UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

Modelli computazionali per lo studio dell'interazione tra tumore e sistema immunitario - Un'analisi comparativa a partire dal modello MAST

Relatore
Prof. Barbara Di Camillo

Correlatore

Laureando
Marsegaglia Giacomo

ANNO ACCADEMICO 2024-2025

Data di laurea 24/09/2025

Abstract

Questa tesi si propone di esaminare e confrontare vari modelli computazionali creati per simulare l'interazione tra tumore e sistema immunitario, con un focus particolare sul microambiente tumorale. Partendo dal modello MAST, che rappresenta le interazioni tra tumore e sistema immunitario attraverso processi di data-driven, verranno analizzati tre modelli recenti: WARLOCK, un modello stocastico per lo studio dell'evoluzione clonale intratumorale, GLV-OVT, un modello a equazioni differenziali supportato da intelligenza artificiale che predice e simula la dinamica delle viroterapie oncolitiche, e Bridging Scales, un modello multiscala tridimensionale che integra crescita tumorale, angiogenesi e risposta a trattamenti combinati. L'obiettivo è mettere in luce le somiglianze, le differenze e le potenzialità di ciascun modello, tenendo conto sia dell'architettura computazionale che dell'aderenza biologica. Il lavoro si struttura in una fase introduttiva che contestualizza il tema biologico, seguita da un'analisi metodologica della ricerca bibliografica effettuata, per poi concentrarsi sulla descrizione dei modelli selezionati e sulla valutazione comparativa dei loro punti di forza e delle loro limitazioni.

Indice

1 Introduzione **3**
1.1 Contesto e motivazioni 3
1.2 Obbiettivi e domande di ricerca 4
1.3 Metodologia generale del lavoro 4
1.4 Struttura della tesi 4

2 Contesto biologico: interazione tra tumore e sistema immunitario **7**
2.1 Il tumore come sistema complesso 7
2.2 Tipologie di modelli computazionali 8
2.3 Il microambiente tumorale 9
2.4 Cellule immunitarie e risposta antitumorale 10
2.5 Meccanismi di evasione immunitaria 11
2.6 Immunoediting e immunoterapia 12
2.7 Implicazioni per la modellazione computazionale 13

3 Metodologia della ricerca bibliografica **15**
3.1 Obbiettivi e impostazione della ricerca 15
3.2 Costruzione delle parole chiave 15
3.3 Database utilizzati 16
3.4 Esempi di query di ricerca 17
3.5 Criteri di inclusione ed esclusione e processo di selezione 18
3.6 Risultati della ricerca bibliografica 19

4 Modelli computazionali analizzati: da MAST ai modelli comparabili **21**
4.1 Il modello MAST come riferimento 21
4.2 WARLOCK – Un workflow automatizzato per l'evoluzione tumorale spaziale . 22
4.3 GLV-OVT – Modello ibrido eco-immunologico per la terapia virale oncolitica 23
4.4 Bridging Scales – Modello ibrido 3D per crescita vascolare e risposta al trattamento 26

5 Analisi comparativa dei modelli computazionali **29**
5.1 Obiettivo del confronto 29
5.2 Classificazione dei modelli 29
5.3 Comparazione strutturale e metodologica 31
5.4 Livello di dettaglio biologico e scala spaziale 32
5.5 Obiettivi applicativi e scenari d'uso 33
5.6 Punti di forza e limiti dei modelli analizzati 34
5.7 Sintesi tecnica del confronto 36

6 Conclusioni critiche e prospettive future **39**
6.1 Riepilogo degli obiettivi e dei risultati 39
6.2 Valutazione critica dei modelli esaminati 40
6.3 Prospettive di integrazione modellistica 41
6.4 Contributi della tesi allo stato dell'arte 42
6.5 Riflessione finale sul ruolo della modellazione nella medicina personalizzata . 43

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Contesto e motivazioni

Nell'attuale panorama scientifico, in particolare nella ricerca oncologica, l'interazione tra tumore e sistema immunitario è uno dei temi più rilevanti. La scoperta che il sistema immunitario è in grado di riconoscere e eliminare le cellule tumorali ha stimolato un'alta attività di ricerca e sperimentazione con l'obbiettivo di capirne i meccanismi alla base. L'interesse in questo campo ha portato allo studio delle modalità con cui l'immunità esercita la propria azione di difesa e allo studio dei processi con cui i tumori riescono a eludere il sistema immunitario.La scoperta di nuove terapie immunologiche, inoltre, ha rafforzato l'interesse verso sistemi in grado di modellare l'interazione tra tumore e sistema immunitario.

La complessità delle conoscenze biologiche acquisite nel tempo ha evidenziato la necessità di strumenti che potessero integrare informazioni e funzioni in grado di simulare fenomeni a seconda delle interazioni tra cellule tumorali, cellule immunitarie, segnali biologici che caratterizzano il microambiente tumorale. In questo contesto modelli matematici e computazionali hanno ottenuto un ruolo centrale nella rappresentazione, analisi e simulazione di sistemi oncologici messi in relazione con terapie e sistema immunitario.

La tesi si colloca in questo campo con l'obbiettivo di presentare un'analisi comparativa di modelli computazionali esistenti con particolare riferimento al modello MAST (Multi-Agent Spatio-Temporal) [1], sviluppato presso l'Università di Padova. MAST costituisce il punto di partenza per un confronto critico con modelli recenti, con l'obbiettivo di evidenziare potenzialità e limiti dei diversi modelli presentati attraverso un'analisi specifica e incrociata.

1.2 Obbiettivi e domande di ricerca

L'obbiettivo principale di questa tesi è quello di trovare e confrontare modelli computazionali applicati allo studio dell'interazione tra tumore e sistema immunitario. Il confronto prende come riferimento il modello MAST [1], ma comprende altri tre modelli che ne condividono la finalità.

Nello specifico, il lavoro si propone di rispondere alle seguenti domande:

- Quali componenti biologiche vengono incluse nei modelli computazionali selezionati?
- Quali strutture computazionali o algoritmiche vengono utilizzate per rappresentare l'interazione tra tumore e sistema immunitario?
- In quale misura il modello MAST si distingue rispetto ai modelli selezionati?
- Quali sono i limiti, le potenzialità e le prospettive di sviluppo per ogni modello e cosa si potrebbe migliorare per raggiungere una modellazione migliore?

1.3 Metodologia generale del lavoro

Il lavoro si articola partendo da un inquadramento generale biologico, seguito da un'analisi bibliografica e una fase di analisi critica dei modelli selezionati. La ricerca bibliografica è stata condotta tramite interrogazioni sistematiche su database scientifici riconosciuti quali Google Scholar, PubMed e Scopus, sulla base delle parole chiave ricavate dai concetti principali del modello MAST [1], dedotta da un'analisi approfondita di tale modello e dell'ambito della modellazione tumorale.

I modelli sono stati selezionati secondo criteri definiti a priori quali: attualità, descrizione di un modello computazionale o matematico e presenza di modelli del tipo multi-agente o ibrido. Infine, l'analisi comparativa è stata condotta per evidenziare convergenze, differenze e possibili miglioramenti o integrazioni tra i vari modelli.

1.4 Struttura della tesi

Successivamente all'introduzione generale del Capitolo 1, la tesi si articola attraverso ulteriori 5 capitoli. Il Capitolo 2 descrive in modo generale e approssimativo il contesto biologico necessario alla comprensione dei fenomeni rappresentati nei vari modelli. Il Capitolo 3 descrive i criteri e metodi adottati per la selezione degli articoli e dei modelli computazionali. Il Capitolo 4 descrive i modelli computazionali selezionati, partendo dal modello MAST. Il Capitolo 5 è dedicato all'analisi dei quattro modelli e a una comparazione tra le principali caratteristiche di ognuno, mentre il Capitolo 6 include una sintesi critica dell'analisi accompagnata da

una riflessione personale sui modelli e sul futuro della modellazione computazionale in ambito oncologico.

Capitolo 2

Contesto biologico: interazione tra tumore e sistema immunitario

2.1 Il tumore come sistema complesso

Il microambiente tumorale va considerato come un sistema complesso, caratterizzato da una fitta rete di interazioni tra cellule immunitarie, stromali, tumorali, segnali biochimici, da eterogeneità, interazioni multilivello e dinamiche non lineari. Questa sistema cambia nel tempo e nello spazio influenzando l'evoluzione del tumore [2].

Dal punto di vista biologico, la complessità del cancro si manifesta in diversi livelli: dal livello genetico (mutazioni), fenotipico (differenziazione cellulare), spaziale (diversa distribuzione di nutrienti e ossigeno) e temporale. Il tumore, inoltre, si comporta come un sistema attivo e dinamico, capace di modificare il proprio stato interno e il microambiente circostante. Tra i principali meccanismi che caratterizzano la dinamicità del tumore ci sono l'angiogenesi, cioè la formazione di nuovi vasi sanguigni indispensabili per garantire l'apporto di ossigeno e nutrienti al tumore stesso, il rimodellamento della matrice extracellulare, che consente alle cellule tumorali di penetrare nei tessuti circostanti e di acquisire la capacità di diffondersi, e la soppressione immunitaria locale, nella quale mediante la produzione di molecole inibitorie o il reclutamento di cellule regolatorie viene influenzata negativamente l'azione difensiva del sistema immunitario. Questi processi rappresentano risposte adattative a pressioni selettive costanti come l'azione del sistema immunitario, la condizione di ipossia e l'esposizione a trattamenti terapeutici [3].

Per descrivere tali fenomeni, i modelli deterministici basati solo su equazioni differenziali risultano spesso limitati. I modelli ad agenti (Agent-Based Models, ABM) rappresentano un approccio più flessibile nei quali le cellule sono agenti dotati di regole locali (divisione, morte, migrazione, mutazione) che interagiscono tra loro e con l'ambiente. Da queste interazioni locali emergono dinamiche globali che non possono essere anticipate osservando le singole cellule

in maniera isolata. Tutti i meccanismi che avvengono all'interno del microambiente tumorale (ad esempio: formazione di nicchie ipossiche, la variabilità clonale o la risposta spaziale ai trattamenti) sono comportamenti che vanno studiati solo considerando il sistema nel suo insieme, poiché, non possono essere derivati unicamente dalle proprietà intrinseche di una singola cellula. Inoltre, gli ABM permettono di includere fattori probabilistici e di integrare dati multi-omici e spaziali, rendendoli strumenti particolarmente adatti alla modellazione personalizzata [4].

Segue una tabella riassuntiva delle principali tipologie di modelli computazionali, così da permettere una miglior comprensione dell'argomento.

2.2 Tipologie di modelli computazionali

Per facilitare l'inquadramento dei principali approcci matematici e computazionali presenti in letteratura, nella seguente tabella sono riportate alcune tipologie di modelli e le loro principali caratteristiche.

Tabella 2.1: Tipologie di modelli computazionali e loro definizione.

Tipologia di modello	**Definizione**
ODE (Ordinary Differential Equations)	Equazioni differenziali ordinarie che descrivono l'evoluzione temporale di variabili aggregate, senza considerare la dimensione spaziale.
PDE (Partial Differential Equations)	Equazioni differenziali parziali che descrivono l'evoluzione di grandezze continue (nutrienti, ossigeno, farmaci) nello spazio e nel tempo.
ABM (Agent-Based Models)	Modelli ad agenti in cui le cellule sono entità discrete con regole locali (divisione, morte, migrazione, mutazione), da cui emergono dinamiche globali.
Modelli ibridi (ABM + PDE)	Modelli che integrano agenti discreti (cellule) con campi continui (nutrienti, segnali, farmaci), catturando sia interazioni locali sia dinamiche spaziali.
Deme-based	Variante degli ABM in cui le cellule sono aggregate in sottopopolazioni (demes), rendendo più efficiente la simulazione di processi clonali ed evolutivi.

2.3 Il microambiente tumorale

Il microambiente tumorale (Tumor Microenvironment, TME) è l'insieme di cellule, molecole e strutture che circondano le cellule neoplastiche e interagiscono con esse nel corso dello sviluppo del tumore. Il TME è considerato determinante nella progressione del cancro in quanto le cellule tumorali non si sviluppano isolatamente, ma interagiscono costantemente con l'ambiente circostante [5]. Il TME è costituito principalmente da cellule tumorali, cellule stromali, cellule immunitarie, da sistemi di vascolarizzazione e dalla matrice extracellulare [6].

Le cellule tumorali si originano da alterazioni genetiche che modificano i normali meccanismi della cellula. Tali mutazioni conferiscono alle cellule diverse caratteristiche, tra le più importanti, la capacità di replicarsi in maniera incontrollata e di adattarsi a condizioni microambientali sfavorevoli, come l'ipossia o la carenza di nutrienti. Inoltre, le cellule tumorali hanno la capacità di interagire con le altre cellule del TME, come cellule stromali e endoteliali, in modo, di sfruttarle per espandersi e sopravvivere.

