle cellule mesenchimali; la presenza di un gradiente sull'attrattore produce un movimento cellulare verso i punti a più alta concentrazione che corrispondono, nel caso

dell'aptotassi, ai siti di adesioni più forti[6, cap.11]. Il flusso, come nel caso della convezione, è anche proporzionale a n quindi del tipo:

$$\mathbf{J}_h = na\nabla\rho, \quad (2.5)$$

dove a è in generale funzione della densità dell'ECM; nel nostro caso la prendiamo costante.

Come nel caso della diffusione bisogna considerare anche la componente a lungo raggio; il procedimento è lo stesso di quello per la diffusione a lungo raggio e si arriva ad una formula del flusso per effetto dell'aptotassi del tipo:

$$\mathbf{J}_h = n[a_1\nabla\rho - a_2\nabla(\Delta\rho)] \quad (2.6)$$

con $a_1 > 0$ e $a_2 > 0$.

Quindi, per le formule (2.3) e (2.6), ho che:

$$\mathbf{J}^{nc} = -D_1\nabla n + D_2\nabla[\Delta n] + n[a_1\nabla\rho - a_2\nabla(\Delta\rho)] \quad (2.7)$$

2.2.4 Equazione di bilancio delle cellule mesenchimali

Applicando alla formula generale (2.2) la formula (2.7) e ricordando che:

- la crescita è stata supposta di tipo logistico,
- la velocità posizionale e delle cellula è stata posta uguale a quella w dell'ECM,

si ottiene l'equazione di bilancio delle cellule mesenchimali:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -\nabla \cdot (n\mathbf{w}) + \nabla \cdot [D_1\nabla n - D_2\nabla(\Delta n)] - \nabla \cdot n[a_1\nabla\rho - a_2\nabla(\Delta\rho)] + rn(N-n), \quad (2.8)$$

dove D_1 , D_2 , a_1 , a_2 , k ed N sono tutti parametri positivi.

2.3 Equazione di interazione meccanica tra cellule ed ECM

Nell'ambiente in studio le deformazioni meccaniche sono molto piccole. Appare ragionevole pensare di essere in un mezzo continuo, isotropo e viscoelastico. Inoltre si è visto sperimentalmente [14] che il movimento delle cellule embrionali è molto lento e gli spostamenti sono molto piccoli quindi possiamo trascurare gli effetti d'inerzia. L'equazione Indefinita del Continuo (anche detta eq. di Cauchy) [18] sarà:

$$\nabla \cdot \sigma + \rho \mathbf{F} = 0, \quad (2.9)$$

dove $\sigma(\mathbf{x}, t) = \sigma_{\text{ECM}}(\mathbf{x}, t) + \sigma_{\text{cell}}(\mathbf{x}, t)$ è il tensore degli sforzi ed \mathbf{F} è l'insieme delle forze esterne agenti sulla matrice.

La (2.9) dice che le forze di trazione generate dalle cellule sono in equilibrio meccanico con le forze elastiche generate dalla matrice e qualsiasi altra forza esterna presente.

Vediamo com'è la componente dell'ECM del tensore degli sforzi. L'espressione usuale per un fluido viscoelastico lineare [15] è:

$$\sigma_{\text{ECM}}(\mathbf{x}, t) = \sigma_{\text{ECMviscosa}}(\mathbf{x}, t) + \sigma_{\text{ECMelastica}}(\mathbf{x}, t) \quad (2.10)$$

$$\sigma_{\text{ECMviscosa}}(\mathbf{x}, t) = \mu_1 \frac{\partial \boldsymbol{\varepsilon}}{\partial t} + \mu_2 \frac{\partial (\nabla \cdot \mathbf{u})}{\partial t} \mathbb{I}$$

$$\sigma_{\text{ECMelastica}}(\mathbf{x}, t) = E'(\boldsymbol{\varepsilon} + \nu' (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbb{I})$$

dove :

