

Confronti fra approcci per simulare sistemi viventi: il sistema immunitario e i metodi agent-based

Francesco Pileri Federico Stella

July 2018

1 Introduzione

Il sistema immunitario è un insieme di strutture e processi biologici che avvengono all'interno di un organismo con lo scopo di proteggerlo dalle malattie identificando ed eliminando efficacemente agenti patogeni potenzialmente dannosi. La risposta immune, che è il risultato di questi processi, è determinata a livello molecolare e cellulare da un'intricata rete di relazioni fra dei componenti dell'organismo che sono eterogenei per natura e funzione. Nello studio della fisiologia del nostro organismo è sorprendente la varietà ed il numero di agenti diversi coinvolti nell'azione del sistema immunitario ed allo stesso modo è sorprendente l'alto livello delle operazioni che compie, fra le quali l'addestramento al riconoscimento ed alla tolleranza di ciò che è self da ciò che non lo è e la capacità del sistema di apprendimento e memoria, caratteristica che è alla base dello sviluppo dei vaccini. La coordinazione e la reciproca regolazione fra tutti i componenti è alla base del corretto funzionamento dei meccanismi di difesa ed allo stesso tempo il suo malfunzionamento causa gravi patologie. Ad esempio nel caso di immunodeficienza il sistema ha un deficit di funzionamento che gli impedisce di proteggere adeguatamente l'organismo, mentre nel caso di risposte autoimmuni si hanno risposte anomale in cui il sistema immunitario attacca componenti dell'organismo, fenomeno di particolare importanza nell'ambito dei trapianti, dove si può andare incontro a Graft versus Host Disease o GvHD, una reazione in cui le cellule del sistema immunitario presenti in un organo trapiantato riconoscono come non self le cellule di chi riceve il trapianto e procedono, meccanicisticamente, ad attaccarlo.

La straordinaria complessità del sistema immunitario ha spinto alcuni scienziati a pensare che fosse necessario ampliare la definizione di sistema per rendere conto delle sue peculiarità. Tada nel 1997[1] conia il termine "supersistema" per definire sistemi viventi come quello immunitario, quello nervoso o il sistema di regolazione dell'embriogenesi. La peculiarità di un supersistema a suo avviso è che, a differenza di quelli meccanicistici definibili da un insieme di parti diverse collegate in modo di formare un intero dalla funzionalità definita, i supersistemi generano le proprie parti da un progenitore comune, in questo caso una cellula staminale. La generazione delle singole parti passa quindi da relazioni di mutuo adattamento che portano ad un sistema che si auto-regola mediante auto-organizzazione. Si tratta quindi di un sistema chiuso, self-satisfied e tuttavia

aperto all'ambiente esterno dal quale riceve continuamente stimoli che vengono recepiti e tramite il processo di trasduzione del segnale diventano messaggi interni che regolano l'espansione e l'autoregolazione del sistema. A differenza dei sistemi meccanicistici, sempre secondo Tada, un "supersistema" non ha uno scopo definito e determina il suo destino facendo riferimento ad un pattern comportamentale auto-definito¹.

La rilevanza clinica delle patologie che interessano il sistema immunitario combinata con l'interesse sociale e commerciale a sviluppare nuovi farmaci e terapie rendono di grande importanza la ricerca e lo sviluppo di nuove metodologie utili alla comprensione della complessità delle interazioni che governano il sistema immunitario.

2 Riduzionismo, Olismo e System Biology

Fino all'inizio del ventesimo secolo lo studio della biologia corrispondeva allo studio della fisiologia e quindi delle basi della funzionalità dell'organismo. In seguito alla scoperta nella seconda metà del Novecento della struttura del DNA e con la messa a punto di numerose nuove tecniche di indagine² l'approccio filosofico allo studio della biologia divenne fortemente riduzionista, concentrandosi sulle singole parti dei meccanismi e dei sistemi e scommettendo sulla possibilità di poter derivare da uno studio accurato delle parti delle informazioni utili per la comprensione dell'intero. In immunologia l'approccio riduzionistico ha permesso di ottenere informazioni a livello molecolare e cellulare su numerosi componenti, permettendoci di immaginare dei modelli di funzionamento sui quali sono state strutturate applicazioni biotecnologiche e biomedicali di grande rilevanza per la società. Tuttavia il tipo di informazione ottenuta con la dissezione del sistema nelle sue parti tende ad essere limitata e incapace di fornire indizi utili a capire come emergano i comportamenti complessi che caratterizzano il sistema immunitario ed in particolare come piccole variazioni quantitative in un componente influenzino caratteristiche globali.

