



**UNIVERSITETI I TIRANËS**  
**FAKULTETI I SHKENCAVE TË NATYRËS**  
**DEPARTAMENTI I FIZIKËS**

**DISERTACION**

**MODELIMI DHE SIMULIMI NUMERIK I PROCESSEVE QË  
ZHVILLOHEN NË RRJETAT BIOLOGJIKE**

**paraqitur nga**

**MALVINA MARKU**

**Për marrjen e gradës**

**Doktor i Shkencave**

**Kandidati**

**Malvina Marku**

**Udhëheqësi shkencor**

**Prof. Dr. Margarita Ifti**



---

*Në kujtim të Papajës, Dhimitër Ignjatiç.*

## Përmbajtja

Lista e figurave .....	v
Lista e tabelave.....	vii
Mbi autorin.....	x
Mirënjohje.....	xii
Abstrakt.....	xiv
Abstract.....	xv
<b>HYRJE</b> .....	1
Revolucioni rrjetor në modelimin e sistemeve biologjike.....	1
Motivimi dhe organizimi i punimit .....	3
<b>KAPITULLI I</b>	
<b>Modelet Diskrete të Sistemeve Rregullatore</b> .....	6
1.1. Hyrje.....	6
1.2. <i>Aksioma qendrore</i> në Biologjinë Molekulare.....	7
1.2.1. Rregullimi i procesit të kodimit .....	10
1.2.2. Rregullimi i procesit të përkthimit.....	11
1.2.3. Rregullimi i aktivitetit proteinik.....	11
1.3. Modelet matematike të rregullimit të gjeneve.....	12
1.3.1. Dy histori dështimi “ <i>Një-gjen-i-vetëm</i> ”.....	15
1.4. Paraqitja rrjetore e sistemeve rregullatore .....	17
1.5. Modeli Boolean i rrjetave rregullatore.....	19
1.5.1. Ndërtimi i rrjetit të një sistemi rregullator .....	22
1.5.2. Identikimi i funksioneve Booleane.....	24
1.5.3. Metodot e studimit të dinamikës së një sistemi nëpërmjet modelit Boolean.....	26
1.5.4. Teoria e zinxhirëve të Markovit.....	27
1.5.5. Rasti në studim: sistemi rregullator me tre komponentë .....	29
1.5.6. Vlerësimi i modelit .....	33
1.6. Sistemet rregullatore si sisteme të përgjithësuara ekologjike.....	34
1.7. Përfundime .....	36
Material plotësues për Kapitullin I.....	38
<b>KAPITULLI II</b>	
<b>Modelimi Boolean i Sistemit FGF23/Klotho në Homeostazën e Kalciumit dhe Fosfatit</b> .....	40
2.1. Hyrje.....	40
2.1.1. Homeostaza e kalciumit .....	41
2.1.2. Homeostaza e fosfatit .....	42
2.1.3. Aksi FGF23-Klotho.....	43
2.2. Ndërtimi i rrjetit .....	45
2.3. Rezultate numerike.....	47

2.3.1.	Modeli sinkron .....	47
2.3.2.	Modeli asinkron i rastit (ROA).....	49
2.3.3.	Modeli asinkron i përgjithshëm (GOA).....	50
2.3.4.	Modeli asinkron deterministik (DA) .....	53
2.3.5.	Perturbimi i nyjeve .....	56
2.4.	Një tjetër pikë kritike: përcaktimi i saktë i funksioneve Booleane.....	56
2.5.	Rezultate .....	58
	Material plotësues për Kapitullin II .....	60
<b>KAPITULLI III</b>		
	<b>Modelet Hibride të Rrjetave Biologjike Rregullatore .....</b>	<b>62</b>
3.1.	Hyrje.....	62
3.2.	Përgjithësim i kalimit nga një model diskret në një model të vazhduar.....	64
3.3.	Kushtet e ekuilibrit dhe stabilitetit të modelit hibrid .....	65
3.4.	Modeli hibrid pjesë-pjesë diferencial (PLDE) dhe modeli hibrid i Hill-it ...	67
3.5.	Modeli hibrid PLDE dhe i Hill-it për sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit.....	69
3.5.1.	Simulime numerike.....	70
3.5.2.	Modeli hibrid PLDE.....	72
3.5.3.	Modeli hibrid i Hill-it .....	73
3.6.	Rezultate .....	78
<b>KAPITULLI IV</b>		
	<b>Aplikimi i Algoritmit Gjenetik në Përcaktimin e Koeficientëve të Bashkëveprimit në Rrjetat Biologjike.....</b>	<b>79</b>
4.1.	Hyrje.....	79
4.2.	Modeli i ndërveprimit të specieve.....	81
4.2.1.	Linearizimi: në afërsi të pikës fikse.....	83
4.2.2.	Stabiliteti lokal asimptotik – A mund të jetë i qëndrueshëm një sistem i madh?.....	85
4.3.	Algoritmi gjenetik.....	88
4.3.1.	Algoritmi gjenetik në dy përmasa .....	90
4.4.	Implementimi i algoritmit gjenetik në llogaritjen e elementëve të matricës së ndërveprimit .....	92
4.5.	Implementimi i algoritmit gjenetik në llogaritjen e elementëve të Jakobianit në hapësirën lineare .....	96
4.6.	Rezultate numerike: përcaktimi i elementëve të matricës së ndërveprimit. 98	
4.7.	Rezultate numerike: përcaktimi i elementëve të Jakobianit të ndërveprimit.....	101
4.8.	Përfundime .....	105
	Material plotësues për Kapitullin IV .....	107
	Modelimi i një sistemi pre-grabitqar me anë të modelit Boolean dhe hibrid.....	107

**KAPITULLI V**

<b>Përmbledhje dhe Puna në Vazhdim</b> .....	112
Modelet Booleane: hapi i parë në studimin e sistemeve rregullatore .....	112
Modeli i sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nëpërmjet gjenit Klotho.....	113
Modeli hibrid i sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nëpërmjet gjenit Klotho.....	114
Në afërsi të pikës fikse: nga modeli diskret në modelin e vazhduar .....	115
Puna në vazhdim.....	117
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	119

## Lista e figurave

<b>Figura 1. 1:</b> a) Katër mënyrat e transmetimit të informacionit. b) Lidhja e FK në AND. c) Shkallët e kalimit të informacionit.....	8
<b>Figura 1. 2:</b> Hapat e kalimit nga gjenet tek proteinat. ....	12
<b>Figura 1. 3:</b> a) Paraqitja e rrjetit rregullator me anë të grafëve. b) Paraqitja e ko-veprimeve .....	18
<b>Figura 1. 4:</b> a) Funkzioni simoidal i përgjigjes. b) Përafrimi Boolean .....	20
<b>Figura 1. 5:</b> Paraqitja grafike e 2N gjendjeve të mundshme dhe kalimeve të lejuara.....	21
<b>Figura 1. 6:</b> Vizualizimi i grafit të ndërveprimit të një sistemi rregullator me tre komponentë. ....	23
<b>Figura 1. 7:</b> Bredhja e të dehurit [91] .....	28
<b>Figura 1. 8:</b> Grafi i kalimit të gjendjes për modelin me tri nyje të Figura 1. 6.....	31
<b>Figura 2. 1:</b> Hormonet rregullatorë të P. ....	42
<b>Figura 2. 2:</b> (Majtas) Rrjeti i reduktuar i homeostazës së kalciumit dhe fosfatit. (Djathtas) Paraqitja matricore e ndërveprimeve. ....	44
<b>Figura 2. 3:</b> Analiza strukturore e rrjetit të Figurës 2. 2 .....	44
<b>Figura 2. 4:</b> (Majtas) Aktiviteti i kalciumit, fosfatit dhe hormonit të paratiroides (Djathas) Rezultati sipas modelit Boolean.....	46
<b>Figura 2. 5:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve të rrjetit me gjashtë nyje.. ....	48
<b>Figura 2. 6:</b> Variacioni i gjendjes së nyjeve në ciklin limit me periodë 3 njësi. ....	49
<b>Figura 2. 7:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve sipas metodës Random Order Asynchronous (ROA). ....	50
<b>Figura 2. 8:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve i gjeneruar me anë të metodës GA.....	51
<b>Figura 2. 9:</b> Matrica e kalimit për grafin e kalimit të gjendjeve, metoda GA. ....	52
<b>Figura 2. 10:</b> Kohët e absorbimit të gjendjeve kalimtare drejt gjendjes absorbuese 111111.53	
<b>Figura 2. 11:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve i gjeneruar me anë të metodës asinkrone DOA..	54
<b>Figura 2. 12:</b> Shpërndarja e numrit të lidhjeve hyrëse dhe dalëse.....	55
<b>Figura 2. 13:</b> Dinamika e rrjetit të rregullimit të homeostazës .....	57
<b>Figura 3. 1:</b> Skema e përgjithshme e kalimit nga një model diskret, në një model të vazhduar .....	64
<b>Figura 3. 2:</b> Hapësira fazore dy përmasore $\Omega$ për një rrjet me dy komponentë, a dhe b. ....	66
<b>Figura 3. 4:</b> Djathtas, grafi i kalimit të gjendjeve për sistemin me dy komponentë.....	68
<b>Figura 3. 5:</b> Rezultatet numerike të simulimeve të modelit PLDE .....	74
<b>Figura 3. 6:</b> (majtas) Përqendrimi i kalciumit dhe fosfatit .....	75
<b>Figura 3. 7:</b> (majtas) Përqendrimi i vitaminës D dhe hormonit të paratiroides.....	76
<b>Figura 3. 8:</b> Variacioni i përqendrimit të Ca, P, VD dhe PTH.....	77
<b>Figura 4. 1:</b> Klasifikimi i pikave fikse .....	84
<b>Figura 4. 2:</b> [178]Vlerat vetiake të matricës $\mathfrak{J}$ . ....	87

<b>Figura 4. 3:</b> [178] Probabiliteti i stabilitetit në funksion të dispersionit.....	88
<b>Figura 4. 4:</b> Skema e algoritmit gjenetik në një përmasë .....	89
<b>Figura 4. 5:</b> Operatori i kryqëzimit në dy përmasa, sipas 4 skemave të kryqëzimit. ....	91
<b>Figura 4. 6:</b> Paraqitja diskrete e një sistemi ndërveprimi me 3 specie.. ....	93
<b>Figura 4. 7:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve të sistemit me 3 specie të Figurës 4. 6. ....	93
<b>Figura 4. 8:</b> Rezultatet e simulimeve numerike, modeli hibrid PLDE.....	94
<b>Figura 4. 9:</b> Aplikimi i algoritmit gjenetik .....	95
<b>Figura 4. 10:</b> Variacioni i kostos për $N = 10000$ breza .....	98
<b>Figura 4. 11:</b> Variacioni i kostos për 100 brezat e parë.....	99
<b>Figura 4. 12:</b> Zgjidhja e vazhduar e sistemit të linearizuar .....	100
<b>Figura 4. 13:</b> Trajektoret e sistemit të linearizuar për kushte të ndryshme fillestare.....	100
<b>Figura 4. 14:</b> Variacioni i kostos për $N = 10000$ breza .....	102
<b>Figura 4. 15:</b> Variacioni i kostos për 100 brezat e parë.....	102
<b>Figura 4. 16:</b> Zgjidhja e vazhduar e sistemit të linearizuar.....	104
<b>Figura 4. 17:</b> (majtas) Zgjidhja teorike e modelit pre-grabitqar (10) për $\mu = 0.5$ .. ....	108
<b>Figura 4. 18:</b> Modeli Boolean i sistemit lepuj – dhelpra.....	109
<b>Figura 4. 19:</b> Grafi i kalimit të gjendjeve për modelin pre-grabitqar .....	109
<b>Figura 4. 20:</b> Stabiliteti i modelit pre-grabitqar, sipas modelit hibrid PLDE.....	109
<b>Figura 4. 21:</b> Rezultatet numerike të sistemit në kushte normale dhe $D = \text{OFF}$ . ....	110
<b>Figura 4. 22:</b> Rezultatet numerike të sistemit në kushte normale dhe $L = \text{OFF}$ .....	110

## Lista e tabelave

<b>Tabela 1. 1:</b> Llogaritja e probabiliteteve të kalimit nga gjendja 001.....	32
<b>Tabela 1. 2:</b> Numri i pritshëm i hapave kohorë të absorbimit në pikën fikse.....	32
<b>Tabela 1. 3:</b> Numri i pritshëm i hapave kohorë të absorbimit në pikën fikse.....	33
<b>Tabela 1. 4:</b> Disa prej software-ve të zhvilluar për studimin e qëndrueshmërisë dhe dinamikës së sistemeve biologjike .....	39
<b>Tabela 2. 1:</b> Rregullat Booleane për modelin e homeostazës së kalciumit dhe fosfatit .....	46
<b>Tabela 2. 2:</b> Tëheqësit e rrjetit me 6 nyje të sistemit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit .....	47
<b>Tabela 2. 3:</b> Shembull i llogaritjes së probabiliteteve të kalimit .....	52
<b>Tabela 2. 4:</b> Kohët e absorbimit të SCC drejt gjendjes absorbuese 111111. ....	53
<b>Tabela 2. 5:</b> Rregullat Booleane të gjenerimit të gjendjeve të rrjetit me 6 nyje të rregullimit të kalciumit dhe fosfatit.....	57
<b>Tabela 3. 1:</b> Krahasimi i tri modeleve të studimit të dinamikës së sistemeve rregullatore..	68
<b>Tabela 3. 2:</b> Intervallet e vlerave të parametrave të përdorur në modelin hibrid PLDE dhe modelin hibrid të Hill-it. ....	70
<b>Tabela 3. 3:</b> Sistemet e ekuacioneve për sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit.....	71
<b>Tabela 4. 1:</b> Ekuacionet Booleane dhe hibride PLDE të sistemit me 3 specie .....	93

## Fjalorth

<b>Aktivizim</b>	(shtim) Procesi në të cilin një komponent ose një bashkësi komponentësh veprojnë duke rritur ose përshpejtuar zhvillimin e një procesi të caktuar.
<b>Alel</b>	Një nga dy ose më shumë forma alternative të një gjeni ose një sekuece ADN-je.
<b>Aminoacid</b>	Një prej blloqeve ndërtues të proteinave.
<b>Faktor kodues</b>	Proteinë që kontrollon shpejtësinë e kodimit të materialit gjenetik nga ADN në ARN mesazhere, nëpërmjet lidhjes së një sekuecë të caktuar të ADN.
<b>Fenotip</b>	Një individ i karakterizuar nga veçori të caktuara fizike ose biokimike, që lindin si pasojë e ndërveprimit të gjenotipit të tij dhe mjedisit.
<b>Fibroblast</b>	Lloj qelize që sintetizon matricën jashtëqelizore dhe kolagjenin, prodhon stromën strukturore të organeve dhe luan një rol të rëndësishëm në shërimin e plagëve.
<b>Fitnes</b>	Aftësia relative e një individi (ose gjenomi) për të prodhuar pasardhës që të mbijetojë në popullatë.
<b>Gjen</b>	Pjesë e një sekuece të ADN që kodon një molekulë funksionale ARN ose një proteinë.
<b>Gjenom</b>	Materiali i plotë gjenetik i një organizmi.
<b>Gjenotip</b>	Kombinim i gjendjeve të aleleve përgjatë një ose më shumë kromozomeve në një bazë polimorfike në gjenom.
<b>Homeostazë</b>	Gjendja e qëndrueshme e kushteve që përbëjnë një mjedis biologjik.
<b>Inhibim</b>	(pengim) Procesi në të cilin një komponent ose një bashkësi komponentësh veprojnë duke penguar ose ngadalësuar zhvillimin e një procesi të caktuar.
<b>Kromozom</b>	Një strukturë brendaqelizore që përmban materialin gjenetik të organizmit.
<b>Kryqëzim</b>	Riorganizimi i materialit gjenetik, përgjithësisht përmes këmbimit të kromozomeve të organizmave të njëjtë ose nga bashkimi artificial i segmenteve të ADN nga organizma të ndryshëm.

---

<b>Lokus</b>	Një pjesë e gjenomit që mund të përbëjë një bazë të vetme, një gjen ose një grup kromozomesh.
<b>Mutacion</b>	Procesi në të cilin një individ pëson ndryshime rastësore të nukleotideve. Ndryshimet në ADN mund të jenë këmbime, shtime, heqje të bazava ose ri-renditje në shkallë të gjerë.
<b>Njësi lidhëse</b>	Një pjesë e ADN ose një enzime në të cilën realizohet lidhja me një faktor kodues.
<b>Osteoblast</b>	Qelizë përbërëse të kockave.
<b>Osteocit</b>	Qelizë kockë-formuese, pjesë e matricës së kockës.
<b>Përzgjedhje</b>	Mbijetesë dhe riprodhim i privilegjuar (ose eliminim i privilegjuar) i individëve të karakterizuar nga një gjenotip i caktuar.
<b>Rregullim</b>	Një proces kontrolli i aktivitetit të një gjeni ose enzime nëpërmjet mekanizmave që rritin ose ngadalësojnë atë aktivitet.
<b>Rrjet trofik</b>	Një bashkësi organizmash në një komunitet ekologjik të lidhur përmes transferimit të energjisë ose lëndës.
<b>Sintezë</b>	Prodhimi i një substance nga bashkimi i elementëve, grupeve ose përbërjeve më të thjeshta, ose nga zërthimi i një përbërjeje komplekse.
<b>Sistem endokrin</b>	Sistemi i përbërë nga hormonet, grupi i gjendrave që sekretojnë hormonet në sistemin qarkullues dhe laqeve të të dhënave dalëse që modulojnë prodhimin e hormoneve për të arritur homoestazën.

## Mbi autorin

### [Malvina Marku](#)

Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës  
Departamenti i Fizikës, Grupi i Materies së Kondensuar  
Blv. “Zog I”, 1001, Tiranë  
[malvina.marku@fshn.edu.al](mailto:malvina.marku@fshn.edu.al)

### Pjesëmarrje në konferenca

1. (poster) [M.Marku](#). “Boolean and hybrid models of calcium and phosphate homeostasis” in *1<sup>st</sup> Workshop of Mathematical and Computational Biology*, Tirana 2018
2. (prezantim) [M.Marku](#). “First step into modelling biological systems: discrete models” in *3<sup>rd</sup> International Workshop on recent LHC results and related topics*, Tirana, 2018.
3. (prezantim) [M.Marku](#), M.Ifti. “A methodological application of genetic algorithm for parameter estimation in gene regulatory networks” in *7<sup>th</sup> International Conference on Advanced Technologies*, Turkey, 2018. Proceedings E-ISBN: 978-605-68537-1-5
4. (prezantim) [M.Marku](#), M.Ifti, D.Prenga. “Një aplikim i algoritmave gjenetikë në llogaritjen e parametrave në rrjetat gjenetike rregullatore” in *Konferenca e Shkencave të Natyrës dhe Teknologjisë*, Tiranë, 2017. Book of Abstracts.
5. (poster) [M.Marku](#), M.Ifti, I.Koçiaj, K.Nikaj. “Dynamical analysis of the synchronous Boolean model of the Klotho gene” in *5<sup>th</sup> International Conference on Complex Networks and their applications*, Milano, 2016. Book of Abstracts ISBN 978-2-9557050-1-8
6. (poster) [M.Marku](#), I.Koçiaj, K.Nikaj, M.Ifti. “Structural analysis of the Klotho gene using Boolean models” in *International Physics Conference*, Tirana, 2015. Proceedings
7. (poster) I.Koçiaj, [M.Marku](#), M.Ifti. “Application of Boolean functions to determine fixed points of MTORC1 regulatory system affected by hypoxia and energy stress” in *International Physics Conference*, Tirana, 2015. Proceedings

## Botime

1. M.Marku, I.Koçiaj, K.Nikaj, M.Ifti. “Attractor Analysis of the Asynchronous Boolean Model of the Klotho Gene Regulatory Network”, *Springer Series in Complex Networks*, B.Gonçalves, R.Menezes, R.Sinatra, V.Zlatic eds., pp. 251 – 259, 2017.
2. M.Marku, M.Ifti. “A Comparison Analysis of the Dynamics and Stability of Klotho Gene Network Through Discrete and Hybrid Models”, *AIP Conference Proceedings 2015 (1)*, pp. 20014, 2018.
3. (online) M.Marku, M.Ifti. “Stabiliteti i sistemeve të ndërveprimit të specieve nëpërmjet modeleve diskrete dhe hibride”, *Buletini i Shkencave të Natyrës 26*, pp. 140 – 152, 2018.
4. K.Nikaj, M.Marku, N.Lika, M.Ifti. “The dynamic of heterogeneous agents in a complex system network”, *Buletini i Shkencave të Natyrës 66, Shkodër*, pp. 39 – 46, 2016.

## Trajnime të thelluara

1. “*Spring College on Physics of Complex Systems*”, International Centre of Theoretical Physics, Itali, 07.04 – 05.05, 2017.
2. “*Summer School on Physics of Living Systems*”, Institut d'Études Scientifiques de Cargèse, Francë, 26.06 – 07.07, 2017.
3. “*Winter School on Complex Systems*”, Nanyang Technological University, Singapore, 13.02 – 27.02, 2015.

## Anëtarësime në shoqata

1. Shoqata Shqiptare e Fizikanëve (2018)
2. Society for Mathematical Biology (2018) [Link](#)
3. Consortium for Logical Models and Tools (CoLoMoTo, 2015) [Link](#)

## Mirënjohje

Shumë njerëz kanë dhënë një kontribut të rëndësishëm përgjatë gjithë rrugëtimit tim në studimin e doktoratës. Gjatë kësaj periudhe, kam patur nderin të ndërveproj me ta dhe të marr më të mirën prej tyre.

Dëshiroj të falenderoj dhe t'i shpreh mirënjohjen udhëheqëses së këtij punimi, Prof. Margarita Ifti. Ky punim nuk do të ishte realizuar pa iniciativën dhe largpamësinë e saj. Në veçanti, e falenderoj për dijen e pashtershme dhe të pakursyer që shpërndan, si dhe besimin e treguar për të më dhënë një studim të tillë ndërdisiplinor, i cili më mësoi mjaft mbi metoda të reja studimi në fushën e biofizikës kompjuterike, dinamikës jolineare dhe rrjetave komplekse metabolike.

Një ndihmesë të çmuar në fillimin e këtij studimi dhe konceptimin e sistemit biologjik të studiuar ka dhënë Prof. Mentor Sopjani (Universiteti i Prishtinës), i cili nuk ngurroi të ofronte punën e vet kërkimore në këtë fushë dhe gatishmërinë në dhënien e mendimeve, gjithnjë të rëndësishme. I shpreh falenderime edhe Prof. Artan Boriçi për mbështetjen e pakursyer dhe diskutimet gjithnjë frytdhënëse, miqve dhe kolegëve të mi për bisedat interesante: Rudina Osmanaj, Klaudio Peqini, Inva Koçiaj dhe Elfrida Dishmema, me të cilët kam ndarë idetë, njohuritë, si dhe pasiguritë e mia gjatë kërkimit. Gjithashtu, u jam mirënjohëse kolegëve të Departamentit të Fizikës për dashamirësinë dhe mbështetjen e vazhdueshme në mësimdhënie dhe kërkim, si gjatë studimeve të mia dhe në vazhdim.

U jam përzemërsisht mirënjohëse dhe falenderuese miqve të mi: Isuf Shehaj, Anja Cenameri dhe Klotilda Nikaj, të cilët më kanë qëndruar pranë në çdo hap, duke më dhënë durim, tolerancë dhe mbështetje të pakursyer morale gjatë periudhave të mia të vështira transitore dhe më të cilët kam ndarë ditët e mira dhe të këqija, vetëbesimin dhe mungesën e vetëbesimit, si dhe Sokol Paja dhe Ervin Kujtila për pozitivitetin dhe vlerësimin. Aktivitetet shkencore ndërkombëtare në lidhje me këtë studim më kanë njohur me miq dhe kërkues të jashtëzakonshëm, bisedat me të cilët më kanë dhënë ide dhe kurajo. U shpreh falenderime Pierpaolo Vivo dhe Marco Alberto Javarone për diskutimet interesante, si dhe Ignacio Vázquez García, i cili ka qenë një enciklopedi e pashtershme shkencore-kulturore dhe një dritare e hapur nga e cila mund të shihja horizonte të reja.

Së fundmi, i jam tërësisht mirënjohëse familjes sime dhe të afërmeve të mi, që kanë qenë një dorë solide ku mund të mbështetesh e sigurtë dhe të cilëve, gjatë kësaj periudhe, nuk munda t'u jap kohën dhe vëmendjen e merituar. I shpreh mirënjohjen Matilda Marku, Arjan dhe Natascha Ignjatiç, për besimin dhe mbështetjen. Ky punim i dedikohet familjes sime: prindërve Lindita dhe Pilo, të cilët më kanë dhënë mësimet më të rëndësishme të jetës, motrave Blerina dhe

---

Yllka, për entuziazmin që më kanë përcjellë me prekjet e vogla dhe të ëmbla të nipërve dhe mbesave, si dhe Besës, që më ka ndihmuar të kuptoj se gjërat më të bukura në jetë janë ato më të thjeshtat dhe me të cilën kam ndarë bashkëjetesën.

## Abstrakt

Në këtë punim, të përqendruar në modelimin dhe simulimin numerik të proceseve që ndodhin në sistemet biologjike, jepen bazat e modelimit diskret dhe hibrid të sistemeve biologjike rregullatore. Të dy modelet zbatohen në sistemin metabolik të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit në organizëm, me një fokus të veçantë në rolin e gjenit Klotho në të. Simulimet numerike të të dy modeleve tregojnë përputhshmëri të rezultateve: sipas të dy modeleve, sistemi arrin stabilitetin në gjendjen në të cilën të gjithë komponentët e sistemit kanë përqendrime mbi nivelin prag, çka biologjikisht paraqet një gjendje fiziologjike të shëndoshë. Gjithashtu, simulimi i rasteve të deficienave jep një gjendje të karakterizuar nga përqendrim i lartë i kalciumit dhe fosfatit, që çon në hiperkalcemi dhe hiperfosfate, të parashikuar nga burimet teorike.

Në përpjekje për t'iu afruar njohjes së kinetikës së komponentëve të sistemeve rregullatore, është prezantuar një metodë e përdorimit të algoritmit gjenetik mbi matrica gjysmë të rastit, elementët e së cilës paraqesin elementët e Jakobianit të transformimit të sistemit të ekuacioneve të dinamikës së secilit komponent, në përafrimin e fushës mesatare. Gjetja e matricës që do të mund të përshkruajë më mirë dinamikën e sistemit rregullator në afërsi të pikës fikse, mund të shërbejë si hap i parë në ndërtimin e një modeli të vazhduar deterministik të sistemit rregullator. Simulimet numerike mbi një rrjet metodologjik, tregojnë se kjo metodë e propozuar mund të zbatohet mjaft mirë në sistemet e vogla ekologjike: matrica e përfutur përshkruan mjaft mirë sjelljen e sistemit, në limitin  $t \rightarrow +\infty$ .

**Fjalët kyçe:** *sistem rregullator, modeli Boolean, modeli hibrid, algoritmi gjenetik, pika fikse*

---

## Abstract

In this work, mainly focussed on modelling and simulation of processes which undergo in different biological environments, we introduce the basic steps into discrete and hybrid modelling of regulatory systems. Both discrete and hybrid models are being applied on the metabolic regulatory system of calcium and phosphate homeostasis, with a special focus on the role of Klotho gene in the maintenance of concentrations of both elements in organism within normal ranges. The numerical simulations of both models exhibit consistent results: they predict that the system reaches its stability in a condition where concentrations of all components are above a threshold, biologically representing a healthy physiological condition. We then studied mutant conditions, for which the numerical results show that the system reaches a steady state characterized of high concentration of calcium and phosphate, which leads to hypercalcemia and hyperphosphatemia.

As a first approach toward estimation of kinetic parameters of interactions between the components, we introduce a methodology of exploiting the genetic algorithm on semi-random matrices, which represent Jacobians of transformation of dynamic equations of our system, in the mean field approximation. Finding the matrix which best describes the system dynamics, can serve as a first approximation to a fully continuous deterministic model of a regulatory system. The numerical simulations show that this method can be successfully applied on small ecological systems, giving a good description of the system for  $t \rightarrow +\infty$ .

**Key words:** *regulatory system, Boolean model, hybrid model, genetic algorithm, fixed point.*

# HYRJE

*“Për mua, është përlënë dhe frymëzuese që kemi kapur vetëm paraqitjen e parë të librit tonë të udhëzimeve, të njohur më parë vetëm nga Zoti.”*

*Francis Collins, 2000*

## Revolucioni rrjetor në modelimin e sistemeve biologjike

Më 26 Qershor 2000, u zhvillua ceremonia zyrtare e publikimit të zbulimit të Human Genome Project (HGP, Francis Collins) dhe Celera Genomics (CG, Craig Venter) mbi deshifrimin e  $3 \times 10^9$  shkronjave kimike në gjenomin njerëzor, *harta e jetës* [1]. Segmentimi i gjenomit njerëzor është një triumf, që pasqyrohet në aftësinë e biologjisë molekulare për të reduktuar sistemet e gjalla në pjesë më të vogla. Megjithatë, zbulimi i HGP ndryshoi këndvështrimin e biologëve për rolin e gjenomit në sëmundjet dhe çdo gjë të lidhur me të: për të kuptuar funksionin e gjenomit është e rëndësishme që ai të konsiderohet si një i tërë – si një *rrjet* – dhe jo të studiohet në pjesë të veçanta. Shprehja e gjeneve përbën një proces kompleks, që përfshin disa faza të sintezës së proteinave, duke nisur nga kodimi i ADN, përkthimi i ARN dhe modifikimi i proteinave përkatëse. Ky sistem rregullator njihet si *sistemi (rrjeti) rregullator i gjeneve* (gene regulatory system) dhe përfshin rrjetat *rregullatore të ndërveprimeve* ndërmjet ADN, ARN, proteinave dhe molekulave të tjera [2] [3].

Teknikat eksperimentale të analizimit të ndërveprimeve rregullatore në nivel molekular morën një shtysë të konsiderueshme me zhvillimin e teknikave të analizës cADN microarray dhe çipeve të nukleotideve, që lejojnë matjen e shprehjes së gjeneve në hapësirë dhe kohë [4] [5] dhe sigurojnë studimin e dinamikës së rrjetave gjenetike. Megjithatë, duke qenë se sisteme të tilla përfshijnë shumë komponentë dhe ndërveprime, u zhvilluan edhe teknika e modele kompjuterike, për të ecur paralelisht me ekperimentet: shtjellimi i hipotezave mbi topologjinë e rrjetave rregullatore në formën e modeleve kompjuterike mundëson parashikimin dhe shpjegimin e sjelljes së sistemeve rregullatore me numër të madh komponentësh ndërveprues.

Në paraqitjen rrjetore sistemet me shumë komponentë, si: rrjetat e ndërveprimit të gjeneve, rrjetat nervore, rrjetat shoqërore, etj., modelohen si një bashkësi *nyjesh* dhe *lidhjesh* [6] [7]. Modelimi rrjetor i sistemeve komplekse përbën hapin e parë në studimin e sjelljes së një game të gjerë sistemesh. Teoria e grafeve (rrjetore) daton që në shekullin XVIII, me problemin e famshëm të urave të Königsberg, të parashtruar nga Euler (1736) [8]. Teoria do të zhvillohej në një stad të ri në vitet 1960 nga Paul Erdős dhe Alfred Rényi, që shënuan lindjen e

*teorisë së rrjetave të rastit* [9] [10], në të cilën konceptet topologjike ndërthuren me teorinë e probabilitetit. Ngjashmëria e rrjetave të rastit me fizikën statistike çoi në lindjen e koncepteve të reja në teorinë rrjetore si: rendi i parametrave, rinormimi, vetëngjashmëria, kalimet fazore dhe eksponentët kritikë [8]. Megjithatë, zhvillimet teknologjike në fuqinë kompjuterike dhe mundësia e përpunimit të sasive të mëdha të të dhënave treguan se teoria e rrjetave të rastit nuk mund të shpjegonte shumë sisteme reale. Eksperimenti i Milgram<sup>1</sup> (1967), i publikuar nën titullin “*The small world problem*” në *Psychology Today* [11], që u pasua me përpilimin e modelit të *rrjetave të “botës së vogël”* nga Watts-Strogatz (1998) [12], solli koncepte të reja në teorinë e grafeve si: *fuqinë (dalëse dhe hyrëse) e nyjeve, diametrin e rrjetit, koeficientin e agregimit*, etj. Teoria mori formën e plotë me modelin Albert-Barabási (2001) me formulimin e *teorisë së rrjetave pa shkallë karakteristike* (scale free networks) dhe *lidhjes së privilegjuar* (preferential attachment) [7], që u përdor me sukses në studimin topologjik të WWW<sup>2</sup> [13], shpërndarjen e epidemive [14], rrjetave ekologjike [15] dhe neurale [16], rrjetave sociale (citimet [17], bashkëpunimet kinematografike [9], rrjetat telefonike [18] [19], etj.).

Paralelisht me analizën strukturore dhe topografike të rrjetave, studimi në kohë i sjelljes së tyre çoi në lindjen e *teorisë së dinamikës rrjetore*. Një ndër sistemet dinamike më të studiuara është rrjeti *me sinkronizim global* (ose rrjeti sinkron), në të cilin oshilatorët e çiftuar përshtasin kohët vetiake të lëkundjes [20], i ndeshur fillimisht nga Hygens në studimin e orëve me dy lëkundës mekanikë të çiftuar dhe më vonë në sinkronizimin e kohëve të xixëllimit të xixove [21] dhe ecjen e turmave në urën Millenium Bridge [22]. Dinamika e rrjetave sinkrone dhe derivateve të tyre (sinkronizimi global, sinkronizimi i pjesshëm, sinkronizimi i agreguar si dhe rrjetat sinkrone me vonesa) u zhvillua më tej në formulimin e *funksioneve të stabilitetit të Chapman – Kolmogorov* (ekuacioni themelor) [23].

Në studimin e dinamikës së sistemeve rregullatore, zhvillimi i modeleve dinamike shkon paralelisht me sasinë e njohurive të disponuara për sistemin e dhënë. Përmirësimi i këtyre modeleve mund të kërkojë “*më shumë të dhëna ose të dhëna më të sakta*” [24], ndërkohë që secili prej tyre paraqet kufizueshmëri gjatë zbatimit në sisteme reale. Në njërin skaj të spektrit të modeleve dinamike, të renditur sipas kompleksitetit që ata mbartin, qëndrojnë *modelet Booleane* [25], në të cilët çdo komponent mund të ndodhet në gjendjen e shprehur ose jo. Një

---

<sup>1</sup> Milgram vlerësoi rrugën mesatare të shpërndarjes së informacionit në një rrjet shoqëror në Shtetet e Bashkuara të Amerikës. Me anë të eksperimenteve, ai vlerësoi se rruga më e shkurtër mesatare – *rendi mesatar i ndarjes* – ndërmjet dy personave të përzgjedhur në mënyrë rastësore është afërsisht 6. Rezultati i tij çoi në lindjen e modelit të rrjetave të botës së vogël nga Watts dhe Strogatz, i mishëruar nga shprehja “*Sa botë e vogël që është?*” [10].

<sup>2</sup> Rrjeti më i madh për të cilin disponohet informacion deri tani.

paraqitje e tillë e sistemit mbart avantazhin e analizës së rrjetave rregullatore të mëdha në hapësirë kohore diskrete dhe të fundme, ku ndryshimi i gjendjes së komponentëve jepet nëpërmjet një funksioni Boolean. *Modelet logjike të kinetikës*, ose modelet me 4 gjendje: “jo aktiv”, “aktiv në nivel të ulët”, “aktiv në nivel mesatar”, “plotësisht aktiv”, synojnë të na japin dhëna më të detajuara sasiore mbi komponentët e sistemit [26]. Megjithatë, nevoja e studimit të sjelljes së sistemit në kohë të vazhduar u pasqyrua në zhvillimin e *modeleve logjike të vazhduara*, në të cilët gjendjet e komponentëve janë sërish diskrete, por kalimi nga një gjendje tek tjetra jepet me anë të një ekuacioni diferencial në kohë të vazhduar. *Modelet e ekuacioneve diferenciale* (ODE) [27] [28] në të cilat përfshihet edhe studimi i efektit të stokasticitetit, sigurojnë paraqitjen më të saktë të proceseve të përfshira në sistemet rregullatore: me anë të disa supozimeve çdo sistem dinamik mund të transformohet në një sistem ekuacionesh diferenciale jolineare, të cilët mund të zgjidhen numerikisht, për të gjeneruar trajektoret e mundshme të sistemit dhe ndjeshmërinë e tyre ndaj zhurmave dhe parametrave të jashtëm [29] [30].

Modelet hibride u zhvilluan nga vëzhgimi i vetive jolineare të ngopjes së përqendrimeve të komponentëve në sistemet reale; në këtë mënyrë, këto modele shërbyen si ura lidhëse, kryesisht ndërmjet modeleve diskrete dhe të vazhduara. Dy urat lidhëse: *ndërmjet modelit Boolean dhe modelit të vazhduar* [31] [32] dhe *ndërmjet modelit ODE dhe ekuacioneve stokastike* [24], lindën si domosdoshmëri e përmirësimit të modeleve Booleane dhe ODE, konkretisht, për përfitim të rezultateve sasiore të përqendrimeve në kohë dhe reduktimin e karakterit deterministik të modelit.

## Motivimi dhe organizimi i punimit

Ndër pyetjet kryesore të ngritura në studimin e paraqitur në këtë material janë (i) mundësia e njohjes dhe studimit të sjelljes së sistemeve të përbërë nga komponentë ndërveprues, edhe në kushtet kur forma analitike e ndërveprimeve nuk njihet plotësisht dhe (ii) gjetja e një metode efikase për kalimin nga një model diskret i një sistemi rregulator në një model të vazhduar, në mënyrë që të përftohet informacion cilësor dhe sasior mbi stabilitetin e sistemit dhe sjelljen e tij nën veprimin e zhurmave të brendshme dhe të jashtme. Studimi është ndarë në katër pjesë kryesore:

- Së pari, janë parashtruar domosdoshmëritë e modelimit të sistemeve rregullatore biologjike dhe roli i tyre i rëndësishëm në drejtimin e eksperimenteve. Më tej, janë prezantuar modelet diskrete dhe, në veçanti, modeli Boolean, si modeli më i thjeshtë për studimin e dinamikës së sistemeve rregullatore. Modeli është zbatuar mbi një rrjet metodologjik dhe

është shoqëruar me analizën numerike përkatëse. Një rëndësi të veçantë paraqet përgjithësimi i sistemeve rregullatore (të nivelit qelizor dhe metabolik) me sistemet ekologjike, si modele të përgjithësuara të ndërveprimit të specieve. Ky përgjithësim do të shfrytëzohet edhe në Kapitullin IV.

- Së dyti, është ndërtuar një model Boolean i sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nga *gjeni Klotho* [33] [34]. Përzgjedhja e këtij rrjeti vjen për shkak të rëndësisë thelbësore të këtij gjeni në rregullimin e homeostazës minerale. Që prej zbulimit të tij më 1997 nga Kuro-o, gjeni Klotho njihet si gjeni i vetëm me veprim të drejtpërdrejtë në gjendjet patologjike të lidhura me plakjen (plakje e parakohshme për shkak të kalcifikimit të indeve të buta). Rezultatet eksperimentale të publikuara për veprimin e gjenit Klotho dhe proteinës që ai kodon eidentojnë komponentët kryesorë të përfshirë në procesin e rregullimit, në nivele të ndryshme metabolike. Sistemi i studiuar në këtë punim është një sistem metabolik dhe sjellja e tij afatgjatë pasqyrohet në një gjendje fiziologjike në rend organizmi. Fillimisht u realizua reduktimi i rrjetit në një numër minimal të komponentëve, pa humbur informacionin mbi efektin e ndërveprimeve ndërmjet tyre, ndërkohë që modeli u testua për të verifikuar përputhshmërinë e tij me njohuritë teorike dhe rezultatet eksperimentale. Analiza e stabilitetit të sistemit u krye duke zbatuar katër lloje të ndryshme metodash të gjenerimit të gjendjeve, ndërkohë që u studiuan edhe rastet e deficencave të komponentëve, që e çojnë sistemin drejt gjendjeve fiziologjike të shëndetshme ose jo të shëndetshme.
- Së treti, bazuar në modelin Boolean, u ndërtua modeli hibrid i sistemit të homeostazës minerale, sipas metodës hibride PLDE dhe metodës hibride të Hill-it. Qëllimi kryesor i studimit në këtë kapitull është nxjerrja e informacioneve sasiore mbi stabilitetin e sistemit, ndërkohë që, në të njëjtën mënyrë si në modelin Boolean, sistemi u studiua edhe në kushtet e deficencave të komponentëve. Rezultatet e simulimeve numerike tregojnë se natyra e pikës fikse të sistemit, të marrë me modelin Boolean ruhet në modelin hibrid PLDE, ndërkohë që modeli hibrid nxjerr në pah domosdoshmërinë e njohjes së kinetikës së sistemit.
- Së katërti, është bërë përgjithësimi matematik ndërmjet një sistemi rregullator metodologjik dhe një sistemi ekologjik të ndërveprimit të specieve, të dhënë me anë të ekuacionit të mirëstuduar *Lotka-Volterra*. Dinamika e sistemit dhe stabiliteti i tij u studiuan fillimisht me anë të një modeli Boolean dhe hibrid PLDE, duke nxjerrë të dhëna mbi qëndrueshmërinë dhe llojin e saj në sjelljen afatgjatë të sistemit. Më tej, u zhvillua një metodë për të parashikuar dhe llogaritur vlerat e koeficientëve të ndërveprimeve ndërmjet komponentëve të sistemit, duke zbatuar

---

algoritmin gjenetik në matrica gjysmë të rastit [35]. Qëllimi kryesor i studimit në këtë kapitull është njohja e sjelljes së sistemit në afërsi të stabilitetit të tij, në hapësirën fazore në përafrimin linear.

Për secilën prej analizave, që paraqesin përkatësisht kapitujt I, II, III dhe IV, është dhënë fillimisht baza teorike, ndërsa rezultatet dhe diskutimi rreth tyre janë dhënë në fundet e kapitujve dhe në kapitullin Përmbledhje dhe Puna në Vazhdim.

# KAPITULLI I

## Modelet Diskrete të Sistemeve Rregullatore

---

### 1.1. Hyrje

Zhvillimet teknologjike në përmirësimin e performancës teknologjike të kohëve të fundit kanë çuar në një rritje të jashtëzakonshme të sasisë dhe llojeve të të dhënave biologjike, që përshkruajnë ndërveprime të ndryshme biologjike, në nivele të ndryshme. Çdo qelizë përgjigjet ndaj stimujve të brendshëm dhe të jashtëm nëpërmjet një sekuence të koordinuar procesesh biologjike që përfshijnë ndërveprime dhe funksione rregullatore ndërmjet gjeneve, proteinave dhe komponentëve të tjerë biologjikë [36]; në këtë mënyrë, gjenet dhe produktet e tyre formojnë një rrjet kompleks ndërveprimesh – *rrjeti rregullator gjenetik* [3] [2]. Duke filluar nga niveli qelizor, një rrjet rregullator mund të pëfshijë dhjetëra – mijëra komponentë, që ndërveprojnë ndërmjet tyre në forma komplekse. Në kushtet e një shkalle të lartë kompleksiteti, ndërtimi i modeleve informative dhe koherente dhe, në këtë mënyrë, zhvillimi i përjasjeve për të studiuar sjelljen e sistemit, përbën një proces tejet të rëndësishëm. Modeli rrjetor i sistemeve rregullatore përbën një metodë mjaft efektive për paraqitjen e sistemit në një graf të unifikuar.

Në paraqitjen rrjetore të sistemeve rregullatore, komponentët e një sistemi përbëjnë nyjet, ndërkohë që ndërveprimet mes tyre paraqiten nëpërmjet lidhjeve. Sipas llojit të sistemit të konsideruar, lidhjet mund të jenë të orientuara ose jo; në sistemet rregullatore, nyjet janë të orientuara, duke treguar veprimin e një komponenti mbi komponentët e tjerë, drejtimin e përhapjes së informacionit ose të masës. Në varësi të komponentëve të sistemit dhe llojeve të ndërprimeve të përfshira në të, rrjetat rregullatore mund të paraqesin rrjeta të transmetimit të sinjalit [37] [38], rrjeta rregullatore gjenetike [39], rrjeta të ndërveprimit proteinik [40] ose rrjeta metabolike [41].

Paraqitja rrjetore e sistemeve rregullatore mundëson analizën strukturore – që jep të dhëna mbi organizimin, heterogjenitetin dhe shpejtësinë e shpërndarjes së informacionit – dhe modelimin e dinamikës së rrjetit – që analizon ndryshimin e përqendrimit të komponentëve në kohë [42]. Në varësi të përshkrimit të gjendjes së nyjeve, modelet e studimit të dinamikës së sistemeve rregullatore, në përfrimin e fushës mesatare, mund të ndahen të tri kategori [36]: (1) *modelet e vazhduara* [27] [28], (2) *modelet diskrete* [25] [26] dhe (3) *modelet hibride* [31]. Modelet e vazhduara, të paraqitur me anë të një sistemi ekuacionesh diferenciale të funksioneve të përqendrimit të çdo komponenti, përbëjnë metodën më të saktë (kur studiohet edhe efekti i stokasticitetit) të studimit të dinamikës së sistemit; megjithatë, aplikimi i këtyre modeleve në sisteme reale kufizohet nga mungesa e informacionit mbi llojet dhe kinetikën e ndërveprimeve ndërmjet komponentëve. Nga ana tjetër, modelet diskrete, si modelet Booleane dhe modelet logjike, sigurojnë një analizë cilësore të sjelljes së sistemit, pa pasur nevojën e njohjes së parametrave të ndërveprimeve. Modelet hibride u zhvilluan për të lidhur dy klasat e modeleve, në të cilët, çdo komponent karakterizohet nga një variabël diskret dhe një variabël i vazhduar (Kapitulli III). Zgjedhja e modelit të studimit të dinamikës së sistemit do të varet tërësisht nga sasia e informacionit të disponueshëm mbi komponentët, llojet e ndërveprimeve ndërmjet tyre dhe parametrat kinetikë të ndërveprimeve.

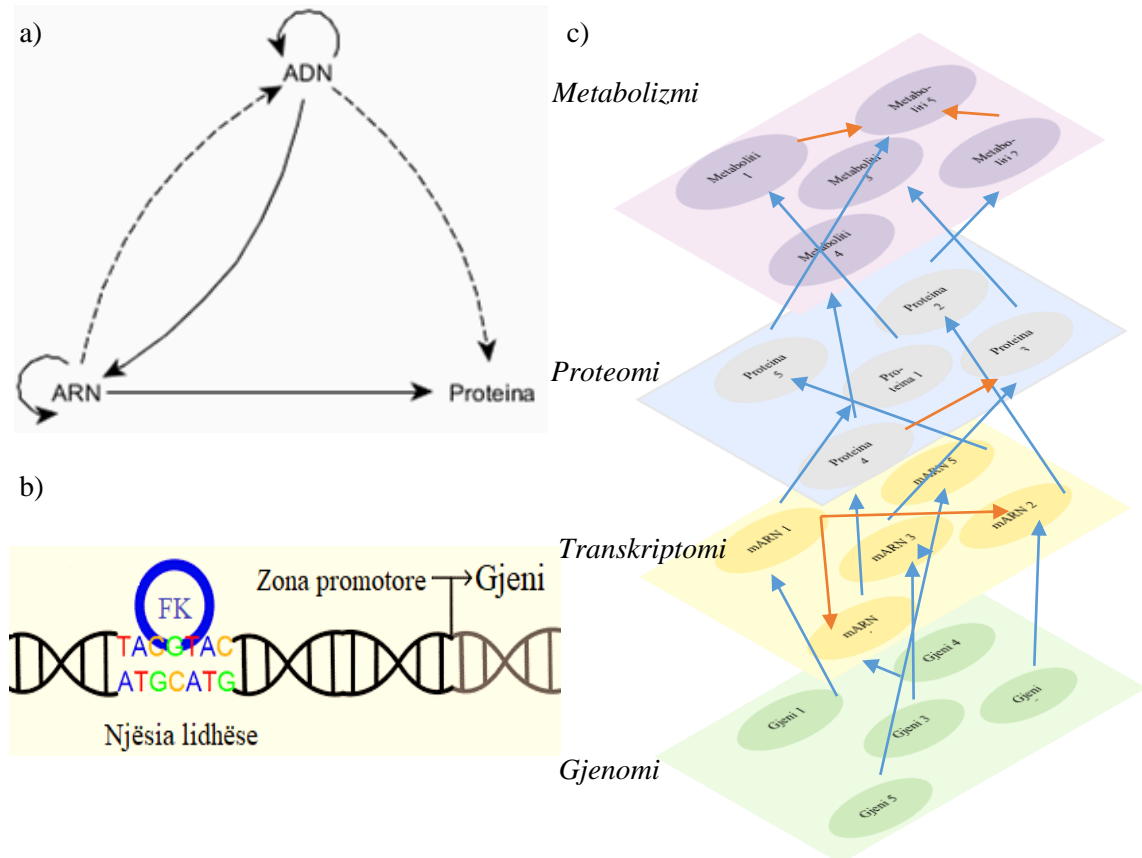
Në këtë kapitull do të jepet një përshkrim i modeleve Booleane për studimin e dinamikës dhe stabilitetit të rrjetave rregullatore, duke parashtruar metodat e ndryshme të implementimit të këtyre modeleve dhe llojit të informacionit të gjeneruar prej tyre. Materiali i paraqitur në këtë kapitull fokusohet në dy drejtime të rëndësishme: (i) ndërtimi i rrjetit rregullator sipas modelit Boolean dhe analiza strukturore e tij dhe (ii) analiza e stabilitetit të sistemit, nëpërmjet metodave të ndryshme të gjenerimit të gjendjeve.

## 1.2. *Aksioma qendrore në Biologjinë Molekulare*

Qeliza përbën një mjedis tejet kompleks, në të cilin marrin pjesë një mori ndërveprimesh biokimike ndërmjet komponentëve. *Aksioma qendrore* në Biologjinë Molekulare, e formuluar fillimisht nga Crick më 1958 [43] dhe e riformuluar sërish më 1970 [44] përcakton mënyrën e përhapjes së informacionit ndërmjet ADN, ARN dhe proteinave. Sipas saj, mënyrat e transmetimit të

informacionit mund të klasifikohen në katër grupe<sup>3</sup> (Figura 1. 1, a, c): **1.** ADN – ADN, **2.** ADN – ARN, **3.** ARN – proteinë, **4.** ARN – ARN.

Në nivelin qendror, ADN realizon kalimin e informacionit (*i*) brenda vetë ADN, përmes *ndarjes* (replikimit) dhe (*ii*) në ARN, përmes *kodimit* (transkriptimit). Nga ana tjetër, ARN realizon kalimin e informacionit tek proteinat, përmes *përkthimit* (translatimit) [37]. Është e qartë, gjithsesi, se kalimi i informacionit kryhet edhe nëpërmjet trajektoreve të tjera, që përfshijnë ADN, ARN dhe proteinat në një rrjet kompleks.



**Figura 1. 1:** a) Katër mënyrat e transmetimit të informacionit në sistemet biologjike [44]. b) Lidhja e FK në ADN gjatë procesit të rregullimit të gjenit, c) Shkallët e kalimit të informacionit.

Në varësi të nivelit të studimit, proceset e mësipërme përbëjnë bazën e katër llojeve të sistemeve biologjike [37] [3]:

1. **Sistemet e ndërveprimit proteinik** –mund të studiohen në dy nivele: niveli fizik (përqendrimi, imuno-precipitimi, etj.) dhe niveli gjenetik (studimi i

<sup>3</sup> Në versionin origjinal, Crick propozoi tri mënyra të transmetimit të informacionit në sistemet biologjike (1-3). Grupi i katërt, u propozua për shkak të fenomeneve të vëzhguara mbi ekzistencën e viruseve të ARN.

- hollësishëm ndërmjet njësive proteinike gjatë procesit të sintezës dhe zbërthimit).
2. **Sistemet metabolike** – përbëjnë grupin e proceseve kimike përmes së cilëve organizmat e gjallë transformojnë lëndët ushqyese të mjedisit. Përbërësit kimikë të përfshirë në këto reaksione quhet *metabolite*, ndërkohë që reaksionet, në më të shumtën e rasteve, ndodhin në praninë e *enzimave*.
  3. **Sistemet e transmetimit të sinjalit** – përbëjnë sistemet e përgjigjes qelizore ndaj ndryshimeve në mjedisin rrethues. Këto sisteme përbëhen prej një bashkësie trajektoresh të transmetimit të sinjalit, secila prej të cilave konsiston në një kaskadë reaksionesh biokimike, nëpërmjet të cilave sinjalet e kapura nga sensorët e jashtëm qelizorë transmetohen në sekuencat përkatëse gjenetike, për të rregulluar prodhimin e proteinave specifike që nevojiten për përgjigjen qelizore.
  4. **Sistemet gjenetike rregullatore** – përfshijnë sistemet e rregullimit të shprehjes së gjeneve nga faktorët kodues (në vijim, FK) përkatës (proteinat rregullatore). Parimisht, FK lidhen në segmente të specifike të ADN dhe kontrollojnë, pozitivisht ose negativisht, aktivitetin e gjeneve.

*Kodimi i gjeneve* përbën një proces rregullator të mirëstudiuar, në të cilin rolin madhor e luajnë *faktorët kodues* – proteina që lidhen në zona specifike dhe kontrollojnë procesin e kodimit nga gjenet përkatës (Figura 1. 1, b) [45]. Duke qenë se faktorët kodues janë produkte të gjeneve, në më të shumtën e rasteve kalimi i informacionit konsiderohet i drejtpërdrejtë nga gjenet në proteinat [46]. Në parim, shprehja e gjeneve mund të rregullohet në të gjithë nivelet e kalimit të informacionit, nga nisja e procesit të kodimit deri në proceset e fundit të përkthimit proteinik. Megjithë kompleksitetin e proceseve të përfshira, rregullimi i shprehjes së gjeneve shfaq disa karakteristika të përgjithshme [47]:

- Funkcionet e rregullimit, pra, funksionet që japin ndryshimin e përqendrimit të faktorëve kodues, pas çdo procesi, janë **jolineare**: funksioni shfaq *ngopje*, kur gjenet janë plotësisht të shprehur. Përveç termave jolinearë që vijnë nga efektet e ngopjes, këto sisteme shoqërohen edhe me praninë e **laqeve**, që çojnë në lindjen e sjelljeve komplekse, si varësia jo-proporcionale e shprehjes së gjeneve nga përqendrimi i faktorëve kodues, etj [48].
- Rregullimi i shprehjes së gjeneve është një proces me prani të **zhurmave**, që vjen si pasojë e proceseve stokastike brendaqelizore, si reaksionet ndërmjet FK dhe njësisë lidhëse [49]. Për shkak të përqendrimit shumë të vogël të FK (të rendit të *nmol*) në qelizë, koha e lidhjes së FK në ADN përbën një *variabël rasti*; karakteri rastësor i lidhjes çon në rritjen e stokasticitetit të procesit rregullues [50].

- Proceset e përfshirë në rregullimin e gjeneve ndodhin në *kohë të ndryshme*: koha e zbrërthimit proteinik, koha e përgjigjes në ndryshimin e gjendjes së gjeneve, koha e kapjes së sinjaleve, etj. Këto sisteme janë **sisteme dinamike** dhe sjelljet e tyre në ekuilibër variojnë nga arritja e stabilitetit në një gjendje të vetme, në sjellje lëkundëse (si sistemet neurale [51]) apo kombinime edhe më komplekse të gjendjeve stacionare dhe cikleve limite (si sistemi i kontrollit të ciklit qelizor).
- Ndërveprimet janë **specifike**: ndërveprimet do të ndodhin vetëm sipas mekanizmave të njohjes molekulare (ADN – FK). Një FK mund të rregullojë shprehjen e disa gjeneve, duke u lidhur në njësi lidhjeje të ndryshme të gjenomit, ndërkohë që një gjen mund të rregullohet nga disa FK [48].

### 1.2.1. Rregullimi i procesit të kodimit

Rregullimi i procesit të kodimit përbën procesin bazë në aktivitetin gjenetik. Ky proces thekson veprimin e FK (ose rregullatorëve), të cilët mund të veprojnë si *aktivizues* ose *inhibues* për gjenet shenjë [52]. Rregullatorët veprojnë duke u lidhur në njësi proksimale ose në distancë me gjenet shenjë, duke përshpejtuar ose penguar procesin e kodimit, nëpërmjet ndërveprimeve proteinë – proteinë. Një FK mund të veprojë në aktivitetin e një ose disa gjeneve, ndërkohë që veprimi tij në aktivitetin e gjenit (pra, aktivizim, inhibim ose modulim) mund të ndryshojë në varësi të stimuljeve të jashtëm. Megjithë rolin kritik të FK në rregullimin e aktivitetit të gjeneve, ata gjenden në përqendrimet mjaft të ulëta në mjedisin brendaqelizor (vetëm disa molekula për qelizë) [46] [24].

Në qelizë, aktiviteti i një gjeni mund të rregullohet nga veprimi i shumë FK-ve – i njohur nën termin “*rregullimi i kombinuar*” - çka rrit kompleksitetin e procesit të kodimit. Në këtë mënyrë, një gjen karakterizohet nga disa rregullatorë, të cilët mund të veprojnë në mënyrë të pavarur (nëse secili prej tyre vepron në një pjesë specifike të procesit të kodimit) ose në formë komplekse, duke formuar homo-dimere ose hetero-dimere (ko-veprim) [24]. Ky ko-veprim implikon që *procesit i rregullimit të kryhet vetëm nëse të gjithë FK janë prezentë në qelizë*. Një tjetër veti mjaft e rëndësishme e ko-veprimit është karakteri sinergjik i veprimeve, sipas të cilit efekti i ko-veprimit është shumë më i ndjeshëm se shumica e veprimeve individuale të FK-ve [53].

Përveç rregullatorëve proteinikë, rregullimi i procesit të kodimit mund të kontrollohet edhe nga ARN. Së fundmi, zbulimi i *siRNA* (*small interfering RNA*) dhe *miRNA* (*microRNA*) hodhi dritë mbi mekanizmin e rregullimit të shprehjes së gjeneve (gene expression regulation): siRNA dhe miRNA lidhen me mRNA dhe veprojnë edhe si rregullatorë të fshehur në procesin e kodimit, përveç rolit thelbësor në *inhibimin* ose *nxitjen* e përkthimit të gjeneve në formë proteinike.

### 1.2.2. Rregullimi i procesit të përkthimit

Procesi pasues i kodimit të gjeneve është *përkthimi i mARN* në formë proteinike, nëpërmjet ribosomeve dhe molekulave të tjera ndërmjetësuese. Edhe ky proces përbën një proces rregullimi, si në mënyrë specifike, ashtu edhe globale. Pjesa më e madhe e procesit të përkthimit kryhet gjatë lidhjes së molekulave lexuese në mARN. Krahasuar me procesin e kodimit, përkthimi ofron një mundësi më të shpejtë në matjen e përqendrimit të proteinave, duke qenë se gjatë këtij procesi mARN përkthehet në proteina, deri në zbërthimin total të saj.

