

JACEK BŁĄŻEWICZ^{1,2}, DOROTA FORMANOWICZ³, PIOTR FORMANOWICZ^{1,2}

¹*Instituŧ Informatyki
Politechnika Poznańska
Piotrowo 2, 60-965 Poznań*

²*Instituŧ Chemii Bioorganicznej PAN
Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań*

³*Katedra Chemii i Biochemii Klinicznej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań*

*E-mail: Jacek.Blazewicz@cs.put.poznan.pl
doforman@ump.edu.pl*

Piotr.Formanowicz@cs.put.poznan.pl

ZASTOSOWANIE SIECI PETRIEGO DO MODELOWANIA PROCESÓW BIOLOGICZNYCH

WSTĘP

Biologia obliczeniowa jest nowoczesną dziedziną nauki rozwijającą się na styku biologii, matematyki oraz informatyki. Szybki rozwój nauk biologicznych i związane z nim gromadzenie coraz większych ilości informacji biologicznych, głównie sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych sprawiło, iż stało się jasne, że precyzyjna analiza systemów biologicznych jest w praktyce niemożliwa bez zastosowania narzędzi matematycznych i informatycznych. Rozwój metod odczytywania tego rodzaju sekwencji, związany w dużej mierze z realizacją Programu Poznania Ludzkiego Genomu, w znacznym stopniu przyczynił się do wzrostu znaczenia i przyspieszenia rozwoju biologii obliczeniowej. Z jednej strony, jej metody były niezbędne do wspierania powstawania nowych metod odczytywania sekwencji DNA (sekwencjonowanie i asemblacja), z drugiej zaś, szybko rosnąca liczba odczytanych sekwencji zdeponowanych w publicznie dostępnych bazach danych rodziła pilną potrzebę opracowania nowych, efektywnych metod analizy informacji zawartej w tych sekwencjach. Było to istotnym impulsem, który w ostatnich latach ubiegłego wieku przyczynił się do dynamicznego rozwoju biologii obliczeniowej. Rozwój ten trwa do dzisiaj, a metody matematyczne

i informatyczne, w większym lub mniejszym stopniu stosowane są w wielu gałęziach nauk biologicznych.

Jednym z obszarów ich zastosowań jest modelowanie złożonych procesów biologicznych. Opis tego rodzaju procesów w precyzyjnym języku odpowiedniej dziedziny matematyki, np. równań różniczkowych lub teorii grafów, umożliwia dokładną analizę ich struktury i funkcji, co byłoby w praktyce niemożliwe przy zastosowaniu mniej formalnych metod modelowania.

Wśród metod coraz szerzej stosowanych do opisu układów biologicznych warto zwrócić uwagę na sieci Petriego. Sieci tego typu, zaproponowane w 1962 r. przez K. A. Petriego w jego rozprawie doktorskiej (PETRI 1962), są stosowane w wielu dziedzinach techniki do modelowania różnego rodzaju systemów, zwłaszcza takich, w których zachodzą procesy współbieżne. Teoria sieci Petriego bardzo się rozwinęła, a idea zaproponowana przez ich odkrywcę ewoluowała w licznych kierunkach, co zaowocowało opracowaniem wielu odmian tego rodzaju sieci, posiadających cechy przydatne do modelowania różnorodnych systemów (MURATA 1989). Mimo intensywnego rozwoju teorii sieci Petriego do niedawna były one rzadko

stosowane do modelowania procesów biologicznych. Jednak wraz z rozwojem biologii systemów, na gruncie której podejmowane są próby całościowej analizy systemów biologicznych, rośnie również zainteresowanie możliwościami wykorzystania sieci Petriego do ich opisu (HARDY i ROBILLARD 2004, CHAOUTYA 2007, FISHER i HENZINGER 2007). Dzieje się tak też dlatego, że sieci tego rodzaju dają możliwości precyzyjnego opisu skompli-

kowanego układu zależności występujących w systemach biologicznych w stosunkowo przejrzysty sposób.

W niniejszej pracy przedstawione zostaną zagadnienia teorii sieci Petriego, których zrozumienie jest niezbędne dla ich wykorzystania do opisu systemów biologicznych. Zaprezentowane zostaną również przykłady zastosowania sieci Petriego do modelowania takich systemów.

DEFINICJA SIECI PETRIEGO

Sieć Petriego jest skierowanym grafem dwudzielnym, co oznacza, że jej zbiór wierzchołków można podzielić na dwa rozłączne podzbiory w taki sposób, że każdy łuk występujący w takiej sieci prowadzi od wierzchołka należącego do jednego z tych podzbiorów do wierzchołka należącego do drugiego podzbioru. Innymi słowy, nie ma w takim grafie łuków łączących dwa wierzchołki należące do tego samego podzbioru. Formalnie skierowany graf dwudzielny G zdefiniować można następująco:

$$G=(V,A),$$

gdzie: V jest zbiorem wierzchołków, A jest zbiorem łuków oraz

$$\forall_{(x,y) \in A} \begin{cases} V=V_1 \cup V_2, V_1 \cap V_2 = \emptyset, \\ (x \in V_1 \wedge y \in V_2) \vee (x \in V_2 \wedge y \in V_1) \end{cases}$$

Jednak sieć Petriego nie jest zwykłym grafem dwudzielnym – posiada ona pewne dodatkowe własności. Wierzchołki należące do jednego ze wspomnianych podzbiorów nazywane są miejscami, a wierzchołki należące do drugiego z nich określane są jako przejścia lub tranzycje. Miejsca odpowiadają zasobom opisywanego za pomocą sieci systemu, natomiast tranzycje reprezentują zdarzenia, jakie mogą w systemie zachodzić. W przypadku modelowania systemu biologicznego miejsca często odpowiadają związkom chemicznym, a tranzycje reakcjom, w których biorą one udział. W graficznej reprezentacji sieci Petriego miejsca oznaczane są za pomocą okręgów, a tranzycje za pomocą prostokątów (łuki, jak w każdym grafie skierowanym, oznaczane są za pomocą strzałek).