- \mathbf{u} è il vettore spostamento dell'ECM in coordinate spaziali,⁵
- $\boldsymbol{\varepsilon} = \frac{1}{2} (\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T)$ è il tensore di deformazione elastica (la parte simmetrica del gradiente spaziale di spostamento)
- $\nabla \cdot \mathbf{u}$ è la dilatazione
- μ_1, μ_2 sono i cosiddetti coefficienti di viscosità shear e di viscosità bulk rispettivamente
- $E' = \frac{E}{1+\nu}$, $\nu' = \frac{\nu}{1-2\nu}$ con E modulo di Young (modulo di elasticità longitudinale) e ν rapporto di Poisson (coefficiente di contrazione trasversale), per noi entrambi costanti.

⁵in coordinate materiali il vettore spostamento è $\mathbf{u}(\mathbf{X}, t) = \mathbf{x}(\mathbf{X}, t) - \mathbf{X}$

Si noti che Murray e Oster hanno trascurato completamente, probabilmente perché ritenuti meno importanti, gli effetti a lungo raggio.

Passiamo ora alla componente del tensore degli sforzi dovuta alla trazione tra le cellule. L'inibizione da contatto cellula-cellula cresce con l'aumentare della densità cellulare; questo significa che la forza di trazione tra le cellule, $\tau(n)$, inizialmente cresce con n ma ad un certo punto può decrescere con n , per alti valori di n ; viene scelto:

$$\tau(n) = \frac{\tau n}{1 + \lambda n^2}, \quad (2.11)$$

dove τ è la misura della forza di trazione esercitata da una singola cellula e λ è la misura di come si riduce la forza per la presenza di cellule vicine. È ragionevole supporre che i filopodi, con cui ricordiamo le cellule si attaccano alla matrice, si estendano oltre alle cellule immediatamente vicine; è quindi importante in questo caso considerare anche la componente a lungo raggio in modo analogo a come fatto per la diffusione.

Sia $\gamma > 0$ la misura della componente di interazione cellule-ECM a lungo raggio, non locale, allora:

$$\sigma_{cell}(\mathbf{x}, t) = \frac{\tau n}{1 + \lambda n^2}(\rho + \gamma \Delta \rho) \mathbb{I} \quad (2.12)$$

Infine prendiamo

$$\mathbf{F} = -s\mathbf{u} \quad (2.13)$$

dove $s > 0$ è il coefficiente di elasticità dell'ECM.

Dalle (2.9), (2.10), (2.12) e (2.13) l'equazione di interazione meccanica tra cellule ed ECM è:

$$\nabla \cdot [\mu_1 \boldsymbol{\varepsilon}_t + \mu_2 (\nabla \cdot \mathbf{u}_t) \mathbb{I} + \mathbf{E}'(\boldsymbol{\varepsilon} + \nu' (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbb{I}) + \frac{\tau n}{1 + \lambda n^2}(\rho + \gamma \Delta \rho) \mathbb{I}] - s\rho \mathbf{u} = 0 \quad (2.14)$$

dove con $\boldsymbol{\varepsilon}_t$ si sta indicando la derivata parziale temporale di $\boldsymbol{\varepsilon}$.

2.4 Modello meccanico per la morfogenesi mesenchimale

Osserviamo che la derivata temporale del vettore spostamento dell'ECM in forma spaziale è uguale alla velocità spaziale dell'ECM e cioè che:

$$\frac{\partial \mathbf{u}(\mathbf{x}, t)}{\partial t} = \mathbf{w}(\mathbf{x}, t).$$

Tenendo conto di questa importante osservazione il modello formato dalle equazioni (2.8), (2.14) e (2.1) nelle variabili n , ρ , \mathbf{u} è:

$$\begin{cases} n_t + \nabla \cdot (n\mathbf{u}_t) - \nabla \cdot [D_1 \nabla n - D_2 \nabla (\Delta n)] + \nabla \cdot n[a_1 \nabla \rho - a_2 \nabla (\Delta \rho)] - rn(N - n) = 0 \\ \nabla \cdot [\mu_1 \boldsymbol{\varepsilon}_t + \nabla \cdot (\mu_2 \mathbf{u}_t) \mathbb{I} + \mathbf{E}'(\boldsymbol{\varepsilon} + \nabla \cdot (\nu' \mathbf{u}) \mathbb{I}) + \frac{\tau n}{1 + \lambda n^2} (\rho + \gamma \Delta \rho) \mathbb{I}] - s\rho \mathbf{u} = 0 \\ \rho_t + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}_t) = 0 \end{cases} \quad (2.15)$$