Si pasojë e ndryshimit të kushteve të mjedisit të jashtëm (si ndryshimi i përqendrimit të lëndëve ushqyese, temperaturës, etj.), qelizat përgjigjen duke ulur aktivitetin përkthyes, nëpërmjet kontrollit të mekanizmave përkthyes, për të minimizuar shpenzimin e energjisë për procesin e përkthimit dhe shfrytëzimin e saj për përgjigjen ndaj ndryshimit të mjedisit.

Parimisht, procesi i përkthimit të mARN rregullohet nëpërmjet proteinave lidhëse-ARN (RNA – binding proteins, RNAB) ose miRNA, të cilat kryejnë *njohjen* dhe *lidhjen* me segmente specifike të mARN. RNAB veprojnë kryesisht duke inhibuar procesin e përkthimit, ndërkohë që miRNA veprojnë në forma komplekse dhe efekti i tyre varet nga pozicioni i njësisë lidhëse në gjenin përkatës [45].

### 1.2.3. Rregullimi i aktivitetit proteinik

Aktiviteti proteinik përfshin procesin e *prodhimit* (sintezës) dhe *degradimit* (zbërthimit) të proteinave. Pas procesit të përkthimit, përgjithësisht, proteinat mund të kërkojnë modifikime shtesë për të arritur gjendjen e tyre funksionale. Këto modifikime mund të jenë *të kthyeshme* (vetë qeliza modulon aktivitetin e proteinave nëpërmjet modifikimeve pas-përthyes, si *fosforilimi*, *oksidimi* ose *acetilimi*) ose *të pakthyeshme* (ndarje proteolitike e prekursorit peptidik). Në veçanti, fosforilimi përbën një proces rregullimi të rëndësishëm për aktivizimin e enzimave, FK, proteinave, si dhe në transmetimin e sinjaleve drejt bërthamës nëpërmjet një zinxhiri procesesh fosforilimi, të cilët aktivizojnë proteinat kinase<sup>4</sup>. Përgjithësisht, molekulat shenjë të këtyre proceseve janë FK, fosforilimi i të cilëve çon në aktivizimin e tyre dhe ri-pozicionimin në bërthamë, ku ata mund të kryejnë procesin e kodimit të gjeneve përkatës. Procesi i fosforilimit nis me aktivizimin e receptorëve membranorë, të cilët mund të kapin sinjale të mjedisit të jashtëm (një vitaminë, një hormon ose metabolitë të tjerë).

Zbërthimi i proteinave në mjedisin brendaqelizor mund të realizohet përmes mekanizmave të ndryshëm, si zbërthimi brenda lizosomeve – përgjithësisht, i

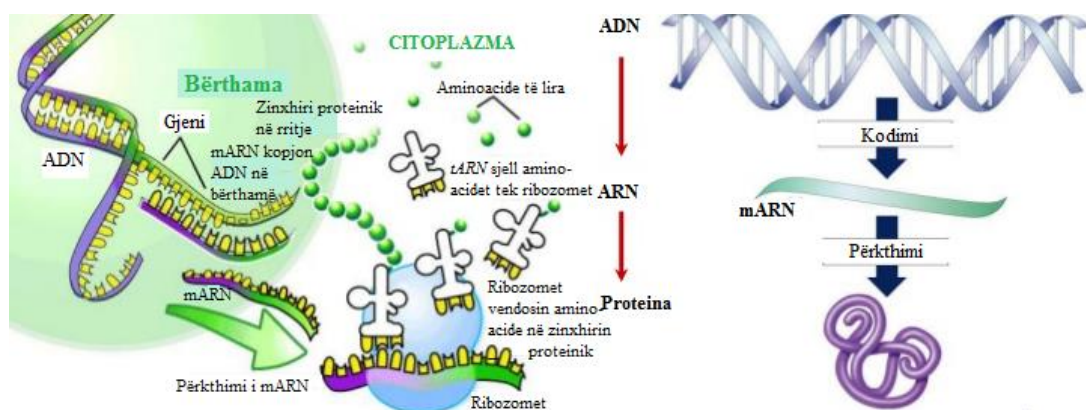
---

<sup>4</sup> Enzima që katalizojnë transferimin e një grupi fosfat nga ATP në një molekulë specifike.

nxitur nga ndryshimi i përqendrimit të lëndëve ushqyese, ose konjugimi i ubikuitineve (proteinave rregullatore), të cilat lidhen në zinxhirin peptidik proteinik për të realizuar zberthimin e një njësie proteinike, e cila, rrjedhimisht, shkakton ndryshimin e funksionit të saj [54].

Matjet eksperimentale kanë nxjerrë në pah efektin e korrelacionit ndërmjet shpejtësive të prodhimit dhe zberthimit të proteinave. Për proteinat koduese, korrelimi i shpejtësive bën që procesi i kodimit të karakterizohet nga një shkallë e lartë kompleksiteti. Proteinat rregullatore karakterizohen nga shpejtësi të vogla prodhimi dhe zberthimi, ndaj shfaqen në numër të vogël në mjedisin brendaqelizor, ndërkohë që proteinat me funksion enzimatik shfaqen me përqendrime të larta dhe pothuajse konstante [55].

Procesi i kalimit gjen→proteinë paraqitet skematikisht në Figurën 1. 2, ndërkohë që shpjegimi i hollësishëm i hapave të kalimit mund të gjendet në [45] [52] [54].



*Figura 1. 2: Hapat e kalimit nga gjenet tek proteinat.*

### 1.3. Modelet matematike të rregullimit të gjeneve

Modelet matematike të sistemeve rregullatore mund të ndahen në dy grupe: (i) *modelet diskrete* (modelet logjike të kinetikës [26], rrjetat Petri [56] dhe modelet Booleane [25]) dhe (ii) *modelet e vazhduara* (ODE, modelet stokastike [57]). Në modelet Booleane, çdo komponent mund të ndodhet në gjendjen e shprehur ose jo. Një paraqitje e tillë e sistemit paraqet avantazhin e analizës së sistemeve rregullatore të mëdha në hapësirë kohore diskrete dhe të fundme, ku ndryshimi i gjendjes së komponentëve jepet nëpërmjet një funksioni Boolean. *Modelet logjike të kinetikës* – modeli me 4 gjendje: “jo aktiv”, “aktiv në nivel të ulët”, “aktiv në nivel mesatar”, “plotësisht aktiv” – u zhvilluan për të përfunduar të dhëna më të detajuara sasiore mbi komponentët e sistemit. Megjithatë, nevoja e studimit të sjelljes së sistemit në kohë të vazhduar u pasqyrua në zhvillimin e *modeleve logjike të vazhduar*, në të cilët gjendjet e komponentëve janë sërish

diskrete, por kalimi nga një gjendje tek tjetra jepet me anë të një ekuacioni diferencial në kohë të vazhduar [58]. *Modelet e ekuacioneve diferenciale* (ODE) [27] [28] sigurojnë një paraqitje të saktë të proceseve të përfshira në sistemet rregullatore: me anë të disa supozimeve, çdo sistem dinamik mund të transformohet në një sistem ekuacionesh diferenciale jolineare, të cilët mund të zgjidhen numerikisht për të gjeneruar trajektoret e mundshme të sistemit dhe varësinë e tyre kualitative nga parametrat e jashtëm të sistemit, ndërkohë që karakteri jodeterministik i këtyre modeleve u inkorporua në modelin e *Langevin* (modelet me prezencë të zhurmave) dhe modelet probabilitare (të përshkruara me anë të *ekuacionit themelor* ose *Fokker – Planck*, në një rend të caktuar përfarimi [59]) [29] [30].

Në përgjithësi, përjasja e vazhduar dhe deterministike, përdoret për simulimin e të dhënave të përfutuara nga eksperimentet ‘omics (genomics, transkriptomics, proteomics). Të dhënat dalëse janë një seri variablash të vazhduar, ndërkohë që dinamika e çdo komponenti jepet me anë të një funksioni të vazhduar. Parimisht, nëse  $x_i(t)$  paraqet përqendrimin e komponentit  $X_i$  në çastin  $t$ , që prodhohet me shpejtësi  $\lambda_i$  dhe zbërthehet me shpejtësi  $\gamma_i$ , ndryshimi në kohë i  $x_i(t)$  do të jepet me anë të ekuacionit

$$\frac{dx_i}{dt} = f_i(\mathbf{X}) \equiv \lambda_i(\mathbf{X}) - \gamma_i(\mathbf{X}) \quad (1.1)$$

Funksioni  $f_i(\mathbf{X})$  është, përgjithësisht, në një funksion jolinear i rregullimit, që përshkruan llojet e ndryshme të proceseve rregullatore, të përshkruara në paragrafin 1.2. Përcaktimi i funksionit  $f_i(\mathbf{X})$  kërkon njohuri mbi (i) efektin e mungesës së një komponenti rregullator dhe (ii) efektin e kombinimit të veprimeve individuale të komponentëve rregullatorë mbi të njëjtin gjen [60].

Në përshkrimin më të thjeshtë të procesit të rregullimit të gjeneve, supozojmë se përqendrimi i FK në qelizë është  $c$ , ndërsa ADN përbëhet vetëm nga një njësi lidhjeje, gjendja e së cilës  $n(t)$ , në çastin  $t$ , mund të jetë e mbushur ose bosh. Nëse njësi lidhëse është e mbushur, atëherë gjeni kodohet në mARN dhe, më pas, përkthehet në formë proteinike me shpejtësi  $R$ , përqendrimi i të cilës (proteinës) është  $g(t)$ <sup>5</sup> ndërsa shpejtësia e saj e zbërthimit është  $\tau$ . Është e qartë se, në këtë rast, TK shërben si *input aktivizues*, ndërsa produkti i gjenit (proteina) shërben si *output*.

<sup>5</sup> Shprehja e gjeneve përcaktohet nga vlerësimi i përqendrimit të proteinës përkatëse të koduar.

Në limitin e sasive të mëdha,  $c$  dhe  $g$  mund të konsiderohen si variabla të vazhduar<sup>6</sup>; në këtë mënyrë, procesi i rregullimit përshkruhet nga një sistem ekuacionesh diferenciale:

$$\frac{dn}{dt} = k_+c(t)(1-n) - k_- \cdot n \quad (1.2)$$

$$\frac{dg}{dt} = -\frac{1}{\tau}g + Rn \quad (1.3)$$

Duke qenë se ekuacioni (1.2) shpreh gjendjen e njësisë lidhëse (të mbushur ose bosh), vlera e  $n(t) \in \{0,1\}$  dhe gjendja e saj do të përcaktohet nga probabiliteti që njësia të jëtë e mbushur. Termi  $k_+c(t)$  shpreh aftësinë lidhëse të FK me njësinë, ndërsa  $k_- \cdot n$  të kundërtën. Zgjidhja e ekuacionit (1.2) jep

$$\bar{n}(t) = \frac{k_+c(t)}{k_+c(t) + k_-} \quad (1.4)$$

nga ku, ekuacioni (1.3) shkruhet

$$\frac{dg}{dt} = -\frac{1}{\tau}g(t) + R \frac{k_+c(t)}{k_+c(t) + k_-} \quad (1.5)$$

Në rastin më të thjeshtë ( $c(t) \equiv \text{const}$ ), zgjidhja e ekuacionit (1.4) jep një varësi eksponenciale të  $g(t)$ , me shpejtësi  $\tau$ , ndërkohë që, gjendja stacionare arrihet në pikën fikse  $\bar{g} = R\tau\bar{n}$ . Vlen të theksohet se, shpejtësia e prodhimit të proteinës,  $R\bar{n}$ , paraqet një *funksion sigmoidal – funksioni i Hill-it* (Figura 1. 4, a).

Për një komponent, aktiviteti i të cilit rregullohet nga një bashkësi aktivizuesish dhe inhibuesish, forma e përgjithshme e funksionit të Hill-it jepet:

$$\text{Për veprimin aktivizues} \quad f_i(x_j) = \frac{x_j^{n_j}}{x_j^{n_j} + K_{ij}^{n_j}} \quad (1.6)$$

$$\text{Për veprimin inhibues} \quad f_i(x_j) = \frac{K_{ij}^{n_j}}{x_j^{n_j} + K_{ij}^{n_j}} \quad (1.7)$$

ku  $K_{ij} > 0$  paraqet përqendrimin e nevojshëm të rregullatorit  $j$ , për të përftuar gjysmën e përqendrimit maksimal të gjenit  $i$ , ndërsa  $n_{ij} \geq 1$  kontrollon *efektin shkallë* të funksionit. Forma sigmoidale e funksionit tregon vetinë e *ngopjes* së procesit të rregullimit: nëse përqendrimi i rregullatorit arrin një nivel të caktuar, rritja e mëtejshme e tij pasqyrohet vetëm në ndryshime minimale të shpejtësisë

<sup>6</sup> Në rastin e vlerave diskrete në  $c$  dhe  $g$ , ekuacionet (1.2) dhe (1.3) zëvendësohen nga ekuacionet diferencialë korrespondues të ndryshimit të probabilitetit me kohën (ekuacioni themelor) [57]:

$$\frac{dP_0(g)}{dt} = \frac{g+1}{\tau}P_0(g+1) + k_-P_1(g) - \left(k_+c + \frac{g}{\tau}\right)P_0(g) \quad (1.2')$$

$$\frac{dP_1(g)}{dt} = \frac{g+1}{\tau}P_1(g+1) + RP_1(g-1) + k_+cP_0(g) - \left(k_- + \frac{g}{\tau} + R\right)P_1(g) \quad (1.3')$$

ku  $P_0$  dhe  $P_1$  japin probabilitetin që njësia lidhëse të jetë, përkatësisht, bosh ose e mbushur.

së kodimit. Nga ana tjetër, vlerat e ndryshme të  $n_{ij}$  përshkruajnë sjellje të ndryshme të proceseve rregulluese, nga *pothuajse lineare* (vlera të vogla të  $n_{ij}$ ), në *funksion shkallë* (vlera të mëdha të  $n_{ij}$ ).

Nga ana termodinamike, përdorimi i ligjit të veprimit të FK në sistemet rregullatore është trajtuar gjerësisht në [61]. Duke supozuar që vlera mesatare e shpejtësisë së kodimit së një gjeni është përpjesëtimore me ngopjen e promotorit të tij nga FK, efekti rregullator do të përshkruhet me anë të relacionit

$$f_i(x_j) = \alpha_0 \left[ 1 + (FC_{ij} - 1) \frac{x_j^{n_j}}{x_j^{n_j} + K_{ij}^{n_j}} \right] \quad (1.8)$$

ku  $\alpha_0$  paraqet shpejtësinë e kodimit të gjenit, në mungesë të rregullatorit, ndërsa  $FC_{ij}$  paraqet raportin e shpejtësisë së kodimit të gjenit në prani të përqendrimit maksimal të molekulave të FK ndaj shpejtësisë së kodimit në mungesë të rregullatorit. Nga forma e ekuacionit (1.8), është e qartë se shpejtësia e kodimit të gjenit  $i$  tenton në  $\alpha_0 FC_{ij}$  kur  $x_j$  bëhet shumë e madhe. Nga relacioni (1.8), mund të deduktohet se ligji i kodimit të gjenit  $i$  të rregulluar nga një inhibitor ( $FC_{ij} = 0$ ) do të jëtë

$$f_i(x_j) = \alpha_0 \left[ 1 - \frac{x_j^{n_j}}{x_j^{n_j} + K_{ij}^{n_j}} \right] \quad (1.9)$$

Në përafrimin  $n_{ij} \rightarrow \infty$ , funksioni i Hill-it thjeshtëzohet dhe, në këtë mënyrë, procesi i kodimit të gjeneve mund të përshkruhet me anë të sjelljes logjike ON-OFF, sipas së cilës, efekti maksimal i rregullatorit në aktivitetin e gjenit shfaqet menjëherë nëse kalohet një vlerë prag; nën këtë vlerë, nuk vëret ndryshim në aktivitetin e gjenit (Figura 1. 4, b). Funksione të tillë përgjigjeje vërehen edhe në mjaft procese të tjera gjenetike [3] dhe shërbyen si nxitje e formulimit të modeleve Booleane të përshkrimit të dinamikës së sistemeve rregullatore<sup>7</sup>.

### 1.3.1. Dy histori dështimi “Një-gjen-i-vetëm”

Zbulimi i gjenit të çrregullimit maniako – depresiv (depresionit bipolar) u publikua fillimisht më 1987 në *Nature*, si një ndër arritjet më të rëndësishme në biologjinë molekulare. Depresioni bipolar prek 1-5 njerëz në SHBA, ndërkohë që lidhja gjenetike e rrit me 5-10 herë riskun e shfaqjes. Gjeni përkatës i depresionit bipolar, në publikimin e 1987, u lokalizua në kromozomin 11 [62]. Pothuajse 10 vjet më vonë, më 1996, tre grupe të tjerë të pavarur kërkimore lokalizuan gjenin në kromozomet 6, 13 dhe 15 dhe më vonë, grupe të tjerë dhanë rezultate të

<sup>7</sup> Një përshkrim më i detajuar i formulimit të modeleve diskrete, ne veçanti, të modeleve Booleane, jepet në paragrafin 1.5.

lokalizimit të gjenit në kromozomet 18 [63], 4 [64], 1 dhe 5. Mungesa e përputhshmërisë së rezultateve, megjithëse jo-konfliktuale, çoi në lindjen e këndvështrimit të ri të studimit të sistemeve të gjalla: *rrjetat* [1].

Sëmundjet kancerogjene përbëjnë grupin e sëmundjeve më të studiuara në gjithë historinë e mjekësisë dhe kërkimit biomjekësor botëror, duke sjellë zbulime të vazhdueshme, në përpjekjen e pashtershme për gjetjen e kurave për kurimin e tyre. Zbulimi më i rëndësishëm në këtë përpjekje është padyshim zbulimi i *gjenit p53* nga David Lane dhe Arnold J. Levine, më 1979 [65], që u pasua me një formulim të plotë të mekanizmit të tij në sëmundjet kancerogjene nga Vogelstein et al [66], të cilët zbuluan se proteina p53, e koduar nga gjeni p53, shërben si një frenues i ndarjes së ADN së qelizave tumorale. Nën efektin e rrezatimeve jonizuese ose dëmtimeve të tjera qelizore, qelizat rritin prodhimin e p53, për të penguar krijimin dhe shtimin e qelizave me defekte në ADN. Kjo vonesë u jep kohë qelizave për të riparuar defektet; nëse defektet janë të riparueshme, p53 aktivizon një grup gjenesh për të vrarë qelizat mutante. Në rastet e mosfunksionimit të kësaj proteine, qelizat tumorale arrijnë të ndahen në mënyrë të pakontrolluar (qelizat tumorale dallojnë prej qelizave të shëndetshme nga aftësia e tyre për t'u shumëfishuar me shpejtësi të madhe) [67]. Në të vërtetë, rreth 50% e tumoreve njerëzore vijnë si pasojë e mutacioneve në gjenin p53. Ky zbulim ndryshoi tërësisht drejtimin e studimit të këtyre sëmundjeve, duke rezultuar në publikimin e më shumë se 17 000 artikujve, që prej vitit 1989<sup>8</sup>.

Megjithë vëmendjen që iu përkushtua rregullimit të funksionit të gjenit p53, i cili deri në vitet 2000, njihej si gjeni i vetëm përgjegjës për frenimin e tumoreve, dështimi i zbulimit të një kure ndaj kancerit dhe publikimet e reja në teorinë e rrjetave (grafeve) dhe sistemeve komplekse, çuan në publikimin e një artikulli të përbashkët të tri shkencëtarëve, Lane, Levine dhe Vogelstein, në të cilin pranuan se, në vend që studimi të përqëndrohet vetëm në funksionimin e gjenit p53, në fakt, duhet studiuar *rrjeti i p53* – një grup molekulash dhe gjenesh që ndërveprojnë me molekulën p53 [68]:

*“Një mënyrë për të kuptuar rrjetin e p53, është ta krahasojmë atë me Internetin<sup>9</sup>. Qeliza, ashtu si Interneti përbën një rrjet pa shkallë karakteristike: një grup i vogël molekulash është i lidhur fort dhe*

<sup>8</sup> Më 1993, molekula p53 u shpall si “*Molekula e vitit*” nga *Science*.

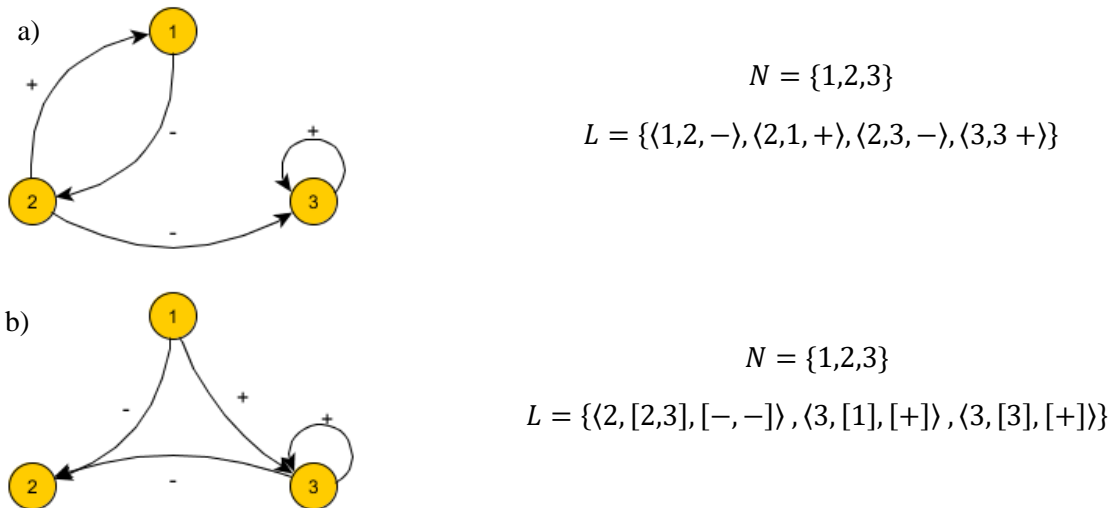
<sup>9</sup> Krahasimi i rrjetit të p53 me Internetin, vjen si pasojë e zbulimeve të fillimit të viteve 2000 mbi organizimin e WWW, pas sulmit kibernetik të disa prej faqeve më të populluara të Internetit: Yahoo!, Amazon, eBay, CNN, FIFA, Dell Inc. dhe eTrade, më 7 Shkurt 2000. Sulmi, që u mendua të ishte realizuar nga një grup hakerash, në fakt, u realizua nga një adoleshent 17 vjeçar nga një zonë rurale në Kanada, nën emrin *MafiaBoy*, dhe u karakterizua nga ngarkimi i serverave me aq shumë informacion, saqë nuk merrnin më komanda. Studimi i pikave të dobëta të Web-it, çoi në formulimin e teorisë rrjetore të WWW [7].

*kontrollon aktivitetin e një numri të madh proteinash, ndërkohë që pjesa më e madhe e proteinave ndërveprojnë me një numër më të vogël komponentësh. Në këtë rrjet, proteinat shërbejnë si nyje dhe nyjet me më shumë lidhje shërbejnë si bërthama. Në një paraqitje të tillë, gjendja e rrjetit mbetet pothuajse e pandryshuar nga heqja ose shtimi i nyjeve. Por sistemi përmban një Thembër Akili: bërthamat janë pikat e dobëta të tij.” [68]*

Paraqitja rrjetore e sistemit rregullues të gjenit p53 shpjegon faktin se pse mungesa e aktivitetit të nyjeve nuk e ndryshon gjendjen e sistemit, ndërkohë që një mutacion i bërthamave e çon atë drejt gjendjeve patologjike kancerogjene, si dhe faktin se pse zhvillimi i medikamenteve që mbulojnë jo vetëm p53 por edhe molekula të tjera ndërvepruese me të kanë më shumë efekt se sa medikamentet që vepronin vetëm me p53. Sipas disa përlogaritjeve, medikamentet e zbuluara deri më sot mbulojnë vetëm 500 nga 30 000 proteina në organizmin e njeriut. Ndërtimi i hartës së jetës – modelimi i sistemeve metabolike me anë të rrjetave – mundëson testimin e veprimit të medikamenteve në ndërveprimet ndërqelizore. Projekti i gjenomit dhe ndërtimi i hartave të gjenetike revolucionarizuan kërkimin shkencor në biologji dhe, nga ana tjetër, treguan se sa pak është studiuar deri më tani [1].

#### 1.4. Paraqitja rrjetore e sistemeve rregullatore

Mënyra më e drejtpërdrejtë e paraqitjes së sistemeve rregullatore është paraqitja rrjetore, me anë të grafeve të drejtuara [42]. Një graf i drejtuar  $\mathcal{G} \equiv \langle N, L \rangle$  përbëhet prej  $N$  nyjesh dhe  $L$  lidhjesh, ndërkohë që drejtimi i lidhjeve përcaktohet nga bashkësia e indekseve  $\langle i, j, s \rangle$  të nyjeve, ku  $i$  përcakton origjinën,  $j$  përcakton destinacionin e lidhjes [2], ndërsa  $s$  përcakton llojin e ndërveprimit ( $s \in \{+, -\}$ , ku  $+$  paraqet një veprim aktivizues, ndërsa  $-$  paraqet një veprim inhibues). Hipergrafet mund të përdoren në rastet kur komponentët ko-veprojnë për të rregulluar aktivitetin e një komponenti tjetër, duke formuar një *dimer*. Në këtë rast, lidhjet mund të përkufizohen si  $\langle i, J, S \rangle$ , ku  $J$  paraqet komponentët rregullatorë ndërsa  $S$  tregon shenjën e veprimit të tyre rregullues (Figura 1. 3).



**Figura 1. 3:** a) Paraqitja e rrjetit rregullator me anë të grafeve të drejtuara dhe bashkësia e nyjeve dhe lidhjeve, sipas përkufizimit. b) Paraqitja e ko-veprimeve me anë të hipergrafeve të drejtuara: nyja 1 dhe 3 përbëjnë një dimer.

Paraqitja rrjetore e sistemeve rregullatore mundëson analizën topologjike të rrjetit, që hedh dritë mbi heterogjenitetin dhe organizimin e sistemit [69] [8]. Për shembull, prezenca e laqeve dhe natyra e tyre (pozitive ose negative) është thelbësore në proceset e homeostazës dhe diferencimit, vetitë e ndërlidhjes globale, si numri mesatar dhe shpërndarja e numrit të rregullatorëve për çdo komponent, jep informacion mbi shkallën e kompleksitetit të sistemit; lidhjet e dobëta ose mungesa e lidhjeve për një grup nyjesh tregojnë pjesë të izoluar të sistemit, si dhe, krahasimi i sistemeve rregullatore të organizmave të ndryshëm ndihmon të hidhet dritë se cilat pjesë të sistemit kanë mbetur të pandryshuara nga evolucioni [2].

Në thelb, analiza strukturore e një rrjeti rregullator përfshin përcaktimin e madhësive të mëposhtme:

- *Largësia më e shkurtër mesatare (connectivity)* – jep informacion mbi aftësinë ndërlidhëse të rrjetit. Me përkufizim, një *trajektore* është një sekuenca lidhjesh që bëjnë të mundur kalimin e informacionit nga një nyje në tjetrën, ndërsa *distanca* ndërmjet dy nyjeve, paraqet trajektoren më të shkurtër lidhëse ndërmjet tyre. Nëse dy nyje ndajnë një lidhje, distanca ndërmjet tyre është 1, nëse dy nyjet nuk ndajnë lidhje ndërmjet tyre, distanca është infinit. Themi se një *rrjet është i lidhur* (në rastin e rrjetave të drejtuara, i lidhur fort) nëse ekziston një trajektore (në rastin e rrjetave të drejtuara, dy trajektore me orientime të kundërta) ndërmjet çdo çifti nyjesh. Nëse rrjeti nuk është i lidhur (ose i lidhur fort), është e rëndësishme të evidentohen *komponentët e lidhur* (ose të

lidhur fort – SCC (Strongly Connected Components)), të cilët paraqesin komponentët e nën-rrjetave të lidhura (fort) ndërmjet tyre [8] [42].

- *Qendërsia (centrality)* – përshkruan rëndësinë e secilës nyje në sistem. Analiza e ndërmjetësisë përfshin llogaritjen e *fuqisë së nyjes* (numrin e lidhjeve për çdo nyje). Për rrjetat e drejtuara, fuqia e nyjes jepet nga shuma e *fuqisë hyrëse* (in-degree – numri i lidhjeve që hyjnë në të) dhe *fuqisë dalëse* (out-degree – numri i lidhjeve që dalin prej saj). Nyjet që karakterizohen vetëm nga lidhje dalëse (fuqia hyrëse = 0) quhen *burime* ndërsa nyjet që karakterizohen vetëm nga lidhje hyrëse (fuqia dalëse = 0) quhen *basene*; këto dy tipe nyjesh përfaqësojnë, përkatësisht pikat fillestare dhe përfundimtare të përhapjes së rrjedhës, në rrjetat e transmetimit të sinjalit. Nyjet me fuqinë më të lartë përbëjnë *bërthamat* e rrjetit; heqja e këtyre nyjeve mund të shpërbëjë rrjetin në grupe të vogla, të izoluara [7].
- *Qendërsia e ndërmjetësisë (centrality betweenness)* – përkufizohet si raporti i distancave ndërmjet dy nyjeve, që kalojnë nga një nyje e dhënë. Kjo madhësi pasqyron rëndësinë e një nyjeje në ndërmjetësimin e përhapjes së rrjedhës së informacionit në rrjet.

Megjithëse fuqia e nyjes dhe qendërsia e ndërmjetësisë janë veti topologjike të rrjetit, shpërndarja e tyre, për të gjitha nyjet (ose lidhjet) tregon shkallën e heterogjenitetit të ndërveprimit të nyjeve ose shpejtësisë së përhapjes së informacionit në rrjet [36] [70].

Rëndësi të veçantë në analizën strukturore të rrjetit, përveç madhësive të mësipërme, përbën edhe evidentimi i laqeve (pozitive ose negative, në varësi të ndërveprimit të komponentëve), të cilët, siç do të shohim në vijim, ndikojnë në tërheqësit e rrjetit.

### 1.5. Modeli Boolean i rrjetave rregullatore

Modelet Booleane të studimit të dinamikës së sistemeve rregullatore u formuluan më 1969 nga Kauffman [25], i cili u nxit nga vëzhgimi i mjaft proceseve qelizore dhe biokimike, të cilat karakterizoheshin nga një përgjigje *sigmoidale* ndaj sinjaleve të ndryshme [71] (Figura 1. 4). Në thelb, një rrjet Boolean përbëhet prej  $N$  variablash (komponentësh)  $X_i$ , gjendjet binare të të cilëve,  $x_i \in \{0,1\}$ ,  $i = 1, 2, \dots, N$ , në çdo hap kohor  $t$ , përcaktohen nga veprimi i komponentëve rregullues, nëpërmjet funksioneve Booleane,  $f_i: \{0,1\}^N \rightarrow \{0,1\}$ :

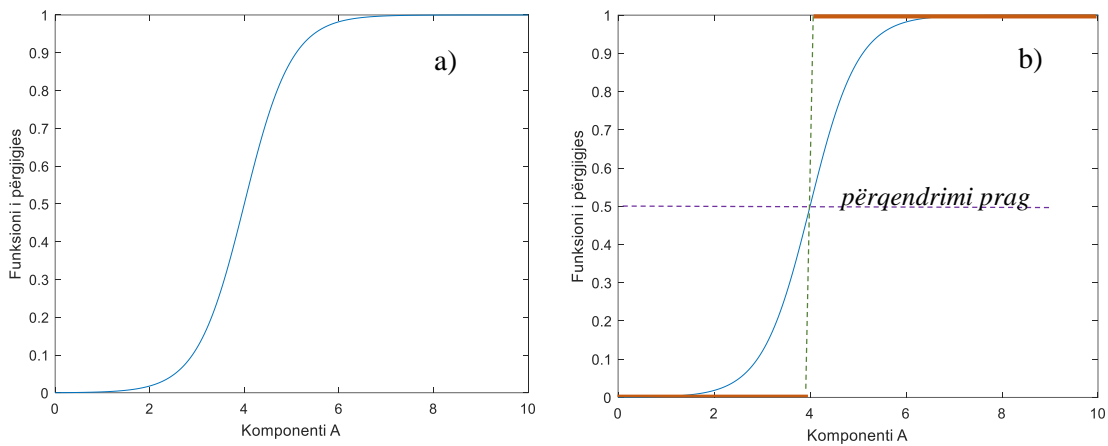
$$x_i(t+1) = f_i(x_{i_1}(t), x_{i_2}(t), \dots, x_{i_{m_i}}(t)) \quad (1.10)$$

ku  $m_i$  tregon numrin e rregullatorëve të komponentit  $X_i$ , veprimi i të cilëve paraqitet me anë të operatorëve Booleanë AND, OR (aktivizim) dhe NOT

(inhibim) [58] [42] [36]. Megjithëse për një rrjet rregullator, mënyrat e ndërveprimit ndërmjet komponentëve mund të gjenerohen nga informacionet teorike dhe eksperimentale (paragrafi 1.5.6), në rastin e përgjithshëm, për një nyje me  $K$  rregullatorë, mund të shkruhen  $2^K$  funksione Booleane dhe  $2^{2^k}$  gjendje të mundshme binare, ndërkohë që diferenca ndërmjet dy modeleve Booleane – *distanca Hamming* – llogaritet si

$$h = \sum_{i=1}^{2^N} |B_{1_i} - B_{2_i}| \quad (1.11)$$

ku  $B_{1_i}$  dhe  $B_{2_i}$  paraqesin gjendjet përkatëse sipas dy modeleve [20].



**Figura 1. 4:** a) Funksioni simoidal i përgjigjes. b) Përafrimi Boolean: nëse përqendrimi i komponentit  $X_i$  është nën nivelin prag,  $x_i = 0$ , në të kundërt  $x_i = 1$ .

Bashkësia e të gjitha gjendjeve të mundshme dhe kalimeve ndërmjet tyre përbën hapësirën e gjendjeve, paraqitja grafike e së cilës përbën *grafin e kalimit të gjendjeve*, nyjet e të cilit përfaqësojnë gjendjet e mundshme të sistemit, ndërsa lidhjet përfaqësojnë kalimet e lejuara ndërmjet tyre, të përcaktuara nga funksionet Booleane. *Gjendja* e sistemit është një sekuencë e renditur vlerash binare (1 dhe 0), secila prej të cilave shpreh gjendjen e secilit komponent. Për shembull, për një rrjet të përbërë prej nyjeve A, B dhe C, gjendja 110 e sistemit tregon se, në këtë çast kohor, A=1 (ON), B=1 (ON) ndërsa C=0 (OFF). Për një rrjet rregullator, gjendjet diskrete 1 dhe 0 paraqesin, përkatësisht, një gjen të shprehur ose jo të shprehur, përqendrim të një komponenti mbi ose nën një nivel prag  $\theta_i$ , një portë jonike të hapur ose të mbyllur, etj.

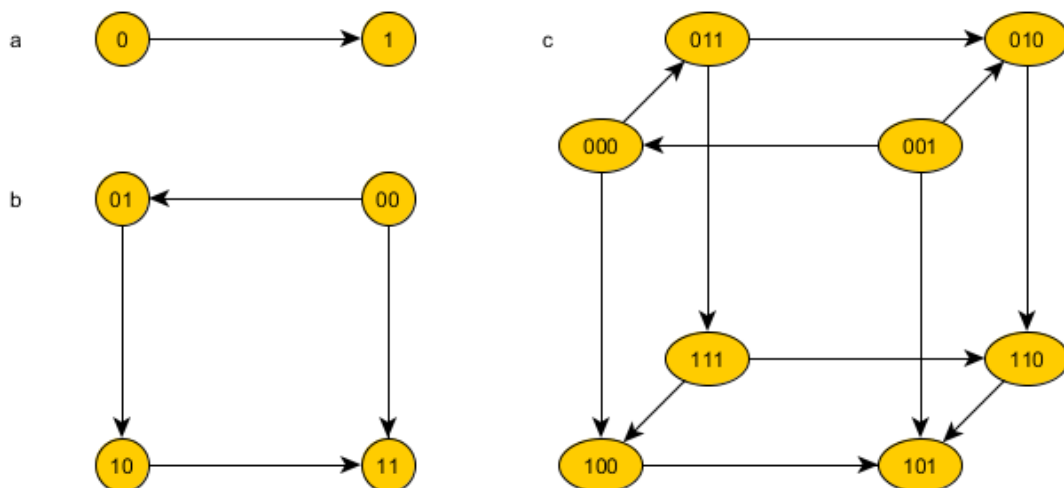
Grafikisht, bashkësia e të gjitha gjendjeve dhe kalimet e lejuara ndërmjet tyre paraqitet me anë të një  $N$ -kubi (hiperkub të përmasës së  $N$ -të). Një  $N$ -kub Boolean përmban  $2^N$  kulme dhe  $N \times 2^{N-1}$  lidhje (Figura 1. 5).

Është e rëndësishme të theksohet se, për një sistem Boolean me  $N$  komponentë, ekzistojnë  $2^{N \times 2^{N-1}}$  paraqitje të mundshme të hiperkubit, që u korrespondojnë të gjitha konfigurimeve të mundshme të kalimeve të lejuara ndërmjet gjendjeve. Për një sistem dinamik, lidhjet e hiperkubit janë të orientuara dhe paraqesin kalimin e sistemit nga një gjendje në tjetrën. Nga pikëpamja biokimike, prezenca e një lidhjeje tregon se të paktën një komponent  $X_i$  i sistemit kalon nëpër vlerën prag  $\theta_i$ .

**Përkufizimi 1.1:** Dy rrjeta Booleane i përkasin së njëjtës klasë ekuivalence të strukturës (structural equivalence class) nëse grafet e tyre të kalimit të gjendjeve mund të mbivendosen identikisht (pas veprimit të operatorëve).

Karakteristika kryesore e rrjetave Booleane është hapësira e fundme e gjendjeve, çka implikon karakterin deterministik të sistemit, i cili, eventualisht, do të kthehet në një prej gjendjeve të mëparshme, ose do të lëkundet ndërmjet një grupi gjendjesh. Këto gjendje përkufizohen si *tërheqësit dinamikë* (*pikë fikse* ose *cikël limit*) të rrjetit Boolean, ndërkohë që bashkësia e gjendjeve që konvergjojnë drejt tërheqësit përbëjnë *basenin e tërheqjes*. Perioda e ciklit limit përkufizohet si numri i gjendjeve në të cilat lëkundet sistemi dhe varion nga 1 (pika fikse) në  $2^N$  (e gjithë hapësira e gjendjeve përbën një cikël limit) [25].

**Përkufizimi 1.2:** Një nyje (gjendje) që ka vetëm lidhje hyrëse quhet *nyje (gjendje) stabël*. Një nyje (gjendje) që ka të paktën një lidhje dalje, quhet *jostabël*. Një bashkësi nyjesh që karakterizohen nga lidhje dalje vetëm ndërmjet elementëve të bashkësisë përbën një *cikël*. Dy rrjeta që kanë identikisht të njëjtat nyje stable dhe të njëjtët cikle quhet *dinamikisht ekuivalente*.



**Figura 1. 5:** Paraqitja grafike e  $2^N$  gjendjeve të mundshme dhe kalimeve të lejuara ndërmjet tyre për një sistem Boolean me  $N$  komponentë: a)  $N = 1$ , b)  $N = 2$ , c)  $N = 3$ .

Stabiliteti i tërheqësve mund të ndryshojë në kushtet e perturbimeve të sistemit. Për rrjetin Boolean, një *perturbim* konsiston në ndryshimin e aktivitetit të një komponenti (nga 1 në 0 ose anasjelltas), ndërkohë që një *mutacion* konsiston në një “perturbim permanent” dhe paraqitet me ndryshimin e një rregulle Booleane (nga OR në AND ose anasjelltas).

Tërheqësit e një rrjeti Boolean janë gjendjet më të rëndësishme të sistemit, pasi mbartin shpjegime biologjike, ndërkohë që gjendjet kalimtare përbëjnë kalime ndërmjetëse, para se sistemi të mbërrijë në tërheqës. Biologjikisht, një tërheqës paraqet një gjendje fiziologjike/patologjike ose disa gjendje lëkundëse ciklike, të cilat vërehen në mjaft sisteme si sistemi imunitar [72], rrjetat neurale [51], ekosistemet [73], etj. Megjithë thjeshtësinë e aplikimit të tyre, modelet Booleane janë përdorur me sukses për studimin e dinamikës së sistemeve të transmetimit të sinjalit [74] [75], gjenetike [36], farmakologjike [76], si dhe në mjaft sisteme patofiziologjike si kanceri i gjirit [77], kanceri gastrointestinal [78], kanceri i mushkërive [79], etj, ndërkohë që janë implementuar edhe në software si BooleanNet [80], BoolNet, SimBoolNet, SQUAD, etj. Në paragrafin Material plotësues për Kapitullin I përshkruhen karakteristikat e disa programeve të studimit të dinamikës së sistemeve rregullatore.

### 1.5.1. Ndërtimi i rrjetit të një sistemi rregullator

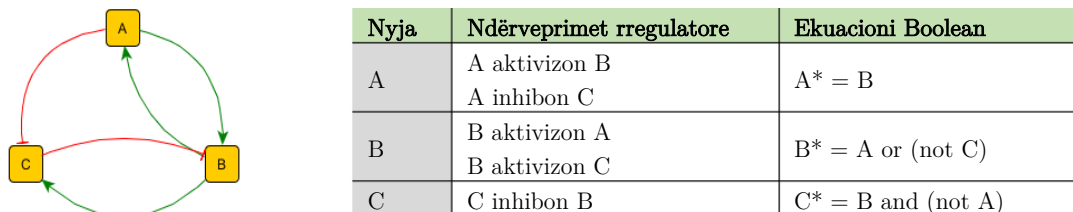
Hapi i parë në ndërtimin e një modeli Boolean të një rrjeti rregullator është ndërtimi i rrjetit, nëpërmjet sintetizimit të të gjithë informacionit të disponueshëm për sistemin në studim. Informacioni paraprak, teorik dhe/ose eksperimental tregon mbi komponentët e përfshirë në sistem dhe relacionet rregulluese ndërmjet tyre [75] [36]. Shembuj të rolit të informacioneve eksperimentale në identifikimin e komponentëve (nyjeve) të rrjetit përfshijnë (i) eksperimentet, në të cilët aktiviteti ose përqendrimi i një komponenti ndryshon menjëherë nga veprimi i një sinjali ose nga ndryshimi i aktivitetit ose përqendrimit të një komponenti tjetër në sistem, (ii) një gjendje e caktuar patologjike që vërehet në rastet e deficienave të një apo disa komponentëve ose në rastet e prezencës së mutacioneve, (iii) eksperimentet që evidentojnë rolin e gjendjes së mbi-shprehur (over-expressed) të një ose disa komponentëve në sistem në gjendjen patologjike të sistemit në tërësi. Nëse disponohet një model paraprak i sistemit (*prior knowledge network*), atëherë rrjeti mund të zgjerohet për qëllime të caktuara, si studimi i efektit të perturbimeve të vogla (nyjeve të largëta), efekti i veprimit të komponentëve farmakologjikë mbi një trajektore të sistemit, etj.

Në parim, evidentimi i nyjeve dhe lidhjeve të një rrjeti rregullator ndjek një prej dy përjasjeve të mundshme: (1) *përjasja nga baza në majë* – konsiston në mbledhjen një sasive të konsiderueshme literature, përdorimit të databazave dhe software-ve text mining [81]; (2) *përjasja nga maja në bazë* – bazohet në

përdorimin e burimeve bioinformatike dhe analizave omics-based (*genomics*, *proteomics*, *metabolomics*), për të gjeneruar hartën e ndërveprimit të komponentëve [82] [76]. Zakonisht, ndërtimi i rrjetit të ndërveprimeve, nisur nga të dhënat eksperimentale, konsiston në veçimin e tri tipeve të informacionit: (i) *informacionet biokimike* të ndërprimeve gjen – faktor transkriptues dhe veprimet enzimatik ose ndërveprimet proteinë – proteinë, që japin informacion mbi veprimet e drejtpërdrejta ndërmjet dy komponentëve, (ii) *informacionet gjenetike* dhe/ose të segmentimit të ADN, që japin të dhëna mbi efektin e mutacionit të një gjeni (dhe proteinave që ai kodon) mbi komponentët e tjerë, (iii) *informacionet farmakologjike*, që japin informacion mbi efektin e trajtimeve ekzogjene të një komponenti në sistem mbi komponentët e tjerë [74].

Përfaqja bottom-up, e bazuar në shfrytëzimin intensiv të literaturës, kërkon kohë dhe, në disa raste, mund të mund evidentojë disa veti të rëndësishme të sistemit ose mund të japë informacione konfliktuale. Nga ana tjetër, përfaqja top-down kërkon përpunimin e sasive të mëdha të të dhënave, të cilat duhet të mos karakterizohen nga efekte minimale të zhurmave të jashtme si: metoda eksperimentale e përdorur, koha dhe kohëzgjatja e gjenerimit të të dhënave, saktësia e metodave statistikore të përdorura për përpunimin e të dhënave, et. Gjithashtu, të dyja metodat shfaqin vështirësinë e përcaktimit të madhësisë së rrjetit dhe caktimit të pikës përfundimtare, pra, të dhënave dalëse që priten të vëzhgohen. Idealisht, kombinimi i dy metodave mund të rezultojë në identifikimin e saktë të komponentëve dhe ndërveprimeve të tyre në sistem.

Paraqitja rrjetore e komponentëve të një rrjeti rregullator sipas modelit Boolean konsiston në një graf të orientuar, nyjet e të cilit janë komponentët e sistemit ndërsa lidhjet e drejtuara tregojnë drejtimin dhe llojin e ndërveprimit, i cili mund të jetë jetë jetë inhibim ( $\dashv$ ) ose aktivizim ( $\rightarrow$ ). Software të vizualizimit të rrjetave rregulatore përfshijnë, yEd Graph Editor [83], Graphviz, Cytoscape (që siguron edhe analizën e grafit), etj. Figura 1. 6 paraqet një rrjet rregullator me tre komponentë. Analiza rrjetore (Paragrafi 1.4) siguron të dhëna mbi organizimin topologjik dhe shpejtësinë e shpërndarjes së informacionit në rrjet.



**Figura 1. 6:** Vizualizimi i grafit të ndërveprimit të një sistemi rregullator me tre komponentë, sipas modelit Boolean.

Për shkak të natyrës komplekse të rrjetave rregullatore, përmasa e rrjetit mund të çojë në vështirësi analitike dhe kompjuterike, të cilat mund të grupohen në tre drejtime: (i) siç është përmendur në paragrafin 1.5, për një rrjet rregullator me  $N$  komponentë, hapësira e gjendjeve do të jetë e rendit  $2^N$ . Për shkak të rritjes eksponenciale të përmasës së hapësirës së gjendjeve nga numri i komponentëve në rrjet, përmasa e rrjetit mund të kufizojë mundësinë për të kryer analiza të caktuara mbi sistemin; (ii) koha që i nevojitet një algoritmi për të evidentuar tërheqësit e sistemit rritet në mënyrë eksponenciale me numrin e nyjeve:  $\mathcal{O}(2^N)$  – për këtë arsye, evidentimi i tërheqësve të sistemit, duke kërkuar në gjithë hapësirën e gjendjeve të rrjetit, has në vështirësi kompjuterike. Për këto arsye, janë zhvilluar algoritme të reduktimit të rrjetave Booleane, me qëllimin primar reduktimin e numrit të komponentëve, me humbjen minimale të informacionit kualitativ mbi dinamikën e rrjetit [84] [76]. Algoritmet e reduktimit të rrjetave Booleane, bazohen në evidentimit e tre tipeve nyjesh në sistem:

- i. *Nyjet e ngrira* – nyjet të cilat nuk e ndryshojnë gjendjen e tyre, pavarësisht tërheqësve apo kushteve fillestare. Në mënyrë që një nyje të ndikojë në dinamikën e nyjeve të tjera, është e nevojshme që ajo të ndryshojë natyrën e saj. Kërkimi i nyjeve të ngrira në hapësirën e gjendjeve kryhet duke evidentuar të gjithë tërheqësit e sistemit dhe duke aplikuar kushte të ndryshme fillestare, në mënyrë që të identifikohen nyjet të cilat mbeten të pandryshuara [85] [86].
- ii. *Nyjet ndërmjetëse* – nyjet me fuqi dalëse = fuqi hyrëse = 1. Këto nyje njihen si nyje jofunksionale, pasi veprojnë vetëm për të ndërmjetësuar përhapjen e informacionit.
- iii. *Nyjet gjethe* – nyjet me fuqi hyrëse = 0 – dhe *nyjet terminale* – nyjet me fuqi dalëse = 0 [87].

### 1.5.2. Identikimi i funksioneve Booleane

Funksionet Booleane përbëjnë një paraqitje logjike të ndërveprimeve ndërmjet komponentëve të një sistemi nëpërmjet operatorëve Booleanë AND (aktivizim), OR (aktivizim) dhe NOT (inhibim), ndërkohë që përdorimi i tyre varet drejtpërsëdrejti nga lloji i ndërveprimit. Nëse një komponent ka më shumë se një rregullator, përdorimi i operatorëve AND dhe OR zgjidhet për të përshkruar një veprim të detyruar (AND) (ko-rregullim) ose të pavarur (OR). Zgjedhja e saktë e operatorit të përdorur kërkon njohuri të detajuara eksperimentale të mënyrave të ndërveprimit të komponentëve në sistem. Për shembullin e Figura 1. 6, nëse të dhënat eksperimentale në rastin e deficencës së C, por jo të A, tregojnë që edhe  $B = 1$ , është e qartë se B rregullohet nga A OR (NOT C); në të kundërt A AND (NOT C).

Për një rrjet rregullator mund të ndërtohen disa sisteme ekuacionesh Booleane; nëse disponohen të dhënat eksperimentale, çdo sistem testohet për përputhshmërinë me të dhënat. CellOptR [88] është një paketë në R, e cila përdor një përfaqësim hibrid top-down/bottom-up për të identifikuar funksionet logjike që përshkruajnë më mirë të dhënat eksperimentale të disponueshme. Saez-Rodrigues et al [88] e përdorën këtë përfaqësim për të gjeneruar rreth  $10^{38}$  sisteme ekuacionesh Booleane, për rrjetin e transmetimit të sinjalit ndërmjet hepatociteve dhe 4 tipeve të qelizave tumorale të mëlçisë. Modeli Boolean që përshkruan më mirë proceset e përfshira në rrjet merret nga minimizimi i *funksionit objektiv*  $\theta$ , të përkufizuar si shuma e katrorëve të diferencave ndërmjet të dhënave eksperimentale dhe të dhënave të përfutuara nga modeli:

$$\theta = \frac{1}{N_E} \sum_{k=1}^s \sum_{l=1}^m \sum_{t=1}^n (B_{k,l,t}^M - B_{k,l,t}^E)^2 + \alpha \frac{1}{v_e^S} \sum_{e=1}^r v_e P_e \quad (1.12)$$

ku  $B_{k,l,t}^M$  dhe  $B_{k,l,t}^E$  paraqesin, përkatësisht, të dhënat e përfutuara nga modeli dhe të dhënat eksperimentale. Funksioni shumohet për  $m$  të dhënat dalëse,  $n$  hapa kohorë,  $s$  kushte eksperimentale dhe peshohet për numrin total të matjeve  $N_E$ . Termi i dytë i ekuacionit (1.12) – *funksioni i penalizimit* – peshon çdo zgjidhje  $P_e$  me numrin e nyjeve rregullatore  $v_e$ , për çdo hiper-lidhje  $r$  dhe normohet me numrin total të nyjeve gjethe në rrjet ( $v_e^S = \sum_{e=1}^r v_e$ ) [76] [88].

Një nga kufizimet primare të modeleve Booleane është karakteri i tyre deterministik. Parimisht, është e qartë se funksionet rregulluese në sistemet rregullatore gjenetike janë, më së shumti, përgjigje të brendshme vetë-rregulluese të dinamikës së sistemit ndaj efekteve stokastike brenda tij. Sipas një këndvështrimi empirik, supozimi që një komponent të karakterizohet vetëm nga një funksion Boolean, mund të shpjerë në gjenerimin e rezultateve të pasakta, sidomos në rastet kur funksionet Booleane gjenerohen prej të dhënave eksperimentale, të cilat, në shumicën e rasteve përmbajnë zhurma dhe karakterizohen nga një numër i vogël të dhënash në krahasim me numrin e parametrave që nevojiten të gjenerohen [89]. Për të tejkaluar këtë vështirësi, Shmulevich et al propozuan përdorimin e *modeleve Booleane probabilitare* (Probabilistic Boolean Networks - PBN) [89] [90] [91]. PBN përkufizohen si bashkësi rrjetash Booleane, në të cilat dinamika e sistemit përcaktohet nga një prej rrjetave Booleane, të zgjedhur me një probabilitet të caktuar. Në këto modele, çdo nyje  $N = \{X_1, X_2, \dots, X_N\}$  karakterizohet nga një bashkësi funksionesh Booleane  $F_i = \{f_1^i, f_2^i, \dots, f_{l_i}^i\}$ , ku  $f_j^i (1 \leq j \leq l_i)$  është një funksion Boolean i mundshëm përcaktues i gjendjes së nyjes  $X_i$  dhe  $l_i$  është numri i funksioneve të mundshëm të kësaj nyjeje (për  $l_i = 1$ , modeli PBN shndërrohet në modelin deterministik Boolean). Probabiliteti i përzgjedhjes së funksionit  $f_{l_i}^i$  si funksion përcaktues i gjendjes së nyjes  $X_i$  është  $c_i^i$ , ku  $0 \leq c_i^i \leq 1$  dhe  $\sum c_i^i = 1$ . Në çdo

hap kohor, gjendja e sistemit përcaktohet nga përzgjedhja e një vektori funksionesh përcaktues të nyjeve  $f_k = \{f_{k_1}, f_{k_2}, \dots, f_{k_N}\}$ , të përzgjedhur me probabilitet  $Pr_k = \prod_{i=1}^N c_{k_i}^i$ . Shmulevich et al e zgjeruan më tej analizën e PBN për të studiuar edhe sasinë e informacionit të gjeneruar nga secili  $f_k$ , nëpërmjet llogaritjes së basenit të entropisë  $h(f_k)$  dhe varësisë së saj nga përmasa  $N$  e rrjetit [92].

### 1.5.3. Metodatat e studimit të dinamikës së një sistemi nëpërmjet modelit

#### Boolean

Modeli Boolean është model diskret, pra, koha është diskrete dhe implicite. Në parim, koha mund të implementohet në dy metoda kryesore: (i) *metoda sinkrone* dhe (ii) *metoda asinkrone*. Gjendjet pasardhëse të çdo komponenti dhe, në këtë mënyrë, gjendjet pasardhëse të sistemit, do të gjenerohen sipas algoritmit të metodës së përdorur [42], ndërkohë që grafet e kalimit të gjendjeve dhe natyra e tërheqësve përkufizohen si në paragrafin 1.5:

1. **Metoda sinkrone:** sipas kësaj metode të gjenerimit të gjendjeve, supozohet se të gjithë proceset dhe ndërveprimet që kryhen ndërmjet komponentëve kërkojnë të njëjtën kohëzgjatje; në këtë mënyrë, gjendjet pasardhëse gjenerohen për të gjitha nyjet njëherësh. Gjendja pasardhëse  $x_i$  e komponentit  $X_i$  në çastin  $t + 1$  do të përcaktohet nga gjendjet e  $m_i$  rregullatorëve të tij në çastin  $t$ :

$$x_i(t + 1) = f_i(x_{i_1}(t), x_{i_2}(t), \dots, x_{i_{m_i}}(t)), i = 1, 2, \dots, N \quad (1.13)$$

ku  $f_i$  është funksioni Boolean i nyjes  $X_i$ .

Megjithë thjeshtësinë kompjuterike të implementimit të kësaj metode të gjenerimit të gjendjeve, metoda sinkrone nuk mund të përshkruajë saktë proceset që kërkojnë kohë të ndryshme veprimi, që mund të variojnë nga fraksione të sekondës deri në orë. Për këtë arsye, u zhvilluan disa metoda asinkrone, për të mundësuar që nyjet të gjenerojnë gjendjet pasardhëse në kohë të ndryshme [36].

2. **Metoda asinkrone e rastit (Random Order Asynchronous - ROA):** sipas kësaj metode, në çdo hap kohor zgjidhet në mënyrë rastësore një përkëmbim dhe gjendja pasardhëse e çdo nyjeje do të gjenerohet sipas atij rendi:

$$x_i(t + 1) = f_i(x_{i_1}(\tau_{i_1}), x_{i_2}(\tau_{i_2}), \dots, x_{i_{m_i}}(\tau_{i_{m_i}})), i = 1, 2, \dots, N \quad (1.14)$$

ku  $\tau_{i_{m_i}} \in \{t, t + 1\}$ . Kështu, nëse pozicioni i rregullatorit  $m_i$  është përpara nyjes  $i$  në permutimin e zgjedhur, atëherë  $\tau_{i_{m_i}} = t + 1$ ; në të kundërt  $\tau_{i_{m_i}} = t$ .

3. **Metoda asinkrone e përgjithshme (General Order Asynchronous - GOA):** sipas kësaj metode, në çdo hap kohor, gjenerohet gjendja pasardhëse e vetëm një nyjeje.
4. **Metoda asinkrone deterministike (Deterministic Order Asynchronous - DOA):** sipas kësaj metode, çdo nyje  $X_i$  karakterizohet nga një kohë vetjake  $\gamma_i$  (e zgjedhur *a priori*, ose nga një shpërndarje probabilitare). Në këtë mënyrë, gjendja pasardhëse e nyjes do të gjenerohet vetëm në shumëfisha të plotë të kohës së saj vetjake:

$$x_i(t + 1) = \begin{cases} f_i(x_{i_1}(t), x_{i_2}(t), \dots, x_{i_{m_i}}(t)) & \text{nëse } t + 1 = k\gamma_i, k \in \mathbb{N} \\ x_i(t) & \text{në të kundërt} \end{cases} \quad (1.15)$$

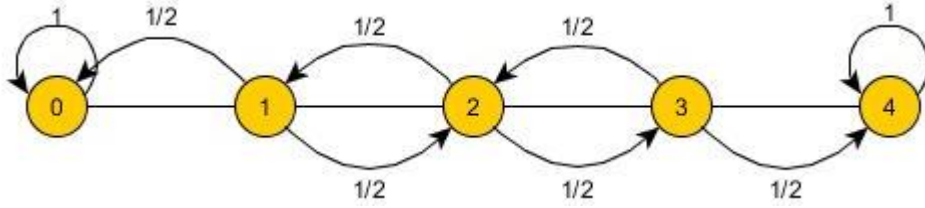
Është e rëndësishme të theksohet se, për shkak të natyrës rastësore të përzgjedhjes së permutimeve ose nyjeve për të cilat gjenerohet gjendja pasardhëse në çastin  $t + 1$ , grafet e kalimit të gjendjeve me metodat ROA dhe GOA shoqërohen edhe me analizën e zinxhirëve të Markovit.