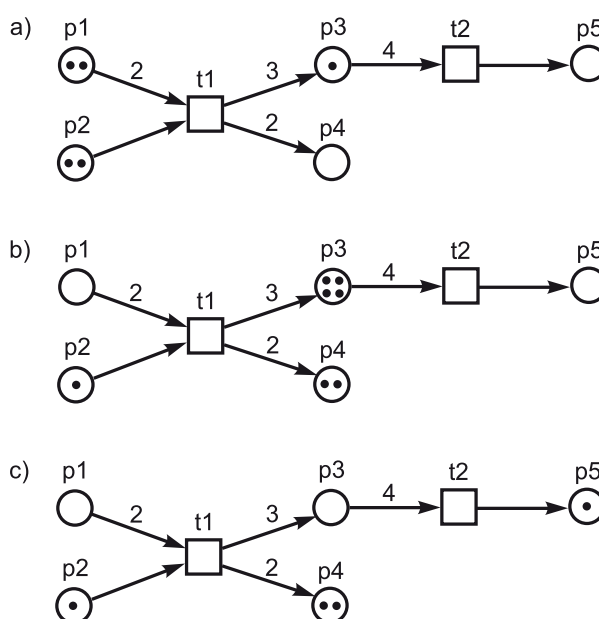
Wierzchołki obu rodzajów, wraz z łączącymi je łukami, wyznaczają strukturę sieci, ale nie wystarczają do zaistnienia w niej dynamiki, która jest niezbędna, by sieć Petriego mogła zostać wykorzystana do modelowania jakiegokolwiek procesu. Pojawia się ona

po wprowadzeniu do sieci znaczników oraz związanych z nimi zasad aktywacji tranzycji. W każdym momencie każde z miejsc może zawierać zero lub pewną całkowitą dodatnią liczbę znaczników, które można interpretować jako obecność w systemie określonej ilości zasobu reprezentowanego przez dane miejsce (np. określonej liczby pewnego rodzaju cząsteczek). Zatem wektor liczb znaczników obecnych w każdym z miejsc sieci, nazywany oznakowaniem, określa stan modelowanego systemu. Obecność określonych ilości pewnych zasobów może być warunkiem koniecznym do zajścia w systemie pewnych zdarzeń. W sieci Petriego modelowane jest to za pomocą połączenia łukami miejsc reprezentujących te zasoby z tranzycją odpowiadającą danemu zdarzeniu (miejsca te nazywane są miejscami wejściowymi tej tranzycji). Z łukami tymi skojarzone są wagi będące dodatnimi liczbami całkowitymi, które określają liczbę jednostek zasobu danego typu niezbędną do zajścia danego zdarzenia (jednostkom tym odpowiadają znaczniki). Na schemacie sieci wagi łuków umieszcza się w pobliżu strzałki reprezentującej dany łuk, przy czym jeżeli waga jest równa 1, to pomija się ją (tzn. każdy łuk bez przypisanej na schemacie wagi ma w rzeczywistości wagę równą 1). Również łuki, które łączą tranzycję z miejscami występującymi po niej (są to miejsca wyjściowe tranzycji), są opatrzone wagami, z tym że ich interpretacja jest inna – oznaczają one liczbę jednostek zasobów różnych rodzajów pojawiających się w systemie w wyniku zajścia zdarzenia, któremu odpowiada dana tranzycja. Oczywiście również i tym razem liczbom tym odpowiadają znaczniki, natomiast wspomnianym rodzajom zasobów odpowiadają miejsca, do których prowadzą łuki wychodzące z tej tranzycji. Wynika stąd, że zajściu danego zdarzenia odpowiada w sieci Petriego przepływ pewnej liczby znaczników

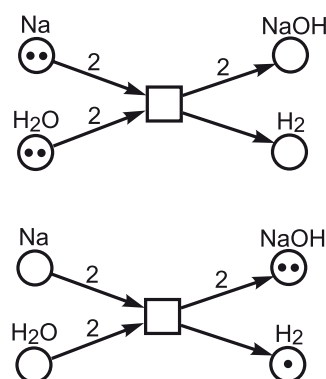
od miejsc wejściowych tranzycji do jej miejsc wyjściowych, przy czym liczba znaczników wpływających do tranzycji nie musi być równa liczbie znaczników z niej wypływających. Trzeba jeszcze dodać, że na schemacie sieci znaczniki są reprezentowane za pomocą kropek umieszczonych w miejscach, lub za pomocą odpowiadającej im liczby, jeśli jest ich w danym miejscu dużo.

