

Xarxes complexes en biologia cel·lular

M. Ángeles Serrano^{1,2}, Marta Sales-Pardo³, Tomás Alarcón^{2,4}, Roger Guimerà^{2,3}, Francesc Sagués⁵

¹ Departament de Física Fonamental, Universitat de Barcelona

² Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona

³ Departament d'Enginyeria Química, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona

⁴ Centre de Recerca Matemàtica, Bellaterra, Barcelona

⁵ Departament de Química Física, Universitat de Barcelona

RESUM

A les cèl·lules, una multitud de biomolècules canvien i interaccionen dinàmicament formant un entramat extraordinàriament complex que lliga metabolisme, proteoma i genoma entre si i amb l'entorn. Entendre com el conjunt de funcionalitats i comportaments cel·lulars emergeixen de tota aquesta complexitat d'interaccions en constant canvi i evolució és un dels grans reptes per al coneixement en el segle XXI. La ciència de les xarxes complexes ens permet abordar l'estudi de la biologia cel·lular a gran escala més enllà dels constituents individuals. Des d'aquest enfocament, en aquest article repassarem breument alguns dels resultats més recents en la investigació dels sistemes cel·lulars, incloent-hi la redundància i plasticitat del metabolisme, mètodes capaços de detectar errors en la determinació experimental d'interaccions entre proteïnes, i l'explicació de fenòmens evolutius en termes del mapa genotip-fenotip.

Doi: <http://dx.doi.org/10.2436/20.2001.01.10>

1 Interaccions a escala cel·lular

La cèl·lula és la unitat mínima i fonamental de la vida. Alguns organismes vius són de fet unicel·lulars, com ara els bacteris. En d'altres, diferents tipus de cèl·lules —tantes com centenars de bilions en els humans— s'agrupen i interaccionen per formar els diversos teixits, òrgans i sistemes que els componen. Totes les cèl·lules disposen d'un embolcall que les separa i a la vegada les comunica amb el medi que les envolta, amb el qual intercanvien energia i matèria. En el seu interior, un medi aquós acull el que a primera vista semblaria una densa sopa molecular. Una multitud de biomolècules canvien i interaccionen dinàmicament segons les lleis de la física i la química per donar lloc a una amalgama d'elaborades funcionalitats.

Tot i que a les cèl·lules hi ha milers de molècules diferents, aquestes es classifiquen en un nombre limitat de classes. Els àcids nucleics emmagatzemen i recuperen la informació necessària per construir altres macromolècules. Aquesta informació s'organitza en gens continguts en la seqüència de DNA i habitualment codifiquen proteïnes, les biomolècules cel·lulars més abundants i diverses. Un gen no sempre correspon, però, a una proteïna. Ara sabem que certes regions de codificació són moduls i participen en més d'un gen, i que alguns gens poden codificar proteïnes diferents. Les proteïnes desenvolupen funcionalitats molt variades i específiques, des de la integració de biomaterials estructurals fins a accions de transport o senyalització de les interaccions cel·lulars amb el medi. Algunes d'aquestes proteïnes actuen com a enzims que catalitzen les reaccions bioquímiques cel·lulars que de-

graden els nutrients per tal d'aconseguir els constituents bàsics i l'energia necessària per sintetitzar els diversos components cel·lulars, incloent-hi les proteïnes i els àcids nucleics. Molt simplificadament, les biomolècules que constitueixen el genoma, proteoma i metabolisme conformen el suport d'informació, la maquinària, i la cadena de processament de matèria i energia, elements que, integrats, fan possible la vida a nivell cel·lular.

Les relacions entre tots aquests elements no són ni aleatòries, ni simples, ni responen a una causalitat jeràrquica en la qual els diferents nivells d'organització cel·lular s'estructurarien a partir dels gens per codificar les proteïnes que, entre altres funcions, regulen el metabolisme i la resta de mecanismes cel·lulars. Al contrari, en l'autoorganització cel·lular hi ha diverses vies d'influència mútua i efectes de retroalimentació que involucren diferents nivells i que permeten que la cèl·lula s'autoreguli i autorepari. Per exemple, els gens codifiquen certes proteïnes especialitzades que, individualment o en associació, controlen l'expressió d'altres gens actuant com a factors que promouen o bloquen la transcripció del DNA en RNA, la qual cosa permet a la vegada regular les quantitats de les diverses proteïnes a la cèl·lula. També sabem que no hi ha funcions cel·lulars que depenguin d'un únic gen sinó que depenen de la cooperació de grans grups de proteïnes.