#### 1.5.4. Teoria e zinxhirëve të Markovit

Teoria e zinxhirëve të Markovit [93] [94] prezantoi studimin e një sekuence eksperimentesh rasti, në të cilët rezultatet e eksperimenteve paraardhëse ndikojnë në rezultatet e eksperimenteve pasardhës (të quajtur ndryshe zinxhirë të Markovit). Një *zinxhir i Markovit* konsiston në një bashkësi gjendjesh  $S = \{s_1, s_2, \dots, s_n\}$ ; një sistem i karakterizuar nga këto gjendje mund të nisët nga çdonjëra prej tyre dhe të kalojë në gjendjet e tjera, ku çdo kalim përbën një *hap*. Nëse zinxhiri ndodhet në gjendjen  $s_i$ , ai mund të kalojë në gjendjen  $s_j$  me probabilitet  $p_{ij}$  (nëse sistemi nisët nga gjendja  $s_i$  dhe mbetet në po atë gjendje, probabiliteti shënohet  $p_{ii}$ ). Probabilitetet  $p_{ij}$  quhen *probabilitete kalimi*, ndërsa matrica  $P^{n \times n} = \{p_{ij}\}$  quhet *matrica e probabiliteteve të kalimit* ose *matrica e kalimit* [95].

**Përkufizimi 1.3:** Gjendja  $s_i$  e një zinxhiri Markovi quhet *gjendje absorbuese* nëse  $p_{ii} = 1$  (pra, nëse sistemi ndodhet në këtë gjendje, probabiliteti që ai të dalë prej saj është 0). Një zinxhir Markovi  $\pi$  quhet *absorbues* nëse ai ka të paktën një gjendje absorbuese dhe, probabilitetet e kalimit prej çdo gjendjeje drejt gjendjes absorbuese (jo domosdoshmërisht në një hap) janë jo-zero.

**Përkufizimi 1.4:** Në një zinxhir Markovi, çdo gjendje jo-absorbuese quhet *gjendje kalimtare*.



**Figura 1. 7:** Bredhja e të dehurit [94].

Për një zinxhir Markovi të përbërë prej  $r$  gjendjesh absorbuese dhe  $t$  gjendjesh kalimtare, forma kanonike e matricës së kalimit  $P$  jepet:

$$P = \begin{matrix} & \begin{matrix} kal. & abs. \end{matrix} \\ \begin{matrix} kal. \\ abs. \end{matrix} & \begin{pmatrix} Q & R \\ O & I \end{pmatrix} \end{matrix} \quad (1.16)$$

ku  $I^{r \times r}$  është një matricë njësi,  $O^{r \times t}$  është matricë zerosh, ndërsa  $R^{t \times r}$  dhe  $Q^{t \times t}$  janë matrica me elementë jo-zero.

Studimi i stabilitetit të sistemit kërkon njohjen e probabiliteteve të kalimit pas disa hapash kohorë,  $h$ . Teoremat 1.1 dhe 1.2 (vërtetimi gjendet në [94]) japin mënyrën e gjenerimit të probabiliteteve të kalimit dhe stabilitetit të sistemit pas një  $h$  hapash.

**Teorema 1.1<sup>10</sup>:** Le të jetë  $P$  matrica e kalimit të një zinxhiri Markovi dhe  $\mathbf{u}$  vektori i probabiliteteve të kushteve fillestare. Probabiliteti që zinxhiri të ndodhet në gjendjen  $s_i$  pas  $h$  hapash jepet nga:

$$\mathbf{u}^h = \mathbf{u}P^h \quad (1.17)$$

Forma matricore e ekuacionit (1.17), do të jepej me anë llogaritjes së matricës së kalimit, pas  $h$  hapave:

$$P^h = \begin{matrix} & \begin{matrix} kal. & abs. \end{matrix} \\ \begin{matrix} kal. \\ abs. \end{matrix} & \begin{pmatrix} Q^h & * \\ O & I \end{pmatrix} \end{matrix} \quad (1.18)$$

ku (\*) do të paraqesë matricën  $t \times r$  (e cila mund të shkruhet në termat e  $Q$  dhe  $R$ ). Forma e  $P^h$  tregon se elementët e  $Q^h$  paraqesin probabilitetet që sistemi të ndodhet në çdonjërin prej gjendjeve kalimtare, pas  $h$  hapave, nëse nisët nga një prej gjendjeve kalimtare.

**Teorema 1.2:** Në një zinxhir Markovi absorbues, probabiliteti që procesi të absorbohet është 1, pra,  $Q^h \rightarrow O$  kur  $h \rightarrow \infty$ .

**Përkufizimi 1.5:** Për një zinxhir Markovi absorbues, matrica  $N = (I - Q)^{-1}$  quhet matricë themelore e  $P$ , elementët  $n_{ij}$  të së cilës japin numrin e pritshëm të hapave

<sup>10</sup> Vërtetimet e teoremave 1.1-4 gjenden në [94]

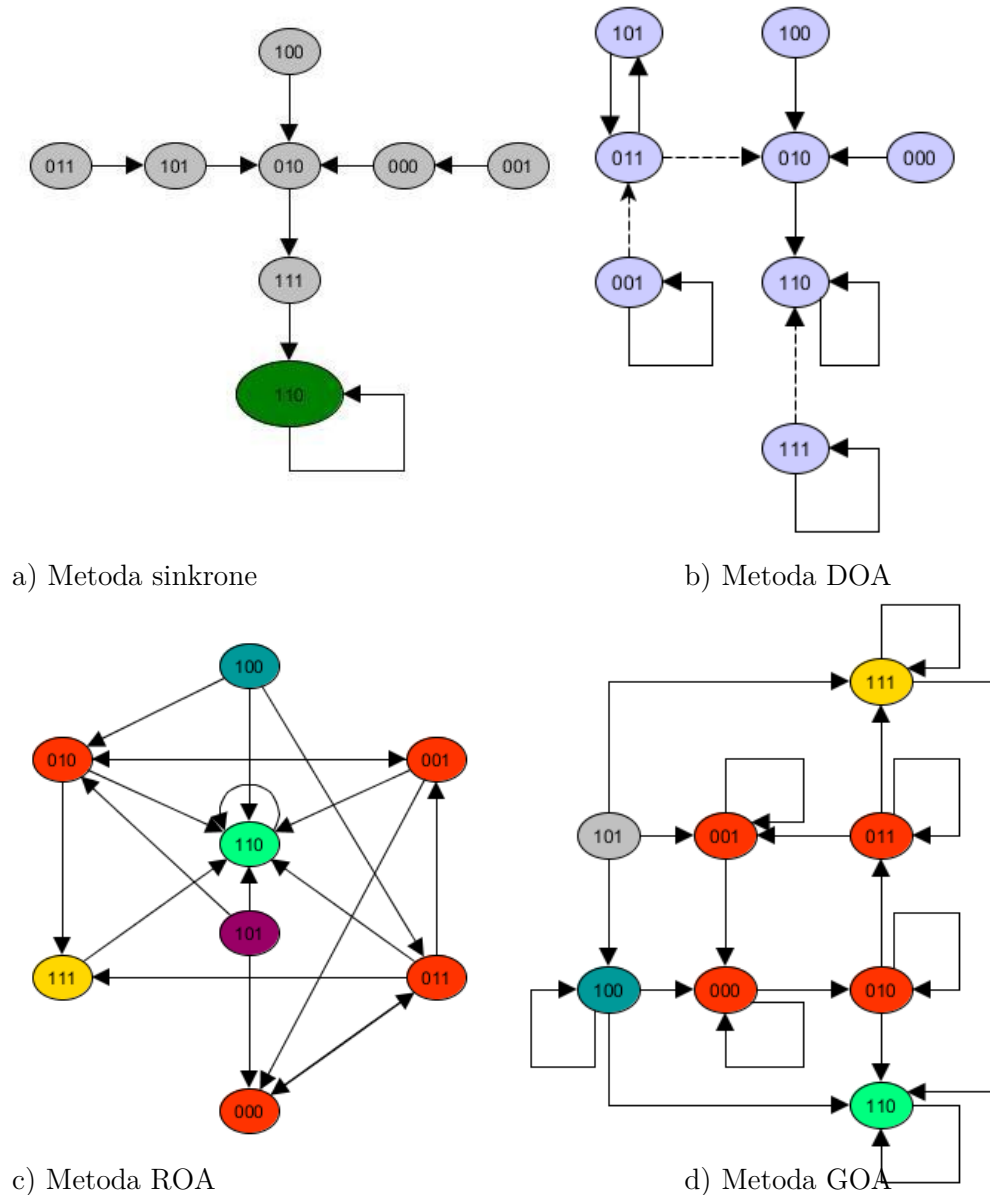


Sic vihet re, zinxhiri  $\pi_{110} = (0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 1\ 0)$  përbën një zinxhir stacionar, pasi karakterizohet nga probabiliteti  $p_{110 \rightarrow 110} = 1$  dhe probabilitete kalimi në gjendjet e tjera 0. Të gjitha gjendjet e tjera karakterizohen nga probabilitete pozitive për dalë nga gjendja e tyre (konkretisht, probabiliteti për të dalë nga gjendja = 1).

2. **Metoda asinkrone deterministike (DOA):** (Figura 1. 8, b) Grafi i kalimit të gjendjeve është gjeneruar për  $\gamma_C = 2 \cdot \gamma_B$  dhe  $\gamma_A = \gamma_B$ , ndërkohë që vërehet edhe një tërheqës ciklik me periodë 2 (011, 101). Vërtet, për kushtet kohore të përzgjedhura, sistemi do të lëkundet rreth dy gjendjeve. Supozojmë se në  $t = 0$  sistemi ndodhet në gjendjen 011 (A=0, B=1, C=1). Në  $t = 1$  do të gjenerohen vetëm gjendjet pasardhëse të A dhe B, pas të cilave, nga zbatimi i funksioneve Booleane, sistemi shkon në gjendjen  $A^* = B = 1, B^* = A$  or (not C) = 0 or (not 1) = 0 or 0 = 0,  $C^* = C = 1$ , pra 101. Në  $t = 2$ , do të gjenerohen gjendjet pasardhëse të të tri nyjeve dhe sistemi kthehet në 011.
3. **Metoda asinkrone e rastit (ROA):** (Figura 1. 8, c) Grafi i kalimi të gjendjeve përmban 19 lidhje dhe një lak, ndërkohë që sistemi shfaq edhe 2 cikle me periodë 2: 000-011 dhe 010-001. Numri i madh i lidhjeve vjen si pasojë e algoritmit të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të metodës, sipas së cilës, në çdo hap kohor, përzgjidhet rastësisht një prej 6 permutimeve të mundshme të komponentëve A, B, C dhe gjendja pasardhëse e sistemit gjenerohet sipas atij rendi. Për këtë graf, matrica e kalimit  $P$  do të jetë

	000	001	010	011	100	101	110	111
000	0	0	0	1	0	0	0	0
001	1/2	0	1/3	0	0	0	1/6	0
010	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2
011	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2
100	0	0	1/3	1/6	0	0	1/2	0
101	1/6	0	1/3	0	0	0	1/2	0
110	0	0	0	0	0	0	1	0
111	0	0	0	0	0	0	1	0

Mënyra e llogaritjes së probabiliteteve bazohet tërësisht në algoritmin e metodës për gjenerimin e gjendjeve pasardhëse të sistemit. Në Tabelën 1. 1 jepet shpjegimi i llogaritjes së probabiliteteve të kalimit nga gjendja 001.



**Figura 1. 8:** Grafi i kalimit të gjendjes për modelin me tri nyje të Figurës 1. 6. a) Metoda sinkrone, b) Metoda asinkrone deterministike për  $\gamma_C = 2 \cdot \gamma_A$  ( $\gamma_A = \gamma_B$ ). c) Metoda asinkrone e rastit, d) Metoda asinkrone e përgjithshme.

Matrica  $P$  është një matricë markoviane: shuma e rreshtave është e barabartë me 1; zinxhiri absorbues markovian është  $\pi_{110} = (0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 1\ 0)$  dhe paraqet një shpërndarje të qëndrueshme, në të cilën çdo element paraqet probabilitetin që sistemi të kalojë nga 110 në një prej 8 gjendjeve, në  $t \rightarrow +\infty$ .

Komponentët e lidhur fort (SCC) të hapësirës së gjendjeve janë 100, 101 dhe 111. Megjithatë, 7 nga 8 gjendje, duke përfshirë edhe SCC janë të lidhura me pikën fikse (pra, përbëjnë basenin e tërheqjes së pikës fikse), ndaj çdo trajektore do të konvergjojë në pikën fikse. Nga matrica e kalimit

vihet re se probabiliteti mesatar për të arritur pikën fikse në një hap kohor është më i madh se probabiliteti për të mbetur në SCC.

**Tabela 1. 1:** Llogaritja e probabiliteteve të kalimit nga gjendja 001.

Në $t = 0, [A B C] = [0 0 1]$					
Permutacioni	$A^*$	$B^*$	$C^*$	Përshkrimi	Probabiliteti
A B C	0	0	0	$f_A$ përdor $B(t)$ $f_B$ përdor $A(t + 1)$ dhe $C(t)$ $f_C$ përdor $A(t + 1)$ dhe $B(t + 1)$	$P_{001 \rightarrow 000} = \frac{1}{2}$ $P_{001 \rightarrow 010} = \frac{1}{3}$ $P_{001 \rightarrow 110} = \frac{1}{6}$
A C B	0	1	0	$f_A$ përdor $B(t)$ $f_C$ përdor $A(t + 1)$ dhe $B(t)$ $f_B$ përdor $A(t + 1)$ dhe $C(t + 1)$	
B A C	0	0	0	$f_B$ përdor $A(t)$ dhe $C(t)$ $f_A$ përdor $B(t + 1)$ $f_C$ përdor $A(t + 1)$ dhe $B(t + 1)$	
B C A	0	0	0	$f_B$ përdor $A(t)$ dhe $C(t)$ $f_C$ përdor $A(t)$ dhe $B(t + 1)$ $f_A$ përdor $B(t + 1)$	
C A B	0	1	0	$f_C$ përdor $A(t)$ dhe $B(t)$ $f_A$ përdor $B(t)$ $f_B$ përdor $A(t + 1)$ dhe $C(t + 1)$	
C B A	1	1	0	$f_C$ përdor $A(t)$ dhe $B(t)$ $f_B$ përdor $A(t)$ dhe $C(t + 1)$ $f_A$ përdor $B(t + 1)$	

Duke u bazuar në teorinë e zinxhirëve të Markovit, zberthimi i matricës  $P = \begin{matrix} \text{kal.} & \overbrace{\begin{pmatrix} Q & R \\ O & I \end{pmatrix}}^{\text{abs.}} \end{matrix}$  do të japë të dhëna mbi kohët e absorbimit të secilës gjendje ( $t = 7, r = 1$ ). Konkretisht, kohët e absorbimit të gjendjeve kalimtare, janë paraqitur në Tabelën 1. 2, ndërkohë që, nisur nga matrica e gjendjeve kalimtare  $Q$ , provohet se,  $Q^h \rightarrow 0$  kur  $h \rightarrow +\infty$ .

**Tabela 1. 2:** Numri i pritshëm i hapave kohorë të absorbimit në pikën fikse, nëse zinxhiri i Markovit ndodhet në një prej gjendjeve kalimtare, në metodën ROA

Gjendja	000	001	010	011	100	101	111
Koha e absorbimit	2.5	2.75	1.5	1.5	1.75	1.9167	1

- Metoda asinkrone e përgjithshme (GOA):** (Figura 1. 8, d) Grafi i kalimi të gjendjeve përmban 19 lidhje, nga të cilat 7 janë laqe, ndërkohë që sistemi shfaq edhe 1 cikël me periodë 4: 001-000-010-011. Numri i lartë i laqeve vjen si pasojë e algoritmit të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të metodës, sipas së cilës, në çdo hap kohor, përzgjidhet rastësisht vetëm një nyje për të cilën gjenerohet gjendja pasardhëse. Në këtë mënyrë,

probabiliteti për të qëndruar në të njëjtën gjendje është më i madh se probabiliteti për të dalë nga gjendja. Për këtë graf, matrica e kalimit  $P$  do të jetë

$$P = \begin{array}{c|cccccccc} & 000 & 001 & 010 & 011 & 100 & 101 & 110 & 111 \\ \hline 000 & 5/6 & 0 & 1/6 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 001 & 1/6 & 5/6 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 010 & 0 & 0 & 2/3 & 1/6 & 0 & 0 & 1/6 & 0 \\ 011 & 0 & 1/6 & 0 & 2/3 & 0 & 0 & 0 & 1/6 \\ 100 & 1/6 & 0 & 0 & 0 & 2/3 & 0 & 1/6 & 0 \\ 101 & 0 & 1/3 & 0 & 0 & 1/3 & 0 & 0 & 1/3 \\ 110 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 111 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1/6 & 5/6 \end{array}$$

Ashtu si në metodën ROA, zinxhiri absorbues markovian është  $\pi_{110} = (0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 1\ 0)$  dhe paraqet një shpërndarje të qëndrueshme, në të cilën çdo element paraqet probabilitetin që sistemi të kalojë nga 110 në një prej 8 gjendjeve, në  $t \rightarrow +\infty$ .

**Tabela 1. 3:** Numri i pritshëm i hapave kohorë të absorbimit në pikën fikse, nëse zinxhiri i Markovit ndodhet në një prej gjendjeve kalimtare, në metodën GOA

Gjendja	000	001	010	011	100	101	111
Koha e absorbimit	18	24	12	18	12	15	6

Nga krahasimi i kohëve të absorbimit të gjendjeve kalimtare, sipas metodës asinkrone të rastit dhe asinkrone të përgjithshme, vihet re se kohët e absorbimit sipas metodës ROA janë shumë më të shkurtra se kohët e absorbimit sipas metodës GOA. Kjo vjen fakti se, siç vihet re edhe nga matricat e kalimit, sipas metodës GOA, probabiliteti që gjendja kalimtare të përshkojë një lak është më i madh se probabiliteti për të kaluar në një gjendje tjetër.

### 1.5.6. Vlerësimi i modelit

Testimi i vlefshmërisë së modelit përbën një hap kritik në përcaktimin e besueshmërisë së rezultateve dhe konsiston në krahasimin e evidencave eksperimentale me rezultatet numerike të analizës së dinamikës së sistemit. Kështu, nëse një sjellje e caktuar e sistemit, në kushtet e perturbimit ose mutacionit, nuk vërehet në modelin e ndërtuar, është e nevojshme të rishkruhen rregullat Booleane, në veçanti, përdorimi i operatorëve AND dhe OR. Në hapin e parë të vlerësimit, kushtet fillestare të modelit nevojiten të paraqesin një gjendje biologjike reale. Për shembull, në një model kimioterapeutik, nyjet e modelit që përfaqësojnë rritjen, shtimin dhe mbijetesën e qelizave duhet të jenë në gjendjen fillestare ON ndërsa nyjet që përfaqësojnë dëmtimin ose apoptozën qelizore duhet

të jenë OFF. Më tej, modeli simulohet sipas metodave të ndryshme të gjenerimit të gjendjes, perturbimeve dhe mutacioneve.

Vlerësimi i modelit nëpërmjet krahasimit të rezultateve me të dhënat eksperimentale, kërkon që këto të fundit, të sigurojnë informacion mbi shumë konfiguracione perturbative dhe të mbulojnë një rend të gjerë të trajektoreve të mundshme të sistemit. Vlerësimi i komponentëve të modelit, mund të realizohet nëpërmjet metodave të ndryshme eksperimentale. Përdorimi i molekulave të vogla të barnave, ose modifikimi i gjeneve të caktuar mund të çojë në ndryshimin e aktivitetit të gjenetik ose përqendrimit të proteinave në modelin e ndërtuar. Në këtë mënyrë, mund të vlerësohet nëse është e nevojshme që gjenet, proteinat ose komponentët e shtuar të përfshihen ose jo në model.

Studimi i dinamikës së sistemit kërkon gjithashtu që modeli të jetë në gjendje të parashikojë, si sjelljen afatgjatë (tërheqësit), ashtu edhe gjendjet transitore. Megjithatë, për shkak të kompleksitetit të sistemeve të tilla, të dhënat eksperimentale nuk mund të sigurojnë informacion për çdo komponent të sistemit, në kushte të ndryshme perturbative. Për të tejkaluar këtë mangësi, janë zhvilluar teknika të përparuara analitike, si analizat e rendeve të larta transkriptomike dhe proteomike (microarray, data mining), që hedhin dritë mbi sjelljen e sistemit si një i tërë, nën veprimin e perturbimeve individuale ose kombinime perturbimesh [96].

## 1.6. Sistemet rregullatore si sisteme të përgjithësuara ekologjike

Siç u përmend në paragrafin 1.2, përqasjet e modelimeve të sistemeve rregullatore klasifikohen në bazë të nivelit të të dhënave dhe njohurive teorike mbi të, ndërkohë që paraqitja rrjetore e sistemeve rregullatore lejon analizën cilësore dhe sasore të topologjisë së rrjetit, shpejtësinë e shpërndarjes së informacionit, analizën e balancës së fluksit (flux balance analysis - FBA), si dhe analizën e sjelljes afatgjatë të sistemit. [97]. Është e rëndësishme të theksohet se niveli i studimit të sistemeve rregullatore varion nga studimi i organizmit në tërësi, deri në nivel qelizor dhe nën-qelizor; në çdo rast, sistemi përbëhet prej *speciesh* ndërvepruese, të cilat, në rastin më të thjeshtë, ndërveprojnë në një prej dy mënyrave: *aktivizim* ose *inhibim*. Kjo përqasje ka lejuar përgjithësimin e modelimit të sistemeve të tilla edhe në sistemet ekologjike të ndërveprimit të specieve [98]. Në mënyrë të ngjashme me sistemet rregullatore, sistemet ekologjike mund të modelohen me anë të rrjetave, në të cilat çdo nyje paraqet një specie, ndërkohë që lidhjet e drejtuara paraqesin ndërveprimet ndërmjet tyre [99] [100] [101].

Modelimi i sistemeve rregullatore dhe ekologjike me anë të rrjetave nuk është ngjashmëria e vetme ndërmjet dy klasave të sistemeve. Ndërveprimet e specieve në sistemet ekologjike (trajtimi i hollësishtëm i ndërveprimit të specieve jepet në paragrafin 4.2) dhe përshkrimi matematikor i tyre është thellësisht i ngjashëm me korrespondueset e tyre në sistemet rregullatore: të dyja klasat e sistemeve paraqesin prezencën e laqeve negative, të cilat, në sistemet ekologjike njihen nën termin *konkurrencë* [102]. Ndoshta modeli më i studiuar i konkurrencës është modeli Lotka-Volterra [103] [104] i ndërveprimit të specieve, sipas të cilit, ligjet e veprimit të masave të specieve përshkruhen me anë të *funksioneve jolineare*, ndërkohë që ndërveprimet ndërmjet tyre mund të jenë *pozitive* (analog i rregullatorit aktivizues) ose *negative* (analog i rregullatorit inhibues) [105].

Studimi i dinamikës dhe stabilitetit së sistemeve ekologjike, ashtu si në sistemet rregullatore, konsiston në studimin afatgjatë të sjelljes së tij në rastet deterministike dhe perturbative. Dinamika e këtyre sistemeve në limitin e vazhduar është e mirëstudiuar dhe vërteton aftësinë e bashkë-ekzistencës së specieve në të njëjtin mjedis ekologjik, pra, ekzistencën e pikave fikse globalisht të qëndrueshme dhe cikleve [106] [59], ndërkohë që në [107] studiohet prezenca e zhurmave në ekuacionet e vazhduara të ligjit të veprimit të masave.

Një dallim mjaft i rëndësishëm ndërmjet dy sistemeve përbën klasifikimi i stabilitetit të sistemit. Siç është përmendur në paragrafin 1.3, studimi i sjelljes asimptotike të sistemit rregullator (si në modelet e vazhduara dhe diskrete) jepet me anë të një sistemi ekuacionesh diferenciale të ndryshimit të përqendrimit me kohën. Ky përshkrim bazohet në supozimin se përqendrimit e komponentëve në sistem – qoftë ky me një numër të vogël ose të madh komponentësh – janë variabla të vazhduar. Në të këtë mënyrë, sjellja afatgjatë e sistemit shfaq prezencën e tërheqësve (pikë fikse ose tërheqës ciklik). Megjithatë, numri i molekulave në mjedisin fiziologjik është, zakonisht, i vogël [108], ndaj përdorimi i përmasjes së limitit të vazhduar nuk është gjithmonë i justifikuar. Në dinamikën jolineare, efekti i ndryshimit të numrit të molekulave në sistem konsiston në studimin e përgjigjes së sistemit (pra, nëse efekti i ndryshimit rritet apo shuhet kur  $t \rightarrow \infty$ ). Në këto raste, përgjigjja e sistemit përshkruhet nëpërmjet *kalimeve fazore*, ndërkohë që gjendja e sistemit në një çast të dhënë përshkruhet nëpërmjet *zonave (fazave)* [108]. Parimisht, studimi i dinamikës së sistemeve të tilla nis me studimin e mikrogjendjeve dhe kalimeve mes tyre, të përshkruar me anë të *ekuacionit themelor*, dhe më pas përfitim e ekuacionit Fokker – Planck, në një rend të caktuar përafrimi (shih [59] dhe referencat në të). Kalimi ndërmjet dy përshkrimeve përdor formulimin e van Kampen, që përfshin një shpërthim të ekuacionit themelor në inversen e fuqisë  $\Omega^{1/2}$ , ku  $\Omega \ll n$  është vëllimi i sistemit. Shpërthimi van Kampen [57] nis me zbatimin e Teoremës Qendrore Limite mbi rendin e fluktuacioneve mikroskopike ( $\sqrt{\Omega}$ ) të variablave të sistemit

dhe shpërthimin Taylor të ekuacionit themelor për të përfutuar një ekuacion diferencial deterministik<sup>11</sup> për pjesën jo fluktuative dhe një ekuacion Fokker – Planck për pjesën fluktuative. Kjo metodë rezulton efikase në rastin e sistemeve të mëdha; megjithatë, ajo mbart kufizueshmëri në rastin kur sistemi nuk shfaq stabilitet në një pikë fikse (tërheqësi mund të jetë një cikël limit ose sistemi shfaq multistabilitet). Në këto sisteme, fluktuacionet rriten në mënyrë të papritur, jo vetëm përgjatë trajektoreve të sistemit, por edhe në drejtimin përpendikular me to. Në këtë rast, shpërthimi i ekuacionit themelor në fuqi  $\Omega$ , i njohur si shpërthimi Kramers – Moyal, jep një ekuacion Fokker – Planck jolinear, që ruan karakterin e fluktuacioneve në afërsi të pikave kritike jostable [59] [109].

Efektet evolutive (migrim, zhvendosje gjenetike, mutacion) në kalimet fazore dhe sjelljen e sistemeve të ndërveprimit të specieve me popullata të fundme janë studiuar gjerësisht në [109] [59] [107].

### 1.7.Përfundime

Në këtë kapitull u prezantuan modelet Booleane të studimit të sistemeve rregullatore që nga ndërtimi i modelit në analizën strukturore dhe dinamike të tij. Është mjaft e rëndësishme të theksohet se përfundimet e modeleve Booleane ndikohen mjaft nga saktësia e ndërtimit të modelit dhe rregullave Booleane që përshkruajnë dinamikën e secilit komponent të sistemit. Për këtë arsye, për të ndërtuar një model të besueshëm, është e rëndësishme të shfrytëzohet një pjesë e konsiderueshme e informacionit teorik dhe eksperimental. Në këtë mënyrë, analiza strukturore dhe dinamike e rrjetit siguron rezultate të besueshme mbi topologjinë dhe sjelljen në kohë të sistemit.

Duke qenë se modelet Booleane janë modele pa parametra, ata shërbejnë si një pikënisje për modelimin e sistemeve (në veçanti, të sistemeve të mëdha), për të cilët ka mungesë të informacionit kinetik. Këto modele sigurojnë një përshkrim cilësor të proceseve të njohura të sistemit dhe jep mundësinë e inkorporimit të specifikave kohore të proceseve biokimike brenda sistemit, nëpërmjet përcaktimit të klasave të prioritetit (në rregullat e gjenerimit të gjendjeve, ose në probabilitetet e kalimit). Gjithashtu, mundësia e kryerjes të një numri të madh simulimesh të modelit dhe llogaritja e raportit të numrit të simulimeve që çojnë në të njëjtën gjendje, mund të rezultojë në gjenerimin e rezultateve gjysmë sasiore. Megjithatë, është e rëndësishme të theksohet se modelet Booleane nuk mund të japin informacion mbi sjellje specifike të sistemit. Për shembull, prezenca e laqeve negative, zakonisht, shoqërohet me prezencën e cikleve limite në grafën e kalimit të gjendjeve (në veçanti në modelin sinkron), ndërkohë që në modelet e vazhduara, prania e këtyre laqeve mund të lidhet me procesin e homeostazës ose

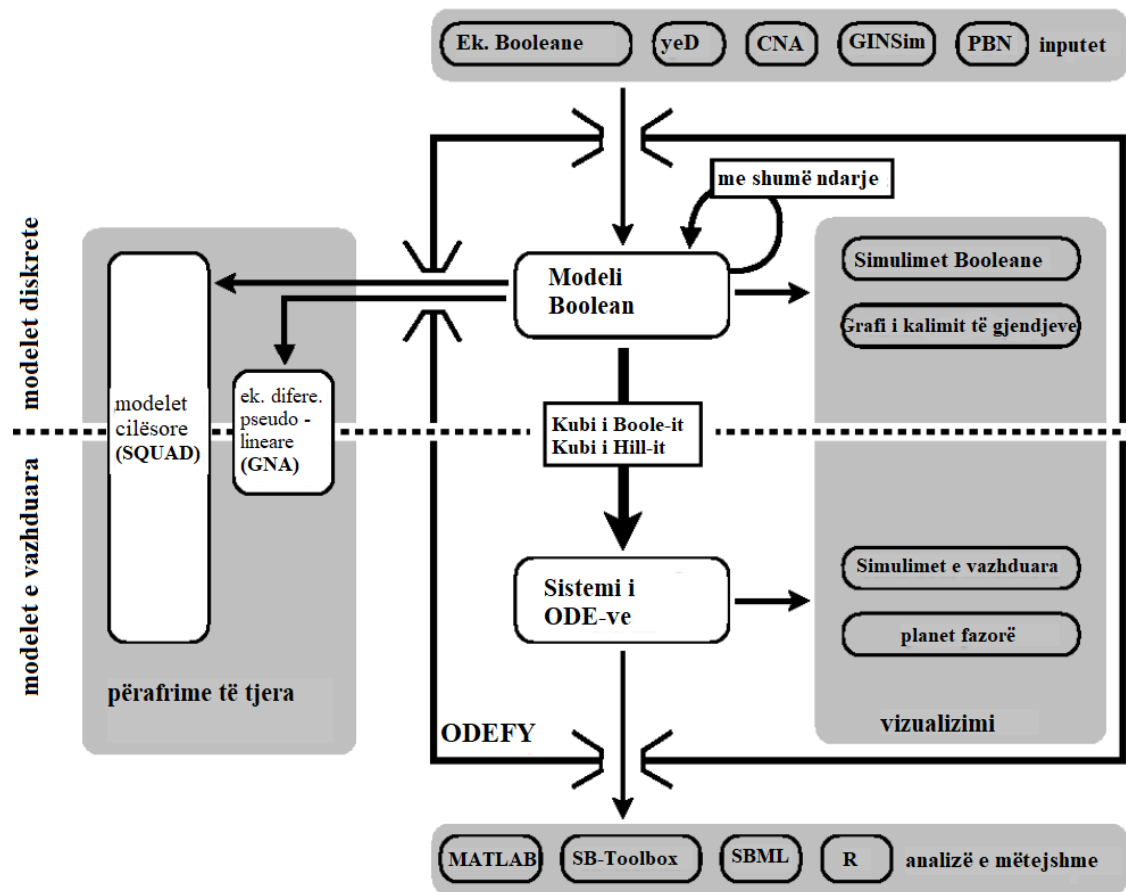
<sup>11</sup> Ekuacioni i vlerave mesatare. Në këtë punim është studiuar pikërisht ky rast.

---

funkcionin e përgjigjes ndaj perturbimeve. Gjithashtu, modelet Booleane nuk mund të përdoren në studimin e efektit të perturbimeve pambarimisht të vogla.

## Material plotësues për Kapitullin I

Disa prej softwareve të zhvilluar për simulimin e studimin e modeleve diskrete, hibride dhe të vazhduara, jepen në Figurën 1. 9 dhe Tabelën 1. 4.



*Figura 1. 9: Modelimi i sistemeve biologjike të transmetimit të sinjalit dhe karakteristikat e disa prej softwareve të zhvilluar për studimin e tyre*

*Tabela 1. 4: Disa prej software-ve të zhvilluar për studimin e qëndrueshmërisë dhe dinamikës së sistemeve biologjike, me anë të modeleve diskrete dhe të vazhduara*

Software	MaBoSS	GINsim	CellNetAnalyzer	BoolNet	GNA	SQUAD
<b>Të dhënat hyrëse</b>	Rregullat logjike dhe rendet e kalimeve	Rregullat logjike	Rregullat logjike	Rregullat logjike probabilitike	Reaksionet kimike, konstantet e reaksioneve	Parametrat e reaksioneve kimike për modelimin ODE, të përfuara nga modeli Boolean
<b>Përmasa e rrjetit</b>	Deri në 64 nyje	<20 nyje për studimin e dinamikës	Rrjet i madh (~ 100 nyje)	Rrjet i madh (~ 100 nyje)	<20 nyje	Rrjet shumë i madh (~ 1000 nyje)
<b>Të dhënat dalëse</b>	Probabilitetet në varësi të kohës	Grafi i kalimit të gjendjeve	Trajektorët ndërmjet gjendjeve (metoda sinkrone)	Trajektorët ndërmjet gjendjeve (metoda sinkrone, asinkrone dhe sinkrone probabilitike)	Graf kualitativ i kalimit të gjendjeve	Trajektorët kohore të modelit ODE
	Kombinimi linear i shpërndarjeve stacionare	Tërheqësit	Gjendjet e qëndrueshme	Tërheqësit	Tërheqësit	Gjendjet e qëndrueshme
<b>Interpretimi i rezultateve</b>	Aktiviteti i gjeneve në varësi të kohës	Aktiviteti i gjeneve	Aktiviteti i gjeneve	Aktiviteti i gjeneve	Përqendrimet diskrete të proteinave	Përqendrimet e proteinave në varësi të kohës, në nivel qelizor
	Sjellja asimptotike	Sjellja e mundshme asimptotike	Sjellja asimptotike e qëndrueshme	Sjellja e mundshme asimptotike	Sjellja asimptotike e përqendrimeve diskrete të proteinave	Sjellja e mundshme asimptotike
	Popullatë qelizore	Një qelizë e vetme	Një qelizë e vetme	Një qelizë e vetme (popullatë qelizore në rast të rregullave logjike probabilitike)	Një qelizë e vetme	Një qelizë e vetme
<b>Mjedisi</b>	UNIX	Java	MATLAB	R	UNIX/MS-DOS	Java

## KAPITULLI II

## Modelimi Boolean i Sistemit FGF23/Klotho në Homeostazën e Kalciumit dhe Fosfatit

*Në mitologjinë greke, tri bijat e Zeusit përcaktonin jetëgjatësinë e çdo njeriu në Tokë. Ato ishin Klotho, Lakeris dhe Atropos, që thur, mat dhe pret fijen e jetës.*

### 2.1. Hyrje

Faktorët e rritjes së fibroblasteve (Fibroblast Growth Factors - FGFs) janë njohur fillimisht si faktorë autokrinë/parakrinë, me veprim kryesor në zhvillimin embrionik dhe organogjenezë. Megjithatë, studimet e fundit kanë dëshmuar se disa FGF (FGF15/19<sup>12</sup>, FGF21 dhe FGF23) funksionojnë edhe si faktorë endokrinë, me efekt rregullues mbi procese të ndryshme metabolike [110]. Për të rritur afinitetin e receptorëve të FGF (FGFR) në organet shenjë, FGF-të endokrinë përdorin proteinat transmembranore të familjes Klotho, si ko-receptorë detyrues: ky sistem unik ko-receptorësh i mundëson FGF-ve endokrinë të specifikojnë organet shenjë, ndërmjet shumë indeve që shprehin FGFR [111].

Aksi i parë endokrin i veprimit të FGF-ve dhe Klotho është sistemi *FGF23/Klotho*. FGF23 është identifikuar si hormon fosfaturik dhe kundërrregullues i vitaminës D (VD) dhe hormonit të paratiroides (PTH) [112]. Nga ana tjetër, gjeni mutant i Klotho është evidentuar të rezultojë në përshtypjetimin e plakjes së organizmit [113] [114] dhe çrregullime metabolike [110] [115]. Lidhja e ngushtë ndërmjet këtyre dy proteinave (FGF23 dhe Klotho) u bë e qartë në eksperimentet e zhvilluar në minj me deficiençë të FGF23 (në vijim deficienca do të shënohet me -/-), që shfaqën jo vetëm çrregullime metabolike por edhe fenotipe të lidhur me plakjen, në të njëjtën mënyrë si edhe në sistemet Klotho<sup>-/-</sup>.

Në metabolizmin mineral, kalciumi (Ca) dhe fosfati (P) luajnë një rol kyç në sisteme të ndryshme biologjike, që përfshijnë formimin e kockave, energjinë,

<sup>12</sup> FGF15 është faktori i minjve, analog i FGF19 në njerëzit.

transmetimin e sinjaleve ndërqelizore dhe portat metabolike. Si pasojë, rregullimi i tyre endokrin përbën një proces mjaft të rëndësishëm që përfshin disa hormone [111]. Homeostaza minerale arrihet nga balanca ndërmjet absorbimit intestinal, influksit dhe efluksit në kocka dhe ekskretimit renal [116]. Çrregullimet metabolike të mineraleve lidhen me anomali të ndryshme skeletore, metabolike dhe endokrine. Përgjithësisht, çrregullimet në homeostazën e kalciumit lidhen me mosfunksionimin e veshkave; nga ana tjetër, përqendrimi i lartë i fosfatit dhe i produktit kalcium-fosfat janë faktorë kyç për vdekshmërinë kardiovaskulare [117] [118] dhe sëmundjet kronike të veshkave (CKD – Chronic Kidney Diseases) [119]. Zbulimi i aksit të veprimit FGF23/Klotho çoi në lindjen e një teorie të re mbi funksionimin e metabolizmit mineral.

Në këtë kapitull, prezantohen njohuritë teorike dhe eksperimentale<sup>13</sup> të sistemit të rregullimit të kalciumit dhe fosfatit në organizëm dhe jepen hapat e gjenerimit të një rrjeti të thjeshtuar, çdo komponent i të cilit karakterizohet nga një funksion gjendjeje karakteristik Boolean. Simulimet numerike janë kryer duke ndjekur metoda të ndryshme të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse, duke siguruar konvergencën e rezultateve në kushtet e perturbimeve të brendshme/jashtme dhe përputhshmërinë e tyre me njohuritë teorike.

Një pjesë e rezultateve numerike të paraqitura në këtë kapitull, janë publikuar në [33] dhe [34].

### 2.1.1. Homeostaza e kalciumit

Kalciumi (Ca) është elementi i pestë me prani më të lartë në organizëm dhe përbën një element kyç për mjaft procese biologjike si metabolizmi i kockave, kontraktimi i muskujve dhe transmetimi i sinjaleve ndërqelizore – megjithatë burimi i vetëm i tij është ushqimi<sup>14</sup>. Homeostaza e kalciumit rregullohet përmes disa faktorëve veprues në sistemin tretës, kocka, veshka dhe gjendrat e paratiroides [116]. Rregullatorët kryesorë të kalciumit janë: (i) hormoni i paratiroides (PTH) dhe (ii) vitamina D (në formën 1,25 dihidroksivitamin D) [111].

- i. Ulja e përqendrimit të Ca të tretur çon menjëherë në nxitjen e prodhimit të PTH në gjendrat e paratiroides; efekti i kryesor i PTH është aktivizimi i riabsorbimit të Ca renal dhe në kocka. Nga ana tjetër, përqendrimi i lartë i Ca çon në një zvogëlim të shpejtë të sekretimit të PTH dhe, rrjedhimisht, në eliminim renal, absorbim të ulët në kocka dhe sistemin intestinal. Në këtë mënyrë, varësia Ca-PTH ndjek një kurbë sigmoidale, sipas së cilës

---

<sup>13</sup> Rezultatet eksperimentale janë kryer mbi minjtë, por mendohet të kenë përputhshmëri të konsiderueshme edhe në njerëzit.

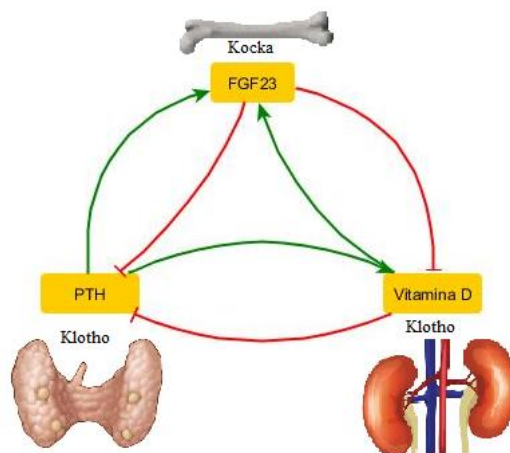
<sup>14</sup> Norma ditore: 600 mg – 1200 mg.

luhatje të dobëta të Ca pasqyrohen në ndryshime të mëdha të sekretimit të PTH [120].

ii. Vitamina D (VD) mund të merret me anë të ushqimit ose të sintetizohet në lëkurë gjatë ekspozimit ndaj rrezatimit UVB. Forma aktive e VD ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ) induktohet nga PTH, hipokalcemia dhe hipofosfatemia dhe inhibohet nga hiperkalcemia dhe hiperfosfatemia. Aktivizimi i VD nxit përthithjen e Ca në sistemin tretës dhe çlirimin e tij në kocka, ndërkohë që forma aktive e VD në gjendrat e paratiroides inhibon sintezën dhe sekretimin e PTH.

### 2.1.2. Homeostaza e fosfatit

Fosfori (P) është elementi i gjashtë me prani më të lartë në organizëm (përbën rreth 1.4% të masës trupore, përgjithësisht gjendet i lidhur me oksigjenin si fosfat  $\text{PO}_4^{3-}$ )<sup>15</sup> dhe luan një rol kryesor në energjinë metabolike, si pjesë e adenozinë trifosfatit (ATP), ADN, ARN, si dhe në membranat qelizore në përbërjen e fosfolipideve [111]. Homeostaza e fosfatit është e ngjashme me atë të kalciumit dhe konsiston në balancën ndërmjet absorbimit intestinal, riabsorbimin renal dhe metaolizmin skeletor. Rregullatorët kryesorë në homeostazën e P janë: (i) PTH dhe (ii) FGF23 [121].



**Figura 2. 1:** Hormonet rregullatorë të P. FGF23 sekretohet në kocka dhe vepron në veshka dhe në gjendrën e paratiroides, nëpërmjet Klotho për të inhibuar sintezën e VD dhe PTH. Në figurë vihen re tri laqe negative: FGF23/Klotho-PTH [122], FGF23/Klotho-VD dhe VD-PTH.

i. Përqendrimi i lartë i P së treti nxit sekretimin e PTH, e cila aktivizon ekskretimin renal të P [116].

<sup>15</sup> Norma ditore: 2.5-4.5 mg/dl

- ii.* Përqendrimi i lartë i P nxit sekretimin e FGF23 në kocka, e cila nxit fosfaturinë dhe inhibon sintezën e kalцитrolit (VD) në veshka, nëpërmjet Klotho (Figura 2. 1) [110] [123].

### 2.1.3. Aksi FGF23-Klotho

Burimi kryesor i FGF23 (proteinë ~32kDa) në organizëm janë osteocitet dhe osteoblastet në kocka dhe sinteza e saj nxitet nga veprimi i fosfatit dietik dhe VD [123] [124]. Veprimi kryesor i FGF23 vërehet në veshka dhe gjendrën e paratoroides, ku inhibon, përkatësisht, riabsorbimin renal të P dhe sintezën e VD dhe PTH; megjithatë, veprimi i FGF23 kufizohet nga ndërlidhja FGF23/Klotho ( $\alpha$ Klotho), për shkak të afinitetit të reduktuar të saj me FGFR.

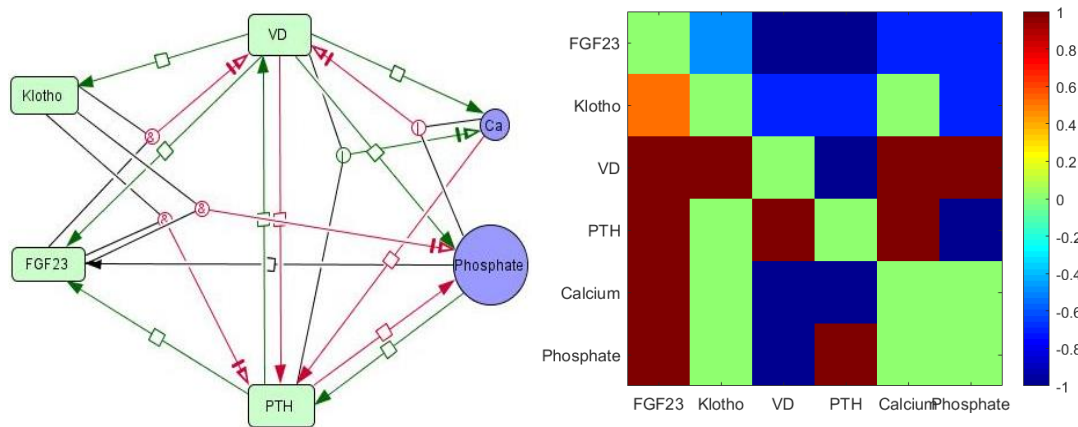
Gjeni Klotho, i zbuluar nga Kuro-o më 1997, përbëhet prej 5 eksonesh dhe kodon proteinën transmembranore Klotho, me gjatësi prej 1014 aminoacidesh [125]. Pjesa brenda-membranore përbëhet prej vetëm 10 aminoacidesh dhe nuk ka funksione fiziologjike. Pjesa jashtë-membranore përbëhet prej dy pjesësh, KL1 dhe KL2, secila me një homologji me Familjen 1 të glikocidazave. Gjeni Klotho sintetizohet në një numër të kufizuar indesh dhe tipesh qelizore. Sinteza më e lartë vërehet në tubat distalë në veshka si dhe në pleksusin koroidal në tru [125] [115].

Funksioni kryesor i proteinës Klotho u bë i qartë nga vrojtimit eksperimentale në minj, ku u vërejt se organizmat FGF23<sup>-/-</sup> paraqisnin të njëjtët fenotipe si Klotho<sup>-/-</sup>: humbje renale të fosfatit dhe defekte në mineralizimin e veshkave [113] [116]. Kjo ngjashmëri vjen nga fakti se Klotho shërben si një ko-receptor detyrues për FGF23 – kjo është arsyeja pse FGF23 vepron më së shumti në veshka, aty ku edhe përqendrimi i Klotho është më i lartë.

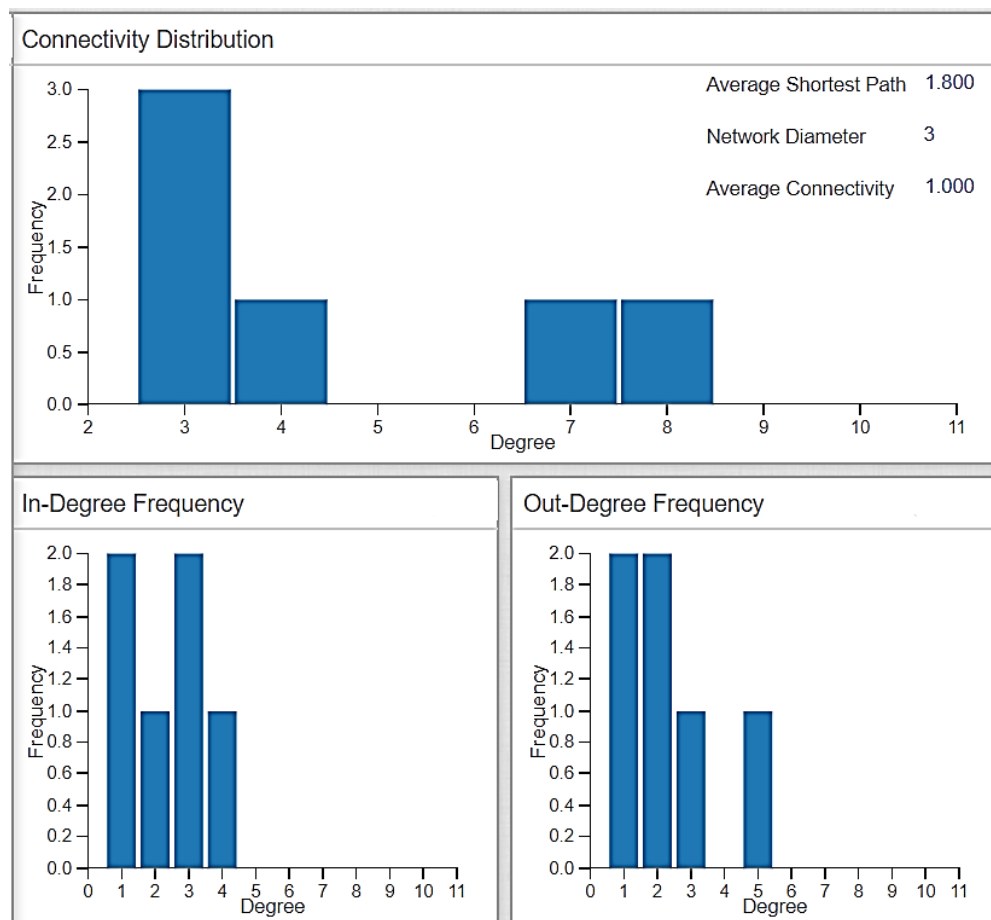
FGF23 është një hormon i prodhuar në kocka dhe, fillimisht, u identifikua si një gjen mutant në çrregullimet raketike hipofosfatemike dominante autosomale (Autosomal Dominant Hypophosphatemic rickets – ADHR), një çrregullim i rrallë gjenetik (i trashëgueshëm) i karakterizuar nga humbja renale e fosfatit dhe defekteve në mineralizimin e kockave. Pacientët me ADHR mbartin mutacione në gjenin FGF23, që rrit rezistencën e proteinave FGF23 ndaj zbërthimit proteolitik; rrjedhimisht, pacientët me ADHR karakterizohen nga përqendrimi i lartë i proteinës FGF23 në gjak [125].

Duke qenë se FGF23 ka afinitet të ulët ndaj çdo receptori të njohur të familjes FGF (FGFR-të), identiteti i receptorëve fiziologjikë të FGF23 mbeti i paqartë deri më 2006, kur u zbulua se proteina Klotho shërben si një ko-receptor detyrues për FGF23, duke krijuar një kompleks binar me FGFR-1c, -3c dhe -4 në sipërfaqen qelizore. Duke qenë se Klotho është më shumti i shprehur në veshka, aksi endokrin kockë-veshka, i drejtuar nga kompleksi FGF23/Klotho, rezulton i

një domosdoshmërie të lartë për rregullimin e homeostazës së fosfatit [113] [110] [125]. Rezultatet eksperimentale të veprimit të aksit FGF23/Klotho janë publikuar në [126], [127], [128] dhe në publikimet e mëvonshme.



**Figura 2. 2:** (Majtas) Rrjeti i reduktuar i homeostazës së kalciumit dhe fosfatit. Rrjeti përmban 6 nyje dhe ndërveprimet biologjike ndërmjet tyre paraqiten me shigjeta: ngjyra jeshile paraqet aktivizim ndërsa ngjyra e kuqe paraqet inhibim. (Djathtas) Paraqitja matricore e ndërveprimeve.



**Figura 2. 3:** Analiza strukturore e rrjetit të Figurës 2. 2

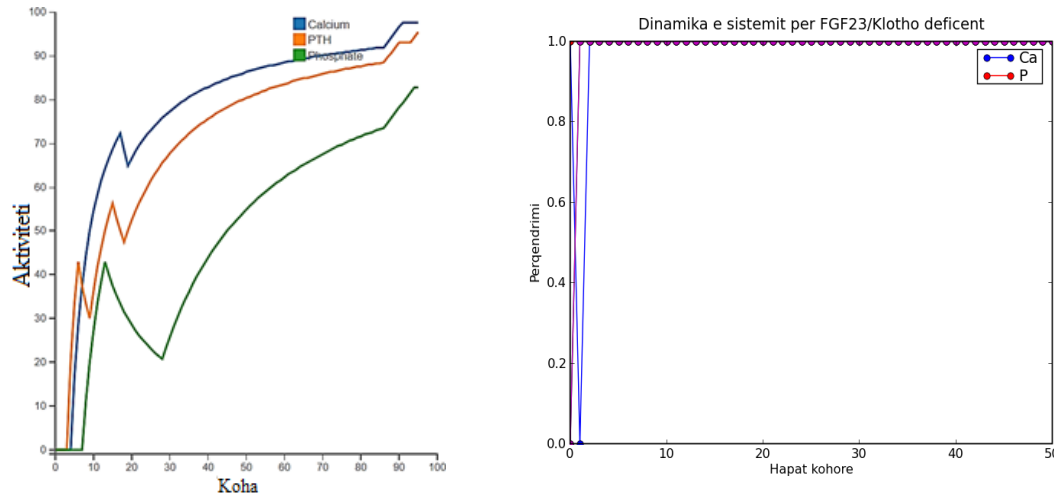
## 2.2. Ndërtimi i rrjetit

Rrjeti i plotë i rregullimit të homeostazës së Ca dhe  $\text{PO}_4^{-3}$  gjendet në [129]. Kompleksiteti i rrjetit vjen për shkak të (*i*) numrit të komponentëve dhe (*ii*) shumëllojshmërisë së ndërveprimeve biologjike ndërmjet tyre. Për të reduktuar kompleksitetin, Veliz-Cuba [84] propozoi reduktimin e rrjetit (paragrafi 1.5.1), me humbjen minimale të informacionit. Nisur nga të dhënat eksperimentale dhe teorike, sistemi i homeostazës së Ca dhe P, evidenton 4 rregullatorët kryesorë: FGF23, Klotho, PTH dhe VD. Rrjeti i reduktuar i elementëve dhe ndërveprimeve biologjike paraqitet në Figurën 2. 2 [130].

Analiza topologjike e rrjetit jep të dhëna mbi shpejtësinë e transferimit të informacionit (Figura 2. 3). Rruga më e shkurtër mesatare dhe diametri i rrjetit japin të dhëna, përkatësisht, mbi trajektorën më të shkurtër dhe më të gjatë ndërmjet dy nyjeve. Vlera 3 e diametrit, tregon se rrjeti sillet si një unazë (për një rrjet me  $n$  nyje, diametri =  $n/2$ ) [6].

Ndërtimi i sistemit të ekuacioneve Booleane që japin ndryshimin e gjendjes së secilit komponent në lidhje me kohën konsiston në kombinimin e njohurive teorike dhe eksperimentale të rasteve FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>, të trajtuara gjerësisht në [108] – [116]. Rezultatet eksperimentale tregojnë se sistemi mutant FGF23/Klotho deficiënt karakterizohet nga përqendrim i lartë i kalciumit (hiperkalcemia – kalcifikim i indeve të buta) dhe fosfatit (hiperfosfatemia). Ekuacionet Booleane për secilin komponent, që japin ndryshimin e gjendjes në çdo hap kohor diskret, lidhin çdo komponent me rregullatorët e tij, nëpërmjet operatorëve Booleane AND, OR (funksion aktivizues) dhe NOT (funksion inhibues). Zgjedhja e përdorimit të operatorëve AND dhe OR kërkon njohuri më të thelluara teorike dhe eksperimentale, pasi nënkupton një funksion të detyruar (AND) ose të pavarur (OR). Kështu, veprimi i FGF23 në komponentët e tjerë, kërkon detyrimisht prezencën e Klotho; për këtë arsye, çdo veprim i FGF23 do të shoqërohet me operatorin *FGF23 AND Klotho*. Për veprimet e tjera aktivizuese, është përdorur operatori OR, për shkak të veprimit të pavarur të komponentëve. Një analizë perturbative e nyjeve dhe operatorëve Booleane paraqitet në paragrafin 2.3.5.

Ekuacionet Booleane të sistemit me gjashtë nyje të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit paraqiten në Tabelën 2. 1, ndërsa në Figurën 2. 4 jepet aktiviteti i kalciumit, fosfatit dhe hormonit të paratiroides në sistemin FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>.



**Figura 2. 4:** (Majtas) Aktiviteti i kalciumit, fosfatit dhe hormonit të paratiroides në rastin mutant të  $FGF23/Klotho^{-/-}$ . (Djathas) Rezultati sipas modelit Boolean:  $Ca=ON$ ,  $P=ON$  ( $FGF23=OFF$ ,  $Klotho=OFF$ ).

Struktura e rrjetit luan një rol thelbësor në dinamikën e tij. Kështu, prania e laqeve pozitive në rrjet është e nevojshme për shfaqjen e multistabilitetit (prania e disa pikave fikse), ndërkohë që prania e laqeve negative është e nevojshme për shfaqjen e lëkundjeve (cikleve limite) [36] [131]. Ky rezultat është vërtetuar në mjaft modele diskrete dhe të vazhduara të sistemeve rregullatore [132] [133]. Rrjeti i rregullimit të Figurës 2. 2 përban 6 laqe negative, që vërtetojnë praninë e ciklit limit, ndërkohë që mungesa e laqeve pozitive pasqyrohet në mungesën e multistabilitetit (sistemi ka vetëm një pikë fikse).

**Tabela 2. 1:** Rregullat Booleane për modelin me 6 nyje të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, sipas Figurës 2. 2 (\*) tregon gjendjen pasardhëse të nyjes.

Nyja	Ekuacioni Boolean
Faktori i Rritjes së Fibroblasteve 23 ( $FGF23$ )	$FGF23^* = VD \text{ or } P \text{ or } PTH$
$Klotho$ ( $KL$ )	$KL^* = VD$
Vitamina D ( $VD$ )	$VD^* = PTH \text{ or } (\text{not } (FGF23 \text{ and } KL)) \text{ or } (\text{not } (Ca \text{ or } P))$
Hormoni i Paratiroides ( $PTH$ )	$PTH^* = \text{not } (Ca \text{ or } (FGF23 \text{ and } KL) \text{ or } VD) \text{ or } P$
Kalcium ( $Ca$ )	$Ca^* = VD \text{ or } PTH$
Fosfat ( $P$ )	$P^* = VD \text{ or } (\text{not } (FGF23 \text{ and } KL)) \text{ or } (\text{not } PTH)$

### 2.3. Rezultate numerike

Bazuar në ekuacionet Booleane të sistemit, të dhëna në Tabelën 2. 1, janë kryer simulimet numerike për studimin e stabilitetit të sistemit, në katër metoda të ndryshme të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse, të trajtuara teorikisht në Kapitullin I. Megjithëse analiza e stabilitetit të sistemit kërkon studimin e sjelljes së tij kur  $t \rightarrow +\infty$ , për sistemet biologjike rregullatore, kohët tipike të veprimit variojnë nga disa sekonda në orë.