Capitolo 3

Analisi lineare del modello per la morfogenesi mesenchimale

3.1 Adimensionalizzazione delle equazioni

L'adimensionalizzazione delle equazioni serve a ridurre il numero di parametri, in questo caso da 14 a 12.

Siano: T il tempo caratteristico, L la lunghezza caratteristica e ρ_0 la densità iniziale della matrice.

Poniamo:

$$\begin{aligned} \mathbf{x}^* &= \frac{\mathbf{x}}{L}, & t^* &= \frac{t}{T_0}, & n^* &= \frac{n}{N}, & \mathbf{u}^* &= \frac{\mathbf{u}}{L}, \\ \theta^* &= \theta, & \nabla^* &= L\nabla, & \boldsymbol{\varepsilon}^* &= \boldsymbol{\varepsilon}, & \rho^* &= \frac{\rho}{\rho_0}, \\ \gamma^* &= \frac{\gamma}{L^2}, & s^* &= \frac{s\rho_0 L^2(1+\nu)}{E}, & \mu_1^* &= \frac{\mu_1(1+\nu)}{T_0 E}, & \mu_2^* &= \frac{\mu_2(1+\nu)}{T_0 E}, \\ r^* &= rNT_0, & \tau^* &= \frac{\tau\rho_0 N(1+\nu)}{E}, & D_1^* &= \frac{D_1 T_0}{L^2}, & D_2^* &= \frac{D_2 T_0}{L^4}, \\ & & \lambda^* &= \lambda N^2, & a_1^* &= \frac{a_1 \rho_0 T_0}{L^2}, & a_2^* &= \frac{a_2 \rho_0 T_0}{L^4}, \end{aligned}$$

Il sistema diventa (omettendo gli asterischi):

$$\begin{cases} n_t + \nabla \cdot (n\mathbf{u}_t) - D_1 \Delta n + D_2 \Delta^2 n + \nabla \cdot n[a_1 \nabla \rho - a_2 \nabla (\Delta \rho)] - rn(1-n) = 0 \\ \nabla \cdot [(\mu_1 \boldsymbol{\varepsilon}_t + \nabla \cdot (\mu_2 \mathbf{u}_t) \mathbb{I}) + (\boldsymbol{\varepsilon} + \nabla \cdot (\nu \mathbf{u}) I) + \frac{\tau n}{1+\lambda n^2} (\rho + \gamma \Delta \rho) \mathbb{I}] - s\rho \mathbf{u} = 0 \\ \rho_t + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}_t) = 0 \end{cases} \quad (3.1)$$

Si noti che sono “scomparsi” i parametri N (densità cellulare massima) ed E (modulo di elasticità longitudinale).

Murray specifica molto chiaramente [7, cap6] che lo studio di questo modello è molto simile allo studio del modello di Turing accennato nel primo capitolo. Si procede nello stesso modo : si linearizza il sistema attorno ad una soluzione stazionaria, si usa la serie di Fourier per trovare la forma della soluzione e si studia la relazione di dispersione.

Lo studio degli equilibri con $\rho = 0$ (= assenza della matrice) non è rilevante dal punto di vista biologico.

Una soluzione stazionaria del sistema (3.1) è: $\rho = n = 1, \mathbf{u} = 0$.

Linearizziamo attorno a questo equilibrio il sistema adimensionalizzato ponendo $n = 1 + n', \rho = 1 + \rho'$ ed $u = u'$ dove $|n'|, |\rho'|$ e $|u'|$ sono arbitrariamente piccoli.