Negli ultimi quindici anni un ulteriore avanzamento tecnologico ha portato alla messa a punto di nuove tecniche di analisi di cellule, geni e proteine capaci di fornire una grande quantità di informazioni su vasta scala piuttosto che su un singolo elemento, riuscendo nel frattempo a ridurre fortemente costi e tempi³. Queste tecniche, alle quali ci si riferisce utilizzando il suffisso -omiche o -omics come ad esempio in genomica, proteomica, interattomica, sono anche definite high-throughput per l'enorme quantità di dati che sono in grado di generare. Il loro utilizzo ha rivoluzionato il modo con cui si fa ricerca nelle scienze della vita. Il flusso di lavoro seguendo questo approccio prevede che anziché strutturare esperimenti sulla base di ipotesi pre-formate dallo studio della letteratura e dalla

¹È al di fuori dei nostri scopi la trattazione delle implicazioni che ha questa definizione nell'ambito della simulazione. Il motivo per cui è citata è che fornisce elementi interessanti alla comprensione della difficoltà insita nella creazione di modelli adeguati a simulare un sistema così particolare come quello immunitario.

²Prima fra tutte la messa a punto delle metodologie del DNA ricombinate, ovvero la possibilità di esprimere artificialmente un gene in condizioni controllate tramite sistemi di espressione ingegnerizzabili al fine di comprenderne la funzione.

³Fra queste citiamo il vasto uso di microarray, il deep sequencing, la highly multiplex flow cytometry e la high-throughput proteomics.

propria esperienza, questi metodi permettono di esplorare in modo imparziale le proprietà di un sistema nel suo intero al fine di generare nuove ipotesi. L'obiettivo dello scienziato diventa in questo caso individuare ed estrarre le informazioni utili a rispondere alle proprie domande all'interno dell'enorme quantità di dati ottenuti.

Ad inizio anni Duemila si è strutturata una nuova branca della biologia che prende il nome di System Biology[2] e che rappresenta il tentativo da una parte comprendere i sistemi viventi sfruttando la modellizzazione matematica della fisica e della chimica dei sistemi e la possibilità di simularli e analizzarli virtualmente, dall'altra di estrarre significato da grandi insiemi di dati basandosi su strumenti forniti dalla statistica e dall'informatica.

Nell'approccio olistico, proprio di queste metodologie e concettualmente opposto a quello riduzionistico, le proprietà delle parti contribuiscono alla comprensione dell'intero, ma queste proprietà possono essere studiate soltanto studiando le dinamiche dell'intero. L'utilizzo di queste tecniche e della simulazione come metodi di indagine e ricerca sono criticate da chi difende l'utilità dell'approccio riduzionistico rispetto a quello olistico. La critica più forte è che il risultato delle simulazioni può o confermare dei dati già noti col metodo classico o produce dati che devono comunque poi essere confermati da esperimenti "riduzionistici". Inoltre, l'approccio riduzionistico ha portato consistentemente nel tempo a risultati notevoli senza bisogno di simulazioni virtuali e questo rende parte della comunità scientifica scettica sull'effettiva utilità di uno sforzo intellettuale volto a modellizzare e simulare i sistemi viventi.

La sfida per l'approccio olistico e quindi per le simulazioni virtuali è quindi quella di mostrare di essere capace di generare nuove ipotesi che non sarebbero state postulabili semplicemente analizzando i fenomeni col metodo riduzionistico[3].

3 Simulare sistemi biologici

3.1 Tipologie di modelli

Le simulazioni dei sistemi biologici sono eseguite combinando modelli computazionali e dati provenienti da esperimenti high-throughput con lo scopo di fornire ipotesi sperimentali nuove permettendo inoltre di eseguire esperimenti e/o misure che sarebbero state difficoltose da ottenere in laboratorio. Una volta che un modello è stato sviluppato e validato può essere utilizzato per esaminare caratteristiche di interesse in funzione dell'ambiente o di altre perturbazioni dello stato fisiologico. Questi esperimenti sono definiti *in silico* o dry-lab e sono da intendersi come complementari a quelli *in vivo* o wet-lab che vengono eseguiti in laboratorio[4].

