

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI
Corso di Laurea in Matematica

**DINAMICA NEL CHEMOSTATO
E MODELLI CORRELATI**

Tesi di Laurea in Biomatemática

Relatore:
Chiar.ma Prof.ssa
Carla Vettori

Presentata da:
Cristina Treré

Prima Sessione
Anno Accademico 2010-2011

Indice

Introduzione	iii
1 Modelli di crescita	1
1.1 Modelli di crescita di microorganismi	1
1.2 Crescita batterica in un chemostato	4
1.2.1 Formulazione di un modello matematico	5
1.2.2 Modellizzazione della velocità di accrescimento	8
1.2.3 Analisi dimensionale delle equazioni	9
1.2.4 Analisi qualitativa	11
1.2.5 Simulazioni numeriche	15
2 Modelli correlati al chemostato	21
2.1 Introduzione	21
2.2 Chemioterapia	22
2.3 Diabete mellito	24
2.4 Analisi a compartimenti	25
Bibliografia	31

Introduzione

Un modello matematico, usando la definizione di E. Malinvaud, è la rappresentazione formale di idee o conoscenze relative ad un fenomeno, descritta attraverso un linguaggio matematico. La costruzione di modelli è una parte essenziale dell'interazione della matematica con il mondo ed è una tecnica impiegata in molti settori non solo prettamente scientifici.

In questa trattazione ci occuperemo della modellizzazione della dinamica di alcuni sistemi biologici, la cui evidente complessità ha portato all'introduzione di modelli con un numero ridotto di variabili, necessari per semplificare i problemi e studiare i comportamenti. In particolare, partendo dai modelli di crescita di microorganismi unicellulari come i batteri, analizziamo la crescita batterica in un chemostato: un ambiente chimico utilizzato in laboratorio per mantenere una coltura ad un livello tale da permettere un opportuno costante prelievo. Infine trattiamo alcuni modelli dell'ambito medico correlati a quello del chemostato.

Capitolo 1

Modelli di crescita

1.1 Modelli di crescita di microorganismi

Uno degli esperimenti più semplici in microbiologia consiste nel studiare la crescita di microorganismi unicellulari, come i batteri, che si riproducono attraverso un tipo di riproduzione asessuata detta fissione binaria per cui una singola cellula si divide in due cellule figlie del tutto simili alla cellula generatrice. Lo scopo dell'esperimento è quello di predire la grandezza di una popolazione costituita dallo stesso tipo di cellule e coltivate nelle medesime condizioni, dato il numero iniziale delle cellule. Per fare ciò è necessario definire un modello matematico che mimì il cambiamento in grandezza di una popolazione reale di cellule, ottenendo una formula quantitativa.

Nel modello che esponiamo vengono modellizzati solo i processi di vita e di morte. Si suppone, inoltre, che la coltura sia mantenuta in condizioni compatibili con la crescita, come per esempio una temperatura adatta e una disponibilità di mezzo nutritivo illimitata, e che sia sempre mantenuta in uno stato di "agitazione", ossia la soluzione nutrizionale è mantenuta omogenea spazialmente. La popolazione "reale" è sostituita da una popolazione di cellule identiche "ideali" cioè tali che, su un intervallo di tempo sufficientemente piccolo, ogni cellula "ideale" riproduca una frazione costante di se stessa per unità di tempo e simultaneamente, un'altra frazione costante di ogni cellula venga distrutta per unità di tempo. Questo, ovviamente, si discosta dalla

realtà in cui il valore della popolazione può assumere solo quantità intere non negative. Tuttavia, il modello può essere considerato ugualmente attendibile.

Introduciamo le seguenti notazioni:

- $t \in [0, \infty)$ una variabile continua che indica il tempo
- $N(t)$ la grandezza della popolazione al tempo t
- β la frazione di cellula prodotta da ciascuna cellula per unità di tempo
- δ la frazione di cellula distrutta per unità di tempo

Per scrivere l'equazione di bilancio fra una generazione e la successiva, è opportuno descrivere cosa accade in un intervallo di tempo Δt . L'aumento della popolazione è dato da

$$\beta N \Delta t + O(\Delta t)$$

ove $O(\Delta t)$ è una funzione di Δt tale che

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{O(\Delta t)}{\Delta t} = 0$$

Analogamente, la diminuzione della popolazione è data da

$$-\delta N \Delta t + O(\Delta t)$$

Pertanto, il cambiamento totale della popolazione nell'intervallo $(t, t + \Delta t)$ è dato da

$$N(t + \Delta t) - N(t) = (\beta - \delta)N \Delta t + O(\Delta t)$$

Dividendo ambo i membri per Δt si ha

$$\frac{N(t + \Delta t) - N(t)}{\Delta t} = \frac{(\beta - \delta)N \Delta t + O(\Delta t)}{\Delta t} \quad (1.1)$$

Passando al limite per $\Delta t \rightarrow 0$, l'equazione (1.1) è approssimata dalla seguente equazione differenziale ordinaria che rappresenta il modello matematico

$$\frac{dN}{dt} = (\beta - \delta)N \quad (1.2)$$

Si noti che il modello contiene due parametri β e δ , tuttavia, essi possono essere condensati in un unico parametro

$$K = \beta - \delta = \frac{1}{N} \frac{dN}{dt}$$

detto velocità di accrescimento relativo per unità di tempo.

Pertanto, con questa sostituzione, il modello (1.2) è riscritto come segue

$$\frac{dN}{dt} = KN$$

Questa equazione rappresenta il modello matematico ben noto con il nome di Modello di Malthus. Essa si può risolvere, in modo molto semplice, utilizzando il metodo di separazione delle variabili. Moltiplicando ambo i membri per $\frac{dt}{N}$ otteniamo

$$\frac{dN}{N} = K dt$$

e integrando si ha

$$\int_0^t \frac{dN}{N} = \int_0^t K dt \Rightarrow \ln \frac{N(t)}{N(0)} = Kt$$

da cui

$$N(t) = N(0)e^{Kt}$$

dove $N(0)$ rappresenta la densità di individui nella popolazione all'istante iniziale $t = 0$.

Si evince facilmente il motivo per cui, per le popolazioni che obbediscono a questa legge, si parli di crescita o decrescita esponenziale a seconda che la velocità di accrescimento sia rispettivamente positiva o negativa. E' ovvio che nella realtà una popolazione non aumenta indefinitamente¹ come previsto dal modello di Malthus, a causa di circostanze più disparate quali per esempio

¹*The mathematics of uncontrolled growth are frightening. A single cell of the bacterium E.coli would, under ideal circumstances, divide every twenty minutes. That is not particularly disturbing until you think about it, but the fact is that bacteria multiply geometrically: one becomes two, two becomes four, four becomes eight, and so on. In this way, it can be shown that in a single day, one cell of E.coli could produce a super-colony equal in size and weight to the entire planet earth*

M. Crichton (1969), *The Andromeda Strain* (Dell, New York, p.247)

carezza di nutrimento, spazio o competizioni tra gli stessi individui o con altre popolazioni. Essendo un modello di crescita con risorse illimitate è da considerare valido fino quando la popolazione non è troppo grande.

1.2 Crescita batterica in un chemostato

Il chemostato è un'apparecchiatura inventata dal famoso biologo e filosofo francese Jacques Lucien Monod nel 1949.

Si tratta di un recipiente per la coltura di organismi attraversato da un flusso costante di mezzo nutritivo atto a mantenere una cultura batterica come in un reattore biologico ideale che lavora in condizioni di stato stazionario.