Tra le cellule stromali più rilevanti ci sono i fibroblasti che, in alcuni casi, supportano la crescita del cancro favorendo il rimodellamento della matrice e la produzione di segnali favorevoli al tumore [7]. Le cellule endoteliali, invece, possono contribuire alla diffusione del cancro tramite la costruzione di nuovi vasi sanguigni che portano ad angiogenesi e garantiscono ossigeno e nutrienti al tumore [6], mentre, il sistema immunitario è rappresentato da numerose cellule che, come andremo ad approfondire nel prossimo paragrafo, possono avere funzioni sia immunosoppressive che antitumorali. Nel TME sono presenti, anche, cellule mesenchimali e perivascolari che regolano la plasticità tissutale, contribuendo alla stabilità o alla disorganizzazione dei vasi e influenzando la migrazione cellulare [6]. Infine, la matrice extracellulare, che manifesta sostanziali alterazioni mutando il proprio aspetto chimico e fisico, diventando compatta, rigida e disorganizzata, è costituita da collagene e da fibronectina e, non solo sostiene fisicamente il tessuto tumorale, ma guida anche la motilità delle cellule maligne e ostacola la diffusione di farmaci [6]. Dal punto di vista chimico, invece, l'ambiente è caratterizzato dalla presenza di numerosi segnali che interagendo costituiscono un complesso sistema adattivo e eterogeneo.

Spazialmente, il microambiente tumorale (TME) non è uniforme, ma presenta differenze a seconda della zona. Le regioni centrali del tumore tendono a diventare ipossiche e acide principalmente a causa della distanza dai vasi sanguigni, invece, le zone periferiche sono meglio vascolarizzate, quindi, più ricche di ossigeno e facilmente raggiungibili da nutrienti e farmaci. Questa eterogeneità spaziale ha delle conseguenze, ad esempio, nelle aree ipossiche le cellule tumorali sviluppano maggiore resistenza a farmaci e radiazioni, mentre, nelle regioni periferiche, la maggiore disponibilità di ossigeno e nutrienti sostiene una proliferazione più rapida di cellule tumorali. La variabilità del TME condiziona sia l'evoluzione clonale delle cellule tumorali, sia l'efficacia dei trattamenti, che risultano disomogenei nelle diverse zone del TME [5].

Lo studio del TME risulta essenziale per lo sviluppo di terapie e per la costruzione di modelli computazionali che possano essere capaci di rappresentare realisticamente le interazioni tra cellule tumorali e l'ambiente circostante [6].

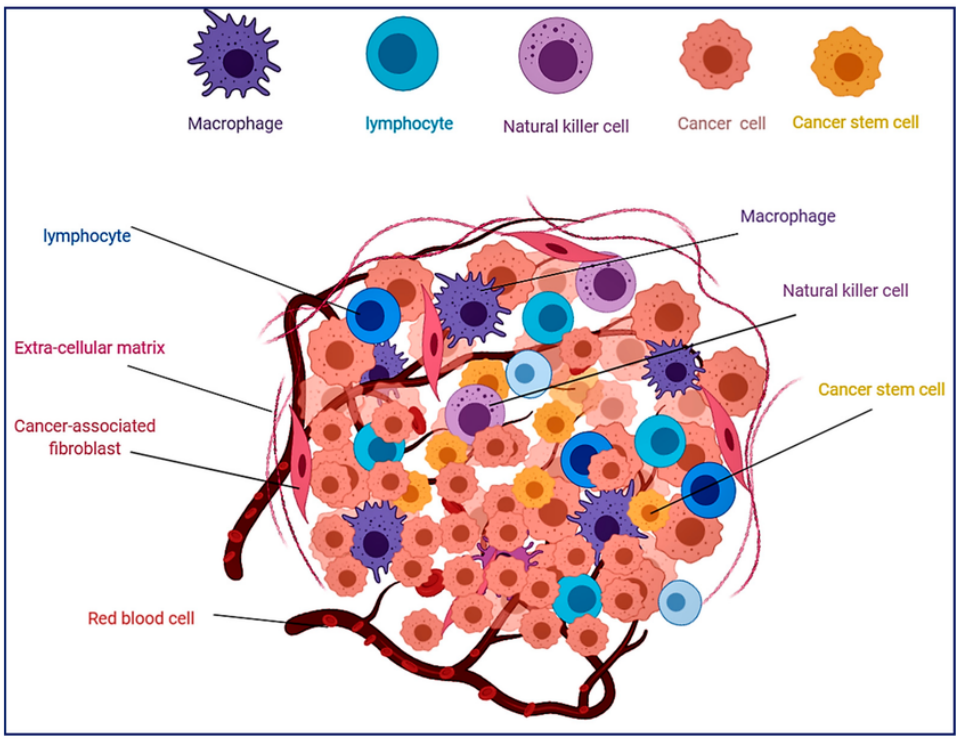


Figura 2.1: Schema del Tumor Microenvironment (TME)
Estratto da: Hassan G., Seno M. *Blood and Cancer: Cancer Stem Cells as Origin of Hematopoietic Cells in Solid Tumor Microenvironments*. Cells, 2020;

2.4 Cellule immunitarie e risposta antitumorale

Il sistema immunitario svolge il ruolo fondamentale nel controllo dello sviluppo del tumore: esso è in grado di riconoscere le cellule trasformate e di eliminarle attraverso meccanismi di sorveglianza. La relazione tra sistema immunitario e tumore, tuttavia, può portare sia al contenimento della neoplasia, che alla sua espansione a seconda dell'equilibrio di segnali attivatori e inibitori nel TME [8].

Tra le cellule immunitarie più importanti ci sono:

- **Linfociti T citotossici:** detti anche CD8, sono capaci di riconoscere gli antigeni tumorali e, una volta attivati, di uccidere direttamente le cellule tumorali [8].
- **Linfociti T helper:** hanno la funzione di regolazione della risposta immunitaria sostenendo l'attivazione di altri linfociti.

- **Cellule natural killer:** un tipo di globulo bianco appartenenti al sistema immunitario innato. A differenza dei linfociti T citotossici, esse non necessitano del riconoscimento di antigeni specifici per eliminare cellule neoplastiche, ma sono particolarmente efficaci nel colpire cellule che hanno perso l'espressione del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), ovvero, una proteina che è presente in ogni cellula del nostro organismo e serve a mostrare un campione di ciò che succede all'interno della cellula. In caso di cellule infettate o trasformate, i linfociti T riconoscono e uccidono le cellule interessate, ma molte cellule tumorali perdono o riducono l'espressione del complesso per eludere la difesa dei linfociti T. Le cellule natural killer, invece, uccidono proprio quelle cellule che non esprimono il complesso maggiore di istocompatibilità [8].

Accanto a queste popolazioni cellulari con funzione protettiva, vi sono popolazioni che il tumore riesce controllare, ad esempio, i macrofagi infiltranti possono essere indotti ad assumere un fenotipo detto M2 che è legato a immunosoppressione e angiogenesi. Anche i linfociti T helper e le cellule mieloidi soppressori aiutano a creare un ambiente tollerante, limitando l'attivazione delle cellule protettive e favorendo l'evasione immunitaria [9].

L'efficacia della risposta immunitaria dipende quindi dall'equilibrio tra cellule che sostengono l'immunità e quelle che la sopprimono. Questo bilanciamento determina il controllo del tumore e l'effetto di trattamenti immunoterapici. La rappresentazione delle popolazioni immunitarie è quindi diventata uno degli obbiettivi centrali nei modelli computazionali più recenti [9].

2.5 Meccanismi di evasione immunitaria

Nonostante la presenza di cellule del sistema immunitario nel microambiente tumorale, i tumori sfruttano una varietà di stratagemmi per evitare di essere riconosciuti ed eliminati. L'evasione immunitaria è da tempo uno dei retaggi fondamentali dell'evoluzione tumorale ed è ormai una delle classiche caratteristiche del cancro a cui è rivolta la maggior parte della ricerca [2].

I meccanismi principali con cui le cellule tumorali sfuggono al riconoscimento del sistema immunitario sono:

- **perdita di espressione del complesso maggiore di istocompatibilità:** perdita di espressione delle molecole MHC-I che sono indispensabili per presentare gli antigeni tumorali ai linfociti T citotossici. Se le cellule tumorali non espongono MHC-I sulla propria membrana, infatti, diventano invisibili a questa parte del sistema immunitario, ma allo stesso tempo più vulnerabili all'attacco delle cellule natural killer, che percepiscono l'assenza di MHC come un segnale di pericolo [8].

- **Creazione di un ambiente immunosoppressivo locale:** in questo ambiente le cellule tumorali possono secernere citochine e fattori solubili, come TGF-β, IL-10 o VEGF, che inibiscono l'attivazione delle cellule immunitarie effettrici oppure reclutare popolazioni cellulari soppressive, come i linfociti T regolatori e i macrofagi di tipo M2, che limitano l'attività antitumorale e favoriscono la tolleranza immunitaria cronica [8].

- **Espressione di molecole inibitorie:** queste molecole, come la PD-L1, si legano ai recettori sulle cellule effettrici impedendone l'attivazione. Questo spegne la risposta immunitaria anche in presenza di antigeni tumorali riconosciuti e costituisce il bersaglio degli attuali trattamenti con inibitori dei checkpoint immunitari [10].

Questi meccanismi di evasione immunitaria sono il risultato di adattamenti evolutivi progressivi e sono fondamentali per la progettazione di modelli matematici e computazionali realistici [2].

2.6 Immunoediting e immunoterapia

Il concetto di immunoediting offre una prospettiva diversa sull'interazione tra il tumore e il sistema immunitario. Non si tratta solo di riconoscere ed eliminare le cellule tumorali, ma anche di come l'immunità possa influenzare l'evoluzione di queste cellule. Questo processo, emerso nei primi anni 2000, si sviluppa in tre fasi: Eliminazione, Equilibrio ed Escape [11].

- **Fase di Eliminazione:** il sistema immunitario riesce a identificare e distruggere le cellule trasformate prima che possano formare una massa tumorale rilevante. In questa fase collaborano l'immunità adattativa rappresentata dai linfociti T e quella innata rappresentata da cellule natural killer, oltre che altri tipi di cellule come quelle dendritiche e citochine infiammatorie. Nel caso alcune cellule tumorali sopravvivessero, si entra nella fase di Equilibrio.

- **Fase di Equilibrio:** il sistema immunitario contiene il tumore, ma non riesce a eliminarlo del tutto. Le cellule più resistenti e meno immunogeniche, quindi, possono sviluppare strategie per sfuggire al controllo immunitario, entrando così nella fase di Escape.

- **Fase di Escape:** il tumore riesce a proliferare nonostante la presenza del sistema immunitario utilizzando i meccanismi di evasione descritti nel paragrafo precedente.

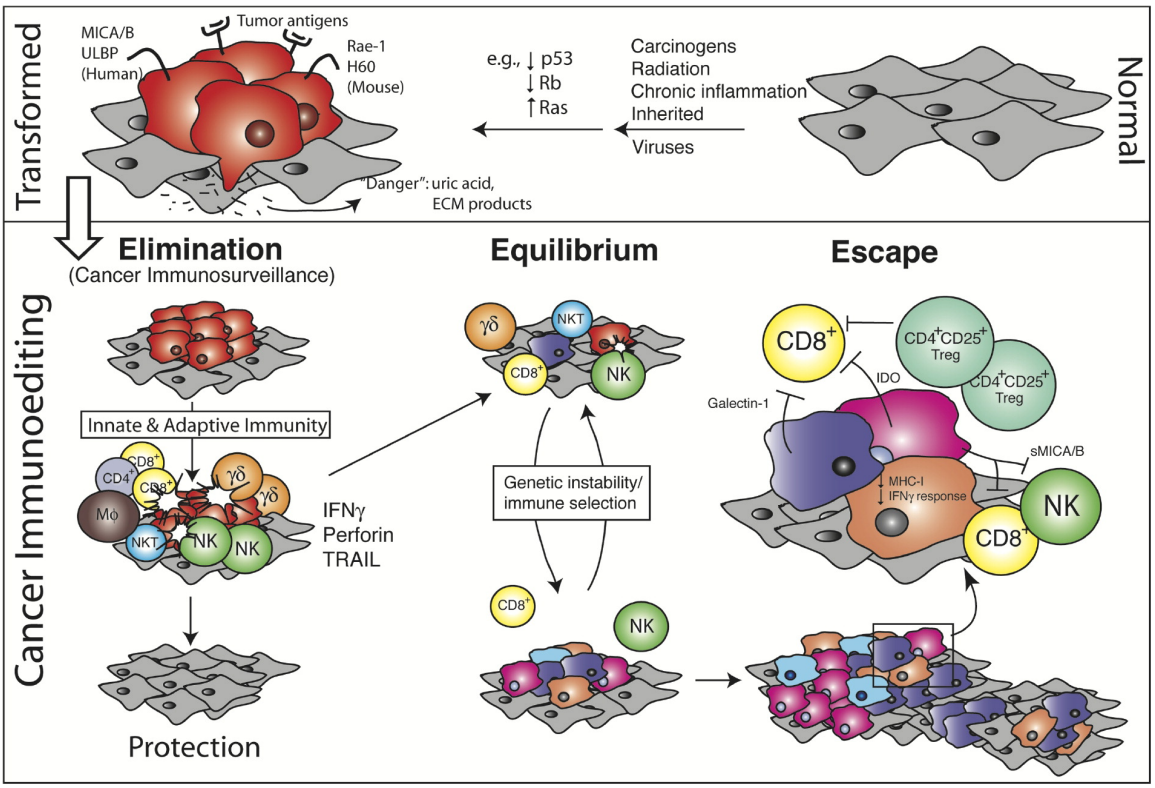


Figura 2.2: Rappresentazione schematica del processo di immunoediting articolato nelle tre fasi di Eliminazione, Equilibrio ed Escape. Estratto da: Cell intrinsic extrinsic factors in cervical carcinogenesis. September 2009The Indian Journal of Medical Research

La comprensione dell'immunoediting ha portato a nuovi approcci che non puntano a colpire direttamente alle cellule tumorali, ma piuttosto a potenziare la risposta immunitaria contro esse. Le immunoterapie oncologiche comprendono l'uso di anticorpi monoclonali contro i checkpoint immunologici, la somministrazione di citochine attivanti, la terapia cellulare con linfociti T modificati (CAR-T) e vaccini terapeutici. Tra queste, l'inibizione dei checkpoint immunitari si è rivelata particolarmente efficace, riattivando le cellule T e ripristinando una risposta immunitaria robusta [12].

