ONCO048
The Italian Journal of New Oncology

Supplemento di Onco048 n.4/2026

ONCOHUB

VISIONE BIOFISICA DEL CANCRO: Interazione tra segnali biochimici e forze meccaniche microambientali nel processo di cancerogenesi

Pietro Masullo
Direttore AR UOC Oncologia Ospedale San Luca - Vallo della Lucania (SA)

VISIONE BIOFISICA DEL CANCRO: INTERAZIONE TRA SEGNALI BIOCHIMICI E FORZE MECCANICHE MICROAMBIENTALI NEL PROCESSO DI CANCEROGENESI

Pietro Masullo
Ospedale San Luca - Vallo della Lucania (SA)

"La biologia è la scienza delle cose viventi e se partiamo dall'ipotesi che tutte le cose sono fatte di atomi, allora la fisica può aiutarci a capire la vita"
Richard Feynman (1918-1988)
Premio Nobel per la Fisica 1965

INTRODUZIONE: DALL'INCONTRO TRA FISICA E BIOLOGIA UN NUOVO APPROCCIO ALLO STUDIO DEI TUMORI

La maggior parte degli studi sul cancro si è sempre concentrata sui segnali chimici, sulle caratteristiche biomolecolari delle cellule neoplastiche, ma negli ultimi tempi sono emerse interessanti evidenze scientifiche per le quali anche le forze meccaniche possono regolare il comportamento cellulare influenzando i segnali molecolari che governano la diffusione delle cellule cancerose.
Anziché vedere il cancro solamente in termini di mutazioni genetiche, alcuni fisici stanno esaminando parametri peculiari della patologia tra cui: modalità di crescite cellulari, polarizzazione e depolarizzazione delle cellule cancerose, il modo con cui alcune cellule evolvono e diffondono in tutto il corpo. Nel 1970 Clarence Cone, biofisico al NASA's Langley Reseach Center in Virginia, notò che le cellule tumorali erano meno polarizzate di quelle non tumorali. Cone suggerì che la polarizzazione delle cellule poteva portare ad una regolazione della proliferazione cellulare.
Quaranta anni dopo, nel 2010, Michel Levin e Brook Chernet, modificando geneticamente dei girini mediante mRNA oncogenici, confermarono le assunzioni di Cone. Immergendo le larve in coloranti fluorescenti sensibili al voltaggio, valutarono la differenza di polarizzazione delle cellule costituenti le larve. Levin e Chernet non sapevano quali girini avessero sviluppato tumori. Non appena un girino esibì una macchia scura indicando un abbassamento della polarizzazione delle cellule, i ricercatori isolarono queste larve dalle altre per monitorarle. Essi scoprirono che le macchie scure, indice di una depolarizzazione, erano quasi sempre presenti in regioni tumorali confermando così il legame tra la polarizzazione delle cellule e cancro.

Secondo Mina Bissel, biologa irano-americana, per il tumore è estremamente importante il suo microambiente. Le modificazioni della matrice extracellulare determinano in misura molto attendibile se una cellula potrebbe diventare cancerosa oppure no. Tramite analisi di microscopia a forza atomica (AFM) si sta investigando sul perché le cellule tumorali sono strutturalmente più morbide rispetto a quelle non tumorali, nonostante le masse cancerose siano piuttosto dure. Questo aspetto apparentemente paradossale potrebbe assumere anche valore di tipo prognostico-predittivo su quale potrebbe essere l'evoluzione delle cellule tumorali. Inoltre, tecniche biofisiche rivelano che le cellule tumorali coltivate sono maggiormente deformabili rispetto alle loro controparti non tumorali. Quest'aumento di elasticità e/o deformabilità è accompagnato da alterazioni nella struttura citoscheletrica ormai nota per essere associata ad un aumento della malignità.
Altri ricercatori sono impegnati nell'analizzare se la proliferazione delle cellule tumorali può essere impedita manipolando la loro polarizzazione. Un altro aspetto emerso, tramite microscopia confocale, è la rotazione delle cellule di tumore mammario. Secondo alcuni scienziati quest'aspetto potrebbe contenere indizi di tipo prognostico relativi alla patologia tumorale.
Pertanto, in oncologia può essere riscontrato un esempio proficuo di comparazione tra leggi fisiche e biologiche. Questa integrazione biofisica svela e rivela nuovi e sorprendenti aspetti del comportamento delle cellule tumorali. Ad esempio, si è visto in laboratorio che le cellule tumorali del carcinoma mammario migrano per metastatizzare in modo collettivo e coordinato, muovendosi all'unisono come un'unica entità, come uno stormo di uccelli o un branco di pesci, passando da uno stato solido a uno liquido durante la migrazione e il viaggio verso le sedi metastatiche, caratteristica che facilita la diffusione del cancro nel corpo. Utilizzando sistemi di analisi tipici per il moto degli stormi di uccelli, si cerca di svelare i meccanismi fisici e molecolari che guidano la transizione materica del tumore che ricorda il fenomeno dello scioglimento dei ghiacciai. Questo processo estremamente complesso comporta anche un insieme di stress meccanici che possono portare alla rottura di alcuni organelli cellulari e al rilascio del DNA. In tal modo si può riattivare il sistema immunitario. Viene così formulata l'ipotesi che il tumore non sia soltanto guidato da alterazioni genetiche, ma anche da perturbazioni del suo stato fisico. Appare subito chiaro che il tessuto neoplastico cerca e utilizza questi meccanismi per sfuggire ai controlli dell'organismo e diffondersi metastatizzando anche i siti lontani dalla sede primaria: meccanismi estremamente complessi che rivelano l'integrazione tra fisica e biologia quando l'una incontra l'altra.
Comprendere come un tumore si sviluppa e si trasforma nel tempo rappresenta una delle sfide più complesse della ricerca biomedica contemporanea e un momento cruciale di questo processo precede la diffusione delle cellule tumorali e la formazione di metastasi, la cui insorgenza è la principale causa di morte. Per questo motivo è di fondamentale importanza capire come avviene la selezione naturale delle cellule tumorali all'interno di una massa pre-metastatica, indagando come le variazioni dell'ambiente esterno influenzino specifiche caratteristiche cellulari. Le cellule tumorali sono estremamente eterogenee e interagiscono con l'ambiente esterno. Come in tutti gli ecosistemi

naturali, anche nei tumori le condizioni ambientali favoriscono la sopravvivenza di alcune varianti cellulari rispetto ad altre attraverso un processo di selezione naturale. In questo ambito si realizza l'interazione tra biologia e fisica, tra lo studio della selezione naturale e l'evoluzione dei tumori; attraverso l'uso di modelli computazionali basati sull'adozione di reti neurali si indaga su come le variazioni dell'ambiente esterno influenzino specifiche caratteristiche cellulari.
Il tumore può essere considerato come un sistema dinamico complesso, perché è costituito da molte parti interagenti e suscettibili di cambiamenti spazio-temporali. Schematicamente vengono identificate due diverse popolazioni di cellule che coesistono: una di cellule aggressive che tende ad invadere lo spazio circostante, migrare e metastatizzare, e una seconda non invasiva, meno numerosa, soggetta a permanere nella sede primaria e a produrre vasi sanguigni. La popolazione cellulare invasiva presenta una maggiore suscettibilità ai cambiamenti delle risorse e dell'ambiente circostante.

AMBITI DI APPLICAZIONE

La biofisica del cancro si interessa delle proprietà fisiche (meccaniche, elettriche, strutturali) delle cellule tumorali e del microambiente e delle loro interazioni per comprendere e spiegare la progressione e la potenzialità metastatizzante. Le cellule tumorali modificano l'ambiente circostante rendendolo più rigido e facilitando in tal modo la migrazione tumorale. A differenza dell'approccio genetico tradizionale la biofisica si concentra su forze, tensioni e segnali elettrici che guidano il comportamento cellulare. La meccano-biologia del microambiente spiega come la crescita della massa tumorale alteri la rigidità e la pressione dei tessuti circostanti: queste sollecitazioni meccaniche possono attivare geni che favoriscono la sopravvivenza e la migrazione delle cellule neoplastiche che diventano più morbide e deformabili in modo tale da potersi fare strada attraverso i piccoli spazi dei vasi sanguigni e dei tessuti sani.
Gli ultimi 20/30 anni di ricerca oncologica si sono concentrati nel comprendere le basi genetiche dello sviluppo del cancro e come una cellula normale si trasforma in una tumorale. È stato evidenziato che diverse mutazioni del DNA devono accumularsi per conferire alla cellula cancerosa un preciso identikit riassumibile in dieci caratteri distintivi.
L'acquisizione progressiva e combinatoria dei dieci tratti distintivi (gli *hallmarks* di Hanahan e Weinberg) consente alle cellule tumorali di superare le barriere che naturalmente contrastano la nascita, lo sviluppo e la disseminazione di una cellula cancerosa all'interno del nostro organismo. Sempre più frequentemente, queste stesse alterazioni vengono sfruttate come veri e propri talloni di Achille del tumore per sviluppare farmaci in grado di colpire il cancro in modo "specifico" e "preciso": l'oncologia personalizzata.
Nonostante le alterazioni genetiche siano chiaramente alla base della nascita e sviluppo del cancro, non sono le uniche protagoniste. Il cancro, in realtà, è un tessuto complesso e dinamico, fatto di cellule eterogenee in continua e costante evoluzione per adattarsi all'ambiente che le circonda (il microambiente). Cellule tumorali e microambiente si influenzano reciprocamente: la crescita aberrante della massa tumorale, ma anche la presenza di specifiche cellule dell'ospite richiamate in risposta alle alterazioni indotte dallo sviluppo del cancro, contribuiscono a modellare composizione e natura fisica del microambiente. È proprio grazie a questa natura dinamica ed eterogenea che vengono selezionati i tratti che permettono alla cellula cancerosa di sopravvivere, moltiplicarsi e migrare per

colonizzare organi distanti. In questo contesto, oltre alle intrinseche proprietà molecolari e biochimiche, è necessario comprendere l'insieme delle interazioni che si stabiliscono tra cellule tumorali e il microambiente. Questa complessità può essere interpretata solo ricorrendo a modelli quantitativi e matematici in grado di descrivere e prevedere il comportamento di sistemi multifattoriali, quali i tessuti tumorali, in un ampio ventaglio di scale spaziali e temporali. Approcci che inevitabilmente richiedono l'integrazione di discipline diverse come la biologia, la matematica e la fisica di sistemi complessi.

È noto da tempo che i tumori si possono individuare anche al tatto, percependone la rigidità (Mahoney and Csima, 1982). Non sorprende, pertanto, che, con l'avanzare delle tecniche di analisi nei tessuti e nei sistemi sperimentali modello, si sia riusciti a stabilire che specifiche proprietà fisiche, come rigidità, pressione o densità, siano non solo marcatori utilizzabili nelle indagini di imaging medico per la diagnosi precoce, ma anche fattori in grado di promuovere la progressione tumorale e contribuire allo sviluppo di tratti aggressivi e metastatici. Questo avviene anche attraverso un costante feedback esercitato proprio dalle alterazioni fisiche sui programmi genetici tumorali, che determinano veri e propri cambi di identità cellulare necessari per acquisire, per esempio, la capacità di muoversi e metastatizzare (il più noto dei quali è la transizione epitelio-mesenchimale) e sono anche alla base della straordinaria flessibilità e adattabilità del tumore. Il cancro, infatti, è un'entità dinamica caratterizzata da una sorprendente plasticità: un concetto che trova sempre più evidenze sperimentali e ci permette di comprendere e interpretare lo sviluppo del cancro, anche così come la sua capacità di sviluppare resistenze ai trattamenti farmacologici, con importanti implicazioni terapeutiche che questo determina.

