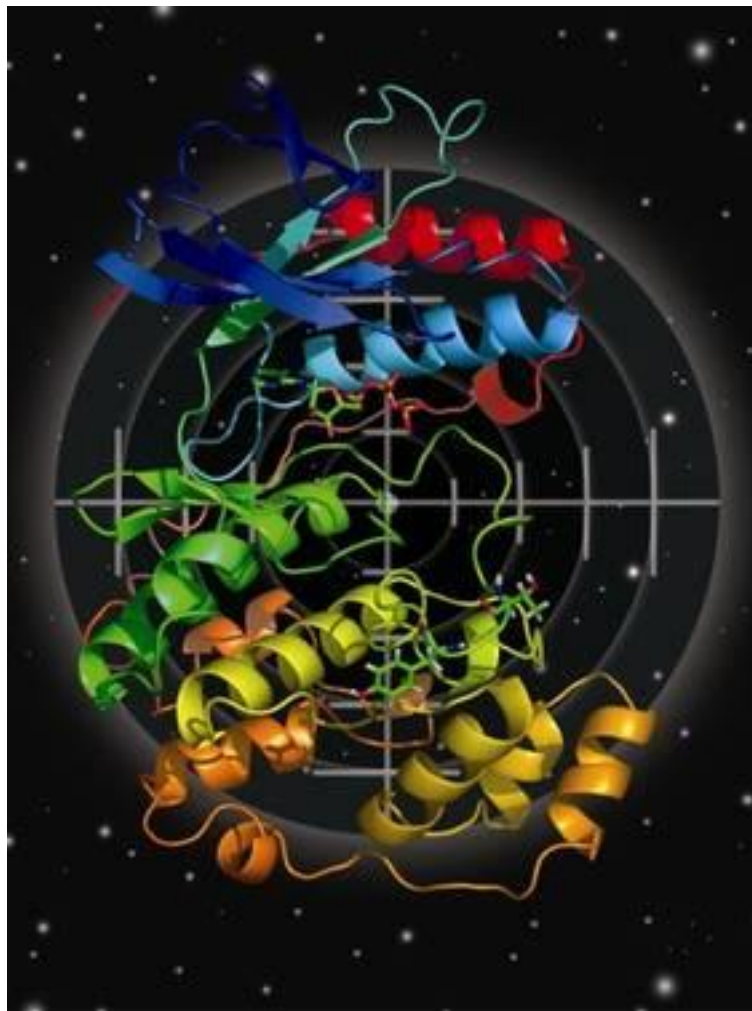


ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ C (PKC) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΕΝΟΣ ΑΣΥΜΠΤΩΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΗΤΗ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ RISE (ROBUST INTEGRAL OF THE SIGN ERROR).

IDENTIFICATION OF CONCENTRATION OF PROTEIN KINASE C (PKC) USING AN ASYMPTOTIC OBSERVER BASED ON RISE (ROBUST INTEGRAL OF THE SIGN ERROR) APPROACH.



ΜΕΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ
2004030110

Τμήμα Ηλεκτρονικών Μηχανικών και Μηχανικών Η/Υ

Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ:

Καθ. Γ. Σταυρακάκης

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Καθ. Μ. Ζερβάκης

Αν. Καθ. Ι. Μπούταλης

Χανιά, 14/10/2013

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Γ. Σταυρακάκη, τον καθηγητή μου, ως επιβλέπων της διπλωματικής εργασίας,

τον κ. Ι. Μπούταλη και τον κ. Μ. Ζερβάκη που ως μέλη της επιτροπής βοήθησαν στην διόρθωση και της εργασίας,

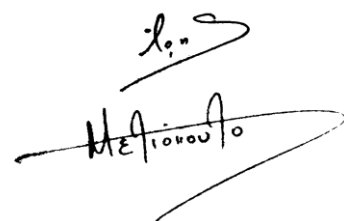
τον κ. Σταυρουλάκη, ως αρχικό επιβλέπων, που μου έδωσε το θέμα και τον κ. Μ. Χριστοδούλου που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με τον τομέα συστημάτων και τις καίριες λύσεις που έδωσε κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στην οικογένεια μου που με στηρίζει όλα αυτά τα χρόνια σε κάθε μου βήμα και, με πολύ αγάπη, να τους αφιερώσω αυτήν την εργασία.

Το πιο μεγάλο ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ, για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής, το χρωστάω στον αδελφικό μου φίλο Θωμά Γιώτη. Χάρη στην αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια του η εργασία έφτασε στο πέρας της. Μα πάνω απ όλα τον ευχαριστώ που με τιμάει με την φιλία του όλα αυτά τα χρόνια...

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Χρήστο Ρουσόπουλο που με «ανέχεται» από την πρώτη μέρα που ήρθαμε στην σχολή και όλους τους φίλους μου, που μοιραστήκαμε μαζί χαρές, λύπες και συγκινήσεις.

Να είστε όλοι καλά...
Σας ευχαριστώ μέσα από την ψυχή μου...



Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	9
2. Μια Γενική Επισκόπηση Στην Μοριακή Και Συστημική Βιολογία	13
2.1. Μοριακή Βιολογία	15
2.1.1. Το Κύτταρο	15
2.1.2. DNA	20
2.1.3. Πρωτεΐνες	22
2.2. Συστημική Βιολογία	24
2.2.1. Τα Κύτταρα Ως Συστήματα Εισόδου/Εξόδου	25
2.2.2. Κυτταρική Χημεία	27
2.2.3. Κυτταρική Σηματοδότηση	31
3. Μοντέλο Μεταγωγής Σήματος PKC Μονοπατιού – Προσομοίωση	35
3.1. Το Μοντέλο Μεταγωγής Σήματος Του PKC Μονοπατιού	37
3.1.1. Πρωτεΐνη Κινάση C	37
3.1.2. Βιοχημικές Αντιδράσεις Και Κινητική Στο PKC Μονοπάτι	40
3.2. Προσομοίωση PKC Μονοπατιού	44
4. Νευρωνικά Δίκτυα Και Μοντέλο Παρατηρητή RISE	49
4.1. Νευρωνικά Δίκτυα	51
4.1.1. Εισαγωγή	51
4.1.2. Γενικές Χρήσεις Νευρωνικών Δικτύων	53
4.1.3. Το Βασικό Τεχνητό Μοντέλο	54
4.1.4. Εκπαίδευση Νευρωνικών Δικτύων	56
4.2. Προσέγγιση Με Χρήση Παρατηρητή	57
4.2.1. Εισαγωγή	57
4.2.2. Φόρμουλα Εκμάθησης Προβλημάτων	59
4.2.3. Νευρωνικό Δίκτυο Patchy	60
4.2.4. Μοντέλο Αναγνώρισης	61
4.2.4.1. Παρατηρητής RISE	62
4.2.4.2. Ενημέρωση Των Βαρών Του PNN	62
4.2.5. Εκτίμηση PNN	63
4.2.6. Μελέτη Προσομοίωσης	64
5. Αναγνώρισης Της PKC Με Την Χρήση Του Παρατηρητή RISE	69
5.1. Εφαρμογή Του Παρατηρητή RISE	71
5.2. Αναγνώριση Και Αποτελέσματα	76
6. Συμπεράσματα – Μελλοντική Εργασία	89
Παραπομπές	93

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή.

Η συστημική βιολογία είναι ένας νέος και ταχύτατα αναπτυσσόμενος τομέας της βιολογίας που αποσκοπεί στην κατανόηση των βιολογικών συστημάτων σε επίπεδο συστήματος και παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για τη μοριακή βιολογία και την ιατρική. Για την πλήρη κατανόηση σε επίπεδο συστήματος είναι σημαντικό να έχουμε ένα σύνολο αρχών και μεθοδολογιών που συνδέει τη συμπεριφορά των μορίων με τα χαρακτηριστικά και τις λειτουργίες του συστήματος. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, θα προσομοιώσουμε και θα προσδιορίσουμε το σηματοδοτικό μονοπάτι της PKC (Πρωτεΐνη Κινάση C) χρησιμοποιώντας έναν ασυμπτωτικό παρατηρητή που βασίζεται στην προσέγγιση RISE (Robust Integral of the Sign Error) ο οποίος έχει υλοποιηθεί και παρουσιαστεί από το Εργαστήριο Αυτοματισμού της σχολής μας.

Ξεκινώντας την εργασία μας, στο Κεφάλαιο 2 κάνουμε μια εισαγωγή στην μοριακή βιολογία και τις πιο βασικές έννοιες της. Κύτταρα, DNA και πρωτεΐνες παρουσιάζονται προκειμένου να εισαχθούν βιολογικά θέματα που θα βοηθήσουν τον αναγνώστη να κατανοήσει καλύτερα τη δουλειά μας. Κάνουμε επίσης μια εισαγωγή στο πεδίο της Βιολογίας Συστημάτων, σχετικά με την εφαρμογή της θεωρίας των συστημάτων στη βιολογία.

Στο κεφάλαιο 3, εισάγουμε τον όρο της πρωτεΐνης κινάσης C (PKC). Αναλύουμε το συγκεκριμένο σηματοδοτικό μονοπάτι (PKC σηματοδοτικό μονοπάτι), που αποτελείται από δεκαπέντε πρωτεΐνες και τις αλληλεπιδράσεις τους. Παρουσιάζουμε επίσης ένα πλήρες σύνολο των χημικών κινητικών εξισώσεων που περιγράφουν τις αντιδράσεις του μονοπατιού, καθώς και τα αποτελέσματα της προσομοίωσής μας με τη χρήση του εργαλείου Simulink της Matlab.

Τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα αναλύονται στο κεφάλαιο 4, καθώς και η εκπαίδευσή τους. Παρουσιάζουμε την κατασκευή ενός υπολογιστικού μοντέλου το οποίο προβλέπει τη δυναμική συμπεριφορά της κάθε πρωτεΐνης στο PKC μονοπάτι. Το μαθηματικό εργαλείο που χρησιμοποιούμε είναι ένας ασυμπτωτικός παρατηρητής που βασίζεται στην προσέγγιση RISE.

Στο Κεφάλαιο 5, αναλύουμε την εφαρμογή του παρατηρητή RISE στο μοντέλο PKC, και με τη χρήση του εργαλείου Simulink της Matlab παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα της αναγνώρισης του PKC μονοπατιού σηματοδότησης.

Τέλος, στο κεφάλαιο 6, έχουμε τα συμπεράσματα και τις πιθανές μελλοντικές εργασίες στον τομέα της Βιολογίας Συστημάτων σχετικά με τη διπλωματική μας εργασία.

Κεφάλαιο 2

Μια Γενική Επισκόπηση Στην Μοριακή Και
Συστημική Βιολογία.

2.1 Μοριακή Βιολογία

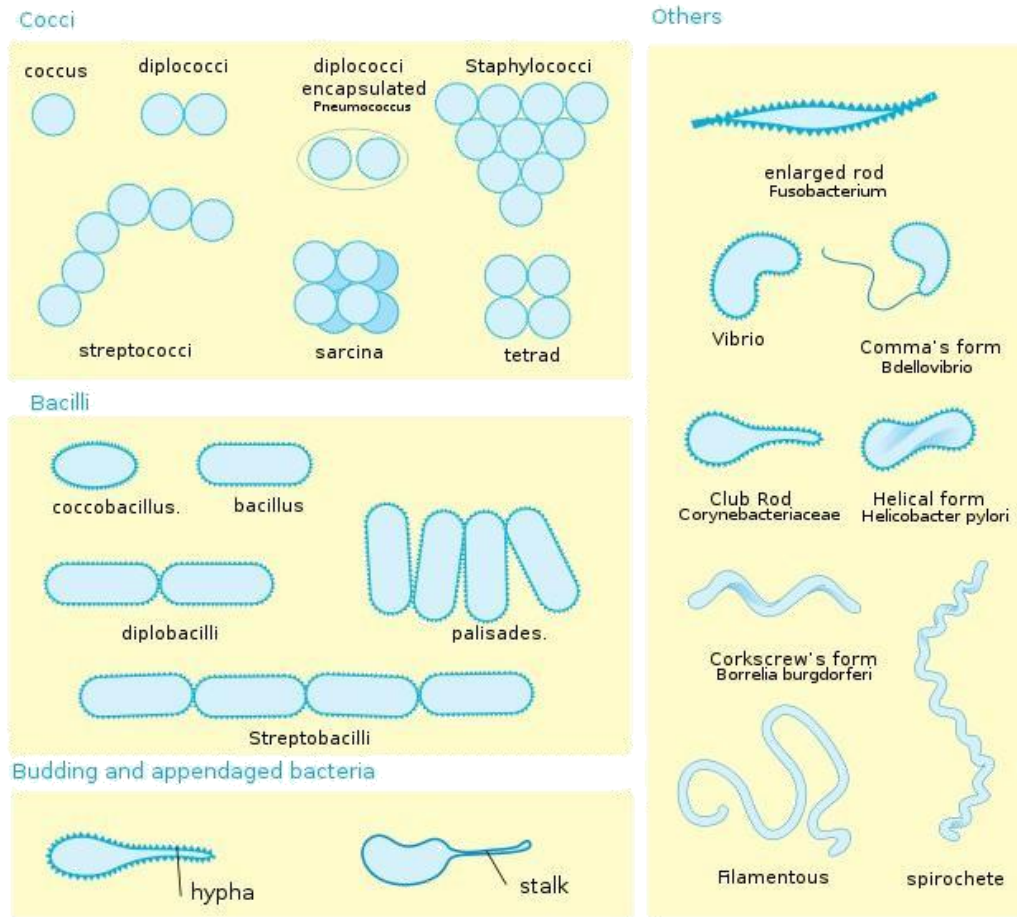
Μοριακή βιολογία είναι ο κλάδος της βιολογίας που μελετά τη δομή, τη σύνθεση και τη λειτουργία της γενετικής πληροφορίας (DNA και RNA) σε μοριακό επίπεδο, καθώς και το πώς αυτή αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες.

2.1.1 Το Κύτταρο

Τα κύτταρα συχνά αποκαλούνται τα δομικά στοιχεία της ζωής. Πρόκειται για τις μικρότερες δομές ικανές να πραγματοποιήσουν βασικές διαδικασίες της ζωής όπως η ανάπτυξη, η λήψη θρεπτικών συστατικών, η αποβολή αποβλήτων και η αναπαραγωγή. Όλοι οι γνωστοί ζωντανοί οργανισμοί αποτελούνται από κύτταρα. Ορισμένοι μικροσκοπικοί οργανισμοί, όπως τα βακτήρια και τα πρωτόζωα, είναι μονοκύτταροι (αποτελούνται από ένα μόνο κύτταρο). Οι άνθρωποι και άλλοι οργανισμοί είναι πολυκύτταροι (αποτελούνται από περισσότερα από ένα κύτταρα). Τα κύτταρα πραγματοποιούν χιλιάδες βιοχημικές αντιδράσεις ανά λεπτό και αναπαράγουν συνεχώς νέα κύτταρα.

Τα κύτταρα ποικίλουν σε μέγεθος και σχήμα. Το μέγεθος των κυττάρων κυμαίνεται σε γενικές γραμμές από 0.2m σε 200mm. Το μικρότερο κύτταρο, ένα είδος βακτηρίου, το μυκόπλασμα, έχει διάμετρο 0,0001mm, ενώ ως το μεγαλύτερο γνωστό κύτταρο θεωρείται το αυγό της στρουθοκαμήλου. Τα ανθρώπινα κύτταρα ποικίλουν επίσης σε μέγεθος, από τα μικρά ερυθρά αιμοσφαίρια (0,00076mm) μέχρι τα κύτταρα του ήπατος που μπορεί να είναι δέκα φορές μεγαλύτερα.

Το βασικό σχήμα του κυττάρου είναι σφαιρικό, αλλά υπάρχει ποικιλία σχημάτων μεταξύ μονοκύτταρων και πολυκύτταρων οργανισμών. Για παράδειγμα, το βακτήριο *Bacillus* μοιάζει με ράβδο, ενώ το έμβρυο *Campylobacter* έχει σχήμα σιγμοειδές. Ορισμένα κύτταρα δεν έχουν σταθερό σχήμα, αλλά αλλάζουν το σχήμα τους κάθε στιγμή που τα παρατηρούμε στο μικροσκόπιο, όπως η αμοιβάδα. Στους περισσότερους πολυκύτταρους οργανισμούς η τοπολογία και η σύνδεση των κυττάρων μπορεί να αποτελέσει σημαντικό παράγοντα στον καθορισμό του σχήματος. Έτσι, σε πολλές περιπτώσεις, το αρχικό σχήμα του κυττάρου μπορεί να μεταβληθεί με την αλλαγή του περιβάλλοντος και της θέσης του. [1]

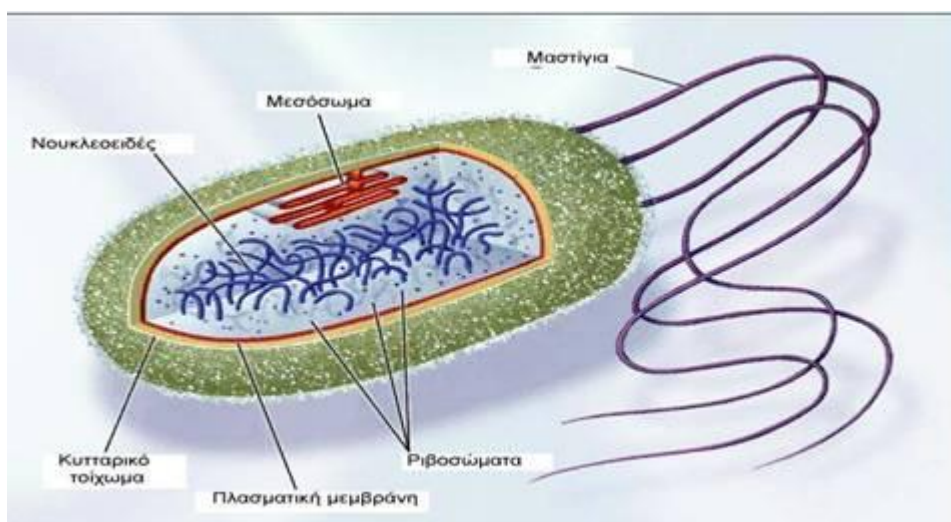


χρήμα 2.1: Βασικές μορφολογικές διαφορές μεταξύ των βακτηρίων. Οι πιο συχνές μορφές και οι ενώσεις τους.] [Σ

Τα περισσότερα κύτταρα σε πολυκύτταρους οργανισμούς οργανώνονται σε συνεργαζόμενα συγκροτήματα που ονομάζονται ιστοί, όπως ο νευρικός, ο μυϊκός, ο επιθηλιακός ή οι συνδετικοί ιστοί που βλέπουμε στα σπονδυλωτά. Όλα τα στοιχεία των ιστών πρέπει να είναι σωστά συντονισμένα και πολλά από αυτά απαιτούν συνεχή συντήρηση και ανανέωση. Διαφορετικοί τύποι ιστών συναρμολογούνται σε όργανα εξειδικευμένα για την εκτέλεση συγκεκριμένων λειτουργιών. Όλα μαζί τα συναρμολογημένα αυτά συστήματα οργάνων αποτελούν το ανθρώπινο σώμα. [2]

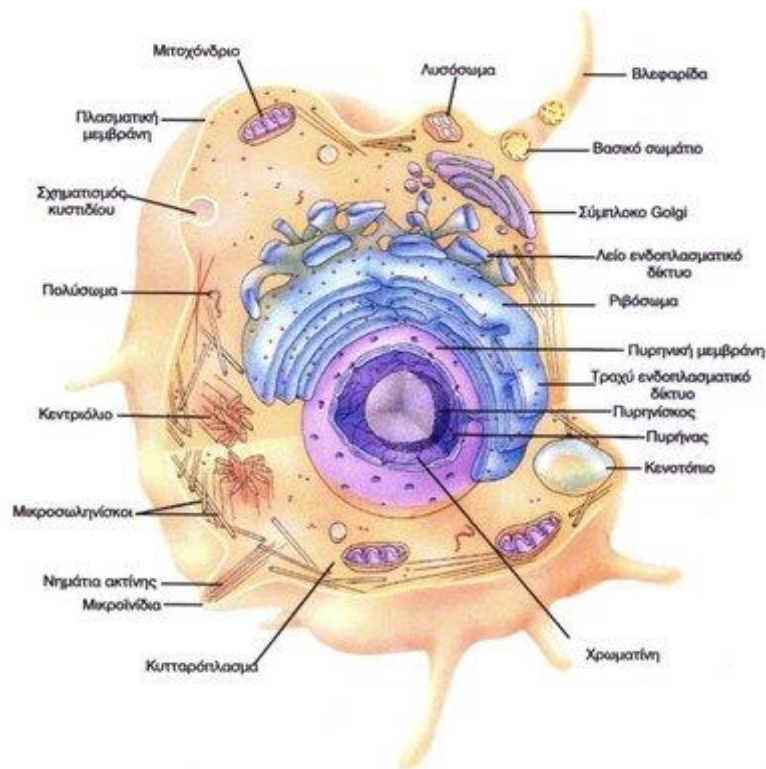
Δεδομένων αυτών των διαφορών, είναι ίσως έκπληξη το γεγονός ότι υπάρχουν μόνο δύο τύποι κυττάρων: προκαρυωτικά ή ευκαρυωτικά. Τα προκαρυωτικά είναι τα κύτταρα που στερούνται πυρηνικής μεμβράνης. Αυτά τα κύτταρα έχουν λίγες εσωτερικές δομές που μπορούν να διακριθούν από το μικροσκόπιο, όπως τα βακτήρια και τα κυανοβακτήρια (επίσης γνωστά παλαιότερα ως κυανοφύκη). Τα προκαρυωτικά κύτταρα διαφέρουν σημαντικά από τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Αντί να έχουν

χρωμοσωμικό DNA, έχουν τις γενετικές τους πληροφορίες σε ένα κυκλικό βρόγχο που ονομάζεται πλασμίδιο. Τα βακτηριακά κύτταρα είναι πολύ μικρά, περίπου στο μέγεθος ενός μιτοχονδρίου ζώων (περίπου 1-2μm σε διάμετρο και 10μm σε μήκος). Τα προκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν τρία βασικά σχήματα: ράβδου, σφαιρικό και σπирάλ. Αντί να περάσουν από περίτεχνες διαδικασίες αντιγραφής κυττάρων, όπως τα ευκαρυωτικά κύτταρα, τα βακτηριακά κύτταρα διαιρούνται με δυαδική σχάση. [3], [4]



[Εικ. 2.2: Διάγραμμα ενός τυπικού προκαρυωτικού κυττάρου.]

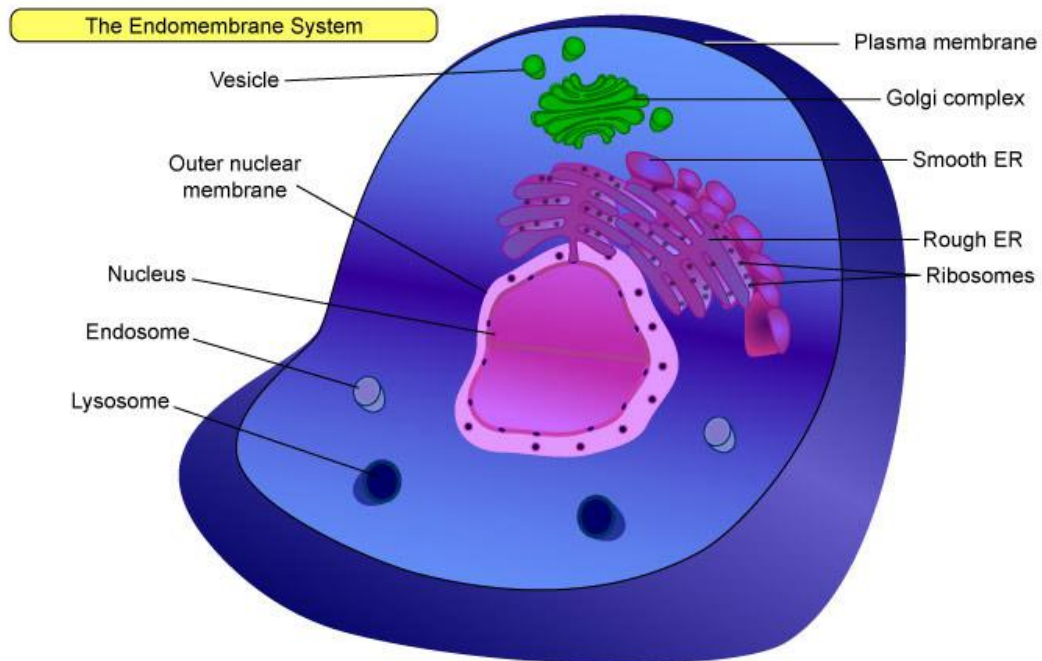
Τα ευκαρυωτικά κύτταρα μπορούν εύκολα να διακριθούν μέσω της πυρηνικής τους μεμβράνης. Είναι τα κύτταρα όλων των άλλων οργανισμών, από τα θηλαστικά μέχρι τα φυτά. Είναι γενικά μεγαλύτερα (5-100μm, αν και ορισμένα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι αρκετά μεγάλα που φαίνονται ακόμη και με γυμνό μάτι) και δομικά πιο περίπλοκα. Τα ευκαρυωτικά κύτταρα περιέχουν μια ποικιλία από εξειδικευμένες δομές γνωστές συλλογικά ως οργανίδια, που περιβάλλονται από μία παχύρρευστη ουσία που ονομάζεται κυτταρόπλασμα. Το μεγαλύτερο οργανίδιο, ο πυρήνας περιέχει τις γενετικές πληροφορίες που είναι αποθηκευμένες στο μόριο δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA).



[Εικ. 2.3: Διάγραμμα ενός τυπικού ευκαρυωτικού κυττάρου.]

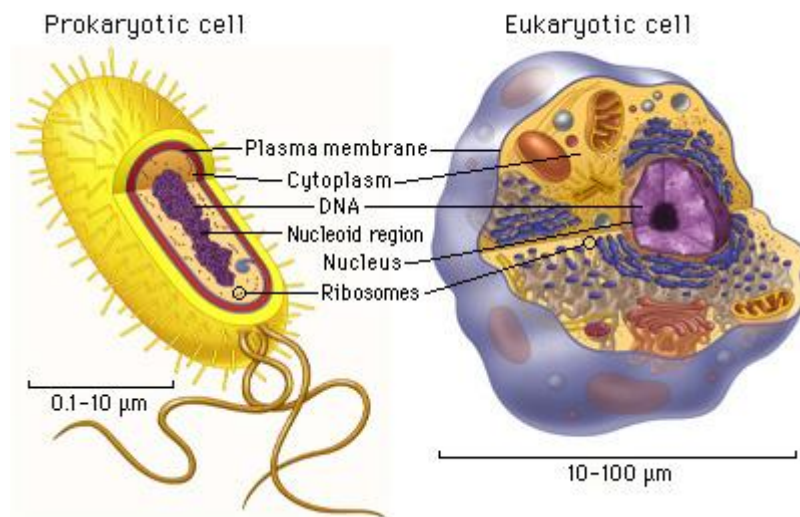
Η κύρια διαφορά μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών είναι ότι τα ευκαρυωτικά κύτταρα έχουν πάντα πυρήνα και άλλα οργανίδια προσκολλημένα στη μεμβράνη. Συχνά είναι πολυκύτταρα και μεγαλύτερα κύτταρα. Σε αντίθεση, τα προκαρυωτικά κύτταρα πάντοτε είναι μονοκύτταρα και μικρότερα κύτταρα και δεν έχουν πυρήνα ή οποιαδήποτε οργανίδια στη μεμβράνη. Σε αντίθεση με το κυκλικό προκαρυωτικό DNA, μεγάλα τμήματα του ευκαρυωτικού DNA στοιβάζονται στον πυρήνα περικαλύπτοντας τριγύρω τις πρωτεΐνες.

Ο πυρήνας, που προστατεύει το DNA, περιβάλλεται από μια διπλή μεμβράνη με πόρους που παρέχουν διαύλους μέσω του πυρήνα επιτρέποντας στο υλικό να μετακινηθεί μέσα και έξω. Ένα σήμα έρχεται στον πυρήνα και βγαίνουν οδηγίες στο κυτταρόπλασμα. Με τον τρόπο αυτό, προστατεύονται δυνητικά επιβλαβείς χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στο κυτταρόπλασμα. Ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) ονομάζεται η συλλογή της πυρηνικής μεμβράνης που επιτρέπει στα μόρια να μετακινούνται από το ένα μέρος στο άλλο. Είναι συνδεδεμένο με την εξωτερική μεμβράνη του πυρήνα και παίζει σημαντικό ρόλο στη σύνθεση των πρωτεϊνών. Εμφανίζεται σε δύο διαφορετικές μορφές: το τραχύ ER και το ομαλό ER. Το τραχύ ER έχει ριβοσώματα στην επιφάνειά του, που του δίνουν μια "τραχιά" εμφάνιση και εκκρίνει πρωτεΐνες στο κυτταρόπλασμα. Το ομαλό ER συνθέτει τα λιπίδια και τα στεροειδή και παίζει ρόλο στη δέσμευση και την απελευθέρωση του ασβεστίου. [5]



Dept. Biol. Penn State ©2002

[Εικ. 2.4: Διάγραμμα ενός ενδομεμβρανώδες συστήματος.]



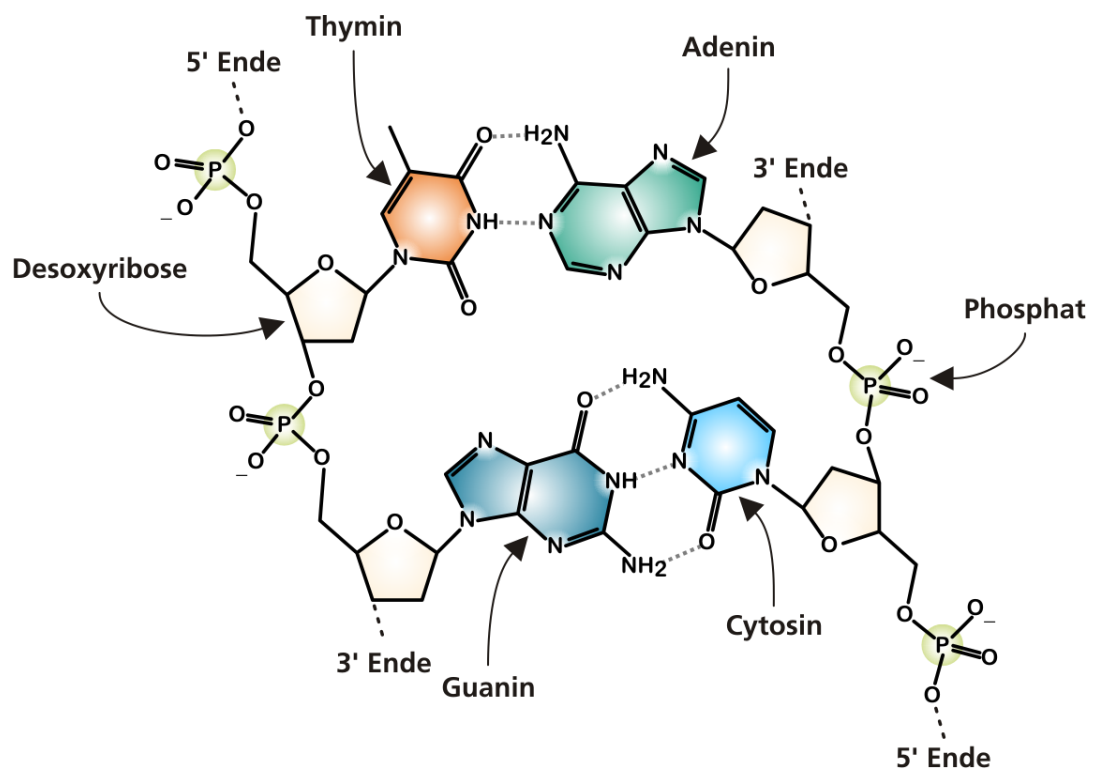
[Εικ. 2.5: προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα.]

2.1.2 DNA

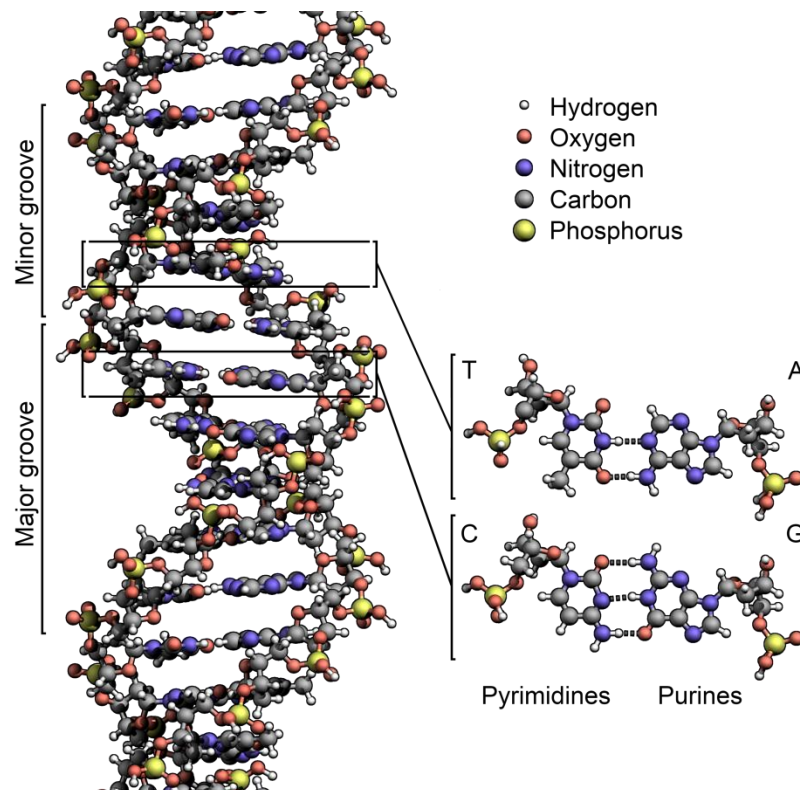
DNA ή δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ είναι το κληρονομικό υλικό στον άνθρωπο και σχεδόν σε όλους τους άλλους οργανισμούς. Το περισσότερο DNA βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου, αλλά μια μικρή ποσότητα του DNA μπορεί επίσης να βρεθεί στα μιτοχόνδρια. Το DNA είναι η υπεύθυνη χημική ουσία για τη διατήρηση της αντιγραφής και τη διαβίβαση πληροφοριών στο εσωτερικό των κυττάρων και από γενιά σε γενιά. Οι πληροφορίες στο DNA αποθηκεύονται ως ένας κώδικας που αποτελείται από τέσσερις χημικές βάσεις: την αδενίνη (A), τη γουανίνη (G), την κυτοσίνη (C) και τη θυμίνη (T). Το ανθρώπινο DNA αποτελείται από περίπου 3 δισεκατομμύρια βάσεις και περισσότερο από το 99% των εν λόγω βάσεων είναι η ίδια σε όλους τους ανθρώπους.

