

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επιθέσεις και Θεραπευτικές Παρεμβάσεις σε
Βιολογικά Δίκτυα που Σχετίζονται με
Ανθρώπινες Ασθένειες»**

Χρύσω Χριστοδούλου Α.Μ: Π2015005

Επιβλέπων Καθηγητής: Θεμιστοκλής Έξαρχος

Κέρκυρα

2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την ομάδα του τμήματος βιοπληροφορικής του Ινστιτούτου Νευρολογίας και Γενετικής Κύπρου, για την φιλοξενία τους και για την βοήθεια που μου παρείχαν σε μερικές δυσκολίες που αντιμετώπισα, όσον αφορά την γλώσσα προγραμματισμού R όπου δεν είχα καμία προηγούμενη γνώση. Συγκεκριμένα ευχαριστώ τον καθηγητή Γιώργο Σπύρου, για την διαρκή καθοδήγηση και την δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, αλλά και για τις πολύτιμες ιδέες και συμβουλές που μου έδωσε καθ' όλη αυτή την πορεία.

Χρύσω Χριστοδούλου

Κέρκυρα, 2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες εντάχθηκε η πληροφορική όπως και τα μαθηματικά στην επιστήμη της βιολογίας, για την βαθύτερη κατανόηση βιολογικών λειτουργιών και για την σωστότερη διαχείριση των δεδομένων. Η ανάγκη εδραίωσης του κλάδου της βιοπληροφορικής, δημιουργήθηκε λόγω συσσώρευσης μεγάλου όγκου δεδομένων, όπου χαρακτηρίζονταν ως ύψιστης σημασίας όσον αφορά την διαφάνεια μοτίβων σχετικά με ένα ευρύ φάσμα ασθενειών. Η υλοποίηση εργαλείων λογισμικού και η χρήση μαθηματικών μοντέλων βοήθησε στις αναλύσεις ποικίλων βιολογικών ερωτημάτων, όπως στην αναγνώριση γενετικής βάσης διαφόρων νόσων. Οι ασθένειες οι οποίες προκύπτουν από διάφορες αλληλεπιδράσεις γονιδίων, πρωτεϊνών ή μεταβολιτών μεταξύ υγιών και μεταλλαγμένων μοριακών συστατικών. Οι αλληλεπιδράσεις τους, καθίστανται πολύπλοκες και εν συνεχεία η ανάπτυξη βιολογικών δικτύων βοήθησε ούτως ώστε να μπορούν να περιγραφούν με ευκολία οι επικοινωνιακές τους σχέσεις. Τα βιολογικά δίκτυα ορίζονται ως θεωρητικές κατασκευές οι οποίες αναπαριστούν σχέσεις μεταξύ παρόμοιων στοιχείων και απεικονίζονται με σχηματικό τρόπο. Αναλυτικά, κάθε κόμβος αντιπροσωπεύει για παράδειγμα μια πρωτεΐνη ή ένα γονίδιο και οι ακμές τους, τις συνδέσεις που έχουν με άλλους κόμβους. Η μελέτη των δικτύων, στοχεύει στην αποκάλυψη μοριακών συστατικών τα οποία σε μια υποκείμενη διαταραχή, καθιστούν το σύστημα πιο ευάλωτο και έτσι πιο δεκτικό σε παρεμβάσεις. Επιπρόσθετα, η μελέτη της ανθεκτικότητας των δικτύων θα επιφέρει σημαντικές αλλαγές στον σχεδιασμό εξατομικευμένων φαρμάκων με βάση τα γονίδια των ασθενών, τα οποία συγκριτικά με τα φάρμακα που είναι διαθέσιμα στην αγορά θα στοχεύουν σε συγκεκριμένα μόρια, με σκοπό να μπλοκάρουν την ενεργοποίησή τους. Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκαν 15 πειράματα επιθέσεων με την χρήση του online εργαλείου “ATheranet”, το οποίο υλοποιήθηκε κάτω από την πλατφόρμα λογισμικού RStudio. Τα πειράματα αυτά, αφορούν πρωτεϊνικά δίκτυα τριών νευροεκφυλιστικών ασθενειών: Alzheimer, Parkinson και Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Για το κάθε δίκτυο εφαρμόστηκαν 5 επιθέσεις, όπου αφαιρούνταν οι 15 πρώτοι κόμβοι οι οποίοι χαρακτηρίζονταν ως κόμβοι με υψηλό degree ή betweenness ή closeness ή eigenvector centrality, είτε είχαν την ιδιότητα να είναι Articulation Points. Πριν και μετά την επίθεση εφαρμόζονταν οι εξής μετρικές: μέσο degree, closeness, betweenness και η μετρική small-worldness η οποία ορίζει αν ένα δίκτυο είναι κανονικό (regular), τυχαίο (random) ή δίκτυο μικρού κόσμου (small-world). Με την σύγκριση των αποτελεσμάτων επιθέσεων μεταξύ αρχικού και τελικού δικτύου, παρατηρήθηκε ότι για το δίκτυο Alzheimer η επίθεση που κατέστησε το δίκτυο πιο ευάλωτο, ήταν αυτή όπου έγινε η διαγραφή πρωτεϊνών με υψηλό closeness centrality (πείραμα 3). Σχετικά με την νόσο του Parkinson, η επίθεση που ήταν πιο ζημιογόνα στο δίκτυο ήταν αυτή που πραγματοποιήθηκε με την αφαίρεση κόμβων με υψηλό degree centrality (πείραμα 6). Οι επιθέσεις στο δίκτυο ALS με τις πιο πάνω τεχνικές, δεν πυροδότησαν μεγάλη ζημιά στο δίκτυο, αντ’ αυτού είχαν περίπου τα ίδια αποτελέσματα. Τέλος σχεδόν όλα τα πειράματα, έδειξαν ότι η αφαίρεση πρωτεϊνών χαρακτήρισε τα δίκτυα πιο τυχαία έναντι των αρχικών.

ABSTRACT

In recent decades, computer science as well as mathematics have been integrated into the science of biology, in order to achieve a deeper understanding of biological functions. The development of methods and software tools, helped the scientific community to analyze the scattered and complex biological data so as to find patterns between various diseases. Diseases result from numerous interactions of genes, proteins or metabolites, between healthy and mutated molecular components. In order to manage the complexity of the molecular interactions, scientists implemented biological networks to describe the communication relationships between similar molecules. Moreover biological networks are describing the systemic view of the interactions between the biomolecules facilitating holistic approaches in the understanding of the implicated molecular mechanisms and signal propagation. The study of biological networks can reveal which molecules make the system more vulnerable when an attack take place. Additionally these studies will support the implementation of personalized medicine based on patient's genes. A major category of biological networks corresponds to protein-protein interactions (PPIs) where the nodes are the proteins and the edges represent functional interactions between them. In our work, we have developed a web-accessible tool called "ATheraNet" that facilitates the application of various attacks or intervention strategies on a network providing also network metrics to quantify the effects of the change. We applied 15 attacks using "ATheraNet" tool, on three neurological disease PPI networks: Alzheimer, Parkinson, and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). For each network attack, we removed the first 15 nodes with high degree, betweenness, closeness or eigenvector centrality, or nodes that are characterized as Articulation Points. Global metrics are represented before and after the attacks: mean degree, closeness, betweenness and the small-worldness metric, that its value describes the network as regular, random or small-world. Comparing the five attack experiments on Alzheimer's disease network, the network was more vulnerable under the attack to proteins with high closeness centrality (case study 3). Moreover the network of Parkinson's disease, had more damage under the attack to nodes with high degree centrality (case study 6). The five attacks on the ALS network did not caused much damage to the network, instead the result networks had similar results with the original network. Additionally after the 15 attacks, all networks described as more random comparing to original network.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΚΤΥΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ	8
1.1. Εισαγωγή	8
1.2. Δίκτυα Πρωτεϊνικών Αλληλεπιδράσεων.....	9
1.3. Επιθέσεις στα Δίκτυα	9
1.4 Θεωρία Γράφων.....	11
1.4.1. Εισαγωγή	11
1.4.2. Γράφος.....	11
1.4.3. Γράφος με Βάρη	11
1.4.4. Μονοπάτια	12
1.4.5. Τύποι Γράφων.....	12
1.5. Κεντρικότητα Κόμβων	12
1.5.1. Εισαγωγή	12
1.5.2. Κεντρικότητα Βαθμού (<i>Degree Centrality</i>).....	13
1.5.3. Κεντρικότητα Εγγύτητας (<i>Closeness Centrality</i>)	13
1.5.4. Ενδιάμεση Κεντρικότητα (<i>Betweenness Centrality</i>)	13
1.5.5. Κεντρικότητα Ιδιοδιανύσματος (<i>Eigenvector Centrality</i>)	14
1.6. Εφαρμογές Δικτύων Πρωτεϊνικών Αλληλεπιδράσεων.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	16
2.1. Εισαγωγή	16
2.2. Alzheimer	16
2.3. Parkinson	17
2.4. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	18
3.1. Ανθεκτικότητα Βιολογικών Δικτύων – Biological Network Robustness	18
3.2. Τοπολογική ανάλυση ανθεκτικότητας με την χρήση των μετρικών degree και betweenness centralities	19
3.3. Articulation Points Δικτύων και Ανθεκτικότητα.....	21
3.4. Βελτίωση Ανθεκτικότητας Δικτύων Διατηρώντας την Κοινοτική Δομή τους.....	22
3.5. Ανθεκτικότητα Σε Πολυεπίπεδα Βιολογικά Μοριακά Δίκτυα.....	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ	28
4.1. MalaCards.....	28
4.2. STRING	28

4.3. RShiny Application	29
4.4. Υλοποίηση ATheraNet	31
4.4.1. Περιβάλλον ATheraNet	31
4.4.2. Απεικόνιση Δικτύων	32
4.4.3. Community Detection	32
4.4.4. Articulation Points	33
4.4.5. Global & Local Metrics	34
4.4.6. Hubs & Authorities	34
4.4.7. Στρατηγικές Επιθέσεων	36
4.4.8. Στρατηγικές Θεραπευτικών Παρεμβάσεων	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	43
5.1. Case Study 1: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Degree</i>	44
5.2. Case Study 2: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Betweenness</i> ..	44
5.3. Case Study 3: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Closeness</i>	46
5.4. Case Study 4: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Eigenvector</i>	47
5.5. Case Study 5: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Global Μετρικής <i>Articulation Points</i>	49
5.6. Case Study 6: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Degree</i>	50
5.7. Case Study 7: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Betweenness</i> ...	52
5.8. Case Study 8: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Closeness</i>	53
5.9. Case Study 9: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Eigenvector</i>	55
5.10. Case Study 10: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Global Μετρικής <i>Articulation Points</i>	56
5.11. Case Study 11: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Degree</i>	57
5.12. Case Study 12: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Betweenness</i>	59
5.13. Case Study 13: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Closeness</i>	60
5.14. Case Study 14: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας <i>Eigenvector</i>	61
5.15. Case Study 15: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση της Global Μετρικής <i>Articulation Points</i>	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ	64
6.1. Συμπεράσματα	64
6.2. Μελλοντικές Προεκτάσεις	66
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελείται από έξι κεφάλαια, στα οποία αναλύονται οι θεματικές που περιλαμβάνουν «Επιθέσεις και Θεραπευτικές Παρεμβάσεις σε Βιολογικά Δίκτυα που Σχετίζονται με Ανθρώπινες Ασθένειες». Επιπλέον υλοποιήθηκαν 15 υπολογιστικά πειράματα και εξάχθηκαν συμπεράσματα που αφορούν τρεις νευροεκφυλιστικές ασθένειες: Alzheimer, Parkinson και Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS).

Στο **πρώτο** κεφάλαιο πραγματοποιείται εισαγωγή σε βασικές έννοιες, όπως δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, θεωρία γράφων, κεντρικότητα κόμβων, επιθέσεις σε δίκτυα και εφαρμογές δικτύων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Έπειτα στο **δεύτερο** κεφάλαιο, γίνεται εισαγωγή στην έννοια των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και παρουσιάζονται οι τρεις νόσοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη δικτύων: *Alzheimer*, *Parkinson* και *Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)*. Το **τρίτο** κεφάλαιο, αποτελεί την βιβλιογραφική ανασκόπηση όπου αναφέρεται η ανθεκτικότητα των βιολογικών δικτύων και πώς αυτή επηρεάζεται με τη διαγραφή κόμβων με υψηλό degree ή betweenness centrality είτε με την αφαίρεση των κόμβων που χαρακτηρίζονται ως articulation points. Επιπρόσθετα στο κεφάλαιο αυτό, περιγράφεται πώς μπορεί να βελτιωθεί η ανθεκτικότητα του δικτύου, διατηρώντας την κοινοτική δομή του. Τέλος αναλύθηκε η ανθεκτικότητα σε πολυεπίπεδα βιολογικά μοριακά δίκτυα, όπου παρατηρήθηκαν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τριών επιπέδων όπου το κάθε ένα περιγράφει τα εξής: γονίδια, πρωτεΐνες και μεταβολίτες. Το **τέταρτο** κεφάλαιο αναλύεται η μεθοδολογία και η υλοποίηση του online εργαλείου ATheraNet. Αρχικά, περιγράφονται οι βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία δικτύων και εν συνεχεία το περιβάλλον στο οποίο υλοποιήθηκε η online πλατφόρμα ATheraNet. Επιπρόσθετα προβάλλεται το online εργαλείο και η χρησιμότητά του. Αναλυτικά το εργαλείο αυτό, δίνει την δυνατότητα εφαρμογής επιθέσεων ή θεραπευτικών παρεμβάσεων στα προαναφερθέντα δίκτυα ή σε δίκτυα που εισάγει ο χρήστης στην πλατφόρμα αυτή. Συγκεκριμένα, προσφέρει απεικόνιση και ανάλυση δικτύων με τις εξής μετρικές: community detection, articulation points, global & local metrics, hubs και authorities. Επιπλέον παρέχει στον χρήστη τέσσερα εργαλεία επιθέσεων και τέσσερα εργαλεία θεραπευτικών παρεμβάσεων. Στο **πέμπτο** κεφάλαιο πραγματοποιούνται 15 επιθέσεις στις άνωθεν νόσους, με την διαγραφή κόμβων με υψηλό degree, betweenness, closeness ή eigenvector centrality είτε με την αφαίρεση πρωτεϊνών που ορίζονται ως articulation points. Ακολούθως αναγράφονται τα global αποτελέσματα επιθέσεων, συγκεκριμένα των μετρικών μέσου degree, closeness, betweenness και small-worldness, όπου καθορίζει αν ένα δίκτυο είναι τυχαίο, κανονικό ή μικρού κόσμου. Στα δίκτυα αυτά δεν εφαρμόστηκαν θεραπευτικές παρεμβάσεις λόγω έλλειψης γνώσης για το αν χαρακτηρίζονται ως «υγιούς» ή «νοσηρού» επιπέδου πρωτεϊνικά δίκτυα. Στο **έκτο** και τελευταίο κεφάλαιο αποδίδεται μια ερμηνεία στα αποτελέσματα επιθέσεων, όπου συγκρίνονται τα αποτελέσματα μεταξύ τους αλλά και με τις μετρήσεις που είχε το αρχικό δίκτυο. Επιπρόσθετα προτάθηκαν εισηγήσεις για πιθανές μελλοντικές προεκτάσεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΚΤΥΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ

1.1. Εισαγωγή

Ο όρος «*δίκτυα*» καλύπτει ένα ευρύ φάσμα, όπου η κύρια φιλοσοφία τους είναι η μεταβίβαση και η ανταλλαγή πληροφοριών μεταξύ κάποιων οντοτήτων. Τα δίκτυα υπάρχουν παντού στην καθημερινή ζωή και στην φύση. Στην καθημερινή ζωή, είναι για παράδειγμα ένα δίκτυο υπολογιστών ενός οργανισμού, όπου δύο ή περισσότεροι αυτόνομοι και ανεξάρτητοι διασυνδεδεμένοι υπολογιστές διαμοιράζονται πόρους (υλικού, λογισμικού) και ανταλλάζουν πληροφορίες μέσα σε ένα κανάλι επικοινωνίας. Οι διασυνδέσεις μεταξύ τους γίνονται *ενσύρματα* με χρήση καλωδίου ή *ασύρματα* χωρίς την χρήση καλωδίου (WiFi). Στην φύση έχουμε για παράδειγμα τα *βιολογικά δίκτυα*, όπου ασχολούνται με όλα τα επίπεδα του κλάδου, από το μοριακό μέχρι αυτό του οικοσυστήματος. Η χρήση των δικτύων σε αυτή την περίπτωση είναι διαφορετική, αφού χρησιμοποιούνται κυρίως για την απεικόνιση συσχετισμών των στοιχείων για την διευκόλυνση ανάλυσής αυτών. Επιπρόσθετα, *δίκτυα* ορίζουμε τις γραφικές αναπαραστάσεις πολύπλοκων συστημάτων, όπως της βιολογίας, όπου οι *κόμβοι* (nodes), αναπαριστούν τα στοιχεία και οι *ακμές* (edges), τις μεταξύ τους σχέσεις. Επιπλέον, οι σχέσεις ή οι «συνδέσεις» μεταξύ των συστατικών είναι καθοριστικής σημασίας, αφού μπορούν να μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε πληρέστερα με ποιο τρόπο λειτουργεί το σύνολο. Είναι συνήθως μια σχηματική και θεωρητική απεικόνιση, όπου οι κόμβοι αφορούν στοιχεία ενός κλάδου (π.χ. πρωτεΐνες, γονίδια) και οι ακμές, τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κόμβων.

Βιολογικά δίκτυα χαρακτηρίζουμε αυτά που αφορούν κοινότητες ζώντων οργανισμών ή των λειτουργιών τους και των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων. Υπάρχει μια πληθώρα βιολογικών μοριακών δικτύων, όπως τα ρυθμιστικά, μεταβολικά, σηματοδοτικά δίκτυα και τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Τα ρυθμιστικά δίκτυα αποτελούνται από γονίδια και οι σχέσεις τους αντιστοιχούν στις ρυθμίσεις έκφρασης των γονιδίων (ενεργοποίηση ή καταστολή). Μεταβολικά δίκτυα ονομάζουμε τα δίκτυα που περιλαμβάνουν ένζυμα που καταλύουν μεταβολικές αντιδράσεις και το αποτέλεσμα των αντιδράσεων αυτών, που είναι οι μεταβολίτες. Τα σηματοδοτικά δίκτυα ανήκουν σε μια κατηγορία «δικτυακών αντιδράσεων» που σχετίζονται με την μετάδοση πληροφορίας μέσω μοριακών σημάτων, δηλαδή της ενεργοποίησης ή καταστολής πρωτεϊνών ή ενζύμων. Τα πρωτεϊνικά δίκτυα, τα οποία θα αναλύσουμε εκτενώς στο επόμενο υποκεφάλαιο, είναι τύπου «μεικτά» δίκτυα με αλληλεπιδράσεις ποικίλων τύπων (π.χ. ρυθμιστικές αλλά και σηματοδοτικές), δηλαδή υπάρχουν πολλαπλές και διαφορετικές λειτουργικές σχέσεις μεταξύ των πρωτεϊνών [1].

Συνήθως τα δίκτυα μοριακού επιπέδου, έχουν μεγάλη πολυπλοκότητα λόγω των πολυάριθμων αλληλεπιδράσεων, στα οποία υπάρχουν πολλαπλά υποδίκτυα που συνδέονται και επικοινωνούν μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα μεγάλο δίκτυο. Η βιοπληροφορική με την χρήση της *θεωρίας γράφων* έχει βοηθήσει σε ένα μεγάλο βαθμό την ανάλυση βιολογικών δικτύων, αφού επιδεικνύονται συγκεκριμένα μοτίβα αλληλεπιδράσεων και συνεπώς εξάγονται διάφορα βιολογικά αποτελέσματα.

1.2. Δίκτυα Πρωτεϊνικών Αλληλεπιδράσεων

Κύρια βάση αυτών των δικτύων είναι οι πρωτεΐνες και οι αλληλεπιδράσεις τους, όπου η μελέτη αυτών είναι σημαντική για την κατανόηση του τρόπου λειτουργίας των πρωτεϊνών σε ένα κύτταρο. Όπως προαναφέραμε, τα πρωτεϊνικά δίκτυα έχουν τύπο «μεικτού» δικτύου αφού οι αλληλεπιδράσεις τους ποικίλλουν και κατ' επέκταση υπάρχει αδυναμία προσδιορισμού της φύσης των αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, τα δίκτυα αυτά απεικονίζονται με την μορφή γράφων στα οποία οι πρωτεΐνες είναι οι κόμβοι (nodes) και οι ακμές (edges) οι μεταξύ τους σχέσεις (αλληλεπιδράσεις). Οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών αναπαρίστανται συνήθως ως ένα μη κατευθυνόμενο γράφο (βλ. υποκεφάλαιο «Θεωρία Γράφων»), αγνοώντας τις βιοχημικές ιδιότητες και την βαρύτητα των αλληλεπιδράσεων.

Υπάρχει τεράστιος όγκος πληροφορίας σχετικής με τις πρωτεΐνες ο οποίος αυξάνεται ραγδαία τα τελευταία χρόνια. Οι αλληλεπιδράσεις που γίνονται εντός του κυττάρου είναι αναρίθμητες και υπολογίζεται ότι περίπου στο ανθρώπινο σώμα οι πρωτεΐνες μπορεί να φτάνουν τις 120.000 και οι αλληλεπιδράσεις τους 10^6 [2]. Η μελέτη των πρωτεϊνικών δικτύων που σχετίζονται με ασθένειες, μπορεί να συμβάλει στην βαθύτερη κατανόηση των νοσημάτων, με την εύρεση των σημαντικότερων πρωτεϊνών και της ταυτοποίησής τους με τα σχετιζόμενα γονίδια. Ακόμη η ανάλυση των δικτύων αυτών, μπορεί να βοηθήσει στον σχεδιασμό εξατομικευμένων φαρμάκων με βάση τα γονίδια των ασθενών, τα οποία σε αντίθεση με τα φάρμακα που είναι διαθέσιμα θα στοχεύουν σε συγκεκριμένα μόρια με σκοπό να μπλοκάρουν την ενεργοποίησή τους.

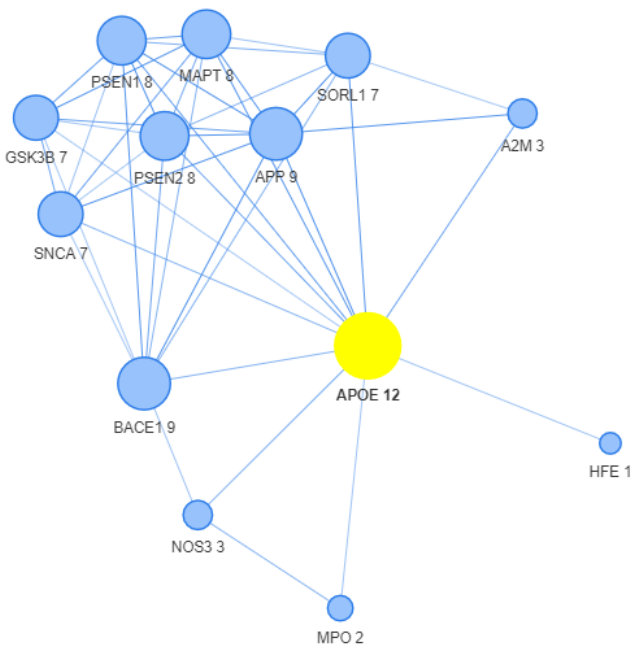
Ένα πρόβλημα που συναντάται στα δίκτυα αυτά είναι ότι λόγω των πολυάριθμων αλληλεπιδράσεων, κατά την διάρκεια της ταυτοποίησής τους μπορεί να προκύψουν εσφαλμένες θετικές αλληλεπιδράσεις. Ένα παράδειγμα εσφαλμένης θετικής αλληλεπίδρασης είναι όταν οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν έμμεσα μέσω άλλων μορίων, κάτι που ανιχνεύεται από πειραματικές μεθόδους ως άμεση αλληλεπίδραση. Ένα άλλο μειονέκτημα είναι η αδυναμία απόδοσης χωρικών και χρονικών ιδιοτήτων του πρωτεϊνικού δικτύου [2]. Δηλαδή, οι πληροφορίες που αφορούν τις πειραματικές συνθήκες που ανιχνεύθηκε μια αλληλεπίδραση ή των αριθμό των πειραμάτων που διεξάχθηκαν και επιβεβαίωσαν μία συγκεκριμένη αλληλεπίδραση.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία θα ασχοληθούμε με δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων των εξής νευροεκφυλιστικών ασθενειών: Alzheimer, Parkinson και Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS).

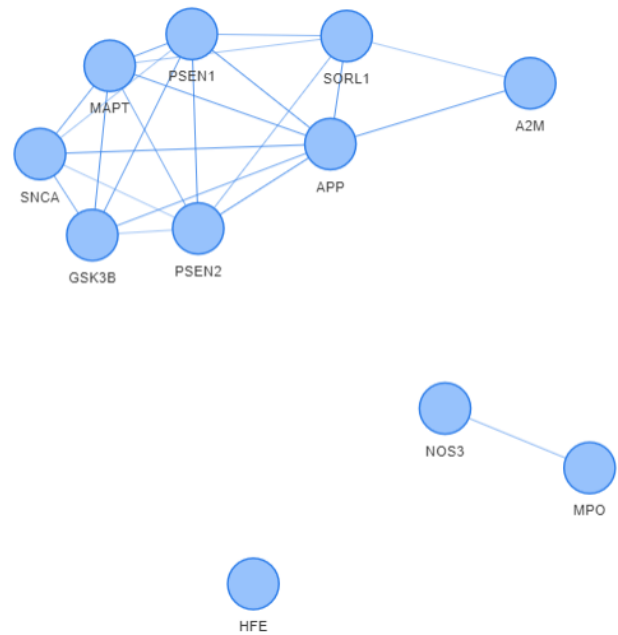
1.3. Επιθέσεις στα Δίκτυα

Για να πραγματοποιηθεί μια επίθεση και κατ' επέκταση να διαδοθεί, θα πρέπει ο επιτιθέμενος είτε αυτός είναι οντότητα (π.χ. κακόβουλο λογισμικό) είτε συστατικό στοιχείο (π.χ. φάρμακα), να εκμεταλλευτεί τα τρωτά σημεία που υπάρχουν σε ένα δίκτυο. Τα τρωτά σημεία που αφορούν κάθε δίκτυο ποικίλλουν. Για παράδειγμα τα υπολογιστικά συστήματα μπορεί να έχουν ως αδύναμο σημείο κάποια ελαττώματα στο λογισμικό ή σε κάποιο πρωτόκολλο, είτε υπάρχει η άγνοια του χρήστη με αποτέλεσμα να επιτρέπει την είσοδο μολυσμένων αρχείων στον υπολογιστή του, τα οποία στην συνέχεια να καθιστούν το σύστημά του μερικώς ή ολικώς μη λειτουργήσιμο. Στα βιολογικά δίκτυα η επίθεση μπορεί να επιτευχθεί όταν για παράδειγμα γίνει

στοχευμένη διαγραφή ενός κόμβου, ο οποίος έχει υψηλή συνδεσιμότητα από και προς άλλους κόμβους. Σε περίπτωση διαγραφής του, η πληροφορία δεν μεταδίδεται σε άλλους κόμβους, με πιθανό αποτέλεσμα κάποιοι κόμβοι να παραμείνουν χωρίς πρόσβαση στο σύστημα. Αναλυτικότερα μια εσκεμμένη επίθεση σε ένα πρωτεϊνικό δίκτυο, θεωρείται η επίθεση σε σημαντικούς κόμβους, οι οποίοι ορίζονται με την χρήση μετρικών κεντρικότητας (βλ. υποκεφάλαιο «Κεντρικότητα Κόμβων»). Οι μετρικές αυτές, θέτουν ποιες πρωτεΐνες έχουν σημαντική θέση στο δίκτυο και εν συνεχεία είναι πιθανότερο να προκαλέσουν μεγάλη ζημιά στο επικοινωνιακό δίκτυο. Συγκεκριμένα, μια επίθεση σε μια ύψιστης σημασίας πρωτεΐνη στο δίκτυο, προκύπτει από την διαγραφή του κόμβου αλλά και των διασυνδέσεων που έχει με άλλους κόμβους. Το μέγεθος της ζημιάς καθορίζεται με την χρήση διαφόρων μετρικών όπου επεξηγούν το πώς μεταβλήθηκε το δίκτυο, όσον αφορά για παράδειγμα την διανομή της πληροφορίας ή την μείωση των επικοινωνιακών τους σχέσεων. Η εικόνα 1 αφορά ένα παράδειγμα αφαίρεσης δύο κόμβων και των ακρών τους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται ως σημαντικοί λόγω της υψηλής συνδεσιμότητας που έχουν. Σύμφωνα με την εικόνα αυτή, οι δύο πρώτες πρωτεΐνες με τις περισσότερες διασυνδέσεις είναι οι ακόλουθες: *APOE*, *BACE1*, με 12 και 9 ακμές αντίστοιχα. Η εικόνα 2 δείχνει το δίκτυο μετά από την επίθεση – αφαίρεση στους κόμβους αυτούς, όπου είναι εμφανής η ύπαρξη αποκομμένων κόμβων από το υπόλοιπο δίκτυο.



Εικόνα 1: Του Example δίκτυο με εμφανής αριθμό διασυνδέσεων



Εικόνα 2: Επίθεση στις πρωτεΐνες *APOE*, *BACE1* με αποτέλεσμα την ύπαρξη αποκομμένων κόμβων

Ένα άλλο παράδειγμα επίθεσης σε ένα βιολογικό δίκτυο είναι η εναλλαγή ή και η διαγραφή συνδέσεων των κόμβων, με κατά συνέπεια κάποιοι κόμβοι οι οποίοι ήταν υψηλής σημαντικότητας να μετατραπούν σε κόμβους χαμηλής σημαντικότητας. Επιπλέον η πρόσθεση μεγάλου αριθμού νέων κόμβων που αλληλεπιδρούν με το ήδη υπάρχον σύστημα, μπορεί να επιφέρει το ίδιο αποτέλεσμα με το πιο πάνω, λόγω του ότι «σαμποτάρεται» το αρχικό δίκτυο και ως εκ τούτου αλλάζει η σημαντικότητα των υπάρχοντων κόμβων. Επίθεση σε δίκτυα

πραγματικού κόσμου, όπως για παράδειγμα σε μία πρωτεΐνη, μπορεί να θεωρηθεί η καταστολή της με κάποια συγκεκριμένα φάρμακα.

Στην παρούσα εργασία υλοποιήθηκαν 15 πειράματα επιθέσεων σε δίκτυα νευροεκφυλιστικών ασθενειών, με την χρήση διαφορετικών μετρικών κεντρικότητας, όπου αφαιρέθηκαν οι κόμβοι με τα υψηλότερα σκορ (βλ. υποκεφάλαιο «Κεντρικότητα Κόμβων»).

1.4. Θεωρία Γράφων

1.4.1. Εισαγωγή

Η «θεωρία γράφων» ανήκει στο πεδίο των διακριτών μαθηματικών και έχει εφαρμογές σε διάφορους κλάδους, ένας εκ των οποίων είναι και η πληροφορική. Η ανάγκη για απεικόνιση συσχετιζόμενων στοιχείων οδήγησε στην ανάπτυξη μιας μαθηματικής οντότητας που ονομάζεται *γράφος* (*graph*). Με την βοήθεια των γράφων, επιτυγχάνεται η αναπαράσταση σύνθετων και πολύπλοκων εννοιών που σχετίζονται μεταξύ τους και έχουν κάποια λειτουργικότητα. Οι γράφοι μέσα από την ανάπτυξη της επιστήμης των υπολογιστών, αποδείχθηκαν χρήσιμα βοηθήματα για την επίλυση σύνθετων προβλημάτων [4]. Χρησιμοποιούνται για παράδειγμα, για την σωστή και αποτελεσματική σχεδίαση των δικτύων, βελτιστοποιώντας την λειτουργία των δρομολογητών (*routers*). Επίσης χρησιμοποιούνται για την ευκολότερη ανάλυση πολύπλοκων δικτύων τα οποία περιέχουν πολλαπλούς συσχετισμούς. Η ανάλυση αυτή επιτυγχάνεται με μαθηματικούς αλγόριθμους οι οποίοι είναι θεμελιώδους σημασίας, λόγω της εξαγωγής χρήσιμων αποτελεσμάτων.

1.4.2. Γράφος

Γράφο ορίζουμε ένα διατεταγμένο ζεύγος $G=(V,E)$, όπου V είναι το σύνολο κόμβων (*vertices*) και το E το σύνολο ακμών (*edges*) που ενώνουν τους κόμβους μεταξύ τους. Υπάρχουν δύο είδη, οι *κατευθυνόμενοι* και οι *μη κατευθυνόμενοι* γράφοι. Οι **κατευθυνόμενοι** γράφοι χαρακτηρίζονται αυτοί οι οποίοι έχουν μια συγκεκριμένη διεύθυνση, δηλαδή καθορίζουν ποιος κόμβος στέλνει ή παραλαμβάνει την πληροφορία από άλλους, ενώ οι κόμβοι των **μη κατευθυνόμενων** γράφων έχουν μια αμφίδρομη σχέση μεταξύ τους.