Simulimet numerike për të katër metodat janë përsëritur 200 herë dhe, për secilin simulim janë marrë 500 hapa kohorë; kjo është detyruesisht e nevojshme për metodat asinkrone të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse, për shkak të përzgjedhjes rastësore të nyjeve, për të cilat do të gjenerohen gjendjet pasardhëse në hapin pasardhës. Simulimet numerike dhe grafët e kalimit të gjendjeve për të katër metodat janë kryer duke përdorur paketën BooleanNet [80] ndërsa vizualizimi i grafëve të kalimit të gjendjeve është realizuar nëpërmjet software yEd Graph Editor [83].

#### 2.3.1. Modeli sinkron

Simulimet numerike me metodën sinkrone të gjenerimit të gjendjeve tregojnë se modeli me gjashtë nyje të sistemit të Figura 2. 2 shfaq dy tërheqës: një pikë fikse, në të cilët të gjashta nyjet janë në gjendjen ON, dhe një cikël limit me periudë 3 (Tabela 2. 2).

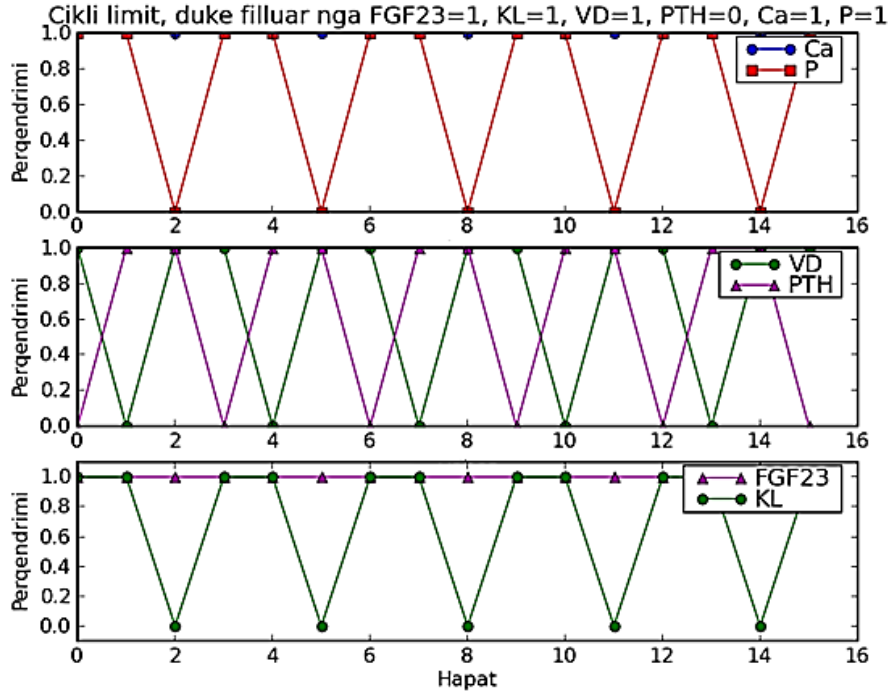
*Tabela 2. 2: Tërheqësit e rrjetit me 6 nyje të sistemit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit*

Gjendja	Ca	FFGF23	KL	P	PTH	VD	Baseni i tërheqjes
<i>Pika fikse</i>							
111111	ON	ON	ON	ON	ON	ON	43 gjendje
<i>Cikli limit</i>							
111110	ON	OFF	ON	ON	ON	OFF	21 gjendje
110011	ON	ON	OFF	OFF	ON	ON	
111101	ON	ON	ON	ON	OFF	ON	

Grafi i kalimit të gjendjeve përmban 64 gjendje, ndër të cilat 43 ( $\approx 67\%$ ) përbëjnë basenin e tërheqjes së pikës fikse dhe 21 ( $\approx 33\%$ ) përbëjnë basenin e tërheqjes së ciklit limit (Figura 2. 5).

Rezultatet e simulimeve numerike përforcohen edhe nga analiza teorike e rrjetit, me anë të përdorimit të ekuacioneve skalare për të përcaktuar tërheqësit në metodën sinkrone. Sipas përkufizimit të Heidel [134] një ekuacion skalar është një





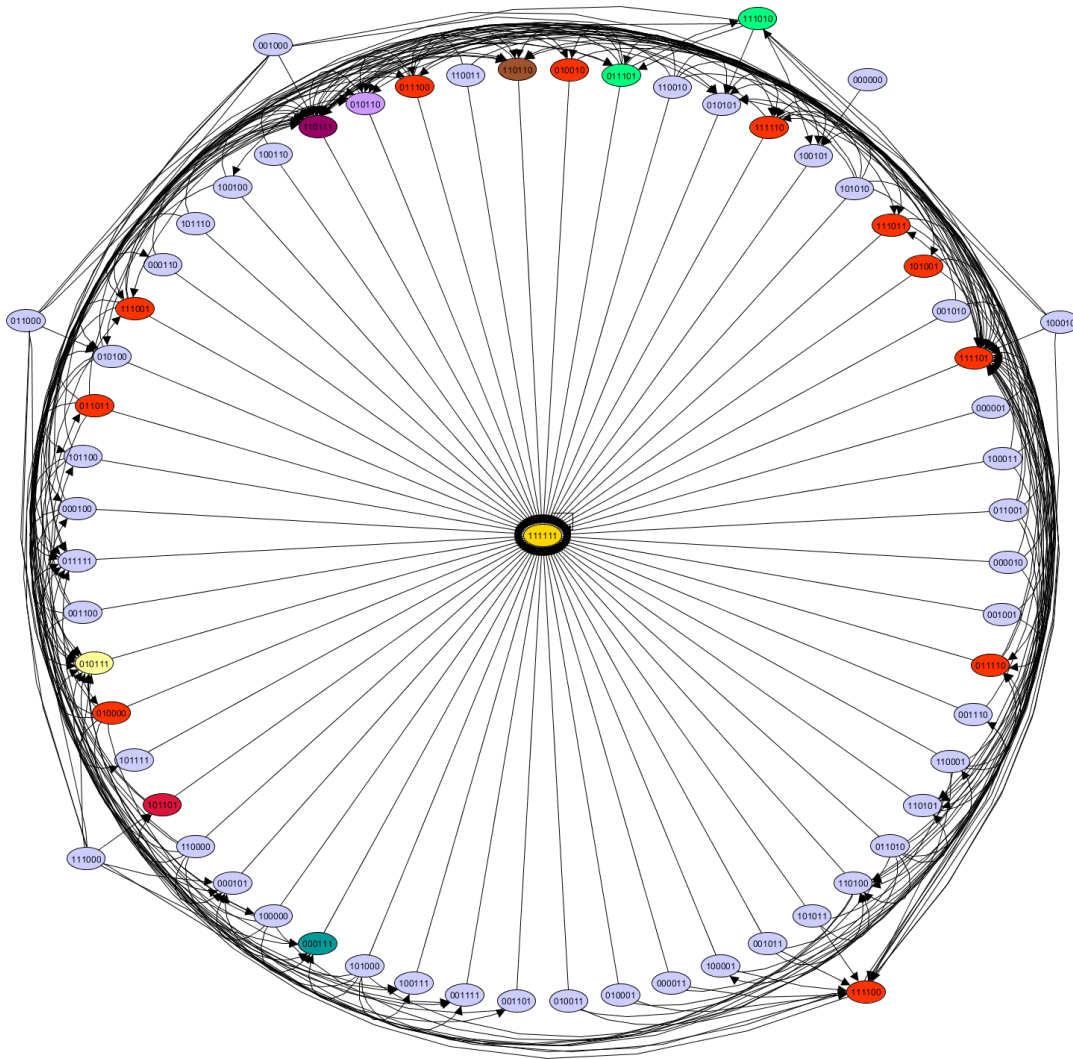
**Figura 2. 6:** Variacioni i gjendjes së nyjeve në ciklin limit me periudë 3 njësi duke u nisur nga gjendja 111101 ( $PTH=0$ ). Siç vërehet, gjendja e nyjes FGF23 dhe Ca mbetet e pandryshuar (1), duke pasqyruar tri gjendjet e ciklit: 111110-110011-111101.

### 2.3.2. Modeli asinkron i rastit (ROA)

Për shkak të përzgjedhjes rastësore të nyjeve për të cilat gjenerohet gjendja pasardhëse në hapin pasardhës, në çdo hap kohor, për modelin ROA janë kryer 200 simulime numerike; grafi i kalimit të gjendjeve paraqitet në Figurën 2. 7. Siç pritej, sipas kësaj metode të gjenerimit të gjendjeve, pika fikse mbetet e njëjta si në metodën sinkrone, ndërkohë që të gjitha nyjet e tjera përbëjnë një cikël limit.

Për këtë metodë, probabiliteti i kalimit nga një gjendje tek tjetra mund paraqitet në *matricën e kalimit të gjendjeve*, çdo element  $\pi_{ij}$  i së cilës jep probabilitetin e kalimit nga gjendja  $i$  në gjendjen  $j$ ,  $0 \leq i, j \leq 63$  (numrat 0-63 janë paraqitjet dhjetore të gjendjeve të Figurës 2. 7) [136] [137].

Probabilitet  $\pi_{ij}$  llogariten si raportet e numrit total të rrethave të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse (pra, permutimeve, gjithsej  $P_6 = 720$ ) që realizojnë kalimin nga  $i$  në  $j$  në një hap. Matrica  $P$  është një *matricë stokastike*, pasi  $0 \leq \pi_{ij} \leq 1$  për  $0 \leq i, j \leq 63$  dhe shuma e të gjithë rreshtave është 1. Sipas teorisë së zinxhirëve të Markovit, pika fikse e sistemit përbën një *gjendje absorbuese*, pra, gjendjen që mbetet invariante ndaj permutimeve. Çdo gjendje tjetër përbën një *gjendje kalimtare*, pasi karakterizohet nga një vlerë pozitive e probabilitetit që zinxhiri të mos kthehet më në atë gjendje pasi del prej saj [137]. Në këtë mënyrë, vektori  $\pi_{63} = \left( \underbrace{0, 0, \dots, 0}_{63}, 1 \right)$  përbën një shpërndarje stacionare të zinxhirit.



**Figura 2. 7:** Grafi i kalimit të gjendjeve sipas metodës *Random Order Asynchronous (ROA)* për 100 simulime përbëhet prej 64 gjendjeve dhe 478 lidhjeve. Pika fikse është gjendja 111111, ndërkohë që evidentohen edhe komponentët e lidhur më fort: 011101, 110110, 010110, 110111, 010111, 000111, 111010.

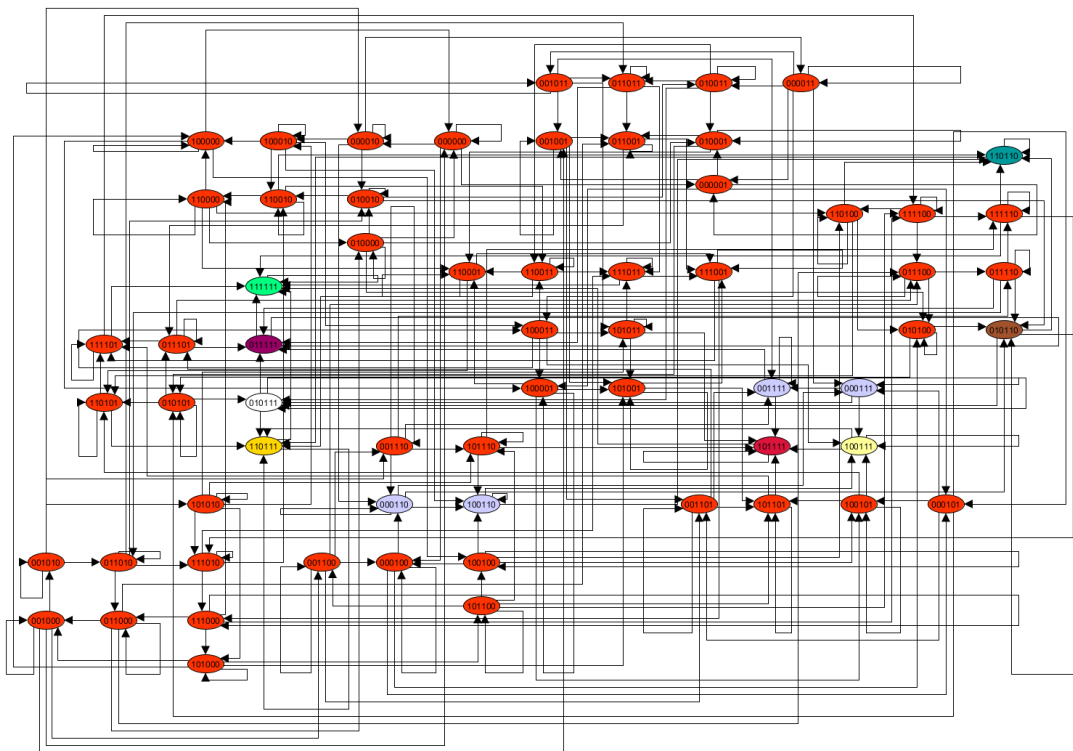
Komponentët e lidhur më fort (Strongly Connected Components - SCC) në grafën e kalimit të gjendjeve karakterizohen nga *kohë më të shkurtra absorbimi* [137] (kohët e arritjes në pikën fikse) dhe janë 011101, 110110, 010110, 110111, 010111, 000111, 111010; megjithatë çdo gjendje, duke përfshirë edhe SCC, lidhet me pikën fikse, gjë që tregon se çdo trajektore do të konvergjojë në këtë tërheqës.

### 2.3.3. Modeli asinkron i përgjithshëm (GOA)

Grafi i kalimit të gjendjeve, i gjeneruar me anë të metodës së gjenerimit të gjendjeve GA për 200 simulime, paraqitet në Figurën 2. 8 dhe përmban 64 gjendje dhe 256 lidhje. Siç vihet re, pika fikse është gjendja 111111, ndërkohë që SCC janë 110111, 111010, 011011, 110010, 110011 dhe 111011. Në krahasim me metodën ROA vërehen dy ndryshime cilësore: së pari, grafi ka më pak lidhje –

kjo shpjegohet duke u bazuar në algoritmin e metodës, sipas së cilës, në çdo hap kohor, gjenerohet gjendja pasardhëse e vetëm një nyjeje, të zgjedhur në mënyrë rastësore, ndërkohë që në metodën ROA, potencialisht, mund të gjenerohen gjendjet pasardhëse të të gjitha nyjeve (1-720, sipas permutimit të 6 nyjeve). Së dyti, grafi ka më shumë laqe vetjake (self loops), pasi, gjenerimi i gjendjes pasardhëse të vetëm një nyjeje në një hap kohor, rrit mundësinë që sistemi të mos e ndryshojë gjendjen. Numri i lartë i laqeve vetjake shpjegon edhe faktin se kohët e absorbimit të të gjitha gjendjeve në metodën GA janë më të mëdha se në metodën ROA, duke përfshirë edhe kohët e absorbimit të SCC-ve.

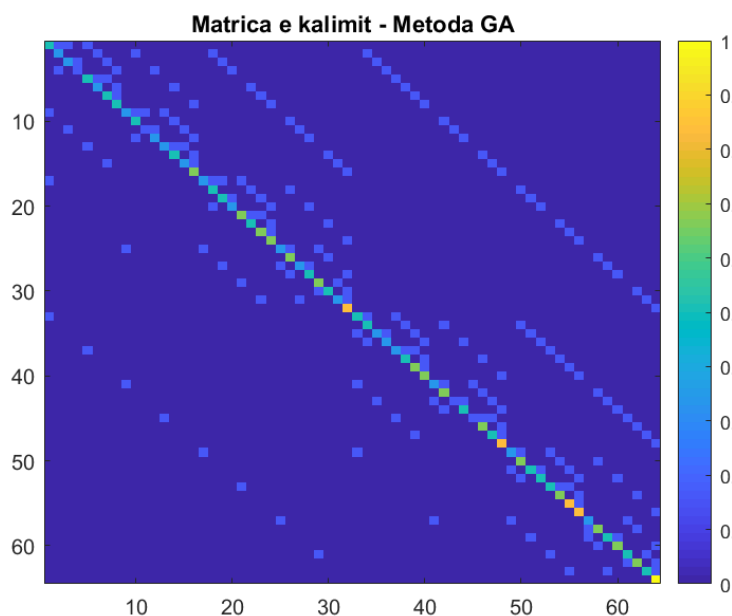
Matrica korresponduese e kalimit për grafin e kalimit të gjendjeve të Figurës 2. 8 jepet në Figurën 2. 9. Çdo element i kësaj matrice jep probabilitetin e kalimit nga një gjendje  $s_i$  ( $i = 1:64$ ) në tjetrën. Vlera e sakta të probabiliteteve jepen në materialin plotësues në fund të kapitullit. Llogaritja e tyre bazohet plotësisht në algoritmin e gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të metodës GA. Kështu, nëse nisemi nga  $(FGF23, Ca, KL, P, PTH, VD) = (1\ 1\ 1\ 0\ 1\ 1)$ , do të kemi 6 mënyra të mundshme të gjenerimit të gjendjes pasardhëse, që do t'u korrespondojnë përzgjedhjeve rastësore të një prej 6 komponentëve të sistemit (Tabela 2. 3).



**Figura 2. 8:** Grafi i kalimit të gjendjeve i gjeneruar me anë të metodës GA të gjenerimit të gjendjeve për 200 simulime përmban 64 gjendje dhe 256 lidhje. Pika fikse është gjendja 111111, ndërkohë që SCC janë 110110, 100111, 010110, 011111, 010111 dhe 110111.

**Tabela 2. 3:** Shembull i llogaritjes së probabiliteteve të kalimit, kur sistemi nisët nga gjendja 111011.

Nisur nga: 111011			
Komponenti	Ekuacioni Boolean	Gjendja pasardhëse	Probabiliteti
FGF23	1 or 1 or 0 = 1	1 1 1 0 1 1	$P_{111011 \rightarrow 111011} = \frac{2}{3}$
Ca	1 or 1 = 1	1 1 1 0 1 1	
KL	1	1 1 1 0 1 1	
P	1 or not ((1 and 1) or 1) = 1	1 1 1 1 1 1	$P_{111011 \rightarrow 111111} = \frac{1}{6}$
PTH	not (1 or (1 and 1) or 1) or 0 = 0	1 1 1 0 0 1	$P_{111011 \rightarrow 111001} = \frac{1}{6}$
VD	1 or (not (1 and 1) or not (1 or 0)) = 1	1 1 1 0 1 1	



**Figura 2. 9:** Matrica e kalimit për grafën e kalimit të gjendjeve, metoda GA.

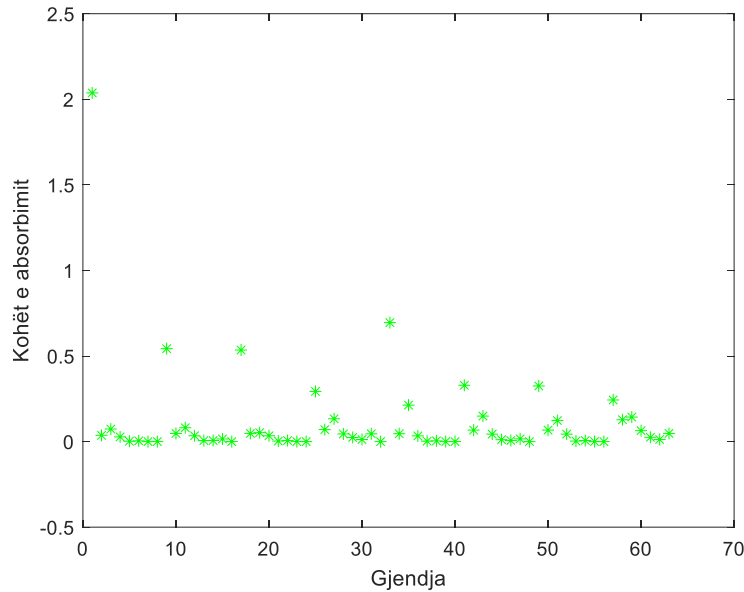
Siç është përmendur edhe në krahasimin e grafeve të kalimit të gjendjeve ndërmjet metodave ROA dhe GA, prezenca e lartë e laqeve vetjake vjen si pasojë e algoritmit të gjendjeve pasardhëse të metodës GA. Ky fakt evidentohet edhe në vlerat e probabiliteteve të kalimit: vlerat e elementëve të diagonales kryesore të matricës janë  $\geq 1/3$ . Matrica përbën një zinxhir Markovi (shuma e probabiliteteve sipas rreshtave është e barabartë me 1) dhe karakterizohet vetëm nga një gjendje absorbuese ( $s_{64} = 111111$ ). Duke u bazuar në teorinë e zinxhirëve të Markovit, të përmbledhur në paragrafin 1.5.4, matrica e kalimit (P), mund të paraqitet në formën ( $t = 63, r = 1$ )  $P = \begin{pmatrix} Q & R \\ O & I \end{pmatrix}$ , ku  $Q = P(1:63, 1:63)$ ,  $R = P(1:63, 64)$ ,  $O = P(64, 1:63)$ ,  $I = P(64, 64)$ .

Matrica themelore  $N = (I - Q)^{-1}$  jep të dhëna mbi numrin e hapave kohorë që sistemi shpenzon në gjendjet kalimtare, ndërkohë që kohët e absorbimit të

gjendjeve (Figura 2. 10) mund të llogariten sipas ekuacionit 1.19. Në Tabelën 2. 4 jepen hapat kohorë gjatë të cilëve sistemi shpenzon në gjendjet kalimtare dhe kohët e absorbimit të SCC.

**Tabela 2. 4:** Kohët e absorbimit të SCC drejt gjendjes absorbuese 111111.

SCC	110110	100111	010110	011111	010111	110111
Koha e absorbimit	0.0063	0.0453	0.0059	0	0.0062	0.0159



**Figura 2. 10:** Kohët e absorbimit të gjendjeve kalimtare drejt gjendjes absorbuese 111111.

#### 2.3.4. Modeli asinkron deterministik (DA)

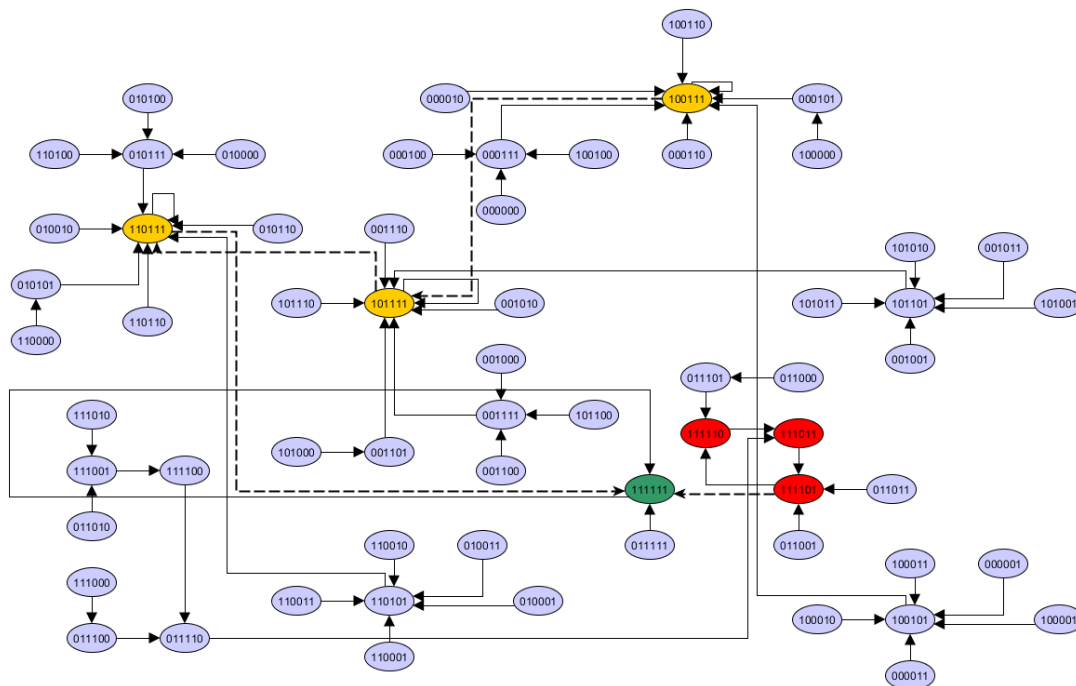
Për shkak të natyrës së saj, metoda asinkrone deterministike, u aplikua për konfigurime të ndryshme të kohëve vetjake të komponentëve të sistemit. Sipas kësaj metode, çdo komponent i sistemit do të karakterizohet nga një kohë vetjake  $t_i$  dhe gjendjet pasardhëse të tij do të merren vetëm në shumëfisha të plotë të  $\tau_i$  ( $t = \tau_i$ ). Grafi i Figurës 2. 11 i përket rastit të kohëve vetjake të dhënë sipas vektorit  $T = (\tau_{Ca}, \tau_{FGF23}, \tau_{Kl}, \tau_P, \tau_{PTH}, \tau_{VD})^T = (1, 2, 2, 1, 1, 1)^T$ ;  $[\tau] \equiv$  njësi kohore

Kjo zgjedhje vjen nga fakti se ndryshim i përqendrimit të kalciumit dhe fosfatit do të çojë në sintezën e VD dhe hormonit të paratiroides, si rregullatorët e drejtpërdrejtë të tyre. Në hapin pasardhës, ndryshimi i përqendrimit të VD dhe PTH do të çojë në sintezën e FGF23 dhe Klotho. Megjithatë, vlen të theksohet se, në secilin rast, grafi i kalimit të gjendjeve përmban pikën fikse 111111.

**Propozim:** Nëse  $\tau_{Ca} = \tau_P = \tau_{VD} = \tau_{PTH} = k, k \in \mathbb{N}$  dhe  $\tau_{FGF23} = \tau_{Kl} = 2k, k \in \mathbb{N}$ , sistemi do të ketë një tërheqës ciklik me periodë 3.

**Vërtetim:** Për thjeshtësi, konsiderojmë një prej nyjeve të ciklit limit, të paraqitur në Figurën 2. 11. Supozojmë se, në çastin fillestar, sistemi ndodhet në gjendjen 111101 (PTH=0). Në  $t = 1$ , për FGF23 dhe Kl nuk do të gjenerohen gjendjet pasardhëse dhe do të qendrojnë në gjendjen 1. Në  $t = 2$ , do të gjenerohen gjendjet pasardhëse të të gjitha nyjeve të sistemit: aktivizimi i FGF23 dhe Klotho do të bëjë që sistemi të kalojë në gjendjen 111110. Në hapin pasardhës,  $t = 3$ , aplikimi i rregullave Booleane në nyjet Ca, P, PTH dhe VD, tregon se sistemi kalon në gjendjen 111101. Në  $t = 4$ , aktivizimi i FGF23 dhe Kl e çon serish sistemin në gjendjen fillestare. □

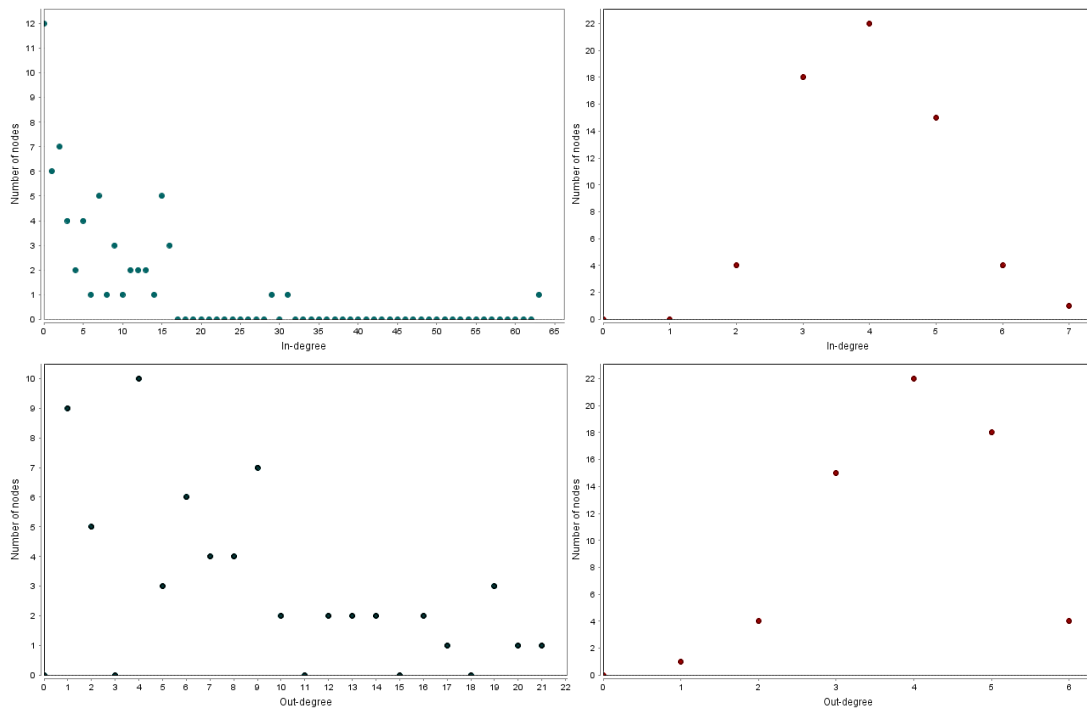
Nga krahasimi i Figurës 2. 7 dhe Figurës 2. 11, vërejmë se grafi i kalimit të gjendjeve për modelin ROA është më i dendur se grafi përkatës i modelin DA. Kjo vjen nga fakti se, në modelin ROA, për shkak të rrethave rastësore të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse, çdo gjendje karakterizohet nga një numër i madh lidhjesh dalje, ndërkohë që në Figurën 2. 11, vetëm 4 nyje kanë **outdegree = 2**. Prezenca e laqeve në Figurën 2. 11 shpjegohet nga fakti se në çaste të caktuara kohore sistemi mbetet në atë gjendje, për shkak të mungesës së gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të nyjeve të caktuara.



**Figura 2. 11:** Grafi i kalimit të gjendjeve i gjeneruar me anë të metodës asinkrone deterministike. Nyjet me ngjyrë të kuqe paraqesin një cikël limit me periodë 3, nyjet me ngjyrë të verdhë paraqesin pika fikse lokale, nga të cilat sistemi del nën veprimin e perturbimeve të jashtme/brendshme (lidhjet me vijë të ndërprerë), nyja me ngjyrë jeshile paraqet pikën fikse globale të sistemit.

Në këtë hap, vlen të krahasohen ciklet limite të gjeneruara nëpërmjet metodës sinkrone (në të cilën të gjitha kohët e gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të nyjeve

janë të barabarta) dhe metodës DOA (në të cilën çdo nyje karakterizohet nga një kohë vetiake). Siç është përmendur në paragrafin 2.3.1, tërheqësi ciklit i sistemit në metodën sinkrone përbëhet nga gjendjet  $111110 \rightarrow 110011 \rightarrow 111101$ , ndërkohë që në metodën DOA cikli limit përbëhet nga gjendjet  $111110 \rightarrow 111011 \rightarrow 111101$ <sup>16</sup>. Krahasimi i dy bashkësive të gjendjeve tregon për një ndryshim vetëm në vlerën binare të Klotho, në gjendjen e dytë (0 në metodën sinkrone, 1 në metodën DOA). Ky ndryshim vjen si pasojë e supozimit që koha vetiake e gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të Klotho është  $2\tau_{VD}$ , që është rregullatori i vetëm i Klotho. Kjo bën që, duke filluar nga  $VD=0$  ( $t = 0$ ), në hapin pasardhës ( $t = 1$ ), të mos gjenerohet gjendja pasardhëse e Klotho, por vetëm në  $2k\tau_{VD}$ ,  $k \in N$ .



**Figura 2. 12:** Shpërndarja e numrit të lidhjeve hyrëse (In-degree) dhe dalëse (Out-degree) për grafën e kalimit të gjendjeve sipas metodës ROA (majtas) dhe GA (djathtas). Siç vihet re, në metodën GA gjendjet karakterizohen nga një numër shumë më i vogël lidhjesh hyrëse dhe dalës, për shkak të algoritmit të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse të nyjeve.

Krahasimi i dy tërheqësve ciklikë shpie në një rezultat të rëndësishëm: njohja e kohëve karakteristike të gjenerimit të gjendjeve të nyjeve çon në një vlerësim të saktë të tërheqësve ciklikë, të cilët, biologjikisht, përshkruajnë gjendje të caktuara fiziologjike lëkundëse, gjerësisht të ndeshura në sistemet reale [138] [139].

<sup>16</sup> Kujtojmë që renditja e komponentëve në paraqitjen e gjendjeve është: Ca, FGF23, KL, P, PTH, VD.

### 2.3.5. Perturbimi i nyjeve

Testimi i modelit Boolean synon qëndrueshmërinë e zgjidhjes së përftuar në kushtet e perturbimit të nyjeve dhe/ose ndryshimit të rregullave Booleane. Për këtë qëllim, fillimisht testohet qëndrueshmëria e zgjidhjes nga përdorimi i operatorit OR dhe AND: megjithëse nga literatura është e qartë se FGF23 vepron mbi komponentët e tjerë me efekt aktivizues ose inhibues vetëm nëse Klotho është i shprehur (pra, veprimi aktivizues/inhibues vërehet vetëm nëse të dy komponentët janë ON (1)) testojmë zgjidhjen e sistemit nëse zëvendësohet AND me OR. Në fakt, rezultatet e simulimeve tregojnë për një efekt shumë të vogël të ndryshimit në sjelljen e sistemit: pika fikse është 111111 dhe baseni i tërheqjes së saj përbëhet nga 34% të gjendjeve, ndërkohë që vërehet një cikël limit me periudë 3 (110011 – 111101 – 111110). Në mënyrë të ngjashme, edhe SCC rezulton të mos kenë ndryshime të mëdha: simulimet numerike me metodën ROA dhe GA japin të pothuaj të njëjtin rezultat: hapësira e gjendjeve shfaq 6 SCC (110110, 100111, 010110, 011111, 010111 dhe 110111), ndërkohë që shpërndarja e in- dhe out-degree ndryshon cilësisht, për shkak të algoritmeve të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse (Figura 2. 12).

Situata ndryshon tërësisht nëse operatorët OR zëvendësohen me AND: si pasojë e prezencës së shumë laqeve negative, siç pritej, pika fikse është 000000, që i korrespondon gjendjes në të cilën të gjithë komponentët e rrjetit ndodhen në gjendjen (OFF).

## 2.4. Një tjetër pikë kritike: përcaktimi i saktë i funksioneve Booleane

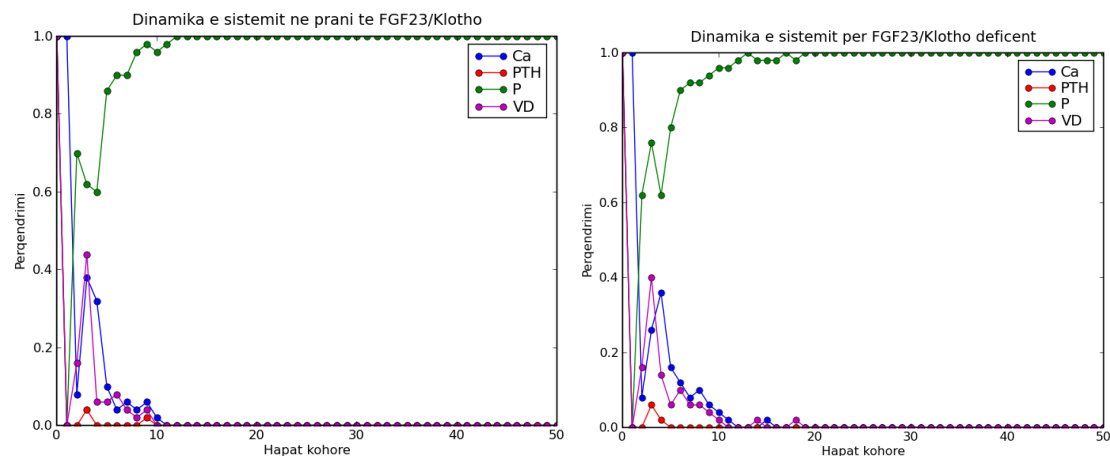
Megjithë thjeshtësinë e përdorimit, modeli Boolean shfaq një ndjeshmëri të lartë nga ndryshimi i rregullave Booleane në funksionet e gjenerimit të gjendjeve për secilin komponent. Vështirësia e këtij procesi vjen nga dy burime kryesore: *së pari*, ngatërrimi ndërmjet veprimeve të drejtpërdrejta dhe të tërthorta ndërmjet komponentëve. Dallimi ndërmjet dy llojeve të ndërveprimeve paraqet rëndësi të veçantë, sidomos në rrjetat me një numër të vogël komponentësh ndërveprues dhe në rrjetat me largësi mesatare të vogël (në të cilat sistemi sillet si një ansambël termodinamik ku çdo komponent ndërvepron me çdo komponent tjetër në sistem). Në modelin Boolean është e rëndësishme të evidentohen rregullatorët e *drejtpërdrejtë* të secilit komponent; në rast të përfshirjes edhe të rregullatorëve të tërthortë, sistemi bie pre e rregullave kontradiktore të gjenerimit të gjendjeve. *Së dyti*, përcaktimi i përzgjedhjes ndërmjet operatorit OR dhe AND pasqyrohet në sjellje cilësisht të ndryshme të sistemit dhe, rrjedhimisht, edhe në llojin dhe natyrën e tërheqësit në sjelljen afatgjatë. Për të tejkaluar këtë vështirësi është e rëndësishme të përcaktohen cilat ndërprime klasifikohen si detyruese (që

kërkojnë përdorimin e operatorit AND) dhe cilat jo (për të cilat mund të përdoret operatori OR). Është e qartë se përcaktimi i dy llojeve të ndërveprimeve kërkon përdorimin e informacioneve të detajuara teorike dhe eksperimentale, siç është analizuar në paragrafin 1.5.2.

Për rrjetin e rolit të Klotho në rregullimin e homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, në një hap të parë, u ndërtuan funksionet Booleane, si në Tabelën 2. 5. Nga krahasimi i funksioneve Booleane me funksionet e dhëna në Tabelën 2. 1, vihet re përdorimi i operatorit OR për veprimin e aksit FGF23/Klotho, si dhe një veprim i pavarur i Klotho në rregullimin e përqendrimit të kalciumit. Zbatimi i këtyre rregullave tregon se sistemi arrin pikën fikse në gjendjen 010100, në të cilën, vetëm FGF23 dhe PTH janë në gjendjen ON.

**Tabela 2. 5:** Rregullat Booleane të gjenerimit të gjendjeve të rrjetit me 6 nyje të rregullimit të kalciumit dhe fosfatit, në hapin e parë të studimit.

Nyja	Funksioni Boolean
Kalcium	$Ca^* = VD \text{ or } Klotho \text{ and } PTH$
FGF23	$FGF23^* = PTH \text{ or } VD \text{ or } Phosphate$
Klotho	$Klotho^* = VD$
PTH	$PTH^* = \text{not } (VD \text{ or } Calcium \text{ and } FGF23)$
Fosfat	$P^* = VD \text{ and not } (Klotho \text{ or } FGF23) \text{ and not } PTH$
VD	$VD^* = PTH \text{ and not } (FGF23 \text{ or } Klotho)$



**Figura 2. 13:** Dinamika e rrjetit të rregullimit të homeostazës në kushte normale (majtas) dhe FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>, sipas funksioneve të Tabelës 2. 5.

Simulimi i dinamikës së sistemit në kushtet normale dhe FGF23/Klotho<sup>-/-</sup> në këtë rast, japin rezultatet e paraqitura në Figura 2. 13. Rezultatet mbi pikën fikse dhe

sjelljen e sistemit në kushte normale dhe deficiente paraqet disa pasaktësi. *Së pari*, biologjikisht, pika fikse 010100 paraqet një gjendje fiziologjike joreale: në organizmat e gjallë, në një gjendje normale komponentët janë të gjithë prezentë, të paraqitur nëpërmjet gjendjes ON (1). *Së dyti*, grafikët e Figura 2. 12, në kushte normale dhe FGF23/Klotho<sup>-/-</sup> tregojnë se rregullat Booleane të Tabela 2. 5 nuk arrijnë të evidentojnë ndryshimin në gjendjet e sistemit në kushtet e pranisë apo deficiencës së kompleksit FGF23/Klotho, që vjen si pasojë e përdorimit të operatorit OR në veprimin FGF23/Klotho.

Rezultat e mësipërme theksojnë rëndësinë e madhe të përdorimit të informacioneve eksperimentale dhe teorike mbi sjelljen e sistemit në kushte të ndryshme perturbative dhe/ose mutante, në mënyrë që të përftohet në model i saktë Boolean.

## 2.5. Rezultate

Në këtë kapitull u paraqit sjellja afatgjatë e rrjetit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit në organizëm, duke zbatuar një metodë sinkrone të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse dhe tri metoda asinkrone: Metoda Asinkrone e Rastit, Metoda Asinkrone e Përgjithshme dhe Metoda Asinkrone Deterministike. Për secilën prej metodave u krye analiza e tërheqësve të hapësirës së gjendjeve, duke konsideruar çdo gjendje të mundshme fillestare, si dhe gjendjeve mutante të FGF23/Klotho<sup>-/-</sup> (FGF23=False, Klotho=False) (Figura 2. 4, djathtas). Megjithëse rrjeti i plotë biologjik përmban një numër më të madh komponentësh dhe reaksionesh biologjike, aplikimi i rregullave të reduktimit të rrjetit çon në reduktimin e rrjetit në 6 komponentë kryesorë, të fokusuar në rolin e FGF23, Klotho, VD dhe PTH në rregullimin e kalciumit dhe fosfatit. Ndërtimi i rregullave Booleane konsiston në ndërtimin e funksioneve të gjenerimit të gjendjeve në çdo hap kohor, funksione të cilat duhet të përshkruajnë gjendje fiziologjike reale. Për këtë arsye, sistemi i funksioneve Booleane u testua në kushtet e deficiencës së komponentëve, në veçanti, në kushtet e deficiencës së FGF23/Klotho. Rezultatet numerike të rastit të fundit tregojnë se, në kushtet e FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>, sistemi shkon drejt një gjendjeje stacionare të karakterizuar nga hiperkalcemia dhe hiperfosfatemia, në përputhje me rezultatet eksperimentale.

Multi-stabiliteti (ekzistenca e më shumë se 1 gjendjeje të qëndrueshme) përbën një veti të brendshme të një numri të madh rrjetash biologjike, e cila lidhet me praninë e laqeve pozitive dhe negative [140]: prezenca e laqeve pozitive në ndërveprimet midis komponentëve të rrjetit është e domosdoshme për ekzistencën e multi-stabilitetit, ndërkohë që prezenca e laqeve negative është e domosdoshme për shfaqjen e lëkundjeve (cikleve limite). Rrjeti i homeostazës së kalciumit dhe

fosfatit nga kompleksi FGF23-Klotho karakterizohet nga prezenca e të dy llojeve të laqeve, ndaj stabiliteti i tij karakterizohet nga prezenca e një pike fikse dhe e një cikli limit.

Teoria e zinxhirëve të Markovit është përdorur gjerësisht në modelet Booleane probabilistike, në rastin e prezencës së papërcaktueshmërisë së rregullave Booleane të gjenerimit të gjendjeve. Në analizën tonë zinxhirët e Markovit përdoren për të dhënë informacione më të detajuara të dinamikës së sistemit: probabilitetet e kalimit nga një gjendje në tjetrën dhe kohët e absorbimit për secilën gjendje dhe SCC. Kjo analizë e detajuar tregon se metoda asinkrone e gjenerimit të gjendjeve pasardhëse siguron rezultate më të plota, në kushtet kur jo të gjithë reaksionet e bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve ndodhin në të njëjtën kohë (metoda sinkrone) ose kur ekziston njohuri e plotë e kohëve vetjake të secilit reaksion (metoda deterministike).

Ky studim evidenton rëndësinë e modelit Boolean të dinamikës së sistemeve biologjike, si një metodë identifikimi të sjelljes perturbative të sistemit dhe pasojave fiziologjike në organizmat e gjallë. Ky përfrim jep të dhëna të hollësishme mbi grafën e kalimit të gjendjeve, tërheqësve dhe basenëve korrespondues të tërheqjes, si dhe frekuencave të trajektoreve që të çojnë drejt këtyre tërheqësve. Mbi të gjitha, studimi paraqet një zbatim të modelimit Boolean në sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, si një rast studimor mes shumë rrjetave të tjera biologjike të transmetimit të sinjaleve, të studiuara me sukses me anë të këtyre modeleve.

## Material plotësues për Kapitullin II

Vlerat e probabiliteteve të kalimit për metodën GA të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse (Figura 2.9)

```
P=zeros(64,64);
P(1,1)=1/2; P(1,5)=1/6; P(1,3)=1/6; P(1,2)=1/6;
P(2,2)=1/3; P(2,34)=1/6; P(2,18)=1/6; P(2,10)=1/6; P(2,6)=1/6;
P(3,3)=1/3; P(3,4)=1/6; P(3,7)=1/6; P(3,19)=1/6; P(3,35)=1/6;
P(4,4)=1/6; P(4,12)=1/6; P(4,36)=1/6; P(4,20)=1/6; P(4,2)=1/6;
P(4,8)=1/6;
P(5,5)=1/2; P(5,6)=1/6; P(5,7)=1/6; P(5,37)=1/6;
P(6,6)=1/3; P(6,8)=1/6; P(6,14)=1/6; P(6,22)=1/6; P(6,38)=1/6;
P(7,7)=1/2; P(7,8)=1/6; P(7,23)=1/6; P(7,39)=1/6;
P(8,8)=1/2; P(8,16)=1/6; P(8,24)=1/6; P(8,40)=1/6;
P(9,9)=1/3; P(9,1)=1/6; P(9,10)=1/6; P(9,11)=1/6; P(9,13)=1/6;
P(10,10)=1/2; P(10,14)=1/6; P(10,26)=1/6; P(10,42)=1/6;
P(11,11)=1/6; P(11,3)=1/6; P(11,12)=1/6; P(11,15)=1/6;
P(11,27)=1/6; P(11,43)=1/6;
P(12,12)=1/3; P(12,10)=1/6; P(12,16)=1/6; P(12,28)=1/6;
P(12,44)=1/6;
P(13,13)=1/3; P(13,5)=1/6; P(13,14)=1/6; P(13,15)=1/6;
P(14,14)=1/2; P(14,16)=1/6; P(14,30)=1/6; P(14,46)=1/6;
P(15,15)=1/3; P(15,7)=1/6; P(15,16)=1/6; P(15,31)=1/6;
P(15,47)=1/6;
P(16,16)=2/3; P(16,32)=1/6; P(16,48)=1/6;
P(17,17)=1/3; P(17,1)=1/6; P(17,18)=1/6; P(17,19)=1/6;
P(17,21)=1/6;
P(18,18)=1/2; P(18,22)=1/6; P(18,26)=1/6; P(18,50)=1/6;
P(19,19)=1/2; P(19,20)=1/6; P(19,23)=1/6; P(19,51)=1/6;
P(20,20)=1/3; P(20,18)=1/6; P(20,24)=1/6; P(20,28)=1/6;
P(20,52)=1/6;
P(21,21)=2/3; P(21,22)=1/6; P(21,23)=1/6;
P(22,22)=1/2; P(22,24)=1/6; P(22,30)=1/6; P(22,54)=1/6;
P(23,23)=2/3; P(23,24)=1/6; P(23,55)=1/6;
P(24,24)=2/3; P(24,32)=1/6; P(24,56)=1/6;
P(25,25)=1/3; P(25,9)=1/6; P(25,17)=1/6; P(25,26)=1/6;
P(25,29)=1/6;
P(26,26)=2/3; P(26,30)=1/6; P(26,58)=1/6;
P(27,27)=1/3; P(27,19)=1/6; P(27,25)=1/6; P(27,28)=1/6;
P(27,59)=1/6;
P(28,28)=1/2; P(28,26)=1/6; P(28,32)=1/6; P(28,60)=1/6;
P(29,29)=2/3; P(29,21)=1/6; P(29,31)=1/6;
P(30,30)=1/2; P(30,29)=1/6; P(30,32)=1/6; P(30,62)=1/6;
P(31,31)=1/3; P(31,23)=1/6; P(31,27)=1/6; P(31,32)=1/6;
P(31,63)=1/6;
P(32,32)=5/6; P(32,64)=1/6;
P(33,33)=1/2; P(33,1)=1/6; P(33,34)=1/6; P(33,37)=1/6;
P(34,34)=1/2; P(34,38)=1/6; P(34,42)=1/6; P(34,50)=1/6;
P(35,35)=1/3; P(35,33)=1/6; P(35,36)=1/6; P(35,39)=1/6;
P(35,51)=1/6;
P(36,36)=1/3; P(36,34)=1/6; P(36,40)=1/6; P(36,44)=1/6;
P(36,52)=1/6;
```

$P(37, 37)=1/3$ ;  $P(37, 5)=1/6$ ;  $P(37, 38)=1/6$ ;  $P(37, 39)=1/6$ ;  
 $P(37, 53)=1/6$ ;  
 $P(38, 38)=1/2$ ;  $P(38, 40)=1/6$ ;  $P(38, 46)=1/6$ ;  $P(38, 54)=1/6$ ;  
 $P(39, 39)=2/3$ ;  $P(39, 40)=1/6$ ;  $P(39, 55)=1/6$ ;  
 $P(40, 40)=2/3$ ;  $P(40, 48)=1/6$ ;  $P(40, 56)=1/6$ ;  
 $P(41, 41)=1/3$ ;  $P(41, 9)=1/6$ ;  $P(41, 33)=1/6$ ;  $P(41, 42)=1/6$ ;  
 $P(41, 45)=1/6$ ;  
 $P(42, 42)=2/3$ ;  $P(42, 46)=1/6$ ;  $P(42, 58)=1/6$ ;  
 $P(43, 43)=1/6$ ;  $P(43, 35)=1/6$ ;  $P(43, 41)=1/6$ ;  $P(43, 44)=1/6$ ;  
 $P(43, 47)=1/6$ ;  $P(43, 59)=1/6$ ;  
 $P(44, 44)=1/2$ ;  $P(44, 42)=1/6$ ;  $P(44, 48)=1/6$ ;  $P(44, 60)=1/6$ ;  
 $P(45, 45)=1/6$ ;  $P(45, 13)=1/6$ ;  $P(45, 37)=1/6$ ;  $P(45, 46)=1/6$ ;  
 $P(45, 47)=1/6$ ;  $P(45, 61)=1/6$ ;  
 $P(46, 46)=2/3$ ;  $P(46, 48)=1/6$ ;  $P(46, 62)=1/6$ ;  
 $P(47, 47)=1/2$ ;  $P(47, 39)=1/6$ ;  $P(47, 48)=1/6$ ;  $P(47, 63)=1/6$ ;  
 $P(48, 48)=5/6$ ;  $P(48, 64)=1/6$ ;  
 $P(49, 49)=1/3$ ;  $P(49, 17)=1/6$ ;  $P(49, 33)=1/6$ ;  $P(49, 50)=1/6$ ;  
 $P(49, 53)=1/6$ ;  
 $P(50, 50)=2/3$ ;  $P(50, 54)=1/6$ ;  $P(50, 58)=1/6$ ;  
 $P(51, 51)=1/2$ ;  $P(51, 49)=1/6$ ;  $P(51, 52)=1/6$ ;  $P(51, 55)=1/6$ ;  
 $P(52, 52)=1/2$ ;  $P(52, 50)=1/6$ ;  $P(52, 56)=1/6$ ;  $P(52, 60)=1/6$ ;  
 $P(53, 53)=1/2$ ;  $P(53, 21)=1/6$ ;  $P(53, 54)=1/6$ ;  $P(53, 55)=1/6$ ;  
 $P(54, 54)=2/3$ ;  $P(54, 56)=1/6$ ;  $P(54, 62)=1/6$ ;  
 $P(55, 55)=5/6$ ;  $P(55, 56)=1/6$ ;  
 $P(56, 56)=5/6$ ;  $P(56, 64)=1/6$ ;  
 $P(57, 57)=1/3$ ;  $P(57, 25)=1/6$ ;  $P(57, 41)=1/6$ ;  $P(57, 49)=1/6$ ;  
 $P(57, 61)=1/6$ ;  
 $P(58, 58)=2/3$ ;  $P(58, 57)=1/6$ ;  $P(58, 62)=1/6$ ;  
 $P(59, 59)=1/2$ ;  $P(59, 51)=1/6$ ;  $P(59, 57)=1/6$ ;  $P(59, 60)=1/6$ ;  
 $P(60, 60)=2/3$ ;  $P(60, 58)=1/6$ ;  $P(60, 64)=1/6$ ;  
 $P(61, 61)=1/2$ ;  $P(61, 29)=1/6$ ;  $P(61, 53)=1/6$ ;  $P(61, 63)=1/6$ ;  
 $P(62, 62)=2/3$ ;  $P(62, 61)=1/6$ ;  $P(62, 64)=1/6$ ;  
 $P(63, 63)=1/2$ ;  $P(63, 55)=1/6$ ;  $P(63, 59)=1/6$ ;  $P(63, 64)=1/6$ ;  
 $P(64, 64)=1$ ;

**Kohët e absorbimit të gjendjeve kalimtare drejt gjendjes absorbuese (Figura 2.10)**

$$\begin{aligned}
 & t_{abs} \\
 & = [2.0373 \ 0.0364 \ 0.0732 \ 0.0276 \ 0.0022 \ 0.0041 \ 0.0000 \ 0.0000 \ 0.5430 \ 0.0477 \ 0.0810 \ 0.0340 \\
 & \quad 0.0059 \ 0.0062 \ 0.0153 \ 0.5351 \ 0.0477 \ 0.0523 \ 0.0340 \ 0.0031 \ 0.0062 \ 0.0000 \ 0.0000 \ 0.2931 \\
 & \quad 0.0700 \ 0.1333 \ 0.0446 \ 0.0242 \ 0.0122 \ 0.0453 \ 0 \ 0.6952 \ 0.0461 \ 0.2129 \ 0.0333 \ 0.0024 \ 0.0042 \\
 & \quad 0.0000 \ 0.0000 \ 0.3291 \ 0.0670 \ 0.1490 \ 0.0436 \ 0.0111 \ 0.0063 \ 0.0159 \ 0 \ 0.3251 \ 0.0670 \ 0.1229 \\
 & \quad 0.0436 \ 0.0031 \ 0.0063 \ 0.0000 \ 0.0000 \ 0.2431 \ 0.1278 \ 0.1433 \ 0.0639 \ 0.0250 \ 0.0125 \ 0.0478]^T
 \end{aligned}$$

## KAPITULLI III

### Modelet Hibrade të Rrjetave Biologjike Rregullatore

---

#### 3.1.Hyrje

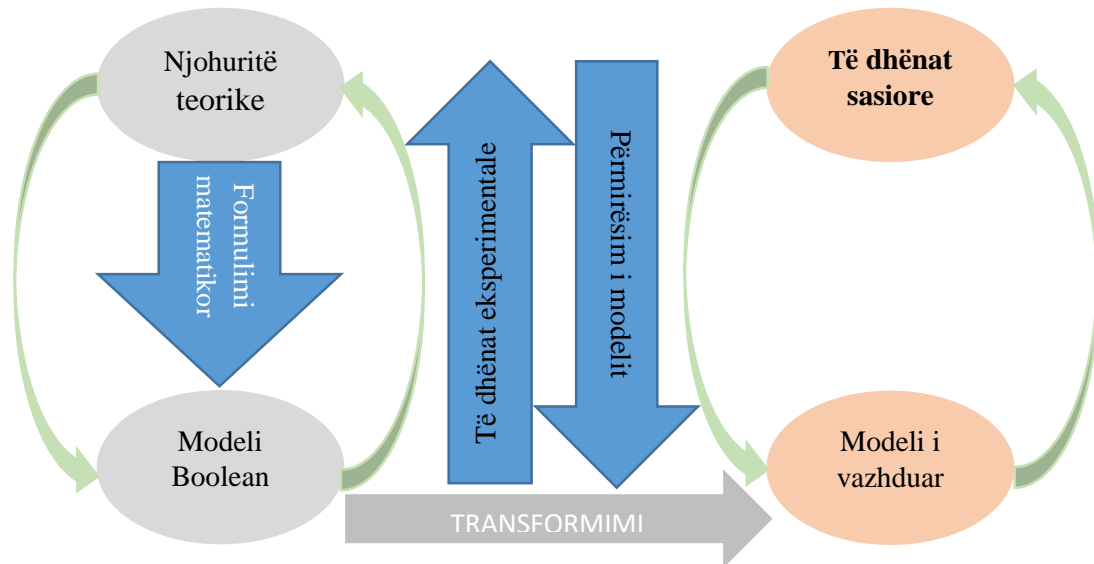
Modelet Booleane të studimit të dinamikës dhe stabilitetit të sistemeve biokimike sigurojnë vetëm rezultate cilësore të sjelljes së sistemit, duke anashkaluar shpesh shumë procese dhe komponente të ndërmjetme [141]. Nga ana tjetër, ndërtimi i një modeli të plotë, që të sigurojë rezultate të detajuara të sjelljes së sistemit, kërkon njohuri cilësore dhe sasiore mbi natyrën e të gjithë komponentëve biokimikë dhe reaksioneve ndërmjet tyre. Modele të tilla, shpesh të paraqitura me anë të një sistemi ekuacionesh diferenciale të kinetikës së përqendrimeve – *modelet e vazhduara* – janë pothuajse të pamundur, edhe për sisteme me pak elementë. Kërkesa për gjenerimin e sa më shumë informacioni specifik të sjelljes së sistemeve biokimike rezulton në ndërtimin e modeleve të ndryshme, duke filluar nga modelet Booleane/logjike, të cilët nuk kërkojnë informacione mbi kinetikën e sistemit, në modelet e vazhduara, të cilët kërkojnë njohuri të plotë të kinetikës.

Relacionet funksionale që përshkruajnë ndërveprimet në sistemet biologjike rregullatore variojnë nga kinetika e thjeshtë *Michaelis – Menten*, në funksionet jo-monotonikë të inhibimit të substrateve. Ndërmjet tyre gjithnjë e më shumë evidentohen rastet kur *funksionet sigmoide* – si *funksionet e Hill-it* – përshkruajnë më së miri reaksionet e bashkëveprimit ndërmjet komponenteve të një sistemi biologjik. Megjithëse përqendrimi i komponentëve ndryshon në mënyrë të vazhduar në lidhje me kohën, kurbat e të dhënave dalëse – hyrëse mund të përafrohen mjaft mirë me funksionet shkallë. Ky përafrim çoi në lidhjen e modeleve hibrade, në të cilët shpejtësitë e sintezës përshkruhen me anë të funksioneve logjike, ndërsa shpejtësitë e zërthimit përshkruhen me anë të funksioneve lineare [142].

