

OMEOSTASI, COMPLESSITA' E CAOS: UN'INTRODUZIONE

Paolo Bellavite^a, Giancarlo Andrighetto^b e Mario Zatti^c

^a Professore Associato di Patologia Generale

^b Professore Associato di Immunopatologia

^c Professore Ordinario di Biochimica Clinica

Università di Verona

CAPITOLO 1.

IL PROBLEMA DELLA COMPLESSITA'

Omeostasi e caos sono due termini in apparente contraddizione tra loro. Soprattutto se si considera il campo della medicina, il concetto di *omeostasi* è molto più “rassicurante” di quello di *caos*, sia perché si tende a considerare la salute come un equilibrio stazionario e la malattia come la rottura di esso, sia perché lo studio scientifico dell'omeostasi è molto più datato e consolidato rispetto a quello del caos. Tale contraddizione è solo apparente perché, come si illustrerà in questo lavoro, l'omeostasi ha molti aspetti caotici, mentre il caos nasconde spesso delle regolarità, le quali cominciano ad essere comprese nel dominio teorico e sperimentale della scienza moderna.

Negli ultimi 10-15 anni è cresciuto l'interesse verso lo studio della teoria del caos ed anche delle sue possibili applicazioni in biologia e in medicina. Nel suo libro fondamentale *The Fractal Geometry of Nature*, Benoit Mandelbrot suggerì che la costruzione di una matematica e di una geometria che tentino di analizzare i fenomeni caotici e le dimensioni frazionarie (da cui il termine *frattale* da “fractus”, rotto) si sarebbe dimostrata sempre più utile nella caratterizzazione dei fenomeni naturali [Mandelbrot, 1982]. Ciò si sta avverando in molteplici campi della scienza e la medicina non fa eccezione [Mackey and Glass, 1977; Goldberger and West, 1987; Hess and Marcus, 1987; Casati, 1991; Nicolis e Prigogine, 1991; Cramer, 1993; Nonnemacher et al., 1994; Vulpiani, 1994]. La ragione di questo nuovo interesse per la teoria del caos e dei frattali (come vedremo, le due questioni sono strettamente correlate), sta essenzialmente nella presa di coscienza della multiforme complessità insita nella struttura e nella funzione dei sistemi viventi, complessità riscontrabile su qualsiasi scala li si consideri, dalle singole molecole (biologia molecolare) alle cellule (biologia cellulare), all'organismo nel suo insieme (medicina clinica).

Uno dei maggiori problemi che si trova di fronte la scienza biomedica moderna è la costruzione di modelli descrittivi e predittivi dell'organismo e del suo

comportamento in condizioni di salute e di malattia, utilizzando l'enorme quantità di conoscenze derivanti soprattutto dalla biologia molecolare ed integrandole in un quadro d'insieme. L'affronto di questo problema necessita di un nuovo quadro concettuale, che non è fornito dalla biologia molecolare stessa. E' facile dimostrare, infatti, che con il progredire della complessità nel corso dell'evoluzione si formano strutture o organismi in cui l'insieme acquista nuove proprietà che nascono dall'*interazione* delle sub-componenti, ma che non sono in esse contenute. Ad esempio, una proteina è fatta di molti aminoacidi, ma alcune sue proprietà, come potrebbero essere quella enzimatica, o quella tossica, o quella anticorpale, dipendono dall'esistenza di un *insieme ben organizzato*; nessun aminoacido ha di per sé quelle proprietà, tanto è vero che gli stessi aminoacidi, disposti in diverse sequenza, hanno diverse funzioni.

Si tratta di una questione non nuova nel mondo scientifico, con cui si è cimentata per prima la fisica, allorché, nei primi anni di questo secolo, essa si è trovata a verificare l'infondatezza della speranza di costruire un quadro completo della realtà sulla base delle conoscenze acquisite sulle particelle elementari o sulle forze fondamentali: l'interazione di componenti di un sistema fisico su una scala di osservazione porta a un comportamento globale complesso su una scala più ampia che in generale non può essere previsto dalla conoscenza delle componenti individuali. Una delle maggiori acquisizioni della teoria del caos è che tale imprevedibilità non è dovuta alla mancanza di informazioni sul sistema stesso, non può essere colmata dall'acquisizione di nuove informazioni, bensì è una proprietà intrinseca dei sistemi fisici, che si manifesta in modo più o meno evidente a seconda delle condizioni interne o esterne al sistema stesso. La teoria del caos ha dimostrato inequivocabilmente che i sistemi dinamici (cioè quelli che evolvono nel tempo) possono presentare comportamenti che *non sono di regola* predicibili.

Tuttavia, questo aspetto della complessità che parrebbe porre un limite alla conoscenza scientifica, cioè la perdita di possibilità di previsione globale, ha un risvolto positivo: la natura può impiegare il caos in modo costruttivo. Attraverso

l'amplificazione di piccole fluttuazioni, essa può fornire ad un sistema naturale l'accesso alla novità e alla flessibilità rispetto al mutare dell'ambiente. Una preda che sfugga all'attacco di un predatore può usare un volo caotico per sorprendere il predatore stesso. Il sistema immunitario che tende a combattere i microrganismi può usare un gene caotico per produrre anticorpi della qualità adatta a reagire col microbo. L'evoluzione biologica chiede variabilità ed il comportamento caotico dei sistemi fornisce una sorta di “strutturazione” a tale variabilità, in modo che essa può essere in qualche modo controllata e posta al servizio dell'evoluzione stessa.

Lo studio dei sistemi caotici, sia di tipo puramente matematico che di tipo naturale, ha evidenziato che anch'essi possono presentare delle regolarità. Ad esempio, le onde del mare, o le onde della sabbia del deserto, hanno regolarità pur nell'andamento caotico. Così anche le forme delle nuvole, delle coste, delle montagne, presentano ripetizioni di forme a seconda del determinarsi di condizioni fisiche adeguate. Mentre la geometria euclidea e il calcolo analitico hanno permesso di formulare delle leggi che descrivono con sufficiente approssimazione sistemi naturali come il moto dei pianeti e sistemi meccanici semplici, più recentemente con l'avvento dei computers si è sviluppata la geometria frattale e la matematica del caos, un nuovo tipo di geometria e di matematica, che si interessano di entità discrete anziché continue serie di punti e cercano soluzioni approssimate a equazioni iterative.

Si sta quindi sviluppando in campo scientifico il tentativo ambizioso, e allo stesso tempo difficile, di scoprire delle regolarità, delle leggi, applicabili anche ai fenomeni naturali complessi, alla biologia e alla medicina. E' oggi possibile sottoporre sistemi fisici, chimici o meccanici che generano comportamenti caotici a manipolazioni sperimentali. Ad esempio, recentemente è stata fornita un'elegante dimostrazione del fatto che un sistema caotico (rappresentato in questo caso dalle oscillazioni di un'asta flessibile accoppiata ad un magnete che genera impulsi alle frequenze desiderate) può essere regolato da minime perturbazioni dei parametri di controllo del sistema [Shinbrot et al., 1993]. Variando di poco le

frequenze degli impulsi erogati dal magnete, si può far comparire e scomparire il comportamento caotico delle vibrazioni. Benché il meccanismo utilizzato sia piuttosto semplice, esso presenta dinamiche caotiche complesse, così che gli autori suggeriscono che da questi esperimenti si possono trarre indicazioni di carattere generale sui sistemi caotici. Fra l'altro, si sostiene che il controllo del caos (in questo caso la comparsa di oscillazioni ritmiche periodiche) può essere ottenuto mediante la ripetizione di piccoli correttivi a distanza di tempo.

Quando si tratta di argomenti relativi alla complessità, come di molti altri aspetti della teoria del caos, è ovviamente importante assegnare un preciso significato ai termini, incluso quello stesso di “complessità” (v. anche “Dizionario dei termini”). Non esiste una definizione univoca di complessità, anche se, nel parlare corrente, si usa spesso questo termine: problema complesso, figura complessa, meccanismo complesso, ecc... Esistono definizioni diverse a seconda del contesto [Arecchi e Arecchi, 1990]. Una cosa però è certa, che il termine “complessità” è utile per descrivere e capire i sistemi altamente organizzati [Nicolis e Prigogine, 1991; Cramer, 1993].

Da un punto di vista puramente matematico, la complessità viene definita come il logaritmo del numero dei possibili stati di un sistema. In questo senso, quindi, complessità ed entropia si equivalgono. Un sistema a due componenti fisse ha un solo stato, entropia zero, complessità zero. Un sistema con molte componenti che sono libere di muoversi in modo incontrollato (es. gas) ha moltissimi modi di esistere, moltissime possibilità, entropia altissima, ma non diremo che ha complessità altissima. Quindi, nei sistemi a molte componenti, entropia e complessità si differenziano notevolmente. Infatti, ciò che permette di assegnare un'entropia ad un sistema termodinamico è il fatto che ogni macrostato misurabile nel quale esso risiede possa essere espresso in una varietà di microstati alternantisi, tutti accessibili al sistema, il che implica una essenziale incertezza nel conoscere ad ogni istante il suo microstato. Da questo punto di vista, è chiaro che una definita *struttura* può possedere alta complessità e bassa entropia.

Secondo la teoria dell'informazione, la complessità viene definita come la dimensione del programma di calcolo (misurata in bits) necessario per descrivere una “struttura”, come ad esempio una sequenza di numeri o di lettere [Arecchi e Arecchi, 1990, Cramer, 1993]. In questo senso, il massimo della complessità si ha quando il programma di calcolo ha le stesse dimensioni del sistema che descrive (“*complessità fondamentale*”).

Sequenze completamente casuali richiedono, per essere specificate, tanta informazione quanta ne richiedono quelle che implicano significato funzionale. Ciò indica che il programma d'informazione richiesto per la specificazione di una struttura non può tradursi in definizione dal *contenuto di informazione* di quella struttura (v. oltre). E infatti il programma di calcolo ha le stesse dimensioni del sistema che descrive, anche quando deve essere descritta una sequenza del tutto casuale. La “non compressibilità” del programma è quindi propria non soltanto della complessità, ma anche del caso. Vi è tuttavia una sorta di complessità posseduta da molti sistemi naturali, ed è appunto quella che caratterizza i processi *caotici*, che si situa tra la semplicità (compressibilità algoritmica) e la casualità (algoritmicamente incompressibile) ed è definibile come *complessità organizzata*.

Naturalmente, queste definizioni di complessità dipendono da quali si considerano i possibili stati utili per il calcolo: la complessità di una proteina potrebbe essere calcolata sulla base delle combinazioni possibili degli aminoacidi che la compongono, arrivando quindi ad un enorme numero di possibili combinazioni. D'altra parte, si potrebbe considerare la complessità di una proteina solo in base alla presenza di aminoacidi idrofilici o idrofobici (operazione utile per vedere la possibile integrazione nelle membrane fosfolipidiche), e questo semplificherebbe il calcolo, riducendo la complessità della proteina e le differenze tra diverse proteine. Si potrebbe poi riferirsi solo ai suoi possibili cambiamenti conformazionali, che di solito sono limitati a uno o pochi, in quanto la proteina tende sempre a disporsi nella forma in cui l'energia libera è minore.

Nel passaggio dai modelli chimico-fisici a quelli biologici, si assiste ad enorme aumento di complessità, perché i sistemi viventi sono composti di moltissime parti

diverse tra loro in relazione. Da questo punto di vista, si tratta di un aumento *quantitativo* di complessità. Si è calcolato che il codice genetico umano contiene una quantità di informazione di circa 6×10^9 bits per cellula, mentre se si considera tutto l'organismo con le sue possibili varietà di espressione genetica, si arriva alla cifra astronomica di circa 10^{28} bits [Harold, 1986]. Questo tipo di complessità di un sistema biologico, se vista in relazione alla sua composizione, sarebbe comunque di tipo esclusivamente quantitativo: la complessità intrinseca al sistema, legata alla quantità di informazioni che contiene, è detta “*complessità statica*”, perché si riferisce a proprietà che non cambiano nel tempo. Da questo punto di vista, la complessità del DNA è superiore a quella della plastica perché contiene più variabili nelle costituenti e nella loro disposizione in sequenze.

Vi è poi la complessità che risulta dal fatto che un sistema è “aperto” all'esterno, e questa complessità è tipica, anche se non esclusiva, dei sistemi biologici. Essi costantemente interagiscono con l'ambiente, assimilando materia, consumando energia, processando l'informazione. La loro complessità quindi evolve nello spazio e nel tempo, evolve il programma stesso con cui si vorrebbe descriverlo. Vi è quindi un salto qualitativo nel tipo di complessità, salto qualitativo che è descritto dal termine “*complessità dinamica*” [Cramer, 1993].

La complessità non ha solo una valenza quantitativa, perché la quantità non comprende di per sé il giudizio sulla “qualità” dell'informazione. Due sequenze di DNA, di cui una “normale” e un'altra “patologica” (ad esempio codificante per un carattere che provoca malattia), possono contenere la stessa quantità di informazione, ma il risultato è ben diverso. Così uno spartito di buona musica può contenere la stessa quantità di informazioni (sotto forma di note musicali) di uno spartito di pessima musica. Quindi nell'informazione vi è necessariamente un elemento qualitativo che non è quantificabile. Tale elemento qualitativo, che potrebbe essere forse chiamato il “*significato*” dell'informazione, dipende dal contesto, cioè sta nell'interazione dell'informazione stessa con il sistema ricevente e nel risultato che da questa interazione si produce.

Strettamente legato al concetto di qualità è quello di “*forma*” e di “*struttura*”. Infatti, come già illustrato in molteplici esempi, i sistemi biologici evidenziano in modo emblematico il nascere della “organizzazione” dei sistemi che li compongono, sfuggendo, proprio per la loro apertura, alla seconda legge della termodinamica per la quale nei sistemi fisici vi è una inevitabile tendenza alla crescita di entropia. Quest'ordine consiste nella comparsa di strutture complesse fatte di molte molecole di lipidi (es.: membrane), di proteine (es.: citoscheletro), di carboidrati (es.: sostanza fondamentale del connettivo). In sintesi, l'ordine appare come “*morfologia*”.

Secondo il fisico Prigogine, è proprio la comparsa di *strutture spazio-temporali*, dovute a interazioni “*a lungo raggio*” tra elementi di un sistema, la caratteristica più tipica della complessità. In questo consiste il comportamento complesso nell'esatta accezione del termine, e non, come si potrebbe credere, solo nel continuo aumento dei fattori in gioco. In altre parole, nella complessità non vi è solo un fattore quantitativo legato al numero degli elementi implicati, ma anche un fattore qualitativo legato alla comparsa della “struttura”, della “forma”.

D'altra parte, è stata proprio la biologia molecolare a riprendere il concetto qualitativo di *forma*, tipico dei primi studi anatomici in campo medico, ma di ancor più antica tradizione in campo filosofico (soprattutto con Aristotele e S. Tommaso). Se è vero che anche la quantità di un certo tipo di molecole è importante nell'ambito di un sistema biologico, la forma, o struttura, di una molecola, è ciò che più specificamente la caratterizza e ne determina la funzione, fino a determinare anche il carattere di “normalità” o di “patogenicità” della molecola stessa. Sul piano della patologia genetica (comprendente soprattutto le malattie ereditarie, ma anche altre importanti patologie come il cancro o l'AIDS), non è la “quantità” di materiale genetico (DNA o RNA) anomalo che conta, quanto la *presenza* o *assenza* della mutazione o della sequenza patologica. La quantità di DNA alterato (ad esempio, se uno solo o entrambi gli alleli) potrà avere importanza a seconda del tipo di trasmissione (dominante, recessiva, e così via), ma la presenza o assenza di malattia è un fatto qualitativo, riguarda la forma

del DNA. Infatti, per effettuare una precisa diagnosi di una malattia a patogenesi genetica si utilizzano *sonde* di DNA o RNA che vanno ad analizzare la corrispondenza o non corrispondenza qualitativa tra due forme (la sonda e il materiale da analizzare).

Negli esseri viventi, ordine e disordine, struttura e varietà, informazione ed entropia convivono in una produttiva armonia. La vita è stata definita sinteticamente ma efficacemente come un “*disequilibrio controllato*” [Guidotti, 1990]. Mentre finora gli scienziati si sono rivolti solo allo studio dei fenomeni apparentemente ordinati, ora la loro attenzione si rivolge anche a quelli apparentemente disordinati, per vedere se si possono trovare delle “leggi del disordine”, o per vedere se si può distinguere un fenomeno apparentemente disordinato, ma con un ordine soggiacente, da uno totalmente disordinato e realmente “random”. I concetti matematici del caos e della geometria frattale, ed in particolare quello della invarianza della struttura al variare di scala, introducono nuovi strumenti logici nella descrizione della struttura irregolare delle forme viventi e del loro complesso funzionamento.

Si sta quindi indagando un campo di frontiera per la scienza: individuare alcune regole fondamentali di comportamento dei sistemi complessi, regole che rivelano il modo con cui il sistema caotico si può organizzare in ordine ad ampio raggio, pur mantenendo sempre un certo grado di aleatorietà. Tale aleatorietà, scoperta di recente persino dentro l'atomo [Gutzwiller, 1992], resta come un fattore ineliminabile nell'evoluzione ontogenetica e filogenetica, come un fattore che, accoppiato all'informazione capace di generare ordine, costituisce un mezzo per poter generare continuamente nuove forme, nuove diversità. La geometria frattale tende a svelare quell’“ordine nascosto” che non sempre è apparente negli oggetti naturali. Tale ordine sarebbe rappresentato, appunto, dalla “simmetria dell'invarianza di scala” [Sander, 1986].