W ten sposób opisana została zasada aktywacji tranzycji, która określa, czy dana tranzycja jest aktywna, tzn. czy może zostać wykonana – tranzycja jest aktywna, jeżeli w każdym z poprzedzających ją miejsc znajduje się liczba znaczników równa co najmniej wadze łuku łączącego to miejsce z tranzycją. Zilustrowane to zostało na Ryc. 1. Przedstawiona na nim sieć Petriego składa się z dwóch tranzycji i pięciu miejsc. Tranzycja t_1 ma dwa miejsca wejściowe – p_1 i p_2 oraz dwa miejsca wyjściowe – p_3 i p_4 . Miejsce p_3 jest jednocześnie miejscem wejściowym tranzycji t_2 , a miejscem wyjściowym tej tranzycji jest p_5 . Do wykonania tranzycji t_1 niezbędna jest obecność w miejscu p_1 co najmniej dwóch znaczników oraz co najmniej jednego znacznika w miejscu p_2 . Jako wynik wykonania tej tranzycji w miejscu p_3 pojawią się dodatkowe trzy znaczniki, a w miejscu p_4 dodatkowe dwa. Z kolei, by mogła zostać wykonana tranzycja t_2 konieczna jest obecność co najmniej czterech znaczników w miejscu p_3 , a wynikiem wykonania tej tranzycji będzie pojawienie się dodatkowego jednego znacznika w miejscu p_5 . W części Ryc. 1a przedstawiona jest sieć w stanie początkowym, w którym miejsca p_1 i p_2 zawierają po dwa znaczniki, miejsce p_3 zawiera jeden znacznik, a miejsca p_4 i p_5 nie zawierają żadnych znaczników. Jak widać, w tej sytuacji tranzycja t_1 może zostać wykonana, a tranzycja t_2 nie. Stan sieci po wykonaniu tranzycji t_1 przedstawiony jest w części Ryc. 1b. Zgodnie z opisanymi wcześniej regułami, wykonanie t_1 spowodowało wypłynięcie dwóch znaczników z p_1 i jednego znacznika z p_2 oraz wpływienie trzech znaczników do p_3 i dwóch do p_4 . W zaistniałej sytuacji tranzycja t_1 nie jest już aktywna, ale tranzycja t_2 może zostać wykonana. Stan sieci po jej wykonaniu przedstawiony jest w części Ryc. 1c. Jak widać, z miejsca p_3 wypłynęły cztery znaczniki, a jeden znacznik wpłynął do p_5 i żadna tranzycja nie jest aktywna.

Powyżej sieć Petriego została zdefiniowana w sposób nieformalny, warto jednak po-



Ryc. 1. Podstawowa zasada działania sieci Petriego.



Ryc. 2. Prosta reakcja chemiczna opisana za pomocą sieci Petriego.

dać również jej formalną definicję (MURATA 1989):

Sieć Petriego jest uporządkowaną piątką $PN=(P,T,F,W,M_0)$, gdzie:

$P=\{p_1,p_2,\dots,p_m\}$ jest skończonym zbiorem miejsc,

$T=\{t_1,t_2,\dots,t_m\}$ jest skończonym zbiorem tranzycji,

$A\subseteq(P\times T)\cup(T\times P)$ jest zbiorem łuków,

$W:A\rightarrow\{1,2,3,\dots\}$ jest funkcją wagi,

$M_0:P\rightarrow\{0,1,2,3,\dots\}$ jest oznakowaniem początkowym,

$P\cap T=\emptyset\wedge P\cup T\neq\emptyset$.

Przykładowo, dla sieci przedstawionej na Ryc. 1 mamy:

$P=\{p_1,p_2,p_3,p_4,p_5\}$,

$T = \{t_1, t_2\}$,
 $A = \{(p_1, t_1), (p_2, t_1), (t_1, p_3), (t_1, p_4), (p_3, t_2), (t_2, p_5)\}$
 $W: ((p_1, t_1), 2), ((p_2, t_1), 1), ((t_1, p_3), 3), ((t_1, p_4), 2),$
 $((p_3, t_2), 4), ((t_2, p_5), 1),$
 $M_0: (p_1, 2), (p_2, 2), (p_3, 1), (p_4, 0), (p_5, 0),$
 $P \cap T = \emptyset,$
 $P \cup T = \{p_1, p_2, p_3, p_4, p_5, t_1, t_2\}.$

Oznakowanie początkowe M_0 jest zazwyczaj zapisywane jako wektor m liczb

naturalnych, odpowiadających liczbom znaczników w kolejnych miejscach. Zatem, dla powyższego przykładu można napisać $M_0 = [2, 2, 1, 0, 0]$.

Na Ryc. 2 przedstawiony jest prosty przykład zastosowania sieci Petriego do modelowania reakcji chemicznych.

PODSTAWOWE WŁASNOŚCI STRUKTURALNE SIECI PETRIEGO

Jak każdy obiekt matematyczny, sieci Petriego posiadają pewne własności. Ponieważ sieci takie są zazwyczaj modelem jakiegoś systemu, analiza tych własności pozwala dowiedzieć się czegoś nie tylko o grafie, którym jest dana sieć, ale również o modelowanym systemie. Oczywiście, nie wszystkie własności sieci są równie ważne dla poznania natury opisywanego za jej pomocą systemu i to, które z nich są bardziej, a które mniej istotne zależy, przynajmniej w pewnym zakresie, od tego, jaki system jest modelowany. Przedstawione tu zostaną pewne podstawowe własności, których analiza może okazać się przydatna przy badaniu modeli m.in. procesów biologicznych.

Osiągalność. Jest to jedna z podstawowych własności sieci Petriego. Oznakowanie M jest osiągalne z oznakowania M_0 , jeżeli istnieje sekwencja wykonań tranzycji przeprowadzająca sieć z oznakowania M_0 do oznakowania M .

Ograniczoność. Sieć jest ograniczona, jeżeli dla każdego oznakowania osiągalnego z M_0 liczba znaczników w każdym z miejsc sieci nie jest większa niż k , gdzie k jest pewną nieujemną liczbą całkowitą. Jeżeli $k=1$, to sieć jest *bezpieczna*.

Strukturalna ograniczoność. Jeżeli sieć jest ograniczona dla każdego oznakowania

początkowego, to jest strukturalnie ograniczona.

Odwracalność. Jeżeli dla każdego oznakowania M osiągalnego z M_0 oznakowanie M_0 jest osiągalne z M , to sieć jest odwracalna.

Zwyczajność. Jeżeli każdy łuk ma wagę równą 1, to sieć jest zwyczajna.

Homogeniczność. Jeżeli każde miejsce w sieci ma tę własność, że wszystkie łuki wychodzące z tego miejsca mają równe wagi, to taka sieć jest homogeniczna.

