



Metodi di Ensemble Gerarchici per la Predizione Strutturata della Funzione delle Proteine

Relatore

Prof. Giorgio Valentini

Correlatore

Dr. Marco Notaro

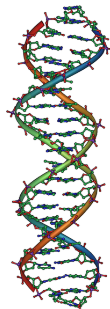
Candidato

Marco Odore

10 Luglio 2018

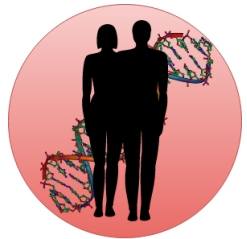
Central Dogma

- All'interno delle molecole di DNA di ogni essere vivente esistono diverse migliaia di geni.



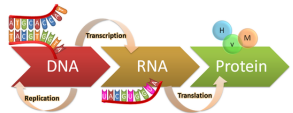
Central Dogma

- All'interno delle molecole di DNA di ogni essere vivente esistono diverse migliaia di geni.
- Si stima che per l'essere umano il DNA possieda tra i 20.000 - 25.000 geni.



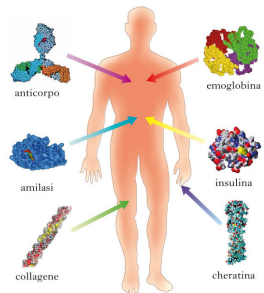
Central Dogma

- All'interno delle molecole di DNA di ogni essere vivente esistono diverse migliaia di geni.
- Si stima che per l'essere umano il DNA possenga tra i 20.000 - 25.000 geni.
- Ogni gene all'interno del DNA è capace di codificare più proteine.



Central Dogma

- All'interno delle molecole di DNA di ogni essere vivente esistono diverse migliaia di geni.
- Si stima che per l'essere umano il DNA possenga tra i 20.000 - 25.000 geni.
- Ogni gene all'interno del DNA è capace di codificare più proteine.
- Ogni proteina è responsabile di una o più funzioni all'interno delle cellule degli esseri viventi.



La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia
- Di trascrizione, sintesi e processamento delle proteine stesse

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia
- Di trascrizione, sintesi e processamento delle proteine stesse
- Di trasporto

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia
- Di trascrizione, sintesi e processamento delle proteine stesse
- Di trasporto
- Di comunicazione intra o intercellulare

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia
- Di trascrizione, sintesi e processamento delle proteine stesse
- Di trasporto
- Di comunicazione intra o intercellulare
- Di ciclo della cellula, ad esempio per la divisione e riproduzione cellulare

La funzione delle proteine

Le proteine sono molecole biologiche composte da amminoacidi, e le funzioni che svolgono sono molteplici:

- Metaboliche, ad esempio per la produzione di energia
- Di trascrizione, sintesi e processamento delle proteine stesse
- Di trasporto
- Di comunicazione intra o intercellulare
- Di ciclo della cellula, ad esempio per la divisione e riproduzione cellulare

Per molte specie le funzioni di moltissimi geni (e quindi delle corrispettive proteine codificate) è **sconosciuta o parzialmente nota**.

Il problema della predizione della funzione delle proteine 1/6

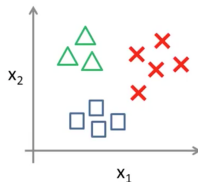
- L'individuazione della funzione delle proteine attraverso le analisi con sperimentazione diretta in laboratorio è **costosa** e richiede **molto tempo**



Il problema della predizione della funzione delle proteine 1/6

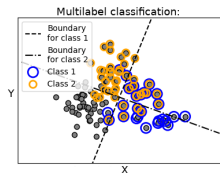
- L'individuazione della funzione delle proteine attraverso le analisi con sperimentazione diretta in laboratorio è **costosa** e richiede **molto tempo**
- Esistono centinaia di funzioni a cui poter associare un gene/proteina (**problema multiclasse**)

Multi-class classification:



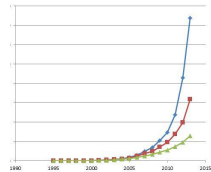
Il problema della predizione della funzione delle proteine 1/6