L'esistenza del caos e soprattutto della possibilità di studiarne almeno alcune regole ha implicazioni molto più vaste di quanto si potrebbe pensare. A questo proposito, vale la pena citare la parte conclusiva di un lavoro sul caos di

ricercatori americani: “Il caos rappresenta una nuova sfida per il punto di vista riduzionistico, secondo cui un sistema può essere compreso scomponendolo e poi studiandone le singole parti. Questo punto di vista è stato largamente seguito nella scienza anche perché sono moltissimi i sistemi per i quali il comportamento del tutto è effettivamente la somma delle parti. Il caos, tuttavia, dimostra che un sistema può manifestare un comportamento complesso come risultato di un'interazione non lineare semplice tra poche componenti soltanto.(...) L'interazione delle componenti ad una data scala può provocare su scala più vasta un comportamento globale complesso che in generale non può essere ricavato dalla conoscenza delle singole componenti” [Crutchfield et al., 1986].

Questo lavoro vuole rappresentare un'introduzione alle problematiche del caos nelle loro possibili applicazioni mediche. In particolare qui si dimostra come sia possibile, sulla base di algoritmi relativamente semplici, descrivere alcune proprietà dei sistemi omeostatici e simularne con discreta approssimazione il comportamento mediante prove al calcolatore. Da tali simulazioni risulta evidente come un sistema omeostatico-modello, il cui scopo è di mantenere una variabile entro determinati limiti di oscillazione, possa facilmente assumere un comportamento caotico e persino “degenerare” verso una perdita del controllo al variare dei parametri che lo controllano. Si cercherà inoltre, dove possibile, di suggerire alcune analogie tra il sistema descritto in forma algoritmica e situazioni fisiopatologiche reali.

CAPITOLO 2.

I SISTEMI BIOLOGICI OMEOSTATICI

Il concetto di omeostasi, introdotto dal fisiologo W. Cannon nel 1929, è apparentemente molto semplice ed ha avuto successo in fisiologia per la sua capacità di descrivere il comportamento di sistemi che vanno dal controllo della frequenza cardiaca alla pressione del sangue, dalla temperatura corporea alla concentrazione di elementi corpuscolati del sangue, dalla glicemia alla crescita dei tessuti. Esistono sistemi omeostatici a livello cellulare, come i trasporti di membrana o l'induzione enzimatica, a livello di organo, come la regolazione del flusso ematico in dipendenza del fabbisogno di O₂ o il controllo delle popolazioni cellulari, a livello di apparati, come il mantenimento della pressione sanguigna, della termoregolazione, a livello di funzioni superiori integrate, come il controllo delle emozioni o la risposta allo stress. In linea molto generale, l'omeostasi rappresenta la capacità dell'organismo nel suo insieme o di sue sub-componenti di conservare costanti, o meglio *variabili entro determinati limiti*, dei parametri biochimici o delle funzioni in modo che tali parametri e tali funzioni concorrano al buon funzionamento dell'organismo nel suo insieme.

Man mano che la complessità dei sistemi deputati a tale scopo si è andata rendendo più evidente con il progresso delle scienze biomediche, il concetto di omeostasi si è ampliato, nel senso che mentre inizialmente la sua applicazione poteva essere delimitata nel campo della fisiologia (es.: pressione del sangue, sistema endocrino, ecc...), oggi si può constatare che esiste un'omeostasi anche ad altri livelli, sia sul piano cellulare e molecolare (es.: concentrazioni di ioni nel citoplasma, velocità di catalisi di un enzima, ecc...) che sul piano dei sistemi che controllano l'integrità e la "qualità" dell'informazione biologicamente significativa (es.: sistema immunitario, neurobiologia, ecc...).

E' opportuno ribadire e chiarire il fatto che il concetto di omeostasi non deve essere confuso con equilibrio stazionario. I vari sistemi biologici non sono mai in "equilibrio"; piuttosto, essi vanno soggetti a continue oscillazioni nell'intensità dei

fenomeni ad essi correlati in quanto sono mantenuti lontano dall'equilibrio da un continuo flusso di energia. I sistemi biologici sono oggi visti come tipici sistemi “dissipativi”, nel senso che il loro *steady-state* è mantenuto dal continuo consumo di energia che mantiene l'ordine in uno spazio-tempo limitato, a spese dell'aumento di entropia nell'ambiente circostante [Guidotti, 1990; Nicolis e Prigogine, 1991]. Si pensi, ad esempio, alla fisiologia della cellula, in cui si può constatare come la membrana plasmatica divide due ambienti (intra ed extracellulare) e quindi determina un grande “disequilibrio” di ioni (soprattutto sodio, potassio e calcio): è proprio grazie a tale disequilibrio ed a sue improvvise oscillazioni che la vita della cellula è mantenuta e molte sue funzioni sono esplicate.

I costituenti essenziali dei sistemi biologici omeostatici sono rappresentati da *strutture anatomiche o biochimiche* con funzioni effettrici regolabili e reversibili, da *molecole segnale* che mettono in comunicazione strutture vicine e lontane, da *recettori* per molecole segnale o per gli altri tipi di messaggeri, da *sistemi di trasduzione* che connettono il recettore ai sistemi biochimici effettori e, infine, da *elementi responsabili del deposito dell'informazione*, che può essere genetica o epigenetica.

Cercando di ridurre all'essenziale lo schema di un sistema omeostatico-modello, esso può essere descritto come in figura 1. Esso è fondamentalmente un sistema a *feed-back*: esiste la variabile considerata (in questo caso si considera la variabile A/A') che può modificarsi in modo reversibile, grazie all'esistenza di meccanismi che spingono la reazione o la trasformazione nelle due direzioni (nel caso considerato $A \rightarrow A'$ e $A' \rightarrow A$). Chiameremo tali meccanismi “sistemi effettori”, essendo essi capaci di effettuare la trasformazione o la modificazione del parametro considerato. Lo stato, livello, concentrazione, attività, numero (a seconda del parametro considerato) di A e A' dipendono dal relativo “disequilibrio” dell'attività dei due sistemi effettori opposti. Nella figura 1, le attività dei sistemi effettori $A \rightarrow A'$ e $A' \rightarrow A$ sono denominate rispettivamente k e k' .

Il sistema omeostatico quindi è rappresentato da un anello di retroazione (*feedback* negativo), in cui l'informazione sul risultato di una trasformazione o di una oscillazione di attività vengono rimandate, rivedute e corrette, all'ingresso del ciclo.

Ovviamente, lo schema sopra riportato è limitato all'essenziale, dovendosi contemplare, se si volesse essere più completi, numerose varianti ed aggiunte. Ad esempio, si deve sapere che non esistono solo anelli di retroazione negativi (che garantiscono la stabilità), ma anche anelli positivi, in cui il prodotto della reazione contribuisce ad accelerare la trasformazione. Questo è il caso che si verifica durante la crescita di un tessuto o quando si devono mettere in moto rapide ed intense modificazioni funzionali (amplificazione).

Affinché la normale omeostasi venga garantita, l'attività dei sistemi effettori non avviene senza controlli reciproci e senza coordinamento con altri sistemi: a questo scopo, in ogni sistema omeostatico sono inseriti uno o più “*sistemi regolatori*” che svolgono il ruolo fondamentale di determinare quale “disequilibrio” A/A' debba essere raggiunto o mantenuto in ogni momento, *integrando* lo stato di A/A' con le esigenze del resto dell'organismo. Per far questo, il sistema regolatore deve “monitorare” lo stato di A e A' , ricevendo da essi adeguata segnalazione (a' nella figura 1), e deve produrre un segnale di ritorno che viene recepito in senso stimolatorio o inibitorio (a seconda dei casi) dai sistemi effettori. Nella figura 1, il segnale regolatore è chiamato “ r ” ed è, semplificando, posto come inibitore del meccanismo $A \rightarrow A'$. Il sistema regolatore è quindi capace di controllare i sistemi effettori ed è collegato ad altri sistemi da cui riceve informazioni utili alla scelta del controllo da effettuare (quest'ultimo aspetto è illustrato in figura 1 dal segnale “ b ”).

Associato al sistema regolatore vi è anche un controllo “intrinseco”, che potrebbe dirsi la “memoria” dei valori normali di A e A' . I “valori normali” sono i limiti massimo e minimo del valore A (che oscilla tra A e A') al di sopra ed al di sotto dei quali il sistema regolatore si mobilita emettendo un segnale che influenza le attività dei sistemi effettori nel senso di riportare i valori nella norma. Nella

figura 1 si è sinteticamente espresso tale concetto con la formula ($A_{max}-a'$) intendendo con questo il fatto che il sistema regolatore si attiva in base al confronto tra il valore massimo di A tollerabile (A_{max}) e il segnale (a') che indica la situazione reale, in quanto direttamente legato all'entità di A' in ogni momento. In questo schema, tanto più alto sarà a' rispetto ad A_{max} , tanto più intensa sarà la produzione di r e quindi l'inibizione del sistema effettore $A \rightarrow A'$.

I limiti superiore e inferiore cui si fa qui riferimento sono dati dalle condizioni strutturali intrinseche del sistema regolatore, condizioni che si potrebbero considerare in prima approssimazione come stabilite geneticamente. Tuttavia, è opportuno precisare che anche questi valori fissi di riferimento (“memoria”) nella realtà mutevole dell'organismo possono subire delle modificazioni. Si pensi, ad esempio, al fenomeno per cui molti parametri fisiologici e valori ematochimici cambiano con l'età, o al fatto che molti sistemi omeostatici si adattano su diverse soglie di risposta quando compaiono malattie croniche. I sistemi regolatori sono quindi “plastici”: a questo livello si verificano vari eventi regolativi come i fenomeni di ipersensibilità (es.: aumento di recettori, “priming”) o di adattamento (es.: “down-regulation”, inibizione da contatto, ecc...).

Il concetto di sistema regolatore è più difficile da illustrare con esempi concreti rispetto a quello di sistema effettore, perché spesso non si tratta di un singolo “apparato” fisicamente definibile o di una singola molecola, come potrebbe essere una pompa ionica o un enzima, ma piuttosto una serie di “comportamenti” o di “vincoli” che i sistemi effettori subiscono nella loro attività in conseguenza della variazione di A o A' . Per semplicità e chiarezza a riguardo delle esemplificazioni che seguiranno e del modello che si vuole costruire, si può considerare il sistema regolatore come “esterno” ai sistemi effettori e ad essi collegato mediante un segnale in uscita capace di influenzerli in positivo (stimolazione) o in negativo (inibizione). Il caso più tradizionale e più noto di questo tipo di regolazione è rappresentato dal sistema endocrino, in cui la secrezione di un ormone da parte della ghiandola endocrina “X” è regolata dalla ghiandola “Y” che monitorizza il

prodotto di “X” e produce un segnale capace di inibire la funzione della ghiandola controllata.

Per fare un altro esempio di un sistema omeostatico su scala cellulare, si può riferirsi al controllo della concentrazione di calcio intracellulare. In questo caso, i sistemi effettori potrebbero essere considerati - semplificando al massimo - da una parte (aumento di calcio) l'apertura dei canali di membrana per questo ione, dall'altra (diminuzione di calcio) la pompa ATP-dipendente che espelle lo ione nell'ambiente extracellulare o lo confina in organelli (calciosomi). Il sistema regolatore in questo caso è rappresentato non da un organo o un comparto cellulare, ma da vari meccanismi collegati con i sistemi effettori stessi, come ad esempio il potenziale elettrico di membrana (che modifica l'apertura o chiusura dei canali), la calmodulina (proteina allosterica legante il calcio ed attivatrice di vari enzimi), la stessa costante di affinità della pompa Calcio-ATPasi per il calcio (quando aumenta il calcio, la pompa aumenta la sua attività).

Come si è già accennato, un ruolo fondamentale in tutto il meccanismo che rende possibile il funzionamento di un sistema omeostatico è giocato dai “segnali” che si scambiano i parametri variabili A/A' col sistema regolatore, il sistema regolatore con i sistemi effettori e il sistema regolatore con altri e diversi sistemi ad esso collegati nel costruire una omeostasi di un livello più ampio di complessità nell'ambito di tutto l'organismo. Segnali e loro recettori costituiscono quindi il mezzo fondamentale della comunicazione biologica, costituiscono il linguaggio dei sistemi omeostatici. Come è ben noto, il paradigma segnale/recettore costituisce uno dei pilastri fondamentali della moderna biologia. Non è questa la sede per analizzare nelle sue molteplici sfaccettature tale problematica. E' sufficiente, per il discorso qui sviluppato, accennare al fatto che quando un segnale (solitamente una molecola, ma esistono anche segnali non molecolari come ad esempio la luce, i suoni, le onde elettromagnetiche di bassa frequenza, variazioni di potenziale elettrico di membrana) raggiunge il suo recettore (solitamente una molecola con cui vi è affinità chimica o fisica) ciò provoca una modificazione conformazionale del recettore e di altre molecole ad

esso collegate (es. canali ionici, enzimi, G-proteine, acidi nucleici, a seconda dei casi) per cui alcune specifiche attività o funzioni controllate da quel recettore sono *stimolate* o *inibite*. Stimolazione e inibizione, accelerazione o rallentamento, espressione o soppressione, sensibilizzazione o desensibilizzazione, attivazione o blocco, ecc... sono possibili alternative che si pongono come risposta alla segnalazione mediata dal recettore e che dipendono sia dalla natura del segnale, sia dalle specifiche funzioni che sono “accoppiate” ad un determinato recettore.

Nella sua forma più semplice, un recettore può essere anche solo una parte di una molecola allosterica: ciò vale soprattutto per gli enzimi (v. “sistemi effettori”) la cui attività è regolata dal legame di molecole più o meno complesse (alcuni enzimi sono regolati anche solo dalla concentrazione di ioni come H^+ , Ca^{++} , Na^+ , Mg^{++} , ecc....). Nel campo dell'enzimologia è ben noto inoltre il fenomeno della inibizione da parte del prodotto della reazione: si tratta del caso più elementare di *feed-back*, ovvero di sistema omeostatico sul piano biochimico.

D'altra parte, nelle cellule si sono evoluti anche sistemi recettoriali formati da molte componenti assemblate in modo da formare un “complesso” recettoriale. Basti pensare ad esempio ai recettori per l'antigene presenti sulle cellule del sistema immunitario. Tale complessità si spiega per la necessità di discriminare finemente le molecole con cui legarsi, di riconoscere anche il “contesto” in cui tale legame avviene e di poter attivare diverse risposte a seconda dello stato della cellula.

A titolo esemplificativo e con le inevitabili approssimazioni, in tabella 1 sono riportati alcuni tipici sistemi omeostatici con la descrizione dei relativi sistemi effettori, regolatori e segnali.

Quanto più un sistema omeostatico è complesso, tanto più ha reso complessa la gestione delle informazioni, che può essere effettuata da molti elementi disposti in sequenze ed in reti. Tali reti (networks) connettono diversi elementi e gestiscono l'informazione con meccanismi di amplificazione o di *feed-back* multipli e incrociati. Esempi di tali reti sono quelle neurali, quelle del sistema immunitario, quelle delle citochine, ecc... L'informazione, nelle reti biologiche, è solitamente

“ridondante”, cioè lo stesso segnale può agire su molteplici bersagli ed essere prodotto da molteplici elementi del sistema. Inoltre, lo stesso elemento è controllato da diversi segnali e la sua risposta dipende dai loro sinergismi o antagonismi. La “specificità” nella comunicazione tra gli elementi di una rete non è garantita solo dall'esistenza di specifici segnali a seconda della funzione o azione che la rete compie. Gli stessi segnali usati (es.: particolari citochine, o neurotrasmettitori) possono causare diversi effetti, innescare diverse risposte, anche opposte in taluni casi, a seconda dell'ambiente in cui agiscono, cioè a seconda della dinamica della rete stessa. In questo contesto di controlli multipli ed incrociati, il concetto di “sistema regolatore” può essere rivisto in una dimensione più ampia. Mentre su scala limitata ad un singolo meccanismo esso può essere considerato come un elemento fondamentale del sistema omeostatico nell'accezione usata in figura 1, su scala più ampia, dove si consideri una rete di interazioni, il sistema regolatore coincide con la rete stessa. Quando una rete è ben funzionante, ben “connessa” al suo interno, il comportamento dell'insieme regola il funzionamento delle singole variabili, ciascuna delle quali dà il suo contributo alla regolazione delle altre. A questo importante aspetto si farà cenno successivamente a proposito dei modelli matematici molto complessi come le reti booleane; tuttavia, la presente trattazione, che ha scopo introduttivo e dimostrativo, si attiene a modelli più semplici, riguardanti la scala di uno o pochi meccanismi omeostatici.

Si è già accennato al fatto che la maggior parte dei parametri biologici e biochimici soggetti ad un controllo omeostatico non danno valori fissi nel tempo, ma valori variabili, oscillanti, mostrando continue fluttuazioni e ritmicità complessa. Nei sistemi biologici esiste un'ampia serie di fenomeni oscillatori, con periodi varianti da pochi millisecondi (oscillazioni enzimatiche, attività neuronale) a secondi (respirazione), minuti (divisione cellulare), ore (ritmi circadiani, attività ghiandolari, ritmo sonno-veglia), giorni (ciclo ovarico), mesi ed anni (variazioni di popolazioni).

La descrizione di sistemi più o meno complessi in cui più componenti interagiscono in modo non lineare, non può quindi trascurare i fenomeni caotici considerandoli dei disturbi di una teoria per altri versi perfetta, ma deve trovare gli strumenti e le vie per integrarli con la teoria precedentemente ritenuta sufficiente. In altre parole, nella variabilità dei fenomeni oggetto di studio, si deve cercare di distinguere il vero “disturbo” (*noise*), legato a fluttuazioni del tutto casuali e disordinate o all'imprecisione delle misure, dall'oscillazione che si presenta con caratteri di a-periodicità per ragioni comprensibili e spiegabili. A questo proposito è stato introdotto il concetto di *caos deterministico*, indicando appunto il fenomeno variabile e imprevedibile, ma soggetto a leggi deterministiche.