Spójność. Jeżeli w grafie nieskierowanym skojarzonym z daną siecią istnieje ścieżka między każdą parą wierzchołków, to sieć jest spójna.

Silna spójność. Jeżeli w sieci istnieje skierowana ścieżka z dowolnego wierzchołka do każdego innego wierzchołka, to sieć jest silnie spójna.

Trwałość. Jeżeli dla dowolnej pary tranzycji wykonanie jednej z nich nie spowoduje, że druga tranzycja stanie się nieaktywna, to sieć jest trwała.

Konserwatywność. Jeżeli dla każdej tranzycji występującej w sieci suma wag łuków wchodzących do niej jest równa sumie wag łuków z niej wychodzących, to sieć jest konserwatywna.

ANALIZA NIEZMIENNIKÓW

Jedną z metod analizy dynamicznych własności sieci Petriego jest analiza jej niezmienników. Do wyjaśnienia, czym są niezmienniki sieci, niezbędne jest zdefiniowanie jej macierzy incydencji (MURATA 1989). Dla sieci Petriego o m miejscach i n tranzycjach macierz incydencji $C = [c_{ij}]$ składa się z m wierszy i n kolumn, a każdy jej element określony jest zgodnie ze wzorem $c_{ij} = c_{ij}^+ - c_{ij}^-$, gdzie c_{ij}^+ jest wagą łuku (t_i, p_j) , a c_{ij}^- jest wagą łuku (p_j, t_i) . Zatem c_{ij} oznacza zmianę liczb

by znaczników w miejscu p_j po wykonaniu tranzycji t_i . Przykładowo, dla sieci przedstawionej na Ryc. 1 macierz incydencji ma postać:

$$C = \begin{bmatrix} -2 & 0 \\ -1 & 0 \\ 3 & -4 \\ 2 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

t-niezmiennik jest wektorem x liczb naturalnych spełniających równanie $C \cdot x = 0$. Podobnie zdefiniowany jest p-niezmiennik – jest to wektor liczb naturalnych spełniających równanie $y \cdot C = 0$ (LAUTENBACH 1973, MURATA 1989). t-Niezmiennik odpowiada multizbiorowi tranzycji (multizbiór jest obiektem podobnym do zbioru, lecz możliwe jest w nim występowanie wielu kopii tego samego elementu, co w zbiorze jest niemożliwe), których uruchomienie (wszystkich, każdą odpowiednią liczbę razy) nie zmienia oznakowania sieci. Z kolei p-niezmiennik odpowiada zbiorowi miejsc, w którym ważona liczba znaczników nie zmienia się. Zbiór tranzycji, które odpowiadają niezerowym współrzędnym t-niezmiennika x nazywany jest nośnikiem tego niezmiennika. Analogicznie zdefiniowany jest nośnik p-niezmiennika (MURATA 1989,

SZPYRKA 2008). Niezmiennik jest *minimalny*, jeżeli nie zawiera żadnego innego niezmiennika.

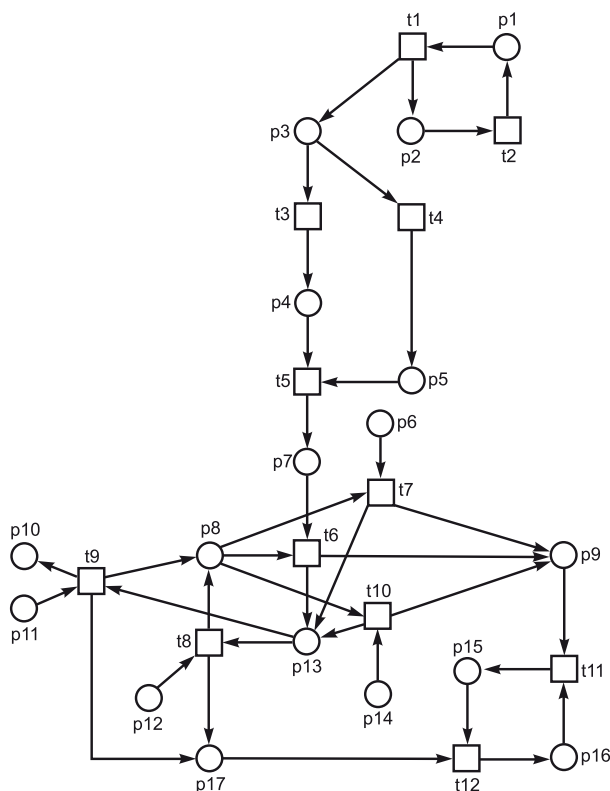
W zastosowaniach biologicznych minimalne t-niezmienniki odpowiadają pewnym podstawowym zachowaniom modelowanego systemu (HEINER i współaut. 2004), natomiast p-niezmienniki opisują pewnego rodzaju zachowywanie substratów (ZEVEDEI-OANCEA i SCHUSTER 2003). Ponieważ każdy niezmiennik jest liniową kombinacją minimalnych niezmienników, analizując własności sieci Petriego związane z niezmiennikami można ograniczyć się do tego rodzaju niezmienników. W celu zweryfikowania opartego na sieci Petriego modelu systemu biologicznego znaczenie biologiczne wszystkich t-niezmienników oraz p-niezmienników powinno zostać określone.