La scelta del metodo di modellizzazione del sistema è legata alle risorse che si hanno a disposizione in termini di dati sperimentali noti, comprensione dei meccanismi coinvolti, delle ipotesi che si intende testare e del livello di astrazione necessario per testare l'ipotesi considerata. Una volta definito il modello concettuale deve essere scelto un metodo di simulazione. Si possono usare diversi metodi, classificati a seconda delle loro caratteristiche come statici o dinamici, stocastici o deterministici, continui o discreti. I modelli statici aiutano a comprendere le connessioni fra i componenti del sistema senza rappresentare il

tempo in modo esplicito. I modelli dinamici aiutano a comprendere le implicazioni dinamiche e le conseguenze nel tempo della struttura di un sistema. I modelli deterministici non contengono componenti probabilistici mentre quelli stocastici li contengono. A seconda di se il tempo e le variabili del modello variano in modo continuo o discreto avremo modelli continui o discreti.

3.2 Approccio top-down e bottom-up

È possibile inoltre operare una distinzione fra due gruppi di modelli a seconda dell'approccio utilizzato: i modelli top down, che si concentrano sul sistema nel suo insieme, e quelli bottom-up che dividono il sistema in parti individuali che interagendo danno luogo all'emergere del comportamento globale del sistema. L'approccio top-down prevede di stimare il comportamento medio ad un livello macroscopico, scegliendo di modellizzare popolazioni piuttosto che singole entità e riuscendo in questo modo a rappresentarne un grande numero. L'approccio classico top-down è rappresentato dall'uso di modelli basati su equazioni differenziali ordinarie (ODE) o alle derivate parziali (PDE). I modelli che utilizzano le ODE ignorano la topologia del modello, mentre invece quelli che utilizzano le PDE tengono conto della distribuzione spaziale dei componenti e sono utili nel caso in cui questa sia rilevante per la simulazione. Entrambe le metodologie ignorano però le interazioni individuali fra componenti. Modelli costruiti in questo modo permettono di fare studi analitici ma possono portare a modelli impossibili da trattare in cui si è costretti a fare anche grandi approssimazioni. Volendo tradurre ad esempio un network di interazione proteica in una rete di reazioni chimiche con l'approccio classico è necessario individuare tutte le specie chimiche che fanno parte della popolazione, le connessioni fra loro e il modo con cui si influenzano reciprocamente. Per costruire un modello è quindi necessario scrivere un'equazione differenziale per ogni specie chimica che includa un termine per ogni reazione rilevante in cui è coinvolta. Questo è generalmente difficile e inoltre con l'aumentare delle interazioni considerate la grandezza del network che ne deriva risulta rapidamente ingestibile.

L'approccio bottom-up funziona invece a livello microscopico. Le entità (agenti) e le interazioni sono descritte e seguite individualmente e il comportamento generale del sistema deriva dalla somma dei comportamenti individuali locali delle parti coinvolte. In questo modo in particolare nel contesto immunologico è possibile descrivere processi locali con accuratezza maggiore evitando le approssimazioni grossolane tipiche degli approcci top-down. Al contrario però visto che le singole entità sono seguite individualmente queste tecniche di modelling richiedono maggiore potere di calcolo e mancano di strumenti matematici utili a fare studi analitici sul sistema[4].

3.3 Modelling di sistemi immunologici

I modelling di sistemi di cellule e quindi anche di sistemi immunitari vengono tradizionalmente costruiti sfruttando un approccio bottom-up, combinando dati di laboratorio e le informazioni note sulle reazioni per produrre un modello dinamico[4]. La possibilità di costruire dei modelli del sistema immunitario è di grande interesse poiché permetterebbe di modellizzare e analizzare malattie la cui eziopatogenesi è complessa, di simulare *in silico* l'effetto di terapie pre-

dicendone o ottimizzandone l'azione e di fungere da strumento per la ricerca di base capace di generare nuove ipotesi e di incrementare la nostra comprensione della complessità del sistema immunitario.