- L'individuazione della funzione delle proteine attraverso le analisi con sperimentazione diretta in laboratorio è **costosa** e richiede **molto tempo**
- Esistono centinaia di funzioni a cui poter associare un gene/proteina (**problema multiclasse**)
- Ad ogni gene/proteina possono essere associate diverse funzioni contemporaneamente (**problema multietichetta**)



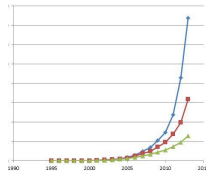
Il problema della predizione della funzione delle proteine 1/6

- L'individuazione della funzione delle proteine attraverso le analisi con sperimentazione diretta in laboratorio è **costosa** e richiede **molto tempo**
- Esistono centinaia di funzioni a cui poter associare un gene/proteina (**problema multiclasse**)
- Ad ogni gene/proteina possono essere associate diverse funzioni contemporaneamente (**problema multietichetta**)
- Il quantitativo di dati genomici cresce molto rapidamente.



Il problema della predizione della funzione delle proteine 1/6

- L'individuazione della funzione delle proteine attraverso le analisi con sperimentazione diretta in laboratorio è **costosa** e richiede **molto tempo**
- Esistono centinaia di funzioni a cui poter associare un gene/proteina (**problema multiclasse**)
- Ad ogni gene/proteina possono essere associate diverse funzioni contemporaneamente (**problema multietichetta**)
- Il quantitativo di dati genomici cresce molto rapidamente.



La **classificazione manuale** delle proteine è quindi infattibile.

Il problema della predizione della funzione delle proteine 2/6

- A complicare ulteriormente il problema è il modo in cui sono *relazionate* tra loro le funzioni delle proteine.

Il problema della predizione della funzione delle proteine 2/6

- A complicare ulteriormente il problema è il modo in cui sono *relazionate* tra loro le funzioni delle proteine.
- Esistono infatti due tassonomie principali per l'organizzazione delle classi:

Il problema della predizione della funzione delle proteine 2/6

- A complicare ulteriormente il problema è il modo in cui sono *relazionate* tra loro le funzioni delle proteine.
- Esistono infatti due tassonomie principali per l'organizzazione delle classi:
 - **Gene Ontology** (GO): che organizza le funzioni come un grafo diretto aciclico (DAG), varia per ogni specie, e possiede tre ontologie differenti.

Il problema della predizione della funzione delle proteine 2/6

- A complicare ulteriormente il problema è il modo in cui sono *relazionate* tra loro le funzioni delle proteine.
- Esistono infatti due tassonomie principali per l'organizzazione delle classi:
 - **Gene Ontology** (GO): che organizza le funzioni come un grafo diretto aciclico (DAG), varia per ogni specie, e possiede tre ontologie differenti.
 - **Functional Catalogue** (FunCat): che è organizzato invece come un albero, non varia in base alle specie, e descrive le funzioni in maniera più sintetica rispetto alla Gene Ontology.

Il problema della predizione della funzione delle proteine 3/6

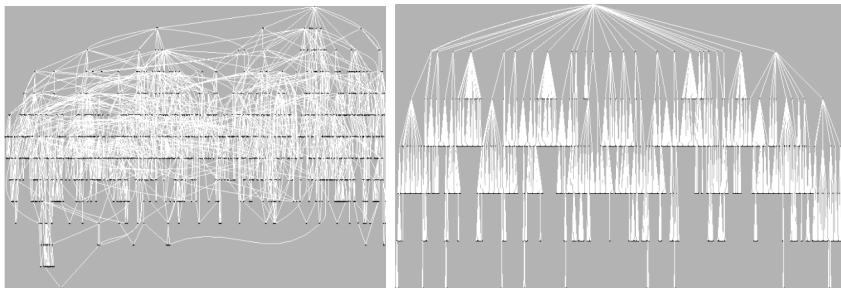


Figura: A sinistra un DAG della GO per la specie *S. cerevisiae*. A destra FunCat.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 4/6

- Data la granularità e specificità superiori della GO e il suo largo utilizzo nella comunità scientifica, all'interno della tesi ci si è soffermati sulla predizione delle sue funzioni.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 4/6

- Data la granularità e specificità superiori della GO e il suo largo utilizzo nella comunità scientifica, all'interno della tesi ci si è soffermati sulla predizione delle sue funzioni.
- Tale tassonomia presenta tre ontologie (e quindi tre DAG) principali:

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 4/6

- Data la granularità e specificità superiori della GO e il suo largo utilizzo nella comunità scientifica, all'interno della tesi ci si è soffermati sulla predizione delle sue funzioni.
- Tale tassonomia presenta tre ontologie (e quindi tre DAG) principali:
 - **Processo Biologico** (BP): descrive i processi ad alto livello, come insieme di diverse attività molecolari.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 4/6

- Data la granularità e specificità superiori della GO e il suo largo utilizzo nella comunità scientifica, all'interno della tesi ci si è soffermati sulla predizione delle sue funzioni.
- Tale tassonomia presenta tre ontologie (e quindi tre DAG) principali:
 - **Processo Biologico** (BP): descrive i processi ad alto livello, come insieme di diverse attività molecolari.
 - **Funzione Molecolare** (MF): descrive le funzioni di specifici prodotti genici.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 4/6

- Data la granularità e specificità superiori della GO e il suo largo utilizzo nella comunità scientifica, all'interno della tesi ci si è soffermati sulla predizione delle sue funzioni.
- Tale tassonomia presenta tre ontologie (e quindi tre DAG) principali:
 - **Processo Biologico** (BP): descrive i processi ad alto livello, come insieme di diverse attività molecolari.
 - **Funzione Molecolare** (MF): descrive le funzioni di specifici prodotti genici.
 - **Componente Cellulare** (CC): il luogo all'interno della cellula nelle quali avviene la funzione genica.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 5/6

Gli archi dei DAG nella GO indicano inoltre 3 differenti tipi di relazione:

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 5/6

Gli archi dei DAG nella GO indicano inoltre 3 differenti tipi di relazione:

- *is a*: indica una relazione di sotto-tipo.

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 5/6

Gli archi dei DAG nella GO indicano inoltre 3 differenti tipi di relazione:

- *is a*: indica una relazione di sotto-tipo.
- *a part of*: indica una relazione di composizione

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 5/6

Gli archi dei DAG nella GO indicano inoltre 3 differenti tipi di relazione:

- *is a*: indica una relazione di sotto-tipo.
- *a part of*: indica una relazione di composizione
- *regulates*: indica una relazione di influenza/regolazione

Il problema della predizione della funzione delle proteine (GO) 6/6

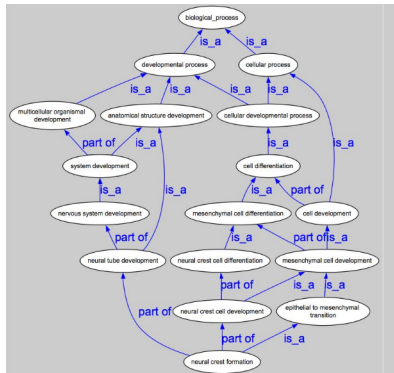


Figura: Un porzione di DAG che evidenzia i diversi tipi di relazione.

La predizione della funzione delle proteine tramite metodi automatici

Per gestire il problema della predizione della funzione delle proteine si rende quindi necessario un approccio **automatico**. I metodi più noti in letteratura sono:

La predizione della funzione delle proteine tramite metodi automatici

Per gestire il problema della predizione della funzione delle proteine si rende quindi necessario un approccio **automatico**. I metodi più noti in letteratura sono:

- I metodi basati sulla **comparazione di biosequenze**: si basano sull'idea che sequenze simili condividano funzioni simili.

La predizione della funzione delle proteine tramite metodi automatici

Per gestire il problema della predizione della funzione delle proteine si rende quindi necessario un approccio **automatico**. I metodi più noti in letteratura sono:

- I metodi basati sulla **comparazione di biosequenze**: si basano sull'idea che sequenze simili condividano funzioni simili.
- I metodi **basati su reti**: sono metodi applicati a dati rappresentati sotto forma di reti, che si basano sugli algoritmi di propagazione delle etichette.