Uno dei vari problemi che si possono verificare è che non tutti i pazienti rispondono a tali trattamenti, e la presenza di un TME fortemente immunosoppressivo può limitarne l'efficacia. Per questo motivo, lo studio dell'immunoediting è al centro della ricerca biomedica e della modellazione computazionale in oncologia.

2.7 Implicazioni per la modellazione computazionale

Come abbiamo visto l'interazione tra tumore e sistema immunitario è un processo biologico molto complesso, dinamico e multidimensionale, in cui fanno parte diversi tipi di cellule, segnali

molecolari, trasformazioni e adattamenti. La sua comprensione richiede un approccio capace di unire un'osservazione sperimentale a strumenti teorici o computazionali che siano in grado di prevedere l'evoluzione del sistema nel tempo e nello spazio.

In questo contesto, la modellazione computazionale rappresenta uno strumento valido per studiare tutte le possibili variabili, esplorare scenari ipotetici e simulare possibili terapie. I modelli, infatti, permettono di rappresentare le componenti del TME, come cellule neoplasiche, immunitarie, segnali molecolari e matrice extracellulare, e di analizzare come questi elementi interagiscano nello stimolare o ostacolare la crescita tumorale.

Le informazioni raccolte in sintesi nei paragrafi precedenti costituiscono la base per costruire modelli matematici e computazionali del sistema tumore-immunità. La presenza di eterogeneità spaziale e dinamiche adattive rende particolarmente adatti modelli multi-agente e ibridi. Questi strumenti, che sono alla base dei modelli che verranno visualizzati nei successivi capitoli, permettono di catturare l'evoluzione delle popolazioni cellulari tramite fattori come distribuzione di nutrienti, l'accessibilità dei farmaci e la distribuzione delle citochine.

Integrando nella modellazione concetti come l'immunoediting, l'evasione immunitaria e la risposta alle terapie immunologiche, si riesce a simulare scenari realistici e ad investigare *in silico* l'efficacia di diversi interventi, adattando ciascun modello anche a specifici tipi di tumore, rendendoli utili per lo studio di strategie terapeutiche mirate. A partire da queste considerazioni, diventa fondamentale individuare e analizzare i modelli computazionali sviluppati per rappresentare l'interazione tra tumore e sistema immunitario.

Capitolo 3

Metodologia della ricerca bibliografica

3.1 Obbiettivi e impostazione della ricerca

L'analisi comparativa dei modelli applicati allo studio dell'interazione tra tumore e sistema immunitario presuppone un processo rigoroso di identificazione, selezione e classificazione della letteratura scientifica recente. La presente ricerca bibliografica è stata pertanto concepita con l'obiettivo di individuare quei modelli che, per struttura o finalità, risultano comparabili al modello MAST [1].

La ricerca è stata guidata da tre criteri principali: pertinenza biologica, rilevanza computazionale e attualità. La pertinenza biologica riguarda, ovviamente, la capacità del modello di rappresentare i fenomeni riconducibili all'interazione tra sistema immunitario e cellule tumorali o che comunque simuli la crescita tumorale. La rilevanza computazionale, invece, riguarda l'impiego di approcci computazionali, descritti in maniera adatta basati su modelli multi-agente, ibridi o simulazioni spaziotemporali. Infine, l'attualità indica il periodo di progettazione del modello che dovrebbe essere simile a quello di MAST o, preferibilmente, più recente.

La selezione dei modelli non si è limitata ai termini e riferimenti citati all'interno della documentazione di MAST [1], ma è stata estesa per arrivare a una ricerca che includesse modelli computazionali a scopo oncologico pubblicati tra il 2022 e il 2025.

3.2 Costruzione delle parole chiave

La definizione delle parole chiave è stata la fase preliminare e ha definito il campo specifico della ricerca bibliografica. I termini selezionati sono stati derivati dall'analisi dei concetti del modello MAST [1], dal lessico scientifico utilizzato comunemente per indicare la modellazione oncologica e dalle tematiche che sono emerse da MAST e da ogni paper collegato a questo tema.

In primo luogo, sono stati individuati i concetti relativi alla struttura dei modelli computazionali, tra i quali, “multi-agent systems”, “agent-based modeling”, “hybrid modeling” e “spatio-temporal simulation”. Questi termini indicano i metodi che consentono di rappresentare dinamiche cellulari complesse come quelle che avvengono nell’interazione tumore–immunità.

In secondo luogo, è stato necessario includere termini riferiti all’ambito oncologico, per indicare il campo di applicazione dei metodi appena citati. Le espressioni descrittive dell’ambito oncologico possono essere “tumor microenvironment”, “cancer immunology”, “tumor growth modeling” e “oncolytic therapy”. L’aggiunta di queste espressioni ha permesso di restringere la ricerca a lavori che, comunque utilizzino un certo metodo di rappresentazione, ma in ambito precisamente oncologico e che includessero l’interazione tra neoplasie e sistema immunitario.

Infine, sono stati inseriti termini relativi ad approcci metodologici generali, come “computational oncology”, “mathematical modeling”, “data-driven models” e “simulation frameworks”. Questi termini hanno permesso di ampliare la ricerca a lavori che, anche non utilizzando metodi specifici a una categoria, presentassero comunque una struttura computazionale.

I termini sono stati utilizzati singolarmente o in combinazione logica utilizzando i termini booleani `AND` e `OR` al fine di ampliare o restringere i risultati ottenuti.

Tabella 3.1: Parole chiave e query di ricerca organizzate per campo tematico.

Campo	**Parole chiave e query formulate**
Struttura computazionale	“multi-agent systems”, “agent-based modeling”, “hybrid modeling”, “spatio-temporal simulation”, ”3D tumour simulation”
Ambito oncologico	“tumor microenvironment”, “cancer immunology”, “tumor growth modeling”, “oncolytic therapy”, ”tumour evolution”
Approcci generali	“computational oncology”, “mathematical modeling”, “data-driven models”, “simulation frameworks”, ”AI driven”

3.3 Database utilizzati

La ricerca bibliografica è stata condotta interrogando una serie di banche dati scientifiche riconosciute tutte completamente online. L’obbiettivo era, infatti, trovare delle banche che fossero sempre aggiornate con contenuti pertinenti e affidabili.

Google Scholar è stato impiegato come primo strumento, in quanto contiene una vastissima quantità di articoli e copre molte discipline. Tuttavia, sono stati interrogati anche database come *Scopus* e *Web of Science* che sono stati utilizzati per raffinare la selezione, grazie alla grossa quantità di filtri utilizzabili, tra i quali quelli come anno di pubblicazione e area tematica.

Inoltre, sono stati consultati anche i database *IEEE Xplore* e *ACM Digital Library*, specializzati nell'ambito dell'informatica, intelligenza artificiale e modellazione simulativa. Anche se meno focalizzati sul contenuto biologico, queste banche hanno garantito l'accesso a molti lavori di alto livello tecnico informatico.

Infine, per il controllo di eventuali studi clinici o per analisi di aspetti biologici, è stata effettuata una consultazione su *PubMed*, utile soprattutto per verificare l'aderenza dei modelli ad aspetti reali e la validazione sperimentale dei modelli proposti.

La combinazione di più fonti ha garantito una copertura bilanciata tra gli aspetti scientifici coinvolti, favorendo l'identificazione di modelli computazionali recenti e rilevanti per gli obiettivi della presente tesi.

3.4 Esempi di query di ricerca

Per l'individuazione dei modelli computazionali da confrontare con MAST, sono state formulate diverse query di ricerca, soprattutto, interrogando i database Google Scholar, Scopus e, integrando occasionalmente, IEEE Xplore. Le query sono state formulate utilizzando, come già indicato, diversi termini tecnici accompagnati da operatori booleani.

Le stringhe di ricerca hanno prodotto risultati rilevanti, da cui sono stati successivamente selezionati i lavori da confrontare con MAST. Le query, ovviamente, sono state costruite iterativamente, partendo da parole chiave che indicassero ciascuna il campo tematico (struttura computazionale, oncologia, approcci generali) e la combinazione logica di esse ha ridotto il campo fino ad arrivare al risultato desiderato.

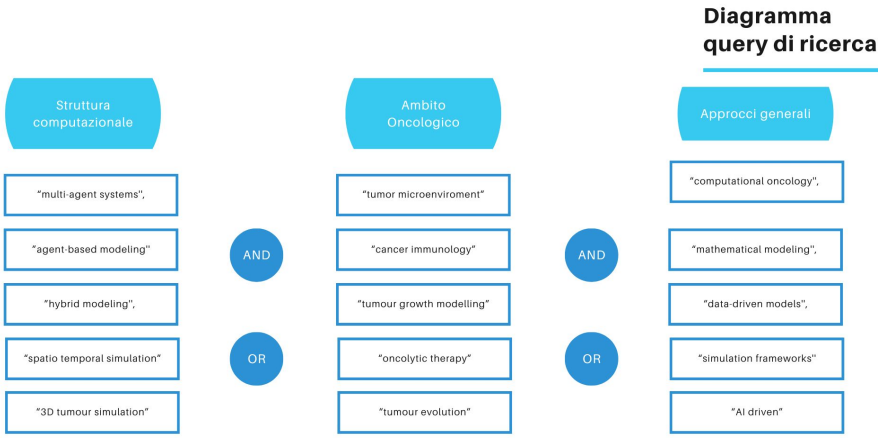


Figura 3.1: Diagramma della costruzione delle query di ricerca: ogni parola chiave, o parte di essa, appartenente a un ambito (struttura computazionale, oncologia, approcci generali) viene combinata logicamente con ciascuna parola chiave dell'ambito successivo tramite operatori AND/OR. In questo modo si ottengono tutte le possibili combinazioni, che vengono poi filtrate per selezionare le query finali.

3.5 Criteri di inclusione ed esclusione e processo di selezione

Per garantire la coerenza dei contributi selezionati, sono stati definiti a priori criteri espliciti di inclusione ed esclusione, applicati in fase di ricerca nella letteratura.

I criteri di inclusione adottati sono stati i seguenti:

- presenza di un modello computazionale riguardante l'interazione tra cellule tumorali e sistema immunitario;
- impiego di tecniche modellistiche riconducibili a paradigmi multi-agente, ibridi o spaziotemporali, con descrizione formale o pseudocodice documentato;
- pubblicazione su riviste peer-reviewed, tra il 2020 e il 2025, preferibilmente più recenti di MAST.

I criteri di esclusione adottati sono:

- articoli puramente teorici, privi di un componente computazionale;
- lavori focalizzati esclusivamente su modelli matematici (es. sistemi di equazioni differenziali ordinari);
- modelli focalizzati esclusivamente su aspetti molecolari o genomici, all'ambiente immunitario e oncologico.

L'applicazione di tali criteri ha permesso di selezionare un numero limitato di paper recenti in grado di poter supportare una analisi comparativa con gli obbiettivi della tesi.

Il processo finale di selezione si è articolato in più fasi sequenziali: dopo una prima esplorazione del campo tramite query ampie, è stato effettuato una lettura dei titoli e degli abstract per valutare la pertinenza dei contributi. I lavori considerati rilevanti sono stati successivamente esaminati interamente.

Il corpus iniziale comprendeva circa 15 articoli identificati tra Google Scholar, Scopus, PubMed e IEEE Xplore. Dopo una prima selezione su titolo, abstract e parole chiave, il numero è stato ridotto a 8 articoli. L'analisi completa del testo di ciascun articolo ha portato infine alla selezione di 3 articoli riguardanti 3 modelli computazionali confrontabili tra di loro e con MAST.

I modelli selezionati sono stati successivamente classificati in base a diversi fattori, come tipo di rappresentazione, interazione biologica e finalità applicativa, in modo da strutturare un'analisi comparativa più ampia.