Un approccio bottom-up tuttavia richiede che sia noto nel dettaglio il network delle reazioni coinvolte ed è quindi necessario riuscire a eseguire in laboratorio esperimenti utili a conoscere i parametri che caratterizzano la reazione. Inoltre questo approccio al modelling si basa sull'assunto che i dati provenienti dalla sperimentazione corrispondano effettivamente ai fenomeni reali e questo, purtroppo, non è sempre vero. La complessità del sistema immunitario pone dei limiti a questo approccio a causa del grande numero di agenti diversi e del vasto network di interazioni che lo caratterizza. L'approccio bottom-up è concettualmente molto utile in immunologia, ma può essere impossibile applicarlo nel caso in cui ad esempio non sia noto o sufficientemente caratterizzato il network di reazione del fenomeno o se gli esperimenti wet-lab non sono in grado di riprodurre o analizzare condizioni specifiche, ad esempio legate alla temperatura o alla presenza di componenti strutturali che hanno un ruolo determinante nella fisiologia del fenomeno.

Per poter applicare un approccio bottom-up diventa quindi necessario riuscire ad eseguire *in vivo* esperimenti di matrice riduzionistica al fine di ottenere dati utili a trovare i parametri corretti per eseguire una simulazione che appartiene invece agli approcci olistici alla biologia. Piuttosto che opposti è quindi sensato pensare al metodo riduzionistico e quello olistico come complementari e in particolare nel contesto della simulazione di sistemi immunitari, vista la complessità e il numero delle interazioni coinvolte, è utile ragionare in termini di sinergia piuttosto che di dicotomia.

3.4 Approcci alla modellizzazione

I principali approcci alla modellizzazione, in particolar modo del sistema immunitario, risultano essere i seguenti[3]:

- Simulazione con metodi di Monte Carlo: è un approccio ampiamente utilizzato per studi teorici sull'immunologia molecolare e consiste nel generare numeri casuali e nell'osservare quanta parte di questi numeri possieda o meno certe proprietà. Questi metodi sono particolarmente utili per ottenere soluzioni numeriche nei casi in cui una soluzione analitica risulta impossibile o troppo difficile da trovare; gli svantaggi, tuttavia, stanno nel fatto che non forniscono alcuna informazione su come gli elementi del sistema cambiano durante la simulazione (dinamica). Si tratta di metodi focalizzati sul risultato del sistema a partire da un certo input, senza tener conto del tempo.
- System Dynamics: è un approccio top-down che fa uso di livelli (stocks), flussi e feedback per costruire modelli del comportamento di sistemi complessi. Attualmente è impiegato per sistemi complessi con caratteristiche di interdipendenza, interazione reciproca, feedback di informazioni e causalità circolare. La simulazione continua per un modello SD prende il nome di Systems Dynamics Simulation, e consiste in un insieme di ODE da risolvere per un certo intervallo di tempo. Queste ODE sono implici-

te nella struttura del sistema e le relazioni tra gli elementi modellizzati possono essere trovate con dati sperimentali.

- **Simulazione Discreta:** è un approccio top-down che descrive il sistema come insieme di entità che evolvono nel tempo secondo la disponibilità delle risorse e l'innescarsi di eventi, che vengono mantenuti in un'apposita coda temporale. Ogni evento avviene in un preciso istante temporale e segna una modifica nello stato del sistema, mentre gli istanti temporali che non sono caratterizzati da eventi possono essere saltati durante la simulazione. Le entità coinvolte nella simulazione sono passive, senza alcuna proattività, e sono rappresentate individualmente, pertanto la loro vita ed evoluzione possono essere tracciate durante la simulazione. I modelli prodotti sono stocastici e, perciò, l'output della simulazione ha solitamente valenza di valor medio.
- **Automi Cellulari.** Si tratta di un modello discreto a due componenti principali: la griglia infinita di cellule e l'Automa a Stati Finiti. La griglia costituisce l'universo spaziale dell'automa cellulare e, per ovvie ragioni pratiche, la sua dimensione è finita durante una simulazione. Ogni cellula della griglia rappresenta il secondo componente, infatti può essere vista come un ASF, costituito quindi da un numero finito di stati e da un vicinato (neighbourhood) predefinito, inteso come insieme di cellule con cui può interagire. La comunicazione di una cellula con il suo vicinato è locale, deterministica, uniforme e sincrona. Ogni cellula è inizializzata con uno stato iniziale per il tempo $t = 0$, e con l'avanzare del tempo lo stato viene aggiornato secondo una regola stabilita, che solitamente è una funzione matematica. Questa regola, dato lo stato di una cellula e gli stati delle cellule del suo vicinato, fornisce in output lo stato successivo per quella cellula.
- **Agent-Based Simulation:** è una tecnica basata sull'utilizzo di agenti in interazione reciproca. Il comportamento degli agenti è descritto attraverso regole che determinano il modo in cui questi agenti imparano, interagiscono e si adattano. Il comportamento del sistema nel suo complesso emerge dalle dinamiche individuali di questi agenti e, soprattutto, dalla loro interazione. In immunologia, per esempio, può essere molto utile utilizzare i dati derivanti da esperimenti *in vitro* su singole interazioni tra cellule e molecole del sistema immunitario per costruire un sistema da cui emerga un comportamento di livello più alto. Vi sono diverse somiglianze tra questo approccio e gli automi cellulari, tra cui le regole individuali di cellule/agenti e le interazioni tra queste entità. Oltre a ciò, si tratta in entrambi i casi di approcci bottom-up, finalizzati quindi al mostrare proprietà emergenti del sistema nel suo complesso partendo dalla descrizione di entità più piccole. Tuttavia, le cellule degli automi cellulari non posseggono memoria oltre al proprio stato e possono interagire soltanto con le cellule del proprio vicinato, che è prefissato. Nella simulazione agent-based, invece, gli agenti sono dotati di memoria e possono interagire con ogni altro agente del sistema[3].

