

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Μέθοδοι μαθηματικής μοντελοποίησης σε *in vitro* μελέτες καρκίνου

Τα μαθηματικά μοντέλα που περιγράφουν βιολογικά φαινόμενα συνιστούν ισχυρά εργαλεία για την κατανόησή τους και για την πρόβλεψη της πορείας και της συμπεριφοράς τους. Η μοντελοποίηση πολύπλοκων βιολογικών συστημάτων, όπως ένας καρκινικός όγκος, μπορεί να παρέχει λεπτομερή περιγραφή των μηχανισμών που διέπουν τις λειτουργίες των μονήρων κυττάρων και του όγκου ως συστήματος ετερογενών κυττάρων. Επί πλέον, η μαθηματική μοντελοποίηση αποτελεσμάτων *in vitro* πειραμάτων πιθανόν να αναδείξει νέες υποθέσεις που μπορούν να εξεταστούν πειραματικά, εμπλουτίζοντας έτσι την αξία των αποτελεσμάτων μιας μελέτης *in vitro*. Στην παρούσα ανασκόπηση αναλύονται μερικές από τις πλέον συνήθεις και σημαντικές τεχνικές μαθηματικής μοντελοποίησης που χρησιμοποιούνται στη Βιολογία και στην Ιατρική και ως εκ τούτου και στη μελέτη του καρκίνου: οι διαφορικές εξισώσεις, οι οποίες μπορεί να είναι είτε συνήθεις είτε μερικές, η θεωρία παιγνίων και η πλέον εξειδικευμένη για τα βιολογικά φαινόμενα εξελικτική θεωρία παιγνίων, τα μοντέλα που είναι βασισμένα σε πράκτορες και, τέλος, τα κυτταρικά αυτόματα και τα δυναμικά κυτταρικά αυτόματα. Παρουσιάζονται τα κύρια σημεία των εν λόγω τεχνικών, τα πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί τους και παρέχονται παραδείγματα επιστημονικών δημοσιεύσεων που έχουν ως αντικείμενο τη μελέτη καρκινικών συστημάτων με τις εφαρμογές των ανωτέρω τεχνικών. Σκοπός της ανασκόπησης είναι η κατανόηση της αξίας της μαθηματικής μοντελοποίησης στην έρευνα του καρκίνου και του τρόπου με τον οποίο μπορεί να απαρτιώσει και να προβλέψει πειραματικά δεδομένα που προήλθαν από *in vitro* μελέτες.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μαθηματικά και τα υπολογιστικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή των μηχανισμών βιολογικών συστημάτων και την αναπαραγωγή της συμπεριφοράς τους εξελίσσονται συνεχώς με την τεχνολογική πρόοδο.¹ Τα μοντέλα συνιστούν εργαλεία για την κατανόηση των βιολογικών διαδικασιών που μελετώνται και την εξήγηση των βιολογικών φαινομένων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξετάσουν υποθέσεις και να κάνουν προβλέψεις με τη χρήση βιολογικών δεδομένων που προσαρμόζονται στις παραμέτρους οι οποίες χρησιμοποιούνται στο μοντέλο.²

Η μοντελοποίηση μπορεί να αξιοποιηθεί και να συνδράμει στη λεπτομερή κατανόηση των μηχανισμών και των διαδικασιών του καρκίνου.³ Η περιγραφή του καρκίνου με τη χρήση της μοντελοποίησης μπορεί να αναδείξει την ανάγκη για νέα πειράματα και μαθηματικά μοντέλα. Τα εν λόγω μοντέλα ενσωματώνουν εμπειρικά στοιχεία, αξιολο-

γούν συστηματικά τις υποθέσεις, διερευνούν εναλλακτικούς μηχανισμούς και κάνουν προβλέψεις που μπορούν να επικυρωθούν πειραματικά. Μπορεί να αποκαλύψουν δεδομένα που δεν είχαν ληφθεί υπ' όψιν μέχρι τώρα.⁴

Τα μοντέλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν πριν από τα βιολογικά πειράματα, παράλληλα ή μετά από αυτά.³ Η μαθηματική μοντελοποίηση βοηθά τους επιστήμονες στην κατανόηση των μηχανισμών και της δυναμικής που υπόκεινται των πειραματικών παρατηρήσεων. Η σχεδίαση των μοντέλων απαιτεί πειραματικά δεδομένα και γνώση ή υπόθεση για το πώς συνδέονται μεταξύ τους οι συνιστώσες του συστήματος.⁵ Επί πλέον, η μοντελοποίηση μπορεί να συμβάλλει στη σχεδίαση θεραπειών κατά του καρκίνου, καθώς έχουν προταθεί πολλά μοντέλα για τη χημειοθεραπεία, την ακτινοθεραπεία, τη χειρουργική προσέγγιση και την ανάπτυξη νέων θεραπειών.⁶

Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι η μελέτη των πλέον βασικών μεθόδων μοντελοποίησης και της εφαρμο-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2024, 41(3):346-353
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2024, 41(3):346-353

**A. Ραχωβίτσα,
Σ. Ζαρογιάννης**

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών
«Κλινικές εφαρμογές Μοριακής
Ιατρικής», Εργαστήριο Φυσιολογίας,
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών
Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Βιόπολις, Λάρισα

Methods of mathematical
modeling of *in vitro* cancer studies

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρητηρίου

Βιολογικά μοντέλα
Θεωρία παιγνίων
Καρκίνος
Κυτταρικά αυτόματα
Μοντελοποίηση

Υποβλήθηκε 7.7.2023
Εγκρίθηκε 22.7.2023

γής των μεθόδων αυτών σε *in vitro* κυτταρικές σειρές. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της διεθνούς βιβλιογραφίας στο PubMed χρησιμοποιώντας τις λέξεις-κλειδιά: “Mathematical modeling cancer” και “mathematical modelling methods”.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η ενότητα αυτή μελετά κάποιες από τις πλέον δημοφιλείς μεθόδους μοντελοποίησης, καθώς και τις θετικές και τις αρνητικές παραμέτρους της κάθε μεθόδου.

2.1. Μοντέλα διαφορικών εξισώσεων (differential equation modeling)

Η πιο κοινή υλοποίηση των συνεχών μοντέλων πραγματοποιείται με τη χρήση συνήθων και μερικών διαφορικών εξισώσεων (ΣΔΕ και ΜΔΕ, αντίστοιχα).