Ovviamente, alcuni parametri fisiologici appaiono praticamente stazionari nell'adulto: si pensi all'altezza del corpo, che dopo il periodo di accrescimento si stabilizza a un valore fisso per un lungo periodo, per poi subire una lieve diminuzione solo nella vecchiaia. Se però si pensa al peso corporeo, già si vede che, dopo il periodo dell'accrescimento, si raggiunge un peso solo apparentemente stazionario, in quanto si possono facilmente notare delle variazioni circadiane e stagionali, oltre a quelle legate agli sforzi fisici contingenti. Ancora più evidenti sono le variazioni temporali della secrezione di ormoni e quindi del livello di metaboliti o sali minerali legati all'azione degli ormoni stessi. L'attività pulsatile di secrezione ormonale è stata descritta in molti sistemi. Ad esempio, l'LH mostra una pulsatilità, sia nel maschio che nella femmina. In quest'ultima, le oscillazioni seguono due diversi schemi: nella fase follicolare del ciclo si osservano pulsazioni di frequenza di 60'-90' e di ampiezza limitata (15-35 ng/ml circa), mentre nel periodo luteinico la pulsatilità è caratterizzata da minore frequenza (una pulsazione ogni 3-4 ore) e di maggiore ampiezza (intervallo: 5-50 ng/ml) [Flamigni et al., 1994].

La maggior parte delle reazioni biochimiche mostrano un andamento oscillatorio nell'ambito della funzione cellulare, mentre se condotte in provetta hanno una cinetica che tende a fermarsi con l'esaurimento del substrato. La velocità di attività enzimatiche oscilla quando due enzimi competono per lo stesso

substrato e piccoli cambiamenti delle concentrazioni dei reagenti possono portare a cambiamenti nella frequenza o nella ampiezza delle oscillazioni, introducendo comportamenti caotici in schemi precedentemente armonici o viceversa [Cramer, 1993]. Sono stati costruiti sistemi chimici a flusso (in cui cioè il substrato è fornito in continuazione) che producono delle oscillazioni. Di questi il più studiato è la reazione di Belusov-Zhabotinsky, in cui Ce(IV)/Ce(III) catalizza la ossidazione e brominazione dell'acido malonico ($\text{CH}_2(\text{COOH})_2$) da parte di BrO_3^- in presenza di H_2SO_4 . Le reazioni di ossidazione e di riduzione avvengono a cicli alternantisi per cui le concentrazioni dei substrati e dei prodotti continuano a variare nella soluzione e tali variazioni possono essere monitorate con appropriati elettrodi. Se la reazione è eseguita in un recipiente a flusso continuo e sotto agitazione, ciò che determina ultimamente se il sistema mostra uno *steady-state*, un comportamento periodico o un comportamento caotico è la *velocità di flusso* dei reagenti nel recipiente [Epstein et al., 1991; Petrov et al., 1993].

E' ben noto che all'interno delle cellule molte molecole con funzioni regolatorie variano secondo oscillazioni più o meno veloci e ritmiche. Sono state misurate oscillazioni nella concentrazione dei nucleotidi ciclici [Meyer, 1991] e dell'inositolo fosfato [Berridge and Irvine, 1989], del potenziale di membrana [Pandiella et al., 1989; Maltsev, 1990; Ammala et al., 1991], nel metabolismo ossidativo dei leucociti [Wymann et al., 1989], nella polimerizzazione dell'actina [Omann et al., 1989]. E' stato sostenuto che uno dei più importanti sistemi di segnalazione intracellulare, l'aumento dello ione calcio libero, attua la sua funzione per mezzo di pulsazioni, o meglio oscillazioni di concentrazione o onde spazio-temporali [Berridge and Galione, 1988; Cheek, 1991]. Misurazioni effettuate su singole cellule hanno rivelato che molti ormoni innescano una serie di onde nella concentrazione degli ioni calcio, ad intervalli di qualche secondo, e che esse mostrano un aumento di frequenza all'aumentare della concentrazione degli ormoni.

Il meccanismo di tali oscillazioni intracellulari di secondi messaggeri non è molto ben compreso, ma è evidente che esse dipendono dal "disequilibrio

controllato” esistente tra i vari meccanismi che tendono ad abbassare il loro livello e quelli che tendono ad innalzarlo. Ad esempio, per quanto riguarda il calcio intracellulare si sa che esso tende a essere mantenuto molto basso per azione sia delle pompe (Calcio-ATPasi) che di controtrasporti (scambio $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$ e $\text{Ca}^{++}/\text{H}^+$), mentre tende ad aumentare per il grande gradiente tra la concentrazione esterna e quella interna e per l'esistenza di canali con maggiore o minore apertura a seconda dello stato di attivazione della cellula (ad esempio, alcuni canali del calcio sono direttamente accoppiati al recettore per segnali esterni, altri al potenziale di membrana).

Le onde del calcio possono propagarsi in tessuti e organi, rappresentando in essi un sistema di segnalazione *a lungo raggio*, come è stato osservato nelle cellule cigliate degli epitelii, nelle cellule endoteliali, negli epatociti, nei monociti in coltura e negli astrociti. E' stato sostenuto che questo meccanismo di comunicazione intercellulare contribuisce alla sincronizzazione di grandi gruppi di cellule svolgenti la stessa funzione [Meyer, 1991].

Le oscillazioni, più o meno ritmiche, non sono solo un risultato inevitabile del disequilibrio tra sistemi di controllo. Esse probabilmente hanno anche una loro peculiare importanza, in quanto i ritmi biologici aiutano a coordinare e stabilizzare il funzionamento di diversi organi e sistemi [Breithaupt, 1989; Matthews, 1991]. Inoltre, è stato sostenuto che molte risposte cellulari siano controllate dalla *modulazione di frequenza* piuttosto che dalla *modulazione di ampiezza* del segnale, in modo analogo alla trasmissione di informazione tra neuroni attraverso cambiamenti di frequenza del potenziale d'azione. In altre parole, la frequenza di tali oscillazioni potrebbe rappresentare un codice segnaletico “digitale”, con significato informativo: affinché una risposta o un processo sia attivato, ciò che conta è la frequenza delle oscillazioni spazio-temporali (onde) nella concentrazione del calcio piuttosto che la quantità di calcio realmente presente. Questo tipo di segnali potrebbero regolare in modo più preciso la risposta cellulare al variare della concentrazione di ormoni [Berridge and Galione, 1988; Cheek, 1991; Catt and Balla, 1989]. Due tipi cellulari simili (basofili e mastcellule) si

distinguono per la frequenza delle loro oscillazioni del calcio intracellulare [MacGlashan and Guo, 1991].

Le oscillazioni delle scariche della corteccia cerebrale sono probabilmente molto importanti per garantire il coordinamento di diversi gruppi di cellule e di centri nervosi [Engel et al., 1992]. Tecniche di analisi non lineare possono essere applicate all'elettroencefalogramma per costruire modelli di funzionamento della corteccia cerebrale [Babloyantz and Lourenco, 1994]. In questi modelli, i vari stati comportamentali (sonno, veglia, attenzione, ecc...) sono visti come una attività corticale caotica nello spazio e nel tempo, soggetta però ad un controllo che ne aumenta la coerenza per inputs provenienti dal talamo o da altre aree (ad esempio la corteccia visiva riceve informazioni dalle vie ottiche). E' stato sostenuto che le dinamiche caotiche possono fornire la possibilità di codificare un infinito numero di informazioni, perché sono come la "riserva" di un infinito numero di orbite periodiche instabili [Babloyantz and Lourenco, 1994].

Un altro aspetto da sottolineare a riguardo delle oscillazioni dei parametri soggetti a controllo omeostatico è che tali oscillazioni, misurate sperimentalmente, si dimostrano quasi sempre di tipo caotico. Raramente si osservano oscillazioni periodiche e stabili (cioè di frequenza ed ampiezza perfettamente costanti). Le oscillazioni che si osservano sono per lo più di tipi diversi, che vanno dal tipo periodico-instabile al tipo quasi-periodico-instabile fino al tipo completamente irregolare.

Quando si parla di oscillazioni di variabili biologiche, non si dovrebbe trascurare il campo delle oscillazioni molecolari accoppiate ad oscillazioni del campo elettromagnetico, problema al quale si sta volgendo l'attenzione degli scienziati in tempi piuttosto recenti. Trattasi di un tema di rilevante interesse anche pratico, vista la sempre maggiore diffusione delle onde elettromagnetiche nell'ambiente e nella vita quotidiana. In questa sede non è possibile una disamina esaustiva dell'argomento, ma basta accennare al fatto che campi elettromagnetici di diversi ordini di grandezza più deboli del gradiente di potenziale trans-membrana possono modulare azioni di ormoni, anticorpi e neurotrasmettitori a

livello di recettori e di sistemi di trasduzione [Adey, 1988] e che anche l'attività proliferativa cellulare è influenzata da campi elettromagnetici, anche di intensità molto debole (0.2 - 20 mT, 0.02 - 1.0 mV/cm) [Luben et al., 1982; Conti et al., 1983; Cadossi et al., 1992; Walleczek, 1992]. Molte di queste interazioni sono dipendenti dalla frequenza più che dalla intensità del campo, cioè compaiono solo in determinate “finestre” di frequenza, fatto che suggerisce l'esistenza di sistemi di regolazione “non lineari” e lontani dall'equilibrio [Tsong, 1989; Weaver and Astumian, 1990; Yost and Liburdy, 1992].

Molti processi cellulari sembrano avvenire secondo una logica del “tutto o nulla”, che dipende, a parità di condizioni esterne, sia dall'evenienza di microeventi casuali e imprevedibili in un determinato momento, sia dall'esistenza di meccanismi di amplificazione a cascata dei segnali (vedi ad esempio la esocitosi delle cellule granulocitarie, o il potenziale d'azione delle cellule nervose, o la mitosi). Tali processi cellulari dipendono dal superamento di una “soglia” di concentrazione di mediatori o di carica di potenziale elettrico, o di funzionalità recettoriale. Occasionalmente, tale soglia può essere superata per *fluttuazioni* dei parametri di controllo dell'omeostasi, ma questo fenomeno pare essere imprevedibile perché, su scala cellulare o molecolare, pare dipendere anche da fenomeni “*quantizzabili*” [Hallet, 1989]. Molte delle reazioni che si svolgono in una cellula coinvolgono un numero ristretto di componenti, dell'ordine delle decine o centinaia (ad esempio le molecole di acidi nucleici, i recettori, i canali ionici, le vescicole sinaptiche, ecc.), per cui le reazioni in cui tali componenti sono coinvolte, possiedono un significativo grado di *imprevedibilità di tipo quantistico*. Ciò non significa che tutto sia in preda al caso, perché sulla lunga distanza molte fluttuazioni si mediano e si rientra nella probabilità quasi certa di comportamento cellulare. Ad esempio, se si stimola un singolo leucocita con alte dosi di un adatto agente chimico, non si può prevedere dopo quanto tempo si avrà un aumento di metabolismo, ma si può essere praticamente certi che prima o poi il fenomeno avvenga. Se però le dosi sono molto basse, non possiamo prevedere se

esso risponderà, sappiamo solo che, in una popolazione di leucociti, alcune cellule saranno responsive ed altre totalmente non responsive.

Il ruolo dei fenomeni caotici in medicina comincia ad essere studiato e compreso negli ultimi anni, grazie a studi condotti soprattutto nel campo della cardiologia e della neurologia, ma certamente il campo è molto aperto anche per la biologia cellulare, la farmacologia e l'immunologia.

Tutti questi fenomeni sono quindi tipici fenomeni dinamici (cambiano il loro stato nel corso del tempo) e non-lineari (influenze esterne causano modificazioni non necessariamente proporzionali all'entità della perturbazione), che richiedono adatti studi teorici [Kaiser, 1988]. Qui di seguito prenderemo in esame alcuni di tali possibili approcci matematici allo studio dei sistemi dinamici.

CAPITOLO 3. ALGORITMI CHE SIMULANO L'OMEOSTASI

Si è visto che i sistemi viventi sono regolati da cicli di reazioni e contro-reazioni che costituiscono la cosiddetta “omeostasi”. Tali “cicli” non sono altro che il ripetersi della stessa operazione in cui il risultato del ciclo precedente serve come base per il successivo. Ad esempio, alla fine di un ciclo di sistole-diastole il cuore riprende dalla condizione telediastolica, alla fine di un ciclo mitotico la condizione delle due cellule figlie diventa a sua volta la condizione da cui parte una nuova mitosi, così ogni modificazione ritmica dell'organismo fa leva sullo stato precedente ed avviene secondo regole fisse (nell'analogia stabilita, la regola è la funzione matematica). Le variabili fisiologiche controllate da sistemi omeostatici sono in continua oscillazione tra un massimo e un minimo consentiti.

Ci si può chiedere se questa proprietà dei sistemi omeostatici si presti a una modellizzazione di tipo matematico. La risposta a questo quesito è positiva, anche se, ovviamente, qualsiasi modello non potrà mai esaurire la variabilità e la complessità dei sistemi biologici. Si tratta di concepire funzioni matematiche cicliche, o meglio *iterative*, in cui il prodotto sia la base di partenza per il ciclo successivo. Di seguito ne saranno forniti due esempi.

a. Modello di Verhulst

Questo modello matematico consiste in una serie di equazioni non lineari molto semplici:

A_{iniziale} = valore iniziale

$$\mathbf{A_1 = A_{\text{iniziale}} + A k (A_{\text{max}} - A)}$$

$$\mathbf{A_2 = A_1 + A_1 k (A_{\text{max}} - A_1)}$$

$$\mathbf{A_3 = A_2 + A_2 k (A_{\text{max}} - A_2)}$$

ecc.

Dove la variabile A con un determinato valore A_{iniziale} diviene A_1 , quindi A_1 diviene A_2 , ecc... (iterazione) mediante una trasformazione che consiste nell'aggiunta algebrica di un valore determinato dallo stesso A , da un parametro k e da un limite massimo A_{max} . La stessa funzione iterativa è sintetizzabile in un semplice algoritmo:

$$A_{n+1} = A_n + A_n k (A_{\text{max}} - A_n)$$

dove A_{n+1} è il valore del ciclo successivo $n+1$ che può essere calcolato in base a quello risultante dal ciclo precedente (A_n) sommato della crescita dovuta al ciclo stesso, che è uguale a A_n moltiplicato per un parametro di crescita k e per un fattore dato dalla differenza tra il massimo consentito (A_{max}) e A_n . Una funzione simile a questa fu descritta per la prima volta nel 1845 dal matematico Verhulst per analizzare l'andamento delle popolazioni. Qui noi la utilizziamo per descrivere l'evoluzione nel tempo del valore di "A", che potrebbe essere una qualsiasi variabile fisiologica reale o immaginaria. Ciò che conta, in questa sede, non è assegnare un preciso significato biologico o fisiologico ad "A", ma vedere come possono essere calcolate le sue variazioni in successivi cicli iterativi, fissando un valore iniziale e un valore massimo consentito. A tale scopo, si effettuerà una dettagliata serie di simulazioni al calcolatore, posti diversi valori di A e di k . L'analisi dei tracciati ottenuti consentirà di precisare i concetti di *oscillazione*, *biforcazione*, *caos*, *attrattore* e *frattale* dal punto di vista matematico, in modo che sia poi più agevole trarre delle analogie con fenomeni fisiopatologici.

La crescita (o il calo) additiva di ogni ciclo dell'iterazione che andiamo a considerare è dipendente dall'andamento precedente, e limitata dal fatto che c'è un massimo raggiungibile: infatti con l'aumento di A_n aumenta il numero da sottrarre al massimo raggiungibile e quindi si riduce il fattore di moltiplicazione ($A_{\text{max}} - A_n$). Di conseguenza, è intuitivo che A_{n+1} tenda ad aumentare all'inizio, ma poi

l'aumento è sempre minore fino a fermarsi (plateau). La funzione, quindi, descrive un *feed-back* matematico abbastanza semplice. Ovviamente, quello che varia in questo caso è solo la *quantità* del valore \mathbf{A} , cioè si valuta l'*ampiezza* delle variazioni, mentre la *frequenza* della ripetizione del calcolo è fissata e sempre uguale (cioè la *periodicità* è del tutto regolare).

Le simulazioni che seguono sono state eseguite impostando la suddetta funzione nell'ambito del software *Sigma Plot*, utilizzando un comune Personal Computer 486. Il valore di \mathbf{A}_{\max} è stato posto arbitrariamente al valore di 5. Ciò che conta, nella serie di esempi che seguono, è cogliere le discontinuità *qualitative* nell'evoluzione della funzione al variare di \mathbf{k} . Ponendo sull'asse delle ascisse il numero delle iterazioni (cicli successivi) e sull'asse delle ordinate il valore di \mathbf{A} , si ottengono le soluzioni illustrate nelle figure seguenti.

Ponendo il valore di $\mathbf{A}_{\text{iniziale}} = 1$ e quello del parametro \mathbf{k} a valori abbastanza bassi relativamente alla \mathbf{A}_{\max} (es. 0.1), e sviluppando i calcoli iterativi, si ha una curva di crescita che raggiunge asintoticamente il massimo (Figura 2A): all'inizio, finché \mathbf{A}_n è molto più basso del massimo, la crescita è quasi lineare (in realtà, è esponenziale nella primissima parte, poi lineare). Quando però il valore comincia a crescere e ad avvicinarsi al massimo (\mathbf{A}_n si avvicina a \mathbf{A}_{\max}), la crescita si ferma. Infatti quando \mathbf{A}_n si avvicina a \mathbf{A}_{\max} , la differenza ($\mathbf{A}_{\max} - \mathbf{A}_n$), che serve di moltiplicatore nell'equazione, si riduce fino a zero e quindi la crescita anche si riduce fino a zero. Questo è quanto già anticipato dal concetto di *feed-back* e quindi non vi è niente di strano. La stabilità del punto di arrivo della funzione è tale che si può variare, anche del doppio e del triplo, la \mathbf{A}_n senza che tale punto di arrivo cambi (es. figura 2B).

