



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
—ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837—

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»

Δ Ι Π Λ Ω Μ Α Τ Ι Κ Η Ε Ρ Γ Α Σ Ι Α

«ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ
ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ
ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ»



ΑΘΗΝΑ ΑΜΑΝΑΤΙΔΟΥ

Πτυχιούχος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική,
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΑΘΗΝΑ 2018



HELLENIC REPUBLIC
National and Kapodistrian
University of Athens
— EST. 1837 —

HELLENIC REPUBLIC
National and Kapodistrian
University of Athens

SCHOOL OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

MASTER IN «BIOINFORMATICS»

Master Diploma Thesis

«BIOINFORMATICS METHOD ANALYSIS OF
A PROTEIN-PROTEIN INTERACTION
NETWORK OF PROTEINS ASSOCIATED
WITH AUTOIMMUNE DISEASES»

ATHINA AMANATIDOU

Computer Science and Biomedical Informatics graduate
University of Thessaly

A T H E N S 2 0 1 8



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
—ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837—

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»

Δ Ι Π Λ Ω Μ Α Τ Ι Κ Η Ε Ρ Γ Α Σ Ι Α
«ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΜΕ
ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ»

Επιβλέπουσα

Επίκουρη Καθηγήτρια Βασιλική Α. Οικονομίδου
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Επίκουρη Καθηγήτρια Βασιλική Α. Οικονομίδου
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ομότιμος Καθηγητής Σταύρος Ι. Χαμόδρακας

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αναπληρωτής Καθηγητής Παντελής Μπάγκος

Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Στον πατέρα μου,

Γιάννη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στον Τομέα Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, του τμήματος Βιολογίας, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βιοπληροφορική». Με το πέρας αυτής θα ήθελα να εκφράσω τις πιο θερμές και ειλικρινείς μου ευχαριστίες στους επιβλέποντες καθηγητές μου, την κ. Βασιλική Οικονομίδου και τον κ. Σταύρο Χαμόδρακα, που μου έδωσαν την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα θέμα που τόσο πολύ με ενδιέφερε και συνεχίζει να μου πυροδοτεί το ενδιαφέρον, αυτό των αυτοάνοσων νοσημάτων. Η παρουσία τους ήταν πάντα αισθητή σε όλη την διάρκεια της εργασίας, όπου οι συμβουλές τους, οι συζητήσεις μας και το γεγονός ότι πίστεψαν σε μένα, αποτέλεσε έναν από τους πιο καθοριστικούς παράγοντες στην αντιμετώπιση διαφόρων δυσκολιών επί του ερευνητικού θέματος που ασχολήθηκα.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Παντελή Μπάγκο για την συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή της διπλωματικής μου εργασίας, αλλά και για όλα αυτά που μου δίδαξε σε προπτυχιακό και μεταπτυχιακό επίπεδο.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα κ. Κατερίνα Νάστου για τις συμβουλές της στην πορεία της διπλωματικής μου εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Φώτη Μπαλτούμα που ήταν πάντα πολύ πρόθυμος να με βοηθήσει.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την όμορφη διαδρομή μου στο εργαστήριο, καθώς και για τις συζητήσεις και την ανταλλαγή απόψεων επί των ερευνητικών μας θεμάτων. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την φίλη και συνάδελφο Αυγή Αποστολάκου για την υποστήριξη της, καθώς και για όλες τις στιγμές που μοιραστήκαμε μαζί τα τελευταία χρόνια.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, τον Γιάννη, την Βέτα, την Έφη και την Ευθυμία που πάντα στηρίζουν τις επιλογές μου, πιστεύουν σε μένα και στα όνειρα μου. Χωρίς αυτούς τίποτα δε θα ήταν εφικτό. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τον Παναγιώτη για την αμέριστη στήριξη, συμπαράσταση και την πίστη του σε μένα, σε κάθε μου προσπάθεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι σήμερα η κύρια αιτία χρόνιων ασθενειών. Στην πράξη υπάρχουν περισσότεροι από 100 διαφορετικοί τύποι αυτοάνοσων νοσημάτων. Αποτελούν ένα σημαντικό κλινικό πρόβλημα λόγω της χρόνιας φύσης τους, του κόστους υγειονομικής περίθαλψης καθώς και της εμφάνισης τους σε νέους ανθρώπους. Οι τρέχουσες θεραπείες, αν και φαίνονται πολλά υποσχόμενες στη θεραπεία κάποιων αυτοάνοσων νοσημάτων, δεν αντιμετωπίζουν τα θεμελιώδη προβλήματα που είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση και την εξέλιξη τους. Η αντιμετώπιση αυτών των ασθενειών στην πηγή τους απαιτεί την κατανόηση των μηχανισμών που πυροδοτούν τις διάφορες ανώμαλες ανοσολογικές αντιδράσεις.

Μέσω της έρευνας μας προσπαθήσαμε να συμβάλλουμε στο να περιορίσουμε το πρόβλημα που επικρατεί σχετικά με την έλλειψη γνώσης των μηχανισμών παθογένειας των αυτοάνοσων νοσημάτων και των μεταξύ τους συσχετίσεων, επικεντρώνοντας την προσοχή μας στα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος και συγκεκριμένα στην κακοήγη αναιμία, στην αυτοάνοση ουδετεροπενία, στην πρωτοπαθή επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία, στην παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία, στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, στο αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο, στην επίκτητη απλαστική αναιμία, στο σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων και στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία.

Έγινε εφικτή η εύρεση σχετιζόμενων πρωτεϊνών με τα συγκεκριμένα αυτοάνοσα νοσήματα, όπου αυτό μας έδωσε τη δυνατότητα, μέσα από την διερεύνηση των πρωτεϊνικών τους αλληλεπιδράσεων, να δημιουργήσουμε δίκτυα αλληλεπιδράσεων, τα οποία αναλύσαμε και μελετήσαμε. Καταφέραμε μέσω των μεθόδων που ακολουθήσαμε στην πορεία της ερευνητικής μας εργασίας, να προσδιορίσουμε υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην παθογένεια των ασθενειών αυτών, καθώς επίσης και να ξεχωρίσουμε άλλες σημαντικές πρωτεΐνες, που πιθανόν να έχουν το ρόλο του διαμεσολαβητή στην επικοινωνία των πρωτεϊνών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: αυτοάνοσα νοσήματα, κακοήγη αναιμία, αυτοάνοση ουδετεροπενία, πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική

απλασία, παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία, αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο, επίκτητη απλαστική αναιμία, σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία

ABSTRACT

Autoimmune diseases are currently a major cause of chronic diseases. In practice, there are more than 100 different types of autoimmune diseases. They are an important clinical problem due to their chronic nature, the cost of health care and their manifestation in young people. Current treatments, although seemingly promising to treat some autoimmune diseases, do not address the underlying problems that are responsible for their onset and progression. Treating these diseases requires an understanding of the mechanisms that trigger the various abnormal immune responses.

The aim of this work was to study the blood autoimmune diseases, namely pernicious anemia, autoimmune neutropenia, primary acquired pure red cell aplasia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune lymphoproliferative syndrome, acquired aplastic anemia, antiphospholipid syndrome and autoimmune hemolytic anemia. For this purpose, all proteins associated with these diseases and their interactions were collected, and a systematic network approach to study their relationships was conducted.

We were able to find proteins associated with these autoimmune diseases, and through the investigation of their interactions, we created, analyzed and studied their interaction networks. We managed to identify candidate proteins involved in their pathogenesis, and distinguish other important proteins, which may play an important role in blood autoimmune diseases.

KEYWORDS: autoimmune diseases, pernicious anemia, autoimmune neutropenia, primary acquired pure red cell aplasia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, autoimmune thrombocytopenic purpura, autoimmune lymphoproliferative syndrome, acquired aplastic anemia, antiphospholipid syndrome, autoimmune hemolytic anemia

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1	ΜΟΛΥΝΣΗ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΗ	1
1.2	ΑΝΟΣΙΑ	1
1.2.1	ΕΜΦΥΤΗ ΑΝΟΣΙΑ	2
1.2.2	ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΝΟΣΙΑ.....	6
1.3	ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ.....	9
1.4	ΑΝΟΧΗ, ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	11
1.4.1	ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	12
1.4.1.1	ΚΑΚΟΗΘΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑ	13
1.4.1.2	ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΑ	13
1.4.1.3	ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΚΗ ΠΟΡΦΥΡΑ.....	13
1.4.1.4	ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΛΕΜΦΟΥΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	14
1.4.1.5	ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ.....	14
1.4.1.6	ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ.....	15
1.4.1.7	ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΝΥΚΤΕΡΙΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ	15
1.4.1.8	ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΛΑΣΙΑ	16
1.4.1.9	ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ	16
1.5	ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ.....	16
1.5.1	ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ.....	17
1.5.1.1	ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ	17
1.5.1.2	ΒΑΣΙΚΕΣ ΜΕΤΡΙΚΕΣ ΔΙΚΤΥΟΥ.....	20
1.5.1.3	ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΔΙΚΤΥΟΥ	23
1.5.1.3.1	ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΔΙΚΤΥΩΝ.....	24
1.5.2	ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΩΝ	25
1.5.3	ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ	25
1.5.4	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ.....	26
1.6	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	28
2.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	29

2.1	ΕΥΡΕΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΚΩΔΙΚΩΝ ΤΟΥΣ	29
2.2	ΕΥΡΕΣΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΟΝΟΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	32
2.3	ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	34
2.4	ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ.....	37
2.5	ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ	37
2.6	ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ.....	38
2.7	ΕΥΡΕΣΗ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΕΜΠΛΕΚΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	40
2.8	ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ MCL.....	40
2.9	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ	41
2.9.1.1	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ DAVID ΚΑΙ WEBGESTALT	41
2.10	ΕΥΡΕΣΗ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ	43
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	44
3.1	ΕΥΡΕΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	44
3.2	ΚΩΔΙΚΟΙ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	47
3.3	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	48
3.4	ΣΥΝΟΛΟ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	51
3.5	ΣΥΝΟΛΟ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ	56
3.6	ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ.....	58
3.6.1	ΑΠΛΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΔΙΚΤΥΟΥ	58
3.6.2	ΣΥΝΘΕΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΔΙΚΤΥΟΥ	62

3.7	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΥΡΕΣΗΣ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΕΜΠΛΕΚΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	66
3.8	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ MCL	72
3.9	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ	75
3.9.1	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ...	75
3.9.2	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΕΣ ΤΙΜΕΣ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑΣ	75
3.9.3	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	76
3.9.4	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 1 ^{HΣ} ΟΜΑΔΑΣ	77
3.9.5	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 3 ^{HΣ} ΟΜΑΔΑΣ	79
3.9.6	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 12 ^{HΣ} ΟΜΑΔΑΣ	82
3.10	ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ	83
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	86
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	96
6.	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	105

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Μηχανισμοί έμφυτης (μη ειδικής) και επίκτητης (ειδικής) ανοσίας. Η έμφυτη ανοσία διαχωρίζεται στους εξωτερικούς κα εσωτερικούς μηχανισμούς μη ειδικής άμυνας, ενώ η επίκτητη ανοσία περιλαμβάνει τους εσωτερικούς μηχανισμούς ειδικής άμυνας.	2
Εικόνα 2: Εξωτερικός μηχανισμός μη ειδικής άμυνας που περιλαμβάνει διάφορους ανατομικούς και φυσιολογικούς φραγμούς.....	4
Εικόνα 3: Η δομή του αντισώματος αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες που είναι ανά δύο όμοιες, δύο ελαφριές (κυανό και κίτρινο χρώμα) και δύο βαριές αλυσίδες (κόκκινο και μπλε χρώμα). Κάθε βαριά με κάθε ελαφριά αλυσίδα ενώνεται με διθειλφιδικούς δεσμούς (στικτή γραμμή), όπως επίσης και οι δύο βαριές αλυσίδες μεταξύ τους.....	9
Εικόνα 4: Διαδικασία κυτταρομεσολαβητικής και χυμικής ανοσίας (R. Goldsby, 2013).....	11
Εικόνα 5: Απεικόνιση των διάφορων ειδών δικτύου: Α) Κατευθυνόμενος Γράφος, Β) Απλός, Μη Κατευθυνόμενος Γράφος, C) Γράφος με Βάρη και D) Διμερής Γράφος.	20
Εικόνα 6: Διάγραμμα ροής της μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε.	29
Εικόνα 7: Παράδειγμα αναζήτησης κωδικών στις βάσεις ICD-10 και Orphanet για την παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία.	30
Εικόνα 8: Λογότυπο της βάσης δεδομένων ICD (International Classification of Diseases)–10.....	31
Εικόνα 9: Λογότυπο της βάσης δεδομένων Orphanet.	31
Εικόνα 10: Διαδικασία εύρεσης εναλλακτικών ονομάτων των αυτοάνοσων νοσημάτων.....	32
Εικόνα 11: Λογότυπο της βάσης δεδομένων NORD (National Organization for Rare Disorders).....	33
Εικόνα 12: Λογότυπο της βάσης δεδομένων MeSH (Medical Subject Headings).	33

Εικόνα 13: Λογότυπο της βάσης δεδομένων NIH (National Institute of Health) – NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute).....	34
Εικόνα 14: Λογότυπο της βάσης δεδομένων UniProt.	35
Εικόνα 15: Λογότυπο της βάσης δεδομένων OMIM.....	36
Εικόνα 16: Λογότυπο της βάσης δεδομένων DisGeNET.	36
Εικόνα 17: Λογότυπο της βάσης δεδομένων IntAct.	37
Εικόνα 18: Περιβάλλον εργασίας του Cytoscape.	38
Εικόνα 19: Παράδειγμα ανάλυσης δικτύου με την χρήση του NetworkAnalyzer στο Cytoscape και την επιλογή χειρισμού του δικτύου ως μη κατευθυνόμενο.	39
Εικόνα 20: Λογότυπο ανάλυσης εμπλουτισμού DAVID.	42
Εικόνα 21: Λογότυπο ανάλυσης εμπλουτισμού WebGestalt.....	43
Εικόνα 22: Λογότυπο της βάσης δεδομένων HPO (Human Phenotype Ontology).	43
Εικόνα 23: Διαδικασία εύρεσης αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος.	44
Εικόνα 24: Αριθμός σχετιζόμενων πρωτεϊνών ανά αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.....	52
Εικόνα 25: Οπτικοποίηση δικτύου πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, το οποίο αποτελείται από 427 πρωτεΐνες και 1439 αλληλεπιδράσεις. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται οι σχετιζόμενες πρωτεΐνες με τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Με πράσινο χρώμα απεικονίζονται οι σχετιζόμενες πρωτεΐνες με παραπάνω από ένα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Οι υπόλοιπες πρωτεΐνες του δικτύου απεικονίζονται με μπλε χρώμα.	57
Εικόνα 26: Λογαριθμικό διάγραμμα κατανομής βαθμών των κόμβων με προσαρμογή του νόμου δύναμης (fit power law).	63
Εικόνα 27: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής συνδεσιμότητας γειτόνων με προσαρμογή του νόμου δύναμης (fit power law).....	64
Εικόνα 28: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής του μέσου συντελεστή ομαδοποίησης.....	65

Εικόνα 29: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής του τοπολογικού συντελεστή για κάθε κόμβο του δικτύου.....	66
Εικόνα 30: Διάγραμμα Venn για τον προσδιορισμό υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Το σύμβολο του αστεριού (★) δίνει έμφαση στις 14 υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες που βρέθηκαν, οι οποίες διαθέτουν υψηλή τιμή κεντρικότητας, καθώς και στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων.....	67
Εικόνα 31: Αποτελέσματα ομαδοποίησης σύμφωνα με τον αλγόριθμο MCL, με τιμή εμφύσησης 1.8.....	74
Εικόνα 32: Αποτελέσματα εύρεσης φαινοτύπου των αυτοάνοσων νοσημάτων που μελετήσαμε. Τα αυτοάνοσα νοσήματα απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, ενώ ο κοινός φαινότυπος μεταξύ αυτών με κίτρινο.	85
Εικόνα Π.33: Απεικόνιση της 2 ^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών RPTN22-FASLG (1 ^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι PSTPIP1 και SKAP2. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.	105
Εικόνα Π.34: Απεικόνιση της 2 ^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών RPTN22-SH2B3 (1 ^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι EGFR και ERBB2. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.	106
Εικόνα Π.35: Απεικόνιση της 3 ^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών FASLG-SBDS (1 ^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι CRK, NCK2, TRIP10, PACSIN1, PACSIN2, PANCSIN3, MAGEA6, TERF2IP και POT1. Οι κόμβοι με κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τις πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με τις TERF2IP και POT1. Με έντονη μπλε γραμμή απεικονίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών με την POT1. Με έντονη πορτοκαλί γραμμή απεικονίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών με την TERF2IP. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.....	107
Εικόνα Π.36: Απεικόνιση της 4 ^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών IL1RN-TNF (3 ^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται	

μεταξύ τους είναι οι IL1R1, TRAF6, ATP2A2 and ST13. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.....108

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.	45
Πίνακας 2: Αποτελέσματα εύρεσης κωδικών των ICD-10 και Orphanet για κάθε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.	47
Πίνακας 3: Αποτελέσματα εύρεσης εναλλακτικών ονομάτων για κάθε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.	48
Πίνακας 4: Αναλυτική παράθεση αποτελεσμάτων εύρεσης των σχετιζόμενων πρωτεϊνών ανά αυτοάνοσο νόσημα, όπου αναγράφεται το όνομα του αυτοάνοσου νοσήματος, ο κωδικός της πρωτεΐνης στην UniProt, το γονίδιο και το όνομα της πρωτεΐνης.	52
Πίνακας 5: Πρωτεΐνες για τις οποίες δεν βρέθηκαν αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών από την βάση IntAct, σύμφωνα με τα κριτήρια μας.	56
Πίνακας 6: Αποτελέσματα απλών παραμέτρων του δικτύου, σύμφωνα με τους υπολογισμούς του NetworkAnalyzer.	58
Πίνακας 7: Προσδιορισμός υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Στη στήλη με τις κεντρικότητες δικτύου, δίνονται οι κεντρικότητες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό αυτών των πρωτεϊνών, όπου η κεντρικότητα βαθμού αντιπροσωπεύεται με Β, η ενδιάμεση κεντρικότητα με Ε και η πλησιέστερη κεντρικότητα με Π. Μέσα στις παρενθέσεις δίνεται ο αριθμός ταξινόμησης της εκάστοτε πρωτεΐνης για την αντίστοιχη κεντρικότητα, μεταξύ των πρώτων 48 πρωτεϊνών με την μεγαλύτερη κεντρικότητα στο δίκτυο (επιλέχθηκε περίπου το 10% των πρωτεϊνών του δικτύου). Στη στήλη με τους στατιστικά σημαντικούς όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, παρατίθενται οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι αυτοάνοσων νοσημάτων για κάθε πρωτεΐνη. Στη στήλη με τις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος, γίνεται παράθεση των αλληλεπιδράσεων κάθε πρωτεΐνης με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος (δίνεται το όνομα του γονιδίου). Επίσης, μέσα στις παρενθέσεις αναφέρεται και η συσχέτιση με το εκάστοτε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.	70

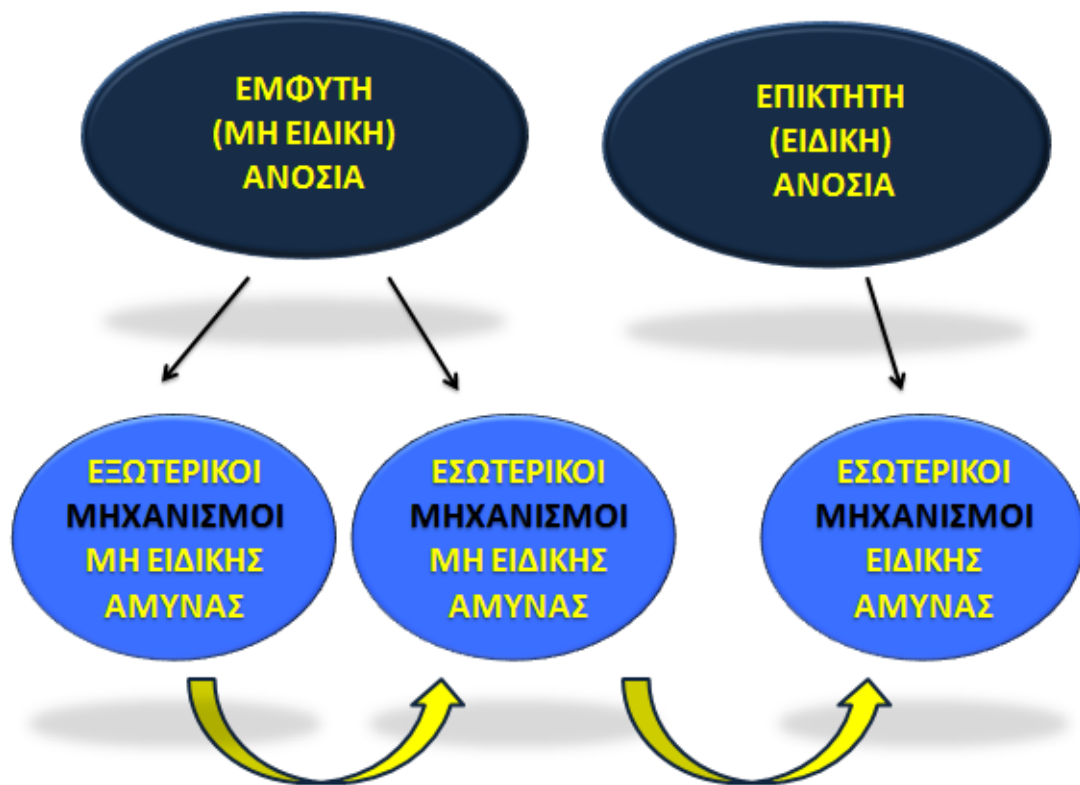
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΜΟΛΥΝΣΗ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΗ

Ο ανθρώπινος οργανισμός είναι συνεχώς εκτεθειμένος σε διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως είναι οι ιοί, τα βακτήρια, οι μύκητες και τα παράσιτα. Αν καταφέρει ένας παθογόνος μικροοργανισμός να εισέλθει στον οργανισμό μας τότε προκαλεί **μόλυνση**. Σε περίπτωση που η άμυνα του οργανισμού μας δεν καταφέρει να την αντιμετωπίσει, τότε εξελίσσεται σε **λοίμωξη** που περιλαμβάνει την εγκατάσταση ή και τον πολλαπλασιασμό του σ' αυτόν. Οι βασικοί καθοριστικοί παράγοντες, βάσει των οποίων μια μόλυνση θα οδηγήσει σε λοίμωξη, είναι η **άμυνα του οργανισμού**, καθώς και ο **βαθμός τοξικότητας** των παθογόνων μικροοργανισμών (R. Goldsby, 2013).

1.2 ΑΝΟΣΙΑ

Η ανοσία απαρτίζεται από ένα σύνολο φυσιολογικών μηχανισμών που στόχο έχουν να δώσουν την ικανότητα στον οργανισμό μας να **αναγνωρίζει** ξένους «εισβολείς» και να **αντιδρά** απέναντι σ' αυτούς, παράγοντας εξειδικευμένα κύτταρα και κυτταρικά προϊόντα, προκειμένου να τους εξουδετερώσει και να τους αποβάλλει. **Η ανοσία διαχωρίζεται στην έμφυτη (μη ειδική) και στην επίκτητη (ειδική) ανοσία.** Η έμφυτη ανοσία περιλαμβάνει διάφορους εξωτερικούς και εσωτερικούς μηχανισμούς μη ειδικής άμυνας, ενώ η επίκτητη εσωτερικούς μηχανισμούς ειδικής άμυνας. Αξίζει να επισημανθεί ότι τα συστήματα της έμφυτης και της επίκτητης ανοσίας δεν λειτουργούν ανεξάρτητα, αλλά **αλληλεπιδρούν και συνεργάζονται μεταξύ τους**, έχοντας ως αποτέλεσμα την παραγωγή μιας συνδυαστικής και σαφώς πιο ισχυρής απόκρισης απ' ότι ο κάθε κλάδος ξεχωριστά.



Εικόνα 1: Μηχανισμοί έμφυτης (μη ειδικής) και επίκτητης (ειδικής) ανοσίας. Η έμφυτη ανοσία διαχωρίζεται στους εξωτερικούς και εσωτερικούς μηχανισμούς μη ειδικής άμυνας, ενώ η επίκτητη ανοσία περιλαμβάνει τους εσωτερικούς μηχανισμούς ειδικής άμυνας.

1.2.1 ΕΜΦΥΤΗ ΑΝΟΣΙΑ

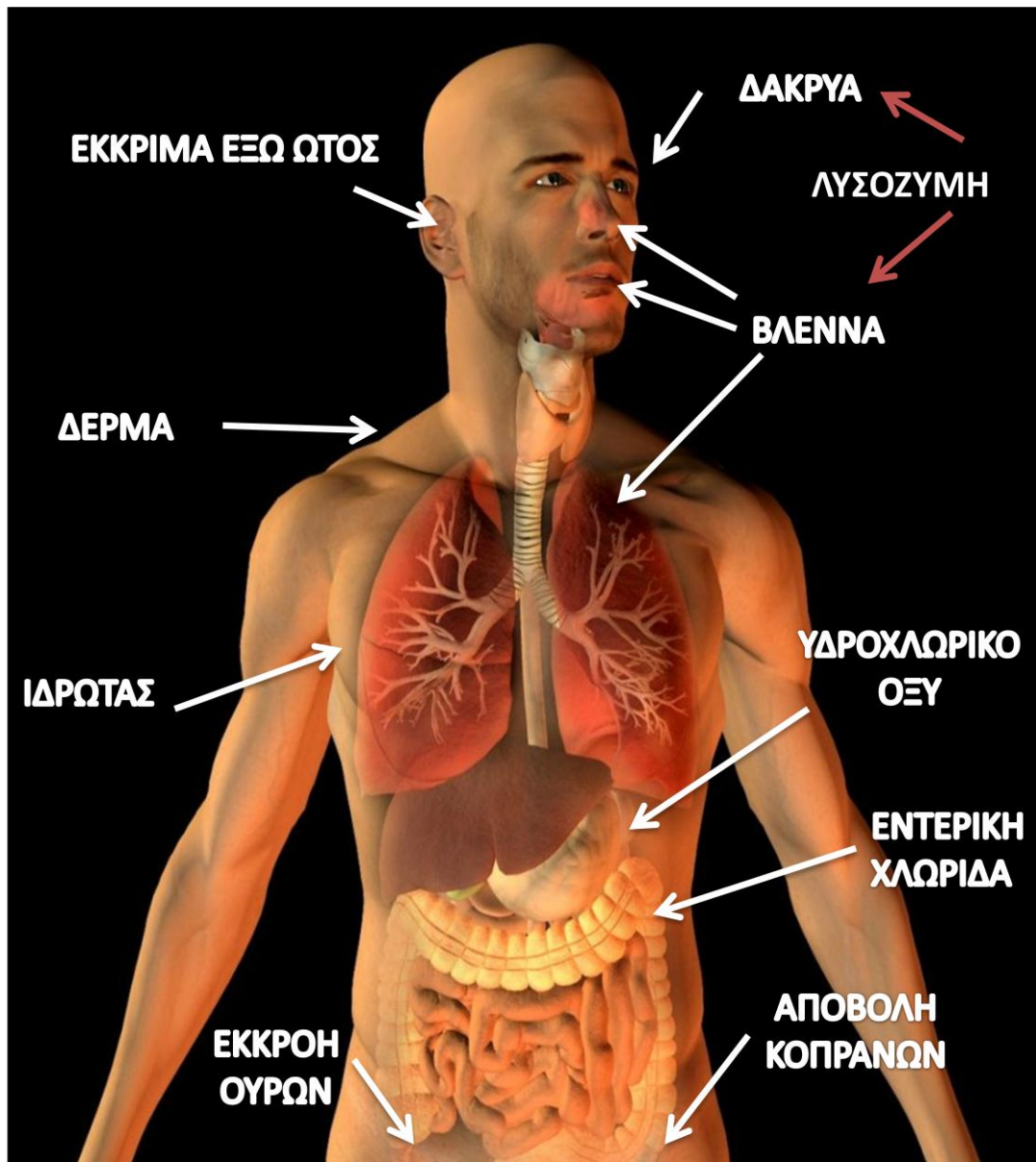
Ο πρώτος μηχανισμός άμυνας με τον οποίο θα έρθει αντιμέτωπος ένας ξένος «εισβολέας» είναι αυτός της **έμφυτης ανοσίας**. Όπως προαναφέρθηκε και παραπάνω, είναι ένας μη ειδικός μηχανισμός ανοσίας, που προσπαθεί να εμποδίσει την είσοδο ενός «ξένου» εισβολέα στον οργανισμό μας, να αντιμετωπίσει αυτούς που θα καταφέρουν τελικά να εισβάλουν σ' αυτόν, ή και να εξαλείψει μια ενδεχόμενη μόλυνση.

ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΗ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ

Αρχικά, ο εξωτερικός μηχανισμός της έμφυτης ανοσίας προσπαθεί να αποτρέψει την είσοδο ενός παθογόνου μικροοργανισμού, διαθέτοντας διάφορους **ανατομικούς και φυσιολογικούς φραγμούς**. Ένας από τους πιο προφανείς φραγμούς είναι το **δέρμα** που λόγω της δομής και των ουσιών που παράγονται από τους αδένες του, εμποδίζει με αποτελεσματικό τρόπο την

είσοδο των παθογόνων στον οργανισμό. Πιο συγκεκριμένα το δέρμα αποτελείται από μια λεπτή εξωτερική στιβάδα, την επιδερμίδα, και από μια παχύτερη, τη δερμίδα. Η επιδερμίδα αποτελείται από ένα στρώμα νεκρών κυττάρων που λέγεται κεράτινη στιβάδα και λειτουργεί ως φραγμός στην είσοδο παθογόνων. Η δερμίδα απαρτίζεται από συνδετικό ιστό και διαθέτει τριχοθυλάκια, αιμοφόρα αγγεία, καθώς και ιδρωτοποιούς και σμηγματογόνους αδένες. Επιπρόσθετα, η λυσοζύμη που περιέχεται στον ιδρώτα, στα δάκρυα και την βλέννα, καθώς και τα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στο σμήγμα, έχουν την ιδιότητα να προκαλούν ένα δυσμενές χημικό περιβάλλον για τα παθογόνα (R. Goldsby, 2013).

Ένας ακόμη αποτελεσματικός φραγμός είναι οι **βλεννογόνοι του σώματος** διότι με την εκκρινόμενη βλέννα (παχύρευστο υγρό), επιτυγχάνουν να παγιδεύουν τα παθογόνα και να τους εμποδίζουν την είσοδο. Ο βλεννογόνος της αναπνευστικής οδού διαθέτει ένα επιπλέον βλεφαριδοφόρο επιθήλιο που αποτελεί έναν ακόμη φραγμό στην είσοδο των μικροοργανισμών. Επομένως, οι μικροοργανισμοί παγιδεύονται στη βλέννα με τη βοήθεια των βλεφαρίδων του επιθηλίου και απομακρύνονται μέσω της αναπνευστικής οδού. Στο βλεννογόνο του στομάχου εκκρίνεται το υδροχλωρικό οξύ, το οποίο καταστρέφει τα περισσότερα μικρόβια που εισέρχονται δια μέσου της τροφής στο στόμαχο. Επιπλέον, η φυσιολογική εντερική χλωρίδα που υπάρχει στο παχύ έντερο ανταγωνίζεται τα μικρόβια που εισβάλλουν (R. Goldsby, 2013).



Εικόνα 2: Εξωτερικός μηχανισμός μη ειδικής άμυνας που περιλαμβάνει διάφορους ανατομικούς και φυσιολογικούς φραγμούς.

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΗ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ

Αν το παθογόνο καταφέρει να υπερπηδήσει τους εξωτερικούς μηχανισμούς μη ειδικής άμυνας και τελικά μπορέσει να εισέλθει στον οργανισμό, τότε θα έρθει αντιμέτωπο με τους εσωτερικούς μηχανισμούς μη ειδικής άμυνας που είναι οι κάτωθι:

Φαγοκυττάρωση: Είναι ένας τύπος ενδοκυττάρωσης που ενεργοποιείται όταν ένας παθογόνος μικροοργανισμός εμφανίζεται στο εσωτερικό του οργανισμού. Κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης, η κυτταρική μεμβράνη

σχηματίζει προεκβολές γύρω από το παθογόνο και έχει την ικανότητα να το εσωκλείει ολόκληρο. Στη συνέχεια το πέπτει και εμφανίζει στην επιφάνεια του τμήματα του. Η φαγοκυττάρωση επιτυγχάνεται από εξειδικευμένα κύτταρα όπως μονοκύτταρα του αίματος, ουδετερόφιλα και μακροφάγα των ιστών (Warrington et al., 2011).

Φλεγμονώδης αντίδραση: Σε περίπτωση που το δέρμα μας τραυματιστεί και κάποια παθογόνα καταφέρουν να εισέλθουν μέσω του τραύματος, τότε επάγεται μια σειρά γεγονότων που περιλαμβάνει ερυθρότητα στην περιοχή του τραύματος, θερμότητα, οίδημα και πόνο. Τα παραπάνω επάγουν μια πολύπλοκη ακολουθία φαινομένων, που είναι γνωστή ως φλεγμονώδης απόκριση (R. Goldsby, 2013). Τα τρία κύρια γεγονότα μιας φλεγμονώδους απόκρισης που υποδηλώνουν την ύπαρξη φλεγμονής είναι τα ακόλουθα:

- Αγγειοδιαστολή
- Αύξηση διαπερατότητας τριχοειδών
- Έξοδος φαγοκυττάρων από τα τριχοειδή και είσοδος στους ιστούς

Δράση αντιμικροβιακών ουσιών:

Ιντερφερόνες: Είναι ειδικές πρωτεΐνες που εκκρίνονται από μολυσμένα κύτταρα. Επίσης, ανιχνεύονται στο κυτταρόπλασμα του μολυσμένου κυττάρου και έπειτα απελευθερώνονται στο μεσοκυττάριο υγρό. Σε εκείνη την περιοχή μπορούν να συνδεθούν με υποδοχείς των γειτονικών υγιών κυττάρων. Όταν συμβεί αυτό στα υγιή κύτταρα ενεργοποιείται η παραγωγή άλλων πρωτεϊνών που έχουν την ικανότητα να παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό του εκάστοτε παθογόνου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την προστασία των υγιών κυττάρων (R. Goldsby, 2013).

Συμπλήρωμα: Είναι μια ομάδα είκοσι πρωτεϊνών που βρίσκονται στον ορό του αίματος και έχουν αντιμικροβιακή δράση (R. Goldsby, 2013).

Προπερδίνη: Είναι μια ομάδα αποτελούμενη από τρεις πρωτεΐνες, που βρίσκονται στον ορό του αίματος, και σε συνδυασμό με το συμπλήρωμα, δρουν για να καταστρέψουν τα παθογόνα (R. Goldsby, 2013).

1.2.2 ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΝΟΣΙΑ

Σε περίπτωση που η έμφυτη ανοσία δεν καταφέρει να αντιμετωπίσει με επιτυχία τον εισβολέα, τότε αναλαμβάνει ένας πιο ειδικός μηχανισμός άμυνας, αυτός της **επίκκτητης ανοσίας**. Γενικά, μέσω του μηχανισμού αυτού, η απόκριση λαμβάνει χώρα μέσα σε πέντε ή έξι μέρες από την αρχική έκθεση στο αντιγόνο (ξένη ουσία). Η επίκτητη ανοσία έχει μια πολύ σημαντική ικανότητα, αυτή του να **αντιμετωπίζει ειδικά κάθε ξένο μικροοργανισμό** (π.χ. ξένα αντιγόνα). Τα τέσσερα πολύ βασικά ανοσολογικά χαρακτηριστικά της είναι:

Αντιγονική ειδικότητα: Επιτρέπει τη διάκριση λεπτών διαφορών μεταξύ των αντιγόνων. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα αντισώματα μπορούν να διακρίνουν δύο πρωτεϊνικά μόρια που η διαφορά τους έγκειται σε ένα μόνο αμινοξικό κατάλοιπο (R. Goldsby, 2013).

Ποικιλομορφία: Το ανοσοποιητικό μας σύστημα μπορεί και παράγει τεράστια ποικιλομορφία μορίων, τα οποία του δίνουν τη δυνατότητα να αναγνωρίζει ένα δισεκατομμύριο αριθμό μοναδικών διαφορετικών δομών που βρίσκονται σε ξένα αντιγόνα (R. Goldsby, 2013).

Ανοσολογική μνήμη: Εμφανίζεται όταν το ανοσοποιητικό σύστημα αναγνωρίσει και αποκριθεί σε ένα αντιγόνο. Επίσης, επάγεται μια πιο ισχυρή ανοσοαπόκριση όταν συμβαίνει δεύτερη επαφή με το ίδιο αντιγόνο (R. Goldsby, 2013).

Αναγνώριση εαυτού/μη εαυτού: Το ανοσοποιητικό σύστημα αποκρίνεται φυσιολογικά μόνο σε ξένα αντιγόνα. Η ικανότητα του οργανισμού να διακρίνει το εαυτό από το μη εαυτό και να αποκρίνεται μόνο σε μη εαυτά μόρια είναι άκρως βασική για την εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού. Η αδυναμία της διάκρισης αυτής μπορεί να αποβεί μοιραία και να οδηγήσει σε θανατηφόρα αποτελέσματα (R. Goldsby, 2013).

Η ανοσολογική απόκριση αποτελεσματικού χαρακτήρα εμπεριέχει δύο κύριες ομάδες κυττάρων: τα **λεμφοκύτταρα** και τα **αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα**.

ΑΝΤΙΓΟΝΟΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ:

Αντιγονοπαρουσιαστικό είναι κάθε κύτταρο που μπορεί να επεξεργάζεται και να παρουσιάζει αντιγονικά πεπτίδια σε συνδυασμό με μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHC II) και να φέρει ένα συνδιεργετικό σήμα απαραίτητο για την ενεργοποίηση του T-λεμφοκυττάρου. Τα **μακροφάγα**, τα **δενδριτικά** και τα **B-λεμφοκύτταρα** συνιστούν τα «επαγγελματικά» αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Τα μη «επαγγελματικά» αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που λειτουργούν στην παρουσίαση αντιγόνου για μια σύντομη χρονική περίοδο, περιλαμβάνουν τα επιθηλιακά κύτταρα του θύμου αδένος και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων (R. Goldsby, 2013; Warrington et al., 2011).

ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Αποτελούν έναν τύπο λεμφοκυττάρου του αίματος που παράγεται στον μυελό των οστών. Στη συνέχεια, εγκαταλείπουν το μυελό των οστών, κυκλοφορούν ανάμεσα στο αίμα και τη λέμφο και εγκαθίστανται σε διάφορα λεμφικά όργανα. Διαχωρίζονται σε **T-λεμφοκύτταρα** (ή T-κύτταρα) και σε **B-λεμφοκύτταρα** (ή B-κύτταρα) (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).

♦ T-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Προέρχονται από τον μυελό των οστών και ωριμάζουν στον θύμο αδένος. Κατά τη φάση της ωρίμανσης αρχίζουν να εκφράζουν στην μεμβράνη τους ένα μοναδικό αντιγονο-συνδεδεμένο μόριο, που ονομάζεται υποδοχέας T-κυττάρου (T-cell receptor, TCR) (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013). Τα T-λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε:

- **Βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα:** Εκφράζουν στην επιφάνεια τους μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες CD4, οι οποίες αναγνωρίζουν μόνο αντιγόνα που είναι συνδεδεμένα με μόρια MHC τάξης II πάνω σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Έπειτα, ενεργοποιούν τα B-λεμφοκύτταρα, τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, καθώς και άλλα είδη κυττάρων (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).
- **Κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα:** Εκφράζουν στην επιφάνεια τους μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες CD8, που αναγνωρίζουν μόνο αντιγόνο που είναι δεσμευμένο με μόρια MHC τάξης I, τα

οποία υπάρχουν σε όλα τα εμπύρρινα κύτταρα. Αφού ενεργοποιηθούν, αναγνωρίζουν και θανατώνουν τα τροποποιημένα εαυτά κύτταρα (R. Goldsby, 2013).

- ο **Κατασταλτικά Τ-λεμφοκύτταρα:** Τερματίζουν την ανοσολογική απόκριση μετά την επιτυχή αντιμετώπιση του αντιγόνου (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).

♦ **Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ**

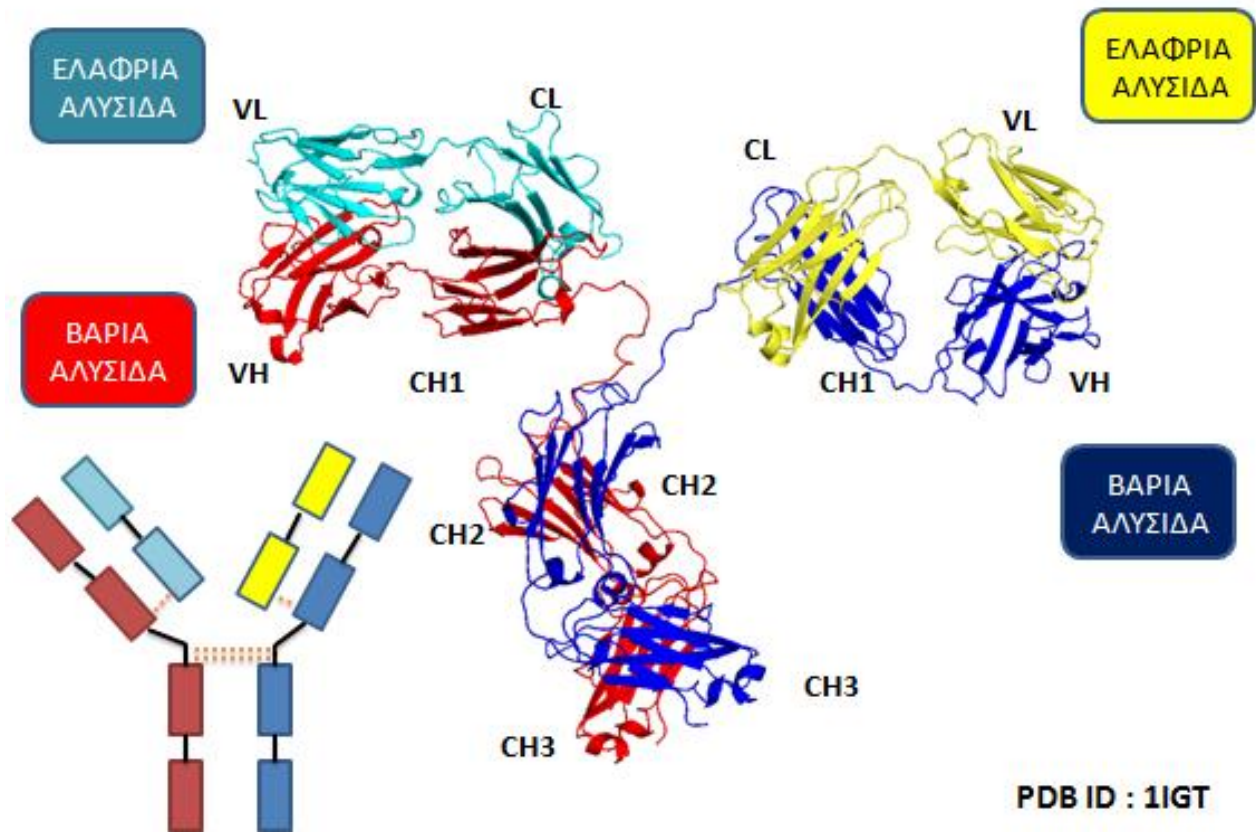
Διαφοροποιούνται και ωριμάζουν στο μυελό των οστών, συνθέτοντας και παρουσιάζοντας στην επιφάνεια τους ειδικές γλυκοπρωτεΐνες που ονομάζονται ανοσοσφαιρίνες ή αντισώματα. Όταν ένα παρθένο Β-λεμφοκύτταρο έρχεται για πρώτη φορά σε επαφή με το αντιγόνο που ταιριάζει στον υποδοχέα του, προκαλεί γρήγορο πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Οι απόγονοι του διαφοροποιούνται σε **Β-λεμφοκύτταρα μνήμης** και **πλασματοκύτταρα** (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).

- ο **Β-λεμφοκύτταρα μνήμης:** Έχουν μεγαλύτερο χρόνο ζωής από τα παρθένα Β-λεμφοκύτταρα και συνεχίζουν να εκφράζουν το ίδιο μεμβρανοσυνδεδεμένο αντίσωμα. Ενεργοποιούνται αμέσως μετά από επόμενη έκθεση του οργανισμού στο ίδιο αντιγόνο (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).
- ο **Πλασματοκύτταρα:** Δεν εκφράζουν μεμβρανοσυνδεδεμένα αντισώματα αλλά εκκρίνουν τεράστιες (εκατοντάδες έως χιλιάδες) ποσότητες διαλυτών αντισωμάτων. Επίσης, έχουν πολύ μικρό χρόνο ζωής της τάξης των λίγων ημερών (Parkin and Cohen, 2001; R. Goldsby, 2013).

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Το αντίσωμα είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται είτε πάνω στην επιφάνεια ενός Β-λεμφοκυττάρου μνήμης είτε σε διαλυτή μορφή, εκκρινόμενη από ένα πλασματοκύτταρο. Κάθε αντισωματικό μόριο αποτελείται από δύο πανομοιότυπες βαριές και ελαφριές αλυσίδες αντίστοιχα. Κάθε βαριά αλυσίδα συνδέεται με μια ελαφριά με δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ υπάρχουν και επιπλέον δισουλφιδικοί δεσμοί που συγκρατούν τα δύο ζεύγη μεταξύ τους. Η αύλακα που σχηματίζεται από τα αμινοτελικά άκρα των ζευγών των βαριών

και ελαφριών αλυσίδων, είναι ο χώρος δέσμευσης του αντισώματος με το αντιγόνο (R. Goldsby, 2013).



Εικόνα 3: Η δομή του αντισώματος αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες που είναι ανά δύο όμοιες, δύο ελαφριές (κυανό και κίτρινο χρώμα) και δύο βαριές αλυσίδες (κόκκινο και μπλε χρώμα). Κάθε βαριά με κάθε ελαφριά αλυσίδα ενώνεται με δισουλφιδικούς δεσμούς (στικτή γραμμή), όπως επίσης και οι δύο βαριές αλυσίδες μεταξύ τους.

1.3 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

Στην είσοδο κάθε αντιγόνου υπάρχει αντίδραση του ανοσολογικού μας συστήματος. Οι ανοσολογικές αποκρίσεις μπορούν να διαιρεθούν σε **κυτταρομεσολαβητικές** και **χυμικές**.

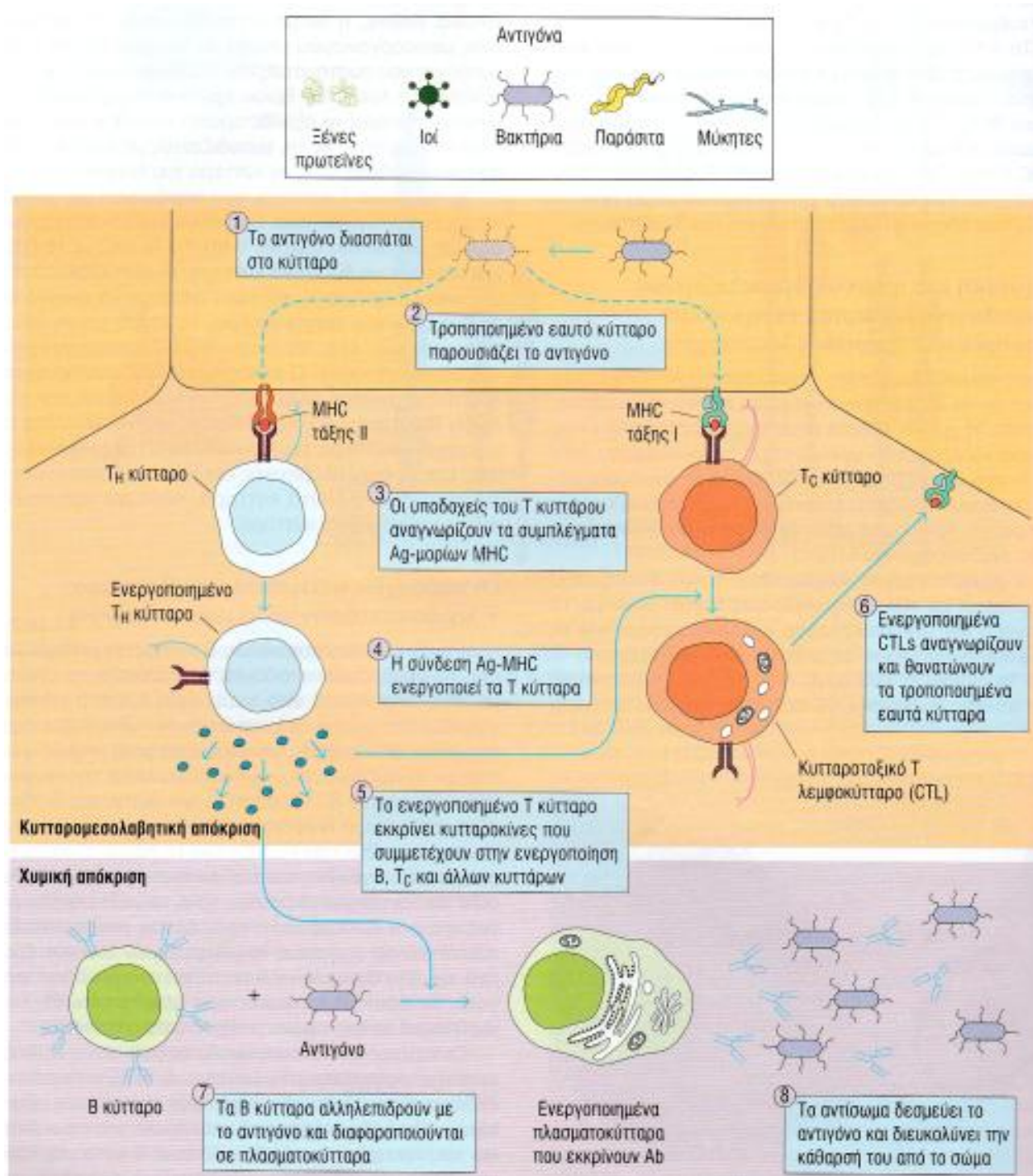
ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΣΟΛΑΒΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Αρχικά, όπως έχει προαναφερθεί, το αντιγόνο διασπάται στο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο σε διάφορα αντιγονικά πεπτίδια. Έτσι, το εαυτό κύτταρο έχει μετατραπεί πλέον σε τροποποιημένο εαυτό κύτταρο και

είναι σε θέση να παρουσιάσει το αντιγόνο. Αυτό συμβαίνει όταν κάθε μόριο MHC τάξης II συνδέεται με κάθε αντιγονικό πεπτίδιο και έτσι δημιουργείται ένα σύμπλοκο MHC II-αντιγόνου. Το σύμπλοκο αυτό κατευθύνεται στην επιφάνεια του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου και με αυτόν τον τρόπο καθίσταται εφικτή η αναγνώριση του αντιγόνου από τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα, τα οποία όπως προείπαμε αναγνωρίζουν μόνο μόρια MHC τάξης II. Αφότου γίνει η αναγνώριση του συμπλόκου MHC II-αντιγόνου με επιτυχία από τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα, τότε τα τελευταία ενεργοποιούνται και εκκρίνουν κυτταροκίνες που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων, B-λεμφοκυττάρων – δηλαδή την επαγωγή της χυμικής ανοσίας (θα αναλυθεί παρακάτω) – καθώς και άλλων κυττάρων. Στη συνέχεια τα ενεργοποιημένα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα προσδένονται στα σύμπλοκα MHC I-αντιγόνου των τροποποιημένων εαυτών κυττάρων και τα θανατώνουν (R. Goldsby, 2013).

ΧΥΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Τα B-λεμφοκύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί από τις κυτταροκίνες που εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα, μπορούν να διαφοροποιηθούν σε πλασματοκύτταρα που εκκρίνουν τεράστιες ποσότητες διαλυτών αντισωμάτων και σε B-λεμφοκύτταρα μνήμης. Τα αντισώματα δεσμεύουν το αντιγόνο και διευκολύνουν την κάθαρση του από το σώμα (Bonilla and Oettgen, 2010; R. Goldsby, 2013).



Εικόνα 4: Διαδικασία κυτταρομεσολαβητικής και χυμικής ανοσίας (R. Goldsby, 2013).

1.4 ΑΝΟΧΗ, ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Στις αρχές του περασμένου αιώνα, ο Paul Ehrlich διαπίστωσε ότι το ανοσοποιητικό σύστημα μπορούσε να παρεκτραπεί και αντί να αντιδρά εναντίον ξένων αντιγόνων, εστίαζε την επίθεσή του έναντι εαυτών αντιγόνων (αυτοαντιγόνα). Αυτό το φαινόμενο, που κάποτε ο Ehrlich ονόμασε

«αυτοτοξικό τρόμο», μπορεί να οδηγήσει σε κάποια χρόνια και οξεία νοσήματα, τα λεγόμενα **αυτοάνοσα νοσήματα**.

Η αδυναμία του χυμικού και κυτταρομεσολαβητικού κλάδου του ανοσοποιητικού μας συστήματος να διακρίνει το εαυτό από το μη εαυτό, οδηγεί σε επίθεση των εαυτών κυττάρων, καθώς και οργάνων από αυτοαντισώματα και αυτοδραστικά T-κύτταρα.

Ο οργανισμός κάθε ατόμου διαθέτει μια σειρά μηχανισμών που σκοπό έχουν να τον προστατεύουν από τα δυνητικά αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα και αναφέρονται με τον γενικό όρο **ανοχή**. Η ανοχή διαχωρίζεται στην κεντρική και την περιφερική ανοχή. Η **κεντρική ανοχή** συντελείται στα πρωτογενή λεμφικά όργανα, το μυελό των οστών και τον θύμο αδένα. Στόχος της είναι να εξαλείφει τους T και B-κυτταρικούς κλώνους πριν αυτά ωριμάσουν, σε περίπτωση που αναγνωρίζουν εαυτά αντιγόνα με συγγένεια μεγαλύτερη από ένα όριο. Η **περιφερική ανοχή** καθιστά τα λεμφοκύτταρα ανενεργά στα δευτερογενή λεμφικά όργανα. Γενικά, η πιθανότητα να προκληθεί βλάβη περιορίζεται ακόμα περισσότερο από αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα, όσο είναι μικρός ο χρόνος ζωής των ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων. Το τελευταίο ρυθμίζεται όταν παραχθούν τα κατάλληλα σήματα που επάγουν κυτταρικό θάνατο (απόπτωση).

Παρά το γεγονός ότι υπάρχει ένα πολυσύνθετο σύστημα ρύθμισης, οι αυτοδραστικοί κλώνοι T ή B-κυττάρων ενεργοποιούνται περιστασιακά και προκαλούν χυμικές ή κυτταρομεσολαβητικές αποκρίσεις έναντι εαυτών αντιγόνων. Μια τέτοια ακατάλληλη απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος έναντι εαυτών αντιγόνων ονομάζεται **αυτοανοσία** (R. Goldsby, 2013).

1.4.1 ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Τα αυτοάνοσα νοσήματα θεωρούνταν σπάνια, αλλά μέσω αυστηρών επιδημιολογικών μελετών έχει πλέον αποδειχθεί ότι επηρεάζουν το 3-5% του συνολικού πληθυσμού. Ωστόσο, αξίζει να τονιστεί το γεγονός ότι υπάρχουν **100 διαφορετικά αυτοάνοσα νοσήματα**, τα οποία διακρίνονται άτυπα σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα **οργανοειδικά/ιστοειδικά** και τα **συστημικά** αυτοάνοσα νοσήματα (Wang et al., 2015). Στην παρούσα διπλωματική

εργασία μελετήθηκαν τα **αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος**, τα οποία αναλύονται στις επόμενες ενότητες.

1.4.1.1 ΚΑΚΟΗΘΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑ

Η κακοήθης αναιμία είναι μια αυτοάνοση αναιμία που **προκαλείται από αυτοαντισώματα στον γαστρικό ενδογενή παράγοντα, μία πρωτεΐνη του εντέρου συνδεδεμένη στη μεμβράνη των κυττάρων του γαστρικού τοιχώματος**. Ο συγκεκριμένος ενδογενής παράγοντας είναι πολύ σημαντικός, λόγω του ότι συνδέεται με τη βιταμίνη B₁₂ και προωθεί τη μεταφορά της στο τελικό τμήμα του λεπτού εντέρου (ειλεός), προκειμένου να γίνει εφικτή η απορρόφηση της. Η δέσμευση του αυτοαντισώματος στον ενδογενή παράγοντα αναστέλλει όλη την παραπάνω διαδικασία. Είναι πολύ σημαντική και απαραίτητη η βιταμίνη B₁₂ για τη φυσιολογική αιμοποίηση και η έλλειψη της προκαλεί τη μείωση των ώριμων λειτουργικών ερυθροκυττάρων κάτω από τα φυσιολογικά όρια. Ο τρόπος με τον οποίο αντιμετωπίζεται η συγκεκριμένη ασθένεια είναι με χορήγηση ενέσιμης βιταμίνης B₁₂, παρακάμπτοντας με αυτόν τον τρόπο την ανεπάρκεια της απορρόφησης της (Lahner and Annibale, 2009).

1.4.1.2 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΑ

Η αυτοάνοση ουδετεροπενία είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα που **οφείλεται σε αυτοαντισώματα που στρέφονται εναντίον των ουδετερόφιλων έχοντας ως αποτέλεσμα την καταστροφή τους ή την αλλαγή της λειτουργίας τους**. Τα ουδετερόφιλα διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο διότι συνιστούν την αρχική άμυνα ενάντια σε λοιμώξεις (κυρίως βακτηριακές) (Ενότητα 1.2.1). Για τον λόγο αυτό η μείωση των ουδετερόφιλων οδηγεί τους ασθενείς σε υποτροπιάζουσες λοιμώξεις (Afzal et al., 2017).

1.4.1.3 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΚΗ ΠΟΡΦΥΡΑ

Η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα είναι μία αυτοάνοση νόσος που **χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη αντισωμάτων ή/και ανοσολογικά διεγερμένων T-λεμφοκυττάρων έναντι των αιμοπεταλίων έχοντας ως αποτέλεσμα την αυξημένη καταστροφή αλλά και την καταστολή της παραγωγής τους**. Επίσης, η νόσος χαρακτηρίζεται και από διάφορες αιμορραγικές εκδηλώσεις του δέρματος ή/και των βλεννογόνων, όπου η

βαρύτητα αυτών εξαρτάται από τον βαθμό της θρομβοπενίας (χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων) (Karpatkin, 1997).

1.4.1.4 ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΛΕΜΦΟΥΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Το αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο είναι μία σπάνια γενετική διαταραχή του ανοσοποιητικού συστήματος που επηρεάζει τόσο παιδιά όσο και ενήλικες. **Χαρακτηρίζεται από υψηλό αριθμό λεμφοκυττάρων που συσσωρεύονται στους λεμφαδένες, το ήπαρ και τον σπλήνα, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στη διόγκωση αυτών των οργάνων.** Οι περισσότερες περιπτώσεις του αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου προκαλούνται από **μεταλλάξεις στο γονίδιο FAS** (Xie et al., 2017). Το γονίδιο αυτό παράγει έναν υποδοχέα, ο οποίος όταν ενεργοποιηθεί, οδηγεί σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο ή απόπτωση. Όταν τα κύτταρα δεν λάβουν το μήνυμα της απόπτωσης τότε προκύπτει μια ανώμαλη συσσώρευση κυττάρων. **Στην περίπτωση του συγκεκριμένου νοσήματος, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο FAS προκαλούν μη φυσιολογική συσσώρευση των λεμφοκυττάρων.** Επίσης, το συγκεκριμένο αυτοάνοσο νόσημα μπορεί να προκαλέσει αναιμία (χαμηλός αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων), θρομβοπενία (χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων) και ουδετεροπενία (χαμηλός αριθμός ουδετερόφιλων (Xie et al., 2017).

1.4.1.5 ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο είναι ένα μη φλεγμονώδες αυτοάνοσο νόσημα και **αυτό που το χαρακτηρίζει είναι η εμφάνιση θρομβώσεων στο αρτηριακό και φλεβικό δίκτυο, καθώς και η ύπαρξη επιπλοκών στην κύηση.** Ακόμη, όπως προδίδει και το όνομα του, στον ορό των ασθενών υπάρχουν **αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα.** Αυτά που ανιχνεύονται πιο συχνά σε αυτήν την νόσο είναι το αντιπηκτικό του λύκου, τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα και τα αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης I (Sheth and Parke, 2016). Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα είναι μια μεγάλη ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων, που αναγνωρίζουν διάφορα φωσφολιπίδια (PL), πρωτεΐνες πλάσματος που προσδένονται στα φωσφολιπίδια (PL-binding plasma proteins) ή/και σύμπλοκα φωσφολιπιδίων-πρωτεϊνών (Lopez et al., 2004).

1.4.1.6 ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Η επίκτητη απλαστική αναιμία είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα που **χαρακτηρίζεται από έλλειψη αρχέγονων μητρικών αιμοποιητικών κυττάρων, από υποκυτταρικότητα μυελού των οστών, καθώς και από πανκυτταροπενία περιφερικού αίματος.** Μια αυτοάνοση αντίδραση Τ-κυττάρων προκαλεί μείωση των βλαστοκυττάρων, αλλά τα αυτοαντισώματα και τα κύτταρα-στόχοι που εμπλέκονται παραμένουν άγνωστα. Επιδημιολογικές μελέτες προτείνουν ότι η έκθεση σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθώς και η ύπαρξη πολυμορφισμών σε γονίδια σχετίζεται με την παθογένεια της νόσου (Goto et al., 2013) (Keohane, 2004).

1.4.1.7 ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΝΥΚΤΕΡΙΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ

Η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα που **χαρακτηρίζεται από διαταραχή του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου και συχνά σχετίζεται με υψηλό ποσοστό εμφάνισης φλεβικής θρόμβωσης, που είναι ιδιαίτερα απειλητική για τη ζωή των ασθενών.** Επίσης, οδηγεί περίπου το 50% των ασθενών στο θάνατο λόγω θρομβωτικών επιπλοκών. Όπως υποδηλώνει και το όνομα της νόσου, λόγω της μείωσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, υπάρχει συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στα ούρα έχοντας ως αποτέλεσμα τα ούρα των ασθενών να έχουν πολύ σκούρο χρώμα το πρωί.

Πιο συγκεκριμένα, το νόσημα αυτό είναι μια κατάσταση στην οποία το συμπλήρωμα είναι εκτός ελέγχου προκαλώντας συστηματικές επιπλοκές, κυρίως λόγω της ενδοαγγειακής αιμόλυσης και της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Τα προαναφερθέντα **ξεκινούν από μεταλλάξεις του γονιδίου PIG-A**, με αποτέλεσμα την ανεπάρκεια των πρωτεϊνών που συνδέονται με την γλυκοσυλο-φωσφατιδυλο-ινοσιτόλη (GPI). Γενικότερα, η παραπάνω ανεπάρκεια, και κυρίως αυτή των ρυθμιστικών πρωτεϊνών που ανήκουν στο συμπλήρωμα (CD55 και CD59), οδηγεί στην υπερευαισθησία των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων, προκαλώντας ενδοαγγειακή αιμόλυση και θρομβώσεις, οι οποίες συνιστούν και τις κύριες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου (Devalet et al., 2015).

1.4.1.8 ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΛΑΣΙΑ

Η πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα, στο οποίο ο μηχανισμός του ανοσοποιητικού συστήματος διακόπτει τη διαφοροποίηση των ερυθροειδών. Αυτό μπορεί να προκληθεί από ένα αυτοαντίσωμα ή από άλλη ανοσολογική διεργασία. Στην περίπτωση του αυτοαντισώματος, ο στόχος του είναι μεταβλητός και μπορεί να βρίσκεται στο επίπεδο των πρόδρομων ερυθροειδών (Means, 2016).

1.4.1.9 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία χαρακτηρίζεται από αιμόλυση που προκαλείται από αυτοαντισώματα έναντι ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος. Η ετήσια συχνότητα εμφάνισης της είναι 1-3/100.000 και το ποσοστό θνησιμότητας της κυμαίνεται στο 11%. Επίσης, διαχωρίζεται σε 3 κατηγορίες, στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία εκ θερμών αυτοαντισωμάτων (δρουν σε θερμοκρασίες μεταξύ 37-40°C, αποτελώντας το 75% των περιπτώσεων), εκ ψυχρών αυτοαντισωμάτων (δρουν σε θερμοκρασίες μικρότερες των 30°C, αποτελώντας το 15% των περιπτώσεων), καθώς και σ' αυτήν του μικτού τύπου (λιγότερο από 5%) (Park, 2016).

1.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ

Τα βιολογικά συστήματα συχνά αντιπροσωπεύονται ως δίκτυα που είναι σύνθετα σύνολα δυαδικών αλληλεπιδράσεων ή συνδέσεων μεταξύ διαφορετικών οντοτήτων. Επί της ουσίας, κάθε βιολογική οντότητα αλληλεπιδρά με άλλες βιολογικές οντότητες, από το μοριακό επίπεδο έως και το επίπεδο του οικοσυστήματος. Αυτό μας δίνει τη δυνατότητα να μοντελοποιήσουμε τη βιολογία χρησιμοποιώντας πολλά διαφορετικά δίκτυα όπως τα οικολογικά, τα νευρολογικά, τα μεταβολικά ή τα μοριακά δίκτυα αλληλεπίδρασης. Στη συνέχεια, θα γίνει αναφορά των βιολογικών δικτύων που έχουν χρησιμοποιηθεί στην παρούσα διπλωματική εργασία, που είναι τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων.

♦ ΔΙΚΤΥΑ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

Ένα δίκτυο τέτοιου τύπου παρέχει πληροφορία σχετικά με το πως διαφορετικού τύπου πρωτεΐνες λειτουργούν σε συνεργασία με άλλες,

καθιστώντας εφικτές τις βιολογικές διεργασίες, που λαμβάνουν χώρα εντός του κυττάρου. Παρά το γεγονός ότι η ακολουθία των περισσότερων πρωτεϊνών είναι ήδη γνωστή, η μοριακή τους λειτουργία δεν έχει καθοριστεί πλήρως. Στην έρευνα της υπολογιστικής βιολογίας αποτελεί πρόβλημα ακόμα και σήμερα η πρόβλεψη της λειτουργίας των πρωτεϊνών. Παρόλα αυτά, έχουν αναπτυχθεί διάφορες πειραματικές και υπολογιστικές τεχνικές προκειμένου να γίνει εφικτή η πρόβλεψη της λειτουργίας μιας πρωτεΐνης μέσω των αλληλεπιδράσεων της με άλλα βιομόρια.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων έχουν χαρακτηριστικά δικτύων ανεξάρτητων από κλίμακα (scale-free networks), τα οποία θα αναλυθούν στη συνέχεια. Επίσης, σε αυτά τα δίκτυα **κεντρικές πρωτεΐνες (hubs)** είναι αυτές που έχουν μεγάλο βαθμό συνδεσιμότητας, δηλαδή έχουν πολλές αλληλεπιδράσεις με άλλες πρωτεΐνες, εμφανίζοντας υψηλή βιολογική σημαντικότητα λόγω του ρόλου τους για την επιβίωση του κυττάρου (Pavlopoulos et al., 2011; Pellegrini et al., 2004).

1.5.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ

Όλα αυτά τα χρόνια υπάρχει διαρκής συσσώρευση δεδομένων από την βιολογική έρευνα και αυτό σαν γεγονός έχει καταστήσει επιτακτική την ανάγκη ανάπτυξης πιο συστηματικών προσεγγίσεων ως προς την ανάλυση δεδομένων. Η **Συστημική Βιολογία** στοχεύει στην κατανόηση βιολογικών οντοτήτων σε συστημικό επίπεδο, αναλύοντας τα όχι μόνο ως μεμονωμένα στοιχεία αλλά και στο σύνολο τους, τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπιδρούν, καθώς και τις ιδιότητες που αυτά φέρουν. Σχετικά με αυτό υπάρχουν τα **βιολογικά δίκτυα** που, όπως προαναφέραμε, επιτρέπουν την αναπαράσταση και την ανάλυση βιολογικών συστημάτων, χρησιμοποιώντας εργαλεία που προέρχονται από τη θεωρία γράφων.

1.5.1.1 ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ

Η ανάλυση του βιολογικού δικτύου προέκυψε ιστορικά από εργαλεία και έννοιες της ανάλυσης κοινωνικών δικτύων, καθώς και από την εφαρμογή της θεωρίας γράφων στις κοινωνικές επιστήμες.

Από μαθηματικής πλευράς, ένα δίκτυο είναι ένας γράφος στον οποίο απεικονίζονται οι σχέσεις που υπάρχουν μεταξύ των στοιχείων που

απαρτίζουν ένα σύνολο αντικειμένων. Οι **κόμβοι** αντιπροσωπεύουν διαφορετικές οντότητες (π.χ. πρωτεΐνες ή γονίδια σε βιολογικά δίκτυα), και οι συνδέσεις μεταξύ τους αναπαρίστανται με τη μορφή γραμμών που συνδέουν τους κόμβους και ονομάζονται **ακμές**. Τυπικά λοιπόν συμβολίζουμε το δίκτυο ως ένα γράφο G , που ορίζεται από το σύνολο των κόμβων V και των ακμών του E , δηλαδή $G(V,E)$. Επίσης, πρέπει να τονιστεί το γεγονός ότι υπάρχουν διάφορα **είδη δικτύων**, των οποίων η διαμόρφωση εξαρτάται από την φύση της πληροφορίας που φέρουν οι ακμές τους (Pavlopoulos et al., 2011).

ΕΙΔΗ ΓΡΑΦΩΝ

Ανάλογα με το **είδος των σχέσεων που χαρακτηρίζει ένα γράφο** μπορεί να διακριθεί στα εξής:

1. **Κατευθυνόμενος Γράφος:** Ορίζεται ως $G=(V,E,f)$, όπου f είναι η συνάρτηση που χαρτογραφεί κάθε στοιχείο E σε ένα διατεταγμένο ζεύγος κόμβων του V . Το διατεταγμένο ζεύγος ονομάζεται κατευθυνόμενη ακμή. Κάθε ακμή $E=(i,j)$ θεωρείται ότι έχει κατεύθυνση από το i στο j .

Οι κατευθυνόμενοι γράφοι είναι ως επί το πλείστον κατάλληλοι για την απεικόνιση βιολογικών μονοπατιών ή διαδικασιών που δείχνουν τη διαδοχική αλληλεπίδραση μακρομορίων σε μία ή περισσότερες χρονικές στιγμές και τη ροή πληροφορίας σε όλο το δίκτυο. Αυτού του είδους τους γράφους τους συναντάμε κυρίως σε μεταβολικά δίκτυα, δίκτυα μεταγωγής σήματος και ρυθμιστικά δίκτυα (Kholodenko et al., 2010).

2. **Απλός, Μη Κατευθυνόμενος Γράφος:** Ορίζεται ως $G=(V,E)$, που απαρτίζεται από ένα σύνολο κόμβων V και από ένα σύνολο ακμών E , οι οποίες δεν έχουν κατεύθυνση. Στην περίπτωση όπου δύο κόμβοι i, j ενώνονται με απλή σύνδεση, ονομάζονται **γείτονες**.

Η σύνδεση δύο στοιχείων με παραπάνω από δύο ακμές είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα δίκτυα. Σε τέτοιες περιπτώσεις, ο κάθε τρόπος σύνδεσης υποδηλώνει και διαφορετικό τύπο πληροφορίας. Αυτό είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό δεδομένου ότι υπάρχουν τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, στα οποία δύο πρωτεΐνες μπορεί να

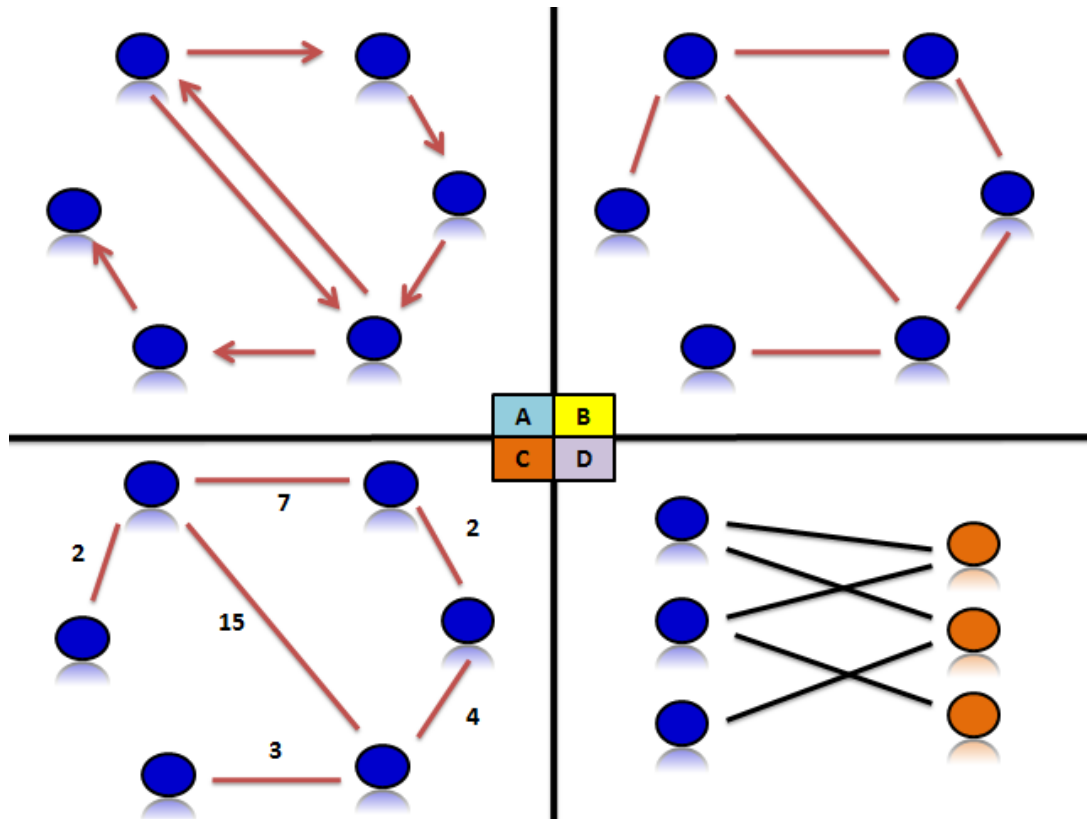
σχετίζονται εξελικτικά, να συν-εντοπίζονται στη βιβλιογραφία ή να συν-εκφράζονται σε διάφορα πειράματα. Κατά συνέπεια προκύπτουν τρεις διαφορετικές συνδέσεις, όπου η καθεμία έχει το δικό της νόημα (Pavlopoulos et al., 2011). Ένα παράδειγμα μιας βάσης πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων που λαμβάνει υπόψη της τους διαφορετικούς τύπους αλληλεπιδράσεων μεταξύ δύο πρωτεϊνών είναι η String (Jensen et al., 2009).