Si ottiene:

$$\begin{cases} n_t + \nabla \cdot \mathbf{u}_t - D_1 \Delta n + D_2 \Delta^2 n + a_1 \Delta \rho - a_2 \Delta^2 \rho + rn = 0 \\ \nabla \cdot [(\mu_1 \boldsymbol{\varepsilon}_t + \nabla \cdot (\mu_2 \mathbf{u}_t) \mathbb{I}) + (\boldsymbol{\varepsilon} + \nabla \cdot (\nu' \mathbf{u}_t) \mathbb{I}) + (\tau_2 n + \tau_1 \rho + \gamma \Delta \rho) \mathbb{I}] - s\mathbf{u} = 0 \\ \rho_t + \nabla \cdot \mathbf{u}_t = 0 \end{cases} \quad (3.2)$$

dove $\tau_1 = \tau \frac{1}{1+\lambda}$ e $\tau_2 = \tau \frac{1-\lambda}{(1+\lambda)^2}$. Si noti che $\tau_1 > 0$ per ogni $\lambda \geq 0$; ¹ mentre $\tau_2 < 0$ se $\lambda > 1$; infine si ricordi che tutti gli altri parametri sono positivi.

Cerchiamo una soluzione della forma $\exp[\sigma(k)t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}]$, dove \mathbf{k} è il vettore d'onda e σ è l'autovalore che determina la crescita temporale[20].

Sostituendo nel sistema lineare:

$$\begin{pmatrix} n \\ \rho \\ \mathbf{u} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_n \exp[\sigma t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}] \\ \alpha_\rho \exp[\sigma t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}] \\ \alpha_{\mathbf{u}} \exp[\sigma t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}] \end{pmatrix}$$

con $\alpha_n, \alpha_\rho, \alpha_{\mathbf{u}}$ costanti arbitrarie, e facendo le opportune semplificazioni² si arriva ad ottenere che la funzione $\exp[\sigma(k)t + i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x}]$ risolve la (3.2) se e solo se:

$$k^2 \mu \sigma^2 (k^2) + b (k^2) \sigma (k^2) + c (k^2) = 0 \quad (3.3)$$

ove:

¹Si ricordi che λ è la misura di inibizione da contatto cellula-cellula

²Conviene usare ad esempio Mathematica per risolvere questo problema algebrico vista la quantità di parametri presenti.

$$\begin{aligned}
b(k^2) &= (\mu D_2) k^6 + (\gamma \tau_1 + D_1 \mu) k^4 + (1 + r\mu - \tau_1 - \tau_2) k^2 + s \\
c(k^2) &= (\gamma \tau_1 D_2) k^8 + (D_1 \gamma \tau_1 - \tau_2 D_2 + D_2 - a_2 \tau_1) k^6 + \\
&\quad + (\gamma \tau_1 r + D_1 + s D_2 - D_1 \tau_1 - a_1 \tau_2) k^4 + \\
&\quad + (D_1 s + r - r \tau_1) k^2 + r s
\end{aligned}$$

$$\mu = \frac{\mu_1 + \mu_2}{1 + \nu'}, \quad \tau = \frac{\tau}{1 + \nu'}, \quad s = \frac{s}{1 + \nu'} \quad \text{e} \quad k^2 = |\mathbf{k}|^2.$$

La soluzione di (3.3) con il più grande $\text{Re } \sigma(k^2) > 0$ è la relazione di dispersione che andremo ad analizzare:

$$\sigma(k^2) = \frac{-b(k^2) + \sqrt{b^2(k^2) - 4\mu k^2 c(k^2)}}{2\mu k^2} \quad (3.4)$$

Ora ricordando lo studio sopra fatto del modello di Turing avremo che la soluzione del sistema non linearizzato potrà essere un pattern se (condizione necessaria ma non sufficiente) la soluzione del sistema linearizzato sarà t.c. $\text{Re } \sigma(0) \leq 0$ e $\text{Re } \sigma(k^2) > 0$ con $k^2 \neq 0$. Quindi nel caso in considerazione, dalla (3.3): $b(0) = s$, $c(0) = rs$ e $\sigma = \sigma(0) = -\frac{c(0)}{b(0)} < 0$ ed ora bisogna cercare le condizioni per cui $\text{Re } \sigma(k^2) > 0$ per almeno un $k^2 \neq 0$.