Se però nella funzione si inserisce un parametro \mathbf{k} maggiore di un determinato valore (circa 0.35), si ottiene una curva qualitativamente diversa: il risultato dell'iterazione va crescendo rapidamente verso il massimo, poi supera il valore di \mathbf{A}_{\max} , poi iterazioni successive portano a valori leggermente oscillanti in più ed in meno rispetto a \mathbf{A}_{\max} , poi la curva di crescita si assesta sul valore massimo senza più modificarsi (figura 3A). La stabilità viene quindi raggiunta, ma con

aggiustamenti inizialmente oscillanti in più e in meno. Le oscillazioni si generano perché se il parametro k è sufficientemente alto, il risultato della funzione fa sì che A_n possa superare il valore di 5 (A_{max}), quindi nella iterazione successiva il valore ($A_{max}-A_n$) risulti negativo e di conseguenza A_{n+1} risulti inferiore ad A_n . Pur in presenza di oscillazioni iniziali, la funzione è comunque stabile: anche modificando di molto le condizioni iniziali, alla fine le oscillazioni si smorzano finché si raggiunge la $A_{max} = 5$ (figura 3B). In altre simulazioni si è visto che il valore di A raggiunge 5 e vi rimane anche se la A_n è posta uguale a 0.1 o 6.0 (dati non mostrati).

Per parametri k ancora superiori (> 0.4), avviene un fenomeno cui si dà il nome di *biforcazione*: la funzione oscilla sin dall'inizio ed in modo crescente per una certa sequenza di iterazioni, finché viene a consistere in due valori fissi (in questo caso, 5.8675 e 3.5769) che si ripetono alternativamente in cicli successivi (figura 4A). Tale funzione oscillante è piuttosto stabile e si mantiene anche se il valore della A_n (iniziale) si modifica apprezzabilmente (figura 4B).

Dal punto di vista matematico, si parla di *biforcazione* quando un piccolo cambiamento di una variabile causa un drastico cambiamento di stato senza stati transitori intermedi. Un esempio in fisica potrebbe essere il cambiamento di stato dell'acqua attorno a 100 gradi (da gas a liquido) ed attorno a 0 gradi (da liquido a solido). In biologia, si può citare il caso del neurone, in cui al preciso momento del superamento di una certa soglia di stimolo avviene la partenza di un potenziale d'azione.

Aumentando ancora k , l'ampiezza delle oscillazioni aumenta rispetto al caso precedente. Superando un altro valore critico di k (approssimativamente 0.49), inizia a manifestarsi un'altra biforcazione, perché nelle oscillazioni compaiono suddivisioni tra periodi di maggiore ampiezza e periodi di minore ampiezza (figura 5A). Si vede che la funzione “ubbidisce” ad un ordine ben preciso che è quello di alternare un valore alto e uno basso e di alternare inoltre un ciclo con ampia oscillazione ad uno di minore ampiezza. Si ha quindi uno schema ripetitivo, una *periodicità* regolare, di un maggiore grado di complessità rispetto al

caso precedente. Anche in questo caso, comunque, la funzione è piuttosto stabile rispetto a variazioni delle condizioni iniziali (figura 5B).

Aumentando ulteriormente il parametro k , si notano ulteriori *biforcazioni*, in cui i periodi si sdoppiano ulteriormente a cascata, finché il caos compare anche nella periodicità (figura 6): sopra il valore di circa 0.53 (figura 6C), non si hanno più cicli ripetuti di oscillazioni periodiche, non si può ritrovare nessun ordine e nessuna predicibilità. I punti corrispondenti al valore di A possono comparire in tutte le posizioni che vanno approssimativamente da 2 a 7. In termine tecnico, si dice che la soluzione costituisce un “attrattore strano”: un numero infinito di punti in un'area non infinita. Per il concetto di attrattore, vedi il dizionario dei termini usati.

Bisogna precisare che la certezza assoluta della non-ripetitività dopo un gran numero di cicli non viene raggiunta con questo esperimento: se il ciclo ricorsivo fosse superiore alle 60 iterazioni, non lo si potrebbe notare in questo esempio. Per questo abbiamo provato a prostrarre le iterazioni fino a 180 e ugualmente non si è osservata ripetitività (dati non mostrati). In ogni caso, è anche vero che una ricorsività reale è molto improbabile per il semplice fatto che le cifre decimali nei numeri prodotti da questa funzione sono tendenti all'infinito e che quindi una piccola differenza potrebbe non vedersi sul breve periodo e vedersi invece su un periodo più lungo.

Nella figura 7 vengono illustrate le figure degli attrattori relativi alla funzione descritta nelle figure precedenti. La figura dell'attrattore in uno spazio bidimensionale può essere costruita assegnando alla risultante di ogni ciclo un valore sull'asse delle Y corrispondente al valore di A e sull'asse delle X corrispondente alla *velocità* della variazione di A rispetto al ciclo precedente. In pratica, poiché la distanza percorsa da ogni ciclo è uguale, il valore della X deriva direttamente dalla differenza tra A_{n+1} e A_n . Nella figura 7A si vede un attrattore puntiforme, nella 7B un attrattore periodico a 2 punti, nella 7C un attrattore periodico a 4 punti, nella 7D un attrattore strano. Ciascuno di questi attrattori può essere ottenuto usando la stessa funzione e cambiando i parametri.

E' importante a questo punto notare che le funzioni biologiche e fisiologiche reali hanno più di un attrattore, a seconda delle condizioni in cui operano. L'esistenza di più attrattori deriva sia dalla natura dinamica del sistema (evolve nel tempo, potendosi quindi modificare l'attrattore al variare dei parametri), sia dal fatto che nessun sistema fisiologico è propriamente isolato, ma risente degli influssi di informazioni e di energie provenienti da altri sistemi (vedi lo schema della figura 1). In condizioni di normale omeostasi, se un sistema è perturbato da influenze esterne, il suo comportamento tende a tornare verso l'attrattore. Tuttavia, in prossimità dei punti di biforcazione, una perturbazione può “forzare” il sistema nel bacino di un altro attrattore, nel cui ambito esso poi rimane.

L'esistenza di molteplici attrattori per uno stesso sistema fa sì che il passaggio da un attrattore all'altro possa essere un fenomeno discontinuo e marcato dalla irreversibilità: il suo stato reale di un certo istante dipenda anche dalla “storia” precedente.

Quando due sistemi non lineari sono in qualche modo accoppiati, la modificazione dell'uno esercita un effetto perturbante anche sull'altro. Il caos, perciò, è “cumulativo”: sistemi accoppiati sono più suscettibili di andare incontro al caos rispetto a sistemi isolati; sistemi complessi in cui vi sono molteplici attrattori sono più caotici delle loro singole parti prese singolarmente.

Il concetto di attrattore comincia ad avere notevoli applicazioni in fisiologia e in farmacologia ed in particolare per quanto riguarda la farmacodinamica [van Rossum and de Bie, 1991]. Nella teoria farmacocinetica classica la situazione è semplice perché l'attrattore è un singolo punto e informazioni adeguate possono essere ottenute misurando una singola variabile come la concentrazione del farmaco o di un suo metabolita nel sangue. Nel campo della farmacodinamica, che esamina anche gli effetti dei farmaci, la situazione è più complessa e l'attrattore può essere di tipo caotico, o strano. L'effetto indotto da un farmaco non è una singola entità, un singolo meccanismo modificato, ma un cambiamento di diverse variabili simultaneamente, ciascuna delle quali è interrelata con le altre in modo non lineare. Ciò implica che una dose di farmaco su un sistema complesso, come

ad esempio il sistema cardiovascolare o nervoso, può indurre cambiamenti imprevedibili. La stessa dose di farmaco può produrre diversi effetti in diverse occasioni a causa della grande sensibilità alle condizioni iniziali. E' vero che la variabilità può essere superata dalla media statistica di molte osservazioni, ma gli autori sopra citati sostengono che se il sistema è caotico (cosa che differisce dalla casualità e dalla variabilità biologica) l'uso delle medie non è appropriato.

L'“esplorazione” della funzione di Verhulst può estendersi ad altre interessanti osservazioni. Finora, si è potuto ottenere un tipico comportamento caotico. Praticamente tutte le configurazioni sono ammesse e le oscillazioni della variabile **A** appaiono totalmente irregolari, prive di una apparente coerenza. Si è entrati in una “zona” matematica dove si manifesta il caos, sotto forma di risultati totalmente non periodici.

Il comportamento caotico di questa funzione può essere seguito e documentato ulteriormente aumentando il parametro **k** (figura 8A e 8B). Si nota un aumento delle escursioni (ampiezza) e delle irregolarità periodiche. Tuttavia, una fine analisi di una serie successiva di tracciati con incrementi progressivi di **k** porta ad evidenziare un fenomeno inatteso: a determinati valori ricompare un *pattern* ordinato (figura 8C). Aumentando ulteriormente, anche di poco, il parametro **k**, ricompare il caos (non mostrato). Si può dire quindi che nel caos generato da questa funzione, in presenza di specifiche condizioni, possono presentarsi “isole di ordine”.

Tale fenomeno viene evidenziato molto bene da una figura bidimensionale che riporta tutte le possibili soluzioni dell'equazione al crescere di **k** (figura 9). Qui appaiono biforcazioni ripetute, fino alla comparsa della situazione caotica. All'interno della zona caotica, si osservano delle bande chiare trasversali, in corrispondenza dei valori di **k** che danno un numero finito di soluzioni. C'è quindi una “regolarità ricorsiva” in successive generazioni di transizioni dal caos all'ordine, con la ricomparsa di soluzioni rappresentate da oscillazioni regolari periodiche che vanno incontro a cascate di duplicazioni fino al caos all'aumentare del valore del parametro **k**. La figura 9B rappresenta l'ingrandimento del

particolare evidenziato nel rettangolo della figura 9A. Si nota innanzitutto una forte somiglianza con l'insieme della figura 9A ed, inoltre, una ulteriore fine suddivisione della zona in bande di ordine alternate a zone di caos.

Questo schema è tipico dei *frattali*, termine con cui si definiscono quelle figure geometriche o quegli oggetti dotati di dimensione frazionaria (fractus = frammentato) e di autosomiglianza. La geometria frattale è la geometria che meglio si adatta allo studio del caos. Il termine fu coniato nel 1975 da B.B. Mandelbrot ed acquisì ampia notorietà nel mondo scientifico a partire dai primi anni '80 [Mandelbrot, 1982]. Le forme frattali possono essere generate al calcolatore con algoritmi più o meno complessi. Mediante queste operazioni, appaiono figure bi o tridimensionali con gran varietà di forme diverse, presenza di sottili ramificazioni che si possono seguire nei più fini dettagli e autosomiglianza, in modo che ingrandendo una parte della struttura è possibile rilevare dettagli che si ripetono a diverse scale di ingrandimento.

Molti oggetti naturali, apparentemente disordinati, godono di queste proprietà, per cui i frattali sono strumenti utili per descrivere una gran varietà di fenomeni fisici e di forme naturali: nel mondo inanimato sono frattali i fulmini, il delta dei fiumi, molti tipi di aggregati cristallini inclusi i fiocchi di neve, le configurazioni di fluidi non miscibili; in biologia, gli esempi di frattali si moltiplicano e comprendono le strutture ramificate dei vasi sanguigni, dal sistema di Purkinje che conduce i segnali elettrici nel cuore, dell'albero respiratorio, le radici, i rami e le foglie degli alberi (v. la somiglianza tra la figura 9 e un albero), molti fiori, gli ammoniti, le ramificazioni dei mixomiceti, le arborizzazioni dendritiche dei neuroni, gli aggregati molecolari non cristallini (es. glicogeno), le pieghe e i villi della mucosa intestinale [Sander, 1991; Goldberger *et al.*, 1991; Sommaruga, 1992; Sommerer and Ott, 1993].

Nella formazione degli oggetti con dimensioni frattali si assiste ad una particolare interazione tra eventi stocastici (casuali) ed eventi determinati dallo stato del sistema fisico che va crescendo. Tale tipo di crescita, detto anche *aggregazione per diffusione*, molto probabilmente ha avuto un ruolo fondamentale

nella nascita della vita sulla terra e lo ha continuamente nei processi di accrescimento fisici e biologici [Sander, 1986].

Particolarmente interessante per il discorso qui sviluppato, a riguardo delle oscillazioni di parametri fisiologici, è l'osservazione fatta che la frequenza del battito cardiaco nei soggetti normali ha un andamento caotico e che l'andamento delle variazioni di frequenza spontanee segue uno stesso schema se osservato su periodi di ore o di minuti, con una sorprendente autosomiglianza, tipica del comportamento a frattale [Goldberger et al., 1991].

Il formarsi e l'accrescimento di tali strutture è bene descritto dalle leggi e dalle formule dei frattali, così che oggi, con l'ausilio indispensabile dei calcolatori, si riesce a “simulare” graficamente molti oggetti che finora sfuggivano, per la loro complessità, a qualsiasi analisi formale e quantitativa. Per misurare la variabilità e quindi la complessità di strutture ramificate o frastagliate si può ricorrere al calcolo della dimensione frattale, un parametro che consente l'assegnazione di un valore numerico preciso [Nonnemacher et al., 1994]. Si può calcolare la dimensione frattale di oggetti reali come litorali, montagne, nubi, ecc... Le arterie umane hanno dimensione frattale di 2.7 [Jurgens et al., 1991]. Anche il DNA ha una organizzazione a frattale! [Peng et al., 1994].

Tornando alla funzione di Verhulst, bisogna soffermarci su un'altra caratteristica proprietà che può essere evidenziata introducendo delle “variazioni di percorso” delle traiettorie. Ad esempio, prendendo come base il tracciato della funzione con $A_n = 1.000$, $A_{max} = 5$, $k = 0.53$ (v. figura 6C), si è provato ad introdurre delle piccole variazioni in un punto della traiettoria (figura 10): è evidente che una piccola perturbazione, come quella del valore di $A = 2.04$ al valore $A = 2.05$ (al punto $n=19$), induce una variazione drastica dell'evoluzione della funzione, che appare dopo 7-8 iterazioni, differenziandosi poi totalmente dall'andamento precedente dopo 18-19 iterazioni. Quindi, se si modifica anche solo del 1% il valore di A_n , dopo alcune iterazioni due tracciati non hanno alcun punto in comune. Ciononostante, una somiglianza fondamentale tra le due linee deve essere sottolineata: entrambe sono caotiche e, ciò che più conta, i valori

rimangono “confinati” entro due estremi, un massimo e un minimo in alto ed in basso. Pur tracciando un diverso percorso, la traiettoria dei punti “appartiene” ad una stessa area. Quest'area potrebbe essere considerata “il bacino d'attrazione” della funzione descritta (fissati i parametri k e A_{\max}).

Questo esempio ha illustrato in modo molto chiaro una tipica proprietà dei sistemi caotici: *l'estrema sensibilità alle condizioni iniziali ed a piccole perturbazioni*. Una piccola variazione si amplifica rapidamente a tal punto che dopo alcune iterazioni si perde completamente la periodicità precedente. E' possibile dimostrare anche che variando il parametro k si varia l'aspetto della traiettoria nel modo desiderato: se dalla 19^a iterazione in poi si riduce, ad esempio, il parametro k da 5.3 a 5.0, si osserva che la funzione comincia ad oscillare in modo periodico e regolare (figura 11A). Una riduzione della caoticità si ottiene anche riducendo di poco la A_{\max} (figura 11B).

Un ulteriore fenomeno matematico che si può osservare, innalzando ulteriormente il parametro k , è la comparsa di una *deviazione irreversibile* dalla omeostasi. In questo esempio (figura 12), portando k ad un valore uguale o superiore a 0.6003, si può mettere in evidenza innanzitutto che le oscillazioni sono ulteriormente aumentate di ampiezza (figura 12A), poi si nota (figura 12B) che una minima variazione delle condizioni iniziali (da 1.000 a 1.001, quindi di un millesimo del valore di A) altera drasticamente la traiettoria già dopo 7-8 iterazioni (a conferma di quanto già illustrato sopra). Inaspettatamente, dopo la 40^a iterazione il tracciato si interrompe. La ragione di ciò sta nel fatto che sono comparsi numeri negativi e che tali numeri negativi sono seguiti da numeri ancora più negativi, fino all'infinito negativo. Tale risultato è meglio evidente nella figura 12C, in cui la scala della variabile A è stata modificata in modo da rendere visibili anche i numeri negativi.

Si constata quindi che la traiettoria di questa funzione iterativa, superati determinati valori del parametro di controllo k , “degenera”, divergendo da quello che poteva dirsi un “bacino di attrazione”, per quanto caotico con valori

approssimativamente tra 0 e 7, precipitando verso una situazione di non-reversibilità.

E' facile dimostrare che in questa situazione di precario equilibrio (tra un caos controllato dall'attrattore e la divergenza all'infinito) bastano minime variazioni di qualsiasi parametro per influire sul *se* e sul *quando* si verifica il fenomeno della interruzione della traiettoria (dati non mostrati). Bisogna però precisare che non c'è un valore fisso di **An** (iniziale) oltre il quale si ha la divergenza verso l'infinito entro un determinato numero di iterazioni, bensì si tratta di un andamento caotico anche da questo punto di vista. Infatti, osservando i tracciati di funzioni con **Amax** =5, **k** = 0.6003 e con **An** variabile da 1.000 e 1.020 si è notato che una divergenza all'infinito negativo entro le 60 iterazioni si ottiene solo nelle funzioni con i seguenti **An** iniziali (in parentesi il numero della iterazione in cui il fenomeno comincia a manifestarsi): 1.001 (40); 1.005 (12); 1.008 (24); 1.009 (59); 1.010 (12); 1.013 (9); 1.014 (21); 1.020 (15). Negli altri casi, la deviazione all'infinito si manifesterebbe (probabilmente) dopo la 60^a iterazione e quindi non si vede nell'esperimento effettuato. Se è prevedibile che il fenomeno compaia, non è prevedibile, sulla base della conoscenza della **An** iniziale, a quale iterazione esso compare. Ecco quindi un'altra caratteristica del sistema caotico: un insieme di predicibilità e di impredicibilità.

b. Modello di Volterra-Lotka e sua applicazione in immunologia

L'immunologia è un campo in cui i comportamenti caotici vengono studiati con particolare interesse, in quanto in tale settore si manifesta con evidenza la cooperazione tra fenomeni improntati a stabilità e regolarità (il mantenimento dell'identità biologica dell'individuo) e fenomeni caratterizzati da variabilità e oscillazione (la comparsa di sempre nuove sensibilità recettoriali, i complessi controlli incrociati delle varie cellule implicate nel network idiotipo-anti idiotipo e nel network delle citochine). In questa sezione si ribadiscono alcuni concetti della

teoria del caos, utilizzando l'analogia tra il modello matematico del sistema preda-predatore ed evidenze sperimentali ottenute da uno degli Autori (G.A.) [Zöller et al., 1985; Zöller and Andrighetto, 1985; Andrighetto and Zöller, 1987].