- 3. Γράφος με Βάρος:** Ορίζεται ως $G=(V,E)$, όπου $E = [(u, v) \mid u, v \in V]$ το σύνολο των ακμών που συνδέεται με συνάρτηση βάρους $w: E \rightarrow \mathbb{R}$. Τις περισσότερες φορές το βάρος της ακμής μεταξύ δύο κόμβων αντιπροσωπεύει τη συσχέτιση της σύνδεσης.

Αυτού του τύπου τα δίκτυα είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα σε όλο το πεδίο της Βιοπληροφορικής. Για παράδειγμα, το βάρος κάθε ακμής μπορεί να καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η ανίχνευση ομοιοτήτων στο επίπεδο της ακολουθίας ή της δομής μεταξύ των πρωτεϊνών ή η συν-έκφραση γονιδίων (Pavlopoulos et al., 2011).

- 4. Διμερής Γράφος:** Ορίζεται ως ένας μη κατευθυνόμενος γράφος $G=(V,E)$, όπου το σύνολο V χωρίζεται σε δύο υποσύνολα V_1 και V_2 . Επίσης, κάθε ακμή E συνδέει ένα κόμβο από το υποσύνολο V_1 με έναν κόμβο από το υποσύνολο V_2 και ποτέ δύο κόμβους του ίδιου υποσυνόλου.

Οι εφαρμογές ενός τέτοιου γράφου άπτονται στην απεικόνιση ή τη μοντελοποίηση βιολογικών δικτύων που αφορούν τη σύνδεση μεταξύ ενζύμων με μεταβολικά μονοπάτια. Ακόμη, μια ιδιαίτερα σημαντική εφαρμογή τους είναι η συσχέτιση πρωτεϊνών με ασθένειες (Huber et al., 2007).



Εικόνα 5: Απεικόνιση των διάφορων ειδών δικτύου: Α) Κατευθυνόμενος Γράφος, Β) Απλός, Μη Κατευθυνόμενος Γράφος, Γ) Γράφος με Βάρη και Δ) Διμερής Γράφος.

1.5.1.2 ΒΑΣΙΚΕΣ ΜΕΤΡΙΚΕΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Παρακάτω θα παρουσιαστούν οι πιο σημαντικές ιδιότητες των δικτύων, που μας επιτρέπουν να περιγράψουμε στατιστικά ένα δίκτυο και μας δίνουν πληροφορία για τον τρόπο με τον οποίο έχει προκύψει το δίκτυο αυτό μέσα από τον συνδυασμό των συστατικών του στοιχείων (Μπάγκος, 2015).

ΒΑΘΜΟΣ

Ι. ΒΑΘΜΟΣ ΚΟΜΒΟΥ

→ **Απλός, Μη Κατευθυνόμενος Γράφος:** Είναι ο αριθμός των συνδέσεων που έχει ένας κόμβος με άλλους κόμβους.

→ **Κατευθυνόμενος Γράφος:**

- **Έσω βαθμός $\deg_{in}(i)$:** αριθμός των εισερχόμενων ακμών στον κόμβο i .
- **Έξω βαθμός $\deg_{out}(i)$:** αριθμός των εξερχόμενων ακμών από τον κόμβο i (Pavlopoulos et al., 2011).

Όταν, για παράδειγμα, θέλουμε να εντοπίσουμε τις κεντρικές πρωτεΐνες (hubs) μέσα στο δίκτυο, υπολογίζουμε τους βαθμούς όλων των κόμβων και εντοπίζουμε τις πρωτεΐνες που είναι περισσότερο διασυνδεδεμένες με άλλες (Μπάγκος, 2015).

II. ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Ορίζεται ως ο αριθμός των κόμβων V του δικτύου και συμβολίζεται ως $|V|$.

ΜΕΓΕΘΟΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Ορίζεται ως ο αριθμός των ακμών E του δικτύου και συμβολίζεται ως $|E|$.

ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Το μέτρο αυτό είναι πολύ σημαντικό διότι καταδεικνύει το κατά πόσο τα στοιχεία του δικτύου είναι διασυνδεδεμένα μεταξύ τους. Μπορεί ένα δίκτυο να είναι μικρότερο και πυκνότερο ως προς τη συνδεσιμότητα των στοιχείων του, σε αντίθεση με ένα δίκτυο μεγαλύτερου μεγέθους. Το κατά πόσο αραιό ή πυκνό είναι ένα δίκτυο εξαρτάται από τον αριθμό των συνδέσεων μεταξύ των κόμβων του. Η έννοια της πυκνότητας του δικτύου ορίζεται ποσοτικά ως το πηλίκο των συνδέσεων (ακμών) που υπάρχουν στο δίκτυο προς τον αριθμό όλων των δυνατών συνδέσεων που θα είχε ένα πλήρως διασυνδεδεμένο δίκτυο ίσου μεγέθους. Η τιμή της πυκνότητας του δικτύου έχει εύρος τιμών από 0 (για ένα δίκτυο χωρίς συνδέσεις) μέχρι 1 (για ένα πλήρως διασυνδεδεμένο δίκτυο) (Μπάγκος, 2015). Γενικά, τα **βιολογικά δίκτυα** είναι **αραιά συνδεδεμένα**, καθώς αυτό προσδίδει ένα εξελικτικό πλεονέκτημα για την διατήρηση της ευρωστίας τους (Pavlopoulos et al., 2011).

ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Είναι ένα επιπλέον μέτρο που αφορά το μέγεθος ενός δικτύου και στον υπολογισμό του λαμβάνει υπόψη όχι μόνο το πλήθος των κόμβων αλλά και τη διασυνδεσιμότητα τους. Επί της ουσίας, είναι η μέγιστη συντομότερη διαδρομή μεταξύ όλων των πιθανών ζευγών που υπάρχουν μέσα στο δίκτυο (Μπάγκος, 2015).

ΣΥΝΤΟΜΟΤΕΡΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ

Είναι μια διαδρομή μεταξύ δύο κόμβων, όπου το άθροισμα των αποστάσεων των ακμών που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι το ελάχιστο δυνατό.

ΜΕΣΟ ΜΗΚΟΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ

Ορίζεται ως η μέση τιμή που υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψη το συντομότερο μονοπάτι μεταξύ κάθε ζεύγους κόμβων.

ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ

Είναι μια πολύ σημαντική στατιστική ιδιότητα που δείχνει την τάση του δικτύου να ομαδοποιείται. Μια ομάδα είναι ένα υποσύνολο κόμβων που διαθέτει πολλές ακμές που συνδέουν τους κόμβους μεταξύ τους.

ΤΟΠΙΚΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ

Υπολογίζεται ως ο λόγος του αριθμού των ακμών μεταξύ των γειτόνων ενός κόμβου προς τον αριθμό όλων των δυνατών συνδέσεων μεταξύ τους. Όσο πιο κοντά είναι στην τιμή 1, τόσο πιο πιθανό είναι το δίκτυο να σχηματίζει ομάδες.

ΜΕΣΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ορίζεται ως ο μέσος όρος όλων των τοπικών συντελεστών ομαδοποίησης από όλους τους κόμβους. Τα βιολογικά δίκτυα έχουν σημαντικά υψηλότερο μέσο συντελεστή ομαδοποίησης σε σχέση με τα τυχαία δίκτυα, γεγονός που αποδεικνύει τη μοριακή φύση τους. Πράγματι, πολλές κυτταρικές διεργασίες οργανώνονται από υποσύνολα βιομορίων που σχηματίζουν ομάδες (Pavlopoulos et al., 2011).

ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΕΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Στα βιολογικά δίκτυα είναι πολύ σημαντική η εύρεση κεντρικών κόμβων ή ενδιάμεσων κόμβων που επηρεάζουν την τοπολογία του δικτύου.

- ♦ **ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑ ΒΑΘΜΟΥ:** Δείχνει σημαντικούς κόμβους που εμπλέκονται σε έναν μεγάλο αριθμό αλληλεπιδράσεων. Οι κόμβοι με υψηλή κεντρικότητα βαθμού λέγονται κεντρικοί κόμβοι (hubs), έχοντας μεγάλο αριθμό γειτόνων. Τα δίκτυα ανεξάρτητα-κλίμακας (scale-free networks) τείνουν να περιέχουν κεντρικούς κόμβους. Επίσης, η τοπολογία του δικτύου επηρεάζεται με την αφαίρεση τέτοιων κόμβων. Γενικά, έχει αποδειχτεί ότι τα βιολογικά δίκτυα είναι ανθεκτικά έναντι τυχαίων αναταράξεων αλλά

η καταστροφή κεντρικών κόμβων οδηγεί σε καταστροφή του δικτύου τους (Pavlopoulos et al., 2011).

- ♦ **ΠΛΗΣΙΕΣΤΕΡΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑ:** Υποδηλώνει σημαντικούς κόμβους που επικοινωνούν γρήγορα με άλλους κόμβους του δικτύου (Pavlopoulos et al., 2011).
- ♦ **ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑ:** Δείχνει σημαντικούς κόμβους που βρίσκονται σε υψηλό ποσοστό των μονοπατιών μεταξύ άλλων κόμβων στο δίκτυο. Χωρίς αυτούς τους ενδιάμεσους κόμβους δε θα υπήρχε τρόπος επικοινωνίας μεταξύ δύο γειτόνων. Οι πρωτεΐνες που έχουν μεγάλη ενδιάμεση κεντρικότητα ονομάζονται **στενωποί** (bottlenecks), για τον ρόλο κλειδί που έχουν με τις λειτουργικές και δυναμικές τους ιδιότητες (Pavlopoulos et al., 2011).
- ♦ **ΕΚΚΕΝΤΡΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑ:** Είναι ένα μέτρο που μας δείχνει πόσο εύκολα προσβάσιμος είναι ένας κόμβος σε σχέση με άλλους κόμβους. Στα βιολογικά δίκτυα, οι πρωτεΐνες ή άλλες βιολογικές οντότητες με υψηλή έκκεντρη κεντρικότητα είναι εύκολα προσβάσιμες από λειτουργικής άποψης από άλλα στοιχεία του δικτύου, προκαλώντας αλλαγές στη συγκέντρωση άλλων ενζύμων ή μορίων με τα οποία συνδέονται. Αντιθέτως, πρωτεΐνες που έχουν χαμηλή έκκεντρη κεντρικότητα συχνά έχουν περιθωριακό λειτουργικό ρόλο στο δίκτυο (Pavlopoulos et al., 2011).

1.5.1.3 ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η τοπολογία του δικτύου μας αποκαλύπτει πληροφορίες σχετικά με τη βιολογική σημαντικότητα του. Τα δίκτυα ακολουθούν μοτίβα και κανόνες, έχοντας μια συγκεκριμένη τοπολογία που επιτρέπει στους επιστήμονες να πραγματοποιήσουν βαθύτερη ανάλυση προκειμένου να κατακτήσουν περαιτέρω γνώση για αυτό που μελετούν.

Δίκτυα ανεξάρτητα από κλίμακα ή άλλα πραγματικά δίκτυα, περιγράφουν φυσικά δίκτυα όπως οι διαδικτυακές κοινότητες, όπου κόμβοι είναι οι άνθρωποι και ακμές οι μεταξύ τους σχέσεις. Πολλά βιολογικά δίκτυα έχουν

ιδιότητες δικτύων ανεξάρτητων από κλίμακα, όπου οι κόμβοι αντιπροσωπεύουν τις βιολογικές οντότητες και οι ακμές τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

1.5.1.3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΔΙΚΤΥΩΝ

■ ΤΥΧΑΙΑ ΔΙΚΤΥΑ

Δίκτυα των οποίων οι συνδέσεις μεταξύ των κόμβων τους ακολουθούν τυχαία κατανομή. Είναι ένα απλό μοντέλο όπου ο αριθμός των κόμβων είναι N , τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ένα σύνολο επιλεγμένων ακμών από τις πιθανές $N(N-1)/2$ τυχαίες ακμές (Erdős P, 1961; Watts DJ, 1961).

■ ΔΙΚΤΥΑ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ ΑΠΟ ΚΛΙΜΑΚΑ

Αυτού του τύπου τα δίκτυα περιγράφουν τα περισσότερα βιολογικά δίκτυα και παρέχουν πληροφορίες από μια εξελικτική σκοπιά σχετικά με τη δυναμική του δικτύου. Μπορεί να επιτευχθεί επέκταση του δικτύου με την προσθήκη νέων κόμβων που δημιουργούν συνδέσεις έχοντας ως προτίμηση κόμβους που είναι ήδη συνδεδεμένοι (Yamada and Bork, 2009).

Ακόμη, ακολουθούν την κατανομή νόμου δύναμης με $P(k) \sim k^{-\gamma}$. Αν θεωρήσουμε ότι το k αντιπροσωπεύει τον αριθμό των συνδέσεων ενός κόμβου, το $P(k)$ την πιθανότητα ο βαθμός ενός τυχαία επιλεγμένου κόμβου να ισούται με k και γ τον εκθέτη του βαθμού. Ακόμη, τα δίκτυα αυτού του τύπου μπορούν να κατασκευαστούν με την προσθήκη κόμβων σε ένα ήδη υπάρχον δίκτυο και να επιτευχθεί η σύνδεση τους με άλλους κόμβους, με προτίμηση που είναι ανάλογη του βαθμού του κόμβου.

Από την τιμή του γ καθορίζονται σημαντικές ιδιότητες του δικτύου, στις περιπτώσεις όπου το $\gamma < 2$, ο ρόλος των κεντρικών κόμβων είναι σημαντικότερος από αυτόν που έχουν όταν ισχύει $2 < \gamma < 3$ (Barabasi and Oltvai, 2004).

Επίσης, έχουν **μικρότερο μέσο μήκος μονοπατιού** και περίπου 5 φορές μεγαλύτερο **συντελεστή ομαδοποίησης** από τα τυχαία δίκτυα.

Ακόμη, ο συντελεστής ομαδοποίησης έχει μια ροπή αύξησης με την προσθήκη περισσότερων κόμβων στο δίκτυο (Barabasi and Oltvai, 2004; Pavlopoulos et al., 2011).

■ ΔΙΚΤΥΑ ΜΙΚΡΟΥ ΚΟΣΜΟΥ

Το μοντέλο αυτό περιγράφει δίκτυα που ακολουθούν την τοπολογία μικρού κόσμου. Η τοπολογία αυτού του τύπου χαρακτηρίζει τα περισσότερα βιολογικά δίκτυα, όπως τα μεταβολικά δίκτυα. Τα δίκτυα αυτά έχουν μικρό **μέσο μήκος μονοπατιού** και **υψηλό συντελεστή ομαδοποίησης**. Σε σύγκριση με τα τυχαία δίκτυα έχουν υψηλότερο συντελεστή ομαδοποίησης, ο οποίος δεν επηρεάζεται από το μέγεθος του δικτύου (Watts and Strogatz, 1998).

1.5.2 ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΩΝ

Υπάρχει πληθώρα εργαλείων που χρησιμοποιείται για την οπτικοποίηση δικτύων. Συγκεκριμένα, προσφέρει πολλά στην ανάλυση των βιολογικών δικτύων, των οποίων η πολυπλοκότητα όλο και αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου, λόγω της διαρκούς συσσώρευσης δεδομένων. Ένα πολύ διαδεδομένο εργαλείο είναι το **Cytoscape** (Pavlopoulos et al., 2008; Sanz-Pamplona et al., 2012).

Αξίζει να αναφερθεί η δυνατότητα επεκτασιμότητας του, ένα βασικό χαρακτηριστικό που το κάνει ελκυστικό. Μέχρι σήμερα έχει δημιουργηθεί μια πληθώρα ελεύθερα διαθέσιμων εφαρμογών (περισσότερες από 150), που μπορούν να ενσωματωθούν πολύ εύκολα στο Cytoscape. Οι εφαρμογές αυτές δίνουν επιπλέον δυνατότητες στο πρόγραμμα με την πραγματοποίηση ομαδοποίησης, ανάλυσης εμπλουτισμού και σύγκρισης δικτύων μεταξύ άλλων. Είναι στη διακριτική ευχέρεια του κάθε χρήστη ποιες από αυτές θα κατεβάσει και θα χρησιμοποιήσει.

1.5.3 ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ

Η ομαδοποίηση στοχεύει στο να μειώσει την πολυπλοκότητα ενός βιολογικού δικτύου με το να ταξινομεί ένα σύνολο αντικειμένων σε ομάδες, που η καθεμία από αυτές διακρίνεται από την ομοιότητα των μεταξύ της αντικειμένων. Στα

βιολογικά δίκτυα, αυτό μπορεί να βοηθήσει στον προσδιορισμό όμοιων βιολογικών οντοτήτων, όπως είναι οι πρωτεΐνες που είναι ομόλογες σε διαφορετικούς οργανισμούς ή που ανήκουν στο ίδιο σύμπλοκο και γονίδια που συν-εκφράζονται (Pavlopoulos et al., 2011).

Υπάρχουν αρκετοί διαθέσιμοι αλγόριθμοι που πραγματοποιούν ομαδοποίηση και πολλοί εξ' αυτών έχουν χρησιμοποιηθεί σε δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Ένας τέτοιος αλγόριθμος μπορεί να αξιολογηθεί από την ικανότητα του να βρίσκει ομάδες που έχουν σημασία από βιολογικής πλευράς, καθώς και από την ανθεκτικότητα του σε θετικά και αρνητικά σφάλματα. Έχει γίνει συγκριτική ανάλυση μεταξύ των επικρατέστερων αλγορίθμων, που είναι οι εξής:

- Markov Clustering (MCL)
- Molecular Complex Detection (MCODE)
- Restricted Neighborhood Search Clustering (RNSC)
- Super Paramagnetic Clustering (SPC)

Αυτός που αναδείχθηκε ως ο καλύτερος για την εύρεση πρωτεϊνικών συμπλόκων και λειτουργικών ομάδων είναι ο **Markov Clustering (MCL)** (Brohee and van Helden, 2006; Pizzuti and Rombolà, 2014).

1.5.4 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ

Είναι πολύ σημαντική η κατανόηση της βιολογικής πληροφορίας που περιέχεται, για παράδειγμα, σε ένα δίκτυο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων και για τον σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι. Μία από τις πιο διαδεδομένες είναι η λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού (functional enrichment analysis), που ορίζεται ως η εύρεση εμπλουτισμένων όρων σε ένα σύνολο γονιδίων ή πρωτεϊνών. Χωρίς την δημιουργία βιοπληροφορικών εργαλείων θα ήταν ανέφικτη αυτού του τύπου η ανάλυση, η οποία και βασίζεται σε μια κοινότητα αποτελούμενη από μέλη βιοπληροφορικών, που δημιούργησαν την Κοινοπραξία Γονιδιακής Οντολογίας (Gene Ontology Consortium - GOC). Η Γονιδιακή Οντολογία δίνει την δυνατότητα στον ερευνητή να βρει όρους γονιδιακής οντολογίας που αφορούν την βιολογική διεργασία, την μοριακή λειτουργία και την υποκυτταρική θέση των γονιδίων ή πρωτεϊνών που μελετά. Σε συστημικό επίπεδο έχει ιδιαίτερη σημασία αυτή η

ανάλυση, λόγω του ότι μπορεί κανείς να εντοπίσει ποιοι όροι γονιδιακής οντολογίας υπερεκπροσωπούνται από ένα σύνολο και να καταλήξει σε ουσιώδη συμπεράσματα βάσει του ερευνητικού του ερωτήματος (Gene Ontology, 2015).

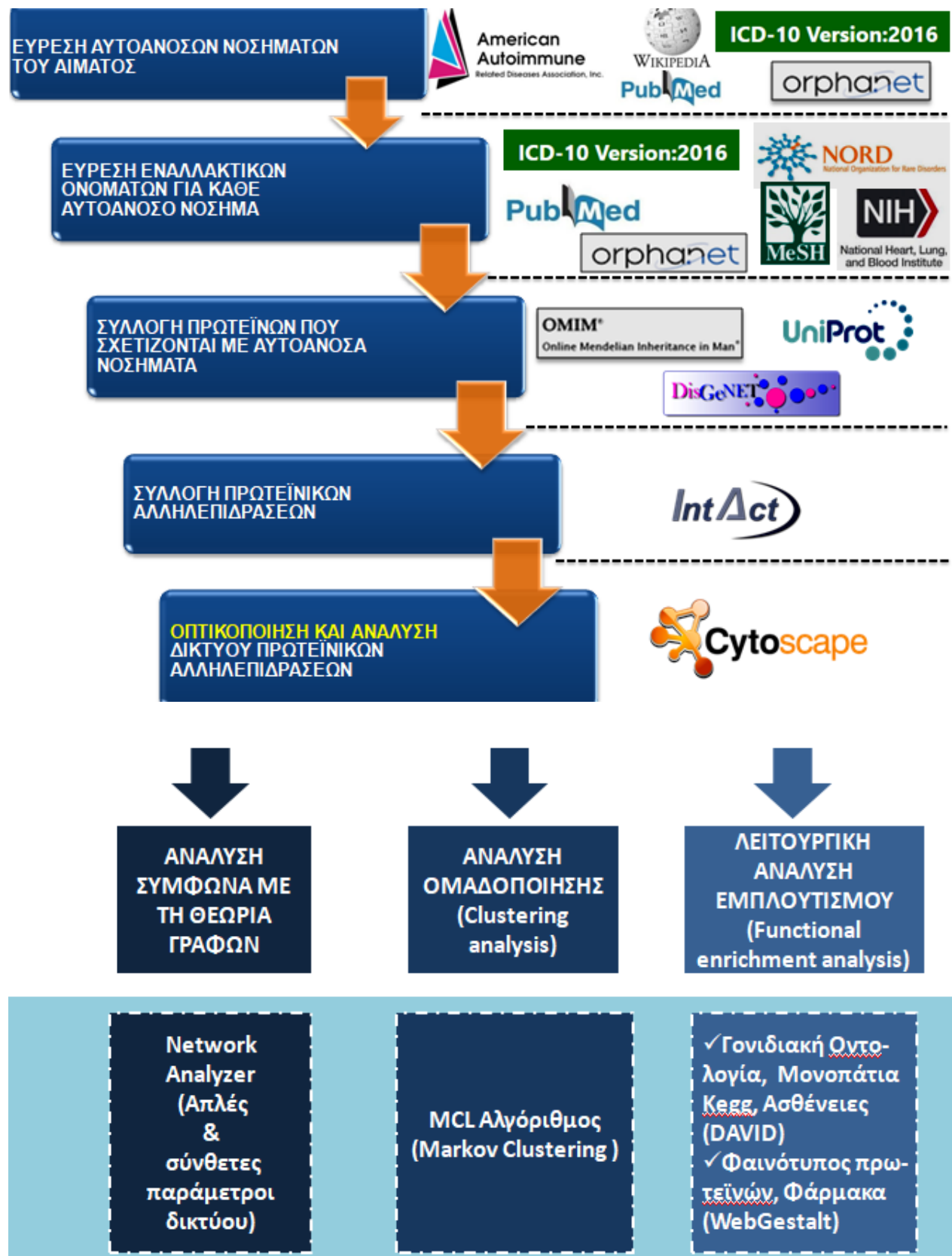
1.6 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι περίπλοκες ανοσολογικές διαταραχές και ενώ θεωρούνται σπάνιες ασθένειες, στο σύνολο τους πλήττουν εκατομμύρια ασθενείς. Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν τον αμερικανικό πληθυσμό, το 5-8% πάσχει από αυτά. Παρά την κλινική ποικιλομορφία τους έχουν μια ομοιότητα, τη **δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος**. Αυτό είναι ένα αποτέλεσμα που απορρέει από πολυάριθμους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, οδηγώντας σε αλλαγή της ανοσοαπόκρισης (Karorka et al., 2006). Όλα τα παραπάνω καθιστούν επιτακτική την ανάγκη διερεύνησης της αιτίας των αυτοάνοσων νοσημάτων, δεδομένου ότι πολλοί άνθρωποι υποφέρουν από αυτά, χωρίς να μπορούν να θεραπευτούν και άλλοι τόσοι πεθαίνουν, μη γνωρίζοντας ότι η αιτία που τους οδήγησε εκεί ήταν η αυτοανοσία, λόγω έλλειψης δεδομένων διάγνωσης.

Η φυσική αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών οδηγεί στο σχηματισμό πυκνών συνδεδεμένων δικτύων και τα καθιστά αξιοσημείωτο αντικείμενο έρευνας. Τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων είναι χρήσιμα, διότι συμβάλλουν στη βελτίωση των βιολογικών και βιοϊατρικών εφαρμογών. Ο ρόλος των πρωτεϊνών καθώς και οι αλληλεπιδράσεις τους καθορίζουν μοριακούς και κυτταρικούς μηχανισμούς, οι οποίοι ελέγχουν υγιείς και παθολογικές καταστάσεις σε έναν οργανισμό. Επομένως, τέτοιου τύπου δίκτυα διευκολύνουν την κατανόηση μηχανισμών που πυροδοτούν την εμφάνιση και την εξέλιξη μιας ασθένειας (Safari-Alighiarloo et al., 2014).

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συστηματική μελέτη των αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος με την χρήση της θεωρίας γράφων. Επίσης, η εύρεση υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια των υπό μελέτη νοσημάτων. Έπειτα, η διερεύνηση πιθανής κοινής γενετικής βάσης μεταξύ αυτών των αυτοάνοσων νοσημάτων, με τη μελέτη άμεσων ή έμμεσων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα αυτά τα νοσήματα.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ



Εικόνα 6: Διάγραμμα ροής της μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε.

2.1 ΕΥΡΕΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΚΩΔΙΚΩΝ ΤΟΥΣ

Αρχικά, πραγματοποιήσαμε εκτενής αναζήτηση στη λίστα των αυτοάνοσων νοσημάτων που μας δίνονταν από την Wikipedia και την American Autoimmune Related Diseases Association (AARDA). Στη συνέχεια, έγινε φιλτράρισμα όλων των αυτοάνοσων νοσημάτων με κριτήριο την ανοσολογική απόκριση εαυτών κυττάρων του αίματος, προκειμένου να εντοπίσουμε τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.

Ακόμη, χρησιμοποιήσαμε τις βάσεις ICD και Orphanet, που αναλύονται παρακάτω, προκειμένου να βρούμε **τους κωδικούς που αντιστοιχούν σε κάθε αυτοάνοσο νόσημα** που μελετήσαμε. Είναι πολύ σημαντική η ύπαρξη τέτοιων κωδικών διότι συμβάλλει στην κατηγοριοποίηση γενετικών και άλλων τύπων σπάνιων ασθενειών, ξεφεύγοντας πια από τα όρια της ατομικής σπανιότητας (Ayme et al., 2015).

The image shows two screenshots of medical databases. The top screenshot is from the ICD-10 Version:2016 website. The search bar contains 'paroxysmal nocturnal'. The results list 'D59.5 Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria [Marchiafava-Micheli]' with an exclusion note 'Excl.: haemoglobinuria NOS (R82.3)'. The bottom screenshot is from the Orphanet website. The search bar contains 'Paroxysmal nocturnal hem'. The results show 'ORPHA:447 Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria'.

Εικόνα 7: Παράδειγμα αναζήτησης κωδικών στις βάσεις ICD-10 και Orphanet για την παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία.

- **ICD (International Classification of Diseases)–10:** Η Διεθνής Στατιστική Ταξινόμηση Νοσημάτων και Συναφών Προβλημάτων Υγείας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας – WHO (World Health Organization), αποτελεί τη δέκατη αναθεώρηση, καθώς και την πιο πρόσφατη, μιας

σειράς που καθιερώθηκε από το 1893 ως ταξινόμηση Bertillon ή Διεθνής Κατάλογος των Αιτιών Θανάτου.

Ως ταξινόμηση των νοσημάτων ορίζεται ένα σύστημα κατηγοριών, όπου καταγράφονται οι νοσολογικές οντότητες σύμφωνα με καθιερωμένα κριτήρια. Η στατιστική ταξινόμηση των νόσων περιλαμβάνει ολόκληρο το φάσμα των νοσολογικών καταστάσεων μέσα σε έναν ικανό αριθμό κατηγοριών (Rust, 2010).



Εικόνα 8: Λογότυπο της βάσης δεδομένων ICD (International Classification of Diseases)–10.

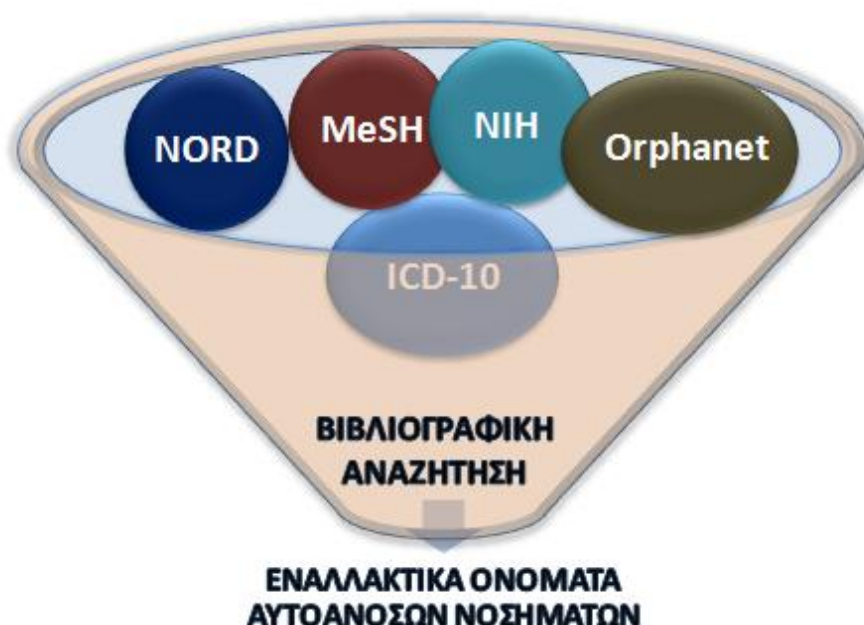
- **Orphanet:** Μια κοινοπραξία από 38 χώρες, που συντονίζεται από το γαλλικό ινστιτούτο INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale – French National Institute of Health and Medical Research). Αποτελεί τη μοναδική πηγή συγκέντρωσης υψηλής ποιότητας πληροφοριών που αφορούν σπάνιες ασθένειες και ορφανά φάρμακα. Στόχος της συγκεκριμένης βάσης είναι να συγκεντρώνει και να βελτιώνει την γνώση σχετικά με τέτοιου τύπου ασθένειες, προκειμένου να εξελιχθεί το κομμάτι της διάγνωσης, της περίθαλψης και της θεραπείας των ασθενών. Επίσης, παρέχει και την ονοματολογία σπάνιων ασθενειών με τους αντίστοιχους κωδικούς τους, τα οποία αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι στη διεξαγωγή της έρευνας (Rath et al., 2012).



Εικόνα 9: Λογότυπο της βάσης δεδομένων Orphanet.

2.2 ΕΥΡΕΣΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΟΝΟΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ήταν πολύ σημαντική η εύρεση όλων των πιθανών ονομάτων που αντιστοιχούν σε κάθε αυτοάνοσο νόσημα που μελετήσαμε, διότι **κατά την αναζήτηση μας στη βιβλιογραφία** καθώς και σε άλλες βάσεις που χρησιμοποιήσαμε (ICD, Orphanet, NORD, MeSH, NIH), διαπιστώσαμε ότι η ίδια ασθένεια είχε παραπάνω από ένα ονόματα. Αξίζει να αναφερθεί ότι αυτό το βήμα είναι **καθοριστικό** για τη σωστή συλλογή των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τις υπό μελέτη ασθένειες. Αρχικά, συγκεντρώσαμε όλα τα πιθανά ονόματα κάθε αυτοάνοσου νοσήματος από τις παραπάνω βάσεις και στη συνέχεια **κρατήσαμε μόνο όσα επαληθεύτηκαν μέσω της βιβλιογραφικής μας αναζήτησης**.

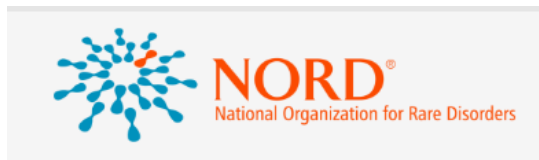


Εικόνα 10: Διαδικασία εύρεσης εναλλακτικών ονομάτων των αυτοάνοσων νοσημάτων.

Οι βάσεις που χρησιμοποιήσαμε αναλύονται παρακάτω:

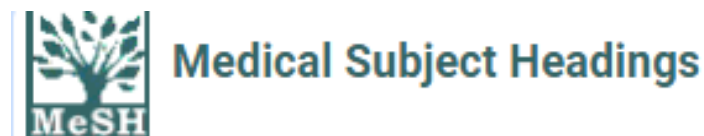
- **ICD (International Classification of Diseases) – 10:** Αναλύθηκε στην *Ενότητα 2.1*.
- **Orphanet:** Αναλύθηκε στην *Ενότητα 2.1*.
- **NORD (National Organization for Rare Disorders):** Ο Εθνικός Οργανισμός Σπάνιων Ασθενειών ιδρύθηκε το 1983 και είναι μια μη

κερδοσκοπική αμερικανική οργάνωση. Στόχος της είναι να παρέχει υποστήριξη σε άτομα που πάσχουν από σπάνιες ασθένειες, χρηματοδοτώντας την έρευνα και την εκπαίδευση. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι παρέχει πληροφορίες για περισσότερες από 1.200 σπάνιες ασθένειες, διευκολύνοντας έτσι τους ασθενείς, τις οικογένειες τους και τους ερευνητές (Putkowski, 2010).



Εικόνα 11: Λογότυπο της βάσης δεδομένων NORD (National Organization for Rare Disorders).

- **MeSH (Medical Subject Headings):** Δημιουργήθηκε και ενημερώνεται αρκετά συχνά από την Εθνική Βιβλιοθήκη Ιατρικής (NLM) των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (ΗΠΑ) και χρησιμοποιείται σε βάσεις δεδομένων, όπως είναι η PubMed για αναζήτηση. Παρέχει ένα ελεγχόμενο ιατρικό λεξιλόγιο, που αποτελεί «θησαυρό» στο κομμάτι της αναζήτησης και έχει μεταφραστεί σε πολλές άλλες γλώσσες. Επίσης, οι όροι που περιέχει έχουν οργανωθεί με ιεραρχικό τρόπο δίνοντας έτσι την δυνατότητα ανάκτησης της πληροφορίας, όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί όροι που περιγράφουν την ίδια έννοια (Lipscomb, 2000).



Εικόνα 12: Λογότυπο της βάσης δεδομένων MeSH (Medical Subject Headings).

- **NIH (National Institute of Health) – NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute):** Το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος (NHLBI) ανήκει στο Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, που είναι υπεύθυνο για την έρευνα στον τομέα της βιοϊατρικής και της δημόσιας υγείας. Το συγκεκριμένο ινστιτούτο διαθέτει παγκόσμια ηγετική θέση σε ερευνητικά και

εκπαιδευτικά προγράμματα για την προαγωγή της πρόληψης και θεραπείας των καρδιακών, πνευμονικών και αιματολογικών ασθενειών. Επίσης, έχει στο ενεργητικό του πολλές συνεργασίες, όπως με ιδιωτικούς και δημόσιους φορείς, ασθενείς, επιστήμονες, ομάδες υποστήριξης ασθενών και διεθνείς οργανισμούς (Mensah et al., 2015).



Εικόνα 13: Λογότυπο της βάσης δεδομένων NIH (National Institute of Health) – NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute).

2.3 ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

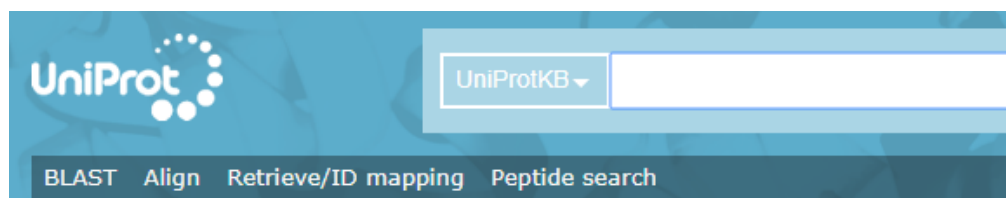
Επιτεύχθηκε συλλογή πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα υπό μελέτη αυτοάνοσα νοσήματα, όπου ως σχετιζόμενη πρωτεΐνη θεωρήθηκε αυτή που υπο/υπερεκφραζόταν ή υπήρχε κάποιος πολυμορφισμός. Η συλλογή πραγματοποιήθηκε μέσω **τριών διαφορετικών βάσεων δεδομένων**, με τους τρόπους που περιγράφονται παρακάτω:

- ✓ **UniProt:** Δημιουργήθηκε κώδικας σε **γλώσσα Perl**, προκειμένου να τρέξει με αυτοματοποιημένο τρόπο έναντι του πρωτεώματος του ανθρώπου της UniProt, της έκδοσης Μαρτίου του 2017 (UniProt release 2017_03). Ο κώδικας ήταν έτσι διαμορφωμένος, ώστε να ψάχνει σε συγκεκριμένα πεδία κάθε εγγραφής της UniProt όλα τα εναλλακτικά ονόματα ανά ασθένεια, και να μας επιστρέφει ως αποτέλεσμα το όνομα κάθε ασθένειας που βρήκε, το πεδίο της εγγραφής στο οποίο βρέθηκε καθώς και τον κωδικό της πρωτεΐνης. Έπειτα, έγινε έλεγχος κάθε αποτελέσματος ανατρέχοντας σε κάθε μελέτη, στην οποία αντιστοιχούσε η ενδεχόμενη συσχέτιση πρωτεΐνης-αυτοάνοσου νοσήματος και έγιναν δεκτές μόνο οι πρωτεΐνες στις οποίες αναφερόταν με ξεκάθαρο τρόπο η συσχέτιση τους με το εκάστοτε αυτοάνοσο.