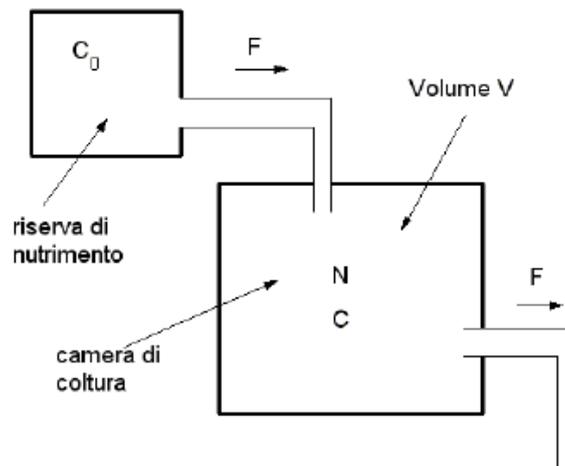


Figura 1.1: Schematizzazione del chemostato.

Il suo funzionamento è schematizzato nella figura 1.1. Una soluzione nutriente viene immessa, ad una fissata velocità di flusso (F), nella camera di accrescimento ove sono coltivati i batteri, qui una valvola permette l'uscita del prodotto di accrescimento alla medesima velocità, in maniera che il volume (V) della coltura rimanga costante.

Si deve fare in modo che la velocità di flusso non sia troppo elevata da causare il "lavaggio" della coltura, e la sua conseguente eliminazione, e in modo che l'ap-

porto di nutriente sia sufficientemente rapido da permettere un accrescimento nella norma.

1.2.1 Formulazione di un modello matematico

Nel formulare un modello per il chemostato, il primo passo da compiere è certamente quello di definire le quantità che vengono utilizzate, la loro simbologia e le corrispondenti dimensioni fisiche. Nel nostro caso, allo scopo di studiare le equazioni che descrivono il chemostato è necessario introdurre:

- C la concentrazione del nutriente nella camera di accrescimento, con le dimensioni di *Massa/Volume*
- C_0 la concentrazione del nutriente nel serbatoio di riserva, con le dimensioni di *Massa/Volume*
- N la densità di popolazione, con le dimensioni di *Numero/Volume*
- $Y = 1/\alpha$ la costante di produzione (yield), con le dimensioni di *Numero batteri/ Numero nutrienti*
- V il volume della camera di accrescimento, con le dimensioni di *Volume*
- F la velocità di flusso entrante e uscente (in/out), con le dimensioni di *Volume/Tempo*
- K la velocità di accrescimento, con le dimensioni di *1/Tempo*

Nel considerare la crescita batterica possono intervenire molti fattori che rendono complessa la costruzione di un modello. Al fine di determinarlo, è necessario perciò semplificare il problema introducendo alcune ipotesi.

Innanzitutto, supponiamo che la camera di coltura sia opportunamente “agitata” in modo che le variazioni spaziali di concentrazione di nutriente e di batteri possano essere trascurate e di conseguenza la dinamica del sistema possa essere descritta attraverso equazioni differenziali ordinarie dove il tempo sia l’unica variabile indipendente. Un’altra ipotesi necessaria, anche se molte volte lontana dalle condizioni reali, è quella che il mezzo nutriente sia composto da una

sola componente che determina la velocità di accrescimento della coltura. Tale velocità, nel nostro modello, dipende proporzionalmente dalla disponibilità del nutriente attraverso la funzione $K = K(C)$. Questa assunzione è specificata successivamente nel paragrafo 1.2.2 dove si è cercato di individuare una funzione $K(C)$ rispondente alla realtà.

Dobbiamo fare alcune assunzioni anche per quanto concerne l'assorbimento del nutriente. Esso deve essere il risultato della riproduzione e l'unità di nutriente, che denotiamo con α , deve essere consumata all'unico fine di produrre un'unità di incremento della popolazione.

Iniziamo a descrivere la dinamica della densità di batteri attraverso un sistema di equazioni preliminari. Dalla figura 1.1 che schematizza il funzionamento del chemostato, si osserva che la variazione di densità dei batteri nella camera di accrescimento dipende dal bilancio tra il numero di batteri che si formano dalla riproduzione della popolazione e il numero dei batteri che fluiscono fuori dalla camera.

Il primo tentativo² di scrittura di un'equazione che descriva il processo, potrebbe essere

$$\frac{dN}{dt} = K(C)N - FN \quad (1.3)$$

ove KN è la riproduzione e FN è il flusso in uscita.

Tenendo conto delle ipotesi fatte, un ulteriore passo potrebbe essere quello di ipotizzare anche la seguente equazione

$$\frac{dC}{dt} = -\alpha K(C)N - FC + FC_0 \quad (1.4)$$

Per verificare preliminarmente la loro correttezza, può essere utile comparare le dimensioni dei termini di ambo i membri; infatti è del tutto insensato uguagliare quantità che non sono misurate con le stesse dimensioni.

Analizziamo la prima equazione ipotizzata (1.3). Il primo termine dN/dt ha dimensione [numero/(volume x tempo)] come pure il termine KN , mentre il termine FN ha dimensione [numero/volume]. Concludiamo, quindi che questa equazione non è corretta

²Si è seguito il procedimento adottato in [4]

Una maniera per risolvere il problema può essere quello di dividere il termine FN per una quantità con le dimensioni di volume. Fino ad ora l'unico parametro che abbiamo introdotto con queste caratteristiche è il volume V della camera di accrescimento, quindi "sostituiamo" il termine FN con FN/V . Con questa correzione l'equazione (1.3) diventa

$$\frac{dN}{dt} = K(C)N - \frac{FN}{V} \quad (1.5)$$

Osserviamo che FN rappresentava il numero dei batteri che escono per unità di tempo, mentre FN/V è l'effettiva densità dei batteri che escono per unità di tempo.

Analogamente, applicando un'analisi simile all'equazione (1.4), si vede che non è dimensionalmente corretta. Effettuando la stessa modifica, dividiamo i termini FC e FC_0 per il volume V , ottenendo

$$\frac{dC}{dt} = -\alpha K(C)N - \frac{FC}{V} + \frac{FC_0}{V} \quad (1.6)$$

Non è lecito tuttavia concludere immediatamente che il sistema

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = K(C)N - \frac{FN}{V} \\ \frac{dC}{dt} = -\alpha K(C)N - \frac{FC}{V} + \frac{FC_0}{V} \end{cases} \quad (1.7)$$

rappresenti il modello del chemostato correttamente.

L'analisi dimensionale, infatti, può essere un valido aiuto nel cercare errori nella fase di modellizzazione, ma il fatto che un'equazione sia dimensionalmente consistente non implica che sia conseguenza di principi fisici. Nel cercare il principio fisico applicabile a questo problema, si osserva che nel funzionamento del chemostato, vi sono sostanze che vengono trasportate da un compartimento ad un altro. Un buon inizio è certamente quello di considerare il principio fisico di conservazione della massa o equivalentemente di conservazione del numero di particelle.

Sotto quest'ottica si nota che NV è il numero di batteri nella camera e CV è la massa di nutriente nella camera, pertanto è possibile scrivere

$$\begin{cases} \frac{d(NV)}{dt} = K(C)NV - FN \\ \frac{d(CV)}{dt} = -\alpha K(C)NV - FC + FC_0 \end{cases}$$

Sotto l'ipotesi che V sia costante nel tempo, riotteniamo il sistema (1.7) che quindi è lecito ritenere corretto poiché sostenuto da principi fisici.

1.2.2 Modellizzazione della velocità di accrescimento

La velocità di accrescimento, tipicamente, cresce con l'aumentare della concentrazione del nutriente. Tuttavia, pur avendo a disposizione una quantità illimitata di mezzo nutritivo, si vede che la coltura non cresce indefinitamente. Un'assunzione che quindi appare opportuno fare, è quella di considerare l'effetto di saturazione, ammettendo che la velocità di accrescimento aumenti con la disponibilità del nutriente solo fino a un certo valore limite.

Per descrivere questo meccanismo di assorbimento, assumiamo la seguente funzione iperbolica nota come equazione di Michaelis-Menten³

$$K(C) = \frac{K_{max}C}{K_n + C}$$

mostrata in figura 1.2.