3.6 Risultati della ricerca bibliografica

A seguito dell'applicazione dei criteri di selezione, sono stati identificati tre articoli descrittivi di modelli computazionali ritenuti rilevanti per un confronto con il modello MAST [1]. Ciascuno di questi rappresenta la simulazione della crescita tumorale e delle interazioni tra il microambiente tumorale e diversi livelli di risposta immunitaria.

I modelli selezionati includono un workflow automatizzato basato su agenti (WARLOCK) [13], un modello ibrido eco-immunologico ispirato alla dinamica preda-predatore (GLV-OVT) [15] e un modello multiscala focalizzato sulla crescita vascolare e la risposta ai trattamenti (Bridging Scales) [14]. Tutti i contributi sono stati pubblicati successivamente al 2022, rispecchiando il tema della modellazione computazionale applicata all'oncologia.

Capitolo 4

Modelli computazionali analizzati: da MAST ai modelli comparabili

4.1 Il modello MAST come riferimento

Il modello MAST (Multi-Agent Spatio-Temporal) è stato sviluppato presso l'Università degli Studi di Padova [1], esso rappresenta un framework multi-agente che è finalizzato a rappresentare la simulazione spaziotemporale dell'evoluzione tumorale in seguito all'interazione tra tumore e sistema immunitario [1]. Inoltre, è in grado di integrare dati biologici reali e riprodurre fenomeni osservati sperimentalmente [1]. MAST adotta un approccio ibrido, ovvero, combina un modello ad agenti discreto con un modulo a equazioni differenziali parziali (PDE) utilizzato per descrivere la diffusione e il consumo dei nutrienti all'interno del microambiente tumorale [1].

MAST si basa su un sistema formato da agenti cellulari individuali dotati ciascuno di proprietà interne come stato immunologico, stato proliferativo e metabolico e anche da regole che coordinano l'interazione con l'ambiente circostante [1]. Il modello si basa su una griglia bidimensionale in cui le cellule interagiscono in modo aleatorio, la griglia è divisa in voxel, ciascuno dei quali può contenere una cellula e un set di variabili ambientali, tra i quali concentrazione di nutrienti, segnali immunitari e altre molecole [1].

Le componenti principali del modello includono, ovviamente, cellule tumorali e immunitarie, tra le più importanti linfociti T e cellule dendritiche, ma anche fattori come nutrienti e citochine [1]. La dinamica si sviluppa in diversi step nei quali ciascun agente aggiorna il suo stato in base alle interazioni, alle condizioni ambientali e alle regole stocastiche. La diffusione delle molecole e dei nutrienti si basa su equazioni differenziali parziali su griglia, mentre le interazioni tra cellule sono regolate da probabilità [1].

Il modello è stato applicato al carcinoma colorettale, in particolare l'obbiettivo è stata la si-

mulazione delle quattro sottoclassi del carcinoma definite dalla classificazione molecolare CMS: CMS1 (immunologico), CMS2 (epiteliale), CMS3 (metabolico) e CMS4 (mesenchimale). Per ciascuna delle quali sono stati assegnati dei parametri riguardanti la proliferazione cellulare, l'infiltrazione immunitaria e la risposta all'ambiente [1].

Dal punto di vista computazionale, MAST è stato implementato con un'architettura modulare, in grado di aggiungere o modificare classi cellulari e di permettere l'integrazione di dati reali provenienti da fonti sperimentali o cliniche [1].

4.2 WARLOCK – Un workflow automatizzato per l'evoluzione tumorale spaziale

WARLOCK (Workflow for Automated Reconstruction and simmuLation Of Cancer Knowledge) è un software computazionale sviluppato per simulare, in modo automatizzato e riproducibile, l'andamento sia spaziale che temporale dell'evoluzione clonale del tumore [13]. Il modello si presenta attorno a una rappresentazione deme-based, nella quale ciascun "deme" corrisponde a una parte cellulare ben mescolata e rappresentata su griglia bidimensionale. All'interno di ciascun centro le cellule tumorali possono dividersi, morire, mutare e disperdersi [13].

L'obbiettivo principale di WARLOCK non è la modellazione delle interazioni cellulari all'interno del microambiente tumorale, come ad esempio l'interazione tra cellule tumorali e sistema immunitario, ma la simulazione dell'eterogeneità genetica [13]. Tale eterogeneità si verifica a seguito di mutazioni casuali, pressione selettiva e dispersione spaziale delle cellule. Per questo motivo il comportamento delle cellule viene descritto attraverso approcci stocastici, in particolare una variante dell'algoritmo di Gillespie, un metodo matematico impiegato per simulare sistemi aleatori [13].

Architettura. In ogni passaggio il simulatore sceglie quale evento accade e in quale deme attraverso metodi probabilistici proporzionali ai tassi, utilizzando l'algoritmo di Gillespie. I parametri dati in input determinano i tassi di divisione cellulare, mutazione, dispersione, capacità del "deme", i vincoli spaziali e le condizioni di arresto. Successivamente, ogni cellula può subire eventi come divisione, morte o migrazione verso "deme" adiacenti, ma può anche subire mutazioni genetiche che vengono classificate in "mutazioni driver", che conferiscono un vantaggio evolutivo alla cellula, oppure in "mutazioni passenger", che risultano neutre dal punto di vista funzionale [13].

Output e utilità. L'output della simulazione consiste in mappe che rappresentano la distribuzione clonale e le mutazioni acquisite nel tempo, alberi filogenetici e distribuzioni VAF, utili per il confronto con dati multi-regione e single-cell reali [13].

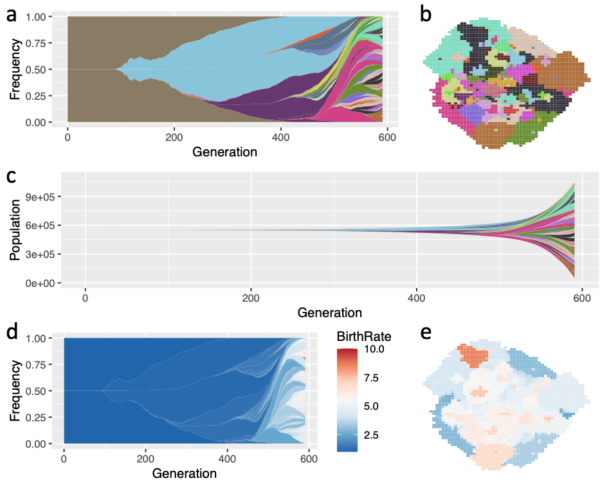


Figure 2: Visualization of tumour evolution simulated using *demon*. The model in this case is a spatial Moran process, with cancer cells invading a field of normal tissue (normal cells are omitted from the plots). Cancer cells randomly acquire driver mutations that increase division rate. **a.** Muller plot in which colours represent clones with distinct combinations of driver mutations (the original clone is grey-brown; subsequent clones are coloured using a recycled palette of 26 colours). Descendant clones are shown emerging from inside their parents. **b.** Spatial plot of the tumour at the endpoint time, in which each pixel corresponds to a deme containing approximately 512 cells, coloured according to the most abundant clone within the deme. **c.** Muller plot of clone sizes, rather than frequencies. **d.** Muller plot coloured by cell division rate. **e.** Spatial plot coloured by cell division rate. This figure is adapted from reference (4) under the terms of a Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. Plots were generated using the R packages *demonanalysis*(17) and *ggmuller*(18).

Figura 4.1: Raffigurazione output e descrizione. Estratto da: *WARLOCK: An automated computational workflow for simulating spatially structured tumour evolution* [13].

WARLOCK è uno strumento utile per lo studio della dinamica evolutiva del cancro, soprattutto nello studio della diversificazione clonale, nonostante l'assenza di una rappresentazione diretta del sistema immunitario e di cellule stromali [13]. Permette l'esecuzione parallela di centinaia di simulazioni variate per parametri biologici o strutturali [13].

Limiti e confronto. WARLOCK non include immunità, segnali ambientali, trasporto di nutrienti e farmaci né il microambiente immunitario, ma è concentrato esclusivamente nello studio dell'evoluzione genetica del tumore [13]. La sua architettura agent-based, orientata all'evoluzione genetica e alla rappresentazione spaziale della dinamica clonale, lo rende comparabile in alcuni aspetti al modello MAST, pur risultando complementare per i fenomeni che studia [13].

4.3 GLV-OVT – Modello ibrido eco-immunologico per la terapia virale oncolitica

Il lavoro *AI-Driven Hybrid Ecological Model for Predicting Oncolytic Viral Therapy Dynamics* presenta un modello utile per descrivere come si sviluppa una terapia con virus oncolitici nel tempo [15]. L'idea alla base del modello è quella di trattare le cellule tumorali e le cellule infettate dal virus come due individui che interagiscono secondo la dinamica preda-predatore (Lotka–Volterra). Questo modello permette di simulare andamenti realistici, come la crescita del

tumore, la stabilizzazione o l'instabilità, fornendo supporto per definire dosi e tempi di somministrazione [15]. L'obbiettivo è fornire previsioni accurate sull'andamento della terapia, ma anche identificare biomarcatori molecolari efficaci per orientare schemi terapeutici personalizzati [15].

Architettura del modello. Il modello si basa su equazioni di tipo Lotka–Volterra "generalizzate" con ritardo [15]. In pratica, il modello adatta i suoi parametri fondamentali e le regole di crescita del tumore e di interazione con il virus, in modo che la simulazione riproduca gli andamenti sperimentali. In questo schema, il tumore alimenta la presenza del virus, che ne riduce la massa. Quando però il tumore diminuisce, cala anche la quantità di virus, permettendo così alle cellule tumorali di aumentare nuovamente [15]. A seconda dei parametri impostati, il sistema mostra oscillazioni che possono smorzarsi fino a stabilizzarsi, rimanere costanti o diventare instabili. L'introduzione del ritardo è fondamentale, in quanto rappresenta il lag biologico tra infezione e risposta, migliorando la realisticità della terapia [15].

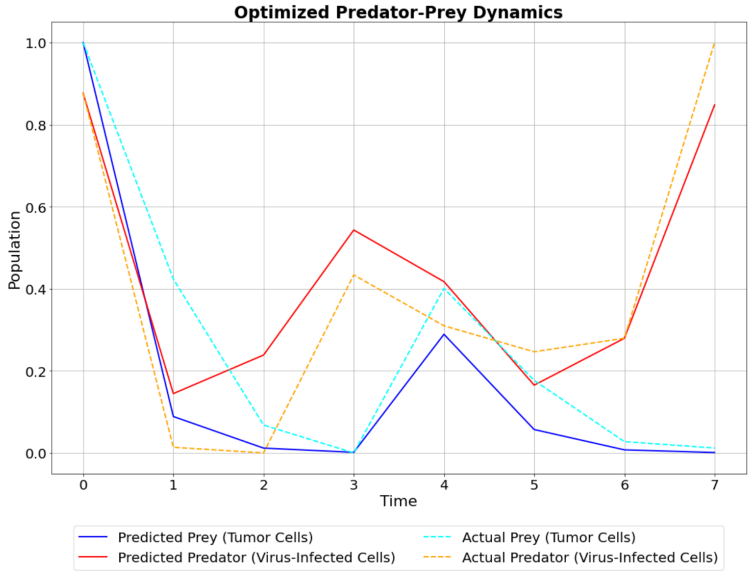


Figura 4.2: Confronto tra dinamiche simulate (GLV con ritardo) e dati sperimentali per cellule tumorali e cellule infette da virus oncolitico; il modello riproduce i pattern oscillatori osservati Estratto da: *AI-Driven Hybrid Ecological Model for Predicting Oncolytic Viral Therapy Dynamics* [15].

Calibrazione dei dati. La calibrazione dei dati utilizza una pipeline "AI-powered": gli autori addestrano il modello su serie temporali ottenute da saggi di vitalità e crescita cellulare e integrano anche profili di espressione genica ottenuti con la piattaforma Nanostring [15]. La serie temporale consente al modello di imparare i tempi e l'intensità dell'interazione tra cellule tumorali e virus, in modo da capire se il sistema tenderà a stabilizzarsi, oscillare o diventare instabile. I profili di espressione genica, invece, servono a interpretare tali dinamiche, ovvero a identificare quali geni sono collegati ad andamenti favorevoli e possono quindi guidare scelte di

dose e timing [15]. In sostanza, il modello “impara” dai dati a quale regime appartiene il sistema e suggerisce trattamenti più adatti per risultati favorevoli [15].

Piano biologico. GLV-OVT non simula esplicitamente le cellule immunitarie come linfociti T o macrofagi, ma legge dai dati molecolari se il tessuto mostra attività immunitaria [15]. Il modello interpreta come l’attività dei geni implichi una risposta del sistema immunitario: ad esempio, quando rileva geni come *IL18* e *PRF1* (tipici dei linfociti T) significa che il microambiente mostra attività immunitaria, confermata dal modello stesso mediante segnali molecolari [15].

Figura 4.3: Segnature immunitarie Estratto da: *AI-Driven Hybrid Ecological Model for Predicting Oncolytic Viral Therapy Dynamics* [15].