Οι βάσεις αυτές, σύμφωνα με την τάξη ή τη σειρά που εμφανίζονται, καθορίζουν τις διαθέσιμες πληροφορίες για τη δημιουργία και τη διατήρηση ενός οργανισμού. Ο συνδυασμός βάσης και σακχάρου είναι γνωστός ως νουκλεοζίτης, ώστε να διακρίνεται από τη φωσφορυλιωμένη μορφή, η οποία ονομάζεται νουκλεοτίδιο. Τέσσερα διαφορετικά νουκλεοτίδια σχηματίζουν το DNA. Τα νουκλεοτίδια περιτυλίσσονται όπως τα αμπέλια σε δύο μεγάλες πτυχές που σχηματίζουν ένα διπλό έλικα. Η χημική αλληλεπίδραση δημιουργεί τη φωσφορική-δεσοξυριβοζική ραχοκοκαλιά του διπλού έλικα εντός ενός κλώνου αντίθετου προς το άλλο σκέλος: οι κλώνοι δεν είναι παράλληλοι και οι βάσεις δείχνουν προς τα μέσα. Τα άκρα αυτών των δύο κλώνων του DNA ονομάζονται: 5' (five prime) άκρο, το οποίο έχει μια τερματική φωσφορική ομάδα και 3' (three prime) άκρο, το οποίο έχει μία τερματική ομάδα υδροξυλίου, όπου τα νουκλεοτίδια που προστίθενται σε αυτή την κατεύθυνση συνθέτουν το DNA. [6]

Ένα γονίδιο είναι η βασική φυσική και λειτουργική μονάδα της κληρονομικότητας και είναι ένα ξεχωριστό τμήμα του DNA ενός κυττάρου. Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί εξαρτώνται από τα γονίδια. Κρατούν τις πληροφορίες για να χτίσουν και να διατηρήσουν τα κύτταρά τους και να περάσουν τα γενετικά χαρακτηριστικά στους απογόνους. Ενεργούν ως οδηγίες για να δημιουργήσουν μόρια που ονομάζονται πρωτεΐνες. Στους ανθρώπους, τα γονίδια ποικίλουν σε μέγεθος από μερικές εκατοντάδες βάσεις του DNA σε περισσότερα από 2 εκατομμύρια βάσεις. Το Human Genome Project έχει υπολογίσει ότι οι άνθρωποι έχουν 20.000 και 25.000 γονίδια. Τα γονίδια είναι «πακεταρισμένα» σε «δέματα» που ονομάζονται χρωμοσώματα. Οι άνθρωποι έχουν 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων από τα οποία το 1 ζεύγος είναι τα φυλετικά χρωμοσώματα και τα άλλα 22 ζεύγη είναι αυτοσωματικά χρωμοσώματα. [7], [8].



[Εικ. 2.6: Δομή του DNA.]



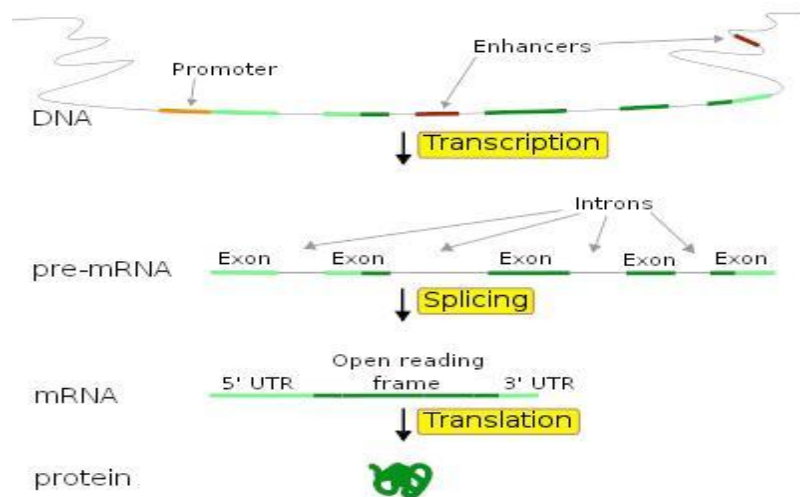
[Εικ. 2.7: Τμήμα του DNA.]

2.1.3 Πρωτεΐνες

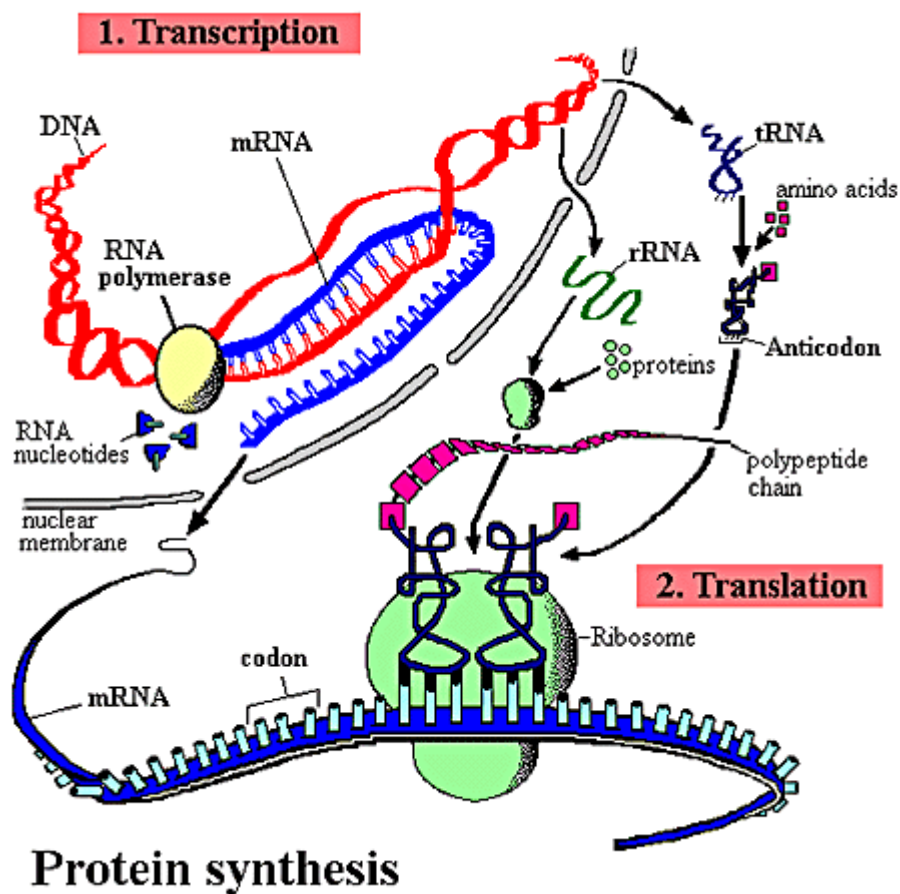
Οι πρωτεΐνες, το DNA και το RNA, είναι τα μόρια που υποστηρίζουν τη ζωή στη Γη. Το DNA είναι το πρότυπο της γενετικής πληροφορίας για την πρωτεϊνική σύνθεση. Το RNA είναι ο κύριος υπεύθυνος για τη σύνθεση των πρωτεϊνών. Ο αγγελιοφόρος (Messenger) (mRNA) είναι ένα ενδιάμεσο αντίγραφο των γενετικών πληροφοριών που καθοδηγεί την πρωτεϊνική σύνθεση εκεί που γίνεται η σύνθεση πρωτεϊνών του κυττάρου, στο ριβόσωμα. Το rRNA είναι ένα ουσιαστικό συστατικό του ριβοσώματος και ο μεταγραφέας (tRNA) φέρει αμινοξέα στο ριβόσωμα για την πρωτεϊνική σύνθεση.

Οι πρωτεΐνες είναι τα πολυμερή που κατασκευάζονται από αμινοξέα. Υπάρχουν 20 διαφορετικά αμινοξέα που βρίσκονται συνήθως σε πρωτεΐνες. Για να γίνει μια πρωτεΐνη, το ριβόσωμα «δένει» αμινοξέα σε μια αλυσίδα. Αυτή η αλυσίδα, που ονομάζεται πολυπεπτίδιο, διπλώνει σε ένα ειδικό τρισδιάστατο σχήμα. Αυτή η διαδικασία μπορεί να χωριστεί σε δύο τμήματα, τη μεταγραφή και τη μετάφραση. Πριν ξεκινήσει η σύνθεση μίας πρωτεΐνης, το αντίστοιχο RNA μόριο παράγεται από τη μεταγραφή του DNA. Ένα σκέλος του διπλού έλικα του DNA χρησιμοποιείται ως μήτρα από το RNA για να συνθέσει ένα αγγελιοφόρο RNA (mRNA). Το mRNA αυτό μεταφέρεται από τον πυρήνα προς το κυτταρόπλασμα. Κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος, το mRNA περνά μέσα από διάφορους τύπους ωρίμανσης, όπως ένας ο οποίος ονομάζεται μάτισμα όταν η μη-κωδικοποιημένη αλληλουχία μπορεί να περιγραφεί ως μονάδα τριών νουκλεοτιδίων (κωδικόνιο). Κατά τη μετάφραση, το ριβόσωμα δεσμεύεται με το mRNA στο αρχικό κωδικόνιο (AUG) που αναγνωρίζεται μόνο από το tRNA. [9]

Τα ριβοσώματα συμβάλλουν στη μετάφραση της πρωτεϊνοσύνθεσης. Στη μετάφραση, ένα ριβόσωμα αρχίζει να κινείται από κωδικόνιο σε κωδικόνιο κατά μήκος του RNA, και η ενεργοποίηση των αμινοξέων συνδέεται με το tRNA. Καθώς το ριβόσωμα κινείται από κωδικόνιο σε κωδικόνιο κατά μήκος του mRNA, το tRNA φέρνει το αντίστοιχο αμινοξύ στο κάθε ένα. Στο τέλος, ένας παράγοντας απελευθέρωσης συνδέεται με το τελευταίο κωδικόνιο, το τελικό mRNA κωδικόνιο, τερματίζοντας τη μετάφραση, η οποία τελειώνει την σύνθεση της πεπτιδικής αλυσίδας και την απελευθερώνει. Τα μόρια των πρωτεϊνών εκτελούν διαφορετικές λειτουργίες όπως η ευπεψία σακχάρων ή η μετακίνηση των μυών. Η πρωτεϊνική λειτουργία είναι πλήρως καθορισμένη από τη δομή της. [10]



[Εικ. 2.8: Διάγραμμα μιας "τυπικής" ευκαρυωτικών-πρωτεϊνών κωδικοποίησης γονιδίου. Υποκινητές και ενισχυτές καθορίζουν ποια τμήματα του DNA θα μεταγραφεται σε mRNA του προ-mRNA. Τα προ-mRNA είναι συγκολλημένα στη συνέχεια σε αγγελιοφόρο RNA (mRNA) το οποίο αργότερα μεταφράζεται σε πρωτεΐνη.]



[Εικ. 2.9: Μια επισκόπηση της πρωτεϊνοσύνθεσης.]

2.2 Συστημική Βιολογία

Η συστημική βιολογία περιγράφει τη μελέτη των βιολογικών συστημάτων ως μια διεπιστημονική μελέτη βασισμένη στη βιολογία, ερευνώντας τα στοιχεία των κυτταρικών δικτύων και τις αλληλεπιδράσεις τους. Η συστημική βιολογία αποτελεί τη μοντελοποίηση και την ανακάλυψη ενός συστήματος με την εφαρμογή πειραμάτων υψηλής απόδοσης, απαιτώντας την ενσωμάτωση πειραματικών και υπολογιστικών μεθόδων, καθώς και τεχνικές του όλου γονιδιώματος. Στη συστημική βιολογία το δίκτυο των γονιδίων σε έναν οργανισμό και όλα τα συστατικά με τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις, αποτελούν ένα ολοκληρωμένο σύστημα. Έτσι, αντί της ανάλυσης των επιμέρους στοιχείων ή πτυχών ενός οργανισμού, μελετάμε τις ολιστικές πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις. Η μορφή και οι λειτουργίες ενός οργανισμού ορίζονται από αυτές τις αλληλεπιδράσεις. Ως ένα παράδειγμα, το ανοσοποιητικό σύστημα που καταπολεμά μολύνσεις και ασθένειες με ανοσολογικές αποκρίσεις είναι το ολοκληρωμένο σύστημα των αλληλεπιδράσεων των πολυάριθμων γονιδίων, των πρωτεϊνών και του εξωτερικού περιβάλλοντος του οργανισμού. [11]

Η συστημική βιολογία εμφανίστηκε με μια αυξανόμενη κατανόηση του πώς τα γονίδια και οι πρωτεΐνες που προκύπτουν από αυτά είναι υπεύθυνα για την βιολογική μορφή και λειτουργία. Ως αποτέλεσμα της μεγάλης αύξησης των δεδομένων από τη γονιδιωματική και των συνοδευτικών πλεονεκτημάτων στα υψηλής απόδοσης πειράματα και στη βιοπληροφορική, σήμερα υπάρχουν αρκετά Ινστιτούτα Συστημικής Βιολογίας σε όλο τον κόσμο. Επιπλέον, με τη βοήθεια του Διαδικτύου, οι ερευνητές έχουν τη δυνατότητα να αποθηκεύουν και να διανέμουν τεράστιο όγκο πληροφοριών που καθιστούν τη μελέτη της συστημικής βιολογίας ακόμη πιο εξελίξιμη.

Η συστημική βιολογία μπορεί να θεωρηθεί ως μια ολιστική προσέγγιση για την κατανόηση της βιολογίας. Στοχεύει στην κατανόηση του συστημικού επιπέδου της βιολογίας, δηλαδή σε έναν κύκλο που αποτελείται από θεωρία, αναλυτική και υπολογιστική μοντελοποίηση ώστε να προταθούν συγκεκριμένες ελέγξιμες υποθέσεις για ένα βιολογικό σύστημα και πειραματική επαλήθευση. Μία εξέταση της δομής και της δυναμικής των κυτταρικών και οργανικών λειτουργιών, χρησιμοποιώντας την αποκτούμενη ποσοτική περιγραφή των κυττάρων ή των κυτταρικών διεργασιών για να ολοκληρωθεί το υπολογιστικό μοντέλο ή η θεωρία. Η συστημική βιολογία αναφέρεται σε ένα σύμπλεγμα από περιφερειακά επικαλυπτόμενες έννοιες, λαμβάνοντας μια διαφορετική προσέγγιση προσπαθώντας να ενσωματώσει τη βιολογική γνώση και να κατανοήσει πώς τα μόρια δρουν από κοινού εντός ενός δικτύου αλληλεπιδράσεων, που αποτελεί τη ζωή. [12]

Η συστημική βιολογία προσεγγίζει μαθηματικά μοντέλα των βιολογικών μονάδων. Επιστήμονες (βιολόγοι, στατιστικολόγοι, μαθηματικοί, πληροφορικοί, μηχανικοί, φυσικοί κλπ) εργάζονται για να βελτιώσουν την ποιότητα αυτών των προσεγγίσεων σε μια προσπάθεια να συνεργαστούν σε μια διεπιστημονική βάση. Τα μοντέλα αυτά, όπως η ανακατασκευή των δυναμικών συστημάτων από τις ποσοτικές ιδιότητες των επιμέρους δομικών στοιχείων τους, απαιτούν τις κατάλληλες μεθόδους: Πρώτον, για το χαρακτηρισμό του βιολογικού συστήματος που μας ενδιαφέρει. Δεύτερον, για τη συστηματική τροποποίηση του συστήματος, και τρίτον, για τη μοντελοποίηση του συστήματος. Άλλες πτυχές της επιστήμης των υπολογιστών και της πληροφορικής, επίσης χρησιμοποιούνται στη συστημική βιολογία. Η συστημική βιολογία ερευνά τη λειτουργία των δια- και ενδο- κυτταρικών δυναμικών δικτύων, με τη χρήση προσανατολισμένων προσεγγίσεων σημάτων και συστημάτων. Για να καταλάβουμε τη λειτουργία των κυττάρων, η συστημική βιολογία ασχολείται με τα εξής βασικά ερωτήματα:

- πώς τα συστατικά μέσα σε ένα κύτταρο αλληλεπιδρούν για να επιφέρουν τη δομή και τη λειτουργία του; (ενδο-κυτταρική δυναμική)
- πώς τα κύτταρα αλληλεπιδρούν για την επίτευξη συνεκτικών κυτταρικών πληθυσμών; (δια-κυτταρική δυναμική)

Η συστημική βιολογία σηματοδοτεί μια στροφή, μακριά από το μοριακό χαρακτηρισμό και την καταγραφή των συστατικών στο κύτταρο, προς την κατανόηση της λειτουργικής δραστηριότητας. [11], [12], [13], [14]

2.2.1 Τα κύτταρα ως συστήματα εισόδου/εξόδου

Η ζωή του κυττάρου μπορεί να παρομοιαστεί ως μια συλλογή «ασύρματων δικτύων» των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνών, RNA, DNA, και μικρότερων μορίων που εμπλέκονται στην σηματοδότηση και τη μεταφορά της ενέργειας. Τα δίκτυα αυτά επεξεργάζονται περιβαλλοντικά σήματα, επάγουν κατάλληλες κυτταρικές αποκρίσεις και μια αλληλουχία εσωτερικών γεγονότων, όπως η έκφραση των γονιδίων, επιτρέποντας έτσι στα κύτταρα και σε ολόκληρους οργανισμούς να εκτελούν βασικές λειτουργίες τους.

Η έρευνα στη μοριακή βιολογία, γονιδιωματική και πρωτεομική, παρέχει πληθώρα δεδομένων που περιγράφουν τα βασικά συστατικά αυτών των δικτύων, καθώς και τη χαρτογράφηση της ενδο- και δια-κυτταρικής σηματοδότησης των δικτύων. Το γονιδίωμα κωδικοποιεί τον κατάλογο των λειτουργικών πρωτεϊνών που πιθανώς υπάρχουν σε κάθε κύτταρο ενός δεδομένου οργανισμού. Αυτό επιτυγχάνεται από την ιδιαίτερη διάταξη των τεσσάρων δυνατών (A, T, C, G) βάσεων στην αλληλουχία του DNA του. Η γονιδιωματική έρευνα έχει ως στόχο την πλήρη αποκωδικοποίηση των πληροφοριών, τόσο για τον προσδιορισμό της όλης αλληλουχίας του DNA των οργανισμών, καθώς και την καταγραφή των διαφορών μεταξύ των μεμονωμένων μελών. Το πλήρες σύνολο των πρωτεϊνών σε ένα τύπο κυττάρου ή ιστού, το σχήμα και οι τροποποιήσεις που έγιναν σε ένα συγκεκριμένο σύνολο πρωτεϊνών, είναι αυτό που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη λειτουργία τους και είναι στο χέρι της πρωτεομικής έρευνας να καθορίσει όλα τα σετ των πρωτεϊνών και την τρισδιάστατη δομή τους. Οι πρωτεΐνες, οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, είναι τα κύρια συστατικά των έμβιων όντων.

Εκτός του ότι οι πρωτεΐνες είναι τα βασικά μέρη των οργανισμών, μεταξύ άλλων ρόλων, αποτελούν υποδοχείς που τροφοδοτούν τα κύτταρα με δυνατότητες ανίχνευσης· ενεργοποιητές που κάνουν τους μυς να κινούνται (μυοσίνη, ακτίνη), οι οποίοι αποτελούν ένα σύστημα ικριωμάτων που διατηρεί το σχήμα του κυττάρου. Οι ανιχνευτές αποτελούν την ανοσολογική απάντηση, ένζυμα που καταλύουν χημικές αντιδράσεις και είναι ζωτικής σημασίας για το μεταβολισμό και λειτουργούν σαν διακόπτης που ενεργοποιεί ή απενεργοποιεί τα γονίδια.

Επίσης, οι πρωτεΐνες, είναι σημαντικές στην κυτταρική σηματοδότηση και παρέχουν δομική στήριξη και βοήθεια στη μεταφορά των μικρότερων μορίων. Ιδίως στην προσκόλληση των κυττάρων και του κυτταρικού κύκλου, καθώς και στο να κατευθύνουν την κατανομή και επανασυναρμολόγηση άλλων κυττάρων και στοιχείων. Μεγάλου όγκου δεδομένων σύνολα δημιουργούνται από τα γονιδιωματικά και πρωτεομικά έργα με τη χρήση προηγμένων εργαλείων γενετικής μηχανικής και τεχνολογίες μέτρησης καθιστώντας ευρέως αναγνωρισμένη την ανάγκη για οργάνωση και ερμηνεία των δεδομένων αυτών. [15]

Τα κύτταρα είναι το πιο φυσικό παράδειγμα της θεωρίας συστημάτων εισόδου-εξόδου και των συστημάτων ελέγχου, χτισμένο από απλά στοιχεία που συνδέονται μεταξύ τους, σύμφωνα με ορισμένους κανόνες. Τα κύτταρα λαμβάνουν πληροφορίες από εξωτερικές εισόδους, οι οποίες μπορεί να είναι φυσικές (π.χ. ακτινοβολία ή θερμοκρασία) ή χημικές (π.χ. φαρμακευτικές ουσίες ή ορμόνες) και έχουν έξοδο με χημικά σήματα σε άλλα κύτταρα, όπως η ενεργοποίηση των παραγόντων μεταγραφής. Κάθε

κύτταρο μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από πολλά υποσυστήματα που εμπλέκονται σε διάφορες διεργασίες, όπως η κυτταρική ανάπτυξη και συντήρηση, η διαίρεση ή και ο θάνατος. Η κατανόηση της συμπεριφοράς των κυττάρων από την άποψη των αλυσίδων και των διασυνδέσεων ανατροφοδότησης των επιμέρους "modules" είναι ένα από τα ενδιαφέροντα θέματα της βιβλιογραφίας της μοριακής βιολογίας.

Μερικά από τα ερωτήματα που προκύπτουν από αυτά τα φυσικά συστήματα είναι: Πώς μπορεί κάποιος να χαρακτηρίσει τις συμπεριφορές εισόδου/εξόδου σε αυτά τα δίκτυα και γιατί είναι τόσο σημαντικές οι πληροφορίες των δυνατοτήτων επεξεργασίας; Ποια υποσυστήματα εμφανίζονται πιο συχνά επαναλαμβανόμενα από άλλα; Ποιες είναι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών οδών σημάτων και πώς αλληλεπιδρούν μεταξύ τους; Πώς είναι ο υπολογισμός των μορφών των αντιδράσεων και των τιμών των παραμέτρων (αναγνώριση, αντίστροφη μηχανική); Γιατί χρησιμοποιούμε αλυσίδες και βρόχους ανάδρασης; Μετά τον υπολογισμό αυτών των μορφών των αντιδράσεων, πρέπει να βρούμε τον τρόπο εκτίμησης ποικιλόχρονων εσωτερικών καταστάσεων, όπως οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών και άλλων χημικών ουσιών, από πειράματα εισόδου/εξόδου (πρόβλημα παρατηρητή); Ποιός είναι ο κύριος λόγος που επηρεάζει την αξιοπιστία του συστήματος; Τι γίνεται με τη σταθερότητα, τις ταλαντώσεις και άλλες δυναμικές ιδιότητες αυτών των πολύπλοκων συστημάτων; Για περαιτέρω εμβάθυνση σε θέματα ανάλυσης, θα πρέπει να ασχοληθούμε με τον έλεγχο των κυτταρικών συστημάτων μέσω φαρμάκων ή γενετικών τροποποιήσεων. [15], [16]

2.2.2 Κυτταρική Χημεία

Το κύτταρο είναι το βασικό δομικό στοιχείο από το οποίο αποτελούνται υψηλότερα επίπεδα οργάνωσης όπως οι ιστοί και τα όργανα και ολόκληρος ο οργανισμός. Αυτό το κεφάλαιο χρησιμεύει στο να επανεξετάσουμε κάποιες βασικές έννοιες της μοριακής και κυτταρικής βιολογίας. Το κύτταρο είναι ένα πολύπλοκο περιβάλλον, που αποτελείται από πολλά διαφορετικά συστατικά. Επειδή τα κύτταρα αποτελούνται περίπου στο 70% από νερό, η ζωή εξαρτάται κυρίως από υδατικές χημικές αντιδράσεις. Αυτές οι αντιδράσεις συμβαίνουν μεταξύ των μορίων, όπου ένα μόριο είναι ένα σύμπλεγμα από άτομα, που ενώνονται με ομοιοπολικούς δεσμούς. Το βάρος ενός μορίου είναι η μάζα του σε σχέση

με ένα άτομο υδρογόνου. Η μάζα ενός μορίου καθορίζεται στα Daltons, 1 Da είναι μία μονάδα ατομικής μάζας περίπου ίση με τη μάζα ενός ατόμου υδρογόνου.

$$\text{moles} = \text{weight} / \text{molecular weight} \text{ (μία ποσότητα)}$$

Ένα mole, 1 M, αντιστοιχεί σε $N_A = 6.022 \times 10^{23}$ μόρια μιας δεδομένης ουσίας. N_A αναφέρεται ως ο αριθμός του Avogadro. Η «καθαρότητα» ενός διαλύματος ορίζεται από μία συγκέντρωση 1 mole της ουσίας σε 1 λίτρο διαλύματος:

$$1 \text{ molar} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol/L} \text{ (μία συγκέντρωση)}$$

Αν τα μόρια είναι ομάδες ατόμων, ενωμένα από κοινού με ομοιοπολικούς δεσμούς, οι ομοιοπολικοί αυτοί δεσμοί μπορούν να σπάσουν από τις βίαιες συγκρούσεις μεταξύ των μορίων. Οι μέσες θερμικές κινήσεις δεν σπάνε αυτούς τους δεσμούς και έτσι το σπάσιμο και κατασκευή δεσμών είναι η βασική διαδικασία που καθορίζει τις συγκεντρώσεις των χημικών ειδών σε μια αντίδραση. Αυτή η διαδικασία απαιτεί ενέργεια για να λάβει χώρα και είναι πλήρως ελεγχόμενη από πολύ συγκεκριμένους καταλύτες, που ονομάζονται ένζυμα. Το πόσο γρήγορα μια αντίδραση λαμβάνει χώρα είναι ένα θέμα της κινητικής, που ορίζεται από το ρυθμό της αντίδρασης. Σε γενικές γραμμές, η ενέργεια είναι η ικανότητα ενός συστήματος να εκτελέσει μια εργασία. Ως εκ τούτου, το κατά πόσο μία αντίδραση μπορεί να προχωρήσει καθορίζεται από την *ενεργητική* του. [17]

Οι τύποι των αντιδράσεων είναι: *καταβολικές*, όπου διασπάται οργανική ύλη, για παράδειγμα για τη συγκομιδή ενέργειας στην κυτταρική αναπνοή και *βιοσυνθετικές* ή *αναβολικές* στις οποίες χρησιμοποιείται η ενέργεια για την κατασκευή συστατικών των κυττάρων όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Και τα δύο σύνολα των αντιδράσεων μαζί αποτελούν αυτό που ονομάζεται *μεταβολισμός του κυττάρου*. Μεταβολισμός είναι το σύνολο των χημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν σε ζωντανούς οργανισμούς για τη διατήρηση της ζωής. Οι διαδικασίες αυτές επιτρέπουν στους οργανισμούς να αναπτυχθούν και να αναπαραχθούν, να διατηρήσουν τις δομές τους, και να ανταποκριθούν στο περιβάλλον τους.

Μία πρωτεΐνη είναι μία αλυσίδα αμινοξέος. Ένα αμινοξύ είναι μικρό μόριο που δρα ως το δομικό στοιχείο της κάθε πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες είναι ιδιαίτερες ευέλικτες, έχοντας διάφορους ρόλους στη διατήρηση της λειτουργίας ενός κυττάρου και του οργανισμού ως σύνολο. Πολλές πρωτεΐνες λειτουργούν ως *ένζυμα* που είναι καταλύτες που ελέγχουν τις κινητικές (σπάσιμο και ένωση δεσμών) αντιδράσεις. Άλλες πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται για την κατασκευή των δομικών στοιχείων που

συνθέτουν το κύτταρο ή δρουν ως κινητήρες και παράγουν δύναμη και κίνηση. Τα ένζυμα έχουν εξαιρετικά ενδιαφέρουσες ιδιότητες που τα καθιστούν μικρές μηχανές χημικής αντίδρασης. Ο σκοπός του κάθε ενζύμου σε ένα κύτταρο είναι να επιτρέψει στο κύτταρο την εκτέλεση χημικών αντιδράσεων πολύ γρήγορα. Οι αντιδράσεις αυτές επιτρέπουν στο κύτταρο να οικοδομήσει πράγματα ή να πάρει ξεχωριστά κομμάτια όπως απαιτείται. Αυτό είναι το πώς ένα κύτταρο αναπτύσσεται και αναπαράγεται. Στο πιο βασικό επίπεδο ένα κύτταρο είναι πραγματικά μια μικρή τράπεζα γεμάτη από χημικές αντιδράσεις που γίνονται δυνατές από τα ένζυμα. Τα ένζυμα είναι κατασκευασμένα από αμινοξέα και τις πρωτεΐνες τους. Όταν ένα ένζυμο σχηματίζεται γίνεται ένα stringing μεταξύ 100 και 1000 αμινοξέων σε μια πολύ συγκεκριμένη και μοναδική σειρά. Η αλυσίδα των αμινοξέων διπλώνει στη συνέχεια σε ένα μοναδικό σχήμα. Αυτό το σχήμα επιτρέπει στο ένζυμο την εκτέλεση συγκεκριμένων χημικών αντιδράσεων (ένα ένζυμο δρα ως ένας πολύ αποτελεσματικός καταλύτης για μια συγκεκριμένη χημική αντίδραση). Το ένζυμο επιταχύνει μια αντίδραση δραματικά. [18], [19]

Αναφερόμενοι στους συνδέτες είναι μια ουσία που είναι σε θέση να δεσμεύσει και να σχηματίσει ένα σύμπλοκο με το βιομόριο για να εξυπηρετήσει ένα βιολογικό σκοπό. Είναι ένα μόριο-σήμα ενεργοποίησης που οδηγεί σε μια τοποθεσία, σε μια πρωτεΐνη-στόχο. Η σηματοδότηση υποδοχέα-συνδέτη είναι η διαδικασία όπου εξωκυτταρικά μόρια, που ονομάζονται *συνδέτες*, δεσμεύονται σε υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Εξωκυτταρικά μόρια σηματοδότησης περιλαμβάνουν ορμόνες, κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Συνήθως τα εξωκυττάρια σήματα βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, της τάξεως των 10^{-8} mol/L . Η πρόσδεση σε υποδοχείς είναι εξαιρετικά συγκεκριμένη για ειδικούς συνδέτες. Δεν είναι όλοι οι συνδέτες που δεσμεύονται με υποδοχείς που οδηγούν στην ενεργοποίηση αυτού του υποδοχέα. Οι συνδέτες που προσδένονται σε υποδοχείς και έτσι αποτρέπουν την ενεργοποίηση ονομάζονται *ανταγωνιστές*.

