

### **Ipotesi #1: simulazione del rimodellamento osseo mediante agenti (rate equation model)**

Il nostro Meshless Cells Method (MCM) se applicato a livello di tessuto opera su lattici 3D con celle di 20-100 microns, su cui calcola il campo tensoriale delle deformazioni meccaniche il che le forze agenti inducono nel tessuto.

Il lattice rappresenta il tessuto associando ad ogni nodo uno scalare che rappresenta la densità del tessuto. Il tessuto osseo è distinto dai tessuti molli/liquidi attraverso una soglia del valore di densità, sotto la quale si presume che il tessuto non sia più mineralizzato.

Tipicamente una cella ha otto nodi, ciascuno con un valore di densità. Se la cella è sulla superficie del tessuto osseo, almeno un nodo avrà densità sotto la soglia; assumendo un andamento trilineare dei gradienti di densità dentro la cella, possiamo calcolare la faccetta triangolare o quadrangolare che separa in quel volumetto il tessuto osseo dal tessuto non osseo.

Si propone di scrivere un agente di cui viene eseguita una istanza per ogni cella di superficie.

--- *Q: quindi non è necessario rappresentare anche le celle che sono interamente molli e/o interamente mineralizzate? O magari bisogna considerare anche quelle mineralizzate esterne che sono sottoposte alle forze/stimoli di deformazione?*

L'agente prende in input:

- i valori di densità ed il tensore delle deformazione agli otto vertici di cella
- Tassi sistemici di replicazione, attività, e apoptosi per Osteoblasti (Ob) e Osteoclasti (Oc)

L'agente contiene:

- un modello matematico che predice, sulla base dei parametri di densità la posizione spaziale, orientazione, e area, della superficie ossea entro la cella;
- un modello matematico che predice, sulla base dei tensori di deformazione, il segnale mecano biologico di modulazione dell'attività osteoclastica e osteoblastica
- un modello matematico che sulla base di questi risultati e dei parametri di input calcola di quanto si è spostata, parallela a se stessa, in positivo o in negativo, la superficie osseo durante il ciclo di rimodellamento, ed i nuovi otto valori di densità che derivano da questo spostamento sempre assumendo gradienti di densità trilineari.

La modifica dei valori di densità della cella fa ripartire il calcolo a livello di tessuto, perché le deformazioni dipendono dalla densità in ogni punto. Si crea quindi uno schema iterativo di accoppiamento del modello di tessuto con quelli di rimodellamento.

In un modello di tessuto ad alta risoluzione ci sono  $10^7$ - $10^8$  celle, di cui  $10^5$ - $10^6$  sono di superficie; Se però si assume che il rimodellamento si attiva nella cella solo se le deformazioni sono al di fuori di un intervallo di osteostasi (lazy zone), allora il numero di agenti che deve essere eseguito per ogni passo di calcolo è considerabilmente inferiore. Il calcolo può essere però eseguito o su un architettura CUDA (GPU, o GPGPU), o su sistema HPC a 5000 core presso CINECA, dove esegue già il modello MCM.

--- *In questo caso va bene sia l'architettura CUDA sia un cluster di processori in quanto tutti gli agenti (cubetti) eseguono lo stesso algoritmo, ma su dati differenti (quelli relativi alla loro porzione di tessuto).*

Al tempo  $t=1$  tutte le celle di superficie in rimodellamento si attiveranno simultaneamente, creando una condizione non fisiologica. Si propone di creare una lista di attivazione secondo un criterio predefinito (randomizzato, o basato sull'intensità dello stimolo), e di introdurre una soglia per cui ad ogni unità di tempo solo  $k$  agenti possono essere posti in esecuzione. Un approccio più sofisticato determina la soglia  $k$  spazialmente, e quindi il limite si applica per le celle che stanno

entro una data regione (tenendo così conto dei limiti del sistema di trasporto vascolare).

--- Q: Perché c'è bisogno di attivare il rimodellamento su tutte le celle all'inizio? Non si può partire da una situazione di attivazione randomica o addirittura da una situazione in cui non c'è nessun BMU attivo per il rimodellamento?