Οι ΣΔΕ περιέχουν μια ανεξάρτητη μεταβλητή. Για τα δυναμικά συστήματα, η ανεξάρτητη μεταβλητή είναι ο χρόνος, ενώ οι εξαρτημένες μπορεί να είναι ο όγκος του καρκίνου, το κλάσμα μιας γενετικής αλλοίωσης σε έναν πληθυσμό ή η πιθανότητα να βρεθεί ένας υποδοχέας σε μια συγκεκριμένη κατάσταση σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή. Μπορεί να περιγράψουν συστήματα πολλών και λίγων διαστάσεων.⁴ Οι ΣΔΕ προϋποθέτουν μεγάλο μέγεθος πληθυσμού, συνεχείς τιμές παραμέτρων και διαδικασίες χωρίς μνήμη.¹ Υποθέτουν, επίσης, ότι το κυτταρικό μικροπεριβάλλον θεωρείται ομοιόμορφο και τα μονήρη συστατικά δεν μελετώνται, γεγονός που τα περιορίζει αρκετά. Ωστόσο, οι σχετικοί περιορισμοί επιτρέπουν σε αυτή τη μέθοδο να ενσωματώνεται πιο εύκολα στα πειραματικά δεδομένα.⁷

Μια άλλη μέθοδος συνεχούς μοντελοποίησης είναι τα μοντέλα που χρησιμοποιούν ΜΔΕ. Οι ΜΔΕ εφαρμόζονται σε συστήματα στα οποία οι ποσότητες ενδιαφέροντος εξαρτώνται από περισσότερες της μίας ανεξάρτητες μεταβλητές (για παράδειγμα, τον χρόνο και τον χώρο), άρα λαμβάνουν υπ’ όψιν τους και τα χωρικά και τα χρονικά χαρακτηριστικά του όγκου.⁴ Ωστόσο, τα εν λόγω μοντέλα είναι υπολογιστικά πιο κοστοβόρα και απαιτούν δεδομένα τα οποία έχουν οριστεί χωρικά, σε αντίθεση με τα μοντέλα ΣΔΕ που χρειάζονται μόνο χρονικά δεδομένα και υλοποιούνται πιο εύκολα.⁸

Τα μοντέλα ΣΔΕ και ΜΔΕ συχνά χρησιμοποιούνται για την περιγραφή συστημάτων που μπορούν να αντιπροσωπευτούν από διακριτά διαμερίσματα.¹ Η διαμερισματική μοντελοποίηση είναι μια από τις πιο παλιές και πλέον δημοφιλείς προσεγγίσεις στην περιγραφή δυναμικών μεταξύ μεταβλητών.⁹ Σε αυτή τη μέθοδο μοντελοποίησης η ανάλυση του συστήματος γίνεται με τον διαχωρισμό του

συστήματος σε έναν πεπερασμένο αριθμό συνιστωσών, που ονομάζονται διαμερίσματα, και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με την ανταλλαγή υλικών. Κάθε σύστημα αποτελείται από δύο ή περισσότερα διακριτά διαμερίσματα.¹⁰ Τα διαμερισματικά μοντέλα είναι μοντέλα μεμονωμένων παραμέτρων, στα οποία τα γεγονότα του συστήματος αναπαρίστανται από ένα σύνολο μεταβλητών που μεταβάλλονται χρονικά.¹¹ Το μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει τα διαμερίσματα είναι μια συλλογή διαφορικών εξισώσεων, η οποία αναπαριστά τον ρυθμό μεταβολής της ποσότητας του υλικού σε κάθε διαμέρισμα με την πάροδο του χρόνου.⁹

2.2. Θεωρία παιγνίων

Μεταξύ των κυττάρων ενός όγκου υπάρχει τόσο ανταγωνισμός για χώρο και πόρους, όσο και συναγωνισμός για την έκκριση παραγόντων που διευκολύνουν την ανάπτυξη του όγκου. Τα κύτταρα αλληλοεπιδρούν και συνεργάζονται τόσο μεταξύ τους όσο και με το μικροπεριβάλλον τους για την ανάπτυξη του όγκου. Οι κανόνες που διέπουν αυτές τις αλληλεπιδράσεις περιγράφονται μαθηματικά από τη θεωρία παιγνίων (game theory). Η θεωρία παιγνίων είναι η μελέτη των στρατηγικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ατόμων που υιοθετούν στρατηγικές και ονομάζονται παίκτες. Σε κάθε αλληλεπίδραση προκύπτει όφελος για τους παίκτες, το οποίο αναπαρίσταται από μια μήτρα οφέλους. Το όφελος εξαρτάται τόσο από τη συμπεριφορά του κάθε παίκτη όσο και από τη συμπεριφορά των άλλων παικτών. Στην περίπτωση του καρκίνου, οι παίκτες μπορεί να είναι είτε κύτταρα είτε άλλες οντότητες και το κέρδος η εξελικτική καταλληλότητα.¹²

Στη μελέτη του καρκίνου χρησιμοποιείται η εξελικτική θεωρία παιγνίων, η οποία έχει εμπνευστεί από τις αρχές της δαρβινικής εξέλιξης. Η δαρβινική θεωρία της εξέλιξης αρχικά απαιτεί κληρονομούμενη ποικιλομορφία, καθώς τα κληρονομικά χαρακτηριστικά ποικίλλουν μεταξύ διαφορετικών καρκινικών κυττάρων ως αποτέλεσμα διαφόρων γενετικών μηχανισμών. Προϋποθέτει επίσης αγώνα για την ύπαρξη, καθώς οι οργανισμοί αυξάνονται εκθετικά σε ιδανικές συνθήκες αλλά υπάρχουν όρια στην ανάπτυξη λόγω του ανταγωνισμού για τον χώρο και τους πόρους. Τέλος, η κληρονομούμενη ποικιλομορφία επιδρά στον αγώνα για την ύπαρξη, γιατί τα κύτταρα με κληρονομούμενα χαρακτηριστικά που υπερισχύουν έναντι άλλων θα αυξηθούν σε συχνότητα με την πάροδο του χρόνου.¹³

Σε αυτόν τον κλάδο της θεωρίας παιγνίων το κέρδος αντιστοιχεί στη δαρβινική καταλληλότητα, οι παίκτες σε καρκινικά κύτταρα ή κύτταρα του στρώματος και οι στρατηγικές σε φαινότυπους οι οποίοι παράγονται από μεταλλάξεις που διαφοροποιούν τον έναν τύπο του πληθυσμού από τον