Τα αντισώματα είναι πρωτεΐνες που βρίσκονται στο αίμα ή άλλα σωματικά υγρά των σπονδυλωτών και χρησιμοποιούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα για να προσδιορίσουν και να εξουδετερώσουν ξένα στοιχεία, όπως τα βακτήρια και οι ιοί. Τα αντισώματα μπορεί επομένως να χρησιμοποιηθούν σε πειράματα για την επιλογή και τον ποσοτικό προσδιορισμό των πρωτεϊνών. Όταν ένα άτομο εμβολιαστεί εναντίων ενός ξένου σώματος, αυτό που προσπαθεί να καταφέρει είναι να ενεργοποιήσει το ανοσοποιητικό σύστημα ενός ατόμου. Ως εκ τούτου, δημιουργούνται αντισώματα τα οποία μπορούν να συνδεθούν με αυτό το ξένο σώμα. Η ανταπόκριση αυτή δεν οδηγεί μόνο σε μια αρχική παραγωγή αντισωμάτων αλλά επίσης οδηγεί σε περισσότερα κύτταρα τα οποία αναγνωρίζουν το

ξένο σώμα και τα οποία μπορούν να κάνουν αντισώματα εναντίον του. Μετά τον εμβολιασμό ή μια φυσική ανάκαμψη από κάποια λοίμωξη, έχουμε περισσότερα κύτταρα ειδικά σε θέση να ανταποκριθούν στο ίδιο ξένο σώμα. [20], [21]

Για παράδειγμα, ας θεωρήσουμε έναν πληθυσμό μορίων αντισωμάτων που αντιμετωπίζουν ξαφνικά έναν πληθυσμό συνδετών, οι οποίοι διαχέονται στο υγρό που τους περιβάλλει. Ο πληθυσμός των εν λόγω συγκροτημάτων αρχικά θα αυξηθεί, αλλά τελικά τα συγκροτήματα θα σπάσουν (διίστανται). Τελικά, επιτυγχάνεται μια χημική ισορροπία στην οποία ο αριθμός των γεγονότων συνδέσεως ανά δευτερόλεπτο είναι ίσος με τον αριθμό των γεγονότων διασπάσεως. Από τις συγκεντρώσεις των συνδετών και των αντισωμάτων και το συγκρότημα σε ισορροπία, μπορεί κανείς να υπολογίσει την σταθερά ισορροπίας K_{eq} της δύναμης της δέσμευσης. Η ίδια αρχή που περιγράφηκε εδώ για τα αντισώματα, ισχύει για κάθε σύνδεση των μορίων.

Τα κεφαλαία γράμματα χρησιμοποιούνται για να δείξουν μοριακά είδη. Θεωρείστε δύο πρωτεΐνες A και B, το αντίστοιχο σύμπλοκο AB που σχηματίζουν και την αντιστρεπτή αντίδραση: $A+B \rightleftharpoons (AB)$

Για τη διάσπαση η αντίδραση είναι: $(AB) \xrightarrow{k_d} A+B$ όπου ο ρυθμός διάσπασης ισούται με το γινόμενο του k_d επί τη συγκέντρωση του συμπλόκου (AB).

Για τη σύνδεση των μορίων: $A+B \xrightarrow{k_a} AB$, ο ρυθμός σύνδεσης είναι το γινόμενο των k_a , A and B.

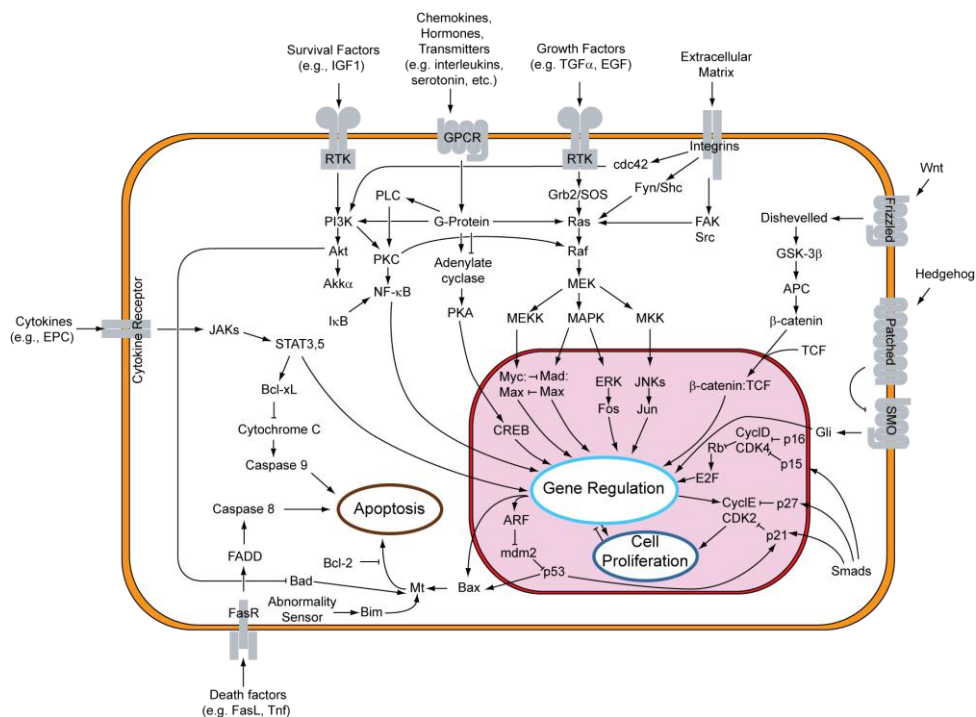
Σε ισορροπία έχουμε, $k_a A \cdot B = k_d(AB)$, το οποίο οδηγεί στον ορισμό της σταθεράς ισορροπίας $K_{eq} = \frac{(AB)}{A \cdot B} = \frac{k_a}{k_d}$.

Η σταθερά ισορροπίας έχει μονάδα μέτρησης λίτρα ανά mole. Όσο μεγαλύτερη είναι η σταθερά ισορροπίας, τόσο ισχυρότερη είναι η σύνδεση μεταξύ A και B. Σημειώνεται ότι για να είναι το σύστημα σε ισορροπία υπάρχει μια ροή μάζας ή υλικού. Στη θεωρία δυναμικών συστημάτων, μια σταθερή κατάσταση μερικές φορές αναφέρεται επίσης ως ισορροπία έτσι ώστε υπάρχει ένας κίνδυνος σύγχυσης. Για την βιοχημία ένα βιολογικό σύστημα σε ισορροπία είναι νεκρό. [22]

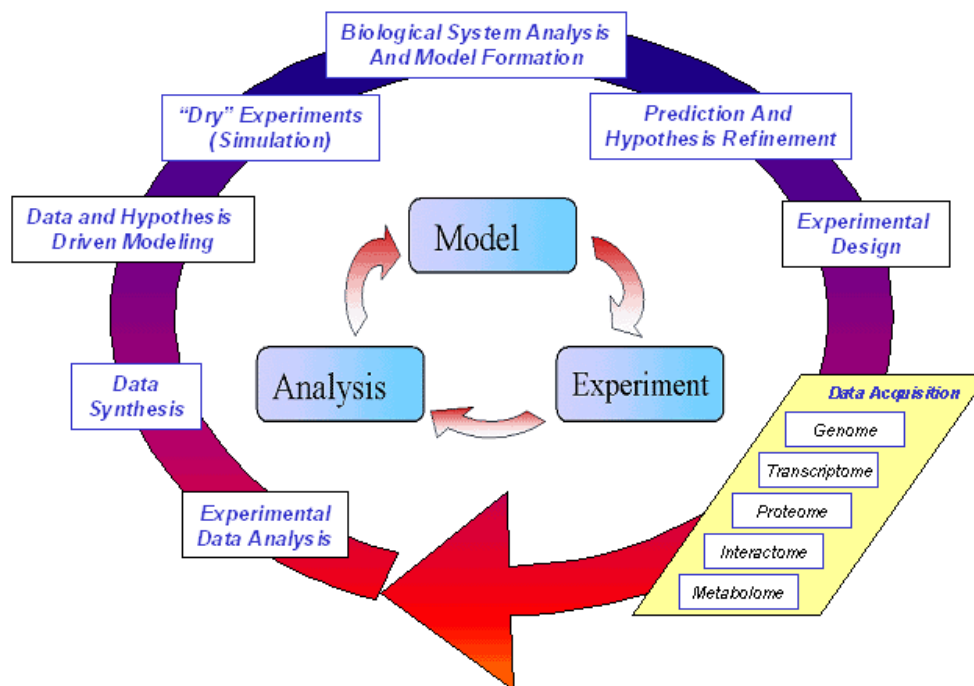
2.2.3 Κυτταρική σηματοδότηση

Για τα κύτταρα, το να συνδυαστούν σε δίκτυα που απαιτούν υψηλότερα επίπεδα οργάνωσης, συμπεριλαμβανομένων για παράδειγμα των ιστών και των οργάνων, είναι απαραίτητο να επικοινωνούν, να ανταλλάσσουν πληροφορίες. Η βάση αυτής της ενδοκυτταρικής σηματοδότησης είναι οι υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη. Η διαβίβαση εξωκυτταρικών πληροφοριών στο γονιδίωμα αναφέρεται σε ενδοκυτταρική σηματοδότηση. Δια-και ενδο-κυτταρικές πληροφορίες επηρεάζουν τη μεταγραφή των πληροφοριών από το γονιδίωμα και τη σύνθεση των πρωτεϊνών.

Η διαβίβαση των πληροφοριών πραγματοποιείται από τα δίκτυα χημικών αντιδράσεων, που ονομάζονται μονοπάτια. Τα σήματα, καθώς περνούν από αυτά τα δίκτυα, αντιλαμβάνονται αλλαγές στις συγκεντρώσεις. Η κυτταρική μεμβράνη και ο πυρήνας σε ευκαρυωτικά κύτταρα σχηματίζουν φυσικά εμπόδια. Υπάρχουν κυρίως δύο τρόποι για να ξεπεραστούν αυτά τα εμπόδια. Μέσω της ενεργού μεταφοράς των μορίων που διέρχεται από την επιφάνεια του κυττάρου (π.χ. μέσω πόρων) ή του πυρήνα, ή μέσω μεταγωγής σημάτων, δηλαδή διέγερση του υποδοχέα και φωσφορυλίωση ως μέσο για τη μετάδοση πληροφοριών χωρίς τη μετακίνηση των μορίων. Η θέση ενός μορίου σηματοδότησης εντός του κυττάρου επηρεάζει την αλληλεπίδραση με άλλες πρωτεΐνες και συνεπώς την κίνηση των μορίων σε διαφορετικές κυτταρικές περιοχές. Αυτό ονομάζεται μετατόπιση και επηρεάζει τη δυναμική μιας σηματοδοτικής οδού.

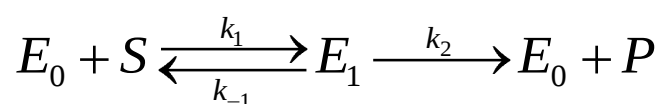


[Εικ. 2.10: Μια επισκόπηση των μονοπατιών μεταγωγής σήματος]



[Εικ. 2.11: Επανάληψη του βρόγχου μοντελοποίησης.]

Η συστημική βιολογία όπως φαίνεται απαιτεί μια επανάληψη του βρόγχου μοντελοποίησης. Το διάγραμμα δείχνει τον ρόλο της μαθηματικής μοντελοποίησης και προσομοίωσης σε έλεγχο υποθέσεων, αλλά και στη δημιουργία υποθέσεων μέσω της πρόβλεψης. Το κυρίαρχο μαθηματικό μοντέλο για τη σηματοδότηση ενδοκυτταρικών δικτύων είναι η περιγραφή τους με τη βοήθεια των συνήθων διαφορικών εξισώσεων (ODE). Ως ένα απλό παράδειγμα του τρόπου με τον οποίο ένα τέτοιο μοντέλο είναι χτισμένο, θεωρήστε τις ακόλουθες ενζυματικές αντιδράσεις:



όπου:

E_0 : η συγκέντρωση των μη απασχολημένων ενζύμων

S : η συγκέντρωση του υποστρώματος (τα μόρια που δεν αντέδρασαν)

E_1 : η συγκέντρωση των απασχολημένων ενζύμων

P : η συγκέντρωση του προϊόντος (αντιδρούντα μόρια)

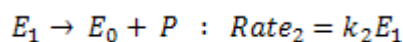
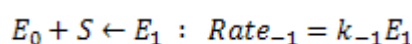
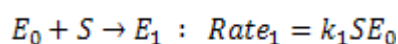
k_1 , k_{-1} , k_2 οι σταθερές ρυθμού.

Το σχήμα της αντίδρασης ονομάζεται μηχανισμός Michaelis-Menten. Η εξίσωση Michaelis-Menten είναι μια διαφορική εξίσωση που χρησιμοποιείται για να διαμορφώσει το ρυθμό με τον οποίο συμβαίνουν ενζυματικές αντιδράσεις. Αυτό το μοντέλο επιτρέπει στον επιστήμονα να

προβλέπει πόσο γρήγορα η αντίδραση θα λάβει χώρα με βάση τις συγκεντρώσεις των χημικών ουσιών που αντιδρούν. Για να διαμορφωθεί μια ενζυματική αντίδραση, πρέπει να τηρούνται ορισμένοι όροι:

- Η θερμοκρασία, η ιοντική ισχύ, το pH και άλλες φυσικές συνθήκες μπορεί να επηρεάσουν το ποσοστό που πρέπει να παραμείνει σταθερό.
- Κάθε ένζυμο μπορεί να δράσει μόνο σε ένα άλλο μόριο σε μια στιγμή.
- Το ένζυμο πρέπει να παραμένει αμετάβλητο κατά τη διάρκεια της αντίδρασης.
- Η συγκέντρωση του υποστρώματος πρέπει να είναι πολύ υψηλότερη από τη συγκέντρωση του ενζύμου.

Τα ποσοστά για αυτές τις τρεις αντιδράσεις είναι:



Η συνήθης διαφορική εξίσωση για το σύστημα αυτό δίνεται από:

$$\frac{dS}{dt} = -\text{Rate}_1 + \text{Rate}_{-1} = -k_1 S E_0 + k_{-1} E_1$$

$$\frac{dE_0}{dt} = -\text{Rate}_1 + \text{Rate}_{-1} + \text{Rate}_2 = -k_1 S E_0 + k_{-1} E_1 + k_2 E_1$$

$$\frac{dE_1}{dt} = \text{Rate}_1 - \text{Rate}_{-1} - \text{Rate}_2 = k_1 S E_0 - k_{-1} E_1 - k_2 E_1$$

$$\frac{dP}{dt} = \text{Rate}_2 = k_2 E_1$$

Οι σταθερές ρυθμού μπορεί να είναι δύσκολο, εάν όχι αδύνατο να προσδιοριστούν. Για το σκοπό αυτό, για να δούμε τη συμπεριφορά του συστήματος μπορούμε να τους δώσουμε τις τιμές $k_1=10$, $k_{-1}=1$ and $k_2=5$ με αρχικές συνθήκες $S=1.0$ and $E_0=0.08$. Με την προσθήκη εξισώσεων και να κάνοντας κάποιες αλγεβρικές πράξεις προκύπτει:

$$\frac{dS}{dt} = -k_1SE_T + (k_{-1} + k_1S)E_1$$

$$\frac{dE_1}{dt} = k_1SE_T - (k_{-1} + k_1S + k_2)E_1$$

Όσο $E_T \ll S$ μπορούμε να πούμε ότι

$$\frac{dE_1}{dt} \approx 0$$

$$\frac{dS}{dt} = -k_1SE_T + (k_{-1} + k_1S)E_1$$

$$0 \approx k_1SE_T - (k_{-1} + k_1S + k_2)E_1$$

$$E_1 = \frac{k_1SE_T}{(k_{-1} + k_2 + k_1S)}$$

Επεξεργαζόμενοι αυτές τις εξισώσεις μπορούμε να οδηγηθούμε στο ότι το Michaelis-Menten ισούται με το for $\frac{dS}{dt}$:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{V_{max}S}{K_M + S}$$

Όπου $V_{max} = k_2E_T$ και $K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$.

Αυτή η εξίσωση αντικαθιστά το σύστημα για την μοντελοποίηση της εξίσωσης του ποσοστού του υποστρώματος. Υπάρχουν μόνο δύο παράμετροι και μπορούν και οι δύο να προσδιοριστούν πειραματικά. [23], [24], [25], [26]

Κεφάλαιο 3

Το Μοντέλο Μεταγωγής Σήματος Του ΡΚC
Μονοπατιού - Προσομοίωση.

3.1 Το μοντέλο μεταγωγής σήματος του PKC μονοπατιού

3.1.1 Πρωτεΐνη Κινάση C

Η πρωτεΐνη κινάση C, επίσης γνωστή ως PKC, είναι μια οικογένεια ενζύμων πρωτεΐνης κινάσης που εμπλέκονται στον έλεγχο της λειτουργίας άλλων πρωτεϊνών μέσω της φωσφορυλίωσης ομάδων υδροξυλίου από υπολείμματα αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης σε αυτές τις πρωτεΐνες. Τα ένζυμα PKC με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από σήματα, όπως είναι αυξήσεις στη συγκέντρωση της διακυλογλυκερόλης (DAG) ή των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}). Ως εκ τούτου, τα ένζυμα PKC παίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές διαδικασίες μεταγωγής σήματος.

Η οικογένεια PKC στον ανθρώπινο οργανισμό αποτελείται από δεκαπέντε ισοένζυμα. Χωρίζονται σε τρεις υπο-οικογένειες, με βάση τις απαιτήσεις του δεύτερου αγγελιοφόρου τους: Συμβατικά (ή κλασικά), καινοφανή και άτυπα. Τα συμβατικά PKCs περιλαμβάνουν τις ισομορφές α, βI, βII και γ. Για την ενεργοποίησή τους απαιτείται Ca^{2+} , DAG και ένα φωσfolιπίδιο όπως η φωσφατιδυλοσερίνη. Τα καινοφανή PKCs περιλαμβάνουν τις δ, ε, η και θ ισομορφές, ενώ για την ενεργοποίησή τους απαιτείται DAG, αλλά όχι και Ca^{2+} . Έτσι, τα συμβατικά και τα καινοφανή PKCs ενεργοποιούνται μέσω της ίδιας οδού μεταγωγής σήματος. Από την άλλη πλευρά, τα άτυπα PKCs (συμπεριλαμβανομένης της πρωτεΐνης κινάσης Mζ και των ι/λ ισομορφών) δεν χρειάζονται ούτε Ca^{2+} ούτε διακυλογλυκερόλη για την ενεργοποίησή τους. Ο όρος "πρωτεΐνη κινάση C" αναφέρεται συνήθως σε όλη την οικογένεια των ισομορφών.

Η δομή όλων των PKCs αποτελείται από ένα ρυθμιστικό τομέα και έναν καταλυτικό τομέα που είναι δεμένοι μεταξύ τους με μια περιοχή άρθρωσης. Η καταλυτική περιοχή είναι εξαιρετικά διατηρημένη μεταξύ των διαφόρων ισομορφών, καθώς και, σε μικρότερο βαθμό, μεταξύ της καταλυτικής περιοχής άλλων κινάσων σερίνης/θρεονίνης. Οι διαφορές στις απαιτήσεις του δεύτερου αγγελιοφόρου των ισομορφών είναι αποτέλεσμα της ρυθμιστικής περιοχής και ενώ είναι παρόμοιες εντός των κλάσεων, διαφέρουν μεταξύ αυτών. Η περισσότερη από την κρυσταλλική δομή της καταλυτικής περιοχής της PKC δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί, εκτός για τις PKC θήτα και γιώτα. Λόγω όμως της ομοιότητάς της με άλλες κινάσες των οποίων η κρυσταλλική δομή έχει καθοριστεί, μπορεί να προβλεφθεί σε μεγάλο βαθμό.

Κατά την ενεργοποίηση, τα ένζυμα PKC μετατοπίζονται στη μεμβράνη του πλάσματος με τις πρωτεΐνες RACK (υποδοχέας δεσμευμένος

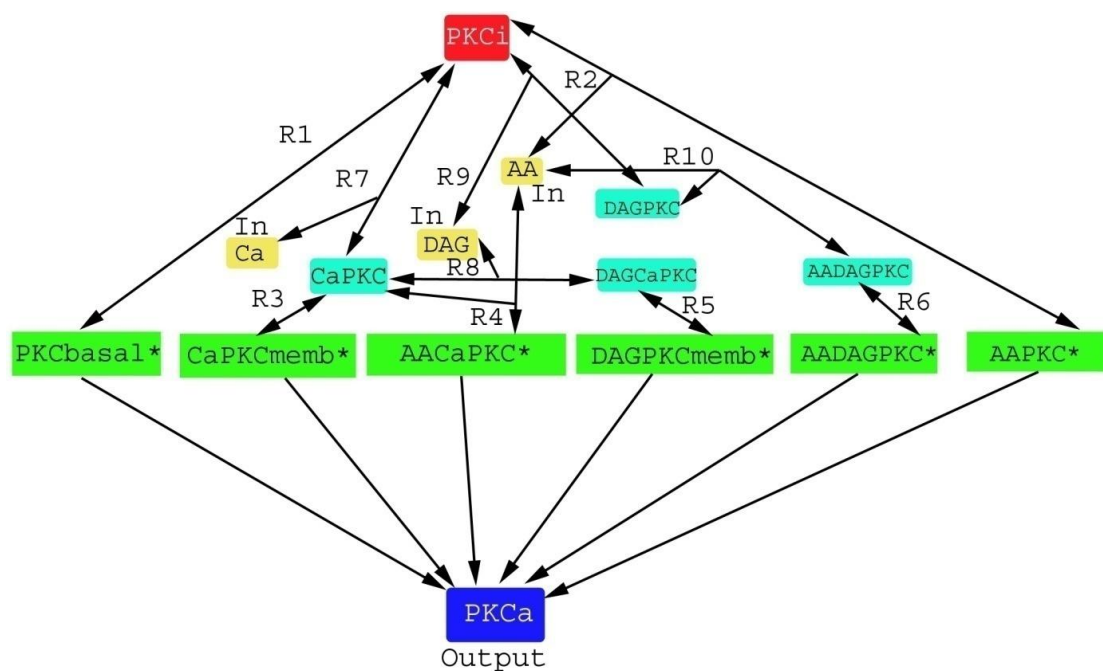
στη μεμβράνη για τις ενεργοποιημένες πρωτεΐνες PKC). Τα ένζυμα πρωτεΐνης κινάσης C είναι γνωστά για τη μακροπρόθεσμη ενεργοποίησή τους: παραμένουν ενεργοποιημένα και αφότου το αρχικό σήμα ενεργοποίησης ή το Ca^{2+} κύμα έχει φύγει. Εικάζεται ότι αυτό επιτυγχάνεται με την παραγωγή διακυλογλυκερόλης από τη φωσφατιδυλινοσιτόλη με φωσφολιπάση. Τα λιπαρά οξέα ενδέχεται επίσης να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην μακροχρόνια ενεργοποίηση.

Χαρακτηριστικό της σημασίας της πρωτεΐνης κινάσης C, είναι το ότι ενεργοποιημένη από εστέρα φορβόλης ως υποστηρικτή όγκου, μπορεί να φωσφορυλιώσει πιθανούς ενεργοποιητές αντιγραφής, και ως εκ τούτου να οδηγήσει σε αυξημένη έκφραση των ογκογονιδίων, στην προώθηση της εξέλιξης του καρκίνου ή να αναμιχθεί σε διάφορα άλλα φαινόμενα. [16]

Στη διπλωματική μας εργασία θα μελετήσουμε το μονοπάτι που αναπτύχθηκε από τους Bhalla και Iyengar [27] προκειμένου να μοντελοποιήσει το νευρώνα του ιππόκαμπου. Το μοντέλο που περιγράφει το μονοπάτι της PKC λαμβάνεται από τη βάση δεδομένων της Ποσοτικής Κυτταρικής Σηματοδότησης (Quantitative Cellular Signaling) (<http://doqcs.ncbs.res.in/>). Η βάση δεδομένων περιέχει σαφή κινητικά μοντέλα χημικών αντιδράσεων για τη σηματοδότηση μονοπατιών, συμπεριλαμβανομένων σχολίων, πληροφορίες σχετικά με τις πηγές δεδομένων και τις πηγές των παραμέτρων των μοντέλων βασισμένες σε δημοσιεύσεις.

Το μοντέλο μας αποτελείται από 15 διαφορετικά χημικά είδη. Η βάση δεδομένων περιέχει τη δομή του μοντέλου (τις αλληλεπιδράσεις που παίζουν ρόλο στη μορφοποίηση της πρωτεΐνης), τις τιμές των παραμέτρων (όπως για παράδειγμα τις διαφορές σταθερές), καθώς και τις τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού PKC γίνεται από τρεις δεύτερους αγγελιοφόρους, το αραχιδονικό οξύ (AA), τη διακυλογλυκερόλη (DAG) και ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}) που αποτελούν και τις εισόδους του συστήματός μας (όπως φαίνεται στο σχήμα 1 με κίτρινο). Αυτές οι εισοδοί χρησιμοποιούνται για να ενεργοποιήσουν και να ρυθμίζουν το σύστημα. Επίσης, στο σχήμα 1, τα είδη σε πράσινο φόντο αντιπροσωπεύουν τις υπολογιστικές ενδιάμεσους που αθροίζονται προκειμένου να μελετηθεί η συγκέντρωση της ενεργούς PKC (συμβολίζεται με μπλε χρώμα).

Προσομοιώσεις έχουν δείξει ότι το πλάτος της συγκέντρωσης της ενεργούς PKC είναι ανάλογο προς τη χρονική περίοδο του ερεθίσματος των ιόντων ασβεστίου Ca^{2+} . Επίσης, από τις προσομοιώσεις προκύπτει ότι οι δεύτεροι αγγελιοφόροι AA και DAG παίζουν επίσης ρόλο στη συγκέντρωση της ενεργούς PKC. Στη διπλωματική μας εργασία θα χρησιμοποιήσουμε το περιβάλλον προσομοίωσης Simulink της Matlab.



[Εικ. 3.1: Γραφική αναπαράσταση του PKC μοντέλου σύμφωνα με DOQCS. [27],[28],[29]]

Όπως βλέπουμε στο σχήμα 1 έχουμε δεκαπέντε διαφορετικά χημικά είδη που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους ως εξής:

- R1: η βασική δραστηριότητα της PKC, μετατρέπει την πρωτεΐνη Κινάση C (ανενεργή) σε πρωτεΐνη κινάση C (βασικό επίπεδο, ενδιάμεση) για να καταλήξει στην πρωτεΐνη κινάση C (ενεργή)
- R2: η ενεργοποίηση της PKC από AA (αραχιδονικό οξύ) που έχει ως ενδιάμεσο προϊόν την AAPKC* (αραχιδονικό οξύ πρωτεΐνης κινάσης C), η οποία είναι δεσμευμένη στη μεμβράνη και η ενεργή μορφή του AAPKC συμπλέγματος
- R3: η μετατόπιση της PKC σε μεμβράνη. Η CaPKC (ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C) έχει ως ενδιάμεσο προϊόν τη CaPKCmemb* (ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C, επί μεμβράνης, ενδιάμεση), η οποία τελικά μετατρέπεται σε πρωτεΐνη κινάση C (ενεργή)
- R4: η ενεργοποίηση της PKC από AA παρουσία Ca και ως ενδιάμεσο προϊόν έχουμε τη δημιουργία της AACaPKC (αραχιδονικό οξύ - ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C)
- R5: η ενεργοποίηση της DAGCaPKC (διακυλογλυκερόλη - ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C) με τη δημιουργία του ενδιάμεσου προϊόντος

DAGPKCmemb* (διακυλογλυκερόλη - πρωτεΐνη κινάση C, επί μεμβράνης)

- R6: η ενεργοποίηση της AADAGPKC (αραχιδονικό οξύ - διακυλογλυκερόλη - πρωτεΐνη κινάση C)
- R7: η ενεργοποίηση της PKC από ιόντα ασβεστίου που οδηγεί στη δημιουργία της CaPKC (ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C) - Συνεργική ενεργοποίηση της PKC με συνδυασμούς DAG και Ca, καθώς και AA και Ca
- R8: η ενεργοποίηση της PKC από διακυλογλυκερόλη παρουσία ιόντων ασβεστίου που οδηγεί στη δημιουργία της DAGCaPKC (διακυλογλυκερόλη - ασβέστιο - πρωτεΐνη κινάση C) - Συνεργική ενεργοποίηση της PKC με συνδυασμούς DAG και Ca, καθώς και AA και Ca και Ca
- R9: η ενεργοποίηση της PKC από διακυλογλυκερόλη
- R10: η συνεργική ενεργοποίηση της PKC από διακυλογλυκερόλη και αραχιδονικό οξύ (μετατοπίζεται σε μεμβρανική μορφή του AADAGPKC συμπλέγματος)

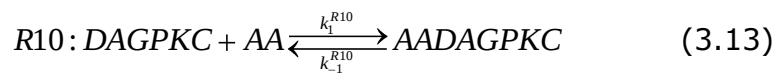
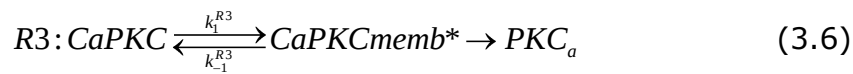
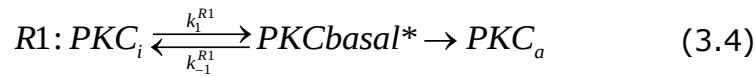
3.1.2 Βιοχημικές αντιδράσεις και κινητική στο PKC μονοπάτι

Οι αντιδράσεις που παρουσιάζουμε στον πίνακα 2 προκύπτουν από την κινητική των βιοχημικών αντιδράσεων, την οποία περιγράψαμε αναλυτικά στο κεφάλαιο 2 και βασίζεται στο νόμο δράσης των μαζών. Μια βιοχημική αντίδραση με αντιδρόντα τα A και B και προϊόν το C, περιγράφεται ως εξής: $A + B \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} C$ (3.1), όπου k_1 είναι η προς τα εμπρός και k_{-1} η προς τα πίσω σταθερά ρυθμού.

Η συνάρτηση $u = \frac{d[C]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B] - k_{-1}[C]$ (3.2), είναι μια συνηθισμένη διαφορική αναπαράσταση της εξίσωσης (3.1), όπου u είναι η ταχύτητα της αντίδρασης και [A], [B] και [C] οι συγκεντρώσεις των χημικών ειδών A, B και C (μεταβλητές στις προσομοιώσεις). Στην περίπτωση ενός συστήματος διαφορικών εξισώσεων, η διαφορική εξίσωση για όλα τα είδη μπορεί να γραφτεί στην εξής μορφή: $\frac{d[C]}{dt} = \sum_{i \in I_{in}} u_{R_i} - \sum_{i \in I_o} u_{R_i}$ (3.3), όπου I_{in} είναι το σύνολο των δεικτών της

αντίδρασης που οδηγούν στο είδος C και το I_o είναι το σύνολο των δεικτών της αντίδρασης που οδηγούνται έξω από το είδος C. Το u_{Ri} είναι ο ρυθμός αντίδρασης για την αντίδραση R_i .

Οι αντιδράσεις του Σχήματος 1 περιγράφονται με τη μορφή $A + B \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} C$ ως εξής:



Και έτσι, χρησιμοποιώντας τη συνήθη μορφή διαφορικής εξίσωσης που έχουμε για τις προηγούμενες εξισώσεις παίρνουμε:

$$U_{R1} = \frac{d[PKC_{basal*}]R1}{dt} = -\frac{d[PKC_i]R1}{dt} = k_1^{R1}[PKC_i] - k_{-1}^{R1}[PKC_{basal*}] \quad (3.14)$$

$$\begin{aligned} U_{R2} &= \frac{d[AAPKC*]R2}{dt} = -\frac{d[PKC_i]R2}{dt} = -\frac{d[AA]R2}{dt} = \\ &= k_1^{R2}[PKC_i][AA] - k_{-1}^{R2}[AAPKC*] \end{aligned} \quad (3.15)$$

$$\begin{aligned} U_{R3} &= \frac{d[CaPKC_{memb*}]R3}{dt} = -\frac{d[CaPKC]R3}{dt} = \\ &= k_1^{R3}[CaPKC][AA] - k_{-1}^{R3}[CaPKC_{memb*}] \end{aligned} \quad (3.16)$$

$$\begin{aligned} U_{R4} &= \frac{d[AACaPKC*]R4}{dt} = -\frac{d[CaPKC]R4}{dt} = -\frac{d[AA]R4}{dt} = \\ &= k_1^{R4}[CaPKC][AA] - k_{-1}^{R4}[AACaPKC*] \end{aligned} \quad (3.17)$$

$$\begin{aligned} U_{R5} &= \frac{d[DAGPKC_{memb*}]R5}{dt} = -\frac{d[DAGCaPKC]R5}{dt} = \\ &= k_1^{R5}[DAGCaPKC] - k_{-1}^{R5}[DAGPKC_{memb*}] \end{aligned} \quad (3.18)$$

$$\begin{aligned} U_{R6} &= \frac{d[AADAGPKC*]R6}{dt} = -\frac{d[AADAGPKC]R6}{dt} = \\ &= k_1^{R6}[AADAGPKC] - k_{-1}^{R6}[AADAGPKC*] \end{aligned} \quad (3.19)$$

$$\begin{aligned} U_{R7} &= \frac{d[CaPKC]R7}{dt} = -\frac{d[PKC_i]R7}{dt} = -\frac{d[Ca^{2+}]R7}{dt} = \\ &= k_1^{R7}[PKC_i] - k_{-1}^{R7}[CaPKC] \end{aligned} \quad (3.20)$$

$$\begin{aligned} U_{R8} &= \frac{d[DAGCaPKC]R8}{dt} = -\frac{d[CaPKC]R8}{dt} = -\frac{d[DAG]R8}{dt} = \\ &= k_1^{R8}[CaPKC][DAG] - k_{-1}^{R8}[DAGCaPKC] \end{aligned} \quad (3.21)$$

$$\begin{aligned} U_{R9} &= \frac{d[DAGPKC]R9}{dt} = -\frac{d[PKC_i]R9}{dt} = -\frac{d[DAG]R9}{dt} = \\ &= k_1^{R9}[PKC_i][DAG] - k_{-1}^{R9}[DAGPKC] \end{aligned} \quad (3.22)$$

$$\begin{aligned} U_{R10} &= \frac{d[AADAGPKC]R10}{dt} = -\frac{d[DAGPKC]R10}{dt} = -\frac{d[AA]R10}{dt} = \\ &= k_1^{R10}[DAGPKC][AA] - k_{-1}^{R10}[AADAGPKC] \end{aligned} \quad (3.23)$$

Προσθέτοντας τις συγκεντρώσεις των ενδιάμεσων ειδών υπολογίζουμε τη συγκέντρωση της ενεργούς PKC:

$$[PKCa] = [PKC_{\text{basal}}^*] + [AAPKC^*] + [CaPKC_{\text{memb}}^*] + [AACaPKC^*] + [DAGPKC_{\text{memb}}^*] + [AADAGPKC^*] \quad (3.24)$$

Έτσι, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τις εξισώσεις 3.14-3.24 για την υλοποίηση του PKC μονοπατιού στο Simulink της Matlab. Το σύστημα μας περιέχει διαφορικές εξισώσεις για 11 είδη:

- $u_{R1} \text{ για } \frac{d[PKC_{\text{basal}}^*]}{dt},$
- $u_{R2} \text{ για } \frac{d[AAPKC^*]}{dt},$
- $u_{R3} \text{ για } \frac{d[CaPKC_{\text{memb}}^*]}{dt},$
- $u_{R4} \text{ για } \frac{d[AACaPKC^*]}{dt},$
- $u_{R5} \text{ για } \frac{d[DAGPKC_{\text{memb}}^*]}{dt},$
- $u_{R6} \text{ για } \frac{d[AADAGPKC^*]}{dt},$
- $-u_{R1}-u_{R2}-u_{R7}-u_{R9} \text{ για } \frac{d[PKCi]}{dt},$
- $u_{R7}-u_{R3}-u_{R4}-u_{R8} \text{ για } \frac{d[CaPKC]}{dt},$
- $u_{R9}-u_{R10} \text{ για } \frac{d[DAGPKC]}{dt},$
- $u_{R8}-u_{R5} \text{ για } \frac{d[DAGCaPKC]}{dt},$
- $u_{R10}-u_{R6} \text{ για } \frac{d[AADAGPKC]}{dt},$

Χρησιμοποιώντας αυτές τις εξισώσεις προχωράμε στην προσομοίωση της συμπεριφοράς του μονοπατιού μας.