Risultato e confronto. GLV-OVT non introduce cellule immunitarie esplicitamente e nemmeno una geometria del microambiente tumorale: la dimensione immunitaria viene inclusa indirettamente tramite l’espressione genica e le segnature molecolari [15]. Il vantaggio di questo modello è che è fortemente predittivo: risulta molto utile per schedulazioni adattive di dosi e tempi di somministrazione, in modo da mantenere oscillazioni favorevoli [15]. Le prospettive future degli autori includono l’impiego di misure longitudinali paziente-specifiche e lo sviluppo di strumenti in grado di riconoscere tempestivamente i cambi di regime, così da intervenire prima che il sistema deragli verso stati non favorevoli [15]. In questa tesi GLV-OVT può essere considerato un modello complementare a MAST: pur avendo meno dettagli spaziali e molecolari, mostra un’elevata capacità di anticipare gli eventi e di supportare decisioni nella programmazione terapeutica [15].

4.4 Bridging Scales – Modello ibrido 3D per crescita vascolare e risposta al trattamento

Il lavoro *Bridging Scales: A hybrid model to simulate vascular tumor growth and treatment response* presenta un modello ibrido tridimensionale che combina tre componenti principali [14]. La prima componente è costituita da campi continui, ovvero mappe tridimensionali che si aggiornano continuamente e descrivono le concentrazioni di nutrienti, del fattore pro-angiogenico VEGF e dei farmaci. La seconda componente è un modello ad agenti per cellule tumorali, nel quale ogni cellula, in base ai dati locali disponibili (ossigeno, sostanze nutritive e farmaco), può proliferare, entrare in ipossia, morire o rimanere quiescente. La terza componente è un modello ad agenti per vasi sanguigni, nel quale, relativamente al gradiente di VEGF, si formano nuovi vasi che tendono verso le zone maggiormente ipossiche, dove la concentrazione di VEGF è maggiore. L'idea alla base del modello è riprodurre come l'ipossia induca la secrezione di VEGF, che porta alla formazione di nuovi vasi e, a sua volta, condizioni la crescita del tumore e la penetrazione dei farmaci [14].

Architettura del modello. La simulazione avanza per passi temporali discreti e ripete sempre lo stesso ciclo logico. I campi continui diffondono le sostanze nello spazio e, una volta aggiornati i campi, i segmenti vascolari rilevano il gradiente di VEGF e, in base a questo, generano un allungamento in direzione del gradiente [14]. Le cellule tumorali rilevano i dati locali riguardo nutrienti, ossigeno e farmaco e, in base a soglie e probabilità, scelgono il proprio stato. Il collegamento è bidirezionale: i vasi portano nutrimento e le cellule ipossiche secernono VEGF, che stimola la crescita dei vasi e quindi un maggior apporto di nutrienti [14]. Questo modello cattura il circolo ipossia–VEGF–angiogenesi–nutrienti–crescita tumorale, che è alla base della progressione della neoplasia [14].

Dati di riferimento e scenario terapeutico. Gli autori si basano su uno studio preclinico su carcinoma mammario HER2+ che valuta il farmaco derivante dalla combinazione di doxorubicina (DOX) e trastuzumab (TRA) [14]. L'ipotesi alla base del modello è che una dose e una tempistica adeguate di anti-VEGF possano normalizzare temporaneamente la rete vascolare, aumentando la diffusione e quindi l'arrivo del farmaco chemioterapico. Nel modello questo si traduce nell'ottenimento di una rete vascolare meno permeabile e meglio distribuita, con simulazioni che riproducono qualitativamente le dinamiche osservate in esperimenti preclinici [14]. In tali simulazioni si evidenzia una "finestra" in cui la combinazione dei farmaci massimizza l'efficacia della terapia [14].

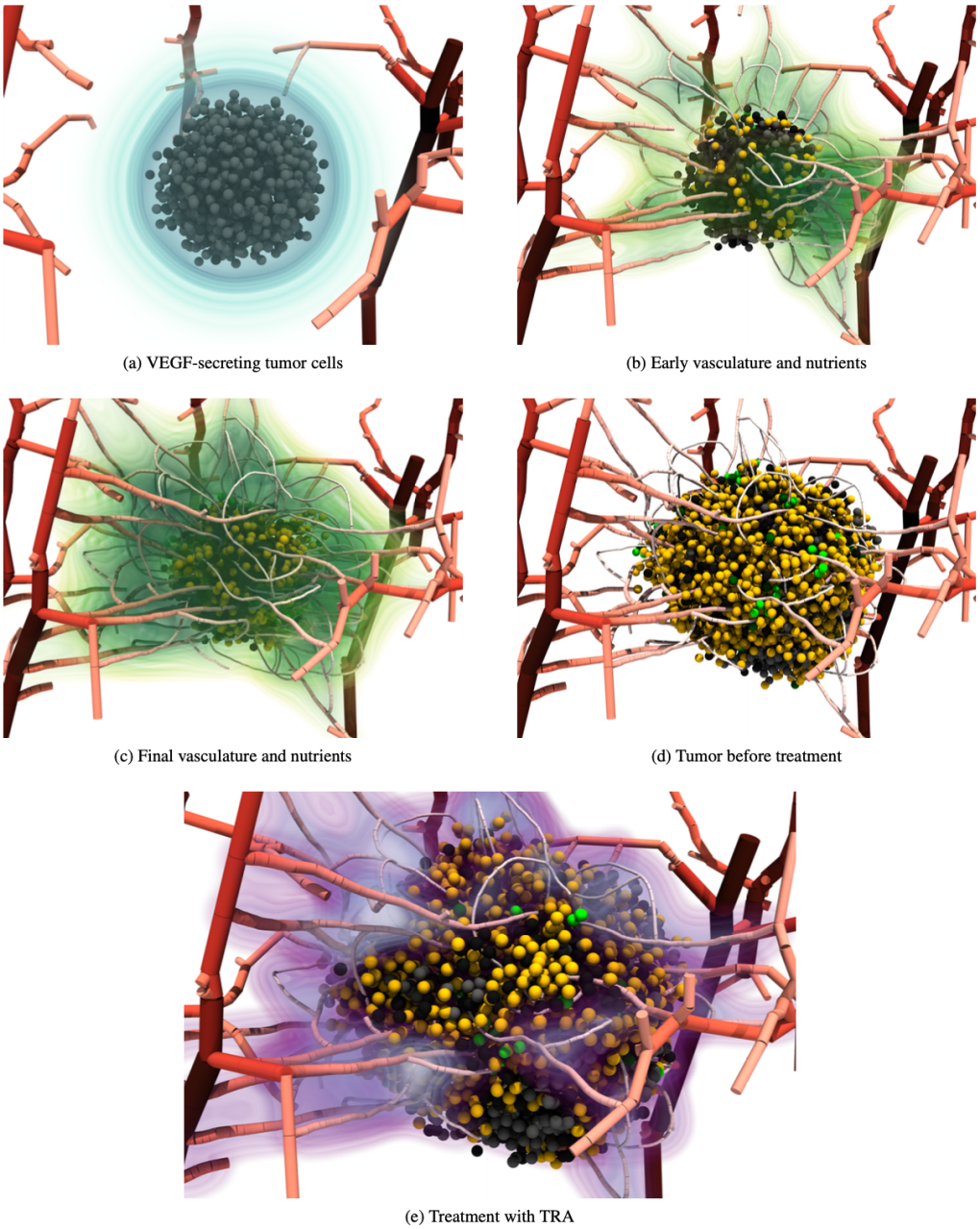
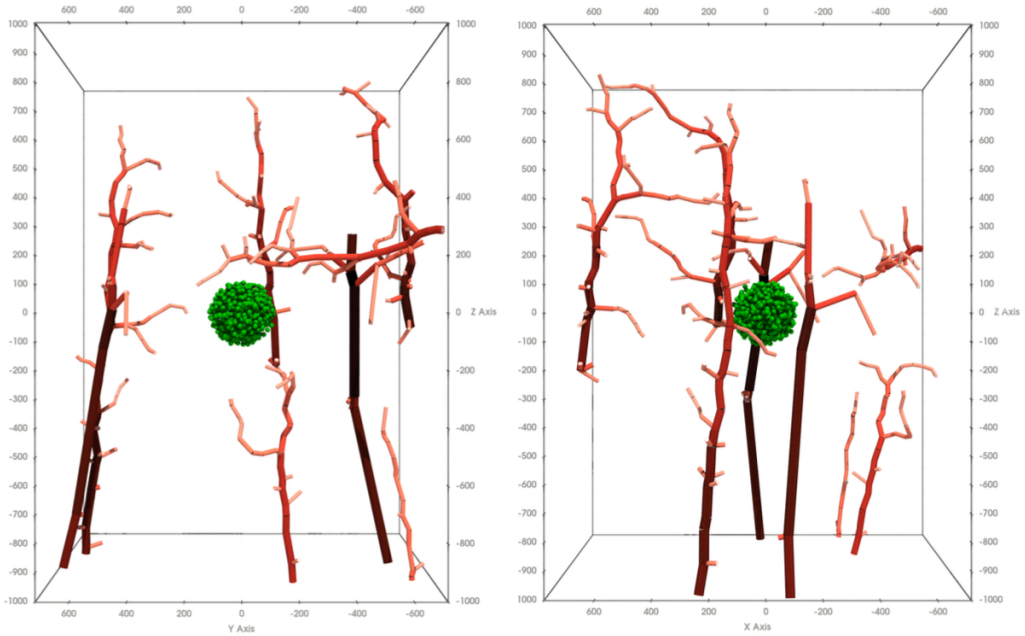


Figura 4.4: Illustrazione del ciclo ipossia – VEGF – angiogenesi – nutrienti – crescita tumorale - trattamenti. Estratto da: *Bridging Scales: A hybrid model to simulate vascular tumor growth and treatment response* [14].

Piano biologico. Il modello non include cellule immunitarie, ma rende espliciti processi chiave del microambiente fisico come ipossia, necrosi, angiogenesi e distribuzione dei farmaci [14]. Si osserva, ad esempio, un nucleo necrotico in mancanza di nutrienti, seguito da una crescita tumorale in regioni che riescono ad attirare vasi sanguigni. Questo modello tridimensionale consente analisi che modelli bidimensionali privi di rete vascolare non riescono a cogliere,

come l'importanza della geometria vascolare sulla diffusione del farmaco [14].

Risultato. Il modello rappresenta fino a 92,5 milioni di agenti su un volume di $9 \times 9 \times 9$ mm^3, dimensioni tissutali adeguate e realistiche per esperimenti in silico [14]. Tale configurazione consente di esplorare varie sequenze terapeutiche e di osservare come la rete vascolare influenzi la risposta locale [14].



(a) view 1 (b) view 2

Figura 4.5: Configurazione iniziale della simulazione. Le cellule tumorali sono mostrate in verde indipendentemente dal loro stato. Il colore del vaso indica il diametro; i segmenti con diametri maggiori sono mostrati in rosso scuro, quelli con diametri minori in rosso chiaro. Estratto da: *Bridging Scales: A hybrid model to simulate vascular tumor growth and treatment response* [14].

Limiti e confronto. I limiti principali di questo modello sono la mancanza di tessuto sano circostante, l'assenza della migrazione cellulare e la non inclusione di componenti immunitarie [14]. Queste scelte semplificano il calcolo computazionale ma rendono meno realistico l'ambiente tumorale. In questa tesi, Bridging Scales viene considerato unico e di riferimento per quanto riguarda la vascolarizzazione: proprio per questo motivo risulta complementare a MAST e agli altri modelli che non includono esplicitamente tali aspetti [14].

Capitolo 5

Analisi comparativa dei modelli computazionali

5.1 Obiettivo del confronto

Il presente capitolo ha l'obbiettivo di realizzare un'analisi e un confronto sistematico tra i modelli computazionali precedentemente descritti – MAST [1], WARLOCK [13], GLV-OVT [15] e Bridging Scales [14] – in modo da evidenziare differenze, convergenze e complementarità.

Il confronto si basa su tre obbiettivi principali. Innanzitutto, si cerca di individuare se ciascun modello rappresenti le componenti biologiche principali come cellule tumorali, sistema immunitario, segnali molecolari e sistema vascolare. Il confronto vuole mettere in luce le differenze strutturali e metodologiche dei modelli computazionali, sottolineando le tecniche che risultano più adatte in base allo scenario da simulare.

Infine, il confronto evidenzierà i punti di forza e i limiti di ciascun modello in modo da delineare prospettive di miglioramento e possibilità di integrazione tra i vari modelli.

Il fine del confronto non è solo una classificazione dei modelli, ma anche una visione critica generale utile a capire l'impiego migliore degli strumenti in base agli obbiettivi applicativi e alle domande di ricerca. In breve, MAST rappresenta il modello di riferimento da cui partire, per valutare l'utilizzo di approcci alternativi come WARLOCK [13], il cui focus è l'evoluzione genetica intratumorale, GLV-OVT [15], focalizzato sulla predizione delle terapie oncolitiche, e Bridging Scales [14], sviluppato per esplorare la relazione tra crescita vascolare e risposta ai trattamenti.

5.2 Classificazione dei modelli

I modelli selezionati possono essere classificati in base a due criteri principali:

- l'architettura del modello;
- l'orientamento biologico e applicativo.