Modelet hibride, fillimisht të prezantuara nga Glass më 1975 [31] për studimin e varësisë së dinamikës së sintezës së enzimës galaktozidasë në *E.Coli* nga përqendrimi i laktozës, të propozuar nga Jacob dhe Monod (1961) [71]. Këto modele u ideuan si modele të lidhura ngushtë me modelet Booleane për të gjeneruar një model gjysmë-të vazhduar të një sistemi rregullator, në kushtet e mungesës së informacionit të plotë biokimik, me qëllimin kryesor shpjegimin e rezultateve eksperimentale nga ana cilësore dhe sasiore (Figura 3. 1). Sipas këtyre modeleve, variablat e ekuacioneve pjesë-pjesë diferenciale (piecewise-linear differential equations – në vazhdim, PLDE) paraqesin përqendrimet e proteinave të koduara nga gjenet përkatëse, ndërsa ekuacionet diferenciale përshkruajnë ndërveprimet rregulluese, të përafruara si *funksione shkallë* [143]. Megjithatë, ky përafrim paraqet vështirësi matematike, pasi fusha vektoriale e PLDE nuk është e përcaktuar në zonat ku një prej variablave ndodhet në zonën diskrete (zona e kalimit), e njohur ndryshe si zona *prag* [144]. Megjithë këtë, modelet hibride janë përdorur me sukses për studimin e dinamikës së sistemeve të ndryshme rregullatore si: aktivizimi i qelizave T nga Wittmann et al [141] [145], sistemi imunitar ndaj leucemisë LGL nga Saadatpour dhe Albert [142], etj, ndërkohë që simulimet numerike të këtyre modeleve janë implementuar në software si Genetic Network Analyzer [146], BooleanNet [80], paketa phaseR [147], etj.

Krahasimi i modeleve diskrete (Booleane) dhe hibride mund të sigurojë informacione të natyrave dhe niveleve të ndryshme. Përkthimi i rezultateve nga një model në tjetrin çoi në lindjen e metodologjive krahasuese. Kështu, Chaves et al [148] propozuan një metodë për krahasimin e modeleve hibride dhe Booleane, duke u nisur nga një model hibrid; Wittmann et al [141] krahasuan dy modelet për të studiuar konvergencën e rezultateve nga të dy modelet, duke i aplikuar në sistemin e aktivizimit të qelizave T. Ata vërejtën se modelet hibride shfaqin gjendje stacionare të cilat nuk vërehen në modelet diskrete. Studime të ngjashme janë kryer edhe në [149], [150], etj.

Në këtë kapitull parashtrohen metodat kryesore të kalimit nga një formulim diskret Boolean, në një formulim gjysmë të vazhduar të një sistemi biokimik: *modelet hibride*. Më tej, këto modele aplikohen në rrjetin e sistemit të rregullimit të kalciumit dhe fosfatit, të parashtruar në Kapitullin II. Rezultatet numerike të përfuara krahasohen me ato të përfuara në modelin diskret. Qëllimi i këtij studimi është evidentimi i atyre vetive të sistemit, të cilat nuk mund të kapen nga modeli Boolean.



**Figura 3. 1:** Skema e përgjithshme e kalimit nga një model diskret, në një model të vazhduar. Përshtatur nga [141].

Një pjesë e rezultateve numerike të paraqitura në këtë kapitull janë publikuar në [151].

### 3.2. Përgjithësim i kalimit nga një model diskret në një model të vazhduar

Në studimin e dinamikës së sistemeve jolineare, integrimi numerik i ekuacione jolineare tregon se ka një ngjashmëri të lartë ndërmjet strukturës logjike të një rrjete diskrete dhe kalimeve në një hapësirë fazore diskrete [31] [144]. Në sistemet biologjike rregullatorë, varësia e shpejtësisë së sintezës së një komponenti të sistemit nga përqendrimi i rregullatorëve të tij jepet, në trajtë të përgjithshme, me anë të funksionit:

$$\frac{d\bar{x}_i}{dt} = \lambda_i f_i(\bar{x}_1 \bar{x}_2 \dots \bar{x}_N) - \gamma_i \bar{x}_i, i = 1, 2 \dots N \quad (3.1)$$

ku  $\lambda_i$  dhe  $\gamma_i$  janë, përkatësisht, shpejtësitë e sintezës dhe zbërthimit të komponentit  $X_i$  ndërsa funksionet  $f_i(\mathbf{x}) : \mathbb{R}_+^N \rightarrow \mathbb{R}_+$  paraqesin varësinë e shpejtësive të sintezës së një komponenti  $X_i$  nga komponentët e tjerë në sistem. Përqendrimet jo negative dhe të vazhduara  $\bar{x}_i$ , në mjaft raste, ndjekin një kurbë sigmoidale, të shprehur me anë të funksionit të Hill-it:

$$f_i^H = \frac{\lambda_i \bar{x}_i^{n_i}}{\theta_i^{n_i} + \bar{x}_i^{n_i}} \quad (3.2)$$

ku  $\theta_i$  ( $\theta_i < \lambda_i/\gamma_i$ ) përbën një përqendrim *prag* ndërsa  $n_i$  është koeficienti i Hill-it i komponentit  $X_i$ . Për shkak të kësaj sjelljeje me hop, funksionet  $f_i$  përafrohen me

funksionet Booleane  $F_i$ , ndërsa përqendrimet e vazhduara  $\bar{x}_i$  zëvendësohen me analogët e tyre logjikë  $x_i$ ; në këtë mënyrë, ekuacioni (3.1) shkruhet

$$\frac{dx_i}{dt} = \lambda_i F_i(\bar{x}_1 \bar{x}_2 \dots \bar{x}_N) - \gamma_i \bar{x}_i, i = 1, 2 \dots N \quad (3.3)$$

ku  $F_i(x): \mathbb{R}_+^N \rightarrow \{0, 1\}$  është funksioni Boolean i rregullimit të sintezës së komponentit  $X_i$ . Funksionet  $F_i(x)$  japin kushtet nën të cilët komponenti  $X_i$  prodhohet me shpejtësi sinteze  $\lambda_i$ ; këto kushte mund të paraqiten si kombinim i funksioneve shkallë  $s^+, s^-: X \times \mathbb{R}_+^N \rightarrow \{0, 1\}$ , ku

$$s^+(x_i, \theta_i) = \begin{cases} 1, & x_i > \theta_i \\ 0 & x_i < \theta_i \end{cases}, s^-(x_i, \theta_i) = 1 - s^+(x_i, \theta_i) \quad (3.4)$$

Kështu, nëse në një çast kohe  $t$ ,  $x_i < \theta_i$  dhe  $F_i = 0$ , atëherë  $\dot{x}_i < 0$  dhe  $x_i$  do të qëndrojë gjithnjë më i vogël se  $\theta_i$ . Në të kundërt, nëse  $F_i = 1$ , atëherë  $\dot{x}_i > 0$  dhe  $x_i$  mund të kalojë vlerën e përqendrimit prag. Për analogji me këtë model, ekuacioni (3.3) shkallëzohet në intervalin  $[0, 1]$ , duke supozuar se  $\max x_i = \alpha_i = \frac{\lambda_i}{\gamma_i} > \theta_i$ ; në këtë mënyrë, çdo komponent do të karakterizohet nga një parametër sinteze-zbërthimi:

$$\frac{dx_i}{dt} = \alpha_i (F_i(\bar{x}_1 \bar{x}_2 \dots \bar{x}_N) - \bar{x}_i), i = 1, 2 \dots N \quad (3.5)$$

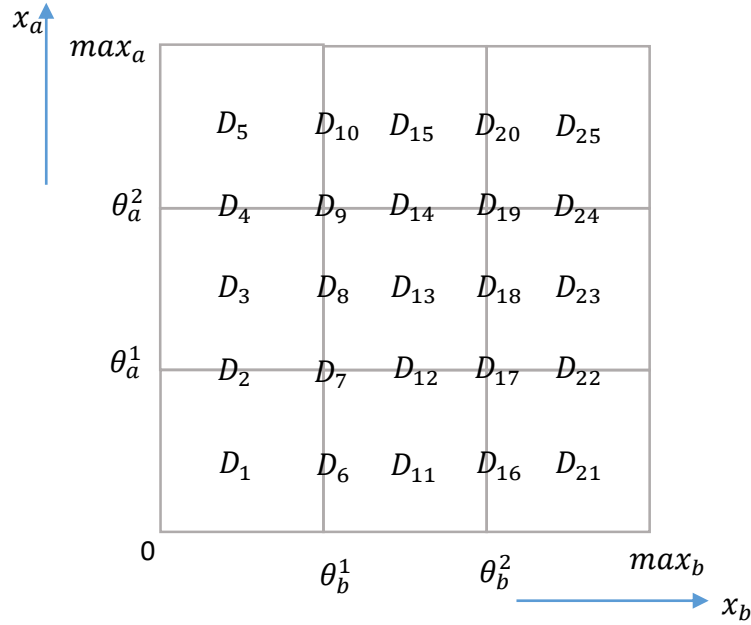
### 3.3. Kushtet e ekuilibrit dhe stabilitetit të modelit hibrid

Dinamika e një sistemi rregullator, të modeluar me anë të modeleve hibride, mund të studiohet në hapësirën fazore  $N$ -përmasore  $\Omega = \Omega_1 \times \Omega_2 \times \dots \times \Omega_N$ , ku secila nga  $\Omega_i = \{x_i \in \mathbb{R}_+ \mid 0 \leq x_i \leq \max x_i\}$  [142] [152] [143] [153]. Në një sistem rregullator, një proteinë e koduar nga gjeni përkatës do të përfshihet në reaksione të ndryshme biokimike, për vlera të ndryshme përqendrimi prag, ndaj çdo variabli  $x_i$ , i vihet në korrespondencë një vektor i renditur vlerash prag  $\Theta_i = (\theta_i^1, \theta_i^2, \dots, \theta_i^{P_i})$ . Hiperplanet  $(n - 1)$ -përmasore, të përcaktuara nga vektorët  $\Theta$ , e ndajnë hapësirën fazore  $\Omega$  në zona hiper-drejtëkëndore, të quajtur *domene*.

**Përkufizim 3.1:** Një domen  $D \subset \Omega$  përcaktohet si një bashkësi  $D = D_1 \times D_2 \times \dots \times D_N$ , ku, çdo  $D_i, 1 \leq i \leq D_N$  jepet nga një prej ekuacioneve:

$$\begin{aligned} D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid 0 \leq x_i \leq \theta_i^1\} \\ D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid x_i = \theta_i^1\} \\ D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid \theta_i^1 \leq x_i \leq \theta_i^2\} \\ D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid x_i = \theta_i^2\} \\ &\vdots \\ &\vdots \\ D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid x_i = \theta_i^{\Theta_i}\} \\ D_i &= \{x_i \in \Omega_i \mid 0 \leq x_i \leq \max x_i\} \end{aligned}$$

Domeni  $D_i$  quhet i *rregullt* ( $\mathcal{D}_{rr} \subset D$ ), nëse asnjë prej variablave  $x_i$  nuk arrin vlerën prag. Domenet në të cilat, të paktën një variabël merr vlerën prag (pra, hiperplanet prag dhe prerjet e tyre) quhet *domene kalimi* ( $\mathcal{D}_k \subset D$ ). Variablat korrespondues  $x_i$  quhet *variabla kalimi* në  $D$  (Figura 3. 2). *Rendi* i një domeni  $D_i$  përkufizohet si numri  $k \in \mathbb{N}, 0 \leq k \leq N$ , i barabartë me numrin e variablave të kalimit në  $D_i$ .



**Figura 3. 2:** Hapësira fazore dy përmasore  $\Omega$  për një rrjet me dy komponentë,  $a$  dhe  $b$ . Hapësira fazore ndahet në 9 domene të rregullta ( $D_1, D_3, D_5, D_{11}, D_{13}, D_{15}, D_{21}, D_{23}, D_{25}$ ) dhe 16 domene kalimi, duke qenë se secili prej komponentëve ka vlera prag. Sipas përkufizimit të rendit të domenit,  $\text{rend}(D_2) = 1$ , duke qenë se në këtë domen vetëm variabla  $a$  kalon nëpër vlerën prag.

Grafi i kalimit të gjendjeve (GKG),  $\mathcal{G}$  është një graf i orientuar, çdo nyje e të cilit paraqet një domen, ndërsa çdo lidhje paraqet një kalim ndërmjet dy domeneve dhe përbën një paraqitje diskrete cilësore të dinamikës së sistemit.

**Përkufizim 3.2:** Një trajektore me gjatësi  $(k - 1)$  në  $\mathcal{G}$  është një sekuencë jo boshe domenesh  $\langle D_1, D_2, \dots, D_k \rangle$ , e tillë që, për çdo  $1 \leq i \leq k$ , të ekzistojë një kalim nga  $D_i$  në  $D_{i+1}$ .

**Përkufizim 3.3:** Në një domen të rregullt  $\mathcal{D}_{rr} \in D$ , pika  $\phi(D) = \gamma^{-1}f \in D$  quhet pikë fikse e rrjedhës në  $D$ .

Teorema 3.1 dhe përkufizimet e mëposhtme (vërtetimi mund të gjendet në [143]) japin kushtet e stabilitetit të pikave fikse  $\phi(D)$ :

**Teorema 3.1:** Le të jetë  $\mathcal{D}_{rr}$  një domen i rregullt me pikë fikse  $\phi(D)$ . Nëse  $\phi(D) \in D$ , atëherë  $x = \phi(D)$  është një pikë fikse asimptotikisht stabile e ekuacionit (3.3).

**Përkufizim 3.4:** Le të jetë  $E$  ( $\phi_i \in E$ ) një bashkësi pikash fikse në  $D$  dhe  $V$  një zonë rrethuese e  $E$  ( $E \subseteq V$ ). Nëse  $U$  përcaktohet si  $E \subseteq U \subseteq V$ , atëherë

- Për çdo  $x \in U, \phi_i \in V$ , bashkësia  $E$  quhet *stable*;
- Për *disa*  $x \in U, \phi_i \in V$ , bashkësia  $E$  quhet *dobësisht stable*;
- Për çdo  $x \in U, \phi_i \in V$  dhe  $\lim_{t \rightarrow \infty} \phi_i \in E$ , bashkësia  $E$  quhet *asimptotikisht stable*;
- Për *disa*  $x \in U, \phi_i \in V$  dhe  $\lim_{t \rightarrow \infty} \phi_i \in E$ , bashkësia  $E$  quhet *dobësisht asimptotikisht stable*.

**Përkufizim 3.5:** Le të jetë  $E$  ( $\phi_i \in E$ ) një bashkësi pikash fikse në  $D$  dhe  $V$  në zonë rrethuese e  $E$  ( $E \subseteq V$ ). Nëse  $U$  përcaktohet si  $E \subseteq U \subseteq V$ , atëherë

- Për çdo  $x \in U, \phi_i \notin V$ , bashkësia  $E$  quhet *jostable*;
- Për *disa*  $x \in U, \phi_i \notin V$ , bashkësia  $E$  quhet *dobësisht jostable*;

### 3.4. Modeli hibrid pjesë-pjesë diferencial (PLDE) dhe modeli hibrid i Hill-it

Bazuar në ekuacionin (3.3), modelet hibride ndahen në modele hibride të Hill-it dhe modele hibride pjesë-pjesë diferenciale (PLDE).

- Sipas modelit hibrid të Hill-it, funksionet  $F_i$  janë funksione të variablave të vazhduar:

$$F_i(\bar{x}_{i_1}, \bar{x}_{i_2}, \dots, \bar{x}_{i_m}) = f_i(g_{i_1}(\bar{x}_{i_1}), g_{i_2}(\bar{x}_{i_2}), \dots, g_{i_m}(\bar{x}_{i_m})) \quad (3.11)$$

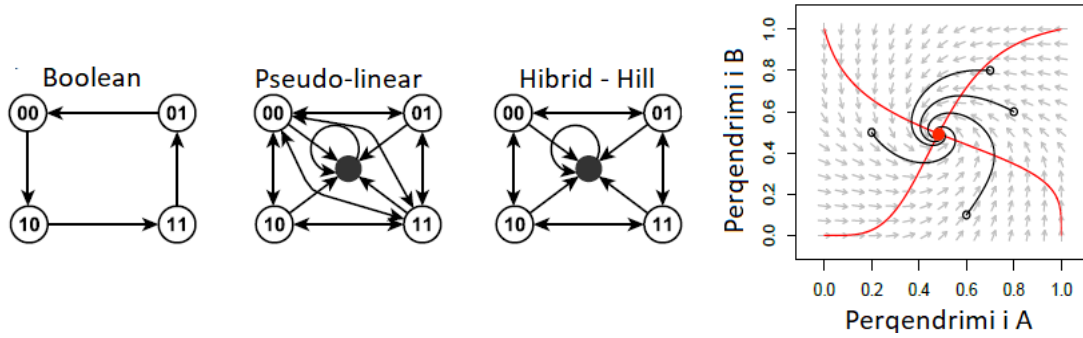
në të cilin  $f_i$  përkufizohet në bazë të funksioneve logjike të komponentit  $X_i$  ( $m_i$  – numri i rregullatorëve të komponentit  $X_i$ ). Konkretisht, operatori AND ndërmjet dy variablave  $\bar{x}_{i_1}$  dhe  $\bar{x}_{i_2}$  bëhet  $f(\bar{x}_{i_1}, \bar{x}_{i_2}) = f(\bar{x}_{i_1}) \cdot f(\bar{x}_{i_2})$ , operatori OR bëhet  $f(\bar{x}_{i_1}, \bar{x}_{i_2}) = f(\bar{x}_{i_1}) + f(\bar{x}_{i_2}) - f(\bar{x}_{i_1}) \cdot f(\bar{x}_{i_2})$ . Funksionet  $g_{i_j}$  paraqesin funksionet e Hill-it, të cilët modelojnë ndërveprimet aktivizuese ose inhibuese midis komponentëve të rrjetit:  $g_{i_j}^{akt} = f_i^H$ ,  $g_{i_j}^{inh} = 1 - f_i^H$ . Për analogji me modelin Boolean, parametrat  $\theta_{i_j}$  zgjidhen në mënyrë të tillë që  $g_{i_j}^{akt}(1) = 1$ , në mënyrë që funksioni i Hill-it të arrijë vlerën 1.

- Sipas modelit hibrid PLDE, ekuacioni (3.3) i dinamikës së komponentit  $X_i$  përbëhet nga dy pjesë: pjesa diskrete (funksioni Boolean) dhe pjesa e vazhduar ( $\bar{x}_i$ ), e modeluar si funksion linear i zbërthimit.

Në mënyrë të përmbledhur, krahasimi i tri modeleve (Boolean, hidrid PLDE dhe hidrid i Hill-it), për një sistem me dy komponentë jepet në Tabelën 3. 1 [142] dhe Figurën 3. 4.

**Tabela 3. 1:** Krahasimi i tri modeleve të studimit të dinamikës së sistemeve rregullatore – modeli Boolean, modeli hibrid PLDE, modeli hibrid i Hill-it – për një sistem me dy komponentë.

Modeli Boolean	Modeli hibrid PLDE	Modeli hibrid i Hillit
<b>Ekuacionet Booleane</b>	<b>Ekuacionet hibride</b>	<b>Ekuacionet e Hill-it</b>
$A^* = \text{not } B$ $B^* = A$	$\frac{d\bar{A}}{dt} = \alpha_A(\text{not } B) - \bar{A}$ $\frac{d\bar{B}}{dt} = \alpha_B A - \bar{B}$	$\frac{d\bar{A}}{dt} = \alpha_A \left( 1 - \frac{\lambda_B \bar{B}^{n_B}}{\bar{B}^{n_B} + \theta_B^{n_B}} \right) - \bar{A}$ $\frac{d\bar{B}}{dt} = \alpha_B \frac{\lambda_A \bar{A}^{n_A}}{\bar{A}^{n_A} + \theta_A^{n_A}} - \bar{B}$



**Figura 3. 4:** Djathtas, grafi i kalimit të gjendjeve për sistemin me dy komponentë:  $A^* = \text{not}(B)$ ;  $B^* = A$  për modelin Boolean, modelin hibrid PLDE dhe modelin hibrid të Hill-it. Vlerat binare paraqesin gjendjet e mundshme të komponentëve të sistemit ndërsa nyja e mbushur në grafin e kalimit të gjendjeve sipas modelit hibrid PLDE dhe të Hill-it paraqet varësinë e pikave fikse të sistemit nga vlerat prag. Majtas, plani fazor i përqendrimit të komponentit A dhe B, sipas modelit hibrid të Hill-it [142]: vijat e kuqe paraqesin nullklinat e sistemit (prerja e tyre përcakton ekuilibrin), pika e kuqe paraqet pikën fikse stabël, pikat e zeza paraqesin pikat fikse jostabël ndërsa vijat e zeza paraqesin trajtektoret e lejuara të kalimit ndërmjet gjendjeve.

**Propozim:** Në shembullin e Figurës 3. 4, pika fikse  $[A B]^* = [0.5 \ 0.5]$  është një pikë fikse stable.

**Vërtetim:** Për sistemin e ekuacioneve

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d\bar{A}}{dt} = \alpha_A \left( 1 - \frac{\lambda_B \bar{B}^{n_B}}{\bar{B}^{n_B} + \theta_B^{n_B}} \right) - \bar{A} \\ \frac{d\bar{B}}{dt} = \alpha_B \frac{\lambda_A \bar{A}^{n_A}}{\bar{A}^{n_A} + \theta_A^{n_A}} - \bar{B} \\ \alpha_A = \alpha_B = \lambda_A = \lambda_B = 1; \theta_A = \theta_B = 0.5; n_A = n_B = 4 \end{array} \right.$$

zgjidhja merret nga barazimi i ekuacioneve  $\frac{d\bar{A}}{dt} = 0$ ,  $\frac{d\bar{B}}{dt} = 0$ , nga i cili marrim pikën fikse  $\mathbf{x}^* = (0.5, 0.5)$ . Analiza e stabilitetit të pikës fikse kryhet duke nisur me linearizimin e sistemit të ekuacioneve dhe llogaritjen e Jakobianit të transformimit (një analizë e detajuar teorike mbi linearizimin e funksioneve jolineare është trajtuar në paragrafin 4.2.1):

$$\mathfrak{J} = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1(A, B)}{\partial A} & \frac{\partial f_1(A, B)}{\partial B} \\ \frac{\partial f_2(A, B)}{\partial A} & \frac{\partial f_2(A, B)}{\partial B} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -1 & \alpha_A \frac{B^{n_B}(3B^{n_B} + \theta_B^{n_B})}{(B^{n_B} + \theta_B^{n_B})^2} \\ \alpha_B \frac{A^{n_A}(3A^{n_A} + \theta_A^{n_A})}{(A^{n_A} + \theta_A^{n_A})^2} & -1 \end{pmatrix}$$

Rrotull pikës fikse  $\mathbf{x}^* = [0.5, 0.5]$ , duke zëvendësuar vlerat e koeficientëve, Jakobiani shkruhet

$$\mathfrak{J} = \begin{pmatrix} -1 & 7/2 \\ 7/2 & -1 \end{pmatrix}$$

Vlerat vetiake të Jakobianit llogariten nga zgjidhja e ekuacionit karakteristik  $\det(\mathfrak{J} - \lambda I) = 0$ , nga e cila marrim:

$$\begin{vmatrix} -1 - \lambda & 7/2 \\ 7/2 & -1 - \lambda \end{vmatrix} = 0 \Leftrightarrow \lambda_{1,2} = -\frac{9}{2}$$

Llogaritja e vlerave vetiake të Jakobianit, tregon se  $\Re(\lambda_{1,2}) < 0$ , çka tregon se pika fikse është stabile.  $\square$

### 3.5. Modeli hibrid PLDE dhe i Hill-it për sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit

Duke u bazuar në modelin Boolean të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, të dhënë me anë të ekuacioneve të Tabelës 2. 1, si dhe në formulimet e modeleve të parashtruar në paragrafin e mëparshëm, ekuacionet e dinamikës sipas modelit hibrid PLDE dhe të Hill-it për këtë sistem janë përmbledhur në Tabelën 3. 3. Këtu, relacionet e ndryshimit të përqendrimit të kalciumit dhe fosfatit janë supozuar lineare, për shkak të natyrës johormonale të sintezës dhe zërthimit, ndërsa elementët e tjerë karakterizohen nga një vlerë prag, një parametër sinteze dhe nga një parametër zërthimi. Theksojmë se, në formën më të përgjithshme, çdo komponent do të karakterizohej nga një vektor vlerash prag, për shkak të mënyrës së ndryshme të bashkëveprimit me rregullatorët e tij. Për thjeshtësi, në këtë studim është konsideruar vetëm një vlerë prag për çdo komponent.

Krahasimi i tri modeleve të mësipërme konsiston në analizën e gjendjes së qëndrueshme të sistemit, si dhe në studimin e sjelljes në rastet mutante

(FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>), duke u bazuar në rezultatet e Kapitullit II (modeli Boolean) dhe në hapësirën gjysmë të vazhduar nga modeli PDLE dhe ai i Hill-it. Për këtë nevojitet të merren në konsideratë domene të ndryshëm të hapësirës së gjendjeve (të përcaktuar sipas vlerave të zgjedhura të  $\theta_i$  dhe  $n_i$  në funksionet respektivë të Hill-it, çka u korrespondojnë pragjeve në modelin Boolean, në të cilën një komponent është ON). Këto domene referohen si gjendjet diskrete në grafën e kalimit të gjendjeve.

Për shembull, gjendja 01 në një graf diskret të kalimit të gjendjeve për një rrjet me dy nyje i korrespondon domenit të përcaktuar nga  $0 \leq x_1 \leq \theta_1$  dhe  $\theta_2 \leq x_2 \leq 1$  në paraqitjen sipas modelit hibrid. Domenet diskrete në modelin e Hill-it përcaktohen në mënyrë të ngjashme, duke zëvendësuar  $\theta_i$  me  $n_i$ . Çdo trajektoreje lidhëse ndërmjet dy domeneve i vëmë në korrespondencë një lidhje ndërmjet dy gjendjeve diskrete. Për të ndërtuar një hapësirë të tillë gjendjesh diskrete, nevojiten të merren në konsideratë të gjitha kalimet e mundshme ndërmjet domeneve të rregullta, duke supozuar se domenet e kalimit në modelin hibrid janë *transparente*, pra, domenet e rregullta të njëpasnjëshme janë fusha vektoriale të vazhdueshme nga një domen në tjetrin [142].

### 3.5.1. Simulime numerike

Simulimet numerike të ekuacioneve diferenciale të modeleve hibride merren duke përdorur algoritmin Runge – Kutta të rendit të katërt, duke filluar nga gjendjet fillestare që paraqesin vobulla në hiperkubin njësi. Integrimi bëhet për kohën nga  $t = 0$  në  $t = 100$  me  $\Delta t = 0.01$  hapa kohorë. Për çdo gjendje, merren rreth 1000 vlera të koeficientëve të pragut, të zgjedhur në mënyrë rastësore nga një shpërndarje uniforme në intervalin  $[0.01, 0.5]$ . Kalimet ndërmjet dy gjendjeve diskrete merren në rastet kur vlerat e parametrave të përfutur lejojnë një kalim të tillë. Duke qenë se vlerat e koeficientëve të Hill-it variojnë në intervalin  $[1, 10]$ , me një mesatare 3.2, për simulimet numerike janë marrë  $n_i \in [1, 5]$ . Të dhënat numerike të parametrave jepen në Tabelën 3. 2.

Simulimet numerike e modelit hibrid PLDE dhe modelit hibrid të Hill-it janë realizuar me anë të paketës BooleanNet [80].

**Tabela 3. 2:** Intervalet e vlerave të parametrave të përdorur në modelin hibrid PLDE dhe modelin hibrid të Hill-it.

Parametri	Rendi
$\lambda$ (parametri i sintezës)	1
$\gamma$ (parametri i degradimit)	$0.01 \leq \gamma \leq 1$
$\theta$ (niveli prag)	$0.01 \leq \theta \leq 0.5$
$n$ (koeficienti i Hill-it)	$1 \leq n \leq 5$
$H$ (konstantja e Hill-it)	$0.01 \leq H \leq 1$

**Tabela 3. 3:** Sistemet e ekuacioneve për sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, sipas tre modeleve: modeli Boolean, modeli hibrid PLDE dhe modeli hibrid i Hill-it.

Modeli	Ekuacionet e dinamikës
<i>Modeli Boolean</i> $n$	$FGF23 = VD \text{ or } P \text{ or } PTH$
	*
	$KL^* = VD$
	$VD^* = PTH \text{ or } (\text{not } (FGF23 \text{ and } KL)) \text{ or } (\text{not } (Ca \text{ or } P))$
	$PTH^* = \text{not } (Ca \text{ or } (FGF23 \text{ and } KL) \text{ or } VD) \text{ or } P$
	$Ca^* = VD \text{ or } PTH$
<i>Modeli hibrid PLDE</i>	$\frac{dFGF23}{dt} = \alpha_{FGF23}[(VD \text{ or } P \text{ or } PTH) - \overline{FGF23}]$
	$\frac{dKL}{dt} = \alpha_{KL}[VD - \overline{KL}]$
	$\frac{dVD}{dt} = \alpha_{VD} \left[ [PTH \text{ or } (\text{not } (FGF23 \text{ and } KL)) \text{ or } (\text{not } (Ca \text{ or } P))] - \overline{VD} \right]$
	$\frac{dPTH}{dt} = \alpha_{PTH} \left[ [\text{not } (Ca \text{ or } (FGF23 \text{ and } KL) \text{ or } VD) \text{ or } P] - \overline{PTH} \right]$
	$\frac{dCa}{dt} = \alpha_{Ca}(VD \text{ or } PTH)$
	$\frac{dP}{dt} = \alpha_P [VD \text{ or } (\text{not } (FGF23 \text{ and } KL)) \text{ or } (\text{not } PTH)]$
<i>Modeli hibrid i Hill-it</i>	$\frac{dFGF23}{dt} = \theta_{FGF23}(g_{VD}^{act} + P + g_{PTH}^{act} + g_{VD}^{act} P g_{PTH}^{act} - g_{VD}^{act} P - g_{VD}^{act} g_{PTH}^{act} - P g_{PTH}^{act}) - FGF23$
	$\frac{dKL}{dt} = \theta_{KL} g_{VD}^{act} - \overline{KL}$
	$\frac{dVD}{dt} = \theta_{VD} [g_{PTH}^{act} + (1 - g_{FGF23}^{act} \cdot g_{KL}^{act}) + (1 - Ca - P + Ca \cdot P) + g_{PTH}^{act} (1 - g_{FGF23}^{act} \cdot g_{KL}^{act})(1 - Ca - P + Ca \cdot P) - g_{PTH}^{act} (1 - g_{FGF23}^{act} \cdot g_{KL}^{act}) - g_{PTH}^{act} (1 - Ca - P + Ca \cdot P) - (1 - g_{FGF23}^{act} \cdot g_{KL}^{act})(1 - Ca - P + Ca \cdot P)] - \overline{VD}$
	$\frac{dPTH}{dt} = \theta_{PTH} [1 - (Ca + (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) + g_{VD}^{act} + Ca (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) g_{VD}^{act} - Ca (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) - Ca g_{VD}^{act} - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) g_{VD}^{act}) + P - P(1 - (Ca + (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) + g_{VD}^{act} + Ca (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) g_{VD}^{act} - Ca (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) - Ca g_{VD}^{act} - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}) g_{VD}^{act}) + P)] - \overline{PTH}$
	$\frac{dCa}{dt} = \theta_{Ca}(g_{VD}^{act} + g_{PTH}^{act} - g_{VD}^{act} \cdot g_{PTH}^{act})$
	$\frac{dP}{dt} = \theta_P [g_{VD}^{act} + (1 - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act})) + (1 - g_{PTH}^{act}) + g_{VD}^{act} (1 - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}))(1 - g_{PTH}^{act}) - g_{VD}^{act} (1 - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act})) - g_{VD}^{act} (1 - g_{PTH}^{act}) - (1 - (g_{FGF23}^{act} g_{KL}^{act}))(1 - g_{PTH}^{act})] - \overline{P}$
	$g_X^{act} = \frac{\lambda_X \overline{X}^{n_X}}{\overline{X}^{n_X} + \theta_X^{n_X}}, X \equiv FGF23, KL, VD, PTH$

### 3.5.2. Modeli hibrid PLDE

Rezultatet e simulimeve numerike të modelit hibrid PLDE të sistemit rregullator të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit janë paraqitur në grafikun e Figurës 3. 5 (simulimet numerike janë kryer për 1000 konfigurime fillestare; në figurë janë paraqitur vlerat e përqendrimeve për 300 hapa, për të parë më në imtësi sjelljen e sistemit në hapat e parë).

Grafikët e Figurës 3. 5 japin informacione mjaft të rëndësishme mbi stabilitetin e sistemit dhe vlerat e përqendrimeve të komponentëve. Kështu, ndërsa në modelin Boolean të analizuar në Kapitullin II, stabiliteti i sistemit arrihej në pikën  $[FGF23\ Ca\ KL\ P\ PTH\ VD]_B^* = [1\ 1\ 1\ 1\ 1\ 1]$  (pra, përqendrimet e komponentëve janë mbi nivelin prag), modeli hibrid PLDE jep më shumë të dhëna sasiore mbi vlerat e pritshme të përqendrimeve të komponentëve (të normuara në intervalin  $[0,1]$ ):

- **Faktori i Rritjes së Fibroblasteve 23:** Vlera e përqendrimit mbetet e pandryshuar;  $[\overline{FGF23}]_{st} = 1$ ;
- **Kalcium:** Përqendrimi mbetet i pandryshuar ( $[\overline{Ca}] = 1$ ) deri në hapin e 100-të, më pas lëkundet rrotull vlerës 0.55;  $[\overline{Ca}]_{st} = 0.55$ ;
- **Klotho:** Përqendrimi mbetet i pandryshuar ( $[\overline{KL}] = 1$ ) deri në hapin e 100-të, më pas lëkundet rrotull vlerës 0.55;  $[\overline{KL}]_{st} = 0.55$ ;
- **Fosfat:** Përqendrimi arrin stabilitetin rreth hapit të 90-të, më pas lëkundet rrotull vlerës 0.55;  $[\overline{P}]_{st} = 0.55$ ;
- **Hormoni i Paratiroides:** Përqendrimi mbetet në vlerën 1 deri në hapin e 15-të, më pas ndryshon për të arritur stabilitetin duke u lëkundur rrotull vlerës 0.55;  $[\overline{PTH}]_{st} = 0.55$ .
- **Vitamina D:** Përqendrimi mbetet në vlerën 1 deri në hapin e 45-të, më pas ndryshon për të arritur stabilitetin duke u lëkundur rrotull vlerës 0.55;  $[\overline{VD}]_{st} = 0.55$ .

Këto rezultate japin pikën fikse  $[FGF23\ Ca\ KL\ P\ PTH\ VD]_{PLDE}^* = [1\ 0.55\ 0.55\ 0.55\ 0.55\ 0.55]$ , cilësisht e përputhshme me modelin Boolean. Vihet re se të gjithë komponentët karakterizohen nga vlera të përqendrimeve mbi nivelin prag ( $\theta_{prag} = 0.5$ ); në modelin Boolean këto vlera u paraqitën me anë të gjendjes ON (1).

Më tej, modeli PLDE u testua në kushtet FGF23/Klotho<sup>-/-</sup> deficient; rezultatet numerike janë paraqitur grafikisht në Figurën 3. 6 dhe Figurën 3. 7. Edhe në këtë rast, rezultatet numerike përputhen cilësisht me rezultatet e përfuara në modelin Boolean. Një analizë më e detajuar është kryer për efektin e deficencave në përqendrimin e kalciumit dhe fosfatit.

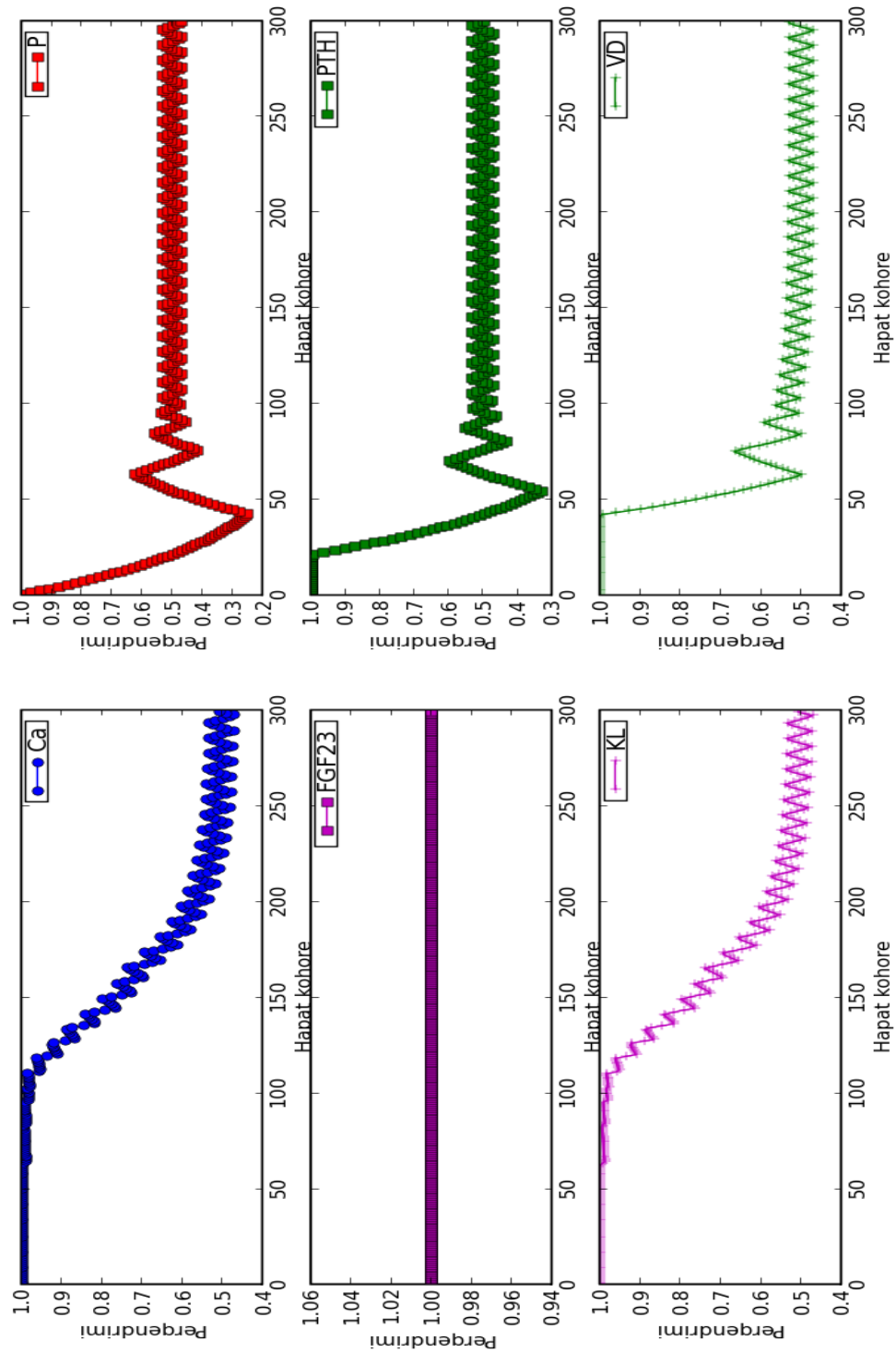
- **Kalcium:** Siç është përmendur në Kapitullin II, rregullatorët kryesorë të kalciumit janë VD (aktivizues i drejtpërdrejtë) dhe PTH (aktivizues jo i drejtpërdrejtë), ndërsa si kundër-rregullator shërben kompleksi FGF23/Klotho, nëpërmjet inhibimit të VD dhe PTH. Në këtë mënyrë, rasti FGF23/Klotho deficient do të karakterizohet nga përqendrim i lartë i kalciumit (Figura 3. 6, djathtas, lart),  $[Ca]_{FGF23/KL_{def}} = 1$ , ndërsa  $VD^{-/-}$  karakterizohet nga  $[Ca]_{VD_{def}} = 0$ . Figura 3. 6, majtas lart, jep intervalet e vlerave të kalciumit në rastin normal (vijat e ndërprera blu) dhe FGF23/Klotho<sup>-/-</sup> (vijat ndërprera të kuqe dhe jeshile), së bashku me vlerat mesatare të 1000 simulimeve (vijat korresponduese të vazhduara).
- **Fosfat:** Rregullatorët kryesorë të tij janë VD (aktivizues i drejtpërdrejtë) dhe PTH (inhibues i drejtpërdrejtë), ndërsa kompleksi FGF2/Klotho shërben si një inhibues jo i drejtpërdrejtë, nëpërmjet inhibimit të VD. Në këtë mënyrë, rasti  $VD^{-/-}$  do të karakterizohet nga një vlerë minimale e fosfatit ( $[P]_{VD_{def}} = 0$ ), ndërsa e kundërta pritet në rastin  $PTH^{-/-}$  ( $[P]_{PTH_{def}} = 1$ ) (Figura 3. 6, majtas, poshtë).

E njëjta analizë është kryer për studimin e efektit të FGF23/Klotho në përqendrimin e VD dhe PTH (Figura 3. 7).

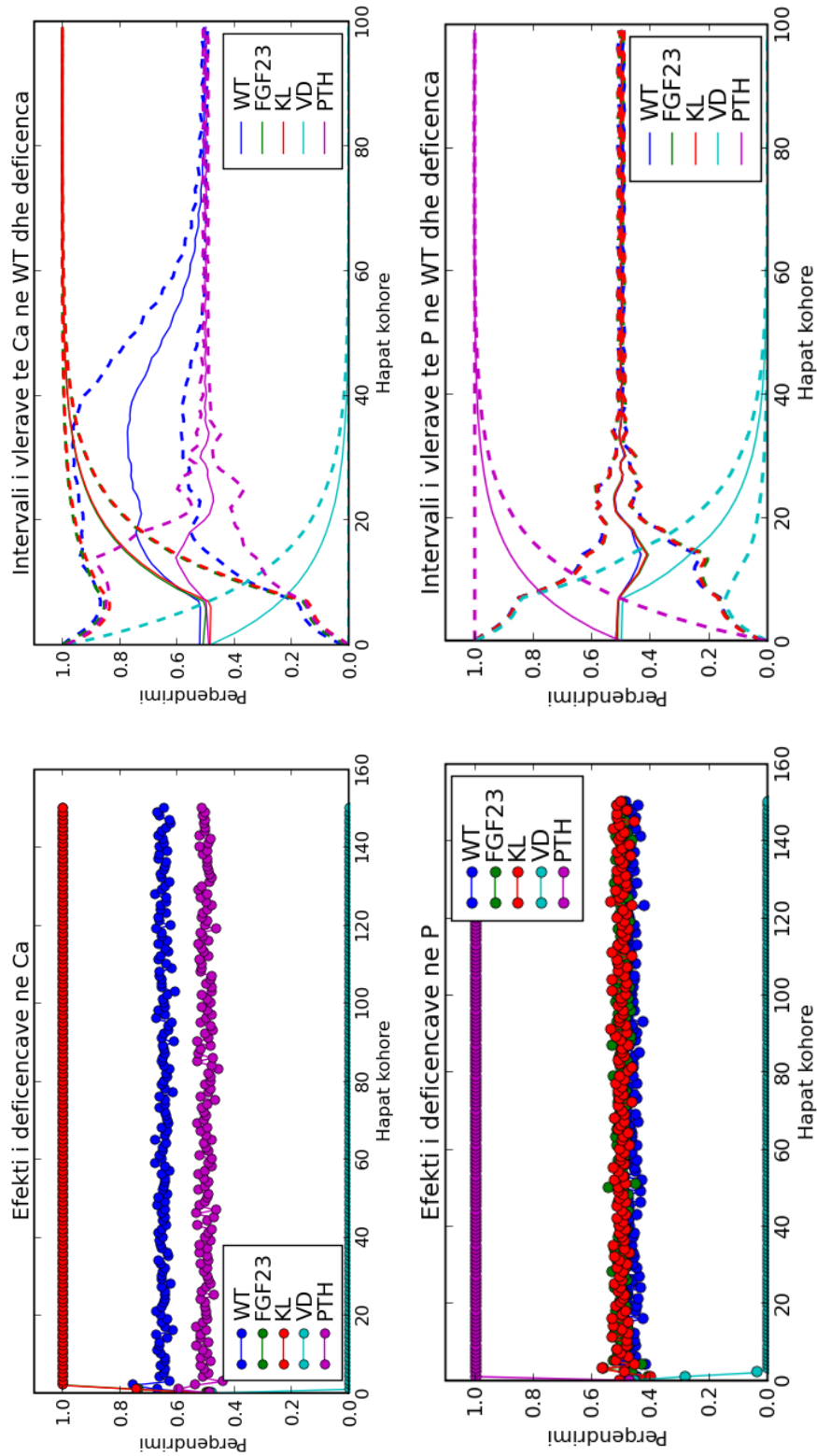
### 3.5.3. Modeli hibrid i Hill-it

Në krahasim me modelin hibrid PLDE, modeli hibrid i Hill-it kërkon njohuri më të detajuara mbi mënyrën e ndërveprimit të komponentëve dhe parametrave të ndërveprimit. Në studimin e dinamikës së sistemit rregullator të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, modeli hibrid i Hill-it jepet me anë të ekuacioneve të Tabelës 3. 3, ndërkohë që vlerat e parametrave jepen në Tabelën 3. 2. Rezultatet e simulimeve numerike të gjeneruara për 1000 simulime paraqiten në Figurën 3. 8 (në figurë janë paraqitur 50 hapa kohorë, për të marrë detaje mbi sjelljen e sistemit në hapat e parë).

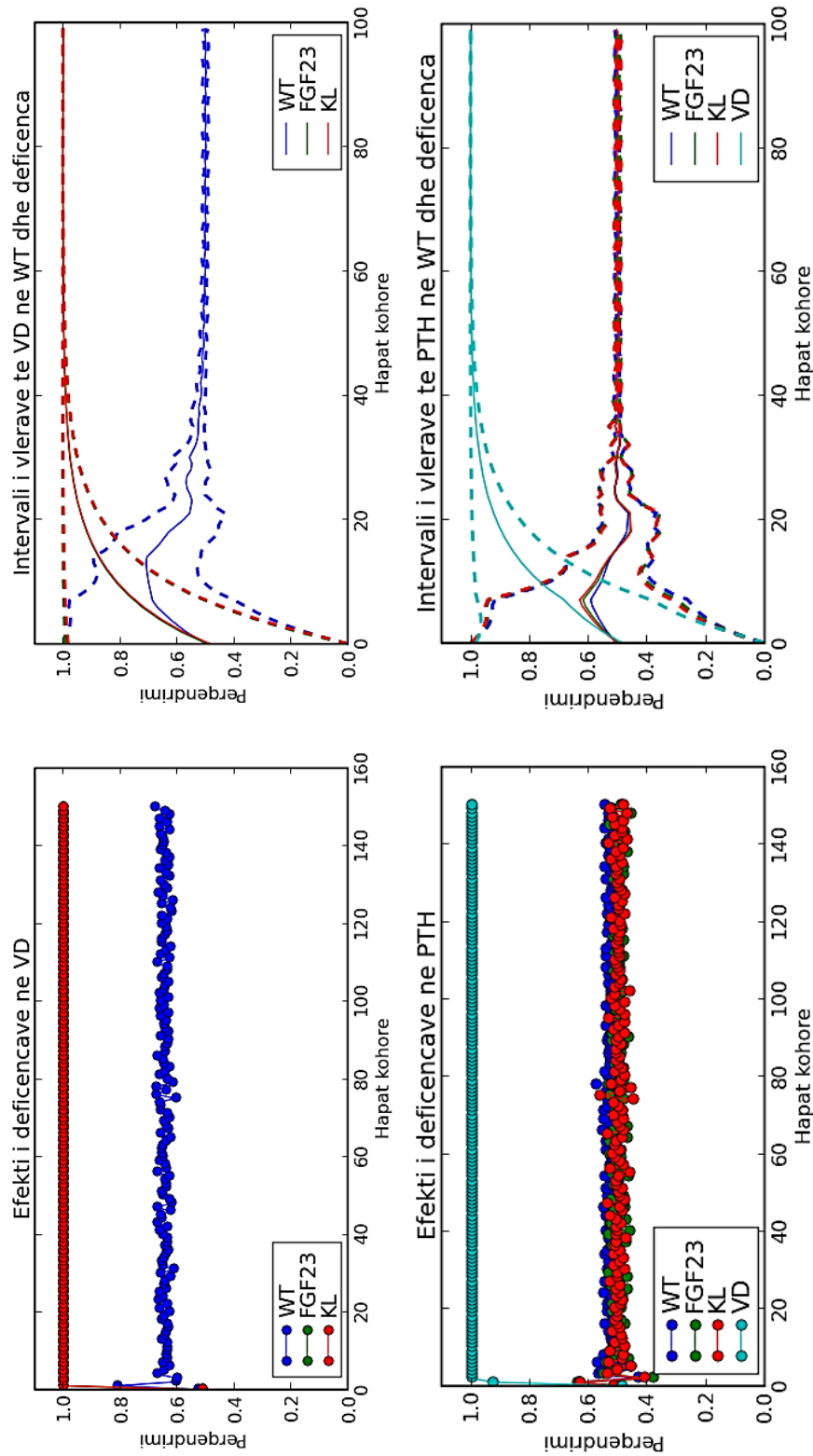
Simulimet numerike japin rezultate cilësisht të ngjashme me modelin Boolean dhe hibrid PLDE. Kështu, në sistemin WT, përqendrimi i Ca dhe VD është shumë më i ulët se në sistemin FGF23/Klotho<sup>-/-</sup>, në përputhje me rezultatet e pritshme teorike/eksperimentale dhe rezultatet e përfuara në modelin Boolean dhe PLDE, ndërkohë që nuk vërehet një ndikim i dukshëm në përqendrimin të P dhe PTH. Megjithatë, vlen të përmendet fakti se, në sistemin WT, vlerat e përqendrimeve të komponentëve FGF23, Ca, P janë pothuajse të njëjta me ato të përfuara në modelin hibrid PLDE, ndërkohë që përftohen vlera cilësisht të ndryshme të përqendrimeve të VD, KL, dhe PTH:  $[FGF23\ Ca\ KL\ P\ PTH\ VD]_{Hill}^* = [1\ 0.5\ 0.3\ 0.6\ 0.25\ 0.2]$ .



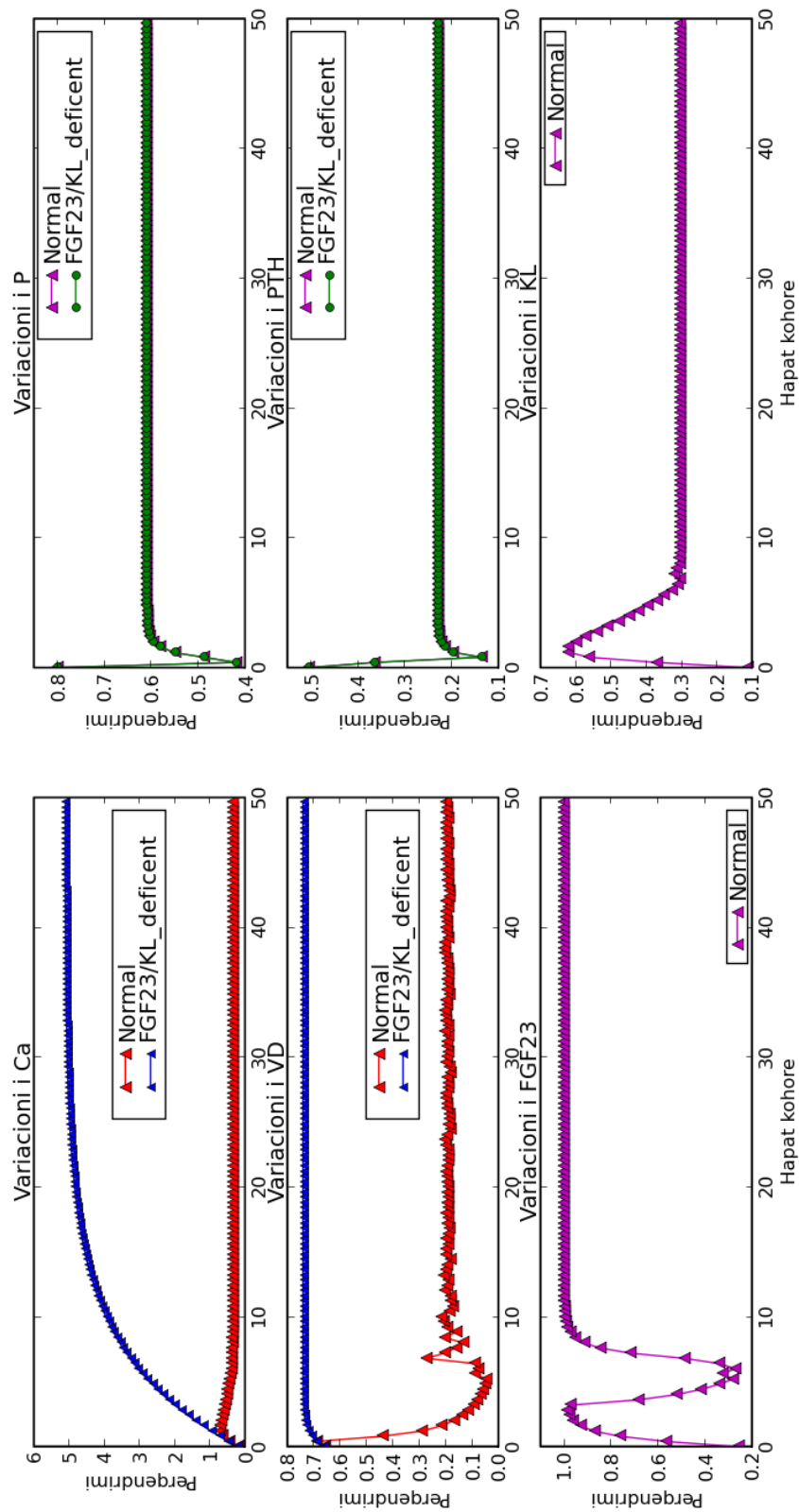
**Figura 3. 5:** Rezultatet numerike të simulimeve të modelit PLDE të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit në kushte normale (WT)  $[FGF23 \ Ca \ KL \ P \ PTH \ VD]_{st} = [1 \ 0.55 \ 0.55 \ 0.55 \ 0.55 \ 0.55]$ .



**Figura 3. 6:** (majtas) Përqendrimi i kalciumit dhe fosfatit në kushtet normale (Wild Type - WT) dhe në kushtet e deficensave (FGF23, KL, PTH, VD). (djathtas) Intervali i vlerave të 1000 simulimeve: vija e vazhduar paraqet vlerën mesatare të përqendrimit.



**Figura 3. 7:** (majtas) Përqendrimi i vitaminës D dhe hormonit të paratiroides në kushtet normale (Wild type - WT) dhe në kushtet e deficencave (FGF23, KL). (djathtas) Intervali i vlerave të 1000 simulimeve: vija e vazhduar paraqet vlerën mesatare të përqendrimit.



**Figura 3. 8:** Variacioni i përqendrimit të Ca, P, VD dhe PTH në kushtet normale dhe FGF23/Klotho deficiënt.

### 3.6. Rezultate

Në këtë kapitull u krye një analizë krahasuese e tri modeleve të studimit të sistemeve biologjike rregulatore – Boolean, hibrid PLDE dhe hibrid i Hill-it – të zbatuar në rrjetin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit. Rezultatet e simulimeve numerike tregojnë se pika fikse e modelit Boolean ruhet (cilësisht) në modelin hibrid PLDE; megjithatë, modeli hibrid jep të dhëna të rëndësishme sasiore mbi vlerat e përqendrimeve të komponentëve, të cilat nuk mund të vërehen në modelin Boolean. Pika fikse e vrojtuar në modelin hibrid i korrespondon prezencës së lëkundjeve që shuhen në modelin Boolean dhe afrimit asimptotik të këtyre lëkundjeve drejt nivelit prag.

Në modelin Boolean, sjellja e sistemit u studiuva duke marrë si kushte fillestare gjendjet e mundshme diskrete, të vendosura në nyjet e hiper-kubit njësi. Nga ana tjetër, modelet hibride rrisin shkallën e kompleksitetit duke përfshirë të dhëna sasiore mbi vlerat e përqendrimeve të komponentëve – të quajtura *gjendje treshë* (i ulët, mesatar, i lartë) – të cilat sigurojnë informacione më të detajuara, që nuk mund të vërehen në modelet diskrete. Megjithatë, përdorimi i këtyre modeleve përfshin domosdoshmërinë e disponimit të njohurive më të detajuara mbi llojet e bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve, formulimet matematike dhe vlerat e koeficientëve të bashkëveprimeve, të cilët, në pjesën më të madhe të rrjetave biologjike, nuk njihen plotësisht.

Modelimi i dinamikës së një sistemi biologjik, zakonisht nis me zbatimin e një modeli diskret, për të siguruar informacione cilësore mbi sjelljen e sistemit. Përdorimi i modeleve hibride dhe të vazhduara vjen si domosdoshmëri për evidentimin e vetive specifike të sistemit dhe – më e rëndësishmja – testimin e modelit me të dhënat eksperimentale (kur këto janë të disponueshme). Nëse për një model ka të dhëna mbi një pjesë të parametrave kinetikë të ndërveprimeve, testimi i modelit me të dhënat eksperimentale mund të çojë në llogaritjen e parametrave të tjerë që mungojnë, ose të intervaleve të vlerave të këtyre parametrave. Megjithëkëtë, është e rëndësishme të theksohet se, si modelet diskrete, ashtu edhe modelet hibride, japin të dhëna mbi një numër të kufizuar trajektoresh, ndërmjet shumë trajektoreve të mundshme të një sistemi real.

Rezultatet e simulimeve numerike të paraqitura në këtë kapitull tregojnë për rëndësinë e informacionit cilësor të përftuar në kushtet e mos-njohjes së kinetikës së bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve (modeli Boolean dhe hibrid PLDE) si dhe evidentojnë nevojën e njohjes së natyrës së ndërveprimeve, për të përftuar informacione sasiore të sakta (modeli hibrid i Hill-it). Përmirësimi i modelit të Hill-it për rrjetin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit dhe rezultatet numerike do të paraqiten në punët kërkimore në vazhdim.