1.4.3. Γράφος με Βάρη

Ένας γράφος με βάρη θέτει σε κάθε ακμή έναν αριθμό (βάρος) όπου συνήθως αντιπροσωπεύει το κόστος, το μήκος κ.ά., ανάλογα με το πρόβλημα που αναπαριστά. Δηλαδή η κάθε ακμή έχει ένα βάρος που είναι ανάλογο μιας ποσότητας σχετικής με μια συγκεκριμένη ιδιότητα [1]. Αυτό εφαρμόζεται για παράδειγμα στον προσδιορισμό συντομότερης διαδρομής σε ένα δίκτυο ηλεκτροδότησης, όπου οι μεγάλες αποστάσεις πρέπει να μειωθούν λόγω κόστους εγκατάστασης. Σε ένα βιολογικό δίκτυο με μεταβολικές αλληλεπιδράσεις, τα βάρη μπορεί να αντιστοιχούν σε θεωρητικές ή πειραματικές προσεγγίσεις συγγένειας ενζύμων και υποστρωμάτων.

1.4.4. Μονοπάτια

Μονοπάτι ονομάζουμε μια ακολουθία κόμβων, όπου ο κάθε κόμβος είναι δίπλα στον επόμενο. Στους κατευθυνόμενους γράφους, το μονοπάτι ακολουθεί μόνο την κατεύθυνση που ορίζεται από τις ακμές, ενώ στους μη κατευθυνόμενους το μονοπάτι δεν έχει διεύθυνση. Μήκος μονοπατιού θέτεται ως ο αριθμός των ακμών από τον οποίο περνά ένας αλγόριθμος. Μερικοί τύποι μονοπατιών είναι, απλός όπου κάθε ακμή ή κόμβος εμφανίζεται το πολύ μια φορά στην αλληλουχία και κύκλος αν ο αρχικός και ο τελικός κόμβος συμπίπτουν [5]. Το συντομότερο μονοπάτι μεταξύ δύο οποιονδήποτε κόμβων του δικτύου αντιστοιχείται σε μια διαδρομή η οποία ακολουθείται, έτσι ώστε να προσπελαστεί ο ελάχιστος αριθμός κόμβων. Το συντομότερο μονοπάτι είναι ένα διάλυμα με καθορισμένη σειρά στοιχείων [1].

1.4.5. Τύποι Γράφων

Υπάρχουν τρεις τύποι γράφων οι οποίοι είναι οι ακόλουθοι: τυχαίος (*random*), κανονικός (*regular*) γράφος και γράφος μικρού κόσμου (*small-world*). Οι τρεις μετρικές που καθορίζουν τον τύπο δικτύου είναι το *characteristic path length* (L), το *clustering coefficient* (C) και η διάμετρος. Το *characteristic path length* (L) αφορά τον μέσο όρο του μήκους των συντομότερων μονοπατιών που συνδέει κάθε ζεύγος κόμβων, ενώ το *clustering coefficient* (C) ορίζεται ως μετρική τοπικής αλληλοσύνδεσης όπου μετρά το ποσοστό των γειτόνων ενός κόμβου οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι μεταξύ τους [31]. Η διάμετρος αφορά το μήκος του μακρύτερου από τα συντομότερα μονοπάτια [31]

Τυχαίο (*random*) γράφο χαρακτηρίζουμε το δίκτυο το οποίο έχει χαμηλό *path length* και *clustering coefficient*. Επιπλέον οι συνδέσεις του περιγράφονται ως τυχαίες και η διάμετρός του ορίζεται ως μικρή. Ο κανονικός (*regular*) γράφος από την άλλη, έχει υψηλό *clustering coefficient* και *path length*. Επιπλέον έχει υψηλή πυκνότητα συνδέσεων μεταξύ των κοντινότερων κορυφών και η διάμετρός του θέτεται ως μεγάλη. Γράφο μικρού κόσμου (*small-world*) έχουμε όταν οι περισσότεροι κόμβοι δεν είναι γείτονες μεταξύ τους αλλά γείτονες οποιουδήποτε κόμβου που είναι πιθανό να είναι γείτονες μεταξύ τους. Οι περισσότεροι κόμβοι είναι προσβάσιμοι από οποιονδήποτε άλλο κόμβο με ένα μικρό αριθμό βημάτων. Επιπρόσθετα τα δίκτυα μικρού κόσμου, έχουν ιδιότητες κανονικών και των τυχαίων γράφων, όπου έχουν μικρό ή ενδιάμεσο *path length* και υψηλό *clustering coefficient*.

1.5. Κεντρικότητα Κόμβων

1.5.1. Εισαγωγή

Η κεντρικότητα κόμβων (*node centrality*) είναι ένα βασικό μέτρο στην ανάλυση δικτύων, λόγω του ότι καθορίζεται η σημασία που έχει ένας κόμβος στο δίκτυο. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι υπολογισμού της σημαντικότητας, κατά τους οποίους εξάγονται ανόμοια αποτελέσματα. Η σημαντικότητα του κόμβου συχνά αλλάζει σύμφωνα με την κάθε μέθοδο που χρησιμοποιείται. Οι αλγόριθμοι που θα χρησιμοποιηθούν σε αυτή την εργασία, για τον ορισμό κεντρικότητας γράφων είναι οι ακόλουθοι: κεντρικότητα βαθμού (*degree*), κεντρικότητα εγγύτητας (*closeness*), ενδιάμεση (*betweenness*) κεντρικότητα και κεντρικότητα ιδιοδιανύσματος (*eigenvector*).

1.5.2. Κεντρικότητα Βαθμού (Degree Centrality)

Η κεντρικότητα *βαθμού* (*degree centrality*) είναι μια μέτρηση η οποία βοηθά στην ανάλυση πληροφορίας που ανταλλάσσεται ανάμεσα στους κόμβους. Στους *μη κατευθυνόμενους* γράφους ορίζεται ως ο αριθμός των ακμών που προσπίπτει στον εκάστοτε κόμβο,

$$k_i = L$$

όπου το k_i είναι ίσο με τον αριθμό των συνδέσεων (L) που έχει ο i κόμβος.

Ο βαθμός των κόμβων δίνει άμεσα πολλές πληροφορίες που σχετίζονται με τα στατιστικά στοιχεία του δικτύου. Για παράδειγμα με τον υπολογισμό του βαθμού κάθε κόμβου που εμπεριέχεται στο δίκτυο, εντοπίζονται οι κόμβοι που είναι περισσότερο διασυνδεδεμένοι στο δίκτυο, δηλαδή τα συστατικά στοιχεία που αλληλεπιδρούν πιο έντονα με τα υπόλοιπα [1].

1.5.3. Κεντρικότητα Εγγύτητας (Closeness Centrality)

Κεντρικότητα εγγύτητας (*closeness centrality*), στους *μη κατευθυνόμενους* γράφους, ονομάζουμε την συνολική απόσταση ενός κόμβου από τους γείτονές του. Δηλαδή, αποδίδονται υψηλές τιμές σε κόμβους που βρίσκονται σε κοντινότερες αποστάσεις με τους υπόλοιπους του δικτύου [6]. Η απόσταση μεταξύ δύο κόμβων έχει μήκος ίσο με το πλήθος των συνδέσεων από τον ένα κόμβο προς τον άλλο. Η απόσταση αυτή ονομάζεται *γεωδαιτική* και συμβολίζεται ως $d(i, j)$ (i, j κόμβοι). Η κεντρικότητα ορίζεται ως,

$$C_{closeness}(i) = \frac{1}{\sum_{i \neq j} d(i, j)}$$

όπου $C_{closeness}$ η τιμή που παίρνει ο κόμβος i και $\sum_{i \neq j}$ το άθροισμα της γεωδαιτικής $d(i, j)$ απόστασης με $i \neq j$.

Όσο μικρότερη είναι η απόσταση μεταξύ ενός κόμβου από τους υπόλοιπους, τόσο πιο γρήγορα μεταδίδεται η πληροφορία διά μέσου αυτού [7]. Ο κόμβος με την μικρότερη τιμή *closeness* έχει μια πολύ ευνοϊκή θέση στο δίκτυο, αφού μπορεί να αποκτήσει μια πολύ σημαντική πληροφορία πολύ γρήγορα.

1.5.4. Ενδιάμεση Κεντρικότητα (Betweenness Centrality)

Η ενδιάμεση κεντρικότητα (*betweenness centrality*) διαφέρει από τις δύο πιο πάνω μετρικές, οι οποίες κρίνονται ακατάλληλες για την χρήση τους, εφόσον υπάρχουν απομονωμένοι κόμβοι σε ένα γράφο. Η συγκεκριμένη κεντρικότητα έχει κατά κύρια βάση το πλήθος των σύντομων διαδρομών που έχει ένας κόμβος. Δηλαδή η μέτρηση αυτή, εντοπίζει τους σημαντικούς κόμβους που βρίσκονται στα μονοπάτια άλλων κόμβων μέσα σε ένα δίκτυο. Η κεντρικότητα ορίζεται με το εξής: όσο πιο συχνά εμφανίζεται ένας κόμβος στο ελάχιστο μονοπάτι μεταξύ δύο άλλων κόμβων, τότε τόσο πιο υψηλή τιμή παίρνει, τόσο πιο κεντρικός είναι στο δίκτυο. Επιπλέον υποδηλώνει το πόσες φορές ένας κόμβος επιλέγεται για να διακινήσει μία πληροφορία ανάμεσα στους κόμβους του δικτύου, δεδομένου ότι οι κόμβοι αναζητούν και επιλέγουν κάθε φορά το

σύντομο μονοπάτι [7]. Με αυτό τον τρόπο διαδίδεται η πληροφορία εν συντομία, με αποτέλεσμα ο κόμβος με το μεγαλύτερο σκορ ενδιάμεσης κεντρικότητας να έχει μεγαλύτερο έλεγχο στην ροή πληροφοριών μέσα σε ένα δίκτυο. Η ακόλουθη εξίσωση συμπληρώνει τον πιο πάνω ορισμό:

$$C_{betweenness}(i) = \sum_{s \neq i \neq t} \frac{\sigma_{st}(i)}{\sigma_{st}}$$

όπου $\sigma_{st}(i)$ ο συνολικός αριθμός των σύντομων αποστάσεων από τον κόμβο s προς τον κόμβο t (σ_{st}), οι οποίοι περνούν από τον κόμβο i .

1.5.5. Κεντρικότητα Ιδιοδιανύσματος (Eigenvector Centrality)

Η *κεντρικότητα ιδιοδιανύσματος (eigenvector centrality)* καθορίζει την επιρροή που έχει ένας κόμβος στο δίκτυο. Αποτιμά την αξία ενός κόμβου ως προς την σημαντικότητα των κόμβων με τους οποίους συνδέεται [7]. Δηλαδή, υπολογίζεται το πλήθος των συνδέσεων ενός δεδομένου κόμβου με τους γείτονές του, οι οποίοι έχουν υψηλή σημαντικότητα. Η βαθμολογία αυτή διαφέρει από την κεντρικότητα βαθμού, διότι καθορίζει μια τιμή σύμφωνα με τις συνδέσεις του εκάστοτε κόμβου με άλλους υψηλόβαθμους κόμβους και όχι με βάση των πολλαπλών συνδέσεων που έχει απλά ένας κόμβος. Με την χρήση αυτής της κεντρικότητας, είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε ποιος κόμβος είναι συνδεδεμένος με τους περισσότερους ισχυρούς γείτονες στο δίκτυο και κατ' επέκταση που θα είναι σε θέση να λάβει πολλές χρήσιμες πληροφορίες. Η ακόλουθη εξίσωση προσάπτεται στον προαναφερθέντα ορισμό:

$$C_{eigenvector}(i) = \frac{1}{\lambda} \sum_j \alpha_{ij} C_j^{DEG}$$

Όπου i ο δεδομένος κόμβος και j ο κάθε γειτονικός κόμβος του i . Το α_{ij} είναι η ακμή που συνδέει τον κόμβο i με τον κόμβο j και λ η ιδιοτιμή του κόμβου i .

1.6. Εφαρμογές Δικτύων Πρωτεϊνικών Αλληλεπιδράσεων

Η ανάλυση και μελέτη πρωτεϊνικών δικτύων μπορούν να δώσουν σημαντικά αποτελέσματα όσον αφορά τα διάφορα νοσήματα. Μια ασθένεια προκύπτει από πολλαπλές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ υγιών και πιθανών διαταραγμένων (μεταλλαγμένων) πρωτεϊνών. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές είναι πολύπλοκες και για τον λόγο αυτό αναπτύχθηκαν δίκτυα που περιγράφουν τις επικοινωνιακές τους σχέσεις. Τα δίκτυα αυτά, είναι χρήσιμα εργαλεία για την κατανόηση των ασθενειών, όπου με την χρήση τους μπορούν να βρεθούν μερικά μοτίβα τα οποία φανερώνουν το νόημα των σχέσεων που έχουν μεταξύ τους. Δηλαδή, με την ανάλυση των δικτύων, μπορεί να διαπιστωθεί ποια πρωτεΐνη ενεργοποίησε ή απενεργοποίησε κάποια άλλη και ποια είχε λανθασμένη λειτουργία. Επιπρόσθετα, η διάταξη των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, αναδεικνύει δεδομένα ανεκτίμητης φύσης σχετικά με την πρόβλεψη και την δημιουργία μιας συνολικής εικόνας που σχετίζεται με τις πρωτεϊνικές λειτουργίες.

Πολλές μελέτες χρησιμοποίησαν τοπολογία δικτύων για να κατατάξουν τους κόμβους (πρωτεΐνες) που εμπλέκονται σε σημαντικές βιολογικές διαδικασίες. Η κατάταξη αυτή, επιτεύχθηκε με την χρήση των μετρικών κεντρικότητας στο εκάστοτε πρωτεϊνικό δίκτυο. Για παράδειγμα μια μελέτη που εφάρμοσε μετρικές, έδειξε πως οι ακόλουθες πρωτεΐνες που σχετίζονται με το Alzheimer: *APPP05067*, *SP1*, *GSK3B*, *PSEN1* και *UBBP0CG47*, είναι πιο ενεργές στο δίκτυο και αντιστοιχούνται με κρίσιμες διεργασίες που αφορούν το προαναφερθέν νόσημα [8]. Με την εξαγωγή των αποτελεσμάτων αυτών, μπορούν να προσδιοριστούν συγκεκριμένα φάρμακα-στόχοι για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας χορήγησής τους. Άλλες μελέτες χρησιμοποίησαν πρωτεϊνικά δίκτυα διαφόρων ασθενειών για την πραγματοποίηση σύγκρισής τους, έτσι ώστε να διαφανούν οι κοινές πρωτεΐνες που είναι πιο πιθανόν να συνδέουν τις ασθένειες αυτές [9]. Με αυτή την ανάλυση των δικτύων πολλαπλών ασθενειών μπορούν να εντοπιστούν οι ομοιότητες μεταξύ δύο ή περισσότερων νόσων, με σκοπό την διαπίστωση ενός κοινού σημείου παρέμβασης. Σε μια έρευνα διαπιστώθηκε ότι η οδός σηματοδότησης (signaling pathway) του υποδοχέα τύπου Toll είναι ένα πιθανό κοινό σημείο παρέμβασης στις εξής νευροεκφυλιστικές ασθένειες με το Parkinson: εκφύλιση του μετωπιαίου και κροταφικού λοβού (FTLD) και της Πλάγιας Μυατροφικής Σκλήρυνσης (ALS) [9]. Μια άλλη εφαρμογή είναι η σύγκριση πρωτεϊνικών δικτύων ασθενειών για την ανάδειξη κοινών συμπτωμάτων. Για παράδειγμα, το Parkinson χαρακτηρίζεται από τρέμουλο, ακινησία και ακαμψία. Μια μελέτη που χρησιμοποίησε τα δίκτυα αυτά, επισήμανε παρόμοια συμπτώματα της νόσου Parkinson με ασθένειες που σχετίζονται με ουσίες, όπως δηλητηρίαση από υδράργυρο και δηλητηρίαση από μαγγάνιο [10].

Τέλος, υπάρχει μια ευρεία εφαρμογή δικτύων που έχει ως σκοπό την κατανόηση των πρωτεϊνικών λειτουργιών. Αν η επιστημονική κοινότητα καταφέρει να ξεπεράσει τα εμπόδια των πολύπλοκων δικτύων, θα καταφέρει να κατανοήσει τις ασθένειες σε ένα μεγάλο βαθμό και αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την επίτευξη καλύτερης περίθαλψης των ασθενών. Ο κλάδος της πληροφορικής είναι πολύ σημαντικός σε αυτή την διαδικασία, λόγω του ότι υπάρχει τεράστιος όγκος δεδομένων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων ο οποίος καθιστά την ανάλυση πιο δύσκολη. Με την χρήση μαθηματικών αναλύσεων αναγνωρίζονται τα διάφορα μοτίβα σχέσεων που υπάρχουν, είτε αυτά αφορούν τις πρωτεΐνες μιας ασθένειας είτε πρωτεϊνών πολλαπλών ασθενειών. Με αυτή την αναγνώριση μπορούν να συγκριθούν τα διάφορα νοσήματα που υπάρχουν, με βάση το μοριακό τους επίπεδο (πρωτεΐνες) εξαγοντας την απαραίτητη γνώση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

2.1. Εισαγωγή

Ο όρος «νευροεκφυλιστικές ασθένειες» αποτελεί ένα ευρύτερο όρο ο οποίος περιλαμβάνει ένα μοτίβο από παθήσεις, οι οποίες έχουν ως απόρροια τους νευρώνες του ανθρώπινου εγκεφάλου [32]. Οι νευρώνες είναι δομικές μονάδες του νευρικού συστήματος που εμπερικλείει τον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό. Γενικά, οι νευρώνες δεν δύναται να αναπαραχθούν και να ανανεωθούν, άρα εάν υποστούν βλάβη ή πεθάνουν δεν δύναται να αντικατασταθούν από τον οργανισμό [32]. Μεταξύ των ποικίλων νευροεκφυλιστικών διαταραχών χαρακτηριστικές είναι η νόσος Alzheimer(AD), η νόσος του Parkinson (PD), η νόσος του Huntington (HD) και η αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS).

Οι νευροεκφυλιστικές νόσοι εκδηλώνονται ως μια τεράστια μονάδα νευρολογικών διαταραχών με ετερογενείς κλινικές και παθολογικές εκδηλώσεις που επιδρούν σε ειδικές υποομάδες νευρώνων σε εξειδικευμένα ανατομικά λειτουργικά συστήματα. Η αρχή τους μέχρι τώρα δεν έχει προσδιοριστεί εφόσον πρόκειται για ασαφείς λόγους και μπορούν να εξελιχθούν σε αρκετή σοβαρή μορφή [33]. Οι παράγοντες που δύναται να προκαλέσουν νευροεκφυλιστικά νοσήματα είναι ανοίκιες και άγνωστες εντούτοις και όταν υπάρχει αναγνώριση, ο τρόπος έναρξης της ασθένειας διατηρείται στη σφαίρα της θεωρίας [33].

Ένας κύριος παράγοντας ανάμεσα στους επιστήμονες που μελετούν τις νευροεκφυλιστικές διαταραχές, είναι ο ρόλος γενετικών, περιβαλλοντικών και πολυπαραγοντικών παραγόντων στην αρχή αυτών των ασθενειών. Μερικές νευροεκφυλιστικές ασθένειες παρουσιάζουν καθαρά οικογενή χαρακτήρα, οπότε πρόκειται για ασθένειες με γενετική βάση [33,34].

2.2. Alzheimer

Η νόσος Alzheimer αποτελεί μία χρόνια νευροεκφυλιστική νόσος του εγκεφάλου, η οποία αλλοιώνει αργά τη μνήμη και τη σκέψη του, και τελικά ακόμα και τη δυνατότητα να εκτελεί απλές εργασίες η οποία διαρκώς χειροτερεύει και ακολουθείται από ποικίλλα νευρολογικά και ψυχιατρικά συμπτώματα τα οποία έχουν ως απόρροια την απώλεια της δεξιότητας του ατόμου για ανεξαρτησία και δύναται να οδηγήσει στο θάνατο [35].

Στην χρονιαία έκθεση για το 2012, η Εταιρεία Νόσου Alzheimer (AA) υπολογίζει ότι 5,4 εκατομμύρια άνθρωποι στις ΗΠΑ υποφέρουν από τη νόσο του Alzheimer (AD). Η επικινδυνότητα του AD μεγαλώνει ανάλογα με την ηλικία, επομένως αν δεν εφευρεθούν καινούριες θεραπείες, ο αριθμός αυτός θα αυξηθεί ραγδαία εφόσον μέχρι το 2050, υπολογίζεται ότι 11- 16 εκατομμύρια Αμερικανοί θα έχουν την νόσο, εφόσον μία νέα υπόθεση θα εμφανίζεται κάθε 33 δευτερόλεπτα [36].

Η νόσος Alzheimer μπορεί να εντοπιστεί συνήθως σε ασθενείς ηλικίας άνω των 65 ετών. Ωστόσο εμφανίζεται και σε άτομα που διανύουν την πέμπτη δεκαετία της ζωής τους, παρόλο που ο αριθμός των περιστατικών αυτών είναι σχετικά μικρός [37]. Η ακριβής αιτία της νόσου παραμένει τεράστια πρόκληση. Οι επιστήμονες, σε γενικές γραμμές, συμφωνούν ότι δεν έχει εξακριβωθεί η ακριβής αιτία που προκαλεί τη νόσο Alzheimer. Πιστεύουν ότι αποτελεί ένα

συνδυασμό εσωτερικών παραγόντων, όπως είναι οι γονιδιακοί παράγοντες, και εξωτερικών, όπως είναι μία κάκωση κεφαλής [35].

2.3. Parkinson

Η ονομασία της νόσου Parkinson προέρχεται από τον βρετανό ιατρό James Parkinson ο οποίος την περιέγραψε το 1817, με το όρο «τρομώδη παράλυση». Εντούτοις έγιναν περιγραφές ατόμων με τρόπο κατά την ηρεμία ή την κίνηση από τον ιατρό της αρχαιότητας Γαληνό αλλά και από τον Leonardo Da Vinci. Η νόσος του Parkinson (ΝΠ) είναι εκφυλιστική νευρολογική νόσος η οποία εμπερικλείεται από τρόπο στην ηρεμία, μυϊκή δυσκαμψία, βραδυκίνησία και αστάθεια θέσης [38,39]. Τα αίτια της είναι προς το παρόν άγνωστα και απροσδιόριστα. Υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να δημιουργείται από ποικίλους γενετικούς και περιβαλλοντολογικούς παράγοντες που επηρεάζουν ο ένας τον άλλο μεταξύ τους [39].

Η νόσος δύναται ξεκινήσει με διαφορετικούς τρόπους σε κάθε περίπτωση και αρκετοί ασθενείς μπορεί να μην νιώθουν ενόχληση ή να μην γίνεται αντιληπτό από τους ίδιους στα αρχικά στάδια [39].

Η νόσος Parkinson δύναται να εκδηλωθεί ως εξής:

- Τρόμος ηρεμίας στο άνω άκρο, μονόπλευρα
- Ελαττωμένη ένταση φωνής και δυσκατάληπτη ομιλία
- Σιελόρροια
- Υπομμία (ελαττωμένη συναισθηματική έκφραση του προσώπου)
- Διαφοροποίηση στο γραφικό χαρακτήρα με μικρά γράμματα, απώλεια δεξιότητας σε λεπτές κινήσεις (κουμπιά, μαχαιροπέρουνα)
- Συρτό και κοντό βάδισμα με σκυρτή στάση
- Γενική κινητική επιβράδυνση κάποτε με μυϊκούς πόνους
- Διαταραχή ύπνου REM (παραμιλητό και κινήσεις στον ύπνο) κ.α.

2.4. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

Αρχικά η διάγνωση του ALS ήταν δύσκολη εξαιτίας της έλλειψης βασικών γνώσεων. Η Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS, όπως δύναται να χαρακτηριστεί ως «νόσος του Lou Gehrig» στις ΗΠΑ) είναι η πιο συνηθισμένη ασθένεια του κινητήριου νευρώνα σε ενήλικες. Η συγκεκριμένη ασθένεια, ονομάζεται επίσης και ως νόσος του κινητικού νευρώνα, είναι μια σπάνια νευρομυϊκή ασθένεια με δυνατότητα εμφάνισης περίπου 1 στις 100.000. Δύναται να χαρακτηριστεί από μυϊκή αδυναμία από τον εκφυλισμό των κινητικών νευρώνων με άμεση επίδραση στις διαταραχές της προσωπικότητας [36]. Επιπρόσθετα, αποτελεί μια επικίνδυνη νευρολογική πάθηση που προκαλεί μυϊκή αδυναμία, αναπηρία και δύναται να οδηγήσει τον άνθρωπο σε θάνατο [40]. Τα βασικά συμπτώματα δύναται να αναπτυχθούν σταδιακά. Αρχικά εκδηλώνονται με αδυναμία στις αρθρώσεις, ή αδυναμία στις αρθρώσεις των ώμων ή στις αρθρώσεις των ποδιών, με αποτέλεσμα να υπάρχει δυσκολία στο βάδισμα [40].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

3.1. Ανθεκτικότητα Βιολογικών Δικτύων – Biological Network Robustness

Πολλές μελέτες εστίασαν στην ανθεκτικότητα των βιολογικών δικτύων για την διαφάνεια της μεταβλητότητας του δικτύου όταν αυτό υπόκειται σε κάποιες αλλαγές. Τα επιστημονικά άρθρα αυτά, έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα και η ευθραυστότητα των βιολογικών δικτύων συσχετίζονται μεταξύ τους. Τα πολύπλοκα συστήματα περιγράφονται ως ανθεκτικά ενάντια σε κάποιες τυχαίες διαταραχές και εξαιρετικά ευάλωτα έναντι σε στοχευμένες απειλές [11,12,13,14]. Για παράδειγμα, το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ανθεκτικό ενάντια σε παθογενείς απειλές (π.χ. βακτήρια) αλλά εύθραυστο σε απροσδόκητες αποτυχίες ή βλάβες, όπως για παράδειγμα η απώλεια λειτουργικότητας του γονιδίου MyD88 το οποίο παρέχει οδηγίες για την κατασκευή μιας πρωτεΐνης, η οποία εμπλέκεται στη επικοινωνία μεταξύ των ανοσοκυττάρων [11]. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα των δικτύων είναι μια ιδιότητα, που επιτρέπει σε ένα σύστημα να διατηρεί τις λειτουργίες που λαμβάνουν χώρα σε αυτό, παρά τις οποιεσδήποτε εξωτερικές ή εσωτερικές διαταραχές που συμβαίνουν [15]. Είναι ένα θεμελιώδες φαινόμενο, όσον αφορά το επίπεδο του συστήματος, το οποίο δεν μπορεί να γίνει κατανοητό μελετώντας τα μεμονωμένα συστατικά που το απαρτίζουν. Ένα βιολογικό σύστημα πρέπει να είναι ισχυρό έτσι ώστε να διατηρεί την λειτουργικότητά του έναντι στις απρόβλεπτες μεταβολές του περιβάλλοντος. Η κατανόηση της προέλευσης και των αρχών της ανθεκτικότητας των βιολογικών συστημάτων, θα βοηθήσει ώστε τα διάφορα βιολογικά φαινόμενα να μουν σε μια αντικειμενική οπτική. Δηλαδή, θα διαφανούν οι δομές επικοινωνίας των συστατικών μερών του συστήματος και το πώς μεταβάλλεται το σύστημα αυτό στις τυχαίες διαταραχές ή σε μία εσκεμμένη επίθεση έναντι κάποιων συστατικών.

Η ανθεκτικότητα με βάση τα πιο πάνω ορίζεται ως, «ένα συστατικό μέρος ενός συστήματος είναι ανθεκτικό εάν αυτό καθίσταται αμετάβλητο κάτω από ένα σύνολο διαταραχών» [16].

Στην πραγματικότητα η ανθεκτικότητα είναι η διατήρηση συγκεκριμένων λειτουργιών του συστήματος όταν συμβαίνουν κάποιες διαταραχές και αυτό συχνά απαιτεί από το σύστημα να αλλάξει τον τρόπο λειτουργίας του με ευέλικτο τρόπο [15]. Με άλλα λόγια, η ανθεκτικότητα επιτρέπει να υφίστανται κάποιες αλλαγές στην δομή του συστήματος και των συστατικών μελών του όταν πραγματοποιείται μια διαταραχή, αλλά ταυτόχρονα διατηρεί μερικές συγκεκριμένες λειτουργίες [15].

Με την μελέτη και ανάλυση της ανθεκτικότητας βιολογικών δικτύων, είμαστε σε θέση να διαπιστώσουμε πώς επηρεάζεται το επικοινωνιακό δίκτυο, για παράδειγμα, των πρωτεϊνών όταν αυτές χάνουν την λειτουργικότητά τους ή όταν γίνεται κάποια στοχευμένη επέμβαση στο δίκτυο με την χρήση π.χ. φαρμάκων, τα οποία αναστέλλουν ή βοηθούν την λειτουργικότητα μιας πρωτεΐνης. Πιο κάτω περιγράφονται οι διάφοροι τρόποι που ακολούθησαν κάποιες μελέτες, έτσι ώστε να βελτιωθεί η ανθεκτικότητα ή να αναλυθεί το πώς διαταράχθηκε αυτή όταν έγιναν κάποιες επιθέσεις σε ύψιστης σημασίας πρωτεΐνες. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν κάποια τοπολογικά χαρακτηριστικά (μετρικές κεντρικότητας – centrality measures) για να επιτευχθεί η μελέτη της ανθεκτικότητας.

3.2. Τοπολογική ανάλυση ανθεκτικότητας με την χρήση των μετρικών degree και betweenness centralities

Όπως προαναφέραμε, τα βιολογικά δίκτυα παρουσιάζουν υψηλή ανθεκτικότητα έναντι τυχαίων αστοχιών, αλλά καθίστανται εύθραυστα σε στοχευμένες επιθέσεις που αφορούν σημαντικές πρωτεΐνες. Η σημαντικότητα των πρωτεϊνών καθορίζεται με το πόσο κεντρικοί είναι στο δίκτυο. Η κεντρικότητα αυτή υπολογίζεται με διάφορες μετρικές, όπως αναφερθήκαμε και στο υποκεφάλαιο «Κεντρικότητα Κόμβων». Η μελέτη που θα περιγραφεί ακολούθως, έχει ως στόχο την αποκάλυψη κλειδιών τα οποία θα αυξήσουν την αποτελεσματικότητα χημειοθεραπείας με την χρήση τεμοζολομίδης (TMZ), ενάντια στην νόσο του γλοιώματος. Το γλοίωμα είναι ένας όγκος στον εγκέφαλο, ο οποίος δημιουργείται από τριών τύπων κύτταρα, τα οποία σχηματίζουν τον ιστό που περιβάλλει και στηρίζουν τα νευρικά κύτταρα του εγκεφάλου [17].

Για την επίτευξη του προαναφερθέντος στόχου, χρησιμοποιήθηκαν οι μετρικές κεντρικότητας βαθμού (degree) και ενδιάμεσης κεντρικότητας (betweenness). Έπειτα έγιναν στοχευμένες επιθέσεις με βάση το degree, betweenness και τον συνδυασμό αυτών. Αναπτύχθηκαν δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων που σχετίζονται με την χημειοαντίσταση της ουσίας τεμοζολομίδης, η οποία χρησιμοποιείται για την θεραπεία γλοιώματος. Τα δίκτυα αυτά, δημιουργήθηκαν χρησιμοποιώντας δεδομένα ανθρωπίνων δειγμάτων τα οποία εξάχθηκαν από την βάση δεδομένων PubMed και από δεδομένα προηγούμενων μελετών που σχετίζονται με ανθεκτικές κυτταρικές σειρές σε TMZ. Η υλοποίηση των πρωτεϊνικών δικτύων έγινε με την χρήση του Cytoscape plugin GeneMania και της βάσης δεδομένων Human Signaling Network. Η ανάλυση των δικτύων πραγματοποιήθηκε με την χρήση του εργαλείου Cytoscape Plugin Network Analyzer και το plugin CentiScaPe. Η αναγνώριση των ομάδων με τους πυκνότερα συνδεδεμένους κόμβους (modules) ανιχνεύθηκε με την χρήση του Cytoscape plugin, clusterMaker. Για την ολοκλήρωση της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν επίσης τα εργαλεία Enrichr και οι βάσεις δεδομένων EGG, Wiki pathways, Reactome, Biocarta και Gene Ontology. Μετά την υλοποίηση του δικτύου, οι ομάδες με τους πυκνότερους διασυνδεδεμένους κόμβους (modules) ταυτοποιήθηκαν υπολογίζοντας το clustering coefficient του κάθε κόμβου. Η παράμετρος αυτή, υπολογίζει τον αριθμό των συνδέσεων μεταξύ των γειτόνων και ενός δεδομένου κόμβου. Όσο περισσότερες συνδέσεις έχει ένας κόμβος με τους γείτονές του, τόσο αυξάνεται το clustering coefficient. Τα υποσύνολα συνδεδεμένων πρωτεϊνών (modules) μπορεί να συσχετιστούν με την αντίσταση της TMZ ουσίας, καθώς οι πρωτεΐνες που ανήκουν σε ένα δεδομένο module μπορεί να συμμετέχουν συλλογικά σε συγκεκριμένες λειτουργίες. Η ανάλυση των module αυτών, έδειξε την συμμετοχή τους σε διάφορες λειτουργίες, όπως ριβοσωμικές λειτουργίες, πολλαπλασιασμό και επιβίωση κυττάρων, κυτταρικό στρες κ.α.

