

Rete capillare, cancro e legge di Kleiber

Lo studio dell'evoluzione dei complessi biologici ha beneficiato dell'utilizzo di leggi di scala che coinvolgono relazioni tra massa e fabbisogno energetico. L'uso congiunto di modelli, quali le leggi di Kleiber e di Murray, ha aperto nuove possibilità per l'analisi quantitativa della crescita delle masse cancerose, della relativa vascolarizzazione ed evoluzione metastatica. In questo articolo si descrivono i risultati essenziali delle ricerche in tali campi e si esaminano come tali studi possano avere un impatto efficace sulla pratica clinica

DOI 10.12910/EAI2017-051

di **Giuseppe Dattoli, Emanuele Di Palma, Silvia Licciardi e Simonetta Pagnutti, ENEA**

Lo sviluppo delle masse tumorali è stato descritto tramite tecniche matematiche del tutto analoghe a quelle relative alla crescita dei complessi biologici 'ordinari'. Gli studi in tale direzione sono stati originati dall'utilizzo della legge di Kleiber, che stabilisce una relazione tra la massa di un organismo vivente e il relativo metabolismo basale. In questo ambito West, Brown ed Enquist hanno dedotto un modello quantitativo in grado di predire i tempi di crescita, e le necessità energetiche del sistema biologico durante le sue fasi di crescita [1]. I risultati ottenuti con-

fermano il punto di vista di Von Bertalanffy, secondo cui l'evoluzione di tali sistemi è caratterizzata da un periodo di latenza, una crescita di tipo esponenziale ed infine da un meccanismo di saturazione, dovuto ad una sorta di compromesso tra le necessità metaboliche dell'organismo biologico e la disponibilità energetiche dell'ambiente circostante (la cosiddetta *carrying capacity*), che determina anche la massa finale dell'organismo stesso. Evidentemente meccanismi di tale tipo non sono estranei alla crescita delle masse cancerose, che risultano essere un complesso biologico, la cui evoluzio-

ne rispetta i paradigmi di cui sopra. In ambito ENEA è stata avviata, da circa un decennio, una linea di studio che ha coinvolto ricercatori dell'Agenzia, dell'Università di Torino e dell'*Harvard medical school* [2]. I risultati dello studio hanno forn-





to un punto di vista energetico allo sviluppo delle masse tumorali ed alla relativa interazione con l'organo ospitante. Inoltre l'evoluzione metastatica è stata interpretata anche come un processo associato ad una sorta di crisi energetica del tumore stesso. Lo studio ha inoltre evidenziato che la relativa disseminazione metastatica può avvenire prima che il tumore primario divenga clinicamente rilevabile, risultati confermati in ref. [3], in cui si è inoltre evidenziato come comportamenti neoplastici aggressivi possano essere influenzati da fattori metabolici sistemici, associati, ad esempio, alla obesità.

La rete vascolare promossa dalla massa tumorale è il sistema con cui il cancro interagisce con il sistema ospitante, ricevendone benefici dal punto di vista nutrizionale e costituendo una via di fuga per l'eventuale disseminazione di metastasi, quando si presenta una crisi energetica o come conveniente strategia per

una sopravvivenza a lungo termine. È generalmente accettata l'opinione che il tumore abbia un'origine monoclonale e che attraversi una fase di latenza durante la quale le cellule mutate si aggregano assumendo nutrienti dall'esterno, senza aver sviluppato una autonoma architettura di vasi capillari. In questa fase il tumore fluttua intorno ad una dimensione critica che non supera dimensioni clinicamente rilevabili; allo stato attuale delle conoscenze non esiste alcuna indicazione se tale fase avascolare possa durare in maniera indefinita, risulta sperimentalmente evidente che quando il tumore è assistito da un sistema di vasi sviluppato ad hoc si innesca un meccanismo di crescita esponenziale.