La predizione della funzione delle proteine tramite metodi automatici

Per gestire il problema della predizione della funzione delle proteine si rende quindi necessario un approccio **automatico**. I metodi più noti in letteratura sono:

- I metodi basati sulla **comparazione di biosequenze**: si basano sull'idea che sequenze simili condividano funzioni simili.
- I metodi **basati su reti**: sono metodi applicati a dati rappresentati sotto forma di reti, che si basano sugli algoritmi di propagazione delle etichette.
- I metodi **Kernel per spazi di output strutturato**: sono metodi che sfruttano funzioni kernel congiunte per predire in spazi di output strutturato.

La predizione della funzione delle proteine tramite metodi automatici

Per gestire il problema della predizione della funzione delle proteine si rende quindi necessario un approccio **automatico**. I metodi più noti in letteratura sono:

- I metodi basati sulla **comparazione di biosequenze**: si basano sull'idea che sequenze simili condividano funzioni simili.
- I metodi **basati su reti**: sono metodi applicati a dati rappresentati sotto forma di reti, che si basano sugli algoritmi di propagazione delle etichette.
- I metodi **Kernel per spazi di output strutturato**: sono metodi che sfruttano funzioni kernel congiunte per predire in spazi di output strutturato.
- I metodi **Ensemble Gerarchici**: i metodi trattati in questa tesi.

Metodi Ensemble Gerarchici 1/3

I Metodi di Ensemble Gerarchici sono metodi caratterizzati da due step principali:

Metodi Ensemble Gerarchici 1/3

I Metodi di Ensemble Gerarchici sono metodi caratterizzati da due step principali:

1. *Predizione flat* delle diverse classi dell'ontologia, generando diversi predittori *indipendenti*.

Metodi Ensemble Gerarchici 1/3

I Metodi di Ensemble Gerarchici sono metodi caratterizzati da due step principali:

1. *Predizione flat* delle diverse classi dell'ontologia, generando diversi predittori *indipendenti*.
2. *Combinazione e correzione gerarchica delle predizioni* sfruttando il DAG dei termini della GO.

Metodi Ensemble Gerarchici 1/3

I Metodi di Ensemble Gerarchici sono metodi caratterizzati da due step principali:

1. *Predizione flat* delle diverse classi dell'ontologia, generando diversi predittori *indipendenti*.
2. *Combinazione e correzione gerarchica delle predizioni* sfruttando il DAG dei termini della GO.

Il secondo step rappresenta la componente *ensemble* del metodo. Tale step si rende necessario in quanto le predizioni flat non tengono in considerazione la struttura gerarchica dei DAG della GO, portando a risultati *inconsistenti*.

Metodi Ensemble Gerarchici 2/3

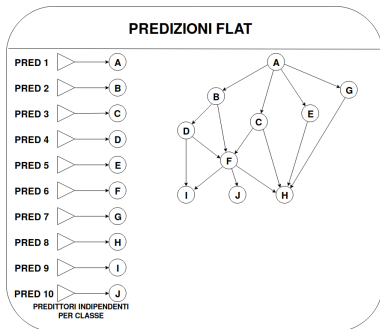
Consistenza & True Path Rule

Un insieme di predizioni $\hat{y} = \langle \hat{y}_1, \hat{y}_2, \dots, \hat{y}_{|N|} \rangle$, dove $|N|$ è la cardinalità dei termini della gerarchia, è definito *consistente*, se rispetta la *True Path Rule*, e cioè:

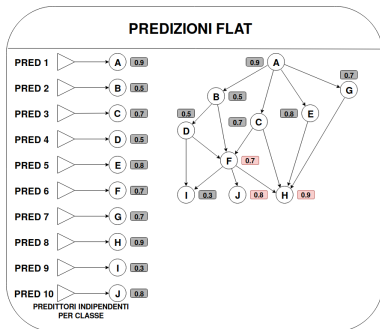
$$y \text{ consistente} \leftrightarrow \forall i \in N, j \in \text{par}(i) \rightarrow y_j \geq y_i$$

Dove $\text{par}(i)$ indica l'insieme dei termini genitori del nodo i nella gerarchia.