1. Architettura del modello

- **Modelli ibridi con agenti ed equazioni differenziali (ABM e PDE):** integrano la rappresentazione discreta delle cellule con campi continui che rappresentano nutrienti, ossigeno, VEGF e farmaci. MAST [1] e Bridging Scales [14] appartengono a tale categoria perché combinano ABM riferito a cellule tumorali e vasi sanguigni con PDE per la diffusione di nutrienti, farmaci, segnali molecolari e checkpoint.
- **Modelli agent-based genetici:** pongono l'attenzione sull'evoluzione clonale e sulla variabilità genetica piuttosto che sull'interazione tra cellule. Questo è il caso di WARLOCK [13], che tramite la sua impostazione "deme-based" rappresenta popolazioni cellulari e simula l'evoluzione tumorale dal punto di vista genetico e in diverse strutture spaziali.
- **Modelli dinamici basati su equazioni differenziali ordinarie e generalizzate (ODE/GLV):** descrivono le popolazioni cellulari tramite sistemi di equazioni che pongono il focus su una descrizione quantitativa delle interazioni cellulari piuttosto che su una rappresentazione spaziale. GLV-OVT [15] appartiene a questa classe e considera le interazioni tra cellule tumorali e virus oncolitici tramite equazioni di questo tipo.

2. Orientamento biologico e applicativo

- **Tumore–immunità:** MAST [1] è sviluppato per studiare le dinamiche tra le interazioni immunitarie e oncologiche e valutare fenomeni di evasione e risposta a immunoterapie.
- **Evoluzione clonale e eterogeneità intratumorale:** WARLOCK [13] è specializzato nello studio dell'evoluzione tumorale dal punto di vista genetico e nel collegamento tra architettura spaziale ed evoluzione del tumore.
- **Terapie oncolitiche:** GLV-OVT [15] si concentra sull'utilizzo del virus oncolitico come agente terapeutico.
- **Angiogenesi e terapia combinata:** Bridging Scales [14] studia la crescita tumorale in relazione all'angiogenesi e agli effetti di trattamenti singoli e combinati.

Questa classificazione, secondo i due criteri indicati, mette in luce come i modelli condividano il fine generale di comprendere e prevedere i meccanismi della dinamica tumore–microam-

biente, ma si differenzino profondamente nella modellazione computazionale e nell'analisi biologica.

5.3 Comparazione strutturale e metodologica

Il confronto tra i modelli selezionati evidenzia differenze sia nella struttura computazionale che nel modo in cui viene rappresentato il sistema immunitario e la sua interazione con il tumore.

MAST è un modello ibrido multi-agente in cui le cellule tumorali e immunitarie sono descritte come agenti espliciti, che interagiscono con campi continui (nutrienti e segnali molecolari) descritti con equazioni di diffusione (PDE) [1]. La struttura modulare consente l'integrazione di molte popolazioni cellulari e di collegare i parametri a dati reali tramite un approccio data-driven. Inoltre, MAST integra componenti stocastiche di eventi cellulari (divisione, morte, mutazioni) con eventi deterministici riguardanti la diffusione molecolare. Il sistema immunitario è rappresentato in maniera diretta: le cellule immunitarie (CTL, NK, Treg, CAF) sono presenti esplicitamente, ciascuna con regole specifiche di interazione con il tumore e di attivazione. Questo approccio rende la simulazione molto realistica, ma comporta una maggiore complessità computazionale [1].

WARLOCK adotta una struttura deme-based, in cui lo spazio è suddiviso in demes che contengono sottopopolazioni cellulari eterogenee [13]. L'evoluzione cellulare è determinata da eventi stocastici secondo probabilità proporzionali ai tassi di ciascun evento, come divisione, morte, mutazione e dispersione. Questa metodologia riproduce in modo efficiente le traiettorie evolutive, pur non enfatizzando l'interazione immunitaria, che non è rappresentata a livello di singola cellula, ma indirettamente, come una pressione selettiva che condiziona la sopravvivenza clonale. Questo modello risulta uno strumento potente per l'analisi della diversità genetica in tumori solidi [13].

GLV-OVT adotta una configurazione completamente differente: si basa su equazioni differenziali generalizzate di tipo Lotka–Volterra, in cui le frazioni tumorali, quelle infettate da virus oncolitici e quelle immunitarie sono rappresentate da variabili continue soggette a regole di crescita, competizione, infezione e attivazione immunitaria [15]. La scelta di questa struttura consente una semplicità analitica e permette di studiare velocemente un ampio spazio parametrico. Si distingue ulteriormente per l'impiego di algoritmi di intelligenza artificiale per la calibrazione continua dei parametri e l'analisi delle traiettorie, con la conseguenza di ridurre l'errore rispetto ai dati osservati e di individuare biomarcatori immunitari che permettano di sviluppare terapie personalizzate. L'interazione tra cellule tumorali e virus si combina con un'azione immunitaria concepita in forma aggregata, che esercita un effetto complessivo sul sistema. La dimensione spaziotemporale non è contemplata e le popolazioni cellulari sono espresse in forma ridotta,

il che rappresenta un limite per fenomeni in cui l'eterogeneità del microambiente è cruciale. Nonostante queste assunzioni, GLV-OVT rimane un utile strumento predittivo [15].

Bridging Scales si configura come un modello ibrido multiscala che, come MAST, combina ABM e PDE per rappresentare rispettivamente cellule tumorali/vasi sanguigni e sostanze come ossigeno, VEGF e farmaci [14]. La struttura del modello è pensata per collegare un livello microscopico, in cui le singole cellule tumorali sono simulate come agenti con comportamenti propri, e un livello macroscopico in cui equazioni descrivono la distribuzione di ossigeno, nutrienti, VEGF e farmaci. Questa struttura consente di rappresentare come processi locali influenzino l'ambiente circostante e viceversa. Metodologicamente, il modello simula fenomeni come la normalizzazione vascolare indotta da anti-VEGF e la miglior diffusione di farmaco, confrontandoli con dati sperimentali. In questo modello, però, il ruolo immunitario rimane marginale e parametrico, senza modellazione cellulare diretta, poiché Bridging Scales presenta un'attenzione più marcata alla dinamica vascolare [14].

Sintetizzando, la comparazione strutturale dei quattro modelli mostra alcune divergenze e convergenze:

- MAST [1] e Bridging Scales [14] condividono l'approccio ibrido (ABM–PDE), ma con focus differenti (immunità vs vascolarizzazione).
- WARLOCK [13] si concentra su una prospettiva genetico–evolutiva, lontana dal microambiente tumorale ma cruciale per la comprensione dell'eterogeneità intratumorale.
- GLV-OVT [15] perde in dettaglio spaziale ma guadagna in semplicità analitica e rapidità di esplorazione parametrica, con il valore aggiunto della calibrazione tramite AI.

5.4 Livello di dettaglio biologico e scala spaziale

Il livello di dettaglio con cui ogni modello rappresenta i fenomeni biologici e la scala spaziale e temporale si distinguono nettamente per ciascun modello.

MAST fornisce dettagli a livello di ciascuna cellula presente nel TME, inclusi gli aspetti di antigene-specificità, immunoediting ed evasione [1]. La rappresentazione è una mappa bidimensionale (2D) in cui sono modellate le varie interazioni cellulari e molecolari.

WARLOCK è focalizzato sulla dinamica clonale (driver/passenger) e non sulle interazioni immunitarie specifiche cellula per cellula [13]. Per questo motivo le cellule sono aggregate in demes disposti su griglie, all'interno delle quali vengono calcolate le dimensioni delle sottopopolazioni e le probabilità di eventi come nascita, morte, mutazione e dispersione. Tale approccio privilegia una risoluzione genetico–evolutiva insiemistica rispetto a una descrizione cellula-per-cellula del TME.

GLV-OVT, invece, opera a un livello astratto: tutte le componenti del modello – cellule tumorali, virus oncolitico e sistema immunitario – vengono considerate come variabili continue in un sistema di equazioni differenziali [15]. In questo modo si perde completamente la dimensione spaziale, ma si riduce il costo computazionale e si consente un'ampia esplorazione parametrica. Un ulteriore limite è la mancanza di una rappresentazione dell'eterogeneità ambientale e delle geometrie tissutali, elementi che riducono la capacità del modello di catturare la complessità reale del contesto tumorale.

Bridging Scales fornisce invece un elevato livello di dettaglio nella rappresentazione cellulare del tumore e della vascolarizzazione, integrata da PDE per la diffusione di ossigeno, VEGF e farmaci [14]. La risoluzione spaziale è multiscala tridimensionale, con volumi di $9 \times 9 \times 9$ mm^3 al cui interno sono rappresentati fino a 92,5 milioni di agenti, dimostrando capacità di simulazioni realistiche e comparabili con condizioni sperimentali in silico [14].

In sintesi:

- MAST [1] garantisce il massimo livello di dettaglio nell'ambito delle interazioni con il sistema immunitario.
- Bridging Scales [14] offre la rappresentazione più approfondita dei processi vascolari e della dinamica spaziale in ambiente tridimensionale.
- WARLOCK [13] raggiunge il massimo dettaglio nello studio dell'evoluzione genetica e clonale intratumorale.
- GLV-OVT [15] rinuncia a una complessa rappresentazione biologica, ma si distingue per la rapidità e l'efficienza nell'esplorazione parametrica.

5.5 Obiettivi applicativi e scenari d'uso

Ogni modello è stato concepito per rispondere a specifiche domande di ricerca; ciascuno trova il suo focus in ambiti diversi, ma complementari, nell'oncologia computazionale.

MAST si focalizza nella comprensione delle dinamiche tra tumore e sistema immunitario [1]. Il suo punto di forza è la capacità di simulare fenomeni quali immunoediting, evasione e risposta a immunoterapie, in scenari basati su dati trascrittomici bulk e single-cell. MAST è particolarmente adatto a studi che mirano a esplorare la dinamica tumore–immunità e le interazioni tra cellule tumorali e immunitarie durante il decorso della malattia, valutando anche potenziali agenti immunoterapeutici [1].

Bridging Scales è stato sviluppato per analizzare la crescita tumorale in relazione alla vascolarizzazione e alla risposta a trattamenti combinati, in particolare con doxorubicina e trastuzumab [14]. Il modello risulta utile nella simulazione *in silico* di strategie terapeutiche basate sulla

modellazione vascolare, grazie a una rappresentazione tridimensionale e alla possibilità di simulare la diffusione di sostanze. Questo modello supporta anche la comprensione del fenomeno della normalizzazione vascolare [14].

WARLOCK è invece focalizzato sullo studio dell'evoluzione clonale intratumorale, con particolare attenzione ai meccanismi che generano eterogeneità genetica e clonale [13]. La sua architettura deme-based e la capacità di simulare dinamiche mutazionali lo rendono uno strumento ideale per investigare lo sviluppo dell'eterogeneità tumorale e i meccanismi di selezione naturale e adattamento evolutivo. Queste caratteristiche permettono scenari applicativi rivolti all'analisi di dati multi-regione o single-cell, e alla previsione di traiettorie clonali in relazione a condizioni spaziali e genetiche del tumore [13].

GLV-OVT è finalizzato a predire la dinamica di trattamenti basati su virus oncolitici, modellando l'interazione tra cellule tumorali, cellule infette e comparto immunitario [15]. L'impiego di protocolli di intelligenza artificiale per la calibrazione dei dati e l'identificazione di biomarcatori lo rende particolarmente adatto a scenari di personalizzazione terapeutica. Inoltre, la rapidità di calcolo consente simulazioni su larga scala per comparare diverse tipologie di trattamento, tempistiche, dosaggi e strategie terapeutiche [15].

5.6 Punti di forza e limiti dei modelli analizzati

Il confronto sistematico evidenzia che ciascun modello presenta molti punti di forza, collegati all'obbiettivo di ognuno, ma anche notevoli limitazioni che ne circoscrivono l'ambito di applicazione.

MAST [1]

Punti di forza:

- Rappresentazione dettagliata di tutte le popolazioni cellulari presenti nel TME, soprattutto quelle immunitarie (CTL, NK, Treg, DC, CAF) e le loro interazioni con il tumore.
- Parametri e condizioni iniziali informati da dati biologici reali.
- Simulazione di fenomeni di evasione immunitaria e risposta a immunoterapie.

Limiti:

- Rappresentazione bidimensionale (2D) che semplifica la rappresentazione spaziale e l'eterogeneità spaziale.
- Mancanza della vascolarizzazione.
- Calibrazione rimane vincolata alla disponibilità di database.

WARLOCK [13]
Punti di forza:

- Architettura deme-based adatta a simulare popolazioni cellulari strutturate in modo spaziale.
- Alto focus nella rappresentazione delle mutazioni e nelle dinamiche clonali.
- Output ricchi di dettagli (mappe clonali, Muller plots, alberi filogenetici) confrontabili con dati multi-regione e single-cell.

Limiti:

- Rappresentazione semplificata del sistema immunitario.
- Poca attenzione ai processi all'interno del microambiente tumorale e alle varie interazioni come angiogenesi, nutrienti e segnali molecolari.