Un tumore, nella fase cosiddetta silente, ha un raggio inferiore al millimetro (ovvero al di sotto della rivelabilità diagnostica) e un numero di cellule non superiore a 10.000, la gestione metabolica di tale sistema richiede una potenza all'incir-

ca di $2 \cdot 10^{-7}$ W (ovvero un miliardo di volte minore di quella relativa al metabolismo basale dell'intero organismo) [2]. Tale apporto di potenza è sufficiente alla rigenerazione delle cellule eliminate per ipossia. Per quanto concerne un tumore avascolare, ai limiti della rilevabilità, si possono utilizzare come valori di riferimento $14 \mu W$. Un tale apporto energetico potrebbe essere garantito da un flusso di sangue pari all'incirca a $3,5 \text{ nl/s} \approx 3,5 \mu\text{g/s}$. È dunque evidente che la transizione verso uno stato conclamato necessita di un sistema di distribuzione energetica più articolata di un semplice aggregato cellulare che assuma nutrienti dall'esterno per via osmotica.

La formazione di una rete autonoma trasforma il tumore da un insieme di cellule anomale in un agente aggressivo e potenzialmente letale, poiché presiede alla crescita del tumore e alla diffusione delle metastasi.

Nella Figura 1 sono riportate le fasi di evoluzione del tumore dalla fase

dormiente a quella di crescita. Le fasi di evoluzione sono caratterizzate dall'azione di un segnale detto di VEGF (*vascular endothelial growth factor*) che promuove la formazione di nuovi vasi sanguigni intorno al tumore.

La formazione di una rete capillare complessa apre ulteriori scenari evolutivi (Figura 2): aggregati di cellule cancerose penetrano nel sistema linfatico o nei vasi ematici, si muovono lungo il flusso sanguigno, invadono e si sviluppano in altri tessuti del corpo.

Poiché la maggior parte dei malati di cancro muore dopo che le metastasi si diffondono in altre parti del corpo, è di fondamentale interesse comprendere i meccanismi che regolano la vascolarizzazione e la diffusione delle cellule tumorali attraverso la rete da lui stesso creata.

Dopo questi cenni introduttivi possiamo discutere con maggiore dettaglio come lo studio di tali problematiche possano beneficiare dalla collaborazione di diverse discipline, che includano non solo quelle strettamente medico-biologiche ma anche quelle evolutive, fisico-matematiche, ecologiche e demografiche.

Cancro, ecologia, evoluzione, modelli

Lo scopo dello sviluppo di modelli [4] per lo studio del cancro non è semplicemente quello di riprodurre i dati relativi alla crescita del numero di cellule tumorali, ma anche definire i meccanismi inibitori del cancro stesso e come e perché le cellule cancerose diventino resistenti alle cure stesse. Il senso finale di tali ricerche dovrebbe essere, dunque, quello di coadiuvare una strategia clinica. Il cancro stesso ha una strategia di sopravvivenza non dissimile dalla

selezione darwiniana, che può essere sintetizzata come segue: inganna il sistema immunitario, si mescola in modo inestricabile al tessuto sano, è in grado di muoversi in cerca di territori più fertili, ma alla fine si suicida uccidendo il corpo che lo ospita.

Un punto di vista estremo, e cionondimeno affascinante, proposto in anni recenti [5] vede il cancro come una sorta di 'atavismo'¹ che si manifesta quando un qualche meccanismo intervenga a modificare i processi che hanno reso silenti alcuni geni

come è successo in habitat limitati da parte degli esseri umani, le risorse ambientali fino al punto di non ritorno. L'analogia ha senso, così come il fatto che le cellule mutanti sviluppino un fattore di resistenza agli agenti terapeutici, come è già successo per gli antibiotici.

Abbiamo dunque fatto un passo ulteriore adottando un punto di vista ecologico, alla diffusione di un organismo vivente (il tumore) in un altro. Esaminiamo il primo punto ovvero la crescita della massa e l'approvvi-