Considerato che il cancro è un tessuto complesso in continua evoluzione si possono comprendere alcune leggi che lo governano solo se i canonici approcci di biologia molecolare, genetica e biochimica vengono integrati con la biomeccanica, la fisica della materia soffice e la statistica meccanica proprie di sistemi complessi. Sono queste le nuove competenze che sono sempre più richieste per comprendere appieno la natura del processo oncologico.

CARATTERISTICHE DI FISICA MECCANICA: DUREZZA RIGIDITÀ PLASTICITÀ

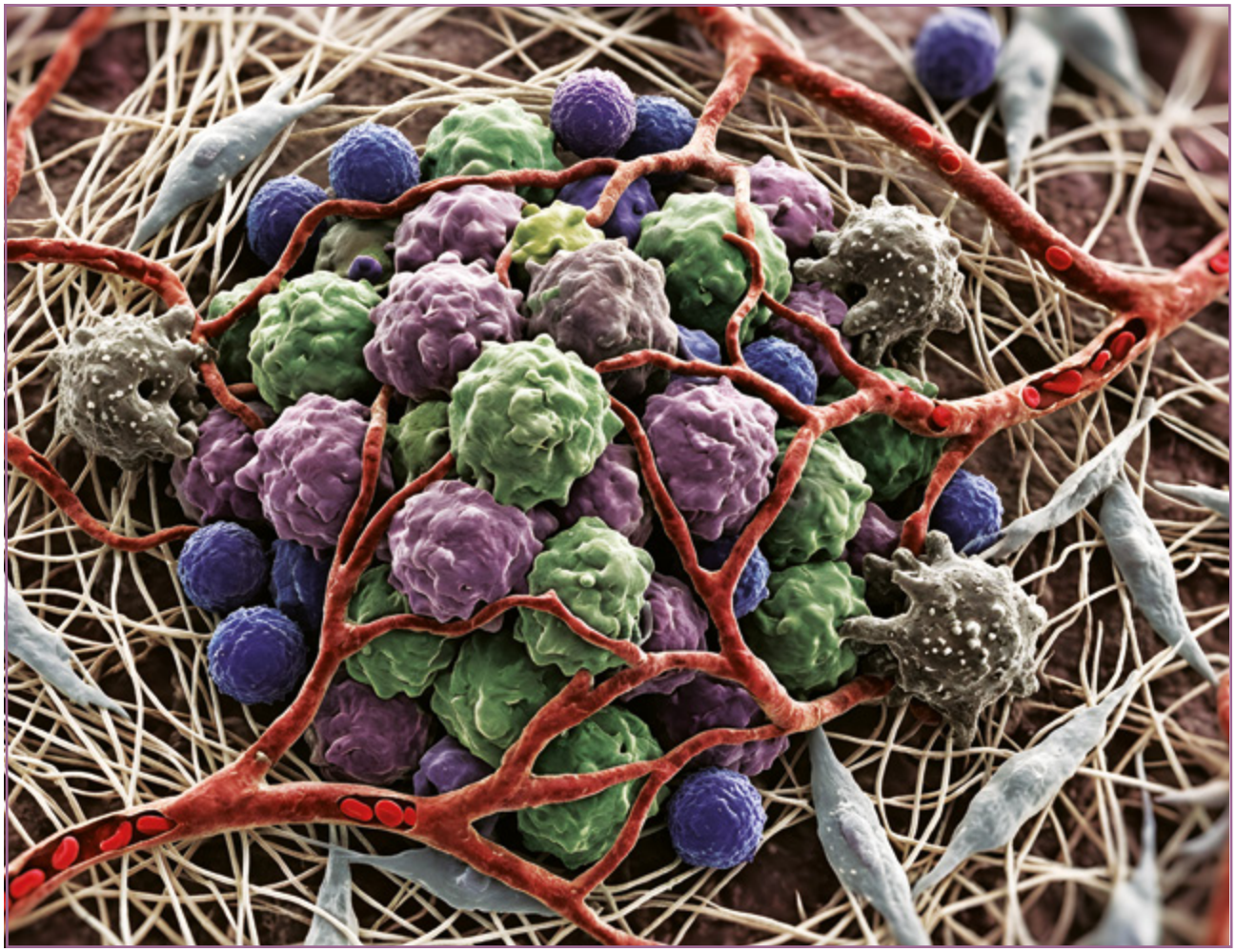
La meccanica del microambiente

Il microambiente tumorale è costituito da particolari componenti chimici (O_2, vari nutrienti) e le cellule che ne fanno parte (**Figura 1**) ricevono da esso anche stimoli fisici. Questi stimoli inevitabilmente influenzano l'origine, la progressione e varie caratteristiche che contraddistinguono i tessuti tumorali sotto numerosi punti di vista.

Una di queste caratteristiche è rappresentata dalla rigidità della matrice extracellulare che influenza la morfologia delle cellule, il loro comportamento e le interrelazioni. Il substrato influenza anche la regolazione della crescita cellulare con un'aumentata sintesi del DNA e una ridotta apoptosi. Le proprietà meccaniche del microambiente determinano il comportamento delle cellule: cellule epiteliali mammarie in laboratorio mostrano un fenotipo più aggressivo in matrici più dense e rigide, presentando un'aumentata autofagia che rappresenta un meccanismo di resistenza alle terapie in quanto consente alle cellule di riciclare il proprio materiale citoplasmatico garantendo la disponibilità di nutrienti. Inoltre, attraverso il meccanismo della transizione epiteliomesenchimale (EM), le

cellule epiteliali si allontanano dalle cellule circostanti acquisendo caratteristiche mesenchimali che portano a capacità invasive. Substrati meno rigidi inibiscono la transizione epiteliomesenchimale. Infine, potrebbe esserci una connessione tra microambiente meccanico, trasformazione maligna e attivazione delle cellule del sistema immunitario. Le cellule sono capaci di ricevere informazioni dall'ambiente esterno e tradurre queste informazioni in segnali interni: la risposta delle cellule è dettata dalle proprietà meccaniche del tessuto, e l'attivazione delle molecole che intervengono nella cascata dei segnali varia in base agli stimoli del microambiente meccanico. Pertanto, la meccanica dei tessuti influenza la carcinogenesi, l'espressione dei geni oncosoppressori, oncogeni e microRNA. Substrati rigidi favoriscono l'induzione di oncogeni e riducono l'espressione degli oncosoppressori.
I tessuti tumorali sono molto più rigidi dei tessuti normali per un insieme di fattori: il citoscheletro delle cellule tumorali presenta cambiamenti drastici che influenzano le proprietà meccaniche dei tessuti; l'incontrollata proliferazione cellulare, l'alta densità cellulare di questi tessuti crea una pressione sulle aree circostanti che rende il tumore più rigido; la matrice extracellulare contribuisce alla rigidità del tumore nell'insieme ed è soggetta ad un massivo riarrangiamento durante la tumorigenesi; nei tumori infatti avviene un aumento della deposizione di collagene, abbondante proteina della matrice extracellulare; infine da considerare anche la pressione del fluido interstiziale.

Figura 1. Rappresentazione astratta del microambiente tumorale



Durezza rigidità plasticità del tessuto tumorale

Particolari condizioni fisiche del tessuto tumorale, come la durezza, la rigidità e la forte tensione che caratterizzano i tumori più aggressivi, stabilizzano e stimolano l'attività della P53 mutata all'interno delle cellule maligne. Le cellule tumorali, infatti, reagiscono a queste anomalie meccaniche attivando una catena di segnali biochimici all'interno della cellula che potenziano la P53 mutata, bloccando il sistema responsabile della sua distruzione. In tal modo la cellula tumorale non riesce a tenere sotto controllo la proteina che pertanto si accumula e attiva un programma genetico in grado di stimolare la proliferazione, la resistenza alle terapie e l'invasione di altri tessuti.

Pertanto, negli ultimi anni è emerso chiaramente che, accanto agli aspetti chimici, anche le proprietà fisiche e meccaniche della massa tumorale svolgono un ruolo fondamentale (De Sal e coll*. Nature cell biology* 18 dicembre 2017 - comunicato stampa): "I tumori sono organi malati in cui sono alterati non solo i geni ma anche, le proteine e una varietà di processi cellulari ma dove *è* anche sconvolta la l'organizzazione strutturale del tessuto".

La plasticità cellulare viene definita come la capacità delle cellule di cambiare le proprie caratteristiche. È un fenomeno biologico attraverso cui le cellule modificano la propria identità e funzione in risposta a stimoli ambientali mentre le cellule sane mantengono un'identità stabile e precisa. Gioca un ruolo importante e significativo nella genesi, sviluppo progressione del cancro.

Le cellule tumorali possono diventare molto plastiche, modificano il proprio fenotipo e comportamento per adattarsi all'ambiente e diffondersi nell'organismo.

La plasticità tumorale è fondamentale per la trasformazione neoplastica; le cellule normali subiscono modificazioni genetiche che le inducono a proliferare in modo incontrollato e a perdere la loro specifica identità diventando cellule tumorali.

Strettamente legata alla plasticità è la capacità di formare metastasi e di contribuire all'instaurarsi della chemioresistenza. Le cellule cambiano il fenotipo per eludere l'effetto dei farmaci e per adattarsi alle condizioni ambientali create dalla terapia e presentano, all'interno del tumore, diversi gradi di plasticità. La capacità di cambiare fisionomia delle cellule metastatiche non dipende da mutazioni del genoma, ma solo da modifiche epigenetiche dello stato del DNA e dell'ambiente circostante.

Lo studio pubblicato a settembre 2005 della rivista *Cancer Cell* mette in luce un legame tra la rigidità dei tessuti e la formazione di tumori, suggerendo che la durezza di un tessuto può influenzare i segnali molecolari che promuovono il comportamento maligno delle cellule tumorali. I legami tra microambiente tessutale e cancerogenesi potrebbero permettere l'identificazione di possibili nuovi target terapeutici.

I tumori sono più rigidi di tessuti normali e la palpazione dei tessuti vulnerabili alla ricerca di una massa rigida può essere un metodo utile per individuare la presenza di un tumore.

Non è comunque chiara la relazione tra rigidità tessutale e comportamento maligno delle cellule. In uno studio condotto da Valerie M. Weaver dell'Università della Pennsylvania, l'attenzione si è concentrata su una classe di molecole chiamate integrine, che agiscono come traduttori di segnali fisici e regolano la segnalazione dei fattori di crescita.

È stato evidenziato che anche un leggero aumento della rigidità della matrice circostante perturba l'architettura dei tessuti e favorisce la crescita, inducendo una tensione che promuove l'accumulo di adesione focale e l'attivazione dei fattori di crescita.