Sempre dalla (3.3):

$$\text{Re } \sigma(k^2) > 0 \Leftrightarrow b(k^2) < 0 \quad \vee \quad c(k^2) < 0.$$

Il fatto che tutti i parametri siano stati presi maggiori o uguali a zero implica che se $\tau = 0$ allora $b(k^2) \geq 0$ e $c(k^2) \geq 0$; quindi una condizione necessaria per l'esistenza di soluzioni spazialmente eterogenee è che la forza di trazione tra le cellule τ sia strettamente positiva.

Vediamo qualitativamente come si ipotizzi funzioni il processo di formazione di pattern.

Fissati tutti gli altri parametri, esiste un valore critico τ_c t.c. per ogni $\tau < \tau_c$ ho che $b(k^2)$ e $c(k^2)$ rimangono positivi, cioè la soluzione rimane stabile e non ci saranno eterogeneità nella densità cellulare. Quando $\tau > \tau_c$ la soluzione stazionaria del sistema linearizzato diventa instabile; ma mano che τ cresce, il pattern che si formerà sarà sempre più complesso. Guardando le espressioni di $b(k^2)$ e $c(k^2)$ si possono fare delle considerazioni anche sugli altri parametri; ad esempio il coefficiente di elasticità s e la misura della componente di interazione cellule-ECM a lungo raggio γ tendono a stabilizzare il sistema mentre l'aptotassi a lungo raggio, tramite a_2 è sempre destabilizzante; nei casi in cui i parametri sono combinati l'analisi degli effetti diventa molto più complicata e qui non sarà trattata.

3.1.1 Caso particolare unidimensionale

Vediamo un caso particolare in mancanza di aptotassi e di tutte le componenti a lungo raggio ($D_2 = a_1 = a_2 = \gamma = 0$)[21].

Dalla (3.2), il modello unidimensionale linearizzato attorno a punto stazionario $\rho = n = 1$, $u = 0$ è:

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} n + \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} u - D_1 \frac{\partial^2}{\partial x^2} n + r n = 0 \\ \mu \frac{\partial^3}{\partial t \partial x^2} u + \frac{\partial^2}{\partial x^2} u + \frac{\partial}{\partial x} (\tau_1 \rho + \tau_2 n) - s u = 0 \\ \frac{\partial}{\partial t} \rho + \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} u = 0 \end{cases} \quad (3.5)$$

e la relazione di dispersione è data dal polinomio:

$$k^2 \mu \sigma^2(k) + b(k) \sigma(k) + c(k) = 0 \quad (3.6)$$

$$\begin{aligned} b(k^2) &= (D_1 \mu) k^4 + (1 + r \mu - \tau_1 - \tau_2) k^2 + s \\ c(k^2) &= (D_1 - D_1 \tau_1) k^4 + (D_1 s + r - r \tau_1) k^2 + r s \end{aligned}$$

Si osservi che $c(k^2) = (D_1 k^2 + r) [(1 - \tau_1) k^2 + s]$. Ricordiamo che cerchiamo k^2 e τ che rendano $b(k^2)$ o $c(k^2)$ positivi.

Questo aiuta a vedere che per $(1 - \tau_1) > 0$ il sistema perde stabilità al numero d'onda critico k_c ed al parametro di biforcazione τ_c dove:

$$k_c^2 = \sqrt{\frac{s}{D_1 \mu}} \quad \text{e} \quad \tau_c = \left(\frac{r \mu + 1}{2} \pm \sqrt{(\mu D_1 s)} \right) (1 + \lambda^2); \quad (3.7)$$

inoltre devono essere soddisfatte le disequazioni:

$$s - \frac{(\tau_1 + \tau_2 - 1 - r \mu)^2}{4 D_1 \mu} < 0, \quad \frac{(r \mu + 1)(1 + \lambda)^2}{2} < \tau < (1 + \lambda).$$