Per sort, moltes d'aquestes funcionalitats sembla que són moduls, de manera que grups de gens o proteïnes poden actuar sense alterar dramàticament la resta del funcionament cel·lular. A més, moltes funcions cel·lulars també depenen de les propietats d'altres molècules que no estan codificades pels gens i que participen o són el producte

de l'activitat metabòlica. Aquesta activitat està certament regulada per gens a través de proteïnes enzimàtiques però, a la vegada, certes respostes metabòliques poden induir reprogramacions radicals de l'expressió dels gens i, així, de l'estat cel·lular en conjunt. Per tant, la vida a nivell cel·lular no és el resultat d'un procés que flueix ordenadament a partir dels gens en una direcció. És el resultat d'un entramat extraordinàriament complex de xarxes d'interaccions que lliguen tots els nivells cel·lulars i l'entorn.

De fet, l'ambient en el qual resideix és un element vital per a la cèl·lula, que constantment el monitoritza. Alguns senyals externs, com ara les condicions de temperatura i pressió, la comunicació bioquímica amb altres cèl·lules, i la presència de nutrients o toxines, són captats per les cèl·lules que, com a conseqüència, varien de manera dinàmica l'expressió dels gens corresponents. Algunes condicions ambientals concretes poden fins i tot induir canvis cel·lulars heretables i causar marques bioquímiques que modifiquen l'estat epigenètic dels gens i, per tant, la seva probabilitat d'expressió. Tanmateix, la forma més radical d'alteració dels gens són les mutacions, espontànies o induïdes per productes químics o radiacions, que canvien la seqüència del DNA, cosa que generalment altera el producte dels gens o produeix una falta de funció. Aquestes mutacions tenen un paper central tant en l'evolució de les cèl·lules i la seva adaptació al medi com en el desenvolupament de malalties.

Un dels grans reptes de la ciència del segle XXI és entendre com el conjunt de característiques i comportaments cel·lulars observables —l'anomenat *fenotip*— emergeixen de tota aquesta complexitat d'interaccions cel·lulars en constant canvi i evolució. En la tradició moderna, l'estudi dels elements i processos cel·lulars s'ha basat principalment en la visió reduccionista adoptada per la biologia molecular, que ha proporcionat, tanmateix, un coneixement molt valuós sobre la composició química, l'estructura física, la capacitat d'interacció i de vegades la funció biològica de molts components cel·lulars. Malgrat tot, no ha estat capaç d'explicar la majoria de les característiques biològiques que sorgeixen com a fenòmens emergents de les interaccions complexes entre les diferents biomolècules, i que produeixen un comportament global que no és tan sols la suma de les parts i que mai es podria derivar del coneixement molecular per molt exhaustiu que aquest pogués ser.

En els darrers anys, s'estan desenvolupant noves tècniques experimentals i computacionals i marcs conceptuals adients per abordar els sistemes biològics cel·lulars a escala global [1]. Factors clau en aquest intent són les noves tècniques d'obtenció de dades biològiques experimentals a gran escala, el desenvolupament de suports i tècniques computacionals potents, i el desenvolupament de ciències innovadores com la teoria de xarxes complexes [2,3], que ha revelat com diferents sistemes biològics i també tecnològics i socials comparteixen principis universals

que governen la seva estructura, funcionalitat i evolució. Aquests avenços permeten una anàlisi sistemàtica de les relacions que governen les funcions a nivell cel·lular, cosa que produeix coneixement fonamental i que fa possible el desenvolupament d'aplicacions en biotecnologia i en biomedicina. L'estudi de les bioxarxes en aquests àmbits podria aportar els coneixements necessaris per desenvolupar nous tractaments en relació amb les malalties complexes com ara el càncer, les malalties neurodegeneratives i els trastorns metabòlics.

A continuació, explicarem breument alguns dels resultats més recents en la investigació dels sistemes biològics cel·lulars en tant que xarxes complexes. La integració d'aquests i altres coneixements sobre les diferents xarxes d'interaccions moleculars —genoma, proteoma, metabolisme— ens permetrà avançar cap a la formulació de models cel·lulars computacionals que en un futur no llunyà haurien de permetre reproduir els fenotips observats i predir i controlar respostes cel·lulars a canvis interns o ambientals.