--- Q: Una domanda di “quadro generale”. I tensori di deformazione si riferiscono, crediamo, alla sollecitazione dell'osso. Ma in che misura? Rispetto alla sollecitazione quotidiana tipica o in particolari condizioni di stress o ancora riguardo invece alla presenza di una protesi e quindi a una interazione “anomala” del tessuto osseo?

--- Q: Sempre sulla deformazione, come vengono determinati i tensori? Variano nel tempo (collegato alla domanda sulla scala temporale)?

--- Q: Che scala temporale è opportuna? Facendo delle ricerche in rete sul rimodellamento osseo abbiamo visto che è un processo lento, si parla di mesi. In questo modello (ipotesi 1) una unità di tempo simulato quanto è lunga? E rispetto al modello del singolo BMU (ipotesi 2) c'è una scala temporale diversa?

--- Q: durante l'evoluzione della simulazione le coordinate delle celle rimangono fisse (e quindi le deformazioni che si hanno si “vedono” perché cambiano le densità)? In questo caso alcune celle inizialmente non sulla superficie potrebbero finire in superficie e viceversa, bisogna quindi prevedere l'attivazione e la disattivazione delle celle in corso d'opera?

## **Ipotesi #2: simulazione del rimodellamento osseo mediante modello della BMU**

Il processo di rimodellamento osseo avviene in un comparto spaziale denominato Bone Multicellular Unit (BMU).

Questo comparto può essere schematicamente rappresentato da due parti, separate da un piano che taglia in due la BMU, che assumeremo rettangolare. Per comodità di illustrazione assumiamo che il piano si parallelo a due delle facce.

La porzione da una parte del piano è la matrice extracellulare mineralizzata. Questa può essere rappresentata con un lattice regolare, ai cui nodi collochiamo gli osteociti (Oy). Ogni Oy è collegato ai suoi sei primi vicini con cui scambia  $n$  messaggeri biochimici. Questi segnali sono modulati dal campo tensoriale di deformazione del tessuto, che otteniamo dal modello di continuo definito alla scala dimensionale soprastante. Il modello della parte solida del comparto è un semplice modello di trasporto di questi messaggeri stimolati dal campo tensoriale.

I nodi che stanno sul piano di separazione sono speciali; il numero di messaggi biochimici che arriva a loro sono rilasciati nella seconda parte del comparto, che è quella fluida. In questo sotto-comparto stanno svariate cellule: osteoblasti (Ob), osteoclasti (Oc), e i loro precursori (Pb e Pc). Inoltre possono essere inserite anche cellule macrofaghe, ecc. I messaggeri biochimici possono essere rilasciati dai Oy sulla superficie, e dalle cellule nella sezione fluida.

Questi messaggeri sono spesso trasportati da vescicole, e quindi potrebbero anch'essi essere trattati con agenti discreti. Altrimenti si può considerarli come un campo multi-scalare sovrapposto alla sezione fluida, dove ogni scalare rappresenta la concentrazione in quel punto al tempo  $t$ , di quel dato messaggero. Tutte le cellule sono sia pozzi che sorgenti per questo campo, assorbendo o rilasciando i vari messaggeri.

Credo sia comunque opportuno in entrambi i casi, dato che non si sa quasi nulla sulle quantità di messaggeri che vengono assorbite o rilasciate ad ogni evento cellulare, immaginare questi come dei quanti finiti, quindi con una scala discreta.

--- Abbiamo trovato una rappresentazione animata del processo, che ci aiuta a visualizzare i vari attori: <http://courses.washington.edu/bonephys/physremod.html>

*E' lo stesso processo di cui stiamo parlando qui?*

A questo punto si devono scrivere delle leggi che regolano il rapporto tra campo tensoriale e messaggeri secreti da ogni Oy, e quelle che regolano il comportamento delle cellule nella sezione fluida in termini di messaggeri, di nascita, attivazione, replicazione, e apoptosi (morte), nonché di loro motilità. Queste leggi tipicamente implicano relazione di tipo spaziale tra cellule, la superficie di separazione solido-fluido, e messaggeri.