Ακολουθήθηκαν κάποιες στρατηγικές επιθέσεων για να αξιολογηθεί η ευθραυστότητα του TMZ δικτύου έναντι στοχευμένων επιθέσεων. Οι στρατηγικές ταξινομήθηκαν με βάση το degree, το betweenness και τον συνδυασμό αυτών. Η τρίτη στρατηγική (συνδυασμός) εμπερικλείει τους κόμβους που έχουν υψηλό degree και betweenness centrality (PDB). Επιπρόσθετα, ταξινομήθηκαν οι κόμβοι σύμφωνα με τις τιμές κεντρικότητάς τους, έτσι ώστε να τεθεί προτεραιότητα στην κατάργηση κόμβων με τις υψηλότερες βαθμολογίες. Οι επιθέσεις πραγματοποιήθηκαν με την αφαίρεση κόμβων φθίνουσας σειράς όσον αφορά τα σκορ κεντρικότητάς τους (centrality). Οι κόμβοι με την υψηλότερη βαθμολογία μπορεί να καθίστανται

σημαντικοί, σχετικά με την διατήρηση της δομής των δικτύων ενάντια σε στοχευμένες επιθέσεις. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα των δικτύων αξιολογήθηκε από το πώς μεταβλήθηκε η δομή τους ενόσω γινόταν η διαδικασία διαγραφής κόμβων. Η ανθεκτικότητα εκτιμήθηκε μετά από κάθε γύρο αφαίρεσης κόμβων με τον υπολογισμό κάποιων παραμέτρων όπως: διάμετρος (d), το μέσο συντομότερο μήκος διαδρομής (a), το μέσο μήκος αντίστροφης διαδρομής ($1/a$), τον αριθμό κόμβων ή το μέγεθος τους (S), τον αριθμό των άκρων (e) και το clustering coefficient (cc) σε κάθε υπογράφημα που προκύπτει [12]. Οι παράμετροι αυτοί, εφαρμόζονται για την μελέτη της συμπεριφοράς του δικτύου κατά την διάρκεια προσομοιώσεων επίθεσης [12].

Τα αποτελέσματα που εξάχθηκαν με την εφαρμογή των προαναφερθέντων στρατηγικών ήταν ότι τα δίκτυα είχαν σχεδόν αποσυνδεθεί μετά την αφαίρεση του 20% των κεντρικότερων κόμβων. Αυτό δείχνει την ευαισθησία του δικτύου σε εσκεμμένες επιθέσεις [12]. Επίσης αποτελεσματικότερη ήταν η PDB στρατηγική διότι παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στο μέγεθος του μεγαλύτερου υπογράφου (S) ή στον αριθμό των ακρών (e) μετά την αφαίρεση τουλάχιστον του 15% των κόμβων. Η ανάλυση των αλλαγών των παραμέτρων της διαμέτρου (d) του δικτύου και του μέσου συντομότερου μήκους διαδρομής (a), έδειξε ότι η στρατηγική με βάση το degree ήταν πιο αποτελεσματική στην μείωση της ανθεκτικότητας του TMZ δικτύου. Αυτό συνέβη λόγω του ότι η PDB στρατηγική μετέτρεψε τα δίκτυα μικρότερα σε πρώιμο στάδιο, επειδή είχε καλύτερη απόδοση στις δύο αυτές παραμέτρους. Παρ' όλο που η degree στρατηγική μείωσε το μέσο clustering coefficient με την αφαίρεση του 2% των υψηλότερων κεντρικών κόμβων, η παράμετρος αυτή δεν άλλαξε με την εφαρμογή των διαφόρων στρατηγικών, μέχρις ότου το 20% των πιο κεντρικών κόμβων να αφαιρεθεί. Ακόμη, το χαμηλότερο μέσο clustering coefficient παρατηρήθηκε όταν διαγράφηκε το 25% των κεντρικότερων κόμβων στην PDB στρατηγική, επιβεβαιώνοντας την αποτελεσματικότητα αυτής της στρατηγικής. Με την αφαίρεση του 20-25% των κόμβων που πραγματοποιήθηκαν με τις degree και PDB στρατηγικές σημειώθηκαν υψηλές διακυμάνσεις του μέσου clustering coefficient [12].

Ακολούθως έγινε *in silico* ανάλυση (προσομοίωση) με υψηλό degree (HD), υψηλό betweenness (HB) και του συνδυασμού τόσο υψηλού degree όσο και υψηλού βαθμού betweenness (HDB). Η ανάλυση αυτή εκτελέστηκε για να καθοριστεί το προφίλ της βιωσιμότητας των κυττάρων του γλοιώματος. Χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από το Project Achilles, το οποίο περιέχει σκορ βιωσιμότητας καρκινικών σειρών κυττάρων. Επιλέχθηκαν 5 κυτταρικές σειρές οι οποίες είναι ανθεκτικές στην θεραπεία με TMZ ουσία. Η αδρανοποίηση των HD, HB, HDB κόμβων έδειξε ότι οι πρωτεΐνες αυτές είχαν υψηλότερη πιθανότητα προ-θανάτου, συγκριτικά με της πρωτεΐνες που είχαν χαμηλή βαθμολογία κεντρικότητας.

Εν συνεχεία, έγινε λογαριθμική επιτέλεση σύγκρισης μεταξύ ομάδων ασθενών που είχαν υψηλά ή χαμηλά επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών με υψηλό degree ή/και betweenness, για τον καθορισμό της επιβίωσης των ασθενών που πάσχουν από γλοίωμα. Για την εκπλήρωση της σύγκρισης, επιλέχθηκε το 10% των κορυφαίων και των χαμηλότερων σε βαθμολογία κεντρικών κόμβων με την χρήση των HD, LD, HB, LB, και των HDB, LDB. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι οι πιο κεντρικοί κόμβοι του TMZ δικτύου σχετίζονται με υψηλού ρίσκου επιβίωσης ή θανάτου του ασθενούς.

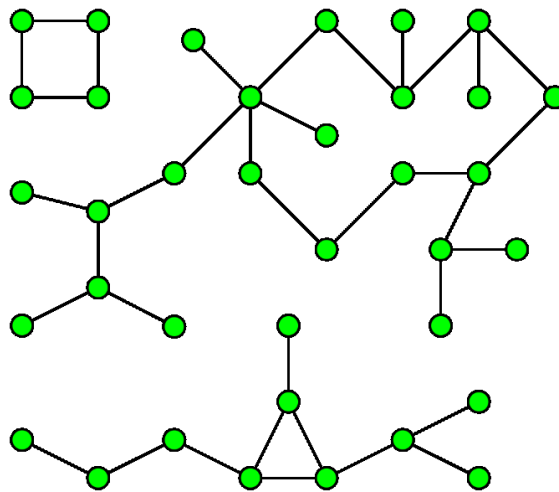
Εν κατακλείδι, η τοπολογική ανάλυση των δικτύων, εξήγαγε τις εξής πρωτεΐνες Map3k14, Mapk1, Actn4, Hspa5, Atf2, Rac1, E2f1, Shc1, Pik3ca, Akt1, Vim και Egr1 ως σχετιζόμενες με τον

μεταστατικό καρκίνο του γλοιώματος [12]. Οι πρωτεΐνες *Pik3ca*, *Akt1* and *Actn4* υπερεκφράζονται σε κακοήγη γλοιώματα και άπτονται σε χαμηλά ποσοστά επιβίωσης [12]. Επιπλέον οι πρωτεΐνες *Map3k14*, *Atf2*, *Rac1* και *Egr1* έχουν σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την μετάσταση του γλοιώματος [12]. Τέλος, η αναστολή του *Mapk1* βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της τεμοζολομιδικής ουσίας σε όγκους που υπάρχουν στον εγκέφαλο, ενώ η μείωση της έκφρασης *E2f1* αντιστρέφει την αντίσταση της σισπλατινικής ουσίας σε κύτταρα γλοιοβλαστώματος [12]. Οι άνωθεν πρωτεΐνες μπορεί να αντιπροσωπεύουν ενδιαφέροντες στόχους για την δοκιμή συνδυαστικών φαρμάκων στην θεραπεία του γλοιώματος με την τεμοζολομίδη [12].

3.3. Articulation Points Δικτύων και Ανθεκτικότητα

Μια πολύτιμη παράμετρος στα δίκτυα, είναι τα Articulation Points (APs) που αντιπροσωπεύουν έναν ή περισσότερους κόμβους-κλειδί, όπου η αφαίρεση τους αποσυνδέει το δίκτυο [18]. Οι κόμβοι που ορίζονται ως APs έχουν σημαντικό ρόλο στην διασφάλιση της συνδεσιμότητας του δικτύου. Η διαγραφή τους θα έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των συνδεδεμένων *components*. *Components* σε ένα *μη κατευθυνόμενο δίκτυο*, ονομάζουμε έναν ή περισσότερους υπογράφους οι οποίοι περικλείονται μέσα σε ένα δίκτυο. Είναι δηλαδή, ένας ή περισσότεροι γράφοι οι οποίοι βρίσκονται στο δίκτυο και σχηματίζονται από ένα υποσύνολο κόμβων με τις μεταξύ τους συνδέσεις. Συνήθως αυτοί οι γράφοι είναι ανεξάρτητοι, δεν επικοινωνούν με το υπόλοιπο δίκτυο αλλά και ούτε μεταξύ τους.

Έχει παρατηρηθεί ότι τα APs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διασφάλιση της ανθεκτικότητας και της συνδεσιμότητας σε δίκτυα πραγματικού κόσμου [18]. Για παράδειγμα, αν τα δίκτυα υποδομής, όπως τα δίκτυα εναέριας κυκλοφορίας ή ηλεκτροδότησης, διαταραχθούν ή καταστραφούν θα προκαλέσουν σοβαρούς κινδύνους στις υποδομές μιας πόλης ή χώρας. Παράλληλα στα ασύρματα δίκτυα αισθητήρων, η παρεμβολή λειτουργίας των APs θα εμπόδιζε τα δεδομένα να μεταδοθούν από το ένα *component* του δικτύου στο άλλο. Επιπλέον στα πρωτεϊνικά δίκτυα αλληλεπίδρασης μυκήτων, οι θανατηφόρες μεταλλάξεις τους σχετίζονται με την ομάδα των εξαιρετικά συνδεδεμένων πρωτεϊνών, οι οποίες είναι APs [18].



Εικόνα 3: Δίκτυο με τρία *components*

Το άρθρο που περιγράφεται στην συνέχεια, μελέτησε τα articulation points με την χρήση δύο στρατηγικών. Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι ακόλουθες στρατηγικές, επισημάνθηκαν τα APs με την χρήση του αλγόριθμου linear-time ο οποίος έχει βάση την depth-first αναζήτηση. Η πρώτη στρατηγική σχετίζεται με την επίθεση στα APs του δικτύου με την χρήση brute-force επίθεσης (APTA), όπου αρχικά έγινε η αφαίρεση του πολυτιμότερου AP ο οποίος αναγκάζει τους περισσότερους κόμβους να αποσυνδεθούν από το μεγαλύτερο component του δικτύου (GCC). Η APTA στρατηγική ήταν πολύ αποτελεσματική στην μείωση του GCC συγκριτικά με άλλες μεθόδους που ακολουθήθηκαν, όπως την χρήση του degree centrality. Η APTA στρατηγική είτε αποσυνθέτει το δίκτυο είτε δημιουργεί ένα GCC το οποίο δεν περιέχει καθόλου APs (RGB). Το RGB αφορά έναν πυρήνα ο οποίος αντιπροσωπεύει την δομική ακεραιότητα του δικτύου. Η δεύτερη στρατηγική αφορά την greedy διαδικασία αφαίρεσης APs (GAPR) μέχρις ότου να μην υπάρχει κανένα AP στο δίκτυο. Συγκεκριμένα, τα βήματα διαγραφής των APs έχουν ως εξής: αρχικά γίνεται χρήση των αλγορίθμων για να βρεθούν τα APs του δικτύου, στην συνέχεια αφαιρούνται από το δίκτυο και έπειτα εμφανίζονται νέα APs όπου γίνεται ξανά η διαγραφή τους. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται σταδιακά μέχρι να μην υπάρχει κανένα AP στο δίκτυο. Για παράδειγμα, σε ένα επικοινωνιακό δίκτυο τρομοκρατών της επίθεσης 11/9 που έγινε στις ΗΠΑ, κάθε AP μέλος θεωρείται αγγελιοφόρος σε ένα συγκεκριμένο υποδίκτυο διότι οποιαδήποτε πληροφορία που ανταλλάσσεται μεταξύ του συγκεκριμένου υποδικτύου με το υπόλοιπο δίκτυο, γίνεται μέσω του AP. Όλα τα APs και τα υποδίκτυα που τα εμπεριέχουν στο αρχικό δίκτυο, αποτελούν το πρώτο στρώμα του δικτύου τρομοκρατών. Μετά την διαγραφή όλων των APs στο αρχικό δίκτυο, το πρώτο στρώμα δικτύου αφαιρείται και εμφανίζεται το δεύτερο επίπεδο του δικτύου με τα νέα APs. Όπως περιγράφηκε πιο πάνω, η greedy διαδικασία αφαίρεσης APs στο δίκτυο τρομοκρατών, επαναλαμβάνεται έτσι ώστε να μην μείνει κανένα AP στο δίκτυο αυτό.

Η ανθεκτικότητα με την αφαίρεση των APs διαφοροποιείται σε κάθε τύπο δικτύου. Για παράδειγμα το δίκτυο μεταφοράς ηλεκτρικής ενέργειας από τους σταθμούς παραγωγής στον καταναλωτή, έχει τα περισσότερα APs μεταξύ όλων των πραγματικών δικτύων που αναλύθηκαν στην μελέτη αυτή και δεν έχει σχεδόν καθόλου RGB. Το σύστημα δικτύου τριών πολιτειών στις ΗΠΑ έχει ελαφρώς χαμηλότερο ποσοστό APs από το δίκτυο μεταφοράς ενέργειας και έχει μικρό RGB. Αυτό υποδηλώνει ότι τα δίκτυα υποδομών δεν μπορούν να βελτιστοποιηθούν με την διαγραφή των APs. Αυτό συμβαίνει λόγω υψηλού κόστους πρόσθεσης νέων συνδέσεων, για παράδειγμα σύνδεση δύο πόλεων με την δημιουργία αυτοκινητόδρομου, με αποτέλεσμα αν αφαιρεθεί ένας κόμβος ο οποίος έχει υψηλή συνδεσιμότητα (AP) να φέρει επιζήμια κατάσταση στο δίκτυο. Σε αντίθεση, το δίκτυο διατροφικής αλυσίδας έδειξε ότι η εξαφάνιση ενός είδους δεν θα αποσυνδέσει ολόκληρο το δίκτυο.

3.4. Βελτίωση Ανθεκτικότητας Δικτύων Διατηρώντας την Κοινωνική Δομή τους

Τα πολύπλοκα ή σύνθετα δίκτυα υπάρχουν παντού στην ζωή, όπως για παράδειγμα το δίκτυο ηλεκτροδότησης, το δίκτυο αεροπορίας, το δίκτυο αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών και το οδικό δίκτυο. Αυτά τα δίκτυα χαρακτηρίζονται ως «ανθεκτικά αλλά και εύθραυστα» δια τον λόγο του ότι τα δίκτυα καθίστανται ανθεκτικά σε τυχαία σφάλματα αλλά εύθραυστα όταν πραγματοποιούνται κακόβουλες επιθέσεις [13]. Η προηγούμενη δήλωση μπορεί να είναι

οξύμωρη, αλλά εννοεί πως επειδή υπάρχουν μερικοί κόμβοι που έχουν περισσότερες συνδέσεις από κάποιους άλλους κόμβους (hubs), μια κακόβουλη επίθεση θα ήταν επιζήμια για το δίκτυο παρά ένα τυχαίο γεγονός σφάλματος σε διάσπαρτους κόμβους χαμηλής συνδεσιμότητας. Η ευθραυστότητα του δικτύου δεν περιορίζεται μόνο στην διαγραφή κόμβων. Η διαγραφή ακρών (συνδέσεων) και η προσθήκη ακρών ή κόμβων καθιστούν εξίσου εύθραυστο το δίκτυο. Η προσθήκη κόμβων ή συνδέσεων στα δίκτυα, μπορεί να μετατρέψει μερικούς σημαντικούς κόμβους ή ακμές πιο σημαντικούς. Αυτό θα αυξήσει το ρίσκο επίθεσης στους σημαντικούς κόμβους ή στις σημαντικότερες ακμές. Η διαγραφή των ακρών είναι επίσης ένα συνηθές μέτρο επίθεσης, ωστόσο η διαγραφή των κόμβων με τις συνδέσεις τους είναι περισσότερο ζημιογόνο για το δίκτυο.

Το παρόν άρθρο που εκτίθεται κάτωθι, έχει ως στόχο την βελτίωση της ανθεκτικότητας του δικτύου διατηρώντας την κοινωνική δομή του (community structure). Το community structure των δικτύων, αφορά τους κόμβους που βρίσκονται σε ένα δίκτυο και μπορούν με ευκολία να ομαδοποιηθούν σε διάφορα σύνολα κόμβων (υποδίκτυα) μέσα στα οποία οι κόμβοι που έχουν κοινό σύνολο θα έχουν πυκνότερες συνδέσεις σε σύγκριση με τους υπόλοιπους κόμβους του δικτύου. Αυτή η δομή αναφέρεται στα λειτουργικότερα modules του δικτύου που μπορούν να παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με το δίκτυο και την τοπολογία του.

Για την αύξηση της ανθεκτικότητας του δικτύου προτάθηκαν τρεις στρατηγικές οι οποίες περιλάμβαναν τα εξής: προσθήκη ακρών (συνδέσεων), επανασύνδεση των ακρών και επανασύνδεση ακρών για την αύξηση του αριθμού των συνδέσεων ανάμεσα στις κοινότητες. Η πρώτη στρατηγική – *προσθήκη ακρών*, εφαρμόστηκε με την αλλαγή των ακρών έτσι ώστε οι κόμβοι ίδιας σημασίας να συνδεθούν μεταξύ τους. Η δεύτερη στρατηγική εκπληρώθηκε με την αλλαγή ακρών για την σύνδεση υψηλής σημασίας κόμβων με άλλους κόμβους οι οποίοι βρίσκονται στην ίδια κοινότητα με αυτούς. Τέλος, η τρίτη πραγματοποιήθηκε με την αλλαγή ακρών για την αύξηση των συνδέσεων μεταξύ των κοινοτήτων. Για παράδειγμα, οι ακμές E_{ij} και E_{kl} οι οποίες συνδέουν τους κόμβους i, j και τους κόμβους k, l αντίστοιχα μετατρέπονται σε E_{ik} E_{jl} αν και εφόσον η ανθεκτικότητα του δικτύου αυξάνεται, δηλαδή $R_{new} > R_{old}$. Ωστόσο αυτή η στρατηγική επηρεάζει το community structure του δικτύου. Για να προσδιορισθεί η αποτελεσματικότητα των βημάτων αυτών, χρησιμοποιήθηκε ένα μικρό δίκτυο πραγματικού κόσμου (δίκτυο καράτε). Η εφαρμογή των μεθόδων αυτών έγινε ξεχωριστά και έδειξε ότι με την στοχευμένη επίθεση στο 85% των κόμβων, αδυνατούν να βελτιστοποιήσουν την ανθεκτικότητα. Στην αρχή, η πρώτη και η τρίτη στρατηγική είναι αποτελεσματικές ενώ στην συνέχεια η δεύτερη μετριάζει με επιτυχία τις επιθέσεις. Πρακτικά, το δίκτυο καράτε που αναλύθηκε περιέχει 34 άτομα. Αν το άτομο A είναι φίλος με το άτομο B τότε υπάρχει σύνδεση μεταξύ τους. Υπάρχουν 74 συνδέσεις στον σύλλογο αυτό και οι σχέσεις τους είχαν διερευνηθεί για δύο χρόνια. Κατά την διετή παρακολούθηση τους, διαπιστώθηκε ότι ο σύλλογος χωρίστηκε σε δύο ομάδες λόγω της σύγκρουσης μεταξύ ενός διαχειριστή και ενός προπονητή του συλλόγου [13].

Η διαδικασία επίθεσης επιτεύχθηκε με την αφαίρεση κόμβων υψηλής σημαντικότητας. Η σημαντικότητα υπολογίστηκε με τις εξής μετρικές κεντρικότητας: betweenness, closeness, katz, και eigenvector. Έπειτα αξιολογήθηκε η επίδραση που είχε η φθίνουσα διαγραφή των σημαντικότερων κόμβων στο μέγεθος του μεγαλύτερου component του δικτύου. Συγκεκριμένα, η τέλεση της επίθεσης έγινε με δύο τρόπους. Ο πρώτος τρόπος πραγματοποιήθηκε με τον

υπολογισμό της κεντρικότητας κάθε κόμβου, όπου ένα συγκεκριμένο εύρος τιμών κεντρικότητας κόμβων, από το υψηλότερο στο χαμηλότερο σκορ, αφαιρείται. Ο δεύτερος τρόπος αφορά την κατ' επακολούθηση στοχευμένη επίθεση. Δηλαδή, αφότου γίνει ο υπολογισμός της κεντρικότητας κόμβων στο αρχικό δίκτυο, οι κόμβοι με την υψηλότερη κεντρικότητα αφαιρούνται. Η διαγραφή αυτών των κόμβων έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ενός νέου δικτύου στο οποίο η κατάταξη της κεντρικότητας των υπολειπόμενων κόμβων πιθανόν να διαφέρει από το αρχικό δίκτυο. Δηλαδή, επαναυπολογίζεται η κεντρικότητα κάθε κόμβου στο νέο δίκτυο όπου έπειτα γίνεται η διαγραφή αυτών με το υψηλότερο σκορ. Συμπερασματικά, η μετρική που είχε την καλύτερη απόδοση ήταν η degree και ο καλύτερος τρόπος επίθεσης ήταν η κατ' επακολούθηση στοχευμένη αφαίρεση κόμβων.

Όσον αφορά το community structure του δικτύου, η εφαρμογή τυχαίας σύνδεσης κόμβων μεταξύ διαφορετικών κοινοτήτων, βελτιστοποίησε την ανθεκτικότητα του δικτύου στην αρχή της διαδικασίας αλλά έπειτα είχε μια καθοδική πορεία. Μετά την προσθήκη μόνο τεσσάρων συνδέσεων στο δίκτυο, η ανθεκτικότητα αυξήθηκε. Σε αντίθεση με την ανθεκτικότητα, το modularity του δικτύου μετά από την προσθήκη 250 ακρών μειώθηκε σταδιακά. Από την άλλη, η πραγματοποίηση τυχαίας προσθήκης 10 ακρών μεταξύ δύο κοινοτήτων και πρόσθεση 2000 ακρών στην ίδια κοινότητα, έδειξε ασυνέπεια μεταξύ της ανθεκτικότητας και του modularity. Επιπρόσθετα σε κάθε προσθήκη ακρών, η ανθεκτικότητα υπολογίζεται. Συμπερασματικά, τα πραγματικά δίκτυα με ασθενές community structure (μικρό modularity) είναι πιο ανθεκτικά από αυτά που έχουν υψηλό community structure. Τα δίκτυα με υψηλό community structure έχουν λίγες ακμές οι οποίες συνδέουν διαφορετικές κοινότητες. Ως εκ τούτου τα δίκτυα αυτά είναι εύθραυστα στην στοχευμένη επίθεση των ακρών που συνδέουν τις κοινότητές τους. Ακόμη, ο περιορισμός της βελτιστοποίησης της ανθεκτικότητας έχει δύο πτυχές: την εσωτερική δομή της κοινότητας και τον αριθμό των συνδέσεων που υπάρχουν μεταξύ των κοινοτήτων. Γι' αυτό τον λόγο προτάθηκαν οι προαναφερθείσες στρατηγικές βελτίωσης της ανθεκτικότητας.

3.5. Ανθεκτικότητα Σε Πολυεπίπεδα Βιολογικά Μοριακά Δίκτυα

Πολλαπλές μελέτες που σχετίζονται με την μοριακή βιολογία, εστίασαν μόνο στην επικοινωνία που έχουν ομογενές μόρια μεταξύ τους. Ωστόσο, οι κυτταρικές διαδικασίες δεν περιορίζονται στην λειτουργία ενός συστατικού, αλλά αναφέρονται σε πολλές διαδικασίες διαφόρων συστατικών στα οποία περιλαμβάνονται τα γονίδια, οι πρωτεΐνες και οι μεταβολίτες. Σύμφωνα με τη μοριακή βιολογία, το DNA μεταγράφεται σε mRNA (messenger RNA) το οποίο μετά μεταφράζεται σε πρωτεΐνες. Η έννοια «μεταγραφή» σχετίζεται με την διαδικασία στην οποία οι πληροφορίες που βρίσκονται σε ένα σκέλος του DNA αντιγράφονται σε ένα μόριο mRNA, το οποίο έπειτα πραγματοποιεί έλεγχο για την σωστή σύνθεση των πρωτεϊνών. Εν συνέχεια, οι παραγόμενες πρωτεΐνες μπορούν να ρυθμίσουν μεταβολικές αντιδράσεις μέσω της συσχέτισής τους με τους μεταβολίτες. Η εξερεύνηση δικτύων επικοινωνίας μεμονωμένων μορίων, π.χ. πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, μπορεί να οδηγήσει σε μια ελλιπή ή ακόμη και μια λανθασμένη εικόνα του προβλήματος. Έτσι, η μελέτη των ετερογενών μοριακών δικτύων θεωρείται κρίσιμη για την προσπάθεια της ολοκληρωμένης κατανόησης της λειτουργικότητας των κυττάρων.

Λόγω της αλληλένδετης φύσης των τριών αυτών μορίων, η συγκεκριμένη μελέτη πρότεινε ένα ολοκληρωμένο πλαίσιο για την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων, πρωτεϊνών και μεταβολιτών, συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα ετερογενών βιολογικών δικτύων. Συγκεκριμένα, συνδυάστηκαν ετερογενείς πηγές δεδομένων για την κατασκευή ενός πολυεπίπεδου δικτύου αλληλεπιδράσεων το οποίο απαρτίζεται από τρία επίπεδα: *επίπεδο ρυθμιστικών γονιδίων, επίπεδο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων και μεταβολικό επίπεδο*. Το δίκτυο ρυθμιστικών γονιδίων υλοποιήθηκε με την χρήση βάσης δεδομένων FANTOM5, ενώ στο πρωτεϊνικό δίκτυο (PPI) συνδυάστηκαν διάφορες βάσεις δεδομένων του οποίου το μεγαλύτερο component αποτελείται από 15,906 πρωτεΐνες και 217,099 αλληλεπιδράσεις. Το μεταβολικό δίκτυο δημιουργήθηκε με την χρήση της βάσης STITCH, όπου εξάχθηκαν οι βιοχημικές αλληλεπιδράσεις των μεταβολιτών και έπειτα έγινε η ταύτιση των αλληλεπιδράσεων αυτών με τους μεταβολίτες χρησιμοποιώντας την βάση Human Metabolome Database. Οι αμφίδρομες συνδέσεις μεταξύ του γονιδιακού ρυθμιστικού δικτύου και του PPI δικτύου ανέρχονται σε 10,255 και οι συνδέσεις του PPI δικτύου με το μεταβολικό δίκτυο ορίζονται σε 141,283, συνδέοντας 12,039 πρωτεΐνες σε 1,211 μεταβολίτες. Η σύνδεση των PPI και μεταβολικών δικτύων έγινε με την απλουστευμένη υπόθεση ότι η διαταραχή ενός ενζύμου επηρεάζει τις μεταβολικές αντιδράσεις τις οποίες ρυθμίζει. Σημειώτέο είναι ότι οι πρωτεΐνες και οι μεταβολίτες έχουν «πολλές προς πολλές» συνδέσεις μεταξύ τους, λόγω του ότι πολλαπλά ένζυμα και χημικές ουσίες συμμετέχουν στην ίδια αντίδραση και έτσι, πολλές πρωτεΐνες μπορούν να συσχετιστούν με πολλούς μεταβολίτες. Οι συνδέσεις αυτές εξάχθηκαν επίσης με την χρήση της βάσης δεδομένων STITCH.

Για να προσδιοριστεί η λειτουργικότητα και η ανθεκτικότητα του πολυεπίπεδου βιολογικού δικτύου χρησιμοποιήθηκε ένας μηχανισμός «διαδοχικών σφαλμάτων», προσομοιώνοντας την επίδραση που έχει μια διαταραχή στο δίκτυο. Από μοριακής σκοπιάς, τα διαδοχικά σφάλματα αντιπροσωπεύουν μια διαδικασία κατά την οποία ένας αριθμός διαταραγμένων μεταγραφών χάνει την ιδιότητά του όσον αφορά την ρύθμιση των στόχων του, με αποτέλεσμα κάποια γονίδια να καταλήγουν μη ρυθμισμένα στο δίκτυο ρυθμιστικών γονιδίων, επηρεάζοντας τελικά την έκφραση των πρωτεϊνών. Με την σειρά της η αλλοιωμένη έκφραση των πρωτεϊνών αυτών, διαταράσσει τις μεταβολικές αντιδράσεις που ρυθμίζουν. Στην διαδικασία της διαταραχής του πολυεπίπεδου δικτύου, ο κάθε κόμβος θέτεται ως λειτουργικός αρχικά, ενώ στην συνέχεια όταν πραγματοποιείται η διαταραχή σε στοχευμένους κόμβους αυτοί καθίστανται ως μη λειτουργικοί και αφαιρούνται από το δίκτυο. Η διαταραχή αναφέρεται σε απώλεια λειτουργικότητας, όπως για παράδειγμα μεταλλάξεις. Όταν ένα γονίδιο ορίζεται ως μη λειτουργικό, τα αντίστοιχα πρωτεϊνικά προϊόντα όλων των εμπλεκόμενων γονιδίων καθίστανται επίσης δυσλειτουργικά. Συμπληρωματικά, γίνεται η αφαίρεση των πρωτεϊνών αυτών και οι πρωτεΐνες οι οποίες αποσυνδέονται από το μεγαλύτερο component του PPI δικτύου, θέτονται επίσης ως δυσλειτουργικές. Όπως προαναφέρθηκε, στο μεταβολικό δίκτυο κάθε μεταβολίτης έχει πολλαπλές συνδέσεις στο πρωτεϊνικό δίκτυο. Ένας μεταβολίτης σταματά να λειτουργεί, εάν ένα κλάσμα f_{P2M} των πρωτεϊνών που συσχετίζονται μεταξύ τους καθίσταται ως δυσλειτουργικό, όπου f_{P2M} μια σταθερά μεταξύ 0 και 1. Ως πρόσθετη επιλογή μοντελοποίησης, ένας μεταβολίτης είναι λειτουργικός σε οποιοδήποτε δεδομένο χρόνο, μόνο εάν ανήκει στο μεγαλύτερο συνδεδεμένο component.

Για την διερεύνηση του πώς οι «συζεύξεις» μεταξύ των ρυθμιστικών γονιδίων και των PPI δικτύων ορίζουν την δομή και την λειτουργία του συστήματος, συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα της προαναφερθείσας διαδικασίας διαταραχής, που ορίζεται ως «συζευγμένη» διαδικασία, με τα αποτελέσματα μιας διαταραχής που επηρεάζει μόνο το PPI δίκτυο, ή μια «μη συζευγμένη» διαδικασία. Η «μη συζευγμένη» διαδικασία συνιστά την απομάκρυνση της διαταραγμένης πρωτεΐνης, τους πρώτους γείτονες και οποιεσδήποτε πρωτεΐνες που είναι απομακρυσμένες από το μεγαλύτερο συνδεδεμένο component. Για να επιτευχθεί η σύγκριση μεταξύ των δύο διαδικασιών, εφαρμόστηκαν διαταραχές σε γονίδια τα οποία σχετίζονται με το αντίστοιχο πρωτεϊνικό τους προϊόν, ενώ τα γονίδια που δεν έχουν συνδέσεις με το επίπεδο PPI εξαιρούνται από την ανάλυση. Στο PPI δίκτυο και στις δύο περιπτώσεις των «συζευγμένων» ή «μη συζευγμένων» διαδικασιών, ορίζεται η συμβολή κάθε κόμβου σχετικά με την ακεραιότητα του συστήματος μετρώντας το τελικό μέγεθος του λειτουργικού δικτύου, $f \frac{P}{S}$, όταν ο δεδομένος κόμβος διαγράφεται από το δίκτυο. Ένα μικρότερο τελικό αποτέλεσμα του κλάσματος που αφορά την συμβολή του κόμβου στο σύστημα, υποδεικνύει μεγαλύτερη συνεισφορά σχετικά με την ακεραιότητα του δικτύου. Επιπρόσθετα, τέθηκε ένα σκορ επιρροής $-f \frac{P}{S}$ για κάθε κόμβο έτσι ώστε να αξιολογηθεί ο βαθμός επιρροής που έχει στην ανθεκτικότητα του δικτύου.