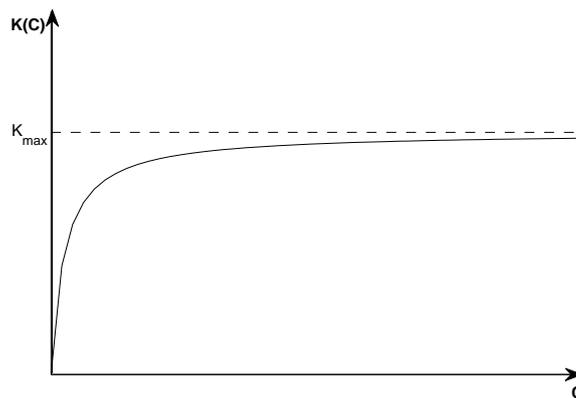


Figura 1.2: Velocità di accrescimento $K(C)$ in un modello di crescita batterica nel chemostato

Per la nostra trattazione è sufficiente notare che per valori “piccoli” di C equivale a una legge di proporzionalità diretta, mentre per valori “grandi” ha una limitazione superiore K_{max} .

Sottolineiamo anche il fatto che, per $C = K_n$, si ha

$$K(C) = \frac{1}{2}K_{max}$$

³In generale la cinetica di Michaelis-Menten descrive l'andamento della velocità di una reazione catalizzata da enzimi non allosterici, al variare della concentrazione di substrato.

In definitiva, con questa assunzione, il modello del chemostato rappresentato dal sistema (1.7) è riepilogato come segue

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \left(\frac{K_{max}C}{K_n+C} \right) N - \frac{FN}{V} \\ \frac{dC}{dt} = -\alpha \left(\frac{K_{max}C}{K_n+C} \right) N - \frac{FC}{V} + \frac{FC_0}{V} \end{cases} \quad (1.8)$$

Per la comprensione di queste equazioni è essenziale sottolineare la distinzione tra le quantità che sono variabili, come N e C , e quelle che sono parametri, come K_{max} , K_n , F , V , α , C_0 . È interessante determinare cosa succede se si variano i valori di alcuni parametri. Si noti che questo può essere fatto solo per alcuni parametri quali F , C_0 e V , ma non per altri che sono a priori determinati dal tipo di organismi e dei nutrienti scelti nell'esperimento.

Nelle equazioni del modello del chemostato (1.8) appaiono 6 parametri ma non è lecito concludere immediatamente che il sistema abbia 6 gradi di libertà. Nello studio del modello è di grande importanza conoscere i gradi di libertà e questo può essere ottenuto attraverso la riscrittura in forma adimensionale delle equazioni.

1.2.3 Analisi dimensionale delle equazioni

Le grandezze utilizzate nell'esperimento del chemostato, come abbiamo detto, sono specificate in termini di unità convenzionali. Per esempio, una densità di 10^5 cellule per litro può essere scritta equivalentemente

$$\begin{aligned} N &= 10^5 \text{ cellule/litro} \\ &= 1 \text{ (unità di } 10^5 \text{ cellule)/litro} \\ &= 100 \text{ cellule/millilitro} \\ &= N^* \hat{N} \end{aligned}$$

ove si è diviso la quantità N in due parti: N^* che rappresenta un numero che non ha dimensioni e \hat{N} che rappresenta le unità di misura e indica le dimensioni fisiche. Si osservi che i termini N e N^* possono variare nella dinamica del sistema, mentre \hat{N} rimane costante dato che la scala delle misure non cambia. Questa argomentazione può essere applicata non solo alla grandezza N , ma

anche alle quantità C e t , così è lecito scrivere ogni quantità misurata come prodotto di uno scalare per le sue dimensioni ottenendo

$$\begin{aligned} N &= N^* \hat{N} \\ C &= C^* \hat{C} \\ t &= t^* \tau \end{aligned}$$

Utilizzando le variabili adimensionali, si ha il vantaggio di ottenere un sistema che non dipende da unità di misura.

Sostituendo, quindi, queste espressioni nel sistema (1.8) e osservando che \hat{N} , \hat{C} , τ sono costanti indipendenti dal tempo, si ha

$$\begin{cases} \frac{d(N^* \hat{N})}{d(t^* \tau)} = \left(\frac{K_{max} C^* \hat{C}}{K_n + C^* \hat{C}} \right) N^* \hat{N} - \frac{F(N^* \hat{N})}{V} \\ \frac{d(C^* \hat{C})}{d(t^* \tau)} = -\alpha \left(\frac{K_{max} C^* \hat{C}}{K_n + C^* \hat{C}} \right) N^* \hat{N} - \frac{F(C^* \hat{C})}{V} + \frac{FC_0}{V} \end{cases}$$

da cui moltiplicando ambo i membri per τ e dividendo rispettivamente per \hat{N} e \hat{C} si ha

$$\begin{cases} \frac{dN^*}{dt^*} = \tau K_{max} \left(\frac{C^*}{K_n / C^* + \hat{C}} \right) N^* - \frac{F\tau}{V} N^* \\ \frac{dC^*}{dt^*} = \left(\frac{-\alpha \tau K_{max} \hat{N}}{\hat{C}} \right) \left(\frac{C^*}{K_n / C^* + \hat{C}} \right) N^* - \frac{F\tau}{V} C^* + \frac{\tau FC_0}{V\hat{C}} \end{cases} \quad (1.9)$$

Valutando accortamente la scelta per le scale τ , \hat{C} , \hat{N} , siamo in grado di semplificare le equazioni e ridurre il numero di parametri. Ovviamente, possono essere fatte molteplici scelte, ma si dimostra che ponendo

$$\tau = \frac{V}{F} \quad \hat{C} = K_n \quad \hat{N} = \frac{K_n}{\alpha \tau K_{max}}$$

si riduce al minimo il numero di parametri.

Precisamente, definendo

$$\alpha_1 = (\tau K_{max}) = \frac{V K_{max}}{F} \quad \alpha_2 = \frac{\tau F C_0}{V \hat{C}} = \frac{C_0}{K_n} \quad (1.10)$$

ed eliminando per comodità di scrittura gli asterischi, il sistema (1.9) può essere scritto sotto la forma

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \alpha_1 \left(\frac{C}{1+C} \right) N - N \\ \frac{dC}{dt} = - \left(\frac{C}{1+C} \right) N - C + \alpha_2 \end{cases} \quad (1.11)$$

ove il numero di parametri passa da sei $(K_n, K_{max}, F, V, C_0, \alpha)$ a due (α_1, α_2) .

Per quanto appena ottenuto possiamo perciò affermare che il modello del chemostato ha due gradi di libertà, relativamente ai parametri.

1.2.4 Analisi qualitativa

Molte volte, non è si è in grado di ricavare in forma chiusa le soluzioni di un sistema di equazioni differenziali non lineari. L'analisi qualitativa ci permette di trarre conclusioni senza tenere conto della conoscenza delle soluzioni.

Iniziamo con il costruire il quadro delle fasi, lavoreremo solo nel primo quadrante del piano delle fasi N, C , poiché sono di interesse biologico solo i valori positivi sia di N che di C .

Innanzitutto, cerchiamo le equazioni delle nullcline imponendo che le derivate di N e C fatte rispetto al tempo siano uguali a zero

$$\begin{aligned}\frac{dN}{dt} &= 0 \\ \frac{dC}{dt} &= 0\end{aligned}$$

Equivalentemente, dal sistema (1.11), queste condizioni si traducono in due equazioni algebriche: le equazioni cartesiane delle due nullcline rappresentate in figura 1.3.

$$\begin{aligned}\alpha_1 \left(\frac{C}{1+C} \right) N - N &= 0 \\ - \left(\frac{C}{1+C} \right) N - C + \alpha_2 &= 0\end{aligned}$$

Nello studio di un modello è di notevole importanza anche la ricerca delle soluzioni stazionarie e l'analisi della loro stabilità, poiché un sistema che si trovi allo stato stazionario stabile tende a mantenere il proprio comportamento se si effettuano piccole perturbazioni dello stato stesso.