## KAPITULLI IV

## Aplikimi i Algoritmit Gjenetik në Përcaktimin e Koeficientëve të Bashkëveprimit në Rrjetat Biologjike

---

### 4.1.Hyrje

Problemi i llogaritjes së vlerave të koeficientëve të ndërveprimit dhe njohja e ekuacioneve të evolucionit të komponentëve të tij, që çon në ndërtimin e një modeli tërësisht të vazhduar, përbën një sfidë të mirëfilltë teorike dhe kompjuterike, edhe për sisteme të vogla. Përmirësimi i modelit me anë të përdorimit të njohurive mbi dinamikën dhe stabilitetin e tij, konsiston në zgjidhjen e dy problemeve kryesore: (i) shkrimin e ekuacioneve të ligjit të veprimit të masave – nëse njihen llojet e reaksioneve kimike (ndërveprimeve) – në të cilët parametrat kinetikë janë të panjohur dhe (ii) llogaritjen e vlerave numerike të parametrave kinetikë, që përshkruajnë më mirë dinamikën e sistemit [58]. Në këtë përpjekje, *komuniteti i sistemeve lineare*, konsideron llogaritjen e parametrave duke i modeluar sistemet dinamike si lineare – shpeshherë të referuar si *identifikimi i sistemit* (system identification). Metoda të tjera përfshijnë modelet ODE, Recurrent Artificial Neural Networks (RANN) [154], Sigma-Pi Neural Networks (SPNN) [155], modelet hierarkike [156], ligji i përgjithësuar i veprimit të masave (Generalized Mass Action, GMA) [157], ftohja e simuluar Monte Carlo (simulated annealing and quenching) [158], Boolean Network Inference (REVEAL) [159] dhe modelet stokastike [160].

Simulimet kompjuterike, në shumicën e rasteve, kërkojnë që një program të jetë (i) *i qëndrueshëm* – pra, të vazhdojë të performojë në mjedis të ndryshueshëm, (ii) *inovativ* – të jetë në gjendje të ndërtojë diçka të re, për shembull, një algoritëm ose një rezultat shkencor dhe (iii) të jetë në gjendje të zgjidhë probleme mjaft *komplekse* [161]. Shumë prej këtyre problemeve shfaqin domosdoshmërinë e *kërkimit* në një hapësirë të caktuar kandidatësh të problemit, proces i cili, në thelb, përbën një problem *optimizimi*: nga hapësira e kandidatëve

të zgjidhjes përzgjidhet kandidati që jep zgjidhjen më të mirë. Diversiteti i problemave të optimizimit çoi në lindjen e mjaft algoritmeve optimizues, secili prej të cilëve u zhvillua për të shfaqur veti deduktive dhe qëndrueshmërie, si dhe për të shmangur konvergencën drejt optimumeve lokale (*local optima*). Disa prej këtyre algoritmeve përfshijnë: algoritmin e ftohjes së simuluar Monte Carlo (Simulated Annealing), të bazuar në mekanikën statistike [158] [162] [163], Tabu Search [164], rrjetat neurale artificiale [165], si dhe algoritmet e bazuara në evolucionin natyror, si algoritmi gjenetik (GA) [161], algoritmi memetik [166], metoda e optimizimit particle swarm [167], sistemet e kolonive të milingonave [168] dhe leap frog [169]. Megjithëse përfarimi njëpërmasor paraqet lehtësi në implementim, ai mbart kufizueshmëri të brendshme në paraqitjen e strukturave komplekse, që vjen nga fakti se çdo zgjidhje e problemit duhet të paraqitet me anë të vektori linear [170]. Aplikimi i algoritmit gjenetik në dy përmasa implikon më shumë lidhje ndërmjet gjeneve dhe është aplikuar nga Anderson et al [171] për të propozuar në operator të ri kryqëzimi – *kryqëzimi bllok-uniform* – të aplikuar në modelin e Isingut, Lutton dhe Martinez [172] [173] për rindërtimin e imazheve bazuar në detektimin e primitivave, etj.

Siç është përmendur në kapitujt e mëparshëm, modelimi i një sistemi biologjik rregullator zakonisht nis me analizën e stabilitetit në hapësirën diskrete të gjendjeve, me anë të së cilës mund të përftohet një paraqitje cilësore e sjelljes dhe stabilitetit të sistemit. Megjithatë, për të hedhur dritë mbi veti specifike të tij, është e nevojshme të njihet kinetika në kohë të vazhduar. Ndërtimi i modelit të vazhduar të një sistemi rregullator kërkon njohjen e plotë të tipeve të ndërveprimeve, paraqitjes matematikore të tyre, si dhe të parametrave kinetikë të ndërveprimeve (koeficientët e sintezës, zbrërthimit dhe vlerat prag). Disponimi i këtij informacioni është mjaft i vështirë, edhe për rrjeta të vogla. Për të ndërmjetësuar kalimin nga modeli diskret në modelin e vazhduar, modelet hibride mundësojnë një paraqitje gjysmë të vazhduar, duke siguruar më tepër të dhëna sasiore mbi stabilitetin e sistemit. Megjithë thjeshtësinë e implementimit të tyre, siç është përmendur në paragrafin 3.8, modelet diskrete (Booleane) dhe hibride analizojnë vetëm një numër të kufizuar trajektoresh të mundshme të sistemit; megjithatë, rezultatet e përfutuara nga të dy modelet paraqesin qartë sjelljen e sistemit rrotull gjendjes së qëndrueshme. Metoda që parashtrojmë për llogaritjen e koeficientëve të ndërveprimit, pra, elementëve të matricës së ndërveprimit (sistemet lineare) ose Jakobianit të transformimit (sistemet jolineare), nisat nga njohja paraprake e stabilitetit të sistemit dhe natyrës së tij me anë të modeleve të diskrete dhe hibride.

Në këtë kapitull studimi është fokusuar në tri drejtime kryesore: *së pari*, përshkruhen sistemet ekologjike të ndërveprimit të specieve dhe paraqitet një përmbledhje e aparatit matematikor për studimin e dinamikës dhe stabilitetit të

tyre. Duke qenë se puna përqendrohet në studimin e gjendjes së ekuilibrit të sistemit, jepet edhe një përshkrim i kushteve të stabilitetit, edhe në hapësirën lineare. *Së dyti*, përshkruhet algoritmi gjenetik, si një prej metodave optimizuese të bazuar në proceset evolutive natyrore, dhe mënyra e përdorimit të tij për objektet dypërmasore (matricat). *Së treti*, studiohet stabiliteti i një modeli ekologjik me tri specie me anë të përdorimit të modelit Boolean (të përshkruar në Kapitullin I) dhe atij hibrid (të përshkruar në Kapitullin III). Më tej, sistemi modelohet me anë të matricave të rastit dhe implementohet algoritmi gjenetik për të përftuar elementët e matricës së ndërveprimit, e cila do të përshkruajë më mirë sjelljen e sistemit në afërsi të gjendjes së ekuilibrit.

Një pjesë e rezultateve të paraqitur në këtë kapitull janë publikuar në [35] dhe [174].

## 4.2. Modeli i ndërveprimit të specieve

Dinamika e një sistemi të ndërveprimit të specieve varet drejtpërsëdrejti nga mënyrat e ndërveprimit. Në përgjithësi, ndërveprimi i specieve përbën një rrjet mjaft kompleks – *rrjeti trofik*, në të cilin, tre tipet kryesorë të ndërveprimit janë [105]:

1. (++) – protokooperim, mutualitet ose simbiozë;
2. (--) – inhibim i përbashkët konkurrues, ose konkurrencë për një objektiv të përbashkët;
3. (+-) – ndërveprimet grabitqar-pre ose parazit-trup.

Për një sistem prej  $N$  speciesh, shpejtësia e ndryshimit të dendësisë (përqendrimit) të secilës specie përcaktohet nga efektet e çdo specieje tjetër në sistem [106]<sup>17</sup>:

$$\frac{\dot{x}_i}{x_i} = b_i + a_{ii}x_i + \sum_{j \neq i} a_{ij}x_j \quad i, j = 1, 2, \dots, N \quad (4.1)$$

ose

$$\dot{x}_i = x_i \left( b_i + \sum_{j=1}^N a_{ij}x_j \right) \quad i = 1, 2, \dots, N \quad (4.2)$$

ku  $b_i$  është koeficienti i rritjes së brendshme të species  $X_i$  ndërsa  $a_{ij}$  paraqet efektin e species  $X_j$  mbi specien  $X_i$ . I zbatuar fillimisht në rastin dypërmasor mbi një model peshkimi, ekuacioni (4.2) përbën modelin e përgjithësuar të

<sup>17</sup> Në disa literatura, modeli i përgjithësuar Lotka – Volterra gjendet në formën  $\dot{x}_i = x_i^\alpha (b_i + \sum_{j=1}^N a_{ij}x_j^\beta)$ ,  $i = 1, 2, \dots, N$  (4.2'). Forma (4.2) merret për  $\alpha = \beta = 1$ .

ndërveprimi të specieve, të përpiluar nga Lotka [103] dhe Volterra [104] më 1969 [175]. Dy termat e parë në relacionin (4.1) paraqesin shpejtësinë e ndryshimit të dendësisë së species  $X_i$  në mungesë të specieve të tjera në sistem, ndërkohë që termi i fundit paraqet efektin e diversitetit në sistem, në një prej rasteve të ndërveprimi të specieve. Matrica  $A = (a_{ij})$  quhet *matrica e komunitetit* ose *matrica e ndërveprimi*. Nëse ndërveprimi ndërmjet species  $X_i$  dhe  $X_j$  është kooperim (rasti 1 i ndërveprimi) ose konkurrencë (rasti 2 i ndërveprimi), shenjat e elementëve  $(a_{ij}, a_{ji})$  janë, respektivisht,  $(+, +)$  dhe  $(-, -)$ . Për ndërveprimin pre-grabitqar, shenjat e elementëve  $(a_{ij}, a_{ji})$  janë  $(+, -)$  ose  $(-, +)$ . Elementët e diagonales së matricës  $A$  janë, zakonisht, elementë jozero dhe paraqesin kufizueshmërinë e rritjes pafundësisht të popullatave.

Hapësira e gjendjes e ekuacionit (4.2) është ortanti pozitiv

$$\mathbb{R}_+^N = \{x = (x_1, x_2, \dots, x_N) \in \mathbb{R}^N \mid x_i \geq 0, \forall i = 1, 2, \dots, n\} \quad (4.3)$$

Hapësira  $\mathbb{R}_+^N$  është invariante, pra, çdo zgjidhje në  $\mathbb{R}_+^N$  mbetet në këtë hapësirë në të gjithë intervalin e kohës për të cilin është përcaktuar zgjidhja  $x^*$  e  $\dot{x} = f(x) = 0$ . Natyra dhe stabiliteti i  $x^*$  përcaktohet duke zbatuar aparatën matematikor të paragrafit të mëposhtëm [176] [177] [102].

Për sistemet e llojit  $\dot{x}(t) = f(x(t))$ , stabiliteti i pikës fikse mund të studiohet në mënyrë të drejtpërdrejtë nëpërmjet funksioneve të Lyapunov-it (1892) [178], të përpiluar fillimisht për studimin e stabilitetit të lëvizjes. Përdorimi i tyre shmang integrimin e ekuacioneve të dinamikës, duke përdorur funksionet skalare (energjitikë)  $V(x)$  të tillë që  $V(x^*) = 0$  dhe  $V(x) > 0, x \in ]0, r[ (r > 0), x \neq x^*$  [179] [180]. Teorema 4.1 (vërtetimi gjendet në [181]) përkufizon natyrën e pikës fikse sipas funksionit të Lyapunov-it:

**Teorema 4.1:** *Nëse ekziston një funksion Lyapunov-i për një sistem të tipit  $\dot{x}(t) = f(x(t))$ , atëherë  $x = x^*$  është një ekuilibër i qëndrueshëm. Nëse  $\dot{V}(x) < 0, 0 < \|x\| < r, \forall r > 0$ , pika  $x = x^*$  është asimptotikisht e qëndrueshme.*

Në mënyrë të ngjashme me përkufizimin 1.2, *baseni i tërheqjes* së pikës asimptotikisht stable përkufizohet si bashkësia e kushteve fillestare të sistemit, për të cilat trajektorët e sistemit konvergjojnë në pikën pikse. Pika e ekuilibrit për të cilën baseni i tërheqjes përbën të gjithë hapësirën e gjendjeve quhet *pikë globalisht stable*. Në gjuhën e funksionit të Lyapunov-it, pika fikse është globalisht stable nëse  $V(x)$  është pozitivisht i përcaktuar në hapësirën e gjendjeve,  $V(x) \rightarrow \infty$  kur  $\|x\| \rightarrow \infty$  dhe  $\dot{V}(x) < 0$  në gjithë hapësirën e gjendjeve.

Dinamika dhe stabiliteti i sistemeve ekologjike nis, përgjithësisht, me studimin e *mikrogjendjeve* dhe probabiliteteve të kalimit (ekuacioni themelor) dhe, më pas, me studimin e *makrogjendjeve*: gjenerimi i ekuacionit Fokker – Planck në kushtet e linearitetit (term difuziv konstant) dhe jolinearitetit (termi difuziv varet nga të

paktën një variabël). Derivimi i ekuacionit Fokker – Planck rezulton nga përdorimi i shpërthimit van Kampen të ekuacionit themelor në fuqinë  $\sqrt{N}$  [57] [59], kur sistemi i afrohet pikës fikse, ose nga përdorimi i shpërthimit Kramers – Moyal, kur sistemi shfaq multistabilitet ose stabilitet të paqëndrueshëm. Në këtë mënyrë, ekuacioni Fokker-Planck përbën një paraqitje të thjeshtuar të ekuacionit themelor, ndërkohë që përshkruan me përafërsi (nga ana cilësore, diagrama fazore e njëjtë dhe, nga ana sasiore, eksponentët kritikë të kalimeve kaotike janë të pandryshuar) sjelljen e sistemit në afërsi të pikës fikse [109] [102].

Sjellja e sistemit (4.2) është tashmë e njohur dhe pranon zgjidhje periodike, siç është treguar fillimisht nga Volterra, ndërkohë që paraqitja e sistemit me anë të grafeve është përdorur nga Jain dhe Krishna [99] për të analizuar stabilitetin (duke studiuar spektrin e vlerave vetiake të matricës së ndërveprimit, shiko paragrafin 4.2.1) pa nevojën e zgjidhjes së ekuacioneve diferenciale (4.2).

#### 4.2.1. Linearizimi në afërsi të pikës fikse

Pothuaj të gjithë sistemet janë *jolineare*, pra, dinamika e sistemit paraqitet me anë të ekuacioneve diferenciale jolineare

$$\dot{\mathbf{x}} = f(\mathbf{x}) \quad (4.3)$$

ku  $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_N)^T$ , ndërkohë që pikat kritike të sistemit,  $\mathbf{x}^*$ , gjenerohen nga zgjidhja e ekuacionit  $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{0}$ . Për këto sisteme gjenerimi i formës së plotë të trajektoreve të sistemit është mjaft i vështirë; për këtë arsye, interesohemi në studimin e sjelljes së sistemit *lokalisht*, në një zonë rrethuese të pikës fikse. Ekuacioni (4.3) mund të linearizohet rrotull  $\mathbf{x}^*$ , nëpërmjet një shpërthimi Taylor dhe marrim

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathfrak{J}(\mathbf{x} - \mathbf{x}^*) \quad (4.4)$$

ku  $\mathfrak{J}$  është Jakobiani i transformit, elementët e të cilit jepen nga

$$\dot{ij} = \left. \frac{\partial f_i}{\partial x_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_{pk}} \quad (4.5)$$

Është e rëndësishme të theksohet se linearizimi i sistemit jolinear *ruan pikat fikse dhe natyrën e tyre*. Kështu, nëse  $\mathbf{x}^*$  është pikë fikse në sistemin e linearizuar, ajo mbetet pikë fikse edhe në sistemin  $\mathbf{x} \in \mathbb{R}_+^N$ , për aq kohë sa nuk paraqet ndonjë prej rasteve kufitare (qendra, nyje të degjeneruara, yje ose pika fikse të paizoluara) të sistemit linear [21].

Vlerat vetiake  $\lambda_i$  të matricës  $\mathfrak{J}$ , të llogaritur në çdo pikë kritike, merren nga zgjidhja e ekuacionit karakteristik

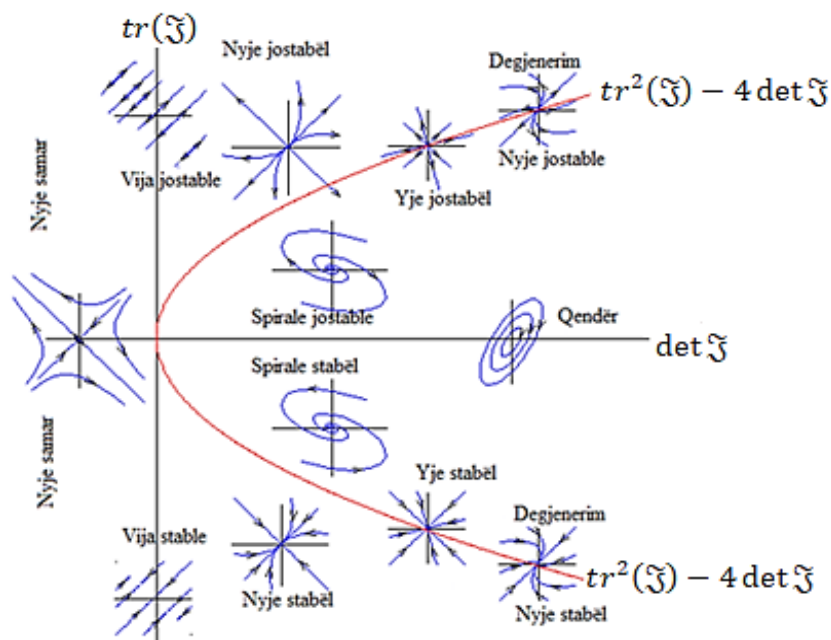
$$\det|\mathfrak{J} - \lambda I| = 0 \quad (4.6)$$

Nëse për çdo  $i$ ,  $\Re(\lambda_i) \neq 0$ ,  $\mathbf{x}_{pk}$  quhet *pikë kritike hiperbolike*.

Vlerat vetiake të ekuacionit karakteristik përcaktojnë dinamikën *lokale* të sistemit (kriteri *Routh-Hurwitz* [102] [182]), në zonën rrethuese të pikës kritike. Dallohen këto raste [21]:

1. Nëse  $\Re(\lambda_i) < 0, \forall i$ , pika kritike është pikë stabile dhe të gjitha trajektoret në zonën rrethuese të pikës kritike i afrohen asaj kur  $t \rightarrow +\infty$ .
2. Nëse  $\Re(\lambda_i) > 0$  për të paktën një  $i$ , pika kritike është pikë jostabile (në rastin dypërmasor – pika samar).
3. Nëse bashkësia e  $\lambda_i$  përbëhet nga vlera komplekse të konjuguara, pikat kritike quhen *qendra*.

Klasifikimi i plotë i pikave fikse në varësi të karakteristikave të Jakobianit të transformimit (vlera e përcaktorit dhe gjurmës së tij), për rastin dypërmasor jepet në Figurën 4. 1.



**Figura 4. 1:** Klasifikimi i pikave fikse në varësi të karakteristikave të Jakobianit të transformimit (shenjës së përcaktorit dhe gjurmës së tij) për sistemin me dy komponentë.

Është e rëndësishme të vëmë në dukje se linearizimi i sistemit të ekuacioneve neglizhon termat e vegjël jolinearë, të cilët, në sistemet komplekse luajnë rolin e termave perturbativë, që mund ta nxjerrin sistemin nga pika fikse. Megjithatë, në afërsi të pikës fikse, roli i termave të vegjël jolinearë mund të neglizhohet.

Në paraqitjen grafike, teorema *Hartman – Grobman*, **pohon se portreti fazor në afërsi të një pike fikse hiperbolike është topologjikisht ekuivalent me portretin fazor të përftuar nga linearizimi** [21] [183]. Kjo do të thotë se, ekziston një homomorfizëm që projekton njërin portret fazor mbi tjetrin, në mënyrë të tillë që trajektoret projektohen mbi trajektore dhe kahu i rrjedhjes së kohës ruhet.

**Përkufizim 3.6:** Bashkësia e të gjitha kushteve fillestare, për të cilat trajektoret e nisura në këto pika ose në afërsi të tyre shkojnë në drejt pikës kritike kur  $t \rightarrow +\infty$ , quhet **manifold stabël**. Në të kundërt, manifoldi quhet **jostabël**.

Matematikisht, një manifold përcaktohet si vektori vetiak i matricës  $\mathfrak{J}$ , për një vlerë të  $\lambda_i$ . Është e qartë se manifoldi stabël do t'i korrespondojë një vlere vetiake me pjesë reale negative.

Në sistemet biologjike rregullatore,  $x_i \geq 0, \forall i$ ; gjithashtu, duke qenë se përqendrimet e sistemeve realë janë të fundme, mund të zgjedhim një përqendrim relativisht të madh  $C$ , në mënyrë të tillë që  $\dot{x}_i < 0$  për  $|x| > C$ . Në këtë mënyrë, hapësira fazore e një sistemi biokimik me  $N$  komponentë do të përbëjë një hiperkub të dimensionit të  $N$ -të, të vendosur në ortantin pozitiv të sistemit koordinativ; në kufij të hiperkubit trajektoret janë hyrëse.

**Përkufizim 4.1:** Indeksi i një pike kritike quhet madhësia  $I = (-1)^{\mu_i}$ , ku  $\mu$  është numri i pikave fikse për të cilat  $\Re(\lambda_i) < 0$ .

Teorema e indekseve Euler – Poincaré për hiperkubin e dimensionit  $N$  shkruhet:

$$\chi(M) = \sum_{pk} I \quad (4.7)$$

ku  $\chi(M)$  është karakteristika Euler – Poincaré për hipersipërfaqen.

#### 4.2.2. Stabiliteti lokal asimptotik – A mund të jetë i qëndrueshëm një sistem i madh?

Dinamika e një sistemi me  $N$  specie mund të studiohet duke ndërtuar një model të vazhduar, të përshkruar me anë të një sistemi prej  $N$  ekuacionesh diferencialë, në të cilin çdo ekuacion përshkruan shpejtësinë e rritjes të secilës specie [184] [73]:

$$\frac{dx_i(t)}{dt} = f_i(\mathbf{x}(t)), i = 1, 2, \dots, N \quad (4.8)$$

ku  $x_i(t)$  paraqet përqendrimin e specieve  $X_i$  në çastin  $t$ , vektori  $\mathbf{x}(t)$  paraqet vektorin e përqendrimeve dhe  $f_i$  është funksioni i varësisë së përqendrimit të specieve  $X_i$  nga popullata  $\mathbf{X}$ . Themi se sistemi arrin ekuilibrin në pikën  $\mathbf{x}^*$  nëse

$$\left. \frac{dx_i(t)}{dt} \right|_{\mathbf{x}^*} = f_i(\mathbf{x}^*) = 0, \forall i \quad (4.9)$$

Nëse sistemi nuk ka perturbime të jashtme/brendshme, ai do të qëndrojë në pikën e ekuilibrit përjetë.

Analiza e stabilitetit vjen si domosdoshmëri studimi sa herë që sistemi u nënshtrohet perturbimeve pambarimisht të vogla. Pika e ekuilibrit quhet *lokalisht*

*stable* nëse të gjitha perturbimet shuhen kur  $t \rightarrow +\infty$  dhe *lokalisht jostable* nëse sistemi del nga pika e ekuilibrit dhe nuk kthehet më në këtë pikë. Është e rëndësishme të theksohet se stabiliteti lokal asimptotik paraqet kufizueshmëri që lind nga linearizimi i sistemit. *Së pari*, rezultatet vlejné vetëm lokalisht, në një zonë të vogël rrethuese rreth pikës së ekuilibrit. Kështu, në kushtet jashtë ekuilibrit, analiza e stabilitetit nuk mund të japë përgjigje për sjelljen e sistemit. *Së dyti*, jostabiliteti (mungesa e një pike ekuilibri) nuk paraqet detyrimisht një sistem të paqëndrueshëm: popullata mund të përshkruajë *cikle limite* ose *tërheqës kaotikë*. *Së treti*, baseni i tërheqjes i një pike ekuilibri paraqet vështirësi për t'u përcaktuar analitikisht, ndaj stabiliteti lokal vlen vetëm për kushtet e perturbimeve pambarimisht të vogla [184] [185].

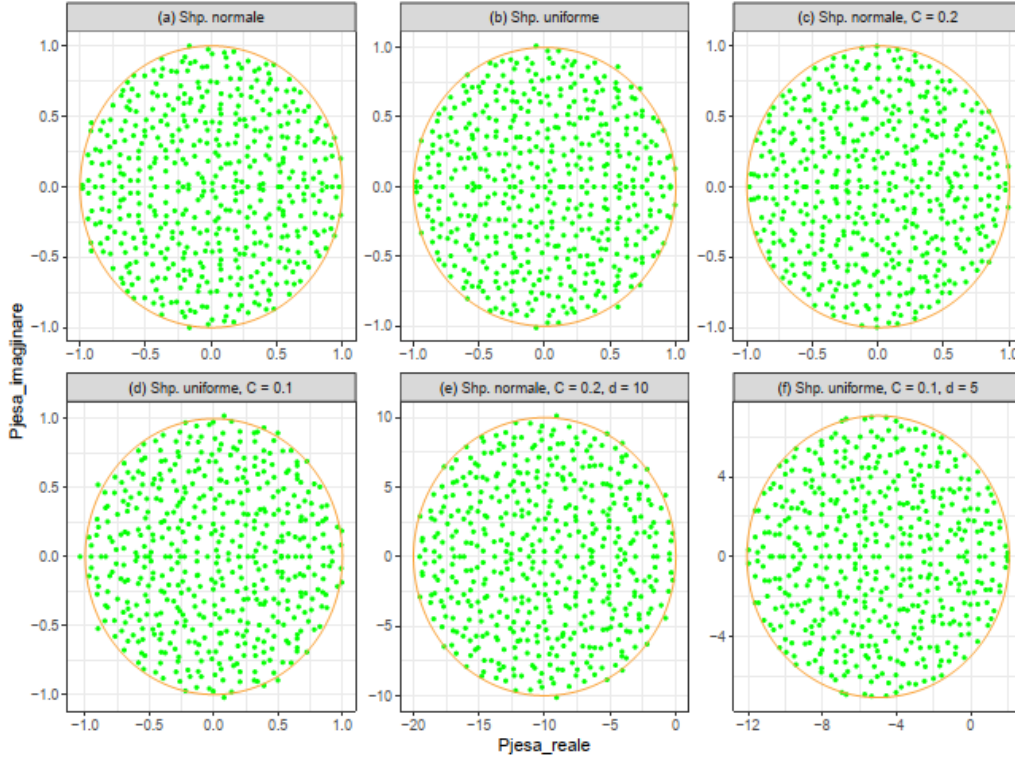
Siç është përmendur në paragrafin e mëparshëm, elementët e *matricës së ndërveprimit* – Jakobiani i transformimit, në modelin jolinear – të një sistemi ekologjik janë elementë realë, ndërkohë që vlerat vetiake mund të jenë reale (pra, të formës  $\lambda = a$ ) ose komplekse të konjuguara (pra, të formës  $\lambda = a \pm ib$ ,  $a, b \in \mathbb{R}$ ). Në këtë mënyrë, nëse paraqesim grafikisht vlerat vetiake në një plan kompleks (boshti i abshisave paraqet pjesën reale, ndërsa boshti i ordinatave paraqet pjesën imagjinare), vlerat vetiake do të jenë gjithmonë simetrike në lidhje me boshtin real. Stabiliteti i ekuilibrit përcaktohet plotësisht nga pjesa reale e vlerës vetiake më të madhe. Nëse rendisim vlerat vetiake sipas pjesës reale të tyre, stabiliteti i ekuilibrit është i qëndrueshëm nëse  $\Re(\lambda_{max}) < 0$ <sup>18</sup>.

Pyetja “*A mund të jetë i qëndrueshëm një sistem i madh?*”, e shtruar nga May (1972) [186], kërkon anashkalimin e llogaritjes së Jakobianit të transformimit – i cili në vetvete kërkon njohjen e plotë të funksioneve të ndërveprimit të specieve – dhe pikave të ekuilibrit. May konsideroi një sistem ekologjik të paraqitur me anë të një matrice ndërveprimi rasti. Në këtë mënyrë,  $\Re(\lambda_{max})$  mund të përcaktohet me anë të Teorisë së Matricave të Rastit (TMR) [187]. Sipas kësaj paraqitjeje – të analizuar numerikisht nga Allesina et al [184] – elementët e Jakobianit të transformimit përcaktohen si:

- $\mathfrak{J}_{ii} = -1$ ;
- $\mathfrak{J}_{ij, j \neq i}$  merren nga një shpërndarje probabilitare normale, me probabilitet pranimi  $C$ , pra, nëse  $\mathfrak{J}_{ij} \geq C \Rightarrow \mathfrak{J}_{ij} \in \mathcal{N}(\mu, \sigma)$ ; në të kundërt,  $\mathfrak{J}_{ij} = 0$ .

Paraqitjet grafike të vlerave vetiake të Jakobianit, për vlera të ndryshme të  $\mu, \sigma$  dhe  $C$ , janë paraqitur në [184] (Figura 4. 2).

<sup>18</sup> Vlen të përmendet se një sistem mund të ketë disa vlera vetiake me pjesë reale të njëjtë.



**Figura 4. 2:** Riskicuar nga [184]<sup>19</sup>. Vlerat vetiakte të matricës  $\mathfrak{S}/\sqrt{N}$ ,  $N = 500$ . Boshti i  $x$ -eve paraqet pjesën reale të vlerave vetiakte ndërsa boshti i  $y$ -eve paraqet pjesën imagjinare të tyre. a. Elementët  $\mathfrak{S}_{ij}$  janë marrë sipas një shpërndarjeje normale  $\mathcal{N}(0,1)$ . Vlerat vetjake mbushin një rreth me rreze 1 njësi. b.  $\mathfrak{S}_{ij} \in \mathcal{U}[-\sqrt{3}, \sqrt{3}]$  ( $\sigma = 1$ ). c. Vlerat vetiakte të matricës  $\mathfrak{S}/\sqrt{CN}$ , me  $C = 0.2$ . d. Si në c, por  $\mathfrak{S}_{ij} \in \mathcal{U}[-\sqrt{3}, \sqrt{3}]$ , me  $C = 0.1$ . e. Si në c, por elementët e diagonales kryesore të  $\mathfrak{S}$  merren  $\mathfrak{S}_{ii} = -10$ . Nëse matrica nuk është e normuar, vlerat vetiakte mbushin uniformisht një disk, me qendër në  $d = \mathfrak{S}_{ii}$  dhe rreze  $r = \sigma\sqrt{CN}$ . f. Si në e, por  $\mathfrak{S}_{ij} \in \mathcal{U}[-\sqrt{3}, \sqrt{3}]$  dhe  $\mathfrak{S}_{ii} = -5$ .

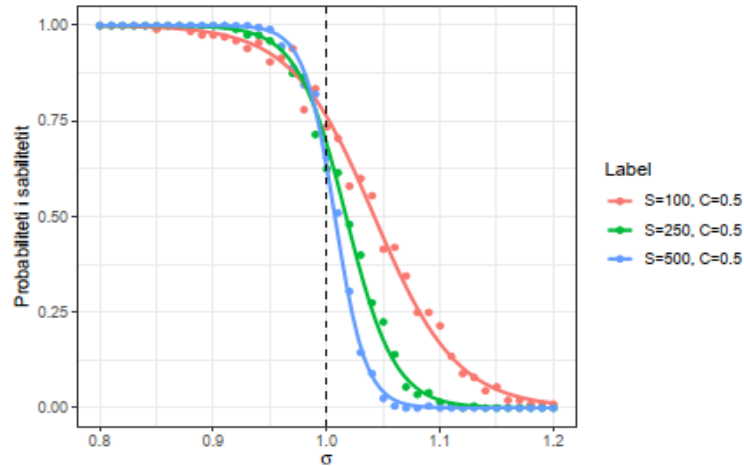
Vlen të theksohet se në publikimin origjinal shpërndarja probabilitare nga e cila përftohen elementët  $\mathfrak{S}_{ij}$  nuk është e saktësuar; në fakt, të dhënat e shpërndarjes nuk janë përcaktuese të stabilitetit të sistemit. Kushti që  $\Re(\lambda_i) < 0, \forall i$  plotësohet me një probabilitet të lartë nëse plotësohet mosbarazimi

$$\sigma\sqrt{CN} < 1 \quad (4.10)$$

pra, ekuilibri do të jetë i qëndrueshëm nëse kënaqet kushti (4.10) dhe do të jetë i paqëndrueshëm me një probabilitet të lartë nëse (4.10) nuk kënaqet (Figura 4. 3). Kushti i mësipërm vërtetohet nga *ligji cirkular* (Teorema 1.10, [188]), sipas së cilit, për një matricë  $N \times N$ , elementët e së cilës gjenerohen në mënyrë të pavaruar nga e njëjta shpërndarje (independent and identically distributed – i.i.d), me mesatare 0 dhe variancë 1, shpërndarja spektrale empirike (pra, shpërndarja që i vendos peshë  $1/N$  çdo vlere vetjake) konvergjon drejt një shpërndarjeje uniforme në diskun njësi kur  $N \rightarrow \infty$ . Theksojmë se ligji nuk saktëson llojin e shpërndarjes, por vendos kushte vetëm për *mesataren dhe variancën*. Vlen të theksohet se ligji

<sup>19</sup> Me lejen e autorëve.

çirklar përkruan shpërndarjen e vlerave vetiake në limitin  $N \rightarrow \infty$ ; në këtë limit, pesha e secilës prej vlerave vetiake bëhet e neglizhueshme. Megjithë këtë, fakti që shpërndarja e vlerave vetiake konvergjon në diskut njësi nuk tregon se të gjitha vlerat vetiake ndodhen brenda diskut. Për të tejkaluar këtë papërcaktueshmëri, Bai dhe Silverstein [189] vërtetuan se, nëse shpërndarja e koeficientëve të matricës  $\mathfrak{J}$  ka  $\mu = 0, \sigma = 1$  dhe moment të rendit të katërt të fundmë, atëherë të gjitha vlerat vetiake të  $\mathfrak{J}$  përfshihen brenda diskut njësi (Figura 4. 2).



**Figura 4. 3:** Riskicuar nga [184]<sup>20</sup>. Probabiliteti i stabilitetit në funksion të dispersionit të shpërndarjes së elementëve për  $\mathfrak{J}_{ij} \in \mathcal{U}[-\sqrt{3}\sigma, \sqrt{3}\sigma]$ ,  $C = 0.5$  dhe  $d = -\sqrt{CN}$ .

### 4.3. Algoritmi gjenetik

Algoritmi gjenetik u zhvillua nga Holland më 1975 [190]; idea e tij fillestare ishte studimi i fenomenit të përshtatjes – siç ndodh në natyrë – dhe zhvillimi i metodave të implementimit të këtij mekanizmi në sistemet kompjuterike [161]. Ashtu si në procesin natyral të evolucionit, algoritmi nis me një popullatë *kromozomesh* (zgjidhjet e mundshme të problemit) dhe gjeneron brezat e rinj, duke vepruar me operatorët e *kryqëzimit* (ose *rikombinimit*), *mutacionit* dhe *përzgjedhjes natyrore*, e cila kryhet bazuar në përshtatshmërinë (*fitnesin*) e çdo individi, deri në përmbushjen e një kriteri të caktuar [191]. Në parim, procesi i evolucionit do të vazhdojë deri në arritjen e një konvergjence të fitnesit, pra, të gjithë individët të kenë të njëjtin fitnes.

Bazuar në teorinë e evolucionit të Darvinit, algoritmi gjenetik përdor të njëjtët terma biologjikë [161] [192]:

- *Kromozomi* – i referohet një kandidati të mundshëm zgjidhjeje të një problemi, zakonisht i paraqitur me anë të një stringu bitesh.

<sup>20</sup> Me lejen e autorëve.

- *Gjeni* – një bit i vetëm ose një bllok bitesh që kodojnë një element të caktuar të kromozomit.
- *Aleli* – vlera e bitit (0 ose 1).
- *Lokusi* – vendndodhja e bit-it.
- *Kryqëzimi* – shkëmbimi i materialit gjenetik (bit-eve).
- *Mutacioni* – ndryshimi i bit-it në një lokus rastësor.

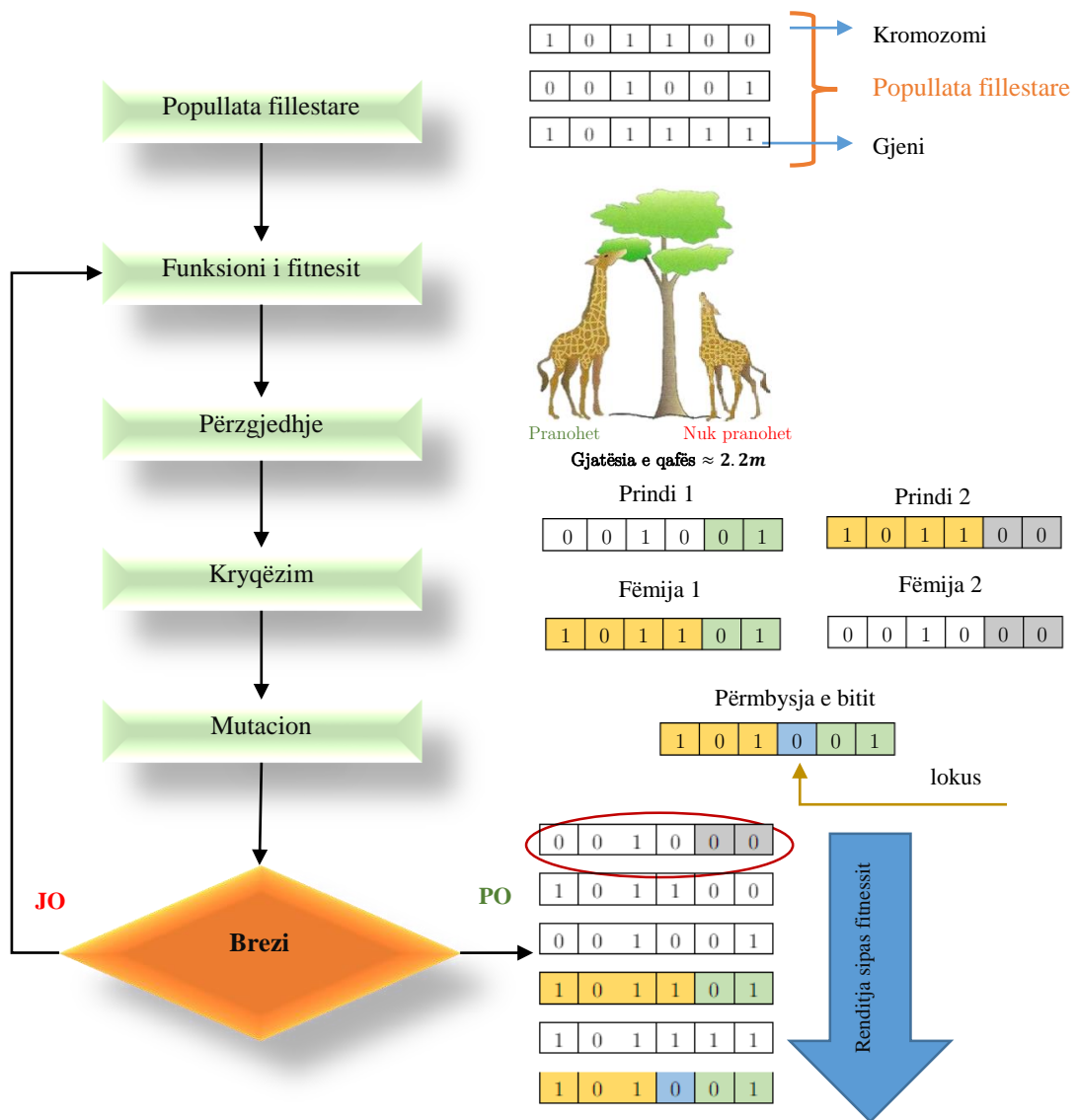


Figura 4. 4: Skema e algoritmit gjenetik në një përmasë

Forma më e thjeshtë e algoritmit gjenetik përfshin tre lloj operatorësh: përzgjedhja, kryqëzimi dhe mutacioni:

- *Operatori i përzgjedhjes* zgjedh kromozomet që do të kryqëzohen, nga gjithë hapësira e gjenomit. Në përgjithësi, sa më i lartë të jetë fitnesi i kromozomit, aq më i madh është probabiliteti i përzgjedhjes.

- *Operatori i kryqëzimit* përzgjedh në mënyrë rastësore një lokus dhe kryen shkëmbimin e informacionit gjenetik ndërmjet dy kromozomeve.
- *Operatori i mutacionit* përzgjedh në mënyrë rastësore një lokus dhe ndryshon vlerën e bit-it në atë lokus. Zakonisht, çdo lokusi i vihet në korrespondencë një vlerë e vogël probabiliteti për të ndodhur mutacion.

Hapësira e kromozomeve (kandidatëve të zgjidhjes) referohet si *hapësira e kërkimit* ndërsa hapësira e të dhënave dalëse përbën *hapësirën e fitnesit*. Për një problem të dhënë, të përcaktuar në një hapësirë kërkimi, algoritmi gjenetik do të kërkojë kandidatin që jep zgjidhjen më të mirë të problemit, duke ndjekur hapat e mëposhtëm [161]:

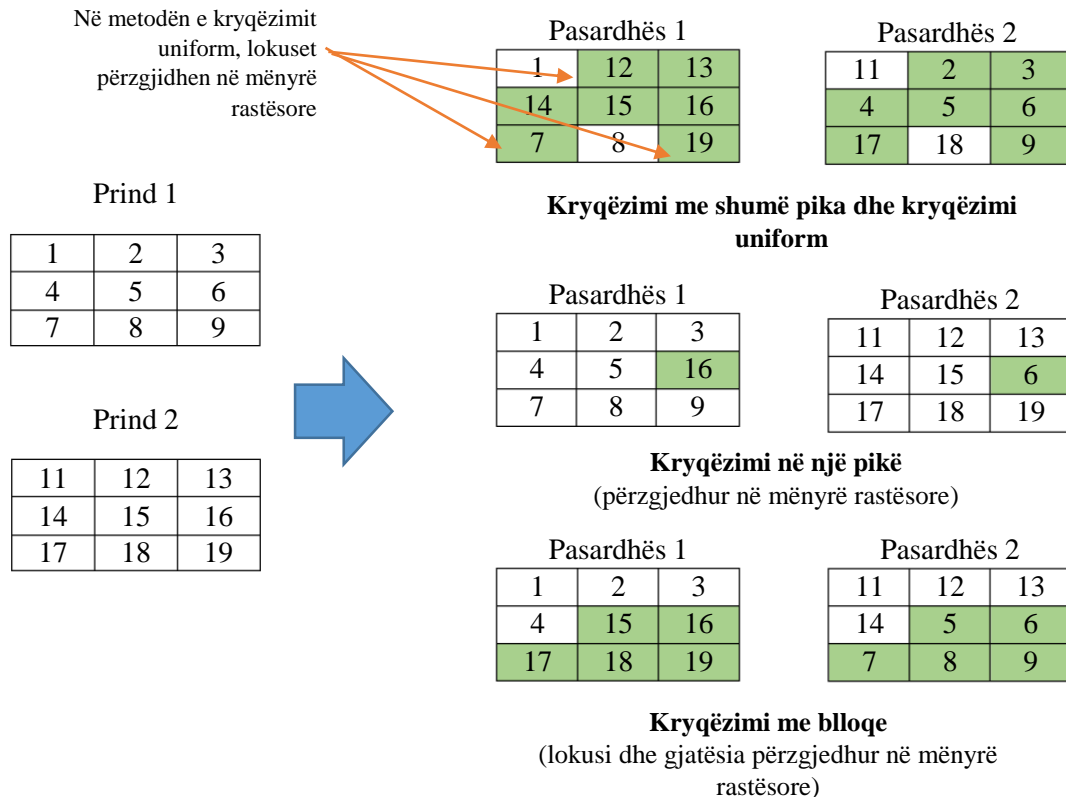
1. Përcakto një popullatë fillestare prej  $N$  kromozomesh (kandidatësh të mundshëm);
2. Llogarit fitnesin  $f(\mathbf{x})$  për çdo kromozom  $\mathbf{x}$  të popullatës;
3. Përsërit hapat e mëposhtëm për  $N_{\text{brez}}$  breza
  - i.* Përzgjidh dy kromozomë prindër nga popullata, me probabilitet përzgjedhje  $p_{\text{përzgj}}$ ; një kromozom mund të përzgjidhet më shumë se një herë;
  - ii.* Kryqëzo dy kromozomët me probabilitet  $p_{\times}$  (shpesh i referuar si rendi i kryqëzimit) në një lokus të përzgjedhur në mënyrë rastësore nga një shpërndarje uniforme në hapësirën e lokuseve;
  - iii.* Kryej mutacionin e pasardhësve, me probabilitet  $p_m$  dhe vendos pasardhësit në popullatën e re;
4. Zëvendëso popullatën aktuale me popullatën e re;
5. Përsërit nga hapi 2.

Analiza matematikore e algoritmit gjenetik ndjek një rrugë të ngjashme si Mekanika Statistike: në vend që të fokusohet në një kromozom të veçantë, algoritmi analizon zgjidhjen e problemit në shkallë makroskopike [193]. Prügel-Benett dhe Shaipo [194] studiuuan problemin e optimizimit të konfiguracionit të spineve të një ferromagneti, që do të jepte gjendjen me energji më të ulët, në modelin 1-përmasor. Në studimin e tyre, minimizimi i  $E(\vec{S}) = -\sum_{i=1}^N J_i S_i S_{i+1}$  ( $\vec{S} = S_1, S_2, \dots, S_N$ ),  $J_i$  – konstantja e çiftimit për dy spine fqinjë ( $i, i + 1$ ), nuk kërkon përcaktimin e çdo vlere të spinit  $S_i$  por të konfiguracionit  $\vec{S}$ . Në implementimin e algoritmit gjenetik, një kromozom përfaqëson një konfiguracion spinesh, fitesi paraqet vlerën e energjisë për çdo konfiguracion, operatori i kryqëzimit u aplikua vetëm në një pikë dhe, për thjeshtësi, nuk u aplikua mutacion.

#### 4.3.1. Algoritmi gjenetik në dy përmasa

Siç është përmendur më sipër, algoritmi gjenetik kërkon një paraqitje të saktë të kromozomeve. Në rastin dy përmasor çdo zgjidhje e mundshme e problemit të

parashtruar mund të paraqitet me anë të një matrice (në vijim shënohet me  $A_n$ ), çdo element ( $a_{ij}^{(n)}$ ) i së cilës paraqet një alel në gjenin e  $i$ -të dhe kromozomin e  $n$ -të ( $n = 1, 2, \dots, N$ ), ku  $N$  është popullata fillestare e zgjidhjeve të mundshme të problemit [195].



**Figura 4. 5:** Operatori i kryqëzimit në dy përmasa, sipas 4 skemave të kryqëzimit.

Operatori i kryqëzimit realizon shkëmbimin e informacionit gjenetik ndërmjet dy individëve të përzgjedhur, me probabilitet  $p_x \leq p_{përzgji}(\text{prind}_1) \times p_{përzgji}(\text{prind}_2)$ , dhe mund të kryhet në një prej skemave të mëposhtme:

- *Kryqëzimi në shumë pika:* prindërit mund të shkëmbejnë informacionin gjenetik në disa pika (alele), të përcaktuara paraprakisht.
- *Kryqëzimi uniform:* prindërit mund të shkëmbejnë informacionin gjenetik në disa pika (alele), si në kryqëzimin me shumë pika, por pikat përzgjidhen në mënyrë rastësore sipas një shpërndarjeje uniforme, në hapësirën e aleleve.
- *Kryqëzimi në një pikë:* prindërit mund të shkëmbejnë informacionin gjenetik vetëm në një pikë, të përzgjedhur në mënyrë rastësore sipas një shpërndarjeje uniforme, në hapësirën e aleleve.
- *Kryqëzimi me blloqe:* prindërit shkëmbejnë informacion gjenetik me blloqe/pjesë, gjatësia dhe pozicioni i të cilëve zgjidhet në mënyrë rastësore sipas një shpërndarjeje uniforme, në hapësirën e aleleve.

Shënojmë se kryqëzimi në dy përmasa mund të kryhet sipas rreshtave ose shtyllave të matricave (kromozomeve) dhe, matematikisht, nënkupton një veprim matematik të caktuar (mesatarizim, shkëmbim, produkt, etj.).

*Operatori i mutacionit* siguron praninë e diversitetit të popullatës dhe realizon ndryshimin e informacionit gjenetik të pasardhësve në një alel të përzgjedhur në mënyrë rastësore sipas një shpërndarjeje uniforme.

#### 4.4. Implementimi i algoritmit gjenetik në llogaritjen e elementëve të matricës së ndërveprimit

Për një sistem të ndërveprimit të specieve, të modeluar me anë të modelit të përgjithësuar Lotka-Volterra, kinetika e popullatave të specieve jepet me anë të ekuacionit 4.2. Pika fikse e sistemit,  $\mathbf{x}^*$ , që merret nga zgjidhja e sistemit të ekuacioneve

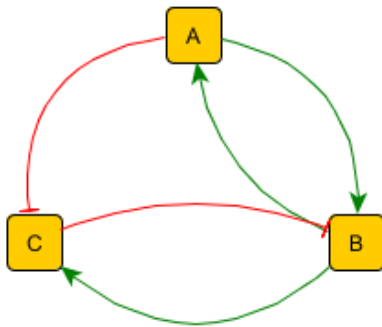
$$x_i \left( b_i + \sum_{j=1}^N a_{ij} x_j \right) = 0 \Leftrightarrow \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^N a_{ij} x_j = -b_i \quad (4.11)$$

mund të gjenerohet (cilësisht) duke e modeluar sistemin e mësipërm me anë të një modeli Boolean, në të cilin, veprimi i konkurrencës ndërmjet specieve do të paraqesë inhibim, veprimi i simbiozës do të paraqesë aktivizim, ndërsa laqet pre-grabitqar do të paraqesin laqe negative (inhibim-aktivizim). Në këtë mënyrë, njohja e stabilitetit të sistemit, pra,  $\mathbf{x}^*$ , na sjell një hap më pranë llogaritjes së koeficientëve  $a_{ij}$ . Në [174] kemi provuar se modelet Booleane dhe hibride arrijnë të përshkruajnë me sukses një model të ndërveprimit të specieve Lotka-Volterra, duke marrë të njëjtin rezultat mbi stabilitetin e sistemit në kushte normale dhe kushtet e mungesës së specieve. Rezultatet e studimit të marrë në konsideratë mund të gjenden në Materiale plotësuese për Kapitullin IV.

Konsiderojmë një sistem ndërveprimi me tri specie,  $A, B, C$  (Figura 4. 6), për të cilin ekuacionet Booleane dhe hibride të ndërveprimit jepen në Tabelën 4. 1. Analiza e stabilitetit të këtij sistemi, sipas modelit Boolean dhe PLDE, do të ndjekë hapat e parashtruar në Kapitujt I dhe III. Kështu, sipas modelit Boolean, zbatimi i metodës sinkrone dhe asinkrone ROA (Figura 4. 7), tregojnë se sistemi arrin pikën fikse në  $\mathbf{x}_B^* = [1 \ 1 \ 0]$ , pra,  $A = 1, B = 1, C = 0$ .

Për modelin hibrid PLDE janë zbatuar të njëjtat kushte si në Kapitullin III. Duke qenë se sistemi i marrë në konsideratë paraqet vetëm një rast metodologjik, në këtë kapitull nuk paraqiten rezultatet numerike të simulimeve për rastet e deficencave dhe analiza probabilitare e zinxhirëve të Markovit. Paraqitjet grafike të rezultateve jepen në Figurën 4. 8. Sipas rezultateve numerike të këtij modeli,

pika fikse është  $\mathbf{x}_{PLDE}^* = [1 \ 1 \ 0]$ , totalisht e përputhshme me rezultatet e marra nga modeli Boolean.



**Tabela 4. 1:** Ekuacionet Booleane dhe hibride PLDE të sistemit me 3 specie

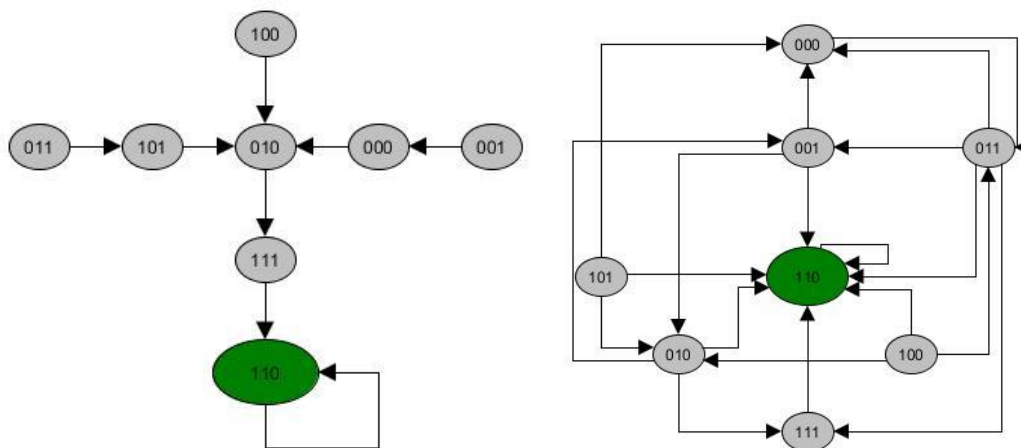
Nyja	Funksioni rregullues
Modeli Boolean	$A^* = B$
	$B^* = A \text{ or not } (C)$
	$C^* = B \text{ and not } (A)$
Modeli hibrid PLDE	$\frac{d\bar{A}}{dt} = \alpha_A [B - \bar{A}]$
	$\frac{d\bar{B}}{dt} = \alpha_B [(A \text{ and not } (C)) - \bar{B}]$
	$\frac{d\bar{C}}{dt} = \alpha_C [(B \text{ and not } (A)) - \bar{C}]$

**Figura 4. 6:** Paraqitja diskrete e një sistemi ndërveprimi me 3 specie. A dhe B paraqesin një lak pozitiv (simbiozë), B dhe C paraqesin një lak negativ (pre-grabitqar) ndërsa A dhe C paraqesin një ndërveprim të ngjashëm me parazit-pre (inhibim).

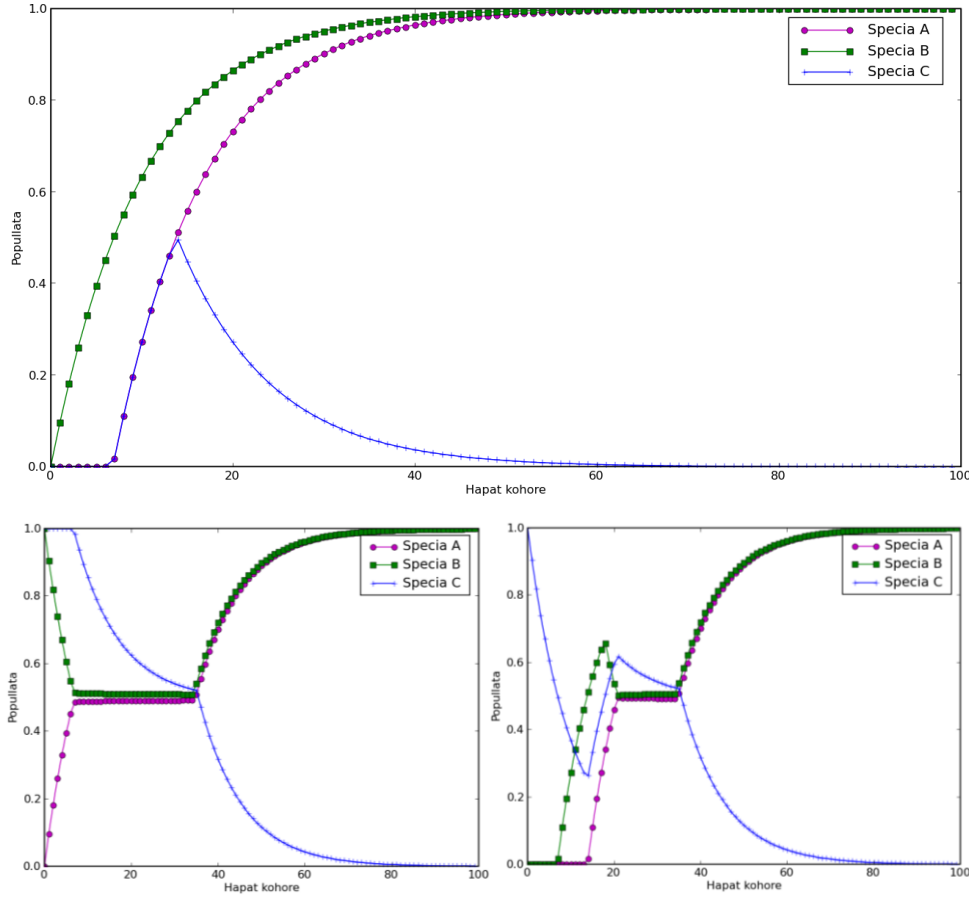
Sistemi i mësipërm mund të modelohet si një sistem ndërveprimi me tri specie, popullatat e të cilave do të jepen me anë të ekuacionit 4.2, ku  $i = 1,2,3$  ndërsa  $b_i$  do të luajnë rolin e koeficientëve  $\alpha_i \approx 0.5$ . Në ekuilibër, zbatimi i ekuacionit 4.11, jep

$$\sum_{i,j=1}^N a_{ij}x_j = -0.5 \tag{4.12}$$

ku  $x_{j(j=1,2,3)} = [1 \ 1 \ 0]$ .



**Figura 4. 7:** Grafi i kalimit të gjendjeve të sistemit me 3 specie të Figurës 4. 6. Sistemi arrin stabilitetin në pikën  $\mathbf{x}^* = [1 \ 1 \ 0]$ . (Majtas) metoda sinkrone e gjenerimit të gjendjeve, (Djathtas) metoda asinkrone rastësore.



**Figura 4. 8:** Rezultatet e simulimeve numerike, modeli hibrid PLDE. Pika fikse është  $\mathbf{x}_{PLDE}^* = [1 \ 1 \ 0]$ .