2 Xarxes metabòliques

Les reaccions bioquímiques, que processen la matèria i l'energia cel·lulars a partir dels nutrients, s'entrellacen a través de productes i reactants formant una xarxa metabòlica complexa (figura 1). Típicament, aquesta xarxa conté de l'ordre de milers de reaccions i metabòlits. Per exemple l'*Escherichia coli* —un bacteri que usualment habita el tracte intestinal i que s'ha convertit en un dels microorganismes model més estudiats i coneguts— encabeix una xarxa metabòlica d'unes 2.250 reaccions i uns 1.100 metabòlits [4].

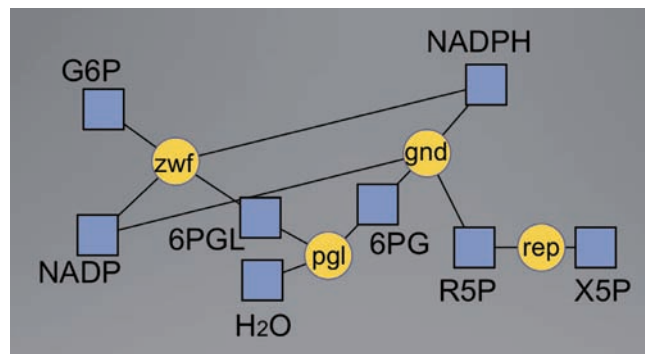


Figura 1: Representació com a xarxa bipartida d'un subconjunt de quatre reaccions bioquímiques en la via metabòlica de la pentosa-fosfat del bacteri *E. coli*. Els quadrats blaus representen reactants o productes i els cercles taronges representen les reaccions catalitzades per enzims. Els segments continus en negre denoten la participació d'un metabòlit en una reacció.

En les cèl·lules humanes, el metabolisme és aproximadament tres vegades més gran [5]. Modelitzacions del metabolisme cel·lular com a xarxa complexa [6,7] han revelat que la seva estructura a escala sistèmica no és ni completament ordenada ni completament aleatòria [8], sinó que presenta característiques comunes a altres xarxes complexes del món real: metabòlits, com ara l'ATP —que participen en un nombre elevadíssim de reaccions mentre que la majoria només intervé en una o dues—, alts nivells de redundància o diversitat de camins que connecten els mateixos reactius i productes, o la propietat coneguda com a «món petit», que indica que, de mitjana, un metabòlit pot esdevenir qualsevol altre amb un nombre molt baix de transformacions.

Més enllà de la consideració termodinàmica de la reactivitat, una definició d'afinitat bioquímica dels metabòlits basada en la informació de tot el sistema ens ha permès produir mapes cartogràfics [9,10] que mostren a cop d'ull l'estructura a gran escala del metabolisme cel·lular (figura 2), calcular mesures probabilístiques de l'ocurrència de les diferents reaccions bioquímiques [9,11], estudiar la complexitat de les rutes metabòliques [9] —sèrie de reaccions enzimàtiques consecutives que produeixen productes específics a partir de substrats específics i que no funcionen de manera independent—, i fins i tot preveure la probabilitat de formació de noves connexions bioquímiques amb precisió [10].

L'organització estructural de la qual hem parlat anteriorment fa que el metabolisme cel·lular sigui robust davant

de perturbacions aleatòries, malgrat que vulnerable a la fallida de certs elements concrets. L'anàlisi de la robustesa del metabolisme simula típicament l'efecte de l'eliminació o mutació negativa d'un gen codificador d'enzims metabòlics o el bloqueig d'una reacció, la qual cosa pot afectar el funcionament d'altres reaccions interconnectades i provocar finalment una fallida en cascada. Algunes reaccions o gens presenten un potencial de dany elevat [12,13] i en experiments amb bacteris s'ha vist que generalment són essencials per a la supervivència de l'organisme mentre que tendeixen a expressar-se de manera independent d'altres gens essencials. En qualsevol cas, l'impacte d'una reacció sobre el conjunt del metabolisme també es pot interpretar com una mesura de la capacitat de regulació selectiva de l'activitat metabòlica, bo i plantejant un balanç entre l'eficiència d'aquesta regulació i la vulnerabilitat de la xarxa metabòlica. Alguns resultats sobre metabolismes bacterians indiquen que la pressió evolutiva tendeix, de fet, a promoure impactes més grans i afavoreix, per tant, l'eficiència de la regulació del metabolisme a compte de la seva robustesa [14]. Tornarem a parlar d'aquest punt més endavant en aquesta contribució.