Nel caso specifico del chemostato, i valori delle variabili di stato quali la densità dei batteri N e la concentrazione del nutriente C , rimarranno costanti nello stato stazionario, anche se le particelle del nutriente continuano a fluire ed ad essere consumate. Graficamente, le soluzioni stazionarie sono l'intersezione

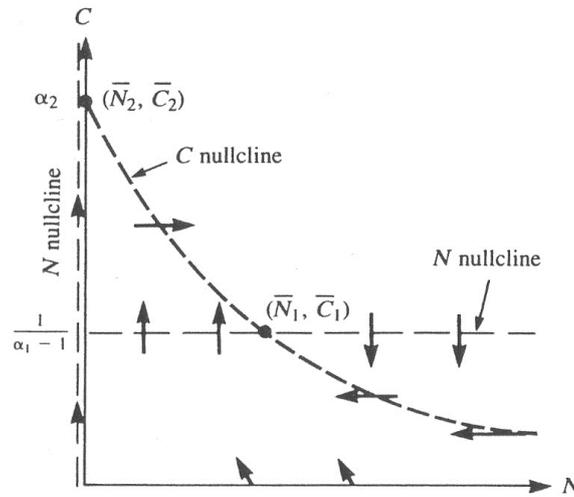


Figura 1.3: Quadro delle fasi del modello del chemostato: Nullcline

delle due nullcline, perciò si ricavano dal sistema ove si è posto uguali a zero le derivate di N e C fatte rispetto al tempo; ossia

$$\begin{cases} \alpha_1 \left(\frac{C}{1+C} \right) N - N = 0 & (1.12a) \\ - \left(\frac{C}{1+C} \right) N - C + \alpha_2 = 0 & (1.12b) \end{cases}$$

Risolvendo il sistema, dall'equazione (1.12a) si ha

$$N = 0$$

oppure

$$\frac{C}{1+C} = \frac{1}{\alpha_1} \Rightarrow C = \frac{1}{\alpha_1 - 1} \quad (1.13)$$

Dall'equazione (1.12b)

$$\begin{aligned} \text{se } N = 0 &\Rightarrow C = \alpha_2 \\ \text{se } N \neq 0 &\Rightarrow \left(\frac{C}{1+C} \right) N = \alpha_2 - C \end{aligned}$$

in quest'ultimo caso, utilizzando la relazione (1.13) si ha

$$N = \frac{1+C}{C} (\alpha_2 - C) = \alpha_1 (\alpha_2 - C)$$

Riassumendo, si sono trovate due soluzioni stazionarie

$$\begin{aligned}(\bar{N}_1, \bar{C}_1) &= \left(\alpha_1 \left(\alpha_2 - \frac{1}{\alpha_1 - 1} \right), \frac{1}{\alpha_1 - 1} \right) \\ (\bar{N}_2, \bar{C}_2) &= (0, \alpha_2)\end{aligned}$$

Affinchè siano accettabili dal punto di vista biologico, devono appartenere al primo quadrante, quindi in particolare per l'esistenza di (\bar{N}_1, \bar{C}_1) devono valere le seguenti condizioni

$$\begin{aligned}\alpha_2 &> \frac{1}{\alpha_1 - 1} \\ \alpha_1 &> 1\end{aligned}$$

Studiamo ora la stabilità dei punti di equilibrio con il metodo di linearizzazione⁴. Dal sistema di partenza, otteniamo un sistema lineare e ne studiamo la stabilità dei punti di equilibrio. In alcuni casi, possiamo dedurre la stabilità dei punti del sistema non lineare dalle informazioni ottenute dal sistema lineare.

La matrice Jacobiana derivata da (1.11) è

$$J = \begin{pmatrix} \frac{\alpha_1 C}{1+C} - 1 & \frac{\alpha_1 N}{(1+C)^2} \\ -\frac{C}{1+C} & -\frac{N}{(1+C)^2} - 1 \end{pmatrix}$$

Per calcolarla nei punti stazionari, è utile introdurre dei nuovi parametri per semplificare le notazioni

$$\begin{aligned}A &= \frac{\bar{N}_1}{(1+\bar{C}_1)^2} \\ B &= \frac{\alpha_2}{1+\alpha_2}\end{aligned}$$

Consideriamo inizialmente, il punto stazionario (\bar{N}_1, \bar{C}_1) , la cui corrispondente matrice Jacobiana è

$$J(\bar{N}_1, \bar{C}_1) = \begin{pmatrix} 0 & \alpha_1 A \\ -\frac{1}{\alpha_1} & -(A+1) \end{pmatrix}$$

si ha quindi

$$\begin{aligned}\text{Tr}(J(\bar{N}_1, \bar{C}_1)) &= -(A+1) \\ \det(J(\bar{N}_1, \bar{C}_1)) &= A\end{aligned}$$

Cerchiamo ora gli autovalori di $J(\bar{N}_1, \bar{C}_1)$ che caratterizzano il tipo di punto di equilibrio. Il polinomio caratteristico corrispondente è dato da

$$\lambda^2 + (A+1)\lambda + A = 0$$

⁴Per un approfondimento si veda [3].

risolvendo si ha

$$\begin{aligned}\Delta &= (A + 1)^2 - 4A = (A - 1)^2 > 0 \\ \lambda_1 &= \frac{-A-1+A-1}{2} = -1 < 0 \\ \lambda_2 &= \frac{-A-1-A+1}{2} = -A < 0\end{aligned}$$

Gli autovalori sono perciò entrambi reali e negativi e quindi possiamo concludere che il sistema linearizzato ha in (\bar{N}_1, \bar{C}_1) un punto di equilibrio asintoticamente stabile, che viene chiamato nodo stabile.

Un teorema noto⁵ ci permette di trarre le stesse conclusioni per il sistema non lineare che caratterizza il modello del chemostato.

Analizziamo analogamente, il punto stazionario (\bar{N}_2, \bar{C}_2) .

La matrice Jacobiana è

$$J(\bar{N}_2, \bar{C}_2) = \begin{pmatrix} \alpha_1 B - 1 & 0 \\ -B & -1 \end{pmatrix}$$

da cui si ha

$$\begin{aligned}Tr(J(\bar{N}_2, \bar{C}_2)) &= \alpha_1 B - 2 \\ det(J(\bar{N}_2, \bar{C}_2)) &= -(\alpha_1 B - 1)\end{aligned}$$

Il corrispondente polinomio caratteristico è

$$\lambda^2 - (\alpha_1 B - 2)\lambda - (\alpha_1 B - 1) = 0$$

e risolvendo si ha

$$\begin{aligned}\Delta &= (\alpha_1 B - 2)^2 + 4(\alpha_1 B - 1) = \alpha_1^2 B^2 > 0 \\ \lambda_1 &= \alpha_1 B - 1 \\ \lambda_2 &= -1 < 0\end{aligned}$$

Affinchè (\bar{N}_2, \bar{C}_2) sia un punto stazionario asintoticamente stabile per il sistema linearizzato e di conseguenza per il sistema non lineare di partenza, è necessario che i due autovalori siano entrambi negativi, perciò deve valere

$$\lambda_1 < 0 \Leftrightarrow \alpha_1 B - 1 < 0 \Leftrightarrow \alpha_1 < \frac{1}{B}$$

Ricordando la definizione di B, si può riscrivere la condizione nel seguente modo

$$\alpha_2 < \frac{1}{\alpha_1 - 1}$$

⁵Per un approfondimento si veda [3].