PRZYKŁADY BIOLOGICZNYCH ZASTOSOWAŃ SIECI PETRIEGO

Jednym z bardzo złożonych procesów biologicznych, do którego precyzyjnego opisu i analizy wykorzystano sieci Petriego, jest proces utrzymywania równowagi żelazowej w organizmie człowieka. Żelazo jest istotnym elementem wielu procesów zachodzących w organizmie ludzkim, jest niezbędne dla wielu funkcji komórkowych oraz do prawidłowego funkcjonowania i rozwoju organizmu. Jednak jest ono słabo rozpuszczalne, a jego nadmiar jest szkodliwy, gdyż może prowadzić do powstawania toksycznych wolnych rodników. Ponadto, organizm ludzki ma bardzo ograniczone możliwości usuwania żelaza z ustroju. Stąd, komórki wykształciły mechanizmy zwiększania rozpuszczalności żelaza i kontrolowania jego międzykomórkowego stężenia. Jednak mechanizmy te nie zostały dotąd w pełni poznane. W pracach SACKMANN i współaut. (2007) i FORMANOWICZ i współaut. (2007) przedstawiony został oparty na sieciach Petriego model głównej części tego złożonego procesu. Zastosowanie sieci Petriego umożliwiło stworzenie precyzyjnego, a zarazem bardzo przejrzystego modelu, ujmującego w sposób ścisły wiele aspektów analizowanego procesu, które wcześniej opisywane były w literaturze często w sposób przybliżony, znacznie utrudniający dokładną analizę tego zagadnienia. We wspomnianych pracach przedstawiono wyniki analizy własności strukturalnych zaproponowanego modelu i analizy jego niezmienników oraz

zaprezentowano pewne biologiczne wnioski wypływające z tej analizy.

W pracy SACKMANN i współaut. (2009) model utrzymywania homeostazy żelazowej w organizmie człowieka został rozszerzony o udział hepcydyny i regulację jej syntezy pod wpływem niedokrwistości, niedotlenienia oraz stężenia trzech białek, tj. białka HFE, receptorów transferyny (TfR1 i TfR2) i hemajuweliny. Hepcydyna, białko odkryte w 2001 r. (PARK i współaut. 2001), stanowi ogniwo łączące proces zapalny i niedokrwistość, szczególnie niedokrwistość wynikającą z niedoboru żelaza. Odgrywa ono istotną rolę w utrzymywaniu właściwego stężenia żelaza u osób z niedokrwistością i współistniejącym procesem zapalnym. Wzbogacenie modelu o to białko pozwala analizować sytuację, jaka ma miejsce u chorych z przewlekłą chorobą nerek, wymagających leczenia hemodializą. Na jego podstawie można zweryfikować przydatność oznaczania w surowicy krwi stężenia hepcydyny jako markera rzeczywistego niedoboru żelaza u osób, u których rutynowo stosowane wskaźniki laboratoryjne, ze względu na ich zależność m. in. od procesu zapalnego, nie są przydatne. Ponadto, możliwa jest analiza wpływu wielu różnych czynników na wielkość stężeń poszczególnych białek występujących w tym modelu. Jest on w tej chwili najprawdopodobniej najbardziej kompleksowym i precyzyjnym opisem metabolizmu żelaza w organizmie człowieka. Pozwala analizować oprócz stanów fizjologicz-



Ryc. 3. Model procesu regulacji hepacydyny.

nych także stany patologiczne. Warto dodać, że ze względu na dostępność narzędzi do graficznej symulacji sieci Petriego, model ten może również służyć jako bardzo intuicyjna pomoc dydaktyczna. Na Ryc. 3 przedstawio-

ny jest fragment opisywanego modelu odpowiadający procesowi regulacji hepacydyny. W Tabeli 1 znajdują się nazwy miejsc i tranzycji zawartych w tej sieci.

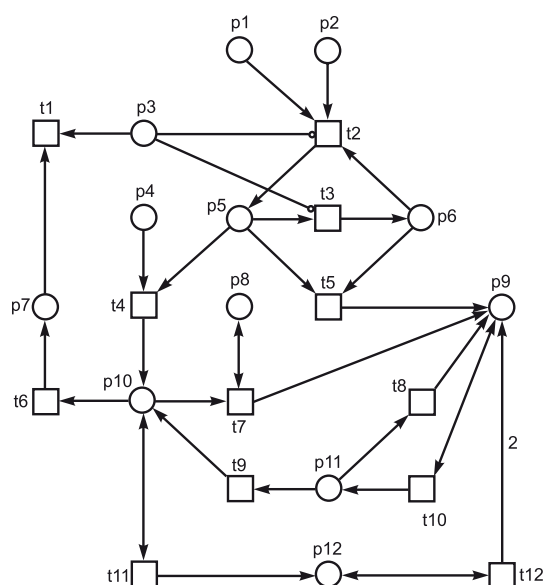
W pracy BŁĄŻEWICZA i współaut. (2009) przedstawiony został trzon modelu procesu homeostazy żelaza, do którego utworzenia zastosowano nowego rodzaju sieci Petriego, za pomocą których możliwe jest opisanie czasu trwania wybranych procesów. W modelu tym ta własność sieci została wykorzystana m. in. do opisanie czasu życia erytrocytów. Nie można tego zrobić za pomocą standardowych sieci Petriego, a dodanie tej możliwości pozwoliło w bardziej precyzyjny sposób opisać proces usuwania żelaza z organizmu.

Formanowicz i współpracownicy (dane niepublikowane) na podstawie opisywanego modelu badali wpływ procesu zapalnego na zmiany stężeń białek biorących udział w metabolizmie żelaza. Stwierdzono, że lek podawany osobom z chorobą nerek i niedokrwistością – erytropoetyna, może mieć wpływ na stężenie receptora transferyny w surowicy krwi, co stawia pod znakiem zapytania użyteczność tego receptora do oceny stanu gospodarki żelazowej u tych osób. Jest to szczególnie istotne, gdyż receptor ten uważany był za bardzo dobry wskaźnik, którego stężenie jest w dużym stopniu niezależne od innych czynników.