GLV-OVT [15]
Punti di forza:

- Struttura computazionale semplice (equazioni Lotka–Volterra generalizzate con ritardi), che permette rapidità di calcolo.
- Utilizzo di AI per calibrazione di parametri e interpretazione dei dati (algoritmi evolutivi, reinforcement learning, random forest, LSTM).
- Facilmente applicabile in ambito terapeutico in quanto permette di studiare terapie personalizzate.

Limiti:

- Assenza di rappresentazione spaziale, in quanto il tumore viene considerato come una popolazione aggregata.
- Sistema immunitario trattato in maniera aggregata: si perde la capacità di descrivere i meccanismi specifici che caratterizzano la risposta immunitaria.
- Ridotta capacità di cogliere eterogeneità ambientale e geometrie tissutali, poiché la rappresentazione spaziale è completamente assente.

Bridging Scales [14]
Punti di forza:

- Modellazione multiscala tridimensionale che integra ABM e PDE.
- Capacità di rappresentazione della vascolarizzazione e di simulazione di fenomeni come la normalizzazione vascolare e la penetrazione farmacologica.
- Scalabilità molto elevata, fino a 92,5 milioni di agenti, idonea a simulazioni tissutali reali.

Limiti:

- Costo computazionale elevato.
- Mancanza di modellazione del sistema immunitario.
- Necessità di dati quantitativi accurati per calibrazione che non sono sempre disponibili.

5.7 Sintesi tecnica del confronto

Per semplificare l'analisi e per rendere più veloce la comparazione dei modelli descritti, nelle pagine seguenti sono riportate tre tabelle che ne riassumono le principali caratteristiche. La prima tabella evidenzia le differenze nelle popolazioni cellulari considerate, nelle caratteristiche di modellazione e nella rappresentazione spaziale adottata. La seconda, invece, confronta i modelli in termini di output prodotti, livello di dettaglio biologico e focus applicativo. Infine, la terza tabella raccoglie i principali punti di forza e i limiti emersi dall'analisi dei quattro modelli.

Tabella 5.1: Sintesi delle principali caratteristiche biologiche e computazionali dei modelli analizzati.

Modello	Cellule rappresentate	Caratteristiche modellistiche	Rappresentazione spaziale
MAST [1]	Cellule tumorali; cellule immunitarie esplicite (CTL, NK, Treg, DC, CAF); fattori solubili (citochine, nutrienti)	Modello ibrido ABM + PDE; data-driven, regole stocastiche e diffusione nutrienti	Griglia 2D (voxel); interazioni locali cellula-ambiente; simulazione modulare
WARLOCK [13]	Cellule tumorali aggregate in *demes*; mutazioni classificate come driver/passenger	Approccio deme-based; eventi stocastici simulati con algoritmo di Gillespie; focus su eterogeneità genetica	Griglia 2D di demes; rappresentazione spaziale semplificata (senza microambiente dettagliato)
Bridging Scales [14]	Cellule tumorali; cellule endoteliali (angiogenesi);	Modello multiscala ibrido (ABM + PDE); diffusione di ossigeno, nutrienti, VEGF e farmaci; simulazione di terapie combinate	Spazio 3D; fino a 92,5 milioni di agenti; rappresentazione realistica di angiogenesi e diffusione sostanze
GLV-OVT [15]	Popolazioni aggregate: cellule tumorali, cellule infette da virus, comparto immunitario (non distinto in sottotipi)	Equazioni differenziali generalizzate Lotka–Volterra con ritardo; calibrazione e predizione tramite AI;	Nessuna rappresentazione spaziale;

Tabella 5.2: Confronto dei modelli in termini di output, dettaglio biologico e focus applicativo.

Modello	Output	Dettaglio biologico	Focus applicativo
MAST [1]	Mappe dinamiche 2D del TME; distribuzioni di nutrienti/citochine; dinamiche di popolazioni tumorali e immunitarie	Alto: include tumore, CTL, NK, Treg, DC, CAF, segnali molecolari	Studio delle interazioni tumore–immunità; immunoediting; risposta a immunoterapie
WARLOCK [13]	Mappe clonali, alberi filogenetici, distribuzioni VAF; evoluzione mutazionale	Medio: rappresenta tumore e mutazioni (driver/passenger); immunità solo come pressione selettiva	Eterogeneità genetica e traiettorie evolutive intratumorali
Bridging Scales [14]	Simulazioni 3D di crescita tumorale e angiogenesi; diffusione di O_2, VEGF e farmaci; effetti di trattamenti combinati	Alto: tumore e vasi sanguigni espliciti; nutrienti e segnali diffusi; nessuna immunità	Vascolarizzazione e risposta a terapie (DOX+TRA); normalizzazione vascolare
GLV-OVT [15]	Curve dinamiche di popolazioni tumorali, infette e immunitarie aggregate; analisi predittiva con AI	Basso: popolazioni aggregate senza spazialità; immunità indiretta tramite segnatura molecolare	Predizione e ottimizzazione di viroterapie oncolitiche; biomarcatori e personalizzazione

Tabella 5.3: Punti di forza e limiti dei modelli computazionali analizzati.

Modello	Punti di forza	Limiti
MAST [1]	- Rappresentazione dettagliata di popolazioni immunitarie (CTL, NK, Treg, DC, CAF) e loro interazioni - Parametri informati da dati reali (bulk e single-cell) - Capacità di simulare immunoediting, evasione e risposta a immunoterapie	- Rappresentazione bidimensionale (2D) semplificata - Mancanza di vascolarizzazione esplicita - Calibrazione limitata alla disponibilità di dataset
WARLOCK [13]	- Architettura deme-based adatta a popolazioni strutturate - Focus preciso su mutazioni e dinamiche clonali - Output confrontabili con dati multi-regione e single-cell (mappe clonali, Muller plots, alberi filogenetici)	- Rappresentazione immunitaria molto semplificata - Scarsa attenzione al microambiente (angiogenesi, nutrienti, segnali molecolari)
Bridging Scales [14]	- Modellazione 3D multiscala (ABM + PDE) - Capacità di rappresentare angiogenesi e normalizzazione vascolare - Scalabilità elevata (fino a 92,5M di agenti)	- Costo computazionale elevato - Mancanza di sistema immunitario esplicito - Dipendenza da dati quantitativi accurati
GLV-OVT [15]	- Struttura semplice e rapida (equazioni GLV con ritardi) - Integrazione di AI per calibrazione e interpretazione - Utilità clinica per personalizzazione terapeutica	- Assenza di rappresentazione spaziale - Sistema immunitario trattato in forma aggregata - Incapacità di descrivere eterogeneità microambientale

Capitolo 6

Conclusioni critiche e prospettive future

6.1 Riepilogo degli obiettivi e dei risultati

L'obbiettivo chiave di questa tesi è stato analizzare e confrontare una serie di modelli computazionali sviluppati per lo studio e simulare la crescita tumorale e la complessa rete di interazioni tra la massa tumorale, il sistema immunitario e il microambiente circostante. A partire dal modello MAST, usato come standard di riferimento [1], sono stati esaminati altri tre modelli con approcci diversi e complementari, tra cui WARLOCK [13], Bridging Scales [14] e GLV-OVT [15], in modo da delineare punti comuni, differenze con l'obiettivo di individuare possibili complementarità e di valutare in che misura ciascun modello possa integrare o beneficiare dei contributi degli altri.

Dalla ricerca è emerso che ogni modello è stato orientato da domande biologiche mirate, come ribadito in diverse sezioni di questo elaborato. Inoltre, il lavoro ha permesso di capire i tipici compromessi che caratterizzano la modellazione computazionale in oncologia: modelli come Bridging Scales [14], caratterizzati da un elevato dettaglio biologico, richiedono un elevato costo computazionale e una difficoltà di calibrazione, mentre approcci più astratti come GLV-OVT [15] offrono una rapidità di calcolo a scapito dell'assenza di rappresentazione dell'eterogeneità microambientale.

In sintesi, la tesi ha presentato un confronto tra i modelli principali mostrando i loro punti di forza insieme ai loro limiti strutturali. Nella parte finale del lavoro verrà fornita un'analisi critica dei modelli analizzati insieme alla presentazione di possibili integrazioni all'interno di una struttura più ampia di modellazione personalizzata.

6.2 Valutazione critica dei modelli esaminati

Il confronto tra i modelli analizzati ha messo in chiaro la presenza di approcci complementari ma anche limiti ricorrenti.

Un primo aspetto critico riguarda il livello di dettaglio biologico, in cui modelli come MAST [1] e Bridging Scales [14] vengono considerati come con massimo dettaglio biologico, anche se con qualche differenza: il primo privilegia la componente immunitaria, rappresentando in maniera esplicita le sottopopolazioni cellulari e i loro meccanismi di interazione con le cellule tumorali; il secondo, invece, privilegia la componente vascolare, descrivendo dettagliatamente la crescita vascolare, la diffusione di ossigeno, nutrienti e farmaci. Al contrario, WARLOCK [13] e GLV-OVT [15] adottano approcci più astratti: WARLOCK si concentra sull'evoluzione clonale intratumorale, rinunciando a dettagli del microambiente per riprodurre con la massima precisione i processi mutazionali; GLV-OVT, invece, descrive la risposta a terapie oncolitiche rinunciando a dettagli su tumore, sistema immunitario e cellule infette, ma guadagnando in rapidità e nella possibilità di integrare metodi di intelligenza artificiale.

Un secondo punto critico riguarda la scala spaziale adottata dai modelli computazionali. Bridging Scales [14] garantisce massima fedeltà alla rappresentazione, in quanto 3D, a scapito di costi computazionali molto elevati, che ne limita la diffusione in analisi in larga scala. GLV-OVT [15], differentemente, sacrifica la rappresentazione spaziale perdendo tutta la questione di eterogeneità del microambiente, guadagnando in rapidità e in possibilità di simulazioni in larga scala. MAST [1] e WARLOCK [13], invece, vengono considerati soluzioni intermedie, poiché mantengono una dimensione bidimensionale o deme-based, capace di mediare tra realismo biologico e sostenibilità computazionale.

Dal punto di vista dell'interazione tumore, microambiente e immunità emergono enormi differenze: MAST [1] rappresenta in modo dettagliato il sistema, WARLOCK [13] riduce l'immunità a una pressione selettiva implicita, Bridging Scales [14] non la considera affatto e GLV-OVT [15] la tratta in modo aggregato senza suddivisione in sottopopolazioni. Questo conferma come attualmente nessun modello riesca a integrare pienamente tutte le componenti come immunità, genetica ed ecologia tissutale in un unico modello.

Infine, i modelli si differenziano anche per il grado di validazione. Bridging Scales [14] si confronta con dati preclinici per riprodurre dati terapeutici specifici. MAST [1], non si limita a simulare dinamiche "ipotetiche" del tumore e del sistema immunitario, ma utilizza dati sperimentali reali per calibrare i parametri del modello. Nel caso di WARLOCK [13] la validazione non avviene tramite calibrazione su dati omici, ma attraverso un confronto concettuale con i parametri descritti in letteratura, mentre GLV-OVT [15] si presta a calibrazioni tramite metodi di intelligenza artificiale.

Dal punto di vista dell'innovazione, ciascun modello introduce elementi innovativi che contribuiscono a migliorare la modellazione computazionale oncologica:

- MAST [1] rappresenta un avanzamento nella modellazione immuno-oncologica data-driven. La capacità di integrare dati bulk e single-cell RNA-seq nella calibrazione dei parametri lo distingue da molti modelli che spesso rimangono a livello puramente teorico. Questo approccio consente di generare simulazioni aderenti alle condizioni biologiche reali, affrontando dinamiche terapeutiche legate alle immunoterapie.

- Bridging Scales [14] si distingue per aver introdotto la rappresentazione multiscala tridimensionale. L'innovazione risiede non solo nella rappresentazione 3D, ma soprattutto nello studio di fenomeni emergenti come la normalizzazione vascolare, ipotizzata da Jain e qui esplorata. Queste caratteristiche lo rendono uno strumento appetibile per l'analisi di terapie combinate e per testare strategie di somministrazione farmacologica che dipendono dalla struttura vascolare.

- WARLOCK [13], oltre a proporre un'architettura deme-based che permette di descrivere in modo accurato l'accumulo di mutazioni, consente di generare output direttamente comparabili con dati sperimentali di sequenziamento tramite mappe clonali, alberi filogenetici e distribuzioni genetiche. L'innovazione risiede nel fornire strumenti pratici che permettono di interpretare i dati facilmente.

- GLV-OVT [15], pur non essendo focalizzato nel dettaglio biologico, porta rapidità di calcolo e introduzione dell'intelligenza artificiale. L'impiego di algoritmi di machine learning e reinforcement learning per calibrare i parametri e identificare biomarcatori predittivi rappresenta un passo verso la modellistica predittiva e orientata alla terapia personalizzata. Questo modello mostra come simulazioni più astratte possano comunque servire, soprattutto nella medicina personalizzata e nello studio di scenari multipli.

Nel complesso, i modelli analizzati, presi singolarmente, non forniscono una rappresentazione esaustiva delle dinamiche tumorali; tuttavia, ciascun elemento, se opportunamente integrato, può rappresentare un mattone per una futura modellazione computazionale oncologica completa.