Συλλέχθηκαν δύο ομάδες γονιδίων που αντιστοιχούν σε ουσιώδη βιολογικά γονίδια και καρκινικά γονίδια, από τις βάσεις δεδομένων Essential Genes (EG) και Cancer Gene Census (CGC) αντίστοιχα. Τα ουσιώδη γονίδια είναι απαραίτητα για την υποστήριξη της κυτταρικής βιωσιμότητας και τα καρκινικά γονίδια είναι εκείνα που περιέχουν μεταλλάξεις που έχουν εμπλακεί αιτιωδώς στην καρκινογένεση και εξηγούν πώς η δυσλειτουργία αυτών των γονιδίων οδηγεί στην ανάπτυξη του καρκίνου [19]. Υπολογίσθηκε το precision-recall των «συζευγμένων» και «μη συζευγμένων» αποτελεσμάτων όσον αφορά τον βαθμό επιρροής που είχαν τα σύνολα ουσιωδών και καρκινικών γονιδίων στο σύστημα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι βαθμολογίες επιρροής «συζευγμένων» διαδικασιών είχαν υψηλότερο precision-recall σε σύγκριση με τις «μη συζευγμένες» διαδικασίες. Στην «συζευγμένη» περίπτωση η απομάκρυνση ενός μόνο γονιδίου δεν προκαλεί μόνο εφάπαξ σφάλματα συστήματος συγκριτικά με τις «μη συζευγμένες» περιπτώσεις, αλλά προκαλεί επίσης δεύτερο ή ακόμη και τρίτο κύκλο διαδοχικών σφαλμάτων. Διαπιστώθηκε ότι ο μέσος αριθμός γονιδίων/πρωτεϊνών που είχε αστοχία στο δεύτερο γύρο που προκλήθηκε από την αφαίρεση ενός βασικού ή καρκινικού γονιδίου, είναι υψηλότερος από αυτόν της αφαίρεσης ενός μη βασικού ή μη καρκινικού γονιδίου, εξηγώντας γιατί η «συζευγμένη» περίπτωση αποδίδει καλύτερα στην ιεράρχηση των βασικών και καρκινικών γονιδίων από την περίπτωση της «μη συζευγμένης» διαδικασίας.

Στην έρευνα αυτή διεξάχθηκαν διαταραχές σε μια ομάδα από γονίδια που σχετίζονται με μεταβολικές ασθένειες και διαπιστώθηκε ότι δημιουργεί μεγαλύτερη ζημιά στο μεταβολικό δίκτυο. Οι διαταραχές στα γονίδια μπορούν να διαδοθούν στο μεταβολικό δίκτυο δια μέσου της λανθασμένης λειτουργίας ενζύμων. Συλλέχθηκαν τρία σύνολα γονιδίων που σχετίζονται με δυσλιπιδαιμία, αρτηριακή πίεση και διαβήτη τύπου 2. Για κάθε ομάδα γονιδίων που σχετίζονται με τις μεταβολομικές νόσους, διαταράχθηκε τυχαία ένα κλάσμα p γονιδίων και υπολογίσθηκε το τελικό λειτουργικό μέγεθος του μεταβολικού δικτύου. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι διαταραχές σε αυτά τα στοχευμένα σύνολα γονιδίων ήταν πιο επιζήμιες στο μεταβολικό δίκτυο συγκριτικά με τις τυχαίες διαταραχές με βάση το degree centrality [19].

Για την βελτίωση της ανθεκτικότητας του πολυστρωματικού μοριακού δικτύου, προτάθηκαν δύο μοντέλα τυχαιοποίησης όπου, στο πρώτο επίπεδο έχουμε τις ενδο-στρωματικές τυχαιοποιημένες εκδόσεις στις οποίες η τυχαιοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί εντός των ρυθμιστικών γονιδίων, των PPI ή των μεταβολικών στρωμάτων. Στο δεύτερο επίπεδο έχουμε τυχαιοποιημένες εκδόσεις μεταξύ επιπέδων, όπου οι συνδέσεις γονιδίου – πρωτεΐνης ή πρωτεΐνης – μεταβολίτη επανασυνδέονται τυχαία. Για κάθε τυχαιοποίηση υπάρχουν οι εξής κατευθύνσεις επανασυνδέσεων μεταξύ των μορίων. Σε ένα κατευθυνόμενο ρυθμιστικό δίκτυο γονιδίων πραγματοποιείται με την διατήρηση της in-degree και out-degree κατανομής αλλά αυξάνοντας τις συσχετίσεις μεταξύ του in-degree και out-degree κάθε κόμβου, ενώ αυτός στα PPI ή στα μεταβολικά δίκτυα επιτυγχάνεται με την επανασύνδεση των κόμβων υψηλού βαθμού με υψηλού βαθμού και χαμηλού βαθμού με χαμηλού βαθμού, με τον βαθμό κατανομής αναλλοίωτο. Επιπρόσθετα στις «συζεύξεις» πραγματοποιείται η σύνδεση των υψηλών βαθμών κόμβων στο ένα στρώμα με συνδέσεις υψηλού βαθμού κόμβων σε άλλο στρώμα. Μια άλλη μορφή τυχαιοποίησης, εκπληρώνεται με την μείωση συσχετισμών in-degree και out-degree ή με την σύνδεση κόμβων υψηλού βαθμού με κόμβους χαμηλού βαθμού. Η διενέργεια των μεθόδων αυτών έδειξε ότι η τυχαιοποίηση στο ρυθμιστικό δίκτυο γονιδίων με την διατήρηση της in-degree και out-degree κατανομής και με την αύξηση των in-degree και out-degree συσχετισμών, έκανε το σύστημα πιο ανθεκτικό [19]. Επιπρόσθετα, η τυχαιοποίηση των «συζεύξεων» μεταξύ του ρυθμιστικού γονιδιακού δικτύου και του PPI δικτύου, διατηρώντας την κατανομή degree στο γονιδιακό ρυθμιστικό δίκτυο και στο PPI δίκτυο και αυξάνοντας τις degree συσχετίσεις μεταξύ των συνδεδεμένων γονιδιακών – πρωτεϊνικών ζευγών, έφερε εξίσου το ίδιο αποτέλεσμα [19].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ

4.1. MalaCards

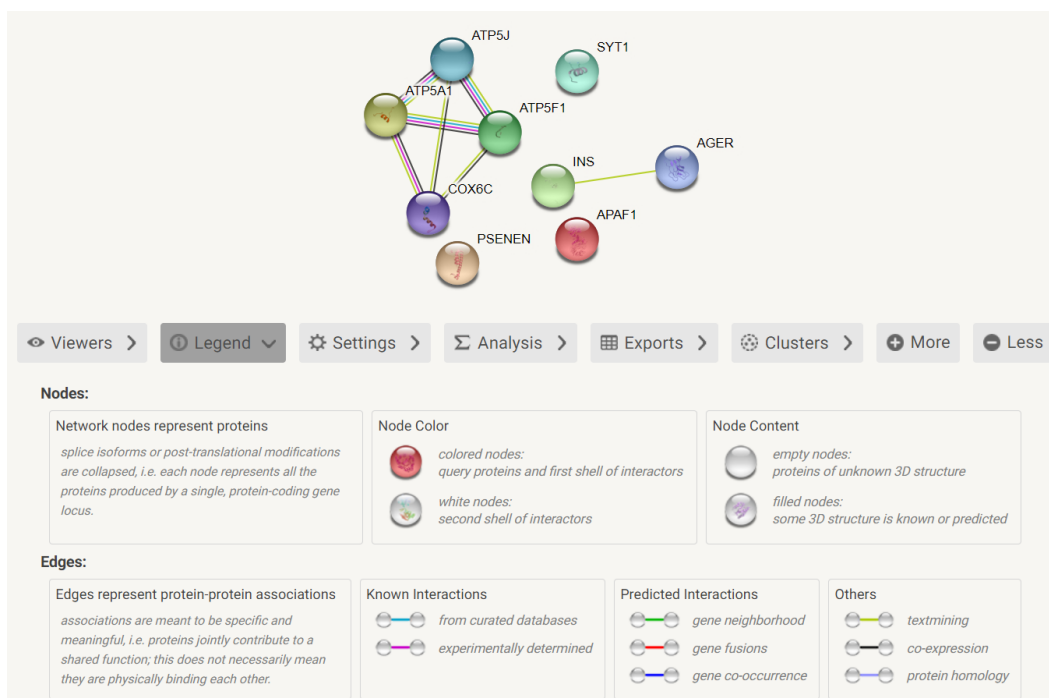


Η πλατφόρμα *MalaCards* (<https://www.malacards.org/>), υποστηρίζει μια βάση δεδομένων ανθρωπίνων ασθενειών η οποία εμπεριέχει γονίδια και σχετικές πληροφορίες που τις αφορούν. Η μοντελοποίηση του *MalaCards* ακολουθεί την αρχιτεκτονική της βάσης δεδομένων *GeneCards*, η οποία είναι μια ολοκληρωμένη και έγκυρη συλλογή ανθρωπίνων γονιδίων. Η πλατφόρμα περιλαμβάνει σύνολα δεδομένων που εξορύχθηκαν με διάφορους τρόπους και δεδομένα τα οποία επιμελήθηκαν χειρωνακτικά [20]. Επίσης ενσωματώνει πληροφορία σχετική με τα γονίδια, δηλαδή πληροφορίες που αφορούν τα νοσήματα όπως, περιγραφή της ασθένειας, κλινικά χαρακτηριστικά (συμπτώματα, γονίδια), φάρμακα, κλινικές δοκιμές, σχετικές ασθένειες κ.α [20,21]. Σήμερα στην *MalaCards* (Ιούλιος 2021), υπάρχουν 21.787 καταχωρήσεις ασθενειών οι οποίες συγκεντρώθηκαν από 73 πηγές [21].

4.2. STRING



Η *STRING* (<https://string-db.org/>) διαδικτυακή βάση δεδομένων είναι ένα εργαλείο αναζήτησης, το οποίο προσφέρει πληροφορίες που αφορούν άμεσες (φυσικές) ή έμμεσες (λειτουργικές) αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών διαφόρων οργανισμών [22]. Οι πληροφορίες αυτές προέρχονται από υπολογιστικές προβλέψεις και από πειράματα που διεξάχθηκαν. Για παράδειγμα, με την πραγματοποίηση αναζήτησης μιας πρωτεΐνης, εντοπίζονται οι πρωτεΐνες οι οποίες αναφέρονται συχνά με την δεδομένη πρωτεΐνη σε επιστημονικές μελέτες (textmining). Επιπλέον οι συσχετισμοί πρωτεϊνών ή και γονιδίων, εξάγονται από προ υπάρχουσα γνώση που βρίσκεται άλλες βάσεις δεδομένων ή δια μέσου πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν. Συνήθως οι συσχετισμοί αυτοί απεικονίζονται με την μορφή ενός δικτύου όπως φαίνεται στην εικόνα 4. Η *STRING* βάση, καλύπτει σήμερα (Ιούλιος 2021) σχεδόν 25 εκατομμύρια πρωτεΐνες από 5 χιλιάδες οργανισμούς [22].



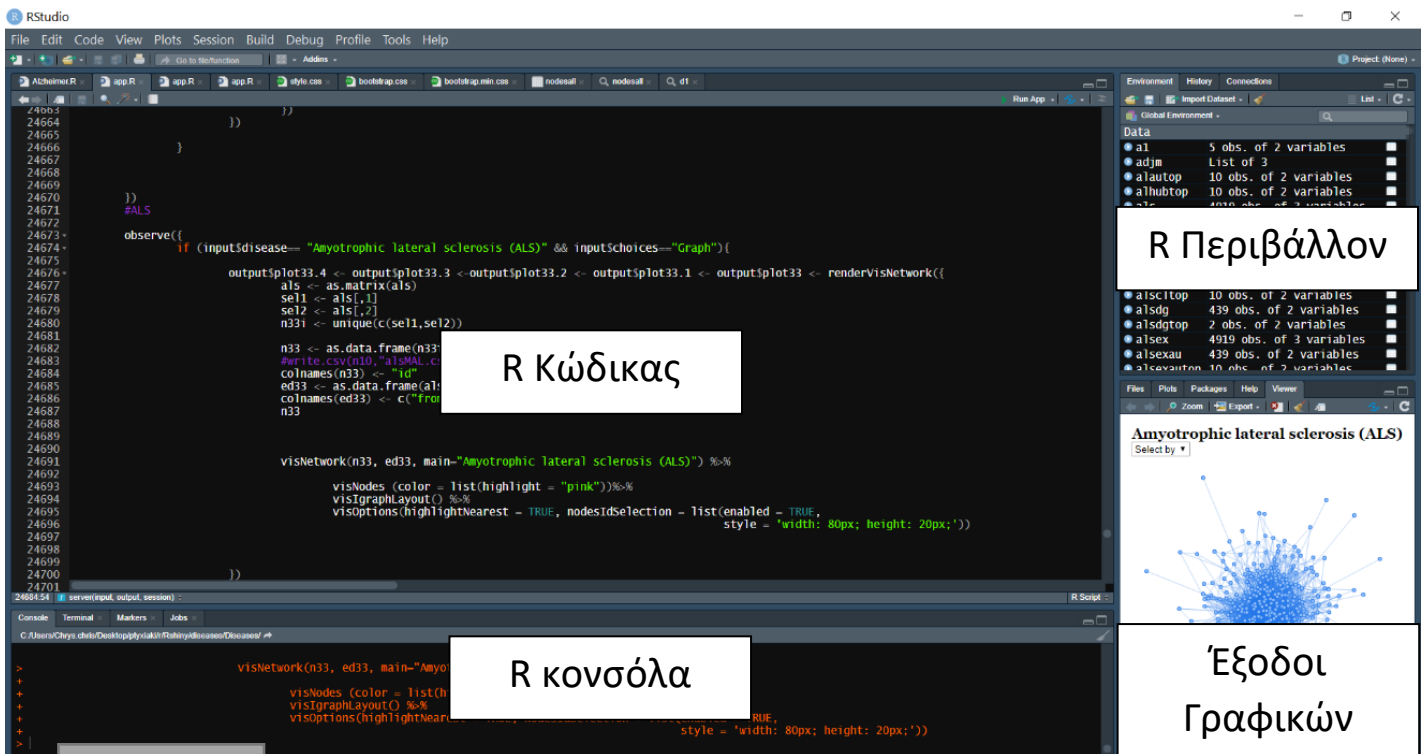
Εικόνα 4: Απεικόνιση αλληλεπιδράσεων 9 γονιδίων που σχετίζονται με την νόσο του Alzheimer

4.3. RShiny Application

Το *Shiny Application*, είναι ένα πακέτο γλώσσας προγραμματισμού R που υποστηρίζεται στο λογισμικό διεπαφής RStudio και διευκολύνει την δημιουργία διαδραστικών εφαρμογών ιστού διαμέσου του λογισμικού. Μπορούν να φιλοξενηθούν αυτόνομες εφαρμογές σε μια ιστοσελίδα ή μπορούν να καταχωρηθούν δωρεάν (μέχρι 5 εφαρμογές) σε διακομιστή του RStudio (*shinyapps.io*). Επιπρόσθετα οι εφαρμογές αυτές μπορούν να επεκταθούν με θέματα CSS, *htmlwidgets* και κώδικα JavaScript.

Η υλοποίηση της εφαρμογής Shiny όπως προαναφέρθηκε, επιτυγχάνεται με την χρήση εντολών σε γλώσσα προγραμματισμού R. Η γλώσσα προγραμματισμού αυτή, χρησιμοποιείται για στατιστικούς υπολογισμούς και για την δημιουργία γραφημάτων, όπως για παράδειγμα δίκτυα και διαγράμματα. Πιο συγκεκριμένα επιτελείται η διαχείριση και η αποθήκευση δεδομένων με ευκολία, εκπληρώνονται οι μαθηματικές πράξεις και απεικονίζονται γραφικά τα δεδομένα [23]. Αναλυτικότερα τελούνται πράξεις πινάκων, αναλύονται τα δεδομένα με την χρήση ενδιάμεσων εργαλείων ή πακέτων, παρέχεται η δυνατότητα ανάλυσης και απεικόνισης δεδομένων με την εφαρμογή ποικίλων τεχνικών, στην οθόνη ή σε έντυπη μορφή και περιλαμβάνονται έλεγχοι υποθέσεων, επαναληπτικές διαδικασίες (*loops*) αλλά και αναδρομικές συναρτήσεις που ορίζονται από τον χρήστη [23]. Συγκριτικά με άλλες γλώσσες προγραμματισμού, είναι ένα ισχυρό στατιστικό εργαλείο ελεύθερου λογισμικού στο οποίο μπορεί ο χρήστης με ευκολία να διεκπεραιώσει ενέργειες που αφορούν τα δεδομένα και εν συνεχεία να τα αναπαραστήσει με ταχύ τρόπο. Επιπλέον, είναι εξαιρετικά επεκτάσιμη όσον αφορά τα πακέτα που προσφέρει με αποτέλεσμα να παρέχει πολλαπλές δυνατότητες ανάλυσης. Υπάρχουν περίπου 8 χιλιάδες διαθέσιμα πακέτα στο δίκτυο CRAN (Comprehensive R Archive Network), στο οποίο αποθηκεύονται πανομοιότυπες και ενημερωμένες εκδόσεις κώδικα αλλά και τεκμηριωμένα

εγχειρίδια για την ευεξήγητη χρήση του. Τέλος, το περιβάλλον του RStudio διαθέτει εργαλεία αποσφαλμάτωσης (debugging) και παρακολούθησης αντικειμένων που βρίσκονται στην μνήμη [23].



Εικόνα 5: Περιβάλλον εργασίας RStudio

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 5, το περιβάλλον εργασίας αποτελείται από τέσσερα τμήματα. Στο πρώτο τμήμα εκχωρούνται οι εντολές σε προγραμματιστική γλώσσα R για την εκτέλεση πράξεων, αναπαράσταση γραφημάτων κ.α. Έπειτα, κάτω από το τμήμα αυτό υπάρχει η κονσόλα όπου εμφανίζονται οι εντολές οι οποίες εκτελέστηκαν ή τα αποτελέσματα που εξάχθηκαν από αυτές. Το τρίτο τμήμα αφορά το περιβάλλον της R, όπου αποθηκεύονται στην μνήμη τα objects ή τα vectors που προκύπτουν από την εφαρμογή των εντολών. Τέλος, στο τμήμα εξόδου των γραφικών απεικονίζονται τα γραφήματα που δημιουργήθηκαν διαμέσου του κώδικα.

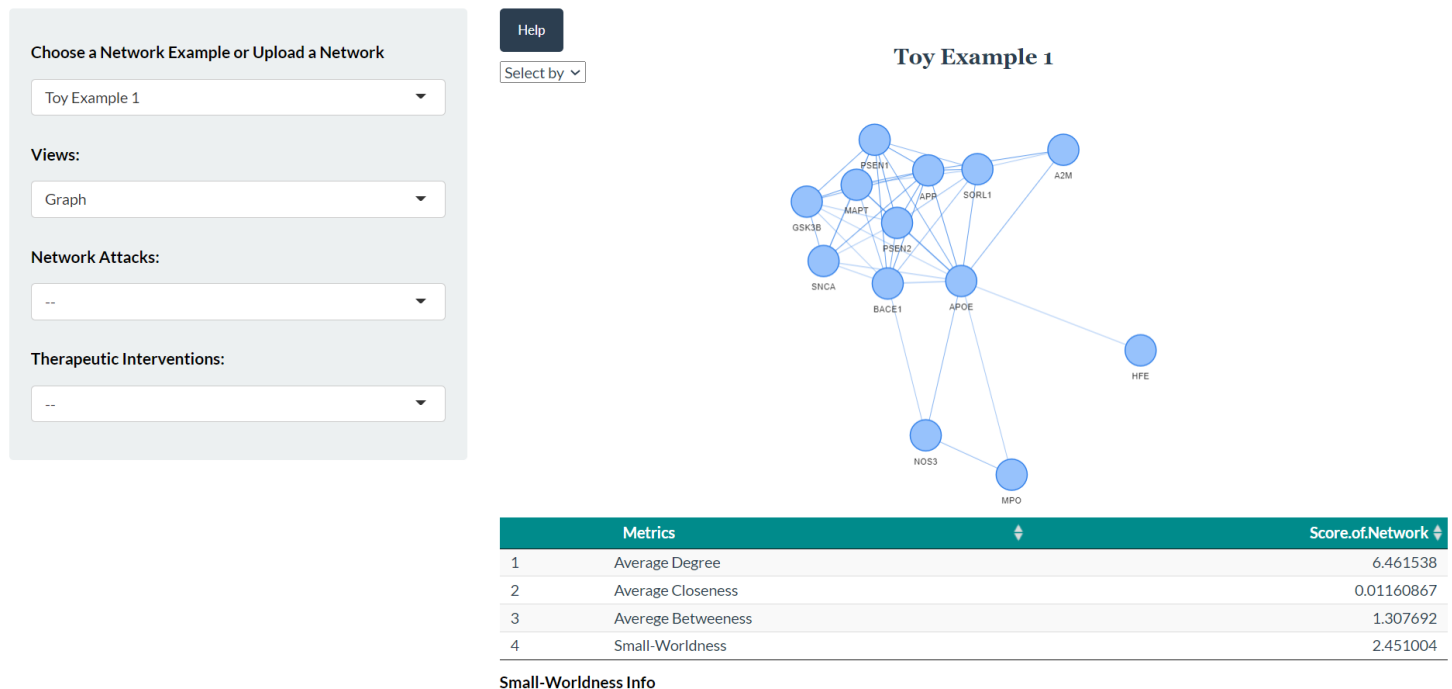
4.4. Υλοποίηση ATheraNet

4.4.1. Περιβάλλον ATheraNet

Η εφαρμογή *ATheraNet* (Εικόνα 6) είναι ένα διαδικτυακό περιβάλλον απεικόνισης βιολογικών δικτύων που σχετίζονται με τις εξής νευροεκφυλιστικές νόσους: Alzheimer, Parkinson, Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) και εργαλείο εφαρμογής μετρικών, επιθέσεων ή θεραπευτικών παρεμβάσεων σε αυτά. Το *ATheraNet* υλοποιήθηκε μέσω του εργαλείου RShiny και υποστηρίζεται στον διαδικτυακό τόπο: <https://atheranet.shinyapps.io/ATheraNet/>. Τα βιολογικά δίκτυα που εμπεριέχονται στην διαδικτυακή πλατφόρμα, χαρακτηρίζονται από πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις που αφορούν τις παραπάνω νόσους. Επιπλέον, ο χρήστης του περιβάλλοντος *ATheraNet* μπορεί να εφαρμόσει διάφορους αλγόριθμους κεντρικότητας, όπως Degree, Closeness και Betweenness που σχετίζονται είτε με ολόκληρο το δίκτυο (global) είτε με τον κάθε κόμβο ξεχωριστά (local). Επιπλέον μπορεί να παρατηρήσει πώς ομαδοποιούνται οι κόμβοι του δικτύου (Community Detection), ποιοι κόμβοι θέτονται ως Articulation Points και ποιοι ορίζονται ως Hubs ή Authorities. Στην συνέχεια ο χρήστης μπορεί να επιτεθεί στα δίκτυα με την χρήση τεσσάρων τεχνικών, οι οποίες θα αναλυθούν πιο κάτω, και να διαπιστώσει τις αλλαγές που υπόκεινται τα δίκτυα κατά την αφαίρεση διάφορων κόμβων. Ακόμη, μπορεί να παρέμβει «θεραπευτικά» στο βιολογικό σύστημα με την αφαίρεση ή την πρόσθεση κόμβων, παρατηρώντας πώς επηρεάστηκε το δίκτυο από τις παρεμβάσεις αυτές. Επιπρόσθετα, δίνεται η δυνατότητα στον χρήστη να ανεβάσει ένα δικό του πρωτεϊνικό δίκτυο και να χρησιμοποιήσει τα εργαλεία που προαναφέρθηκαν.

ATheraNet

Web app in which you can upload a network or choose between five network examples and then apply measures, attacks or therapeutic interventions



Εικόνα 6: Περιβάλλον διαδικτυακής εφαρμογής ATheraNet

4.4.2. Απεικόνιση Δικτύων

Η απεικόνιση δικτύων επιτεύχθηκε με την χρήση του πακέτου “*visNetwork*”, το οποίο είναι ένα πακέτο της R για υποστήριξη οπτικοποίησης δικτύων, χρησιμοποιώντας την βιβλιοθήκη *vis.js* του javascript. Αυτό το πακέτο παρέχει δυνατότητες προσαρμογής σχήματος, στυλ, χρώματος και μεγέθους κόμβων ή ακρών. Επιπλέον, έχει ομαλή λειτουργία σε οποιοδήποτε σύγχρονο πρόγραμμα περιήγησης, όσον αφορά την οπτικοποίηση χιλιάδων κόμβων και ακρών [24]. Επιπρόσθετα παρέχει διαδραστικότητα στον χρήστη, όπου για παράδειγμα με την επιλογή ενός κόμβου αυτός αλλάζει χρώμα, μπορεί με την χρήση του ποντικιού να μεγεθύνει το γράφημα ή να μεταφέρει τον κόμβο σε άλλο πιο εμφανές σημείο κ.α.

```
output$plot1 <- renderVisNetwork({  
  alz <- as.matrix(alz)  
  sel1 <- alz[,1]  
  sel2 <- alz[,2]  
  nodesalz1 <- unique(c(sel1,sel2))  
  nodesalz1 <- as.data.frame(nodesalz1)  
  colnames(nodesalz1) <- "id"  
  edgesalz1 <- as.data.frame(alz)  
  colnames(edgesalz1) <- c("from", "to", "width")  
  nodesalz1  
  grapha<- graph.data.frame(edgesalz1, directed = T)  
  
  visNetwork(nodesalz1, edgesalz1, main = "Alzheimer") %>%  
  visNodes (color = list(highlight = "blue"))%>%visIgraphLayout()%>%  
  visOptions(highlightNearest = list(enabled = T, hover = T),  
  nodesIdSelection = list(enabled = TRUE, style = 'width: 80px; height:  
20px;'))%>% visInteraction(keyboard = TRUE)  
})
```

Εικόνα 7: Κώδικας απεικόνισης δικτύου Alzheimer με την χρήση βιβλιοθήκης “*visNetwork*”

4.4.3. Community Detection

Στην διαδικτυακή εφαρμογή παρέχεται ένα εργαλείο ανίχνευσης κοινοτήτων, όπου εντοπίζονται οι κοινότητες που υπάρχουν στο δίκτυο. Συγκεκριμένα, με την χρήση της συνάρτησης “*cluster_louvain* (*graph*, *weights* = *NULL*)”, εφαρμόζεται ένας αλγόριθμος βελτιστοποίησης *modularity* (πυκνά συνδεδεμένα υποσύνολα) με ιεραρχική προσέγγιση. Δηλαδή, κάθε κορυφή ανατίθεται σε μια κοινότητα από μόνη της. Σε κάθε βήμα οι κορυφές

εκχωρούνται εκ νέου σε κοινότητες με greedy τρόπο: κάθε κόμβος μετακινείται στην κοινότητα με την οποία επιτυγχάνει μεγαλύτερη συμβολή στο modularity [25]. Όταν δεν μπορούν να καταχωρηθούν άλλες κορυφές, κάθε κοινότητα θεωρείται ως κορυφή και η διαδικασία αρχίζει ξανά με τις συγχωνευμένες κοινότητες [25]. Η διαδικασία σταματά όταν απομείνει μια κορυφή ή όταν το modularity δεν μπορεί να αυξηθεί περισσότερο σε ένα βήμα [25].

```
output$plot3 <- renderVisNetwork({
  head(alz)

  nrow(alz); length(unique(alz[,c("X.node1", "node2")]));
  nrow(unique(alz$combined_score))

  dt <- aggregate(alz[,3], alz[, -3], sum)
  dt <- alz[order(alz$X.node1, alz$node2),]
  colnames(dt)[3] <- "combined_score"
  rownames(dt) <- NULL
  netcm <- graph_from_data_frame(d=dt, directed=F)
  class(netcm)
  fg <- cluster_louvain(netcm)
  V(netcm)$community <- fg$membership
  nd <- data.frame(id = V(netcm)$name, title = V(netcm)$name, group =
    V(netcm)$community)
  nd <- nd[order(nd$id, decreasing = F),]
  ed <- get.data.frame(netcm, what="edges")[1:2]

  visNetwork(nd, ed, main = "Community detection") %>%visIgraphLayout() %>%
  visOptions(highlightNearest = TRUE, nodesIdSelection =list(enabled = TRUE,
    style = 'width: 80px; height: 20px;'), selectedBy="group")
})
```

Εικόνα 8: Κώδικας απεικόνισης κοινοτήτων δικτύου Alzheimer με την χρήση συνάρτησης "cluster_louvain()"

4.4.4. Articulation Points

Τα *Articulation Points* ενός γράφου είναι οι κορυφές των οποίων η αφαίρεση αυξάνει τον αριθμό συνδεδεμένων components όπου ορίζεται ως ένας ή περισσότεροι υπογράφοι σε ένα δίκτυο. Δηλαδή η αφαίρεσή τους αλλά και η αφαίρεση των συνδέσεών τους, θα προκαλούσε αποσύνδεση του γραφήματος. Συγκεκριμένα, τα σημεία articulation αντιπροσωπεύουν

ευπάθειες σε ένα συνδεδεμένο δίκτυο ή σε μεμονωμένα σημεία, όπου ένα σφάλμα στο δίκτυο θα το χώριζε σε δύο ή περισσότερα components [26]. Στην διαδικτυακή πλατφόρμα *ATheraNet* χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση *"articulation_points(graph)"*, όπου εντοπίζονται οι σημαντικότερες κορυφές.

4.4.5. Global & Local Metrics

Στην εφαρμογή *ATheraNet*, έγινε χρήση τριών global & local μετρικών κεντρικότητας: degree, closeness και betweenness. Οι global μετρικές, αφορούν τον μέσο αριθμό κεντρικότητας που έχει ολόκληρο το δίκτυο και οι local μετρικές σχετίζονται με την κεντρικότητα του κάθε κόμβου ως προς το σύνολο του δικτύου. Τα αποτελέσματα της κεντρικότητας διαφοροποιούνται με την χρήση του εκάστοτε αλγορίθμου. Στις local μετρικές συγκαταλέγεται και ο προσδιορισμός των κόμβων ως Hubs ή Authorities, όπου θα επεξηγήσουμε στην συνέχεια. Στις global μετρικές κατατάσσεται και η συνάρτηση *"smallworldness (A, method='TJHBL')"*, όπου υπολογίζει ένα σκορ και προσδιορίζει τον τύπο του δικτύου. Οι τιμές κοντά στο 0 υποδηλώνουν ένα δίκτυο *μικρού κόσμου* (small world), ενώ το <0 υποδεικνύει ένα πιο κανονικό δίκτυο (regular) ενώ το > 0 υποδηλώνει ένα πιο *τυχαίο δίκτυο* (random).

Οι global & local μετρικές κεντρικότητας εφαρμόστηκαν με την χρήση της βιβλιοθήκης *"igraph"*. Η *"igraph"* βιβλιοθήκη είναι ένα πακέτο επέκτασης στην RStudio πλατφόρμα και χρησιμοποιείται για την ανάλυση δικτύων. Παρέχει διάφορες δυνατότητες, όπως εύκολη και γρήγορη δημιουργία δικτύων αλλά και την απεικόνισή τους, εύκολο χειρισμό μεγάλων δικτύων (π.χ. διαγραφή κόμβων ή ακρών), προσφορά μιας ευρείας γκάμας αλγορίθμων (π.χ. μετρικές κεντρικότητας) κ.α. Επιπρόσθετα η global μετρική *"smallworldness"* εμπεριέχεται στην βιβλιοθήκη *"NetworkToolbox"*, όπου χρησιμοποιείται επίσης για ανάλυση δικτύου με την εφαρμογή μετρικών θεωρίας γράφων και εφαρμόζεται συνήθως σε πεδία όπως νευροεπιστήμη, γνωσιακή επιστήμη η οποία ασχολείται με την νοητική μελέτη και τις διαδικασίες του νου [27] και τέλος απευθύνεται και στην επιστήμη της ψυχολογίας. Αναλυτικά προσφέρει ποικίλες μετρικές για ανάλυση δικτύων, συμπεριλαμβανομένων των τοπικών (local) μετρικών (π.χ. κεντρικότητα), μετρικών κοινοτικού επιπέδου (π.χ. κεντρικότητα κοινότητας), καθολικών (global) μετρικών (π.χ. συντελεστής ομαδοποίησης) [28] κ.α.