Innym złożonym procesem biologicznym, do którego modelowania i analizy zastosowa-

Tabela 1. Lista nazw miejsc i tranzycji sieci modelującej regulację hepacydyny

ID	nazwa miejsca	ID	nazwa tranzycji
1	brak procesu zapalnego	1	proces zapalny
2	proces zapalny	2	regeneracja
3	sygnał inicjujący proces zapalny	3	ekspresja białka HFE
4	niezwiązane białko HFE	4	wzrost stężenia interleukiny – 6
5	interleukina – 6	5	ekspresja HAMP
6	sygnał inicjujący działanie hemojuweliny	6	wzrost stężenia hepacydyny (w wątrobie)
7	dużo białka HAMP	7	wzrost stężenia hepacydyny
8	mało hepacydyny	8	hamowanie działania hepacydyny
9	sygnał hamujący działanie feroportyny	9	obniżenie stężenia hepacydyny
10	niedokrwistość – sygnał 2	10	wzrost stężenia hepacydyny (w wątrobie)
11	niedokrwistość – sygnał 1	11	hamowanie obniżenia stężenia feroportyny
12	dużo erytropoetyny	12	wzrost stężenia feroportyny
13	dużo hepacydyny		
14	zależności pomiędzy receptorem transferyny i hepacydyną – sygnał		
15	mało feroportyny		
16	dużo feroportyny		
17	pozytywny sygnał dla działania feroportyny		



Ryc. 4. Model procesu powstawania komórek piankowatych.

no sieci Petriego jest proces powstawania i rozwoju miażdżycy. W pracy FORMANOWICZ i współaut. (2008) przedstawione zostały wstępne wyniki badań prowadzonych w tej dziedzinie. Jak wiadomo, miażdżycy jest chorobą bardzo powszechnie występującą i przyczyniającą się do powstawania wielu chorób sercowo-naczyniowych, które pomimo intensywnego leczenia obciążone są dużą śmiertelnością. Powstawanie i rozwój miażdżycy jest przykładem procesu biologicznego, który pomimo wielu badań nie jest w pełni poznany. Tworzenie blaszki miażdżycowej jest bardzo złożonym procesem, w którym wyróżnić można wiele reakcji zachodzących częściowo niezależnie od siebie, a częściowo ściśle ze sobą powiązanych. Zgodnie ze współczesnym stanem wiedzy na temat prze-

biegu tego procesu istotne znaczenia mają teoria lipidowa, teoria oksydacyjna, teoria uszkodzenia śródbłonka naczyniowego oraz wszelkie reakcje związane z rozwojem stanu zapalnego (LIBBY 2002, LIBBY i współaut. 2002, SKOCZYŃSKA 2006, JAWIEŃ 2008). We wspomnianej wcześniej pracy podjęto próbę stworzenia całościowego modelu tworzenia i narastania blaszki miażdżycowej w świetle naczyń tętniczego w oparciu o połączenie wszystkich wymienionych teorii. O tym, że miażdżycy stanowi bardzo złożony problem świadczy fakt, że co pewien czas pojawiają się nowe koncepcje dotyczące przyczyn jej powstawania. Dotąd nie są znane metody w pełni skutecznego leczenia ani zapobiegania tej bardzo powszechnej chorobie. Wiedza na jej temat ewoluowała od udziału dużej ilości lipidów w diecie jako podstawowego czynnika wywołującego miażdżycę, poprzez wpływ czynników zapalnych i immunologicznych do koncepcji łączących wszystkie te czynniki i wiele innych.

Zaproponowany model jest bardzo rozbudowany – składa się z siedmiu sieci opisujących główne składowe modelowanego procesu. Na Ryc. 4 przedstawiona została jedna z nich, odpowiadająca procesowi powstawania komórek piankowatych, które są podstawowym budulcem blaszki miażdżycowej. W Tabeli 2 znajdują się natomiast nazwy miejsc i tranzycji tej sieci. Znając dokładny model procesu powstawania i rozwoju miażdżycy można spróbować wytypować i dokładnie przeanalizować te jego fragmenty, w stosunku do których istnieje potencjalna możliwość ich zablokowania i w efekcie być może stworzeniu nowego leku, a których dotąd nie brano pod uwagę przy leczeniu tego złożonego zaburzenia. Wynika to z faktu, że całościowe

Tabela 2. Lista nazw miejsc i tranzycji sieci przedstawiającej proces powstawania komórek piankowatych

ID	nazwa miejsca	ID	nazwa tranzycji
1	wolne rodniki tlenowe	1	wypływ cholesterolu
2	cholesterol LDL	2	reakcja
3	cholesterol HDL	3	aktywacja
4	receptor zmiatający	4	reakcja
5	utleniony (oxy-) LDL	5	uszkodzenie
6	płytki krwi	6	transformacja
7	komórka piankowata	7	pobudzenie
8	warunki pobudzenia	8	pobudzenie
9	zapalenie	9	transformacja
10	makrofag	10	produkcja
11	monocyty	11	wydzielanie
12	cytokiny	12	pobudzenie komórek śródbłonka

(systemowe) podejście do analizy badanego procesu, jakie jest możliwe na podstawie precyzyjnego modelu przedstawionego w

postaci sieci, nie było dotąd stosowane przy poszukiwaniach nowych leków przeciwdżdycowych.