3.2 Προσομοίωση του PKC μονοπατιού

Για τη μελέτη της συμπεριφοράς του μονοπατιού της πρωτεΐνης κινάσης C χρησιμοποιήσαμε το εργαλείο προσομοίωσης Simulink της MATLAB. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού PKC γίνεται από τις τρεις εισόδους, το αραχιδονικό οξύ (AA), τη διακυλογλυκερόλη (DAG) και ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}). Για την προσομοίωσή μας, οι αρχικές συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών του μονοπατιού της PKC διατηρούνται σταθερές και λαμβάνονται από τη βάση δεδομένων Quantitative Cellular Signaling (<http://doqcs.ncbs.res.in/>). Από την ίδια βάση δεδομένων χρησιμοποιήσαμε και τις τιμές των σταθερών ρυθμού των αντιδράσεών μας. [28]

Οι τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών, καθώς και των σταθερών ρυθμού των αντιδράσεων παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες:

Species	Initial Concentration
AA	$5 \cdot 10^{-5}$
AACaPKC*	1.75810^{-22}
AADAGPKC	2.5188810^{-25}
AADAGPKC*	$4.9137 \cdot 10^{-24}$
AAPKC*	$1.8133 \cdot 10^{-23}$
Ca	$1 \cdot 10^{-6}$
CaPKC	$3.7208 \cdot 10^{-23}$
CaPKCmemb*	$1.3896 \cdot 10^{-23}$
DAG	$1.5 \cdot 10^{-4}$
DAGCaPKC	$8.4632 \cdot 10^{-29}$
DAGPKC	$1.161 \cdot 10^{-22}$
DAGPKCmemb*	$9.4352 \cdot 10^{-27}$
PKC _a	$2.122 \cdot 10^{-22}$
PKC _i	$1 \cdot 10^{-6}$
PKCbasal*	$2 \cdot 10^{-8}$

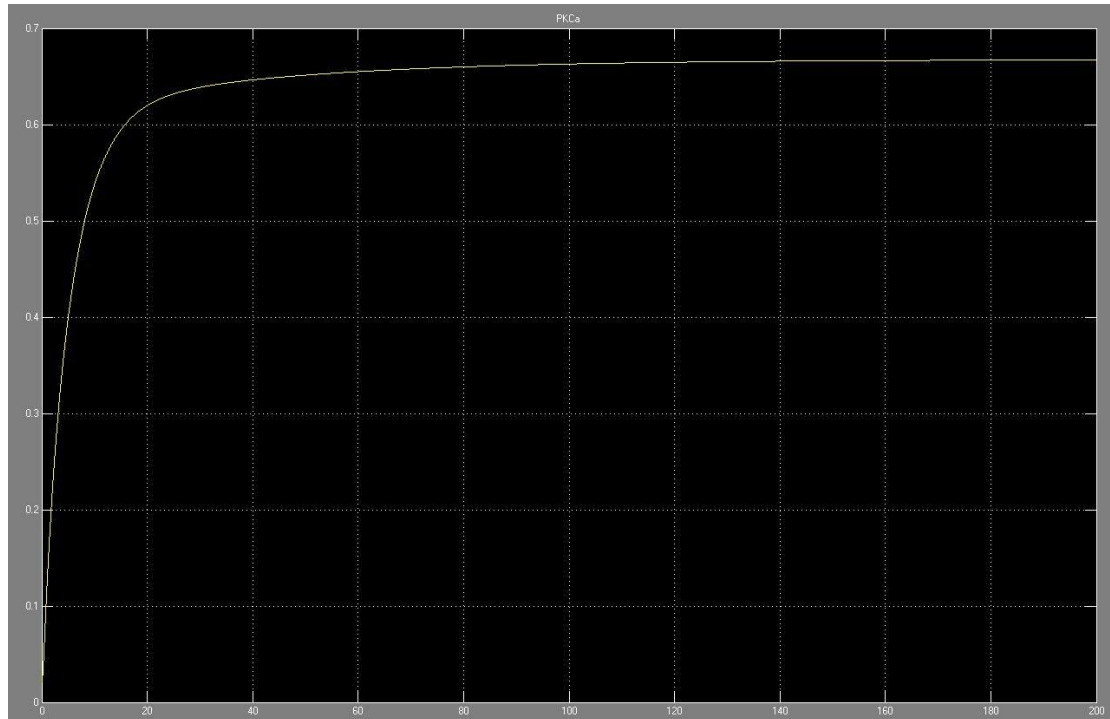
REACTION	k_1	k_{-1}
R1	$1 \frac{1}{s}$	$50 \frac{1}{s}$
R2	$120 \frac{1}{Ms}$	$0.1 \frac{1}{s}$
R3	$1.2705 \frac{1}{s}$	$3.5026 \frac{1}{s}$
R4	$1200 \frac{1}{Ms}$	$0.1 \frac{1}{s}$
R5	$1 \frac{1}{s}$	$0.1 \frac{1}{s}$
R6	$2 \frac{1}{s}$	$0.2 \frac{1}{s}$
R7	$6 * 10^5 \frac{1}{Ms}$	$0.5 \frac{1}{s}$
R8	$7999.8 \frac{1}{Ms}$	$8.6348 \frac{1}{s}$
R9	$600 \frac{1}{Ms}$	$0.1 \frac{1}{s}$
R10	$1.8 * 10^4 \frac{1}{Ms}$	$2 \frac{1}{s}$

Στις γραφικές που ακολουθούν παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα της προσομοίωσης ενδεικτικά για ορισμένες από τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στο PKC μονοπάτι. Αρχικά, για την ενεργή PKC, της οποίας η συγκέντρωση προκύπτει από την εξίσωση:

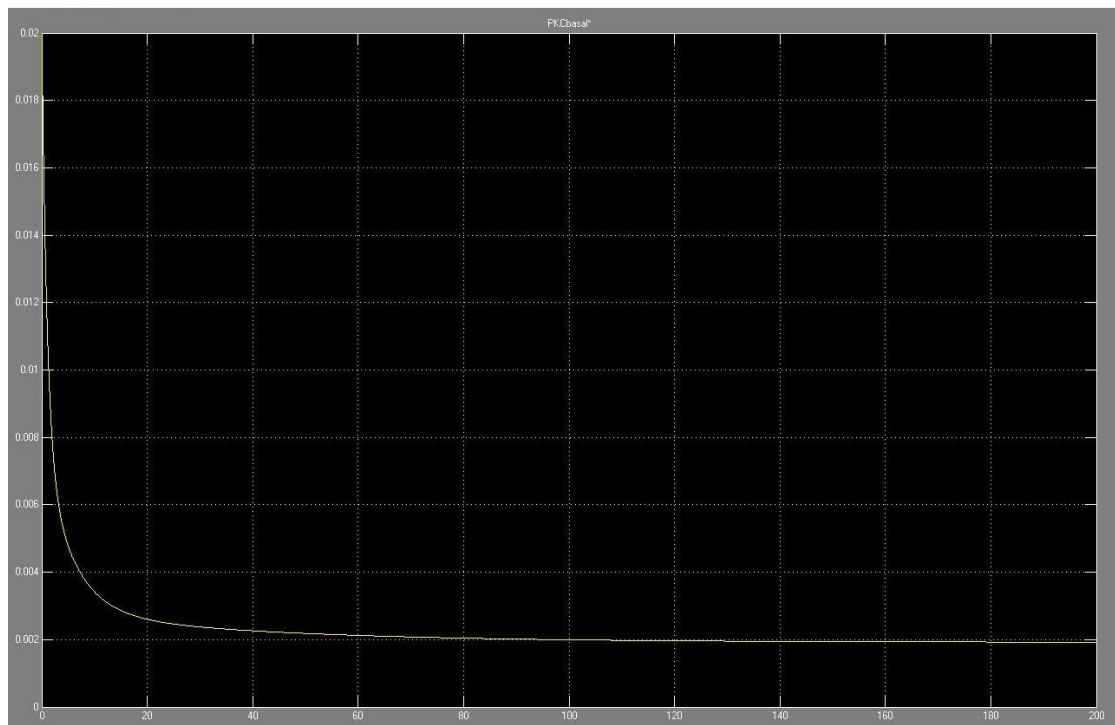
$$[PKCa] = [PKC_{\text{basal}}^*] + [AAPKC^*] + [CaPKC_{\text{memb}}^*] + [AACaPKC^*] + [DAGPKC_{\text{memb}}^*] + [AADAGPKC^*]$$

Είναι επίσης ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε και άλλες πρωτεΐνες του μονοπατιού και τη συμπεριφορά των συγκεντρώσεών τους κατά την προσομοίωση του φαινομένου. Έτσι, παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα της προσομοίωσης και για τις PKC_{basal}*, AAPKC*, DAGPKC και DAGCaPKC. Είναι προφανές ότι μετά από ένα σύντομο χρονικό διάστημα οι συγκεντρώσεις φθάνουν σε μία σταθερή τιμή και ότι ο χρόνος που

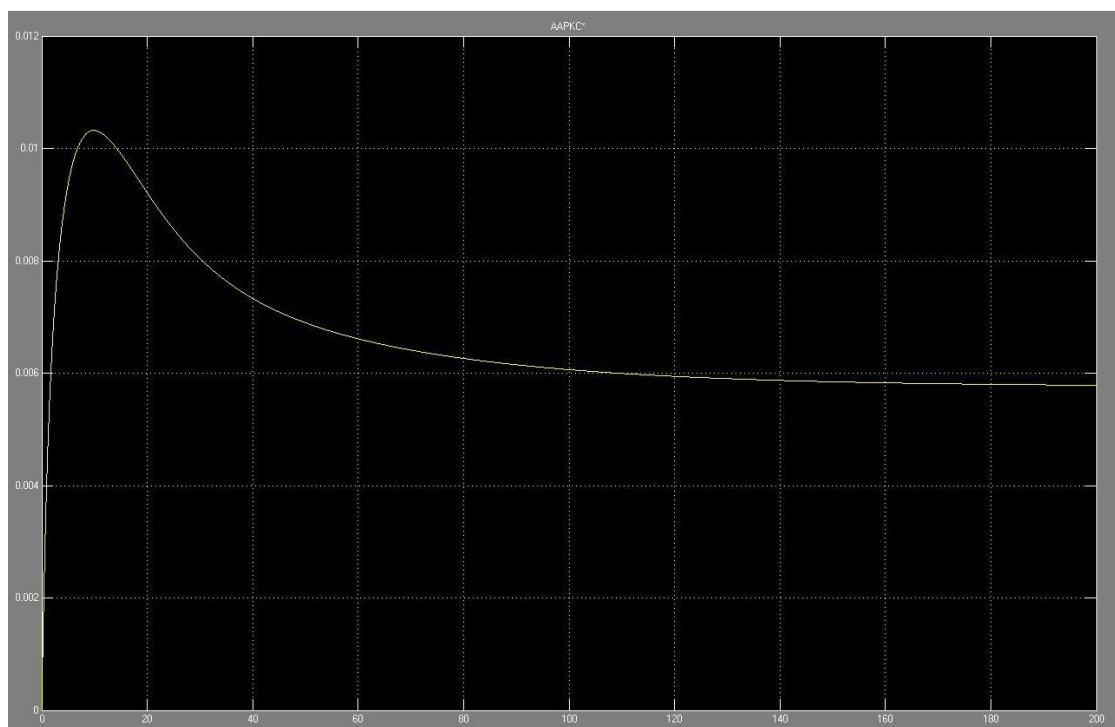
χρειάζεται για να συμβεί αυτό διαφέρει για κάθε πρωτεΐνη, έστω και για λίγο. Αυτό, θα φανεί χρήσιμο στη συνέχεια της εργασίας μας, όταν και θα προχωρήσουμε στην αναγνώριση της συμπεριφοράς των πρωτεϊνών, δίνοντάς μας τη δυνατότητα να ελέγξουμε καλύτερα και σε ποικιλία περιπτώσεων τις δυνατότητες του ασυμπτωτικού παρατηρητή που θα χρησιμοποιήσουμε.



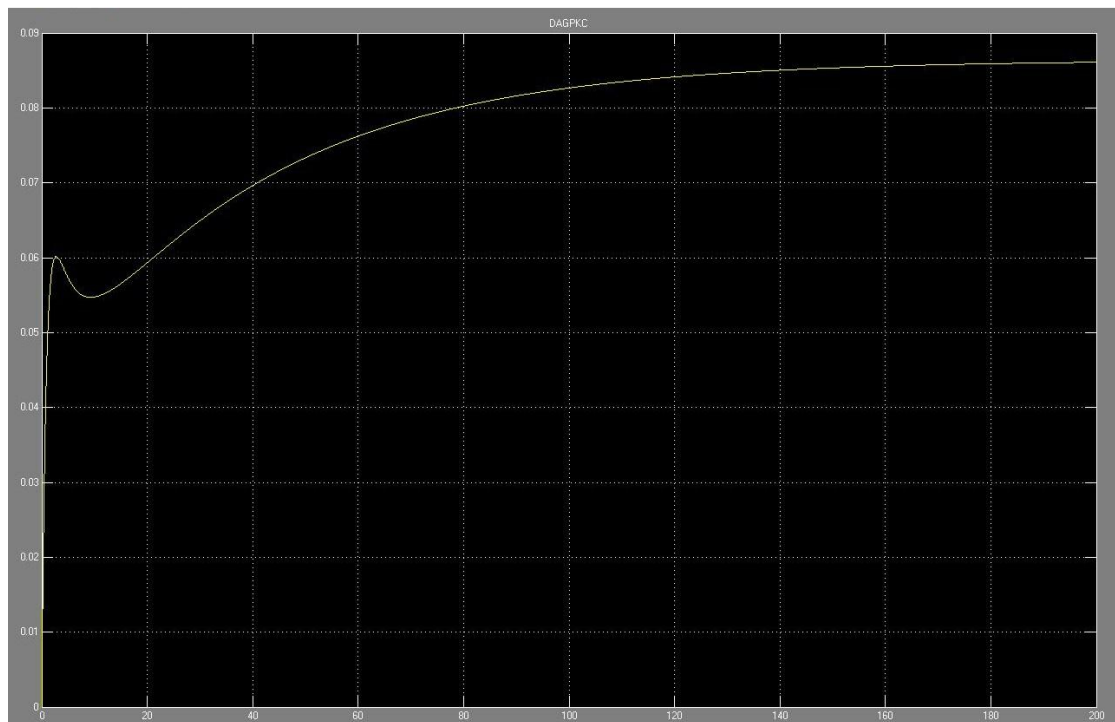
[Εικ.3.2: Χρονική απόκριση της συγκέντρωσης της PKCa]



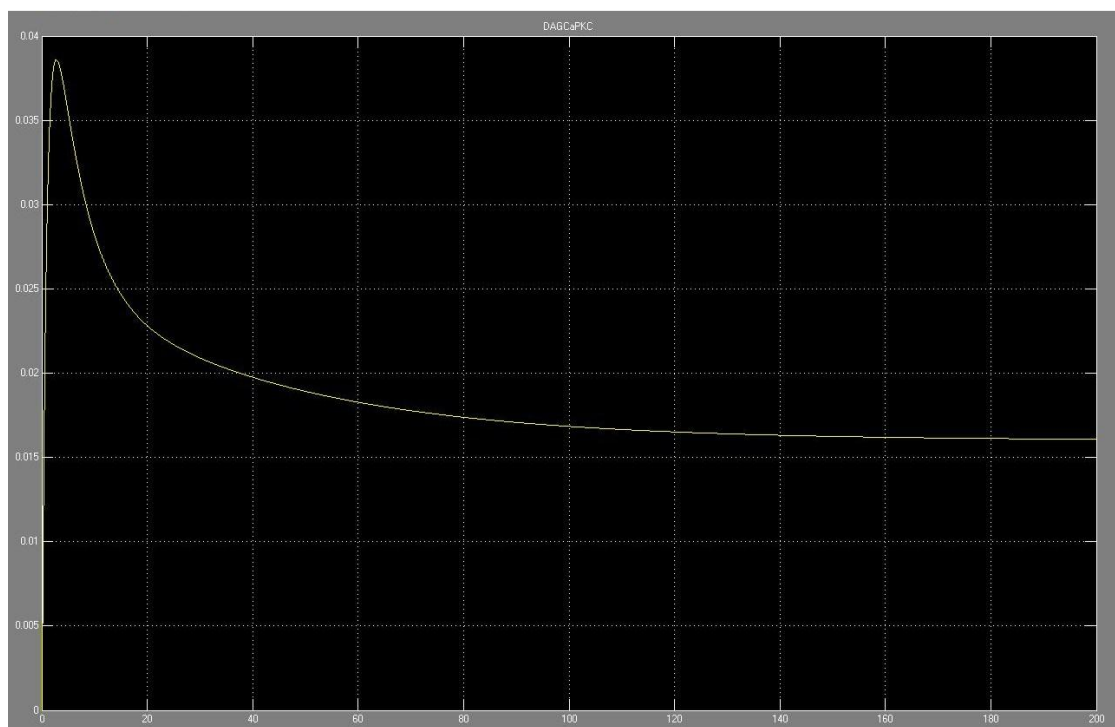
[Εικ.3.3: Χρονική απόκριση της συγκέντρωσης της PKCbasal*]



[Εικ.3.4: Χρονική απόκριση της συγκέντρωσης της AAPKC*]



[Εικ.3.5: Χρονική απόκριση της συγκέντρωσης της DAGPKC]



[Εικ. 3.6: Χρονική απόκριση της συγκέντρωσης της DAGCaPKC]

Κεφάλαιο 4

Νευρωνικά Δίκτυα Και Μοντέλο Παρατηρητή
RISE (**ROBUST INTEGRAL OF THE SIGN
ERROR**).

4.1 Νευρωνικά δίκτυα

4.1.1 Εισαγωγή

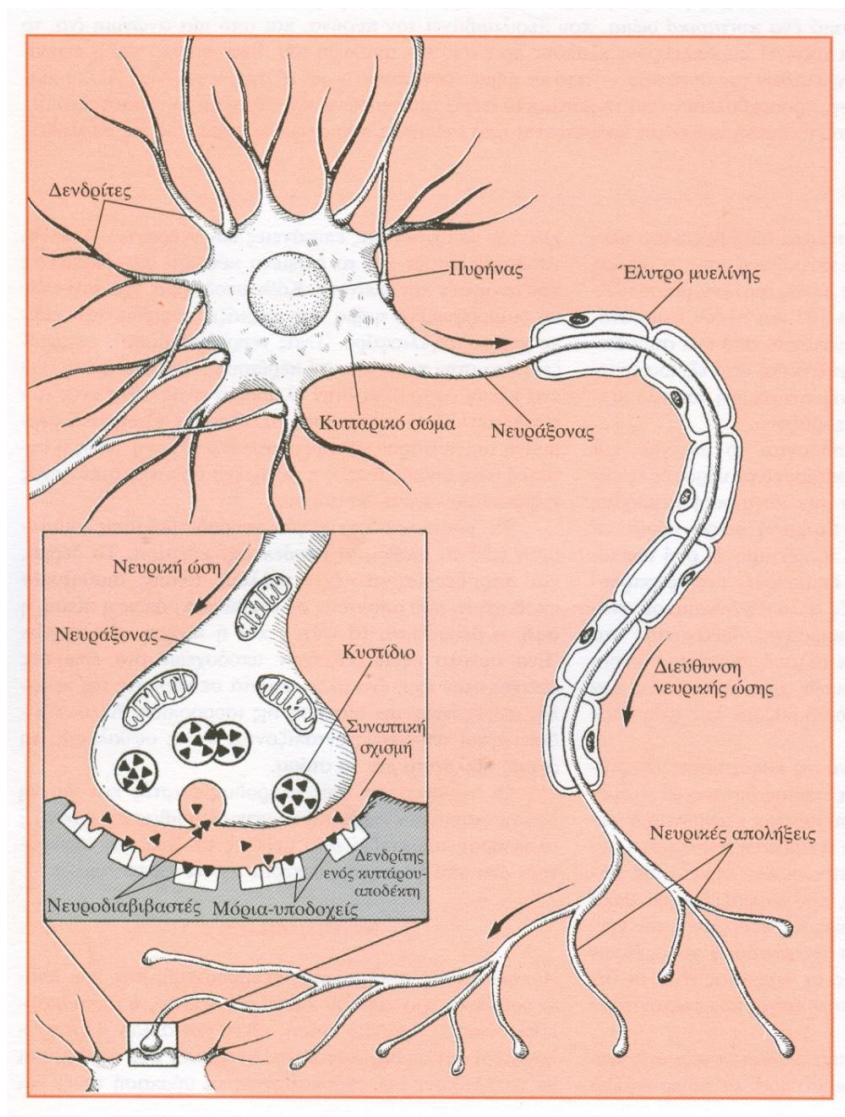
Τα νευρωνικά δίκτυα είναι ευέλικτα στατιστικά μοντέλα τα οποία λειτουργούν ανάλογα με τη δομή του ανθρώπινου εγκεφάλου. Θεωρούνται ευέλικτα επειδή μπορούν να εκπαιδευτούν για να υπολογίζουν κατά προσέγγιση, τις παραμέτρους κάποιων πληθυσμών, χρησιμοποιώντας ένα μικρό αριθμό δειγμάτων τους σε αλληλουχία. Τα συνηθισμένα στατιστικά μοντέλα συνήθως δεν τους προκαλούν μεταβολές. Παραδείγματος χάριν, μπορούμε να ανακαλύψουμε αρχιτεκτονικές νευρωνικών δικτύων που σχετίζονται με την διακριτή ανάλυση, την ανάλυση κύριων συνιστωσών, την λογιστική παλινδρόμηση και άλλες τεχνικές. Στην πράξη τα νευρωνικά δίκτυα τα οποία χρησιμοποιούνται ως στατιστικά βοηθήματα σε ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών κλάδων όπως η ψυχολογία, η στατιστική, η μηχανική, η οικονομετρία ή ακόμα και η εφαρμοσμένη φυσική, είναι χρήσιμα για την εξέταση των προτύπων στατιστικών μοντέλων. Στο παρελθόν ο όρος «νευρωνικό δίκτυο» εννοούσε ένα δίκτυο ή κύκλωμα βιολογικών νευρώνων, ενώ η σύγχρονη χρήση του όρου σχετίζεται με τεχνητά νευρωνικά δίκτυα τα οποία υλοποιούνται με τεχνητούς νευρώνες ή κόμβους. [30]

Το 1943 οι McCulloch και Pitts εισήγαγαν μια σειρά απλοποιημένων νευρώνων οι οποίοι αναπαραστάθηκαν σαν μοντέλα βιολογικών δικτύων σε εννοιολογικά στοιχεία για κυκλώματα, που μπορούσαν να εκτελέσουν υπολογιστικές εργασίες. Το βασικό μοντέλο του τεχνητού νευρώνα στηρίζεται πάνω στις λειτουργίες των βιολογικών νευρώνων. Οι νευρώνες είναι οι βασικές μονάδες σηματοδότησης του νευρικού συστήματος ενός ζωντανού οργανισμού στον οποίο κάθε νευρώνας είναι ένα μοναδικό κύτταρο, του οποίου αρκετές διεργασίες γίνονται μέσα στο κύτταρο αυτό. Οι νευρώνες αποτελούνται από:

- Το [Σώμα](#), το μεγαλύτερο κεντρικό τμήμα του κυττάρου μεταξύ των δενδριτών και του νευράξονα και περιλαμβάνει το πυρήνα του κυττάρου.
- Τον [Νευράξονα](#), που ονομάζεται και νευρίτης, μια λεπτή ίνα που μπορεί να είναι μέχρι και δεκάδες χιλιάδες φορές μεγαλύτερη σε μήκος από τη διάμετρο του σώματος. Αυτή η δομή μεταφέρει τα νευρικά σήματα από τον νευρώνα. Κάθε νευρώνας διαθέτει μόνο ένα άξονα, αλλά αυτός ο άξονας μπορεί να διακλαδίζεται έντονα, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται η επικοινωνία με πολλά κύτταρα-στόχους. Εκεί που τελειώνει ο άξονας υπάρχουν σημαντικά στοιχεία τα τελικά κομμάτια που χρειάζονται για την μεταφορά των πληροφοριών προς άλλους δενδρίτες άλλων νευρώνων.

- Τους δενδρίτες, σχετικά κοντές διακλαδιζόμενες κυτταρικές προεξοχές ή αποφυάδες.

Ο κάθε νευρώνας έχει πολλούς δενδρίτες με πολλές διακλαδώσεις. Αυτές οι δομές αποτελούν το δίκτυο με το οποίο ο νευρώνας προσλαμβάνει σήματα από άλλα κύτταρα. Τα κύματα αυτά φτάνουν στους δενδρίτες του κάθε νευρικού κυττάρου από νευρίτες (έναν ή περισσότερους) άλλων νευρικών κυττάρων. Με τον τρόπο αυτό συνδέονται, διακλαδίζονται και συνεργάζονται μεταξύ τους τα νευρικά κύτταρα, κατά ομάδες, για να επιτελέσουν το σκοπό για τον οποίο κατασκευάστηκαν, τη διάδοση των ερεθισμάτων από την περιφέρεια προς το κέντρο (εγκέφαλο) και το αντίστροφο. Στην άκρη των δενδριτών βρίσκονται τα προσυναπτικά κομβία και οι συνάψεις και από εκεί το κύτταρο λαμβάνει ή μεταδίδει τα σήματα. [31]



[Εικ. 4.1: Νευρώνας και τα μέρη του]

Ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο είναι ένα σύστημα που βασίζεται στη λειτουργία των βιολογικών νευρωνικών δικτύων. Θα μπορούσε να αποτελέσει μια προσομοίωση του βιολογικού νευρικού συστήματος. Τα τεχνητά νευρωνικά συστήματα μπορούν να εκτελέσουν μεταξύ άλλων, μη γραμμικές προσεγγιστικές συναρτήσεις, ταξινόμηση δεδομένων, ομαδοποίηση και μη παραμετρική παλινδρόμηση ή και μοντέλα προσομοιώσεων της συμπεριφοράς ομάδας βιολογικών νευρώνων. Τα τελευταία δεν μπορούν να αποτελέσουν ακριβείς πραγματικές προσομοιώσεις νευρώνων γιατί δεν προσομοιώνουν την βιολογία, την χημική σύσταση ή τις φυσικές ιδιότητες ενός πραγματικού νευρώνα. Όμως μπορούν να προσομοιώσουν πολλές πτυχές της πληροφορίας συνδυάζοντας την αναγνώριση προτύπων των πραγματικών νευρώνων με ουσιαστικό τρόπο. Τα νευρωνικά μοντέλα είναι κατάλληλα για εξομοίωση, ανάλυση, πρόβλεψη και συσχέτιση. Οι κύριες εφαρμογές των τεχνητών νευρωνικών δικτύων τα καθιστούν χρήσιμα σε όλους τους επιστημονικούς τομείς όπως για παράδειγμα να βρίσκουν μοτίβα δεδομένων με την απομνημόνευση χαρακτηριστικών και γνωρισμάτων των γνωστών δεδομένων και να κάνουν συσχετισμούς μεταξύ παλιών και νέων δεδομένων ή να μαθαίνουν και να αναπαράγουν κανόνες ή λειτουργίες από δοθέντα παραδείγματα. [32]

4.1.2 Γενικές χρήσεις νευρωνικών δικτύων

Τα μοντέλα τεχνητών νευρωνικών δικτύων μπορούν μέσω παρατηρήσεων να χρησιμοποιηθούν για την υλοποίηση διαφόρων συναρτήσεων. Αυτό έχει μεγάλη χρησιμότητα ιδιαίτερα σε εφαρμογές που οι συναρτήσεις δεν μπορούν να υλοποιηθούν χειρονακτικά λόγω της πολυπλοκότητας των δεδομένων ή των διεργασιών. Παρακάτω παρατίθενται μερικά παραδείγματα πρακτικών προβλημάτων στα όποια η ανάλυση με νευρωνικά δίκτυα έχει εφαρμοστεί με επιτυχία:

- Την οικονομική πρόβλεψη για χρηματιστήρια και για την εκτίμηση ακινήτων. Τα νευρωνικά δίκτυα μπορούν να εξετάσουν και να ταξινομήσουν ταυτόχρονα πολλαπλές πληροφορίες και έτσι χρησιμοποιούνται από πολλούς αναλυτές για να προβλέψουν τις επερχόμενες τιμές μετοχών ή ακινήτων οι οποίες βασίζονται σε διάφορους παράγοντες (π.χ. παλαιότερες αξίες των μετοχών, αντικειμενικές αξίες των ακινήτων, επιρροή διαφόρων οικονομικών δεικτών κλπ)
- Στην ανίχνευση και αξιολόγηση ιατρικών φαινομένων, ιατρική διάγνωση και κόστος και θεραπείας. Νευρωνικά δίκτυα χρησιμοποιούνται για να αναγνωρίζουν πρότυπα πρόβλεψης έτσι ώστε να βοηθούν στην κατάλληλη συνταγογράφηση.

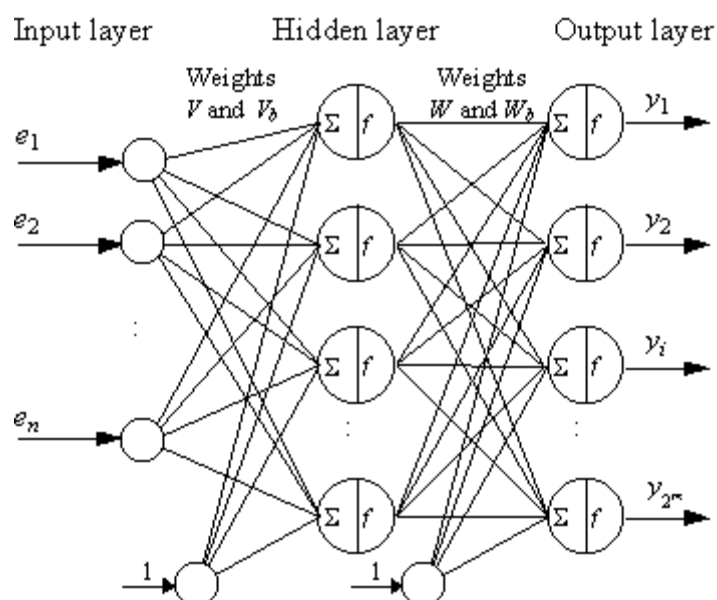
- Στα συστήματα διαχείρισης κινητήρων για την πρόβλεψη των αναγκών σε ενέργεια και των δυναμικών συστημάτων έλεγχου. Τα νευρωνικά δίκτυα ελέγχουν τις διάφορες παραμέτρους μέσω των οποίων λειτουργεί ο κινητήρας προκειμένου να επιτευχθεί ένας συγκεκριμένος στόχος όπως για παράδειγμα η ελαχιστοποίηση της κατανάλωσης καυσίμου.
- Στην πιστοληπτική ικανότητα. Μπορούν να αποφασίσουν κατά πόσο ο αιτών για ένα δάνειο επιφέρει ρίσκο ή όχι. Μετά από εκπαίδευση των νευρωνικών δικτύων σε ιστορικά στοιχεία, η ανάλυση που εξάγουν μπορεί να αναγνωρίσει τα πιο χρήσιμα και σχετικά χαρακτηριστικά και να τα χρησιμοποιήσει για να ταξινομήσει τους υποψηφίους σαν καλό ή κακό πιστωτικό ρίσκο.
- Στην παρακολούθηση της κατάστασης μηχανημάτων και στη λήψη αποφάσεων, όπου η βέλτιστη απόφαση παίρνεται χρησιμοποιώντας τις δυνατότητες ταξινόμησης που παρέχουν τα νευρωνικά δίκτυα. Τα νευρωνικά δίκτυα μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του κόστους συντήρησης προσθέτοντας εμπειρογνωμοσύνη στον προγραμματισμό για προληπτική συντήρηση των μηχανημάτων. Τα νευρωνικά δίκτυα μπορούν να εκπαιδευτούν για να διακρίνουν τους ήχους που εκπέμπουν τα μηχανήματα όταν δουλεύουν κανονικά ή όταν υπολειτουργούν. [33]

4.1.3 Το βασικό τεχνητό μοντέλο

Ένας τεχνητός νευρώνας είναι μια συσκευή με ένα αριθμό εισόδων. Κάθε είσοδος είναι σταθμισμένη και τα βάρη αυτά αντιστοιχούν σε ένα βιολογικό νευρώνα. Το πόσο ισχυρή είναι η σύνδεση μεταξύ μιας εισόδου και ενός νευρώνα υποδεικνύεται από την τιμή του βάρους αυτού. Ο κάθε νευρώνας έχει επίσης μια τιμή κατώφλιου η οποία τον καθιστά πολύ ευέλικτο και ισχυρό. Για να ενεργοποιηθεί ο νευρώνας αθροίζεται το βάρος όλων των εισόδων του και αφαιρείται το κατώφλι. Ακολουθώς οι λειτουργίες ενεργοποίησης παράγουν την έξοδο του νευρώνα που έχει ενεργοποιηθεί. Αυτό αποτελεί την περιγραφή ενός μεμονωμένου νευρώνα. Αν ένα δίκτυο έχει συνάψεις μεταξύ των νευρώνων καθώς και διαγωγή των δεδομένων, τότε πρέπει να διαθέτει εισόδους που μεταφέρουν τις τιμές των μεταβλητών που μας ενδιαφέρουν από εξωτερικά ερεθίσματα και εξόδους που κάνουν προβλέψεις ή δημιουργούν σήματα έλεγχου. Ένα απλό νευρωνικό δίκτυο έχει μια δομή ροής προς τα εμπρός όπου τα σήματα προωθούνται και τροφοδοτούν αυστηρά μόνο τις κρυμμένες μονάδες που βρίσκονται μετά από αυτά, φτάνοντας τελικά στις μονάδες εξόδου. Αυτή η δομή έχει σταθερή συμπεριφορά.