Se aggiungiamo delle condizioni al contorno k_c dovrà essere discreto e prenderà la forma del tipo $k_c^2 = \sqrt{\frac{s}{D_1 \mu}} = n \pi$ con $n \in \mathbb{N}$. Infine fissati tutti i parametri in maniera adeguata (in modo che $\frac{1}{\pi} \sqrt{\frac{s}{D_1 \mu}} \in \mathbb{N}$), a parte quello di biforcazione, la (3.7) da i valori di τ_c e i valori di n che portano ad un sistema instabile [20].

Si può osservare che sostituendo k_c^2 e τ_c nella relazione di dispersione si vede che $b(k_c^2) = 0$ e $\sigma(k^2) = \frac{\sqrt{-4 \mu k^2 c(k^2)}}{2 \mu k^2}$ è puramente immaginario se $c(k^2) > 0$.

Quindi quando $\tau > \tau_c$ ho che $\sigma(k^2)$ è un numero complesso con parte reale positiva. Si è quindi in presenza di una biforcazione di Hopf e questo porta attraverso un teorema di biforcazioni per le equazioni alle derivate parziali a poter dimostrare che il sistema da soluzione spazialmente in omogenee. L'argomento però non è stato trattato, se si è interessati ad un approfondimento si veda [22].

Capitolo 4

Conclusioni

Le possibilità applicative, considerate da Murray di questo modello meccanico sono tantissime. Come accennato all'inizio della descrizione del modello meccanico, le cellule mesenchimali sono le genitrici di tutte le cellule del tessuto connettivo; è quindi facile immaginarsi che ci sia una stretta correlazione tra le distribuzioni spaziali delle cellule mesenchimali e di quelle dei tessuti connettivi. Variando leggermente questo primo modello meccanico Murray ne ha costruiti altri da applicare alle cellule della cartilagine e delle ossa soprattutto per lo studio delle ricostruzioni dopo gravi ferite e delle malformazioni embrionali[7, 23]; sempre attraverso un altro modello simile cercò poi di spiegare come l'epidermide potesse essere in relazione con il tessuto connettivo sottostante.

Un problema che ho riscontrato nelle ricerche fatte in questi mesi sul modello meccanico di Murray e Oster è che la maggior parte del materiale trovato è molto datato; la domanda che mi sono posta è se questo sia dovuto alla scoperta di modelli più accurati e più efficienti oppure è ad una radicalizzazione delle basi da lui poste ed ad una evoluzione di esse. La risposta, secondo la mia opinione, è venuta dopo avere studiato attentamente il modello di Turing. Ritengo che l'importanza del modello di Murray stia nell'accuratezza dello studio della situazione biologica in cui si è immersi; cioè nello studio delle relazioni costitutive del problema che si sta studiando e queste si basano principalmente sulle conoscenze chimico-fisico-biologiche del problema specifico. Si può dire quindi che quello che fece Murray fu uno studio accurato dei processi biologici sperimentali e la successiva trasformazione di essi in formule matematiche; la sua scoperta forse può ritrovarsi nella scelta del metodo della ricerca delle relazioni costitutive ma non di certo in una scoperta matematica; egli non fece altro che applicare, in questo ambito particolare, tutta una serie di leggi già scoperte in precedenza. Quello che fece

Turing fu molto diverso: l'instabilità di Turing fu un'intuizione eccezionale e questa idea mise le basi per lo studio di tutti i sistemi di reazione-diffusione, o meglio, per lo studio della formazione di pattern spaziali; lo stesso Murray per studiare il suo modello molto più complesso ha applicato esattamente lo stesso tipo di analisi usata da Turing. Turing diede un metodo per la ricerca di soluzioni spazialmente eterogenee.