Un esempio di oscillazione caotica in immunologia è il comportamento della risposta anticorpale ad un antigene quando essa sia valutata nel tempo con un sistema che evidenzi le variazioni di cellule B antigene-specifiche (figura 13). Tale andamento è così aperiodico da poter essere definito caotico, ma l'origine della complessità nel caso di sistemi oscillanti di questo tipo potrebbe essere relativamente semplice, risultando, a volte, dall'interazione fra più sistemi oscillanti ciascuno singolarmente descritto da un modello preda-predatore tipo Volterra-Lotka.

Volterra nel 1926 propose un semplice modello di tipo preda-predatore per cercare di spiegare i fenomeni oscillatori riguardanti la cattura di alcune specie di pesci nell'Adriatico. Se $N(t)$ è la popolazione della preda e $P(t)$ è quella del predatore al tempo t , allora il modello potrà essere scritto come

$$\frac{dN}{dt} = N (a - bP)$$

$$\frac{dP}{dt} = P (cN - d)$$

dove la variazione delle prede (dN) nell'intervallo di tempo dt è proporzionale al numero delle prede N moltiplicata per un valore dato dalla differenza di un parametro a (andamento esponenziale della crescita delle prede se non vi fosse il predatore) meno un parametro bP (densità di popolazione del predatore), mentre la variazione della popolazione dei predatori (dP) è proporzionale al numero dei predatori P moltiplicato per un valore dato dalla differenza tra un parametro cN (proporzionale al numero di prede disponibili) meno un parametro d (andamento esponenziale della scomparsa del predatore in assenza di prede).

La figura 14 rappresenta schematicamente le soluzioni periodiche per la preda e il predatore per un sistema del tipo Volterra-Lotka, mentre la figura 15 mostra l'andamento nel tempo della popolazione della lepre e delle linci nella baia di Hudson tra il 1845 e il 1935. Si vede chiaramente che l'andamento è irregolare (i picchi sono diversi come altezza e come forma, ma periodico (entrambe le popolazioni oscillano con andamento ciclico ogni 9-10 anni).

La prima domanda che ci si è posti è dunque stata: è sensato descrivere la risposta immunitaria a un antigene come un sistema preda-predatore? La risposta è positiva, è ragionevole, e qui di seguito ne viene data qualche giustificazione, sia di tipo teorico che di tipo sperimentale.

La produzione anticorpale specifica in risposta ad una sollecitazione antigenica è un processo complicato, la cui regolazione coinvolge l'interazione di parecchi tipi cellulari: linfociti B, T, macrofagi. Le interazioni tra cellule e molecole da esse prodotte sono spesso del tipo a *feed-back*. Ad esempio, gli anticorpi prodotti sono a loro volta antigeni per altri anticorpi (gli anticorpi che riconoscono come antigene il sito combinatorio di altri anticorpi si chiamano anti-idiotipi), il tutto composto di una catena circolare di reazioni che coinvolge un gran numero di cloni che formano il repertorio immunoglobulinico. E' accertato che il network formato dall'interazione idiotipo-antiidiotipo gioca un importante ruolo nella regolazione della risposta immune, potendo alternativamente assumere carattere soppressivo o stimolatorio e quindi divenendo fonte di oscillazioni. Un'altra fonte di oscillazioni può essere data dalle cellule Tsuppressor (Ts), che sono in grado di regolare negativamente le cellule Thelper (Th), in grado, a loro volta, di amplificare la risposta immune.

Caos e frattali sono essenziali nelle dinamiche delle reti idiotipiche, come l'immunologia moderna va sempre più evidenziando. Analizzando le dinamiche dell'andamento della produzione di un certo anticorpo specifico e dell'anticorpo anti-anticorpo, si è visto che esse presentano sempre delle oscillazioni in cui si vedono le loro concentrazioni fluttuare inversamente con picchi ricorrenti ogni

circa 80 giorni. E' interessante il fatto che simili oscillazioni sono alquanto irregolari, caotiche [rassegna in Perelson, 1989].

Sulla base di queste considerazioni biologiche, abbiamo costruito un modello di regolazione della risposta immune basato sull'interazione di due insiemi di cellule B, Th, Ts e B1, Th1, Ts1, aventi la proprietà di riconoscersi mutuamente (ovvero gli idiotipi espressi dal primo insieme sono riconosciuti da siti combinatori del secondo e viceversa). Per valutare la dinamica nel tempo delle singole popolazioni si è scritto un sistema di equazioni differenziali non lineari che sono state risolte con un P.C. usando il programma *Mathematica*. In figura 16A sono riportati gli andamenti delle 6 popolazioni cellulari, che si influenzano reciprocamente e generano schemi oscillanti con periodi di circa 7 giorni.

Gli andamenti sono strettamente dipendenti dai parametri di interazione, come del resto in tutti i sistemi caotici. Lo studio della stabilità del sistema ha portato all'individuazione di un set di parametri, che riteniamo corrispondano biologicamente allo stato del sistema immunitario in assenza di antigene (stato naive), che comportano un ciclo limite (figura 16B). Riteniamo inoltre che ci debba essere un altro stato di stabilità del sistema, che biologicamente dovrebbe corrispondere alla tolleranza, ma per il momento lo studio dei parametri di simulazione non ha dato esito favorevole.

La sperimentazione, su indicazione della modellizzazione matematica, ha tentato di disseccare la regolazione della risposta immune seguendo nel tempo le frequenze delle cellule B, Th e Ts nel topo stimolato con antigeni T-dipendenti (figura 17) [Zöller et al., 1985]. L'andamento complessivo dei linfociti è caotico, ma se si seguono gli andamenti delle singole popolazioni, appaiono dei cicli regolari che mantengono fra loro rapporti costanti per ampiezza e periodo.

Concludendo, la risposta immune ad un antigene è un fenomeno che si presenta sotto forma di un processo caotico quando si osservano le oscillazioni della produzione anticorpale o della totalità delle cellule T specifiche, ma sia la modellizzazione matematica che la sperimentazione ha dimostrato che esso è la risultante dell'interazione di più fenomeni ciclici regolari (periodici). In altre

parole, il comportamento caotico di una variabile come la concentrazione di anticorpi è la risultante di molti comportamenti periodici, nessuno dei quali prevale in condizioni ordinarie. Dall'interazione di più attrattori che controllano una determinata funzione (es.: concentrazione di anticorpi) nasce un comportamento caotico. Ciò conferisce al sistema una grande flessibilità perché opportune perturbazioni (anche inizialmente piccole, come quelle di una piccola dose di antigene) possono rapidamente spostare il comportamento di uno o più cloni cellulari.

c. Reti booleane

Si è già visto che, per effetto delle leggi del caos, sistemi dinamici non lineari possono presentare facili transizioni da ordine a disordine, a seguito di minime perturbazioni dei parametri di controllo o del flusso di energia che li attraversa (v. effetto farfalla, sistemi dissipativi). Tuttavia, in questi casi, si tratta sempre di modificazioni in qualche modo indotte dall'esterno. Esisterebbe invece anche un fenomeno per cui il sistema complesso e disordinato “cristallizza” spontaneamente in uno stato ordinato. Dal disordine all'ordine per una proprietà intrinseca al sistema e senza apporto di energia esterna: giustamente, questo fenomeno è stato anche definito “*anticaos*” [Kauffman, 1991; Kauffman, 1993].

I modelli matematici di autoorganizzazione sono stati sviluppati inizialmente con l'intento di spiegare come si organizza il genoma cellulare, che potrebbe essere visto come un complesso calcolatore in cui si ha la memoria (l'informazione depositata nel DNA, per circa 100.000 diverse proteine) ma anche l'elaborazione, in parallelo, di alcune di queste informazioni (qualche centinaio o migliaio simultaneamente). In più, molte di queste proteine-informazioni influenzano il genoma stesso nella sua attività, in molteplici siti di controllo. In tal modo, molti geni sono “accoppiati” al funzionamento di altri, influenzandosi reciprocamente, costituendo, cioè, una *rete*. Il comportamento coordinato e sequenziale di questa

rete è alla base del funzionamento e della differenziazione cellulare, per cui una cellula di fegato è diversa da una del muscolo cardiaco, svolge funzioni diverse, pur avendo in sé la stessa informazione genetica, essendo costituita degli stessi materiali elementari (aminoacidi, zuccheri, lipidi, carboidrati) e seguendo le stesse “regole generali” di funzionamento (reazioni biochimiche).

Non è possibile qui entrare nei dettagli dei sistemi matematici di elaborazione parallela costruiti per spiegare la autoorganizzazione, dettagli che potranno essere trovati nella letteratura citata. Ci si limiterà quindi alle nozioni essenziali. Per descrivere il comportamento di numerosissimi elementi tra loro accoppiati (rete), di cui ciascuno può essere in forma attiva o inattiva, si è ricorso ai modelli delle reti booleane stocastiche (dal matematico G. Boole). In una tale rete, formata da un numero N di elementi, il comportamento di ciascun elemento (attivo o inattivo) è determinato dalle variabili di ingresso che la connettono (variabile “AND”) o la disgiungono (variabile “OR”) dal comportamento degli altri elementi. Ogni elemento può avere un numero di ingressi a scelta. Se gli ingressi sono K , le possibili combinazioni delle due variabili (AND o OR) saranno 2^K . Le reti di questo tipo sono dette NK perché contengono un numero N di elementi, ciascuno dei quali ha K ingressi, e stocastiche perché le scelte AND e OR e il numero degli ingressi di ciascun singolo elemento sono scelti a caso all'inizio. Poiché gli elementi sono collegati, attivandosi (AND) o disattivandosi (OR) in rete, si può osservare l'evoluzione degli stati della rete in successivi passaggi. Per semplicità, ogni passaggio da uno stato e l'altro, viene attuato per modificazione sincrona di tutti gli elementi in gioco. Il sistema passa da uno stato ad un altro, in modo deterministico, e quindi, poiché le combinazioni possibili sono finite, per quanto complessa sia la rete, essa finirà prima o poi per ritrovarsi in uno stato già precedentemente formato, riprendendo quindi il ciclo di trasformazioni. I cicli di stati che le reti booleane percorrono nel tempo sono detti “*attrattori dinamici*” e ogni rete lasciata a sé stessa finisce prima o poi in uno di questi attrattori e vi rimane.

Su tali sistemi matematici è possibile eseguire esperimenti, introducendo delle *perturbazioni*, di cui alcune modificano la rete solo localmente e per breve tempo, finché essa riprende il suo ciclo originario, ritorna allo stesso attrattore. Altre perturbazioni, invece, non vengono riassorbite, destabilizzano la rete e la spingono verso un altro bacino di attrazione, dal quale non potrà più tornare al precedente. Si possono fare esperimenti anche modificando la “struttura” della rete stessa, alterando il numero N degli elementi, o il numero K degli ingressi per ciascun elemento. Si può constatare che gli attrattori si modificano di conseguenza. Quando il numero N è uguale a K ($N=K$), si ha il massimo disordine, il sistema è totalmente caotico ed imprevedibile. I comportamenti caotici si possono riscontrare anche quando $K < N$, purché K sia uguale o superiore a tre. Se $K = 2$, le proprietà delle reti booleane stocastiche sono tali che si manifesta facilmente una tendenza all'ordine collettivo spontaneo. In pratica, si formano dei gruppi di elementi che tra loro sono connessi in modo che ogni perturbazione non li fa spostare dall'attrattore. E' come se, nel sistema, vi fosse una specie di comportamento omeostatico, e l'omeostasi è proprio una delle proprietà dei sistemi viventi.

Il motivo fondamentale della nascita di ordine collettivo spontaneo nelle reti booleane stocastiche sta nel fatto che in queste reti si forma, casualmente, un “nucleo congelato”, una trama di elementi che sono bloccati, per il gioco dei controlli incrociati, in un certo stato attivo o inattivo. Tale nucleo crea pareti uniformi interallacciate, che si propagano in una zona più ampia, “infiltrandosi” nel sistema. Di conseguenza, una zona ordinata si isola da altri elementi che restano variabili e disordinati. Poiché in queste reti in cui $K = 2$ non vi sono molte comunicazioni (in altri termini il sistema non è molto “connesso”), le modificazioni descritte restano confinate a isole, tra loro non comunicanti, aggregati di omogeneità, distinti da altri. Variando opportunamente i valori dei parametri N e K , si possono trovare dei momenti di transizione tra ordine e disordine, si possono osservare i cambiamenti di dimensione delle “isole congelate”, e così via. Crescendo il numero K di ingressi (quindi di connessioni)

le componenti congelate, molto organizzate e rigide, “fondono” e la rete acquista in complessità e dinamicità.

Tali modelli matematici, dotati di grande flessibilità, sono utilizzati per simulare la selezione naturale e le capacità autoorganizzative dei sistemi complessi. Si possono, quindi, progettare delle reti che simulino il genoma umano, ponendo ad esempio il numero $N = 100.000$ (cioè il numero dei geni) e il coefficiente $K = 10$ (cioè il numero di ingressi, di controlli, che ogni gene subisce). Oppure, si possono simulare popolazioni molecolari o cellulari, conoscendone empiricamente il numero e i segnali (ad es. ormoni) che esse si scambiano. In tali reti, “in bilico” tra ordine e disordine, si possono quindi introdurre delle modificazioni (chiamate appropriatamente “mutazioni”) di un elemento (ad esempio cambiarlo da attivo a inattivo) e osservare ciò che succede nell'evoluzione del sistema. In alcuni casi le reti booleane si adattano alla mutazione con aggiustamenti minimi, come un sistema omeostatico; in altri casi, le mutazioni causano cascate di alterazioni imponenti, modificando sostanzialmente la struttura della rete, forme e dimensioni delle isole.

Utilizzando simili metodi, è stato possibile calcolare approssimativamente quanto lungo dovrebbe essere il ciclo di una cellula, per passare attraverso tutti gli schemi di espressione dei suoi geni (cioè, in termini matematici, percorrere tutto l'attrattore per tornare al punto di partenza). I risultati ottenuti (tra 370 e 3700 minuti) approssimano i dati delle osservazioni sperimentali del ciclo mitotico. È stato possibile anche calcolare, sulla base degli attrattori possibili in un genoma, quanti tipi cellulari sono resi possibili (infatti un tipo cellulare si differenzia dagli altri proprio in quanto attiva alcuni geni e ne reprime altri). Anche queste previsioni si sono viste corrispondere a quanto osservato sperimentalmente in organismi di complessità crescente, dal batterio all'uomo. Infine, i modelli consentono anche di prevedere la stabilità dei tipi cellulari e l'effetto delle mutazioni genetiche, fatto di notevole importanza nello studio dei tumori.

In conclusione, grazie a questo interessante tipo di approccio matematico, è stato possibile approfondire la conoscenza dei sistemi complessi e del rapporto tra

fenomeni stocastici e nascita dell'ordine. Soprattutto, è stato possibile dimostrare un fenomeno che ha indubbia rilevanza nella teoria dell'evoluzione: dal caos di molteplici elementi interconnessi può originare un ordine microscopico; da questo nucleo iniziale può originare, spontaneamente, un ordine macroscopico in forma di isole di ordine o in forma di modificazioni che si ripetono secondo cicli descritti dagli attrattori.

CAPITOLO 4. OMEOSTASI E CAOS IN PATOLOGIA

Ci si può chiedere a questo punto se i modelli del caos e delle reti interconnesse possano essere applicati allo studio della patogenesi delle malattie: la risposta è positiva ed in questo capitolo si forniranno alcuni esempi di tale nuovo approccio alla patologia. Le considerazioni che seguiranno sono sviluppate in gran parte sulla base di un ragionamento teorico e analogico che, per quanto suggestivo e utile a costruire modelli, deve essere sostanziato da dimostrazioni sperimentali per potersi dire a pieno titolo scientificamente fondato. Tali dimostrazioni si stanno oggi accumulando, ma si tratta pur sempre di studi-pilota e preliminari, la cui importanza per quanto riguarda una possibile applicazione clinica su larga scala resta ancora da determinare.

Quanto finora detto mostra che le oscillazioni biologiche e fisiologiche fanno parte della “regola” matematica che governa un sistema omeostatico per il semplice fatto che esso è organizzato a *feed-back*: esse sono quindi normali, anche in forma caotica, per determinati valori dei parametri di controllo di un sistema omeostatico. Tuttavia, ogni aspetto della fisiologia ha un suo versante patologico e quindi si può logicamente chiedersi quali siano le “patologie” dell'omeostasi dal punto di vista della sua caoticità. La risposta a questa domanda è, da un certo punto di vista, abbastanza semplice: si può delineare l'esistenza di una patologia da “perdita di caoticità” ed una patologia da “aumento di caoticità”. In altre parole, se è vero che ogni sistema biologico complesso tende a regolare l'intensità e la qualità delle proprie funzioni sulla base di un certo tipo di attrattore, è anche vero che la patologia insorge quando l'attrattore stesso cambia di dimensione (es. nel tipo di periodicità) o di struttura. Da questo punto di vista, l'origine della malattia potrebbe essere colto là dove c'è una biforcazione nelle dinamiche di uno o più sistemi biologici, sia in aumento di caoticità che in diminuzione.