Ωστόσο αν στο δίκτυο υπάρχουν αναδράσεις, τότε το δίκτυο μπορεί να είναι ασταθές και να έχει περίπλοκες δυναμικές ιδιότητες. Ένα τυπικό νευρωνικό δίκτυο εμπρόσθιας ροής έχει τους νευρώνες που το αποτελούν τοποθετημένους σε μια διακριτή πολυεπίπεδη τοπολογία. Η επεξεργασία των δεδομένων επεκτείνεται πάνω σε πολλαπλές μονάδες, αλλά δεν υπάρχουν συνδέσεις ανάδρασης. Το επίπεδο εισόδου δεν λειτουργεί στην πραγματικότητα με νευρωνικό τρόπο: οι νευρώνες που την αποτελούν απλά εισάγουν τις τιμές των μεταβλητών εισόδου. Οι εσωτερικοί νευρώνες και οι νευρώνες εξόδου είναι όλοι συνδεδεμένοι με όλες τις μονάδες στο επίπεδο εξόδου. Είναι δυνατόν να υπάρξουν δίκτυα τα οποία είναι μερικώς συνδεδεμένα με το επίπεδο εξόδου, ωστόσο για τις περισσότερες εφαρμογές είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται πλήρως συνδεδεμένα δίκτυα.

Κατά τη λειτουργία του δικτύου, μετά την τροφοδότηση του επιπέδου εισόδου με τις μεταβλητές εισόδου, γίνεται μια προοδευτική ενεργοποίηση των κρυφών και εξωτερικών νευρώνων. Κάθε μονάδα υπολογίζει την τιμή ενεργοποίησης της, αφαιρώντας την τιμή κατωφλίου της από το άθροισμα των βαρών της. Η τιμή ενεργοποίησης διέρχεται μέσω της συνάρτησης ενεργοποίησης για να παράξει την έξοδο του νευρώνα. Όταν εκτελεστεί η συνάρτηση σε όλο το δίκτυο, το σύνολο των εξόδων των νευρώνων του επιπέδου εξόδου αποτελεί την έξοδο ολοκλήρου του συστήματος. [33]



[Εικ. 4.2: Ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο]

4.1.4 Εκπαίδευση νευρωνικών δικτύων

Τα νευρωνικά δίκτυα μπορούν προγραμματιστούν ρητά ώστε να εκτελέσουν μια εργασία από μόνα τους, δημιουργώντας την τοπολογία και στη συνέχεια ρυθμίζοντας το βάρος του κάθε συνδέσμου και το κατώτατο όριο. Παρ' όλα αυτά, τα νευρωνικά δίκτυα έχουν μια μοναδική δύναμη: την ικανότητα να προγραμματίζονται μόνα τους. Για την εκπαίδευση ενός νευρωνικού δικτύου, η πιο κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η δοκιμή και το λάθος. Έτσι, με την αλλαγή του βάρους ενός τυχαίου συνδέσμου από ένα τυχαίο ποσό μπορεί να κάνει το δίκτυο να συμπεριφέρεται με τον τρόπο που πρέπει. Αν αυτή η αλλαγή να προκαλέσει την πτώση της ακρίβειας του δικτύου, αναιρεί την αλλαγή και να κάνει μία διαφορετική. Αν και χρειάζεται χρόνος, η μέθοδος αυτή παράγει αποτέλεσμα. Δεν απαιτείται μάθηση για προκαθορισμένα δίκτυα, έτσι μια μαθησιακή λειτουργία είναι εποπτευόμενη ή μη.

Κατά την ανάπτυξη του νευρωνικού μοντέλου, έχουν συσταθεί εποπτευόμενα μαθησιακά δίκτυα, όπου κατά τα εποπτευόμενα αυτά δίκτυα μάθησης των δεδομένων εκπαίδευσης αποτελούνται από πολλά ζεύγη εισόδου/εξόδου πρότυπα εκπαίδευσης. Για έναν μη εποπτευόμενο κανόνα μάθησης, μια μονάδα εξόδου είναι εκπαιδευμένη να ανταποκριθεί στις ομάδες του προτύπου εισόδου. Το δίκτυο μαθαίνει να προσαρμόζεται με βάση τις εμπειρίες που συλλέγονται μέσα από το προηγούμενο μοντέλο εκπαίδευσης. [34]

Είναι απαραίτητο να αναφερθεί ότι στην περίπτωση της εποπτευόμενης μάθησης, υπάρχουν δύο πιθανοί τρόποι με τους οποίους τα σχέδια εκπαίδευσης μπορούν να εφαρμοστούν κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης: Η στοιχειώδη εκπαίδευση και η εκπαίδευση στο σύνολο παραγωγής. Στην στοιχειώδη εκπαίδευση, τα βάρη του δικτύου ενημερώνονται κάθε φορά ανά ζευγάρι εκπαίδευσης που παρουσιάζεται στο δίκτυο. Στην εκπαίδευση στο σύνολο παραγωγής, τα βάρη ενημερώνονται μόνο εφόσον όλα τα ζεύγη εκπαίδευσης παρουσιαστούν.

4.2 Προσέγγιση με χρήση παρατηρητή [35]

Στο paper του εργαστηρίου μας «An Observer Approach for Deterministic Learning with Patchy Neural Networks (PNN)» παρουσιάζεται μια μέθοδος ντετερμινιστικής μάθησης η οποία βασίζεται σε παρατηρητή. Το προτεινόμενο σύστημα αποτελείται από έναν παρατηρητή που παρέχει ασυμπτωτικές εκτιμήσεις για το άγνωστο, μη γραμμικό, παραμετροποιήσιμο διανυσματικό πεδίο. Η έξοδος του παρατηρητή και οι μετρήσεις των διανυσμάτων κατάστασης χρησιμοποιούνται στη συνέχεια από ένα τοπικό PNN για να εξαγάγουν μια γενική μορφή της μη γραμμικότητας στις περιοχές μέσα στις οποίες παραμένουν οι τροχιές κατάστασης. Λεπτομερής ανάλυση του συστήματος, καταδεικνύει την ικανότητα μάθησης με περιορισμένες παραδοχές. Επίσης μια μελέτη της προσομοίωσης που πραγματοποιήθηκε επαληθεύει τα θεωρητικά αποτελέσματα μας.

Χρησιμοποιώντας ένα παρατηρητή που εφαρμόζει το ολοκλήρωμα του προσήμου του όρου σφάλματος, επιτυγχάνεται μια ασυμπτωτική εκτίμηση του αντίστοιχου μη γραμμικού διανυσματικού πεδίου. Το Patchy νευρωνικό δίκτυο (PNN) εισάγεται στη συνέχεια στο σύστημα για να μάθει την άγνωστη μη γραμμικότητα που εξαγάγει ο παρατηρητής και οι έξοδοι των καταστάσεων. Τα βάρη του PNN ενημερώνονται αλγεβρικά μειώνοντας σημαντικά την υπολογιστική πολυπλοκότητα της μάθησης.

4.2.1 Εισαγωγή

Τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για ντετερμινιστική μάθηση στα πλαίσια του αυτοπροσαρμοζόμενου ελέγχου [36] και για την στατιστική ή υπολογιστική μάθηση στα πλαίσια της μηχανικής μάθησης [37]. Μια ντετερμινιστική θεωρία μάθησης [38], [39] προτάθηκε πρόσφατα και εφαρμόζεται στο πρόβλημα δυναμικής αναγνώρισης προτύπων [40], [41], στην όποια οι συγγραφείς εξετάζουν το πρόβλημα αναγνώρισης δυναμικών προτύπων για προσωρινά πρότυπα τα οποία δημιουργούνται από το δυναμικό σύστημα.

$$x(t) = f(x(t);) \text{ και } x(t_0) = x_0 \text{ (Εξ. 4.1)}$$

Όπου:

- $x := [x_1, x_2, \dots, x_n]^T \in \mathbb{R}^n$: το διάνυσμα καταστάσεων
- p : το διάνυσμα με τις παραμέτρους του συστήματος
- $f(x; p) := [f_1(x; p) \ f_2(x; p) \ \dots \ f_n(x; p)]^T$: Αντιπροσωπεύει την δυναμική του συστήματος με $f_i(x; p)$ μια ομαλή, άγνωστη, μη γραμμική συνάρτηση.

Τα δυναμικά πρότυπα ορίζονται ως γενικές επαναλαμβανόμενες τροχιές γύρω από την εξίσωση (4.1) και περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων, περιοδικές, ημί-περιοδικές ή ακόμα χαστικές τροχιές. Η διαδικασία αναγνώρισης προτύπων περιλαμβάνει δύο κύρια καθήκοντα: μια αρχική διεργασία ταυτοποίησης και τη διεργασία αναγνώρισης [40].

Όσον αφορά την διεργασία ταυτοποίησης, υιοθετείται η προσέγγιση της ντετερμινιστικής θεωρίας που βασίζεται σε τοπική, ακτινική βάση λειτουργίας νευρωνικών δικτύων (radial basis function neural networks RBF NN) [38], [39]. Χρησιμοποιώντας αυτό το σύστημα μάθησης, οι πληροφορίες σχετικά με το δυναμικό πρότυπο λαμβάνονται και αποθηκεύονται στα βάρη RBF NN. Μετά τη διαδικασία ταυτοποίησης κατασκευάζεται ένα σύνολο δυναμικών μοντέλων το λεγόμενο «σύνολο δοκιμής». Στη συνέχεια αυτά τα μοντέλα χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση προτύπων συγκρίνοντας τα πραγματικά πρότυπα με τα πρότυπα δοκιμής (παράγονται από μοντέλα δοκιμής) με κάποιο κατάλληλο μέτρο ομοιότητας [40],[41].

Σαν πρώτο βήμα σχεδιάζεται ένας παρατηρητής με βάση την προσέγγιση του σθεναρού ολοκληρώματος του πρόσημου του σφάλματος (RISE - robust integral of the sign error) [42], [43], [44]. Με αυτό τον τρόπο γίνεται μια ασυμπτωτική εκτίμηση του ομαλού διανυσματικού πεδίου $f(x(p))$. Ένα τοπικό νευρωνικό δίκτυο μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για να εξάγει και να αποθηκεύσει τις πληροφορίες αυτής της εκτίμησης.

Μια νέα τάξη από τοπικά νευρωνικά δίκτυα ονομαζόμενα «patchy» νευρωνικά δίκτυα PNNs εισάγεται στη συνέχεια με βασικές λειτουργίες που είναι patches του χώρου καταστάσεων. Η καθολική ικανότητα προσέγγισης τους αποδεικνύεται π.χ. με το ότι PNNs με επαρκή αριθμό κόμβων μπορούν να προσεγγίσουν με επιθυμητή ακρίβεια, μέσα σε μια μικρή περιοχή, μια γενική ομαλή μη γραμμική συνάρτηση. Έπειτα ένα απλό PNN χρησιμοποιείται για την αποθήκευση των πληροφοριών που λαμβάνονται από την εκτίμηση του παρατηρητή με ένα εύκολα εφαρμόσιμο αλγεβρικό τύπο ενημέρωσης βάρους. Τα πλεονεκτήματα της προτεινόμενης μεθοδολογίας είναι [38]-[41]:

- Δεν υπάρχει ανάγκη για διατήρηση της κατάστασης διέγερσης για το διάνυσμα κατάστασης. Το PNN είναι ικανό να μάθει την άγνωστη μη γραμμικότητα σε κάποια περιοχή του χώρου καταστάσεων από μια μόνο επίσκεψη των τροχιών των καταστάσεων στα «patches» της περιοχής. Αυτό βρίσκεται σε αντίθεση με το πρότυπο αιτιοκρατικών συστημάτων μάθησης [38], [39], [40], όπου μια προϋπόθεση επανάληψης για τις τροχιές κατάστασης είναι απαραίτητη για τη μάθηση σε αυτές τις γειτονιές που διεγείρονται περιοδικά.

- Οι τύποι για την ενημέρωση των συνοπτικών βαρών του PNN καθορίζονται από αλγεβρική μορφή και δεν δίνονται με τη μορφή διαφορικών εξισώσεων όπως στο [39]. Αυτό οδηγεί σε σημαντική μείωση της υπολογιστικής πολυπλοκότητας της εκμάθησης αφού πρέπει να λυθούν η διαφορικές εξισώσεις μόνο για τον παρατηρητή, σε αντίθεση με $N_1 \times \dots \times N_n$ διαφορικές που χρειάζονται για να εκπαιδεύσουν τα βάρη του νευρωνικού (για ένα νευρωνικό με $N_1 \times \dots \times N_n$ κόμβους).

4.2.2 Φόρμουλα εκμάθησης προβλημάτων

Στην αναγνώριση των προσωρινών προτύπων που δημιουργούνται από ένα χρονικά αναλλοίωτο δυναμικό σύστημα 4.1 με τη βοήθεια νευρωνικού δικτύου, το πρώτο βήμα είναι η βασισμένη στο νευρωνικό δίκτυο αναγνώριση της άγνωστης μη γραμμικότητας $f(x)$. Χρησιμοποιώντας ένα δοκιμαστικό προσωρινό πρότυπο, ένα τοπικό δίκτυο $\bar{W}_i^T P(x)$ εκπαιδεύεται για να υπολογίσει την $f(x)$ πάνω στην τροχιά $x(t; x_0; p_i)$. Ακολούθως για κάθε πρότυπο εκπαίδευσης δημιουργούνται N δυναμικά μοντέλα [40]

$$\dot{\bar{x}} = -A(\bar{x}^i - x) + \bar{W}_i^T P(x), (1 \leq i \leq N) \text{ (Εξ. 4.2)}$$

με $A := \text{diag}\{a_1, \dots, a_n\}, a_i > 0$ σχεδιαστικές σταθερές και $\bar{W}_i := [\bar{W}_1^i, \dots, \bar{W}_n^i] \in \mathbb{R}^{b \times n}$ ο πίνακας βαρών του νευρωνικού δικτύου αντιστοιχεί στο i -οστό πρότυπο εκπαίδευσης.

Στη γρήγορη δυναμική αναγνώριση προσωρινών προτύπων, το πιο παρεμφερές από τα N δυναμικά μοντέλα, αναγνωρίζεται με βάση το μέγεθος σφάλματος συγχρονισμού $\|x(t) - \bar{x}^i(t)\|$. Έτσι, από το σύνολο των προτύπων δοκιμής, αυτό που περιγράφει καλύτερα ένα συγκεκριμένο προσωρινό πρότυπο είναι αυτό με το μικρότερο σφάλμα συγχρονισμού. Στο paper που προαναφέρουμε ("An Observer Approach for Deterministic Learning with Patchy Neural Networks") προτείνεται μια νέα προσέγγιση για την παρατήρηση ενός NN εκτιμητή $\bar{W}^T P(x)$ της $f(x)$ της (1). Ταχεία δυναμική αναγνώριση προτύπων μπορεί στη συνέχεια να πραγματοποιηθεί από ένα σύνολο μοντέλων δοκιμής (2), όπως στα [40] και [41].

Παραδοχή 1: Αρχικά κάνουμε την παραδοχή ότι οι τροχιές των καταστάσεων $x(t; x_0; p)$ είναι φραγμένες μέσα σε κάποιο συμπαγές σύνολο $I \subset \mathbb{R}^n$ και υπάρχουν θετικές σταθερές c_f, c'_f, c''_f τέτοιες ώστε:

$$c_f := \max_1 \sup_{x \in I} |f_i(x)| < \infty,$$

$$c'_f := \max_1 \leq i, j \leq n \sup_{x \in I} \left| \frac{\partial f_i(x)}{\partial x_j} \right| < \infty,$$

$$c''_f := \max_1 \leq i, j, k \leq n \sup_{x \in I} |\partial^2 f_i(x) / \partial x_j \partial x_k| < \infty$$

4.2.3 Νευρωνικό δίκτυο Patchy

Τα τοπικά NN που μελετούμε είναι σχετικά απλό να εκπαιδευτούν. Έστω ότι

$I := I_1 \times I_2 \times \dots \times I_n$ ένα ορθογώνιο παραλληλόγραμμο n -διαστάσεων και δ -κατατμήσεων σε κάθε διάστημα I_i . Κάθε I_i δίνεται από τον τύπο $I_i := \bigcup_{j=1}^{N_i} A_{i,j} := \bigcup_{j=1}^{N_i} [a_{i,j-1}, a_{i,j}]$ όπου $a_{i,j} = a_{i,0} + j\delta$ ($1 \leq i \leq n$).

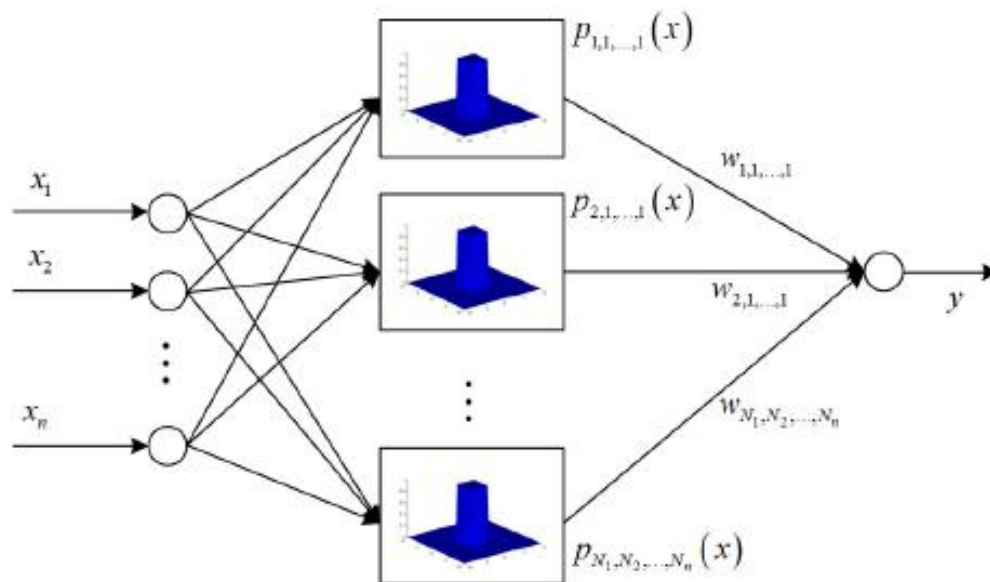
Για τα σύνολα $A_{1,i_1} \times \dots \times A_{n,i_n}$ ($1 \leq i_j \leq N_j; 1 \leq i \leq n$) μπορούμε πλέον να ορίσουμε τις «patch» λειτουργίες:

$$p_{i_1, i_2, \dots, i_n}(x) = \begin{cases} 1, & x \in A_{1,i_1} \times \dots \times A_{n,i_n} \\ 0, & \text{αλλού} \end{cases} \quad (\text{Εξ. 4.3})$$

Ένα «patchy» νευρωνικό δίκτυο είναι ένα νευρωνικό δίκτυο με ένα ενδιάμεσο επίπεδο με διανύσματα βάσης που αποτελούνται από λειτουργίες «patchy» όπου η έξοδος δίνεται από:

$$y = \sum_{i_1=1}^{N_1} \dots \sum_{i_n=1}^{N_n} w_{i_1, \dots, i_n} p_{i_1, \dots, i_n}(x) = W^T P(x) \quad (\text{Εξ. 4.3})$$

όπου $W := [w_{1, \dots, 1}, \dots, w_{N_1, \dots, N_n}]^T \in \mathbb{R}^{N_1 \times \dots \times N_n}$ και $P(x) := [p_{1, \dots, 1}(x), \dots, p_{N_1, \dots, N_n}(x)]^T$



[Εικ. 4.3: Ένα Το νευρωνικό δίκτυο "patchy" (PNN)]

Το PNN έχει την δυνατότητα να προσεγγίζει γενικά μη γραμμικές συναρτήσεις. Έστω η γραμμική συνάρτηση $f : I \subset \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}$ ορισμένη σε κάποιο ορθογώνιο παραλληλόγραμμο n -διαστάσεων I . Ακολούθως για κάθε $\epsilon > 0$ υπάρχει ένα PNN με $N_1 x \dots x N_n$ κόμβους (λειτουργίες «patch») και διάνυσμα συνοπτικού βάρους $W \in \mathbb{R}^{N_1 x \dots x N_n}$ τέτοιο ώστε:

$$f(x) = W^T P(x) + \epsilon_\alpha(x) \quad (\text{Εξ. 4.5})$$

Όπου το $P(x) := [p_{1,1,\dots,1}(x), \dots, p_{N_1, N_2, \dots, N_n}(x)]^T$ και προσεγγιστικό σφάλμα $|\epsilon_\alpha(x)| \leq \epsilon \forall x \in I$. Αυτή είναι μια άμεση συνέπεια του ορισμού της συνάρτησης «patch» και του θεωρήματος μέσης τιμής (ΘΜΤ). Ειδικότερα αν εφαρμόσουμε το ΘΜΤ για $f(x)$ σε κάθε «patch» $R_{i_2, \dots, i_n} := A_{1, i_2} x \dots x A_{n, i_n}$ παίρνουμε ότι:

$$f(x) = f(x_{i_2, \dots, i_n}) + \frac{\partial f}{\partial x}(\theta_{i_2, \dots, i_n} x + (1 - \theta_{i_2, \dots, i_n}) x_{i_2, \dots, i_n})(x - x_{i_2, \dots, i_n}) \quad (\text{Εξ. 4.6})$$

$\forall x \in R_{i_2, \dots, i_n}$ για κάποιο $\theta_{i_2, \dots, i_n} \in (0,1)$ και $x_{i_2, \dots, i_n} \in R_{i_2, \dots, i_n}$. Επειδή όμως

$\|x - x_{i_2, \dots, i_n}\| \leq \prod_{j=2}^n (a_{j, i_j} - a_{j, i_j-1}) \forall x, x_{i_2, \dots, i_n} \in R_{i_2, \dots, i_n}$ επιλέγοντας το συναπτικό βάρος $w_{i_2, \dots, i_n} = f(x_{i_2, \dots, i_n})$ έχουμε ότι:

$$|f(x) - W^T P(x)| \leq \max_{i_l \in \{1, \dots, N_l\} \atop 1 \leq l \leq n} \prod_{j=1}^n (a_{j,1} - a_{j, i_j-1}) \quad (\text{Εξ. 4.7})$$

Όπου $c' := \max_{x \in I} \left\| \frac{\partial f(x)}{\partial x} \right\|$. Τώρα, επιλέγοντας ένα αρκετά μεγάλο αριθμό κόμβων $N_1, \dots, N_n$, π.χ. επιλέγοντας μια κατάτμηση σε μικρότερα κομμάτια μπορούμε να επιτύχουμε $\max_{i_l \in \{1, \dots, N_l\} \atop 1 \leq l \leq n} \prod_{j=1}^n (a_{j,1} - a_{j, i_j-1}) \leq \epsilon/c$

4.2.4 Μοντέλο αναγνώρισης

Το συνολικό σύστημα αποτελείται από δύο διαφορετικές εργασίες εκτίμησης. Αρχικά, ένας ασυμπτωτικός παρατηρητής προτείνεται με βάση την προσέγγιση του εύρωστου ολοκληρώματος του πρόσημου του σφάλματος (RISE - robust integral of the sign error) [42], [43], [44] που αναγνωρίζει το μη γραμμικό διανυσματικό χώρο $\xi^* := f(x(t))$. Ακολούθως ένα PNN αναλαμβάνει να εξάγει τη γενική μορφή της $f(x)$ με βάση την έξοδο του παρατηρητή και τις εξόδους των καταστάσεων.

4.2.4.1 Παρατηρητής RISE

Έστω ο παρακάτω παρατηρητής RISE πλήρων καταστάσεων:

$$\dot{\hat{x}}(t) = \xi(t) := k(x(t) - \hat{x}(t)) + \lambda k \int_0^t (x(s) - \hat{x}(s)) ds + \beta \int_0^t \text{sgn}(x(s) - \hat{x}(s)) ds \quad (\text{Εξ. 4.8})$$

με σταθερές $k, \lambda, \beta > 0$ για τον παρατηρητή RISE (4.8) του συστήματος (4.1) το ακόλουθο Λήμμα μπορεί να αποδειχθεί:

Λήμμα 1: Έστω το μη γραμμικό δυναμικό σύστημα (4.1) το οποίο ικανοποιεί την παραπάνω παραδοχή και ο παρατηρητής RISE που περιγράφεται με την εξίσωση 4.8. Τότε για επιλεγμένα $k > \lambda > 0$ και

$$\beta \geq nc_f c'_f + \left(\frac{1}{\lambda}\right) c_f (c_f c''_f + c'^2_f) \quad (\text{Εξ. 4.9})$$

όπου $w_m := \sup_{1 \leq i, j \leq N} |w_{i,j}|$

ισχύει επίσης ότι $\lim_{t \rightarrow \infty} (\hat{x}(t) - x(t)) = \lim_{t \rightarrow \infty} (\xi(t) - f(x(t))) = 0$

Η πλήρης απόδειξη δίνεται στο τέλος του κεφαλαίου.

Παρατήρηση 1: Η πιο σημαντική ιδιότητα του παρατηρητή RISE (4.8) είναι ότι παρέχει μια ασυμπτωτική χρονική εκτίμηση $\xi(t)$ του αντίστοιχου διανυσματικού πεδίου $f(x(t))$ που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για την εκπαίδευση ενός τοπικού νευρωνικού δικτύου έτσι ώστε να εξάγει τη γενική μορφή της $f(x)$.

4.2.4.2. Ενημέρωση των βαρών του PNN

Το Λήμμα 1 εξασφαλίζει ότι το διανυσματικό σήμα $\xi(t)$ του παρατηρητή RISE συγκλίνει ασυμπτωτικά στο διανυσματικό πεδίο $f(x(t))$. Το σήμα εξόδου του παρατηρητή $\xi(t)$ και οι μετρήσεις του διανύσματος κατάστασης μπορούν πλέον να χρησιμοποιηθούν για να εκπαιδεύσουν το PNN ώστε να αποκτήσει τη γενική μορφή της $f(x)$ σε ένα κομμάτι της περιοχής του χώρου καταστάσεων που ορίζεται από τις τροχιές των καταστάσεων $\{v \in \mathbb{R}^n | v = x(t), t \in [0, \infty)\}$. Τα PNN βάρη ενημερώνονται αλγεβρικά ως εξής:

$$\hat{w}_{i_2, \dots, i_n}^j(t) = (1 - p_{i_2, \dots, i_n}(x(t))) \hat{w}_{i_2, \dots, i_n}^j(t^-) + p_{i_2, \dots, i_n}(x(t)) \xi_j(t) \quad (\text{Εξ 4.10})$$

ή ισοδύναμα:

$$\hat{w}_{i_2, \dots, i_n}^j(t) = \begin{cases} \hat{w}_{i_2, \dots, i_n}^j(t^-), & \text{αν } p_{i_2, \dots, i_n}(x(t)) = 0 \\ \xi_j(t), & \text{αν } p_{i_2, \dots, i_n}(x(t)) = 1 \end{cases} \quad (\text{Εξ. 4.11})$$

($\xi = 1, 2, \dots, n$) με αρχικές τιμές $\hat{w}_{i_1, \dots, i_n}^j(0) = 0$ ($1 \leq i_1 \leq N_1, \dots, 1 \leq i_n \leq N_n; 1 \leq j \leq n$). Στη συνέχεια το διάνυσμα $\hat{W}^T P(x)$ με $\hat{W} := [\hat{W}_1, \dots, \hat{W}_n]$, $\hat{W}_i := [\hat{w}_{1, \dots, 1}^i, \dots, \hat{w}_{N_1, \dots, N_n}^i]$ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να υπολογίσει την $f(x)$.

4.2.5 Εκτίμηση PNN

Τα άγνωστα μη γραμμικά στοιχεία του διανυσματικού χώρου $f_i(x)$ μπορούν να προσεγγιστούν από $\hat{W}_i^T(t)P(x)$ στην περιοχή των τροχιών των καταστάσεων $\bar{R}_\delta(T, t) := \{U_{\tau \in [T, t]} R(x(\tau), \delta)\}$ όπου $R(s; \delta) := R_{i_1, \dots, i_n}$ με τους δείκτες να επιλέγονται από το σύνολο $\{i_j \in \mathcal{N} \mid 1 \leq i_j \leq N_j; 1 \leq j \leq n\}$ έτσι ώστε $s \in R_{i_1, \dots, i_n}$ για ένα PNN με δ διατμήσεις και $t \leq T \leq 0$.

Θεώρημα 1: Έστω το μη γραμμικό δυναμικό σύστημα που περιγράφεται από την Εξ. 4.1, ικανοποιεί την παραδοχή 1 και ο παρατηρητής RISE που περιγράφεται από τις Εξ. 4.8, 4.9. Τότε για κάθε $\epsilon > 0$ υπάρχει ένας χρόνος $T(\epsilon) > 0$ και ένα PNN με μήκος patch $\delta(\epsilon) < \sqrt{\frac{\epsilon}{2c'fn^2}}$ και τύπο ενημέρωσης βαρών την Εξ. 4.10 έτσι ώστε $\|\hat{W}^T(t)P(s) - f(s)\| \leq \epsilon$ για όλα τα $t \geq T(\epsilon) \geq 0$ και $s \in R_{\delta(\epsilon)}(T(\epsilon), t) := U_{\tau \in [T(\epsilon), t]} R(x(\tau), \delta(\epsilon))$.

Παρατήρηση 2: Πρακτικά, το παραπάνω θεώρημα αναφέρει, ότι μπορούμε να επιλέξουμε μια αρκετά πυκνή κατάρτηση του χώρου καταστάσεων (με δ αρκετά μικρό), έτσι ώστε το PNN μπορεί να προσεγγίσει αποτελεσματικά τη μη γραμμική συνάρτηση f στην περιοχή $R_{\delta(\epsilon)}(T(\epsilon), t)$ που είναι η ένωση των επιμέρους patches από τα οποία διέρχονται οι τροχιές των καταστάσεων κατά τη διάρκεια $[T(\epsilon), t]$. Χρόνος $T(\epsilon)$ ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται για την εκτίμηση του παρατηρητή RISE να συγκλίνει σε κάποια περιοχή της $f(x(t))$ και να παραμείνει εκεί.

Απόδειξη: όσο $\lim_{t \rightarrow \infty} (\xi(t) - f(x(t))) = 0$, υπάρχει χρόνος $T(\epsilon) \geq 0$ έτσι ώστε $\|\xi(t) - f(x(t))\| \leq \epsilon/2 \forall t \geq T(\epsilon)$.

Ορίζουμε τώρα τους χρόνους $\tau_{[t_1, t_2]}(s; \delta) := \sup\{\tau \in [t_1, t_2] \mid s \in R(x(\tau); \delta)\}$.

Για κάθε $s \in \bar{R}_\delta(T(\epsilon), t)$ ισχύει από την (Εξ. 11) ότι $\hat{W}^T(t)P(s) = \xi(\tau_{[T(\epsilon), t]}(s; \delta))$

Ισοδύναμα, έχουμε:

$$\|f(s) - \hat{W}^T(t)P(s)\| \leq \|f(s) - f(x(\tau_{[T(\varepsilon),t]}(s;\delta)))\| + \|f(x(\tau_{[T(\varepsilon),t]}(s;\delta))) - \xi(\tau_{[T(\varepsilon),t]}(s;\delta))\|$$

$$\leq \sup_{x \in I} \left\| \frac{\partial f}{\partial x} \right\|_F \|s - x(\tau_{[T(\varepsilon),t]}(s;\delta))\| + \frac{\varepsilon}{2} \leq n^{3/2} c'_f \delta + \frac{\varepsilon}{2} \leq \varepsilon \quad (\text{Εξ. 4.12}).$$

Παρατήρηση 3: Από το θεώρημα 1 βλέπουμε ότι για την πλήρη εκμάθηση κάποιας μη-γραμμικότητας f μέσα σε κάποιες $I \subset \mathbf{R}$ το δυναμικό σύστημα 4.1 πρέπει να είναι «mixing» π.χ. οι τροχιές καταστάσεων πρέπει να περνούν από όλα τα δ -patch του I . Αυτή η ιδιότητα εμφανίζεται στα χαοτικά συστήματα.