--- *Ok, questo si può fare agevolmente con le nostre shape che hanno differenti behaviours, interagiscono e nascono/muiono*

I meccanismi di rimodellamento sono essenzialmente due:

- Rimodellamento negativo: in assenza di campo tensoriale, o di sua insufficiente intensità, gli Oy cominciano a soffrire e mandano sulla superficie dei messaggeri relativi. Questi attirano Pc e Pb nella sezione fluida; i Pb emettono dei messaggeri che fanno trasformare  $k$  cellule Pc in una cellula Oc, dove  $k = 10-20$ . Ovviamente la coalescenza cellulare avviene dove ci sono 10-20 cellule Pc vicine tra loro. Gli Oc sono attratti sulla superficie, e quando la toccano diventano attivi, trasformando fase solida in fase liquida, spostando quindi il piano di separazione verso la fase solida. Una serie di Oy vengono così distrutti, i segnali di sofferenza calano, e si torna in omeostasi.
- Rimodellamento nullo o positivo: Il meccanismo è lo stesso ma in questo caso il campo

tensoriale è intenso. Oy mandano fuori lo stesso tipo di segnale di sofferenza, attivando il riassorbimento, ma anche un altro segnale di differenziazione delle cellule Pb in cellule Ob, che quando gli Oc hanno finito di mangiare la fase solida e muoiono, sono attirati sul piano di separazione, e cominciano a secernere fase solida. A secondo dello stimolo possono secernere la stessa quantità che e' stata rimossa, quindi alla fine non è cambiato nulla, opporre di più nel qual caso la fase solida alla fine si è espansa a spese della fase liquida.

Una volta realizzato questo simulatore di BMU dovrebbe essere fatto girare in migliaia di istanze, una per ogni cubetto BMU per cui riusciamo a calcolare il campo di deformazioni nella scala soprastante. Ogni agente BMU, alla fine di ogni ciclo di rimodellamento, modificherebbe la densità minerale del modello di tessuto, agli 8 nodi che lo limitano. Questo creerebbe l'accoppiamento tra il modello cellulare, con un agente per ogni BMU che contiene n agenti, uno per ogni cellula o messaggero.

*--- Q: qui sembra esserci una circolarità: il campo tensoriale determina in ogni cubetto il tipo di rimodellamento, e la simulazione del cubetto determina il campo tensoriale. E' corretto? E' forse un raffinamento iterativo che parte da una situazione iniziale random o determinata? (Si ricollega alla domanda su come i tensori vengono determinati)*

In realtà per molto tempo il simulatore di BMU sarebbe usato da solo, per capire come si deve configurare, quali parametri serve misurare, e quali leggi di interazione tra gli agenti è in grado di riprodurre le osservazione biologiche. In particolare si può usare il simulatore di BMU per identificare i parametri dei rate equation model dell'ipotesi #1.

*--- Ok, questo è tipico di un approccio multiscale*

Una volta che le cose saranno definite, dato che la maggior parte dei parametri sono definiti a livello sistemico, quindi hanno lo stesso valore per tutte le BMU, credo sarebbe possibile precalcolare tutte le possibili simulazioni di BMU parametrizzando la posizione del piano di separazione nel comparto, ed i valori del campo di deformazione agli otto vertici del comparto.

### *Considerazioni generali*

*Entrambe le ipotesi, essendo collegate da una relazione zoom-in e zoom-out in un setting multiscale, sono molto interessanti dal nostro punto di vista.*

*L'ipotesi #1 mette alla prova la nostra capacità di parallelizzare il calcolo dandoci la possibilità di testare sul campo i nostri agenti in un case-study interessante e "classico", nel senso che si ripetono gli stessi calcoli su dati diversi in moltissime istanze, ma le istanze in questo caso sono distribuite spazialmente.*

*L'ipotesi #2 mette alla prova le capacità di interazione e simulazione dei nostri agenti facendo loro eseguire un processo complesso dove spostamento, forma, spazio e interazione sono fondamentali.*

*Si potrebbe lavorare su entrambe le ipotesi in parallelo sempre con un occhio alla loro, non integrazione, ma proprio definizione in uno stesso setting (il nostro simulatore), ma a scale diverse.*