La matrice extracellulare

I tessuti del corpo non sono costituiti solamente da cellule: una parte rilevante del loro volume è costituita dallo "spazio" extracellulare occupato da una rete intricata di macromolecole la cui organizzazione tridimensionale rappresenta la matrice extra-cellulare (ECM). L'analisi biochimica rivela che essa è composta da una pletora di proteine e polisaccaridi che si aggregano in un reticolo organizzato in maniera compatta e connesso alla superficie delle cellule che l'hanno prodotto e di quelle circostanti. Per lungo tempo si è ipotizzato che l'ECM servisse principalmente da impalcatura relativamente inerte in grado di stabilizzare la struttura fisica dei tessuti. Oggi invece è ampiamente dimostrato che essa rappresenta il substrato su cui tutte le cellule dei tessuti possono aderire, migrare, proliferare e differenziare e che ne può influenzare la sopravvivenza, la forma e la funzione. Le cellule neoplastiche modificano questa struttura attraverso:

- deposizione di collagene che irrigidisce i tessuti e crea percorsi preferenziali per l'invasione,
- produzione di enzimi degradativi che aprono varchi nella normale matrice,
- secrezione di proteine fibrose che creano una corazza protettiva intorno al tumore,
- alterazione della architettura tessutale che facilita la migrazione delle cellule.

Difatti, le macromolecole dell'ECM sequestrano i fattori di crescita, molecole d'acqua, minerali e controllano fenomeni fisiologici (morfogenesi, cicatrizzazione delle ferite,) e patologici (invasione e metastatizzazione tumorale).
Il comportamento cellulare (metabolismo, proliferazione, differenziazione, staminalità, migrazione, apoptosi) non dipende solo da caratteristiche intrinseche delle cellule, ma è strettamente condizionato dall'interazione tra cellule, matrice e microambiente cellulare. A loro volta le cellule condizionano la composizione e la dinamica della matrice: ogni cellula del corpo interagisce costantemente con la ECM, sia sotto l'aspetto meccanico che biochimico, con effetti sull'architettura statica e dinamica dei tessuti.
Gran parte delle macromolecole della ECM stabilisce interazioni altamente funzionali con le cellule di un tessuto grazie ai recettori che queste esprimono. Le più importanti sono le integrine, che hanno le fondamentali funzioni di adesione della cellula alla ECM e trasduzione del segnale dalla ECM alla cellula. Esse sono in grado di trasmettere segnali biochimici all'interno della cellula che le esprime e rappresentano i più importanti adattatori molecolari attraverso cui la ECM può modulare le funzioni cellulari (adesione, migrazione, proliferazione, differenziazione, apoptosi, espressione genica). Le proprietà fisiche della ECM consistono in rigidità, porosità, insolubilità, disposizione spaziale, orientamento, capacità di mantenimento dell'impalcatura e integrità dei tessuti. Le capacità biochimiche riguardano le sue capacità dirette ed indirette di segnalazione che permettono alle cellule di percepire ed interagire con l'ambiente extracellulare utilizzando cascate di trasduzione di segnale che determinano un cambiamento nel loro profilo di espressione genica e, di conseguenza, nel loro comportamento.
Un'area di notevole interesse nella biologia della ECM studia come le sue proprietà biomeccaniche (per esempio l'elasticità) contribuisca allo sviluppo e alla progressione della malattia tumorale. Le

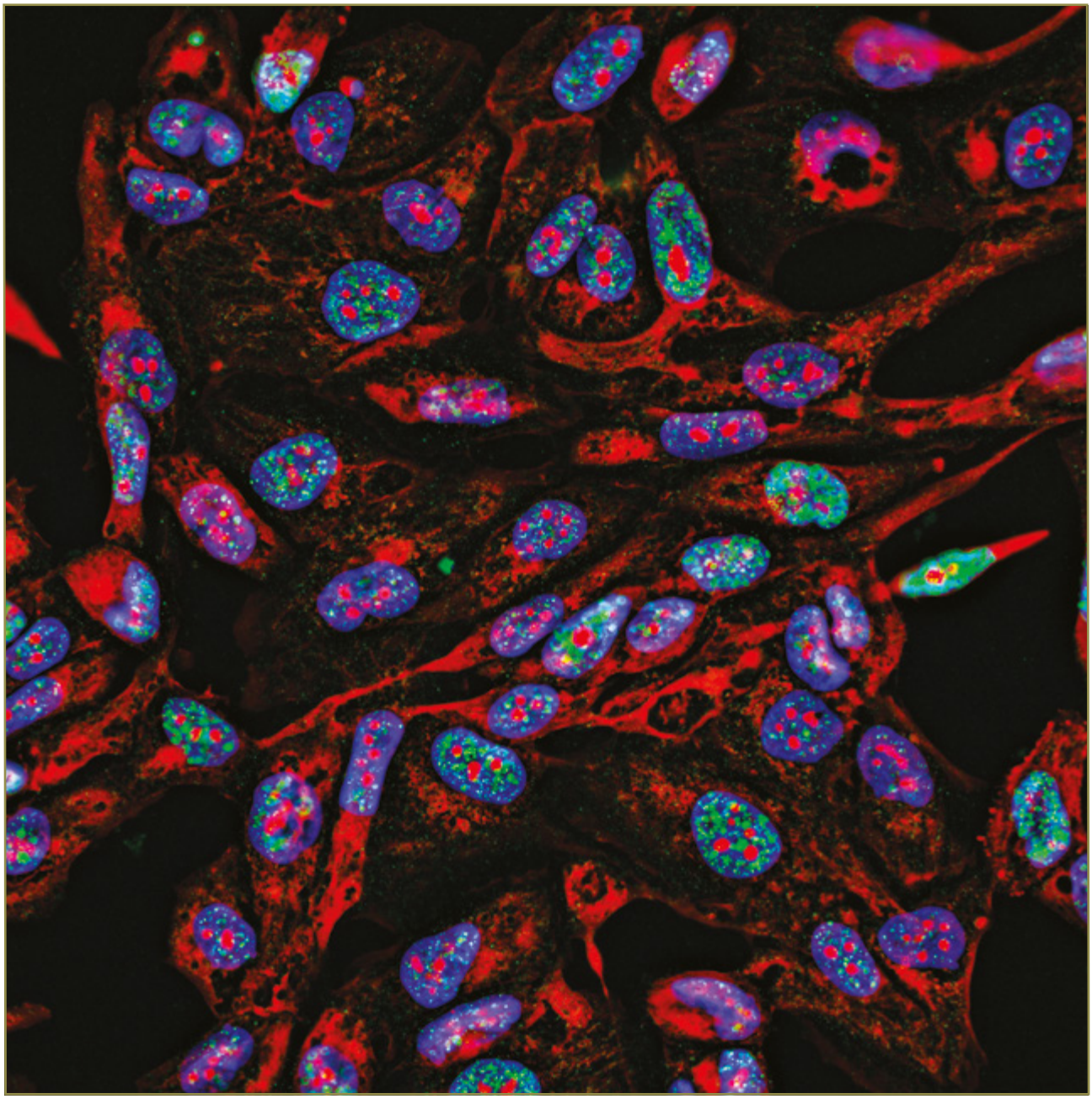
diverse proprietà della ECM non sono indipendenti fra di loro ma si influenzano reciprocamente: l'aumento della rigidità (ad esempio in condizioni patologiche) comporta un cambiamento delle sue proprietà biomeccaniche e le cellule rispondono esercitando differenti tipi di forza. Questa ristrutturazione non è casuale, ma segue una logica precisa: creare le condizioni ottimali per consentire la sopravvivenza delle cellule tumorali e preparare le vie di fuga verso altre parti dell'organismo.
Negli ultimi tempi l'interesse scientifico è tornato a considerare lo stroma come un protagonista essenziale del processo di tumorigenesi per lungo tempo indagato quasi esclusivamente sul ruolo del tessuto epiteliale. Rappresentano un segno distintivo di cancro anormali dinamiche ECM: produzione eccessiva, ridotto movimento, aumento della deposizione di vari tipi di collagene (I, II, III, V, IX). L'ECM associata al tessuto neoplastico mostra, oltre ai cambiamenti nelle proprietà biochimiche, modifiche all'architettura e ad altre proprietà fisiche e biomeccaniche fondamentalmente diverse da quelle dello stroma del tessuto normale: lo stroma tumorale è tipicamente più rigido dello stroma normale.
Ad esempio, nel caso di tumore al seno, il tessuto tumorale può essere 10 volte più rigido del tessuto normale: caratteristica che facilita l'individuazione di una massa neoplastica alla palpazione.
C'è un legame tra la rigidità dei tessuti e la formazione di un tumore evidenziando come le forze meccaniche possono regolare il comportamento delle cellule influenzando i segnali molecolari che governano la diffusione delle cellule cancerose.

IL "VIAGGIO" DELLA CELLULA TUMORALE

La progressione del cancro viene spesso raffigurata come un viaggio (**Figura 2**) durante il quale una cellula tumorale (**Figura 3**) si trasforma nel tempo da un fenotipo benigno a una entità invasiva o metastatica passando attraverso vari stati intermedi. Negli ultimi decenni si è anche evidenziato che una parte importante di questo percorso comporta cambiamenti del fenotipo meccanico della cellula e del tessuto che si traducono sia in variazioni intrinseche della struttura e della meccanica delle cellule e dei tessuti, sia in cambiamenti nelle proprietà biofisiche del microambiente in cui le cellule sono immerse, come la meccanica, la geometria, la topologia della ECM.
L'interazione crea le proprietà biofisiche della cellula e dell'ECM, stabilisce una dinamica ed una meccanica reciprocità in cui l'abilità della cellula di esercitare sollecitazioni contrattili contro l'ambiente extra-cellulare bilancia la resistenza elastica della ECM a tale deformazione (cioè la sua rigidità ed elasticità). Questo equilibrio di forze è in grado di regolare una vasta gamma di proprietà cellulari, fondamentali nel processo di tumorigenesi, come struttura, la motilità, la proliferazione, la differenziazione. La risposta delle cellule agli stimoli biofisici che provengono dalla ECM, quali quelli meccanici, dipende dalla gerarchia dei sistemi meccano-chimici interconnessi che includono recettori di adesione (integrine), adesioni focali intracellulari, reti di citoscheletro e motori molecolari.
Per vivere in armonia le cellule dovrebbero sempre trovarsi in un ambiente adeguato e saper rispondere ai segnali ambientali in maniera opportuna.
Nel tessuto tumorale invece la comunicazione tra le cellule, malate e sane, non segue regole ben definite e sono presenti segnali non programmati e non regolati; le proprietà fisiche del microambiente cambiano e l'organizzazione tessutale si fa più rigida. La ricerca si è finora concentrata prevalentemente sulla comprensione dei segnali chimici che, dall'esterno e dall'interno della cellula tumorale,

determinano i comportamenti tumorali più aggressivi; come abbiamo visto negli ultimi anni è emerso con chiarezza che, accanto agli aspetti chimici, giocano un ruolo fondamentale anche le proprietà fisiche e meccaniche della massa tumorale.