Aquesta interrelació entre eficiència funcional i robustesa també s'expressa en els fluxos de les reaccions. Depenent de la seva configuració, la cèl·lula podria arribar a assolir una gran varietat d'estats funcionals. Tanmateix, només se selecciona i expressa un subconjunt limitat que pot canviar amb els temps o les condicions ambientals, i que també es pot veure alterat per la disfunció o el blo-

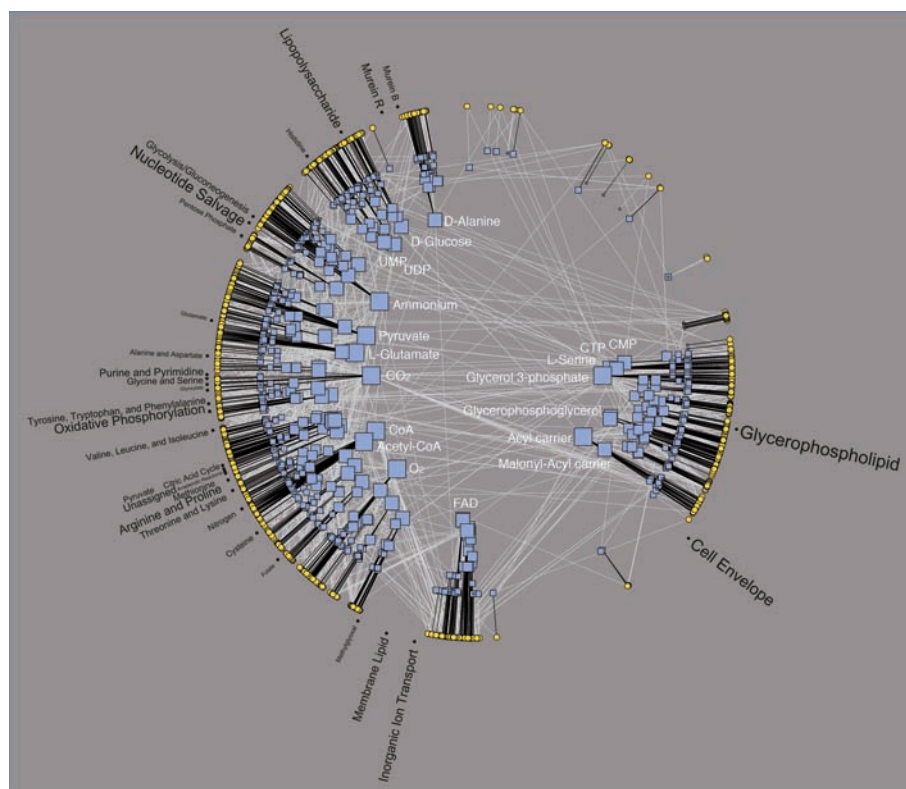


Figura 2: Mapa cartogràfic de la xarxa metabòlica del bacteri *E. coli*. Els quadrats blaus representen reactants o productes i els cercles taronges representen les reaccions catalitzades per enzims. Per cada metabòlit, la mida del símbol és proporcional al logaritme del nombre de reaccions de totes les xarxes en les quals aquest metabòlit participa. Els noms de les diferents vies metabòliques apareixen radialment a la mitjana de les posicions angulars de totes les reaccions de la via corresponent, i la mida és proporcional al seu nombre de reaccions. Les distàncies geomètriques en aquest mapa representen afinitats químiques derivades del conjunt d'informació contingut a tota la xarxa metabòlica.

queig de reaccions o gens. Afortunadament, la plasticitat i la redundància són dues estratègies a escala sistèmica que actuen en tots els sistemes biològics —des del cervell fins al genoma— i que protegeixen el metabolisme dels efectes negatius de mutacions genètiques o fallides de reaccions individuals no essencials [15]. La plasticitat s'expressa en el fet que certes reaccions actives en un cert estat metabòlic tenen reaccions inactives associades a manera d'alternatives que s'activen en cas de fallida de les primeres, mentre que la redundància es dona en l'ús simultani de diferents reaccions actives i dedicades al mateix processament. Les dues capacitats asseguren la robustesa cel·lular, però la plasticitat sembla un mecanisme més sofisticat que requereix una organització funcional més complexa.