- ✓ **DisGeNET:** Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση όλων των εναλλακτικών ονομάτων κάθε αυτοάνοσου νοσήματος, όπου μας δόθηκαν αποτελέσματα για υποψήφιος συσχετίσεις αυτοάνοσων νοσημάτων με πρωτεΐνες. Ήταν ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι για κάθε υποψήφια πρωτεΐνη δίνονταν και οι αντίστοιχοι κωδικοί PubMed κάθε μελέτης, στην οποία αναφερόταν κάποια συσχέτιση. Και εδώ, όπως και προηγουμένως, πραγματοποιήθηκε έλεγχος όλων αυτών των μελετών, όπου έγινε δεκτό κάθε αποτέλεσμα στο οποίο όντως υπήρχε συσχέτιση πρωτεΐνης-αυτοάνοσου.
- ✓ **OMIM:** Επιτεύχθηκε αναζήτηση όλων των εναλλακτικών ονομάτων κάθε αυτοάνοσου νοσήματος και μας δόθηκαν όλα τα γονίδια που έχουν φαινοτυπική συσχέτιση με αυτό. Έπειτα, όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, έγινε αντίστοιχος έλεγχος των αποτελεσμάτων.

Παρακάτω γίνεται παράθεση πληροφοριών για κάθε βάση που χρησιμοποιήσαμε:

- **UniProt:** Αποτελεί την κύρια, σε παγκόσμιο επίπεδο, βάση δεδομένων πρωτεϊνικών ακολουθιών. Αποτελείται από δύο υποσύνολα, την UniProt/SwissProt και την UniProt/TrEMBL, όπου η πρώτη διαθέτει καλά σχολιασμένες πρωτεϊνικές ακολουθίες, ενώ η δεύτερη περιέχει πρωτεϊνικές ακολουθίες που έχουν προκύψει με αυτοματοποιημένο τρόπο (ηλεκτρονική μετάφραση γονιδιωματικών αλληλουχιών). Συνδέεται με πολλές άλλες βάσεις και έτσι μας δίνει τη δυνατότητα να έχουμε πρόσβαση σε διαφορετικού τύπου πληροφορίες που αφορούν την ίδια πρωτεΐνη (Pundir et al., 2017).



Εικόνα 14: Λογότυπο της βάσης δεδομένων UniProt.

- **OMIM:** Είναι μια ολοκληρωμένη ελεύθερα διαθέσιμη βάση, καθημερινά ανανεώσιμη, που συλλέγει ανθρώπινα γονίδια και φαινότυπους. Περιέχει ανασκοποπήσεις που αφορούν όλες τις, μέχρι σήμερα γνωστές, κληρονομούμενες παθήσεις μενδελικού χαρακτήρα του ανθρώπου και παρέχει πληροφορίες για περισσότερα από 15.000 γονίδια. Η OMIM επικεντρώνεται κυρίως στην σχέση μεταξύ γονοτύπου-φαινοτύπου (Amberger et al., 2015).



Εικόνα 15: Λογότυπο της βάσης δεδομένων OMIM.

- **DisGeNET:** Είναι μια ολοκληρωμένη πλατφόρμα αναζήτησης που περιλαμβάνει 561.119 συσχετίσεις μεταξύ 17.074 γονιδίων και 20.370 ασθενειών (έκδοση Μαΐου του 2017), γεγονός που το καθιστά ένα από τα μεγαλύτερα αποθετήρια που διατίθενται σήμερα στο είδος του. Ακόμη, ενσωματώνει δεδομένα που είναι κατατεθειμένα σε καταλόγους ευρυγονιδιωματικών μελετών (GWAS), στην επιστημονική βιβλιογραφία κλπ. Τα δεδομένα της DisGeNET είναι ομοιογενώς σχολιασμένα με ελεγχόμενα λεξιλόγια και οντολογίες βάσει της επιστημονικής κοινότητας. Επιπλέον, διαθέτει διάφορες μετρικές προκειμένου να βοηθήσει την ιεράρχηση των αποτελεσμάτων που αφορούν τις σχέσεις μεταξύ γονιδίου-φαινοτύπου (Pinero et al., 2015).

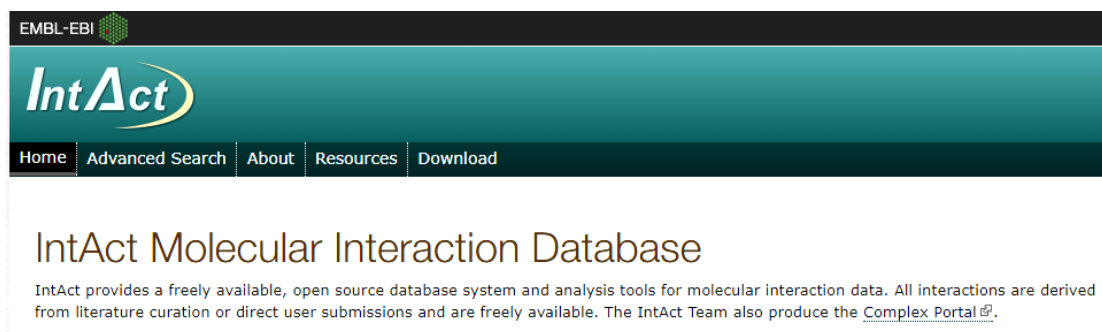


Εικόνα 16: Λογότυπο της βάσης δεδομένων DisGeNET.

2.4 ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

Για τη συλλογή των πρωτεϊνικών μας αλληλεπιδράσεων χρησιμοποιήσαμε τη βάση **IntAct** (αναλύεται παρακάτω), η οποία διαθέτει 751.286 αλληλεπιδράσεις και 99.807 αλληλεπιδρώντα μόρια (έκδοση 4.2.7). Για να επιτευχθεί αναζήτηση στη βάση, εισάγαμε σε αυτήν τους κωδικούς UniProt των πρωτεϊνών. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα συγκεντρώθηκαν σε αρχείο δομής **MI-TAB 2.7**. Έπειτα, τα επεξεργαστήκαμε και κρατήσαμε μόνο τις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών του ανθρώπου. Ακόμη, έχοντας ως στόχο να δούμε την, όσο το δυνατόν, πιο αντιπροσωπευτική θέση των σχετιζόμενων πρωτεϊνών με αυτοάνοσα στο δίκτυο, αποφασίσαμε να βρούμε και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρώτων τους γειτόνων.

- **IntAct:** Είναι μία ελεύθερη, ανοιχτού κώδικα, βάση δεδομένων που διαθέτει εργαλεία ανάλυσης δεδομένων μοριακών αλληλεπιδράσεων. Όλες οι αλληλεπιδράσεις που περιέχει προέρχονται από τον σχολιασμό της ήδη υπάρχουσας βιβλιογραφίας ή από την άμεση υποβολή των χρηστών κατευθείαν στη βάση. Αποτελεί την κύρια βάση μοριακών αλληλεπιδράσεων και η πλειοψηφία των δεδομένων της άπτεται κυρίως πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (Orchard et al., 2014).

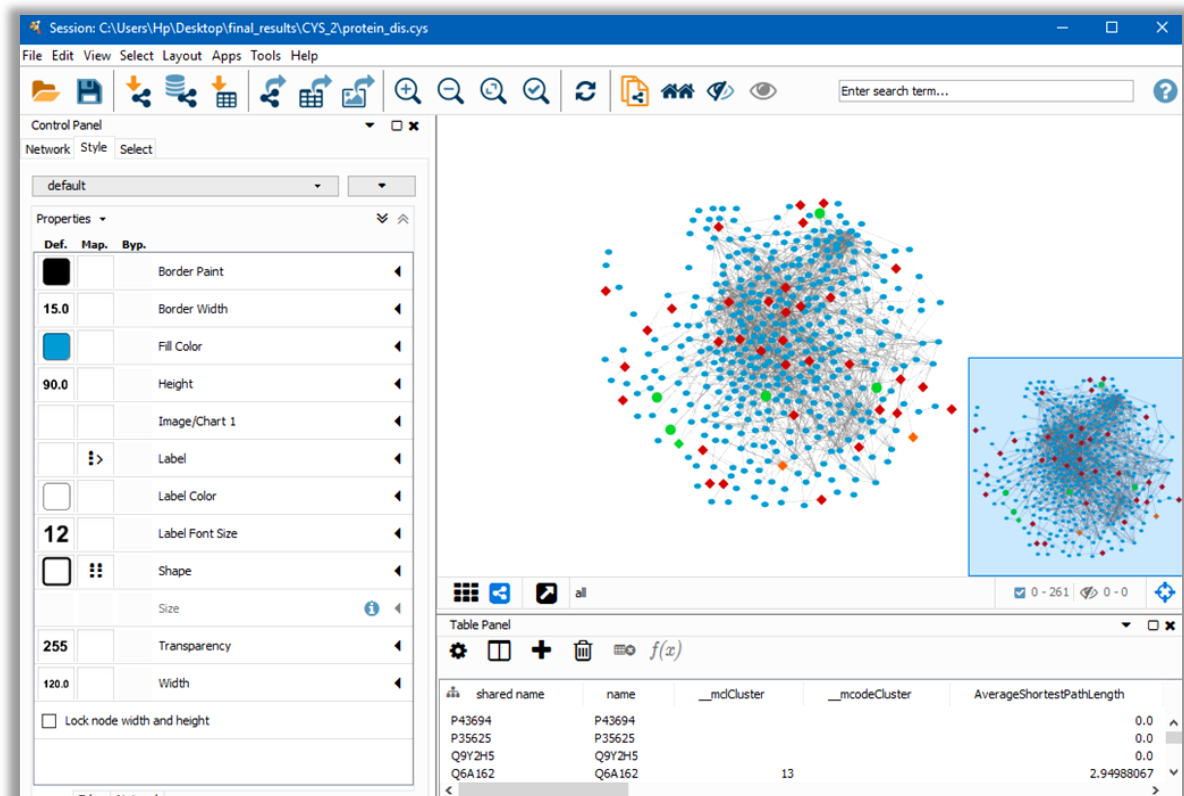


Εικόνα 17: Λογότυπο της βάσης δεδομένων IntAct.

2.5 ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

Η οπτικοποίηση των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων πραγματοποιήθηκε με την χρήση της έκδοσης **3.4.0** του **Cytoscape**. Το Cytoscape είναι ένα λογισμικό που διατίθεται ελεύθερα για την οπτικοποίηση βιομοριακών

αλληλεπιδράσεων (Shannon et al., 2003). Ως είσοδο του μπορεί να δεχθεί διάφορους τύπους αρχείων, όπως αρχείο δομής MI-TAB 2.7. Όταν γίνει η εισαγωγή των δεδομένων θα πρέπει να οριστούν οι στήλες των πρωτεϊνών (κόμβοι) που αλληλεπιδρούν, καθώς και το είδος της αλληλεπίδρασης τους (ακμές). Επομένως, βασικό προαπαιτούμενο είναι η ύπαρξη τριών στηλών: δύο στήλες για τα αλληλεπιδρώντα μόρια και μία στήλη για το είδος της αλληλεπίδρασης. Ακόμη, δίνεται η δυνατότητα, αν θέλουμε, να αποδώσουμε περαιτέρω χαρακτηριστικά στις πρωτεΐνες ή στην αλληλεπίδραση.



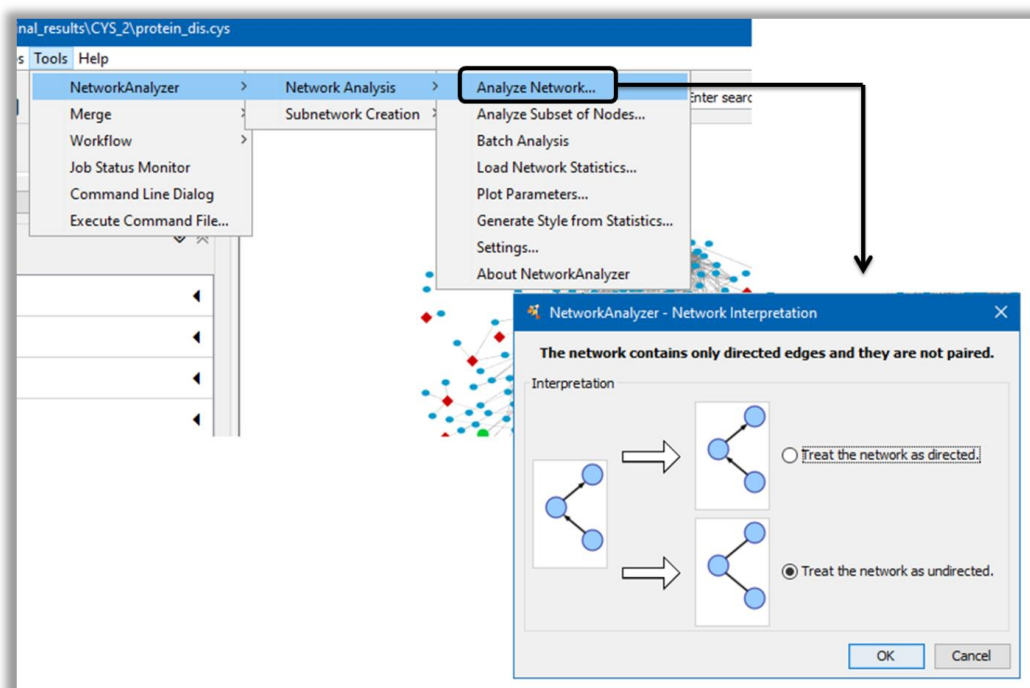
Εικόνα 18: Περιβάλλον εργασίας του Cytoscape.

2.6 ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ

Για να αναλύσουμε το δίκτυο μας χρησιμοποιήσαμε την προεγκατεστημένη εφαρμογή του Cytoscape, το **NetworkAnalyzer** (Assenov et al., 2008). Το **NetworkAnalyzer** είναι μια φιλική εφαρμογή προς τον χρήστη, όπου δεν απαιτεί εξειδικευμένη γνώση της θεωρίας γράφων για την χρήση της. Είναι σημαντική η συμβολή της στην ανάλυση δικτύων, διότι μπορεί και υπολογίζει με αποτελεσματικό τρόπο έναν μεγάλο αριθμό τοπολογικών παραμέτρων

(από απλές μέχρι σύνθετες) για, κατευθυνόμενα ή μη, δίκτυα. Δηλαδή, υπολογίζει τον αριθμό των κόμβων, των ακμών και των συνδεδεμένων στοιχείων, την διάμετρο του δικτύου, την ακτίνα, την πυκνότητα, την κεντρικότητα, την ετερογένεια, τον συντελεστή ομαδοποίησης, το χαρακτηριστικό μήκος μονοπατιού και τις κατανομές των βαθμών των κόμβων, των συνδεσιμότητων των γειτόνων, τον μέσο συντελεστή ομαδοποίησης και τα συντομότερα μήκη μονοπατιού (Assenon et al., 2008).

Επιπλέον, προσφέρει δυνατότητα επεξεργασίας των διαγραμμάτων που αφορούν τις κατανομές επιλέγοντας, για παράδειγμα, την εφαρμογή της κατανομής νόμου δύναμης (fit power law). Ακόμη, είναι πολύ βασικό το γεγονός ότι συνεργάζεται με το Cytoscape και έτσι ο χρήστης μπορεί να προβεί σε οπτικοποιήσεις βάσει τον τοπολογικών παραμέτρων που επιθυμεί. Επίσης, ο ερευνητής έχει την δυνατότητα να αποφασίσει πριν την ανάλυση για το αν θέλει οι ακμές, ακόμα και αν είναι κατευθυνόμενες στο δίκτυο, να αντιμετωπιστούν ως μη κατευθυνόμενες (Assenon et al., 2008).



Εικόνα 19: Παράδειγμα ανάλυσης δικτύου με την χρήση του NetworkAnalyzer στο Cytoscape και την επιλογή χειρισμού του δικτύου ως μη κατευθυνόμενο.

2.7 ΕΥΡΕΣΗ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΕΜΠΛΕΚΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Επιτεύχθηκε η εύρεση πρωτεϊνών με την υψηλότερη κεντρικότητα βαθμού, καθώς και την πλησιέστερη και ενδιάμεση κεντρικότητα. Οι πρωτεΐνες με υψηλό βαθμό κεντρικότητας, θα αναφέρονται στην παρούσα πτυχιακή ως **hubs**, αυτές με υψηλό βαθμό ενδιάμεσης κεντρικότητας ως **bottlenecks** και αυτές με υψηλό βαθμό πλησιέστερης κεντρικότητας ως **PHC** (*proteins with high closeness centrality*).

Παράλληλα, για όλες τις πρωτεΐνες του δικτύου έγινε ανάλυση συσχέτισης με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, σύμφωνα με τη βάση Γενετικών Συσχετίσεων Ασθενειών GAD (Gene Association Disease). Στη συνέχεια, απομονώθηκαν μόνο όσες πρωτεΐνες σχετίζονταν με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, με υψηλό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας. Ακολούθως, χρησιμοποιήθηκε ένα Venn διάγραμμα προκειμένου να αναπαρασταθούν οι κοινές πρωτεΐνες μεταξύ των: α) πρωτεϊνών με υψηλές τιμές κεντρικότητας, β) πρωτεϊνών με τις πιο στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, και γ) πρωτεϊνών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Στο τέλος, θεωρήσαμε ως υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην παθογένεια των αυτοάνοσων νοσημάτων που μελετάμε, όσες ανήκουν στο σύνολο των πρωτεϊνών με υψηλή τιμή κεντρικότητας, καθώς και σε αυτό με τις πιο στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων.

2.8 ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ MCL

Ένας αποδοτικός τρόπος προκειμένου να μειωθεί η πολυπλοκότητα του δικτύου είναι η εύρεση λειτουργικών ομάδων (functional modules) με την ανάλυση ομαδοποίησης (clustering analysis). Ο προσδιορισμός λειτουργικών ομάδων είναι σαν την εύρεση «κοινοτήτων» εντός του δικτύου. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε την εφαρμογή **clusterMaker** του Cytoscape, η οποία διαθέτει διάφορους αλγορίθμους που επιτυγχάνουν ομαδοποίηση. Εμείς **επιλέξαμε τον MCL** (Markov Clustering) διότι σύμφωνα με διάφορες μελέτες έχει αναδειχθεί, μεταξύ άλλων, ως ο καλύτερος αναφορικά με την

αποτελεσματικότητα του στην εύρεση λειτουργικών ομάδων (functional modules) (Brohee and van Helden, 2006; Vlasblom and Wodak, 2009).

Πραγματοποιήθηκε εκτέλεση του συγκεκριμένου αλγορίθμου, με τιμή εμφύσησης 1.8, χωρίς να αλλάξουμε τις τιμές από τις υπόλοιπες παραμέτρους του. Η τιμή εμφύσησης διατηρήθηκε στο 1.8, όντας η αποδοτικότερη ως προς την εφαρμογή της σε βιολογικά δίκτυα (Brohee and van Helden, 2006).

Ακόμη, επικεντρωθήκαμε στις ομάδες εκείνες, όπου υπήρχαν τουλάχιστον 2 πρωτεΐνες που να σχετίζονται με τα αυτοάνοσα νοσήματα που μελετάμε. Προκειμένου να μπορέσουμε να αποτυπώσουμε τον τύπο της σύνδεσης μεταξύ αυτών των πρωτεϊνών, ορίσαμε τους παρακάτω τρόπους σύνδεσης:

- **Πρώτης τάξης σύνδεση:** άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ τους.
- **Δεύτερης τάξης σύνδεση:** υπάρχουν κοινοί πρώτοι γείτονες μεταξύ τους.
- **Τρίτης τάξης σύνδεση:** υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των πρώτων γειτόνων τους.
- **Τέταρτης τάξης σύνδεση:** υπάρχουν κοινοί δεύτεροι γείτονες μεταξύ τους.

Στην 2^η, 3^η και 4^η τάξης σύνδεσης, οι πρωτεΐνες που λειτουργούν ως διαμεσολαβητές στην επικοινωνία των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα υπό μελέτη αυτοάνοσα νοσήματα, θα αναφέρονται στην παρούσα πτυχιακή, χάριν συντομίας, ως πρωτεΐνες-«γέφυρες».

2.9 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ

2.9.1.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ DAVID ΚΑΙ WEBGESTALT

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση εμπλουτισμού του δικτύου χρησιμοποιώντας τα εργαλεία που αναλύονται παρακάτω:

- 🔗 **DAVID (Functional Annotation Tool-Bioinformatics Resources 6.8):** Είναι ένα εργαλείο ανάλυσης εμπλουτισμού, το οποίο δημιουργήθηκε από το **εργαστήριο Ανθρώπινης Ρetroβιολογίας και Ανοσοπληροφορικής (Laboratory of Human Retrovirology and Immunoinformatics)**, που διερευνά τον μηχανισμό ανοσολογικών και

ιολογικών αποκρίσεων σε μολυσμένα άτομα, χρησιμοποιώντας μικροβιολογικές, βιοχημικές, ανοσολογικές και βιοπληροφορικές μεθόδους. Επομένως, είναι μεγάλη η ειδικότητα της πληροφορίας που μας παρέχεται σύμφωνα με όσα θέλουμε να μελετήσουμε (Dennis et al., 2003).

Μέσω του **DAVID** πραγματοποιήσαμε ανάλυση εμπλουτισμού που αφορά όρους **Γονιδιακής Οντολογίας (Μοριακή Λειτουργία, Βιολογική Διεργασία και Υποκυτταρική Θέση)**, μονοπάτια KEGG καθώς και εύρεση **σχετιζόμενων ασθενειών** από τη βάση **Γενετικών Συσχετίσεων Ασθενειών-GAD (Gene Association Disease)**.

Τέλος, στη ρύθμιση παραμέτρων αυτού του εργαλείου δεν τροποποιήσαμε τίποτα από τα προεπιλεγμένα πεδία παρά μόνο ορίσαμε το **επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στο 0.05** από το 0.1 που ήταν.



Εικόνα 20: Λογότυπο ανάλυσης εμπλουτισμού DAVID.

🔗 **WebGestalt (WEB-based Gene SeT AnaLysis Toolkit):** Είναι επίσης ένα εργαλείο ανάλυσης εμπλουτισμού που χρησιμοποιείται ευρέως, παρέχοντας διαφορετικού τύπου πληροφορίες (όρους Γονιδιακής Οντολογίας, μονοπάτια KEGG, φάρμακα, φαινότυπο, χρωμοσωμική θέση κλπ). Εμείς το χρησιμοποιήσαμε προκειμένου να βρούμε **τον φαινότυπο των πρωτεϊνών του δικτύου καθώς και τα φάρμακα που στοχεύουν σε αυτές** (Zhang et al., 2005).

Στις παραμέτρους αυτού το εργαλείου ορίσαμε να μας κάνει αναζήτηση με βάση τον άνθρωπο, σε πρώτη φάση να ψάξει τον φαινότυπο από την βάση HPO (Human Phenotype Ontology) και σε δεύτερη φάση τα φάρμακα από την βάση DrugBank, με **επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στο 0.05**.



Εικόνα 21: Λογότυπο ανάλυσης εμπλουτισμού WebGestalt.

2.10 ΕΥΡΕΣΗ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

Επιτεύχθηκε εύρεση φαινοτύπου για κάθε αυτοάνοσο νόσημα που μελετήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία. Κατά τη φάση της αναζήτησης μας υποβάλαμε στη βάση **HPO** (αναλύεται παρακάτω) τα εναλλακτικά ονόματα κάθε αυτοάνοσου νοσήματος, καταγράφοντας τους διάφορους όρους που αφορούν τον φαινότυπο κάθε ασθένειας (Kohler et al., 2017).

- **Οντολογία Ανθρώπινου Φαινοτύπου-HPO** (Human Phenotype Ontology): Είναι μια βάση που στοχεύει στην παροχή τυποποιημένων όρων που αφορούν **φαινοτυπικές ανωμαλίες** που συναντώνται σε ανθρώπινες ασθένειες. Κάθε όρος στην HPO αναπτύσσεται με την χρήση της ιατρικής βιβλιογραφίας, της Orphanet, της DECIPHER και της OMIM. Επίσης, η συγκεκριμένη βάση περιλαμβάνει 11.000 όρους περίπου και πάνω από 115.000 σχολιασμούς σε κληρονομικές ασθένειες (Kohler et al., 2017).

Human Phenotype Ontology

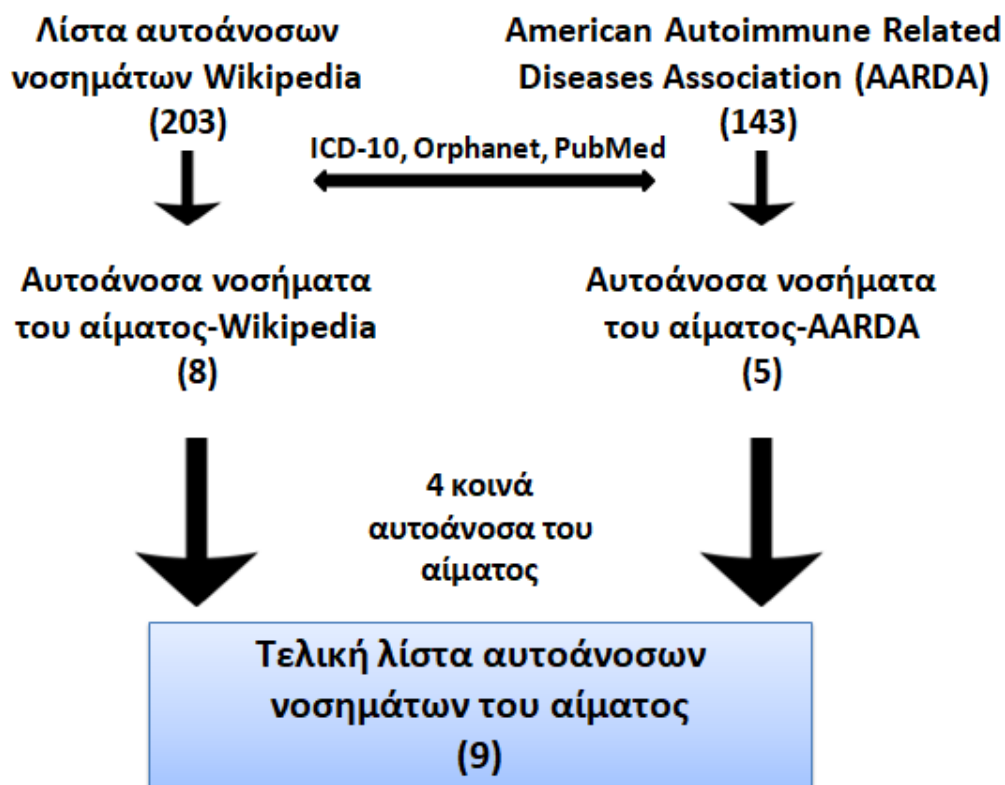
Εικόνα 22: Λογότυπο της βάσης δεδομένων HPO (Human Phenotype Ontology).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΕΥΡΕΣΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση με στόχο την εύρεση κάποιας επίσημης κατηγοριοποίησης των αυτοάνοσων νοσημάτων, όπου διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει διαθέσιμη μια τέτοια επίσημη κατηγοριοποίηση. Το μόνο που βρέθηκε ήταν μια άτυπη κατηγοριοποίηση στην **Wikipedia με 203 αυτοάνοσα νοσήματα**. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ξεχωριστή αναζήτηση για το καθένα από αυτά, ώστε να απομονώσουμε τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.

Παράλληλα, αναζητήθηκε η βάση της **Αμερικανικής Ένωσης Αυτοάνοσων νοσημάτων** (American Autoimmune Related Diseases Association), που είναι μια εθνική μη κερδοσκοπική οργάνωση, αφιερωμένη στην εξάλειψη αυτών των νοσημάτων. Στη διαθέσιμη λίστα της περιέχονται **143 αυτοάνοσα νοσήματα**, τα οποία αναζητήθηκαν το καθένα ξεχωριστά προκειμένου να διαπιστωθούν αυτά του αίματος.



Εικόνα 23: Διαδικασία εύρεσης αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος.

Πίνακας 1: Τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.

Αυτοάνοσο νόσημα του αίματος	Βιβλιογραφική αναφορά
Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων (Antiphospholipid syndrome)	<i>(Sheth et al., 2016, Conn Med)</i>
Επίκτητη απλαστική αναιμία (Acquired aplastic anemia)	<i>(Goto et al., 2013, Br J Haematol)</i>
Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (Autoimmune hemolytic anemia)	<i>(Gunawardena et al., 2013, Ceylon Med J)</i>
Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (Autoimmune lymphoproliferative syndrome)	<i>(Deutsch et al., 2004, Clin Rheumatol)</i>
Αυτοάνοση ουδετεροπενία (Autoimmune neutropenia)	<i>(Berliner et al., 2004, Hematology Am Soc Hematol Educ Program)</i>
Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (Autoimmune thrombocytopenic purpura)	<i>(Stentoft, 2016, Br J Haematol)</i>

Αυτοάνοσο νόσημα του αίματος	Βιβλιογραφική αναφορά
Κακοήθης αναιμία (Pernicious anemia)	<i>(Koulidiati et al., 2015, Med Sante Trop)</i>
Πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία (Primary acquired pure red cell aplasia)	<i>(Means, 2016, Hematology Am Soc Hematol Educ Program)</i>
Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	<i>(Shindo et al., 2007, Abdom Imaging)</i>

3.2 ΚΩΔΙΚΟΙ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Παρακάτω παρατίθενται οι κωδικοί ICD-10 και Orphanet, που αντιστοιχούν σε κάθε αυτοάνοσο νόσημα που μελετήθηκε στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Πίνακας 2: Αποτελέσματα εύρεσης κωδικών των ICD-10 και Orphanet για κάθε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.

ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	ICD-10	ICD-10 ΜΕΣΩ ORPHANET	ORPHANET
1) Κακοήθης αναιμία (Pernicious anemia)	D51.0	-	120
2) Αυτοάνοση ουδετεροπενία (Autoimmune neutropenia)	-	-	178996
3) Πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία (Primary acquired pure red cell aplasia)	D60.1	D60.1	98871
4) Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	D59.5	D59.5	447
5) Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (Autoimmune thrombocytopenic purpura)	-	D69.3	3002
6) Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (Autoimmune lymphoproliferative syndrome)	-	D47.9	3261

ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	ICD-10	ICD-10 ΜΕΣΩ ORPHANET	ORPHANET
7) Επίκτητη απλαστική αναιμία (Acquired aplastic anemia)	-	D61.1, D61.2	164823
8) Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων (Antiphospholipid syndrome)	D68.6	-	80
9) Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (Autoimmune hemolytic anemia)	D59.1	D59.1	98375

3.3 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα εναλλακτικά ονόματα που συλλέχθηκαν μέσα από την έρευνα μας για κάθε αυτοάνοσο νόσημα. Όπως φαίνεται και παρακάτω, βρέθηκαν εναλλακτικά ονόματα για όλα τα αυτοάνοσα, με εξαίρεση την επίκτητη απλαστική αναιμία.

Πίνακας 3: Αποτελέσματα εύρεσης εναλλακτικών ονομάτων για κάθε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.

ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ
1) Κακοήθης αναιμία (Pernicious anemia)	Νόσος Addison (Addison's Anemia), Αναιμία Addison-Biermer (Addison-Biermer Anemia, Anaemia: Addison Biermer pernicious (congenital)), Κακοήθης αναιμία του Addison (Addisonian Pernicious Anemia)

ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ
2) Αυτοάνοση ουδετεροπενία (Autoimmune neutropenia)	Autoimmune neutropaenia, Immunologic neutropenia
3) Πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία (Primary acquired pure red cell aplasia)	Πρωτοπαθής αυτοάνοση επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία (περιλαμβάνει την παροδική ερυθροβλαστοπενία της παιδικής ηλικίας) Primary autoimmune PRCA (includes transient erythroblastopenia of childhood), Μυελοδυσπλαστική πρωτοπαθής επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία (Primary myelodysplastic PRCA)
4) Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	Σύνδρομο Marchiafava-Micheli (Marchiafava-Micheli syndrome)
5) Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (Autoimmune thrombocytopenic purpura, Immune Thrombocytopenic Purpura)	Σύνδρομο Evans (Evans syndrome, Evans' Syndrome), Αυτοάνοση θρομβοπενία (Autoimmune Thrombocytopenia, Immune Thrombocytopenia), Ασθένεια Werlhof (Werlhof Disease, Werlhof's Disease), Πρωτοπαθής αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (primary immune thrombocytopenic purpura), Πρωτοπαθής θρομβοπενική πορφύρα (primary thrombocytopenic purpura), Πρωτοπαθής αυτοάνοση θρομβοπενία primary immune thrombocytopenia, Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα (idiopathic thrombocytopenic purpura)

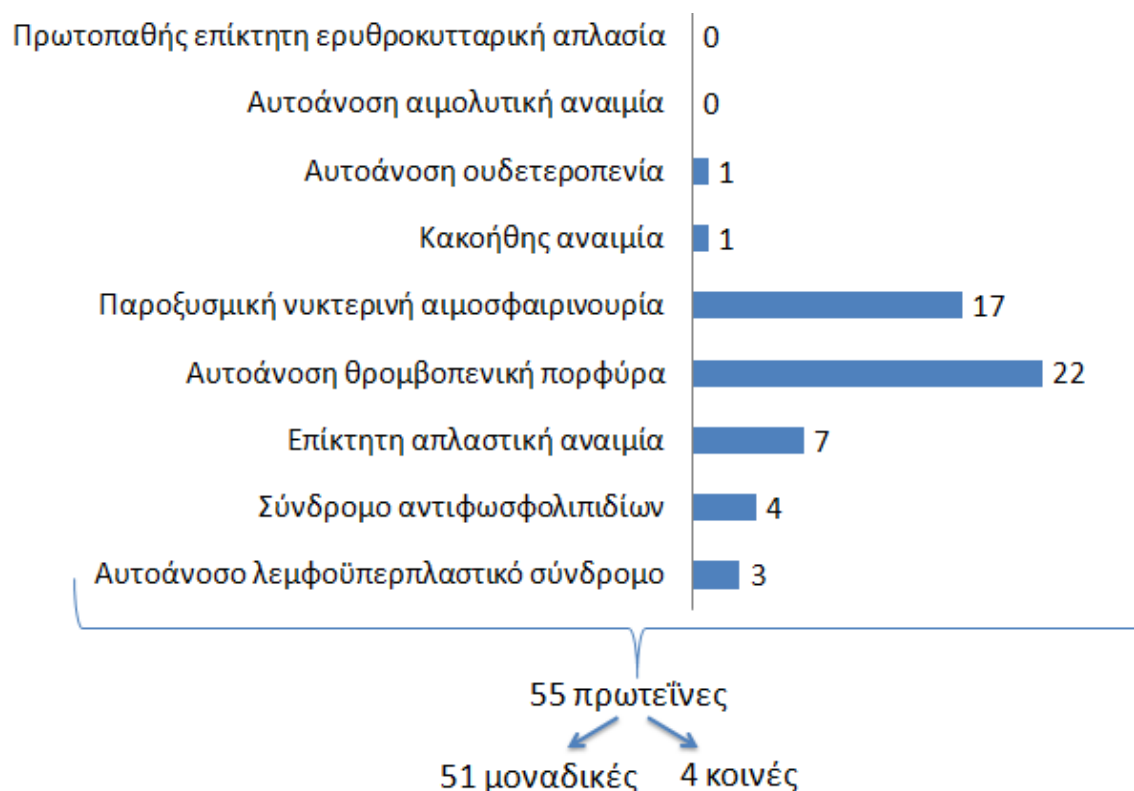
ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ
6) Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (Autoimmune lymphoproliferative syndrome)	Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο τύπου 1 (Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Type 1, Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome, Type I), Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο τύπου 2B (Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Type 2B, Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Type lib, ALPS2B), Σύνδρομο Canale Smith (Canale Smith Syndrome, Canale-Smith Syndrome)
7) Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων (Antiphospholipid syndrome , Antiphospholipid antibody syndrome (APS), APLS, APS, aPL syndrome, Anti-Phospholipid Antibody Syndrome, Anti-Phospholipid Syndrome, Antiphospholipid Antibody Syndrome)	Σύνδρομο αντικαρδιολιπίνης (Anticardiolipin syndrome, Anticardiolipin antibody syndrome, aCL syndrome), Σύνδρομο Hughes (Hughes syndrome), Αντιπηκτικό λύκου (Lupus anticoagulant syndrome)
8) Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (Autoimmune hemolytic anemia, Autoimmune hemolytic anemia, Autoimmune haemolytic anemia, Autoimmune haemolytic anaemia)	Αιμολυτική αναιμία (ψυχρού και θερμού τύπου) Haemolytic anaemia: cold type (secondary)(symptomatic) warm type (secondary)(symptomatic), Επίκτητη αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (Acquired Autoimmune Hemolytic Anemia), Παροξυσμική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία (Paroxysmal cold hemoglobinuria), Νόσος ψυχροσυγκολιπινών (Cold Agglutinin Disease)

3.4 ΣΥΝΟΛΟ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Συγκεντρώθηκαν συνολικά **51 σχετιζόμενες πρωτεΐνες** με τα υπό μελέτη αυτοάνοσα νοσήματα. Αξίζει να αναφερθεί ότι υπήρξαν **4 κοινές πρωτεΐνες**, μία για κάθε ζεύγος των παρακάτω αυτοάνοσων νοσημάτων, με εξαίρεση το τελευταίο ζεύγος στο οποίο αντιστοιχούν 2 κοινές πρωτεΐνες:

- **Επίκτητη απλαστική αναιμία – Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα** (κοινή πρωτεΐνη: Hepatitis A virus cellular receptor 2 (HAVCR2))
- **Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία – Αυτοάνοση ουδετεροπενία** (κοινή πρωτεΐνη: MHC class II antigen DQB1 (HLA-DQB1))
- **Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα – Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία** (κοινές πρωτεΐνες: Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A (FCGR3A), Tumor necrosis factor - TNF-alpha (TNF))

Συνοψίζοντας, για κάθε μια από τις ασθένειες που αναφέρονται παρακάτω έγινε η εύρεση: **3 πρωτεϊνών** σχετιζόμενων με το **αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο**, **4 πρωτεϊνών** με το **σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων**, **7 πρωτεϊνών** με την **επίκτητη απλαστική αναιμία**, **22 πρωτεϊνών** με την **αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα** (η μία πρωτεΐνη από αυτές σχετίζεται με την εμφάνιση της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας σε συστηματικό ερυθηματώδη λύκο), **17 πρωτεϊνών** με την **παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία** και από **1 πρωτεΐνη** για την **κακοήγη αναιμία και την αυτοάνοση ουδετεροπενία**.