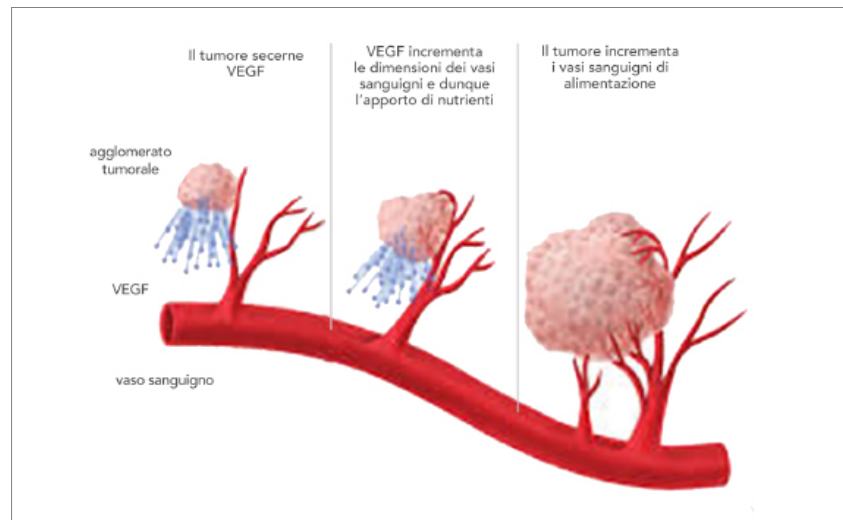


Fig. 1 Formazione di vasi sanguigni stimolata da segnali angiogenici indotti da cellule in stato di ipossia
Fonte: "LUNgevity Foundation", rielaborata dagli autori

ancestrali. L'ipotesi poggia sull'osservazione che il tumore riguardi sia animali che piante e che possa essere rintracciato in possibili meccanismi associati all'origine comune, quando fosse necessaria l'attivazione di processi in grado di generare colonie di cellule.

Rimanendo su un terreno meno speculativo, facciamo notare che il tumore agisce come un colonizzatore di fronte a pascoli (apparentemente) sterminati ed è portato a sfruttare,

gionamento energetico. L'equazione WBE fornisce una dipendenza temporale della massa, data da una relazione del tipo [2]

Equazione 1

$$M_{\infty} \left[1 - \left(1 - \sqrt{\frac{m_0}{M_{\infty}}} \right) e^{-\frac{t}{\tau_1}} \right]^4$$

(1)

in cui la massa finale $M_{\infty} \gg m_0$ e il tempo caratteristico di crescita τ_1 possono essere determinati o da un'in-

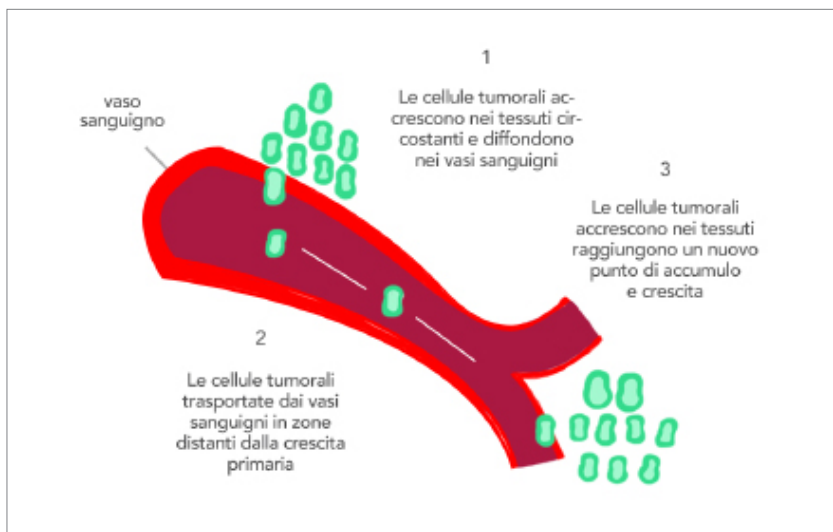


Fig. 2 Migrazione delle cellule tumorali attraverso un vaso capillare
Fonte: immagine tratta da "The national Cancer Institute" e rielaborata dagli autori

terpolazione dei dati sperimentali (quando disponibili) o da considerazioni generali. Il tempo di crescita corrisponde al tempo in cui la massa ha raggiunto il 16% di quella finale. La determinazione della evoluzione delle masse tumorali viene altrettanto ben riprodotta da una curva di Gompertz [2]