4.2.6 Μελέτη προσομοίωσης

Για να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητα του προτεινόμενου συστήματος, θεωρούμε το πρόβλημα μάθησης για τον ταλαντωτή Duffing

$$\dot{x} = y$$

$$\dot{y} = -p_2 x - p_3 x^3 - p_1 y + q \cos(\omega t) \quad (\text{Εξ. 4.13})$$

με αρχικές συνθήκες $x_1(0) = 0, x_2(0) = -1.8$

και παραμέτρους $p_1 = 0.35, p_2 = -1.1, p_3 = 1, q = 1.498$ και $\omega = 1.8$.

Η μη γραμμικότητα που θα αναγνωρισθεί είναι η $f(x, y) = -p_2 x - p_3 x^3 - p_1 y$ της εξίσωσης 4.13.

Ο παρατηρητής RISE:

$$\hat{y} = q \cos(\omega t) + \xi(t) = q \cos(\omega t) + k(y(t) - \hat{y}(t)) + k\lambda \int_0^t (y(s) - \hat{y}(s)) ds +$$

$$+ \beta \int_0^t \text{sgn}(y(s) - \hat{y}(s)) ds$$

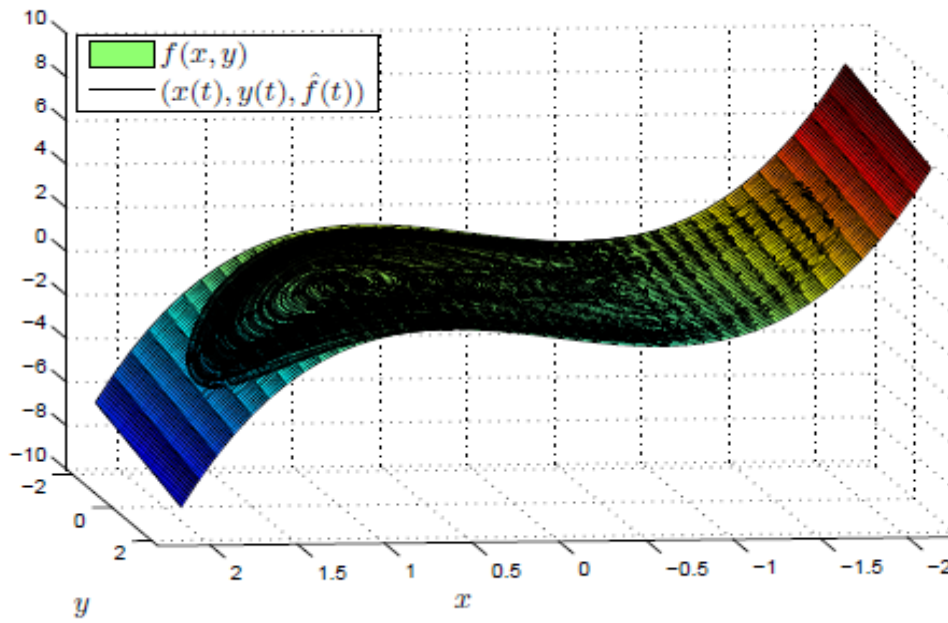
(Εξ. 4.14)

Με παραμέτρους $k = 2, \lambda = 1$ και $\beta = 20$.

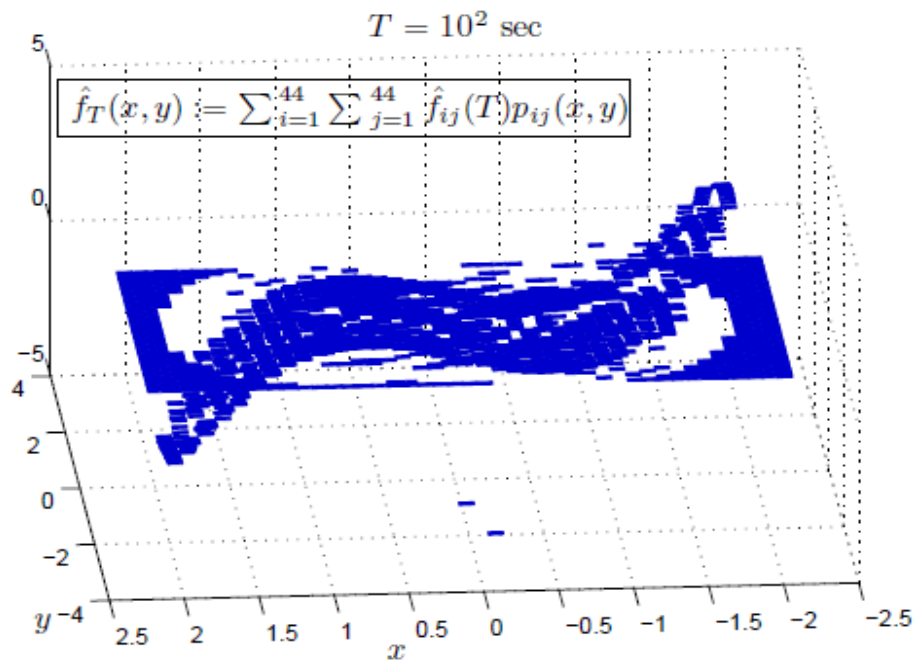
Το τετράγωνο $[-2, 15, 2, 15] \times [-2, 15, 2, 15]$ χωρίζεται σε $44 \times 44 = 1936$ «patches» με μήκος «patch» $\delta = 0,1$ και ορίζουμε τον PNN τύπο ενημέρωσης που δίνεται από την εξίσωση 4.10 και έξοδο

$$\hat{f}_t(x, y) = \sum_{i=1}^{44} \sum_{j=1}^{44} \hat{w}_{i,j}(t) p_{i,j}(x, y).$$

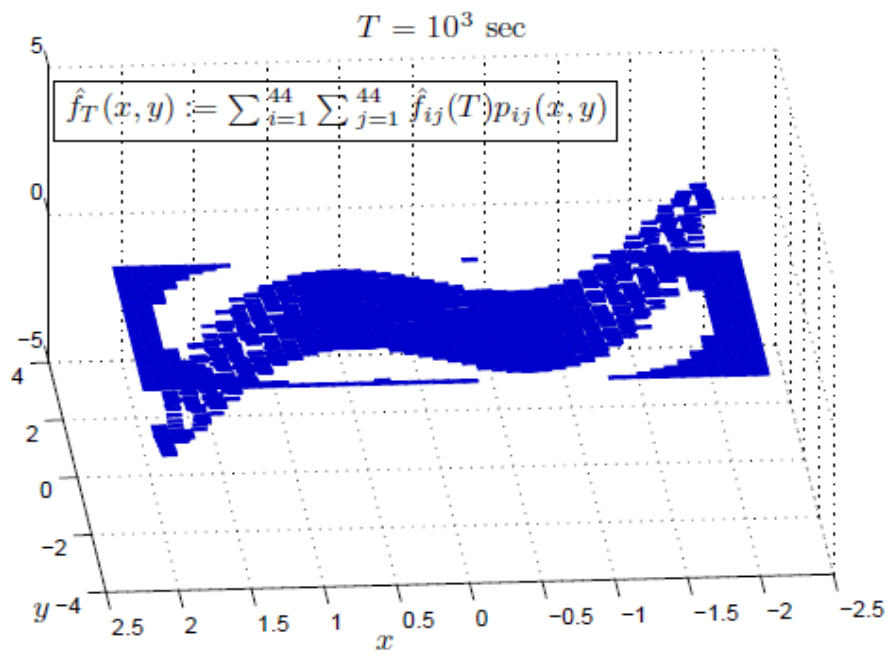
Τα αποτελέσματα της προσομοίωσης δίνονται στις ακόλουθες εικόνες:



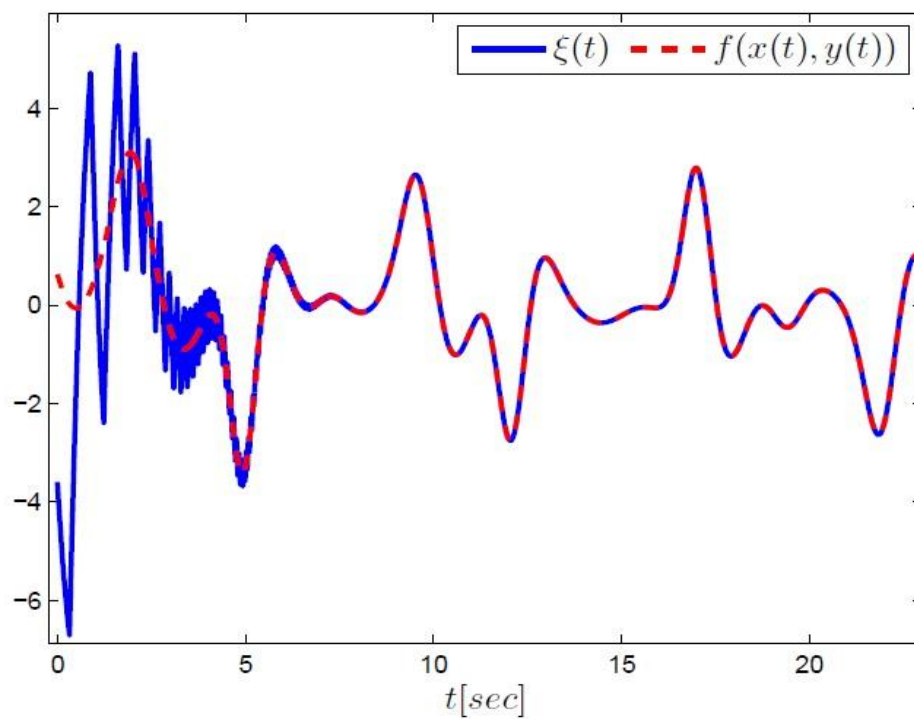
[Εικ. 4.4: Γράφημα της συνάρτησης $f(x, y)$ και οι τροχιές των $\{(x(t), y(t), \xi(t)) | T \leq t \leq 10^3\}$]



[Εικ. 4.5: Έξοδος PNN $\hat{f}_t(x, y) = \sum_{i=1}^{44} \sum_{j=1}^{44} \hat{w}_{i,j}(t) p_{i,j}(x, y)$ για $t = 10^2$.]



[Εικ. 4.6: Έξοδος PNN $\hat{f}_t(x, y) = \sum_{i=1}^{44} \sum_{j=1}^{44} \hat{w}_{i,j}(t) p_{i,j}(x, y)$ για $t = 10^3$.]



[Εικ. 4.7: Έξοδος Χρονική εξέλιξη των $\xi(t)$ και $f(x(t), y(t))$]

Απόδειξη του λήμματος 1:

Ας ορίσουμε το σφάλμα παρατήρησης $\tilde{x}(t) := \hat{x}(t) - x(t)$ και το φιλτραρισμένο σφάλμα παρατήρησης $r(t) := \tilde{x} + \lambda \dot{\tilde{x}}(t)$.

Στη συνέχεια, για τη μη αρνητική συνάρτηση Lyapunov

$$V(t) := \frac{\lambda^2}{2} \tilde{x}^T(t) \tilde{x}(t) + \frac{1}{2} r^T(t) r(t) \quad (\text{Εξ. 4.15})$$

$$\dot{V} = -\lambda^3 \tilde{x}^T(t) \ddot{\tilde{x}}(t) + r^T(t) [\ddot{\hat{x}}(t) - \ddot{x}(t) + \lambda \dot{r}(t)] \quad (\text{Εξ. 4.16})$$

Διαφοροποιώντας τον τύπο του παρατηρητή (8) παίρνουμε

$$\ddot{\hat{x}}(t) = -kr(t) - \beta \operatorname{sgn}(\tilde{x}(t)) \quad (\text{Εξ. 4.17})$$

Χρησιμοποιώντας την παραπάνω εξίσωση (16) έχουμε

$$\dot{V} = -\lambda^3 \tilde{x}^T(t) \ddot{\tilde{x}}(t) - (k - \lambda) r^T(t) r(t) + L(t) \quad (\text{Εξ. 4.18})$$

$$\text{Με } L(t) := -r^T(t) [\ddot{\hat{x}}(t) + \beta \operatorname{sgn}(\tilde{x}(t))].$$

Ακολουθώντας μία παρόμοια ανάλυση με την [43] παίρνουμε

$$\begin{aligned} \int_0^t L(s) ds &= -\lambda \int_0^t \tilde{x}^T(s) (\ddot{\tilde{x}}(s) + \beta \operatorname{sgn}(\tilde{x}(s))) ds - \int_0^t \tilde{x}^T(s) \ddot{\tilde{x}}(s) ds - \beta \int_0^t \tilde{x}^T(s) \operatorname{sgn}(\tilde{x}(s)) ds \\ &= -\lambda \int_0^t \tilde{x}^T(s) (\ddot{\tilde{x}}(s) + \beta \operatorname{sgn}(\tilde{x}(s))) ds - \tilde{x}^T \ddot{\tilde{x}}(s) \Big|_0^t + \int_0^t \tilde{x}^T(s) \ddot{\tilde{x}}(s) ds - \beta \sum_{i=1}^n |\tilde{x}_i(s)| \Big|_0^t \\ &\leq \sum_{i=1}^n |\tilde{x}_i(s)| (|\ddot{\tilde{x}}_i(t)| - \beta) + \beta \sum_{i=1}^n |\tilde{x}_i(0)| + \tilde{x}^T(0) \ddot{\tilde{x}}(0) + \\ &\quad + \lambda \sum_{i=1}^n \int_0^t |\tilde{x}_i(s)| (|\ddot{\tilde{x}}_i(s)| + \frac{1}{\lambda} |\ddot{\tilde{x}}_i(s)| - \beta) ds \quad (\text{Εξ. 4.19}) \end{aligned}$$

$$\text{Επειδή } \dot{\tilde{x}}_i(t) = f_i(x) \text{ έχουμε } \ddot{\tilde{x}}_i(t) = \sum_{j=1}^n \frac{\partial f_i}{\partial x_j}(x) \dot{f}_j(x) \quad (\text{Εξ. 4.20})$$

$$\text{από το οποίο προκύπτει ότι } \max_{1 \leq i \leq n} \sup_{0 \leq t \leq \infty} |\ddot{\tilde{x}}_i(t)| \leq n c_f c'_f \quad (\text{Εξ. 4.21})$$

Από περαιτέρω διαφοροποίηση προκύπτει:

$$\ddot{\tilde{x}}_i(t) = \sum_{k=1}^n \sum_{j=1}^n \left[\frac{\partial^2 f_i}{\partial x_j \partial x_k}(x) f_j(x) f_k(x) + \frac{\partial f_i}{\partial x_j}(x) \frac{\partial f_j}{\partial x_k}(x) f_k(x) \right] \quad (\text{Εξ. 4.22})$$

Και το παρακάτω όριο μπορεί να προσδιοριστεί άμεσα

$$\sup_{1 \leq i \leq n} \sup_{0 \leq t \leq \infty} |\ddot{\tilde{x}}_i(t)| \leq n^2 c_f (c_f c''_f + c'^2_f) \quad (\text{Εξ. 4.23})$$

Επιπλέον, για ικανοποιητικό β (9) έχουμε από τις (22), (23) και (19) ότι

$$\int_0^{\infty} L(s)ds \leq \beta \sum_{i=1}^n |\tilde{x}_i(0)| + \tilde{x}^T(0) \ddot{x}(0) \quad (\text{Εξ. 4.24})$$

Η παραπάνω ανισότητα εξασφαλίζει την μη-αρνητικότητα της $P(t)$ που ορίζεται από την:

$$P(t) := \beta \sum_{i=1}^n |\tilde{x}_i(0)| + \tilde{x}^T(0) \ddot{x}(0) - \int_0^t L(s)ds \geq 0. \quad (\text{Εξ. 4.25})$$

Ας εξετάσουμε τώρα τη λειτουργία της μη-αρνητικής συνάρτησης $\bar{V}(t) := V(t) + P(t)$. Στη συνέχεια, από τις (18), (25), η $\bar{V}$ παίρνει την ακόλουθη μορφή $\dot{\bar{V}} = \lambda^3 \tilde{x}^T(t) \ddot{x}(t) - (k - \lambda) r^T(t) r(t) \leq 0$ (Εξ. 4.26), όσο $k > \lambda > 0$.

Το γεγονός ότι η συνάρτηση $\bar{V}(t)$ μειώνεται και οριοθετείται από κάτω εξασφαλίζει την σύγκλιση (π.χ. $\lim_{t \rightarrow \infty} \bar{V}(t) = \bar{V}_{\infty} < \infty$) και το φράξιμο της $\bar{V}(t)$.

Έτσι, ισχύει ότι $\|\tilde{x}(t)\|, \|r(t)\| \in L_{\infty}$.

Ενσωματώνοντας την (26) παίρνουμε

$$\lambda^3 \int_0^{\infty} \tilde{x}^T(s) \ddot{x}(s) ds + (k - \lambda) \int_0^{\infty} r^T(s) r(s) ds = \bar{V}(0) - \bar{V}_{\infty} < \infty \quad (\text{Εξ. 4.27})$$

Π.χ. $\|\tilde{x}(t)\|, \|r(t)\| \in L_{\infty} \cap L_2$.

Επιπλέον, από την (17), ισχύει ότι $\dot{\tilde{x}}(t) = -\lambda \tilde{x}(t) + r(t)$ (Εξ. 4.28)

$$\dot{r}(t) = -(k - \lambda)r(t) - \lambda^2 \tilde{x}(t) - \beta \operatorname{sgn}(\tilde{x}(t)) - \ddot{x}(t) \quad (\text{Εξ. 4.29})$$

Από τα οποία παίρνουμε $\|\dot{\tilde{x}}(t)\|, \|\dot{r}(t)\| \in L_{\infty}$. Όσο $\|\tilde{x}(t)\|, \|r(t)\| \in L_{\infty} \cap L_2$ και

$$\|\dot{\tilde{x}}(t)\|, \|\dot{r}(t)\| \in L_{\infty}$$

μπορούμε πλέον να επικαλεστούμε το Λήμμα Barbalat [45]

$\lim_{t \rightarrow \infty} \tilde{x}(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} r(t) = 0$. Τελικά, έχουμε

$$\lim_{t \rightarrow \infty} (\xi(t) - f(x(t))) = \lim_{t \rightarrow \infty} (\dot{\tilde{x}}(t) - \dot{x}(t)) = \lim_{t \rightarrow \infty} \dot{\tilde{x}}(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} (r(t) - \lambda \tilde{x}(t)) = 0$$

που μας οδηγεί στην απόδειξη του Λήμματος 1.

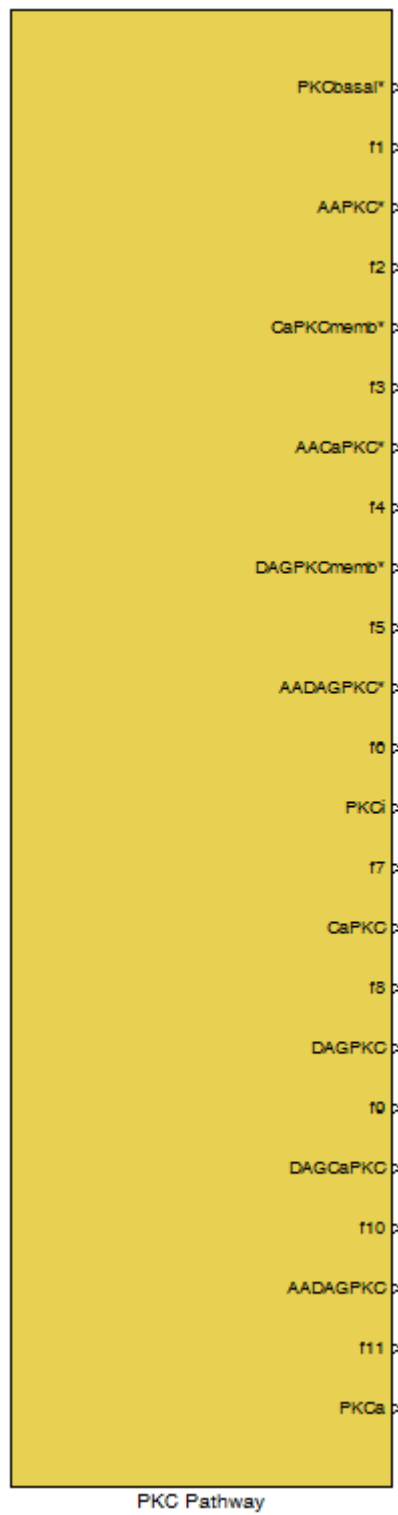
Κεφάλαιο 5

Αναγνώριση Της ΡΚC Με Χρήση Του
Παρατηρητή RISE.

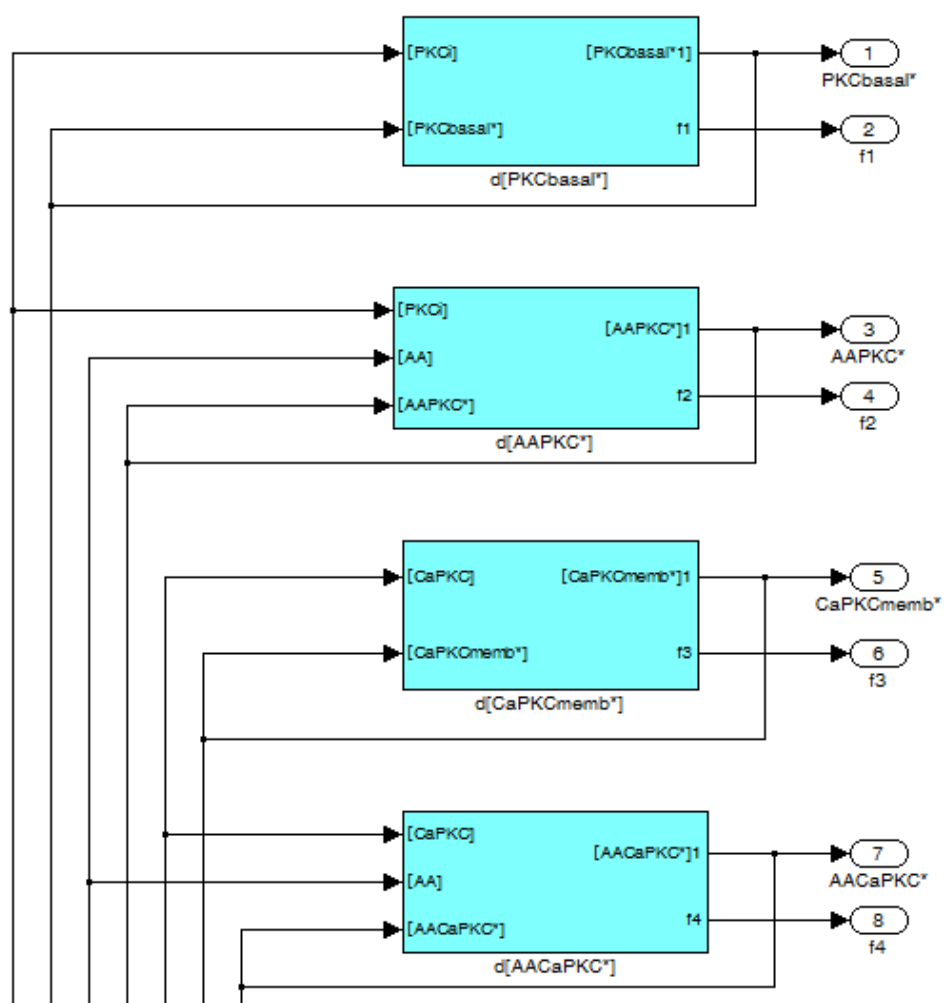
5.1 Εφαρμογή του Παρατηρητή RISE

Βάσει της θεωρίας του παρατηρητή που παρουσιάσαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο, αρχικά παράγονται δεδομένα προκειμένου να παρατηρήσουν το νευρωνικό δίκτυο. Η προσομοίωση του PKC μονοπατιού βασίζεται στο κινητικό μοντέλο που περιγράφεται στο κεφάλαιο 3. Είναι προφανές ότι αντί να χρησιμοποιήσουμε το μαθηματικό αυτό μοντέλο θα μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε πραγματικά δεδομένα, εάν φυσικά είχαμε τη δυνατότητα να τα πάρουμε από κάποιο βιολογικό εργαστήριο. Στο Σχήμα 5.1 παρουσιάζουμε το διάγραμμα Simulink με το οποίο υπολογίζουμε τη δυναμική συμπεριφορά του PKC μονοπατιού.

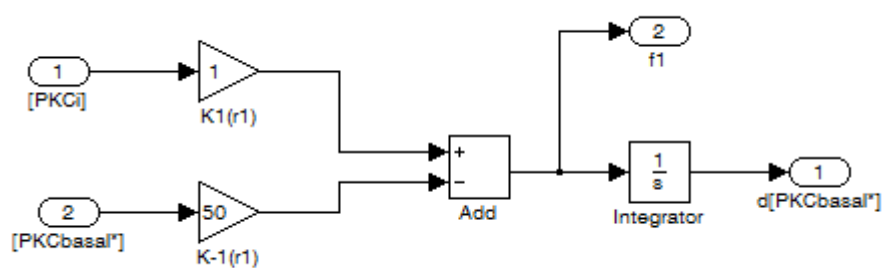
Το block αυτό αποτελείται από έντεκα υποσυστήματα. Συνολικά στο μοντέλο μας έχουμε 15 πρωτεΐνες όμως η συγκέντρωση της ενεργούς PKC όπως αναφέραμε και προηγουμένως προκύπτει από το άθροισμα των συγκεντρώσεων άλλων πρωτεϊνών, ενώ τρεις ακόμη (AA, Ca++ και DAG) διατηρούν σταθερές τις τιμές των συγκεντρώσεών τους, οπότε για αυτές δε χρειάζεται η δημιουργία αντίστοιχου υποσυστήματος. Στο σχήμα 5.2 παρουσιάζουμε τέσσερα από αυτά τα υποσυστήματα. Οι συνδέσεις δεν εμφανίζονται σε αυτό το σχήμα, αλλά είναι προφανείς από τις ονομασίες των εισόδων και των εξόδων. Κάθε υποσύστημα παράγει πρώτα τα ποσοστά μεταβολής για κάθε συγκέντρωση πρωτεΐνης χρησιμοποιώντας ως εισόδους τις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών. Τα ποσοστά αυτά περνάνε από έναν αθροιστή και προστίθενται ή αφαιρούνται ανάλογα. Στη συνέχεια, κάθε υποσύστημα υπολογίζει τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης που αντιπροσωπεύει, όπως φαίνεται ενδεικτικά στα σχήματα 5.3-5.5. Οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών είναι οι έξοδοι που προκύπτουν μετά από ολοκλήρωση.



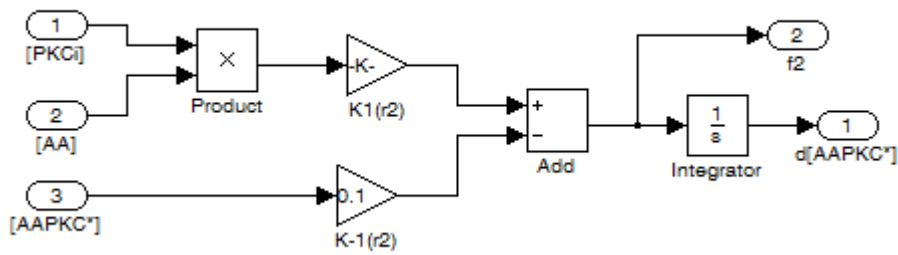
[Εικ. 5.1: Simulink Block για την παραγωγή δεδομένων σύμφωνα με το κινητικό μοντέλο για το PKC μονοπάτι.]



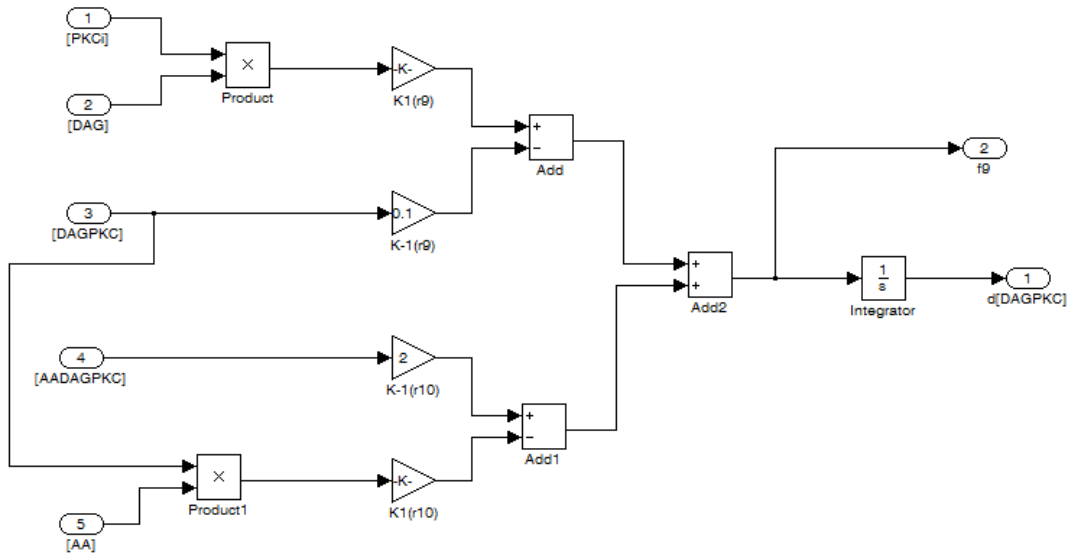
[Εικ. 5.2: Τέσσερα από τα έντεκα υποσυστήματα.]



[Εικ. 5.3: Το υποσύστημα της PKC_{basal}^* .]

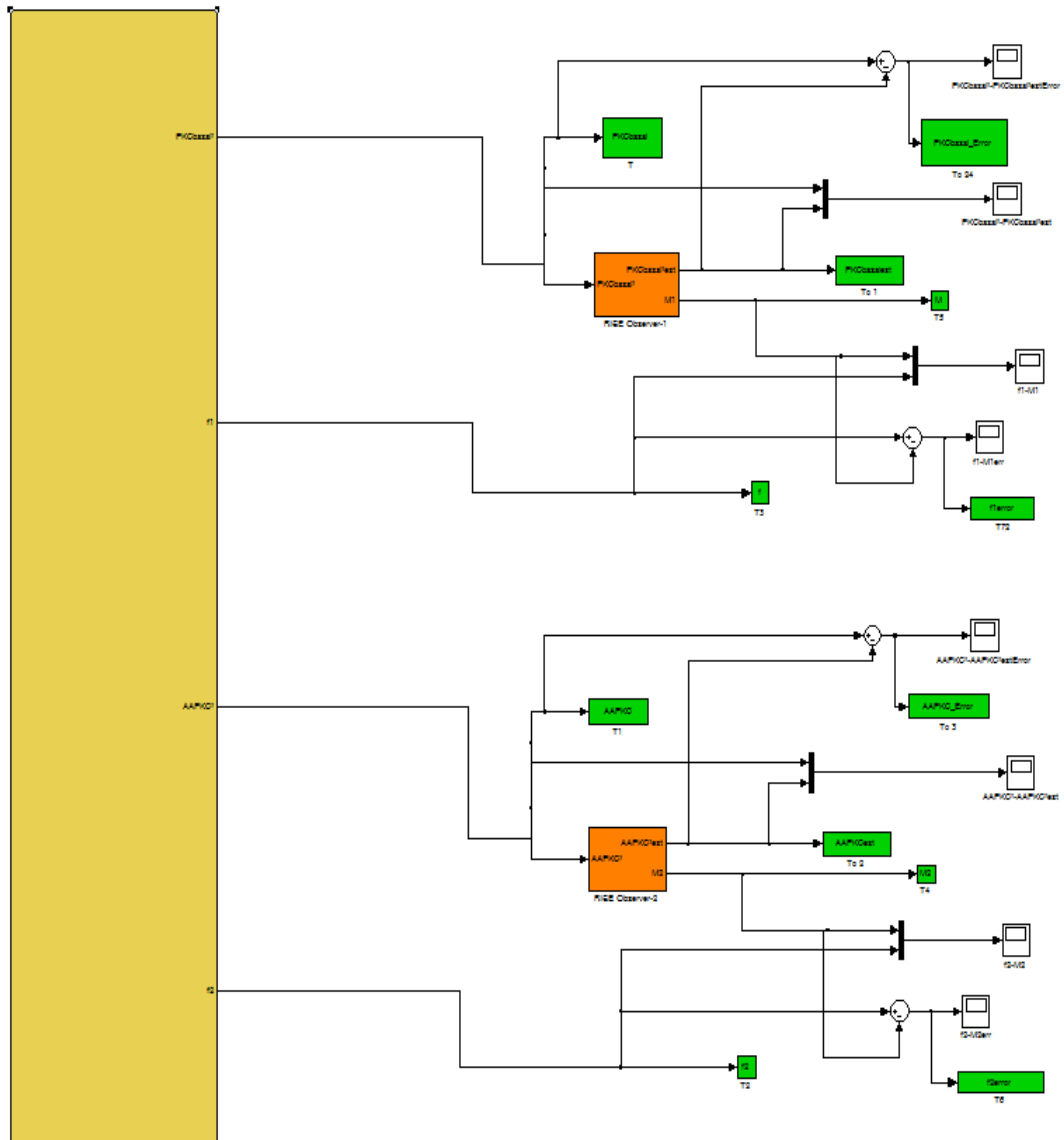


[Εικ. 5.4: Το υποσύστημα της AAPKC*.]