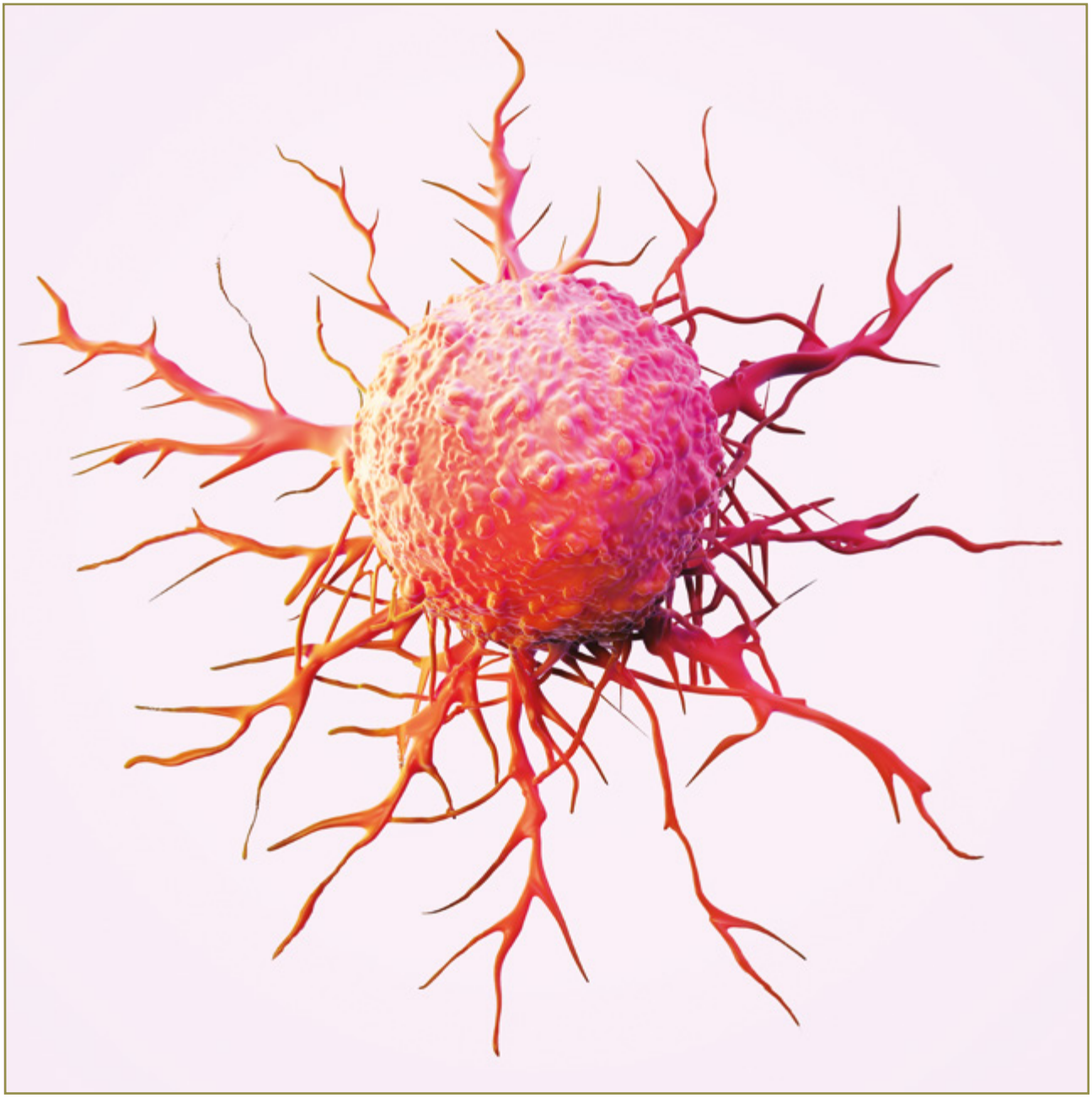
Figura 2. Cellule tumorali…in viaggio



Le proprietà meccaniche del microambiente possono influenzare la trasformazione di cellule normali in cellule tumorali, dirigere gli eventi di segnalazione intracellulare e influenzare l'efficacia delle terapie. Le interazioni fisiche delle cellule del cancro con i vari microambienti hanno un ruolo centrale nella diffusione e le forze meccaniche modulano la motilità delle cellule nella matrice extra-cellulare durante l'invasione e nel sistema vascolare durante intravasazione ed extravasazione.

In questo contesto il cancro può essere visto come una rottura dell'equilibrio interno della cellula, più che come il risultato di un errore nel DNA. Un esempio è il fenomeno della plasticità cellulare osservabile nei tumori più aggressivi che permette alle cellule di cambiare stato e funzione in risposta all'ambiente circostante.

Figura 3. La cellula tumorale

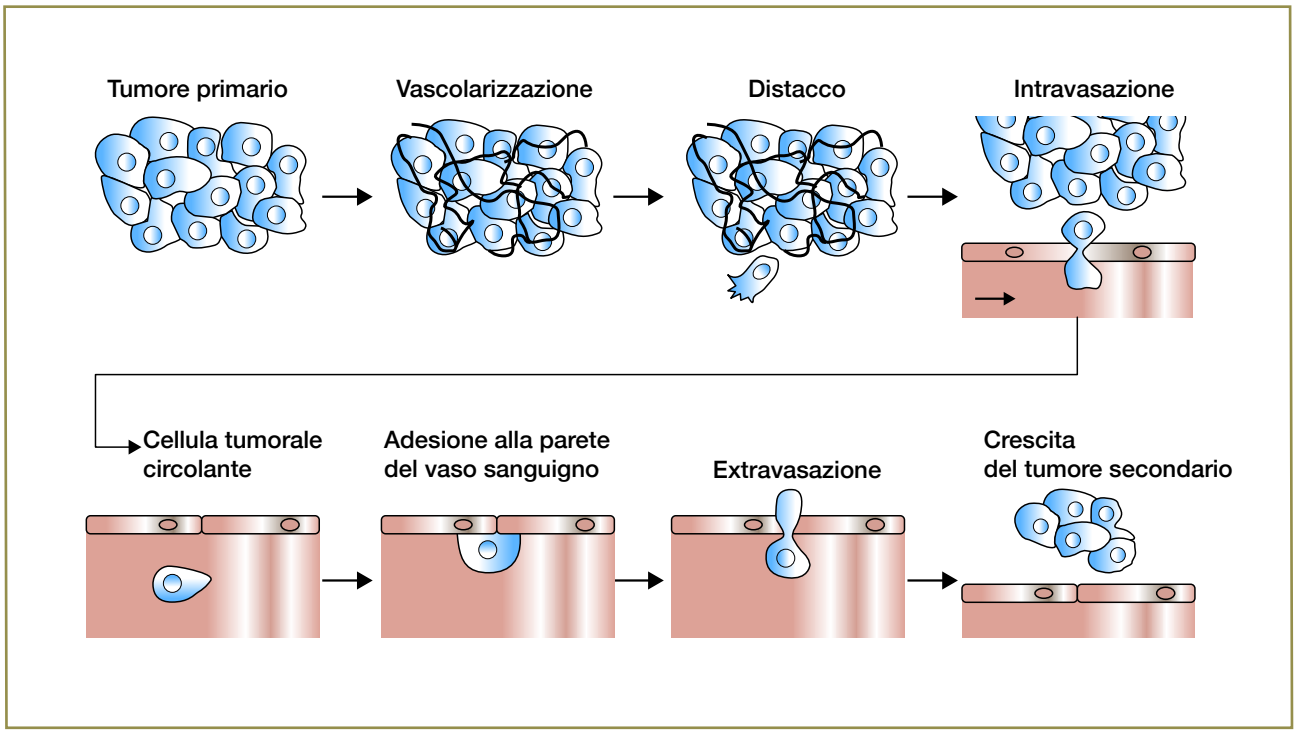


Ovviamente l'evoluzione delle conoscenze biologiche ha determinato il loro trasferimento direttamente nella pratica clinica apportando significative innovazioni nelle procedure e nel trattamento medico, chirurgico e radiante dei tumori che, unite alle possibilità diagnostiche di lesioni sempre più piccole, al di sotto delle evidenze cliniche, hanno consentito progressi inimmaginabili soltanto pochi decenni fa, determinando di fatto un cambio di paradigma anche nell'approccio clinico al cancro.

Le tappe del viaggio: le varie fasi

Nel processo di progressione e successiva metastatizzazione del tumore (**Figura 4**) la cellula deve necessariamente acquisire alcune specifiche proprietà (in forma di mutazioni) che le consentono di muoversi, invadere la ECM (matrice extra-cellulare), passare attraverso le cellule endoteliali che rivestono i vasi, sopravvivere in condizioni di distaccamento dal substrato e, una volta pervenuta nella nuova sede tumorale, adattarsi a una nuova condizione ambientale.
In questo processo la cellula deve acquisire delle proprietà specifiche (e quindi specifiche mutazioni)

Figura 4. Il processo metastatico



Adattato da Wirtz D, et al. The physics of cancer: the role of physical interactions and mechanical forces in metastasis. Nature Reviews Cancer, 2011

che le consentano di muoversi, invadere la matrice extra-cellulare, farsi strada tra le cellule endoteliali che rivestono i vasi, sopravvivere in condizioni di distacco dal substrato e, una volta arrivata nella nuova sede tissutale, adattarsi ad una nuova condizione ambientale.
Durante questo percorso agiscono forze fisiche che determinano e condizionane le varie tappe:

- distacco delle cellule tumorali dalla massa primitiva,
- intravasazione nel sistema circolatorio e linfatico,
- adesione alle pareti dei vasi sanguigni,
- extravasazione,
- colonizzazione di un nuovo tessuto con crescita e formazione di un nuovo tumore.

Fase di distacco

Nel corso della formazione e dello sviluppo di un tumore le cellule neoplastiche continuano ad accumulare mutazioni che permettono loro di acquisire nuove caratteristiche, come la capacità di proliferare più velocemente delle altre o quella di continuare a crescere anche quando nell'ambiente in cui si trovano non ci sono i segnali giusti per farlo.
Tra le varie mutazioni che si possono verificare, ce ne sono alcune che consentono ad alcune cellule di muoversi meglio: è questo ristretto gruppo di cellule tumorali a iniziare il viaggio. La prima barriera che le cellule tumorali devono superare è rappresentata dalla membrana basale, una struttura di sostegno sulla quale poggiano le cellule epiteliali stesse. Attraversandola, le cellule si spingono verso gli strati più interni del tessuto (lo stroma) fino a raggiungere i vasi sanguigni e quelli linfatici.
Per compiere questo primo tragitto, le cellule tumorali hanno bisogno di crearsi dei varchi tra le strutture dello stroma. Riescono a farlo in vari modi, per esempio aumentando la produzione di metalloproteasi, proteine che degradano le strutture fibrose dello stroma, oppure perdendo sempre più le proprie caratteristiche epiteliali (in virtù di variazioni del proprio programma genetico) per conquistarne altre, tipiche di cellule (dette "mesenchimali") che migrano di più.
Nel momento in cui una singola cellula si libera da un tumore e comincia a invadere il parenchima circostante, meccanismi di generazione di forza supplementari cominciano a regolarne il comportamento.
Le alterazioni nella struttura delle cellule tumorali e la meccanica durante il distacco e l'invasione sono accompagnati da cambiamenti reciproci nella topologia della ECM (organizzazione) e nelle proprietà dei materiali (meccanica). La fase di distacco risulta simile al processo di EMT (transizione epitelio-mesenchimale) dell'embriogenesi e consiste in:

- perdita di E-caderina (molecola di adesione intercellulare) e aumento di integrine e N-caderina,
- cambiamenti morfologici: le cellule da epiteliali cuboidi diventano mesenchimali,
- acquisizione di un fenotipo mobile per il tramite di aderenze focali, lamellipodi, filopodi, fibre di stress,
- contatto con la matrice extracellulare (ECM),
- espressione di metalloproteasi della matrice (MMPs) che promuovono la digestione delle proteine della ECM, in particolare laminina.