άλλον. Σε αντίθεση με την κλασική θεωρία παιγνίων, αυτοί οι παίκτες δεν χρειάζεται να είναι λογικοί, καθώς κληρονομούν τα χαρακτηριστικά τους και τους φαινότυπους και δεν τους επιλέγουν με τη λογική.¹⁴

Η «καλύτερη» στρατηγική για ένα καρκινικό κύτταρο εξαρτάται από τις στρατηγικές άλλων καρκινικών κυττάρων.¹⁵ Η φυσική επιλογή μεταβάλλει τη συχνότητα των φαινότυπων. Η εξελικτική θεωρία περιγράφει μαθηματικά τις αλλαγές στους φαινότυπους, προσδιορίζει την ισορροπία στην οποία μπορεί να συνυπάρχουν όλοι οι φαινότυποι και την αξιολογεί.⁴

Η συγκεκριμένη μέθοδος μοντελοποίησης χρησιμοποιείται σε εξελικτικές θεραπείες όπου στοχεύεται η καθοδήγηση της δυναμικής του περιβάλλοντος του όγκου για καλύτερο αποτέλεσμα ή ακόμη και θεραπεία.¹⁶ Έχουν προταθεί πολλοί τύποι παιγνίων στα οποία επιδίδονται τα καρκινικά κύτταρα, όπως τα βασιζόμενα στο δίλημμα του φυλακισμένου,^{17,18} παίγνια συνεργασίας,¹⁹ συντονισμού²⁰ και δημόσιου αγαθού.¹²

2.3. Μοντέλα βασισμένα στο άτομο

Τα μοντέλα που βασίζονται σε άτομο (individual based models) προσομοιώνουν τους πληθυσμούς ή τα συστήματα ως ένα σύνολο διακριτών ατόμων ή οργανισμών. Κάθε άτομο χαρακτηρίζεται από ένα σύνολο μεταβλητών κατάστασης, χαρακτηριστικών και συμπεριφορών. Οι μεταβλητές κατάστασης περιλαμβάνουν τη θέση στον χώρο, τα φυσιολογικά και τα συμπεριφορικά χαρακτηριστικά, διαφέρουν από άτομο σε άτομο και μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου. Οι συμπεριφορές μπορεί να περιλαμβάνουν την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή, την επιλογή ενδιαίτηματος, την αναζήτηση τροφής και τη διασπορά. Οι συμπεριφορές σε επίπεδο πληθυσμού προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα αυτόνομα άτομα που τον απαρτίζουν και τις αλληλεπιδράσεις των εν λόγω ατόμων με το περιβάλλον τους.

Η συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να προσομοιώσει τα άτομα και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις με μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας, δύσκολο να αναπαρασταθεί από τις μεθόδους που βασίζονται σε διαφορικές εξισώσεις.²¹

Τα μοντέλα που βασίζονται στο άτομο έχουν μεγαλύτερη ευελιξία, καθώς μελετούν τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε ετερογενή άτομα, την αλληλεπίδρασή τους με το περιβάλλον και αναπαριστούν ρεαλιστικά τα δεδομένα. Αυτός ο τύπος μοντελοποίησης επίσης ενσωματώνει την έννοια της μάθησης τόσο σε επίπεδο ατόμου όσο και πληθυσμού. Ωστόσο, η πολυπλοκότητά τους καθιστά την παραμετροποίηση, την ανάλυση και τη γενίκευσή τους δυσχερή.²²

Οι δύο πλέον δημοφιλείς μέθοδοι που βασίζονται σε άτομο είναι τα μοντέλα τα βασισμένα σε πράκτορες και τα κυτταρικά αυτόματα.

2.3.1. Μοντέλα βασισμένα σε πράκτορες. Τα μοντέλα τα βασισμένα σε πράκτορες (agent based modeling) είναι μια τεχνική μοντελοποίησης που εξετάζει τις δράσεις αυτόνομων ατόμων σε ένα πολύπλοκο σύστημα. Τα άτομα αυτά ονομάζονται πράκτορες και ο κάθε πράκτορας μπορεί να λαμβάνει αποφάσεις βασιζόμενος σε ένα σύνολο προκαθορισμένων κανόνων.²³ Οι πράκτορες δρουν αυτόνομα, αλλά αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους, τις ιδιότητες του συστήματος και άλλους πράκτορες και ελέγχεται το πώς οι αλλαγές σε κάθε άτομο επηρεάζουν τη συνολική συμπεριφορά του συστήματος που μοντελοποιείται. Υπάρχει επίσης η δυνατότητα οι πράκτορες να «μάθουν» από προηγούμενες αποτυχημένες αποφάσεις και να προσαρμοστούν, δηλαδή να αλλάξουν τη συμπεριφορά τους βάσει των ιδιοτήτων του συστήματος.²⁴ Στην πιο απλή του μορφή ένα μοντέλο που βασίζεται σε πράκτορες αποτελείται από ένα σύστημα πρακτόρων και τις σχέσεις μεταξύ τους.²⁵

Η εν λόγω μέθοδος είναι ιδανική για τη μελέτη του καρκίνου, καθώς μπορεί να περιγράψει την ετερογένεια που χαρακτηρίζει τον καρκίνο ως βιολογικό σύστημα.²⁶ Σε ένα καρκινικό σύστημα, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρακτόρων (οι οποίοι μπορεί να είναι κύτταρα, πρωτεΐνες και γονίδια) είναι μη συνεχείς και διακριτές, οι θέσεις τους στον χώρο δεν είναι καθορισμένες και ο πληθυσμός τους είναι ετερογενής. Τα μοντέλα τα βασισμένα σε πράκτορες μπορούν να υπερβαίνουν αυτούς τους περιορισμούς και να εφαρμοστούν σε πολλαπλές διαστάσεις.²³ Ένα επί πλέον πλεονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι μπορεί να συλλάβει τις μικρές διαφορές οι οποίες υπάρχουν ή ενδέχεται να προκύψουν ανάμεσα στους πράκτορες, σε αντίθεση με τις συνεχείς τεχνικές μοντελοποίησης που υπολογίζουν τη μέση συμπεριφορά των συνιστωσών του συστήματος, αφού το θεωρούν ομοιόμορφο.²⁷ Η μοντελοποίηση που βασίζεται σε πράκτορες έρχεται να καλύψει τους περιορισμούς που χαρακτηρίζουν τις διαφορικές εξισώσεις, όπως η γραμμικότητα, η ομοιογένεια, η συνέχεια και η στατικότητα.²⁸