Possiamo quindi concludere che (\bar{N}_2, \bar{C}_2) è un punto di equilibrio stabile solo quando (\bar{N}_1, \bar{C}_1) non esiste. Altrimenti, (\bar{N}_2, \bar{C}_2) è un punto di sella.

Graficamente possiamo riassumere l'analisi qualitativa, nel caso dell'esistenza di entrambi i punti stazionari, nella figura 1.4 in cui si è tracciato il quadro delle fasi che permette di capire il tipo di stabilità dei punti stazionari.

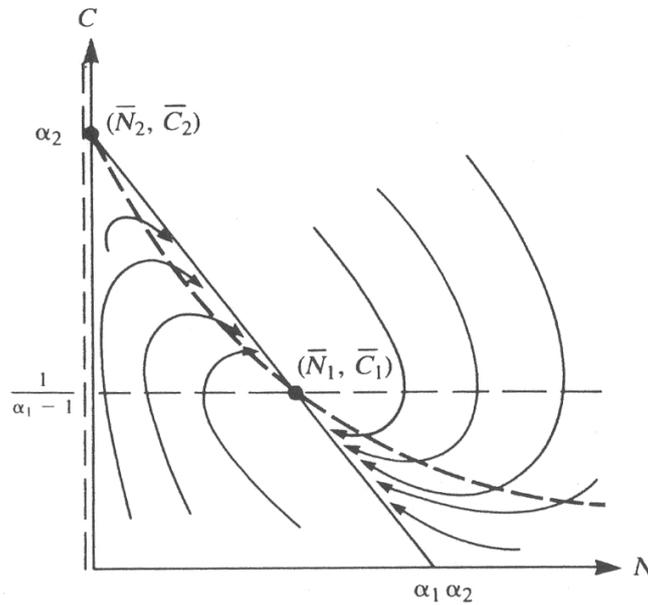


Figura 1.4: Quadro delle fasi nel caso di esistenza di entrambi i punti stazionari.

1.2.5 Simulazioni numeriche

Attraverso le simulazioni numeriche, ottenute utilizzando il programma Matlab, è possibile verificare i risultati relativi al modello del chemostato, descritti in precedenza nel paragrafo 1.2.4.

In particolare consideriamo il modello adimensionale 1.11, introdotto nel paragrafo 1.2.3

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = \alpha_1 \left(\frac{C}{1+C} \right) N - N \\ \frac{dC}{dt} = - \left(\frac{C}{1+C} \right) N - C + \alpha_2 \end{cases} \quad (1.14)$$

Come primo esempio, consideriamo il caso in cui il reattore sia inizialmente “vuoto”, ossia prendiamo le seguenti condizioni iniziali

$$N(0) = 0.1 \quad C(0) = 0.1$$

e settiamo i valori dei due parametri nel seguente modo

$$\alpha_1 = 2 \quad \alpha_2 = 4$$

In corrispondenza di questi valori, si ottiene la soluzione numerica mostrata in figura 1.5, che rispecchia quanto esposto nel paragrafo 1.2.4.

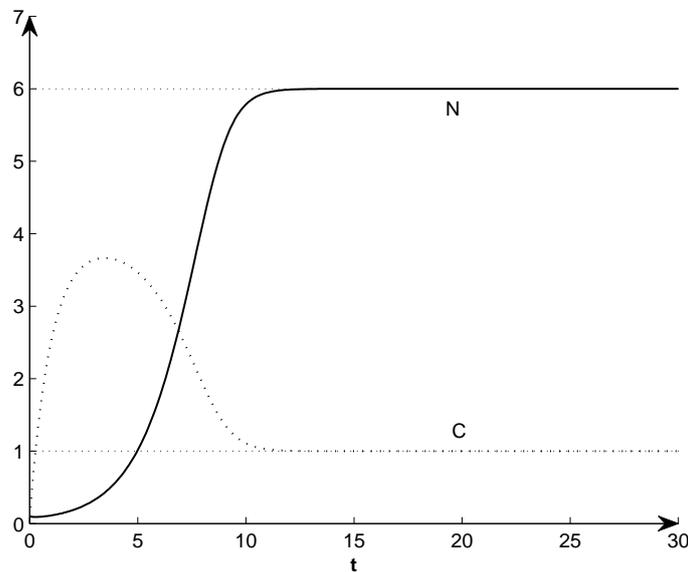


Figura 1.5: Soluzione adimensionale del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.1$ $C(0) = 0.1$ e parametri $\alpha_1 = 2$ e $\alpha_2 = 4$.

E' inoltre possibile verificare tutta l'analisi qualitativa svolta costruendo il quadro delle fasi e il campo dei vettori $(\frac{dN}{dt}, \frac{dC}{dt})$. La figura 1.6 mostra tale piano, il campo vettoriale, le nullcline, e l'orbita relativa ai valori scelti per le condizioni iniziali e per i parametri. In questo caso si ha che il punto $(\bar{N}_1, \bar{C}_1) = \left(\alpha_1 \left(\alpha_2 - \frac{1}{\alpha_1 - 1}\right), \frac{1}{\alpha_1 - 1}\right) = (6, 1)$ è un nodo stabile.

Per scelte differenti dei valori dei parametri e delle condizioni iniziali si ottengono grafici differenti. Nel secondo esempio, infatti, considero un reattore

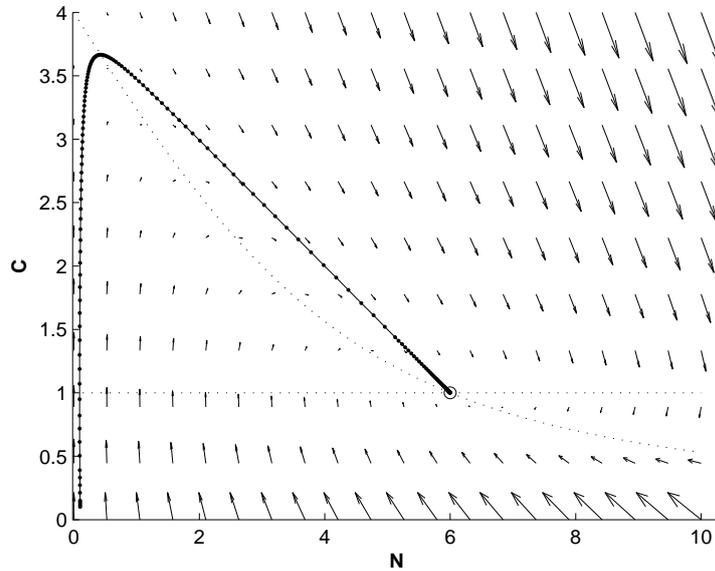


Figura 1.6: Piano delle fasi del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.1$ $C(0) = 0.1$ e parametri $\alpha_1 = 2$ e $\alpha_2 = 4$.

con flusso “forte”, e condizioni iniziali tali per cui si abbia un’ “alta” concentrazione nella riserva e popolazione batterica essenzialmente “nulla”. In questo caso poniamo i seguenti valori dei parametri e delle condizioni iniziali

$$\begin{aligned}\alpha_1 &= 1.1 \\ \alpha_2 &= 20 \\ N(0) &= 0.1 \\ C(0) &= 20\end{aligned}$$

si ottengono così, le soluzioni rappresentate nelle figure 1.7 e 1.8

Come terzo esempio invece, pongo:

$$\begin{aligned}\alpha_1 &= 20 \\ \alpha_2 &= 0.06 \\ N(0) &= 0.01 \\ C(0) &= 0.01\end{aligned}$$

ossia considero il reattore inizialmente “vuoto” con un flusso debole”, si ottengono le figure 1.9 e 1.10, ancora differenti.