Për sistemin e Figurës 4. 6, matrica e ndërveprimit do të ketë paraqitjen:

$$A = \begin{pmatrix} -1 & rnd & -rnd \\ rnd & -1 & -rnd \\ 0 & rnd & -1 \end{pmatrix}$$

Në këtë mënyrë, implementimi i algoritmit gjenetik do të ndjekë hapat e mëposhtëm:

1. Përcakto një familje prej  $N$  matricash fillestare (prindërisht) sipas kushteve të mësipërme;
2. Përcakto funksionin e fitnesit, si minimumi i normës Euklidiane ndërmjet zgjidhjes së gjeneruar nga  $\mathbf{x}_{GA}^* = A^{-1}\mathbf{b}$  dhe  $\mathbf{x}_{PLDE}^* = [1 \ 1 \ 0]$ ; llogarit fitnesin për çdo individ dhe rendit popullatën sipas fitnesit;
3. Përzgjidh, në mënyrë rastësore, dy prindër dhe apliko kryqëzimin.
4. Llogarit fitnesin për çdo pasardhës: nëse  $fitnes_{pasardhës} < \min(fitnes_{prind})$ , pasardhësi nuk pranohet në brezin pasardhës; në të kundërt pasardhësi pranohet;
5. Përsërit nga hapi 3 për një numër  $N_{brezave}$  ose derisa fitnesi të arrijë një vlerë ngopjeje, pra, popullata nuk përmirësohet më;

6. Individu më i mirë zgjidhet pas renditjes së individëve të brezit të fundit sipas fitnesit të tyre.

Krijo popullatën fillestare prej  $N$  matricash, shembull  $A_{ij} \in U(-1, 1)$

$$A_1 = \begin{pmatrix} -0.9501 & 0.4860 & 0.4565 \\ 0.2311 & 0.8913 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix} \dots \quad A_N = \begin{pmatrix} 0.4447 & -0.9218 & -0.4057 \\ 0.6154 & 0.7382 & 0.9355 \\ -0.7919 & 0.1763 & -0.9169 \end{pmatrix}$$

Llogarit funksionin e koston: shembull  $v_{kritike} = [1 \ 1 \ 0]$

$$v_1 = [0.9117 \ -0.1191 \ 0.3931] \dots \quad v_N = [-0.0511 \ -0.4667 \ 0.8829]$$

$$kosto_1 = 1.1894 \dots \quad kosto_N = 2.0089$$

Kryqëzo dy prindër të përzgjedhur në mënyrë rastësore: shembull  $A_1$  dhe  $A_N$ , locus 23

$$Prind_1 = \begin{pmatrix} -0.9501 & 0.4860 & 0.4565 \\ 0.2311 & 0.8913 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix} \quad Prind_2 = \begin{pmatrix} 0.4447 & -0.9218 & -0.4057 \\ 0.6154 & 0.7382 & 0.9355 \\ -0.7919 & 0.1763 & -0.9169 \end{pmatrix}$$

$$Fëmija_1 = \begin{pmatrix} -0.9501 & 0.4860 & 0.4565 \\ 0.2311 & 0.8913 & 0.9355 \\ -0.7919 & 0.1763 & -0.9169 \end{pmatrix} \quad Fëmija_2 = \begin{pmatrix} 0.4447 & -0.9218 & -0.4057 \\ 0.6154 & 0.7382 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix}$$

Vepru me një mutacion mbi fëmijët, locus rastësor

$$Fëmija'_1 = \begin{pmatrix} -0.9501 & 0.4860 & 0.4565 \\ 0.2311 & -0.1581 & 0.9355 \\ -0.7919 & 0.1763 & -0.9169 \end{pmatrix} \quad Fëmija'_2 = \begin{pmatrix} 0.2528 & -0.9218 & -0.4057 \\ 0.6154 & 0.7382 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix}$$

Llogarit koston për secilin prej fëmijëve dhe krijo popullatën pasardhëse

$$kosto_{f_1} = 2.1313 \quad kosto_{f_2} = 1.7648$$

$Fëmija'_1$  përjashtohet nga brezi pasardhës.

### Brezi 2

$$A_1 = \begin{pmatrix} -0.9501 & 0.4860 & 0.4565 \\ 0.2311 & 0.8913 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix} \dots \quad A_N = \begin{pmatrix} 0.2528 & -0.9218 & -0.4057 \\ 0.6154 & 0.7382 & -0.0185 \\ -0.6068 & 0.7621 & 0.8214 \end{pmatrix}$$

**Figura 4. 9:** Aplikimi i algoritmit gjenetik për llogaritjen e elementëve të matricës së ndërveprimit.

Vlejné të theksohen disa saktësime në hapat e algoritmit. *Së pari*, është thelbësisht e rëndësishme të theksohet se, nëpërmjet algoritmit gjenetik, ne kërkojmë matricën, elementët e të cilës do të japin zgjidhjen më të mirë të sistemit të ekuacioneve 4.12. Matrica e përzgjedhur në brezin e fundit, së cilës i korrespondon fitnesi më i madh, do të japë një zgjidhje  $\mathbf{x}_{GA}^* = A^{-1}\mathbf{b}$ ; në këtë mënyrë, fitnesi përcaktohet si  $fitnes = \min\|\mathbf{x}_{GA}^* - \mathbf{x}_{PLDE}^*\| \equiv kosto$ . *Së dyti*, përzgjedhja e prindërve për kryqëzim është rastësore, çka nënkupton se një individ mund të përzgjidhet më shumë se një herë për kryqëzim, por nuk është aplikuar

kriteri i përmbushjes së probabilitetit të kryqëzimit, të përmendur në paragrafin 4.3.1. Kjo procedurë është përzgjedhur për të evituar “ngecjen” e algoritmit në minimume lokale, nëse individët kryqëzohen vetëm ndërmjet “fqinjëve më të afërt”. Përzgjedhja rastësore e individëve për kryqëzim siguron diversitetin e sistemit dhe rrit mundësinë e algoritmit për të mbërritur në minimumin global. Procesi i kryqëzimit mund të përcaktohet si një prej veprimeve të përmendura në paragrafin 4.3.1; nga ky proces përftohen dy pasardhës, të cilët mund të përzgjidhen të dy ose vetëm njëri prej tyre, për të ndjekur hapat e mëtejshëm. *Së treti*, në brezin pasardhës, mund të përfshihen të gjithë individët (prindërit dhe pasardhësit) ose të vendoset një *kapacitet mbartës i sistemit*, në të cilin do të përzgjidhet një numër i caktuar individësh me fitnesin më të mirë. Skematikisht, aplikimi i algoritmit gjenetik për llogaritjen e elementëve të matricës së ndërveprimit jepet në Figurën 4. 9.

#### 4.5.Implementimi i algoritmit gjenetik në llogaritjen e elementëve të Jakobianit në hapësirën lineare

Për sistemin (4.2) për sistemin me tri specie, Jakobiani i transformimit në hapësirën lineare do të shkruhej

$$\mathfrak{J} = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} & \frac{\partial f_1}{\partial x_3} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2}{\partial x_2} & \frac{\partial f_2}{\partial x_3} \\ \frac{\partial f_3}{\partial x_1} & \frac{\partial f_3}{\partial x_2} & \frac{\partial f_3}{\partial x_3} \end{pmatrix} \quad (4.13)$$

$$\mathfrak{J} = \begin{pmatrix} b_1 + 2a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + a_{13}x_3 & a_{12}x_1 & a_{13}x_1 \\ a_{21}x_2 & a_{21}x_1 + b_2 + 2a_{22}x_2 + a_{23}x_3 & a_{23}x_2 \\ a_{31}x_3 & a_{32}x_3 & a_{31}x_1 + a_{32}x_2 + b_3 + 2a_{33}x_3 \end{pmatrix}$$

Në hapësirën lineare, sistemi (4.2) merr formën

$$\dot{\mathbf{u}} = \mathfrak{J} \cdot \mathbf{u} \quad (4.14)$$

ku

$$\mathbf{u} = \begin{pmatrix} u_1 \\ u_2 \\ u_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1 - x_1^* \\ x_2 - x_2^* \\ x_3 - x_3^* \end{pmatrix} \quad (4.15)$$

Siç është përmendur në paragrafin 4.2.1, linearizimi i sistemit *ruan pikat fikse dhe natyrën e tyre*, të përcaktuara nga vlerat vetjake të Jakobianit të transformimit, të llogaritur në secilën prej tyre. Klasifikimi i pikave fikse në varësi të vlerës së gjurmës dhe përcaktorit të Jakobianit është dhënë në Figurën 4. 1.

Duke patur parasysh llojin e ndërveprimeve ndërmjet specieve, Jakobiani i transformimit të sistemit në hapësirën lineare të sistemit me tri specie ka trajtën:

$$\mathfrak{J} = \begin{pmatrix} rnd & rnd & -rnd \\ rnd & rnd & -rnd \\ 0 & 0 & rnd \end{pmatrix}$$

Vlen të theksohet se shenja e elementëve jashtë diagonales është e njëjtë me shenjën e elementëve korrespondues të elementëve të matricës së ndërveprimit, pra, lloji i ndërveprimit midis specieve ruhet, ndërkohë që elementët e diagonales kryesore janë numra të rastit.

Aplikimi i algoritmit gjenetik për llogaritjen e elementëve të Jakobianit të mësipërm do të ndjekë hapat e mëposhtëm (në mënyrë të ngjashme si hapat e ndjekur për llogaritjen e elementëve të matricës së ndërveprimit):

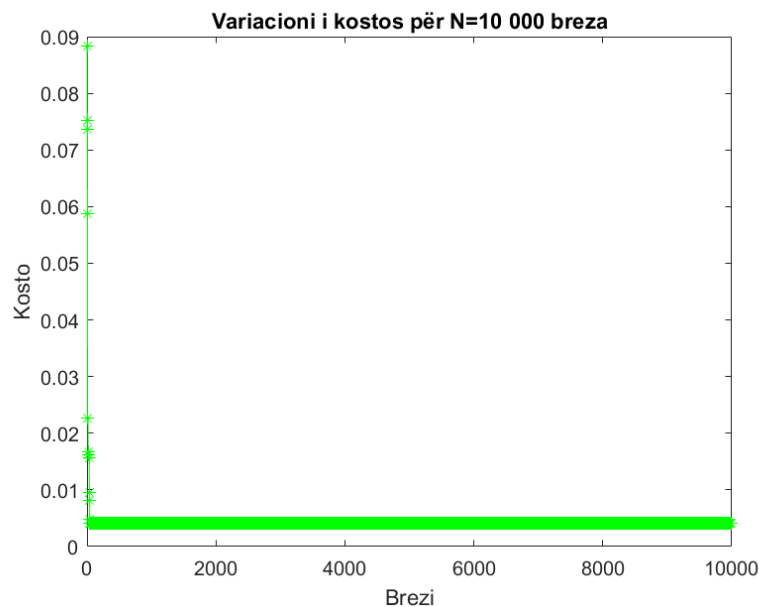
1. Përcakto një familje prej  $N$  matricash fillestare (prindërisht) sipas kushteve të mësipërme;
2. Përcakto funksionin e fitnesit, si minimumi i normës Euklidiane ndërmjet zgjidhjes së gjeneruar nga  $\mathbf{u}_{GA}^* = \mathfrak{J}^{-1}\mathbf{b}$  dhe  $\mathbf{u}_{PLDE}^* = [1 \ 1 \ 0]^T$ ; llogarit fitnesin për çdo individ dhe rendit popullatën sipas fitnesit;
3. Përzgjidh, në mënyrë rastësore, dy prindër dhe apliko kryqëzimin.
4. Llogarit fitnesin për çdo pasardhës: nëse  $fitnes_{pasardhës} < \min(fitnes_{prind})$ , pasardhësi nuk pranohet në brezin pasardhës; në të kundërt pasardhësi pranohet;
5. Përsërit nga hapi 3 për një numër  $N_{brezave}$  ose derisa fitnesi të arrijë një vlerë ngopjeje, pra, popullata nuk përmirësohet më;
6. Individit më i mirë zgjidhet pas renditjes së individëve të brezit të fundit sipas fitnesit të tyre

Edhe në këtë rast, vlejné të theksohen disa saktësime në hapat e algoritmit. *Së pari*, ndërkohë që procesi i kryqëzimit dhe ndërtimit të brezave do të kryhet në të njëjtën mënyrë si dhe në rastin e llogaritjes së elementëve të matricës së ndërveprimit, përzgjedhja e individëve (në veçanti, e individit me fitnes më të mirë) do të përfshijë edhe përmbushjen e kushteve të stabilitetit të sistemit, pra, llogaritjen e vlerave vetjake të individit të përzgjedhur. Individit i përzgjedhur do të pranohet vetëm nëse vlerat vetjake të tij do të karakterizohen nga  $\Re(\lambda_i) < 0, i = 1,2,3$ . *Së dyti*, është e qartë se, në kushtet e ekzistenës së vetëm një pike fikse të sistemit, algoritmi gjenetik do të zbatohet për llogaritjen e Jakobianit të llogaritur në vetëm një pikë fikse. Nëse sistemi do të karakterizohet nga ekzistenca e disa pikave fikse, do të duhej të llogarisnim një Jakobian për çdo pikë fikse. Një shpjegim më i zgjeruar mbi studimin e rastit të dytë do të jepet në paragrafin 4.7.

#### 4.6. Rezultate numerike: përcaktimi i elementëve të matricës së ndërveprimit

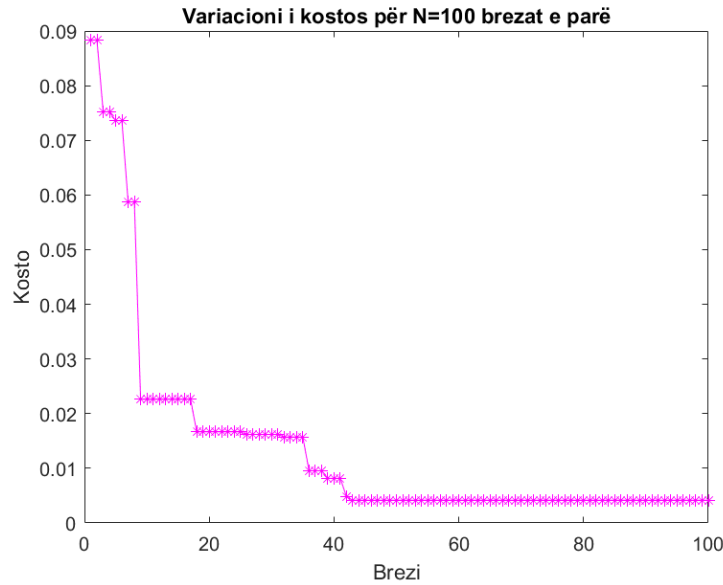
Simulimet numerike mbi algoritmin gjenetik janë kryer për një popullatë fillestare matricash  $N = 100$  (i përdorur edhe si një kapacitet mbartës i sistemit. Në çdo brez, janë zgjedhur 100 individët me fitnesin më të mirë), numër brezash  $N_{brez} = 10\,000$  dhe 20 përsëritje (ekzekutime). Simulimet numerike janë kryer në MATLAB, ndërkohë që kodet e përdorura gjenden në Materiale plotësuese për Kapitullin IV, në fund të kapitullit. Operatori i kryqëzimit është marrë si shkëmbimi i aleleve (elementëve) në një lokus të përzgjedhur në mënyrë rastësore nga një shpërndarje uniforme.

Rezultatet numerike mbi koston minimale të individëve, pas çdo brezi paraqiten në Figurën 4. 10 dhe Figurën 4. 11.



**Figura 4. 10:** Variacioni i koston për  $N = 10000$  breza.

Në këtë pikë, është mjaft e rëndësishme të theksohet çfarë përfaqëson individi më i mirë. Duke iu rikthyer sërish ekuacionit (4.2), forma e përgjithshme e të cilit përfshin faktorët eksponencialë, është e qartë se elementët e matricës së gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik do të paraqesin elementët e Jakobianit të sistemit, të llogaritur në pikën fikse. Për shembullin e sistemit linear, të paraqitur me anë të ekuacionit (4.2), është supozuar se vlerat e eksponentëve të variablave njihen dhe janë të barabarta me 1. Në këtë mënyrë, elementët e matricës së gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik përfaqësojnë drejtpërsëdrejti koeficientët e ndërveprimeve ndërmjet specieve.



**Figura 4. 11:** Variacioni i koston për 100 brezat e parë. Algoritmi stabilizohet rreth brezit të 43-të.

Për sistemin (4.2), në të cilët fuqitë e variablave janë supozuar të njohura dhe të barabarta me 1, algoritmi gjenetik tregon se individi më i mirë shfaq karakteristikat e mëposhtme:

**Individi më i mirë =**

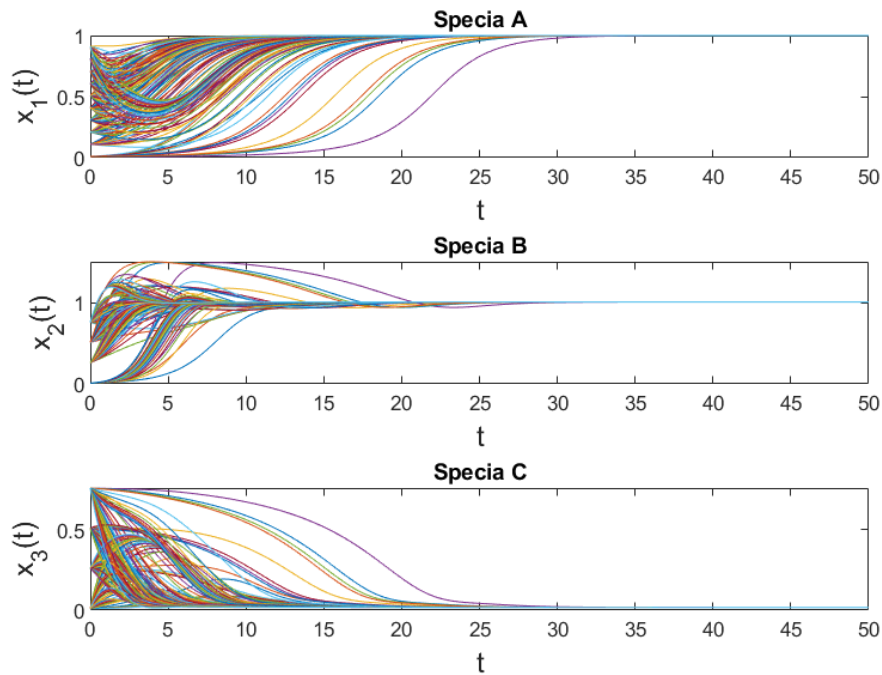
```
-0.6268 0.1389 -0.7386
0.2788 -0.7883 0.9542
0.0576 -0.5361 -0.9692
```

**kosto = 3.8268e-04**

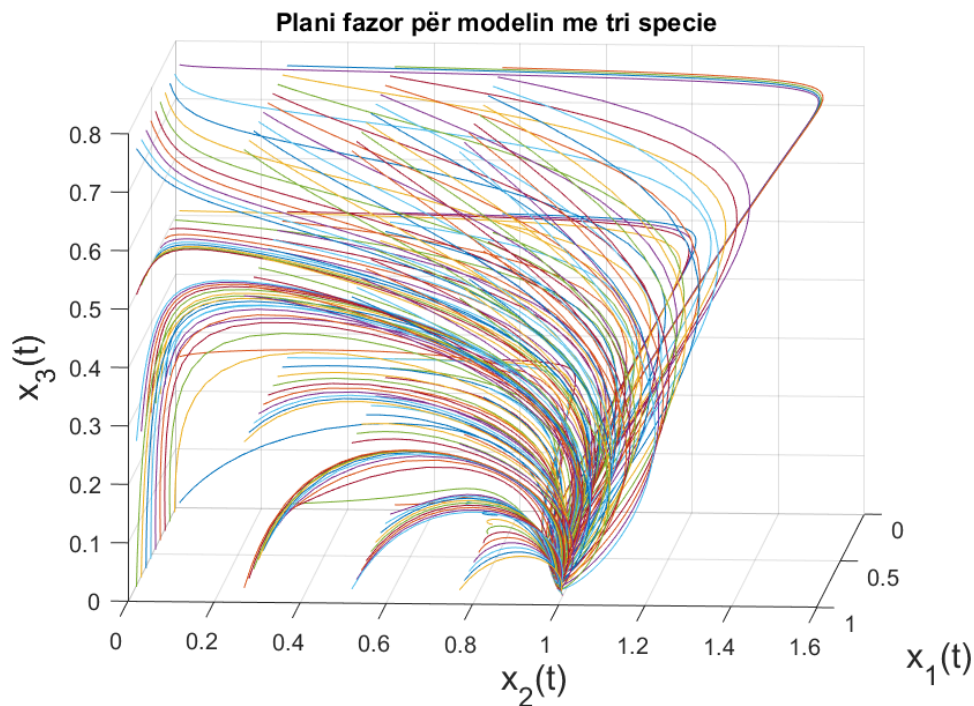
**Pika fikse sipas individit më të mirë =**

```
1.0011
1.0092
0.0172
```

Nga Figura 4. 11 vihet re se kostoja e individëve përmirësohet ndjeshëm që në 10 hapat e parë dhe arrin vlerën minimale,  $kosto_{min} = 3.9268e - 04$ , pas hapit të 40-të, ndërkohë që matrica e koeficientëve të ndërveprimit, që përshkruan më mirë sistemin (4.2) jep zgjidhjen  $v_{GA} = [1.0011, 1.0092, 0.0172]^T$ . Vihet re se elementi  $a_{31}$  i matricës, i përcaktuar si  $a_{31} = 0$  në kushtet fillestare (për shkak se komponenti C nuk vepron drejtëpërdrejtë mbi komponentin A), merr vlerën  $a_{31}^{GA} = 0.0576$ . Duke iu rikthyer sërish sistemit (4.2), gjenerimi i matricës së ndërveprimit lejon përfitim të trajektoreve të sistemit të linearizuar, në kushte të ndryshme fillestare (Figura 4. 12, Figura 4. 13), në të cilat vihet re se, nga cilado gjendje fillestare të nisët, sistemi konvergjon drejt pikës fikse  $[1,1,0]^T$ .



**Figura 4. 12:** Zgjidhja e vazhduar e sistemit të linearizuar (4.2), për kushte të ndryshme fillestare dhe matricë të koeficientëve të përfutur me anë të algoritmit gjenetik.



**Figura 4. 13:** Trajektoret e sistemit të linearizuar për kushte të ndryshme fillestare. Të gjitha trajektoret konvergjojnë drejt pikës fikse  $[1,1,0]^T$ .

Janë të rëndësishme të përmenden disa veçori të rëndësishme të rezultateve numerike:

*Së pari*, Figura 4. 12 dhe Figura 4. 13, mund të përshkruajnë vetëm sjelljen e sistemit në *afërsi të pikës fikse*, ndërtimi i saktë i trajektoreve të sistemit kërkon njohjen e plotë dhe të saktë të ekuacioneve të kinetikës së komponentëve të tij. Është e qartë se, për sistemet jolineare – siç janë, përgjithësisht, sistemet biologjike rregullatore – matrica e përfutur me anë të algoritmit gjenetik do të përfaqësojë Jakobianin e transformimit në sistemin linear; në këtë rast trajektorët e sistemit nuk mund të ndërtohen.

*Së dyti*, për një sistem ndërveprimi për të cilin njihet forma e funksioneve të ndërveprimit, por jo vlerat e koeficientëve kinetikë të ndërveprimit, elementët e matricës së ndërveprimit, të gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik, mund të çojnë në llogaritjen e vlerave të këtyre koeficientëve, duke rezultuar në ndërtimin e një modeli plotësisht të vazhduar.

#### 4.7.Rezultate numerike: përcaktimi i elementëve të Jakobianit të ndërveprimit

Simulimet numerike për llogaritjen e elementëve të Jakobianit të transformimit janë kryer në të njëjtat kushte si dhe llogaritja e elementëve të matricës së ndërveprimit (paragrafi 4.6). Në këtë rast, në çdo ekzekutim, individi i përzgjedhur kontrollohet edhe për plotësimin e kushteve të stabilitetit. Grafiku i ndryshimit të vlerës së kostos për çdo brez, jepet në Figurën 4. 14 dhe Figurën 4. 15.

Individi më i mirë i përzgjedhur karakterizohet nga të dhënat e mëposhtme:

**Individi më i mirë =**

-0.8435	0.8456	-0.7569
0.8173	-0.8285	0.0085
0.0001	0.0010	0.0025

**Kosto =**

0.0199

**Vektorët vetiakë =**

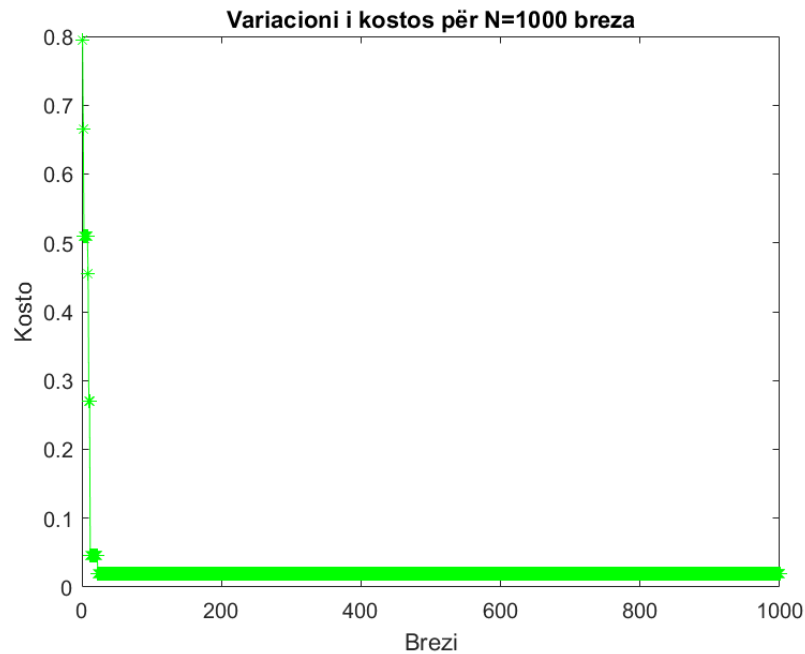
-0.7163 + 0.0000i	-0.7111 + 0.0000i	-0.7111 + 0.0000i
0.6978 + 0.0000i	-0.7019 + 0.0167i	-0.7019 - 0.0167i
-0.0004 + 0.0000i	0.0074 + 0.0367i	0.0074 - 0.0367i

**Vlerat vetiake =**

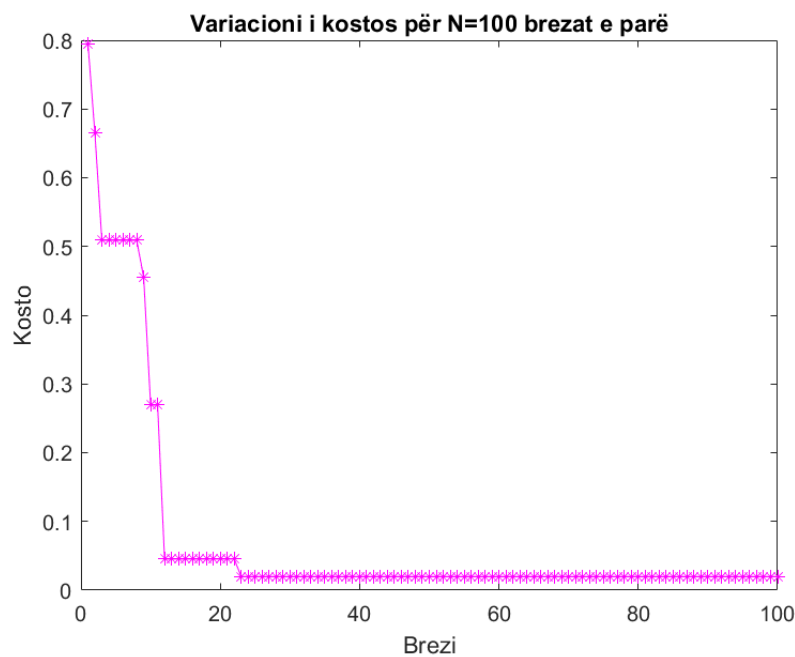
<b>-1.6676 + 0.0000i</b>	0	0
0	<b>-0.0010 + 0.0192i</b>	0
0	0	<b>-0.0010 - 0.0192i</b>

**u\_ga =**

1.0125  
0.9975  
0.0152



*Figura 4. 14: Variacioni i kostos për N = 10000 breza.*



*Figura 4. 15: Variacioni i kostos për 100 brezat e parë. Algoritmi stabilizohet rreth brezit të 43-të.*

Jakobiani i transformimit, i përfutur me anë të algoritmit gjenetik, mundëson klasifikimin e pikës fikse sipas aparatit matematik të përshkruar në paragrafin 4.2.1, sjelljen e përafuar të sistemit rreth saj si dhe drejtimet sipas së cilëve sistemi afrohet (nëse pika fikse është stable) ose largohet (nëse pika fikse është jostable). Në këtë pikë, vlejnjë të bëhen disa krahasime mbi saktësinë e rezultateve të përfuturara me anë të algoritmit gjenetik:

1. Jakobiani i transformimit i llogaritur në pikës fikse, do të jetë

$$\begin{aligned} \mathfrak{J} &= \left( \begin{array}{ccc} b_1 + 2a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + a_{13}x_3 & a_{12}x_1 & a_{13}x_1 \\ a_{21}x_2 & a_{21}x_1 + b_2 + 2a_{22}x_2 + a_{23}x_3 & a_{23}x_2 \\ a_{31}x_3 & a_{32}x_3 & a_{31}x_1 + a_{32}x_2 + b_3 + 2a_{33}x_3 \end{array} \right) \Big|_{x^*} \\ &= \left( \begin{array}{ccc} b_1 + 2a_{11} + a_{12} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{21} + b_2 + 2a_{22} & a_{23} \\ 0 & 0 & a_{31} + a_{32} + b_3 \end{array} \right) \\ \mathfrak{J}_{GA} &= \begin{pmatrix} -0.8435 & 0.8456 & -0.7569 \\ 0.8173 & -0.8285 & 0.0085 \\ 0.0001 & 0.001 & 0.0025 \end{pmatrix} \end{aligned}$$

Në rastin konkret, për shkak të natyrës binare të pikës fikse (të gjeneruar me anë të modelit Boolean), Jakobiani i llogaritur në  $x^*$  nuk arrin të japë të dhëna mbi koeficientët  $a_{31}$ ,  $a_{32}$  dhe  $a_{33}$ . Megjithë këtë, në rastin e përgjithshëm (kur njihet zgjidhja e saktë e sistemit (4.1)), krahasimi i elementëve të Jakobianit çon në llogaritjen e vlerave të koeficientëve të ndërveprimit.

2. Vlerat vetiake të individit më të mirë të përzgjedhur nga algoritmi gjenerik janë  $\lambda_1 = -1.6676$ ,  $\lambda_2 = -0.01 + 0.0192i$  dhe  $\lambda_3 = -0.01 - 0.0192i$ . Është e rëndësishme të theksohet se klasifikimi i pikave fikse sipas Figurës 4. 1 vlen vetëm për rastin dypërmasor, në të cilin pikat fikse klasifikohen në pesë kategori kryesore. Në rastin trepërmasor, pikat fikse klasifikohen në dhjetë kategori kryesore [196]:

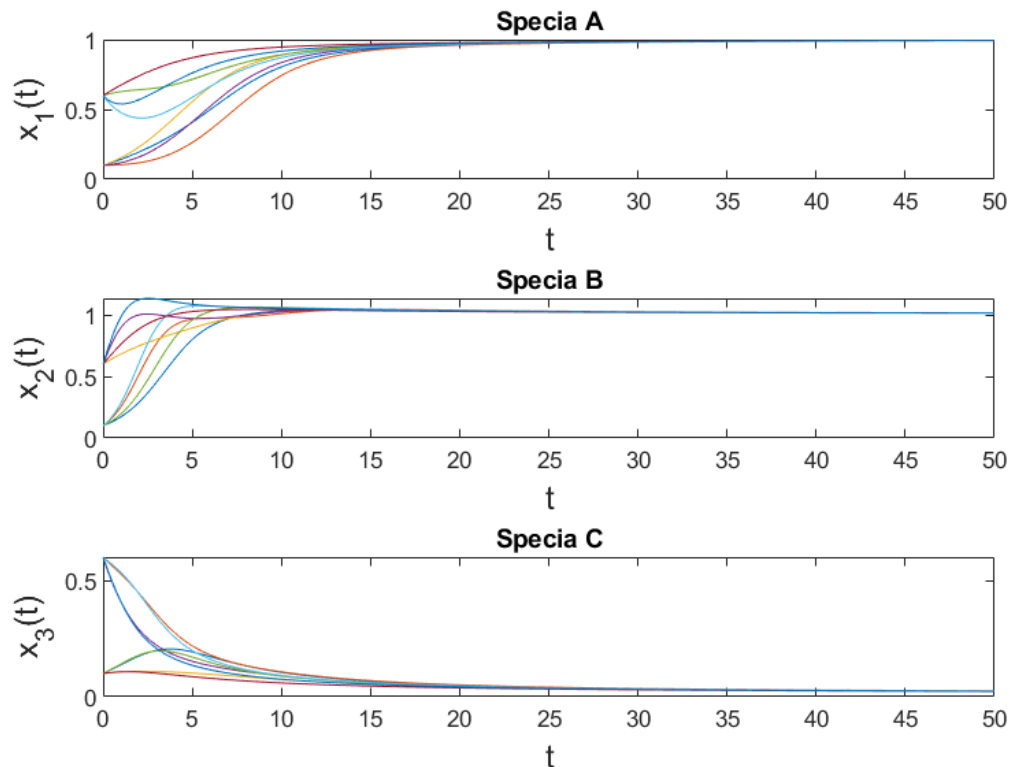
(1)	Nyje e paqëndrueshme	$\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3 > 0$
(2)	(+ + -) samar	$\lambda_1 > \lambda_2 > 0 > \lambda_3$
(3)	(+ - -) samar	$\lambda_1 > 0 > \lambda_2 > \lambda_3$
(4)	Nyje e qëndrueshme	$0 > \lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$
(5)	Helikë <sup>21</sup> e paqëndrueshme	$\lambda_1 > \Re(\lambda_{2,3}) > 0; Im(\lambda_2) = -Im(\lambda_3)$
(6)	Helikë e paqëndrueshme	$\Re(\lambda_{1,2}) > \lambda_3 > 0; Im(\lambda_1) = -Im(\lambda_2)$
(7)	Helikë e qëndrueshme	$0 > \lambda_1 > \Re(\lambda_{2,3}); Im(\lambda_2) = -Im(\lambda_3)$
(8)	Helikë e qëndrueshme	$0 > \Re(\lambda_{1,2}) > \lambda_3; Im(\lambda_1) = -Im(\lambda_2)$
(9)	(+ - -) spirale – samar	$\lambda_1 > 0 > \Re(\lambda_{2,3}); Im(\lambda_2) = -Im(\lambda_3)$
(10)	(+ + -) spirale – samar	$\Re(\lambda_{1,2}) > 0 > \lambda_3; Im(\lambda_1) = -Im(\lambda_2)$

Në këtë mënyrë, pika fikse e gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik i përket kategorisë së tetë:  $0 > \Re(\lambda_{2,3}) > \lambda_1; Im(\lambda_2) = -Im(\lambda_3)$  dhe përfaqëson një **helikë që mbliidhet (të qëndrueshme)**. Sipas dy drejtimeve

<sup>21</sup> Spirale – nyje

që u korrespondojnë vlerave vetjake komplekse, pjesa imagjinare jep të dhëna mbi frekuencën e lëkundjes [21]. Konkretisht, për  $\lambda = \alpha \pm i\omega$ , zgjidhja do të jepej si një kombinim linear i termave të tipit  $e^{\alpha t} \cos \omega t$  dhe  $e^{\alpha t} \sin \omega t$ , që përfaqësojnë *lëkundje që shuhen* kur  $\alpha < 0$  dhe *lëkundje me amplitudë që rritet* kur  $\alpha > 0$ . Siç vërehet edhe nga Figura 4. 13, potreti fazor i sistemit përshkruan një helikë që mblidhet, çka përputhet me përshkrimin e dhënë nga vlerat vetjake të sistemit të linearizuar.

3. Karakteristikat e Jakobianit të llogaritur me anë të algoritmit gjenetik dhe përcaktimet mbi natyrën e pikës fikse përputhem me portretet fazore të sistemit të Figurës 4. 12 dhe Figurës 4. 13, në të cilat vërehet se nga cilado pikë fillestare nisnin trajektoret, në  $t \rightarrow +\infty$ , sistemi do të konvergjojë drejt pikës fikse  $[1, 1, 0]^T$  (Figura 4. 16).



**Figura 4. 16:** Zgjidhja e vazhduar e sistemit të linearizuar.

Për shkak të thjeshtësisë së sistemit të studiuar në këtë kapitull, vlen të shpjegohet se si do të ndryshojë procedura e llogaritjes së Jakobianit të sistemit (i) në rastin e përgjithshëm të sistemit Lotka-Volterra ( $\alpha_i, \beta_i \neq 1, i = 1, 2, \dots, n$ ), (ii) në rastin kur sistemi paraqet multistabilitet, (pra, karakterizohet nga disa pika fikse) ose pika fikse është imagjinare dhe (iii) në rastin e sistemeve të mëdha.

- i. Në rastin e përgjithshëm të sistemit Lotka-Volterra (ek. (4.2),  $\alpha_i, \beta_i \neq 1, i = 1, 2, \dots, n$ ), forma e përgjithshme Jakobianit (4.13) do të përfshijë edhe vlerat e eksponentëve të variablave, të cilët në më të shumtën e

rasteve janë të panjohur. Në këtë mënyrë, vlerësimi i Jakobianit me anë të algoritmit gjenetik i hap rrugën llogaritjes së vlerave të fuqive të variablove.

- ii.* Multistabiliteti (pra, prania e disa pikave fikse) është sjellje që ndeshet shpesh në sistemet ekologjike, të cilat karakterizohen nga një shkallë e lartë ndjeshmërie ndaj ndryshimit të parametrave të sistemit. Në këtë rast është e qartë se do të duhet të llogarisim një Jakobian për çdo pikë fikse dhe, me anë të algoritmit gjenetik, të përftojme një matricë për secilën pikë fikse. Kjo procedurë është thelbësisht e rëndësishme, për të mundësuar llogaritjen e koeficientëve të ndërveprimit ndërmjet specieve, si dhe të eksponentëve të variablove përqendrim. Ndërkohë, në kushtet kur sistemi karakterizohet nga një tërheqës ciklik situata vështirësohet ndjeshëm. Në këtë rast, vendosja e kushtit të nevojshëm (që duhet të arrihet nga individët) në algoritmin gjenetik kufizohet vetëm nëpërmjet *periodës së lëkundjes* (në këtë rast, vlerat vetjake të Jakobianit nevojitet të jenë puro imagjinare). Studimi i këtyre rasteve do të jetë një subjekt i punës së ardhshme.
- iii.* Ekzistenca dhe stabiliteti i zgjidhjes së ekuacioneve Lotka – Volterra mbetet objekt për mjaft studimeve të thelluara. Siç është përmendur, nëse sistemi është stabël  $\mathfrak{S}$  do të karakterizohet nga vlera vetiake me pjesë reale negative (kriteri Routh-Hurwitz), çka do të thotë se vlera mesatare e fluktuacioneve të sistemit do të tentojë në zero. Megjithatë, përdorimi i kriterit Routh-Hurwitz bëhet i vështirë, sidomos në rastet e sistemeve të mëdha; në këtë rast, teknika e stabilitetit cilësor shërben si një metodë mjaft ndihmëse dhe është përdorur gjerësisht nga May [73], Levins [197], Jeffries [198], etj. Megjithatë, vlen të theksohet se, në sistemet e mëdha në prani të zhurmave të brendshme, elementët e matricës së fluktuacioneve (shihni [102] dhe referencat në të) shfaqin një varësi lineare nga koeficientët e ndërveprimit. Kjo bën që sistemi të pësojë një kalim fazor të induktuar nga përmasa e tij (size-induced transition). Prania e zhurmave të brendshme bën që sistemi të humbasë stabilitetin, edhe në ndodhet shumë afër pikës fikse.

#### 4.8. Përfundime

Në këtë kapitull u prezantuan sistemet Lotka-Volterra, si sisteme të përgjithësuara të ndërveprimit të specieve në sistemet ekologjike dhe u dhanë bazat matematike të studimit të dinamikës dhe stabilitetit të sistemeve të tilla, edhe në kushtet e mungesës së njohurisë mbi funksionet e sakta të ndërveprimeve. Është e rëndësishme të theksohet se sisteme të tilla gëzojnë dy veti të rëndësishme strukturore: *së pari*, janë të mëdha – sistemi i rregullator gjenetik i majasë (një

ndër sistemet më primitivë) përmban rreth 6000 gjene, ndërkohë që sistemet ekologjike mund të përmbajnë deri në 10000 specie. *Së dyti*, ndërveprimet ndërmjet komponentëve (gjene, organizma, popullata) ndryshojnë në kohë dhe hapësirë dhe janë shumë të ndjeshme ndaj kushteve të mjedisit. Në këtë mënyrë, studimi nuk përqendrohet në një rrjet të mirëpërcaktuar, por në një ansambël statistik rrjetesh, që ndajnë karakteristika të ngjashme. Në këtë kontekst, Teoria e Matricave të Rastit përbën një metodë ndihmuese në modelimin e sistemeve të mëdha, duke përdorur rregulla specifike që përshkruajnë më mirë sistemin dhe duke analizuar analitikisht dhe numerikisht efektet e secilit rregull.

Ndërtimi i një modeli të vazhduar për një sistem rregullator kërkon njohjen e saktë të funksioneve dhe parametrave kinetikë të ndërveprimit ndërmjet komponentëve. Megjithë saktësinë e modeleve të tilla, kufizueshmëria e tyre për t'u zbatuar për sisteme të vogla ka çuar në lindjen e modeleve alternative diskrete, hibride dhe stokastike. Zakonisht modelimi i një sistemi biologjik rregullator nis me analizën e stabilitetit në hapësirën diskrete të gjendjeve, me anë të së cilës mund të përftohet një paraqitje cilësore e sjelljes dhe stabilitetit të sistemit. Nga ana tjetër, modelet hibride mundësojnë një paraqitje gjysmë të vazhduar, duke siguruar të dhëna sasiore mbi stabilitetin e sistemit. Në përpjekje për të llogaritur koeficientët e ndërveprimeve (në hapësirën e vazhduar), metoda që parashtröjmë nisat pikërisht nga njohja e stabilitetit të sistemit dhe natyrës së tij me anë të modeleve të diskrete dhe hibride. Kjo metodë bazohet në përdorimin e algoritmit gjenetik në hapësirën e matricave gjysmë të rastit, për të gjeneruar matricën, elementët e së cilës paraqesin pikërisht vlerat e koeficientëve kinetikë të ndërveprimeve dhe që përshkruan më saktë dinamikën e sistemit.

Rezultatet e simulimeve numerike të algoritmit gjenetik tregojnë se kostoja e individëve (matricave kandidate) – e përcaktuar si norma e zgjidhjes së përfuar me anë të algoritmit gjenetik dhe zgjidhjes së modelit hibrid PLDE – ndjek një ecuri të njohur: vlera e saj pëson rënie të shpejtë në hapat e parë të algoritmit dhe arrin minimumin global kur të gjithë individët nuk mund të përmirësohen më. Matrica më e mirë, që përshkruan më saktë dinamikën e sistemit, u përdor për të gjeneruar zgjidhjen në hapësirën e vazhduar. Rezultatet tregojnë se zgjidhja dhe natyra e saj ruhet. Është e rëndësishme të theksohet se metodologjia e prezantuar arrin të përshkruajë vetëm sjelljen e sistemit në afërsi të pikës fikse (manifoldet, periodën dhe amplitudën e lëkundjes), por nuk mund të përshkruajë trajektoret e sakta (trajektoret sipas të cilave sistemi arrin në pikën fikse). Megjithë këtë, për një sistem ndërveprimi për të cilin njihet forma e funksioneve të ndërveprimit, por jo vlerat e koeficientëve kinetikë të ndërveprimit, elementët e matricës së ndërveprimit, të gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik, mund të çojnë në llogaritjen e vlerave të këtyre koeficientëve, duke rezultuar në ndërtimin e një modeli plotësisht të vazhduar.

## Material plotësues për Kapitullin IV

### Modelimi i një sistemi pre-grabitqar me anë të modelit Boolean dhe hibrid

Në këtë studim, është paraqitur një sistem Lotka-Volterra pre-grabitqar, i studiuar hollësisht në [21]. Modeli ‘*lepujt kundër dhelprave*’ paraqitet me ekuacionet

$$\begin{aligned}\dot{L} &= aL - bLD \\ \dot{D} &= -cD + dLD\end{aligned}\tag{1}$$

ku  $L(t)$  dhe  $D(t)$  janë popullsitë, përkatësisht, të lepujve dhe dhelprave. Parametrat e ndërveprimit  $a, b, c, d$  janë pozitivë dhe sjellja e sistemit përcaktohet nga madhësitë e tyre relative. Konkretisht,  $a$  përcakton shpejtësinë e rritjes së lepujve,  $b$  përcakton probabilitetin që një lepur të gjuhet nëse ndeshet nga një dhelprë (duke supozuar se lepujt mund të vdesin vetëm nëse gjuhen nga dhelprat),  $c$  paraqet shpejtësinë e vdekjes së dhelprave (për shkak të sëmundjeve, ose shkaqeve të tjera natyrore) ndërsa  $d$  paraqet shpejtësinë e “shndërrimit” të lepuve në dhelpra (këto të fundit gjuajnë lepuj dhe riprodhohen), nëse këto të fundit arrijnë të gjuajnë lepuj.

Modeli i mësipërm është mjaft i thjeshtëzuar dhe praktikisht joreal. *Së pari*, modeli nuk merr në konsideratë kapacitetin mbartës të mjedisit, për shembull, nëse nuk ka dhepra, modeli supozon se popullata e lepujve do të rritet pambarimisht në mënyrë eksponenciale. *Së dyti*, modeli supozon se popullata e dhelprave do të shuhet nëse nuk ka lepuj, pra, dhelprat nuk kanë asnjë burim tjetër ushqimi. *Së treti*, modeli supozon se çiftimi i dhelprave dhe i lepujve ndodh në çdo periudhë të vitit (në të vërtetë, lepujt dhe dhelprat kanë sezone të ndryshme çiftimi) si dhe nuk merr në konsideratë një nivel prag të popullatave nën/mbi të cilin speciet do të zhduken/rriten.

Për të studiuar dinamikën e sistemit, është e volitshme që sistemit të silllet në trajtën pa përmasa duke përdorur madhësitë  $x = \frac{d}{c}L$  dhe  $y = \frac{b}{a}D$ ,  $\tau = at$ ,  $\mu = \frac{c}{a}$ ; në këtë mënyrë, sistemi (1) paraqitet në formën:

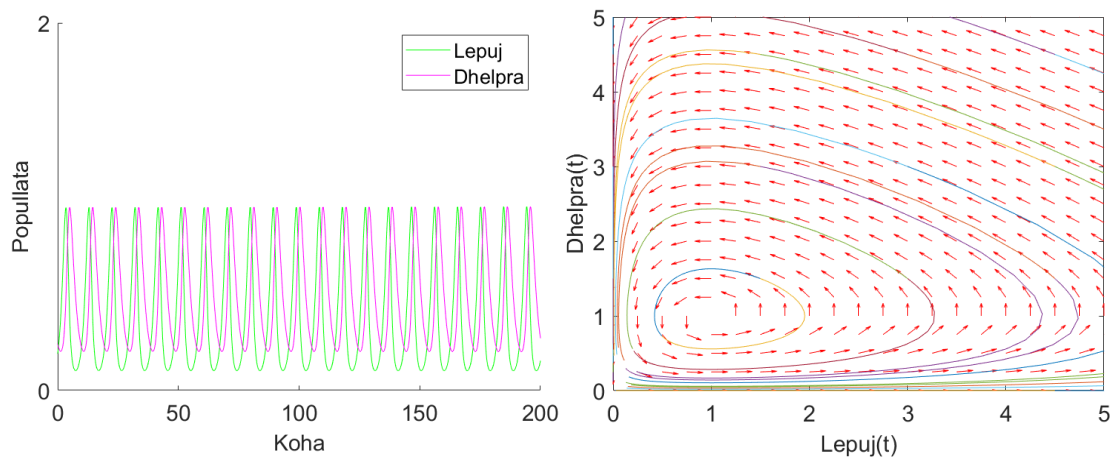
$$\begin{aligned}\dot{x} &= x(1 - y) \\ \dot{y} &= \mu y(x - 1)\end{aligned}\tag{2}$$

Pikat fikse të sistemit merren nga zgjidhja e sistemit të ekuacioneve  $\dot{x} = 0$ ,  $\dot{y} = 0$ , nga e cila shihet ekzistenca e dy pikave fikse:  $\mathbf{x}_1^* = (0,0)$  dhe  $\mathbf{x}_2^* = (1,1)$ . Mund të tregohet lehtë se pika  $\mathbf{x}_2^*$  është një qendër jolineare [21] (Figura 4. 17); në fakt çdo trajektore në kuadratin e parë orbiton rrotull  $(1,1)$ , me përjashtim të trajktoreve që nisin nga boshtet koordinative, të cilat divergjojnë në infinit sipas

atij boshti. Kjo mund të vërtetohet duke treguar se  $(1,1)$  paraqet një *minimum global* [106] dhe se çdo vlerë  $V(x, y)$  është e kufizuar në kuadratin e parë.

Disa nga hipotezat fillestare të evolucionit të specieve në sistem janë:

- Preja rritet pambarimisht, nëse numri i tyre nuk kontrollohet;
- Mbijetesa e grabitqarëve varet nga prania e presë;
- Ritmet e ngrënies së presë nga grabitqarët varen nga probabiliteti që një grabitqar të takojë një pre;
- Shpejtësia e rritjes së popullsisë së grabitarëve është proporcionale me sasinë e ushqimit të konsumuar (shpejtësia e gjuetisë).

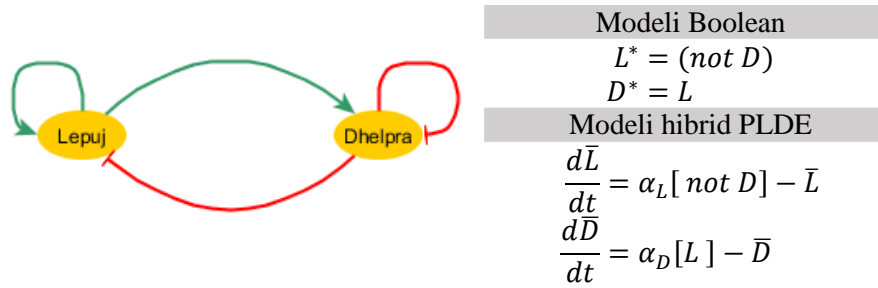


**Figura 4. 17:** (majtas) Zgjidhja teorike e modelit pre-grabitqar (10) për  $\mu = 0.5$ .

(djathas) Plani fazor i sistemit për  $\mu = 0.5$ . Sistemi parashikon cikle limite rrotull pikës fikse  $(1,1)$ .

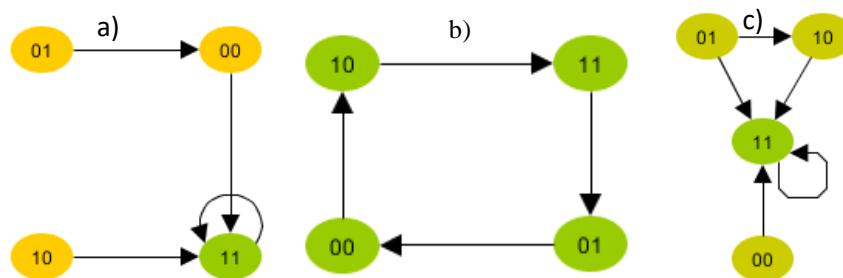
Duke u bazuar në sistemin (1) funksionet Booleane të specieve do të përshkruajnë dinamikën e popullatave të tyre me anë të operatorëve Booleane AND, OR dhe NOT. Konkretisht, veprimi i lepujve në popullatën e dhelprave është pozitiv, ndërkohë që veprimi i dhelprave mbi popullatën e lepujve është negativ dhe shoqërohet me operatorin NOT. Modeli Boolean i sistemit (1) dhe ekuacionet Booleane<sup>22</sup> dhe hibride të lepujve dhe dhelprave paraqiten në Figurën 4. 18.

<sup>22</sup> Për shkak të fokusimit në stabilitetin e sistemit, simulimet numerike në modelin Boolean janë kryer vetëm për metodën sinkrone të gjenerimit të gjendjeve. Theksojmë se pika fikse, duke qenë invariante ndaj kohës, nuk varet nga metoda e përdorur për gjenerimin e gjendjeve pasardhëse.

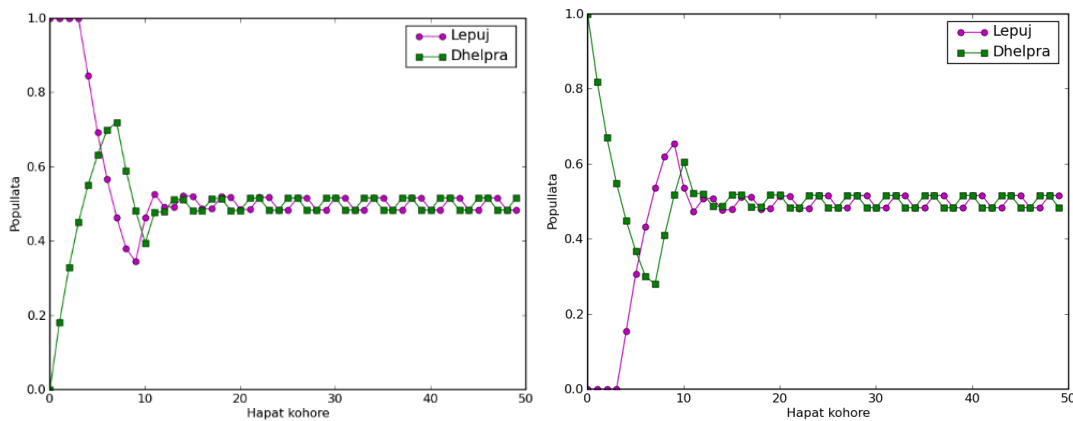


**Figura 4. 18:** Modeli Boolean i sistemit lepuj – dhelpra:  $\rightarrow$  tregon veprim pozitiv ndërsa  $\dashv$  tregon veprim negativ

Simulimi i sistemit sipas metodës sinkrone tregon se hapësira e gjendjeve karakterizohet nga një pikë fikse: (1,1) (Figura 4. 19, a). Rasti më i thjeshtë:  $L^* = \text{not } D; D^* = L$  paraqitet në Figurën 4. 19, b.



**Figura 4. 19:** Grafi i kalimit të gjendjeve për modelin pre-grabitqar, sipas ekuacioneve Booleane të Figurës 4. 18.



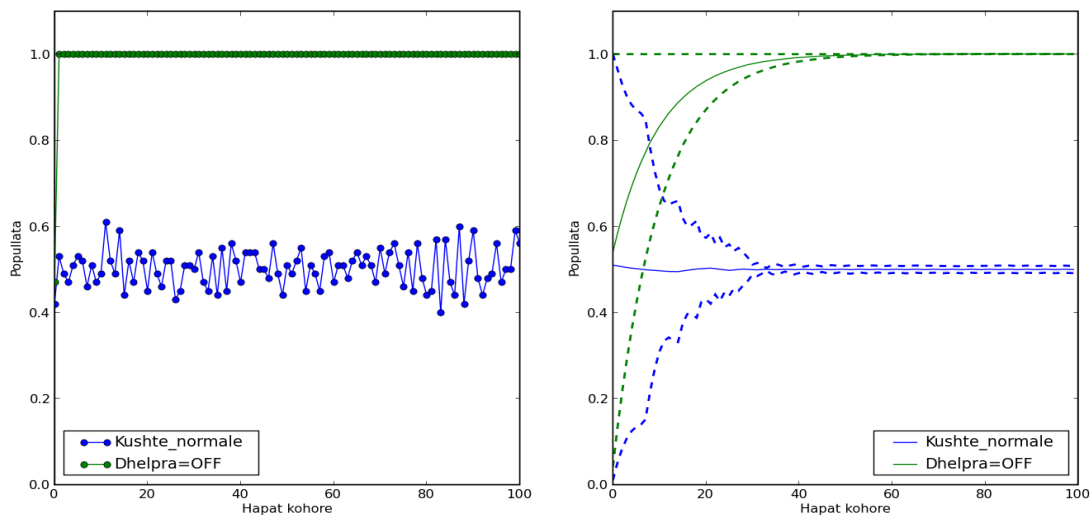
**Figura 4. 20:** Stabiliteti i modelit pre-grabitqar, sipas modelit hibrid PLDE.

Vlefshmëria e modelit kërkon testimin e hipotezave të parashikuara nga modeli i vazhduar. Konkretisht, në mungesë të dhelprave, pritet që popullata e lepujve të rritet pambarimisht, pra, për  $D = OFF$ , pritet që  $L = 1$ . Ndërkohë që, në mungesë të lepujve, popullata e dhelprave do të zhduket (është supozuar që lepujt janë burimi i vetëm i ushqimit për dhelprat), pra, për  $L = OFF$ , pritet që  $D = 0$ . Vërtet, duke u bazuar në ekuacionet Booleane, është e qartë se për  $D = OFF$ ,

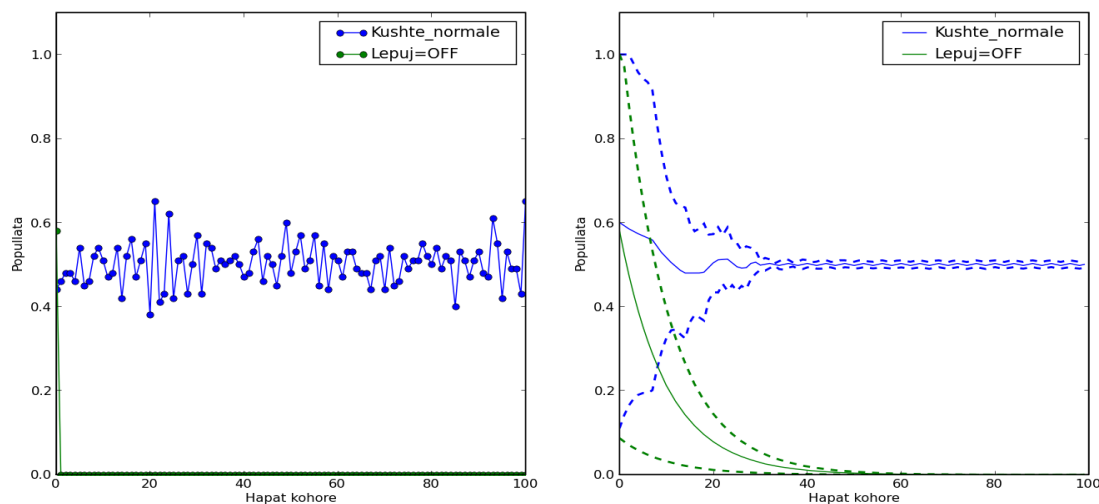
popullata e lepujve do të jetë rritet përherë, pasi  $L = \text{not } D = 1$ , ndërkohë që për  $L = \text{OFF}$ , popullata e dhelprave do të shuhet, pasi  $D = L = 0$ .

Është e rëndësishme të theksohet se, për shkak të hapësirës së fundme dhe karakterit diskret të gjendjeve, modeli Boolean nuk mund të përshkruajë rritjen e pafundme të lepujve në mungesë të dhelprave ( $L = 1$ ), si dhe ekzistencën e pikës fikse  $(0,0)$ . Ky kufizim vjen si pasojë e përafrimit të popullatave me 0 dhe 1 nëse vlerat e tyre kalojnë një nivel prag.

Në të njëjtën mënyrë, simulimi i sistemit me anë të modelit hibrid PLDE, për 100 simulime dhe 100 hapa kohorë në kushtet e normale (grafikët në blu, Figura 4. 20) dhe të rasteve  $D = \text{OFF}$  dhe  $L = \text{OFF}$  (grafikët me ngjyrë të gjelbër) jepen në Figurën 4. 21 dhe Figurën 4. 22.