Το πλέον σημαντικό μειονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι υπολογιστικά είναι ιδιαίτερα απαιτητική.²³ Ο παράλληλος προγραμματισμός και οι υπολογιστικές τεχνικές υψηλής απόδοσης μπορεί να συνδράμουν στο ζήτημα της υπολογιστικής πολυπλοκότητας, καθώς κατακερματίζουν την εργασία σε μικρά τμήματα που λύνονται παράλληλα, μειώνοντας σημαντικά τον χρόνο που απαιτείται για να «τρέξει» το μοντέλο.²⁹ Μια άλλη λύση στην υπολογιστική πολυπλοκότητα είναι η χρήση υβριδικών μοντέλων, τα οποία συνδυάζουν μοντέλα πρακτόρων με

συνεχή μοντέλα, μειώνουν τις υπολογιστικές απαιτήσεις και απλοποιούν το περιβάλλον.³⁰

Τα εν λόγω μοντέλα μπορεί να περιέχουν διαφορικές εξισώσεις και έχουν κάποια στοιχεία από τη θεωρία παιγνίων και τον εξελικτικό προγραμματισμό.²⁴ Τα πιο εξελιγμένα μοντέλα πρακτόρων μπορεί να περιέχουν νευρωνικά δίκτυα, εξελικτικούς αλγορίθμους ή άλλες τεχνικές για να ενσωματώσουν ρεαλιστική μάθηση και προσαρμογή.²⁵ Τα μοντέλα πρακτόρων μπορούν να υλοποιηθούν σε γλώσσες προγραμματισμού, με πλέον συνήθη την Java, ή με λογισμικά, όπως το NetLogo,³¹ το Repast³² και το FLAME.³³

2.3.2. Κυτταρικά αυτόματα. Τα κυτταρικά αυτόματα (cellular automata) αναπαριστούν διακριτά άτομα, τα οποία ονομάζονται κύτταρα, και τους κανόνες που διέπουν και καθορίζουν τις αλληλεπιδράσεις τους και χρησιμοποιούνται για να μοντελοποιήσουν χρονικές και χωρο-χρονικές διαδικασίες. Οι κανόνες μπορεί να είναι απλοί αλλά και σύνθετοι, και κάθε κύτταρο ενδέχεται να περιλαμβάνει ένα ή και περισσότερα μόρια ή βιολογικά κύτταρα.^{34,35}

Ένα κυτταρικό αυτόματο έχει ένα πλέγμα κυττάρων, όπου το κάθε κύτταρο έχει έναν πεπερασμένο αριθμό καταστάσεων και ένα περιβάλλον που περιτριγυρίζει ένα κύτταρο το οποίο ανήκει στο πλέγμα. Επί πλέον, στοιχεία του κυτταρικού αυτόματου αποτελούν ένα σύνολο αρχικών καταστάσεων και ένα σύνολο κανόνων, η εφαρμογή των οποίων μεταβάλλει την κατάσταση ενός κυττάρου. Το μοντέλο εξελίσσεται καθώς οι κανόνες εφαρμόζονται σε κάθε κύτταρο.²⁴ Η κίνηση των κυττάρων ρυθμίζεται από τους κανόνες μετάβασης που εφαρμόζονται στη γειτονιά του κυττάρου.³⁶

Τα δυναμικά κυτταρικά αυτόματα είναι μια κατηγορία κυτταρικών αυτομάτων, όπου εισάγεται μια γεννήτρια τυχαίων αριθμών η οποία επιλέγει την κατεύθυνση της κίνησης του επόμενου χρονικού βήματος. Τα μόρια μπορεί να μετακινηθούν σε ένα ή περισσότερα κύτταρα κάθε φορά.³⁵ Τα δυναμικά κυτταρικά αυτόματα διαφέρουν από τα συμβατικά κυτταρικά αυτόματα καθώς σε αυτά, σύμφωνα με τη δυναμική κατά Brown, οι κινήσεις των μορίων προσομοιάζουν τις κινήσεις πραγματικών μακρομορίων. Απαιτούν τακτικά χρονικά βήματα, στα οποία το μέγεθος του πλέγματος και τα χρονικά βήματα είναι αρκετά μικρά ώστε να ικανοποιήσουν τις παραμέτρους που υπολογίστηκαν πειραματικά.^{37,38}

3. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΕ *IN VITRO* ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

3.1. Μελέτες με εφαρμογή μοντέλων διαφορικών εξισώσεων

Μια μελέτη που αφορούσε σε δεδομένα από κυτταρικές

σειρές καρκίνου του μαστού πρότεινε ένα μοντέλο που προβλέπει το πώς η διαθεσιμότητα της γλυκόζης επηρεάζει την ανάπτυξη του όγκου. Αφού επιλύθηκε ένα σύνολο ΣΔΕ ως προς τον χρόνο για να υπολογιστεί το πώς μεταβάλλεται ο αριθμός ζωντανών και νεκρών κυττάρων υπό διαφορετικές αρχικές συνθήκες συγκέντρωσης γλυκόζης, αναπτύχθηκαν μαθηματικά μοντέλα για τον υπολογισμό της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων συναρτήσει της συγκέντρωσης γλυκόζης.³⁹

Μια μελέτη με αντικείμενο τη μακροπρόθεσμη απόκριση κυτταρικών σειρών καρκίνου του μαστού στη δοξορubicίνη σκόπευε στη βελτιστοποίηση του προγράμματος της θεραπείας. Χρησιμοποιήθηκαν επί μέρους μοντέλα για τον χαρακτηρισμό της μεταβολής στην ευαισθησία στη δοξορubicίνη σε τρεις κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού. Τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε προγράμματα θεραπειών με διαφορετική συγκέντρωση, διάστημα μεταξύ των θεραπειών και αριθμό διαδοχικών θεραπειών. Τα δεδομένα από την παρακολούθηση των κυτταρικών πληθυσμών χρησιμοποιήθηκαν ως δεδομένα εισόδου σε ένα σύνολο επί μέρους μοντέλων, που αποτελούνταν από ΣΔΕ, για την ανάπτυξη του όγκου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το διάστημα μεταξύ των θεραπειών είναι σημαντικό για την απόδοση της θεραπείας και προτάθηκε βέλτιστο χρονικό διάστημα ανάμεσα στις θεραπείες για κάθε κυτταρική σειρά.⁴⁰