Equazione 2

$$m(t) = M_{\infty} e^{-k e^{-\frac{t}{\tau}}}, k = \ln\left(\frac{m_0}{M_{\infty}}\right)$$

(2)
o la funzione di Verhust (logistic) [2]

Equazione 3

$$m(t) = m_0 \frac{A(t)}{1 + \frac{m_0}{M_{\infty}} (A(t) - 1)},$$

(3)
in cui $A(t)$ di solito è una funzione esponenziale, ma in generale può essere qualsiasi purché non singolare, differenziabile almeno una volta e tale che $A(0)=1, \lim_{t \rightarrow \infty} A(t)=\infty$.
Le predizioni delle equazioni (1)

sono state confrontate con quelle di un codice indipendente [2] costruito in maniera tale che una cellula maligna all'interno di un tumore ha tre possibilità: mitosi, apoptosi e migrazione verso un differente sito.

Ciascuno dei processi segue una legge di tipo esponenziale con un proprio tempo caratteristico e con la restrizione che i processi avvengano in tempi distinti. Il confronto tra i modelli viene fatto in Figura 3 e l'accordo è più che ragionevole, tenuto anche conto che il codice di *benchmarking* è basato su un modello puramente probabilistico, mentre gli altri modelli sono essenzialmente deterministici.

Torniamo ora al problema della vascolarizzazione, promossa, come già detto, da segnali chimici trasmessi dalle cellule maligne (ma non necessariamente solo da quelle) che determina la formazione di nuovi vasi. Questi cominciano a dividersi per irrorare una massa viepiù crescente e la conseguente ramificazione è dinamica ed opportunistica. Per tale ragione la relativa modellazione

è estremamente difficile. Comunque sia e qualsiasi difficoltà si frapponga, ci si aspetta che dopo un certo numero di divisioni i capillari si combinino in modo da assicurare (almeno nelle fasi iniziali) la stessa quantità di nutrienti alle cellule costituenti ciascuna parte del tumore.

Durante le fasi iniziali il numero di capillari e la massa evolvono in maniera simile, con gli stessi tempi caratteristici. Quando il tumore cresce oltre una certa soglia avvengono nuovi fenomeni. Si ha, in particolare, la formazione di una zona necrotica nella parte interna del tumore stesso, perché non raggiunta da sufficiente flusso sanguigno. Una spiegazione piuttosto semplice è la seguente: il tumore si estende verso l'esterno per infiltrare i tessuti sani, i vasi tendono a diramarsi verso l'interno. Ad ogni diramazione corrisponde una diminuzione del raggio del vaso, pertanto la relativa pressione idraulica aumenta così come il dispendio energetico associato al trasporto di nutrienti. Al crescere della massa questi fattori contribuiscono ad una distribuzione non omogenea dei nutrienti e alla formazione di zone necrotiche (di solito al centro del tumore) dovute ad ipossia.

Modelli e pratica clinica

Le considerazioni sviluppate nei paragrafi precedenti offrono una lettura, sicuramente semplicistica, ma efficace della interazione tra massa tumorale, distribuzione energetica e interazione con l'organismo ospitante.

Onde evitare fraintendimenti ricordiamo che il processo di angiogenesi (o meglio di linfo-angio genesi) è estremamente complesso [6]. Fino ad oggi più di una dozzina di proteine sono state identificate tra i relativi

attivatori. Oltre al già citata VEGF, dovremmo includere in bFGF (*basic Fibroblast Growth factor*), l'angiogenina, il TGF-alfa e beta (*transforming growth Factor*), il TNF (*tumor necrosis factor*) ecc.