**Figura 4. 21:** Rezultatet numerike të sistemit në kushte normale dhe  $D = \text{OFF}$ . (majtas) Intervali i vlerave dhe mesatarja sipas 100 simulimeve.



**Figura 4. 22:** Rezultatet numerike të sistemit në kushte normale dhe  $L = \text{OFF}$ . (majtas) Intervali i vlerave dhe mesatarja sipas 100 simulimeve

Edhe në këtë rast vihet re se rezultatet e simulimeve numerike përputhen plotësisht me hipotezat e modelit të vazhduar. Kështu, ndërsa popullata e lepujve dhe dhelprave lëkundet në kushtet normale ekologjike, mungesa e tyre çon, përkatësisht, në rritjen eksponenciale të lepujve (mungojnë dhelprat) ose në shuarjen e popullatës së dhelprave (mungojnë lepujt).

Për të përfshirë veprimin jolinear të ndërveprimit ndërmjet specieve, sistemi u modelua duke rishkruar ekuacionet Booleane, me një shkallë më të lartë kompleksiteti:

Modeli i vazhduar	Modeli Boolean	
$\dot{L} = aL - bLD$	$L^* = L \text{ or not } (L \text{ and } D)$	(3)
$\dot{D} = -cD + dLD$	$D^* = (L \text{ and } D) \text{ or not } D$	

Simulimet numerike sipas modelit Boolean tregojnë se sistemi karakterizohet nga e njëjta pikë fikse (1,1) (Figura 4. 19, c), çka nënkupton bashkekzistencën e specieve në të njëjtën hapësirë.

## KAPITULLI V

### Përmbledhje dhe Puna në Vazhdim

Studimi i paraqitur në këtë disertacion bazohet në përdorimin e modeleve diskrete në studimin e sjelljes afatgjatë të sistemeve rregullatore në kushte të ndryshme fiziologjike. Ndër modelet e klasës diskrete janë përzgjedhur modelet Booleane, si modelet më të thjeshtë të përdorur në kushtet e mungesës së informacionit kinetik dhe formulimit të saktë matematik të ndërveprimeve ndërmjet komponentëve biologjikë të sistemit. Këto modele, të zgjeruara në modelet hibride, arrijnë të japin një përshkrim cilësor të sjelljes së sistemit, duke parashtruar avantazhet dhe disavantazhet e aplikimit të tyre në sisteme thellësisht të ndjeshme, si sistemet rregullatore në organizmat e gjallë. Një fokus i veçantë i është dhënë sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit në organizëm (nëpërmjet gjenit *Klotho*), për të cilin aplikimi i modeleve Booleane dhe hibride synon të përshkruajë sjelljet e njohura të sistemit në kushte normale dhe deficietare. Më tej, modelimi i sistemeve rregullatore është përgjithësuar në rendin e sistemeve ekologjike, për të cilët, zbatimi i modeleve Booleane dhe hibride mund të çojë në njohjen e sjelljes së sistemit rrotull zonës së tij të stabilitetit.

#### **Modelet Booleane: hapi i parë në studimin e sistemeve rregullatore**

Në kapitullin e parë u prezantuan modelet Booleane të studimit të sistemeve rregullatore që nga ndërtimi i modelit në analizën strukturore dhe dinamike të tij. Është mjaft e rëndësishme të theksohet se përfundimet e modeleve Booleane ndikohen mjaft nga saktësia e ndërtimit të modelit dhe rregullave Booleane që përshkruajnë dinamikën e secilit komponent të sistemit. Për këtë arsye, për të ndërtuar një model të besueshëm, është mjaft e rëndësishme të shfrytëzohet një pjesë e konsiderueshme e informacionit teorik dhe eksperimental. Më tej, analiza strukturore dhe dinamike e rrjetit siguron rezultate të besueshme mbi topologjinë dhe sjelljen në kohë të sistemit.

Duke qenë se modelet Booleane janë modele pa parametra, ata shërbejnë si një pikënisje për modelimin e sistemeve (në veçanti, të sistemeve të mëdha), për të cilët ka mungesë të informacionit kinetik. Këto modele sigurojnë një përshkrim cilësor të proceseve të njohura të sistemit dhe japin mundësinë e inkorporimit të specifikave kohore të proceseve biokimike brenda tij, nëpërmjet përcaktimit të klasave të prioritetit (në rregullat e gjenerimit të gjendjeve, ose në probabilitetet e kalimit). Gjithashtu, mundësia e kryerjes së një numri të madh simulimesh të modelit dhe llogaritja e raportit të numrit të simulimeve që çojnë në të njëjtën gjendje mund të rezultojë në gjenerimin e rezultateve gjysmë-sasiore. Megjithatë, është e rëndësishme të theksohet se modelet Booleane nuk mund të japin informacion mbi sjellje specifike të sistemit. Për shembull, prezenca e laqeve negative, zakonisht, shoqërohet me prezencën e cikleve limite në grafën e kalimit të gjendjeve (në veçanti në modelin sinkron), ndërkohë që në modelet e vazhduara, prania e këtyre laqeve mund të lidhet me procesin e homeostazës ose funksionin e përgjigjes ndaj perturbimeve. Gjithashtu, modelet Booleane nuk mund të përdoren në studimin e efektit të perturbimeve pambarimisht të vogla.

### **Modeli i sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nëpërmjet gjenit *Klotho***

Në kapitullin e dytë u paraqit sjellja afatgjatë e rrjetit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit në organizëm, duke zbatuar një metodë sinkrone të gjenerimit të gjendjeve pasardhëse dhe tri metoda asinkrone: asinkrone e rastit (ROA), asinkrone e përgjithshme (GA) dhe asinkrone deterministike (DA). Për secilën prej metodave, u krye analiza e tërheqësve të hapësirës së gjendjeve, duke konsideruar çdo gjendje të mundshme fillestare, si dhe gjendjeve mutante të  $FGF23/Klotho^{-/-}$  ( $FGF23=$ False,  $Klotho=$ False). Megjithëse rrjeti i plotë biologjik përmban një numër më të madh komponentësh dhe reaksionesh biologjike, aplikimi i rregullave të reduktimit të rrjetit çon në reduktimin e rrjetit në 6 komponentë kryesorë, të fokusuar në rolin e  $FGF23$ ,  $Klotho$ ,  $VD$  dhe  $PTH$  në rregullimin e kalciumit dhe fosfatit. Ndërtimi i rregullave Booleane konsiston në ndërtimin e funksioneve të gjenerimit të gjendjeve në çdo hap kohor, funksione të cilat duhet të përshkruajnë gjendje fiziologjike reale. Për këtë arsye, sistemi i funksioneve Booleane u testua në kushtet e deficiencës së komponentëve, në veçanti, në kushtet  $FGF23/Klotho^{-/-}$ . Rezultatet numerike të rastit të fundit tregojnë se në kushtet e  $FGF23/Klotho^{-/-}$  sistemi shkon drejt një gjendjeje stacionare të karakterizuar nga hiperkalcemia dhe hiperfosfatemia, në përputhje me rezultatet eksperimentale.

Multistabiliteti (ekzistenca e më shumë se 1 gjendjeje të qëndrueshme) përbën një veti të brendshme të një numri të madh rrjetash biologjike, që lidhet me

praninë e laqeve pozitive dhe negative [140]: prania e laqeve pozitive në ndërveprimet midis komponentëve të rrjetit është e domosdoshme për ekzistencën e multistabilitetit, ndërkohë që prania e laqeve negative është e domosdoshme për shfaqjen e lëkundjeve (cikleve limite). Rrjeti i homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nga kompleksi FGF23/Klotho karakterizohet nga prania e të dy llojeve të laqeve ndaj stabiliteti i tij karakterizohet nga prezenca e një pike fikse, si dhe një cikli limit.

Teoria e zinxhirëve të Markovit është përdorur gjerësisht në modelet Booleane probabilistike, në rastin e pranisë së papërcaktueshmërisë së rregullave Booleane të gjenerimit të gjendjeve. Në analizën tonë zinxhirët e Markovit përdoren për të dhënë informacione më të detajuara të dinamikës së sistemit: probabilitetet e kalimit nga një gjendje në tjetrën dhe kohët e absorbimit për secilën gjendje dhe SCC. Kjo analizë e detajuar tregon se metoda asinkrone e gjenerimit të gjendjeve pasardhëse siguron rezultate më të plota në kushtet kur jo të gjitha reaksionet e bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve ndodhin në të njëjtën kohë (metoda sinkrone) ose kur ekziston njohuri e plotë e kohëve karakteristike të secilit reaksion (metoda deterministike).

Ky studim evidenton rëndësinë e modelit Boolean të dinamikës së sistemeve biologjike, si një metodë identifikimi të sjelljes përturbative të sistemit dhe pasojave fiziologjike në organizmat e gjallë. Ky përafrim jep të dhëna të hollësishme mbi grafën e kalimit të gjendjeve, tërheqësve dhe baseneve korresponduese të tërheqjes, si dhe frekuencave të trajektoreve që të cojnë drejt këtyre tërheqësve. Mbi të gjitha, studimi paraqet një zbatim të modelimit Boolean në sistemin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit, si një rast studimor mes shumë rrjetave të tjera biologjike të transmetimit të sinjaleve, të studiuara me sukses me anë të këtyre modeleve.

### **Modeli hibrid i sistemit të rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit nëpërmjet gjenit Klotho**

Në kapitullin e tretë u krye një analizë krahasuese e tri modeleve të studimit të sistemeve biologjike rregulatore – Boolean, hibrid PLDE dhe hibrid i Hill-it – të zbatuar në rrjetin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit. Rezultatet e simulimeve numerike tregojnë se pika fikse e modelit Boolean ruhet (cilësisht) në modelin hibrid PLDE; megjithatë, modeli hibrid jep të dhëna të rëndësishme sasiore mbi vlerat e përqendrimeve të komponentëve, të cilat nuk mund të vërehen në modelin Boolean. Pika fikse e vrojtuar në modelin hibrid i korrespondon pranisë së lëkundjeve që shuhet në modelin Boolean dhe afrimit asimptotik të këtyre lëndjeve drejt nivelit prag.

Në modelin Boolean, sjellja e sistemit u studiuua duke marrë si kushte fillestare gjendjet e mundshme diskrete, të vendosura në nyjet e hiperkubit njësi. Nga ana tjetër, modelet hibride rrisin shkallën e kompleksitetit duke përfshirë të dhëna sasiore mbi vlerat e përqendrimeve të komponentëve – të quajtura *gjendje treshë* (i ulët, mesatar, i lartë) – të cilat sigurojnë informacione më të detajuara, që nuk mund të vërehen në modelet diskrete. Megjithatë, përdorimi i këtyre modeleve përfshin domosdoshmërinë e disponimit të njohurive më të detajuara mbi llojet e bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve, formulimet matematike të këtyre bashkëveprimeve dhe vlerat e koeficientëve të bashkëveprimeve, të cilët, në pjesën më të madhe të rrjetave biologjike, nuk njihen plotësisht.

Modelimi i dinamikës së një sistemi biologjik zakonisht nis me zbatimin e një modeli diskret, për të siguruar informacione cilësore mbi sjelljen e sistemit. Përdorimi i modeleve hibride dhe të vazhduara vjen si domosdoshmëri për evidentimin e vetive specifike të sistemit dhe – më e rëndësishmja – testimin e modelit me të dhënat eksperimentale (kur këto janë të disponueshme). Nëse për një model ka të dhëna mbi një pjesë të parametrave kinetikë të bashkëveprimeve, testimi i modelit me të dhënat eksperimentale mund të çojë në llogaritjen e parametrave të tjerë që mungojnë, ose të intervaleve të vlerave të këtyre parametrave. Megjithëkëtë, është e rëndësishme të theksohet se, si modelet diskrete, ashtu edhe modelet hibride, japin të dhëna mbi një numër të kufizuar trajektoresh, ndërmjet shumë trajektoreve të mundshme të një sistemi real.

Rezultatet e simulimeve numerike të paraqitura në këtë kapitull tregojnë për rëndësinë e informacionit cilësor të përfutur në kushtet e mosnjohjes së kinetikës së bashkëveprimeve ndërmjet komponentëve (modeli Boolean dhe hibrid PLDE) si dhe evidentojnë nevojën e njohjes së natyrës së bashkëveprimeve, për të përfutur informacione sasiore të sakta (modeli hibrid i Hill-it). Përmirësimi i modelit të Hill-it për rrjetin e rregullimit të homeostazës së kalciumit dhe fosfatit dhe rezultatet numerike do të paraqiten në punët kërkimore në vazhdim.

### **Në afërsi të pikës fikse: nga modeli diskret në modelin e vazhduar**

Në kapitullin e katërt u prezantuan sistemet Lotka-Volterra, si sisteme të përgjithësuara të ndërveprimit të specieve në sistemet ekologjike dhe u dhanë bazat matematike të studimit të dinamikës dhe stabilitetit të sistemeve të tilla, edhe në kushtet e mungesës së njohurisë mbi funksionet e sakta të ndërveprimeve. Është e rëndësishme të theksohet se sisteme të tilla gëzojnë dy veti të rëndësishme strukturore: *së pari*, janë të mëdha – sistemi i rregullator gjenetik i majasë (një ndër sistemet më primitivë) përmban rreth 6000 gjene, ndërkohë që sistemet ekologjike mund të përmbajnë deri në 10000 specie. *Së dyti*, ndërveprimet ndërmjet komponentëve (gjene, organizma, popullata) ndryshojnë në kohë dhe

hapësirë dhe janë shumë të ndjeshme ndaj kushteve të mjedisit. Në këtë mënyrë, studimi nuk përqendrohet në një rrjet të mirëpërcaktuar, por në një ansambël statistik rrjetesh, që ndajnë karakteristika të ngjashme. Në këtë kontekst, Teoria e Matricave të Rastit përbën një metodë ndihmuese në modelimin e sistemeve të mëdha, duke përdorur rregulla specifike që përshkruajnë më mirë sistemin dhe duke analizuar analitikisht dhe numerikisht efektet e secilit rregull.

Ndërtimi i një modeli të vazhduar për një sistem rregullator kërkon njohjen e saktë të funksioneve dhe parametrave kinetikë të ndërveprimit ndërmjet komponentëve. Megjithë saktësinë e modeleve të tilla, kufizueshmëria e tyre për t'u zbatuar për sisteme të vogla, ka çuar në lindjen e modeleve alternative diskrete, hibride dhe stokastike. Zakonisht, modelimi i një sistemi biologjik rregullator nis me analizën e stabilitetit në hapësirën diskrete të gjendjeve, me anë të së cilës mund të përftohet një paraqitje cilësore e sjelljes dhe stabilitetit të sistemit. Nga ana tjetër, modelet hibride mundësojnë një paraqitje gjysmë të vazhduar, duke siguruar të dhëna sasiore mbi stabilitetin e sistemit. Në përpjekje për të llogaritur koeficientët e ndërveprimeve (në hapësirën e vazhduar), metoda që propozojmë nisat pikërisht nga njohja e stabilitetit të sistemit dhe natyrës së tij me anë të modeleve të diskrete dhe hibride. Kjo metodë bazohet në përdorimin e algoritmit gjenetik në hapësirën e matricave gjysmë të rastit, për të gjeneruar matricën – elementët e së cilës paraqesin pikërisht vlerat e koeficientëve kinetikë të ndërveprimeve – që përshkruan më saktë dinamikën e sistemit.

Rezultatet e simulimeve numerike të algoritmit gjenetik tregojnë se kostoja e individëve (matricave kandidate) – e përcaktuar si norma e zgjidhjes së përfuar me anë të algoritmit gjenetik dhe zgjidhjes së modelit hibrid PLDE – ndjek një ecuri të njohur: vlera e saj pëson rënie të shpejtë në hapat e parë të algoritmit dhe arrin minimumin global kur të gjithë individët nuk mund të përmirësohen më. Matrica më e mirë – që përshkruan më saktë dinamikën e sistemit – u përdor për të gjeneruar zgjidhjen në hapësirën e vazhduar. Rezultatet tregojnë se zgjidhja dhe natyra e saj ruhet.

Është e rëndësishme të theksohet se metodologjia e prezantuar arrin të përshkruajë vetëm sjelljen e sistemit në afërsi të pikës fikse (manifoldet, periodën dhe amplitudën e lëkundjes), por nuk mund të përshkruajë trajektoret e sakta (trajektoret sipas të cilave sistemi arrin në pikën fikse). Megjithë këtë, për një sistem ndërveprimi për të cilin njihet forma e funksioneve të ndërveprimit por jo vlerat e koeficientëve kinetikë të ndërveprimit, elementët e matricës së ndërveprimit, të gjeneruar me anë të algoritmit gjenetik, mund të çojnë në llogaritjen e vlerave të këtyre koeficientëve, duke rezultuar në ndërtimin e një modeli plotësisht të vazhduar.

## Puna në vazhdim

Studimi i paraqitur në këtë punim përbën vetëm hapin e parë të modelimit të sistemeve rregullatore, në veçanti të rrjetit rregullator të gjenit Klotho në homeostazën e kalciumit dhe fosfatit. Megjithëse rezultatet numerike janë të përputhshme me rezultatet eksperimentale, aplikimi i modelit të Hill-it (Kapitulli III) nxjerr në pah domosdoshmërinë e njohjes së funksioneve të ndërveprimit midis komponentëve të sistemit, me qëllim studimin e saktë të dinamikës. Nga vlefshmëria e rezultateve të Kapitullit IV, metoda e propozuar për llogaritjen e koeficientëve të ndërveprimit ndërmjet komponentëve (në hapësirën lineare) mund të zbatohet për çdo sistem tjetër ndërveprimi, të përgjithësuar si sistem ekologjik Lotka-Volterra. Në vijim, kjo metodë do të zbatohet për rrjetin e ndërveprimit Klotho, të parashtruar në Kapitullin II [M.Marku, M.Ifti – në proces].

Një studim me mjaft rëndësi paraqet studimi i sjelljes së algoritmit gjenetik në rastin kur sistemi karakterizohet nga tërheqës kaotikë (cikle) ose multistabilitet (më shumë se një pikë fikse). Është e rëndësishme të theksohet se, në përgjithësi, sistemet biologjike/ekologjike karakterizohen nga tërheqës kaotikë si dhe nga prania e pikave fikse të ndryshme, në varësi të ndryshimit të parametrave të jashtëm të sistemit. Gjithashtu, megjithëse për sisteme relativisht të vogla algoritmi mund të implementohet me lehtësi, sistemet e mëdha (siç janë, përgjithësisht, sistemet ekologjike/rregullatore) karakterizohen nga një shkallë e lartë kompleksiteti, në veçanti në sjelljen e sistemit në afërsi të gjendjes stacionare.

Megjithë thjeshtësinë e aplikimit, modeli Boolean dhe hibrid PLDE mund të përdoren për sisteme relativisht të vegjël ( $\sim 10^2$  komponentë). Për sisteme të mëdha, identifikimi i pikave fikse si dhe përcaktimi i ekzistencës së pikave fikse përbëjnë disa prej problemave karakteristike të rrjetave NP. Në këto kushte, studimi i sjelljes afatgjatë të sistemit mund të kryhet nëpërmjet integritit Monte Carlo të ekuacioneve të dinamikës.

Një tjetër studim me mjaft interes paraqet studimi i *rrjetave biologjike me shumë shtresa* (*multilayer networks, networks of networks* [199] [200]). Siç është paraqitur skematikisht në Figurën 1. 2, komponentët e një sistemi ndërveprojnë ndërmjet tyre si dhe ndërmjet sistemeve të tjera (të paraqitura me anë të shtresave). Sistemet biologjike, që nga niveli qelizor deri në nivelin e organizmit në tërësi, sistemet kimike të veprimit të medikamenteve, sistemet e ndërveprimit të specieve të klasave të ndryshme, si dhe një numër i madh sistemesh ekonomike, sociale, inxhinierike, etj, mund të përshkruhen me anë të rrjetave komplekse me shumë shtresa. Në një studim të mëtejshëm synojmë të zgjerojmë rrjetin e

veprimit të gjenit Klotho në homeostazën e kalciumit dhe fosfatit, si dhe ndërtimin e rrjetit me shumë shtresa, në të cilin veprimi i Klotho (kompleksi FGF23/Klotho) pasqyrohet në sjelljet patologjike të lidhura me kalcifikimin e indeve të buta, sëmundjet kronike të veshkave, etj. Kështu, nëse rrjeti i studiuar në kapitujt II dhe III shfaq qëndrueshmëri, është me mjaft rëndësi të studiohet cilat janë mekanizmat që mund ta nxjerrin sistemin jashtë gjendjes stacionare (përveç rasteve të deficienave të studiuara). Në një përfrim të parë, rrjedhja e informacionit si brenda një rrjeti ashtu edhe nga dhe drejt rrjetave të tjera rrit shkallën e kompleksitetit të studimit, por përbën një studim të rëndësishëm në paraqitjen e organizmit si një sistem i vetëm.

---

**BIBLIOGRAFIA**

- [1] A.-L. Barabási, *Linked: How everything is connected to everything else and what it means for business, science and everyday life*, London: Penguin Books Ltd., 2003.
- [2] H. D. Jong, "Modeling and simulation of genetic regulatory systems: a literature review," *Journal of computational biology*, vol. 9, no. 1, pp. 67-103, 2002.
- [3] M. Ptashne, *A genetic switch: Gene control and phage lambda*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1986.
- [4] R. J. Lipshutz, S. P. Fodor, T. R. Gingeras and D. J. Lockhart, "High density synthesis oligonucleotide arrays," *Nature genetics*, vol. 21, no. 1, p. 20, 1999.
- [5] P. O. Brown and D. Botstein, "Exploring the new world of the genome with DNA microarrays," *Nature genetics*, vol. 21, no. 1, p. 33, 1999.
- [6] S. Boccaletti, V. Latora, Y. Moreno, M. Chavez and D.-U. Hwang, "Complex networks: Structure and dynamics," *Physics reports*, vol. 424, no. 4-5, pp. 175-308, 2006.
- [7] R. Albert and A.-L. Barabási, "Statistical mechanics of complex networks," *Reviews of modern physics*, vol. 74, no. 1, p. 47, 2002.
- [8] R. Cohen and S. Havlin, *Complex Networks: Structure, Stability and Function*, Cambridge University Press, 2006.
- [9] M. Newman, A.-L. Barabasi and D. J. Watts, *The structure and dynamics of networks*, Oxford: Princeton University Press, 2011.
- [10] D. J. Watts, *Small World*, Oxford: Princeton University Press, 2004.
- [11] J. Travers and S. Milgram, "The small world problem," *Psychology Today*, vol. 1, no. 1, pp. 61-67, 1967.
- [12] D. J. Watts and S. H. Strogatz, "Collective dynamics of 'small-world' networks," *Nature*, vol. 393, no. 6684, pp. 440-442, 1998.
- [13] R. Albert, H. Jeong and A.-L. Barabási, "Error and attack tolerance of complex networks," *Nature*, vol. 406, no. 6794, p. 378, 2000.
- [14] W. Duan, R. Quax, M. Lees, X. Qiu and P. M. Sloot, "Topology dependent epidemic spreading velocity in weighted networks," *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, vol. 12, p. 12020, 2014.
- [15] J. A. Dunne, R. J. Williams and N. D. Martinez, "Network structure and robustness of marine food webs," *Marine Ecology Progress Series 273*, pp. 291-302, 2004.

- 
- [16] L. A. N. Amaral, A. Scala, M. Barthelemy and H. E. Stanley, "Classes of small-world networks," *Proceedings of the national academy of sciences*, vol. 97, no. 21, pp. 11149-11152, 2000.
- [17] A. Vazquez, "Statstical of citation networks," arXiv preprint cond-mat/0105031, 2001.
- [18] E. Noka and F. Hoxha, "Comparative Analysis of the Structural and Weighted Properties in Albanian Social Networks," *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology*, vol. 3, no. 4, p. 4505, 2016.
- [19] J. Abello, P. M. Pardalos and M. G. C. Resende, "On maximum clique problems in very large graphs," *DIMACS series*, vol. 50, pp. 119-130, 1999.
- [20] D. P. Rosin, Dynamics of complex autonomous Boolean networks, Berlin: Springer, 2014.
- [21] S. H. Strogatz, Nonlinear dynamics and chaos: with applications to physics, biology, chemistry and engineering, Addison-Wesley Publishing Company, 1994.
- [22] S. H. Strogatz, D. M. Abrams, A. McRobie, B. Eckhardt and E. Ott, "Theoretical mechanics: Crowd synchrony on the Millennium Bridge," *Nature*, vol. 438, no. 7064, p. 43, 2005.
- [23] J. A. Acebrón, L. L. Bonilla, C. J. P. Vicente, F. Ritort and R. Spigler, "The Kuramoto model: A simple paradigm for synchronization phenomena," *Reviews of modern physics*, vol. 77, no. 1, p. 137, 2005.
- [24] M. A. Gibson and E. Mjolsness, "Modeling the activity of single genes," in *Computational modeling of genetic and biochemical networks*, J. M. Bower and H. Bolouri, Eds., Massachusetts, MIT Press, 2001, pp. 49-72.
- [25] S. A. Kauffman, The Origins of Order: self organization and selection in evolution, New York, Oxford: Oxford University Press, 1993.
- [26] R. Thomas, "Kinetic logic: a boolean analysis of the dynamic behaviour of control circuits," in *Kinetic Logic A Boolean Approach to the Analysis of Complex Regulatory Systems*, Berlin, Springer, 1979, pp. 107-126.
- [27] B. Novak and J. J. Tyson, "A model for restriction point control of the mammalian cell cycle," *Journal of theoretical biology*, vol. 230, no. 4, pp. 563-579, 2004.
- [28] B. Novak, Z. Pataki, A. Ciliberto and J. J. Tyson, "Mathematical model of the cell division cycle of fission yeast," *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, vol. 11, no. 1, pp. 277-286, 2001.
- [29] D. T. Gillespie, "Stochastic simulation of chemical kinetics," *Annual Review of Physical Chemistry*, vol. 58, pp. 35-55, 2007.

- [30] H. H. McAdams and A. Arkin, "Simulation of prokaryotic genetic circuits," *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, vol. 27, no. 1, pp. 199-224, 1998.
- [31] L. Glass, "Combinatorial and topological methods in nonlinear chemical kinetics," *The Journal of chemical physics*, vol. 63, no. 4, pp. 1325 - 1335, 1975.
- [32] S. Bornholdt, "Less is more in modeling large genetic networks," *Science*, vol. 310, no. 5747, pp. 449-451, 2005.
- [33] M. Marku, M. Ifti, I. Koçiaj and K. Nikaj, "Dynamical analysis of the synchronous Boolean model of the Klotho gene," in *Complex Networks*, Milan, 2016.
- [34] M. Marku, I. Koçiaj, K. Nikaj and M. Ifti, "Attractor Analysis of the Asynchronous Boolean Model of the Klotho Gene Regulatory Network," *Springer Series in Complex Networks*, pp. 251- 259, 2017.
- [35] M. Marku and M. Ifti, "A Methodical Application of Genetic Algorithm for Parameter Estimation on Gene Regulatory Networks," in *7th International Conference on Advanced Technologies*, Antalya, Turkey, 2018.
- [36] A. Saadatpour and R. Albert, "Boolean modeling of biological regulatory networks: a methodology tutorial," *Methods*, vol. 62, no. 1, pp. 3-12, 2013.
- [37] M. Buchanan, G. Caldarelli, P. d. l. Rios, F. Rao and M. Vendruscolo, *Network in cell biology*, Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
- [38] H. A. Kestler, C. Wawra, B. Kracher and M. Kühl, "Network modeling of signal transduction: establishing the global view," *Bioessays*, vol. 30, no. 11-12, pp. 1110-1125, 2008.
- [39] G. Karlebach and R. Shamir, "Modelling and analysis of gene regulatory networks," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9, no. 10, p. 770, 2008.
- [40] M. Pellegrini, D. Haynor and J. M. Johnson, "Protein interaction networks," *Expert review of proteomics*, vol. 1, no. 2, pp. 239-249, 2004.
- [41] N. C. Duarte, S. A. Becker, N. Jamshidi, I. Thiele, M. L. Mo, T. D. Vo, R. Srivas and B. Ø. Palsson, "Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, no. 6, pp. 1777-1782, 2007.
- [42] R. Robeva, *Algebraic and discrete mathematical methods for modern biology*, Elsevier Inc., 2015.
- [43] F. H. Crick, "On protein synthesis," *Symposia of the Society for Experimental Biology*, vol. 12, no. 8, pp. 138-163, 1958.
- [44] F. H. Crick, "Central dogma of molecular biology," *Nature*, vol. 227, no. 5258, p. 561, 1970.

- 
- [45] G. M. Malacinski and D. Freifelder, Essentials of molecular biology, Toronto: Jones & Bartlerr Publishers. Inc., 1998.
- [46] R. A. Bradshaw and E. A. Dennis, Handbook of Cell Signaling, Volume I, San Diego, California: Elsevier Science, 2003.
- [47] G. Tkačik and A. M. Walczak, "Information transmission in genetic regulatory networks: a review.," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 23, no. 15, p. 153102, 2011.
- [48] G. Tkačik and W. Bialek, "Cell biology: Networks, regulation, pathways," in *Encyclopedia of Complexity and Systems Science*, R. A. Meyers, Ed., Berlin, Springer, 2009, pp. 719-741.
- [49] G. Tkačik, T. Gregor and W. Bialek, "The role of input noise in transcriptional regulation," *PLoS One*, vol. 3, no. 7, p. e2774, 2008.
- [50] M. B. Elowitz, A. J. Levine, E. D. Siggia and P. S. Swain, "Stochastic gene expression in a single cell," *Science*, vol. 297, no. 5584, pp. 1183-1186, 2002.
- [51] A. I. Selverston and M. Moulins, "Oscillatory neural networks," *Annual review of physiology*, vol. 47, no. 1, pp. 29-48, 1985.
- [52] J. Zlatanova and K. E. V. Holde, Molecular Biology: Structure and Dynamics of Genomes and Proteomes, New York: Garland Science, 2015.
- [53] M. J. Schilstra and C. L. Nehaniv, "Bio-logic: gene expression and the laws of combinatorial logic," *Artificial life*, vol. 14, no. 1, pp. 121-133, 2008.
- [54] A. Varshavsky, "Regulated protein degradation," *Trends in biochemical sciences*, vol. 30, no. 6, pp. 283-286, 2005.
- [55] A. Belle, A. Tanay, L. Bitincka, R. Shamir and E. K. O'Shea, "Quantification of protein half-lives in the budding yeast proteome," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, no. 35, pp. 13004-13009, 2006.
- [56] J. L. Peterson, Petri Net Theory and the Modeling of Systems, Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffst1 981, 1981.
- [57] N. G. van Kampen, Stochastic processes in physics and chemistry, Netherlands: Elsevier, 1992.
- [58] J. M. Bower and H. Bolouri, Computational modeling of genetic and biochemical networks, MIT Press, 2004.
- [59] M. Ifti, Scaling, survival and extintion in many species systems, Vancouver: Doctoral Dissertation, University of British Columbia, 2003.
- [60] O. Angelin-Bonnet, P. J. Biggs and M. Vignes, "Gene regulatory networks: a primer in biological processes and statistical modelling," arXiv preprint arXiv:1805.01098, 2018.

- [61] L. Bintu, N. E. Buchler, H. G. Garcia, U. Gerland, T. Hwa, J. Kondev and R. Phillips, "Transcriptional regulation by the numbers: models," *Current opinion in genetics & development*, vol. 15, no. 2, pp. 116-124, 2005.
- [62] J. A. Egeland, D. S. Gerhard, D. L. Pauls, J. N. Sussex, K. K. Kidd, C. R. Alien, A. M. Hostetter and D. E. Housman, "Bipolar affective disorders linked to DNA markers on chromosome 11," *Nature*, vol. 325, no. 6107, p. 783, 1987.
- [63] W. H. Berrettini, T. N. Ferraro, L. R. Goldin, D. E. Weeks, S. Detera-Wadleigh, J. I. Nurnberger and E. S. Gershon, "Chromosome 18 DNA markers and manic-depressive illness: evidence for a susceptibility gene," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 91, no. 13, pp. 5918-5921, 1994.
- [64] L. J. Adams, P. B. Mitchell, S. L. Fielder, A. Rosso, J. A. Donald and P. R. Schofield, "A susceptibility locus for bipolar affective disorder on chromosome 4q35," *The American Journal of Human Genetics*, vol. 62, no. 5, pp. 1084-1091, 1998.
- [65] D. Lane and A. J. Levine, "p53 Research: the past thirty years and the next thirty years," *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, p. a000893, 2010.
- [66] B. Vogelstein, J. M. Nigro, S. J. Baker, A. C. Preisinger, J. M. Jessup, R. Hosteller, K. Cleary, S. H. Signer, N. Davidson, S. Baylin, P. Devilee, T. Glover, F. S. Collins, A. Weslon and e. al, "Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types," *Nature*, vol. 342, no. 6250, pp. 705-708, 1989.
- [67] S. Lain, J. J. Hollick, J. Campbell, O. D. Staples, M. Higgins, M. Aoubala, A. McCarthy, V. Appleyard, K. E. Murray, L. Baker, A. Thompson, J. Mathers, S. J. Holland, M. J. Stark and G. Pass, "Discovery, in vivo activity, and mechanism of action of a small-molecule p53 activator," *Cancer cell*, vol. 13, no. 5, pp. 451-463, 2008.
- [68] B. Vogelstein, D. Lane and A. J. Levine, "Surfing the p53 network," *Nature*, vol. 408, no. 6810, p. 307, 2000.
- [69] M. Newman, *Networks*, New York: Oxford University Press Inc., 2010.
- [70] C. Christensen, J. Thakar and R. Albert, "Systems-level insights into cellular regulation: inferring, analysing, and modelling intracellular networks," *IET systems biology*, vol. 2, no. 61-77, p. 1, 2007.
- [71] F. Jacob and J. Monod, "Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins," *Selected Papers in Molecular Biology by Jacques Monod*, pp. 433 - 471, 1961.
- [72] S. A. Kauffman and E. D. Weinberg, "The NK model of rugged fitness landscapes and its application to maturation of the immune response," *ournal of theoretical biology*, vol. 141, no. 2, pp. 211-245, 1989.

- [73] R. M. May, "Qualitative stability in model ecosystems," *Ecology*, vol. 54, no. 3, pp. 638-641, 1973.
- [74] A. Saadatpour and R. Albert, "Discrete dynamic modeling of signal transduction networks," in *Computational Modeling of Signaling Networks*, X. Liu and M. Betterton, Eds., New York, Humana Press, Totowa, 2012, pp. 255-272.
- [75] R. Albert, B. DasGupta, R. Dondi, S. Kachalo, E. Sontag, A. Zelikovsky and K. Westbrooks, "A novel method for signal transduction network inference from indirect experimental evidence," *Journal of Computational Biology*, vol. 14, no. 7, pp. 927-949, 2007.
- [76] P. Bloomingdale, V. A. Nguyen, J. Niu and D. E. Mager, "Boolean network modeling in systems pharmacology," *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*, vol. 45, no. 1, pp. 159-180, 2018.
- [77] D. C. Kirouac, J. Y. Du, J. Lahdenranta, R. Overland, D. Yarar, V. Paragas, E. Pace, C. F. McDonagh, U. B. Nielsen and M. D. Onsum, "Computational modeling of ERBB2-amplified breast cancer identifies combined ErbB2/3 blockade as superior to the combination of MEK and AKT inhibitors," *Sci. Signal*, vol. 6, no. 288, pp. ra68-ra68, 2013.
- [78] J. Lu, H. Zeng, Z. Liang, L. Chen, L. Zhang, H. Zhang and H. Liu, "Network modelling reveals the mechanism underlying colitis-associated colon cancer and identifies novel combinatorial anti-cancer targets," *Scientific reports*, vol. 5, p. 14739, 2015.
- [79] A. R. Udyavar, D. J. Wooten, M. Hoeksema, M. Bansal, A. Califano, L. Estrada, S. Schnell, J. M. Irish, P. P. Massion and V. Quaranta, "Novel hybrid phenotype revealed in small cell lung cancer by a transcription factor network model that can explain tumor heterogeneity," *Cancer research*, 2016.
- [80] I. Albert, J. Thakar, S. Li, R. Zhang and R. Albert, "Boolean network simulations for life scientists," *Source code for biology and medicine*, vol. 3, no. 1, p. 16, 2008.
- [81] M. Kanehisa and S. Goto, "KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes," *Nucleic acids research*, vol. 28, no. 1, pp. 27-30, 2000.
- [82] G. Dennis, B. T. Sherman, D. A. Hosack, J. Yang, W. Gao, H. C. Lane and R. A. Lempicki, "DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery," *Genome biology*, vol. 4, no. 9, p. R60, 2003.
- [83] U. o. Tuebingen, "yEd Graph Editor," yWorks, 2001. [Online]. Available: <https://www.yworks.com/products/yed>.

- [84] A. Veliz-Cuba, "Reduction of Boolean network models," *Journal of Theoretical Biology*, vol. 289, no. 21, pp. 167-172, 2011.
- [85] A. Saadatpour, R. Albert and T. C. Reluga, "A reduction method for Boolean network models proven to conserve attractors," *SIAM Journal on Applied Dynamical Systems*, vol. 12, no. 4, pp. 1997-2011, 2013.
- [86] J. G. Zañudo and R. Albert, "An effective network reduction approach to find the dynamical repertoire of discrete dynamic networks," *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, vol. 23, no. 2, p. 025111, 2013.
- [87] A. Naldi, E. Remy, D. Thieffry and C. Chaouiya, "Dynamically consistent reduction of logical regulatory graphs.," *Theoretical Computer Science*, vol. 412, no. 21, pp. 2207-2218, 2011.
- [88] J. Saez-Rodriguez, L. Alexopoulos, M. Zhang, M. K. Morris, D. A. Lauffenburger and P. K. Sorger, "Comparing signaling networks between normal and transformed hepatocytes using discrete logical models," *Cancer research*, pp. canres - 4453, 2011.
- [89] I. Shmulevich, E. R. Dougherty, S. Kim and W. Zhang, "Probabilistic Boolean networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks," *Bioinformatics*, vol. 18, no. 2, pp. 261-274, 2002.
- [90] I. Shmulevich, E. R. Dougherty and W. Zhang, "From Boolean to probabilistic Boolean networks as models of genetic regulatory networks," *Proceedings of the IEEE*, vol. 90, no. 11, pp. 1778-1792, 2002.
- [91] I. Shmulevich and E. R. Dougherty, Probabilistic Boolean networks: the modeling and control of gene regulatory networks, Philadelphia: SIAM, 2010.
- [92] P. Krawitz and I. Shmulevich, "Basin entropy in Boolean network ensembles," *Physical review letters*, vol. 98, no. 15, p. 158701, 2007.
- [93] A. A. Markov, "Investigation of a noteworthy case of dependent trials," *Izvestiya Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya*, vol. 1, 1907.
- [94] C. M. Grinstead and J. L. Snell, Introduction to probability, American Mathematical Soc. , 2012.
- [95] R. A. Howard, Dynamic probabilistic systems: Markov models, Vol I, Courier Corporation, 2012.
- [96] R. Edgar, M. Domrachev and A. E. Lash, "Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository," *Nucleic acids research*, vol. 30, no. 1, pp. 207-210, 2002.
- [97] E. E. L. Muller, K. Faust, S. Widder, M. Herold, S. M. Arbas and P. Wilmes, "Using metabolic networks to resolve ecological properties of microbiomes," *Current Opinion in Systems Biology*, vol. 8, pp. 73-80, 2018.

- [98] J. J. Vallino, "Ecosystem biogeochemistry considered as a distributed metabolic network ordered by maximum entropy production," *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 365, no. 1545, pp. 1417 - 1427, 2010.
- [99] S. Jain and S. Krishna, "A model for the emergence of cooperation, interdependence, and structure in evolving networks," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 98, no. 2, pp. 543-547, 2001.
- [100] E. Delmas, M. Besson, M. Brice, L. A. Burkle, G. V. D. Riva, M. Fortin, D. Gravel and e. al, "Analyzing ecological networks of species interactions," *Biological reviews*, 2017.
- [101] J. M. Montoya, S. L. Pimm and R. V. Solé, "Ecological networks and their fragility," *Nature*, vol. 442, no. 7100, p. 259, 2006.
- [102] M. Ifti and B. Bergersen, "Phase Transitions in Systems of Interacting Species," 11 May 2014. [Online]. Available: <https://arxiv.org/abs/1403.2488>.
- [103] A. J. Lotka, "Elements of physical biology," *Science Progress in the Twentieth Century (1919-1933)*, vol. 21, no. 83, pp. 341-343, 1926.
- [104] V. Volterra, "Fluctuations in the abundance of a species considered mathematically," *Nature*, vol. 118, p. 558, 1926.
- [105] A. D. Bazykin, *Nonlinear dynamics of interacting species*, Singapore: World Scientific, 1998.
- [106] Y. Takeuchi, *Global dynamical properties of Lotka-Volterra systems*, World Scientific, 1996.
- [107] N. S. Goel, S. C. Maitra and E. W. Montroll, "On the Volterra and other nonlinear models of interacting populations," *Reviews of modern physics*, vol. 43, no. 2, p. 231, 1971.
- [108] Y. Togashi and K. Kaneko, "Transitions induced by the discreteness of molecules in a small autocatalytic system," *Physical review letters*, vol. 86, no. 11, p. 2459, 2001.
- [109] T. L. Duty, Writer, *Broken symmetry and critical phenomena in population genetics: the stepping-stone model*. [Performance]. Doctoral dissertation, University of British Columbia, 2000.
- [110] M. Kuro-o, *Endocrine FGFs and Klothos*, New York: Springer Science+Business Media, 2012.
- [111] H. Olauson, *The role of FGF23/Klotho in mineral metabolism and chronic kidney disease*, Inst för klinisk vetenskap, intervention och teknik/Dept of Clinical Science, Intervention and Technology, 2013.

- [112] L. D. Quarles, "Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease," *Experimental cell research*, vol. 318, no. 9, pp. 1040-1048, 2012.
- [113] M. Kuro-o, "Klotho and aging," *Biomedica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1790, no. 10, pp. 1049-1058, 2009.
- [114] M. Dërmaku-Sopjani, S. Kolgeci, S. Abazi and M. Sopjani, "Significance of the anti-aging protein Klotho," *Molecular membrane biology*, vol. 30, no. 8, pp. 369-385, 2013.
- [115] M. Sopjani, M. Rinnerthaler, A. Almilaji, S. Ahmeti and M. Dërmaku-Sopjani, "Regulation of Cellular Transport by Klotho Protein," *Current Protein and Peptide Science*, vol. 15, no. 8, pp. 828-835, 2014.
- [116] L. D. Quarles, "Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 118, no. 12, pp. 3820-3828, 2008.
- [117] L. A. Stevens, O. Djurdjev, S. Cardew, E. C. Cameron and A. Levin, "Calcium, phosphate, and parathyroid hormone levels in combination and as a function of dialysis duration predict mortality: evidence for the complexity of the association between mineral metabolism and outcomes," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 15, no. 3, pp. 770-779, 2004.
- [118] G. Block and F. K. Port, "The clinical epidemiology of cardiovascular diseases in chronic kidney disease: Calcium phosphate metabolism and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease," *In Seminars in dialysis*, vol. 16, no. 2, pp. 140-147, 2003.
- [119] C. L. Comar and F. Bronner, *Mineral metabolism*, New York: Academic Press, 1960.
- [120] D. G. Gardner, D. Shoback and F. S. Greenspan, *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9th Edition, McGraw-Hill Medical, 2007.
- [121] C. Bergwitz and H. Jüppner, "Regulation of phosphate homeostasis by PTH, vitamin D, and FGF23," *Annual review of medicine*, vol. 61, pp. 91-104, 2010.
- [122] J. Silver and T. Naveh-Many, "FGF23 and the Parathyroid," *Pediatric Nephrology*, vol. 25, no. 11, pp. 2241-2245, 2010.
- [123] C. Bergwitz and H. Jüppner, "FGF23 and syndromes of abnormal renal phosphate handling," *Endocrine FGFs and Klothos*, Vols. Springer, New York, pp. 41-64, 2012.
- [124] A. Martin and L. D. Quarles, "Evidence for FGF23 involvement in a bone-kidney axis regulating bone mineralization and systemic phosphate and vitamin D homeostasis," *Endocrine FGFs and Klothos*, Vols. Springer, New York, NY, pp. 65-83, 2012.

- [125] M. Kuro-o, "Klotho and beta-Klotho," in *Endocrine FGFs and Klotos*, New York, Springer, 2012, pp. 25-40.
- [126] I. Urakawa, Y. Yamazaki, T. Shimada, K. Iijima, H. Hasegawa, K. Okawa, T. Fujita, S. Fukumoto and T. Yamashita, "Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23," *Nature*, vol. 444, no. 7120, p. 770, 2006.
- [127] K.-i. Tomiyama, R. Maeda, I. Urakawa, Y. Yamazaki, T. Tanaka, S. Ito, Y. Nabeshima and e. al, "Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system in vivo," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, p. 200913986, 2010.
- [128] E. G. Farrow, S. I. Davis, L. J. Summers and K. E. White, "Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 20, no. 5, pp. 955-960, 2009.
- [129] M. R. Haussler, G. K. Whitfield, I. Kaneko, R. Forster, R. Saini, J.-C. Hsieh, C. A. Haussler and P. W. Jurutka, "The Role of Vitamin D in the FGF23, Klotho, and Phosphate bone-kidney endocrine axis," *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, vol. 13, no. 1, pp. 57-69, 2012.
- [130] A. Funahashi, Y. Matsuoka, A. Jouraku, M. Morohashi, N. Kikuchi and H. Kitano, "CellDesigner 3.5: a versatile modeling tool for biochemical networks," *Proceedings of the IEEE*, vol. 96, no. 8, pp. 1254-1265, 2008.
- [131] R. Thomas, "On the relation between the logical structure of systems and their ability to generate multiple steady states or sustained oscillations," in *Springer*, Berlin, Heidelberg, 1981.
- [132] J.-L. Gouzé, "Positive and negative circuits in dynamical systems," *Journal of Biological Systems*, vol. 6, no. 11, pp. 11-15, 1998.
- [133] É. Remy, P. Ruet and D. Thieffry, "Graphic requirements for multistability and attractive cycles in a Boolean dynamical framework," *Advances in Applied Mathematics*, vol. 41, no. 3, pp. 335-350, 2008.
- [134] J. Heidel, J. Maloney, C. Farrow and J. A. Rogers, "Finding cycles in synchronous Boolean networks with applications to biochemical systems," *International Journal of Bifurcation and Chaos*, vol. 10, no. 03, pp. 535-552, 2003.
- [135] C. Farrow, J. Heidel, J. Maloney and J. Rogers, "Scalar equations for synchronous Boolean networks with biological applications," *IEEE Transactions on Neural Networks*, vol. 15, no. 2, pp. 348-354, 2004.

- [136] S. Kim, H. Li, E. R. Dougherty, N. Cao, Y. Chen, M. Bittner and E. B. Suh, "Can Markov chain models mimic biological regulation?," *Journal of Biological Systems*, vol. 10, no. 04, pp. 337-357, 2002.
- [137] H. C. Tuckwell, *Elementary applications of probability theory*, Routledge: Chapman & Hall, 2018.
- [138] L. Glass and M. C. Mackey, "Pathological conditions resulting from instabilities in physiological control systems," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 316, no. 1, pp. 214 - 235, 1979.
- [139] Y. Komuro, L. Galas, A. Lebon, E. Raoult, J. K. Fahrion, A. Tilot, T. Kumada, N. Ohno, D. Vaudry and H. Komuro, "The role of calcium and cyclic nucleotide signaling in cerebellar granule cell migration under normal and pathological conditions," *Developmental neurobiology*, vol. 75, no. 4, pp. 369 - 387, 2015.
- [140] R. Thomas, "On the Relation Between the Logical Structure of Systems and Their Ability to Generate Multiple Steady States or Sustained Oscillations," in *Numerical Methods in the Study of Critical Phenomena*, Berlin, Heidelberg, Springer, 1981, pp. 180 - 193.
- [141] D. M. Wittmann, J. Krumsiek, J. Saez-Rodriguez, D. A. Lauffenburger, S. Klamt and F. J. Theis, "Transforming Boolean models to continuous models: methodology and application to T-cell receptor signaling," *BMC System Biology*, vol. 3, no. 1, p. 98, 2009.
- [142] A. Saadatpour and R. Albert, "A comparative study of qualitative and quantitative dynamic models of biological regulatory networks," *EPJ Nonlinear Biomedical Physics*, vol. 4, no. 1, p. 5, 2016.
- [143] R. Casey, H. D. Jong and J.-L. Gouzé, "Piecewise-linear models of genetic regulatory networks: equilibria and their stability," *Journal of mathematical biology*, vol. 52, no. 1, pp. 27-56, 2006.
- [144] J.-L. Gouzé and T. Sari, "A class of piecewise linear differential equations arising in biological models," *Dynamical systems*, vol. 17, no. 4, pp. 299-316, 2002.
- [145] S. Klamt, J. Saez-Rodriguez, J. A. Lindquist, L. Simeoni and E. D. Gilles, "A methodology for the structural and functional analysis of signaling and regulatory networks," *BMC Bioinformatics*, vol. 7, no. 1, p. 56, 2006.
- [146] H. D. Jong, J. Geiselman, C. Hernandez and M. Page, "Genetic Network Analyzer: qualitative simulation of genetic regulatory networks," *Bioinformatics*, vol. 19, no. 3, pp. 336-344, 2003.

- [147] M. Grayling, "phaseR: An R Package for Phase Plane Analysis of Autonomous ODE Systems," *R Journal*, vol. 6, no. 2, 2014.
- [148] M. Chaves, L. Tournier and J.-L. Gouzé, "Comparing Boolean and piecewise affine differential models for genetic networks," *Acta biotheoretica*, vol. 58, no. 2-3, pp. 217-232, 2010.
- [149] S. Jamshidi, H. Siebert and A. Bockmayr, "Comparing discrete and piecewise affine differential equation models of gene regulatory networks," in *International Conference on Information Processing in Cells and Tissues*, Berlin, Heidelberg, 2012.
- [150] M. Chaves and M. Preto, "Hierarchy of models: from qualitative to quantitative analysis of circadian rhythms in cyanobacteria," *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, vol. 23, no. 2, 2013.
- [151] M. Marku and M. Ifti, "A comparison analysis of the dynamics and stability of the Klotho gene network through discrete and hybrid models," in *International Conference of the Balcan Physics Union*, American Institute of Physics, 2018.
- [152] F. Grogard, H. D. Jong and J.-L. Gouzé, "Piecewise-linear models of genetic regulatory networks: theory and example," *Biology and Control Theory: Current Challenges*, pp. 137 - 159, 2007.
- [153] H. D. Jong, J.-L. Gouzé, C. Hernandez, M. Page, T. Sari and J. Geiselman, "Qualitative simulation of genetic regulatory networks using piecewise-linear models," *Bulletin of mathematical biology*, vol. 66, no. 2, pp. 301 - 340, 2004 .
- [154] R. Xu, D. W. II and R. Frank, "Inference of genetic regulatory networks with recurrent neural network models using particle swarm optimization," *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, vol. 4, no. 4, pp. 681-692, 2007.
- [155] B.-T. Zhang and H. Muhlenbein, "Synthesis of sigma-pi neural networks by the breeder genetic programming," in *IEEE World Congress on Computational Intelligence*, 1994.
- [156] L. Fei-Fei and P. Perona, "A bayesian hierarchical model for learning natural scene categories," in *IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2005.
- [157] M. A. Savageau, "Development of fractal kinetic theory for enzyme-catalysed reactions and implications for the design of biochemical pathways," *Biosystems*, vol. 47, no. 1-2, pp. 9-36, 1998.
- [158] L. Ingber, "Simulated annealing: Practice versus theory," *Mathematical and computer modelling*, vol. 18, no. 11, pp. 29-57, 1993.

- 
- [159] S. Liang, S. Fuhrman and R. Somogyi, "Reveal, a general reverse engineering algorithm for inference of genetic network architectures," 1998.
- [160] L. Ljung, "System identification," in *Signal analysis and prediction*, Boston MA, Birkhäuser, 1998, pp. 163-173.
- [161] M. Mitchell, *An Introduction to Genetic Algorithms*, Cambridge, Massachusetts: MIT Press, 1999.
- [162] Y. Nourani and B. Andresen, "A comparison of simulated annealing cooling strategies," *Journal of Physics A: Mathematical and General*, vol. 31, no. 41, p. 8373, 1998.
- [163] R. A. Rutenbar, "Simulated annealing algorithms: An overview," *EEE Circuits and Devices Magazine*, vol. 5, no. 1, pp. 19-26, 1989.
- [164] F. Glover, "Tabu search and adaptive memory programming—advances, applications and challenges," in *Interfaces in computer science and operations research*, Boston MA, Springer, 1997, pp. 1-75.
- [165] A. Cochocki and R. Unbehauen, *Neural networks for optimization and signal processing*, New York: John Wiley & Sons Incorporation, 1993.
- [166] P. Moscato, C. Cotta and A. Mendes, "Memetic algorithms," in *New optimization techniques in engineering*, Berlin, Heidelberg, Springer, 2004, pp. 53-85.
- [167] J. Kennedy, "Particle swarm optimization," in *In Encyclopedia of machine learning*, Boston, MA, Springer, 2011, pp. 760-766.
- [168] M. Dorigo and M. Birattari, "Ant colony optimization," in *Encyclopedia of machine learning*, Boston, MA, Springer, 2011, pp. 36-39.
- [169] E. Elbeltagi, T. Hegazy and D. Grierson, "Comparison among five evolutionary-based optimization algorithms," *Advanced engineering informatics*, vol. 19, no. 1, pp. 43-53, 2005.
- [170] M.-W. Tsai, T.-P. Hong and W.-T. Lin, "A two-dimensional genetic algorithm and its application to aircraft scheduling problem," *Mathematical Problems in Engineering*, 2015.
- [171] C. A. Anderson, K. F. Jones and J. Ryan, "A two-dimensional genetic algorithm for the Ising problem," *Complex Systems*, vol. 5, no. 3, pp. 327-334, 1991.
- [172] E. Lutton and P. Martinez, Writers, *A genetic algorithm for the detection of 2D geometric primitives in images*. [Performance]. Doctoral dissertation, INRIA, 1992.
- [173] G. Roth and M. D. Levine, "Extracting geometric primitives," *CVGIP: Image Understanding*, vol. 58, no. 1, pp. 1-22, 1993.

- [174] M. Marku and M. Ifti, "Stabiliteti i sistemeve të ndërveprimit të specieve nëpërmjet modeleve Booleane dhe hibride," *Buletini i Shkencave të Natyrës*, vol. 26, pp. 140 - 152, 2018.
- [175] N. Boccara, Modeling complex systems, New York: Springer Science & Business Media, 2010.
- [176] B.-S. Goh, Management and analysis of biological populations, New York: Elsevier Scientific Publishing, 1980.
- [177] B. S. Goh and L. S. Jennings, "Feasibility and stability in randomly assembled Lotka-Volterra models," *Ecological Modelling*, vol. 3, no. 1, pp. 63 - 71, 1977.
- [178] A. M. Lyapunov, "The general problem of the stability of motion," *International journal of control*, vol. 55, no. 3, pp. 531-534, 1992.
- [179] J. Grilli, G. Barabás, M. J. Michalska-Smith and S. Allesina, "Higher-order interactions stabilize dynamics," *Nature*, vol. 548, no. 7666, p. 210, 2017.
- [180] N. P. Bhatia and G. P. Szegő, Dynamical systems: stability theory and applications, B. E. A Dold, Ed., Springer, 1967.
- [181] M. Dahleh, M. A. Dahleh and G. Verghese, "Lectures on dynamic systems and control," *A+A*, vol. 4, no. 100, pp. 1-100, 2004.
- [182] E. C. Pielou, An introduction to mathematical ecology, New York, London: Wiley-Interscience, 1969.
- [183] M. Plischke and B. Bergersen, Equilibrium statistical physics, 2nd ed., Singapore: World Scientific, 1994.
- [184] S. Allesina and S. Tang, "The stability–complexity relationship at age 40: a random matrix perspective," *Population Ecology*, vol. 57, no. 1, pp. 63-75, 2015.
- [185] S. Allesina and S. Tang, "Stability criteria for complex ecosystems," *Nature*, vol. 483, no. 7388, pp. 205-208, 2012.
- [186] R. M. May, "Will a large system be stable?," *Nature*, vol. 238, no. 5364, p. 413, 1972.
- [187] G. Livan, M. Novaes and P. Vivo, Introduction to Random Matrices - Theory and Practice, Springer International Publishing, 2018.
- [188] T. Tao and V. Vu, "Random matrices: Universality of ESDs and the circular law," *The Annals of Probability*, pp. 2013-2065, 2010.
- [189] Z. Bai and J. W. Silverstein, "Spectral analysis of large dimensional random matrices," Springer, New York, 2010.
- [190] J. H. Holland, Adaptation in natural and artificial systems,, MIT Press, 1975.

- 
- [191] M. Affenzeller, S. Wagner, S. Winkler and A. Beham, Genetic algorithms and genetic programming: modern concepts and practical applications, Chapman and Hall/CRC, 2009.
- [192] J. Devillers, Genetic algorithms in molecular modeling, Elsevier Science & Technology Books, 1996.
- [193] A. K. Hartmann and M. Weigt, Phase transitions in combinatorial optimization problems: basics, algorithms and statistical mechanics, John Wiley & Sons, 2006.
- [194] A. Prügel-Bennett and J. L. Shapiro, "Analysis of genetic algorithms using statistical mechanics," *Physical Review Letters*, vol. 72, no. 9, p. 1305, 1994.
- [195] B. C. Wallet, D. J. Marchette and J. L. Solka, "Matrix representation for genetic algorithms," *Automatic Object Recognition VI*, vol. 2756, pp. 206-215, 1996.
- [196] D. Arovass, "Lecture notes on Nonlinear Dynamics," San Diego, 2011.
- [197] R. Levins, "Discussion paper: the qualitative analysis of partially specified systems," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 231, no. 1, pp. 123-138, 1974.
- [198] C. Jeffries, "Qualitative stability and digraphs in model ecosystems," *Ecology*, vol. 55, no. 6, pp. 1415-1419, 1974.
- [199] D. S. Bassett and O. Sporns, "Network neuroscience," *Nature neuroscience*, vol. 20, no. 3, p. 353, 2017.
- [200] U. Braun, S. F. Muldoon and D. S. Bassett, "On human brain networks in health and disease," *eLS*, pp. 1-9, 2001.
- [201] I. P. Marino, S. Pérez-Vieites and J. Miguez, "Parameter Estimation and State Forecasting in Meteorological Models," in *6th International Conference in Complex Networks & Their Applications*, Lyon, 2017.
- [202] A.-L. Barabási, N. Gulbahce and J. Loscalzo, "Network medicine: a network-based approach to human disease," *Nature reviews genetics*, vol. 12, no. 1, p. 56, 2011.
- [203] E. H. Kerner, "A statistical mechanics of interacting biological species," *The bulletin of mathematical biophysics*, vol. 19, no. 2, pp. 121-146, 1957.