Παρουσιάστηκε ένα εναλλακτικό μοντέλο αύξησης του πληθυσμού, όπου τα κύτταρα τα οποία είχαν καλλιεργηθεί *in vitro* σε χαμηλή πυκνότητα πληθυσμού ακολουθούσαν το φαινόμενο Allee. Κατά το φαινόμενο Allee, η καταλληλότητα του πληθυσμού κλιμακώνεται ανάλογα με το μέγεθος του πληθυσμού, όταν ο πληθυσμός είναι μικρός. Το μοντέλο ήταν στοχαστικό, βασιζόταν σε έναν συνδυασμό ΣΔΕ και ΜΔΕ και εφαρμόστηκε σε δεδομένα πολλαπλασιασμού των κυττάρων που συλλέχθηκαν από *in vitro* καλλιέργεια μιας κυτταρικής σειράς από καρκίνο του μαστού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αύξηση του πληθυσμού περιγράφεται καλύτερα από μοντέλα που ενσωματώνουν το φαινόμενο Allee.⁴¹

Δημιουργήθηκε ένα διαμερισματικό μοντέλο, με σκοπό τη μελέτη της βιοκατανομής της ¹⁸F-χολίνης (¹⁸F-FCH) σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε απεικονιστική εξέταση με τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission tomography, PET) για τη διάγνωση καρκίνου του προστάτη. Το μοντέλο αποτελείτο από ένα κεντρικό διαμέρισμα το αίμα, ένα διαμέρισμα για κάθε νεφρό, από ένα διαμέρισμα για τον σπλήνα, το ήπαρ, την ουροδόχο κύστη, αντίστοιχα, και ένα γενικό διαμέρισμα για το εναπομείναν υλικό. Υπολογίστηκαν οι δόσεις ακτινοβολίας που δέχονταν τα όργανα.

Τα όργανα που δέχονταν τις μεγαλύτερες δόσεις ήταν το ήπαρ και οι νεφροί. Το μοντέλο περιέγραφε τη βιοκατανομή της ^{18}F -FCH και υπολόγιζε τη δόση της ακτινοβολίας που δεχόταν ο κάθε ασθενής.⁴²

3.2. Μελέτες με εφαρμογή θεωρίας παιγνίων

Οι αρχές της εξελικτικής θεωρίας παιγνίων εφαρμόστηκαν σε μια μελέτη με σκοπό τον καθορισμό των χαρακτηριστικών που προσδιορίζουν τη φαινοτυπική ποικιλομορφία του πολλαπλού μυελώματος. Προσδιορίστηκαν οι αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα φυσιολογικά (οστεοκλάστες και οστεοβλάστες) και στα καρκινικά κύτταρα (κύτταρα του πολλαπλού μυελώματος) και αναπαραστήθηκαν σε μια μήτρα οφέλους. Βρέθηκε ότι οι δυναμικές που καθορίζουν τον όγκο και τη φαινοτυπική ποικιλομορφία προσδιορίζονται από την εξελικτική καταλληλότητα των διαφορετικών κυτταρικών τύπων.⁴³

Μια μελέτη με αντικείμενο την αγγειογένεση και τον μεταβολισμό κατά τη διάρκεια αερόβιας γλυκόλυσης πρότεινε ένα παίγνιο διπλών αγαθών. Η παραγωγή οξέος μέσω της γλυκολυτικής οδού θεωρήθηκε δημόσιο αγαθό για όλα τα καρκινικά κύτταρα, ενώ το οξυγόνο από την αγγειογένεση ευνοούσε μόνο τα καρκινικά κύτταρα που δεν χρησιμοποιούν τη γλυκολυτική οδό. Προέκυψαν έτσι τρεις βιώσιμες φαινοτυπικές στρατηγικές: η γλυκολυτική, της αγγειογένεσης και η αερόβια χωρίς αγγειογένεση. Η δυναμική του μοντέλου έδωσε τρεις ποιοτικές κατηγορίες, την πλήρως γλυκολυτική, την έχουσα πλήρως αγγειογένεση, και την πολυκλωνική (και των τριών τύπων – πλήρους και μικτού). Από το μοντέλο προέκυψε ότι η δυναμική της πολυκλωνικής κατηγορίας αναδεικνύει τη σημασία της χορήγησης θεραπειών που στοχεύουν στην αναστολή της αερόβιας γλυκόλυσης σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία σε σχέση με θεραπείες που στοχεύουν στην αναστολή της αγγειογένεσης.⁴⁴

Προτάθηκε ένα μοντέλο για τη βελτιστοποίηση της προσαρμοστικής θεραπείας που χρησιμοποιεί εξελικτική θεωρία παιγνίων και δυναμικό προγραμματισμό, βασισμένο σε ένα παλαιότερο μοντέλο.⁴⁴ Το εν λόγω μοντέλο συγκριτικά με τη στρατηγική που στηρίζεται στη χορήγηση της μέγιστης ανεκτής δόσης μπόρεσε να βελτιστοποιήσει τη διαδικασία της ανάρρωσης και να μειώσει την ποσότητα φαρμάκων που χορηγούνται.⁴⁵

Ένα μοντέλο βασισμένο σε θεωρία παιγνίων περιέγραψε την απόκριση και την αντίσταση στη θεραπεία κατά τον μεταστατικό καρκίνο του προστάτη. Ως παίκτες τέθηκαν τρεις ανταγωνιστικοί φαινότυποι, τα κύτταρα που απαιτούν ανδρογόνα, τα κύτταρα τα οποία παράγουν τεστοστερόνη

και τα κύτταρα που παρουσιάζουν αντίσταση στην αμπιρατερόνη (abiraterone), αναστολέα του ενζύμου CYP17A1, που βελτιώνει την επιβίωση. Τα αποτελέσματα, συμβατά με κλινικές παρατηρήσεις, έδειξαν αύξηση του τελευταίου κυτταρικού πληθυσμού. Στη συνέχεια, το μοντέλο έδειξε πως μια εξελικτική θεραπεία θα μπορούσε να συμβάλλει στη μείωση της συνολικής δόσης των φαρμάκων που λαμβάνει ο ασθενής.⁴⁶