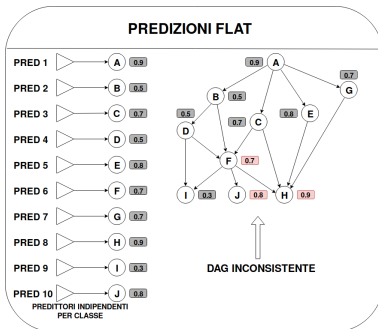
Metodi Ensemble Gerarchici (Esempio) 3/3



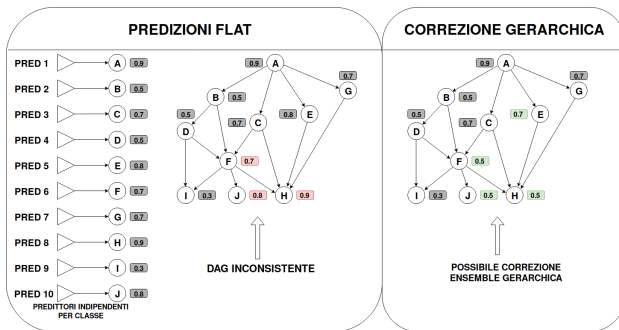
Metodi Ensemble Gerarchici (Esempio) 3/3



Metodi Ensemble Gerarchici (Esempio) 3/3



Metodi Ensemble Gerarchici (Esempio) 3/3



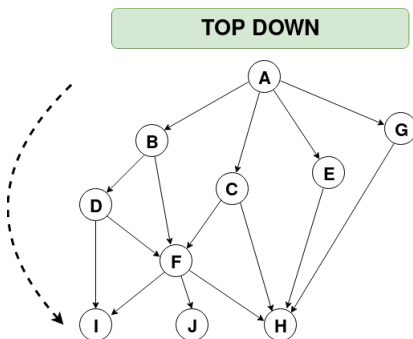
Metodi Ensemble Gerarchici: Approcci

Esistono fondamentalmente due approcci per la correzione:

Metodi Ensemble Gerarchici: Approcci

Esistono fondamentalmente due approcci per la correzione:

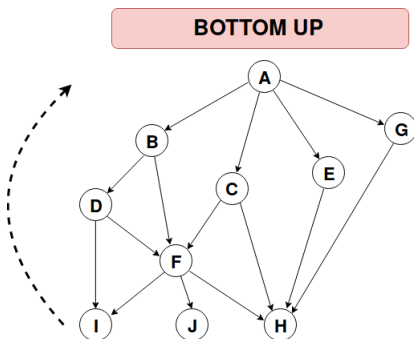
- *Top-down*: le predizioni vengono corrette dai nodi più generali a quelli più specifici.



Metodi Ensemble Gerarchici: Approcci

Esistono fondamentalmente due approcci per la correzione:

- *Top-down*: le predizioni vengono corrette dai nodi più generali a quelli più specifici.
- *Bottom-up*: Le predizioni vengono corrette dai nodi più specifici verso quelli più generali.



Metodo Top-Down Gerarchico (HTD-DAG) (1/2)

- È un metodo che utilizza l'approccio *Top-Down*.

Metodo Top-Down Gerarchico (HTD-DAG) (1/2)

- È un metodo che utilizza l'approccio *Top-Down*.
- La correzione avviene ricorsivamente, percorrendo il grafo per *livelli*. Più precisamente, dato il grafo $G = (N, E)$, gli score flat $f(x) = \hat{y}$ sono corretti gerarchicamente a \bar{y} , applicando la seguente regola:

Aggiornamento con HTD-DAG

$$\bar{y}_i := \begin{cases} \hat{y}_i & \text{if } i \in \text{root}(G) \\ \min_{j \in \text{par}(i)} \bar{y}_j & \text{if } \min_{j \in \text{par}(i)} \bar{y}_j < \hat{y}_i \\ \hat{y}_i & \text{altrimenti} \end{cases}$$

Dove $\text{par}(i)$ specifica i genitori del nodo i .

Metodo Top-Down Gerarchico (HTD-DAG) (2/2)

- Per garantire la correttezza e consistenza delle correzioni, i *livelli* del grafo sono definiti come *cammino massimo dalla radice*.