Da questa breve disamina risulta evidente che la scelta dell'approccio sia cruciale, e che approcci diversi possano essere utili per esperimenti diversi.

4 Immunologia e (Multi) Agent-Based Simulation

Come già notato, la grande interdipendenza dei processi multicellulari rende molto complicata l'applicazione di tecniche matematiche finalizzata a separare le scale, disaccoppiare i processi fisici o mediare sui contributi di componenti discreti[5]. La principale alternativa a questi modelli è rappresentata dagli Individual-based models (IBM), di cui fanno parte sia gli automi cellulari sia la modellazione agent-based. I modelli computazionali di questi due approcci sono complessivamente molto simili ma, mentre il primo presenta una maggiore semplicità, il secondo permette una maggiore flessibilità soprattutto per quanto riguarda il comportamento delle entità (agenti contro cellule a stati finiti) e il movimento all'interno dello spazio. In sistemi in cui il movimento e la proliferazione cellulare risultano importanti, come per esempio in carcinogenesi, gli automi cellulari risultano insufficientemente precisi.

È proprio in questo contesto che è possibile introdurre sistemi multi-agente, dove le entità individuali hanno un comportamento autonomo articolato e possono vivere, muoversi e replicarsi in un ambiente che può anche essere complesso e dinamico.

In letteratura i sistemi agent-based e in particolare i sistemi multi-agente sono considerati un buon paradigma per modellare, comprendere e ingegnerizzare sistemi complessi[6] e i sistemi biologici in particolare[7], poiché forniscono un insieme di astrazioni di alto livello che permette di rappresentare direttamente i principali aspetti dei sistemi complessi, come l'interazione, la molteplicità e decentralizzazione del controllo, l'apertura e il dinamismo[8][9][10][11][12].

Secondo Bonabeau[13], un modello basato su agenti (ABM) descrive il sistema dalla prospettiva delle sue unità costituenti e inoltre fornisce 3 principali benefici rispetto ad altri approcci:

1. Cattura fenomeni emergenti;
2. Fornisce una descrizione naturale del sistema;
3. È flessibile.

I fenomeni emergenti derivano dall'interazione tra le singole entità e, per definizione, non possono essere ridotti a parti del sistema: il tutto è più della somma delle parti, poiché oltre ad esse vi è anche la loro iterazione. Un fenomeno emergente può avere proprietà che sono disaccoppiate dalle proprietà delle parti.[14] L'ABM è per sua natura l'approccio ideale per modellizzare fenomeni emergenti: modellizzando e simulando il comportamento delle unità costituenti del sistema e le loro interazioni si cattura l'emergenza attraverso un approccio bottom-up. Poiché questo è esattamente il caso della Sistem Biology, l'ABM risulta particolarmente adatta per modellizzare sistemi multicellulari[14], un esempio dei quali è proprio il sistema immunitario.