Quello che manca totalmente in questa tesi e quello che ho capito essere il punto fondamentale nello studio di sistemi non lineari in genere è l'analisi numerica. Tanto più un modello vuole rispecchiare un processo reale tanto più sarà complesso e tanto più il suo studio analitico sarà difficile; al contrario invece la ricerca di leggi più generali porta all'allontanamento dalla realtà ed ad una estrazione verso situazioni ideali. L'analisi numerica, soprattutto grazie all'evoluzione informatica degli ultimi anni, permette di analizzare processi che analiticamente non avrebbero soluzioni.

Appendice

Richiamo sulle leggi di Conservazione e di Bilancio

Data \mathcal{O} parte di Ω , configurazione di riferimento, e detta $n^*(X)$ la densità di massa (quindi la massa $m(\mathcal{O}) = \int_{\mathcal{O}} n^* d_X v$) postuliamo che la massa sia costante nel tempo questo implica, per il principio di conservazione della massa, che¹:

$$\left\{ m(\mathcal{O}_t) = \int_{\mathcal{O}_t} n d_x v = \int_{\mathcal{O}} n_m \det F d_X v \equiv \int_{\mathcal{O}} n^* d_X v, \quad \forall \mathcal{O} \subset \Omega, \forall t \in [0, T] \right.$$

Da cui supponendo continue le funzioni integrande ed applicando prima il Teorema del trasporto e poi il Teorema di Localizzazione si ottiene **la legge di conservazione della massa in forma spaziale** (detta anche equazione di continuità):

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -\nabla \cdot (ne) \quad (1)$$

(dove con e si indica la velocità spaziale) [18].

Osserviamo poi che se \mathcal{R} è una regione regolare limitata di \mathbb{R}^3 t.c. $\mathcal{R} \times [0, \delta) \subset \Gamma$ per qualche $\delta > 0$ ove Γ è la traiettoria spazio-temporale, integrando su \mathcal{R} l'equazione (1) ed applicando il teorema di divergenza si ottiene che:

$$\int_{\mathcal{R}} [n' + \nabla \cdot (ne)] d_x v = \int_{\mathcal{R}} n' d_x v + \int_{\partial \mathcal{R}} ne \cdot n d_x \sigma = 0$$

ed essendo \mathcal{R} indipendente da t ho che:

$$\frac{d}{dt} \int_{\mathcal{R}} n(x, t) d_x v = - \int_{\partial \mathcal{R}} ne \cdot n d_x \sigma,$$

¹Data la deformazione $x : \Omega \subset \mathbb{R}^3 \rightarrow \mathbb{R}^3$, $X \in \Omega$, con $F(X)$ indichiamo la sua matrice Jacobiana e definiamo $\mathcal{O}_t = x(\mathcal{O}, t)$ l'immagine della parte \mathcal{O} lungo il moto $x(X, t)$.

(dove n è il vettore normale ad ne ed \mathcal{R} viene detto *volume di controllo*).

La **legge di bilancio** considera la possibilità di creazione o distruzione di materiale all'interno della regione \mathcal{O} ; Il valore complessivo della massa racchiusa in \mathcal{O}_t può variare per produzione o distruzione interna oppure per l'apporto attraverso la frontiera $\partial\mathcal{O}$. Per il primo caso aggiungiamo alla legge di conservazione un termine scalare di produzione $M(x, t)$, il secondo fenomeno invece può essere descritto dal flusso di un campo vettoriale J^{nc} detto flusso non convettivo, quindi:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \int_{\mathcal{O}_t} n(x, t) d_x v &= \int_{\mathcal{O}_t} [n' + \nabla \cdot (ne)] d_x v = \int_{\mathcal{O}_t} n' d_x v + \int_{\partial\mathcal{O}_t} ne \cdot nd_x \sigma = \\ &= - \int_{\partial\mathcal{O}_t} J^{nc} \cdot nd_x \sigma + \int_{\mathcal{O}_t} M(x, t) d_x v \end{aligned}$$

ed in forma puntuale:

$$\frac{\partial}{\partial t} n(x, t) = -\nabla \cdot (ne + J^{nc}) + M(x, t). \quad (2)$$

Ringraziamenti

Ringrazio i Professori Francesco Fassò e Marco Favretti per i consigli, la pazienza e la disponibilità che hanno dimostrato nei miei confronti.