Εικόνα 24: Αριθμός σχετιζόμενων πρωτεϊνών ανά αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.

Στον παρακάτω πίνακα γίνεται αναλυτική παράθεση, όπου αναγράφεται **το όνομα του αυτοάνοσου νοσήματος, ο κωδικός της πρωτεΐνης στην UniProt, το γονίδιο και το όνομα της πρωτεΐνης.**

Πίνακας 4: Αναλυτική παράθεση αποτελεσμάτων εύρεσης των σχετιζόμενων πρωτεϊνών ανά αυτοάνοσο νόσημα, όπου αναγράφεται το όνομα του αυτοάνοσου νοσήματος, ο κωδικός της πρωτεΐνης στην UniProt, το γονίδιο και το όνομα της πρωτεΐνης.

Αυτοάνοσα νοσήματα που σχετίζονται με το αίμα	UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης
Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων (antiphospholipid syndrome)	P02749	APOH	Beta-2-glycoprotein 1
	Q14242	SELPLG	P-selectin glycoprotein ligand 1
	Q99700	ATXN2	Ataxin-2
	Q9UQQ2	SH2B3	SH2B adapter protein 3
Επίκτητη απλαστική αναιμία (acquired aplastic anemia)	P30711	GSTT1	Glutathione S-transferase theta-1
	P09488	GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1
	P14222	PRF1	Perforin-1

Αυτοάνοσα νοσήματα που σχετίζονται με το αίμα	UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης
	O75521	ECI2	Enoyl-CoA delta isomerase 2, mitochondrial
	P07099	EPHX1	Epoxide hydrolase 1
	Q9Y3A5	SBDS	Ribosome maturation protein SBDS
Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (autoimmune lymphoproliferative syndrome)	P25445	FAS	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 6
	P48023	FASLG	Tumor necrosis factor ligand superfamily member 6
	Q92851	CASP10	Caspase-10
Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (autoimmune thrombocytopenic purpura)	P60568	IL2	Interleukin-2
	P18510	IL1RN	Interleukin-1 receptor antagonist protein
	Q14116	IL18	Interleukin-18
	O95998	IL18BP	Interleukin-18-binding protein
	P29459	IL12A	Interleukin-12 subunit alpha
	Q9Y275	TNFSF13B	Tumor necrosis factor ligand superfamily member 13B
	P21854	CD72	B-cell differentiation antigen CD72
	Q9Y6K1	DNMT3A	DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A
	Q9UBC3	DNMT3B	DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B
	P23526	AHCY	Adenosylhomocysteinase
	Q8NEV9	IL27	Interleukin-27 subunit alpha
	Q9Y2R2	PTPN22	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 22
	Q9UBB5	MBD2	Methyl-CpG-binding domain protein 2
	O95243	MBD4	Methyl-CpG-binding domain protein 4
	P41159	LEP	Leptin
	Q13488	TCIRG1	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a isoform 3
	P22301	IL10	Interleukin-10
	Q9H4B7	TUBB1	Tubulin beta-1 chain

Αυτοάνοσα νοσήματα που σχετίζονται με το αίμα	UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης
Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα σε συστηματικό ερυθματώδη λύκο (autoimmune thrombocytopenic purpura in systemic lupus erythematosus)	P05106	ITGB3	Integrin beta-3
Κακοήθης αναιμία (pernicious anemia)	P27352	GIF	Gastric intrinsic factor
Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	P37287	PIGA	Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A
	P01911	HLA-DRB1	HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-15 beta chain
	P01909	HLA-DQA1	MHC class II DQA1
	P01892	HLA-A	HLA class I histocompatibility antigen, A-2 alpha chain
	P30462	HLA-B	HLA class I histocompatibility antigen, B-14 alpha chain
	P30505	HLA-C	HLA class I histocompatibility antigen, Cw-8 alpha chain
	P04229	HLA-DRB1	HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-1 beta chain
	Q969N2	PIGT	GPI transamidase component PIG-T
	P01137	TGFB1	Transforming growth factor beta-1
	P01579	IFNG	Interferon gamma
	P26718	KLRK1	NKG2-D type II integral membrane protein
	P13987	CD59	CD59 glycoprotein
	P08174	CD55	Complement decay-accelerating factor
	P08571	CD14	Monocyte differentiation antigen CD14
Επίκτητη απλαστική αναιμία/Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (acquired aplastic anemia/autoimmune thrombocytopenic purpura)	Q8TDQ0	HAVCR2	Hepatitis A virus cellular receptor 2
Αυτοάνοση ουδετεροπενία/Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (autoimmune neutropenia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	P01920	HLA-DQB1	MHC class II antigen DQB1

Αυτοάνοσα νοσήματα που σχετίζονται με το αίμα	UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης
Αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα/Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (autoimmune thrombocytopenic purpura/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)	P08637	FCGR3A	Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A
	P01375	TNF	Tumor necrosis factor (TNF-alpha)

3.5 ΣΥΝΟΛΟ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ

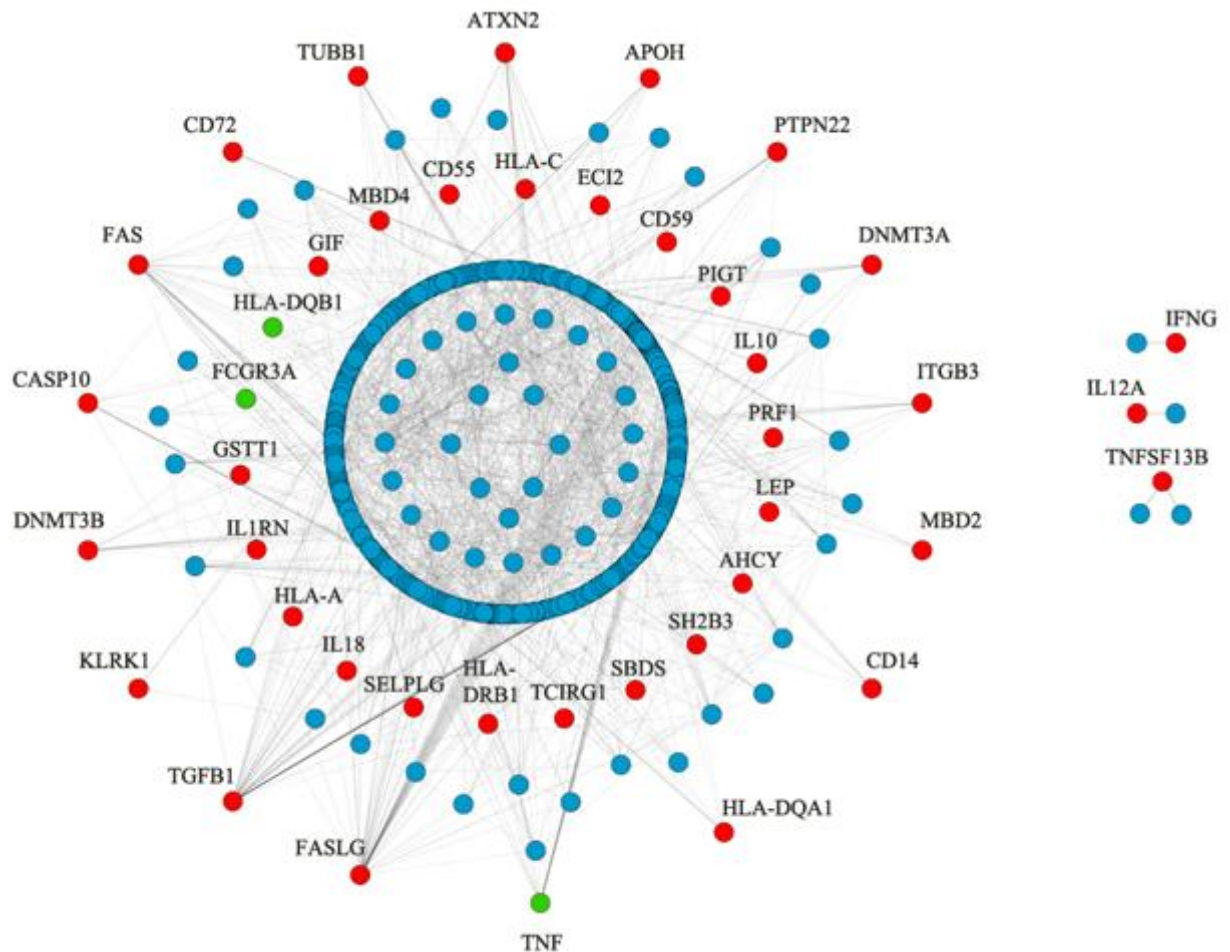
Χρησιμοποιήθηκε, όπως αναφέρθηκε και στη μεθοδολογία μας, η βάση **IntAct** για να συγκεντρωθούν σε πρώτη φάση οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα αυτοάνοσα νοσήματα. Σε δεύτερη φάση επιτεύχθηκε συλλογή των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρώτων γειτόνων τους. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήσαμε για την αναζήτηση μας στη βάση, τους **51 κωδικούς UniProt** των πρωτεϊνών και τα αποτελέσματα τα κατεβάσαμε σε ένα αρχείο μορφής **MI-TAB 2.7**. Στη συνέχεια, αφού τα επεξεργαστήκαμε βάσει των κριτηρίων μας, δηλαδή να κρατήσουμε μόνο πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις του ανθρώπου, καταλήξαμε σε αλληλεπιδράσεις που αφορούν **42 από τις 51** πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες για τις οποίες δεν βρέθηκαν αλληλεπιδράσεις βάσει των κριτηρίων μας αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5: Πρωτεΐνες για τις οποίες δεν βρέθηκαν αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών από την βάση IntAct, σύμφωνα με τα κριτήρια μας.

UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης
P09488	GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1
P07099	EPHX1	Epoxyde hydrolase 1
P60568	IL2	Interleukin-2
O95998	IL18BP	Interleukin-18-binding protein
Q8NEV9	IL27	Interleukin-27 subunit alpha
P37287	PIGA	Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A
P01911	HLA-DRB1	HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-15 beta chain
P30462	HLA-B	HLA class I histocompatibility antigen, B-14 alpha chain
Q8TDQ0	HAVCR2	Hepatitis A virus cellular receptor 2

Έπειτα, αφότου έγινε επεξεργασία του αρχείου, εισάγαγαμε τα δεδομένα των τελικών πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων στο **Cytoscape**, για να μπορέσουμε

να τα οπτικοποιήσουμε και να τα επεξεργαστούμε. Επομένως, το δίκτυο μας αποτελείται από **427 πρωτεΐνες** (κόμβους) και **1439 αλληλεπιδράσεις** (ακμές). Ο αριθμός των αλληλεπιδράσεων προέκυψε ύστερα από αφαίρεση των πολλαπλών ακμών (duplicated edges) και των αλληλεπιδράσεων κάθε πρωτεΐνης με τον εαυτό της (self-loops) για την ορθότερη εκτέλεση των αναλύσεων μας.



Εικόνα 25: Οπτικοποίηση δικτύου πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, το οποίο αποτελείται από 427 πρωτεΐνες και 1439 αλληλεπιδράσεις. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται οι σχετιζόμενες πρωτεΐνες με τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Με πράσινο χρώμα απεικονίζονται οι σχετιζόμενες πρωτεΐνες με παραπάνω από ένα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Οι υπόλοιπες πρωτεΐνες του δικτύου απεικονίζονται με μπλε χρώμα.

3.6 ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΘΕΩΡΙΑ ΓΡΑΦΩΝ

Για να κατανοήσουμε με καλύτερο και πληρέστερο τρόπο τις λειτουργίες του δικτύου μας, πραγματοποιήσαμε ανάλυση δικτύου με την χρήση της εφαρμογής **NetworkAnalyzer** στο **Cytoscape**. Όπως προείπαμε, μπορεί και υπολογίζει για, κατευθυνόμενα ή μη, δίκτυα τις διάφορες τοπολογικές παραμέτρους. Στη δική μας περίπτωση ορίσαμε να γίνει ανάλυση για μη κατευθυνόμενο δίκτυο, λόγω του ότι έχουμε δίκτυο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων.

3.6.1 ΑΠΛΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΔΙΚΤΥΟΥ

Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα που αφορούν τις **απλές παραμέτρους δικτύου**, έτσι όπως μας τις υπολόγισε το **NetworkAnalyzer**.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα απλών παραμέτρων του δικτύου, σύμφωνα με τους υπολογισμούς του NetworkAnalyzer.

Απλές Παράμετροι	Αποτελέσματα
Συντελεστής Ομαδοποίησης (Clustering Coefficient)	0.142
Συνδεδεμένα στοιχεία (Connected Components)	4
Διάμετρος Δικτύου (Network Diameter)	10
Ακτίνα Δικτύου (Network Radius)	1
Κεντρικότητα Δικτύου (Network Centralization)	0.159

Συντομότερα μονοπάτια (Shortest paths)	175990(96%)
Χαρακτηριστικό μήκος μονοπατιού (Characteristic path length/ Average shortest path length)	3.532
Μέσος αριθμός γειτόνων (Avg. number of neighbors)	6.740
Αριθμός κόμβων (Number of nodes)	427
Πυκνότητα δικτύου (Network Density)	0.016
Ετερογένεια δικτύου (Network Heterogeneity)	1.148
Απομονωμένοι κόμβοι (Isolated nodes)	0
Αριθμός ιδιοβρόχων (Number of self-loops)	0
Ζεύγη κόμβων με πολλές ακμές (Multi-edge node pairs)	0
Χρόνος ανάλυσης (sec) (Analysis time)	0.3

■ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ο συντελεστής ομαδοποίησης του δικτύου μας υπολογίστηκε ως **0.142**. Τα βιολογικά δίκτυα στην πλειοψηφία τους τείνουν να έχουν μεγαλύτερο συντελεστή ομαδοποίησης από ότι τα τυχαία δίκτυα, διότι έχουν τη τάση να

σχηματίζουν ξεχωριστές οντότητες που είναι πυκνά συνδεδεμένες εντός τους και αραιά μεταξύ τους. Ο συντελεστής ομαδοποίησης μπορεί να πάρει ένα εύρος τιμών από 0 μέχρι 1, όπου όσο πλησιάζει την τιμή 1 αυξάνεται και γίνεται πιο ισχυρός.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΥΧΑΙΟ ΔΙΚΤΥΟ

Αν το δίκτυο μας ήταν τυχαίο θα έπρεπε να έχει την παρακάτω τιμή σε σχέση με τον συντελεστή ομαδοποίησης:

$$C_{\text{rand}} = \frac{1}{N} = \frac{1}{427} = 0.0023,$$

όπου N: ο αριθμός κόμβων του δικτύου

Η δική μας τιμή είναι πολύ μεγαλύτερη από την τιμή που θα είχε αν ήταν ένα τυχαίο δίκτυο, γεγονός που συμφωνεί με τα δίκτυα ανεξάρτητα-κλίμακας καθώς και τα δίκτυα μικρού κόσμου (Pavlopoulos et al., 2011; Wang and Chen, 2003).

■ ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Ένα συνδεδεμένο στοιχείο προκύπτει όταν όλοι οι κόμβοι σε ένα δίκτυο είναι συνδεδεμένοι ανά ζεύγη μεταξύ τους. Σε ένα μη κατευθυνόμενο δίκτυο, όπως το δικό μας, δύο κόμβοι είναι συνδεδεμένοι όταν υπάρχει ένα μονοπάτι ακμών μεταξύ τους. Ο **αριθμός των συνδεδεμένων στοιχείων** αντικατοπτρίζει το βαθμό συνδεσιμότητας του δικτύου, που στη δική μας περίπτωση είναι **4**, γεγονός που υποδηλώνει **ισχυρή συνδεσιμότητα** (όσο προσεγγίζει την τιμή 1, τόσο πιο ισχυρή γίνεται η συνδεσιμότητα του δικτύου) (Assenon et al., 2008). Πιο συγκεκριμένα, το δίκτυο μας αποτελείται από ένα πολύ μεγάλο συνδεδεμένο στοιχείο, καθώς και από 3 άλλα πολύ μικρότερα συνδεδεμένα στοιχεία. Αντιλαμβανόμαστε ότι οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα αυτοάνοσα νοσήματα που μελετήσαμε, σχετίζονται και μεταξύ τους αφού αλληλεπιδρούν είτε άμεσα είτε έμμεσα διαμέσου άλλων πρωτεϊνών του δικτύου.

■ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η **διάμετρος του δικτύου**, που ορίζεται ως η **μέγιστη συντομότερη διαδρομή** μεταξύ όλων των πιθανών ζευγών που υπάρχουν μέσα στο δίκτυο,

βρέθηκε με τιμή **10**. Αυτό σημαίνει ότι για να επικοινωνήσουν οι πιο απομακρυσμένοι κόμβοι μέσα στο δίκτυο χρειάζονται 10 ακμές.

■ ΑΚΤΙΝΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η **ακτίνα του δικτύου**, που ορίζεται ως η **μικρότερη συντομότερη διαδρομή** μεταξύ όλων των πιθανών ζευγών του δικτύου, υπολογίστηκε με τιμή **1**. Αυτό υποδηλώνει, όπως είναι φυσικό, την ύπαρξη κόμβων που συνδέονται με μια ακμή μεταξύ τους (άμεση αλληλεπίδραση).

■ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η **κεντρικότητα του δικτύου** μας είναι **0.159** (προσεγγίζει περισσότερο το 0 παρά το 1), τιμή που καταδεικνύει την, κατά μέσο όρο, ίδια συνδεσιμότητα των κόμβων του δικτύου μας. Αξίζει να αναφερθεί ότι λίγοι κόμβοι εντός του δικτύου, οι λεγόμενοι κεντρικοί κόμβοι, εμφανίζουν μεγαλύτερη συνδεσιμότητα με άλλους και έχουν ιδιαίτερη σημασία για το δίκτυο.

■ ΜΕΣΟ ΜΗΚΟΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ

Το **μέσο μήκος μονοπατιού** υπολογίστηκε **3.532**, που αυτό σημαίνει ότι κάθε πρωτεΐνη του δικτύου για να φτάσει σε μια άλλη χρειάζεται κατά **μέσο όρο 3 βήματα**. Με τον όρο αυτό εννοούμε ότι δύο πρωτεΐνες είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους μέσω διαδοχικών αλληλεπιδράσεων με δύο ενδιάμεσες πρωτεΐνες.

■ ΜΕΣΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΕΙΤΟΝΩΝ

Η τιμή του **μέσου αριθμό γειτόνων** βρέθηκε **6.740**, δηλαδή κάθε κόμβος αλληλεπιδρά, κατά μέσο όρο, με 7 γείτονες.

■ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η **πυκνότητα του δικτύου** υπολογίστηκε **0.016**, τιμή που βρίσκεται πιο κοντά στο 0 παρά στο 1. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι το δίκτυο μας είναι ένα αραιά συνδεδεμένο δίκτυο, όπως και τα περισσότερα βιολογικά δίκτυα, καθώς αυτό προσδίδει ένα εξελικτικό πλεονέκτημα για τη διατήρηση της ευρωστίας τους (Pavlopoulos et al., 2011).

■ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΔΙΚΤΥΟΥ

Η **ετερογένεια δικτύου** έχει τιμή **1.148** και αντανakλά την τάση του δικτύου να περιέχει λίγους κεντρικούς κόμβους που να δημιουργούν πολλές συνδέσεις με άλλους κόμβους (Dong and Horvath, 2007).

3.6.2 ΣΥΝΘΕΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΔΙΚΤΥΟΥ

Παρακάτω παρουσιάζονται και αναλύονται κάποιες από τις πιο σημαντικές σύνθετες παραμέτρους, έτσι όπως υπολογίστηκαν από την εφαρμογή **NetworkAnalyzer**.

▣ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΒΑΘΜΟΥ

Η **κατανομή βαθμού** αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά στη τοπολογία ενός δικτύου (Pavlopoulos et al., 2011). Όσον αφορά το δικό μας δίκτυο, πραγματοποιήθηκε λογαριθμικό διάγραμμα κατανομής βαθμών των κόμβων με προσαρμογή του νόμου δύναμης (fit power law). Όπως φαίνεται και στην *Εικόνα 26*, ο οριζόντιος άξονας αντιπροσωπεύει τον βαθμό κόμβου και ο κατακόρυφος τον αριθμό κόμβων. Αν κατευθυνθούμε από αριστερά προς τα δεξιά στον οριζόντιο άξονα θα παρατηρήσουμε ότι υπάρχουν λίγοι κόμβοι με μεγάλο βαθμό (υψηλή συνδεσιμότητα με άλλους κόμβους του δικτύου).

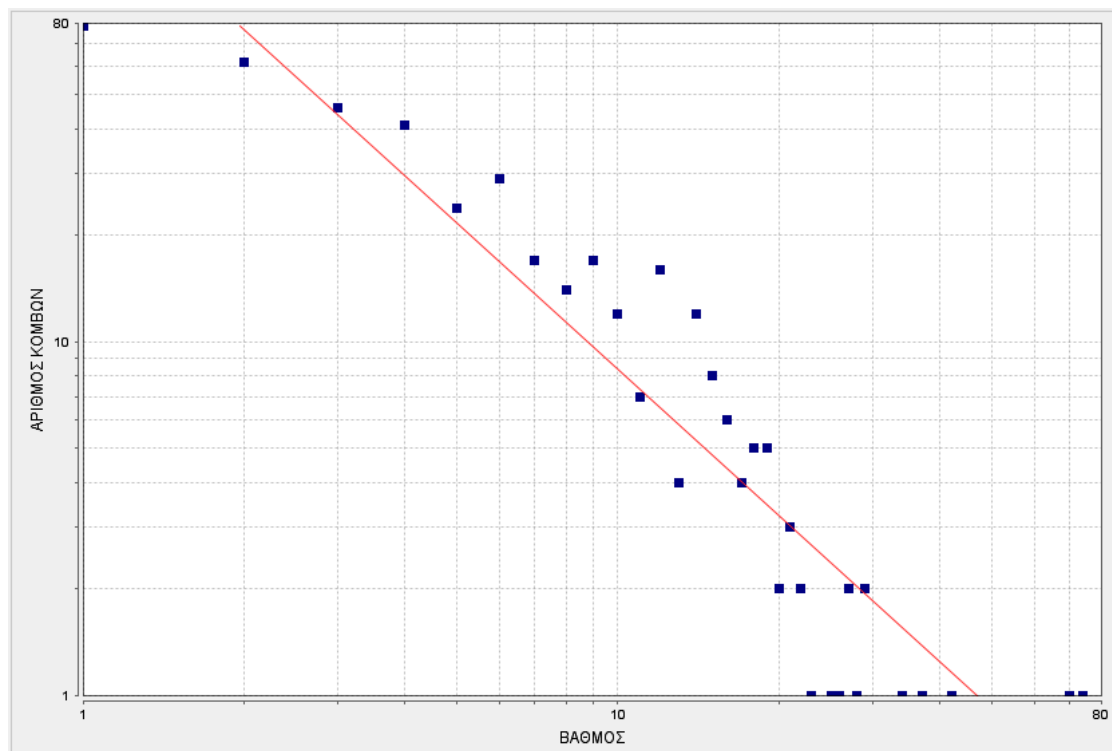
Η εξίσωση, έπειτα από την προσαρμογή του νόμου δύναμης, διαμορφώνεται ως εξής:

$$y=ax^b,$$

$$\text{όπου } a=197.26 \text{ και } b=-1.372$$

Επομένως, η κατανομή έχει τη μορφή $P(k)=197.26x^{-1.372}$ και ακολουθεί την κατανομή νόμου δύναμης $P(k) \sim k^{-\gamma}$. Αυτό που μας ενδιαφέρει περισσότερο είναι η παράμετρος γ που είναι ίση με 1.372 και στη δική μας περίπτωση ισχύει $\gamma < 2$. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι οι κεντρικοί κόμβοι του δικτύου παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο μέσα στο δίκτυο, σε αντίθεση με άλλες περιπτώσεις όπου $2 < \gamma < 3$. Γενικά, όσο πιο μικρή είναι η τιμή γ τόσο αυξάνεται και η σημαντικότητα του ρόλου των κεντρικών πρωτεϊνών (Barabasi and

Oltvai, 2004). Αν αφαιρέσουμε τους κεντρικούς κόμβους του δικτύου τότε αυτό θα οδηγηθεί σε κατάρρευση. Επομένως, ενισχύεται ο ισχυρισμός ότι τα βιολογικά δίκτυα είναι ανθεκτικά έναντι τυχαίων αναταράξεων, με την λογική ότι οι κεντρικοί κόμβοι του δικτύου είναι λίγοι σε αριθμό. Συμπερασματικά λοιπόν μπορούμε να πούμε ότι **το δίκτυο μας ακολουθεί τη συγκεκριμένη κατανομή και συνεπώς έχει χαρακτηριστικά δικτύων ανεξάρτητων από κλίμακα, τα οποία συναντώνται στην πλειοψηφία των βιολογικών δικτύων.**

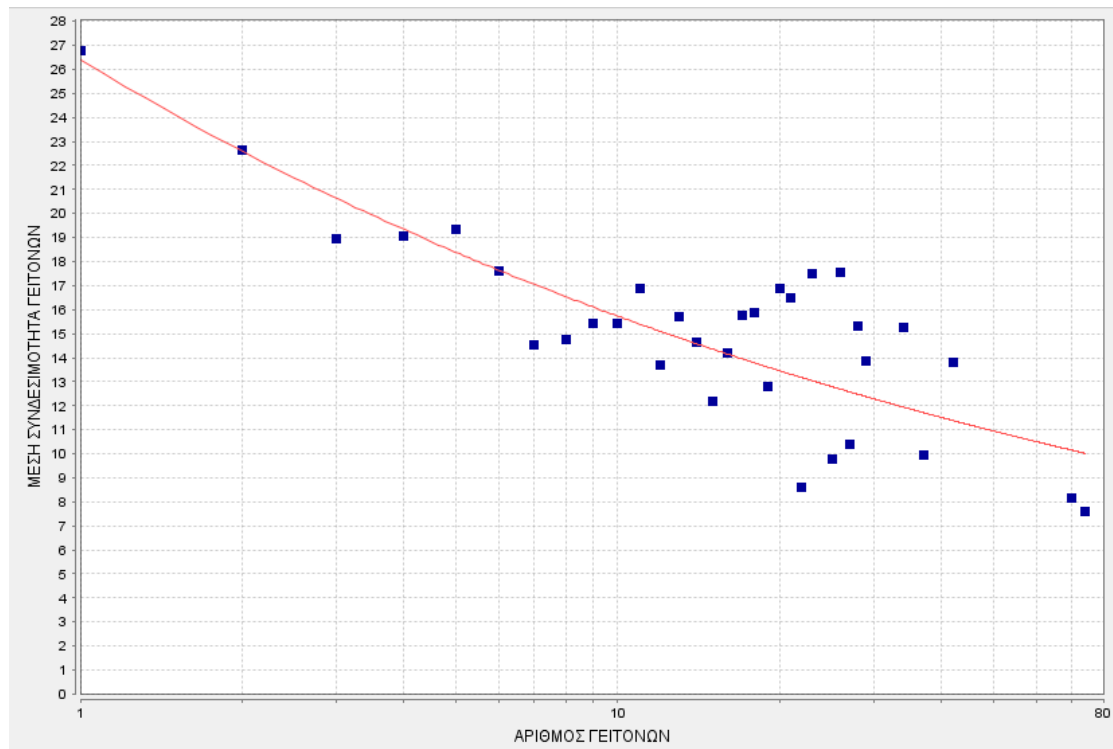


Εικόνα 26: Λογαριθμικό διάγραμμα κατανομής βαθμών των κόμβων με προσαρμογή του νόμου δύναμης (fit power law).

▣ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΥΝΔΕΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΓΕΙΤΟΝΩΝ

Η συνδεσιμότητα ενός κόμβου είναι ο αριθμός των γειτόνων του. Η συνδεσιμότητα γειτόνων ενός κόμβου n ορίζεται ως η μέση συνδεσιμότητα όλων των γειτόνων του κόμβου n . Η **κατανομή συνδεσιμότητας γειτόνων** μας δίνει την μέση συνδεσιμότητα όλων των κόμβων n με k γείτονες. Όπως είναι ευδιάκριτο και στην παρακάτω εικόνα, η κατανομή της συνδεσιμότητας γειτόνων με προσαρμογή νόμου δύναμης, μειώνεται σε συνάρτηση με το k .

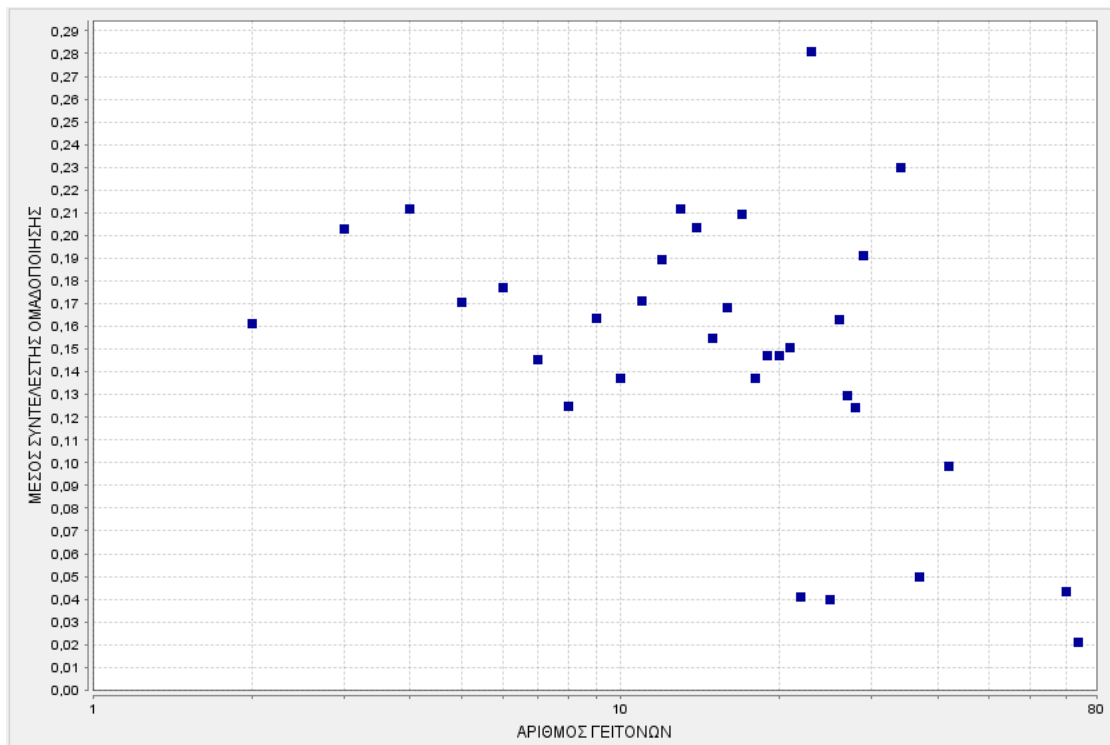
Γεγονός που σημαίνει ότι οι κόμβοι με μεγάλο βαθμό συνδέονται με κόμβους που έχουν μικρό βαθμό και το αντίστροφο (Maslov and Sneppen, 2002).



Εικόνα 27: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής συνδεσιμότητας γειτόνων με προσαρμογή του νόμου δύναμης (fit power law).

▣ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΜΕΣΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ

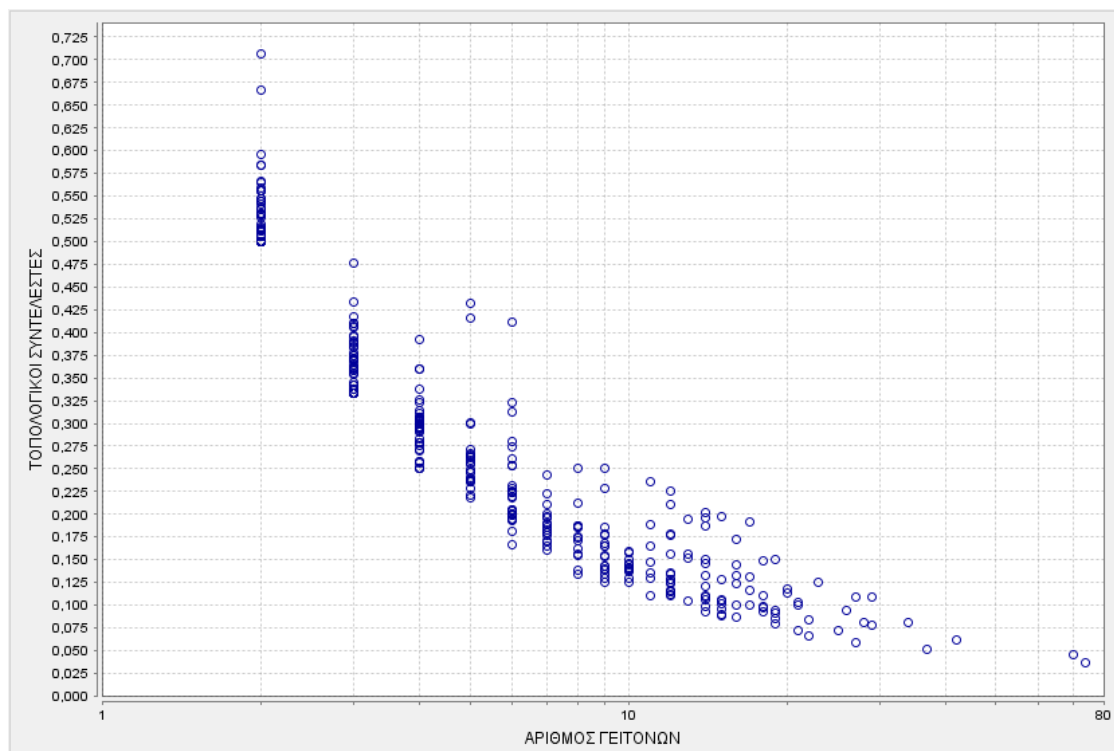
Ο **μέσος συντελεστής ομαδοποίησης** χαρακτηρίζει την τάση των κόμβων να σχηματίζουν ομάδες. Επίσης, μας δίνει τον μέσο συντελεστή ομαδοποίησης για όλους τους κόμβους n με k γείτονες (Barabasi and Oltvai, 2004). Ακόμη, το NetworkAnalyzer υπολογίζει τον συντελεστή ομαδοποίησης του δικτύου που επί της ουσίας είναι ο μέσος συντελεστής ομαδοποίησης όλων των κόμβων του δικτύου.



Εικόνα 28: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής του μέσου συντελεστή ομαδοποίησης.

ΤΟΠΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ

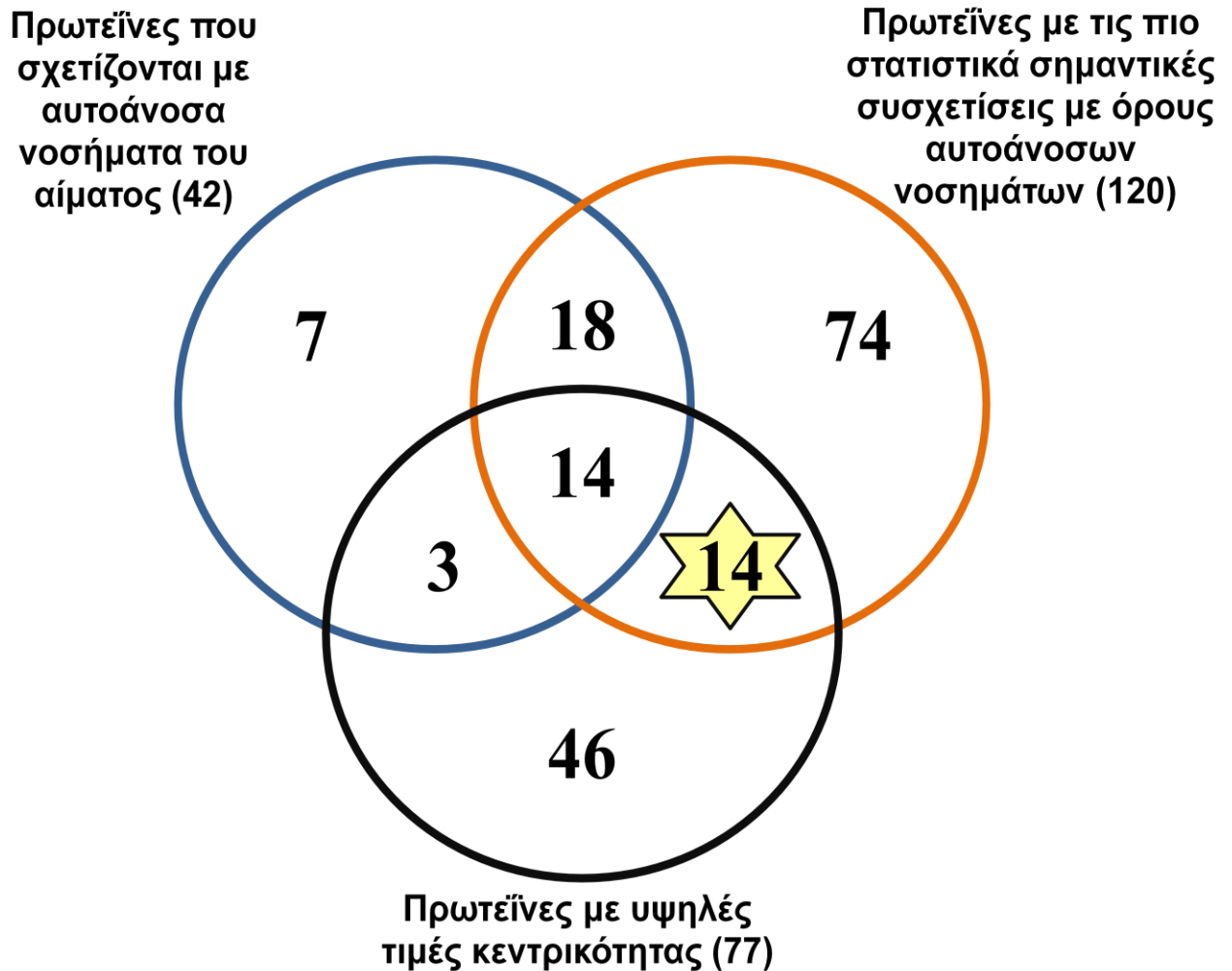
Οι **τοπολογικοί συντελεστές** χρησιμοποιούνται προκειμένου να μελετηθούν τα χαρακτηριστικά των αλληλεπιδράσεων του δικτύου. Ο τοπολογικός συντελεστής είναι ένα σχετικό μέτρο που καταδεικνύει το κατά πόσο μια πρωτεΐνη του δικτύου μοιράζεται άλλα αλληλεπιδρώντα μόρια με άλλες πρωτεΐνες του δικτύου (Stelzl et al., 2005). Όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα, ο τοπολογικός συντελεστής μειώνεται όσο αυξάνεται ο αριθμός των γειτόνων. Αυτό υποδηλώνει ότι η πλειοψηφία των κεντρικών πρωτεϊνών δεν ομαδοποιείται μαζί και επιβεβαιώνει την οργάνωση του δικτύου κατά ομάδες, όπως αποδείχτηκε και από τον συντελεστή ομαδοποίησης.



Εικόνα 29: Ημιλογαριθμικό διάγραμμα κατανομής του τοπολογικού συντελεστή για κάθε κόμβο του δικτύου.

3.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΥΡΕΣΗΣ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΕΜΠΛΕΚΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Προκειμένου να επιτύχουμε την εύρεση υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια των υπό μελέτη αυτοάνοσων νοσημάτων, προσπαθήσαμε να ξεχωρίσουμε ποιες πρωτεΐνες – από αυτές που έχουν τις πιο υψηλές τιμές κεντρικότητας – σχετίζονται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Όπως διακρίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα Venn (Εικόνα 30), ξεχωρίσαμε 14 πρωτεΐνες, οι οποίες αναλύονται εκτενέστερα παρακάτω. Επίσης, στον Πίνακα 7 δίνεται για την καθεμία ο κωδικός της UniProt, το γονίδιο, το όνομα της πρωτεΐνης, η κεντρικότητα δικτύου, η στατιστικά σημαντική συσχέτιση με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, καθώς και οι αλληλεπιδράσεις που διαθέτουν με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.



Εικόνα 30: Διάγραμμα Venn για τον προσδιορισμό υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Το σύμβολο του αστεριού (★) δίνει έμφαση στις 14 υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες που βρέθηκαν, οι οποίες διαθέτουν υψηλή τιμή κεντρικότητας, καθώς και στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων.

Χρησιμοποιήθηκε η βάση EntrezGene (Maglott et al., 2005) προκειμένου να γίνει σχολιασμός αυτών των 14^{ων} πρωτεϊνών. Όπως φαίνεται και παρακάτω, όλες οι πρωτεΐνες εμπλέκονται σε ανοσολογικές διεργασίες. Η **inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit epsilon (IKBKE)** είναι σημαντική για τη ρύθμιση αντιικών σηματοδοτικών μονοπατιών. Επίσης, συμμετέχει σε διάφορες δραστηριότητες του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως η έμφυτη ανοσοαπόκριση, η ενδογενής αποπτωτική οδός σηματοδότησης ως απόκριση στην βλάβη του DNA, η θετική ρύθμιση της σηματοδότησης του NF-kappaB κλπ. Η **MHC class I polypeptide-related sequence A (MICA)** λειτουργεί ως επαγόμενο από στρες αντιγόνο (stress-induced antigen), το οποίο αναγνωρίζεται από τα επιθηλιακά γάμμα δέλτα T-κύτταρα (gamma delta T-

cells) του εντέρου. Ακόμη, συμμετέχει σε διάφορες σημαντικές δραστηριότητες του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως η ανοσοαπόκριση σε βακτήρια, ιούς και καρκινικά κύτταρα, καθώς και στην αρνητική ρύθμιση της ενεργοποίησης των φυσικών φονικών κυττάρων. Η **epidermal growth factor receptor (EGFR)** δεσμεύει τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (epidermal growth factor) οδηγώντας σε διαφοροποίηση του κυττάρου. Συμπεριλαμβάνεται, μεταξύ άλλων, στην αρνητική ρύθμιση της απόπτωσης, στη θετική ρύθμιση της σηματοδότησης του NF-kappaB, στη θετική ρύθμιση της φλεγμονώδους απόκρισης και στην επούλωση πληγών.

Η **caspase-8 (CASP8)** εμπλέκεται στην απόπτωση. Επιπλέον, παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση των B και T-κυττάρων, στην ενεργοποίηση των φυσικών φονικών κυττάρων, στη θετική ρύθμιση της διαφοροποίησης των μακροφάγων και στη θετική ρύθμιση της σηματοδότησης του NF-kappaB. Η **TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6)** συμμετέχει ενεργά στο σηματοδοτικό μονοπάτι του υποδοχέα T-κυττάρου, στη θετική ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των T-κυττάρων και στην παραγωγή της κυτταροκίνης, στη θετική ρύθμιση της σηματοδότησης του NF-kappaB κλπ. Η **fibronectin (FN1)** παίζει ρόλο στη κυτταρική προσκόλληση και μετανάστευση. Συμμετέχει επίσης στην επούλωση πληγών, στην πήξη του αίματος, στην άμυνα του ξενιστή, στην εμβρυογένεση και στη μετάσταση.

Ακολούθως, η **FAS-associated death domain protein (FADD)** παίζει θετικό ρόλο στη ρύθμιση της εξωγενούς αποπτωτικής οδού σηματοδότησης, της σηματοδότησης του NF-kappaB, στη παραγωγή της ιντερλευκίνης 8 (interleukin-8), στη διαφοροποίηση των μακροφάγων, καθώς και άλλων διεργασιών του ανοσοποιητικού συστήματος. Η **cell division control protein 42 homolog (CDC42)** συμμετέχει ενεργά σε διάφορες ανοσολογικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης της σηματοδότησης του Fc-γάμμα υποδοχέα (Fc-gamma receptor) που εμπλέκεται στη φαγοκυττάρωση. Ακόμη, συμμετέχει στη συνδιέγερση T-κυττάρων, καθώς και στη θετική ρύθμιση της αποπτωτικής διαδικασίας νευρώνων (neuron apoptotic process).

Στη συνέχεια, η **death domain-associated protein 6 (DAXX)** βρέθηκε να εμπλέκεται στη ρύθμιση της ουμπικιτινίωσης των πρωτεϊνών, καθώς και της εξωγενούς αποπτωτικής οδού σηματοδότησης μέσω των υποδοχέων DAXX.

Η **mast/stem cell growth factor receptor Kit (KIT)** εμπλέκεται στη σηματοδότηση του Fc υποδοχέα, στη διαφοροποίηση B και T-κυττάρων, στο σηματοδοτικό μονοπάτι που επάγει την κυτταροκίνη, στη φλεγμονώδη απόκριση κλπ. Η **cellular tumor antigen p53 (TP53)** παίζει ρόλο στην ενδογενή αποπτωτική οδό σηματοδότησης ως απόκριση στην βλάβη του DNA. Ακόμη, είναι θετικός ρυθμιστής της εκτέλεσης της αποπτωτικής διαδικασίας και της επούλωσης πληγών.

Έπειτα, η **tyrosine-protein kinase Fyn (FYN)** βρέθηκε να είναι μέρος του σηματοδοτικού μονοπατιού του υποδοχέα T-κυττάρου, καθώς αυτού που επάγει κυτταροκίνες. Ακόμη, ρυθμίζει θετικά τη σηματοδότηση του NF-kappaB και αρνητικά την συμπτικτινιλίωση πρωτεϊνών κλπ. Η **leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2 (LRRK2)** είναι αρνητικός ρυθμιστής της συναρμολόγησης του αυτοφαγосώματος, καθώς και του επαγόμενου ενδοπλασματικού δικτύου από την ενδογενή αποπτωτική οδό σηματοδότησης. Επιπλέον, λειτουργεί ως θετικός ρυθμιστής της αυτοφαγίας (autophagy), της συμπτικτινιλίωσης των πρωτεϊνών, καθώς και άλλων διεργασιών, που υπόκεινται στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Πίνακας 7: Προσδιορισμός υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Στη στήλη με τις κεντρικότητες δικτύου, δίνονται οι κεντρικότητες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό αυτών των πρωτεϊνών, όπου η κεντρικότητα βαθμού αντιπροσωπεύεται με Β, η ενδιάμεση κεντρικότητα με Ε και η πλησιέστερη κεντρικότητα με Π. Μέσα στις παρενθέσεις δίνεται ο αριθμός ταξινόμησης της εκάστοτε πρωτεΐνης για την αντίστοιχη κεντρικότητα, μεταξύ των πρώτων 48 πρωτεϊνών με την μεγαλύτερη κεντρικότητα στο δίκτυο (επιλέχθηκε περίπου το 10% των πρωτεϊνών του δικτύου). Στη στήλη με τους στατιστικά σημαντικούς όρους αυτοάνοσων νοσημάτων, παρατίθενται οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι αυτοάνοσων νοσημάτων για κάθε πρωτεΐνη. Στη στήλη με τις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος, γίνεται παράθεση των αλληλεπιδράσεων κάθε πρωτεΐνης με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος (δίνεται το όνομα του γονιδίου). Επίσης, μέσα στις παρενθέσεις αναφέρεται και η συσχέτιση με το εκάστοτε αυτοάνοσο νόσημα του αίματος.

UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης	Κεντρικότητες δικτύου (Ταξινόμηση)	Οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι αυτοάνοσων νοσημάτων	Αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος
P00533	EGFR	Epidermal growth factor receptor	B (3), E (4), Π (9)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	PTPN22 (αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα), TGFB1 (παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία), CD59 (παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία), SH2B3 (σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων)
Q14790	CASP8	Caspase-8	B (17), E (20), Π (26)	Σκλήρυνση κατά πλάκας	FAS (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), FASLG (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), CASP10 (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο)
Q9Y4K3	TRAF6	TNF receptor-associated factor 6	B (21), E (19), Π (31)	Ρευματοειδή αρθρίτιδα, νόσος του Crohn, Ελκώδης κολίτιδα	AHCY (αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα)
Q9UER7	DAXX	Death domain-associated protein 6	B (35), E (29), Π (27)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, Διαβήτης τύπου Ι	TGFB1 (παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία), FAS (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο)

UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης	Κεντρικό-κότες δκτύου (Ταξινόμηση)	Οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι αυτοάνοσων νοσημάτων	Αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος
P60953	CDC42	Cell division control protein 42 homolog	B (36), Π (40)	Υποτροπιάζουσα-διαλείπουσα σκλήρυνση κατά πλάκας	ΑΡΟΗ (σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων)
Q5S007	LRRK2	Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2	B (44), E (41)	Νόσος του Crohn	TUBB1 (αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα)
P04637	TP53	Cellular tumor antigen p53	B (46), Π (45)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, Σκλήρυνση κατά πλάκας, Διαβήτης τύπου Ι	ΑΡΟΗ (σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων)
P06241	FYN	Tyrosine-protein kinase Fyn	B (28), Π (17)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	FAS (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), FASLG (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο)
P08581	MET	Hepatocyte growth factor receptor	B (20), Π (33)	Σκλήρυνση κατά πλάκας	SH2B3 (σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων)
Q29983	MICA	MHC class I polypeptide-related sequence A	E (33)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, Σκλήρυνση κατά πλάκας, Κοιλιοκάκη, Ψωρίαση, Νόσος του Graves, Νόσος του Behcet, Νόσος του Addison, Διαβήτης τύπου Ι	KLK1 (παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία)
Q13158	FADD	FAS-associated death domain protein	Π (37)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, Διαβήτης τύπου Ι	FAS (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), FASLG (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), CASP10 (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο), MBD4 (αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα)

UniProt AC	Γονίδιο	Όνομα πρωτεΐνης	Κεντρικότητες δικτύου (Ταξινόμηση)	Οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι αυτοάνοσων νοσημάτων	Αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος
P02751	FN1	Fibronectin	Π (38)	Συστηματική σκλήρυνση, Διαβήτης τύπου Ι	FASLG (αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο)
P10721	KIT	Mast/stem cell growth factor receptor Kit	B (39)	Λεύκη	SH2B3 (σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων)
Q14164	IKBKE	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit epsilon	B (45)	Ρευματοειδή αρθρίτιδα	SBDS (επίκτητη απλαστική αναιμία)

3.8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ MCL

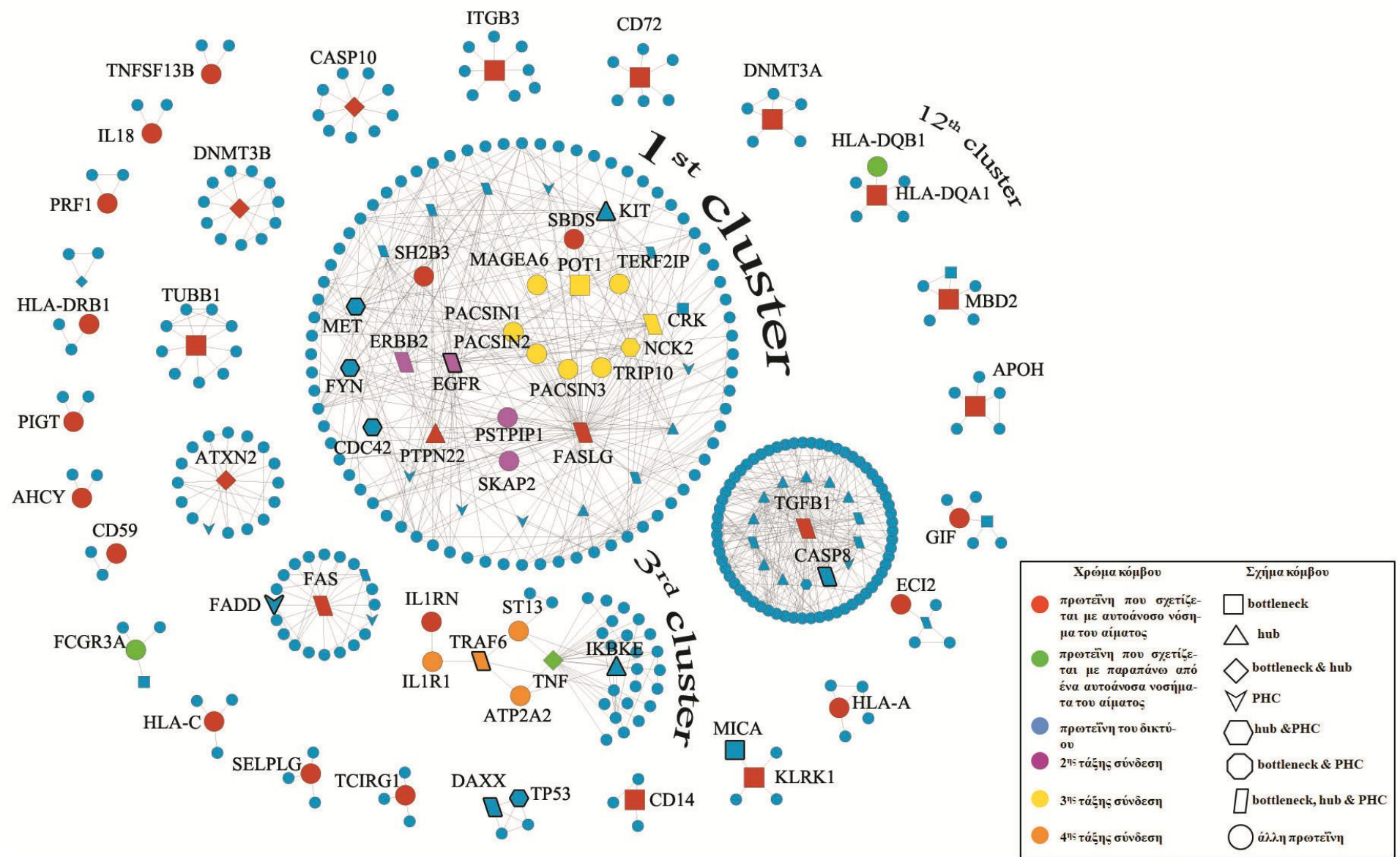
Προκειμένου να επιτευχθεί ομαδοποίηση του δικτύου μας χρησιμοποιήσαμε τον αλγόριθμο **MCL**, μέσω της εφαρμογής **ClusterMaker** που είναι προεγκατεστημένη στο **Cytoscape**. Προέκυψαν συνολικά 42 ομάδες (clusters), 32 από τις οποίες αποτελούνται από τουλάχιστον 3 πρωτεΐνες. Επίσης, οι 10 ομάδες που συνίσταται από 2 μόνο πρωτεΐνες δεν χρησιμοποιήθηκαν για περαιτέρω ανάλυση. Επικεντρωθήκαμε στην 1^η, 3^η και 12^η ομάδα, διότι περιέχουν τουλάχιστον 2 πρωτεΐνες που να σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος (Εικόνα 31).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η 1^η ομάδα, η οποία αποτελείται από 4 πρωτεΐνες (από το αρχικό σύνολο δεδομένων μας) **SH2B3**, **PTPN22**, **FASLG** και **SBDS** (Εικόνα 31 – 1^η ομάδα (1st cluster) – κόκκινοι κόμβοι), οι οποίες σχετίζονται με 4 διαφορετικά αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Πιο συγκεκριμένα, σχετίζονται αντίστοιχα με το σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων, την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, το αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο και την επίκτητη απλαστική αναιμία. Στην ίδια ομάδα εντοπίζονται και 5/14 υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες που βρήκαμε υπολογιστικά και είναι οι πρωτεΐνες **MET**, **FYN**, **CDC42**, **EGFR** και **KIT** (Εικόνα 31 – 1^η ομάδα (1st cluster) – κόμβοι με έντονο περίγραμμα). Βάσει αυτών των

παρατηρήσεων, υποθέτουμε ότι ενδεχομένως υπάρχει κοινός μηχανισμός μεταξύ αυτών των αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Ο ισχυρός μας αυτός ενισχύεται και από άλλα βιβλιογραφικά ευρήματα, στα οποία αναφέρεται συσχέτιση μεταξύ της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας και του αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου (Seif et al., 2010), καθώς και του συνδρόμου αντιφωσφολιπιδίων με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (Diz-Kucukkaya et al., 2001).

Ακολούθως, ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει και η **3^η ομάδα** (3rd cluster) που συμπεριλαμβάνει 2 πρωτεΐνες: την **TNF** και την **IL1RN** (από το αρχικό σύνολο δεδομένων μας) (Εικόνα 31 – 3^η ομάδα (3rd cluster) – πράσινος και κόκκινος κόμβος, αντίστοιχα), όπου η πρώτη σχετίζεται με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα και την παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία, και η δεύτερη με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Επίσης, εντοπίζονται και 2 υποψήφιες πρωτεΐνες που βρήκαμε υπολογιστικά, οι **TRAF6** και **IKBKE** (Εικόνα 31 – 3^η ομάδα (3rd cluster) – κόμβοι με έντονο περίγραμμα). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες TNF, IL1RN και TRAF6 (Khodadi et al., 2016) σχετίζονται με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, γεγονός που μας οδηγεί στην υπόθεση ότι θα μπορούσε και η IKBKE να σχετίζεται με την ίδια ασθένεια.

Περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με τις πρωτεΐνες και τις μεταξύ τους συνδέσεις παρατίθενται στο παράρτημα (Εικόνες Π.30-33).



Εικόνα 31: Αποτελέσματα ομαδοποίησης σύμφωνα με τον αλγόριθμο MCL, με τιμή εμφύσησης 1.8.

3.9 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ

3.9.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ

Προκειμένου να έχουμε μια εικόνα σχετικά με την λειτουργία των πρωτεϊνών του δικτύου, χρησιμοποιήσαμε το εργαλείο DAVID. Όσον αφορά την βιολογική διεργασία βρέθηκε, όπως ήταν αναμενόμενο, **ότι η πλειοψηφία των πρωτεϊνών εμπλέκεται σε διάφορες διεργασίες του ανοσοποιητικού συστήματος**, όπως είναι η συνδιέγερση T-κυττάρων (T-cell costimulation), το σηματοδοτικό μονοπάτι του υποδοχέα T-κυττάρου (T-cell receptor signaling pathway), η αποκοκκίωση αιμοπεταλίων (platelet degranulation), καθώς και το σηματοδοτικό μονοπάτι της απόπτωσης (apoptotic signaling pathway). Σχετικά με την μοριακή λειτουργία, η πανομοιότυπη δέσμευση πρωτεΐνης (identical protein binding), η δέσμευση και δραστηριότητα κινάσης (kinase binding and activity) και η δραστηριότητα προσαρμογέα SH3/SH2 (SH3/SH2 adaptor activity), αποτελούν μερικά από τα αποτελέσματα. Τέλος, αναφορικά με την υποκυτταρική θέση, οι περισσότερες πρωτεΐνες εντοπίστηκαν στο κυτοσόλιο (cytosol) και στο κυτταρόπλασμα (cytoplasm).

3.9.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΕΣ ΤΙΜΕΣ ΚΕΝΤΡΙΚΟΤΗΤΑΣ

Πραγματοποιήθηκε λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού των πρωτεϊνών με τις υψηλότερες τιμές κεντρικότητας, προκειμένου να βρεθούν οι λειτουργίες στις οποίες συμμετέχουν οι πιο σημαντικές πρωτεΐνες του δικτύου μας. **Οι κοινοί καθώς και οι πιο στατιστικά σημαντικοί όροι γονιδιακής οντολογίας μεταξύ αυτών των πρωτεϊνών, αναφέρονται παρακάτω.**

Η ρύθμιση της εξωγενούς αποπτωτικής οδού σηματοδότησης μέσω των υποδοχέων θανάτου (regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors), η συνδιέγερση T-κυττάρων (T-cell costimulation), η σηματοδότηση του ERBB2 (ERBB2 signaling pathway), καθώς και αυτή του

υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor signaling pathway), βρέθηκαν σημαντικές ως προς την βιολογική διεργασία. Η δέσμευση κινάσης (kinase binding) και η δέσμευση του παράγοντα νέκρωσης όγκου (epidermal growth factor receptor signaling pathway) ξεχώρισαν ως τα πιο σημαντικά σχετικά με την μοριακή λειτουργία. Τέλος, αναφορικά με τους όρους που αφορούν την υποκυτταρική θέση, αυτοί που ξεχώρισαν είναι: ο πυρήνας (nucleus), η κυτταρική μεμβράνη (plasma membrane), το κυτταρόπλασμα (cytoplasma), καθώς και το σηματοδοτικό σύμπλοκο επαγωγής θανάτου CD95 (CD95 death-inducing signaling complex).

3.9.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Επιτεύχθηκε λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού των 42 πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος (πρωτεΐνες που εντοπίζονται στο δίκτυο). Σχετικά με την βιολογική διεργασία, η εξωγενής αποπτωτική οδός σηματοδότησης (extrinsic apoptotic signaling pathway), η θετική ρύθμιση της παραγωγής ιντερφερόνης γάμμα (positive regulation of interferon-gamma production), η επεξεργασία και η παρουσίαση αντιγόνου (antigen processing and presentation), καθώς και το διαμεσολαβούμενο σηματοδοτικό μονοπάτι από τον λιποπολυσακχαρίτη (lipopolysaccharide-mediated signaling pathway), αποτελούν τους πιο στατιστικά σημαντικούς όρους. Οι όροι που βρέθηκαν περισσότερο εμπλουτισμένοι σχετικά με την μοριακή λειτουργία είναι η δέσμευση πεπτιδικού αντιγόνου (peptide antigen binding), η δραστηριότητα κυτταροκίνης (cytokine activity), η δραστηριότητα του υποδοχέα του ιού (virus receptor activity) καθώς και η δραστηριότητα του υποδοχέα MHC τάξης II (MHC class II receptor activity). Τέλος, όσον αφορά την υποκυτταρική θέση, αυτά που εντοπίστηκαν ως τα πιο στατιστικά σημαντικά είναι τα εξής: μεταφορά κυστιδίων από το ενδοπλασματικό δίκτυο (Ε.Δ) στο σύστημα Golgi (ER to Golgi transport vesicle membrane), σύμπλοκο πρωτεΐνης MHC τάξης II (MHC class II protein complex), κυτταρική

επιφάνεια (cell surface) και σημαντικό συστατικό της όψης της μεμβράνης προς τον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου (integral component of luminal side of endoplasmic reticulum membrane).

3.9.4 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 1^Η ΟΜΑΔΑΣ

1^Η ΟΜΑΔΑ:

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ DAVID

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

Όσον αφορά τη **βιολογική διεργασία**, οι πρωτεΐνες σχετίζονται ενδεικτικά με τη **μεταγωγή σήματος** (signal transduction), τη **θετική ρύθμιση της δραστηριότητας της GTPάσης** (positive regulation of GTPase activity), τη **φωσφορυλίωση πεπτιδυλο-τυροσίνης** (peptidyl-tyrosine phosphorylation), το **μονοπάτι σηματοδότησης του διαμεμβρανικού υποδοχέα τυροσινικής κινάσης** (transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway), το **μονοπάτι σηματοδότησης του υποδοχέα Fc-γ που εμπλέκεται στη φαγοκυττάρωση** (Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis), το **μονοπάτι σηματοδότησης υποδοχέα T-κυττάρου** (T-cell receptor signaling pathway), τη **συνδιέργεση T-κυττάρων** (T-cell costimulation) και την **έμφυτη ανοσοαπόκριση** (innate immune response). Σχετικά με **την υποκυτταρική θέση**, οι περισσότερες εντοπίζονται, μεταξύ άλλων, στο **κυτταρόπλασμα**, στο **κυτοσόλιο**, στη **κυτταρική μεμβράνη** και στον **πυρήνα**. Τέλος, η **μοριακή λειτουργία** που αντιπροσωπεύει την ομάδα είναι η **δέσμευση πρωτεϊνών** (protein binding), όπως ήταν και αναμενόμενο.

ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ KEGG

Μερικά από τα **μονοπάτια KEGG** στα οποία εμπλέκονται είναι η **εστιακή προσκόλληση** (focal adhesion), οι **πρωτεογλυκάνες στον καρκίνο** (proteoglycans in cancer), τα **σηματοδοτικά μονοπάτια Ras, MAPK και ErbB** (Ras signaling pathway, MAPK signaling pathway, ErbB signaling

pathway), καθώς και τα **σηματοδοτικά μονοπάτια υποδοχέα T-κυττάρου** (T-cell receptor signaling pathway).

ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Κάποιες από τις **ασθένειες** με τις οποίες σχετίζονται είναι ο **HIV**, ο **καρκίνος του πνεύμονα**, ο **καρκίνος του μαστού**, τα **υψηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης στο πλάσμα**, η **νόσος του Alzheimer** καθώς και κάποια **αυτοάνοσα νοσήματα**, όπως είναι η **σκλήρυνση κατά πλάκας**, ο **συστηματικός ερυθρεμάτης** λύκος, ο **διαβήτης τύπου 1** και η **κοιλιοκάκη**.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ WEBGESTALT

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Ο φαινότυπος των πρωτεϊνών χαρακτηρίζεται από **ανωμαλία του αίματος και των αιμοποιητικών ιστών** (Abnormality of blood and blood-forming tissues), από **ανώμαλη και από αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση** (Abnormal inflammatory response, Increased inflammatory response), από **ανωμαλία των λευκοκυττάρων** (Abnormality of leukocytes), από **ανωμαλία του κυτταρικού ανοσοποιητικού συστήματος** (Abnormality of cellular immune system), από **ανωμαλία στη φυσιολογία του δέρματος** (Abnormality of skin physiology) και από **φλεγμονώδη ανωμαλία του δέρματος** (Inflammatory abnormality of the skin), από **ανωμαλία των μυελοειδών λευκοκυττάρων, κοκκιοκυττάρων και ηωσινοφίλων** (Abnormality of myeloid leukocytes, Abnormality of granulocytes, Abnormality of eosinophils).

ΦΑΡΜΑΚΑ

Επιτεύχθηκε η εύρεση **φαρμάκων** που στοχεύουν στις πρωτεΐνες της ομάδας, όπου το **Dasatinib** στοχεύει σε 5 πρωτεΐνες, το **Pazopanib** σε 4 πρωτεΐνες, καθώς και τα **Imatinib**, **Bosutinib**, **Staurosporine** και **Potatinib** στοχεύουν σε 3 πρωτεΐνες αντίστοιχα το καθένα.

Το **Dasatinib** εγκρίθηκε για χρήση σε ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία, το **Pazopanib** για προχωρημένο καρκίνο των νεφρικών κυττάρων, για προχωρημένο σάρκωμα των μαλακών ιστών και για προχωρημένο καρκίνο του θυροειδούς. Το **Imatinib** χορηγείται σε ασθενείς που πάσχουν,

μεταξύ άλλων, από οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, μυελοδυσπλαστικές ασθένειες, επιθετική συστηματική μαστοκυττάρωση, χρόνια ηωσινοφιλική λευχαιμία και κακοήθεις στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού. Το **Bosutinib** χρησιμοποιείται για φλεγμονώδη χρόνια μυελογενή λευχαιμία (χρόνια φάση, βλαστική κρίση, επιταχυνόμενη φάση). Το **Staurosporine** είναι ένας αναστολέας που ενισχύει αποκρίσεις, που προκαλούνται από κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP) σε κύτταρα του ανθρώπινου νευροβλαστώματος. Και τέλος, το **Potatinib** χορηγείται σε πάσχοντες ασθενείς από επιταχυνόμενη φάση χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας, από οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, από χρόνια φάση μυελογούς λευχαιμίας και από φλεγμονώδη φάση χρόνιας μυελοκυτταρικής λευχαιμίας (Wishart et al., 2006).

3.9.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 3^{ΗΣ} ΟΜΑΔΑΣ

3^Η ΟΜΑΔΑ:

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ DAVID

Δεν υπήρξαν αποτελέσματα για την πλειοψηφία των πρωτεϊνών της συγκεκριμένης ομάδας όσον αφορά τη γονιδιακή οντολογία και τα μονοπάτια KEGG. Επομένως, τα αποτελέσματα, που αναφέρονται παρακάτω στα συγκεκριμένα πεδία, **δεν είναι αντιπροσωπευτικά του συνόλου της ομάδας.**

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

Σχετικά με τη **βιολογική διεργασία**, οι πρωτεΐνες σχετίζονται ενδεικτικά με την **ανοσοαπόκριση** (immune response), τη **θετική ρύθμιση της σηματοδότησης της I-kappaB κινάσης/NF-kappaB** (positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling), τον **καταρράκτη MAPK** (MAPK cascade) και το **ενδογενές αποπτωτικό μονοπάτι σηματοδότησης ως απόκριση στην βλάβη DNA** (intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage). Σχετικά με **την υποκυτταρική θέση**, εντοπίζονται ως **εντός της κυτταρικής μεμβράνης** (integral plasma membrane) καθώς και ως **πρωτεϊνικά σύμπλοκα** (protein complex). Τέλος, η **μοριακή λειτουργία**

τους σχετίζεται με τη **δέσμευση πρωτεϊνών** (protein binding), την **δραστηριότητα κυτταροκίνης** (cytokine activity) και την **επαγόμενη δραστηριότητα κινάσης από τον NF-kappaB** (NF-kappaB-inducing kinase activity).

ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ KEGG

Μερικά από τα **μονοπάτια KEGG** στα οποία εμπλέκονται είναι το **μονοπάτι σηματοδότησης του NF-kappaB** (NF-kappa B signaling pathway), η **διαφοροποίηση των οστεοκλαστών** (osteoclast differentiation), η **μόλυνση απλού έρπητα** (herpes simplex infection), το **μονοπάτι σηματοδότησης MAPK** (μονοπάτι σηματοδότησης MAPK), η **λοίμωξη HTLV-I** (HTLV-I infection), η **αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση** (Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)), το **μονοπάτι σηματοδότησης του RIG-I-like υποδοχέα** (RIG-I-like receptor signaling pathway), το **μονοπάτι σηματοδότησης TNF** (TNF signaling pathway) και το **μονοπάτι σηματοδότησης του Toll-like υποδοχέα** (Toll-like receptor signaling pathway).

ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Έγινε η εύρεση 295 ασθενειών για 25 από τις 33 πρωτεΐνες της ομάδας. Κάποιες από τις **ασθένειες** με τις οποίες σχετίζονται είναι η **υπέρταση**, η **σχιζοφρένεια**, η **χρόνια νεφρική ανεπάρκεια**, η **νόσος του Alzheimer**, καθώς και κάποια αυτοάνοσα νοσήματα, όπως είναι η **σκλήρυνση κατά πλάκας**, ο **συστηματικός ερυθηματώδης λύκος**, η **ρευματοειδή αρθρίτιδα**, ο **διαβήτης τύπου 1**, το **συστηματικό σκληρόδερμα**, η **νόσος Αδαμαντιάδη-Behcet**, η **ψωρίαση**, η **νόσος Graves** και η **νόσος Crohn**.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ WEBGESTALT

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Δεν υπήρξε καμία πληροφορία για τις πρωτεΐνες της ομάδας, με βάσει το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που είχαμε επιλέξει στο 0.05, κατά τη φάση της αναζήτησης μας. Προκειμένου να έχουμε μια ιδέα σχετικά με τον φαινότυπο αυτής της ομάδας, αποφασίσαμε να πραγματοποιήσουμε αναζήτηση επιλέγοντας την άλλη μέθοδο αναζήτησης TOP του WebGestalt, η οποία δίνει τα πρώτα πιο στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, που έχουν ιεραρχηθεί βάσει στατιστικής σημαντικότητας στο 0.05.

Ο φαινότυπος των πρωτεϊνών χαρακτηρίζεται από **ανώμαλη και αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση** (Abnormal inflammatory response, Increased inflammatory response), από **ανωμαλία του βλεννογόνου του στόματος** (Abnormality of oral mucosa), από **ανωμαλία παρωτιδικού αδένου** (Abnormality of parotid gland), από **απλασία/υποπλασία του μυός της λεκάνης** (Aplasia/Hypoplasia of the musculature of the pelvis) και από **ημικρανία χωρίς αύρα** (Migraine without aura).

ΦΑΡΜΑΚΑ

Επιτεύχθηκε η εύρεση **φαρμάκων** που στοχεύουν στις πρωτεΐνες της ομάδας, όπου οι **αναστολείς του παράγοντα νέκρωσης όγκου άλφα (TNF-alpha)** στοχεύουν σε 4 πρωτεΐνες, τα **anakinra, stavudine, zalcitabine, MI-63** και **άλλοι ειδικοί αντιρευματικοί παράγοντες** στοχεύουν σε 3 πρωτεΐνες αντίστοιχα το καθένα.

Οι **αναστολείς του παράγοντα νέκρωσης όγκου άλφα (TNF-alpha)** έχουν αποδειχθεί αποτελεσματική θεραπεία για ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα και άλλες μορφές φλεγμονώδων νόσων, συμπεριλαμβανομένης της ψωρίασης, της ψωριασικής αρθρίτιδας και της αγκυλοποιητικής σπονδυλίτιδας, καθώς και των φλεγμονώδων νόσων του εντέρου (Esposito and Cuzzocrea, 2009). Το **anakinra** χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας ενηλίκων καθώς και της πολυσυστηματικής φλεγμονώδους νόσου νεογνικής έναρξης (Wishart et al., 2006). Το **stavudine** χορηγείται για τη θεραπεία λοιμώξεων από ανθρώπινο ανοσοϊό και το **zalcitabine** για τη θεραπεία λοιμώξεων από ανθρώπινο ανοσοϊό σε συνδυασμό με άλλα αντιικά φάρμακα (Wishart et al., 2006). Το **MI-63** είναι ένας αναστολέας μικρού μορίου, που επάγει απόπτωση σε κύτταρα εμβρυονικού και κυψελιδικού ραβδομυοσάρκωματος με άγριου τύπου p53 (Canner et al., 2009). Τέλος, **ειδικοί αντιρευματικοί παράγοντες** στοχεύουν, μεταξύ άλλων, σε αρκετές ασθένειες όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η ψωριασική αρθρίτιδα, η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα (Wishart et al., 2006).