Fase dell'intravasazione

L'ingresso nella rete vascolare è noto in inglese anche come *intravasation*. Per attraversare la parete dei vasi, le cellule tumorali distruggono temporaneamente le giunzioni che saldano tra di loro le cellule endoteliali, cellule che rivestono il vaso stesso sostenendolo e allo stesso tempo permettendo di regolare gli scambi tra il lume del vaso e l'ambiente circostante. Entrate nel torrente circolatorio, le cellule tumorali sono soggette a diversi tipi di stress, visto che si trovano in un microambiente com-

pletamente diverso da quello nel quale si sono generate. Sottoposte alla corrente del flusso ematico, che le schiaccia e le deforma, imparano a sopravvivere in sospensione e ad evitare gli attacchi del sistema immunitario. L'impatto del flusso circolatorio e l'azione delle cellule del sistema immunitario (soprattutto le cellule *natural killer)* contribuiscono a eliminare più del 99%delle cellule tumorali circolanti. Le cellule tumorali vanno incontro a profonde trasformazioni morfologiche, guidate da rimodellamenti del citoscheletro che le rendono capaci di penetrare attraverso le giunzioni cellulari endoteliali. Si verificano i seguenti eventi**:**

- citoplasma - diventa maggiormente fluido e si comporta come materiale elastico ad alte velocità di deformazione e materiale viscoso a basse velocità di deformazione,
- nucleo - la sua elasticità è dovuta alla presenza di una lamina nucleare sottostante l'involucro nucleare, dall'organizzazione della cromatina, dal complesso LINC che mette in comunicazione nucleo e citoscheletro,
- citoscheletro - meno organizzato,
- ECM- meno rigida e con presenza di flusso interstiziale.

Non appena entrano nel torrente circolatorio, le cellule tumorali sono circondate dalle piastrine, che le avvolgono formando degli aggregati. Questo provoca due effetti: protegge le cellule tumorali dell'azione del sistema immunitario e ne favorisce l'adesione alla parete dei vasi. Da un lato, infatti, le piastrine secernono molecole che migliorano l'ancoraggio delle cellule tumorali alla parete dei vasi; dall'altro, richiamano globuli bianchi (in particolare i neutrofili), che tramite l'azione di molecole proinfiammatorie come le citochine, facilitano ulteriormente questa adesione.
Le piastrine hanno un ruolo importante nell'uscita delle cellule tumorali dal torrente circolatorio, tanto che in alcuni modelli animali la riduzione dei loro livelli inibisce la formazione di metastasi.

Sforzo di taglio e sistema circolatorio

Sulle CTS (cellule tumorali circolanti) agiscono forze emodinamiche, azione dello stress immunologico e potenza della collisione con altre cellule, che consentono loro di superare il cosiddetto *sforzo di taglio* (prodotto tra viscosità del fluido e velocità di taglio) e l'immunosorveglianza per aderire all'endotelio vascolare di organi distanti.
Una componente importante della resistenza di una cellula tumorale comporta la sua capacità di resistere alle sollecitazioni meccaniche non specifiche che derivano dalla crescita del tumore stesso, dall'omeostasi tissutale, e dal trasporto nel sistema linfatico e nel circolo ematico. Anche prima dell'inizio dei processi di invasione e metastatizzazione, l'espansione del tumore comprime la ECM circostante, che a sua volta comprime il flusso del sistema vascolare, del sistema linfatico e dello spazio interstiziale. Quando queste tensioni di compressione si manifestano nel tessuto simile al basale, come pancreas e cervello, si osserva che l'organizzazione della membrana basale viene compromessa e la combinazione con la forza di compressione sporgente verso l'esterno, facilita l'invasione delle cellule tumorali nel parenchima. Queste forze compressive contribuiscono direttamente alla presentazione clinica iniziale dei tumori, quali i sintomi di ipertensione endocranica che presentano

i pazienti con glioblastoma multiforme, o le ostruzioni biliari che sono spesso il segno iniziale del cancro pancreatico.
A livello istopatologico, queste sollecitazioni possono facilitare l'angiogenesi tumorale, aumentando l'espressione di VEGF, sia attraverso una sovraregolazione diretta della secrezione di VEGF o indirettamente attraverso l'induzione di ipossia. Le forze di compressione possono anche ridurre lo spazio interstiziale che circonda le strutture duttali, che possono a loro volta concentrare fattori di crescita e citochine, facilitando quindi, la segnalazione autocrina e paracrina e promuovendo la crescita del tumore. I cambiamenti associati al tumore della pressione interstiziale e la sollecitazione di compressione possono rappresentare un ostacolo per i farmaci antitumorali al raggiungimento dei tumori solidi. Queste pressioni possono essere composte da un irrigidimento stromale indotto dal tumore, che costringe il tumore ad esercitare una tensione più alta di quella che sarebbe necessaria in tessuto normale per poter espandersi.
Se una cellula tumorale oltrepassa con successo i confini della sua sede primaria e arriva al sistema vascolare o sistema linfatico diretta verso un sito metastatico, deve affrontare una nuova serie di forze meccaniche, in particolare quelle associate al flusso di fluido e le forze di taglio. Anche se il tumore primario viene asportato con successo, manipolazioni chirurgiche come irrigazione e aspirazione possono sottoporre le cellule tumorali a forze di taglio sostanziali o modelli alterati di flusso. Nelle cellule tumorali, l'esposizione alle forze di taglio può attivare vie di segnalazione specifiche che possono a loro volta indurre drammatica riorganizzazione del citoscheletro e delle molecole di adesione e in definitiva facilitare il rinforzo della struttura cellulare e il fissaggio alla parete vascolare.

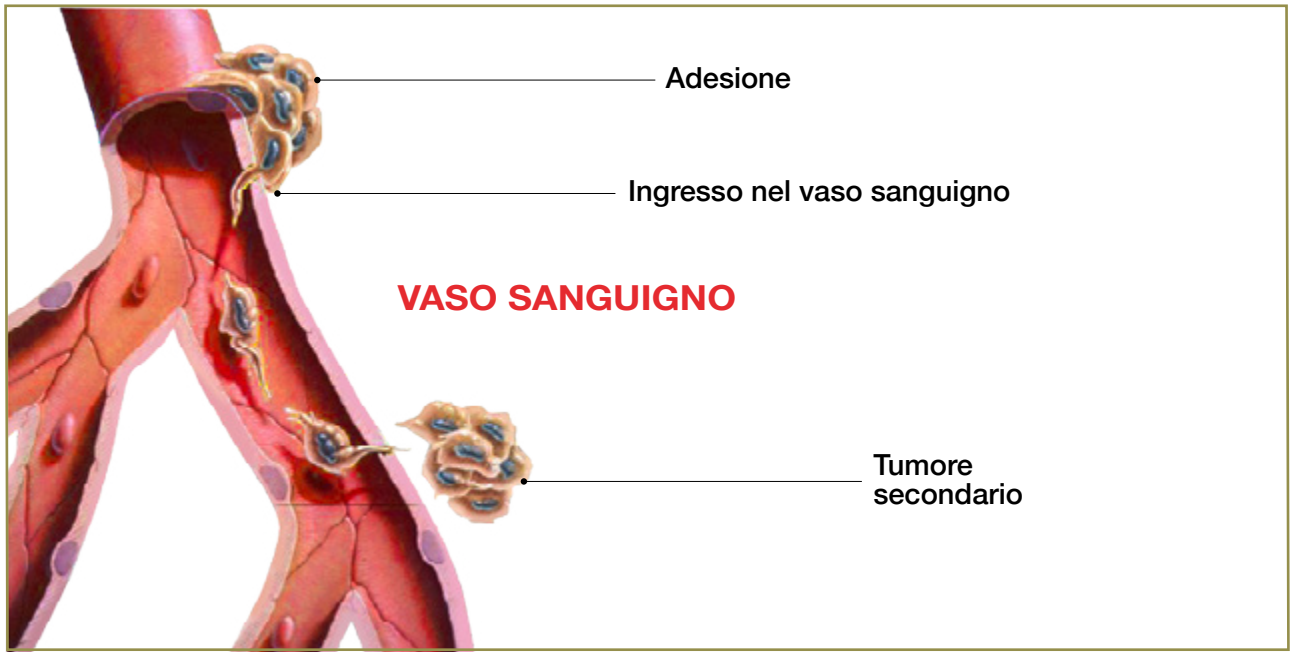
Fase dell'extravasazione di CTS

Solo pochissime cellule tumorali riescono ad ancorarsi alla superficie interna dei vasi e ad attraversarne, per la seconda volta, la parete. Questo processo è noto anche come *extravasation.*
Il fenomeno avviene generalmente a livello dei capillari, che avendo un calibro più piccolo degli altri vasi riescono in qualche modo a intrappolare le cellule in viaggio. In un secondo momento, proprio per il fatto di essersi fermate nel letto capillare, le cellule tumorali iniziano a interagire con quelle endoteliali dell'organo in cui sono arrivate. Questa interazione avviene tra alcune proteine presenti sulla superficie delle cellule tumorali (i ligandi) e specifici recettori sulle endoteliali. Si tratta di proteine normalmente coinvolte nei processi di adesione cellula-cellula o cellula-matrice extracellulare, come le integrine e le caderine oppure di molecole coinvolte nell'infiammazione, come le chemochine.
Prima di uscire dal sistema circolatorio e per poterlo fare la CTC deve arrestarsi e legarsi ad un vaso sanguigno attraverso due meccanismi chiamati occlusione fisica e adesione:

- occlusione fisica - se il diametro del vaso è inferiore al diametro della cellula l'arresto si verifica per intrappolamento meccanico specialmente in capillari e vasi con diametro >10 µmm.
- adesione - se il diametro del vaso è superiore al diametro della cellula la CTC deve prima aderire all'endotelio del vaso con specifici legami. La forza di adesione dipende dalla tensione di legami tra recettori e ligandi e dal numero dei legami "recettore-ligandi" coinvolti.

È dunque questa specificità d'interazione tra ligandi e recettori a "indicare" alle cellule tumorali dove è possibile riattraversare la parete vascolare e terminare il viaggio (**Figura 5**).
La maggior parte delle cellule tumorali passa negli interstizi tra una cellula endoteliale e l'altra, distruggendo temporaneamente le giunzioni cellulari e sgusciando tra gli spazi stretti che si ricavano.

Figura 5. Illustrazione del meccanismo di intravasation e di extravasation



Adattato da Clark AG, Vignjevic DM. Modes of cancer cell invasion and the role of the microenviroment. Curr Opin Cell Biol 2015, vol 36.

Natura delle interazioni "recettore-ligando" nell'adesione delle CTC

Le CTC possono sfuggire al sistema immunitario associandosi alle piastrine, le quali:

- facilitano l'adesione cellulare alle pareti dei vasi,
- mascherano e proteggono le CTC dai meccanismi di immunosorveglianza,
- rilasciano composti bioattivi come VEGF (fattore di crescita dell'endotelio vascolare) che promuovono la iperpermeabilità vascolare e quindi la extravasazione e l'angiogenesi.