I sistemi biologici hanno molteplici parti che agiscono coerentemente per produrre una azione globale. Essi possono essere considerati come “*patterns*”

collettivi meta-stabili di molti oscillatori più o meno accoppiati. La caoticità di ogni sistema conferisce ad esso la flessibilità tale da poter variare con facilità (cioè grazie a piccole influenze esterne) il proprio comportamento per adattarsi ai cambiamenti degli altri. Per questo, la patologia può cominciare come “perdita di connettività” tra gli elementi del sistema globale. Tale perdita di connessioni rende *meno complessa* la rete di comunicazioni, ma può aumentare la caoticità perché alcuni elementi (cellule, tessuti, organi) sfuggono al gioco dei controlli incrociati e iniziano ad oscillare in modo molto più marcato e disorganizzato.

Quindi, se è vero che il caos di per sé non è un elemento negativo, in quanto è elemento di flessibilità e generatore di diversità, se si perde il coordinamento, la “connettività” del sistema nel suo insieme e con il resto dell'organismo, alcune sub-componenti possono oscillare in modo eccessivo, imprevedibile, generando quindi disordini localizzati che però possono essere amplificati (la amplificazione delle fluttuazioni è un tipico comportamento dei sistemi caotici) e trasmessi ad altri sistemi in modo disordinato e afinalistico. L'oscillazione assume l'aspetto della malattia in quanto provoca l'emergere di sintomi e danni consistenti. E' come se il caos venisse amplificato e si formassero dei “nuclei” di interrelazioni patologiche tra cellule o sistemi, coinvolgenti anche il sistema connettivo, che in qualche modo si isolano dal controllo generale e si automantengono. Al limite, variazioni troppo rapide ed intense delle variabili implicate in un sistema omeostatico possono configurare una situazione analoga a quella vista sopra per la funzione di Verhulst allorché il parametro k supera un determinato valore: una situazione di *feed-back* positivo ed autodistruzione del sistema.

D'altra parte, la distruzione di connessioni e/o la perdita di complessità di specifici sistemi (ad esempio: atrofia di tessuti, invecchiamento) può far *ridurre* le fini variazioni omeostatiche e caotiche, accompagnandosi a una semplificazione degli schemi omeostatici. In questo caso, si può anche ravvisare la patologia come perdita di caoticità. La sclerosi, ad esempio, rappresenta fisicamente una modificazione del connettivo con riduzione della flessibilità, della deformabilità

ed, infine, della vitalità (atrofia). Altri esempi di questo fenomeno, tra cui molto importanti sono le modificazioni del ritmo cardiaco, saranno forniti più avanti.

Molte malattie riconoscono nella loro patogenesi, almeno nelle fasi iniziali, dei difetti della comunicazione che insorgono nelle reti complesse dei sistemi integrati, quali quelli considerati in altre sezioni di questo lavoro (controllo della proliferazione cellulare, sistema immunitario, equilibrio tra fattori pro- e anti-infiammatori, ecc. In una rete in cui molti sistemi omeostatici (molecolari, cellulari, sistemici) sono interconnessi, l'informazione del sistema intero "percorre" dei cicli ("attrattori") che hanno forme spazio-temporali variabili, fluttuanti, ma sempre riconducibili, nello stati di normalità, ad uno schema armonizzato con il tutto visto nella sua globalità, schema finalizzato alla sopravvivenza dell'organismo, con il minore dispendio di energia possibile. Se uno o più elementi di tali reti perdono le connessioni informative, cioè il sistema omeostatico in sé si spezza, o si spezza il flusso di informazione tra diversi sistemi, si ha un processo patologico proprio in quanto si genera il caos, o, meglio, il sistema caotico passa in un altro attrattore, così come si è visto possibile nei modelli booleani. Tali modelli prevedono che il nuovo attrattore, nel caso considerato "patologico", possa conservarsi anche se la perturbazione iniziale (perdita di connessione) è solo temporanea (in patologia, si potrebbe parlare di *cronicizzazione*).

Vi sono molti modi con cui un sistema integrato perde di complessità e di connettività e qui ne sono elencati alcuni a titolo esemplificativo (in fondo, tutta la patologia potrebbe essere vista in questa ottica):

a) diminuzione del numero di elementi cellulari in gioco (vedi, ad esempio, processi di atrofia senile o per anossia cellulare).

b) alterazioni di numero o di sensibilità dei recettori quando essi sono troppo a lungo o troppo intensamente occupati (vedi quanto già detto sopra nella sezione relativa ai recettori), o quando sono direttamente attaccati dalla malattia (es.: miastenia grave), o quando sono geneticamente difettosi (es.: ipercolesterolemia familiare).

c) mancata produzione del segnale (es.: difetto anatomico o malattia di ghiandola endocrina) o sua intercettazione durante il percorso (interruzione di nervi, presenza di autoanticorpi verso proteine segnale).

d) difetto nei meccanismi intracellulari di trasduzione del segnale (dal recettore all'intero della cellula): si pensi ad esempio alla azione di tossine batteriche che mettono fuori uso le G-proteine, o all'adattamento delle stesse G-proteine nello scompenso cardiaco, o alla azione di molte sostanze farmacologicamente attive come i calcio-antagonisti o gli agenti che elevano l'AMPciclico, ecc... Molti oncogeni agiscono proprio su questi delicati passaggi del controllo della proliferazione.

E' certo che dinamiche caotiche sono presenti normalmente nell'omeostasi di reti a componenti multiple e incrociate come le citochine, i neuropeptidi, il sistema endocrino, le reti idiotipo-antiidiotipo, l'equilibrio HLA-recettori immunitari. La malattia autoimmunitaria viene oggi interpretata come un difetto di funzionamento del network immunitario. Il comportamento dinamico di cloni autoreattivi è alterato in quanto essi sono meno densamente connessi, cosicché essi si espandono e possono essere selezionati mutanti ad alta affinità per autoantigeni. E' stato riportato che gli schemi di fluttuazione degli anticorpi naturali sono alterati nell'uomo e nel topo affetti da malattie autoimmunitarie: le fluttuazioni sono o totalmente ritmiche, o totalmente casuali (random), mentre nel normale le fluttuazioni hanno schemi caotici ma non totalmente casuali (cioè una situazione intermedia tra i due estremi) [Varela and Coutinho, 1991]. E' interessante il fatto che gli stessi autori sopra citati suggeriscono che la comprensione di queste dinamiche porterebbe a modificare i convenzionali schemi terapeutici: piuttosto che sopprimere in modo aspecifico l'immunità, il trattamento dovrebbe rinforzare il network immunitario stimolando la connettività delle regioni variabili di recettori e anticorpi. Di fatto, una prima applicazione di questo principio è l'indicazione, emersa di recente, di somministrare immunoglobuline naturali in una serie di malattie autoimmunitarie.

Un'applicazione dei modelli del caos riguarda anche l'epidemiologia delle malattie infettive: l'insorgenza e la ricorrenza di epidemie ha un andamento ciclico, come è ben noto, ma irregolare, ha dinamiche che sono state analizzate con la matematica del caos [May, 1987; Olsen and Schaffer, 1990; Blanchard, 1994]. Ad esempio, pare che le epidemie di varicella presentano una variabilità in cui si possono comunque evidenziare andamenti temporali del tipo di ciclo-limite, con periodo di un anno, mentre le epidemie di rosolia mostrano un andamento tipicamente caotico, cioè più irregolare e più sensibile all'influenza di piccoli fattori climatici o ambientali [Olsen and Schaffer, 1990].

Seguono altri esempi di disordini dell'omeostasi, in cui sono stati descritti dei comportamenti fisiopatologici che si possono ricondurre essenzialmente a “deficit” o ad “eccesso” di caoticità.

Nelle persone sane, l'insulina è secreta con pulsazioni che si ripetono ogni 12-15 minuti, comandate da un “*pacemaker*” pancreatico probabilmente influenzato dal nervo vago. L'insulina secreta in pulsazioni è metabolicamente più efficiente nel mantenere i normali livelli di glucosio ed è significativo il fatto che l'irregolarità o persino la perdita di tali oscillazioni è la più precoce anomalia rilevabile nella secrezione di insulina in pazienti con diabete di tipo 2 [Polonsky et al., 1988; Holffenbuttel and Van Haefen, 1993].

Nel diabete di tipo 2 il controllo metabolico è ovviamente disregolato, e finora nella valutazione dell'andamento clinico si è posta molta attenzione alla quantità assoluta di glucosio presente nel sangue (oltre ad altri parametri quali le emoglobine glicosilate, che documentano in qualche modo l'effetto di tale disregolazione sulle proteine). Recenti evidenze mostrano che un altro fattore che può essere considerato è rappresentato dalla *variabilità* della glicemia, cioè dalla sua instabilità nel tempo, indipendentemente dal livello assoluto. A questo proposito, è degno di citazione uno studio condotto per valutare se il controllo della glicemia nei pazienti diabetici anziani è una determinante significativa della mortalità [Muggeo et al., 1995]. Il glucosio plasmatico (a digiuno) è stato misurato ripetutamente nel corso di tre anni in un ampio numero di pazienti,

quindi è stata valutata la mortalità nei successivi cinque anni. La mortalità maggiore non è risultata associata alla concentrazione media del glucosio, bensì alla sua variabilità (misurata come coefficiente di variazione rispetto alla media, in ripetute misurazioni). In altre parole, il gruppo di pazienti con CV maggiore (per la precisione $> 18.5\%$) aveva una probabilità di sopravvivenza significativamente inferiore al resto dei pazienti con la stessa malattia e il CV è risultato una variabile indipendente dalla media della glicemia. La patogenicità del disordine metabolico non pare quindi legata tanto alla iperglicemia, quanto all'ampiezza delle sue oscillazioni, legate alla inefficienza del controllo ormonale. Gli autori concludono suggerendo che per un buon controllo del diabete nell'anziano si dovrebbe considerare non solo il parametro quantitativo medio ma anche la sua stabilità.

Applicazioni della teoria del caos sono state avanzate in cardiologia. È stato riportato [Goldberger et al., 1991] che la frequenza cardiaca di un individuo sano varia nel tempo con periodicità intrinsecamente caotica e non, come si riteneva finora, secondo un normale ritmo sinusale influenzato solo dai sistemi omeostatici. Osservando tali variazioni secondo scale temporali diverse (minuti, decine di minuti e ore) si vedono fluttuazioni simili, che ricordano un comportamento frattale, nel dominio del tempo anziché in quello dello spazio. Non si tratta, ovviamente, di aritmia, ma di oscillazioni del ritmo normale. Il battito cardiaco normale non è perfettamente regolare nei soggetti sani, ma presenta ampie variazioni che mostrano dinamiche caotiche, mentre soggetti con scompenso cardiaco congestizio hanno minore variabilità nella frequenza cardiaca. La variabilità nel ritmo diminuisce in corso di grave malattia coronarica, uso di digossina o cocaina ed anche semplicemente nell'invecchiamento [Casolo et al., 1989]. La morte cardiaca improvvisa è preceduta da periodi in cui si è evidenziata la scomparsa del caos normale e l'insorgere di una periodicità più regolare ma, proprio per questo, patologica [Kleiger et al., 1987; Goldberger and West, 1987].

La fibrillazione ventricolare potrebbe, a prima vista, apparire come il massimo della caoticità. Tuttavia, alla luce della teoria del caos, ciò non è esatto: vi è infatti

una sostanziale differenza tra eventi contrattili totalmente casuali e slegati tra loro e comportamento caotico. Nell'analisi ECG del cuore in fibrillazione non è stato identificato nessun attrattore [Kaplan and Cohen, 1990a e 1990b], così che gli autori concludono che la fibrillazione appare come un segnale random non caotico.

In psichiatria, si potrebbe considerare come esempio di perdita di caoticità l'insorgere di idee fisse o di ossessioni: mentre la psiche normale segue un attrattore "strano", ricco di variabilità pur con delle caratteristiche di stabilità (*patterns* psicologici, archetipi secondo Jung), nell'ossessivo emergono comportamenti stereotipati, ripetitivi o fissi, difficili da influenzare dall'esterno (se non con grosse dosi di farmaci o manovre estreme). Anche la patologia psichica spesso origina e trova consolidamento dalla perdita di capacità di comunicare con i propri simili (perdita di complessità e di flessibilità).

L'importanza del caos nelle funzioni cerebrali è tale che alcuni autori si sono spinti a considerare questo fenomeno la base per la creatività intellettuale [Freeman, 1991] o addirittura il corrispondente fisiologico dell'esistenza di un libero volere [Crutchfield et al, 1986]. Freeman, professore di neurobiologia all'Università della California a Berkeley, riferisce: "I nostri studi ci hanno fatto anche scoprire un'attività cerebrale caotica, un comportamento complesso che sembra casuale, ma che in realtà possiede un ordine nascosto. Tale attività è evidente nella tendenza di ampi gruppi di neuroni a passare bruscamente e simultaneamente da un quadro complesso di attività ad un altro in risposta al più piccolo degli stimoli. Questa capacità è una caratteristica primaria di molti sistemi caotici. Essa non danneggia il cervello: anzi, secondo noi, sarebbe proprio la chiave della percezione. Avanziamo anche l'ipotesi che essa sia alla base della capacità del cervello di rispondere in modo flessibile alle sollecitazioni del mondo esterno e di generare nuovi tipi di attività, compreso il concepire idee nuove" [Freeman, 1991].

Da una prospettiva ancora più ampia di discussione del problema, si è già avuto occasione di dimostrare come l'esercizio della libera volontà presupponga

necessariamente che il suo strumento materiale (cervello) non sia rigorosamente deterministico, ma sia soggetto alla indeterminatezza inerente alla materia atomica (fluttuazioni quantistiche) ed alla materia vivente (sistemi lontani dall'equilibrio) [Zatti, 1993].

In neurologia, si è visto che l'anziano presenta una minore ramificazione delle cellule di Purkinje, quindi una riduzione della loro dimensione frattale [Lipsitz and Goldberger, 1992].

Particolari metodi di analisi basati sulle dinamiche non lineari hanno permesso di paragonare gruppi di soggetti giovani e anziani per quanto riguarda la complessità del ritmo cardiaco e delle variazioni di pressione [Kaplan et al., 1991]. Si è visto che tale complessità è ridotta nel corso dell'invecchiamento. Per questo alcuni sostengono che la misura della complessità basata sulla teoria del caos e dei frattali può fornire un nuovo strumento per monitorare l'invecchiamento e testare l'efficacia di interventi indirizzati specificamente a modificare il declino di capacità adattativa che avviene con l'età [Lipsitz and Goldberger, 1992]. L'idea di “padroneggiare il caos” pare molto attraente in un'ampia serie di campi di ricerca! [Ditto e Pecora, 1993; Shinbrot et al., 1993].

La comparsa di crisi epilettiche si associa ad una perdita di caoticità nelle onde cerebrali e comparsa di treni di impulsi periodici a partenza da determinati focolai [Babloyantz and Destexhe, 1986; Schiff et al., 1994]. Nel campo dello studio dell'epilessia è stato utilizzato il concetto di “dimensione frattale” per analizzare l'evoluzione temporale delle onde EEG. La computazione dei dati di ratti normali ha consentito di costruire un attrattore di dimensione 5.9, mentre l'attrattore durante le crisi epilettiche aveva una dimensione di 2.5, quindi indicava un grado minore di caoticità. E' stato suggerito che in questo caso la dimensione frattale correla con la flessibilità e adattabilità dell'organismo.

In un elegante esperimento eseguito su preparato di cervello di ratto si è data una dimostrazione di come controllare il caos in un sistema vivente [Schiff et al., 1994]. In una fettina di ippocampo mantenuta in bagno di coltura la attività neuronale è rappresentata da scariche a impulsi con tipico comportamento caotico

(periodicità instabile), che può essere registrato al computer. Impulsi elettrici intermittenti somministrati ad appropriati intervalli temporali (“*periodic pacing*”), calcolati dal computer sulla base dell'andamento della scarica spontanea, sono in grado di regolarizzare la periodicità della scarica della popolazione neuronale. D'altra parte, certi tipi di preparazioni hanno un comportamento periodico spontaneo, che può essere “*anticontrollato*” per indurre il caos. Gli autori suggeriscono che questo modello potrebbe trovare applicazione nel controllo *in vivo* dei foci epilettici, che hanno alcune caratteristiche tipiche di periodicità instabile.

Riduzione di complessità (misurata come riduzione della dimensione frattale) si è osservata nelle trabecole ossee in caso di osteoporosi [Benhamou et al., 1994]. Secondo alcuni autori [Caldwell et al., 1994], la dimensione frattale fornisce una informazione qualitativa sulla *struttura* dell'osso (espressa però in termini quantitativi), che va ad aggiungersi, integrandola con nuovi significati, alla informazione puramente quantitativa fornita dalla tradizionale densitometria ossea.

La misura della irregolarità della forma è stata utilizzata in studi-pilota anche nella diagnostica istopatologica dei tumori [Landini and Rippin, 1994]. Mentre il profilo di una sezione della mucosa normale del pavimento della bocca è risultata avere una dimensione frattale di 0.97, quello di una sezione di un carcinoma aveva dimensione di 1.61, documentando quindi in termini numerici la maggiore irregolarità. Forme di cheratosi con severa displasia davano valori intermedi.

La membrana delle cellule leucemiche (leucemia “*hairy-cell*”) ha una dimensione frattale tra 1.29 e 1.37, mentre quella dei linfociti T normali è tra 1.12 e 1.23 [Nonnemacher, 1994]. E' chiaro che per fare la diagnosi in questo caso non servono complicati calcoli matematici, essendo determinanti l'osservazione al microscopio ottico e l'immunocitochimica, ma è pure significativo il fatto che si sia trovato un modo per trasformare un giudizio qualitativo (e per questo in un certo modo soggettivo) in un numero oggettivo.