ROZSZERZENIA SIECI PETRIEGO

Potencjalnie sieci Petriego dają duże możliwości modelowania różnorodnych systemów, jednak niektóre procesy trudno jest opisać za ich pomocą, stąd teoria z nimi związana jest cały czas rozwijana, co zaowocowało zdefiniowaniem pewnych rozszerzeń standardowych sieci posiadających cechy przydatne do modelowania i symulacji m.in. systemów biologicznych. Jednym z takich rozszerzeń są funkcyjne sieci Petriego (VALK 1978). W sieciach tego typu łuki są zaetykietowane funkcjami, a nie konkretnymi liczbami, jak ma to miejsce w klasycznych sieciach. Zmienne występujące w tych funkcjach określają liczby znaczników w poszczególnych miejscach, a zatem zmiana oznakowania sieci zmienia wagi łuków. W kontekście modelowania procesów biologicznych własność ta jest szczególnie przydatna do modelowania wpływu zmian stężenia reagentów na szybkość zachodzenia reakcji. Innymi słowy, stężenia, reprezentowane przez liczby znaczników w poszczególnych miejscach, są zmiennymi funkcji, które określają wagi łuków. Oznacza to, że szybkość zachodzenia reakcji reprezentowanej przez daną tranzycję jest modyfikowana w zależności od stężenia różnych substancji uwzględnionych w modelu. Inną modyfikacją klasycznej koncepcji są stochastyczne sieci Petriego, w których uruchomienie tranzycji nie następuje natychmiastowo, lecz zachodzi z pewnym opóźnieniem będącym zmienną losową (AJMONE i współaut. 1991). Przy modelowaniu procesów biologicznych opóźnienie to może być interpretowane jako szybkość zachodzenia reakcji i jest określone przez funkcję związaną z daną tranzycją. Sieci tego typu są wykorzystywane do modelowania i symulacji stochastycznych oddziaływań molekularnych (GOSS i PECCOUD 1998). W pracy SHAWA i współaut. (2005) pokazano ich zastosowanie do oceny parametrów kinetycznych za pomocą symulacji stocha-

stycznej. Kolejnym wariantem sieci Petriego, potencjalnie bardzo przydatnym do modelowania systemów biologicznych, są kolorowane sieci Petriego (JENSEN 1992). W tego typu sieciach występują znaczniki różnych typów nazywanych kolorami. Wagi łuków są w tym przypadku funkcjami kolorów. Dodanie kolorów do sieci ułatwia wyrażenie w jednym modelu różnych zachowań systemu, co może prowadzić do zmniejszenia rozmiaru modelu. W pracy VOSSA i współaut. (2003) przedstawiono zastosowanie kolorowanych sieci Petriego do analizy ilościowej sieci łączącej glikolizę i fosforan pentazy w erytrocytach. Do symulacji systemów biologicznych wykorzystuje się również zastosowanie hybrydowe sieci Petriego (ALLA i DAVID 1998). W sieciach tych, oprócz miejsc zawierających znaczniki, których liczba określona jest za pomocą liczb naturalnych i tranzycji, których uruchomienie wymaga wystąpienia w ich miejscach wejściowych odpowiedniej liczby znaczników, również określonej za pomocą liczb naturalnych, występują miejsca, które zawierają ilości znaczników określone za pomocą liczb rzeczywistych (znaczniki ciągłe) oraz tranzycje, do których przypisana jest wielkość nazywana szybkością, a określająca szybkość przepływu znaczników ciągłych z miejsc wejściowych do miejsc wyjściowych. Za pomocą sieci tego typu łatwiej jest modelować systemy biologiczne, dla których ze względu na ciągłość naturalną reprezentacją są układy równań różniczkowych. W pracy CHENA i HOFESTÄDTA (2003) przedstawiono zastosowanie sieci hybrydowych do modelowania i symulacji cyklu mocznikowego. Połączeniem idei sieci funkcyjnych i sieci hybrydowych są hybrydowe funkcyjne sieci Petriego (MATSUNO i współaut. 2001), które zostały wykorzystane m. in. do modelowania procesu indukowanej apoptozy (MATSUNO i współaut. 2003).

PODSUMOWANIE

Rosnąca ilość dostępnych danych biologicznych doprowadziła do zaistnienia sytuacji, w której możliwe staje się analizowanie ukła-

dów biologicznych jako systemów złożonych z wielu komponentów połączonych skomplikowaną siecią oddziaływań. Otwiera to dro-

gę do poznania natury wielu procesów zachodzących w organizmach żywych, których zrozumienie byłoby bardzo trudne lub wręcz niemożliwe przy zastosowaniu dominującego do niedawna podejścia polegającego na odrębnym badaniu poszczególnych komponentów systemów biologicznych. Obecnie wydaje się być oczywiste, że metody tego rodzaju, pomijające wiele zależności występujących między tymi składnikami na ogół nie może doprowadzić do dokładnego poznania analizowanego systemu. Nowe podejście systemowe do badania złożonych procesów biologicznych wymaga odpowiednich narzędzi do ich opisu. Modele takich procesów powinny być bardzo dokładne, by wnioski wyciągane na podstawie analizy ich własności ściśle odpowiadały rzeczywistości biologicznej. Od dłuższego czasu do opisu tego rodzaju systemów stosowane były układy równań różniczkowych, jednak coraz częściej tworzone są modele oparte na teorii grafów. Wśród me-

tod modelowania opartych na tej teorii te, które korzystają z sieci Petriego wydają się szczególnie dobrze odpowiadać układom biologicznym. Warto zwrócić uwagę na fakt, że teoria sieci Petriego jest intensywnie rozwijana i stosowana do modelowania systemów technicznych od wielu lat, w związku z czym opracowanych zostało wiele metod analizy oraz narzędzi do symulacji tego typu sieci. Stanowi to niewątpliwie ich zaletę, gdyż metody te mogą być w dużej mierze stosowane do analizy własności modeli procesów biologicznych wyrażonych w języku tej teorii. Modele takie są z jednej strony precyzyjne, a z drugiej, graficzna reprezentacja sieci Petriego jest przejrzysta i intuicyjna, co ułatwia ich interpretację i analizę. Można zatem oczekiwać, że coraz szersze stosowanie sieci Petriego w naukach biologicznych przyczyni się do lepszego poznania natury wielu istotnych procesów zachodzących w organizmach żywych.