4.4.6. Hubs & Authorities

Οι συναρτήσεις *"hub_score (graph, weights=NA)\$vector"* και *"authority.score(graph, weights=NA)\$vector"* υποστηρίζονται από την βιβλιοθήκη *"igraph"*. Τα *hubs* αφορούν ένα κατάλογο κόμβων οι οποίοι έχουν μεγάλο αριθμό εξερχόμενων συνδέσμων, ενώ οι κόμβοι που χαρακτηρίζονται ως *authorities* λαμβάνουν πολλαπλές εισερχόμενες συνδέσεις από κόμβους οι οποίοι ορίζονται ως hubs. Ένας κόμβος υψηλού σκορ hub συνδέεται με σημαντικούς κόμβους που θέτονται ως authority και αντίστροφα. Στην προκειμένη περίπτωση, το δίκτυο λαμβάνεται υπόψιν ως *κατευθυνόμενο*, λόγω του ότι θέλουμε να διαπιστώσουμε ποιος κόμβος στέλνει ή λαμβάνει χρήσιμη πληροφορία στο σύστημα, ενώ στις πιο πάνω περιπτώσεις το δίκτυο τέθηκε ως *μη κατευθυνόμενο*.

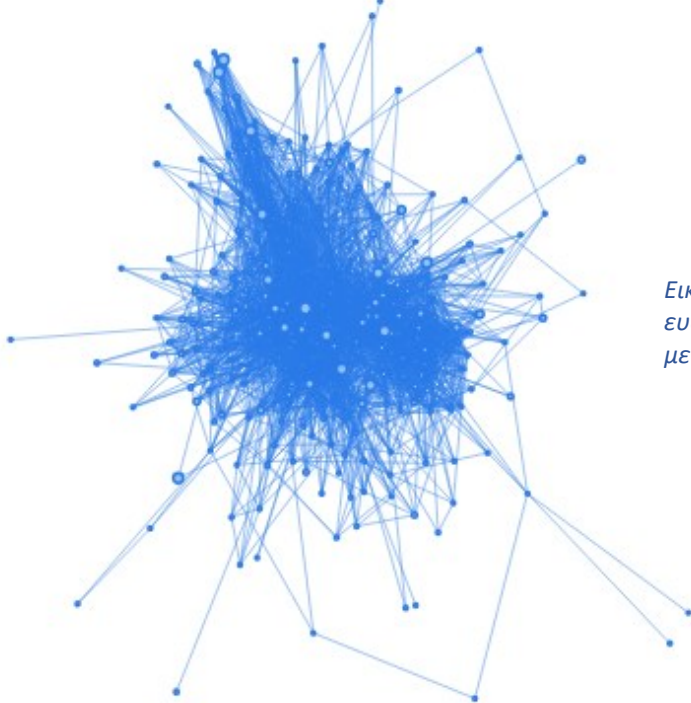
```

output$model2c15 <- renderVisNetwork({
  park <- as.matrix(park)
  sel1 <- park[,1]
  sel2 <- park[,2]
  n21 <- unique(c(sel1,sel2))
  n21 <- as.data.frame(n21)
  colnames(n21) <- "id"
  ed21 <- as.data.frame(park)
  colnames(ed21) <- c("from", "to", "width")
  g1 <- graph.data.frame(ed21, directed = T)
  c120 <- closeness(g1)
  c120<-format(c120, digits=2)
  n21$value <- c120[match(n21$id, names(c120))]
  n21$label <- paste( n21$id , format(n21$value, digits = 4))

  visNetwork(n21, ed21, main = "Closeness Centrality") %>%
  visNodes (color = list(highlight = "yellow"))%>%
  visIgraphLayout() %>% visOptions(highlightNearest = TRUE, nodesIdSelection =
list(enabled = TRUE, style = 'width: 80px; height: 20px;'))
})

```

Εικόνα 9: Κώδικας απεικόνισης δικτύου Parkinson με χρήση της συνάρτησης κεντρικότητας “closeness()”



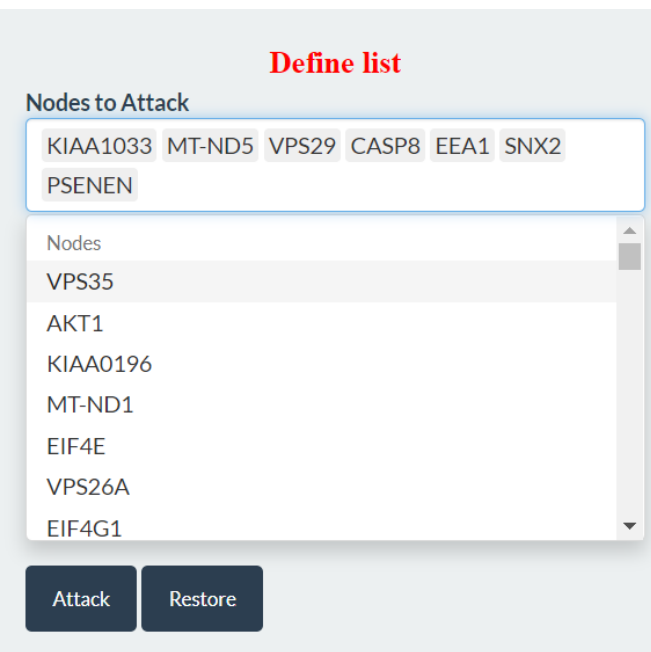
Εικόνα 10: Έξοδος κώδικα Εικόνας 9 – Δίκτυο Parkinson με ευδιάκριτους κόμβους υψηλού σκορ Closeness – μεγαλύτερου μεγέθους κόμβοι

4.4.7. Στρατηγικές Επιθέσεων

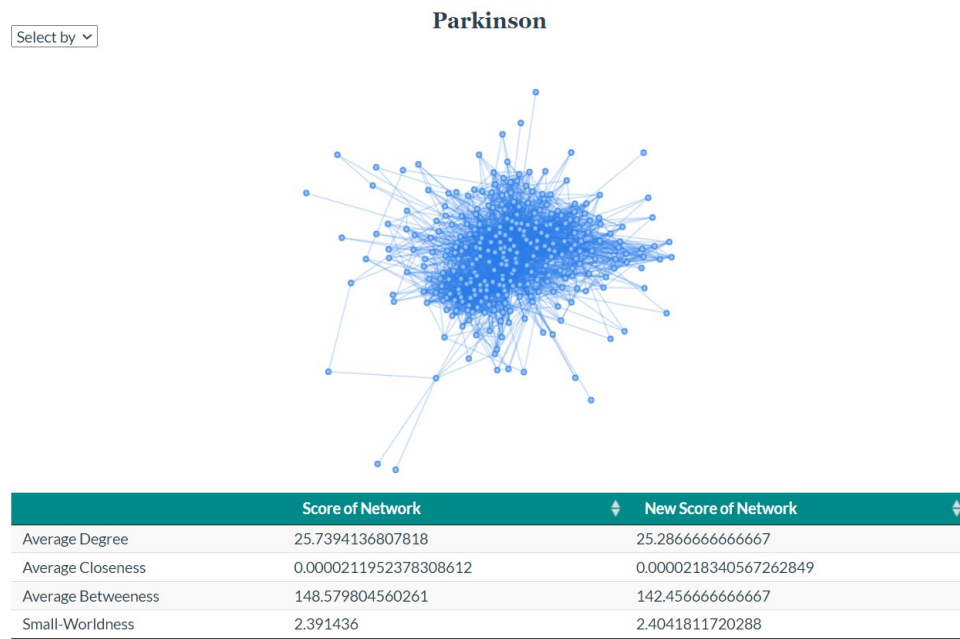
Στόχος των στρατηγικών αυτών, είναι να βρεθούν τα ευαίσθητα – αδύναμα σημεία του δικτύου με σκοπό να διαπιστωθεί η έκταση της καταστροφής που μπορούν να επιφέρουν σε αυτό. Ευαίσθητα ή αδύναμα σημεία, μπορούν να θεωρηθούν οι κόμβοι που έχουν, για παράδειγμα, πολλαπλές συνδέσεις με άλλους κόμβους στο δίκτυο. Αυτό υποδηλώνει ότι με την πραγματοποίηση μιας επίθεσης στους συγκεκριμένους κόμβους, το σύστημα αποκτά νέα χαρακτηριστικά όπου ίσως καθορίζεται και ως πιο ευάλωτο. Σε τυχαίες επιθέσεις, δηλαδή επιθέσεις σε κόμβους οι οποίοι ως επί των πλείστων δεν διακρίνονται απαραίτητα ως σημαντικοί, το σύστημα είναι πιθανόν να συνεχίσει να ορίζεται ως λειτουργικό. Αυτό συμβαίνει δια τον λόγω του ότι οι επιθέσεις στους δεδομένους κόμβους δεν διαταράσσουν τα χαρακτηριστικά του συστήματος και συνάμα δεν επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ανθεκτικότητά του. Όπως προαναφέραμε υλοποιήθηκαν τέσσερις στρατηγικές επιθέσεων οι οποίες αναλύονται ακολούθως.

➤ **Στρατηγική Διαγραφής Κόμβων με την Χρήση Λίστας**

Με αυτή την απλή μέθοδο, δίνεται η δυνατότητα επιλογής στον χρήστη να επιλέξει μέσα από ένα κατάλογο πρωτεϊνών αυτές που θέλει να αφαιρέσει από το δίκτυο (Εικόνα 11). Έπειτα εμφανίζονται οι νέες global μετρικές όπου εξάχθηκαν με την διαγραφή ενός ή περισσότερων κόμβων (Εικόνα 12).



Εικόνα 11: Λίστα πρωτεϊνών που σχετίζονται με την νόσο του Parkinson και είναι προς αφαίρεση



Εικόνα 12: Νέες Global μετρικές νόσου Parkinson (αριστερά) έπειτα από την αφαίρεση των πρωτεϊνών της Εικόνας 11

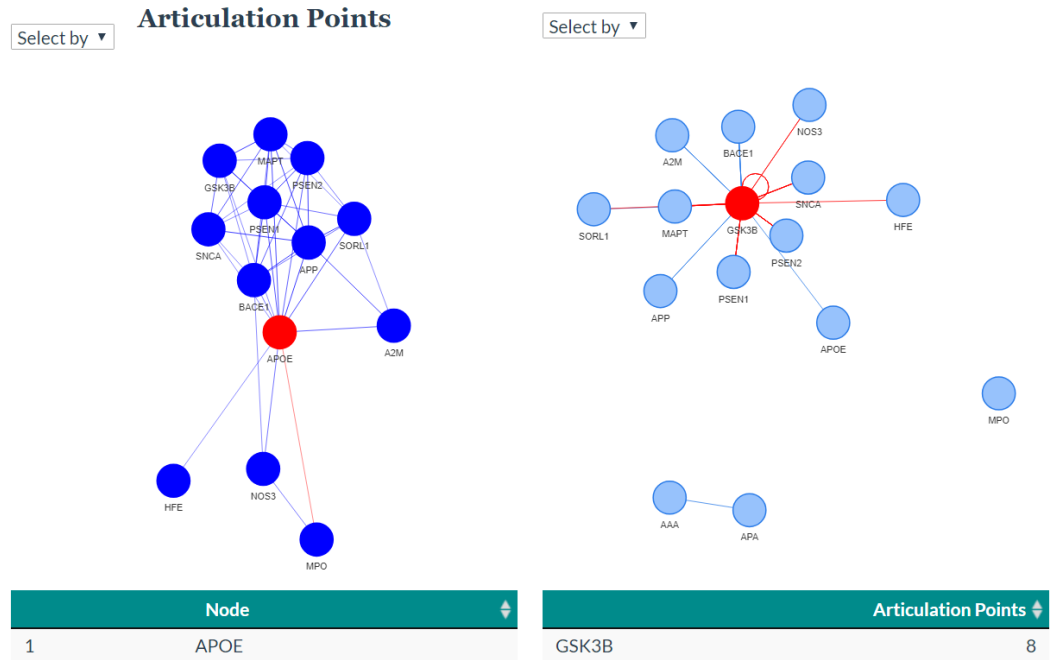
➤ **Στρατηγική Διαγραφής Ακρών ή Προσθήκη Κόμβων ή Ακρών με την Χρήση CSV File**

Στην συγκεκριμένη στρατηγική, ο χρήστης μπορεί να εισάγει ένα CSV αρχείο το οποίο είναι θεμιτό να έχει μια συγκεκριμένη δομή. Στο αρχείο αυτό θα πρέπει να

περιέχονται οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών με την ακόλουθη μορφή: μια στήλη η οποία θα αναφέρει τις συνδέσεις μιας πρωτεΐνης (From) προς κάποια άλλη πρωτεΐνη, η οποία θα καταχωρείται σε μια δεύτερη στήλη (To) (Εικόνα 13). Η διαφορά με την πιο πάνω μέθοδο είναι ότι δεν διαγράφεται κανένας κόμβος, απλά αλλάζουν οι συνδέσεις μεταξύ αυτών. Δηλαδή, αν οι εξής πρωτεϊνικές

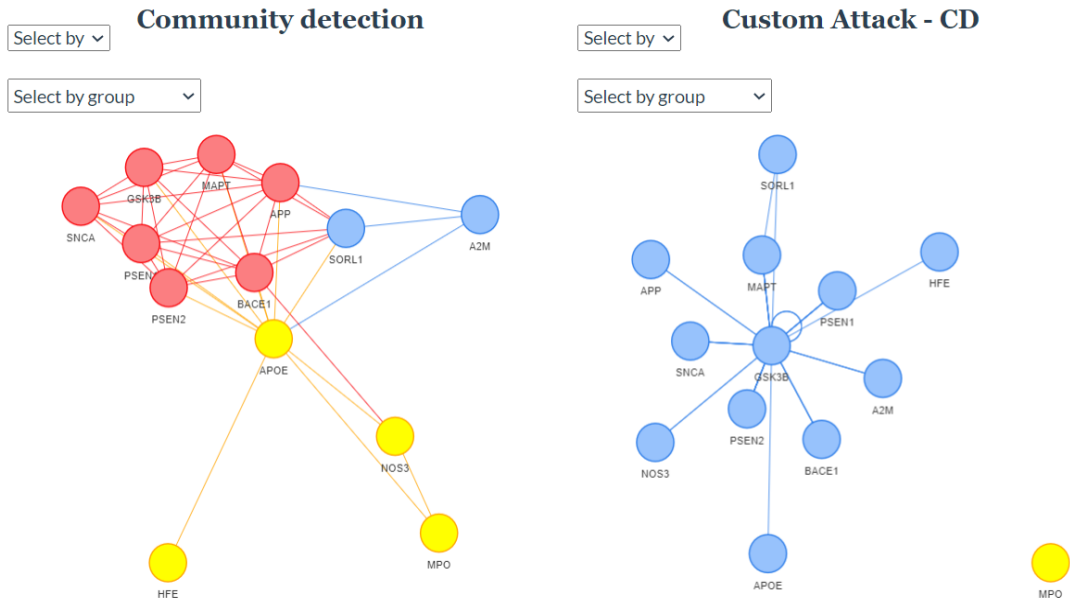
node1	node2
KIAA1033	CCDC53
MT-ND5	MT-ND1
VPS29	SNX1
CASP8	CASP3
EEA1	RAB5A
SNX2	VPS35
VPS35	VPS26B
AKT1	MTOR
VPS29	VPS26A
VPS35	SNX3

Εικόνα 13: CSV αρχείο μερικών πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων που σχετίζονται με την νόσο του Parkinson



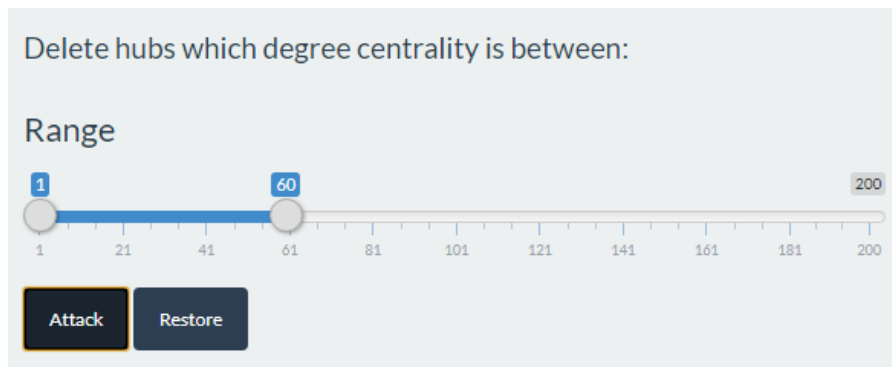
Εικόνα 14: Παλιό και νέο Articulation Point μετά από επίθεση CSV μεθόδου σε Τογ Example δίκτυο – αλλαγή συνδέσεων και προσθήκη κόμβων που δεν προϋπήρχαν

αλληλεπιδράσεις: **From: A → To: B, From: Γ → To: Δ και From: E → To: Z,** γίνουν **From: A → To: Δ, From: Γ → χωρίς κάποια αλληλοεπίδραση** ενώ η τρίτη αλληλοεπίδραση **παραμένει** ως έχει, θα διαγραφεί η σύνδεση μεταξύ του **A → Γ** και θα δημιουργηθεί σύνδεση του **A** με την πρωτεΐνη **Δ**. Η πρωτεΐνη **Γ** θα μείνει **απομονωμένη** διότι στο αρχείο αυτό δεν υπάρχει κάποια σύνδεση με κάποιο κόμβο. Επίσης η τρίτη αλληλεπίδραση δεν θα αφαιρεθεί, θα παραμείνει απaráλλαχτη στο νέο δίκτυο. Επιπλέον, μπορούν να προστεθούν νέες πρωτεΐνες που δεν υπήρχαν στο αρχικό δίκτυο. Με αυτή την μέθοδο, δίνεται η ευχέρεια στον χρήστη να διακρίνει τις αλλαγές που έγιναν, όσον αφορά τις global & local μετρικές αλλά και στην ομαδοποίηση κόμβων (κοινότητες) (Εικόνα 14) όπως και στα articulation points (Εικόνα 15).

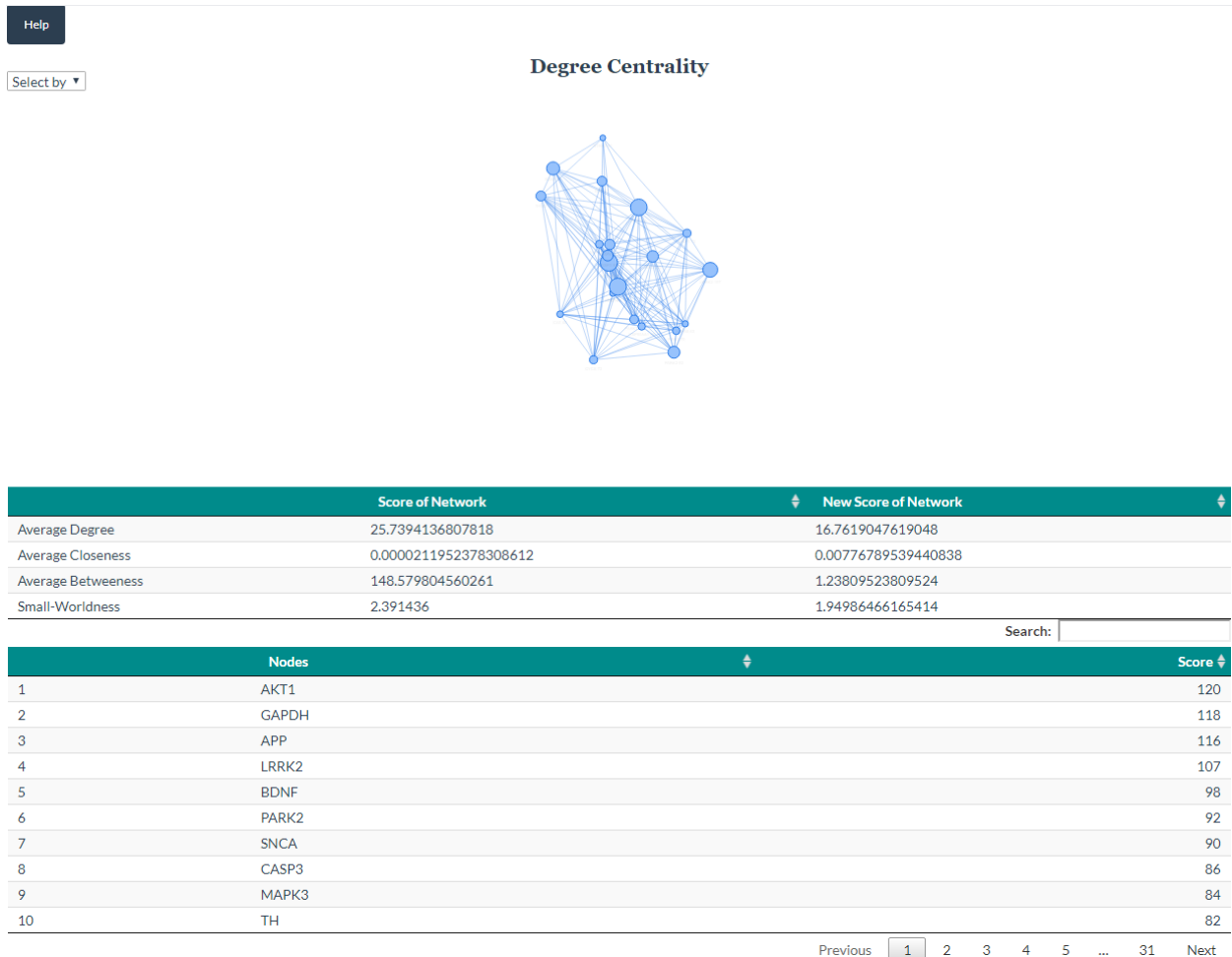


Εικόνα 15: Αρχική ομαδοποίηση κόμβων (κοιότητες) και νέα ομαδοποίηση μετά από επίθεση CSV μεθόδου σε Τογ Example δίκτυο – αλλαγή συνδέσεων προϋπάρχοντων κόμβων

- **Διαγραφή Κόμβων με Καθορίσιμο Εύρος Τιμών με Βάση την Κεντρικότητα Degree**
Αυτή η μέθοδος επιτρέπει στον χρήστη να επιλέξει ένα εύρος τιμών με βάση την κεντρικότητα degree και έπειτα να διαγράψει τους κόμβους που βρίσκονται στο συγκεκριμένο εύρος. Οι τιμές αυτές υπολογίζονται και παρουσιάζονται διαδοχικά σε μια κλίμακα, από την μικρότερη τιμή μέχρι την μεγαλύτερη (Εικόνα 16). Αρχικά, εμφανίζεται ένας πίνακας με τις βαθμολογίες του εκάστοτε κόμβου με βάση την κεντρικότητα degree. Έπειτα, μετά την αφαίρεση εμφανίζονται οι νέες global τιμές έναντι των τιμών του αρχικού δικτύου (Εικόνα 17).



Εικόνα 16: Επιλογή εύρους σκορ κόμβων. Στην συγκεκριμένη περίπτωση, από 1 μέχρι 60



Εικόνα 17: Διαγραφή κόμβων νόσου Parkinson κεντρικότητας degree, με εύρος σκορ από 1 μέχρι 60

➤ Διαγραφή Κόμβων με Καθορίσιμο Εύρος Τιμών με Βάση την Κεντρικότητα Eigenvector

Η στρατηγική αυτή, έχει την ίδια φιλοσοφία με την παραπάνω μέθοδο, όπου πραγματοποιείται η αφαίρεση κόμβων με εύρος τιμών που καθορίστηκε από την κεντρικότητα eigenvector. Όπως και στην μέθοδο degree, έτσι και εδώ εμφανίζονται οι νέες global τιμές.

4.4.8. Στρατηγικές Θεραπευτικών Παρεμβάσεων

Οι μέθοδοι θεραπευτικών παρεμβάσεων, έχουν την ίδια φιλοσοφία με τις στρατηγικές των επιθέσεων. Οι μέθοδοι αυτοί είναι ενδεικτικοί, διότι δεν μπορεί να εφαρμοστεί θεραπευτική παρέμβαση στα συγκεκριμένα πρωτεϊνικά δίκτυα, αφού δεν υπάρχει γνώση για το αν χαρακτηρίζονται ως «υγιούς» ή ως «νοσηρού» επιπέδου δίκτυα. Δηλαδή, τα πρωτεϊνικά δίκτυα που έχουμε στην κατοχή μας δεν ξέρουμε σε τι κατάσταση βρίσκονται για να μπορούμε να επέμβουμε θεραπευτικά, λόγω του ότι έχουν αλληλεπιδράσεις φυσικού τύπου. Θεωρούμε ότι δύο πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν φυσικά, εάν κάποια από τα κατάλοιπά τους έρχονται σε επαφή κάποια στιγμή. Για παράδειγμα, ας υποθέσουμε ότι η πρωτεΐνη A

ενεργοποιεί τη Β στο χρόνο T1, διαχωρίζεται έπειτα από την Β στην χρονική στιγμή T2 και το Β ρυθμίζει την Γ στον χρόνο T3 [30]. Με βάση το προηγούμενο παράδειγμα, φυσική αλληλεπίδραση έχει η πρωτεΐνη Α με την Β και η Β με την Γ. Το σκεπτικό πίσω από τις θεραπευτικές παρεμβάσεις, είναι η αναζήτηση κόμβων ή ακρών που μπορούμε να προσφέρουμε σε ένα «νοσηρό» δίκτυο ώστε να μοιάζει με ένα δίκτυο «υγιούς» επιπέδου. Αν για παράδειγμα στην εφαρμογή αυτή είχαμε ένα άλλο τύπο δικτύων, όπως δίκτυα συν-έκφρασης γονιδίων σε δύο επίπεδα «νοσηρά» ή «υγιές», θα μπορούσαμε με την σύγκρισή τους να μετασχηματίσουμε το δίκτυο «νοσηρού» επιπέδου έτσι ώστε να μπορεί να χαρακτηριστεί ως «υγιούς» επιπέδου. Τα δίκτυα συν-έκφρασης γονιδίων είναι *μη κατευθυνόμενα γραφήματα*, όπου ο κάθε κόμβος αναπαριστά ένα γονίδιο και οι συνδέσεις μεταξύ των κόμβων αφορούν σχέσεις συν-έκφρασης. Δηλαδή, τα άκρα τους χαρακτηρίζουν τα παρόμοια μοτίβα έκφρασης που έχουν δύο κόμβοι. Τα δίκτυα αυτά, αποθηκεύουν πληροφορίες που σχετίζονται με την μεταγραφή γονιδίων η οποία πραγματοποιείται ταυτόχρονα ή υπό τις ίδιες συνθήκες [29]. Οι στρατηγικές θεραπευτικής παρέμβασης που προτείνονται αναλύονται στην συνέχεια.

➤ **Στρατηγική Διαγραφής ή Προσθήκης Κόμβων ή Ακρών με την Χρήση Λίστας**

Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι παρόμοια με αυτή των επιθέσεων, με την διαφορά του ότι ο χρήστης μπορεί να προσθέσει κόμβους και άκρα στο δεδομένο δίκτυο χειροκίνητα (Εικόνα 18). Ακολούθως, με την διαγραφή ή με την προσθήκη ακρών ή κόμβων, υπολογίζονται οι νέες global μετρικές και σε κάθε προσθήκη εμφανίζονται οι νέες συνδέσεις σε ένα πίνακα (Εικόνα 19).

Define list

Therapeutic Intervension

Choose Nodes to Remove

Remove

Restore

Insert Nodes to a list

Instert Nodes

From

A2M

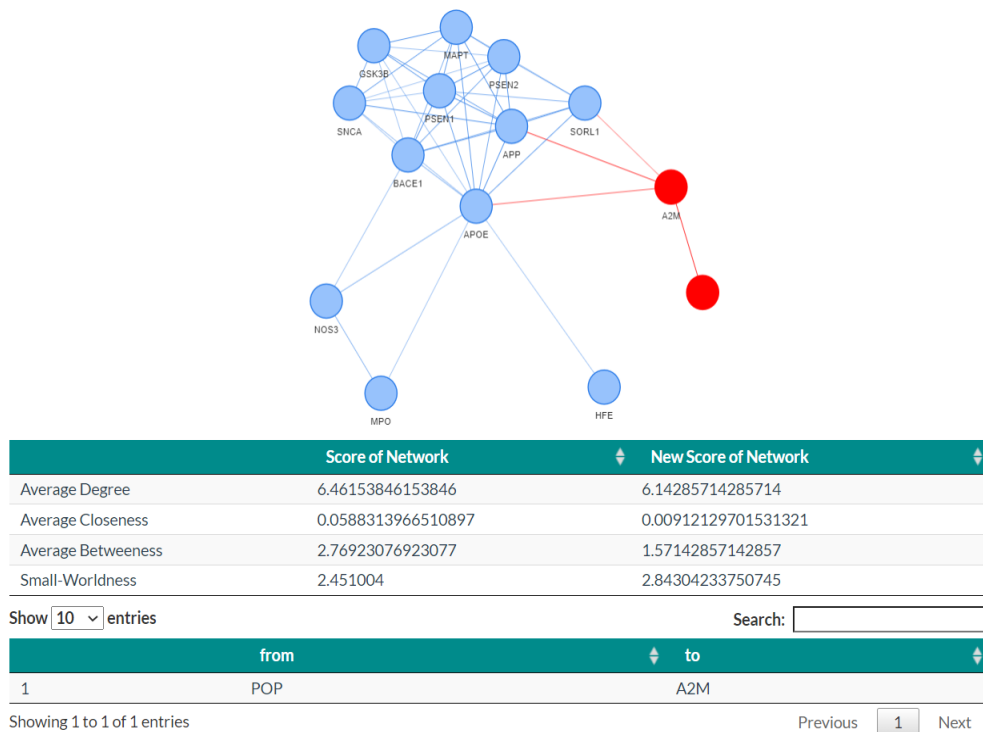
To

A2M

Add Edges

Restore

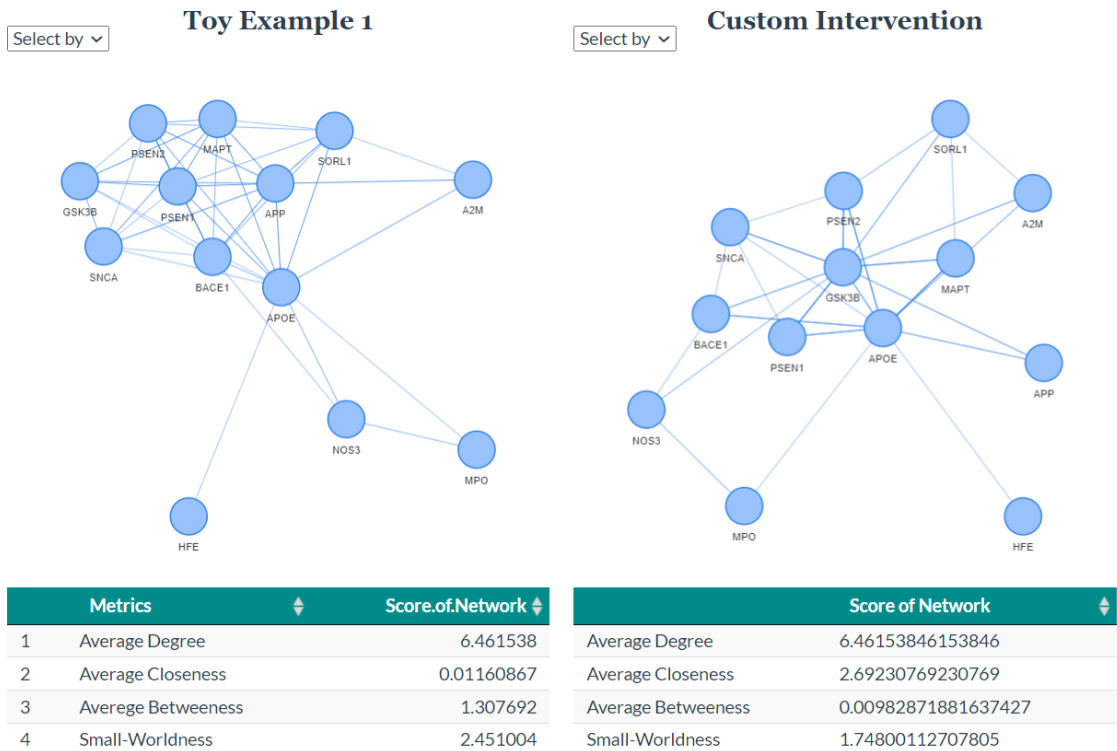
Εικόνα 18: Εργαλείο χειροκίνητης προσθήκης ή αφαίρεσης κόμβων ή ακρών



Εικόνα 19: Παράδειγμα μιας υποκείμενης θεραπευτικής παρέμβασης σε ένα πρωτεϊνικό του example δίκτυο, όπου εμφανίζονται οι νέες global μετρικές και οι κόμβοι που προστέθηκαν μαρκάρονται με κόκκινο

➤ Στρατηγική Διαγραφής Κόμβων και Ακρών με την Χρήση CSV File

Η μέθοδος αυτή αφορά την διαγραφή κόμβων και ακρών, με την χρήση CSV αρχείου με την ίδια μορφή με αυτή που αναφέρεται στην στρατηγική επίθεσης ακρών (εικόνα 13). Οι κόμβοι και οι ακμές που δεν υπάρχουν στο συγκεκριμένο αρχείο διαγράφονται και δημιουργείται εκ νέου ένα δίκτυο. Αν για παράδειγμα έχουμε τις εξής τρεις αλληλεπιδράσεις, **From: A → To: B**, **From: Γ → To: Δ** και **From: E → To: Z** και στο αρχείο έχουμε **From: A → To: B**, **From: H → To: Θ** και **From: I → To: Κ**, τότε θα έχουμε σαν αποτέλεσμα στο νέο δίκτυο να υπάρχει το **A → B**, ενώ το **Γ → Δ** διαγράφονται και παίρνει την θέση τους η αλληλεπίδραση **H → Θ**. Το ίδιο συμβαίνει και με το **E → Z** όπου διαγράφεται και μεταλλάσσεται σε **I → Κ**. Στη συνέχεια, υπολογίζονται οι νέες global μετρικές του συστήματος και απεικονίζεται το νέο δίκτυο (Εικόνα 20).