L'organizzazione frattale può essere studiata anche su sistemi in coltura di tessuti o di microrganismi. Per quanto riguarda i primi, si può citare lo studio della ramificazione dei piccoli vasi nella membrana corion-allantoidea del pollo [Kurz et al., 1994]. La velocità di crescita delle cellule endoteliali e delle altre cellule che costituiscono la rete vasale è stata misurata sia come densità di cellule per area di superficie che come dimensione frattale. Si è visto, tra l'altro, che l'aggiunta di un fattore di crescita (*Vascular Endothelial Growth Factor*) aumenta il numero di cellule ma aumenta anche la dimensione frattale (da 1.4 a 1.8 circa) dei vasi neoformati: esso interviene quindi nella organizzazione delle ramificazioni e nell'aumento di complessità. Per quanto riguarda i microrganismi, ad esempio, sono state misurate, in colonie fungine crescenti su agar, le variabili come la “rugosità”, la “altezza” e la “autosomiglianza” delle colonie. Tali variabili dipendono dalla concentrazione del glucosio nel mezzo in modo indipendente l'una dall'altra [Matsuura and Miyazima, 1994].

Un aggravamento della situazione caotica nella secrezione di ormoni nell'insufficienza cardiaca è stato messo in evidenza da Nugent e collaboratori [Nugent et al., 1994]. In sintesi, tali autori hanno misurato la concentrazione ematica di peptide atriale natriuretico (ANP) ogni 2 minuti per un periodo di 90 minuti. Nel soggetto sano (figura 18A) si notano marcate e irregolari oscillazioni (la concentrazione varia da 2 a 60 ng/l), nel soggetto malato (insufficienza cardiaca cronica) si notano oscillazioni di ampiezza molto maggiore (da 2 a 400 ng/l) (figura 18B). In questi casi, quindi, si potrebbe dire che la caoticità è peggiorata, nel senso osservato nella nostra progressione matematica con la funzione di Verhulst, in cui aumentando il parametro k aumentava l'ampiezza dei picchi. Tuttavia, bisogna precisare che nello stesso articolo si riferisce che in alcuni pazienti (5 su 27) sono comparsi dei picchi di concentrazione (fino a circa 2000 ng/l) con una periodicità molto più evidente (ogni 10-12 minuti) (figura 18C). In questi casi, quindi, all'aumento ulteriore di concentrazione dell'ormone, si accompagna la comparsa di maggiore periodicità (ordine nel caos!). Uno di questi

pazienti morì poco dopo per molteplici embolie polmonari, a conferma del fatto che la situazione era estremamente grave.

Una forma particolarmente grave di aumento di caoticità si può verificare in tutte quelle situazioni in cui la perdita di controllo omeostatico per ragioni esterne al sistema stesso si accompagna a incapacità del sistema di compensare la perturbazione indotta. A questo proposito si possono fare i seguenti esempi di catene consequenziali di eventi patologici (riportati con inevitabili semplificazioni):

a) shock ---> vasocostrizione compensatoria ---> ipoperfusione ---> danno cellulare ---> vasodilatazione ---> ipotensione ---> shock, ecc...;

b) ipertensione ---> vasocostrizione ---> ipoperfusione renale ---> attivazione del sistema renina/angiotensina ---> ipertensione, ecc...;

c) lesione cellulare per anossia ---> deficit di energia ---> mancata funzione delle pompe di membrana ---> ingresso di calcio ---> eccitazione cellulare ---> aumento di consumo di energia ---> deficit di energia, ecc...

d) infezione da HIV ---> distruzione dei linfociti ---> immunodeficienza ---> infezione ---> attivazione del sistema immunitario ---> attivazione del virus latente ---> replicazione del virus ---> distruzione dei linfociti, ecc...

In tutti questi casi, riguardanti sia il piano clinico che quello biologico-cellulare, si può parlare di situazioni di autoamplificazione della deviazione dalla normale omeostasi, situazioni dette anche circoli viziosi. Siamo quindi nel caso descritto dalla figura 12, che è la situazione più “a rischio” di distruzione del sistema, in assenza di drastici e mirati interventi regolatori esterni.

CAPITOLO 5. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Il messaggio principale che emerge dalla presente trattazione consiste in una rivisitazione del concetto fondamentale della medicina, quello di malattia o, più precisamente, della differenza tra il “normale” e il “patologico”, alla luce di nuovi approcci matematici e sperimentali. La tradizione medica si è basata fino a non molto tempo fa su un concetto di normalità vista come equilibrio, regolarità, periodicità, costanza dei parametri, assenza di drammatiche discontinuità, quindi di salute vista ultimamente come assenza di sintomi. La buona omeostasi, secondo l'idea tradizionale dominante, è quella per cui i sistemi fisiologici si comportano in modo da ridurre al minimo la variabilità delle funzioni fisiologiche e dei parametri ematochimici. La malattia, in questa visione, sarebbe la perdita dell'equilibrio, o della capacità di assorbire le perturbazioni. In questo lavoro, invece, si è visto che questa cornice concettuale, pur non sostanzialmente errata in linea generale, non consente di inquadrare nella loro giusta luce né molti fenomeni non-lineari che fanno parte integrante della omeostasi, né precisi esempi di fenomeni sicuramente patologici che si manifestano con aumento di regolarità e semplificazione delle strutture. Siamo quindi oggi in quella situazione, tipica del procedere della scienza, per cui nuove scoperte generano nuove ipotesi interpretative (modelli) ed i nuovi modelli spingono sempre più ricercatori a rivalutare fenomeni prima considerati marginali ed a progettare nuovi esperimenti per testare il modello stesso.

In questo lavoro si è utilizzato un approccio matematico ai fenomeni caotici. Le funzioni descritte da Verhulst e da Volterra sono state utilizzate ed adattate al fine di illustrare alcuni concetti elementari della teoria del caos e quindi di effettuare alcune simulazioni al calcolatore che siano quanto più possibili fedeli a fenomeni che si verificano nella omeostasi in fisiopatologia. Ovviamente, il confronto può essere solo qualitativo e basato sulla individuazione di analogie con sistemi fisiologici e patologici. E' poi chiaro che nessuna formula matematica può

simulare esattamente il comportamento di un sistema vivente, fatto di molte componenti tra loro in stretta e dinamica interrelazione. Tuttavia, un algoritmo matematico semplice come quello qui utilizzato mette certamente in luce alcune specifiche proprietà legate alla regolazione omeostatica e, quindi, consente di fare alcune affermazioni di carattere generale con il supporto di una dimostrazione matematica, nonché di effettuare alcune previsioni, come quella che consente di poter prevedere che una minima variazione delle condizioni di un sistema caotico ne modifica il comportamento in modo sensibile e imprevedibile. Anche prevedere l'imprevedibilità ed assegnarne i limiti può essere considerato una operazione scientificamente seria e spesso tecnicamente utile.

Sulla scorta delle prove matematiche qui eseguite, si possono dedurre, in sintesi, i seguenti punti:

1. Un sistema omeostatico presenta spontaneamente delle oscillazioni allorché la velocità di cambiamento delle variabili che lo caratterizzano supera un determinato valore. Il sistema si comporta come lineare quando va a “basso regime”, dove vi può effettivamente essere un equilibrio statico; la non linearità diviene apprezzabile con l'aumento di velocità. Analogamente, si vede che nei sistemi viventi la continua richiesta e il continuo consumo di energia spingono e mantengono il sistema lontano dall'equilibrio, in uno stato che si potrebbe definire “intermedio” tra ordine e caos [Firth, 1991; Cramer, 1993]. Così come la situazione meteorologica è in continuo cambiamento ultimamente per la continua fornitura di energia solare, così l'ordine biologico è continuamente fluttuante per l'afflusso di nutrienti e di ossigeno al metabolismo cellulare. Il caos è “endemico” in sistemi dissipativi attivamente funzionanti.

2. La *stessa* semplice regola di funzionamento (algoritmo) produce oscillazioni che possono essere periodiche o caotiche, indicando che la caoticità è normale nel funzionamento del sistema omeostatico. Quindi, mentre i sistemi caotici possono in realtà sembrare casuali (stocastici), in realtà essi sono deterministici e, entro certi limiti, prevedibili. Ciò che sembra casuale può invece essere un ordine

complesso, non lineare, deterministico, altamente sensibile alle perturbazione, flessibile, dotato di memoria.

3. Il sistema omeostatico con oscillazioni periodiche è generalmente molto stabile e (resiste alla variazione delle condizioni iniziali ed alle perturbazioni), mentre il sistema omeostatico in regime caotico è sempre molto sensibile alle perturbazioni.

4. La vera “patologia” dell'omeostasi dal punto di vista matematico è rappresentata dal caso in cui le oscillazioni sono così ampie da portare alla rottura “strutturale” del sistema di *feed-back* per l'innescò di un meccanismo di autoamplificazione. D'altra parte, troviamo un altro tipo di patologia, quando la variabilità è ridotta o assente: il sistema non si modifica al cambiare delle condizioni iniziali o all'insorgere di perturbazioni o al cambiare dei parametri di controllo. Se questo può andar bene per sistemi come lo scheletro o il peso corporeo, non può andar bene per tutti quei sistemi che sono implicati proprio nell'adattamento. In tali sistemi la patologia può essere la fissità.

5. Col variare della velocità con cui un sistema omeostatico può oscillare (nei nostri esempi, il valore di k), si possono trovare molte zone di “confine” tra comportamento caotico e comportamento periodico. Anche in queste zone di confine, bastano piccole variazioni delle condizioni iniziali o dei parametri di controllo per variare qualitativamente il comportamento del sistema.

6. Si può reversibilizzare il caos riportando il comportamento del sistema ad un attrattore con minore grado di libertà non solo riducendo il parametro di velocità k , ma anche abbassando il valore massimo consentito A_{max} (v. fig. 10B). Portando quindi il “livello di attività” di un sistema ad un regime più basso (variazione quantitativa) si ottengono variazioni qualitative del sistema stesso.

7. Per quanto riguarda le analogie con i sistemi fisiologici reali e con la patologia, è chiaro che sarebbero necessari ulteriori approfondimenti (presenza di A_{min} oltre che A_{max} , networks, caos nelle frequenze oltre che nelle ampiezze, modelli di autoorganizzazione, ecc....) per avvicinarsi alla descrizione della loro complessità.

In conclusione, introdurre i concetti di caos e di complessità nel campo delle biologia e della medicina costituisce un aiuto ad interpretare fenomeni che finora erano considerati talmente complicati da poter essere affrontati unicamente con il classico metodo riduttivo (scomporli nelle loro parti le quali poi possano essere analizzate una per una). Se il metodo riduttivo è stato ed è fondamentale per la conoscenza dei singoli particolari, le metodologie introdotte dallo studio dei sistemi caotici e dei frattali sono e saranno sempre più importanti per la comprensione del funzionamento dei sistemi in cui molti singoli particolari sono integrati in un quadro strutturale o funzionale d'insieme. In altre parole, l'individuazione delle proprietà peculiari dei sistemi complessi può aiutare a non perdersi nell'infinita varietà delle loro costituenti elementari (vedi molecole) o dei loro meccanismi regolatori.

Scrivono Nicolis e Prigogine: “Il nostro universo fisico non ha più come simbolo il moto regolare e periodico dei pianeti, moto che è alla base della meccanica classica. E' invece un universo di instabilità e fluttuazioni, che sono all'origine dell'incredibile ricchezza di forme e strutture che vediamo nel mondo intorno a noi. Abbiamo quindi bisogno di nuovi concetti e nuovi strumenti per descrivere una natura in cui evoluzione e pluralismo sono divenute le parole fondamentali” [Nicolis e Prigogine, 1991].

DIZIONARIO DEI PRINCIPALI TERMINI USATI

Algoritmo: elenco di istruzioni che specifica le operazioni da svolgere per risolvere un determinato problema

Ampiezza: intervallo, tra un massimo e un minimo, di oscillazione di una variabile, o altezza di un'onda

Attrattore: Forma geometrica nello spazio delle fasi (v.) verso cui tutte le traiettorie convergono nel tempo o entro cui sono mantenute nel tempo. Ci sono tre categorie di attrattori:

1) L'attrattore *puntiforme*, in cui il sistema si situa in un solo stato e vi rimane. Per esempio, un peso lasciato cadere su una superficie dopo alcuni rimbalzi si ferma e così rimane.

2) L'attrattore *periodico*, descrive un sistema che passa attraverso cicli o sequenze ripetitive, come un pendolo che oscilla in assenza di attriti. La periodicità può essere più o meno complessa. Per un oscillatore periodico la forma dell'attrattore nello spazio delle fasi è una curva chiusa detta ciclo-limite.

3) L'attrattore *strano*, rappresentato da una regione nello spazio che descrive traiettorie che variano ad ogni ciclo. Tali traiettorie occupano uno spazio non infinito, ma sono rappresentate da un insieme infinito di punti (cioè non si ripetono mai esattamente uguali).

Biforcazione: cambiamento discontinuo dell'attrattore di un sistema dinamico

Chaos: forma di evoluzione temporale di un sistema in cui la differenza tra due stati che sono inizialmente simili cresce esponenzialmente col tempo; questa proprietà viene detta “forte dipendenza dalle condizioni iniziali” [Firth, 1991; Ruelle, 1992; Vulpiani, 1994]. Questo tipo di comportamento fu sospettato da Poincaré attorno al 1900, ma non è stato accessibile all'indagine fino allo sviluppo dei calcolatori

elettronici. Lo studio scientifico del caos viene fatto risalire agli studi di E. Lorenz in campo meteorologico.

Dimensione frattale: Misura della complessità di una struttura. In una struttura rappresentabile da una linea chiusa su un piano (es. costa di un'isola, contorno di una cellula, ecc.), la dimensione frattale va da 1 a 2, al crescere dell'irregolarità, o della “rugosità” del perimetro

Frattale: Oggetto con una complessa struttura sottilmente ramificata, dotato di dimensione frazionaria e autosomiglianza (invarianza rispetto al cambiamento di scala)

Frequenza: Numero di eventi per unità di tempo

Iterazioni: Successive soluzioni delle equazioni, in cui il risultato della precedente viene posto come una variabile della successiva

Omeostasi: quell'insieme di strutture e funzioni dell'organismo che concorrono a mantenere le variabili fisiologiche entro determinati limiti di variazione

Orbite (o traiettorie): le linee (solitamente curve) formate da successivi punti che definiscono il sistema nello spazio delle fasi

Quantizzazione: Quantizzazione qui si riferisce all'esistenza del “quanto”, cioè di una suddivisione in parti discrete, a loro volta non suddivisibili. Il termine deriva dalla fisica dei quanti, che sono essenzialmente dei “pacchetti” di luce. La quantità più piccola di luce è un “quanto”. Non si può ad esempio avere mezzo quanto, ma o *un quanto* o *niente*. Anche conoscendo esattamente le condizioni di un sistema fisico, la certezza statistica che un fenomeno fisico si verifichi non è assoluta, dipende dalla scala che si considera.

Sistema: Un insieme di variabili o fattori che interagiscono. Un *sistema dinamico* si trova in tempi diversi in diversi stati. Il sistema dinamico è sostanzialmente descritto da due parti fondamentali: una riguardante il suo *stato* nello spazio delle fasi (la natura delle sue componenti) e una riguardante la sua *dinamica* (la legge di evoluzione, cioè le regole che determinano lo stato al tempo $t > 0$ una volta dato lo stato al tempo $t = 0$).

Spazio delle fasi (o spazio degli stati): rappresentazione grafica in cui ad ogni asse è associata una variabile dinamica. Un punto in questo spazio indica lo stato del sistema in un determinato istante. Ogni cambiamento di stato del sistema produce nello spazio delle fasi uno spostamento del punto, che descrive una certa traiettoria. Questi modelli geometrici possono essere bidimensionali, tridimensionali, o di qualsiasi dimensione a seconda del numero delle variabili considerate.

Stato: Il valore o i valori (uno per ciascuna delle variabili del sistema) ad un dato momento.

Variabili: Grandezze fondamentali delle equazioni matematiche. I sistemi non lineari descrivibili con equazioni matematiche comprendono due tipi di variabili: le variabili *dinamiche* e le variabili *statiche* (dette anche *parametri*). Le prime mutano continuamente nel tempo o al ripetersi delle iterazioni. Nel caso di un meccanismo sottoposto a movimento caotico, potrebbero essere la posizione di una parte in moto e la sua velocità. Le variabili statiche assumono valori fissi scelti per ogni equazione che non possono cambiare a seguito delle iterazioni o nel tempo. Ad esempio, in un meccanismo caotico le variabili statiche potrebbero essere la lunghezza di una componente oppure la velocità massima consentita per il motore.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano il dr. Giuseppe Verlato ed il dr. Riccardo Ortolani per gli utili suggerimenti e il dr. Carlo Laudanna per il programma *Fractint*.