Le CTC possono mimare il comportamento dei neutrofili attraverso legami mediati da selectine e tramite il rotolamento seguito da una forte adesione all'endotelio.
Inoltre, per l'interazione recettore-ligando le CTC esprimono sulla loro superficie glicoproteine sialofucosilate come CD44, CEA e PODXL (podocalixina) che sono riconosciute dalle E-selectine e P-selectine.

Diapedesi

Una volta che la cellula tumorale circolante è sopravvissuta nel torrente circolatorio e ha aderito all'endotelio di un tessuto bersaglio, essa deve attraversare la barriera endoteliale per colonizzare quel tessuto. Come accade ai leucociti durante una risposta infiammatoria, anche le cellule tumorali

aderenti vanno incontro a diapedesi. Questa attività richiede cambiamenti locali e dinamici nella meccanica della cellula neoplastica guidati dal rimodellamento del citoscheletro e si accompagna a riarrangiamenti nel citoscheletro di actina delle cellule endoteliali, che dunque modificano il loro proprio fenotipo meccanico.
In realtà i dettagli molecolari di questo processo complesso sono ancora poco chiari e si accompagnano a cambiamenti nell'espressione di molecole di adesione che determinano una transizione fenotipica dall'adesività.
Raggiunto il nuovo tessuto, le cellule tumorali possono entrare in uno stato di latenza, la dormienza, che può durare anche anni, oppure proliferare, dando luogo a micro-metastasi locali.
La maggior parte di esse, tuttavia, va incontro a morte cellulare per l'incapacità di adattarsi alle caratteristiche del nuovo microambiente.

Localizzazione dei siti metastatici

La quinta e ultima fase del processo di disseminazione metastatica è la colonizzazione dell'organo bersaglio, che avviene quando alcune micro-metastasi cominciano a proliferare in maniera sostenuta e a formare masse tumorali di dimensioni macroscopiche.
La localizzazione non è casuale e attualmente esistono due modelli per spiegarla:

- *ipotesi seme e suolo* - La cellula metastatizza siti in cui il microambiente è favorevole.

Nel 1889 il chirurgo inglese Stephan Paget evidenziò per primo un legame tra tumore primario e metastasi. Paget analizzò i risultati delle autopsie di oltre settecento donne che avevano sviluppato un cancro al seno e notò che esse avevano tumori anche in altri organi. Non tutti, però, erano colpiti allo stesso modo: le metastasi, infatti, erano più frequenti nel fegato, nell'ovaio e in alcune ossa, mentre erano più rare nella milza. Questa scoperta gli consentì di formulare l'ipotesi nota con il nome *di seed and soil* valida ancora oggi: come i semi per germogliare hanno bisogno di un terreno adeguato, così le cellule tumorali riescono a generare metastasi solo in alcuni organi. Oggi sappiamo che è l'interazione tra le cellule tumorali e quelle endoteliali a determinare dove le metastasi si sviluppano e che le cellule tumorali aderiscono preferenzialmente alla rete capillare del proprio organo bersaglio.

- *ipotesi meccanica* - La localizzazione del sito metastatico è influenzata dal flusso sanguigno e dal microambiente.

La migrazione tumorale è un fenomeno molto dinamico: le cellule tumorali sono influenzate continuamente dall'ambiente nel quale si trovano. Una delle grandi scoperte degli ultimi decenni è proprio l'aver compreso che il microambiente non è un ospite passivo nel quale si sviluppa il tumore. Il continuo scambio di segnali tra cellule tumorali e microambiente influenza reciprocamente l'uno e le altre e ha effetti su come si sviluppa il tumore. Per esempio, si è scoperto che le cellule tumorali riescono a "percepire" la rigidità della matrice extracellulare: più la matrice è rigida, per la presenza di fibre spesse e di molte connessioni tra loro, più le cellule ne sono attratte e si muovono nella sua direzione. Le cellule tumorali, mentre si muovono,

mostrano una tendenza ad allinearsi lungo strutture prestabilite, come le fibre di collagene o i vasi sanguigni o addirittura le fibre muscolari.
È il caso del melanoma, le cui cellule migrano collettivamente in modo molto veloce, formando lunghe file, e seguendo la via tracciata dalle fibre muscolari, per loro natura particolarmente strette e allungate. Quando invece si trovano in altri tessuti, come quelli ricchi di cellule adipose, si muovono in gruppi più ampi e disorganizzati, con diversi fronti, per cui ne deriva un movimento più sparso, lento e meno efficace.

PROSPETTIVE: LE CONNESSIONI TRA BIOCHIMICA E FISICA PER COMPRENDERE LA CRESCITA TUMORALE

Alcuni recenti studi pubblicati su autorevoli riviste hanno evidenziato come la relazione tra biochimica e fisica possa contribuire a spiegare alcuni aspetti ancora non completamente noti del processo di cancerogenesi.
Il primo studio ad opera di ricercatori della Università di Torino e della Duke University (USA) e pubblicato su la rivista *Cell* ha rivelato come l'integrazione tra segnali biochimici e meccanici, osservata negli organismi biologici sia implicata in processi fondamentali come lo sviluppo embrionale e nella crescita tumorale connettendo informazioni a livello molecolare e comportamenti collettivi della intera massa tumorale. Viene così offerta una interessante e dettagliata prospettiva su quanto succede all'interno di un gruppo di cellule sia di un embrione sia di un tumore e, allo stesso tempo, apre alla possibilità di poter interagire e modificare il comportamento di questo gruppo di cellule. Si tenta così di spiegare un nuovo meccanismo di interazione tra la forza che agisce sulle cellule e il controllo della crescita cellulare, ossia illustra come la fisica (le forze) possa influenzare la biologia (la divisione cellulare). Lo studio spiega come questo controllo avvenga in due direzioni: la biologia genera la fisica che a sua volta controlla la biologia. Alla base della insorgenza del cancro può esserci il malfunzionamento di questi meccanismi di controllo. Lo studio è stato condotto in ambito pluridisciplinare con la collaborazione di varie figure quali fisici, ingegneri, biologi cellulari, chimici, intenti ad osservare la relazione tra segnali biochimici e movimenti meccanici a partire dal processo di morfogenesi (sin dalla cellula fecondata) per estenderlo al processo neoplastico (sin dalla prima trasformazione cellulare). Questo processo richiede fin dai primi stadi di sviluppo un giusto posizionamento delle cellule unito ad un corretto ritmo di proliferazione. La perdita di sincronia in tali processi può essere alla base di importanti alterazioni dello sviluppo embrionario e anche di quello neoplastico.
Lo studio ha permesso di evidenziare che tale sincronia è legata alla distribuzione uniforme dei nuclei all'interno dell'embrione, realizzata attraverso una contrazione meccanica indotta da segnali biochimici. A ogni ciclo di divisione cellulare è dunque associato un flusso all'interno dell'embrione, che trasporta e riposiziona i nuclei, mantenendo così la loro sincronizzazione e il posizionamento, assicurando il corretto sviluppo dell'organismo.
I ricercatori, coinvolti nello studio, hanno utilizzato tecniche di imaging avanzato, sviluppate nell'ambito della ricerca oncologica che hanno consentito di misurare il movimento delle cellule tumorali, il loro posizionamento e l'orchestrazione fra ciclo cellulare e migrazione, aspetti notoriamente correlati alla progressione neoplastica, nonché alla risposta al trattamento farmacologico.

Un secondo studio, coordinato dalla Università di Padova e pubblicato su *Nature Cell Biology* svela un meccanismo che influisce sulla lunghezza dei mitocondri e determina il comportamento cellulare aprendo nuove prospettive per indurre nelle cellule risposte efficaci, in grado di contrastare le metastasi tumorali.

Il mitocondrio è un organello presente all'interno delle cellule con diverse funzioni, tra cui alcune fondamentali legate al metabolismo e alla produzione di energia. Pressoché tutte le cellule degli organismi eucarioti contengono numerosi mitocondri, che formano un'estesa rete filamentosa all'interno di ciascuna cellula. Questa rete va incontro a continue divisioni e fusioni che accorciano e allungano dinamicamente i singoli mitocondri.

Internamente i mitocondri presentano un'organizzazione strutturale molto particolare basata sulle *cristae,* che sono generate dall'invaginazione ripetuta della membrana mitocondriale interna, e sono compartimenti funzionali essenziali per la produzione di energia. Inoltre, sono strutture dinamiche che adattano la loro architettura in risposta agli stimoli, in particolare l'apoptosi (Quintana-Cabrera R, et al. 2018). Questi compartimenti comunicano con lo spazio intermembrana (spazio esistente tra la membrana mitocondriali interna ed esterna) attraverso strette giunzioni tubolari denominate *cristae junctions* (CJ), che agiscono come barriere di diffusione e delimitano spazialmente i processi biochimici associati alle cristae. In condizioni fisiologiche le CJ restano strette, mentre a seguito dell'attivazione del processo apoptotico si allargano e rilasciano le proteine solubili (citocromo c, AIF, etc..) nello spazio intermembrana, compromettono i processi metabolici mitocondriale ed innescano la cascata apoptotica (Quintana-Cabrera R, et al. 2018a). Tre grandi complessi controllano la biogenesi, la struttura e la funzione delle cristae: OPA1, i dimeri dell'ATP-sintasi ed il complesso MICOS (*Mitochondrial contact site and cristae organizing system*) (Yang Z, et al. 2022).

La riprogrammazione metabolica consente la sopravvivenza e la crescita delle cellule tumorali, che sono caratterizzate da un'elevata richiesta di ATP ed intermedi metabolici, necessari per i processi di biosintesi, per la replicazione cellulare e l'attivazione di meccanismi per tollerare stress associati alla malignità (stress ossidativo, ipossia, etc). I mitocondri sono importanti mediatori della tumorigenesi e della progressione del cancro, grazie alla loro flessibilità nell'adattarsi alle alterazioni cellulari e ambientali. (DeBerardinis RJ, et al. 2016; Ward PS, et al. 2012; Pavlova NN, et al. 2016; Vyas S et al. 2016).

Il meccanismo indagato sembra in grado di regolare la lunghezza dei mitocondri in risposta alle condizioni meccaniche del microambiente cellulare. Tali condizioni includono, per esempio, lo stiramento della pelle oppure la reazione dei vasi sanguigni alle sollecitazioni provocate dallo scorrimento del sangue sulle loro pareti.

È stato evidenziato che i mitocondri funzionano come una sorta di "centralina di controllo" in grado di accendere e spegnere in maniera coordinata tre importanti "interruttori" molecolari. In questo modo i segnali meccanici riescono a controllare, tramite un unico meccanismo, diverse funzioni della cellula, inclusa la capacità di produrre nuove molecole con attività antiossidante, di accumulare energia sotto forma di lipidi, di regolare la proliferazione e di mantenere la propria identità. In questo studio è stato dimostrato sperimentalmente che tale funzione ha rilevanza in diversi contesti, compreso il differenziamento di cellule staminali in adipociti, il corretto funzionamento delle cellule del fegato, e la resistenza delle cellule tumorali metastatiche alla chemioterapia.