3.3. Μελέτες με εφαρμογή μοντέλων βασισμένων στο άτομο

3.3.1. Μελέτες με εφαρμογή μοντελοποίησης βασισμένης σε πράκτορες. Σε μια μελέτη αναπτύχθηκε ένα μοντέλο πρακτόρων για την εξέταση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και των καρκινικών κυττάρων με τη χρήση μυελοειδών κατασταλτικών κυττάρων. Το μοντέλο χρησιμοποίησε 8 βιολογικούς πράκτορες, 4 κυτταρικούς πληθυσμούς και 4 κυτταροκίνες, που αλληλοεπιδρούσαν μεταξύ τους είτε αυξητικά είτε ανασταλτικά. Υπολογίστηκε ο όγκος του καρκίνου, το ποσοστό των μυελοειδών κατασταλτικών κυττάρων και ο αριθμός των αποτελεσματικών ανοσοποιητικών κυττάρων, ενώ τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα *in vivo* πειραματικά δεδομένα από ομάδα ποντικών, στους οποίους εφαρμόστηκε συνδυαστική θεραπεία, και επικυρώθηκαν.⁴⁷

Μια μελέτη που αφορούσε σε δεδομένα από κυτταρικές σειρές καρκίνου του εγκέφαλου ενσωμάτωσε στοιχεία της θεωρίας παιγνίων σε ένα παλαιότερο χωρο-χρονικό μοντέλο πρακτόρων.⁴⁸ Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ακόμη και οι πολύ κακοήθεις φαινότυποι μπορούσαν να υφίστανται χωρίς να υπάρχουν αλλαγές στη δομή και γι' αυτόν τον λόγο οι συγγραφείς πρότειναν τη λήψη πολλαπλών βιοψιών.⁴⁹

Αναπτύχθηκε ένα μοντέλο πρακτόρων με τη βοήθεια πειραματικών δεδομένων για τη μελέτη των μηχανισμών της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με ράδιο-223 σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη που εμφάνισε μετάσταση στα οστά. Το μοντέλο προέβλεπε την εξέλιξη της μετάστασης από τον προστάτη στα οστά και την απόκριση στη θεραπεία με ράδιο-223. Αποδείχθηκε ότι η αποτελεσματικότητα της θεραπείας εξαρτάται από το μέγεθος του όγκου, καθώς όγκος πολύ μικρού ή πολύ μεγάλου μεγέθους παρουσίαζε αντίσταση στη θεραπεία.⁵⁰

Σε μια μελέτη με αντικείμενο το *in situ* πορογενές καρκίνωμα του μαστού (ductal carcinoma *in situ*, DCIS) παρουσιάστηκε ένα μοντέλο πρακτόρων πολλαπλών κλιμάκων που μελετά τις δυναμικές των πληθυσμών των κυττάρων, τις φαινοτυπικές κατανομές και τα μοριακά σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία εμπλέκονται. Το μοντέλο δεν ήταν αμι-

γώς πρακτόρων, αλλά υβριδικό με ΜΔΕ που περιέγραφαν τις κινήσεις των μορίων. Τα αποτελέσματα συνάδουν με τα αποτελέσματα άλλων μελετών μοντελοποίησης και έδειξαν ότι η ανάπτυξη του καρκινώματος σε πρώιμα στάδια γίνεται σε δύο διακριτές φάσεις, όπου κατά την πρώτη αυξάνεται εκθετικά και στη συνέχεια αυξάνεται γραμμικά.⁵¹

3.3.2. Μελέτες με εφαρμογή κυτταρικών αυτομάτων. Αναπτύχθηκε ένα υβριδικό μοντέλο ΜΔΕ και κυτταρικών αυτομάτων για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος με έναν όγκο σε πρώιμα στάδια και τον χημειοτακτισμό των θρεπτικών συστατικών. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι η μορφολογία του όγκου εξαρτάται από τους ρυθμούς κατανάλωσης και πως μπορεί να αναπαρασταθούν όγκοι που εξελίσσονται αρχικά εκθετικά, έπειτα γραμμικά, ώσπου να φθάσουν μια σταθερή ζώνη.⁵²

Μια μελέτη κατέδειξε ότι η ανάπτυξη του όγκου του εγκεφάλου εξαρτάται από τον χημειοτακτισμό που προκαλείται από τη συγκέντρωση των υλικών και από την ομότυπη έλξη, μια μορφή χημειοτακτισμού κατά την οποία τα κύτταρα εκκρίνουν έναν διαλυτό παράγοντα που προσελκύει άλλα κύτταρα. Χρησιμοποιήθηκε μοντέλο βασισμένο στα κυτταρικά αυτόματα.⁵³

Σε μια μελέτη που αφορούσε σε δεδομένα τα οποία υπολογίστηκαν από *in vitro* πειράματα που διεξήχθησαν σε καλλιέργειες κυττάρων γλοιώματος, εξετάστηκε η μετανάστευση των κυττάρων με ένα μοντέλο κυτταρικών αυτομάτων. Σκοπός ήταν ο προσδιορισμός της κίνησης των καρκινικών κυττάρων και η μελέτη δύο μηχανισμών, της κυτταρικής προσκόλλησης και της αδράνειας των κυττάρων. Τα αποτελέσματα του μοντέλου συγκρίθηκαν με πειραματικά δεδομένα και προέκυψε ότι η κυτταρική

προσκόλληση είναι μια πολύ σημαντική διαδικασία.⁵⁴

Η μέθοδος των κυτταρικών αυτομάτων έχει εφαρμοστεί και σε μελέτες που εξετάζουν την απόκριση του καρκίνου σε θεραπείες. Σε μια μελέτη η οποία αναφερόταν στην απόκριση στην ανοσοθεραπεία χρησιμοποιήθηκε ένα υβριδικό μοντέλο κυτταρικών αυτομάτων και διαφορικών εξισώσεων που περιγράφει την αλληλεπίδραση ανάμεσα στον όγκο και στο ανοσοποιητικό σύστημα, καθώς και την επίδραση της ανοσοθεραπείας στη δραστηριότητα των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Στο μοντέλο προσομοιώθηκε η επαγωγή των κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων και υπολογίστηκε η ανάπτυξη του όγκου, ανάλογα με την επαγωγή. Υπολογίστηκε η απόκριση στην ανοσοθεραπεία και βρέθηκε ότι η μορφολογία του όγκου διαδραματίζει μεγάλο ρόλο στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας.⁵⁵

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ανασκόπηση αναλύθηκαν ορισμένες από τις βασικές μεθόδους μοντελοποίησης και παρουσιάστηκαν ενδεικτικά κάποιες επιστημονικές μελέτες που τις χρησιμοποιούν για την *in vitro* μελέτη καρκινικών κυττάρων. Στην πράξη, στα περισσότερα μοντέλα που παρουσιάστηκαν χρησιμοποιούνται υβριδικά μοντέλα, τα οποία περιλαμβάνουν περισσότερες από μία μεθόδους. Η εφαρμογή της μοντελοποίησης στον καρκίνο είναι πολλά υποσχόμενη καθώς, είτε χρησιμοποιείται πριν είτε παράλληλα είτε μετά τα *in vitro* πειράματα, ενδέχεται να μειώσει σημαντικά τον χρόνο και τους πόρους που απαιτούνται για την εύρεση νέων θεραπειών.