3.9.6 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ 12^{ΗΣ} ΟΜΑΔΑΣ

12^Η ΟΜΑΔΑ:

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ DAVID

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

Σχετικά με τη **βιολογική διεργασία**, βρέθηκαν αποτελέσματα για τις 2 από τις 6 πρωτεΐνες της ομάδας, οι οποίες σχετίζονται με την **μεταφορά κοβαλαμίνης** (cobalamin transport) καθώς και την **μεταβολική διαδικασία κοβαλαμίνης** (cobalamin metabolic process). Σχετικά με **την υποκυτταρική θέση**, βρέθηκαν πάλι αποτελέσματα για τις 2 από τις 6 πρωτεΐνες της ομάδας, οι οποίες εντοπίζονται στον **λυσosomal αυλό** (lysosomal lumen). Τέλος, η **μοριακή λειτουργία** για τις 3 από τις 6 πρωτεΐνες για τις οποίες βρέθηκαν αποτελέσματα, σχετίζεται με την **δέσμευση κοβαλαμίνης** (cobalamin binding) και την **δραστηριότητα μεταφορέα** (transporter activity).

ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ KEGG

Το **μονοπάτι KEGG** που βρέθηκε για τις 2 από τις 6 πρωτεΐνες είναι η **πέψη και η απορρόφηση βιταμινών** (Vitamin digestion and absorption).

ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Δεν υπήρξαν αποτελέσματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ WEBGESTALT

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Όπως και στην 3^η ομάδα, έτσι και εδώ δεν υπήρξε καμία πληροφορία για τις πρωτεΐνες της ομάδας, με βάσει το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που είχαμε ορίσει στο 0.05, κατά τη φάση της αναζήτησης μας. Επομένως, όπως και προηγουμένως, πραγματοποιήσαμε αναζήτηση χρησιμοποιώντας την μέθοδο αναζήτησης TOP του εργαλείου WebGestalt.

Ο φαινότυπος των πρωτεϊνών χαρακτηρίζεται ενδεικτικά από **ανώμαλη μορφολογία του περιφερικού νευρικού συστήματος** (Abnormal peripheral nervous system morphology), από **ανωμαλία του μεταβολισμού της βιταμίνης B12** (Abnormality of vitamin B12 metabolism), από **ανωμαλία του μεταβολισμού της βιταμίνης Β** (Abnormality of vitamin B metabolism), από **μεγαλοβλαστική αναιμία** (Megaloblastic anemia), από **μακροκυτταρική αναιμία** (Macrocytic anemia) και από **παραισθησία** (Paresthesia).

ΦΑΡΜΑΚΑ

Δεν υπήρξαν αποτελέσματα.

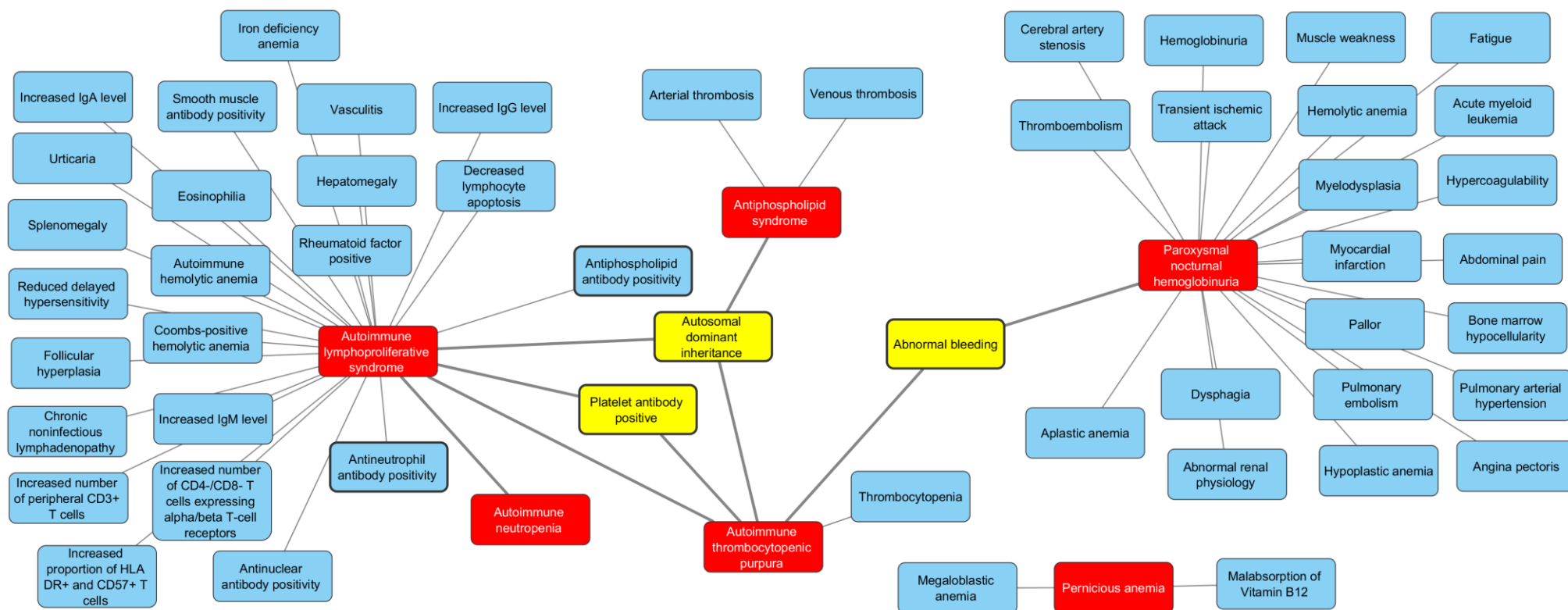
3.10 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

Στην **Εικόνα 32** γίνεται παράθεση των αποτελεσμάτων που αφορούν τον φαινότυπο των υπό μελέτη αυτοάνοσων νοσημάτων. Έπειτα από αναζήτηση μας στην **Οντολογία Ανθρώπινου Φαινοτύπου-HPO** (Human Phenotype Ontology) βρέθηκαν αποτελέσματα για 5 αυτοάνοσα νοσήματα εκ των 9 που μελετήσαμε.

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε και παρακάτω, η **αυτοάνοση ουδετεροπενία** αποτελεί φαινοτυπικό χαρακτηριστικό του αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου. Επίσης, η **αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα** μοιράζεται 2 κοινά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά (**θετικό στα αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα, αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα**) με το **αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο**, καθώς επίσης και από 1 κοινό φαινοτυπικό χαρακτηριστικό με την **παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία (μη φυσιολογική αιμορραγία)** και το **αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (**αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα**)**. Τέλος, το **αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο** μοιράζεται 1 κοινό φαινοτυπικό χαρακτηριστικό (**αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα**) με το **αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο**.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το **αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο**, όπως μπορεί να γίνει και εύκολα αντιληπτό από τα αποτελέσματα, είναι **θετικό σε αντιφωσφολιπιδικά και αντιουδετεροφιλικά αντισώματα**, κάτι

που χαρακτηρίζει το **αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο** και την **αυτοάνοση ουδετεροπενία** αντίστοιχα.



Εικόνα 32: Αποτελέσματα εύρεσης φαινοτύπου των αυτοάνοσων νοσημάτων που μελετήσαμε. Τα αυτοάνοσα νοσήματα απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, ενώ ο κοινός φαινότυπος μεταξύ αυτών με κίτρινο.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Με την πάροδο των χρόνων γίνεται ολοένα και πιο φανερό το πρόβλημα που υπάρχει, τόσο με την ύπαρξη πολυάριθμων αυτοάνοσων νοσημάτων όσο και με την ποιότητα ζωής των ανθρώπων που νοσούν από αυτά. Λόγω της πολύπλοκης φύσης τους δεν έχουν μελετηθεί όσο θα έπρεπε, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη απόσταση των αυτοάνοσων νοσημάτων από τη διάγνωση και τη θεραπεία.

Πολύπλοκες ασθένειες, όπως είναι τα αυτοάνοσα νοσήματα, οφείλονται σε μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών. Αυτό καταδεικνύει ότι τέτοιες ασθένειες δε συμμορφώνονται απόλυτα μόνο με τα πρότυπα μεντελικής κληρονομικότητας, ενώ δε, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν, πολλές φορές, καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του φαινοτύπου των ασθενειών. Συνοψίζοντας, λοιπόν, καταλήγουμε ότι τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι πολυπαραγοντικής αιτιολογίας (Safari-Alighiarloo et al., 2014).

Όλα τα παραπάνω μας έδωσαν το έναυσμα να ασχοληθούμε με τα αυτοάνοσα νοσήματα, όπου περιοριστήκαμε στο να μελετήσουμε νοσήματα του αίματος και συγκεκριμένα, την **κακοήγη αναιμία**, την **αυτοάνοση ουδετεροπενία**, την **πρωτοπαθή επίκτητη ερυθροκυτταρική απλασία**, την **παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία**, την **αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα**, το **αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο**, την **επίκτητη απλαστική αναιμία**, την **αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία** και το **σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων**.

Για την έρευνα μας αυτή σύμμαχος μας ήταν τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, που αναγνωρίζονται ολοένα και περισσότερο ως ένας σημαντικός τρόπος μελέτης της βιολογίας των πρωτεϊνών που σχετίζονται με πολύπλοκες ασθένειες (Safari-Alighiarloo et al., 2014). Είναι λογική η υπόθεση ότι οι πρωτεΐνες εκείνες που συνδέονται με το ίδιο χαρακτηριστικό, συμμετέχουν σε παρόμοιες βιολογικές διεργασίες. Ο προσδιορισμός υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια σύνθετων ασθενειών αποτελεί μεγάλη πρόκληση στη βιοϊατρική έρευνα. Γενικά, υπάρχει μια βασική ενιαία παραδοχή που αναφέρει ότι οι πρωτεΐνες που μοιράζονται παρόμοια τοπολογικά χαρακτηριστικά στο δίκτυο με γνωστές πρωτεΐνες ασθενειών, μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα τον ίδιο φαινότυπο. Κατά

συνέπεια, φαίνεται ότι η κατασκευή δικτύων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων μπορεί να προσφέρει ανεκτίμητες πληροφορίες σχετικά με τον μοριακό μηχανισμό των αυτοάνοσων νοσημάτων (Safari-Alighiarloo et al., 2014).

Δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως προκειμένου να επικεντρωθούν σε πρωτεΐνες που προκαλούν μια ασθένεια, καθώς και στο να προσδιορίσουν υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην παθογένεια διαφόρων ασθενειών, όπως ο διαβήτης τύπου II, οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες, η οστεοπόρωση, ο καρκίνος του τραχήλου, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Chautard et al., 2009; Goh and Choi, 2012; Hindumathi et al., 2014; Ortutay and Vihinen, 2009; Oti et al., 2006; Siddani et al., 2013). Τέτοιες *in silico* προσεγγίσεις έχουν αναπτυχθεί ως ένας πιο γρήγορος και οικονομικός τρόπος προσδιορισμού πρωτεϊνών που θα μπορούσαν να αποτελέσουν υποψήφιους στόχους φαρμάκων (Florez et al., 2010). Ωστόσο, η εφαρμογή δικτύων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων απουσιάζει ως προς τη μελέτη αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Για τον λόγο αυτό, λοιπόν, αξίζει να αναφερθεί ότι είναι η **πρώτη προσπάθεια μελέτης αυτών των αυτοάνοσων νοσημάτων, προσδιορίζοντας υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην παθογένεια τους, καθώς επίσης και πρωτεΐνες που ενδεχομένως να παίζουν σημαντικό ρόλο στις μεταξύ τους συσχετίσεις.**

Ανακεφαλαιώνοντας, έγινε προσπάθεια εύρεσης των αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Στη συνέχεια, βρήκαμε κωδικούς και εναλλακτικά ονόματα για κάθε αυτοάνοσο νόσημα και στη συνέχεια συλλέξαμε 51 πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα υπό μελέτη αυτοάνοσα νοσήματα. Ακολούθως, αναζητήσαμε τις αλληλεπιδράσεις των 51 πρωτεϊνών, όπου εντοπίσαμε για τις 42 από αυτές, σύμφωνα με τα κριτήρια αναζήτησης μας (δηλαδή, να αφορούν πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις του ανθρώπου). Τελικά, το δίκτυο μας διαμορφώθηκε έχοντας 427 πρωτεΐνες και 1439 αλληλεπιδράσεις.

Έπειτα, με την εφαρμογή της θεωρίας γράφων στο δίκτυο μας, καταφέραμε να εξάγουμε χρήσιμες πληροφορίες. Ο υπολογισμός της πυκνότητας του δικτύου (0.016), που έχει τιμή πολύ μικρότερη από 1, αποδεικνύει ότι το δίκτυο μας είναι ένα αραιά συνδεδεμένο δίκτυο, όπως άλλα βιολογικά δίκτυα (Leclerc, 2008). Ακόμη, ο συντελεστής ομαδοποίησης ($CC=0.142$) και το

χαρακτηριστικό μήκος μονοπατιού ($CPL=3.532$), έχει υψηλότερη και χαμηλότερη τιμή αντίστοιχα, σε σύγκριση με αυτή ενός τυχαίου δικτύου ($CC=0.0023$, $CPL=7.12$). Αυτά τα δύο κριτήρια, υποδηλώνουν ότι το δίκτυο μας έχει ιδιότητες δικτύου μικρού-κόσμου (small-world properties) – που παρουσιάζουν και άλλα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (Watts and Strogatz, 1998).

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες τα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων είναι scale-free (Albert, 2005). Το κύριο χαρακτηριστικό των scale-free δικτύων είναι ότι ακολουθούν την κατανομή βαθμού P_k ($P_k = Ak^{-\gamma}$). Η τιμή του εκθέτη του βαθμού γ είναι πολύ σημαντική δεδομένου ότι καθορίζει πολύ σημαντικές ιδιότητες του δικτύου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας η τιμή γ (1.372) είναι μικρότερη από 2, που σημαίνει ότι οι hubs πρωτεΐνες (πρωτεΐνες με υψηλή συνδεσιμότητα με άλλες) παίζουν σημαντικό ρόλο στο δίκτυο, σε αντίθεση με άλλες πρωτεΐνες όπου ισχύει $2 < \gamma < 3$ (Barabasi and Oltvai, 2004). Βάσει των αποτελεσμάτων μας, το δίκτυο μας έχει ιδιότητες δικτύων ανεξάρτητων από κλίμακα. Αυτό σημαίνει ότι η πλειοψηφία των πρωτεϊνών του δικτύου έχει χαμηλό βαθμό συνδεσιμότητας με άλλες πρωτεΐνες, ενώ υπάρχει ένας μικρός αριθμός κεντρικών πρωτεϊνών με υψηλό βαθμό συνδεσιμότητας. Σύμφωνα με τον κανόνα θνησιμότητας-κεντρικότητας (lethality-centrality rule) (Jeong et al., 2001), στα δίκτυα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων οι κεντρικές πρωτεΐνες τείνουν να είναι σημαντικές ως προς την τοπολογία του δικτύου και συνεπώς ως προς τη μεταβλητότητα του οργανισμού (Goh et al., 2007; He and Zhang, 2006).

Στη συνέχεια, έχοντας ως στόχο να ταξινομήσουμε τις πρωτεΐνες του δικτύου βάσει της σημαντικότητας τους μέσα σε αυτό, υπολογίστηκαν τρεις κεντρικότητες. Στη μελέτη μας, υπολογίστηκε η κεντρικότητα βαθμού, καθώς και η ενδιάμεση και η πλησιέστερη κεντρικότητα, ώστε να επιτευχθεί ποσοτικοποίηση της σημαντικότητας των πρωτεϊνών του δικτύου. Ουσιαστικά, ο προσδιορισμός αυτών των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε βάσει της θέσης τους στο δίκτυο. Η τιμή της κάθε υπολογισμένης κεντρικότητας χρησιμοποιήθηκε σαν μέτρο εκτίμησης της σημαντικότητας της κάθε πρωτεΐνης. Η προσέγγιση της δικής μας μελέτης συνδυάζει τις υψηλές τιμές κεντρικότητας με την στατιστικά σημαντική συσχέτιση με όρους

αυτοάνοσων νοσημάτων, παρέχοντας πληροφορίες για το ποιες πρωτεΐνες έχουν συσχετίσεις με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα.

Όπως σημειώνεται και από τα αποτελέσματά μας, υπάρχει σχέση μεταξύ της σημαντικότητας των πρωτεϊνών του δικτύου (βάσει των υπολογισμένων κεντρικότητων), και της στατιστικά σημαντικής συσχέτισης με όρους αυτοάνοσων νοσημάτων. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι και οι κεντρικότερες σχετίζονται μεταξύ τους, λόγω του ότι πολλές πρωτεΐνες έχουν υψηλή τιμή και των τριών υπολογισμένων κεντρικότητων.

Ακολούθως, καταφέραμε να επιτύχουμε τον προσδιορισμό δεκατεσσάρων υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων του αίματος. Είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι βρέθηκαν αυτές οι πρωτεΐνες να εμπλέκονται σε διάφορες λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και να έχουν συσχετίσεις με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Στη συνέχεια, για να εξετάσουμε την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων μας πραγματοποιήσαμε και βιβλιογραφική έρευνα, αναζητώντας αν οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες έχουν βρεθεί εμπλεκόμενες, με οποιονδήποτε τρόπο, στα υπό μελέτη αυτοάνοσα νοσήματα.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι βρέθηκαν 2 από τις 14 πρωτεΐνες, οι **CASP8** (Madkaikar et al., 2011) και **FADD** (Bride and Teachey, 2017), να είναι ήδη γνωστές ως προς τη συσχέτιση τους με το αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο. Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 7, οι πρωτεΐνες CASP8 και FADD αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες FAS, FASLG και CASP10, που σχετίζονται με το αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο. Όλες οι προαναφερόμενες πρωτεΐνες συνεργάζονται μεταξύ τους προκειμένου να πραγματοποιήσουν διάφορες σημαντικές βιολογικές διεργασίες. Πιο συγκεκριμένα, η FADD ενεργοποιείται από την αλληλεπίδραση των FAS και FASLG, πυροδοτώντας τον καταρράκτη κασπάσης με επακόλουθη πρωτεόλυση, αποικοδόμηση DNA και απόπτωση (Madkaikar et al., 2011). Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι η πρωτεΐνη **DAXX** έχει προταθεί προς διερεύνηση για την εμπλοκή της στην παθογένεια του αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου (Aspinall et al., 1999).

Επιπλέον, η πρωτεΐνη **MICA** αλληλεπιδρά με την KLRK1, που σχετίζεται με την παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία. Πολύ σημαντικό είναι να

αναφερθεί το γεγονός ότι σύμφωνα με την μελέτη των *Hanaoka et al.* (Hanaoka et al., 2006), η MICA εντοπίστηκε με μη φυσιολογική έκφραση στα κοκκιοκύτταρα μερικών ασθενών που πάσχουν από παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία. Επίσης, η μελέτη των *Maia et al.* (Maia et al., 2009) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχει πιθανότητα τα γονίδια που βρίσκονται πολύ κοντά στο γονίδιο MICA ή ακόμα και το ίδιο γονίδιο MICA, να ευθύνεται/ονται για την εμφάνιση της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας.

Ακόμη, είναι πολύ ενδιαφέρον ότι η πρωτεΐνη **TRAF6** (αλληλεπιδρά με την AHCY, που σχετίζεται με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα), εντοπίστηκε να είναι αυξημένη από την απορρύθμιση του *mir-146a*, οδηγώντας σε επακόλουθη αύξηση της ωρίμανσης των μεγαρουκυττάρων (Khodadi et al., 2016). Το συγκεκριμένο miRNA (*mir-146a*) συμπεριλαμβάνεται, μεταξύ άλλων, στην μεγακαρυοποίηση της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας (Khodadi et al., 2016).

Επιπλέον, η πρωτεΐνη **FYN** αλληλεπιδρά με τις FAS και FASLG, που σχετίζονται με το αυτοάνοσο λυμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η μελέτη των *Katagiri et al.* το 1981, ήταν η πρώτη που αρχικά ανέφερε ότι η FYN εκφράζεται σε αυξημένο επίπεδο στα T-κύτταρα των ποντικών με αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (Katagiri et al., 1989). Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματά μας θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι εμπλέκεται στην παθογένεια αυτής της νόσου στον άνθρωπο. Η υπόθεση αυτή δείχνει βάσιμη δεδομένου ότι η FYN εντοπίζεται στο FAS-FASLG σηματοδοτικό μονοπάτι (Brawura-Biskupski-Samaha and Grzela, 2006). Επίσης, η μελέτη των *Guinn et al.* (Guinn et al., 1995) εντόπισε ανωμαλίες της **TP53** σε ασθενείς με αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Ακόμη, μια πιο πρόσφατη μελέτη βρήκε την TP53 με υψηλή έκφραση σε ασθενείς με κακοήγη αναιμία, υποδεικνύοντας την ως τον κύριο επαγωγέα της απόπτωσης των μεγαλοβλαστών (megakaryoblast cells) (Yadav et al., 2016).

Σχετικά με την **EGFR** (γνωστή και ως ErBb1) – η οποία αλληλεπιδρά με την SH2B3 που σχετίζεται με το σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων – θα μπορούσε να θεωρηθεί υποψήφια στην παθογένεια του συνδρόμου αντιφωσφολιπιδίων, κάτι που υποδηλώνεται και από τον συνδυασμό των αποτελεσμάτων μας με τα βιβλιογραφικά ευρήματα. Διάφορες μελέτες (Di Simone et al., 2010;

Francis et al., 2006) είχαν εντοπίσει την STAT5 (signal transducer, and activator of transcription 5) και την HBEGF (heparin-binding epidermal growth factor) ως υποψήφιες πρωτεΐνες στην παθογένεια του συνδρόμου αντιφωσφολιπιδίων. Στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ErbB εμπλέκονται οι πρωτεΐνες STAT5 και HBEGF, όπου η τελευταία αποτελεί έναν από τους ενεργοποιητές των υποδοχέων ErbB-1, 2, 3 και 4. Η ενεργοποίηση των πρωτεϊνών ErbB με επακόλουθη ενεργοποίηση της STAT5 είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση και τη μετανάστευση των κυττάρων (Muhammad Aliff et al., 2016). Επομένως, η δυσλειτουργία της EGFR και κατ' επέκταση του σηματοδοτικού μονοπατιού ErbB, θα πρέπει να διερευνηθεί σχετικά με το ρόλο που έχει στην παθογένεια αυτού του συνδρόμου.

Ακολούθως, για να μειωθεί η πολυπλοκότητα του δικτύου και να ομαδοποιηθεί, χρησιμοποιήσαμε τον αλγόριθμο MCL. Καταλήξαμε σε 42 ομάδες, από τις οποίες μόνο οι 32 μπορούσαν να δημιουργήσουν πρωτεϊνικά σύμπλοκα ή λειτουργικές ομάδες. Όπως είναι ήδη γνωστό, οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με πολύπλοκες ασθένειες έχουν την τάση να ομαδοποιούνται μαζί. Αυτό επαληθεύεται και από τα δικά μας αποτελέσματα, όπου οι ομάδες στις οποίες δώσαμε μεγαλύτερη έμφαση (1^η, 3^η και 12^η ομάδα) περιείχαν τουλάχιστον 2 πρωτεΐνες που να σχετίζονται με τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος. Από την ανάλυση μας αυτή, προσδιορίστηκαν 17 πρωτεΐνες-«γέφυρες». Αξίζει να αναφερθεί ότι οι 2 από τις 17 πρωτεΐνες-«γέφυρες» (EGFR και TRAF6) που βρέθηκαν, ανήκουν στη λίστα των 14^{ωv} υποψήφιων εμπλεκόμενων πρωτεϊνών στην παθογένεια των υπό μελέτη αυτοάνοσων.

Στην 1^η ομάδα, αξίζει να αναφερθεί η 3^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών SBDS-FASLG, λόγω των πρωτεϊνών-«γέφυρων» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους σε συνδυασμό με τα βιβλιογραφικά μας ευρήματα. Η μελέτη των Calado et al. (Calado et al., 2007) πρότεινε ότι η μετάλλαξη 258+2T>C στην SBDS σχετίζεται με την επίκτητη απλαστική αναιμία, καθώς και με τη μείωση των τελομερών των λευκοκυττάρων. Σύμφωνα με τη μελέτη τους, η διατήρηση του μήκους των τελομερών εξαρτάται από τη συνεισφορά της SBDS, δεδομένου ότι παρατηρήθηκε μείωση των τελομερών των λευκοκυττάρων σε ασθενείς με έλλειψη της SBDS εν αντιθέσει με αυτούς που είχαν κανονική έκφραση της συγκεκριμένης

πρωτεΐνης. Λόγω του ότι δεν κατάφεραν να βρουν κάποια φυσική συσχέτιση μεταξύ της SBDS και των συστατικών στοιχείων του συμπλόκου της τελομεράσης (TERT και TERC), πρότειναν τελικά ότι το μήκος των τελομερών μπορεί να επηρεαστεί από την SBDS μέσω μιας ανεξάρτητης οδού από αυτή των τελομερών. Παρόλα αυτά, όπως δείχνεται και από τα αποτελέσματα μας, η SBDS αλληλεπιδρά με την TERF2IP (γνωστή και ως RAP1) και την POT1, που σχηματίζουν με άλλες 4 πρωτεΐνες των τελομερών (TPP1, TIN2, TRF1 και TRF2) το σύμπλοκο «Σελτερίνης» (shelterin complex).

Το σύμπλοκο «Σελτερίνης» (shelterin complex) μαζί με την τελομεράση, έχουν ζωτικής σημασίας ρόλο για τη διατήρηση του μήκους των τελομερών (Jones et al., 2016). Οι TERF2IP και TRF2 σχηματίζουν ένα σύμπλοκο που επηρεάζει το μήκος και την ετερογένεια του τελομερούς στον άνθρωπο, παίζοντας ρόλο στη λειτουργία του (Li and de Lange, 2003). Η POT1 μπορεί να δράσει θετικά, ως ένας ρυθμιστής που εξαρτάται από την τελομεράση, σχετικά με το μήκος των τελομερών (Colgin et al., 2003; Loayza and De Lange, 2003). **Επομένως, η δυσλειτουργία της SBDS μπορεί να επηρεάσει, μέσω των TERF2IP και POT1, το μήκος τους.**

Όπως προτείνεται από τους Wang et al. (Wang et al., 2014), έχει εντοπιστεί μειωμένη έκφραση του mRNA της POT1 σε ασθενείς με σοβαρή απλαστική αναιμία (severe aplastic anemia), στους οποίους επίσης διαπιστώθηκε και μείωση των τελομερών τους. Επιπλέον, στους συγκεκριμένους ασθενείς βρέθηκαν οι κυτταροκίνες TNF-α και IFN-γ με υψηλές συγκεντρώσεις, προτείνοντας ότι διαμέσου της ενεργοποίησης των POT1 και ATM/ATR προκαλείται απόπτωση ή γήρανση. Υπό το πρίσμα πιο πρόσφατων στοιχείων (Rujkijyanont et al., 2008; Watanabe et al., 2009), η αναστολή λειτουργίας της SBDS οδηγεί σε επιταχυνόμενη απόπτωση μέσω του μονοπατιού FAS. Όπως πρότεινε η μελέτη των Watanabe et al. (Watanabe et al., 2009), ο ρόλος της SBDS για τη βιογένεση του ριβοσώματος θα μπορούσε να σχετιστεί με πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την απόπτωση μέσω του μονοπατιού FAS. **Τα αποτελέσματα μας δείχνουν την πιθανότητα ότι η SBDS μπορεί να επηρεάσει την FASLG – τον τελεστή της απόπτωσης – μέσω των πρωτεϊνών TERF2IP και POT1.**

Αυτή η υπόθεση φαίνεται να είναι αρκετά πιθανή, διότι σύμφωνα με τους Lee et al. (Lee et al., 2011) βρέθηκε η απόπτωση, μια από τις πιο κορυφαίες βιολογικές διεργασίες, που διαμεσολαβείται από το δίκτυο αλληλεπιδράσεων των τελομερών (telomere interactome). Επίσης, προτείνουν ότι οι προαναφερόμενες **πρωτεΐνες του συμπλόκου «Σελτερίνης»** ενδεχομένως να έχουν **συνδεδειγμένο ρόλο μεταξύ της δυσλειτουργίας των τελομερών και της απόπτωσης**. Εμείς υποθέτουμε ότι αυτό ίσως να συμβαίνει διαμέσου των πρωτεϊνών-«γέφυρων»: CRK, TRIP10 και PACSIN ισομορφές 1-3. Όπως έχει δειχθεί, η CRK έχει προσδιοριστεί ως προ-αποπτωτική πρωτεΐνη (Austgen et al., 2011). Επίσης, οι TRIP10 και PACSIN ισομορφές 1-3, που ανήκουν στην FCH/SH3 οικογένεια, εντοπίστηκαν ως πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με την πλούσια σε προλίνη περιοχή της FASLG – για την ασφαλή ρύθμιση της αποθήκευσης και μεταφοράς της (Qian et al., 2006).

Όσον αφορά την 2^η τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών PTPN22-SH2B3 (1^η ομάδα), οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» είναι οι EGFR και ERBB2. **Η πρότασή μας σχετικά με την πιθανή συσχέτιση μεταξύ της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας και του συνδρόμου αντιφωσfolιπιδίων είναι σύμφωνη με προηγούμενη μελέτη** (Diz-Kucukkaya et al., 2001). Όπως αναφέρθηκε και προηγούμενως, η EGFR υποδείχτηκε διαμέσου της ανάλυσης μας ως υποψήφια εμπλεκόμενη πρωτεΐνη στην παθογένεια του συνδρόμου αντιφωσfolιπιδίων.

Ακόμη, είναι αρκετά ενδιαφέρον το γεγονός ότι αρκετές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ του συνδρόμου αντιφωσfolιπιδίων και του πρόωρου σχηματισμού αθηροσκληρωτικών πλακών, καθώς επίσης και του αυξανόμενου σχηματισμού της αθηροσκλήρωσης (da Silva et al., 2014). Επιπλέον, και οι ασθενείς με αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα έχουν υψηλό κίνδυνο για αθηροσκλήρωση (Lee and Kim, 2014). Από όσο γνωρίζουμε, η μεταφορά των περιφερειακών μονοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο, η διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα και ο μετέπειτα πολλαπλασιασμός τους, είναι σημαντικός κατά τη διάρκεια της αθηροσκλήρωσης. **Αξίζει να σημειωθεί ότι η EGFR βρέθηκε, μεταξύ άλλων κυτταρικών τύπων, σε μονοκύτταρα και μακροφάγα παρουσία αθηροσκληρωτικής πλάκας** (Dreux et al., 2006). Είναι ενδιαφέρον ότι η

EGF (epidermal growth factor), ένας από τους προσδέτες της EGFR, εντοπίστηκε σε υψηλά επίπεδα ασθενών με αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα έχοντας υψηλό αριθμό αιμοπεταλίων, εν αντιθέσει αυτών με χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων (Feng et al., 2012).

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι υπάρχουν κοινά αυτόανοσα νοσήματα με τα οποία σχετίζονται οι πρωτεΐνες-«γέφυρες», καθώς και οι πρωτεΐνες με τις οποίες αλληλεπιδρούν (που σχετίζονται με αυτόανοσα νοσήματα του αίματος). Για παράδειγμα, οι γονιδιακοί πολυμορφισμοί των EGFR και PTPN22 (βρίσκονται στην 1^η ομάδα) σχετίζονται με την ρευματοειδή αρθρίτιδα στο Ιράν (Hashemi et al., 2013). Συνεπώς, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι αυτές οι πρωτεΐνες ίσως να εμπλέκονται και σε ένα άλλο αυτοάνοσο νόσημα, όπως η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Ακόμη, όπως μπορεί να φανεί και παρακάτω, οι ασθένειες που σχετίζονται με πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους είναι πιθανότερο να έχουν και μεταξύ τους συσχετίσεις. Παρατηρήθηκε ότι μερικά από τα αυτόανοσα νοσήματα που σχετίζονται με πρωτεΐνες-«γέφυρες» βρέθηκαν να σχετίζονται με αυτόανοσα νοσήματα του αίματος. Συγκεκριμένα, η EGFR (αλληλεπιδρά με την SH2B3 που σχετίζεται με το σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων) σχετίζεται με τον συστηματικό ερυθματώδη λύκο (Huang et al., 2004), όπου ένας εκπληκτικά αυξανόμενος αριθμός μελετών (Franco et al., 2014; Hill and Nochy, 2007; Pons-Estel et al., 2017) έχει βρει το σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο. Επίσης, η SKAP2 (αλληλεπιδρά με PTPN22 που σχετίζεται με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα) σχετίζεται με τη νόσο του Crohn (Jostins et al., 2012), όπου αναφέρθηκε από τους *Baudard et al.* (Baudard et al., 1998) η περίπτωση κατά την οποία τεκμηριώνεται η συσχέτιση αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας με τη νόσο του Crohn. Επιπρόσθετα, οι SKAP2 και PTPN22 σχετίζονται με τον διαβήτη τύπου I (Reddy et al., 2011), όπου βρέθηκε συσχέτιση αυτού του νοσήματος με την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα (Prusek et al., 2010).

Σχετικά με την λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού, η λειτουργία των πρωτεϊνών του δικτύου που εντοπίζονται σε συγκεκριμένες ομάδες (κατόπιν της εφαρμογής του αλγορίθμου ομαδοποίησης), στις οποίες ήταν εφικτός ο σχηματισμός λειτουργικών ομάδων, σχετίζονται, μεταξύ άλλων, με την

ανοσοαπόκριση (έμφυτη και επίκτητη), την αποπτωτική διαδικασία (θετική και αρνητική ρύθμιση), την φλεγμονώδη αντίδραση, την συνδιέγερση T-κυττάρων, καθώς και το μονοπάτι σηματοδότησης T-κυττάρου. Επομένως, γίνεται αντιληπτό ότι οι παραπάνω λειτουργίες έχουν σχέση με το ανοσοποιητικό σύστημα, όπου όταν υπάρχει δυσλειτουργία αυτών οδηγούμαστε σε αυτοανοσία.