BIBLIOGRAFIA

- Adey, W.R. (1988) Physiological signalling across cell membranes and cooperative influences of extremely low frequency electromagnetic fields. In: *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (H. Frohlich ed.) Springer-Verlag, Berlin. pp 148-170.
- Ammala, C., Larsson, O., Berggren, P.O., Bokvist, K., Juntti-Berggren, L., Kindmark, H. and Rorsman, P. (1991) Inositol triphosphate-dependent periodic activation of a Ca²⁺-activated K⁺ conductance in glucose-stimulated pancreatic B-cells. *Nature* 353: 849-852.
- Andrighetto, G. and Zöller, M. (1987) Activation of help and contrasuppression as essential prerequisites for immune response. *J. Mol. Cell. Immunol.* 3: 199-214.
- Arecchi, F.T. e Arecchi, I. (1990) *I simboli e la realtà*. Jaca Book, Milano.
- Babloyantz, A. and Destexhe, A. (1986) Low dimensional chaos in an instance of epilepsy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 3513-3517.
- Babloyantz, A. and Lourenco, C. (1994) Computation with chaos: A paradigm for cortical activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 9027-9031.
- Benhamou, C.L., Harba, R., Lespessailles, E., Jacquet, G., Tourliere, D. and Jennane, R. (1994) Changes in fractal dimension of trabecular bone in osteoporosis: A preliminary study. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T. F. Nonnemacher, G.A.Losa and E.R. Weibel, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 292-299.
- Berridge, M. and Galione, A. (1988) Cytosolic calcium oscillators. *FASEB J.* 2: 3074-3082.
- Berridge, M.J. and Irvine, R.F. (1989) Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 341: 197-205.
- Breithaupt, H. (1988) Biological rhythms and communication. In: *Electromagnetic bio-information* (Popp, F.A. et al., eds.). Urban & Schwarzenberg, München. pp 18-41.
- Cadossi, R., Bersani, F., Cossarizza, A., Zucchini, P., Emilia, G., Torelli, G. and Franceschi, C. (1992) Lymphocytes and low-frequency electromagnetic fields. *FASEB J.* 6: 2667-2674.
- Caldwell, C.B., Rosson, J., Surowiak, J. and Hearn, T. (1994) Use of the fractal dimension to characterize the structure of cancellous bone in radiographs of the proximal femur. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T. F. Nonnemacher, G.A. Losa, E.R. Weibel, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 300-306.
- Casati, G. (editore) (1991) *Il Caos. Le leggi del disordine*. Le Scienze S.p.a., Milano.
- Casolo, G., Balli, E., Taddei, T., Amuhasi, J. and Gori, C. (1989) Decreased spontaneous heart rate variability in congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.* 64: 1162-1167.

- Catt, K.J. and Balla, T. (1989) Phosphoinositide metabolism and hormone action. *Ann. Rev. Med.* 40: 487-509.
- Cheek, T.R. (1991) Calcium regulation and homeostasis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3: 199-205.
- Conti, P., Gigante, G., Cifone, M.G., Alesse, E., Ianni, G.F., Reale M. and Angeletti, P.U. (1983) Reduced mitogenic stimulation of human lymphocytes by extremely low frequency electromagnetic fields. *FEBS Lett.* 162: 156-160.
- Cramer, F. (1993) *Chaos and Order. The Complex Structure of Living Systems.* VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (Ger.).
- Crutchfield, J.P., Farmer, J.D., Packard, N.H. and Shaw, R.S. (1986) Chaos. *Sci. Am.* 255: 38-49.
- Ditto, W.L. and Pecora, L.M. (1993) Padroneggiare il caos. *Le Scienze* 302: 58-64.
- Engel, A.K., Konig, P. and Schillen, T.B. (1992) Why does the cortex oscillate? *Curr. Biol.* 2: 332-334.
- Epstein, I.R., Kustin, K., De Kepper, P. and Orban, M. (1991) Reazioni chimiche oscillanti. In: *Il Caos* (G. Casati ed.). Le Scienze S.p.A., Milano. pp 181-188.
- Firth, W.J. (1991) Chaos - predicting the unpredictable. *Br. Med. J.* 303: 1565-1568.
- Flamigni, C., Cattoli, M. e Porcu, E. (1994) Fisiopatologia della riproduzione. In: *Fisiopatologia, vol. I.* Editrice CLUEB, Bologna. pp 243 e seg.
- Freeman, W.J. (1991) La fisiologia della percezione. *Le Scienze* 272: 12-20.
- Goldberger, A.L. and West, B.J. (1987) Applications of nonlinear dynamics to clinical cardiology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 504: 195-213.
- Goldberger, A.L., Rigney, D.R. and West, B.J. (1991) Caos e frattali in fisiologia umana. In *Il Caos. Le Leggi del Disordine* (G. Casati ed.). Le Scienze Ed., Milano. pp 101-107.
- Guidotti, G.G. (1990) *Patologia Generale.* C. ed. Ambrosiana, Milano.
- Gutzwiller, M.C. (1992) Il caos quantistico. *Le Scienze* 283: 24-30.
- Hallet, M.B. (1989) The unpredictability of cellular behavior: trivial or of fundamental importance to cell biology? *Perspect. Biol. Med.* 33:110-119.
- Harold, F.M. (1986) *The Vital Force: A Study of Bioenergetics.* W.H. Freeman and Company, New York.
- Hess, B. and Marcus, M. (1987) Order and chaos in biochemistry. *Trends Biochem. Sci.* 12: 45-48.
- Holffenbittel, B.H.R. and Van Haefen, T.W. (1993) Non-insulin dependent diabetes mellitus: defects in insulin secretion. *Eur. J. Clin. Invest.* 23: 69-79.

- Jurgens, H., Peitgen, H.O. and Saupe, D. (1990) Il linguaggio dei frattali. *Le Scienze* 266: 42-49.
- Kaiser, F. (1988) Theory of non-linear excitations. In: *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (H. Fröhlich ed.). Springer Verlag, Berlin.
- Kaplan, D.T. and Cohen, R.J. (1990a) Is fibrillation chaos? *Circ. Res.* 67: 886-892.
- Kaplan, D.T. and Cohen, R.J. (1990b) Searching for chaos in fibrillation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 591: 367-374.
- Kaplan, D.T., Furman, M.I., Pincus, S.M., Ryan, S.M., Lipsitz, L.A. and Goldberger, A.L. (1991) Aging and the complexity of cardiovascular dynamics. *Biophys. J.* 59: 945-949.
- Kauffman, S.A. (1991) Anticaos ed evoluzione biologica. *Le Scienze* 278: 82-91.
- Kauffman, S.A. (1993). *Origins of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Kleiger, R.E., Miller, J.P., Bigger, T., Moss, A.J. and multicenter Post-infarction research group (1987) Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 59: 256-262.
- Kurz, H., Wilting, J. and Christ, B. (1994) Multivariate characterization of blood vessel morphogenesis in the avian chorio allantoic membrane: cell proliferation, length density and fractal dimension. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T.F. Nonnemacher, G.A. Losa, E.R. Weibel eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 132-140.
- Landini, G. and Rippin, J.W. (1994) Fractal dimension as a characterisation parameter of premalignant and malignant epithelial lesions of the floor of the mouth. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T.F. Nonnemacher, G.A. Losa, E.R. Weibel editors). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 315-322.
- Lipsitz, L.A. and Goldberger (1992) Loss of complexity and aging: potential applications of fractals and chaos in senescence. *J. A. M. A.* 267: 1806-1809.
- Luben, R.A., Cain, C.D., Chen, M-Y., Rosen, D.M. and Adey, W.R. (1982) Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy, low-frequency fields. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 79: 4180-4183.
- MacGlashan, D. and Guo, C.B. (1991) Oscillations in free cytosolic calcium during IgE-mediated stimulation distinguish human basophils from human mast cells. *J. Immunol.* 147: 2259-2269.
- Mackey, M.C. and Glass, L. (1977) Oscillation and chaos in physiological control systems. *Science* 197: 287-289.
- Maltsev, V.A. (1990) Oscillating and triggering properties of T-cell membrane potential. *Immunol. Lett.* 26: 277-282.

- Mandelbrot, B.B. (1982) *The Fractal Geometry of Nature*. W.H. Freeman & Co., New York.
- Matsuura, S. and Miyazima, S. (1994) Colony morphology of the fungus *Aspergillus Oryzae*. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T.F. Nonnemacher, G.A. Losa, E.R. Weibel, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 274-290.
- Matthews, D.R. (1991) Physiological implications of pulsatile hormone secretion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 618: 28-37.
- May, R.M. (1987) Nonlinearities and complex behavior in simple ecological and epidemiological models. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 504: 1-15.
- Meyer, T. (1991) Cell signalling by second messenger waves. *Cell* 64: 675-678.
- Muggeo, M., Verlato, G., Bonora, E., Ciani, F., Moghetti, P., Eastman, R., Crepaldi, G. and de Marco, R. (1995) Long-term instability of fasting plasma glucose predicts mortality in elderly type 2 diabetic patients. The Verona diabetes study. *Diabetologia*: in press.
- Nicolis, G. e Prigogine, Y. (1991) *La Complessità. Esplorazioni nei Nuovi Campi della Scienza*. Einaudi, Torino.
- Nonnemacher, T.F., Losa, G.A. and Weibel, E.R. (Editors) (1994) *Fractals in Biology and Medicine*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Nonnemacher, T.F. (1994) Spatial and temporal fractal patterns in cell and molecular biology. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T.F. Nonnemacher, G.A. Losa, E.R. Weibel, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 22-37.
- Nugent, A.M., Onuoha, G.N., McEneaney, D.J., Steele, I.C., Hunter, S.J., Prasanna, K., Campbell, N.P.S., Shaw, C., Buchanan, K.D. and Nicholls, D.P. (1994) Variable patterns of atrial natriuretic peptide secretion in man. *Eur. J. Clin. Invest.* 24: 267-274.
- Olsen, L.F. and Schaffer, W.M. (1990) Chaos versus noisy periodicity: Alternative hypotheses for childhood epidemics. *Science* 249: 499-504.
- Omann, G.M., Porasik, M.M. and Sklar, L.A. (1989) Oscillating actin polymerization/depolymerization responses in human polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.* 264: 16355-16358.
- Pandiella, A., Beguinot, L., Vicentini, L.M. and Meldolesi, J. (1989) Transmembrane signalling at the epidermal growth factor receptor. *Trends in Pharmacol Sci.* 10: 411-414.
- Peng, C.K., Buldyrev, S.V., Hausdorff, J.M., Havlin, S., Mietus, J.E., Simons, M., Stanley, H.E. and Goldberger, A.L. (1994) Fractal landscapes in physiology & medicine: Long-range correlations in DNA sequences and heart rate intervals. In: *Fractals in Biology and Medicine* (T.F. Nonnemacher, G.A. Losa and E.R. Weibel, eds.). Birkhäuser Verlag, Basel. pp 55-65.
- Perelson, A.S. (1989) Immune Network Theory. *Imunol. Rev.* 110: 5-36.

- Petrov, V., Gàspàr, V., Masere, J. and Showalter, K. (1993) Controlling chaos in the Belusov-Zhabotinsky reaction. *Nature* 361: 240-243.
- Polonsky, K.S., Given, B.D., Hirsch, L.J., Tillil, H., Shapiro, E.T., Beebe, C., Frank, B.H., Galloway, J.A. and Cauter, E.V. (1988) Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 318: 1231-1239.
- Ruelle, D. (1992). *Caso e Caos*. Bollati Boringhieri, Torino.
- Sander, L.M. (1986) Fractal growth processes. *Nature* 322: 789-793.
- Sander, L.M. (1991) L'accrescimento dei frattali. In: *Il Caos* (G. Casati ed.) Le Scienze S.p.A. Ed., Milano. pp 94-107.
- Schiff, S.J., Jerger, K., Duong, D.H., Chang, T., Spano, M.L. and Ditto, W.L. (1994) Controlling chaos in the brain. *Nature* 370: 615-620.
- Shinbrot, T., Grebogi, C., Ott, E. and Yorke, J.A. (1993) Using small perturbations to control chaos. *Nature* 363: 411-417.
- Sommaruga, P. (1992) Modelli frattali di oggetti naturali. *Le Scienze* 282: 36-44.
- Sommerer, J.C. and Ott, E. (1993) A physical system with qualitatively uncertain dynamics. *Nature* 365: 138-140.
- Tsong, T.Y. (1989) Deciphering the language of cells. *Trends Biochem. Sci.* 14: 89-92.
- van Rossum, J.M. and de Bie, J.E.G.M. (1991) Chaos and illusion. *Trends in Pharm. Sci.* 12: 379-383.
- Varela, F.J. and Coutinho, A. (1991) Second generation immune networks. *Immunol. Today* 12: 159-166.
- Vulpiani, A. (1994) *Determinismo e Caos*. La Nuova Italia Scientifica, Roma.
- Walleczek, J. (1992) Electromagnetic effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *FASEB J.* 6: 3177-3185.
- Weaver, J.C. and Astumian, R.D. (1990) The response of living cells to very weak electric fields: the thermal noise limit. *Science* 247: 459- 462.
- Wymann, M.P., Kernen, P., Deranleau, D.A. and Baggiolini, M. (1989) Respiratory burst oscillations in human neutrophils and their correlation with fluctuations in apparent cell shape. *J. Biol. Chem.* 264: 15829-15834.
- Yost, M.G. and Liburdy, R.P. (1992) Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte. *FEBS Lett.* 296: 117-122.
- Zatti, M. (1993) Anthropic biology. In: *The Anthropic Principle* (F. Bertoli and U. Curi, eds.). Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp 129-142.

Zöller, M., Lopatta, D., Benato, B. and Andrichetto, G. (1985) Oscillation of antibody production and regulatory T cells in response to antigenic stimulation. *Eur. J. Immunol.* 15: 1198-1203.

Zöller, M. and Andrichetto, G. (1985) Limiting dilution analysis of the frequencies of helper and suppressor T cells in untreated and TNP-treated BALB/c mice: response as a consequence of perturbation of a stable steady state. *Immunology* 55: 703-712.

Didascalie delle figure

Figura 1. Schema di un tipico sistema omeostatico. A/A' : variabile dinamica; k , k' : parametri di controllo dei sistemi effettori; a' , r , b : segnali; R : sistema regolatore; A_{max} : valore massimo di riferimento di A (memoria del sistema).

Figura 2. Iterazioni di Verhulst con andamento che tende asintoticamente al massimo. In queste prove, $A_{max} = 5$, $k = 0.1$. Il valore iniziale di A è indicato nelle figure.

Figura 3. Iterazioni di Verhulst con andamento che tende al massimo dopo alcune oscillazioni. In queste prove, $A_{max} = 5$, $k = 0.35$. Il valore iniziale di A è indicato nelle figure.

Figura 4. Iterazioni di Verhulst con andamento oscillatorio di ampiezza regolare. In queste prove, $A_{max} = 5$, $k = 0.45$. Il valore iniziale di A è indicato nelle figure.

Figura 5. Iterazioni di Verhulst con andamento oscillatorio di ampiezza irregolare. In queste prove, $A_{max} = 5$, $k = 0.49$. Il valore iniziale di A è indicato nelle figure.

Figura 6. Iterazioni di Verhulst eseguite con parametro k di valore crescente (indicato nelle figure). In queste prove, $A_{max} = 5$, A iniziale = 1.000.

Figura 7. Attrattori della funzione di Verhulst iterata con diversi parametri k (indicati nelle figure). La A_{max} è sempre posta uguale a 5 e la A iniziale = 1.000. I primi 12 punti della iterazione sono riportati in piccolo e la linea che li unisce è tratteggiata. Dall'iterazione 13 alla 60 i punti sono riportati più grandi e la linea che li unisce è continua. Nel riquadro A e B si vedono due attrattori puntiformi (corrispondenti rispettivamente alle iterazioni della figura 2A e della figura 3A),

in C un attrattore periodico (dalla figura 4A) e in D un attrattore strano (dalla figura 6C).

Figura 8. Iterazioni di Verhulst con andamento caotico eseguite con parametro k di valore crescente (indicato nelle figure). In queste prove, $A_{max} = 5$, A iniziale = 1.000.

Figura 9. Diagramma di biforcazione che mostra la transizione al caos dei possibili valori di A calcolati con la funzione di Verhulst al crescere del parametro k . In figura A si ha il diagramma completo, in figura B si riporta l'ingrandimento del particolare inquadrato dal rettangolo in A. Il diagramma è stato eseguito utilizzando il software *Fractint*.

Figura 10. Effetto del cambiamento di un punto nell'evoluzione della funzione di Verhulst. In questa figura la A iniziale = 1.000, $A_{max} = 5$, $k = 0.53$.

Figura 11. Effetto del cambiamento del parametro k (riquadro A) o del parametro A_{max} (riquadro B) sulla evoluzione della funzione di Verhulst. A iniziale = 1.000; gli altri parametri sono indicati in figura.

Figura 12. Iterazioni di Verhulst con andamento caotico eseguite con parametro k di valore crescente (indicato nelle figure). In queste prove, $A_{max} = 5$, $k = 0.6003$; A iniziale è indicata in figura.

Figura 13. Frequenza delle cellule B antigene specifiche nella milza di un topo immunizzato con trinitrofenile.

Figura 14. Andamento teorico della popolazione di predatori e di prede secondo il modello di Lotka-Volterra.

Figura 15. Fluttuazioni nel numero di pellicce vendute dalla Compagnia della Baia di Hudson tra il 1845 e il 1935.

Figura 16. A: Modello e programma usato per simulare le fluttuazioni delle popolazioni di linfociti B (ab e abb), Thelper (th e thh), Tsoppressori (ts e tss). B: ciclo limite risultante da uno studio dei parametri di stabilità del sistema descritto nel quadro A. Per altre spiegazioni, vedi il testo.

Figura 17. Andamenti oscillatori delle popolazioni linfocitarie T specifiche in topi immunizzati con trinitrofenile. A: Thelper, B: Tsuppressor, C: Tcontrasuppressor.

Figura 18. Profilo della concentrazione sierica di ormone atriale natriuretico (ANP) ottenuto in un periodo di 90 minuti con prelievi ogni 2 minuti. Le linee orizzontali indicano l'intervallo medio \pm S.D. A: Soggetto normale, B: paziente con scompenso cardiaco congestizio, C: paziente con scompenso cardiaco congestizio deceduto successivamente per emboli polmonari multipli. Tratto, con modifiche, da Nugent et al., 1994.

Tabella 1. Esempi di sistemi omeostatici

Variabile	Sistemi effettori	Sistemi regolatori	Segnali
Glicemia	Assorbimento	Pancreas Consumo	Insulina Glucagone
pH ematico	Respirazione Metabolismo	Ipotalamo S.N. autonomo	H ⁺ Acetilcolina
Eritrociti	Midollo osseo	Rene	Eritropoietina O ₂
Anticorpi	Linfociti B	Thelper Tsoppressori	Citochine
Freq. Cardiaca	Nodo del seno	S.N. autonomo	Adrenalina
Sodiemia	Riassorbimento renale	Surrene	Aldosterone
Tiroxinemia	Ghiandola tiroide	Ipofisi	TSH Tiroxina