3 Xarxes d'interaccions entre proteïnes

Com hem esmentat anteriorment, les proteïnes tenen propietats molt diverses dins la maquinària cel·lular que abasten processos molt diferents, des de la senyalització fins a la regulació. Això ho aconsegueixen normalment a través de la interacció física amb altres proteïnes, bé amb interaccions puntuals, bé formant part d'un complex. És per aquest motiu que l'estudi de l'estructura d'aquesta xarxa complexa d'interaccions físiques entre proteïnes ens pot donar pistes sobre quins són els punts febles dels organismes, el nivell de redundància i altres característiques estructurals que poden estar relacionades amb la resposta als canvis en l'entorn.

A diferència del metabolisme, les interaccions entre proteïnes no han estat tradicionalment ben documentades. En els últims quinze anys, el desenvolupament de tècniques acurades de detecció de proteïnes ha permès de fer experiments a gran escala per determinar simultàniament l'existència o no d'interaccions entre milers de parells de proteïnes. Aquest fet podria fer pensar que obtenir llistats exhaustius de l'existència d'interaccions entre parells de proteïnes és qüestió de temps, però la realitat és tota una altra. En l'espècie humana s'estima que hi ha unes 25.000 proteïnes i de l'ordre de 650.000 interaccions, de les quals el 2008 se n'havien detectat el 0,3 %, i actualment tan sols s'arriba al 2 % [16,17]. A aquest fet cal afegir que els experiments de laboratori que s'utilitzen sovint produeixen resultats erronis (tant falsos positius com negatius), la qual cosa resulta en què el percentatge d'interaccions contrastat sigui molt menor.

La presència d'errors resultat dels experiments a gran escala és un dels problemes més importants que hi ha a l'hora d'analitzar les xarxes d'interaccions, així que quantificar quin és l'efecte d'aquests errors i desenvolupar mètodes per detectar-los són qüestions fonamentals. Des del punt de vista de les xarxes aquest problema

es redueix a assignar una puntuació a cadascuna de les interaccions de la xarxa. Una puntuació alta significaria que la interacció és veritable i una puntuació baixa significaria que la interacció no es produeix en realitat. La física estadística ens proporciona les eines necessàries per obtenir aquesta qualificació: cal fer una mitjana sobre una col·lectivitat de models que podrien descriure la xarxa que observem. Així, per a cada model de la col·lectivitat cada connexió té assignada una puntuació, que té un pes proporcional a com és de bona la descripció que el model fa de la xarxa [18].

Aquesta metodologia és tan general que es pot aplicar a altres problemes dins de l'àmbit biomèdic, com per exemple a la detecció d'interaccions adverses entre fàrmacs. De fet, els efectes sobre la salut que pot tenir una mala combinació de fàrmacs és una de les preocupacions de les administracions sanitàries. Als Estats Units més del 25 % dels adults amb edats per sobre de 57 anys pren cinc o més fàrmacs diferents simultàniament i un 4 % presenta un alt risc de patir una reacció adversa greu.

Tenint en compte que hi milers de fàrmacs al mercat i un nombre similar de fàrmacs en desenvolupament, és clar que no es pot confiar exclusivament en assajos clínics o en la simulació de models farmacològics per preveure quins d'aquests fàrmacs poden interaccionar de manera adversa. Des d'un punt de vista de xarxes, el problema de predir noves interaccions entre fàrmacs és equivalent al de trobar la informació que falta a la xarxa (o a detectar falsos negatius en el cas de les interaccions físiques entre proteïnes). De fet, l'aplicació de la metodologia descrita anteriorment a la xarxa d'interacció de fàrmacs ens permet identificar noves interaccions encara no descrites anteriorment amb precisió [19].

El poder d'aquestes eines basades en la física estadística i les xarxes complexes a xarxes biològiques, per tant, no es limita a facilitar descripcions de la funcionalitat del sistema des d'un punt de vista sistèmic, sinó que també permet la creació d'eines predictives que es poden incorporar directament al procés de recerca, sigui per detectar errors en les dades o per ajudar en la caracterització de les interaccions adverses d'un nou fàrmac.