Lo studio è nato nel contesto della meccano-biologia, una branca della biologia che si occupa di

studiare le interazioni tra i sistemi biologici e le proprietà meccaniche della materia. Il gruppo di ricercatori della Università di Padova è stato tra i primi a sviluppare studi di meccano-biologia in Italia, e oggi si occupa di studiare come le cellule "sentono" le proprietà meccaniche del proprio microambiente (ad esempio la sua elasticità), e quali possono essere gli effetti di queste proprietà sul comportamento cellulare.

I risultati ottenuti hanno rivelato un fine meccanismo molecolare basato su una proteina localizzata sulla superficie dei mitocondri, chiamata MIEF1 (dal nome per esteso in inglese: *MItochondrial Elongation Factor 1*). Quando le cellule ricevono intensi stimoli meccanici, la proteina MIEF1 viene fosforilata, e questo diminuisce la sua capacità di reclutare sulla superficie del mitocondrio una seconda proteina, chiamata DRP1, che agisce da "forbice molecolare" spezzettando i mitocondri e quindi accorciandoli. La conoscenza di questo nuovo meccanismo molecolare apre la strada, prima di tutto, a ulteriori ricerche, perché fornisce alla comunità scientifica una nuova "lente" con cui capire alcuni processi biologici in cui la meccanica dei tessuti svolge un ruolo importante.

È stato annunciato che lo studio proseguirà continuando a identificare e sviluppare piccole molecole ad azione farmacologica, in grado di regolare la lunghezza dei mitocondri, e di conseguenza la risposta delle cellule agli stimoli meccanici. Queste molecole potrebbero rappresentare la base per sviluppare farmaci in grado di "correggere" le risposte cellulari ai difetti meccanici che si pensa siano alla base dello sviluppo di alcuni tumori o di alcune malattie cardiovascolari. Oppure tali farmaci potrebbero agire "forzando" queste risposte quando ciò sia utile per prevenire reazioni patologiche o maligne.

Infine, il nuovo meccanismo individuato potrebbe portare allo sviluppo di marcatori per capire se e quando una cellula all'interno di un tessuto sta ricevendo un segnale di tipo meccanico, con beneficio sia per la ricerca fondamentale che per la ricerca applicata.

Un terzo studio italiano condotto dall'IFOM e dall'Università degli Studi di Milano e pubblicato su *Nature Materials* ha dimostrato, grazie all'integrazione tra biologia molecolare e fisica dei materiali, che la capacità o meno delle cellule di migrare collettivamente, e quindi delle cellule tumorali di generare metastasi, dipende strettamente dai fattori di densità e di fluidità. Si tratta di un'acquisizione fondamentale soprattutto per la metastatizzazione di tumori solidi e individuare la chiave per bloccare la "folla" cellulare potrebbe fornire la chiave per ridurne la diffusione nell'organismo agendo su specifici target terapeutici.

Si spostano in gruppo, secondo una modalità collettiva coordinata, come una folla che si accalca nell'angusto tunnel di una stazione di metropolitana nell'ora di punta e riesce a transitare in modo fluido solo se confluisce in un flusso di corrente compatto e ordinato. Analogamente, le cellule adottano la migrazione collettiva come strategia di movimento principale nella formazione dei tessuti durante lo sviluppo dell'embrione così come nell'organismo adulto, passando dallo stato liquido a solido e viceversa, a seconda dalla necessità. La transizione da uno stato fluido a solido è necessaria per sviluppare, ad esempio, la proprietà cellulare di barriera tra l'esterno e l'interno in un tessuto e, al contrario, acquisire uno stato fluido può permettere a un tessuto di rimodellarsi, come nel caso di riparazione delle ferite. Solidificandosi un tessuto diventa refrattario allo sviluppo di tumori, mentre lo stato fluido ne facilita la plasticità, che in situazioni patologiche può essere sfruttata per facilitarne la disseminazione come nella metastatizzazione dei tumori solidi.

Pressoché tutti i tessuti epiteliali e i tumori solidi si spostano difatti in modo collettivo, ottenen-

do così maggiore efficacia nell'invadere l'organismo attraverso tessuti interstiziali e nell'ingenerare quindi tumori a distanza.
Le leggi che governano il movimento multicellulare e la transizione tra stato solido e liquido sono ancora scarsamente conosciute, così come lo sono le basi molecolari e biochimiche che le controllano. Questo studio pubblicato su *Nature Materials* ha segnato un passo avanti nella comprensione di questi meccanismi, grazie ad un approccio di ricerca integrato tra biologia e fisica dei materiali. Nel corso degli ultimi anni è emerso come lo sviluppo di un tumore sia caratterizzato oltre che da alterazioni genetiche anche da complesse e dinamiche interazioni fisiche che le cellule tumorali stabiliscono tra di loro e con il tessuto circostante. Le forze che tengono unite le singole cellule per muoversi in modo coordinato, come le cellule comunicano tra di loro, come passano dallo stato solido a liquido e viceversa sono aspetti altrettanto importanti ma ancora oscuri.
Un quarto studio ad opera di ricercatori del Cancer Moffit Center e pubblicato su *Cancer Research* ha utilizzato metodi e mezzi matematici per considerare le innumerevoli variabili nella ricerca della identificazione di nuovi modi per comprendere il cancro, mostrando come diverse popolazioni di cellule tumorali interagiscono tra di loro e rispondono ad un ambiente mutevole allo scopo di incentivare cambiamenti nell'ambiente e promuovere la crescita delle cellule meno aggressive per ostacolare la crescita della massa tumorale. In tal modo sono state identificate due diverse popolazioni di cellule che coesistono in molti tipi di tumore: una di cellule aggressive che tende ad invadere lo spazio circostante, migrare e a formare metastasi e l'altra non invasiva che è soggetta a rimanere in un unico luogo e contribuisce a produrre i vasi sanguigni. Inoltre, è stato visto che piccoli cambiamenti del pH all'interno del tumore, può modificarne l'equilibrio favorendo le cellule non invasive.
Una proprietà riconosciuta dei sistemi dinamici complessi è l' "effetto farfalla", che sostiene che un battito di ali di una farfalla in Giappone può causare un tornado in Texas: *piccole variazioni nelle condizioni iniziali possano provocare grandi variazioni nel comportamento a lungo termine di un sistema*. La tendenza di sistemi complessi ad ingrandire una piccola perturbazione (cioè il battito di ali di una farfalla) può essere effettivamente sfruttata così che *i tumori possano essere guidati in un modello di crescita meno invasivo con l'applicazione di una piccola forza biologica.*
Questo cambio di prospettiva apre nuove possibilità per la ricerca e, in futuro, anche per la pratica clinica. Studiare le proprietà fisiche del tumore potrebbe aiutare a riconoscere con maggiore precisione le forme più aggressive, prevederne l'evoluzione e sviluppare strategie terapeutiche mirate non solo ai meccanismi molecolari, ma anche ai fattori fisici che favoriscono la diffusione tumorale.
Infine, un ultimo studio del maggio 2021 pubblicato sulla rivista *Frontiers in Oncology* si basa su un parallelismo concettuale fra di accrescimento e feedback di buchi neri supermassicci al centro di galassie attive e tumori individuando nell'approccio multi-scala la possibilità di mutuare nell'ambito medico oncologico modelli matematici utilizzati nell'ambito astrofisico e viceversa. Il metodo si basa sulla scomposizione di un fenomeno complesso che agisce su diverse distanze o scale per descriverne il comportamento in una serie di gusci concentrici che vanno dal piccolo al grande, dal locale al globale.
Si perviene alla considerazione che le problematiche scientifiche legate alla fisica dei buchi neri nelle galassie attive e l'evoluzione tumorale mostrano entrambe complessità comprensibili solo attraverso un approccio multi-scala in cui processi apparentemente sconnessi e inconciliabili sono invece con-

nessi tra di loro le diverse scale fisiche e di conseguenza gli approcci matematici e statistici sviluppati in oncologia per studiare fenomeni estremamente complessi e dipendenti da molti parametri potrebbero essere mutuati dagli astrofisici per investigare lo scambio di energia e materia dei nuclei galattici attivi su galattiche.
In astrofisica vanno considerati gli ordini di grandezza quando si studiano i fenomeni di accrescimento e feedback dei buchi neri supermassicci al centro delle galassie attive (Agn): si passa dalle dimensioni del nucleo galattico attivo (in milliparsec) a quelle dell'intera galassia (in kiloparsec). La strategia di scomporre il problema utilizzando un approccio multiscala si avvale dello studio teorico e osservativo concentrato su tre livelli: micro (Agn), meso (dimensioni della galassia), macro (scale dell'alone galattico).
L'approccio proposto per lo studio dei buchi neri risulta applicabile anche in oncologia perché i fenomeni da considerare avvengono su sei ordini di grandezza diversi, dalla scala cellulare (del micrometro) fino alla scala del corpo umano (metro). Quindi si possono individuare tre scale: *micro,* interno alle cellule tumorali, *meso,* all'interazione tra tumore e sistema immunitario, *macro,* tra sede primaria tumorale e metastasi.
Prevedere mediante modelli matematici definiti il comportamento di una neoplasia in termini di crescita, interazioni con le cellule del sistema immunitario, capacità di metastatizzare in sedi e in tempi prestabiliti avrebbe un impatto fondamentale nel trattamento e nel follow-up dei pazienti con un decisivo passo in avanti verso le terapie personalizzate.
Ci può essere un parallelismo tra lo studio su livello multiscala di una galassia con al centro un buco nero ed un corpo umano nel quale si è instaurato un microambiente tumorale.
Nel caso astrofisico si parte dalla scala micro, relativa al nucleo galattico, attivo con al centro il buco nero supermassiccio in accrescimento e da cui possono essere lanciati getti e venti di materia molto veloci. Alla scala intermedia, meso, vi è l'interazione tra i venti e i getti prodotti dal buco nero centrale e il mezzo interstellare della galassia ospite. Infine, a livello macro, nell'alone della galassia ospite o nell'ammasso di galassie, il gas risultante del feedback si raffredda, si condensa e in parte cade verso le zone centrali dando di nuovo origine al ciclo di accrescimento e feedback
Nel caso oncologico uno degli strumenti caratteristici del microambiente tumorale è l'infinita serie di informazioni che le cellule tumorali si scambiano tra di esse, con il sistema immunitario e con le cellule tumorali a distanza.
Milioni di messaggi contenuti in microvescicole liberate dalle cellule del tumore primario permettono allo stesso tumore di crescere, invadere, inibire l'attività del sistema immunitario e colonizzare determinate sedi a distanza. A sua volta le informazioni che il tumore primitivo riceve dal microambiente circostante costituiscono un sistema di feedback in grado di contribuire alla crescita della malattia, all'acquisizione della resistenza ai farmaci, ai meccanismi di escape tumorale.
Le analogie tra i due approcci multiscala nello studio del ciclo di accrescimento e feedback dei buchi neri supermassicci e l'ambiente di evoluzione tumorale si sono dimostrate utili per un proficuo scambio di modelli matematici tra astrofisica e oncologia.