Ringrazio i miei genitori per la fiducia, gli incoraggiamenti ed il sostegno morale ed economico senza cui non sarei qui.

Ringrazio tutti i compagni di Facoltà per avere reso piacevole ogni giornata passata qui.

Infine ringrazio chi ha sopportato tutte le mie lagne, mi ha saputo ascoltare, mi ha fatto ridere e piangere, ha condiviso un pezzo di strada con me e spero potrà dividerne molte altre.

Bibliografia

- [1] Salsa, Sandro. *Equazioni a derivate parziali. Metodi, modelli e applicazioni* 2nd ed. (Italian) La Matematica per il 3+2; Unitext. Milano: Springer
- [2] A.M. Turing. *The chemical basis of morphogenesis*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 237:37–72, 1952.
- [3] L. Wolpert. *Positional information and pattern formation*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 295:441–450, 1981.
- [4] F. Lara-Ochoa and J.D.Murray. *A nonlinear analysis for spatial structure in a reaction-diffusion model*. Bull. Math. Biol., 45:917–930, 1983.
- [5] J.D. Murray, G.F. Oster, and A.K.Harris, *A mechanical model for Mesenchymal Morphogenesis*, J. Math. Biol., 17:125–129, 1983
- [6] J.D.Murray, *Mathematical Biology I: An Introduction*, Springer, 2002.
- [7] J.D.Murray, *Mathematical Biology II: Spatial Models and Biomedical Applications*, Springer, 2003.
- [8] J. Schnackenberg. *Simple chemical reaction systems with limit cycle behaviour*. J. Theor. Biol., 81:389–400, 1979.
- [9] V.Comincioli, *Biomatematica: Interazione fra le scienze della vita e la matematica*, Università degli studi di Pavia, 2003.
- [10] E. Hay. *Cell Biology of the Extracellular Matrix*. Plenum, New York, 1981.
- [11] L.G. Harrison, J. Snell, R. Verdi, D.E. Vogt, G.D. Zeiss, and B.D. Green. *Hair morphogenesis in Acetabularia mediterranea: temperature-dependent spacing and models of morphogen waves*. Protoplasma, 106:211–221, 1981.

- [12] G.F. Oster. *On the crawling of cells*. J. Embryol. Exp. Morphol., 83:329–364, 1984.
- [13] J. Hinchliffe and D. Johnson. *The Development of the Vertebrate Limb*. Clarendon, Oxford, 1980
- [14] E. Purcell. *Life at low Reynolds number*. Amer. J. Phys., 45:1–11, 1977.
- [15] L. Landau and E. Lifshitz. *Theory of Elasticity*. Pergamon, New York, second edition, 1970.
- [16] S.F. Gilbert, *Biologia dell sviluppo*,
- [17] C. Calloni, *Istologia*, Giunti, 2007
- [18] M. Favretti, *Note di meccanica dei continui e termodinamica statistica*, 200
- [19] Morton E. Gurtin, *Generalized Ginzburg-Landau and Cahn-Hilliard equations based on a microforce balance*, Physica D 92 (1996) 178-192
- [20] A.S. Perelson, P.K. Maini, J.D. Murray, J.M. Hyman, and G.F. Oster. *Nonlinear pattern selection in a mechanical model for morphogenesis*, J. Math. Biol., 24:525–541, 1986.
- [21] Ngwa GA, Maini PK, *Spatio-temporal patterns in a mechanical model for mesenchymal morphogenesis*. *Journal of Mathematical Biology*, 33 (5). pp. 489-520., 1995.
- [22] Hassard, B. D., Kazarinoff, N. D. and Wan, Y. -H.: *Theory and Application of Hopf Bifurcation*, volume 41. Cambridge University Press (1981). Lond. Math. Soc. Lecture Notes
- [23] J. D. Murray, P. K. Maini, R. T. Tranquillo. *Mechanochemical models for generating biological pattern and form in development*, Physics Reports Volume 171, Issue 2, December 1988, Pages 59-84