ABSTRACT

Methods of mathematical modeling of *in vitro* cancer studies

A. RACHOVITSA, S. ZAROGIANNIS

Postgraduate Master Program "Clinical applications of molecular medicine", Department of Physiology, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Biopolis, Larissa, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2024, 41(3):346–353

Mathematical models describing biological phenomena comprise powerful tools for their understanding and provide further insight regarding their behavior. Modeling complex processes, such as a cancer tumor, can provide detailed description of the mechanisms governing the function of unique cancer cells, as well as their integrative function in a tumor as a heterogeneous cellular system. Furthermore, mathematical modeling of the results of *in vitro* experiments can highlight new hypotheses that can be tested experimentally, enriching thus, the value of the results of an *in vitro* study. In the current review, some of the most frequent and important techniques of mathematical modeling used in biology and medicine, as well as in the study of cancer, are described: differential equations, that can be either ordinary or partial, game theory and its most specialized form for biological phenomena – evolutionary game

theory, agent-based modeling and finally cellular automata and dynamic cellular automata. The main points of each technique are discussed along with their advantages and limitations. Subsequently, specific examples of published research studies focusing on the investigation of cancer systems that make use of modeling methods are provided. The aim of this review is to provide an understanding of the value of mathematical modeling in cancer research and the way that it can integrate and predict experimental evidence that derive from *in vitro* studies.

Key words: Biological models, Cancer, Cellular automata, Game theory, Modeling

Βιβλιογραφία

- COTNER M, MENG S, JOST T, GARDNER A, DE SANTIAGO C, BROCK A. Integration of quantitative methods and mathematical approaches for the modeling of cancer cell proliferation dynamics. *Am J Physiol Cell Physiol* 2023, 324:C247–C262
- PECK SL. Simulation as experiment: A philosophical reassessment for biological modeling. *Trends Ecol Evol* 2004, 19:530–534
- BYRNE HM. Dissecting cancer through mathematics: From the cell to the animal model. *Nat Rev Cancer* 2010, 10:221–230
- ALTROCK PM, LIU LL, MICHOR F. The mathematics of cancer: Integrating quantitative models. *Nat Rev Cancer* 2015, 15:730–745
- TOMLIN CJ, AXELROD JD. Biology by numbers: Mathematical modelling in developmental biology. *Nat Rev Genet* 2007, 8:331–340
- DEISBOECKTS, ZHANG L, YOON J, COSTA J. In silico cancer modeling: Is it ready for prime time? *Nat Clin Pract Oncol* 2009, 6:34–42
- ODEN JT, LIMA EABF, ALMEIDA RC, FENG Y, RYLANDER MN, FUENTES D ET AL. Toward predictive multiscale modeling of vascular tumor growth. *Arch Comput Methods Eng* 2016, 23:735–779
- JARRETT AM, LIMA EABF, HORMUTH DA 2nd, MCKENNA MT, FENG X, EKRUET DA ET AL. Mathematical models of tumor cell proliferation: A review of the literature. *Expert Rev Anticancer Ther* 2018, 18:1271–1286
- LASSOUED A, BOUBAKER O. Modeling and control in physiology. In: Boubaker O (ed) *Control theory in biomedical engineering: Applications in physiology and medical robotics*. Elsevier Academic Press, Cambridge, MA, 2020:3–42
- ANDERSON DH. Compartmental systems. In: Levin S (ed) *Compartmental modeling and tracer kinetics: Lecture notes in biomathematics*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1983:1–6
- COBELLI C, FOSTER DM. Compartmental models: Theory and practice using the SAAM II software system. *Adv Exp Med Biol* 1998, 445:79–101
- ARCHETTI M, PIENTA KJ. Cooperation among cancer cells: Applying game theory to cancer. *Nat Rev Cancer* 2019, 19:110–117
- BROWN JS. Why Darwin would have loved evolutionary game theory. *Proc Biol Sci* 2016, 283:20160847
- WÖLFL B, TE RIETMOLE H, SALVIOLI M, KAZNATCHEEV A, THUIJSMAN F, BROWN JS ET AL. The contribution of evolutionary game theory to understanding and treating cancer. *Dyn Games Appl* 2022, 12:313–342
- CUNNINGHAM JJ, GATENBY RA, BROWN JS. Evolutionary dynamics in cancer therapy. *Mol Pharm* 2011, 8:2094–2100
- GATENBY RA, SILVA AS, GILLIES RJ, FRIEDEN BR. Adaptive therapy. *Cancer Res* 2009, 69:4894–4903
- KAREVA I. Prisoner's dilemma in cancer metabolism. *PLoS One* 2011, 6:e28576
- WEST J, HASNAIN Z, MASON J, NEWTON PK. The prisoner's dilemma as a cancer model. *Converg Sci Phys Oncol* 2016, 2:035002
- AXELROD R, AXELROD DE, PIENTA KJ. Evolution of cooperation among tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006, 103:13474–13479
- BAYER P, GATENBY RA, McDONALD PH, DUCKETT DR, STAŇKOVÁ K, BROWN JS. Coordination games in cancer. *PLoS One* 2022, 17:e0261578
- DeANGELIS DL, GRIMM V. Individual-based models in ecology after four decades. *F1000Prime Rep* 2014, 6:39
- ABUELEZAM NN, ROUGH K, SEAGE GR 3rd. Individual-based simulation models of HIV transmission: Reporting quality and recommendations. *PLoS One* 2013, 8:e75624
- ZHANG L, WANG Z, SAGOTSKY JA, DEISBOECKTS. Multiscale agent-based cancer modeling. *J Math Biol* 2009, 58:545–559
- CLARKE KC. Cellular automata and agent-based models. In: Fischer M, Nijkamp P (eds) *Handbook of regional science*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2014:1217–1233
- BONABEAU E. Agent-based modeling: Methods and techniques for simulating human systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, 99(Suppl 3):7280–7287
- YU JS, BAGHERI N. Agent-based models predict emergent behavior of heterogeneous cell populations in dynamic micro-environments. *Front Bioeng Biotechnol* 2020, 8:249
- GOROCHOWSKI TE. Agent-based modelling in synthetic biology. *Essays Biochem* 2016, 60:325–336
- BANKES SC. Agent-based modeling: a revolution? *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, 99(Suppl 3):7199–7200
- STONE JE, HARDY DJ, UFIMTSEV IS, SCHULTEN K. GPU-accelerated molecular modeling coming of age. *J Mol Graph Model* 2010, 29:116–125
- CILFONE NA, KIRSCHNER DE, LINDERMAN JJ. Strategies for efficient numerical implementation of hybrid multi-scale agent-based models to describe biological systems. *Cell Mol Bioeng* 2015, 8:119–136
- SKLAR E. NetLogo, a multi-agent simulation environment. *Artif Life* 2007, 13:303–311
- NORTH MJ, COLLIER NT, OZIK J, TATARA ER, MACAL CM, BRAGEN M