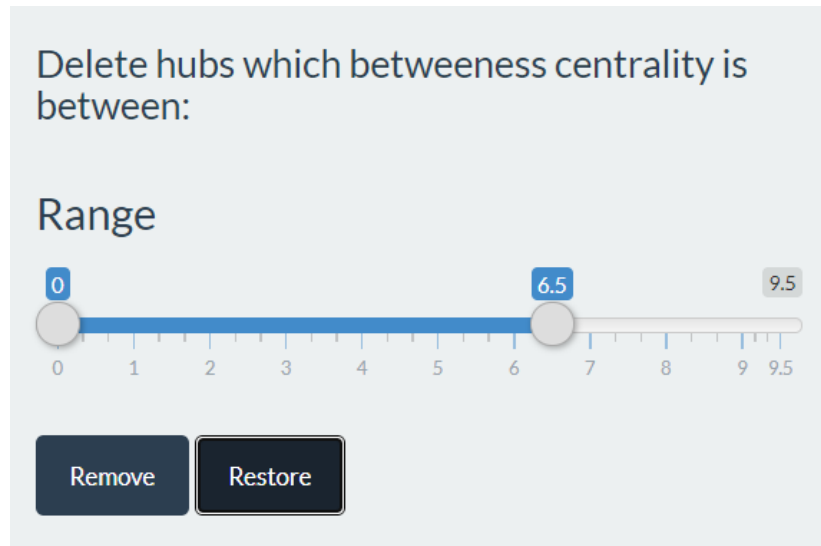


Εικόνα 20: Παράδειγμα μιας υποκείμενης θεραπευτικής παρέμβασης σε ένα πρωτεϊνικό toy example δίκτυο, όπου εμφανίζονται οι νέες global μετρικές μαζί με το νέο δίκτυο που υπέστη μετασχηματισμό

➤ Διαγραφή Κόμβων με Καθορίσιμο Εύρος Τιμών με Βάση την Κεντρικότητα Betweenness

Αυτή η μέθοδος, ομοίως με την στρατηγική επίθεσης σε degree ή eigenvector κεντρικότητα, δίνει την δυνατότητα στον χρήστη να επιλέξει ένα εύρος τιμών με βάση την κεντρικότητα betweenness και έπειτα αφαιρούνται οι κόμβοι που βρίσκονται στο καθορισμένο εύρος. Αρχικά, υπολογίζεται η κεντρικότητα κάθε κόμβου και αναγράφονται διαδοχικά οι αριθμοί από τη μικρότερη τιμή μέχρι την μεγαλύτερη σε μία κλίμακα (Εικόνα 21). Ακολούθως, με την εφαρμογή αφαίρεσης

συγκεκριμένου εύρους, εμφανίζονται οι νέες global τιμές μετά τον μετασχηματισμό του δικτύου.



Εικόνα 21: Εργαλείο χειροκίνητης αφαίρεσης κόμβων με εύρος τιμών από 0 μέχρι 6.5, σε ένα toy example δίκτυο

➤ **Διαγραφή Κόμβων με Καθορίσιμο Εύρος Τιμών με Βάση την Κεντρικότητα Closeness**

Η στρατηγική αυτή, ακολουθεί την ίδια σκεπτική με τις άλλες τρεις τεχνικές αφαίρεσης κόμβων που προαναφέρθηκαν με την χρήση μετρικών κεντρικότητας. Συγκεκριμένα η αφαίρεση κόμβων γίνεται με την επιλογή εύρους τιμών με την χρήση του αλγορίθμου κεντρικότητας closeness. Όπως με την παραπάνω τεχνική, παρουσιάζονται οι νέες global μετρικές μετά τον μετασχηματισμό του δικτύου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. Case Study 1: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας Degree

Πίνακας 1: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας degree της νόσου Alzheimer

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	APP	234
2.	INS	188
3.	GAPDH	182
4.	ALB	180
5.	AKT1	175
6.	BDNF	153
7.	IL6	148
8.	CASP3	143
9.	APOE	141
10.	MAPK3	139
11.	TNF	134
12.	TP53	134
13.	MAPK1	125
14.	NGF	122
15.	MAPK8	121

Στην περίπτωση αυτή, πραγματοποιήθηκε επίθεση στους πρώτους 15 κόμβους που είχαν υψηλό degree centrality. Με την εφαρμογή του αλγορίθμου κεντρικότητας βαθμού (degree), οι πρώτοι 15 κόμβοι που είχαν υψηλή βαθμολογία ήταν οι εξής: APP, INS, GAPDH, ALB, AKT1, BDNF, IL6, CASP3, APOE, MAPK3, TNF, TP53, MAPK1, NGF και MAPK8. Οι βαθμολογίες τους αναγράφονται στον πίνακα 1.

Η επίθεση επιτεύχθηκε με την χρήση του εργαλείου επίθεσης – User-defined list, όπου επιλέχθηκαν μέσα από μία λίστα οι πρωτεΐνες προς διαγραφή (Εικόνα 22). Τα αποτελέσματα, όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 23, δείχνουν πολύ σημαντική μείωση στο μέσο degree του δικτύου, 37.5 στο αρχικό δίκτυο και 28 στο νέο δίκτυο, όπως και μια πολύ μικρή μείωση στο μέσο closeness, 0.0000119 έναντι 0.0000112. Αύξηση είχε το μέσο betweenness, από 202.7 σε 205.4 και το small-worldness, 2.1 έναντι 2.5. Οι τιμές του small-worldness που είναι μεγαλύτερες του μηδενός, υποδηλώνουν ένα πιο τυχαίο δίκτυο. Η μείωση του degree ήταν προφανέστατη, διότι έγινε αφαίρεση των σημαντικότερων κόμβων οι οποίοι έχουν τους περισσότερους δεσμούς στο δίκτυο, άρα και πιο πλεονεκτική θέση στο δίκτυο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της μετάδοσης της πληροφορίας στο πρωτεϊνικό σύστημα αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, η αμελητέα μείωση της κεντρικότητας closeness, υποδηλώνει ότι η πληροφορία στο δίκτυο δεν διανέμεται τόσο εύκολα όσο στο αρχικό. Αυτό συμβαίνει επειδή, ίσως έχουν διαγραφεί κόμβοι οι οποίοι ήταν κάποιας σημασίας, όσον αφορά την μετάδοση πληροφορίας με την χρήση λιγοστών βημάτων. Η αύξηση του betweenness μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τώρα υπάρχει καλύτερη ροή της πληροφορίας στο δίκτυο, λόγω της διαφάνειας χρησιμότερων μονοπατιών, και εν συνεχεία υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα να

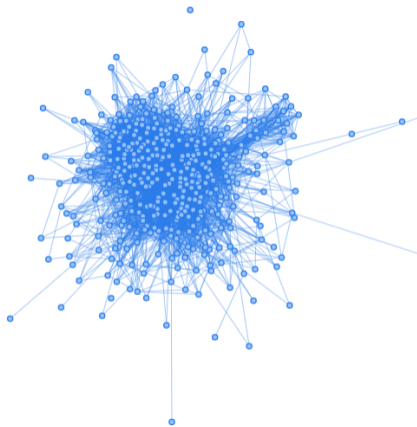
φτάσει στον προορισμό της. Τέλος, η αύξηση του small-worldness χαρακτηρίζει το δίκτυο ακόμη πιο τυχαίο γιατί με την διαγραφή των πρωτεϊνών αυτών, πιθανόν να μειώθηκε το μέσο μήκος των συνολικών συντομότερων διαδρομών που συνδέει το εκάστοτε ζεύγος κόμβων (path length), είτε να υπάρχει πτώση του ποσοστού των γειτόνων ενός δεδομένου κόμβου οι οποίοι έχουν μεταξύ τους σύνδεση (clustering coefficient).



Εικόνα 22: Εισαγωγή 15 πρώτων κόμβων με υψηλό degree στην λίστα που σχετίζονται με την νόσο Alzheimer

Select by ▼

Alzheimer



	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	37.5105882352941	28.0780487804878
Average Closeness	0.0000119797516347916	0.0000112348188359593
Average Betweenness	202.722352941176	205.358536585366
Small-Worldness	2.178675	2.5126474337478

Εικόνα 23: Αποτελέσματα διαγραφής 15 πρώτων κόμβων υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *degree* της νόσου Alzheimer

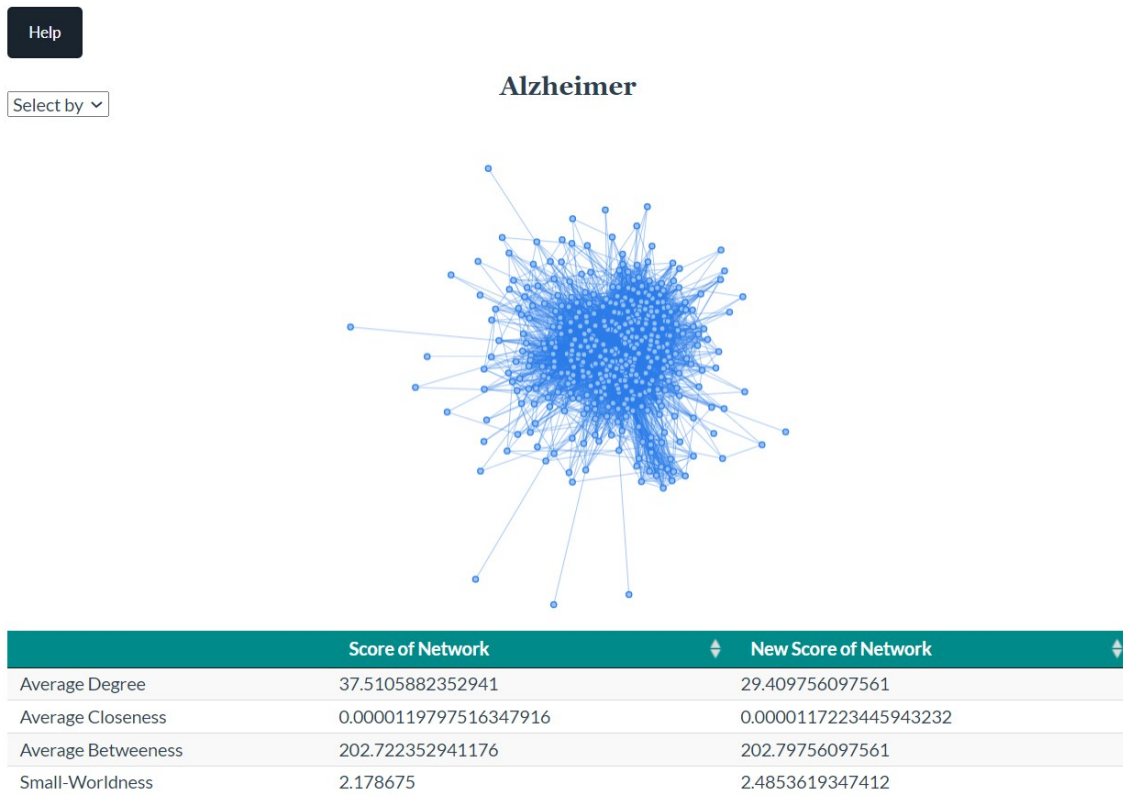
5.2. Case Study 2: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας *Betweenness*

Πίνακας 2: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *betweenness* της νόσου Alzheimer

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	APP	7253.6
2.	INS	3144.4
3.	ALB	2796.7
4.	NGF	2279.7
5.	CYCS	2124.6
6.	CASP3	1968.2
7.	MAPT	1698.5
8.	PTGS2	1366.7
9.	MAPK3	1330.2
10.	IL6	1297.1
11.	SOD1	1292.2
12.	PSEN1	1269.5
13.	JUN	1185.9
14.	FYN	1150.3
15.	GAPDH	1138.2

Με τον ίδιο τρόπο επιτεύχθηκε και το δεύτερο πείραμα επίθεσης στο δίκτυο Alzheimer. Αρχικά επιλέχθηκαν οι ακόλουθοι 15 κόμβοι οι οποίοι έχουν υψηλό *betweenness centrality*: APP, INS, ALB, NGF, CYCS, CASP3, MAPT, PTGS2, MAPK3, IL6, SOD1, PSEN1, JUN, FYN και GAPDH. Τα σκορ τους εμφανίζονται στον πίνακα 2, όπου διακρίνεται η ύπαρξη πρωτεϊνών οι οποίες παρουσιάζουν τόσο υψηλό *degree* όσο και υψηλό *betweenness*, όπως για παράδειγμα οι APP, INS, ALB, CASP3, IL6, MAPK3 και GAPDH. Με αυτό το στοιχείο, διαπιστώνεται ότι οι κόμβοι αυτοί χαρακτηρίζονται από πολλαπλούς δεσμούς και οι οποίοι διασυνδέονται με απόμακρους κόμβους ή με αποσυνδεδεμένες ομάδες. Επιπλέον, ελέγχουν την ροή της πληροφορίας στο σύστημα, αφού ορίζονται και ως συντομότερα μονοπάτια διάδοσης δεδομένων στο επικοινωνιακό σύστημα. Με την εφαρμογή της επίθεσης αυτής, μέσω μιας λίστας που καθορίστηκε από τον χρήστη, έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα (Εικόνα 24). Το μέσο *degree* του δικτύου έχει αισθητά μεγάλη πτώση, αρχικό

δίκτυο με σκορ 37.5 και επιτιθέμενο δίκτυο με σκορ 29.4, όπου συνεπάγεται με την μείωση των διασυνδέσεων που αντιστοιχούν σε κάθε κόμβο. Επίσης, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ανάμεσα στους 15 κόμβους υψηλού betweenness υπάρχουν και 7 κόμβοι υψηλού degree. Αυτό συμβάλει στην ελάττωση της βαθμολογίας του μέσου όρου συνδέσεων του εκάστοτε κόμβου, όσον αφορά ολόκληρο το σύστημα. Παρατηρήθηκε ακόμη πολύ μικρή πτώση στο μέσο closeness, 0.0000119 έναντι 0.0000117, όπου συμπεραίνουμε πως δεν διανέμεται στο σύστημα η πληροφορία τόσο εύκολα όσο στο αρχικό δίκτυο. Με άλλα λόγια το σύστημα, περιέχει πλέον ένα μειωμένο αριθμό κόμβων οι οποίοι έχουν γρήγορη προσβασιμότητα σε άλλους κόμβους και οι αποστάσεις των δεδομένων πρωτεϊνών δεν είναι τόσο μικρές όσο στο αρχικό δίκτυο. Επιπρόσθετα σημειώθηκε μια αμελητέα αύξηση στο betweenness, από 202.7 σε 202.8, όπου σχεδόν ισοσταθμίζεται με το σκορ του αρχικού δικτύου. Υπάρχει πιθανότητα να συμβαίνει λόγω δομής του δικτύου, δηλαδή να υφίστανται πολλαπλά σύντομα μονοπάτια και έτσι η πληροφορία να βρίσκει νέα ευκολότερη δίοδο μετάδοσης με την δημιουργία του νέου δικτύου. Τέλος, υπήρξε αύξηση και στην μετρική small-worldness, 2.2 έναντι 2.5, όπου ορίζει το δίκτυο πιο τυχαίο απ' ότι ήταν αρχικά. Αυτό ίσως συμβαίνει διότι, με την πτώση του μέσου όρου διασυνδέσεων των κόμβων (degree), να απέμειναν κάποια μονοπάτια σύνδεσης πρωτεϊνών τα οποία θέτονται ως τυχαία.



Εικόνα 24: Αποτελέσματα διαγραφής 15 πρώτων κόμβων υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας betweenness της νόσου Alzheimer

5.3. Case Study 3: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας Closeness

Πίνακας 3: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας closeness της νόσου Alzheimer

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	VEGFA	0.0000609
2.	NOS1	0.0000526
3.	C9orf72	0.0000519
4.	NEFL	0.0000511
5.	APBB1	0.00005
6.	GRIN2B	0.0000493
7.	NTF4	0.0000463
8.	GFAP	0.0000456
9.	APOC1	0.0000442
10.	LDLR	0.0000438
11.	VEGFA	0.000044
12.	AKT1	0.000042
13.	CCL3	0.000042
14.	AATF	0.000042
15.	CIB1	0.000042

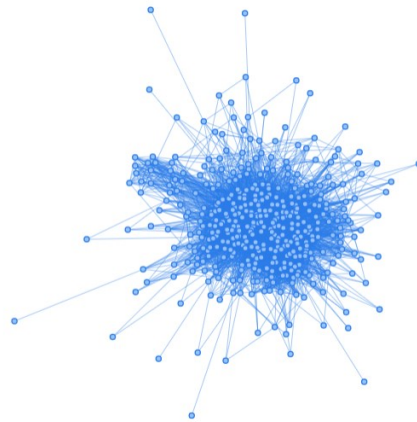
Το τρίτο πείραμα εκτελέστηκε με την χρησιμοποίηση του εργαλείου επίθεσης της πλατφόρμας ATHERANet, *user-defined list*, κατά το οποίο ξεχωρίστηκαν οι 15 πρώτοι κόμβοι που έχουν υψηλό closeness centrality: VEGFA, NOS1, C9orf72, NEFL, APBB1, GRIN2B, NTF4, GFAP, COX4I1, LDLR, APOC1, AKT1, CCL3, AATF και CIB1. Οι βαθμολογίες τους αναγράφονται στον πίνακα 3. Με την εκπλήρωση της επίθεσης, εξάχθηκαν οι παρακάτω βαθμολογίες όπως παρουσιάζονται στην [Εικόνα 25](#). Υπάρχει μια εμφανής πτώση της μέσης κεντρικότητας του συστήματος, 37.5 έναντι 34.9, όπου συμπεραίνεται πως διαταράχθηκαν οι διασυνδέσεις των κόμβων, λόγω του ότι έχει αφαιρεθεί από το σύστημα ένας σημαντικός αριθμός κόμβων και συνδέσεων που τους αντιστοιχούν. Παρατηρείται επίσης ασήμαντη αύξηση στο μέσο closeness, από 0.0000119 σε 0.0000123. Αυτή η αλλαγή, μπορεί να οφείλεται στο ότι με την διαγραφή των συγκεκριμένων πρωτεϊνών στο αρχικό δίκτυο, μειώθηκε κατά κάποιον τρόπο η απόσταση του εκάστοτε κόμβου προς τους άλλους, με αποτέλεσμα το νέο δίκτυο να διανέμει την

πληροφορία γρηγορότερα και πιο αποτελεσματικά. Επιπλέον υπάρχει εμφανής πτώση στο betweenness, από 202.7 σε 194.3. Το νέο δίκτυο δεν παρουσιάζει τόσο ισχυρούς κόμβους, οι οποίοι να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενδιάμεσοι σταθμοί για την μετάδοση πληροφορίας και ως εκ τούτου δεν βρίσκονται ούτε σε πολλαπλά σύντομα μονοπάτια μεταξύ άλλων κόμβων. Επιπρόσθετα, το μειωμένο betweenness μπορεί να οφείλεται στο ότι, μερικοί κόμβοι έχουν απομακρυνθεί από το υπόλοιπο σύστημα με την αφαίρεση των άνωθεν 15 κόμβων. Τέλος, η μετρική small-worldness δείχνει πως το νέο σύστημα είναι πιο τυχαίο απ' ό,τι ήταν στην αρχή, όπου όπως προαναφέραμε μπορεί να οφείλεται στο χαμηλότερο ποσοστό γειτόνων ενός κόμβου (μικρότερο clustering coefficient).

Help

Select by ▾

Alzheimer



	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	37.5105882352941	34.8634146341463
Average Closeness	0.0000119797516347916	0.0000123015481685019
Average Betweenness	202.722352941176	194.312195121951
Small-Worldness	2.178675	2.23279531114921

Εικόνα 25: Αποτελέσματα διαγραφής 15 πρώτων κόμβων υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *closeness* της νόσου Alzheimer

5.4. Case Study 4: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Κεντρικότητας Eigenvector

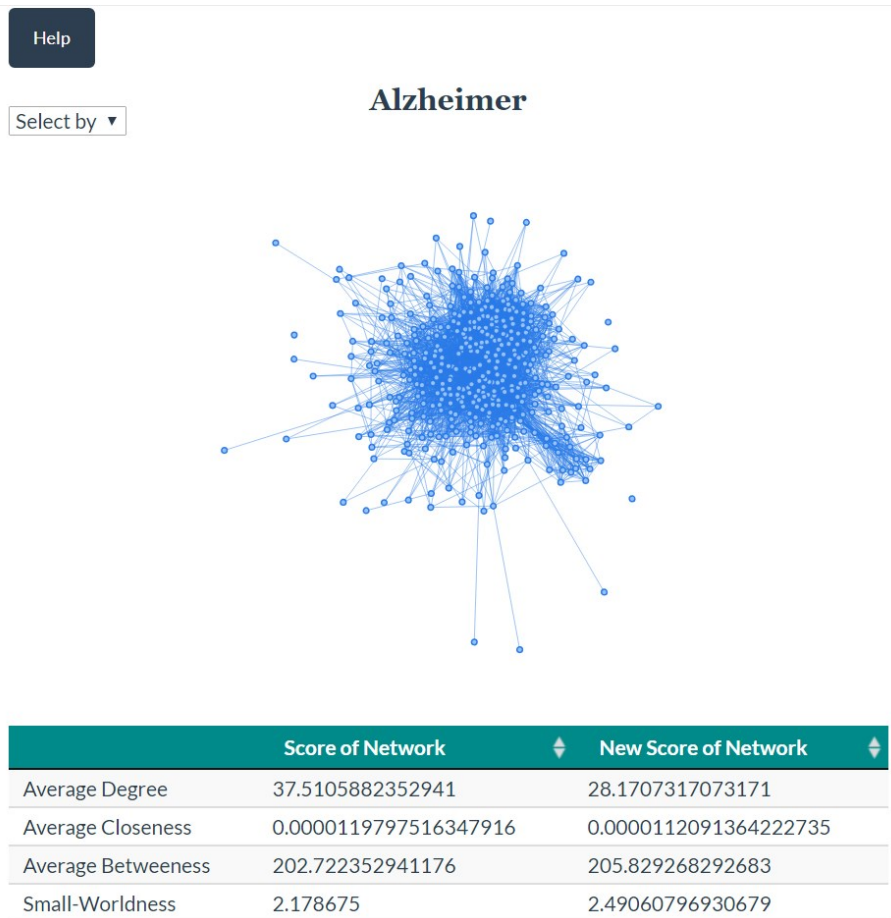
Πίνακας 4: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας eigenvector της νόσου Alzheimer

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	INS	1
2.	AKT1	1
3.	APP	1
4.	ALB	1
5.	GAPDH	1
6.	BDNF	0.9
7.	CASP3	0.9
8.	MAPK8	0.8
9.	TNF	0.8
10.	NGF	0.8
11.	TP53	0.8
12.	MAPK3	0.8
13.	IL6	0.8
14.	JUN	0.7
15.	APOE	0.7

Η κεντρικότητα Eigenvector όπως ειπώθηκε και προηγουμένως, καθορίζει την επιρροή που έχει ένας κόμβος στο δίκτυο με βάση των συνδέσεων που έχει με δημοφιλούς κόμβους. Στο πείραμα αυτό, βρέθηκαν οι 15 πρώτοι κόμβοι οι οποίοι έχουν το υψηλότερο eigenvector centrality, με την χρήση του πίνακα που βρίσκεται στο “Model 2” του “Network Attacks”. Με την χρήση του εργαλείου “User-defined list” διαγράφηκαν οι ακόλουθες πρωτεΐνες: *INS*, *AKT1*, *APP*, *ALB*, *GAPDH*, *BDNF*, *CASP3*, *MAPK8*, *TNF*, *NGF*, *TP53*, *MAPK3*, *IL6*, *JUN* και *APOE* με τα σκορ τους που αναγράφονται στον πίνακα 4. Με την εφαρμογή της επίθεσης εξάχθηκαν τα αποτελέσματα, όπως φαίνονται στην Εικόνα 26. Παρατηρήθηκε μείωση στο μέσο degree, από 37.5 στο αρχικό δίκτυο σε 28.2 στο νέο δίκτυο. Η μείωση αυτή πιθανόν να συνέβη διότι όλοι οι άνωθεν κόμβοι, έχουν και υψηλό degree: *INS* – 188, *AKT1* – 175, *APP* – 234, *ALB* – 180, *GAPDH* – 182, *BDNF* – 153, *CASP3* – 143, *MAPK8* – 121, *TNF* – 134, *NGF* – 122, *TP53* – 134, *MAPK3* – 139, *IL6* – 148, *JUN* – 107,

APOE – 141 με υψηλότερο σκορ δικτύου Alzheimer 234 και χαμηλότερο 1. Το degree αναφέρει ποιοι κόμβοι επικοινωνούν με τις περισσότερες πρωτεΐνες στο δίκτυο και έτσι με την διαγραφή

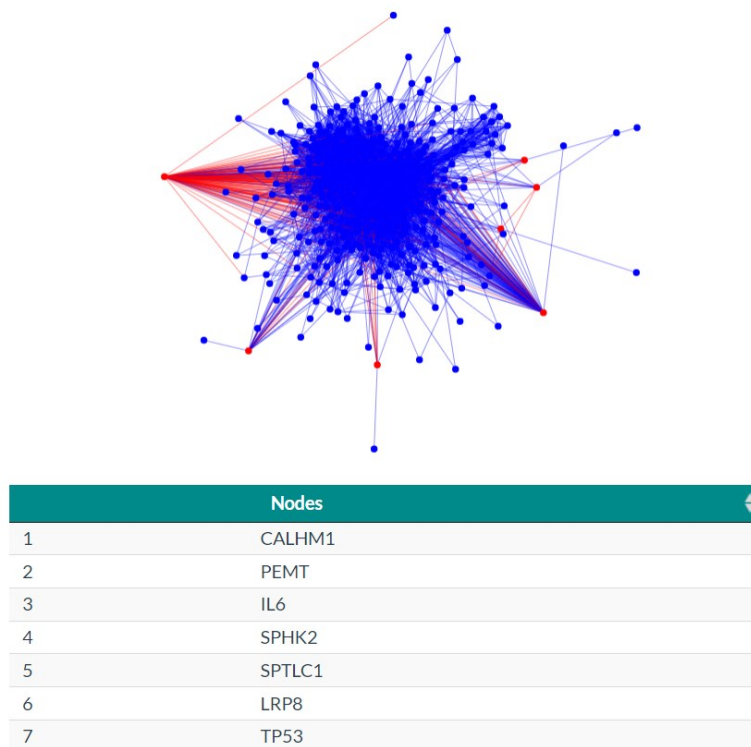
αυτών, μειώνονται οι συνδέσεις ολόκληρου του συστήματος κατακόρυφα. Επιπρόσθετα υπήρξε μικρή πτώση στο μέσο closeness, 0.0000119 έναντι 0.0000112, όπου υπάρχει μια μηδαμινή διαταραχή στη διανομή πληροφορίας στο σύστημα. Αυτή η διαταραχή δεν επηρεάζει σχεδόν καθόλου το δίκτυο, αφού η μετάδοση μηνυμάτων πραγματοποιείται περίπου στον ίδιο αριθμό βημάτων. Από την άλλη, αύξηση είχε το μέσο betweenness, από 202.7 σε 205.8 και το small-worldness, 2.2 έναντι 2.5. Το betweenness είχε σημαντική αύξηση, όπου πιθανόν να οφείλεται στο ότι το νέο δίκτυο βρίσκει καλύτερα το πλήθος των κόμβων οι οποίοι επιλέγονται ως συντομότερα μονοπάτια για την διακίνηση της πληροφορίας στο σύστημα. Οι κόμβοι με υψηλό eigenvector centrality, μπορεί να εμποδίζουν με κάποιο τρόπο την εύκολη ροή μηνυμάτων στο δίκτυο. Τέλος το νέο δίκτυο χαρακτηρίζεται πιο τυχαίο απ' ότι το αρχικό, γιατί ίσως μειώθηκε ο αριθμός των γειτόνων πολλαπλών κόμβων οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι μεταξύ τους (clustering coefficient) ή το μέσο μήκος του συνόλου συντομότερων μονοπατιών που συνδέει κάθε ζεύγος κόμβων (path length) [31].



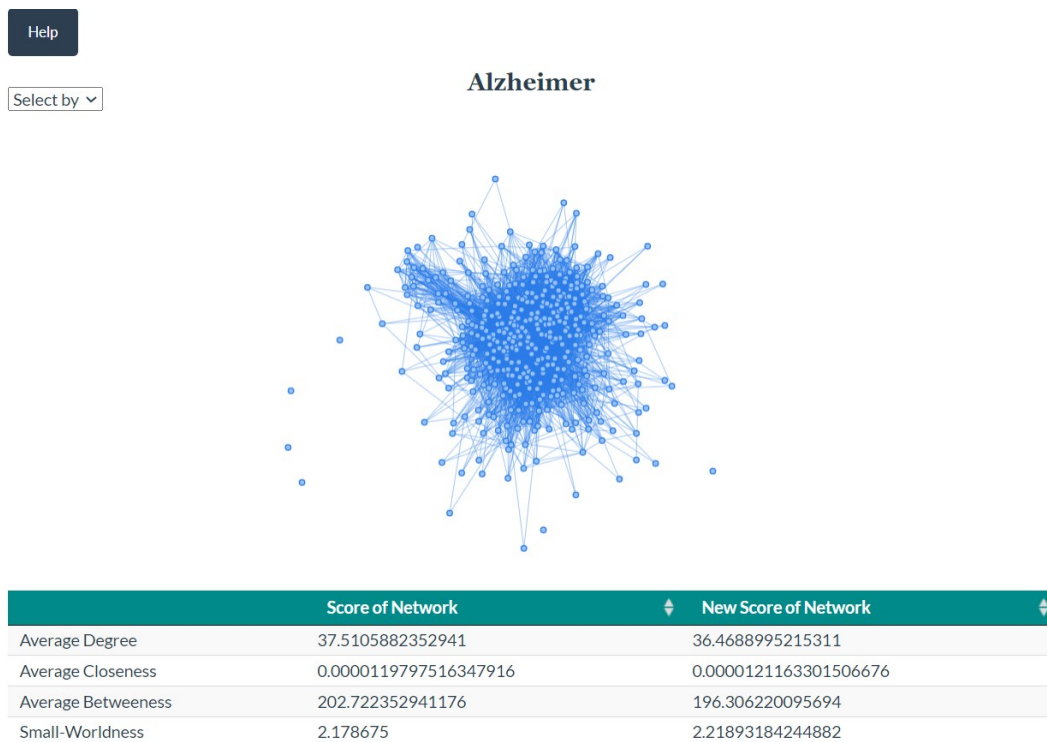
Εικόνα 26: Αποτελέσματα διαγραφής 15 πρώτων κόμβων υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας eigenvector της νόσου Alzheimer

5.5. Case Study 5: Επίθεση στο Δίκτυο Alzheimer με την Χρήση Global Μετρικής Articulation Points

Όπως ορίσαμε και στα προηγούμενα κεφάλαια, τα Articulation Points (AP) μας δείχνουν ποιοι κόμβοι ορίζονται ως κλειδιά σε ένα σύστημα. Δηλαδή, οι κόμβοι οι οποίοι με την αφαίρεσή τους θα κατακερματίσουν το δίκτυο, δημιουργώντας components (υποδίκτυα) στο σύστημα. Στην νόσο του Alzheimer ταυτοποιήθηκαν ως articulation-point κόμβοι οι εξής: *CALHM1*, *PEMT*, *IL6*, *SPHK2*, *SPTLC1*, *LRP8* και *TP53* (Εικόνα 27). Η επίθεση έγινε με την *user-defined list* μέθοδο, όπου καταχωρήθηκαν οι 7 πρωτεΐνες με την ιδιότητα AP για αφαίρεση. Τα αποτελέσματα της επίθεσης φαίνονται στην Εικόνα 28. Σύμφωνα με την Εικόνα 28, είναι εμφανές πως μερικοί κόμβοι αποσυνδέθηκαν από το υπόλοιπο σύστημα, δεν έχουν δηλαδή καμία επικοινωνία με αυτό. Επιπλέον στην εικόνα αυτή, διακρίνεται μια ελαφρά μείωση του degree centrality, από 37.5 σε 36.5, λόγω αφαίρεσης κόμβων οι οποίοι έχουν σημαίνοντα αριθμό διασυνδέσεων. Σημαντική μείωση παρατηρείται και στο μέσο betweenness, 202.7 έναντι 196.3. Όπως αναφέραμε και πιο πάνω, η μείωση αυτή παρουσιάστηκε διότι υπάρχουν αποκομμένοι κόμβοι στο σύστημα, δηλαδή λιγότεροι κόμβοι που λειτουργούν ως ενδιάμεσοι σταθμοί στο δίκτυο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την φραγή ροής της πληροφορίας του δικτύου. Αύξηση υπάρχει στο μέσο closeness, από 0.0000119 σε 0.0000121 και στο small-worldness, 2.17 έναντι 2.2, όπου χαρακτηρίζεται ελαφρά πιο τυχαίο συγκριτικά με το αρχικό δίκτυο.