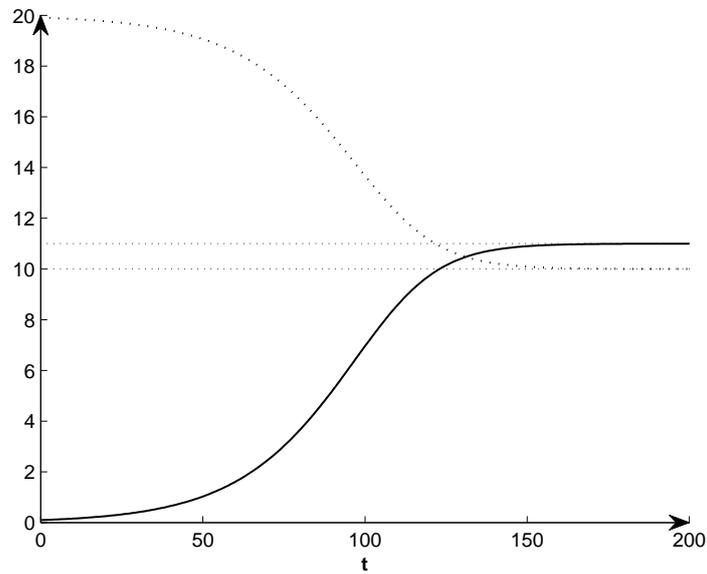


Figura 1.7: Soluzione adimensionale del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.1$ $C(0) = 20$ e parametri $\alpha_1 = 1.1$ e $\alpha_2 = 20$.

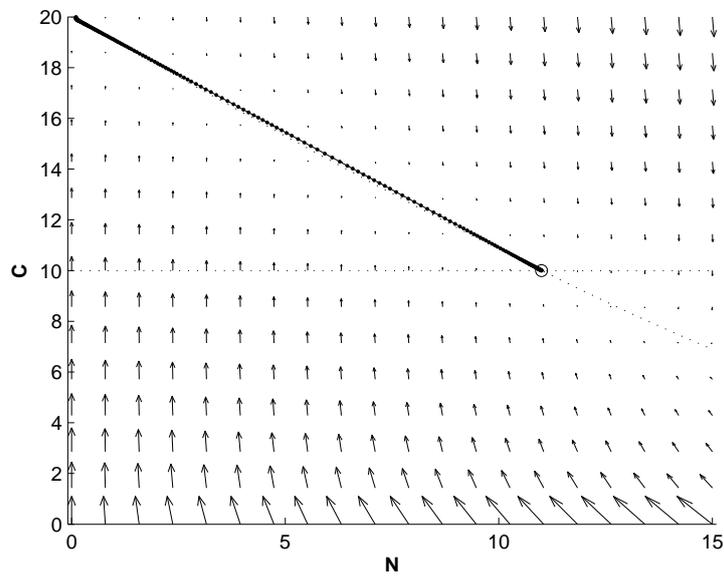


Figura 1.8: Piano delle fasi del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.1$ $C(0) = 20$ e parametri $\alpha_1 = 1.1$ e $\alpha_2 = 20$.

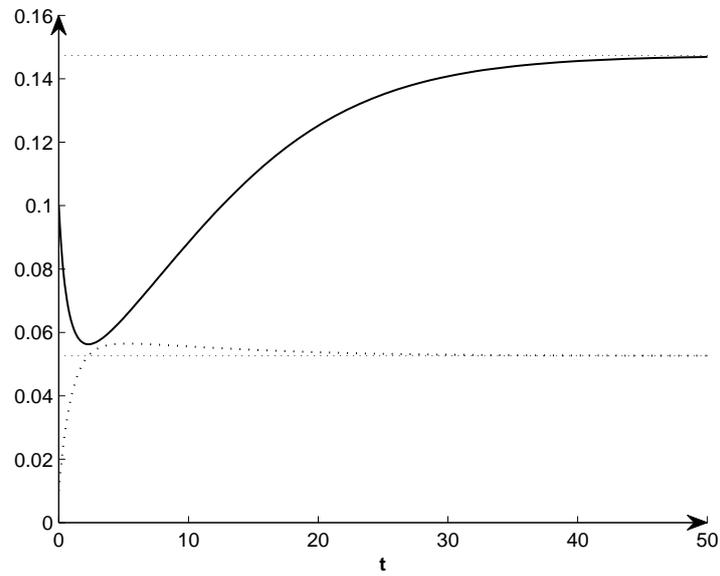


Figura 1.9: Soluzione adimensionale del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.01$ $C(0) = 0.01$ e parametri $\alpha_1 = 20$ e $\alpha_2 = 0.06$.

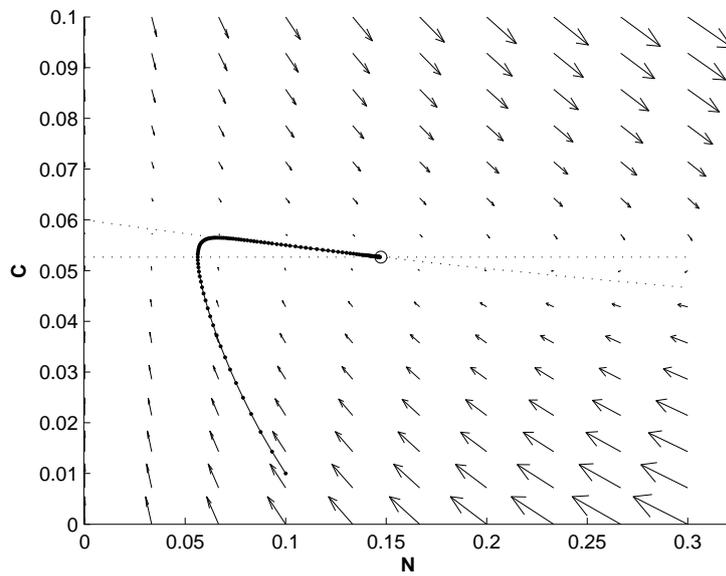


Figura 1.10: Piano delle fasi del modello del chemostato con condizioni iniziali $N(0) = 0.01$ $C(0) = 0.01$ e parametri $\alpha_1 = 20$ e $\alpha_2 = 0.06$.

Capitolo 2

Modelli correlati al chemostato

2.1 Introduzione

L'argomentazione utilizzata nel creare una descrizione matematica del chemostato è applicata a molteplici situazioni. In questo capitolo, verranno trattati alcuni modelli appartenenti all'ambito medico correlati con il chemostato. Ad esempio, le persone affette da particolari malattie devono mantenere costante il livello di un determinato farmaco nel corpo e non è sempre possibile farlo attraverso l'assunzione orale di medicinali. Per questo motivo, è necessario iniettare la sostanza direttamente nel sangue attraverso iniezioni periodiche, distanziate da precisi intervalli di tempo. In particolare, i malati di diabete mellito hanno una persistente instabilità del livello glicemico del sangue, passando da condizioni di iperglicemia, a condizioni di ipoglicemia. Necessitano, dunque, di continue iniezioni di insulina in determinate situazioni e orari. Cosa analoga capita nel trattamento di disturbi tromboembolici con l'utilizzo di eparina o nel trattamento del morbo di Parkinson con l'uso di dopamina. Anche la chemioterapia, utilizzata nella cura del cancro, consiste nella somministrazione di farmaci per distruggere le cellule tumorali attraverso iniezioni in vena. Un altro problema importante nella fisiologia è capire come le sostanze si distribuiscono nel corpo umano e quali leggi governino le interazioni tra i vari tessuti. In tutti questi casi, si è fatto uso di modelli matematici correlati a quello del chemostato.

2.2 Chemioterapia

Un vantaggio nell'uso della chemioterapia nella lotta contro il cancro, rispetto ai metodi tradizionali, è che le iniezioni permettono un'elevata concentrazione del farmaco nel punto in cui è situato il tumore, tuttavia, il cocktail di farmaci utilizzato è altamente tossico. Si deve, perciò, cercare di massimizzare l'effetto del farmaco minimizzando il quantitativo di prodotto usato, utilizzando uno specifico piano di iniezioni e considerando tutte le possibili variabili (ad esempio la concentrazione, la velocità del flusso, l'intervallo di tempo tra una iniezione e l'altra).