- ET AL. Complex adaptive systems modeling with Repast Symphony. *Complex Adapt Syst Model* 2013, 1:3
33. HOLCOMBE M, ADRA S, BICAK M, CHIN S, COAKLEY S, GRAHAM AI ET AL. Modelling complex biological systems using an agent-based approach. *Integr Biol (Camb)* 2012, 4:53–64
34. OSPINA MEE, PERDOMO JG. A growth model of human papillomavirus type 16 designed from cellular automata and agent-based models. *Artif Intell Med* 2013, 57:31–47
35. MATERIW, WISHART DS. Computational systems biology in cancer: Modeling methods and applications. *Gene Regul Syst Bio* 2007, 1:91–110
36. BONCHEV D, THOMAS S, APTE A, KIER LB. Cellular automata modelling of biomolecular networks dynamics. *SAR QSAR Environ Res* 2010, 21:77–102
37. MASOUDI-NEJAD A, BIDKHORI G, ASHTIANI SH, NAJAFI A, BOZORGM-EHR JH, WANG E. Cancer systems biology and modeling: Microscopic scale and multiscale approaches. *Semin Cancer Biol* 2015, 30:60–69
38. WISHART DS, YANG R, ARNDT D, TANG P, CRUZ J. Dynamic cellular automata: An alternative approach to cellular simulation. *In Silico Biol* 2005, 5:139–161
39. YANG J, VIROSTKO J, HORMUTH DA 2nd, LIU J, BROCK A, KOWALSKI J ET AL. An experimental-mathematical approach to predict tumor cell growth as a function of glucose availability in breast cancer cell lines. *PLoS One* 2021, 16:e0240765
40. HOWARD GR, JOST TA, YANKEELOV TE, BROCK A. Quantification of long-term doxorubicin response dynamics in breast cancer cell lines to direct treatment schedules. *PLoS Comput Biol* 2022, 18:e1009104
41. JOHNSON KE, HOWARD G, MO W, STRASSER MK, LIMA EABF, HUANG S ET AL. Cancer cell population growth kinetics at low densities deviate from the exponential growth model and suggest an Allee effect. *PLoS Biol* 2019, 17:e3000399
42. GIUSSANI A, JANZEN T, UUSIJÄRVI-LIZANA H, TAVOLA F, ZANKL M, SYDOFF M ET AL. A compartmental model for biokinetics and dosimetry of 18F-choline in prostate cancer patients. *J Nucl Med* 2012, 53:985–993
43. DINGLI D, CHALUB FACC, SANTOS FC, VAN SEGBROECK S, PACHECO JM. Cancer phenotype as the outcome of an evolutionary game between normal and malignant cells. *Br J Cancer* 2009, 101:1130–1136
44. KAZNATCHEEV A, VELDE RV, SCOTT JG, BASANTA D. Cancer treatment scheduling and dynamic heterogeneity in social dilemmas of tumour acidity and vasculature. *Br J Cancer* 2017, 116:785–792
45. GLUZMAN M, SCOTT JG, VLADIMIRSKY A. Optimizing adaptive cancer therapy: Dynamic programming and evolutionary game theory. *Proc Biol Sci* 2020, 287:20192454
46. ZHANG J, CUNNINGHAM JJ, BROWN JS, GATENBY RA. Integrating evolutionary dynamics into treatment of metastatic castrate-resistant prostate cancer. *Nat Commun* 2017, 8:1816
47. RAHBAR S, SHAFIEKHANI S, ALLAHVERDY A, JAMALI A, KHESHTCHIN N, AJAMI M ET AL. Agent-based modeling of tumor and immune system interactions in combinational therapy with low-dose 5-fluorouracil and dendritic cell vaccine in melanoma B16F10. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2022, 21:151–166
48. MANSURY Y, KIMURA M, LOBO J, DEISBOECK TS. Emerging patterns in tumor systems: Simulating the dynamics of multicellular clusters with an agent-based spatial agglomeration model. *J Theor Biol* 2002, 219:343–370
49. MANSURY Y, DIGGORY M, DEISBOECK TS. Evolutionary game theory in an agent-based brain tumor model: Exploring the “Genotype-Phenotype” link. *J Theor Biol* 2006, 238:146–156
50. CASARIN S, DONDOSSOLA E. An agent-based model of prostate cancer bone metastasis progression and response to Radium223. *BMC Cancer* 2020, 20:605
51. BUTNER JD, FUENTES D, OZPOLAT B, CALIN GA, ZHOU X, LOWENGRUB J ET AL. A multiscale agent-based model of ductal carcinoma *in situ*. *IEEE Trans Biomed Eng* 2020, 67:1450–1461
52. MALLET DG, DE PILLIS LG. A cellular automata model of tumor-immune system interactions. *J Theor Biol* 2006, 239:334–350
53. SANDER LM, DEISBOECK TS. Growth patterns of microscopic brain tumors. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2002, 66:051901
54. AUBERT M, BADOUAL M, FÉREOL S, CHRISTOV C, GRAMMATICOS B. A cellular automaton model for the migration of glioma cells. *Phys Biol* 2006, 3:93–100
55. ZOUHRI S, SAADI S, RACHIK M. Simulation of tumor response to immunotherapy using a hybrid cellular automata model. *Int J Appl Comput* 2017, 3:1077–1101

Corresponding author:

S. Zarogiannis, Department of Physiology, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Biopolis, 415 00 Larissa, Greece
e-mail: szarog@uth.gr