APPLICATIONS OF PETRI NETS FOR MODELING OF BIOLOGICAL PROCESSES

Summary

Rapid growth of the amount of available biological data made it clear that an analysis of complex biological processes can be made only with the support of mathematics and computer sciences. It is especially important nowadays when the systems biology approach is becoming more and more widely used in biological science. This new way of investigation of biological phenomena allows, at least in principle, to observe complex relationships between different parts of the analyzed system. These interactions may be crucial for the system's nature and behavior, so observing them may lead to important biological discoveries. Probably the most important part of this

process consists in building of a formal model of the biological process. One of the promising methods of such an analysis is based on the theory of Petri nets. Models expressed in the language of this theory are very precise on the one hand, and on the other, they are intuitive, which makes their analysis easier in comparison, for example, to models based on ordinary differential equations. In this paper, a brief introduction to the theory of Petri nets is given and its applications for modeling of some exemplary biological processes are shortly discussed. Moreover, some extensions of the classical Petri nets and their biological applications are also presented.

LITERATURA

- AJMONE M., BALBO G., CHIOLA G., CONTE G., DONATELLI S., FRANCES-CHINIS G., 1991. *An introduction to generalized stochastic Petri nets*. Microelectron. Reliab. 34, 699-725.
- ALLA H., DAVID R., 1998. *Continuous and hybrid Petri nets*. J. Circuits Syst. Comput. 8, 159-188.
- BLAZEWICZ J., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., SAJKOWSKI M., SACKMANN A., 2009. *Modeling the process of human body iron homeostasis using a variant of timed Petri nets*. Discrete Applied Mathematics, doi: 10.1016/j.dam.2008.06.053
- CHEN M., HOFESTÄDT R., 2003. *Quantitative Petri net model of gene regulated metabolic networks in the cell*. In Silico Biol. 3, 0030.
- CHAOUÏYA C., 2007. *Petri net modelling of biological networks*. Brief. Bioinform. 8, 210-219.
- FISHER J., HENZINGER T. A., 2007. *Executable cell biology*. Nature Biotechnol. 25, 1239-1249.
- FORMANOWICZ D., SACKMANN A., FORMANOWICZ P., BLAZEWICZ J., 2007. *Petri net based model of the body iron homeostasis*. J. Biomed. Inform. 40, 476-485.
- FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., NOWAK T., 2008. *Modelowanie procesu powstawania i rozwoju miażdżycy za pomocą sieci Petriego*. Raport RB-24/08 Instytutu Informatyki Politechniki Poznańskiej.
- GOSS P., PECCOUD J., 1998. *Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 6750-6755.
- HARDY S., ROBILLARD P. N., 2004. *Modeling and simulation of molecular biology systems using Petri nets: modeling goals of various approaches*. J. Bioinform. Computat. Biol. 2, 619-637.
- HEINER M., KOCH I., WILL J., 2004. *Model validation of biological pathways using Petri nets-demonstrated for apoptosis*. BioSystems 75, 15-28.

- JAWIEŃ J., 2008. *Nowe immunologiczne spojrzenie na patogenezę miażdżycy*. Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej 118, 127-131.
- JENSEN K., 1992. *Coloured Petri nets: basic concepts, analysis methods an practical use*. Monographs on Theoretical Computer Sciences, Springer Verlag.
- LAUTENBACH K., 1973. *Exact liveness conditions of a Petri net class*. GMD Report, 82, Bonn.
- LIBBY P., 2002. *Inflammation in atherosclerosis*. Nature 420, 868-874.
- LIBBY P., RIDKER P. M., MASERI A., 2002. *Inflammation and atherosclerosis*. Circulation 105, 1135-1143.
- MATSUNO H., DOI A., HIRATA Y., MIYANO S., 2001. *XML documentation of biopathways and their simulations in Genomic Object Net*. Genome Inform. 12, 54-62.
- MATSUNO H., TANAKA Y., AOSHIMA H., DOI A., MATSUI M., MIYANO S., 2003. *Biopath-ways representation and simulation on hybrid functional Petri net*. In Silico Biol. 3, 0032.
- MURATA T., 1989. *Petri nets: properties, analysis and applications*. Proc. IEE 77, 541-580.
- PARK C. H., VALORE E. V., WARING A.J., GANZ T., 2001. *Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver*. J. Biol. Chem. 276, 7806-7810.
- PETRI C. A., 1962. *Communications with automata*. Schriften des IIM Nr.3, Institut für Instrumentelle Mathematik, Bonn, 16-27.
- SACKMANN A., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., KOCH I., BŁĄŻEWICZ J., 2007. *An analysis of the Petri net based model of the human body homeostasis process*. Computat. Biol. Chem. 31, 1-10.
- SACKMANN A., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., BŁĄŻEWICZ J., 2009. *New insights into the human body iron metabolism analysed by a Petri net based approach*. BioSystems 96, 104-113.
- SHAW O., STEGGLES J., WIPAT A., 2005. *Automati-parameterisation of stochastic Petri net models of biological networks*. Electronic Notes in Theoretical Computer Science 151, 111-129.
- SKOCZYŃSKA A., 2006. *Patogeneza miażdżycy*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław.
- SZPYRKA M., 2008. *Sieci Petriego w modelowaniu i analizie systemów współbieżnych*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- VALK R., 1978. *Self-modifying nets, a natural extension of Petri nets*. Lecture Notes in Computer Science 62, 464-476.
- VOSS K., HEINER M., KOCH I., 2003. *Steady state analysis of metabolic pathways using Petri nets*. In Silico Biol. 3, 0031
- ZEVEDEI-OANCEA I., SCHUSTER S., 2003. *Topological analysis of metabolic networks based on Petri net theory*. In Silico Biol. 3, 0029.