Utilizzando lo stesso approccio riduzionista applicato nella formulazione del modello matematico per il chemostato, cerchiamo di semplificare il più possibile questo complicato sistema di interazioni. Con riferimento alla figura 2.1, supponiamo che le cellule tumorali siano ristrette al fegato ed inoltre che la

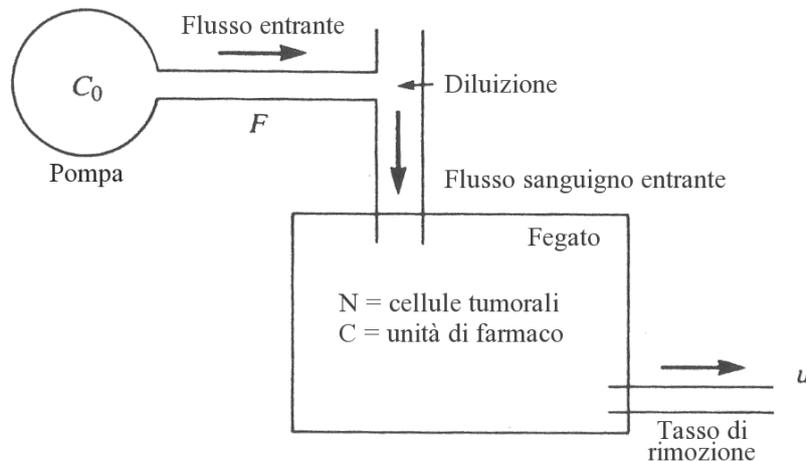


Figura 2.1: Semplificazione del meccanismo di iniezioni nella chemioterapia.

siringa, l'arteria epatica e il fegato formino un sistema di compartimenti interconnessi in cui il farmaco è libero di fluire. Supponiamo inoltre, che il tumore sia formato da N cellule identiche, esposte al farmaco nello stesso modo.

Allo scopo di tradurre il modello in termini matematici, si introducono le seguenti notazioni:

- N il numero di cellule tumorali per unità di volume di sangue;
- C il numero di unità di farmaco in circolazione per unità di volume di sangue;
- C_0 la concentrazione di farmaco nella siringa;
- V il volume di sangue a contatto diretto con l'area affetta da tumore;
- u la velocità di uscita del sangue dall'area tumorale;
- a il tasso di riproduzione delle cellule tumorali;

E' evidente che alcune di queste quantità sono astratte. Nella realtà, per esempio, non tutte le cellule tumorali si riproducono con la stessa velocità ed è difficile stimare il valore di V e u , tuttavia alcuni parametri quali C_0 e F sono noti.

Con queste assunzioni, è ora possibile descrivere la tecnica della chemioterapia mediante un sistema di equazioni nelle variabili N e C .

Qualitativamente il sistema sarà del tipo

$$\begin{array}{l}
 \text{tumore} \quad \frac{dN}{dt} = \text{tasso di crescita delle cellule tumorali} - \text{tasso di morte indotto dal farmaco} \\
 \text{farmaco} \quad \frac{dC}{dt} = \text{tasso di somministrazione del farmaco} - \text{tasso di assorbimento nelle cellule} - \text{tasso di rimozione dal sistema circolatorio}
 \end{array}$$

Va sottolineato, che questo semplice modello che descrive la chemioterapia è un po' irrealista. Innanzitutto non è possibile schematizzare il sistema circolatorio come in figura 2.1 e ogni cellula tumorale è diversa, infatti esse sono caratterizzate da differenti stadi di vita. Quasi tutti i tumori si sviluppano a partire da una sola cellula, ma solitamente la cellula iniziale non acquisisce tutte le caratteristiche in una volta sola. Con ogni mutazione tumorale la cellula ottiene un leggero vantaggio evolutivo sulle cellule vicine, entrando in un processo detto di evoluzione clonale. Ne consegue che cellule discendenti dalla cellula mutata, per effetto di ulteriori mutazioni, possano trarre un vantaggio

evolutivo ancora maggiore e per tenere conto di questo sono stati costruiti modelli più complessi ¹.

2.3 Diabete mellito

L'organismo umano possiede un sistema di regolazione che consente di mantenere entro un certo range la glicemia, ovvero la concentrazione di glucosio disciolto nel sangue.

La costanza della glicemia è necessaria per la sopravvivenza del cervello, poiché esso, a differenza dei muscoli, non ha la capacità di immagazzinare scorte di glucosio. Inoltre, il glucosio ematico è praticamente l'unico carburante per il cervello, che consuma una quantità costante di energia a prescindere dalla sua attività. In assenza di glucosio, dopo pochi minuti le cellule cerebrali morirebbero. Il meccanismo di regolazione della glicemia è basato sul controllo di due ormoni antagonisti: l'insulina e il glucagone. Le persone affette da diabete mellito hanno delle anomalie nel funzionamento di questo meccanismo che attualmente, si cerca di normalizzare attraverso un piano di iniezioni giornaliere di insulina. Per trattare questo disturbo sono perciò di grande rilevanza i modelli, poiché portano a una migliore comprensione della dinamica dell'insulina e del glucosio.

Per una stessa situazione o fenomeno possono essere creati differenti modelli, in questa trattazione consideriamo il modello sviluppato da Boile² nel 1960. A tale scopo, si introducono le seguenti notazioni:

- V il volume del fluido extracellulare, con le dimensioni di *Volume*
- \dot{I} il tasso di insulina iniettata, con le dimensioni di *Unità/tempo*
- \dot{G} il tasso di glucosio iniettato, con le dimensioni di *Massa/tempo*
- $X(t)$ la concentrazione extracellulare di insulina, con le dimensioni di *Unità/Volume*

¹Per un approfondimento si veda [6].

²Per un approfondimento si veda [2]

- $Y(t)$ la concentrazione extracellulare di glucosio, con le dimensioni di *Unità/Volume*
- $F_1(t)$ il tasso di degradazione dell'insulina
- $F_2(t)$ il tasso di produzione dell'insulina
- $F_3(X, Y)$ il tasso di accumulazione del livello di glucosio nel fegato
- $F_4(X, Y)$ il tasso di utilizzo di glucosio nei tessuti

Bolie ipotizzò le seguenti equazioni

$$\begin{cases} V \frac{dX}{dt} = I - F_1(X) + F_2(Y) \\ V \frac{dY}{dt} = G - F_3(X, Y) + F_4(X, Y) \end{cases}$$

ove la prima descrive la concentrazione di insulina, mentre la seconda la concentrazione di glucosio.

Si noti che le espressioni delle quattro funzioni F_i , $i = 1, 2, 3, 4$, non sono specificate. Bolie, infatti, non utilizzò dati sperimentali per ricavare la loro forma, tuttavia riuscì a studiare il comportamento dei punti stazionari.

Negli anni successivi molti altri studiosi crearono modelli più realistici aggiungendo dettagli fisiologici e utilizzando strumenti matematici più sofisticati quali le equazioni differenziali a derivate parziali (Grotsky 1972, Hagander 1978).

2.4 Analisi a compartimenti

I fisiologi sono molto spesso interessati a capire come le sostanze biologiche si distribuiscono nel nostro corpo e quali leggi governino le iterazioni tra i vari tessuti. In alcuni casi, per certe sostanze di origine naturale come per esempio gli ormoni, le sostanze metaboliche o le proteine, la distribuzione può essere veramente molto complessa.