Metodo Top-Down Gerarchico (HTD-DAG) (2/2)

- Per garantire la correttezza e consistenza delle correzioni, i *livelli* del grafo sono definiti come *cammino massimo dalla radice*.
- Più formalmente, dobbiamo definire una funzione ψ che, applicata ad un nodo $i \in N$, restituisce il livello associato al cammino massimo, cioè:

Livelli

$$\psi(i) = \max_{p(i,r)} l(p(r,i))$$

dove la funzione $p(r,i)$ calcola il cammino dalla radice r al nodo i e la funzione l restituisce il livello associato ad un cammino.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (1/3)

- È un metodo che combina gli approcci top-down e bottom-up per la correzione delle predizioni flat.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (1/3)

- È un metodo che combina gli approcci top-down e bottom-up per la correzione delle predizioni flat.
- È suddiviso in due step sequenziali:

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (1/3)

- È un metodo che combina gli approcci top-down e bottom-up per la correzione delle predizioni flat.
- È suddiviso in due step sequenziali:
 1. **Step bottom-up**: che partendo dai nodi più specifici del DAG, propaga quelle predizioni flat che sono considerate *positive*.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (1/3)

- È un metodo che combina gli approcci top-down e bottom-up per la correzione delle predizioni flat.
- È suddiviso in due step sequenziali:
 1. **Step bottom-up**: che partendo dai nodi più specifici del DAG, propaga quelle predizioni flat che sono considerate *positive*.
 2. **Step top-down**: È il medesimo step utilizzato dal metodo HTD-DAG.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (1/3)

- È un metodo che combina gli approcci top-down e bottom-up per la correzione delle predizioni flat.
- È suddiviso in due step sequenziali:
 1. **Step bottom-up**: che partendo dai nodi più specifici del DAG, propaga quelle predizioni flat che sono considerate *positive*.
 2. **Step top-down**: È il medesimo step utilizzato dal metodo HTD-DAG.
- Lo step top down si rende necessario in quanto la propagazione delle predizioni positive dal basso verso l'alto non garantisce la consistenza delle predizioni necessarie alla True Path Rule.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) (2/3)

- Entrando nel dettaglio dello step bottom-up, data una predizione \hat{y}_i per il nodo $i \in N$, questa viene aggiornata come:

Aggiornamento step Bottom-up TPR-DAG

$$\bar{y}_i = \frac{1}{1 + |\phi_i|} (\hat{y}_i + \sum_{j \in \phi_i} \bar{y}_j)$$

Dove ϕ_i rappresenta l'insieme dei figli del nodo i che sono considerati *positivi* in relazione alla predizione.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) 3/3

- L'insieme ϕ dei *positivi* può essere generato in diversi modi:

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) 3/3

- L'insieme ϕ dei *positivi* può essere generato in diversi modi:
 1. *senza soglia*: I figli selezionati sono quelli che hanno un valore per la predizione superiore a quello del genitore

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) 3/3

- L'insieme ϕ dei *positivi* può essere generato in diversi modi:
 1. *senza soglia*: I figli selezionati sono quelli che hanno un valore per la predizione superiore a quello del genitore
 2. *soglia costante*: I figli sono considerati positivi se le predizioni superano una soglia (es. 0.5).

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) 3/3

- L'insieme ϕ dei *positivi* può essere generato in diversi modi:
 1. *senza soglia*: I figli selezionati sono quelli che hanno un valore per la predizione superiore a quello del genitore
 2. *soglia costante*: I figli sono considerati positivi se le predizioni superano una soglia (es. 0.5).
 3. *soglia adattiva*: La soglia per selezionare i figli si ottiene tramite il tuning con massimizzazione di una metrica.

Metodo True Path Rule per DAG (TPR-DAG) 3/3

- L'insieme ϕ dei *positivi* può essere generato in diversi modi:
 1. *senza soglia*: I figli selezionati sono quelli che hanno un valore per la predizione superiore a quello del genitore
 2. *soglia costante*: I figli sono considerati positivi se le predizioni superano una soglia (es. 0.5).
 3. *soglia adattiva*: La soglia per selezionare i figli si ottiene tramite il tuning con massimizzazione di una metrica.
- Oltre a questi tipi di selezione, possono essere introdotti in combinazione dei pesi w , trasformando l'aggiornamento come:

Aggiornamento step Bottom-up TPR-DAG con w

$$\bar{y}_i = w\hat{y}_i + \frac{(1-w)}{|\phi_i|} \sum_{j \in \phi_i} \bar{y}_j$$

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (1/5)

- Per il passo Top-Down dell'algoritmo TPR-DAG (e HTD) è possibile sfruttare gli algoritmi per la risoluzione dei problemi di **Isotonic Regression**:

Isotonic Regression (caso generale con ordinamento parziale)

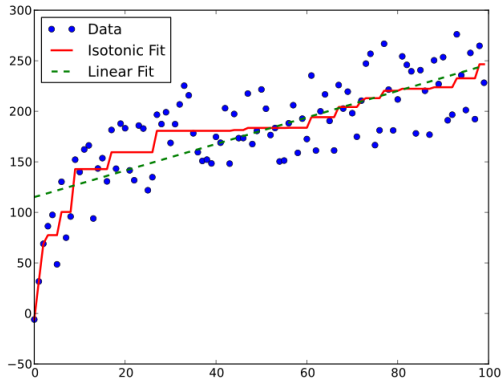
Dato un DAG, $G(N, E)$, con il set di nodi $N = \{1, 2, \dots, n\}$, si deve trovare il vettore $x^* \in R^n$ tale che:

$$\min \sum_{i=1}^n w_i (x_i - a_i)^2$$

such that $x_i \leq x_j \forall (i, j) \in E$

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (2/5)

Esempio di Isotonic Regression con *ordinamento totale*:



Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (3/5)

Funzionamento Generale:

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (3/5)

Funzionamento Generale:

- Per far funzionare l'algoritmo è necessario effettuare un *ordinamento topologico* del grafo.

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (3/5)

Funzionamento Generale:

- Per far funzionare l'algoritmo è necessario effettuare un *ordinamento topologico* del grafo.
- L'algoritmo genera uno split del set di nodi N del DAG, in un insieme di *blocchi disgiunti definiti da H* (inizialmente $H = N$).

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (3/5)

Funzionamento Generale:

- Per far funzionare l'algoritmo è necessario effettuare un *ordinamento topologico* del grafo.
- L'algoritmo genera uno split del set di nodi N del DAG, in un insieme di *blocchi disgiunti definiti da H* (inizialmente $H = N$).
- Seguendo l'ordinamento topologico del grafo, un blocco *assorbe* un suo blocco *predecessore* se si verificano determinate condizioni.

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (3/5)

Funzionamento Generale:

- Per far funzionare l'algoritmo è necessario effettuare un *ordinamento topologico* del grafo.
- L'algoritmo genera uno split del set di nodi N del DAG, in un insieme di *blocchi disgiunti definiti da H* (inizialmente $H = N$).
- Seguendo l'ordinamento topologico del grafo, un blocco *assorbe* un suo blocco *predecessore* se si verificano determinate condizioni.
- I nodi presenti nel medesimo blocco B_i *condividono il medesimo valore* x_i , e quindi a seguito dell'assorbimento sarà necessario un aggiornamento di tale valore.

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (4/5)

La procedura di assorbimento:

Algorithm 1 Absorb

```
1: procedure ABSORB( $j, i$ )  
2:    $H = H \setminus \{i\}$   
3:    $B_j^- = B_i^- \cup B_j^- \setminus \{i\}$   
4:    $x_j = \frac{W_j x_j + W_i x_i}{W_j + W_i}$   
5:    $B_j = B_j \cup B_i$   
6:    $W_j = W_j + W_i$   
7:   for (each  $k \in H$  s.t.  $i \in B_k^-$ ) do  
8:      $B_k^- = B_k^- \setminus \{i\} \cup \{j\}$ 
```

Generalized Pool Adjacent Violator (GPAV) (5/5)

Algorithm 2 GPAV

```
1: procedure GPAV
2:    $H = N$ 
3:   for (each  $i \in N$ ) do
4:      $B_i = \{i\}$ 
5:      $B_i^- = i^-$ 
6:      $x_i = \hat{y}_i$ 
7:      $W_i = w_i$ 
8:   for  $k = 1, 2, \dots, n$  do
9:     //finché esiste un predecessore di  $B_k$  che viola la monotonicità
10:    while  $\{i \in B_k^- : x_i > x_k\} \neq \emptyset$  do
11:      // Trova l'elemento che viola maggiormente il vincolo
12:      Find  $j \in B_k^- : x_j = \max\{x_i : i \in B_k^-\}$ 
13:      Absorb( $k, j$ ) //  $j$  viene assorbito da  $B_k$ 
```