Importanza delle leggi di scala in natura

È stato Galileo a capire per primo l'importanza che rivestono le *Leggi di Scala* nella natura.
Così scrive nel 1563 in "Discorsi e dimostrazioni matematiche intorno a due nuove scienze":

"…Or vegghino [...] come anco non potrebbe la natura far alberi di smisurata grandezza, poiché i rami loro, gravati dal proprio peso, finalmente si fiaccherebbero; e parimente sarebbe impossibile far strutture di ossa per uomini, cavalli o altri animali, che potessero sussistere e far proporzionatamente gli uffizii loro, mentre tali animali si dovesser agumentare ad altezze immense, se già non si togliesse [=prendesse] materia molto più dura e resistente della consueta, o non si deformassero tali ossi, sproporzionatamente ingrossandogli, onde poi la figura ed aspetto dell'animale ne riuscisse mostruosamente grosso…"

Galileo si interroga sull'effetto di una dilatazione di uno stesso fattore di tutte le dimensioni lineari di un essere vivente e, ad esempio, conclude che negli animali lo spessore e la lunghezza del femore sono tra loro proporzionali: s α l3/2 [2]. Se ciò non succedesse allora un simile animale gigante non si reggerebbe sotto il suo peso e di nuovo conclude che lo scheletro degli animali di grossa taglia occupa, in proporzione, un maggior volume rispetto a quanto avviene in animali più piccoli. Questo concetto viene oggi espresso tramite l'invarianza di scala, ossia la dilatazione di una determinata legge che continua a valere su svariati ordini di grandezza. Nell'esempio sopra citato, se scaliamo s e l di uno stesso fattore, la relazione di proporzionalità continua ancora a valere. Tali leggi hanno giocato un ruolo non secondario nello sviluppo di teorie fisiche (ad esempio i fenomeni critici) ed il loro emergere in ambito biologico fa ritenere che possano assumere un ruolo altrettanto importante poiché suggeriscono un principio comune alla base di fenomeni molto diversi i quali avvengono appunto su scale non paragonabili. Inoltre, l'universalità di certe relazioni è osservata anche in altri campi come geografia, economia, linguistica ecc. Da un punto di vista matematico, queste leggi vengono chiamate leggi di potenza e sono espresse dalla seguente formula:

$$y(x) = y0xk$$

dove y rappresenta una qualche variabile osservabile, y0 è una costante e x è la variabile indipendente.
In ambito biologico le variabili sono dette allometriche (per accrescimento relativo di un organo o di una parte di organismo rispetto a tutto il corpo) e, per esempio, *x* può rappresentare la massa degli organismi. Per visualizzare queste leggi si fa spesso uso di un grafico "log-log" che permette di linearizzare la relazione e trovare il parametro *k* come pendenza della retta:

$$log(y(x)) = log(y0) + k \cdot log(x)$$

Alcuni esempi di variabili allometriche sono: tasso metabolico, lunghezza di vita, tasso di crescita, battito cardiaco, lunghezza dei genomi.

CONCLUSIONI

Il cancro è una patologia altamente eterogenea che si fonda sull'acquisizione, da parte di cellule normali, di caratteristiche aberranti quali l'iperproliferazione, l'immunoevasione e la deregolazione energetica. Le attività di ricerca della biologia del cancro utilizzano vari approcci per investigare que-

ste cause scatenanti tramite studi computazionali e sperimentali di genetica e biologia molecolare e completano la definizione di caratteristiche aberranti oncologiche attraverso analisi biochimiche, metaboliche e trascrizionali. L'ambito mira anche a comprendere l'azione molecolare di patogeni (virus e batteri) oncogenici e, in generale, a identificare nuovi bersagli molecolari e approcci terapeutici per la cura del cancro.

Pertanto, mentre la biologia del cancro si focalizza sulle mutazioni del DNA e sulle vie metaboliche, la biofisica osserva come la cellula interagisce fisicamente con l'ambiente. Questa prospettiva è fondamentale per sviluppare nuovi approcci terapeutici che mirano a colpire non solo i geni, ma anche le proprietà strutturali del tumore.

Negli anni passati, i contributi alla ricerca sul cancro sono emersi in modo sporadico da diversi ambiti della fisica, tra cui, fra gli altri, la biofisica, la biomeccanica, la fisica della materia soffice e la meccanica statistica dei sistemi complessi. La biofisica cellulare sta diventando un campo maturo, sia dal punto di vista sperimentale sia teorico. Diventa sempre più chiaro che le forze meccaniche svolgono un ruolo cruciale in molte funzioni biologiche fondamentali, come la divisione cellulare, e in processi tipici del cancro, quali la metastasi. Misure biofisiche che confrontano le proprietà meccaniche delle cellule normali e di quelle tumorali hanno mostrato in modo coerente che le cellule tumorali sono più morbide di quelle normali e che questa maggiore deformabilità correla con un aumentato potenziale metastatico. Ciò è legato al fatto che un citoplasma più morbido corrisponde a una minore organizzazione citoplasmatica.

La fisica della materia soffice studia materiali come colloidi e polimeri che hanno una rilevanza diretta per la biologia, e la distanza tra questi due campi si sta rapidamente riducendo. Infine, metodi derivati dalla meccanica statistica dei sistemi complessi fuori dall'equilibrio sono stati applicati a una vasta gamma di problemi biologici, che spaziano dal ripiegamento delle proteine all'analisi dei dati genetici. Queste attività di ricerca, estremamente promettenti e innovative, stanno attualmente dando forma a un nuovo campo scientifico basato sulla fisica del cancro.

BIBLIOGRAFIA

- Albini A, et al. The "chemoinvasion assay": a tool to study tumor and endothelial cell invasion of basement membranes. International Journal of Developmental Biology 2004; 48, 563-571.
- Ball P. Killing me softly. Physics world 2013.
- Bruni L., et al. Crescita tumorale in vitro: misure di K+ extracellulare. Soc It. di Fisica XCVIII Congresso. Napoli, 17-24 settembre 2012.
- Clark AG, Vignjevic DM. Modes of cancer cell invasion and the role of the microenvironment, in Curr Opin Cell Biol, 2015, vol. 36, pp. 13-22.
- Calabrese P, Shibata D. A simple algebric cancer equation:calculating how cancers may arise with normal mutation rates, BMC Cancer 2010; 10,3. (doi:10.1186/1471-2407-10 3)
- Cao Y, et al. Cancer research: past, present and future. Nature Reviews Cancer 2011; 11, 749-754.
- Darci T, et al. A tense situation: forcing tumour progression, Nature Reviews Cancer (February 2009); 9, 108-122.
- Dattoli G, et al. ENEA Tecnologie Fisiche e Nuovi Materia li, Leggi di scala in biologia e dinamica dello sviluppo delle masse tumorali, Centro Ricerche Frascati (2009)
- DeBerardinis RJ, et al. Sci Adv 2016; 2: e1600200. Fundamentals of cancer metabolism.
- Del Dotto V, et al. Eight human OPA1 isoforms, long and short: what are they for Biochim. Biophys. Acta Bioenerg 2018; a.1859: 263–269.
- Del Dotto V, et al. OPA1: how much do we know to approach therapy? Pharmacol. Res. 2018b; 131: 199-210.
- Cukierman E, Bassi DE. Physico-mechanical aspects of extracellular matrix influences on tumorigenic behaviors.

Seminars in Cancer Biology June 2010, Volume 20, Issue 3, Pages 139-145.
- Erin L, et al. Extracellular Matrix Stiffness and Architecture Govern Intracellular Rheology in Cancer. Biophysical Journal 19 August 2009, Volume 97, Issue 4, 1013-1021.
- Dell H. Seed and soil hypothesis. Observations from a ploughman, in Nature Milestones Cancer, 2006.
- 15. Faccenda D, et al. Control of Mitochondrial Remodeling by the ATPase Inhibitory Factor 1 Unveils a Pro-survival Relay via OPA1. Cell Reports 2017, 18: 869-1883.
- Feynman R, et al. The Feynman Lectures on physic, Volume 1: Mainly mechanics, radiation, and heat, California Institute of Technology (1964).
- Galilei G. Discorsi e Dimostrazioni matematiche intorno a due nuove scienze, Op: Galileo, Bompiani, 1989
- http://cancerres.aacrjournals.org/content/77/9/2242
- https://moffitt.org/newsroom/press-release-archive/2017/moffitt-researchers-demonstrate-mathematical-modeling-can-identify-ways-to-limit-aggressive-tumor-cell-growth/
- Ksiazkiewicz M, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition: A Hallmark in Metastasis Formation Linking Circulating Tumor Cells and Cancer Stem Cells. Pathobiology 2012; 79, 195-208.
- Kumar S, et al. Mitochondrial dynamics regulators: implications for therapeutic intervention in cancer. Cell Biol Toxicol. 2021 Oct 18.
- Kumar V, et al. Pathology basis of disease, 8° edizione Saunders/Elsevier, cap. 7 (2007)
- Lopez JI, et al. In situ force mapping of mammary gland transformation. Integr. Biol., 2011; 3, 910-921.
- Du Y, et al. Analysis of Stiffness in Extracellular Matrix Embedded with Bio-Conjugated Magnetic Beads in a Magnetic Field, International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, Vol. 2, No. 5, September 2012
- La Porta C, Zapperi S. The Fisic of Cancer, Cambridge University Press
- Malinverno C, et al. Endocytic reawakening of motility in jammed epithelia, Nature Materials 2017
- Maniero F. Cellula. Matrice extracellulare, Enciclopedia della Scienza e della Tecnica (2007)
- Alexander NR, et al. Weaver Extracellular Matrix Rigidity Promotes Invadopodia Activity, Current Biology 9 September 2008, Volume 18, Issue 17, 1295-1299.
- Parisi G. Simmetrie Nascoste, ed. Rizzoli, Milano, 2025
- Pavlova NN, et al. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. Cell Metabolism 2016; 23: 27-47.
- Pengfei Lu, et al. The extracellular matrix: A dynamic niche in cancer progression, J Cell Biol. Feb 20, 2012; 196(4): 395–406 45.
- Santoni M, et al Conceptual Analogies Between Multi-Scale Feeding and Feedback Cycles in Supermassive Black Hole and Cancer Environment, Frontiers in Oncology, vol 11, 2021
- Gasparei M, et al. Liking macro-, meso- and microscales in multiphase AGN feeding and feedback., Nature Astronomy, 2022
- Schroedinger E. What is life? La cellula vivente dal punto di vista fisico, Cambridge University (1947).
- Hanahan D, Weinberg RA "The hallmarks of cancer". Cell 2000; 100:57-70.
- Hanahan D, Weinberg RA. "Hallmarks of cancer: the next generation". Cell. 2011; 144:646-674.
- Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. Cancer Discov 2022; 12:31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059
- Mahoney L., Csima A. Efficiency of palpation in clinical detection of breast cancer. Can Med Assoc J. 1982; 127:72
- Vyas S, et al. Mitochondria and Cancer. Cell 2016; 166: 555–566.
- Voet (2013) Fondamenti di biochimica.
- Wai T, et al. Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation.Trends Endocrinol Metab 2016; 27:105-117.
- Warburg O. On the origin of cancer cells. Science 1956 (New York, N.Y.) 123, 309-14.
- Ward PS, et al. Metabolic Reprogramming: A Cancer Hallmark Even Warburg Did Not Anticipate. Cancer Cell 2012; 21: 297-308.
- Wirtz D, Konstantopoulos K, Searson PC. The fisic of cancer: the role of physical and mechanical forces in metastasis, Nature Reviews Cancer2011, Vol. 11, 522.

© 2026 MENTHALIA®