4 El mapa genotip-fenotip

Entendre com els fenotips emergeixen de les interaccions entre els gens i les proteïnes associades és un dels problemes fonamentals en biologia. Dintre del marc general de l'estudi del mapa genotip-fenotip, sorgeix un problema més restringit però de gran importància que té a veure amb la dinàmica evolutiva sota pressions selectives darwinianes i que es deriva del fet que aquest mapa no és unívoc, és a dir, que per cada fenotip hi ha una multiplicitat de genotips que el produeixen.

Les pressions selectives, al contrari del que es pressuposa en la gran majoria dels models de dinàmica evolutiva, actuen no sobre els genotips sinó sobre els fenotips. Aquest fet planteja un problema des del punt de vista de la dinàmica evolutiva, ja que la informació experimental a la qual normalment es té accés consisteix en freqüències de genotips. D'altra banda, la consideració del mapa genotip-fenotip permet explicar fenòmens evolutius com ara la coexistència de propietats aparentment antagòniques com la robustesa i la capacitat d'evolució [20].

Intuitivament, pot semblar que la robustesa i la capacitat d'evolució són conceptes en conflicte, ja que, per definició, els fenotips robustos són resistent als efectes de les mutacions. No obstant això, l'evidència s'acumula en el sentit contrari, és a dir, la robustesa fenotípica facilita la innovació evolutiva [21,22]. D'acord amb aquest punt de vista, l'espai de genotips té dues propietats genèriques que permeten conciliar la robustesa i capacitat d'evolució. La primera d'aquestes propietats és l'existència de xarxes neutrals, és a dir, subxarxes connexes de l'espai de genotips els nodes de les quals estan associats al mateix fenotip. La segona d'aquestes característiques és l'anomenat veïnatge del genòtip, que es defineix com el conjunt de genotips accessibles desde qualsevol altre en un nombre prescrit de mutacions.

Els dos models més utilitzats per estudiar el mapa genotip-fenotip han estat l'RNA [23] i les xarxes de regulació genètica [24]. D'acord amb el primer model, el genotip consisteix en una seqüència de L nucleòtids. Cadascuna té associada una estructura tridimensional que es pren com un *proxy* del fenotip i aquelles que no es pleguen correctament són classificades com a no viables. També s'han utilitzat els circuits de regulació genètica (CRG) per estudiar el mapa genotip-fenotip, en particular, les variants d'un model introduït per Wagner per estudiar la plasticitat fenotípica [24]. Aquests models són sistemes dinàmics les variables dels quals estan associades als nivells d'expressió dels gens corresponents i que estan definits per dos elements: una matriu les components de la qual especifiquen el tipus d'interacció entre dos gens (normalment, activació o inhibició), i una sèrie de regles que determinen l'evolució temporal dels nivells d'expressió dels gens. D'acord amb el model de Wagner [24], les components de la matriu determinen el genotip. El fenotip, seguint la proposta de Stuart Kauffman [25], està determinat pels valors d'expressió de cada gen a l'estat estacionari.

El concepte de xarxa neutral que hem esmentat anteriorment ha estat central per formalitzar aquestes discussions [20]. Va ser introduït per Lipman i Wilbur [26] i per Schuster et al. [27]. La xarxa neutral es defineix per a cada fenotip com un graf on els nodes es corresponen amb genotips —seqüències en el cas de l'RNA— que tenen associat aquest fenotip. Les arestes es col·loquen entre tots aquells parells de nodes que difereixen en una única mu-

tació. Aquests grafs reben el nom de *xarxa neutral* ja que aquelles mutacions genètiques que se circumscriuen a aquest graf canvien la conformació genètica de la cèl·lula, però no alteren el fenotip. L'existència d'aquestes xarxes és una conseqüència directa de la no unicitat del mapa genotip-fenotip.