Una tecnica generale per il monitoraggio del passaggio di un campione di sostanza attraverso un sistema è la marcatura isotopica. La sostanza in questione viene marcata inserendo particolari isotopi nella sua composizione chimica e poi introdotta nel sistema. Successivamente questi isotopi vengono rilevati in

certe parti del sistema, dando la possibilità di mappare la distribuzione della sostanza di partenza e di verificare le sue interazioni con il sistema. Lo stesso funzionamento è utilizzato nei radio-farmaci, composti nei quali vengono marcate alcune biomolecole che presentano alta affinità e selettività per specifici siti biologici implicati per esempio in forme patologiche. Molto spesso vengono impiegati in medicina nucleare a scopo diagnostico o terapeutico.

Nella nostra trattazione consideriamo come sistema il corpo umano, nel quale viene introdotta una certa sostanza nel sangue all'istante $t = 0$ attraverso un'iniezione. Con prelievi successivi di campioni agli istanti $t = t_1, t_2, \dots, t_n$ si può verificare la concentrazione della sostanza nel sangue.

Per modellizzare questi processi utilizziamo l'analisi a compartimenti. Essa consiste nel suddividere un sistema biologico in blocchi costituenti il sistema stesso, detti compartimenti. Ogni compartimento deve soddisfare alcuni requisiti: i costituenti del compartimento devono mescolarsi rapidamente e tale mescolamento deve essere omogeneo. Inoltre i costituenti (particelle, proteine, sali, ...) presenti in tale volume devono avere tutti identica probabilità di passare in altri compartimenti o all'esterno. Si noti che il requisito di omogeneità e identica probabilità di comportamento conduce ad una legge esponenziale per esprimere la loro cinetica di uscita e porta a modelli matematici costituiti da sistemi di equazioni differenziali lineari di primo ordine a coefficienti costanti. Per quanto concerne la rapidità di mescolamento nello studio delle sostanze introdotte artificialmente nell'organismo vivente, si osservi che se i tempi nei quali vengono condotte le osservazioni sono grandi rispetto ai tempi caratteristici dei processi di distribuzione, è ragionevole ammettere un rapido mescolamento per ogni compartimento considerato. E' ovvio, inoltre, che il modello compartimentale del sistema biologico in studio deve essere discreto, ossia i compartimenti devono essere in numero finito e ben distinti tra loro.

Uno dei modelli più semplici è quello a due compartimenti, schematizzato in figura 2.2. Nel nostro caso il primo compartimento è il sistema circolatorio nel quale vengono fatte le misurazioni e il secondo compartimento comprende tutti gli altri tessuti rilevanti, non per forza un singolo organo o una precisa

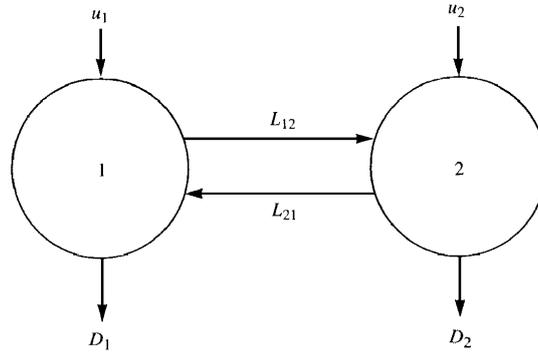


Figura 2.2: Schematizzazione modello a due compartimenti.

entità fisiologica. L'obiettivo è quello di trarre deduzioni sulla grandezza dello scambio e sulla degradazione del compartimento 2, utilizzando le informazioni del compartimento 1. A tale scopo, definiamo i seguenti parametri:

- m_1 : la massa nel compartimento 1;
- m_2 : la massa nel compartimento 2;
- V_1 : il volume del compartimento 1;
- V_2 : il volume del compartimento 2;
- x_1 : la massa per unità di volume nel compartimento 1;
- x_2 : la massa per unità di volume nel compartimento 2;
- L_{ij} : lo scambio tra il compartimento i e il compartimento j ;
- D_j : la degradazione nel compartimento j
- U_j : la velocità di inserimento della sostanza nel compartimento j .

Si osservi che L_{ij} e D_j hanno le dimensioni di [1/tempo], a differenza di u_j che hanno dimensioni di [massa/tempo].

Un modello lineare che descriva questo meccanismo è perciò

$$\begin{cases} \frac{dm_1}{dt} = -L_{12}m_1 + L_{21}m_2 - D_1m_1 + u_1 \\ \frac{dm_2}{dt} = L_{12}m_1 - L_{21}m_2 - D_2m_2 + u_2 \end{cases} \quad (2.1)$$

Ponendo

$$\begin{aligned}
 K_1 &= L_{12} + D_1 \\
 K_2 &= L_{21} + D_2 \\
 K_{21} &= \frac{L_{21}V_2}{V_1} \\
 K_{12} &= \frac{L_{12}V_1}{V_2} \\
 w_1 &= \frac{u_1}{V_1} \quad w_2 = \frac{u_2}{V_2}
 \end{aligned} \tag{2.2}$$

si può riscrivere il sistema (2.1) come segue, in modo da ridurre il numero dei parametri

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = -K_1x_1 + K_{21}x_2 + w_1 \\ \frac{dx_2}{dt} = K_{12}x_1 - K_2x_2 + w_2 \end{cases} \tag{2.3}$$

Si inietti ora nel sangue una sostanza di massa m_0 , assumendo che si mischi rapidamente nella circolazione, possiamo considerare

$$\begin{aligned}
 m_1(0) &= m_0 \\
 m_2(0) &= 0 \\
 u_1 &= u_2 = 0
 \end{aligned}$$

Essendo il sistema (2.1) formato da equazioni lineari, possiamo facilmente risolverlo ottenendo la soluzione

$$\mathbf{x} = c_1\mathbf{v}_1e^{-\lambda_1t} + c_2\mathbf{v}_2e^{-\lambda_2t} \tag{2.4}$$

con $\lambda_1, \lambda_2 > 0$.

Si osservi che nella (2.4), è evidenziato il segno negativo degli esponenti, ciò in corrispondenza al fatto che le sostanze vengono rimosse.

Infatti, se chiamiamo

$$A = \begin{pmatrix} -K_1 & K_{21} \\ K_{12} & -K_2 \end{pmatrix}$$

ricordando le definizioni (2.2), si ha

$$\text{Tr}(A) = -(K_1 + K_2) < 0$$

$$\begin{aligned} \det(A) &= K_1 K_2 - K_{21} K_{12} \\ &= (L_{12} + D)(L_{21} + D) - \frac{L_{21} V_2}{V_1} \frac{L_{12} V_1}{V_2} \\ &= L_{12} D + L_{21} D + D^2 > 0 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta &= (K_1 + K_2)^2 - 4(K_1 K_2 - K_{21} K_{12}) \\ &= (K_1 - K_2)^2 + 4K_{21} K_{12} > 0 \end{aligned}$$

quindi, le radici dell'equazione caratteristica sono reali negative, come evidenziato.

Bibliografia

- [1] ACKERMAN, E., GATEWOOD, L. C., ROSEVEAR, J. W., AND MOLNAR, G. D. Model studies of blood-glucose regulation. *Bull. Math. Biophys* 27 (1965), 21–37.
- [2] BOLIE, V. Coefficients of normal blood glucose regulation. *J. Appl. Physiol* 16 (1960), 783–788.
- [3] BRAUN, M. *Differential Equations and Their Applications*, 3 ed. Springer-Verlag, New York, NY, USA, 1979.
- [4] COMINCIOLI, V. Modelli matematici - elementi introduttivi. Note del corso *Complementi di matematica per le scienze applicate*, Università degli studi di Pavia. <http://www.multimediacampus.it>, 2004.
- [5] EDELSTEIN-KESHET, L. *Mathematical Models in Biology*. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, PA, USA, 2005.
- [6] NEWTON, C. Biomathematics in oncology: Modeling of cellular systems. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng* 9 (1980), 541–579.