In particolare l'ABM fornisce un modo per modellizzare facilmente[14]:

1. La diversità delle singole strutture e dei comportamenti delle diverse entità del sistema biologico;
2. L'eterogeneità dell'ambiente nello spazio e nel tempo, e le sue dinamiche;

3. Le interazioni locali tra gli agenti biologici e il loro ambiente.

Inoltre, eseguire una simulazione con ABM permette di studiare l'evoluzione del sistema nel tempo, in particolare facilita[14]:

1. L'osservazione dell'evoluzione degli individui e dell'ambiente;
2. L'osservazione di proprietà globali come proprietà emergenti da interazioni tra agenti e/o tra agenti e ambiente;
3. L'attuazione di esperimenti *in silico*

Nell'ABM, ogni cellula è tipicamente rappresentata come un agente, consentendo quindi comportamenti e interazioni indipendenti. Nei sistemi biologici, i modelli basati su agenti possono quindi risolvere il problema di avere meccanismi biochimici individuali per ogni cellula, come per esempio il network di regolazione genica, la sintesi proteica, la secrezione, l'assorbimento, la mitosi, ecc. Lo stesso discorso vale anche per la dinamica della matrice extracellulare, ovvero morfogenesi, degradazione, ecc., e per le sue influenze sul comportamento della cellula. Al di sopra di questo sistema ad agenti c'è l'intera popolazione, il cui comportamento è osservato attraverso la simulazione e mostra le relazioni tra comportamenti microscopici (dei singoli agenti) e quelli macroscopici (dell'intero sistema). Un ulteriore vantaggio dell'ABM nei sistemi multicellulari è il fatto che ogni agente possa essere associato a un diverso comportamento autonomo, modellizzando l'eterogeneità cellulare, il che risulta essere di estrema importanza per molti fenomeni multicellulari[14], in particolar modo per quelli immunologici.

5 Possibili applicazioni e strumenti

Il sistema immunitario è storicamente diviso in due tipi di sistema, quello innato e quello adattativo. Il diverso coinvolgimento nei fenomeni di difesa dell'organismo fanno sì che siano necessari accorgimenti diversi nell'ambito della simulazione.[15]

Le cellule del sistema immunitario innato riconoscono segnali di pericolo stereotipati ed evolutivamente conservati e reagiscono immediatamente per eliminarne la fonte. La strategia con cui agisce il sistema immune corrisponde ad una ricerca di pattern riconducibili con certezza ad un pericolo. Una vasta gamma di patologie patologiche è legata ad alterazioni del sistema immunitario innato, fra cui aterosclerosi, fibrosi, l'asma e la sepsi.

La risposta immune adattativa invece è in grado, attraverso processi particolarmente complessi, di formare una memoria. Grazie a questo sistema si ha in caso di secondo incontro con un agente memorizzato una rapida proliferazione di agenti antigene-specifici⁴ che procedono ad una sua rapida eliminazione. L'immunità adattativa è alla base del funzionamento dei vaccini, è coinvolta nelle malattie autoimmuni, nel cancro e nel rigetto dei trapianti.

Anche per quanto riguarda gli strumenti di simulazione vi sono diversi esempi in letteratura, tra cui il lavoro di Chiacchio et al.[4], che impiega NetLogo

⁴Ovvero specifici per una caratteristica riconoscibile dalle cellule del sistema immunitario.

come tool per la simulazione, e il lavoro di Folcik et al.[15], che ha portato alla creazione del Basic Immune Simulator utilizzando RepastJ.

Tra le 5 caratteristiche importanti per un tool di simulazione secondo Nikolai e Madey[16], vi sono:

1. Il linguaggio di descrizione del modello e della simulazione;
2. Il sistema operativo supportato;
3. La licenza offerta;
4. Il dominio di applicazione per cui lo strumento è stato pensato;
5. Il supporto disponibile (quantità e tipi).