6.3 Prospettive di integrazione modellistica

Dalla valutazione critica e dal confronto sistematico effettuato nel Capitolo 5 emerge che nessun modello è in grado di restituire una rappresentazione esaustiva della complessità tumorale. L'eterogeneità genetica, microambientale e la dinamica vascolare sono dimensioni che

si intrecciano, ma per essere descritte in modo esaustivo richiedono un'integrazione dei vari modelli.

Le prospettive future della modellazione oncologica sembrano orientarsi verso modelli multiscala e multidisciplinari, nei quali i punti di forza possano confluire in un'unica piattaforma. In tale visione questa tesi propone una possibile forma di integrazione dei quattro modelli analizzati:

- Il collegamento a dati omici e la rappresentazione del sistema immunitario tipici di MAST [1] potrebbero essere integrati con la esaustività spaziale e la rappresentazione vascolare di Bridging Scales [14], generando un modello capace di simulare l'interazione tumore–immunità e la distribuzione tridimensionale di nutrienti e farmaci.

- L'approccio di WARLOCK [13] potrebbe definire un modulo a parte dedicato alla dinamica clonale, capace di descrivere le traiettorie genetiche del tumore.

- Gli strumenti di intelligenza artificiale implementati in GLV-OVT [15] potrebbero essere utilizzati come motori di calibrazione e ricercatori di biomarcatori.

Queste caratteristiche complementari mostrano un possibile percorso di integrazione modulare, in cui ciascun modello non perde le proprie caratteristiche, ma contribuisce come componente a un modello più ampio. Una possibile prospettiva potrebbe essere lo sviluppo di architetture in grado di connettersi a modelli di diversa scala (tissutale, genetica, cellulare), supportate da strutture HPC e da algoritmi di apprendimento automatico per la calibrazione dei parametri e la segnalazione di terapie più efficienti.

Il problema principale di tale prospettiva è la gestione di una grande mole di dati eterogenei, di armonizzare le varie strutture computazionali dei vari modelli (equazioni differenziali, agent-based, deme-based) e cercare di ridurre gli altissimi costi computazionali che richiederebbero collaborazioni interdisciplinari. Si intravede comunque la possibilità che la modellazione computazionale possa esprimere il suo potenziale: essere uno strumento di supporto predittivo e personalizzato alla ricerca clinica.

6.4 Contributi della tesi allo stato dell'arte

Il contributo principale di questa tesi allo stato dell'arte si colloca principalmente nell'aver fornito un'analisi comparativa dei modelli computazionali attualmente rilevanti nello studio dell'interazione tra tumore, sistema immunitario e microambiente cellulare.

Questo lavoro ha permesso di ricostruire una mappa concettuale delle diverse architetture computazionali, evidenziando il focus applicativo di ciascuno, ha individuato i punti di forza

distintivi di ciascun modello e anche i limiti e, infine, ha proposto una prospettiva integrativa nella quale i modelli si completano a vicenda.

Il contributo della tesi, infatti, non si esaurisce all'analisi complessiva dei modelli, ma consiste nell'aver offerto un quadro interpretativo generale utile per sviluppi futuri.

6.5 Riflessione finale sul ruolo della modellazione nella medicina personalizzata

Il percorso sviluppato in questa tesi conferma che la modellazione computazionale non può essere considerata solamente dal punto di vista teorico, ma si presenta oggi come uno strumento potenzialmente trasformativo della medicina personalizzata. La capacità di integrare dati multiomici, di riprodurre scenari terapeutici complessi e di simulare *in silico* l'esito dei trattamenti offre nuove possibilità per prevedere l'efficacia terapeutica, minimizzare i costi di sperimentazione e sostenere decisioni cliniche orientate al singolo caso.

Questo potenziale è ancora in larga scala da concretizzare. Innanzitutto, esistono numerose sfide che devono essere affrontate e risolte in via prioritaria. Un nodo critico è dato dall'integrazione multiscala e multimodale. I modelli studiati nella presente tesi appaiono fortemente specializzati: MAST per le dinamiche immunitarie [1], WARLOCK per l'evoluzione clonale [13], Bridging Scales per la vascolarizzazione tridimensionale [14] e GLV-OVT per la predizione della viroterapia oncolitica [15]. Ciascuno dà un importante contributo alla ricerca, ma rimane arduo fondere tali pezzi in una singola architettura alla base di un approccio coerente ai fenomeni che si manifestano a scale molto diverse sul piano biologico. La sfida è quindi non soltanto tecnica (accoppiare ABM, PDE, ODE e modelli deme-based senza instabilità numeriche), ma anche epistemologica: evitare che l'integrazione costituisca sistemi "forzati" e poco interpretabili. Si aggiunge inoltre la disomogeneità nel livello di dettaglio dei dati che nutrono tali modelli: da bulk e single-cell RNA-seq usati in MAST, a immagini vascolari 3D in Bridging Scales, ai profili genomici multi-region con cui si calibra WARLOCK. Prima che tale armonizzazione venga realizzata, ogni fonte dovrà essere resa compatibile; sono i presupposti perché si possa procedere alla costruzione di modelli affidabili su scala paziente-specifica [16].

Un secondo aspetto molto importante riguarda la scalabilità computazionale e l'uso di *surrogate modeling*. Modelli ad alto dettaglio biologico e rappresentativo, come Bridging Scales [14], richiedono simulazioni con milioni di agenti e campi continui 3D, rendendo difficile l'esplorazione di scenari clinici ampi. Questo limita l'applicabilità clinica, dove sarebbe necessario esplorare ampi spazi parametrici e condurre analisi di sensibilità. In questo contesto, la comunità scientifica propone l'affiancamento di *surrogate models* che sono emulatori statistici o reti neurali addestrate sull'output del modello complesso e sono capaci di replicarne le dinamiche con

tempi di calcolo ridotti. In oncologia, i surrogati stanno emergendo come strumenti chiave per trasformare simulazioni di laboratorio in piattaforme clinicamente utilizzabili: i modelli dettagliati forniscono i dati per il training, i surrogati consentono esplorazioni rapide e ottimizzazioni terapeutiche in tempo utile per la pratica clinica [17].

Un terzo elemento molto importante all'interno della modellazione computazionale è la validazione clinica. La maggior parte dei modelli viene oggi validata in modo qualitativo, confrontando pattern emergenti con dati preclinici o osservazioni sperimentali. Tuttavia, la traslazione clinica richiede un salto di qualità: occorrono protocolli di validazione quantitativa, prospettica e riproducibile. La regolamentazione internazionale sottolinea che bisogna adottare workflow di Verifica, Validazione e Quantificazione dell'Incertezza (VVUQ). Senza percorsi standardizzati, la modellistica rischia di rimanere confinata alla ricerca di base. Come sottolineato da recenti lavori, il passaggio dal laboratorio alla clinica sarà possibile solo se i modelli sapranno dimostrare affidabilità, robustezza e trasparenza dei propri risultati, fornendo metriche di incertezza e limiti di applicabilità chiaramente definiti [18].

Infine, una sfida trasversale è l'integrazione tra intelligenza artificiale e modelli meccanicistici. GLV-OVT ha mostrato come l'AI possa essere utilizzata in modo intelligente [15], calibrando rapidamente parametri complessi. In generale, i modelli data-driven rischiano di funzionare come "black box", ovvero modelli che rendono trasparente il processo e mostrano solo input e output; questo genera poca fiducia da parte del medico che non può spiegare il risultato ottenuto. Invece, i modelli meccanicistici garantiscono interpretabilità ma faticano a scalare e a sfruttare la grande mole di dati oggi disponibile. L'approccio più promettente è quello ibrido: usare l'AI per estrarre pattern da dati ad alta dimensione e alimentare modelli strutturati, mentre le leggi biologiche e fisiche incorporate nei modelli servono a vincolare e rendere più interpretabili le predizioni dell'AI. Come sottolineato dalla letteratura recente, solo una sinergia tra i due approcci potrà garantire strumenti allo stesso tempo predittivi, rapidi e trasparenti, aprendo la strada a *digital twin* oncologici (paziente virtuale sincronizzato con quello reale) realmente utilizzabili in clinica [19].

La riflessione finale è che la modellazione computazionale non sostituirà l'osservazione sperimentale del medico, ma ne costituirà uno strumento indispensabile che offre ipotesi, scenari e predizioni che il medico o il ricercatore non può vedere senza tale supporto. La speranza è che nei prossimi anni la modellazione computazionale oncologica rientri tra i principali strumenti all'interno di un sistema ospedaliero, in cui diventi parte integrante del processo decisionale e della progettazione di terapie efficaci e mirate.

Elenco delle sigle

ABM

Agent-Based Model – Modello ad agenti, in cui le cellule sono rappresentate come entità discrete con regole locali.

PDE Partial Differential Equations – Equazioni differenziali parziali, utilizzate per descrivere diffusione e trasporto di nutrienti, segnali e farmaci.

ODE

Ordinary Differential Equations – Equazioni differenziali ordinarie, impiegate per descrivere dinamiche di popolazioni aggregate.

GLV

Generalized Lotka–Volterra – Estensione del modello preda–predatore, utilizzata per descrivere dinamiche di interazione tra popolazioni cellulari e virus oncolitici.

TME

Tumor Microenvironment – Microambiente tumorale, costituito da cellule stromali, immunitarie, vasi sanguigni e matrice extracellulare.

HPC

High Performance Computing – Calcolo ad alte prestazioni, utilizzato per eseguire simulazioni complesse e parallele.

AI Artificial Intelligence – Intelligenza artificiale, usata per calibrare parametri, analizzare dati e predire scenari terapeutici.

CTL

Cytotoxic T Lymphocytes – Linfociti T citotossici, cellule immunitarie capaci di uccidere direttamente cellule tumorali.

NK Natural Killer cells – Cellule immunitarie innate che eliminano cellule prive di MHC-I.

Treg

Regulatory T cells – Linfociti T regolatori, con funzione immunosoppressiva.

CAF

Cancer-Associated Fibroblasts – Fibroblasti associati al tumore, che contribuiscono al rimodellamento del TME.

VEGF

Vascular Endothelial Growth Factor – Fattore di crescita endoteliale vascolare, stimola l'angiogenesi.

DOX

Doxorubicina – Farmaco chemioterapico utilizzato in diverse terapie oncologiche.

TRA

Trastuzumab – Anticorpo monoclonale diretto contro il recettore HER2, usato nel carcinoma mammario HER2+.

HER2+

Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 – Variante del recettore tirosin-chinasico HER2, la cui iperespressione è associata a forme aggressive di carcinoma mammario.

Bibliografia

[1] Giulia Cesaro, Mikele Milia, Giacomo Baruzzo, Giovanni Finco, Francesco Morandini, Alessio Lazzarini1, Piergiorgio Alotto Noel, Filipe da Cunha Carvalho de Miranda, Zlatko Trajanoski, Francesca Finotello and Barbara Di Camillo. *MAST: Multi-Agent Spatio-Temporal model for tumor-immune interactions*. Università di Padova, 2023.

[2] Hanahan D., Weinberg R. A. *Hallmarks of Cancer: The Next Generation*. Cell. 2011.

[3] Kitano H. *Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy*. Nat Rev Cancer. 2004.

[4] An G., Mi Q., Dutta-Moscato J., Vodovotz Y. *Agent-based models in translational systems biology*. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. 2009.

[5] Anderson NM, Simon MC. *The tumor microenvironment*. Current Biology. 2020.

[6] Baghban R, Roshangar L, Jahanban-Esfahlan R, et al. *Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance*. Cell Communication and Signaling. 2020.

[7] Kalluri R. *The biology and function of fibroblasts in cancer*. Nat Rev Cancer. 2016

[8] Yang Y. *T cells, natural killer (NK) cells and tumor-associated macrophages (TAMs) in the antitumor immune cycle* 2023. link:`https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10348220/`

[9] Lv B. *Immunotherapy: Reshape the Tumor Immune Microenvironment* 2022. link: `https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.844142/full`

[10] Chen D.S., Mellman I*Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle* 2013

[11] Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The Three Es of Cancer Immunoediting. 2004.

[12] Pardoll D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. 2012.

[13] WARLOCK: An automated computational workflow for simulating spatially structured tumour evolution. Williams M.J., Paterson C., Mair 2023

[14] Bridging Scales: A hybrid model to simulate vascular tumor growth and treatment response. Katt WP., Stéphanou A., Roy M., 2022

[15] An AI-driven hybrid ecological model for predicting oncolytic viral therapy dynamics (GLV-OVT). Liu X., Zhang Y., Zhao J., et al 2023;

[16] Yankeelov T. E., et al. Multi-scale Modeling in Oncology: Opportunities and Challenges. Nature Reviews Clinical Oncology. 2016.

[17] Munn L. L., et al. Mathematical modeling in oncology: from mechanisms to virtual clinical trials. Nature Reviews Clinical Oncology. 2025.

[18] De Domenico M., et al. Digital twins in healthcare: challenges and opportunities. Nature Medicine. 2024.

[19] Alber M., et al. Integrating machine learning and mechanistic models for personalized medicine. npj Digital Medicine. 2019.