Evitando però di appesantire la discussione con nozioni di non stretta pertinenza professionale degli autori, sottolineiamo che il VEGF è un potente agente angiogenico sia per i tessuti neoplastici che per quelli normali. L'ipossia, indotta dalla crescente distanza tra il tumore e vasi sanguigni o da inefficiente irrorazione, provoca l'espressione del VEGF, che a sua volta permette la crescita di cellule di una nuova e più efficace rete di distribuzione che, insieme al sistema linfatico, costituisce il canale di accesso per la trasduzione delle metastasi. Tenuto conto che spesso sono le metastasi e non il tumore primario le cause principali di morte per cancro, una delle possibili ricadute di

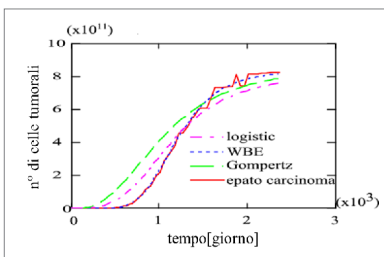


Fig. 3 Confronto tra i dati reali relativi alla crescita di un epato-carcinoma con le curve di crescita dei vari modelli previsionali [2]

una modellazione potrebbe essere lo studio di un sistema di controllo per bloccare le vie di fuga del tumore, indicando quali siano le "rotte di transito" di elezione per ogni tipo di tumore (il cancro al seno ha come organi di crescita metastatica le ossa) o addirittura disporre di mappe per ogni singolo paziente. Il modello potrebbe essere pertanto sfruttato per determinare opportune manipolazioni del sistema immunitario che non solo impediscano la crescita del tumore ma anche,

e soprattutto, la relativa diffusione e impianto in altri organi.

Evidentemente stiamo parlando di un programma estremamente ambizioso, che coinvolge notevoli risorse umane, finanziarie, computazionali e, prima di tutto, la formazione di nuove figure professionali con competenze orizzontali di biologia, fisica, matematica, medicina e calcolo. Non riteniamo si tratti di un'ipotesi irrealistica visto che il cancro è il fenomeno biologico maggiormente studiato e che, durante i decenni (dalla 'dichiarazione di guerra al cancro' del presidente Nixon nel 1969), non si è giunti (a parte alcuni tipi di tumore quali le leucemie e in particolare quelle infantili) a un significativo progresso in termini di comprensione dell'origine del tumore stesso, della relativa prevenzione e della cura.

*Per saperne di più:
giuseppe.dattoli@enea.it*

¹ Il termine atavismo, riferito alla genetica, indica che il DNA è una sorta di archivio in cui viene conservata tutta la storia evolutiva di un individuo. I geni che esprimono un certo carattere (come coda o piedi palmati negli umani) non sono assenti ma soppressi e riappaiono per ragioni genericamente attribuibili a malfunzionamento. Non è escluso che si tratti di un meccanismo evolutivo in base al quale vengono riattivati se se ne presenta la necessità.

BIBLIOGRAFIA

1. V.M. Savage, A.B. Herman, G.B. West, and K. Leu, Using fractal geometry and universal growth curves as diagnostics for comparing tumor vasculature and metabolic rate with healthy tissue and for predicting response to drug therapy, *Discrete and Continuous Dynamical Systems, Series B (DCDS-B)*, Vol. 18(14), 1077-1108 (2013)
2. G. Dattoli, C. Guiot, P.L. Ottaviani, S. Pagnutti, P.P. Del Santo and T. Deisboch, Cancer metabolism and the dynamics of the metastasis, *J. Theor. Biology* 256, 305-310, (2009)
G. Dattoli, E. Di Palma, S. Licciardi, C. Guiot, T.S. Deisboeck, *Capillary Network, Cancer and Kleiber Law*, arXiv:1403.4443 [physics.bio-ph] (2014)
3. H. Li, M. J. Stampfer, L. Mucci, N. Rifai, W. Qiu, T. Kurth, J. Ma, A 25-Year Prospective Study of Plasma Adiponectin and Leptin Concentrations and Prostate Cancer Risk and Survival, *Clinical Chemistry* 56,1 (2010)
4. J.G. Scott, P. Gerlee, D. Basanta, A.G. Fletcher, P.K. Maini and A. RA Anderson, *Mathematical modeling of the metastatic process*, arXiv:1305.4622v2 [q-bio.TO] 21 May 2013
5. Z. Meraly, *Physicists' model proposes evolutionary role for cancer*, *Nature* doi:10.1038/nature.2014.16068
6. N. Nishida, H. Yano, T. Nishida, T. Kamura, M. Kojiro, *Angiogenesis in Cancer*, *Vascular Health and Risk Management* 2, 213-219 (2006)