Εικόνα 27: Articulation Points της νόσου Alzheimer όπου μαρκάρονται με κόκκινο χρώμα



Εικόνα 28: Αφαίρεση Articulation Points της νόσου Alzheimer – εμφανείς αποκομμένοι κόμβοι

5.6. Case Study 6: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας Degree

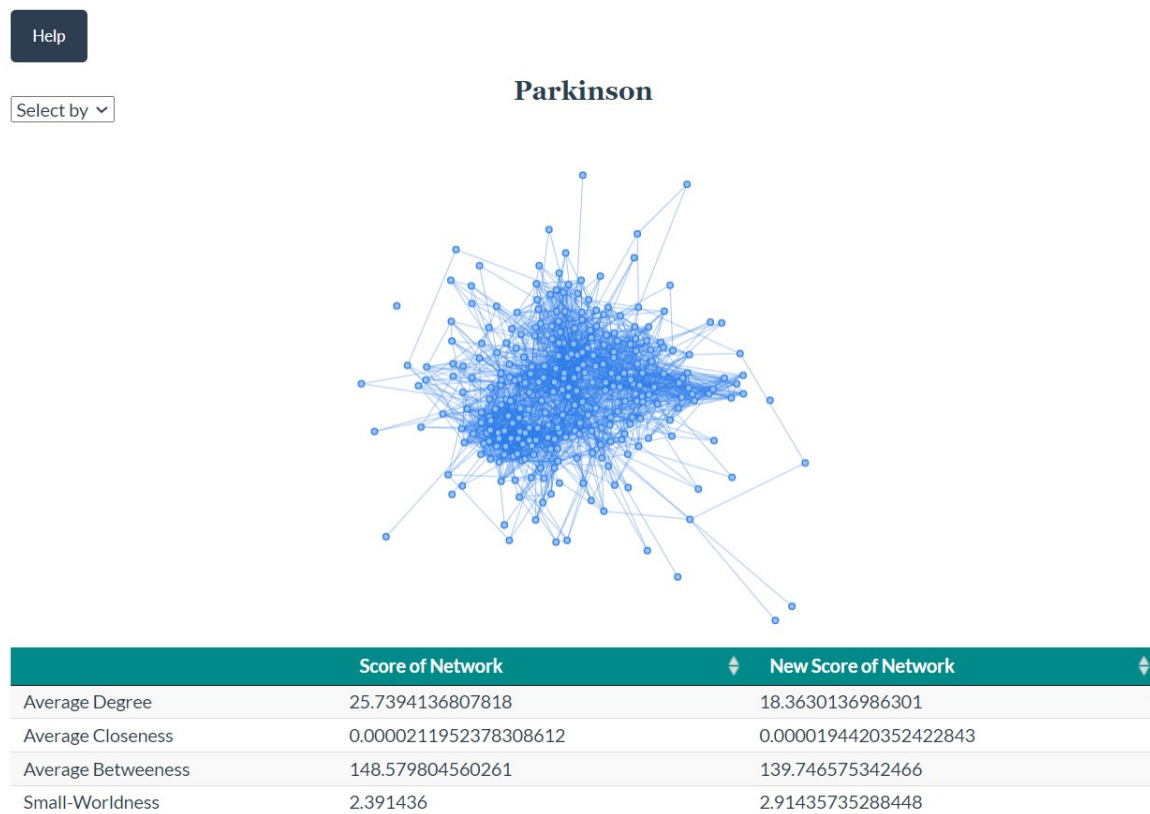
Πίνακας 5: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας degree της νόσου Parkinson

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	AKT1	120
2.	GAPDH	118
3.	APP	116
4.	LRRK2	107
5.	BDNF	98
6.	PARK2	92
7.	SNCA	90
8.	CASP3	86
9.	MAPK3	84
10.	TH	82
11.	NGF	81
12.	PARK7	76
13.	CYCS	72
14.	MAPT	72
15.	MAPK8	71

Το πείραμα αυτό, πραγματοποιήθηκε με τον ίδιο τρόπο όπως τα παραπάνω. Αρχικά, εντοπίστηκαν οι πρώτοι 15 κόμβοι οι οποίοι έχουν υψηλό degree centrality και ορίζονται ως οι εξής: *AKT1, GAPDH, APP, LRRK2, BDNF, PARK2, SNCA, CASP3, MAPK3, TH, NGF, PARK7, CYCS, MAPT* και *MAPK8*, με βαθμολογίες όπως εμφανίζονται στον πίνακα 5. Έπειτα επιτελέστηκε η επίθεση σε αυτούς τους κόμβους, με την χρήση του εργαλείου “user-defined list” και εξάχθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα (Εικόνα 29). Σύμφωνα με την Εικόνα 29, παρατηρείται μείωση στο μέσο degree, από 25.7 στο αρχικό δίκτυο σε 18.4 στο νέο δίκτυο, μείωση στο μέσο closeness, από 0.0000211 σε 0.0000194 όπως επίσης και στο μέσο betweenness, 148.6 έναντι 139.7. Αύξηση διακρίνεται στο small-worldness, από 2.4 σε 2.9. Αναμενόμενη ήταν η πτώση του μέσου degree, αφού αφαιρέθηκαν οι κορυφαίοι κόμβοι degree centrality, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από πολλαπλές συνδέσεις. Η ελάττωση του μέσου closeness μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της συνολικής απόστασης

ενός δεδομένου κόμβου από τους γείτονές του, με αποτέλεσμα να καθίσταται δυσκολότερη η μεταφορά της πληροφορίας μέσα στο σύστημα, συγκριτικά με το αρχικό δίκτυο. Η αύξηση της

συνολικής απόστασης του εκάστοτε κόμβου από τους γειτονικούς του, συνάδει με την αφαίρεση κόμβων με υψηλό degree, όπου αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει πληθώρα εναλλακτικών επιλογών επικοινωνίας μεταξύ των κόμβων και έτσι υπάρχει μείωση του μέσου closeness στο δίκτυο. Επιπλέον η ελάττωση του μέσου betweenness υποδεικνύει την μείωση των σύντομων διαδρομών που διαπερνούν μια πρωτεΐνη. Συγκεκριμένα, στο νέο δίκτυο δεν υπάρχουν πλέον τόσο σημαντικοί κόμβοι οι οποίοι να επιλέγονται συχνά, ώστε δια μέσου αυτού να διακινείται η πληροφορία στο δίκτυο. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι περισσότεροι από τους προαναφερθέν κόμβους υψηλού σκορ degree, πιθανόν να έχουν και υψηλό betweenness. Τέλος, το small-worldness υποδηλώνει ένα πιο τυχαίο δίκτυο απ' ότι το αρχικό λόγω ενδεχομένης μείωσης του path length ή του clustering coefficient.



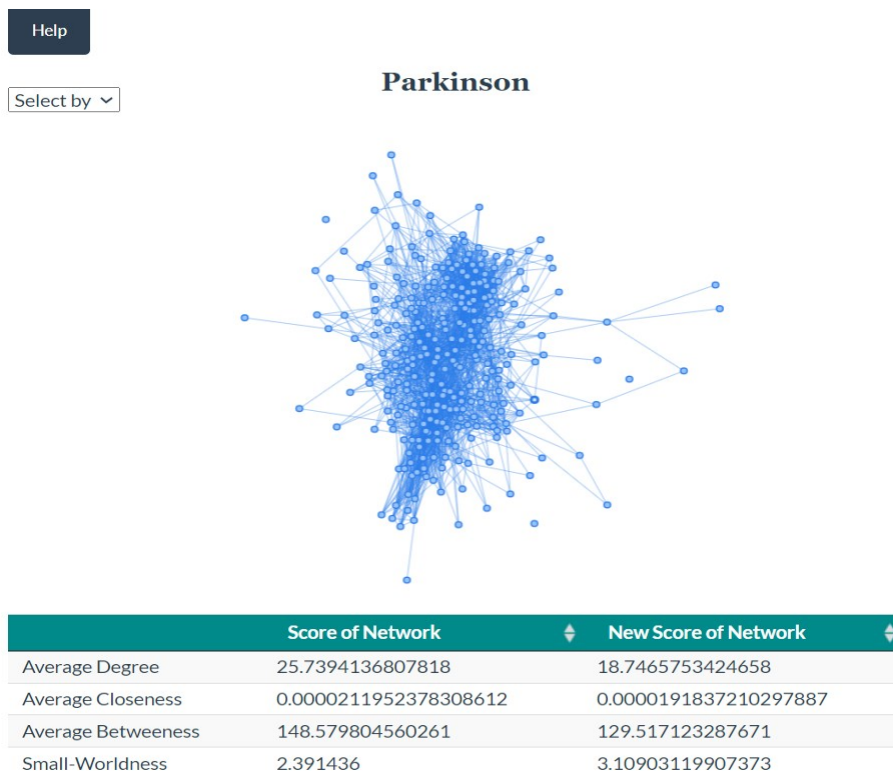
Εικόνα 29: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού degree της νόσου Parkinson

5.7. Case Study 7: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας Betweenness

Πίνακας 6: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας betweenness της νόσου Parkinson

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	LRRK2	2183.1
2.	APP	1967.3
3.	PARK2	1885.6
4.	SNCA	1839.6
5.	HSP90AA1	1048.4
6.	NGF	1045.5
7.	MAPT	1009.2
8.	PINK1	1009.1
9.	MAPK3	926.5
10.	CYCS	914
11.	TH	840.7
12.	AKT1	822.1
13.	CASP3	810.8
14.	GAPDH	763.3
15.	CDC42	707.9

Με την εφαρμογή της κεντρικότητας betweenness αντλήθηκαν οι 15 πρώτοι κόμβοι υψηλής βαθμολογίας: LRRK2, APP, PARK2, SNCA, HSP90AA1, NGF, MAPT, PINK1, MAPK3, CYCS, TH, AKT1, CASP3, GAPDH και CDC42 με τα αποτελέσματα που προβάλλονται στον πίνακα 6. Με την εφαρμογή του εργαλείου “user-defined list” εκδηλώθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα όπως φανερώνονται στην [Εικόνα 30](#). Διακρίνεται σημαντική πτώση στο μέσο degree, από 25.7 στο αρχικό δίκτυο σε 18.7 στο νέο δίκτυο. Πτώση σημειώθηκε και στο μέσο closeness, 0.0000212 έναντι 0.0000192, όπως και στο μέσο betweenness, από 148.6 σε 129.5. Αξιοσημείωτη είναι η αύξηση του small-worldness, από 2.4 σε 3.1. Σύμφωνα με τους πίνακες 5 και 6, επιβεβαιώνεται η εικασία που ειπώθηκε στο πείραμα 6, ότι δηλαδή οι κόμβοι με υψηλό degree centrality έχουν εξίσου και υψηλό betweenness centrality. Αυτό επεξηγεί την ελάττωση του μέσου degree στο πείραμα 7, όπου η αφαίρεση των κόμβων με τις περισσότερες συνδέσεις διαταράσσει τον μέσο όρο ακρών ανά κόμβο. Επιπλέον η πτώση του μέσου closeness, φανερώνει την αύξηση της συνολικής απόστασης κόμβων από τους γείτονές του, δηλαδή η πληροφορία δεν μεταδίδεται με τον ίδιο ταχύ τρόπο όσο στο αρχικό δίκτυο. Επιπρόσθετα, η πτώση του μέσου betweenness περιγράφει την μείωση του πλήθους των συντομότερων μονοπατιών που διαπερνούν έναν κόμβο με σκοπό την διακίνηση της πληροφορίας στο σύστημα. Τέλος, το small-worldness χαρακτηρίζει το νέο δίκτυο ακόμη πιο τυχαίο συγκριτικά με το αρχικό. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει λόγω ελάττωσης του μέσου μήκους του συνόλου των συντομότερων διαδρομών που συνδέει το εκάστοτε ζεύγος κόμβων (path length) ή οι γείτονές του κάθε κόμβου δεν είναι σχεδόν καθόλου συνδεδεμένοι μεταξύ τους (clustering coefficient).



Εικόνα 30: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού *betweenness* της νόσου Parkinson

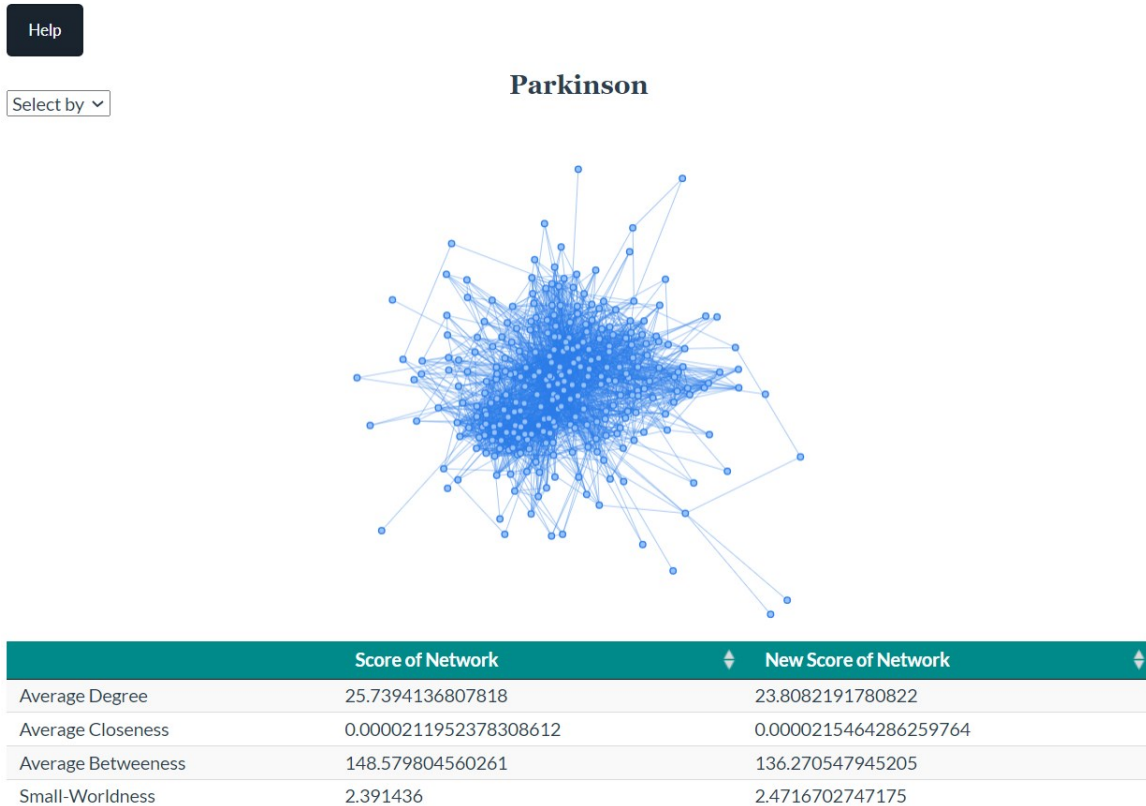
5.8. Case Study 8: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας *Closeness*

Πίνακας 7: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *closeness* της νόσου Parkinson

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	<i>C9orf72</i>	0.00009
2.	<i>WASH1</i>	0.000086
3.	<i>KIAA1033</i>	0.000083
4.	<i>VPS29</i>	0.000083
5.	<i>NEFL</i>	0.000083
6.	<i>NOS1</i>	0.000082
7.	<i>GRIN2B</i>	0.00008
8.	<i>RAB7B</i>	0.000078
9.	<i>CCL5</i>	0.000078
10.	<i>ENSG00000279576</i>	0.000078
11.	<i>NTF4</i>	0.000076
12.	<i>LDLR</i>	0.000076
13.	<i>AKT1</i>	0.000075
14.	<i>ATXN3</i>	0.000065
15.	<i>SOD2</i>	0.000062

Στο πείραμα αυτό αναδείχθηκαν οι ακόλουθοι 15 πρώτοι κόμβοι υψηλού σκορ *closeness*: *C9orf72*, *WASH1*, *KIAA1033*, *VPS29*, *NEFL*, *NOS1*, *GRIN2B*, *RAB7B*, *CCL5*, *ENSG00000279576*, *NTF4*, *LDLR*, *AKT1*, *ATXN3* και *SOD2*, με τις βαθμολογίες τους να αναγράφονται στον πίνακα 7. Με την εκτέλεση της επίθεσης δια μέσου του εργαλείου “*user-defined list*”, εξάχθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα (Εικόνα 31). Διακρίνεται μια ελαφρά μείωση στο μέσο *degree*, από 25.7 στο αρχικό δίκτυο σε 23.8 στο νέο δίκτυο, όπως επίσης σημαντική πτώση και στο μέσο *betweenness*, 148.6 έναντι 136.3. Αύξηση σημειώθηκε στο μέσο *closeness*, από 0.0000212 σε 0.0000215 και στο *small-worldness*, 2.4 έναντι 2.5. Όσον αφορά την πτώση του μέσου *degree* του δικτύου, όπως αναφέρθηκε και στα άλλα πειράματα, οφείλεται στην μείωση των συνδέσεων του συστήματος μετά την αφαίρεση κόμβων. Το μέσο *betweenness*, περιγράφει την πιθανή αφαίρεση κόμβων οι

οποίοι λειτουργούσαν ως γέφυρες επικοινωνίας και διασύνδεσης σημαντικών κόμβων με άλλα υποσύνολα. Επίσης, η αύξηση στο μέσο closeness φανερώνει καλύτερη επικοινωνία μεταξύ των πρωτεϊνών συγκριτικά με το αρχικό δίκτυο. Η διαγραφή των συγκεκριμένων πρωτεϊνών, προκάλεσε την μείωση των αποστάσεων του εκάστοτε κόμβου προς όλους τους άλλους κόμβους και συνάμα υπάρχει καλύτερο αποτέλεσμα στην διάδοση της πληροφορίας. Το small-worldness υποδηλώνει ένα πιο τυχαίο δίκτυο με βάση το αρχικό.



Εικόνα 31: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού closeness της νόσου Parkinson

5.9. Case Study 9: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Κεντρικότητας Eigenvector

Πίνακας 8: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας eigenvector της νόσου Parkinson

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	AKT1	1
2.	APP	1
3.	GAPDH	1
4.	BDNF	0.9
5.	CASP3	0.8
6.	NGF	0.8
7.	TH	0.8
8.	MAPK3	0.8
9.	LRRK2	0.8
10.	SOD1	0.7
11.	SNCA	0.7
12.	PARK2	0.7
13.	PARK7	0.7
14.	MAPK8	0.7
15.	MAPT	0.7

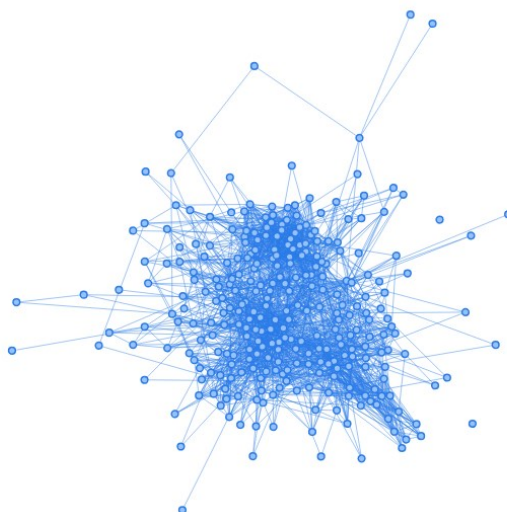
Οι πρώτοι 15 κόμβοι με το υψηλότερο σκορ eigenvector διακρίθηκαν μέσω του εργαλείου επίθεσης “Model 2” και η επίθεση εφαρμόστηκε με την χρήση του “user-defined list”. Οι 15 κόμβοι που διακρίθηκαν είναι οι ακόλουθοι: *AKT1*, *APP*, *GAPDH*, *BDNF*, *CASP3*, *NGF*, *TH*, *MAPK3*, *LRRK2*, *SOD1*, *SNCA*, *PARK2*, *PARK7*, *MAPK8* και *MAPT* με τις βαθμολογίες που τους χαρακτηρίζουν στον πίνακα 8. Εν συνεχεία, με την πραγματοποίηση της επίθεσης στους κόμβους αυτούς εκμαιεύτηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα, όπως φαίνονται στην [Εικόνα 32](#). Σημειώθηκε μείωση στο μέσο degree, από 25.7 στο αρχικό δίκτυο σε 18.4 στο νέο δίκτυο, στο μέσο closeness, 0.0000211 έναντι 0.0000195, όπως και στο μέσο betweenness, από 148.6 σε 142. Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση στο small-worldness, 2.4 έναντι 2.9. Όπως συμπεράναμε στο πείραμα 4 που έλαβε χώρα, η αξιοσημείωτη πτώση του μέσου degree, οφείλεται στο ότι οι προαναφερθέν κόμβοι έχουν και υψηλό degree centrality, με αποτέλεσμα να μειωθεί ο μέσος όρος των πολλαπλών συνδέσεων ανά κόμβο. Αναλυτικά οι κόμβοι έχουν

τα εξής σκορ στο degree centrality: *AKT1* – 120, *APP* – 116, *GAPDH* – 118, *BDNF* – 98, *CASP3* – 86, *NGF* – 81, *TH* – 82, *MAPK3* – 84, *LRRK2* – 107, *SOD1* – 65, *SNCA* – 90, *PARK2* – 92, *PARK7* – 76, *MAPK8* – 71 και *MAPT* – 72, με υψηλότερο σκορ, στη νόσο του Parkinson, 120 και χαμηλότερο 1. Συμπερασματικά οι κόμβοι που έχουν υψηλό eigenvector centrality έχουν εξίσου υψηλό degree centrality. Οι κόμβοι αυτοί έχουν ύψιστη σημασία διότι, μπορούν να αντλήσουν εύκολα μια πληροφορία που μεταφέρεται στο δίκτυο λόγω των πολυάριθμων ακρών τους, αλλά και λόγω των διασυνδέσεων τους με σημαντικούς γείτονες μέσα στο σύστημα. Η ελάττωση του μέσου closeness, επηρεάστηκε και μας οδηγεί στην εικασία ότι η ανταλλαγή μηνυμάτων μεταξύ των κόμβων, δεν γίνεται σε λίγα βήματα όπως στο αρχικό δίκτυο. Αυτό συμβαίνει επειδή οι άνωθεν κόμβοι όντας ως σημαντικοί στην μεταφορά πληροφορίας πρωτίστως μέσω των πολυάριθμων συνδέσεών τους και δευτερεύοντος με την διασύνδεσή τους με γειτονικούς κόμβους οι οποίοι έχουν επιρροή, η αφαίρεσή τους πιθανόν να αύξησε τις αποστάσεις του κάθε κόμβου με όλους τους άλλους, οπότε η διακίνηση της πληροφορίας δεν πραγματοποιείται μέσα σε λίγα βήματα. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με το betweenness ενδεχομένως να μειώθηκαν οι ενδιάμεσοι κόμβοι – σταθμοί όσον αφορά την ροή πληροφορίας στο δίκτυο. Τέλος, το small-worldness καθορίζει το νέο δίκτυο ως πιο τυχαίο έναντι του αρχικού.

Help

Select by ▼

Parkinson

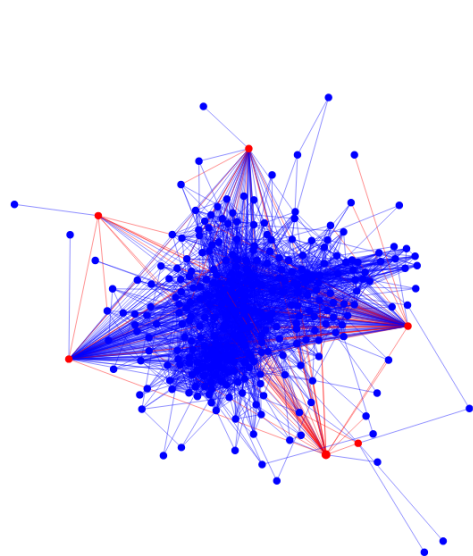


	Score of Network	↕	New Score of Network	↕
Average Degree	25.7394136807818		18.4246575342466	
Average Closeness	0.0000211952378308612		0.0000195466216621075	
Average Betweenness	148.579804560261		142.020547945205	
Small-Worldness	2.391436		2.85111290215612	

Εικόνα 32: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού *eigenvector* της νόσου Parkinson

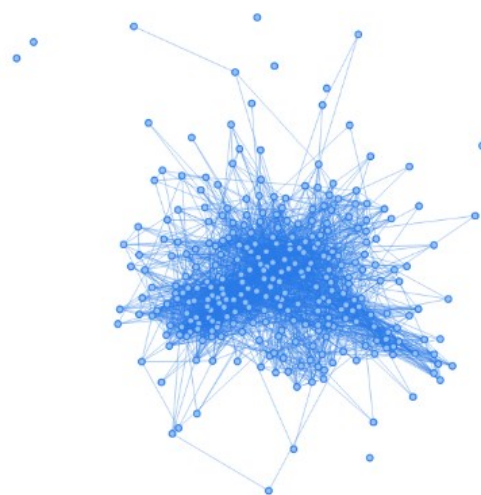
5.10. Case Study 10: Επίθεση στο Δίκτυο Parkinson με την Χρήση Global Μετρικής *Articulation Points*

Τα σημεία που αναγνωρίστηκαν ως κλειδιά για την διατήρηση της συνδεσιμότητας του δικτύου ορίζονται ως: *TBP*, *EPHA3*, *LRRK2*, *CDC42*, *RPS27A*, *GAPDH* (Εικόνα 33). Η αφαίρεση των 6 σημείων – κλειδιών επέφερε στο σύστημα τις ακόλουθες αλλαγές (Εικόνα 34). Αρχικά σημειώθηκε μείωση στο μέσο degree, από 25.7 στο αρχικό δίκτυο σε 24 στο νέο δίκτυο. Έπειτα παρατηρήθηκε πτώση στο μέσο closeness, 0.0000211 έναντι 0.0000209, όπως και στο μέσο betweenness, από 148.6 σε 141.5. Στην συνέχεια διακρίθηκε μικρή αύξηση στο small-worldness, 2.4 έναντι 2.5. Τα σκορ του μέσου degree και betweenness ελαττώθηκαν διότι μερικές από τις παραπάνω πρωτεΐνες, συγκεκριμένα οι *LLRK2* και *GAPDH*, διαθέτουν υψηλή βαθμολογία όσον αφορά τα degree και betweenness centrality. Επιπλέον η πτώση του μέσου betweenness σχετίζεται με το ότι μερικοί κόμβοι καθίστανται ως αποκομμένοι από το σύστημα, όπως φαίνεται στην εικόνα 24, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει καλή ροή της πληροφορίας στο δίκτυο λόγω των απομονωμένων πρωτεϊνών. Το closeness μειώθηκε ελαφρώς με αυτό να ισοσταθμίζει την εύκολη διανομή της πληροφορίας στο δίκτυο. Τέλος, το small-worldness χαρακτηρίζει το δίκτυο ως πιο τυχαίο, διότι όπως προαναφέρθηκε στα προηγούμενα πειράματα, πιθανόν να υπήρξε πτώση στο path length ή στο clustering coefficient.



Select by ▼

Parkinson



Node	
1	TBP
2	EPHA3
3	LRRK2
4	CDC42
5	RPS27A
6	GAPDH

Score of Network		New Score of Network
Average Degree	25.7394136807818	24.046511627907
Average Closeness	0.0000211952378308612	0.0000209083976297419
Average Betweenness	148.579804560261	141.471760797342
Small-Worldness	2.391436	2.5361765598819

Εικόνα 34: Αφαίρεση Articulation Points της νόσου Parkinson – εμφανίζει αποκομμένοι κόμβοι

Εικόνα 33: Articulation Points της νόσου Parkinson όπου μαρκάρονται με κόκκινο χρώμα

5.11. Case Study 11: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας Degree

Πίνακας 9: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας degree της νόσου ALS

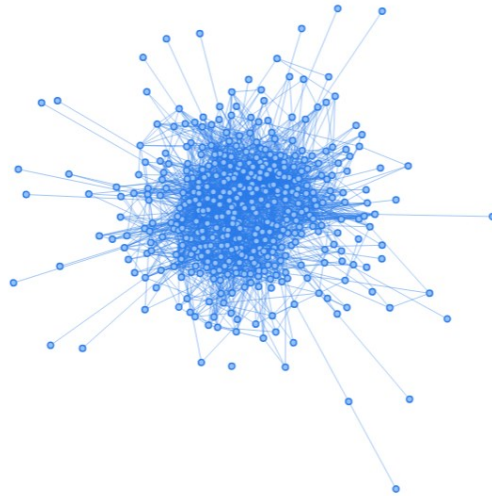
	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	GAPDH	188
2.	ALB	141
3.	CASP3	117
4.	SOD1	112
5.	APP	112
6.	HSP90AA1	102
7.	HSPA4	93
8.	CYCS	92
9.	ACTB	89
10.	VEGFA	85
11.	BDNF	83
12.	CAT	78
13.	GFAP	72
14.	RPS27A	71
15.	SOD2	69

Στην νόσο του Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), με την χρήση της κεντρικότητας degree, διακρίθηκαν οι εξής 15 πρωτεΐνες ως σημαντικές: GAPDH, ALB, CASP3, SOD1, APP, HSP90AA1, HSPA4, CYCS, ACTB, VEGFA, BDNF, CAT, GFAP, RPS27A και SOD2, με βαθμολογίες όπως παρουσιάζονται στον πίνακα 9. Έπειτα, καταχωρήθηκαν στο εργαλείο επίθεσης “user-defined list” και έπειτα με την πραγματοποίηση αφαίρεσης, αντλήθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα (Εικόνα 35). Σύμφωνα με την Εικόνα 35, υπάρχει ελαφρά μείωση στο μέσο degree, από 22.4 στο αρχικό δίκτυο σε 21.6 στο νέο δίκτυο. Επιπρόσθετα παρατηρείται μια ασήμαντη αύξηση του μέσου closeness, 0.00000867 έναντι 0.00000868. Αύξηση υπάρχει και στο μέσο betweenness, από 209.7 σε 210.1, αλλά και στο small-worldness, από 2.9 σε 3.1. Προβλεπόμενη ήταν η ελάττωση του μέσου degree, λόγω διαγραφής πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται ως σημαντικοί με βάση το σύνολο

των διασυνδέσεων που διαθέτουν. Η αφαίρεση των προαναφερθέντων κόμβων, δεν επηρέασε σχεδόν καθόλου την απόσταση ενός δεδομένου κόμβου από τους γείτονές του, με αποτέλεσμα το μέσο closeness του νέου δικτύου να παραμείνει σχεδόν το ίδιο. Η αύξηση του betweenness, περιγράφει το νέο σύστημα ως καλύτερο όσον αφορά την ταχεία μετάδοση της πληροφορίας. Αυτό πιθανόν να συνέβη λόγω αύξησης των συντομότερων μονοπατιών που διαπερνούν ένα δεδομένο κόμβο. Το small-worldness προσδιορίζει το νέο δίκτυο ως πιο τυχαίο έναντι του αρχικού.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

Select by ▼



	Score of Network	↕	New Score of Network	↕
Average Degree	22.4100227790433		21.6027397260274	
Average Closeness	0.00000867574142965954		0.00000868699162031585	
Average Betweenness	209.683371298405		210.052511415525	
Small-Worldness	2.996693		3.07525853303247	

Εικόνα 35: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού degree της νόσου ALS

5.12. Case Study 12: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας *Betweenness*

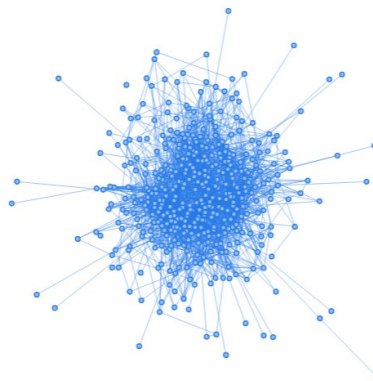
Πίνακας 10: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *betweenness* της νόσου ALS

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	ALB	4638.6
2.	ACTB	3519.8
3.	HSP90AA1	2833.9
4.	GAPDH	2518.9
5.	APP	2398.8
6.	CASP3	2312.9
7.	VCP	1976.6
8.	HSPA4	1907.3
9.	SOD1	1674.9
10.	CYCS	1630.9
11.	TLR4	1567.2
12.	FN1	1277.5
13.	RPS27A	1159.4
14.	IGF1	1106.7
15.	NGF	1048.9

Στο πείραμα αυτό, οι 15 πρωτεΐνες που βρέθηκαν με υψηλό *betweenness centrality* είναι οι ακόλουθες: ALB, ACTB, HSP90AA1, GAPDH, APP, CASP3, VCP, HSPA4, SOD1, CYCS, TLR4, FN1, RPS27A, IGF1 και NGF, με βαθμολογίες όπως αναγράφονται στον πίνακα 10. Με την χρήση του εργαλείου επίθεσης “*user-defined list*”, εξάχθηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα (Εικόνα 36). Υπάρχει πτώση στο μέσο *degree*, από 22.4 στο αρχικό δίκτυο σε 21.6 στο νέο δίκτυο. Επιπρόσθετα υπάρχει μια αμελητέα αύξηση στο μέσο *closeness*, από 0.00000867 σε 0.00000868, αλλά και αξιοσημείωτη αύξηση στο μέσο *betweenness*, 209.7 έναντι 210.1. Αύξηση παρατηρείται και στο *small-worldness*, από 2.9 σε 3.1. Τα αποτελέσματα αυτά είναι εμφανώς ίδια με του πειράματος 11 όπου έγινε η διαγραφή των πρώτων 15 κόμβων με το υψηλότερο *degree centrality*. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει λόγω παρόμοιας σημαντικότητας των πρωτεϊνών με βάση τις δύο μετρικές: *degree* και *betweenness centrality*.