Sia NetLogo sia Repast sono tool molto noti per la simulazione agent-based. Il primo gira sulla Java Virtual Machine, perciò è portabile, richiede l'utilizzo del linguaggio NetLogo, sviluppato a partire da Logo, e offre licenza gratuita ma non open source. Il secondo, invece, supporta diversi linguaggi (tra cui Java, C# e linguaggi managed, incluso il Prolog, e Python) ed offre licenza BSD. Entrambi sono piuttosto versatili, ma il primo è stato progettato come uno strumento educativo, il secondo invece come strumento scientifico per le scienze sociali[16]. Un altro strumento che può essere impiegato per la simulazione agent-based è rappresentato da Alchemist[17], una toolchain sviluppata all'interno dell'Università di Bologna e di ispirazione chimica, particolarmente adatta per simulazioni biochimiche. Alchemist gira sulla JVM, è portabile e leggero, impiega YAML (ed eventualmente Java) come linguaggio per la descrizione dei modelli (e delle estensioni), ed offre licenza GPLv3 con alcune aggiunte[18].

Riferimenti bibliografici

- [1] Tomio Tada. The immune system as a supersystem. *Annual review of immunology*, 15(1):1–13, 1997.
- [2] Hiroaki Kitano. Systems biology: a brief overview. *Science*, 295(5560):1662–1664, 2002.
- [3] Graziela P Figueredo, Peer-Olaf Siebers, Uwe Aickelin, and Stephanie Foan. A beginner’s guide to systems simulation in immunology. In *International Conference on Artificial Immune Systems*, pages 57–71. Springer, 2012.
- [4] Ferdinando Chiacchio, Marzio Pennisi, Giulia Russo, Santo Motta, and Francesco Pappalardo. Agent-based modeling of the immune system: Netlogo, a promising framework. *BioMed research international*, 2014, 2014.
- [5] Jonathan Cooper and James Osborne. Connecting models to data in multiscale multicellular tissue simulations. *Procedia Computer Science*, 18:712–721, 2013.
- [6] Andrea Omicini and Franco Zambonelli. Mas as complex systems: A view on the role of declarative approaches. In *J. A. Leite, A. Omicini, L. Sterling & P. Torroni (Eds.), Declarative Agent Languages and Technologies*, volume 2990, pages 1–17. Springer, 2004.
- [7] Nicola Cannata, Flavio Corradini, Emanuela Merelli, Andrea Omicini, and Alessandro Ricci. An agent-oriented conceptual framework for systems biology. In *E. Merelli, P. P. González Pérez & A. Omicini (Eds.), Transactions on Computational Systems Biology III*, volume 3737, pages 105–122, 2005.
- [8] Adelinde M. Uhrmacher and Danny Weyns. *Connecting models to data in multiscale multicellular tissue simulations (1st ed.)*. CRC Press, 2009.
- [9] Emanuela Merelli, Giuliano Armano, Nicola Cannata, Flavio Corradini, Mark d’Inverno, Andreas Doms, Michael Luck, Phillip Lord, Andrew Martin, Luciano Milanese, Steffen Möller, and Schroeder Michael. Agents in bioinformatics, computational and systems biology. *Briefings in Bioinformatics*, 8(1):45–59, 2007.
- [10] Charles M. Macal and Michael J. North. Tutorial on agent-based modelling and simulation. *Journal of Simulation*, 4(3):151–162, 2010.
- [11] Gary An, Qi Mi, Joyeeta Dutta-Moscato, and Yoram Vodovotz. Agent-based models in translational systems biology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 1(2):159–171, 2009.
- [12] Alexander Gelfand. The biology of interacting things: The intuitive power of agent-based models. *Biomedical Computation Review*, 1:20–27, 2013.
- [13] Eric Bonabeau. Agent-based modeling: Methods and techniques for simulating human systems. *Proc. of the National Academy of Sciences*, 99(3):7280–7287, 2009.

- [14] Andrea Omicini and Sara Montagna. Agent-based modelling in multicellular systems biology. *Advances in Computational Intelligence and Robotics (ACIR). Multi-Agent Based Simulations Applied to Biological and Environmental Systems*, pages 159–178, 2017.
- [15] Virginia A Folcik, Gary C An, and Charles G Orosz. The basic immune simulator: An agent-based model to study the interactions between innate and adaptive immunity. *Theor. Biol. Med. Model*, 4:39, 2007.
- [16] Cynthia Nikolai and Gregory Madey. Tools of the trade: A survey of various agent based modeling platforms. *Journal of Artificial Societies and Social Simulation*, 12(2):2, 2009.
- [17] Alchemist. <https://alchemistsimulator.github.io>.
- [18] Alchemist license. <http://alchemistsimulator.github.io/license>.