Bibliografia

- [1] KARR, J. R., et al., A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype, *Cell*, **150**, 389-401, (2012).
- [2] NEWMAN, M., *Networks: An introduction*, Oxford University Press, Oxford (2010).
- [3] BARABÁSI, A. L., The Network Takeover, *Nature Physics*, **8**, 14-16 (2012).
- [4] ORTH, J. D., Conrad, T. M., NA, J., LERMAN, J. A., NAM, H., FEIST, A. M., PALSSON, B. Ø., A comprehensive genome-scale reconstruction of *Escherichia coli* metabolism, *Mol. Syst. Biol.*, **7**, 535 (2011).
- [5] THIELE, I., et al., A community-driven global reconstruction of human metabolism, *Nat Biotechnol.*, **31**, 419-425 (2013).
- [6] ALMAAS, E., KOVACS, B., VICSEK, T., OLTVAI, Z. N., BARABÁSI, A.L., Global organization of metabolic fluxes in the bacterium *Escherichia coli*, *Nature*, **427**, 839-843 (2004).
- [7] GUIMERÀ, R., AMARAL, L. A. N, Functional cartography of complex metabolic networks, *Nature*, **433**, 895-900 (2005).
- [8] COLOMER-DE-SIMÓN, P., SERRANO, M. A., BEIRÓ, M. G., ALVAREZ-HAMELIN, J.I., BOGUÑÁ, M., Deciphering the global organization of clustering in real complex networks, *Scientific Reports*, **3**, 2517 (2013).
- [9] SERRANO, M. A., BOGUÑÁ, M., SAGUÉS, F., Uncovering the hidden geometry behind metabolic networks, *Molecular BioSystems*, **8**, 843-850 (2012).
- [10] PAPAPOPOULOS, F., KITSACK, M., SERRANO, M. A., BOGUÑÁ, M., KRIOUKOV, D., Popularity versus Similarity in Growing Networks, *Nature*, **489**, 537-540 (2012).
- [11] SERRANO, M. A, SAGUÉS, F., Network-based confidence scoring system for genome-scale metabolic reconstructions, *BMC Systems Biology*, **5**, 76 (2011).

- [12] GÜELL, O., SAGUÉS, F., SERRANO, M. A, Predicting effects of structural stress in a genome-reduced model bacterial metabolism. *Scientific Reports*, **2**, 621 (2012).
- [13] GUIMERÀ, R., SALES-PARDO, M., AMARAL, L. A. N., A network-based method for target selection in metabolic networks *Bioinformatics*, **23(13)**, 1616-1622 (2007).
- [14] GÜELL, O., SAGUÉS, F., BASLER, G., NIKOLOSKI, Z., SERRANO, M. A., Assessing the significance of knockout cascades in metabolic networks, *J. of Computational Interdisciplinary Sciences*, **3**, 45-53 (2012).
- [15] GÜELL, O., SAGUÉS, F., SERRANO, M. A, Essential plasticity and redundancy of metabolism unveiled by synthetic lethality analysis, *PLOS Comput. Biol.*, **10**, e1003637 (2014).
- [16] MAL.A.N. Amaral, A truer measure of our ignorance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **105**, 6795-6796 (2008).
- [17] http://interactome.dfci.harvard.edu/H_sapiens/
- [18] R. GUIMERÀ, M. SALES-PARDO, Missing and spurious interactions and the reconstruction of complex networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **106**, 22073-22078 (2009).
- [19] GUIMERÀ, R., SALES-PARDO, M. A network inference method for large-scale unsupervised identification of novel drug-drug interactions . *PLOS Comput. Biol.*, **9(12)**, e1003374 (2013).
- [20] WAGNER, A. Robustness and evolvability in living systems. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA (2007).
- [21] WAGNER, A. Genotype networks shed light on evolutionary constraints. *Trends Ecol. Evol.*, **26**, 577-583 (2011).
- [22] WAGNER, A. The role of robustness and phenotypic adaptation and innovation. *Proc. Roy. Soc. B.*, **279**, 1249-1258 (2012).
- [23] AGUIRRE, J., BULDU, J. M., STICH, M., MANRUBIA, S. M. Topological structure of the space of phenotypes: the case on RNA neutral networks. *PLoS One.*, **6**, e26324 (2011).
- [24] CILIBERTI, S., MARTIN, O. C., WAGNER, A. Innovation and robustness in complex gene regulatory networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **104**, 13591-13596 (2007).
- [25] KAUFFMAN, S. A. The origins of order. Oxford University Press, Oxford, UK (1993).
- [26] LIPMAN, D., WILBUR, W. Modelling neutral and selective evolution of protein folding. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **245**, 7-11 (1991).
- [27] SCHUSTER, P. et al. From sequences to shapes and back: a case study in RNA secondary structures. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **255**, 279-284 (1994).