Select by ▼

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)



	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	22.4100227790433	21.6027397260274
Average Closeness	0.00000867574142965954	0.00000868699162031585
Average Betweenness	209.683371298405	210.052511415525
Small-Worldness	2.996693	3.07460302394619

Εικόνα 36: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού *betweenness* της νόσου ALS

5.13. Case Study 13: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας Closeness

Πίνακας 11: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας closeness της νόσου ALS

	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	FGF1	0.000038
2.	VEGFA	0.000033
3.	HNRNPDL	0.000031
4.	C9orf72	0.000029
5.	NOS1	0.000027
6.	NTF4	0.000023
7.	NEFL	0.000023
8.	SOD2	0.000022
9.	TIMM23	0.000022
10.	GFAP	0.000022
11.	POLR2A	0.000021
12.	TPT1	0.000021
13.	CHD1	0.000021
14.	SUPT5H	0.00002
15.	RBFOX3	0.000019

Στο 13^ο πείραμα, με την χρήση της κεντρικότητας closeness τέθηκε σε εφαρμογή η επίθεση στους πρώτους 15 κόμβους με τα υψηλότερα σκορ *FGF1*, *VEGFA*, *HNRNPDL*, *C9orf72*, *NOS1*, *NTF4*, *NEFL*, *SOD2*, *TIMM23*, *GFAP*, *POLR2A*, *TPT1*, *CHD1*, *SUPT5H* και *RBFOX3*, όπου αναγράφονται στον πίνακα 11: Με την εκτέλεση της επίθεσης μέσω του εργαλείου “user-defined list”, παρουσιάστηκαν τα εξής αποτελέσματα (Εικόνα 37). Αρχικά, το μέσο degree εμφάνισε μια μηδαμινή αύξηση, από 22.41 σε 22.43, όπου συμπεραίνουμε πως δεν επηρεάστηκε καθόλου το σύστημα μετά από την αφαίρεση των άνωθεν κόμβων. Αμελητέα αύξηση διακρίνεται και στο μέσο closeness, 0.00000866 έναντι 0.0000087. Με την διαγραφή των συγκεκριμένων πρωτεϊνών, διαφάνηκαν και άλλοι κόμβοι εξίσου με μικρές αποστάσεις από τους γειτονικούς τους και συνάμα αυτό να επιφέρει την ίδια ταχεία μεταφορά πληροφοριών στο δίκτυο. Επιπρόσθετα υπάρχει εμφανής μείωση στο μέσο betweenness, από 209.7 σε 208.4, με αυτό να συνεπάγεται ως μείωση ικανότητας του συστήματος για έλεγχο ροής της πληροφορίας. Η επίθεση προκάλεσε αύξηση του small-worldness, 2.9 έναντι 3, λόγω μείωσης της μετρικής path length ή clustering coefficient και έτσι το δίκτυο τέθηκε ως πιο τυχαίο συγκριτικά με το αρχικό.

Select by ▼

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)



	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	22.4100227790433	22.4337899543379
Average Closeness	0.00000867574142965954	0.00000870927654036274
Average Betweenness	209.683371298405	208.422374429224
Small-Worldness	2.996693	3.01152088735391

Εικόνα 37: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού closeness της νόσου ALS

5.14. Case Study 14: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση Κεντρικότητας *Eigenvector*

Πίνακας 12: Πρώτοι 15 κόμβοι υψηλής βαθμολογίας κεντρικότητας *eigenvector* της νόσου ALS

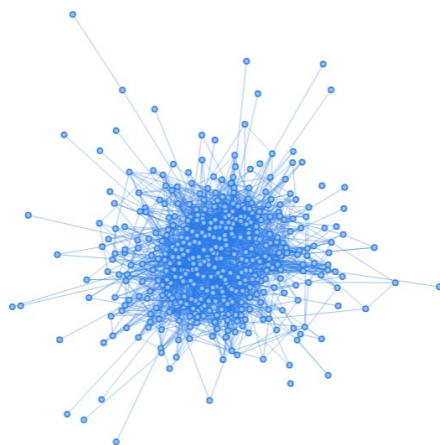
	Κόμβος/Πρωτεΐνη	Βαθμολογία
1.	<i>GAPDH</i>	1
2.	<i>CASP3</i>	0.8
3.	<i>ALB</i>	0.8
4.	<i>SOD1</i>	0.7
5.	<i>APP</i>	0.7
6.	<i>NGF</i>	0.6
7.	<i>BDNF</i>	0.6
8.	<i>ACTB</i>	0.6
9.	<i>HSP90AA1</i>	0.6
10.	<i>VEGFA</i>	0.6
11.	<i>CYCS</i>	0.6
12.	<i>HSPA4</i>	0.6
13.	<i>CAT</i>	0.5
14.	<i>IGF1</i>	0.5
15.	<i>MAPT</i>	0.5

Στο πείραμα αυτό, εντοπίστηκαν οι πρώτοι 15 κόμβοι με υψηλό *eigenvector centrality* και στην συνέχεια εφαρμόστηκε επίθεση με την χρήση του εργαλείου επίθεσης “*user-defined list*”. Οι σημαντικότεροι κόμβοι ορίζονται ως οι εξής: *GAPDH*, *CASP3*, *ALB*, *SOD1*, *APP*, *NGF*, *BDNF*, *ACTB*, *HSP90AA1*, *VEGFA*, *CYCS*, *HSPA4*, *CAT*, *IGF1* και *MAPT*, με τα σκορ τους όπως παρουσιάζονται στον πίνακα 12. Η επίθεση επέφερε τα ακόλουθα αποτελέσματα (Εικόνα 38). Πρωτίστως το μέσο *degree* εμφάνισε πτώση, από 22.4 στο αρχικό δίκτυο σε 21.6 στο νέο δίκτυο. Επιπλέον, διακρίθηκε ασήμαντη αύξηση στο μέσο *closeness*, από 0.00000867 σε 0.00000868. Αύξηση επισημάνθηκε και στο μέσο *betweenness*, 209.7 έναντι 210.1, όπως και στο *small-worldness*, από 2.9 σε 3. Όπως και στα άλλα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με την χρήση κεντρικότητας *eigenvector*, σημειώθηκε μείωση στο μέσο *degree* δια το λόγω του ότι οι κόμβοι που είχαν υψηλό *eigenvector centrality* είχαν εξίσου υψηλό *degree centrality*. Το ίδιο συμβαίνει και στο πείραμα αυτό, όπου συγκεκριμένα

οι προαναφερθέντες πρωτεΐνες έχουν τα εξής σκορ *degree*: *GAPDH* – 188, *CASP3* – 117, *ALB* – 141, *SOD1* – 112, *APP* – 112, *NGF* – 68, *BDNF* – 83, *ACTB* – 89, *HSP90AA1* – 102, *VEGFA* – 85, *CYCS* – 92, *HSPA4* – 93, *CAT* – 78, *IGF1* – 65 και *MAPT* – 62, με υψηλότερη βαθμολογία δικτύου 188 και χαμηλότερη 1. Η επίθεση στους συγκεκριμένους κόμβους δεν προξένησε σημαντική αλλαγή στο μέσο *closeness*, αφού το σύστημα είχε την δυνατότητα ισοστάθμισης της επίθεσης όσον αφορά την γρήγορη αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών δια μέσου των μικρών αποστάσεων που έχουν οι κόμβοι με τους γειτονικούς τους. Το μέσο *betweenness* υποδεικνύει ότι στο δίκτυο υπάρχουν κόμβοι οι οποίοι χαρακτηρίζονται ως συντομότερα μονοπάτια, με αποτέλεσμα στο νέο σύστημα να πραγματοποιείται καλύτερος έλεγχος στην ροή για την καλύτερη διακίνηση πληροφορίας σε αυτό. Τέλος, το *small-worldness* ορίζει το νέο δίκτυο ως πιο τυχαίο έναντι του αρχικού.

Select by ▼

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

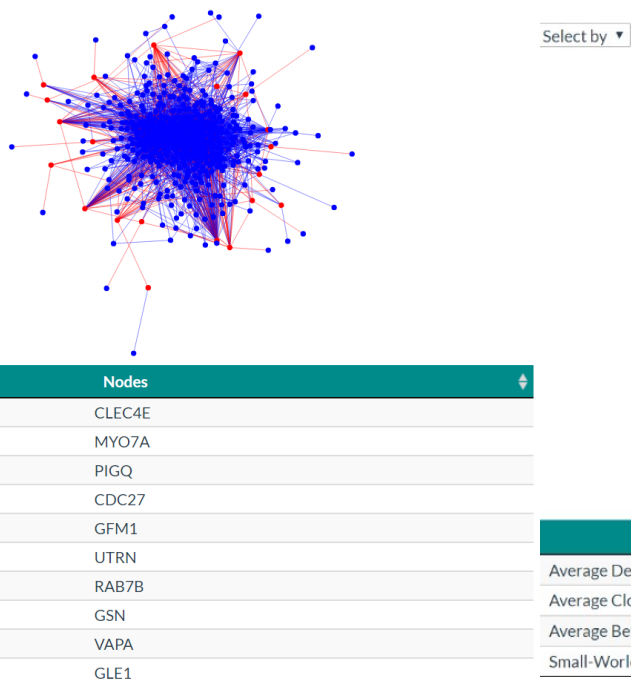


	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	22.4100227790433	21.6027397260274
Average Closeness	0.00000867574142965954	0.00000868699162031585
Average Betweenness	209.683371298405	210.052511415525
Small-Worldness	2.996693	3.0735013311723

Εικόνα 38: Αποτελέσματα αφαίρεσης 15 πρώτων κόμβων υψηλού *eigenvector* της νόσου ALS

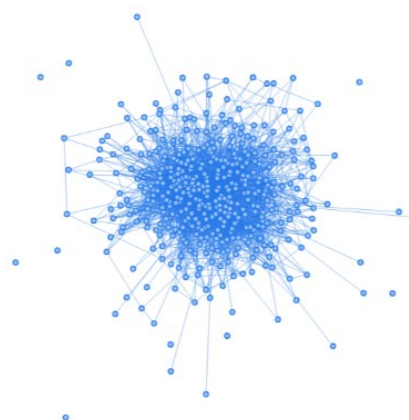
5.15. Case Study 15: Επίθεση στο Δίκτυο ALS με την Χρήση της Global Μετρικής *Articulation Points*

Τα σημεία που έχουν μεγάλο ρόλο στην διατήρηση της συνδεσιμότητας των components του δικτύου σχετικά με την νόσο ALS, ορίζονται ως: *CLEC4E*, *MYO7A*, *PIGQ*, *CDC27*, *GFM1*, *UTRN*, *RAB7B*, *GSN*, *VAPA* και *GLE1* (Εικόνα 39). Η αφαίρεση των 10 κόμβων προξένησε τις ακόλουθες αλλαγές, όπως φαίνονται στην Εικόνα 40. Σημειώθηκε αμελητέα αύξηση στο μέσο degree, από 22.4 στο αρχικό δίκτυο σε 22.5 στο νέο δίκτυο. Η αύξηση αυτή μπορεί να οφείλεται στο ότι οι κόμβοι δεν είχαν σημαντικό αριθμό συνδέσεων και έτσι η αφαίρεσή τους να μην προκάλεσε καμία διαταραχή στο σύστημα. Ασήμαντη αύξηση υπάρχει επίσης και στο μέσο closeness, 0.00000867 έναντι 0.00000874, κατά το οποίο συμπεραίνουμε ότι το σύστημα για ακόμη μια φορά ισοσταθμίζει την επίθεση και συνεχίζει να λειτουργεί το ίδιο αποτελεσματικά. Ακόμη, διακρίνεται αύξηση και στο μέσο betweenness, 209.7 έναντι 210 και πολύ μικρή πτώση στο small-worldness, από 2.99 σε 2.97. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η διαγραφή των παραπάνω πρωτεϊνών δεν προκάλεσε ζημιά στο δίκτυο και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την βελτιωμένη αλληλεπίδραση των κόμβων, αλλά και την ταχεία μετάδοση πληροφορίας.



Εικόνα 39: Articulation Points της νόσου ALS όπου μαρκάρονται με κόκκινο χρώμα

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)



	Score of Network	New Score of Network
Average Degree	22.4100227790433	22.4520547945205
Average Closeness	0.00000867574142965954	0.00000874247810544907
Average Betweenness	209.683371298405	210.148401826484
Small-Worldness	2.996693	2.97658700085918

Εικόνα 40: Αφαίρεση Articulation Points της νόσου ALS – εμφανείς αποκομμένοι κόμβοι

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ

6.1. Συμπεράσματα

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο πρωτεϊνικό δίκτυο της νόσου Alzheimer, μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η αφαίρεση κόμβων με βάση το closeness, ήταν πιο ζημιογόνα συγκριτικά με τις άλλες τεχνικές επιθέσεων. Τα αποτελέσματα της [Εικόνα 25](#) υποστηρίζουν τη προηγούμενη δήλωση, όπου υπάρχει εμφανής πτώση του μέσου degree και του μέσου betweenness. Παράλληλα, παρατηρώντας τον [πίνακα 13](#) εξισορροπήθηκε το μέσο closeness όπου διακρίθηκε ασήμαντη αύξηση στο νέο δίκτυο έναντι του αρχικού. Όσον αφορά το μέσο degree, η επίθεση που προκάλεσε μεγαλύτερη μείωση, ήταν αυτή με βάση το degree centrality (από 37.5 σε 28.1). Η δεύτερη στην σειρά επίθεση που προξένησε πτώση στο μέσο degree ήταν του eigenvector centrality (28.1), έπειτα του betweenness centrality (29.4), στην συνέχεια του closeness centrality (34.9) και τέλος η επίθεση με την χρήση της global μετρικής Articulation Points (36.5). Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε αντιστάθμιση του μέσου closeness κατά την εφαρμογή των 5 επιθέσεων. Συγκεκριμένα, κανένα πείραμα από τα 5 που εφαρμόστηκαν, δεν πυροδότησε μεγάλες αλλαγές στο μέσο closeness. Όσον αφορά το μέσο betweenness, η διαγραφή πρωτεϊνών με την χρήση του closeness centrality, επέφερε σημαντική μείωση (202.7 έναντι 194.3) όπως και η χρήση της global μετρικής Articulation Points (196.3). Αύξηση σημειώθηκε στις επιθέσεις με βάση τα degree και eigenvector centralities (205.4 και 205.8 αντίστοιχα) ενώ εξισορροπήθηκε κατά την χρήση του betweenness centrality. Η αφαίρεση των Articulation Points αλλά και των κόμβων με υψηλό closeness centrality σχεδόν εξισορρόπησε την μετρική small-worldness, ενώ παρουσίασε αύξηση κατά την εκτέλεση των υπόλοιπων πειραμάτων, όπου χαρακτήρισε το νέο δίκτυο πιο τυχαίο συγκριτικά με το αρχικό.

Πίνακας 13: Συγκριτικά αποτελέσματα επιθέσεων νόσου Alzheimer

Alzheimer				
	Μέσο Degree	Μέσο Closeness	Μέσο Betweenness	Small-Worldness
Επίθεση Degree Centrality	28.1	0.0000112	205.4	2.5
Επίθεση Betweenness Centrality	29.4	0.0000117	202.8	2.5
Επίθεση Closeness Centrality	34.9	0.0000123	194.3	2.2
Επίθεση Eigenvector Centrality	28.2	0.0000112	205.8	2.5
Επίθεση Articulation Points	36.5	0.0000121	196.3	2.2
Αρχικό δίκτυο	37.5	0.0000119	202.7	2.2

Το δίκτυο της νόσου Parkinson υπέστη μεγάλη ζημιά όταν έγινε επίθεση στους κόμβους με το υψηλότερο degree centrality. Η [Εικόνα 29](#) περιγράφει πώς μεταβλήθηκαν τα αποτελέσματα μετά την επίθεση, όπου είναι εμφανής η μείωση στο μέσο degree, closeness, betweenness και αύξηση στο small-worldness όπου καθιστά το σύστημα πιο τυχαίο. Κοιτάζοντας τον [πίνακα 14](#), η επίθεση που προκάλεσε μεγαλύτερη πτώση στο μέσο degree ήταν αυτή με βάση το degree centrality (από 25.7 σε 18.4). Δεύτερη έρχεται η αφαίρεση κόμβων με υψηλό eigenvector (18.4) και έπειτα η διαγραφή πρωτεϊνών με υψηλό betweenness (18.7). Τελευταίες είναι, η επίθεση με βάση το closeness centrality (23.8) και επίθεση με την χρήση των Articulation Points (24). Παρατηρήθηκε μικρή μείωση στο μέσο closeness στα περισσότερα πειράματα, με την επίθεση στα Articulation Points να παρίσταται πιο ζημιογόνα (0.0000211 έναντι 0.0000112). Επιπλέον, μηδαμινή αύξηση διαπιστώνεται στην επίθεση πρωτεϊνών με υψηλό closeness centrality (0.0000215). Το μέσο betweenness είχε μεγαλύτερη πτώση στην επίθεση με την χρήση του degree centrality (από 148.6 σε 129.5). Αξιοσημείωτη μείωση είχε και κατά την διαγραφή πρωτεϊνών με υψηλό betweenness centrality (136.3). Απεναντίας τα closeness και eigenvector centralities αλλά και η χρήση των Articulation Points είχαν μικρότερη πτώση συγκριτικά με τα προηγούμενα (142 και 141.5 αντίστοιχα). Η επίθεση με βάση το degree centrality επέφερε μεγαλύτερη αύξηση στο small-worldness (από 2.4 σε 3.1) με τελευταίες να έρχονται οι επιθέσεις κατά των κόμβων με υψηλότερο degree και των πρωτεϊνών που ορίζονται ως Articulation Points (2.5).

Πίνακας 14: Συγκριτικά αποτελέσματα επιθέσεων νόσου Parkinson

Parkinson				
	Μέσο Degree	Μέσο Closeness	Μέσο Betweenness	Small-Worldness
Επίθεση Degree Centrality	18.4	0.0000194	139.7	2.9
Επίθεση Betweenness Centrality	18.7	0.0000191	129.5	3.1
Επίθεση Closeness Centrality	23.8	0.0000215	136.3	2.5
Επίθεση Eigenvector Centrality	18.4	0.0000195	142	2.8
Επίθεση Articulation Points	24	0.0000209	141.5	2.5
Αρχικό δίκτυο	25.7	0.0000211	148.6	2.4

Το πρωτεϊνικό δίκτυο ALS υπέστη παρόμοια ζημιά σε όλα τα πειράματα που τέθηκαν σε εφαρμογή. Παρατηρώντας τον [πίνακα 15](#), το μέσο degree είχε ίδια πτώση στις επιθέσεις με βάση το degree, betweenness, closeness και eigenvector (από 22.4 σε 21.6). Παράλληλα, η αφαίρεση κόμβων με υψηλό closeness centrality και η διαγραφή πρωτεϊνών που ορίζονται ως Articulation Points είχε το ίδιο σκορ μέσου degree με το αρχικό. Παρομοίως πολύ μικρή αύξηση παρατηρήθηκε και στο μέσο closeness, στις επιθέσεις κατά των κόμβων με υψηλό degree, betweenness και eigenvector centrality (0.00000867 έναντι 0.00000868). Το ίδιο συνέβη στις επιθέσεις σε κόμβους που ορίζονται ως Articulation Points και πρωτεϊνών με υψηλό closeness

centrality (0.0000874 και 0.0000870 αντίστοιχα). Σχετικά με το μέσο betweenness, η διαγραφή κόμβων που προκάλεσε ζημιά στο δίκτυο, ήταν με βάση το closeness centrality (209.7 έναντι 208.4). Οι επιθέσεις κατά των κόμβων με υψηλό degree, betweenness, eigenvector centrality αλλά και κατά των Articulation Points του δικτύου, παρουσίασαν όλοι το ίδιο μικρή αύξηση (περίπου 210.1). Τέλος, το small-worldness είχε παρόμοια αύξηση στην αφαίρεση πρωτεϊνών με υψηλό degree, betweenness, closeness, eigenvector centrality (2.9 στο αρχικό δίκτυο και περίπου 3.1 στο νέο δίκτυο) ενώ η διαγραφή Articulation Points είχε το ίδιο αποτέλεσμα με το αρχικό δίκτυο (2.9).

Πίνακας 15: Συγκριτικά αποτελέσματα επιθέσεων νόσου ALS

ALS				
	Μέσο Degree	Μέσο Closeness	Μέσο Betweenness	Small-Worldness
Επίθεση Degree Centrality	21.6	0.00000868	210.1	3.1
Επίθεση Betweenness Centrality	21.6	0.00000868	210.1	3.1
Επίθεση Closeness Centrality	22.4	0.00000870	208.4	3
Επίθεση Eigenvector Centrality	21.6	0.00000868	210.1	3.1
Επίθεση Articulation Points	22.1	0.00000874	210.1	2.9
Αρχικό δίκτυο	22.4	0.00000867	209.7	2.9

6.2. Μελλοντικές Προεκτάσεις

Η διπλωματική αυτή, μπορεί να θεωρηθεί ως πρώτο βήμα στην εφαρμογή επιθέσεων με βάση την κεντρικότητα κόμβων, σε πρωτεΐνες με υψηλή βαθμολογία. Επιπλέον αποτελεί μια προσπάθεια στην εξαγωγή συμπερασμάτων με την χρήση global μετρικών, όπου μπορεί να εξαχθεί χρήσιμη γνώση σχετικά με την δομή του δικτύου αλλά και την ζημιά που μπορεί να προκαλέσει η καταστολή πρωτεϊνών σε αυτό. Επιπρόσθετα η δημιουργία του online εργαλείου “AThenaNet”, είναι σε θέση να εφαρμόσει εύκολα και με ταχύ τρόπο, επιθέσεις ή θεραπευτικές παρεμβάσεις σε πρωτεϊνικά δίκτυα. Όσον αφορά τις θεραπευτικές παρεμβάσεις, μελλοντικά μπορεί να γίνει εισαγωγή δικτύων ίδιας ασθένειας δύο επιπέδων, «νοσηρού» και «υγιούς», όπου θα πραγματοποιείται η μεταξύ τους σύγκριση, με στόχο τον μετασχηματισμό του δικτύου «νοσηρού» επιπέδου σε «υγιούς». Ο μετασχηματισμός αυτός, αφορά την αναζήτηση κόμβων ή ακρών που καθιστούν ένα «νοσηρό» δίκτυο σε «υγιές». Στην πλατφόρμα αυτή, παρέχεται η δυνατότητα εισαγωγής κόμβων αλλά και ακρών σε ένα δίκτυο αλλά δεν προσφέρεται η δυνατότητα σύγκρισης δικτύων με στόχο την μετατροπή τους. Τα μοντέλα που υπάρχουν στο online εργαλείο, δίνουν την δυνατότητα εφαρμογής επιθέσεων με την χρήση μίας μετρικής κεντρικότητας. Σε μελλοντικές προεκτάσεις μπορεί να πραγματοποιείται ο συνδυασμός μετρικών σε επιθέσεις, με σκοπό την δημιουργία μεγαλύτερης ζημιάς στα δίκτυα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Υπολογιστική Βιολογία, Κεφάλαιο 9: Βιολογικά Δίκτυα, Νικολάου Χριστόφορος και Χουβαρδός Παναγιώτης, 2015, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα – Αποθετήριο Κάλλιπος
- [2] ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟ-ΔΟΜΩΝ ΣΤΟ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ ΤΟΥ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ΣΥΝΔΥΑΖΟΝΤΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΔΗΜΗΤΡΑΚΟΠΟΥΛΟΥ, 2007, ΝΗΜΕΡΤΗΣ, ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΑΠΟΘΕΤΗΡΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ
- [3] Εξαγωγή δικτύων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων μέσω ευφυών αλγορίθμων, Σταυρούλα Μαμανέα, 2020, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο – Arothesis
- [4] Κεφάλαιο 5: ΓΡΑΦΟΙ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΑΥΤΩΝ, Γεωργίου Δημήτριος, Αντωνίου Ευστάθιος, Χατχημιαηλίδης Ανέστης, 2015, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα – Αποθετήριο Κάλλιπος
- [5] ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ ΓΡΑΦΩΝ ΚΑΙ ΕΥΡΕΣΗΣ ΔΙΑΔΡΟΜΗΣ ΜΕ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕΤ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗΣ ΡΟΜΠΟΤΙΚΗΣ, ΓΕΩΡΓΙΑ Α. ΜΠΕΛΕΤΣΙΩΤΗ, 2020, Ψηφίδα – Ιδρυματικό Αποθετήριο
- [6] Μέτρα σε δίκτυα-ιδιότητες και εφαρμογές, Γρηγοριάδης Ιωάννης Λάζαρου, 2014, IKEE / ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI - LIBRARY
- [7] ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ ΧΡΗΣΤΩΝ ΣΕ ΨΗΦΙΑΚΕΣ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΕΣ ΜΑΘΗΣΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΩΝ, Αληφραγκής Χαράλαμπος, 2015, Διώνη – Πανεπιστήμιο Πειραιώς
- [8] Protein interaction network for Alzheimer's disease using computational approach, V Srinivasa Rao, K Srinivas, GN Sunand Kumar, and GN Sujin, 2013, NCBI - PMC
- [9] Advances in protein-protein interaction network analysis for Parkinson's disease, James E. Tomkins, Claudia Manzoni, 2021, ScienceDirect
- [10] Human symptoms–disease network, XueZhong Zhou, Jörg Menche, Albert-László Barabási & Amitabh Sharma, 2014, Nature
- [11] Quantitative analysis of robustness and fragility in biological networks based on feedback dynamics, Yung-Keun Kwon and Kwang-Hyun Cho, 2008, Oxford Academic
- [12] Topological robustness analysis of protein interaction networks reveals key targets for overcoming chemotherapy resistance in glioma, Háttylas Azevedo & Carlos Alberto Moreira-Filho, 2015, Nature
- [13] Improving the Robustness of Complex Networks with Preserving Community Structure, Yang Yang, Zhoujun Li, Yan Chen, Xiaoming Zhang, Senzhang Wang, 2015, PubMed - NCBI
- [14] Robustness and lethality in multilayer biological molecular networks, Xueming Liu, Enrico Maiorino, Arda Halu, Joseph Loscalzo, Jianxi Gao, Amitabh Sharma, 2019, Nature

- [15] Biological robustness, Hiroaki Kitano, 2004, PubMed - NCBI
- [16] Biological Robustness: Paradigms, Mechanisms, and Systems Principles, James Michael Whitacre, 2012, NCBI – PMC
- [17] Γλοίωμα, Όμιλος Ιατρικού Αθηνών. Διαθέσιμο στο:
<https://www.iatriko.gr/el/disease/gloioma?cl=609>
- [18] Articulation points in complex networks, Liang Tian, Amir Bashan, Da-Ning Shi & Yang-Yu Liu, 2017, Nature
- [19] Robustness and lethality in multilayer biological molecular networks, Xueming Liu, Enrico Maiorino, Arda Halu, Joseph Loscalzo, Jianxi Gao, Amitabh Sharma, 2019, Nature
- [20] Η μοριακή βάση & αρχιτεκτονική των νοσημάτων στο πλαίσιο ενός ολοκληρωμένου δικτύου πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (interactome) του ανθρώπου, Ευρυδίκη – Πανδώρα Τσαρέ, 2015, ΝΗΜΕΡΤΗΣ, ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΑΠΟΘΕΤΗΡΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ
- [21] MalaCards: an amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search, Noa Rappaport, Michal Twik, Inbar Plaschkes, Ron Nudel, Tsippi Iny Stein, Jacob Levitt, Moran Gershoni, C. Paul Morrey, Marilyn Safran, Doron Lancet, 2016, ResearchGate
- [22] STRING Database — Content, STRING-db-org
- [23] Εφαρμογές Χωρικής Ανάλυσης με τη γλώσσα R, Καλογήρου Σταμάτης, 2015, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα – Αποθετήριο Κάλλιπος
- [24] visNetwork, an R package for interactive network visualization, DataStorm, 2016-2017, Διαθέσιμο στο: <https://datastorm-open.github.io/visNetwork/>
- [25] Finding community structure by multi-level optimization of modularity, R igraph manual pages, 2003-2020. Διαθέσιμο στο: https://igraph.org/r/doc/cluster_louvain.html
- [26] Articulation Points (or Cut Vertices) in a Graph, GeeksforGeeks, 2021
- [27] Γνωσιακή επιστήμη, Βικιπαίδεια, 2021
- [28] NetworkToolbox: Methods and Measures for Brain, Cognitive, and Psychometric Network Analysis, rdrv.io, Alexander Christensen, 2021. Διαθέσιμο στο:
<https://rdrv.io/cran/NetworkToolbox/>
- [29] Network Inference and Reconstruction in Bioinformatics, Paolo Tieri, ... Filippo Castiglione, in Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology, 2019, ScienceDirect
- [30] Physical protein–protein interactions predicted from microarrays ,Ta-tsen Soong, Kazimierz O. Wrzeszczynski, Burkhard Rost Author Notes
Bioinformatics, Volume 24, Issue 22, 15 November 2008, Pages 2608–2614, Oxford Academic
- [31] Διάλεξη Σύνθετα Δίκτυα, Δημήτριος Κατσάρος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Διαθέσιμο στο:
https://courses.e-ce.uth.gr/ECE434/lectures/cnets_lec02b.pdf

- [32] JPND research, Τι είναι οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, 2019. Διαθέσιμο στο:
<https://www.neurodegenerationresearch.eu/el/%CF%84%CE%B9-%CE%B5%CE%AF%CE%BD%CE%B1%CE%B9-%CE%BF%CE%B9-%CE%BD%CE%B5%CF%85%CF%81%CE%BF%CE%B5%CE%BA%CF%86%CF%85%CE%BB%CE%B9%CF%83%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%AD%CF%82-%CE%B1%CF%83%CE%B8%CE%AD%CE%BD%CE%B5/>
- [33] Serge Przedborski, Miquel Vila and Vernice Jackson-Lewis (2003) Neurodegeneration: What is it and where are we? J. Clin. Invest. Vol.111, No.1, pp.3-10, PubMed – NCBI
- [34] John Hardy, Harry Orr The genetics of neurodegenerative diseases. Journal of Neurochemistry, Vol.26, No.97, pp.1690-1699.
- [35] Καπάκη, Ε. και Παρασκευάς, Γ. Π., 2004. Σύγχρονη θεραπευτική θεώρηση της νόσου Alzheimer και άλλων ανοϊκών διαταραχών. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Βήτα
- [36] Kanazawa (2001), How do neurons die in neurodegenerative diseases?, Trends in Molecular Medicine, 2001, Pages 339–344, ScienceDirect
- [37] Adams, R. D., Victor, M. and Ropper, A. H., 2003. Νευρολογία Ι. Μετάφραση Επιμέλεια από τα Αγγλικά από Βασιλόπουλος, Δ. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης pp.519-641
- [38] Roche, Νόσος του Parkinson, 2019. Διαθέσιμο στο:
<https://www.roche.gr/el/health/neurology/parkinson.html>
- [39] ΓΕΝΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ Η ΕΛΠΙΣ Δ. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ, ΝΟΣΟΣ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ, Ανδριοπούλου Γεωργία, 2019. Διαθέσιμο στο: <https://www.elpishospital.gr/nosos-parkinson-n-7>
- [40] ONMED.GR, Νόσος του κινητικού νευρώνα (ALS): Η νευρολογική πάθηση την οποία ο Χόκινγκ «αψηφούσε» επί δεκαετίες, 2018. Διαθέσιμο στο:
<https://www.onmed.gr/ygeia/story/364963/nosos-toy-kinitikoy-neyrona-als-h-neyrologiki-pathisi-tin-opoia-o-stiven-xokingk-apsifoyse>