[Εικ. 5.5: Το υποσύστημα της DAGPKC.]

Για την αναγνώριση του PKC μονοπατιού χρησιμοποιούμε 11 ασυμπτωτικούς παρατηρητές με βάση την προσέγγιση RISE που παρέχουν τη δυνατότητα αναγνώρισης του μη γραμμικού διανυσματικού πεδίου $\xi^*(t) := f(x(t))$, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4. Κάθε ένας παρατηρητής αντιστοιχεί και σε μια πρωτεΐνη του PKC μονοπατιού. Στο σχήμα 5.6 φαίνεται ενδεικτικά η υλοποίηση των παρατηρητών για τις πρωτεΐνες PKC_{basal}* και AAPKC*. Η υλοποίηση συνεχίζεται και για τις υπόλοιπες πρωτεΐνες.

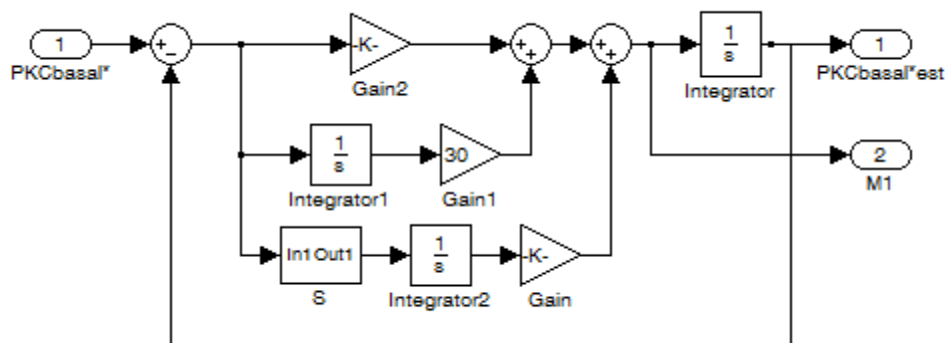


[Εικ. 5.6: Το block για την αναγνώριση των πρωτεϊνών PKCbasal* και AAPKC*.]

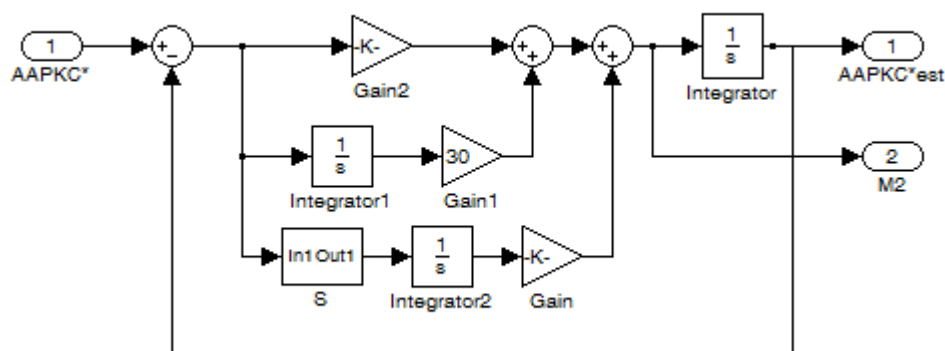
Η εξίσωση που περιγράφει τον παρατηρητή RISE είναι η εξής ($\kappa, \lambda, \beta > 0$):

$$\dot{\hat{x}}(t) = \xi(t) := k(x(t) - \hat{x}(t)) + \lambda \kappa \int_0^t (x(s) - \hat{x}(s)) ds + \beta \int_0^t \text{sgn}(x(s) - \hat{x}(s)) ds. \quad (1)$$

Η πιο σημαντική ιδιότητα του παρατηρητή RISE (1) είναι ότι παρέχει μια ασυμπτωτική εκτίμηση του χρόνου $\xi(t)$ του αντίστοιχου πεδίου διανύσματος $f(x(t))$ που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για την αναγνώριση του PKC μονοπατιού. Στα σχήματα 5.7 και 5.8 παρουσιάζουμε την υλοποίηση σε Simulink του παρατηρητή RISE για τις πρωτεΐνες PKCbasal* και AAPKC* αντίστοιχα.



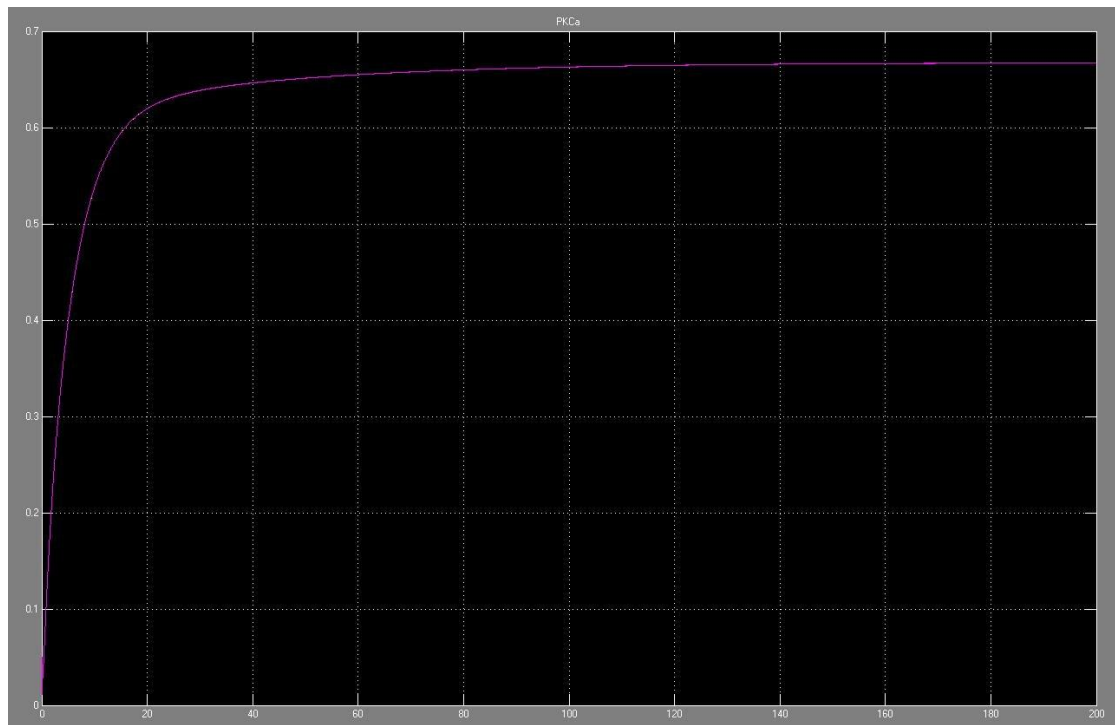
[Εικ. 5.7: Η υλοποίηση του παρατηρητή RISE για την PKCbasal*.]



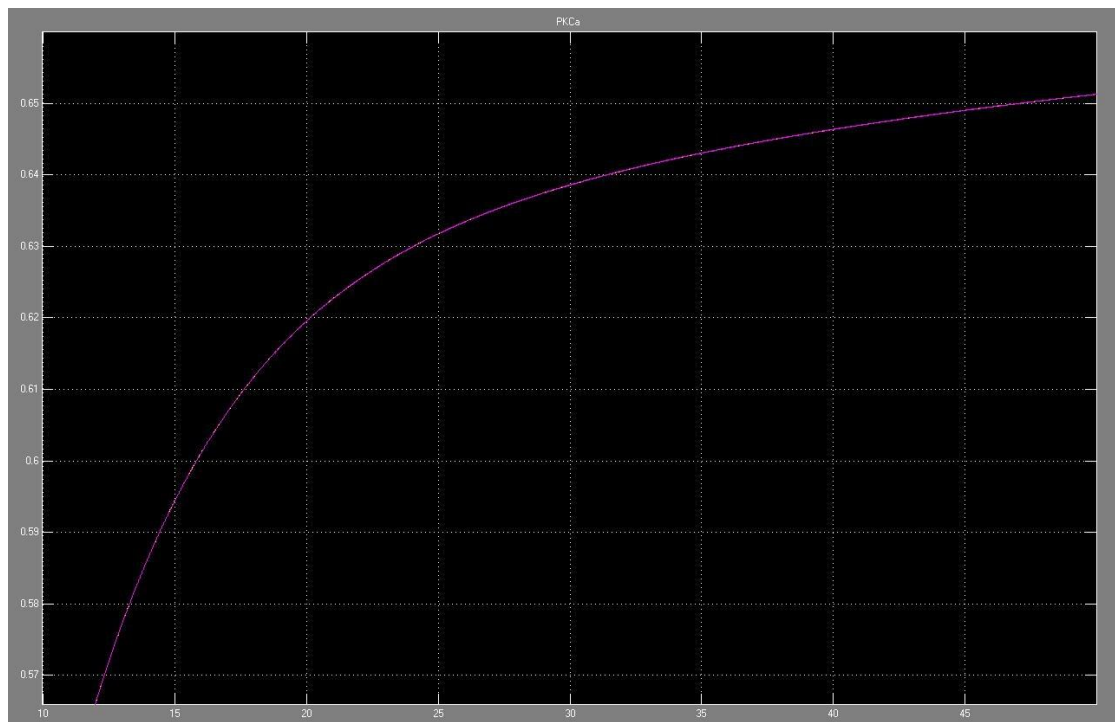
[Εικ. 5.8: Η υλοποίηση του παρατηρητή RISE για την AAPKC*.]

5.2 Αναγνώριση και Αποτελέσματα

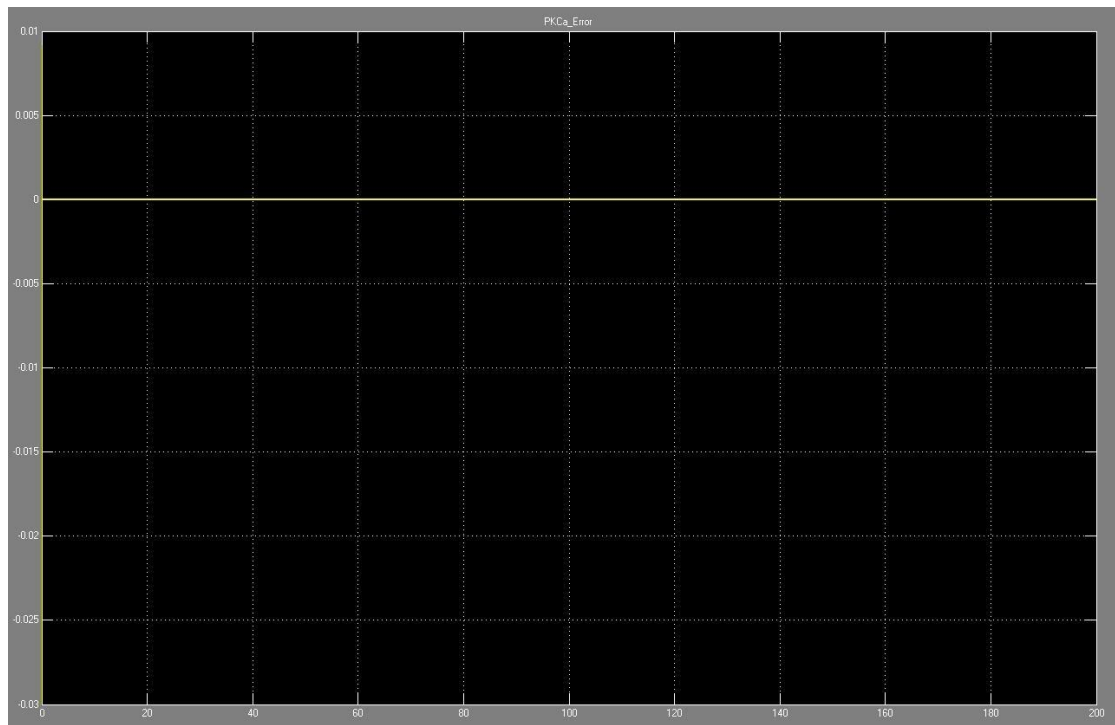
Στο κεφάλαιο 3 είδαμε τις τιμές των παραμέτρων που χρειαστήκαμε για την υλοποίηση της προσομοίωσης του PKC μονοπατιού. Με τη χρήση αυτών των τιμών προχωρήσαμε στη διαδικασία της αναγνώρισης του μονοπατιού. Μετά την υλοποίηση του μοντέλου σε Simulink βλέπουμε τόσο την PKCa_est έξοδο (έξοδος του RISE παρατηρητή για την ενεργή PKC), καθώς και την PKCa έξοδο που λαμβάνουμε από την προσομοίωση του PKC μονοπατιού. Αυτές οι έξοδοι έχουν και τη μεγαλύτερη σημασία στο σύστημά μας, το οποίο όπως φαίνεται τρέξαμε για 200 δευτερόλεπτα. Είναι προφανές ότι η εκτίμηση του παρατηρητή μας για τη συγκέντρωση της ενεργούς PKC είναι αρκετά ακριβής (σχ. 5.9-5.10) και μάλιστα η ταύτιση των γραφικών γίνεται αρκετά γρήγορα (περίπου στα 0.1sec) όπως φαίνεται και στη γραφική απεικόνιση του λάθους (σχ. 5.11-5.12).



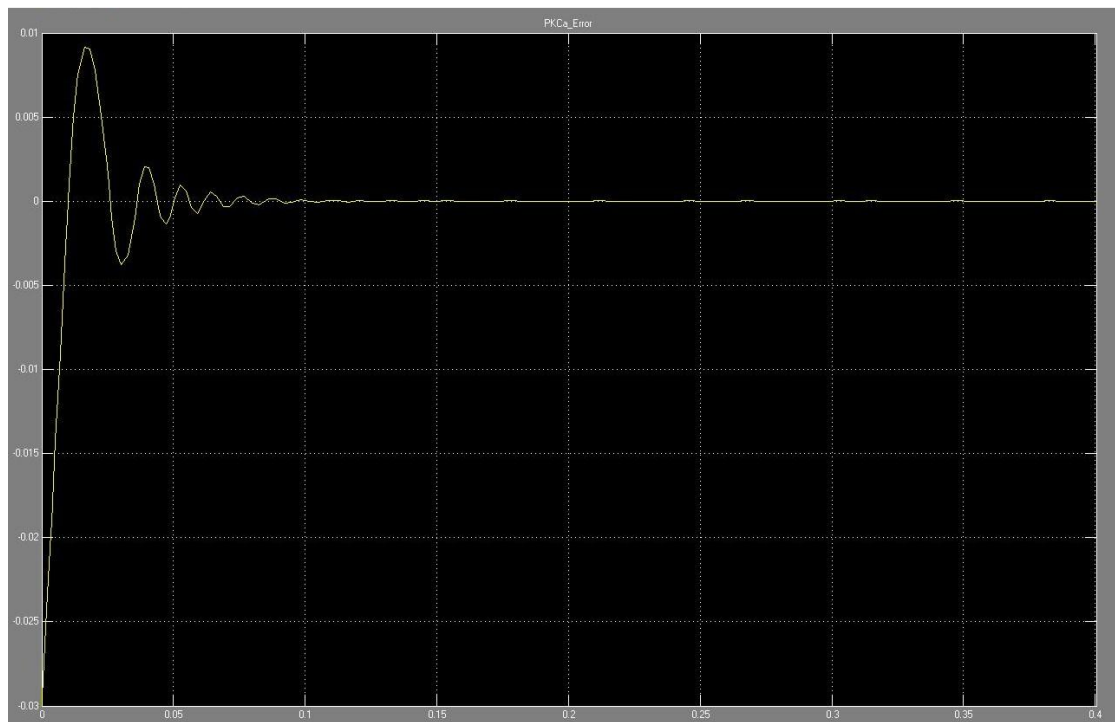
[Εικ. 5.9: $f(t, PKCa, PKCa_{est})$]



[Εικ. 5.10: $f(t, PKCa, PKCa_{est})$ - zoom]



[Εικ. 5.11: $f(t, PKCa_Error)$]



[Εικ. 5.12: $f(t, PKCa_Error)$ - zoom]

Είναι επίσης ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε και άλλες πρωτεΐνες του μονοπατιού και τη συμπεριφορά των συγκεντρώσεών τους κατά την προσομοίωση του φαινομένου καθώς και τις αντίστοιχες εκτιμήσεις του παρατηρητή RISE.

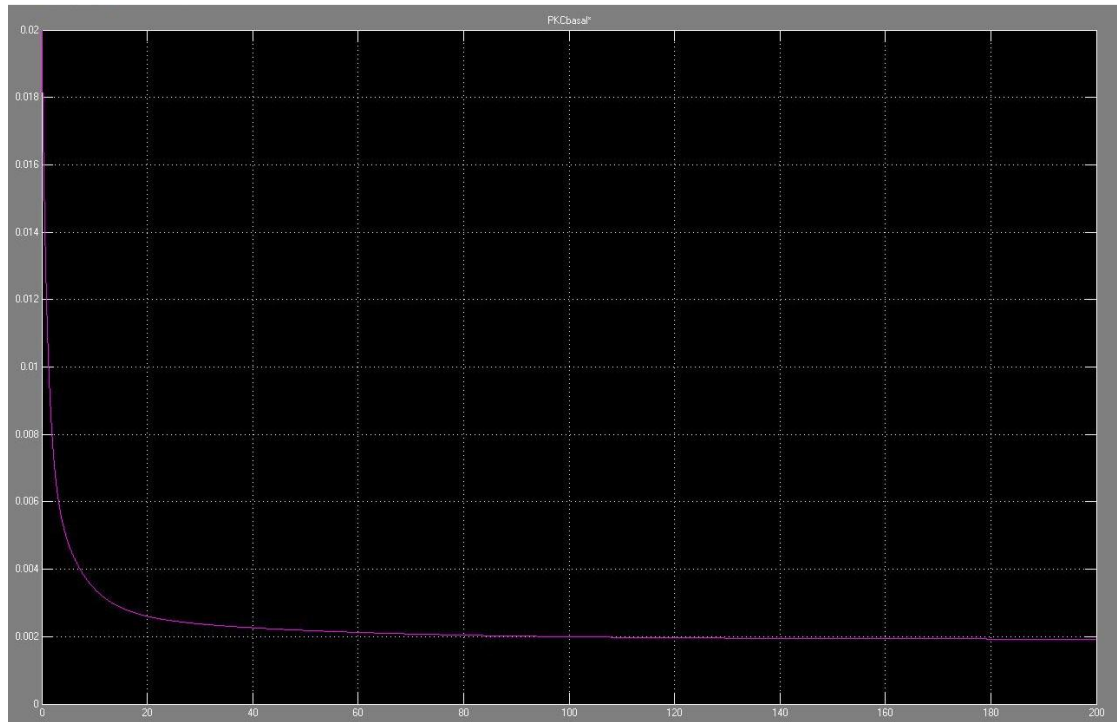
Μια σημαντική πρωτεΐνη είναι η PKCbasal*. Αντίστοιχα με προηγουμένως, στα σχήματα 5.13-5.15 φαίνεται η εξαιρετική εκτίμηση του παρατηρητή μας για την πορεία της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Όπως μπορούμε να διαπιστώσουμε μετά τα πρώτα 0.2sec το λάθος της εκτίμησης μηδενίζεται.

Στα σχήματα 5.17-5.19 παρουσιάζουμε τα αντίστοιχα αποτελέσματα για άλλη μία σημαντική πρωτεΐνη του PKC μονοπατιού, την AAPKC*. Όπως αναφέραμε και στο κεφάλαιο 3, οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών PKCbasal* και AAPKC* (μαζί με ορισμένες ακόμη των οποίων τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουμε αλλά φαίνονται εύκολα στον κώδικά μας) επηρεάζουν αμέσως την τελική μορφή της συγκέντρωσης της ενεργούς PKC.

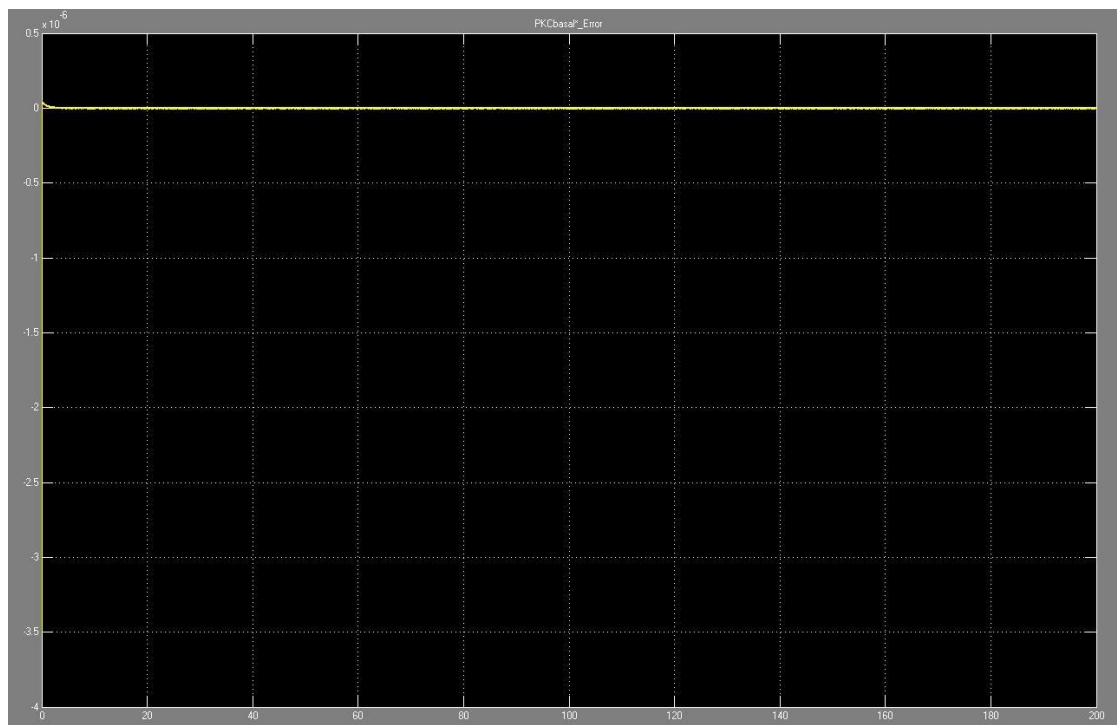
Ενδεικτικά επίσης παρουσιάζουμε τα αποτελέσματά μας και για τις πρωτεΐνες DAGPKC (σχήματα 5.21-5.23) και DAGCaPKC (σχήματα 5.25-5.27).

Είναι προφανές ότι μετά από ένα σύντομο χρονικό διάστημα οι συγκεντρώσεις φθάνουν σε μία σταθερή τιμή και ότι ο χρόνος που χρειάζεται για να συμβεί αυτό, αν και δεν είναι ο ίδιος για κάθε πρωτεΐνη, δεν διαφέρει αισθητά. Το σημαντικό όμως είναι ότι ανεξαρτήτως του πως μεταβάλεται η συγκέντρωση της κάθε πρωτεΐνης, ο παρατηρητής RISE είναι σε θέση να εκτιμήσει επακριβώς την πορεία της και μάλιστα αυτό να συμβεί πάρα πολύ γρήγορα.

Κατά την υλοποίησή μας έχουμε προσθέσει δύο ακόμη εξόδους F και M σε κάθε πρωτεΐνη και τον παρατηρητή που της αντιστοιχεί (π.χ. για την πρωτεΐνη PKCbasal* είναι οι F1 και M1). Αυτές αφορούν την παράγωγο της κάθε πρωτεΐνης και έχουν ήσσονος σημασία όσον αφορά το βιολογικό μας σύστημα. Όπως όμως φαίνεται στη θεωρία του παρατηρητή RISE στο κεφάλαιο 4, η δυνατότητα εκτίμησης της παραγώγου υπάρχει και είναι πολύ σημαντική, αν όχι για το συγκεκριμένο μοντέλο ίσως για άλλα συστήματα που μπορεί να εφαρμοστεί. Πράγματι, στα σχήματα 5.16, 5.20, 5.24 και 5.28 που παρουσιάζουμε αυτά τα αποτελέσματα για τις παραγώγους των πρωτεϊνών που αναφέραμε προηγουμένως, φαίνεται ότι και η εκτίμηση των παραγώγων είναι επιτυχής και μάλιστα εξίσου γρήγορη.



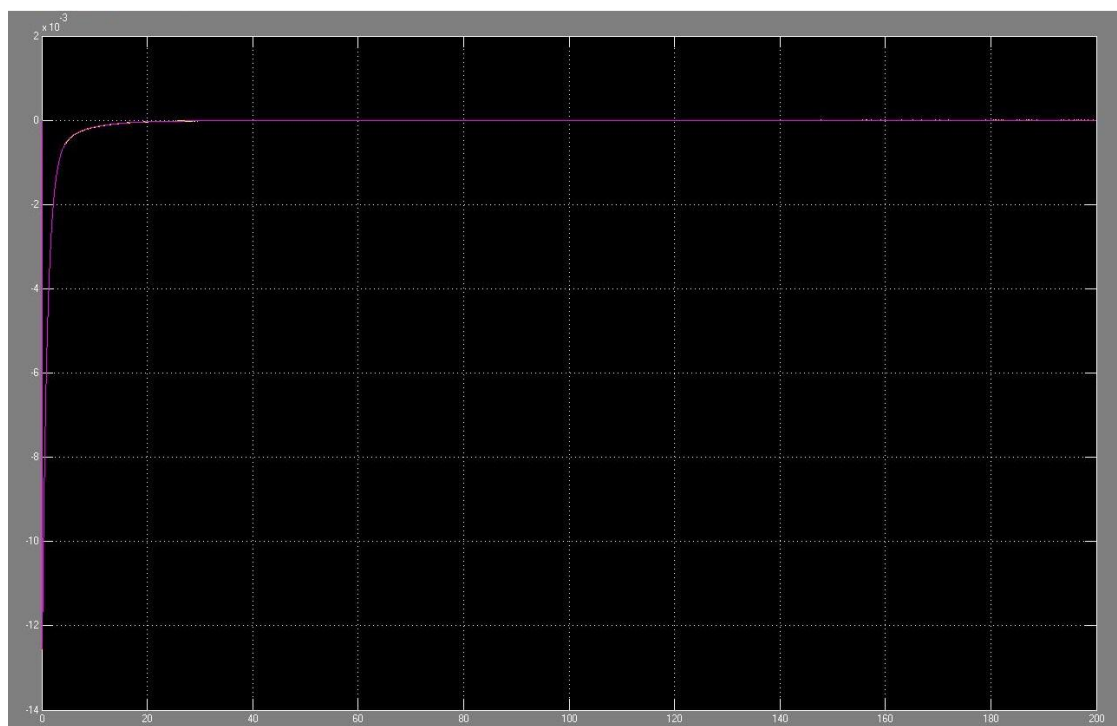
[Εικ. 5.13: $f(t, PKC_{basal}^*, PKC_{basal}^*_{est})$]



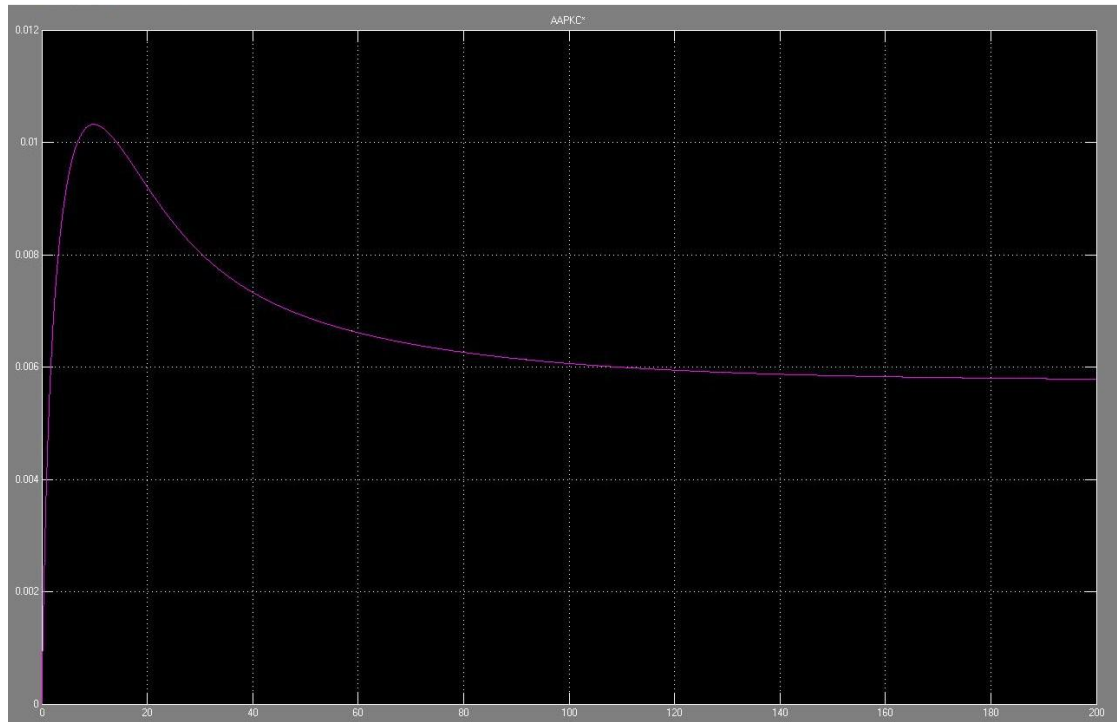
[Εικ. 5.14: $f(t, PKC_{basal}^*_{Error})$]



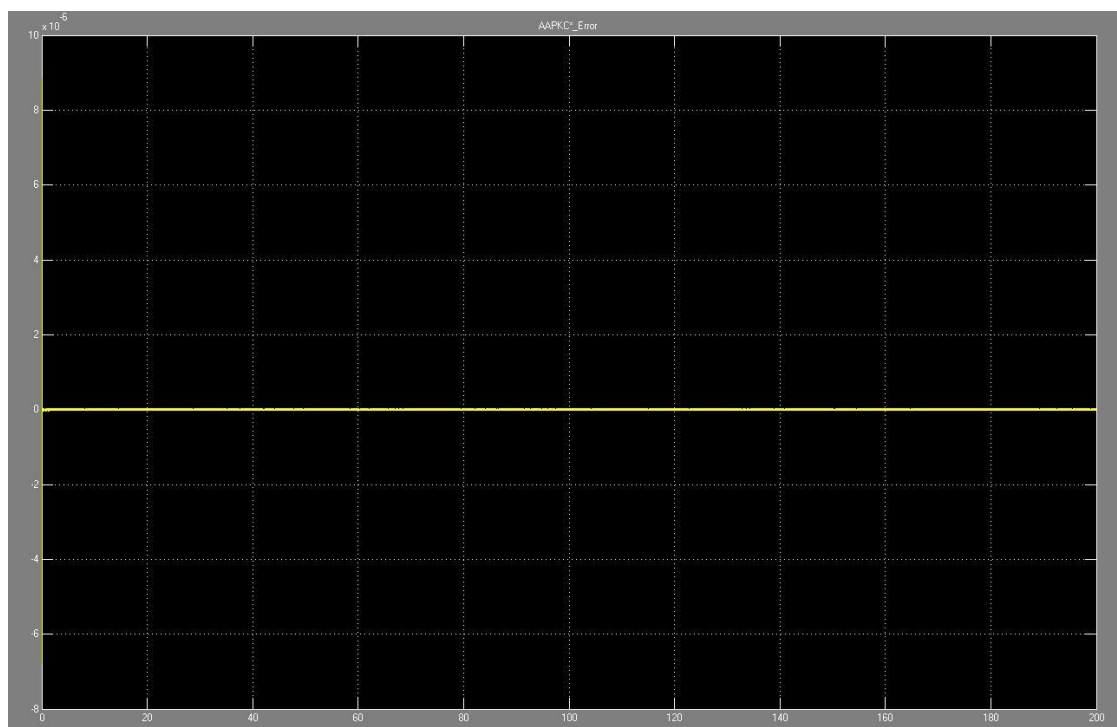
[Εικ. 5.15: $f(t, PKC_{basal} \cdot Error)$ - zoom]