Εν κατακλείδι, καταφέραμε να συγκεντρώσουμε τα αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος, καθώς και τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτά. Επιπλέον, να τα μελετήσουμε και να τα αναλύσουμε στο σύνολο τους, αυξάνοντας την πιθανότητα να εντοπίσουμε υποψήφιες εμπλεκόμενες πρωτεΐνες στην παθογένεια των υπό μελέτη αυτοάνοσων νοσημάτων. Αυτό επιτεύχθηκε με τον συνδυασμό πληροφοριών από την ανάλυση του δικτύου μας, καθώς και των πιο στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων των πρωτεϊνών του δικτύου με αυτοάνοσα νοσήματα. Επιπρόσθετα, η ανάλυση ομαδοποίησης μας έδωσε το έναυσμα να ξεχωρίσουμε πρωτεΐνες-«γέφυρες», που παίζουν το ρόλο του διαμεσολαβητή στην επικοινωνία των πρωτεϊνών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα του αίματος.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Afzal, W., M.B. Owlia, S. Hasni, and K.A. Newman. 2017. Autoimmune Neutropenia Updates: Etiology, Pathology, and Treatment. *Southern medical journal*. 110:300-307.
- Albert, R. 2005. Scale-free networks in cell biology. *Journal of cell science*. 118:4947-4957.
- Amberger, J.S., C.A. Bocchini, F. Schiettecatte, A.F. Scott, and A. Hamosh. 2015. OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM(R)), an online catalog of human genes and genetic disorders. *Nucleic acids research*. 43:D789-798.
- Aspinall, A.I., A. Pinto, I.A. Auer, P. Bridges, J. Luider, L. Dimnik, K.D. Patel, K. Jorgenson, and R.C. Woodman. 1999. Identification of new Fas mutations in a patient with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) and eosinophilia. *Blood cells, molecules & diseases*. 25:227-238.
- Assenov, Y., F. Ramirez, S.E. Schelhorn, T. Lengauer, and M. Albrecht. 2008. Computing topological parameters of biological networks. *Bioinformatics*. 24:282-284.
- Austgen, K., E.T. Johnson, T.J. Park, T. Curran, and S.A. Oakes. 2011. The adaptor protein CRK is a pro-apoptotic transducer of endoplasmic reticulum stress. *Nature cell biology*. 14:87-92.
- Ayme, S., B. Bellet, and A. Rath. 2015. Rare diseases in ICD11: making rare diseases visible in health information systems through appropriate coding. *Orphanet journal of rare diseases*. 10:35.
- Barabasi, A.L., and Z.N. Oltvai. 2004. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nature reviews. Genetics*. 5:101-113.
- Baudard, M., T. Molina, K. Benfiguig, J.P. Bethoux, and R. Zittoun. 1998. Idiopathic thrombocytopenic purpura associated with Crohn's disease. *Haematologica*. 83:92-93.
- Bonilla, F.A., and H.C. Oettgen. 2010. Adaptive immunity. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 125:S33-40.
- Brawura-Biskupski-Samaha, R., and T. Grzela. 2006. Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome – Impaired Regulation of the Immune Response by Impaired Induction of Apoptosis. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 33:71-79.
- Bride, K., and D. Teachey. 2017. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: more than a FAScinating disease. *F1000Research*. 6:1928.
- Brohee, S., and J. van Helden. 2006. Evaluation of clustering algorithms for protein-protein interaction networks. *BMC bioinformatics*. 7:488.
- Calado, R.T., S.A. Graf, K.L. Wilkerson, S. Kajigaya, P.J. Ancliff, Y. Dror, S.J. Chanock, P.M. Lansdorp, and N.S. Young. 2007. Mutations in the SBDS gene in acquired aplastic anemia. *Blood*. 110:1141-1146.
- Canner, J.A., M. Sobo, S. Ball, B. Hutzen, S. DeAngelis, W. Willis, A.W. Studebaker, K. Ding, S. Wang, D. Yang, and J. Lin. 2009. MI-63: a

- novel small-molecule inhibitor targets MDM2 and induces apoptosis in embryonal and alveolar rhabdomyosarcoma cells with wild-type p53. *British journal of cancer*. 101:774-781.
- Chautard, E., N. Thierry-Mieg, and S. Ricard-Blum. 2009. Interaction networks: from protein functions to drug discovery. A review. *Pathologie-biologie*. 57:324-333.
- Colgin, L.M., K. Baran, P. Baumann, T.R. Cech, and R.R. Reddel. 2003. Human POT1 facilitates telomere elongation by telomerase. *Current biology : CB*. 13:942-946.
- da Silva, F.F., R.A. Levy, and J.F. de Carvalho. 2014. Cardiovascular risk factors in the antiphospholipid syndrome. *Journal of immunology research*. 2014:621270.
- Dennis, G., Jr., B.T. Sherman, D.A. Hosack, J. Yang, W. Gao, H.C. Lane, and R.A. Lempicki. 2003. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome biology*. 4:P3.
- Devalet, B., F. Mullier, B. Chatelain, J.M. Dogne, and C. Chatelain. 2015. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a review. *European journal of haematology*. 95:190-198.
- Di Simone, N., R. Marana, R. Castellani, F. Di Nicuolo, M.C. D'Alessio, E. Raschi, M.O. Borghi, P.P. Chen, M. Sanguinetti, A. Caruso, and P.L. Meroni. 2010. Decreased expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor as a newly identified pathogenic mechanism of antiphospholipid-mediated defective placentation. *Arthritis and rheumatism*. 62:1504-1512.
- Diz-Kucukkaya, R., A. Hacıhanefioglu, M. Yenerel, M. Turgut, H. Keskin, M. Nalcaci, and M. Inanc. 2001. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients presenting with immune thrombocytopenic purpura: a prospective cohort study. *Blood*. 98:1760-1764.
- Dong, J., and S. Horvath. 2007. Understanding network concepts in modules. *BMC systems biology*. 1:24.
- Dreux, A.C., D.J. Lamb, H. Modjtahedi, and G.A. Ferns. 2006. The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: their putative role in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 186:38-53.
- Erdős P, R.A. 1961. On the strength of connectedness of a random graph. *Acta Math Acad Sci Hungar*.
- Esposito, E., and S. Cuzzocrea. 2009. TNF-alpha as a therapeutic target in inflammatory diseases, ischemia-reperfusion injury and trauma. *Current medicinal chemistry*. 16:3152-3167.
- Feng, X., P. Scheinberg, L. Samsel, O. Rios, J. Chen, J.P. McCoy, Jr., W. Ghanima, J.B. Bussel, and N.S. Young. 2012. Decreased plasma cytokines are associated with low platelet counts in aplastic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 10:1616-1623.

- Florez, A.F., D. Park, J. Bhak, B.C. Kim, A. Kuchinsky, J.H. Morris, J. Espinosa, and C. Muskus. 2010. Protein network prediction and topological analysis in *Leishmania major* as a tool for drug target selection. *BMC bioinformatics*. 11:484.
- Francis, J., R. Rai, N.J. Sebire, S. El-Gaddal, M.S. Fernandes, P. Jindal, A. Lokugamage, L. Regan, and J.J. Brosens. 2006. Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome. *Molecular human reproduction*. 12:435-442.
- Franco, J.S., N. Molano-Gonzalez, M. Rodriguez-Jimenez, Y. Acosta-Ampudia, R.D. Mantilla, J. Amaya-Amaya, A. Rojas-Villarraga, and J.M. Anaya. 2014. The coexistence of antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus in Colombians. *PloS one*. 9:e110242.
- Gene Ontology, C. 2015. Gene Ontology Consortium: going forward. *Nucleic acids research*. 43:D1049-1056.
- Goh, K.I., and I.G. Choi. 2012. Exploring the human diseasome: the human disease network. *Briefings in functional genomics*. 11:533-542.
- Goh, K.I., M.E. Cusick, D. Valle, B. Childs, M. Vidal, and A.L. Barabasi. 2007. The human disease network. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104:8685-8690.
- Goto, M., K. Kuribayashi, Y. Takahashi, T. Kondoh, M. Tanaka, D. Kobayashi, and N. Watanabe. 2013. Identification of autoantibodies expressed in acquired aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 160:359-362.
- Guinn, B.A., A.I. al-Sabah, C. Hewlett, and R.A. Padua. 1995. Elevated levels of p53 protein in the neutrophils and monocytes of a patient with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura or possible early myelodysplasia? *Leukemia research*. 19:727-731.
- Hanaoka, N., T. Kawaguchi, K. Horikawa, S. Nagakura, H. Mitsuya, and H. Nakakuma. 2006. Immunoselection by natural killer cells of PIGA mutant cells missing stress-inducible ULBP. *Blood*. 107:1184-1191.
- Hashemi, M., M. Atabaki, H. Daneshvar, Z. Zakeri, and E. Eskandari-Nasab. 2013. Association of PTPN22 rs2476601 and EGFR rs17337023 Gene polymorphisms and rheumatoid arthritis in Zahedan, Southeast Iran. *International journal of immunogenetics*. 40:299-305.
- He, X., and J. Zhang. 2006. Why do hubs tend to be essential in protein networks? *PLoS genetics*. 2:e88.
- Hill, G.S., and D. Nochy. 2007. Antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 18:2461-2464.
- Hindumathi, V., T. Kranthi, S.B. Rao, and P. Manimaran. 2014. The prediction of candidate genes for cervix related cancer through gene ontology and graph theoretical approach. *Molecular bioSystems*. 10:1450-1460.

- Huang, C.M., C.H. Tsai, C.L. Chen, C.P. Chang, C.C. Lai, and F.J. Tsai. 2004. Epidermal growth factor receptor (EGFR) gene Bsr I polymorphism is associated with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 13:773-776.
- Huber, W., V.J. Carey, L. Long, S. Falcon, and R. Gentleman. 2007. Graphs in molecular biology. *BMC bioinformatics*. 8 Suppl 6:S8.
- Jensen, L.J., M. Kuhn, M. Stark, S. Chaffron, C. Creevey, J. Muller, T. Doerks, P. Julien, A. Roth, M. Simonovic, P. Bork, and C. von Mering. 2009. STRING 8--a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic acids research*. 37:D412-416.
- Jeong, H., S.P. Mason, A.L. Barabasi, and Z.N. Oltvai. 2001. Lethality and centrality in protein networks. *Nature*. 411:41-42.
- Jones, M., K. Bisht, S.A. Savage, J. Nandakumar, C.E. Keegan, and I. Maillard. 2016. The shelterin complex and hematopoiesis. *The Journal of clinical investigation*. 126:1621-1629.
- Jostins, L., S. Ripke, R.K. Weersma, R.H. Duerr, D.P. McGovern, K.Y. Hui, J.C. Lee, L.P. Schumm, Y. Sharma, C.A. Anderson, J. Essers, M. Mitrovic, K. Ning, I. Cleynen, E. Theatre, S.L. Spain, S. Raychaudhuri, P. Goyette, Z. Wei, C. Abraham, J.P. Achkar, T. Ahmad, L. Amininejad, A.N. Ananthakrishnan, V. Andersen, J.M. Andrews, L. Baidoo, T. Balschun, P.A. Bampton, A. Bitton, G. Boucher, S. Brand, C. Buning, A. Cohain, S. Cichon, M. D'Amato, D. De Jong, K.L. Devaney, M. Dubinsky, C. Edwards, D. Ellinghaus, L.R. Ferguson, D. Franchimont, K. Fransen, R. Gearry, M. Georges, C. Gieger, J. Glas, T. Haritunians, A. Hart, C. Hawkey, M. Hedl, X. Hu, T.H. Karlsen, L. Kupcinskis, S. Kugathasan, A. Latiano, D. Laukens, I.C. Lawrance, C.W. Lees, E. Louis, G. Mahy, J. Mansfield, A.R. Morgan, C. Mowat, W. Newman, O. Palmieri, C.Y. Ponsioen, U. Potocnik, N.J. Prescott, M. Regueiro, J.I. Rotter, R.K. Russell, J.D. Sanderson, M. Sans, J. Satsangi, S. Schreiber, L.A. Simms, J. Sventoraityte, S.R. Targan, K.D. Taylor, M. Tremelling, H.W. Verspaget, M. De Vos, C. Wijmenga, D.C. Wilson, J. Winkelmann, R.J. Xavier, S. Zeissig, B. Zhang, C.K. Zhang, H. Zhao, I.B.D.G.C. International, M.S. Silverberg, V. Annese, H. Hakonarson, S.R. Brant, G. Radford-Smith, C.G. Mathew, J.D. Rioux, et al. 2012. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 491:119-124.
- Karopka, T., J. Fluck, H.T. Mevissen, and A. Glass. 2006. The Autoimmune Disease Database: a dynamically compiled literature-derived database. *BMC bioinformatics*. 7:325.
- Karpatkin, S. 1997. Autoimmune (idiopathic) thrombocytopenic purpura. *Lancet*. 349:1531-1536.
- Katagiri, T., K. Urakawa, Y. Yamanashi, K. Semba, T. Takahashi, K. Toyoshima, T. Yamamoto, and K. Kano. 1989. Overexpression of src family gene for tyrosine-kinase p59fyn in CD4-CD8- T cells of mice with a lymphoproliferative disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86:10064-10068.

- Keohane, E.M. 2004. Acquired aplastic anemia. *Clinical laboratory science : journal of the American Society for Medical Technology*. 17:165-171.
- Khodadi, E., A.A. Asnafi, S. Shahrabi, M. Shahjahani, and N. Saki. 2016. Bone marrow niche in immune thrombocytopenia: a focus on megakaryopoiesis. *Annals of hematology*. 95:1765-1776.
- Kholodenko, B.N., J.F. Hancock, and W. Kolch. 2010. Signalling ballet in space and time. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 11:414-426.
- Kohler, S., N.A. Vasilevsky, M. Engelstad, E. Foster, J. McMurphy, S. Ayme, G. Baynam, S.M. Bello, C.F. Boerkoel, K.M. Boycott, M. Brudno, O.J. Buske, P.F. Chinnery, V. Cipriani, L.E. Connell, H.J. Dawkins, L.E. DeMare, A.D. Devereau, B.B. de Vries, H.V. Firth, K. Freson, D. Greene, A. Hamosh, I. Helbig, C. Hum, J.A. Jahn, R. James, R. Krause, F.L. SJ, H. Lochmuller, G.J. Lyon, S. Ogishima, A. Olry, W.H. Ouwehand, N. Pontikos, A. Rath, F. Schaefer, R.H. Scott, M. Segal, P.I. Sergouniotis, R. Sever, C.L. Smith, V. Straub, R. Thompson, C. Turner, E. Turro, M.W. Veltman, T. Vulliamy, J. Yu, J. von Ziegenweidt, A. Zankl, S. Zuchner, T. Zemojtel, J.O. Jacobsen, T. Groza, D. Smedley, C.J. Mungall, M. Haendel, and P.N. Robinson. 2017. The Human Phenotype Ontology in 2017. *Nucleic acids research*. 45:D865-D876.
- Lahner, E., and B. Annibale. 2009. Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. *World journal of gastroenterology*. 15:5121-5128.
- Leclerc, R.D. 2008. Survival of the sparsest: robust gene networks are parsimonious. *Molecular systems biology*. 4:213.
- Lee, C.H., and U. Kim. 2014. Revascularization for patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and coronary artery disease. *Korean circulation journal*. 44:264-267.
- Lee, O.H., H. Kim, Q. He, H.J. Baek, D. Yang, L.Y. Chen, J. Liang, H.K. Chae, A. Safari, D. Liu, and Z. Songyang. 2011. Genome-wide YFP fluorescence complementation screen identifies new regulators for telomere signaling in human cells. *Molecular & cellular proteomics : MCP*. 10:M110 001628.
- Li, B., and T. de Lange. 2003. Rap1 affects the length and heterogeneity of human telomeres. *Molecular biology of the cell*. 14:5060-5068.
- Lipscomb, C.E. 2000. Medical Subject Headings (MeSH). *Bulletin of the Medical Library Association*. 88:265-266.
- Loayza, D., and T. De Lange. 2003. POT1 as a terminal transducer of TRF1 telomere length control. *Nature*. 423:1013-1018.
- Lopez, L.R., K.J. Dier, D. Lopez, J.T. Merrill, and C.A. Fink. 2004. Anti-beta 2-glycoprotein I and antiphosphatidylserine antibodies are predictors of arterial thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *American journal of clinical pathology*. 121:142-149.

- Madkaikar, M., S. Mhatre, M. Gupta, and K. Ghosh. 2011. Advances in autoimmune lymphoproliferative syndromes. *European journal of haematology*. 87:1-9.
- Maglott, D., J. Ostell, K.D. Pruitt, and T. Tatusova. 2005. Entrez Gene: gene-centered information at NCBI. *Nucleic acids research*. 33:D54-58.
- Maia, M.H., L. Peixoto Rde, C.P. de Lima, M. Magalhaes, L. Sena, S. Costa Pdo, F.B. Barbosa, L.F. de Oliveira, M. Romero, C.N. Silva, and E.J. dos Santos. 2009. Predisposition to idiopathic thrombocytopenic purpura maps close to the major histocompatibility complex class I chain-related gene A. *Human immunology*. 70:179-183.
- Maslov, S., and K. Sneppen. 2002. Specificity and stability in topology of protein networks. *Science*. 296:910-913.
- Means, R.T., Jr. 2016. Pure red cell aplasia. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*. 2016:51-56.
- Mensah, G.A., J. Kiley, S.C. Mockrin, M. Lauer, W.K. Hoots, Y. Patel, N.L. Cook, A.P. Patterson, and G.H. Gibbons. 2015. National Heart, Lung, and Blood Institute Strategic Visioning: setting an agenda together for the NHLBI of 2025. *American journal of public health*. 105:e25-28.
- Muhammad Aliff, M., S. Muhammad Shazwan, M.M. Nur Fariha, A.R. Hayati, A.R. Nur Syahrina, M. Maizatul Azma, A.H. Nazefah, S. Jameela, and A.A. Asral Wirda. 2016. Gene expression in obstetric antiphospholipid syndrome: a systematic review. *The Malaysian journal of pathology*. 38:285-294.
- Orchard, S., M. Ammari, B. Aranda, L. Breuza, L. Briganti, F. Broackes-Carter, N.H. Campbell, G. Chavali, C. Chen, N. del-Toro, M. Duesbury, M. Dumousseau, E. Galeota, U. Hinz, M. Iannuccelli, S. Jagannathan, R. Jimenez, J. Khadake, A. Lagreid, L. Licata, R.C. Lovering, B. Meldal, A.N. Melidoni, M. Milagros, D. Peluso, L. Perfetto, P. Porras, A. Raghunath, S. Ricard-Blum, B. Roechert, A. Stutz, M. Tognolli, K. van Roey, G. Cesareni, and H. Hermjakob. 2014. The MIntAct project--IntAct as a common curation platform for 11 molecular interaction databases. *Nucleic acids research*. 42:D358-363.
- Ortutay, C., and M. Vihinen. 2009. Identification of candidate disease genes by integrating Gene Ontologies and protein-interaction networks: case study of primary immunodeficiencies. *Nucleic acids research*. 37:622-628.
- Oti, M., B. Snel, M.A. Huynen, and H.G. Brunner. 2006. Predicting disease genes using protein-protein interactions. *Journal of medical genetics*. 43:691-698.
- Park, S.H. 2016. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia: classic approach and recent advances. *Blood research*. 51:69-71.
- Parkin, J., and B. Cohen. 2001. An overview of the immune system. *Lancet*. 357:1777-1789.

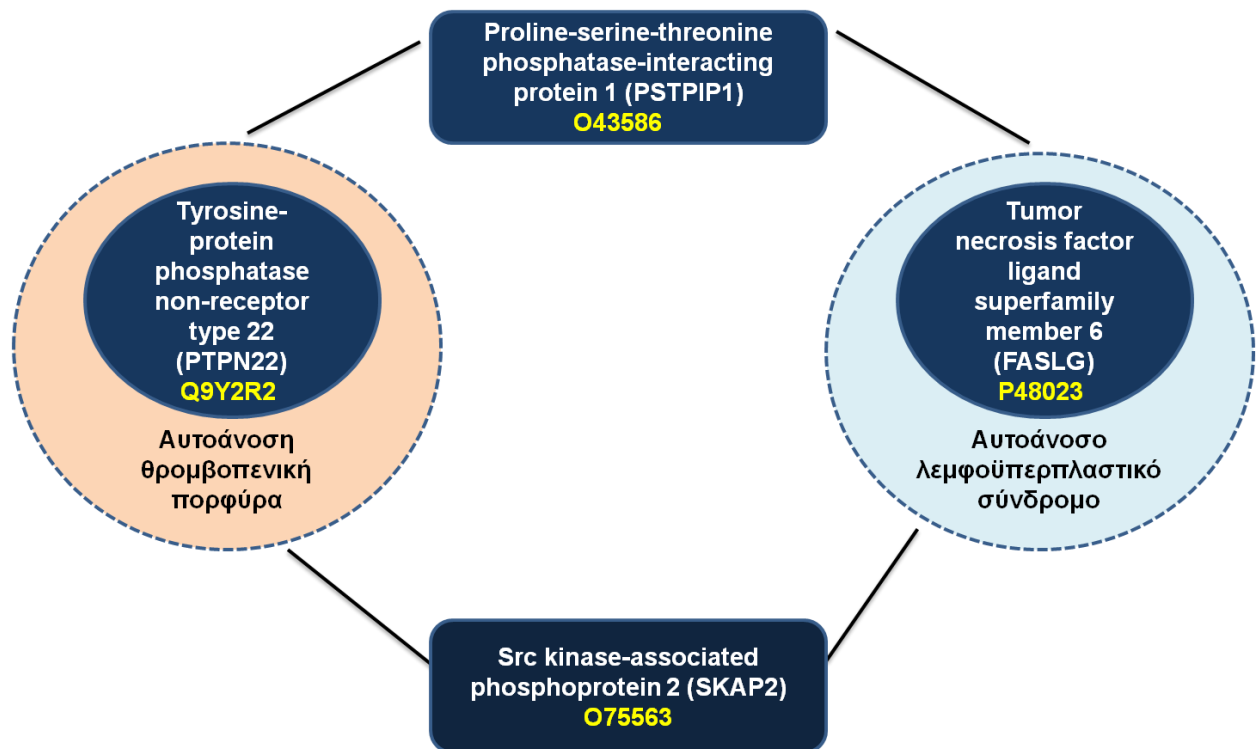
- Pavlopoulos, G.A., M. Secrier, C.N. Moschopoulos, T.G. Soldatos, S. Kossida, J. Aerts, R. Schneider, and P.G. Bagos. 2011. Using graph theory to analyze biological networks. *BioData mining*. 4:10.
- Pavlopoulos, G.A., A.L. Wegener, and R. Schneider. 2008. A survey of visualization tools for biological network analysis. *BioData mining*. 1:12.
- Pellegrini, M., D. Haynor, and J.M. Johnson. 2004. Protein interaction networks. *Expert review of proteomics*. 1:239-249.
- Pinero, J., N. Queralt-Rosinach, A. Bravo, J. Deu-Pons, A. Bauer-Mehren, M. Baron, F. Sanz, and L.I. Furlong. 2015. DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes. *Database : the journal of biological databases and curation*. 2015:bav028.
- Pizzuti, C., and S.E. Rombo. 2014. Algorithms and tools for protein-protein interaction networks clustering, with a special focus on population-based stochastic methods. *Bioinformatics*. 30:1343-1352.
- Pons-Estel, G.J., L. Andreoli, F. Scanzi, R. Cervera, and A. Tincani. 2017. The antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of autoimmunity*. 76:10-20.
- Prusek, K., G. Deja, and P. Jarosz-Chobot. 2010. [Association of idiopathic thrombocytopenic purpura and type 1 diabetes mellitus--a case report]. *Pediatric endocrinology, diabetes, and metabolism*. 16:220-222.
- Pundir, S., M.J. Martin, and C. O'Donovan. 2017. UniProt Protein Knowledgebase. *Methods in molecular biology*. 1558:41-55.
- Putkowski, S. 2010. National Organization for Rare Disorders (NORD): providing advocacy for people with rare disorders. *NASN school nurse*. 25:38-41.
- Qian, J., W. Chen, M. Lettau, G. Podda, M. Zornig, D. Kabelitz, and O. Janssen. 2006. Regulation of FasL expression: a SH3 domain containing protein family involved in the lysosomal association of FasL. *Cellular signalling*. 18:1327-1337.
- R. Goldsby, T.K., B. Osborne and J. Kuby. 2013. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ, KUBY (ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ). Π.Χ. Πασχαλίδης.
- Rath, A., A. Olry, F. Dhombres, M.M. Brandt, B. Urbero, and S. Ayme. 2012. Representation of rare diseases in health information systems: the Orphanet approach to serve a wide range of end users. *Human mutation*. 33:803-808.
- Reddy, M.V., H. Wang, S. Liu, B. Bode, J.C. Reed, R.D. Steed, S.W. Anderson, L. Steed, D. Hopkins, and J.X. She. 2011. Association between type 1 diabetes and GWAS SNPs in the southeast US Caucasian population. *Genes and immunity*. 12:208-212.
- Rujkijyanont, P., K. Watanabe, C. Ambekar, H. Wang, A. Schimmer, J. Beyene, and Y. Dror. 2008. SBDS-deficient cells undergo accelerated apoptosis through the Fas-pathway. *Haematologica*. 93:363-371.

- Rust, J. 2010. Updating the International Classification of Diseases and Related Health Problems, Tenth Revision (ICD-10). *The HIM journal*. 39:40.
- Safari-Alighiarloo, N., M. Taghizadeh, M. Rezaei-Tavirani, B. Goliaei, and A.A. Peyvandi. 2014. Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*. 7:17-31.
- Sanz-Pamplona, R., A. Berenguer, X. Sole, D. Cordero, M. Crous-Bou, J. Serra-Musach, E. Guino, M.A. Pujana, and V. Moreno. 2012. Tools for protein-protein interaction network analysis in cancer research. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*. 14:3-14.
- Seif, A.E., C.S. Manno, C. Sheen, S.A. Grupp, and D.T. Teachey. 2010. Identifying autoimmune lymphoproliferative syndrome in children with Evans syndrome: a multi-institutional study. *Blood*. 115:2142-2145.
- Shannon, P., A. Markiel, O. Ozier, N.S. Baliga, J.T. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski, and T. Ideker. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*. 13:2498-2504.
- Sheth, K., and A. Parke. 2016. Cutaneous Vasculitis in a Patient with Antiphospholipid Antibody Syndrome. *Connecticut medicine*. 80:75-79.
- Siddani, B.R., L.P. Pochineni, and M. Palanisamy. 2013. Candidate gene identification for systemic lupus erythematosus using network centrality measures and gene ontology. *PloS one*. 8:e81766.
- Stelzl, U., U. Worm, M. Lalowski, C. Haenig, F.H. Brembeck, H. Goehler, M. Stroedicke, M. Zenkner, A. Schoenherr, S. Koeppen, J. Timm, S. Mintzlaff, C. Abraham, N. Bock, S. Kietzmann, A. Goedde, E. Toksoz, A. Droege, S. Krobitsch, B. Korn, W. Birchmeier, H. Lehrach, and E.E. Wanker. 2005. A human protein-protein interaction network: a resource for annotating the proteome. *Cell*. 122:957-968.
- Vlasblom, J., and S.J. Wodak. 2009. Markov clustering versus affinity propagation for the partitioning of protein interaction graphs. *BMC bioinformatics*. 10:99.
- Wang, L., F.S. Wang, and M.E. Gershwin. 2015. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *Journal of internal medicine*. 278:369-395.
- Wang, T., S.C. Mei, R. Fu, H.Q. Wang, and Z.H. Shao. 2014. Expression of Shelterin component POT1 is associated with decreased telomere length and immunity condition in humans with severe aplastic anemia. *Journal of immunology research*. 2014:439530.
- Wang, X., and G. Chen. 2003. Complex networks: Small-world, scale-free and beyond. 6-20 pp.
- Warrington, R., W. Watson, H.L. Kim, and F.R. Antonetti. 2011. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, asthma,*

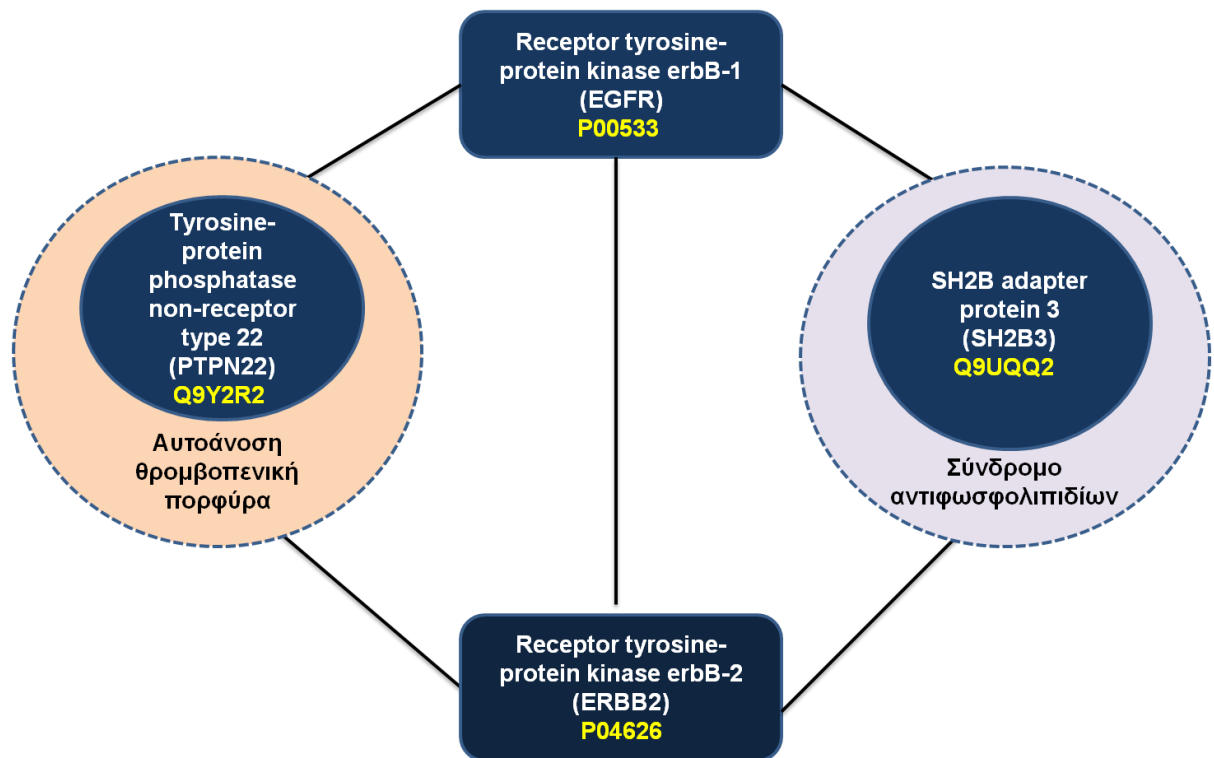
and clinical immunology : official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology. 7 Suppl 1:S1.

- Watanabe, K., C. Ambekar, H. Wang, A. Ciccolini, A.D. Schimmer, and Y. Dror. 2009. SBDS-deficiency results in specific hypersensitivity to Fas stimulation and accumulation of Fas at the plasma membrane. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*. 14:77-89.
- Watts DJ, S.S. 1961. On the strength of connectedness of a random graph. . *Acta Math Acad Sci Hungar*.
- Watts, D.J., and S.H. Strogatz. 1998. Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature*. 393:440-442.
- Wishart, D.S., C. Knox, A.C. Guo, S. Shrivastava, M. Hassanali, P. Stothard, Z. Chang, and J. Woolsey. 2006. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic acids research*. 34:D668-672.
- Xie, Y., S. Pittaluga, S. Price, M. Raffeld, J. Hahn, E.S. Jaffe, V.K. Rao, and I. Maric. 2017. Bone marrow findings in autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline FAS mutation. *Haematologica*. 102:364-372.
- Yadav, M.K., N.M. Manoli, and S.V. Madhunapantula. 2016. Comparative Assessment of Vitamin-B12, Folic Acid and Homocysteine Levels in Relation to p53 Expression in Megaloblastic Anemia. *PloS one*. 11:e0164559.
- Yamada, T., and P. Bork. 2009. Evolution of biomolecular networks: lessons from metabolic and protein interactions. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 10:791-803.
- Zhang, B., S. Kirov, and J. Snoddy. 2005. WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. *Nucleic acids research*. 33:W741-748.
- Μπάγκος, Π. 2015. Βιοπληροφορική, Αθήνα.

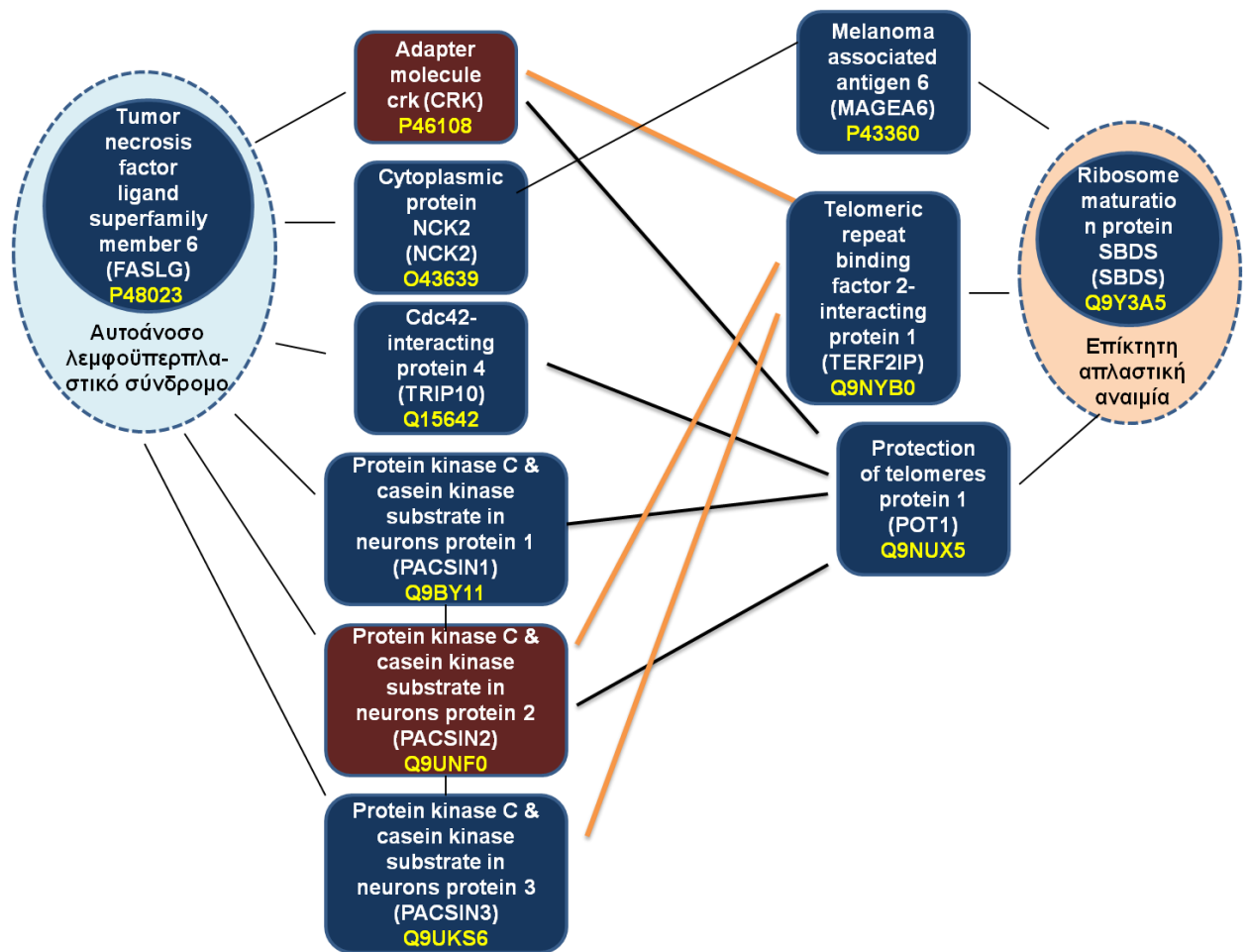
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



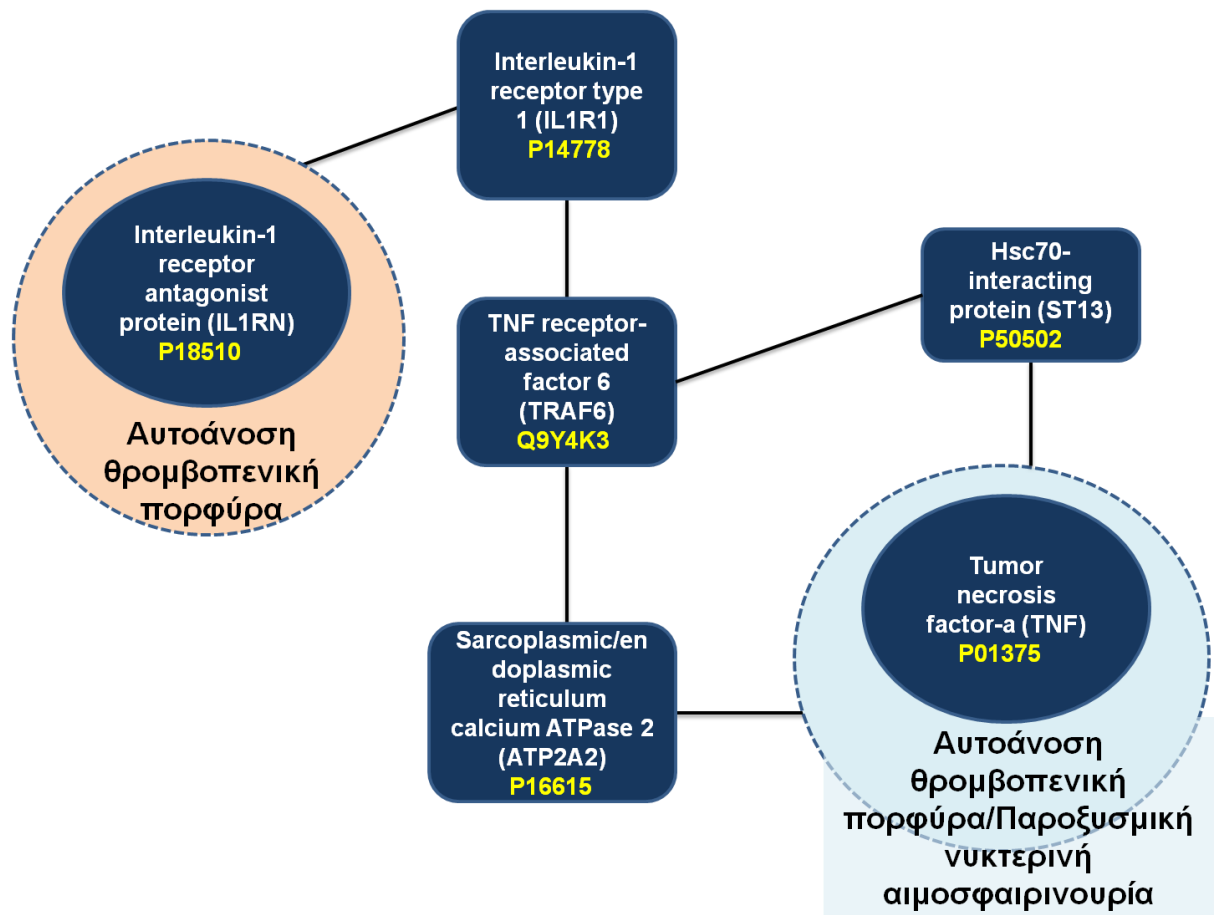
Εικόνα Π.33: Απεικόνιση της 2^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών PTPN22-FASLG (1^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι PSTPIP1 και SKAP2. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.



Εικόνα Π.34: Απεικόνιση της 2^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών PTPN22-SH2B3 (1^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι EGFR και ERBB2. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.



Εικόνα Π.35: Απεικόνιση της 3^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών FASLG-SBDS (1^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι CRK, NCK2, TRIP10, PACSIN1, PACSIN2, PACSIN3, MAGEA6, TERF2IP και POT1. Οι κόμβοι με κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τις πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με τις TERF2IP και POT1. Με έντονη μπλε γραμμή απεικονίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών με την POT1. Με έντονη πορτοκαλί γραμμή απεικονίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών με την TERF2IP. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.



Εικόνα Π.36: Απεικόνιση της 4^{ης} τάξης σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών IL1RN-TNF (3^η ομάδα). Οι πρωτεΐνες-«γέφυρες» που παρεμβάλλονται μεταξύ τους είναι οι IL1R1, TRAF6, ATP2A2 and ST13. Για κάθε πρωτεΐνη δίνεται το όνομα της, το γονίδιο και ο κωδικός της στην UniProt.