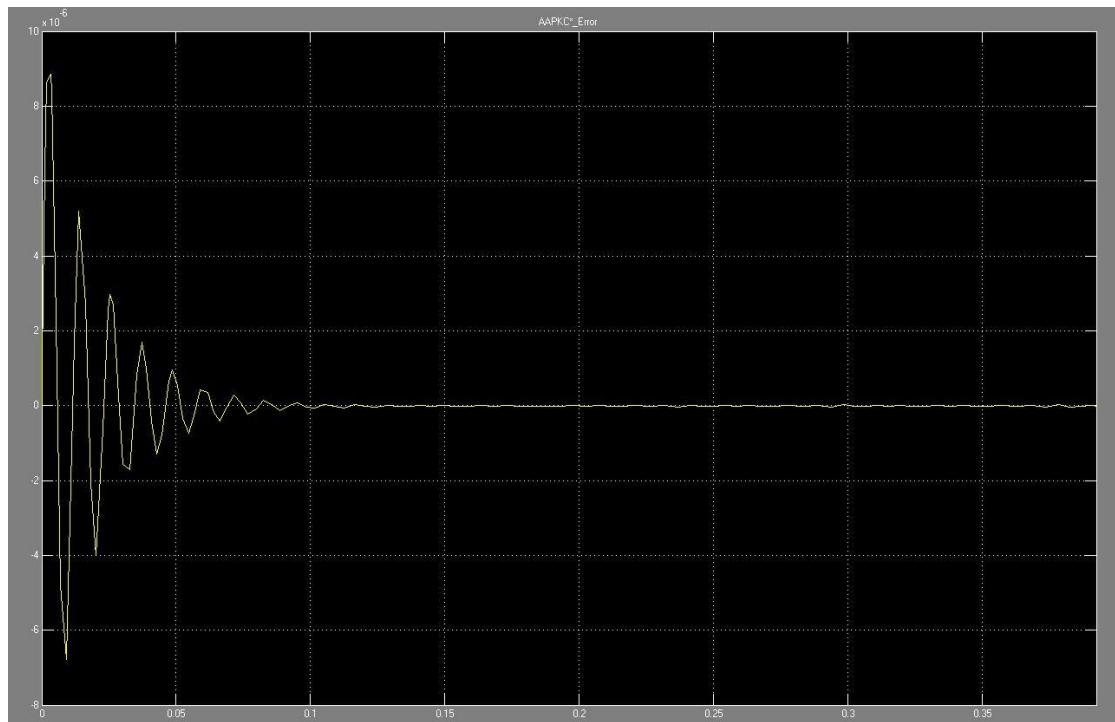
[Εικ. 5.16: $f(t, M1, F1)$]



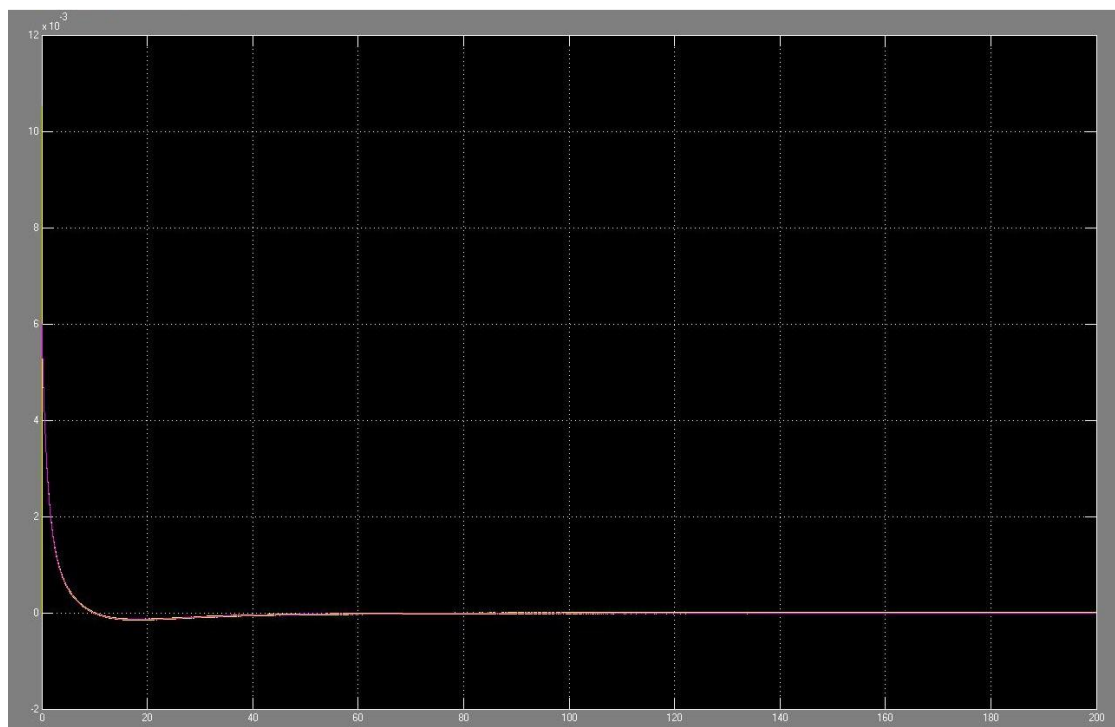
[Εικ. 5.17: $f(t, AAPKC^*, AAPKC^*_{est})$]



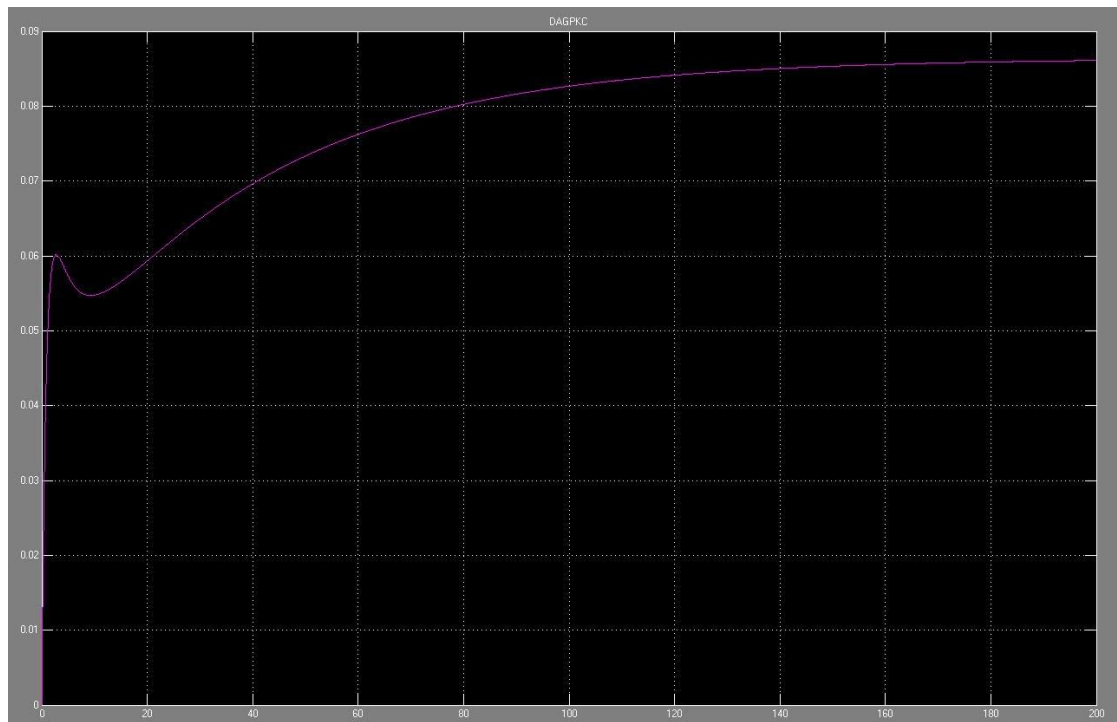
[Εικ. 5.18: $f(t, AAPKC^*_{Error})$]



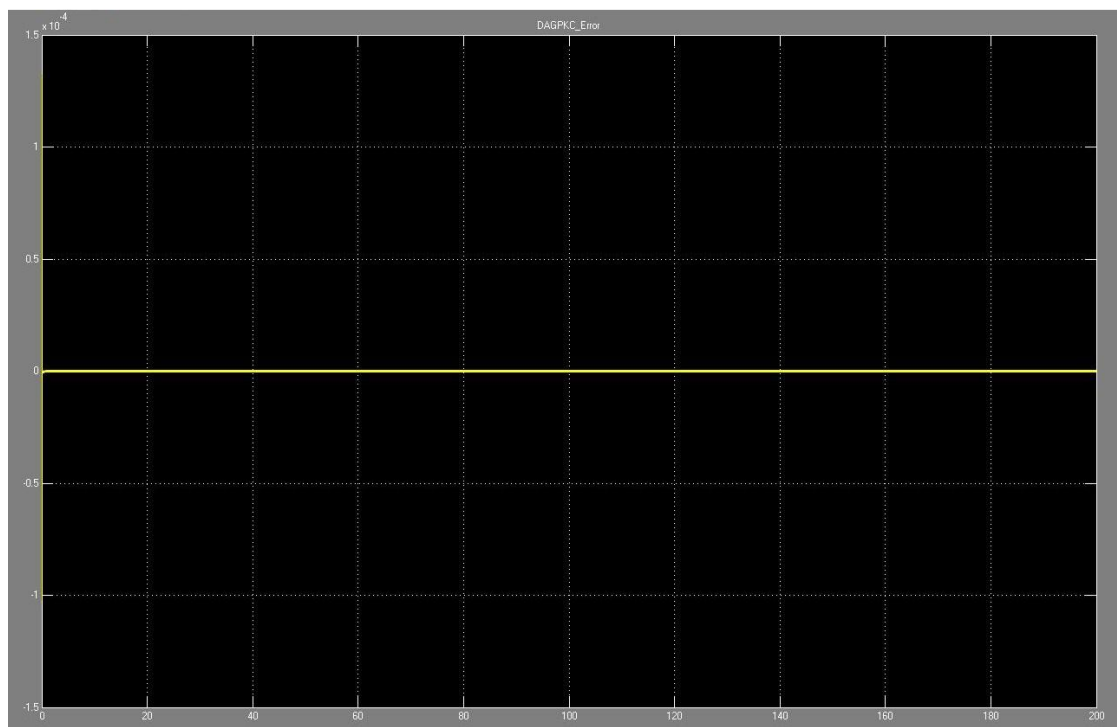
[Εικ. 5.19: $f(t, AAPKC^*_Error)$ - zoom]



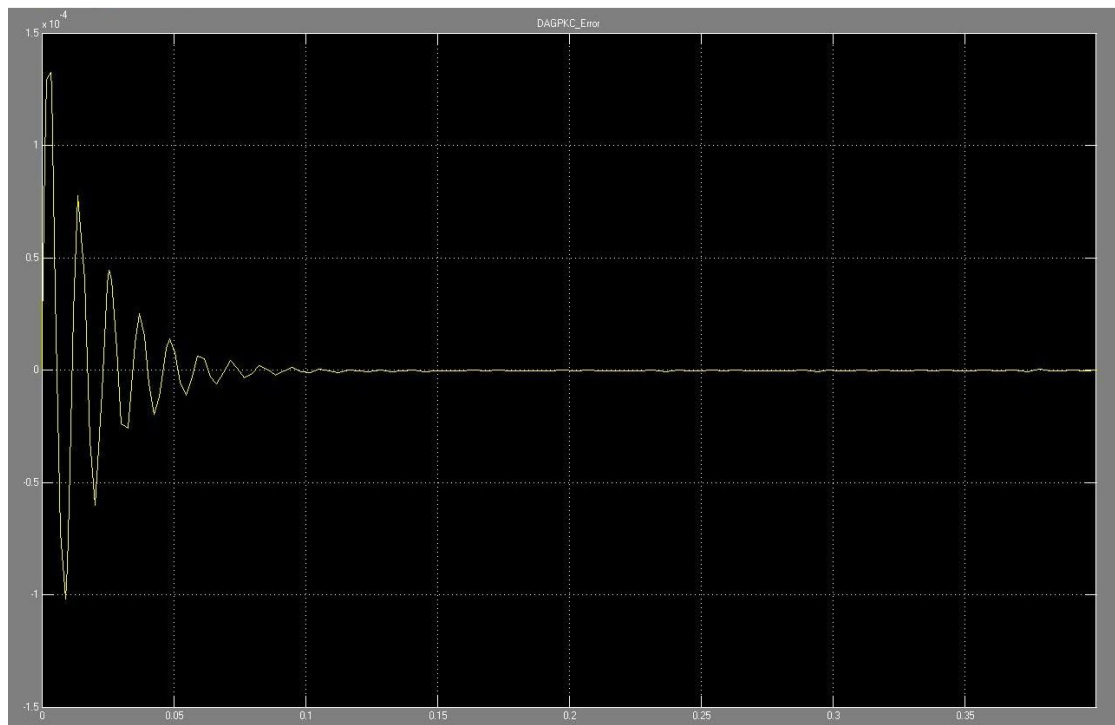
[Εικ. 5.20: $f(t, M2, F2)$]



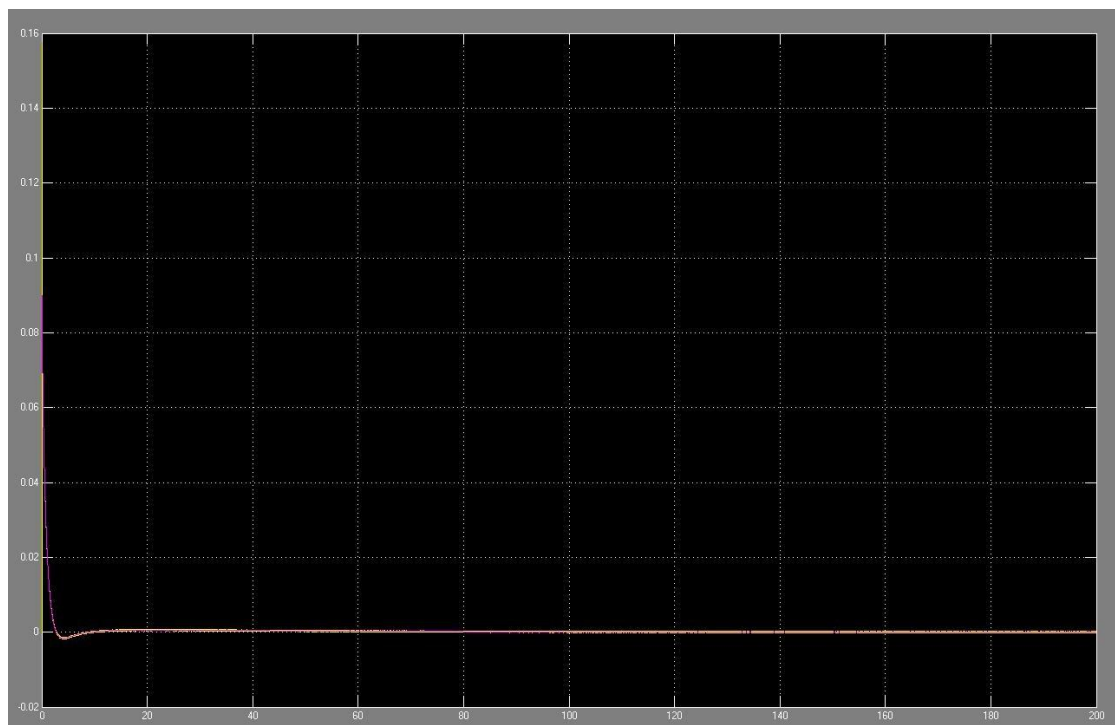
[Εικ. 5.21: $f(t, \text{DAGPKC}, \text{DAGPKC_est})$]



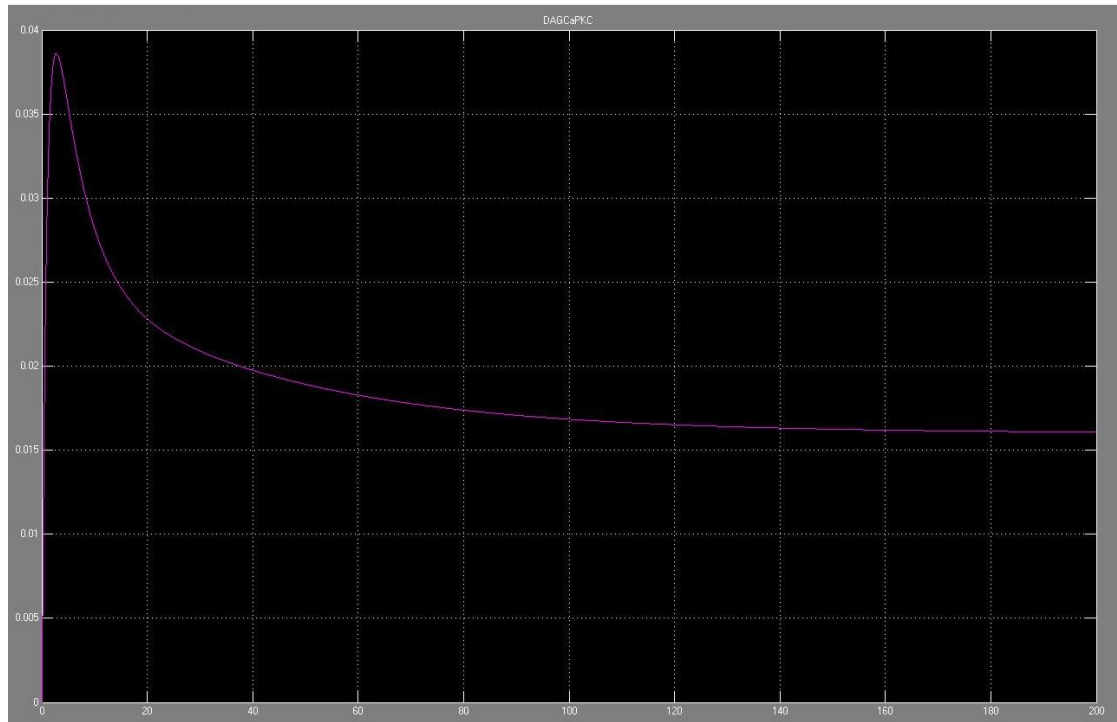
[Εικ. 5.22: $f(t, \text{DAGPKC_Error})$]



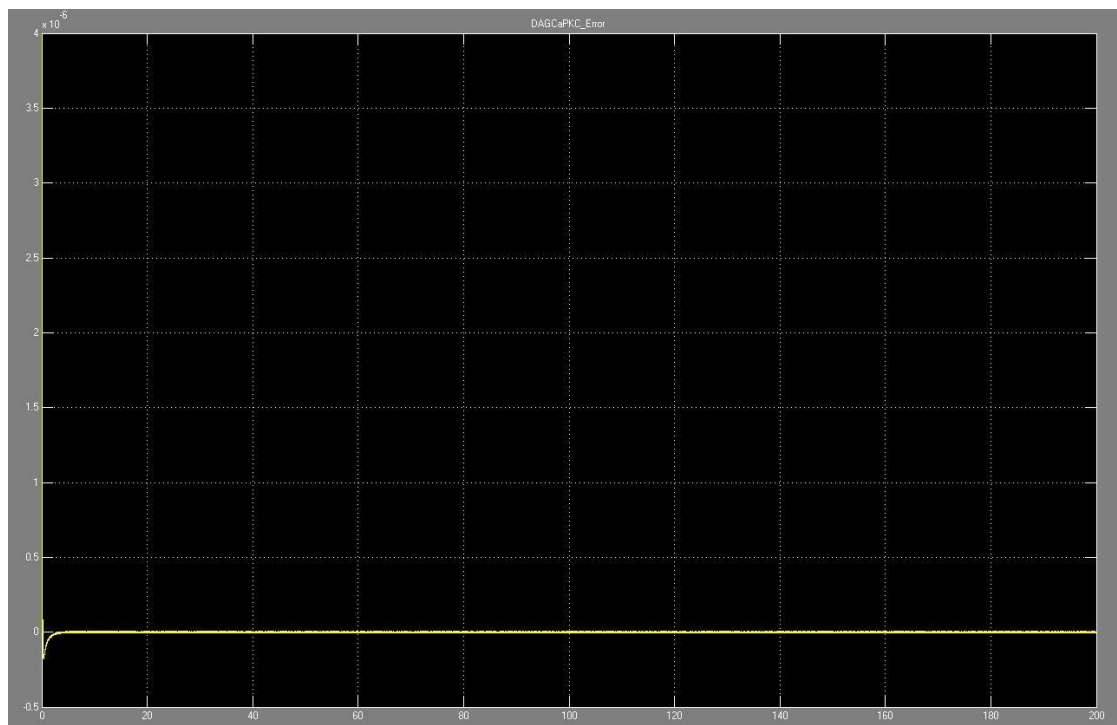
[Εικ. 5.23: $f(t, \text{DAGPKC_Error})$ - zoom]



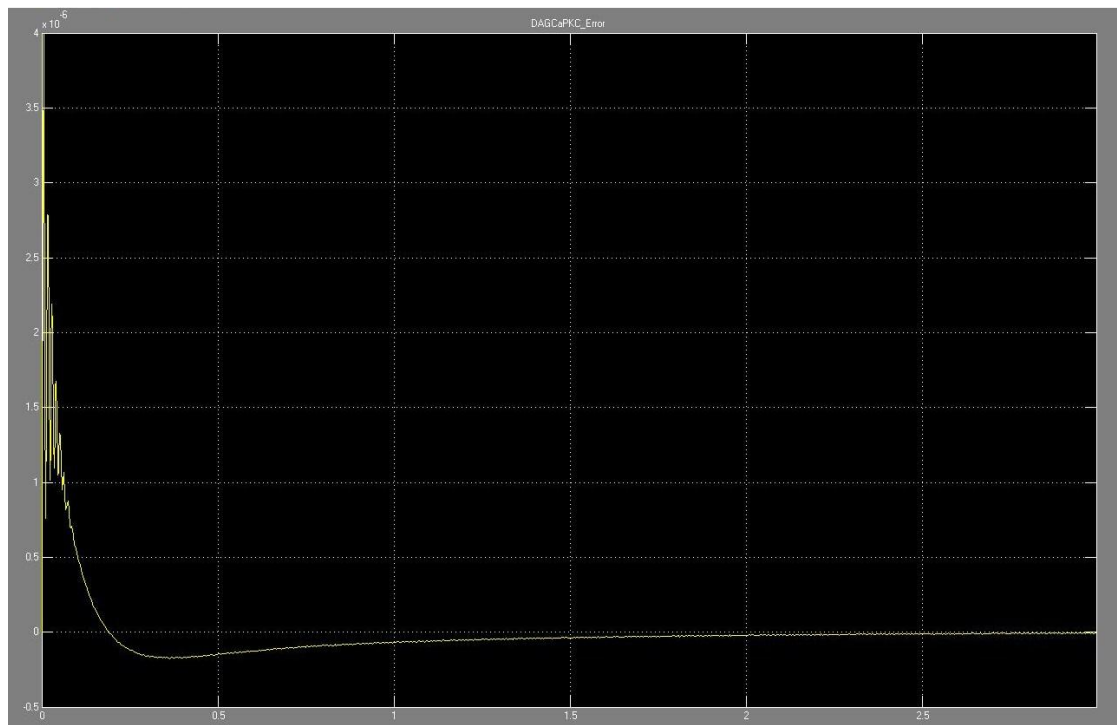
[Εικ. 5.24: $f(t, M9, F9)$]



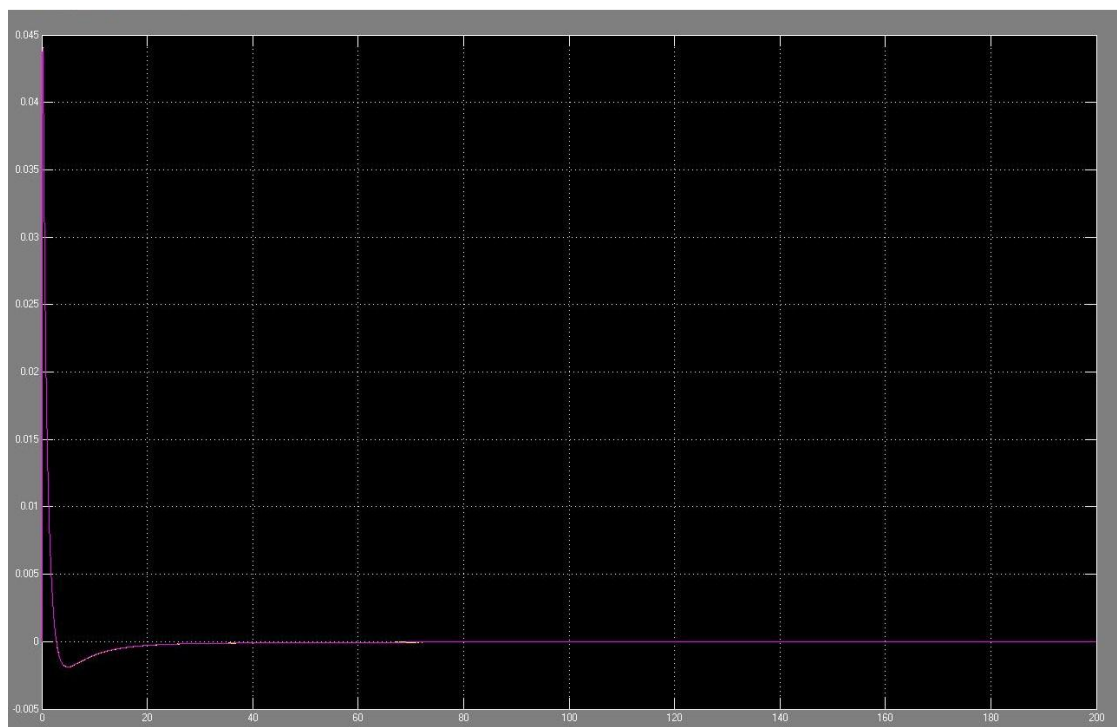
[Εικ. 5.25: $f(t, \text{DAGCaPKC}, \text{DAGCaPKC_est})$]



[Εικ. 5.26: $f(t, \text{DAGCaPKC_Error})$]



[Εικ. 5.27: $f(t, \text{DAGCaPKC_Error})$ - zoom]



[Εικ. 5.28: $f(t, M10, F10)$]

Κεφάλαιο 6

Συμπεράσματα – Μελλοντική Εργασία.

Σε αυτή την εργασία μελετούμε την αναγνώριση του PKC μονοπατιού σηματοδότησης χρησιμοποιώντας τον παρατηρητή RISE. Η πρωτεΐνη κινάση C (PKC) είναι πολύ σημαντική για τη λειτουργία των κυττάρων, καθώς επίσης και για την έρευνα σχετικά με τον καρκίνο. Το μοντέλο που χρησιμοποιήσαμε το πήραμε από τη βάση δεδομένων της Ποσοτικής Κυτταρικής Σηματοδότησης (Quantitative Cellular Signaling) (<http://doqcs.ncbs.res.in/>). Για τη δημιουργία ενός κινητικού μοντέλου, χρειάζεται να γνωρίζουμε τα πάντα σχετικά με τη δομή του συστήματος ως προς αναγνώριση. Όσο περισσότερα πραγματικά δεδομένα είναι διαθέσιμα τόσο καλύτερη και αποτελεσματικότερη είναι και η αναγνώριση. Ο παρατηρητής RISE προσδιορίζει το PKC μονοπάτι σηματοδότησης πάρα πολύ επιτυχημένα και ταυτόχρονα αρκετά γρήγορα, κάτι που είναι φανερό από τις καμπύλες απόκρισης που πήραμε με τη χρήση του Simulink της Matlab.

Ένα πιθανό επόμενο βήμα σχετικό με το έργο μας θα μπορούσε να είναι η διαδικασία του ελέγχου σε μονοπάτια που δεν λειτουργούν σωστά, έτσι ώστε να κατορθώνουμε να φέρνουμε το σύστημα στη σωστή δυναμική συμπεριφορά. Σε ιατρική ορολογία, μπορούμε να πούμε "να βρεθεί η θεραπεία για μια ασθένεια". Πιστεύουμε ότι, σε μια τέτοια διαδικασία ελέγχου, θα μπορούσε να είναι πολύ χρήσιμο το μοντέλο αναγνώρισης του παρατηρητή RISE που μελετήσαμε σε αυτή την εργασία να χρησιμοποιείται ως το πρώτο μέρος ενός αλγορίθμου ελέγχου (Indirect Control).

Τα πειράματα στο κύτταρο είναι αρκετά δύσκολα και πολύπλοκα. Μπορεί κανείς να φανταστεί πόσο δύσκολο είναι ακόμη και για τους βιολόγους να καταλάβουν μόνο από τα χημικά πειράματα την αλληλεπίδραση μεταξύ δύο ή περισσότερων κυττάρων. Η θεωρία ελέγχου παρέχει ισχυρά μαθηματικά εργαλεία που δίνουν τη δυνατότητα να γίνει ο τεράστιος αυτός αριθμός δεδομένων χρήσιμος και εύκολος στο χειρισμό. Συνοψίζοντας, οι τεχνικές γνώσεις που προέρχονται από μηχανικούς συστημάτων ελέγχου θα μπορούσαν να χρησιμοποιούνται σε συνεργασία με βιολογικές γνώσεις, προκειμένου να παραχθούν σημαντικά αποτελέσματα στον τομέα της ιατρικής.

References

1. Cell and Molecular Biology by S.C. Rastogi
2. Essential cell biology: "An introduction to the molecular biology of the cell" by Bruce Alberts
3. Cell biology: a short course by Steven R. Bolsover
4. http://library.thinquest.org/C004535/prokaryotic_cells.html
5. <http://www.biologymad.com/resources/AS%20Cells.pdf>
6. <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/basics/dna>
7. From genes to genomes: concepts and applications of DNA technology by Jeremy Dale, Malcolm von Schantz
8. <http://rarediseases.about.com>
9. <http://nobel.scas.bcit.ca/resource/dna/station2.htm>
10. www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/protein_synthesis.php
11. Olaf Wolkenhauer (2005). "Systems Biology: Dynamic Pathway Modeling In Preparation"
12. www.sysbio.de/info/background/index.shtml
13. www.systemsbiology.org
14. Systems biology: integration technology, biology and computational, Leroy Hood
15. E.D. Sontag, (2004) Systems Biology, 1, 9-18
16. Wikipedia®, The Free Encyclopedia, 2013, <http://www.wikipedia.org>
17. Pace NR (January 2001). ["The universal nature of biochemistry"](#). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (3): 805–8.
18. science.howstuffworks.com/cellular-microscopic-biology
19. Cotton, Frank Albert; Geoffrey Wilkinson, Carlos A. Murillo (1999). Advanced Inorganic Chemistry

20. Rhoades RA, Pflanzner RG (2002). Human Physiology (4th Ed.). Thomson Learning
21. <http://people.ku.edu/~jbrown/antibody.html>
22. Nils Bluthgen (2001). "Dynamical Models of signal Transduction and the Influence of Feedback Loops" Diploma Thesis, Institute of theoretical Biology University of Berlin
23. [Online.redwoods.c.c.ca/us/instruct/damold/deproj/spo2/sauceGent/Kinetics_Presentation.pdf](http://online.redwoods.c.c.ca/us/instruct/damold/deproj/spo2/sauceGent/Kinetics_Presentation.pdf): College of the Redwoods Math SS, Differential Equations Michaelis-Menten Enzyme Kinetics.
24. *Mathematical Models in Biology*. By Leah Edelstein-Keshet, McGraw-Hill, Boston, (1988)
25. *Garret and Grisham*. Biochemistry. Saunders College Publishing, 1988
26. *More Mechanism: A model of Enzyme Kinetics* Department of Physics, University of Pennsylvania
27. U.S. Bhalla and R. Iyengar, Emergent properties of networks of biological signaling pathways, *Science*, 283: 381-387, 1999
28. Database of Quantitative Cellular Signaling (DOQCS), <http://doqcs.ncbs.res.in>
29. S. Sivakumaran, S. Hariharaputran, J. Mishra, and U.S. Bhalla, The database of quantitative cellular signaling: Management and analysis of chemical kinetic models of signaling networks, *Bioinformatics*, 19: 408-415, 2003
30. Neural Networks. Herve Abdi, Dominique Valentin, Betty Edelman
31. <http://www.learnartificialneuralnetworks.com/>
32. Open Clinical: Knowledge management for medical care, "Neural Networks: an introduction", May 2005
33. "Neural networks" Statistica April 2005
34. www.gc.ssr.upm.es/inves/neural/
35. Haris E. Psillakis, Manolis A. Christodoulou, Thomas Giotis and Yannis Boutalis, "An Observer Approach for Deterministic Learning with Patchy Neural Networks", *International Journal of Artificial Life Research*, vol. 2, no. 1, pp. 1-16, 2011

36. J. Farrell, "Stability and approximator convergence in nonparametric nonlinear adaptive control," *IEEE Trans. Neural Netw.* vol. 9, no.5, pp.1008-1020, Sep. 1998.
37. V.P. Vapnik, "The Nature of Statistical Learning Theory", 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2000.
38. C.Wang, D.J.Hill and G.Chen, "Deterministic learning of nonlinear dynamical systems," in Proc.18th IEEE Int. Symp. Intell. Control, Houston, TX, pp8792, Oct.2003.
39. C.Wang and D.J.Hill, "Learning from neural control," *IEEE Trans. Neural Netw.*, vol. 17, no.1, pp.130146, Jan 2006.
40. C.Wang and D.J.Hill, "Deterministic learning and rapid dynamical pattern recognition," *IEEE Trans. Neural Netw.*, vol. 18, no.3, pp.617630, May 2007.
41. C.Wang and D.J.Hill, *Deterministic learning theory for identification, recognition and control*. ISBN 978-0-8493-7553-8, CRC Press, Boca Raton, 2010.
42. P.M.Patre, W.MacKunis, K.Kaiser and W.E.Dixon, "Asymptotic tracking for uncertain dynamic systems via a multilayer neural network feed forward and RISE feedback control structure," *IEEE Trans. Automat. Contr.*, vol.53, no. 9, pp. 2180-2185, Oct.2008.
43. B.Xian, D.M.Dawson, M.S. de Queiroz, and J.Chen, "A continuous asymptotic tracking control strategy for uncertain nonlinear systems," *IEEE Trans. Automat. Control*, vol. 49, no. 7, pp. 1206-1211, 2004.
44. P.M.Patre, W.MacKunis, C.Makkar and W.E.Dixon, "Asymptotic tracking for systems with structured and unstructured uncertainties," *IEEE Trans. Contr. Syst. Technol.*, vol. 16, no. 2, pp. 373-379, 2008.
45. P.A. Ioannou and J. Sun, *Robust Adaptive Control*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1996.

