



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

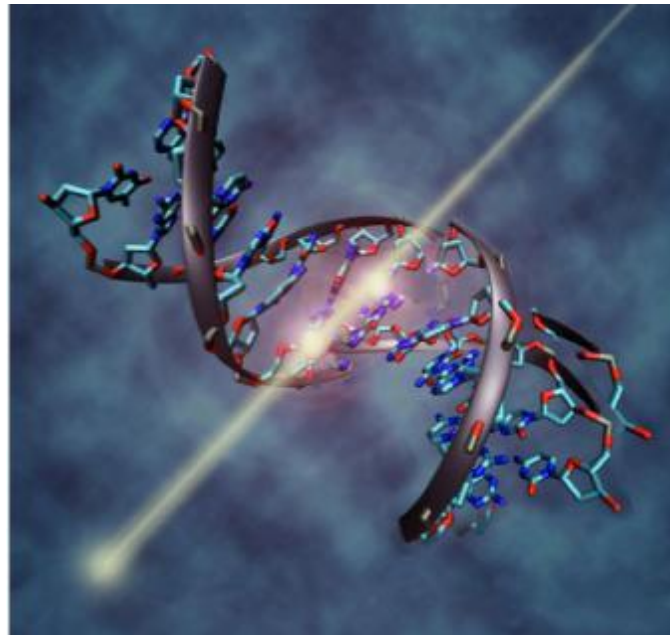
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ»

---

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Ανάλυση Μικροσυστοιχιών RNA στην περίπτωση  
έκθεσης σε Σωματιδιακή Ακτινοβολία με έμφαση  
στην Ραδιοθεραπεία»**



**Κωνσταντίνα Τάτση**

Διπλωματούχος Μηχανικός Επιστήμης Υλικών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**ΑΘΗΝΑ 2019**







HELLENIC REPUBLIC  
National και Kapodistrian  
University of Athens

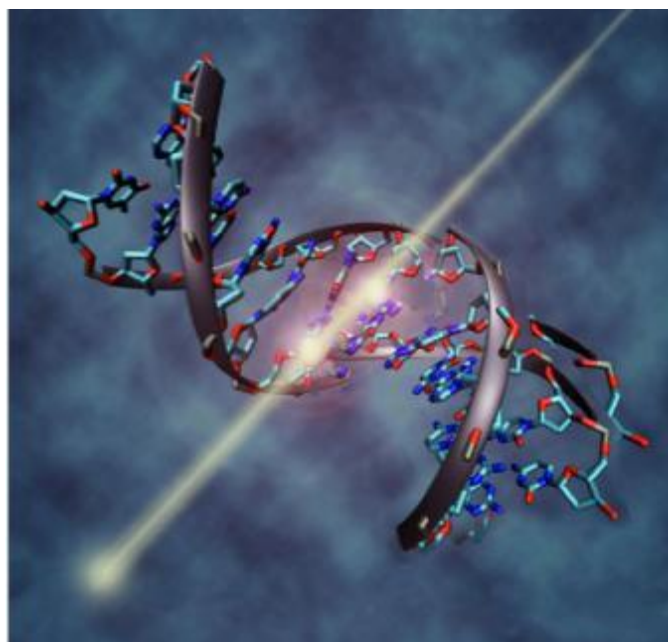
SCHOOL OF SCIENCE  
FACULTY OF BIOLOGY

MASTER IN “BIOINFORMATICS–COMPUTATIONAL BIOLOGY”

---

Master Diploma Thesis

**«Analysis of RNA Microarrays in case of exposure  
to Particle Radiation with Emphasis on  
Radiotherapy»**



**KONSTANTINA TATSI**

Diploma in Materials Science και Engineering, University of Ioannina

**ATHENS 2018**



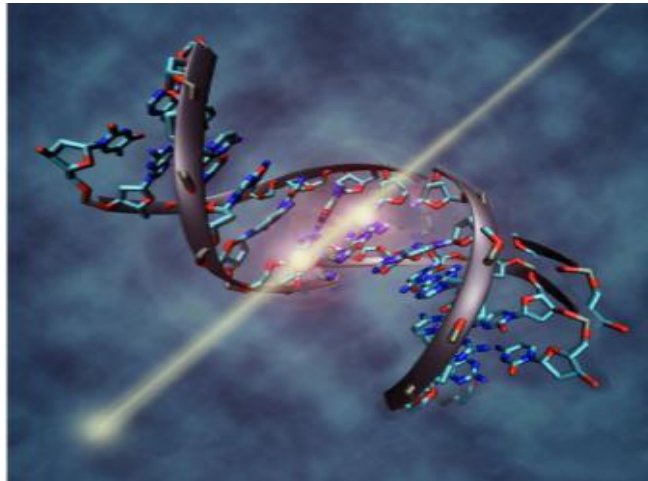
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« Ανάλυση Μικροσυστοιχιών RNA στην περίπτωση έκθεσης σε Σωματιδιακή Ακτινοβολία με έμφαση στην Ραδιοθεραπεία»



Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Αναπληρωτής Καθηγητής Αλέξανδρος Γεωργακίλας (Επιβλέπων)

Τομέας Φυσικής,

*Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών & Φυσικών Επιστημών,  
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο*

Καθηγητής Κωνσταντίνος Ε. Βοργιάς

*Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας,*

*Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Αναπληρωτής Καθηγητής Παντελής Μπάγκος

*Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

*Στους γονείς μου Θεόδωρο και Μαριάννα,  
Στην αδερφή μου Χαρά,  
Και στον Βασίλη*

## Περίληψη

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία ορίζεται ως η ενέργεια που διέρχεται μέσα από την ύλη, προκαλεί μεταβολές στους μοριακούς δεσμούς των ατόμων και οδηγεί στην δημιουργία ιόντων. Πολλές μελέτες έως τώρα περιγράφουν την επίδραση της στα βιολογικά συστήματα αλλά και τις πολλαπλές θετικές εφαρμογές της στην διάγνωση και καταπολέμηση ανθρωπίνων παθήσεων (κυρίως καρκίνου). Ωστόσο, η ιοντίζουσα ακτινοβολία παραμένει ένας εξαιρετικά επιβλαβής και, πολλές φορές, θανατηφόρος παράγοντας για την έμβια ύλη, καθώς αποσταθεροποιεί και καταστρέφει τα οργανικά μόρια με κυριότερο την πρόκληση εξωγενών βλαβών στο DNA που συχνά οδηγούν σε καρκινογένεση.

Στόχος της εργασίας αυτής αποτέλεσε η διερεύνηση της ύπαρξης συγκεκριμένων βιοδεικτών και η συσχέτισή τους με συγκεκριμένες δόσεις ακτινοβολίας. Για τον λόγο αυτό αναλύθηκαν δεδομένα μικροσυστοιχιών από πειράματα όπου ανθρώπινα κύτταρα εκτέθηκαν σε διαφορετικές ποσότητες και είδη ακτινοβολίας και συλλέχθηκαν σε διαφορετικές χρονικές στιγμές μετά την ακτινοβολήση. Τα δεδομένα αυτά αναλύθηκαν με την πλατφόρμα InSybio που χρησιμοποιεί μεθόδους στατιστικής και αλγορίθμους. Έγινε ανάλυση δικτύων για κάθε είδος ακτινοβολίας και ώρας, εύρεση γονιδίων με στατιστική σημαντικότητα και συσχέτιση τους με ασθένειες. Τέλος έγινε ένας σχολιασμός λειτουργίας για τα σημαντικά γονίδια κάθε κατηγορίας.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ :** ιοντίζουσες ακτινοβολίες, χαμηλές δόσεις, υψηλές δόσεις, διαφορική έκφραση γονιδίων, βιοπληροφορική, ανάλυση μικροσυστοιχιών, βάσεις δεδομένων, μετα-ανάλυση, βιοδείκτες, βιολογικά δίκτυα

## Abstract

Ionizing radiation is defined as the energy that passes through matter, causes changes in the molecular bonds of atoms and leads to the formation of ions. Many studies to date describe its effect on biological systems and its multiple positive applications in diagnosing and fighting human diseases (mainly cancer). However, ionizing radiation remains an extremely harmful and often fatal agent for the matter, as it destabilises and destroys organic molecules, most notably by causing exogenous DNA damages that often lead to carcinogenesis.

The aim of this work was to investigate the existence of specific biomarkers and their correlation with specific doses of radiation. For this reason, microarray data was analyzed from experiments where human cells were exposed to different quantities and species of radiation and were harvested at different times after irradiation. These data were analyzed with the InSybio platform using statistical methods and algorithms. Networks were analyzed for each type of radiation and time, finding genes with statistical significance and correlation with diseases. Finally, a comment was made on the important genes of each class.

**KEYWORDS:** ionizing radiation, low doses, high doses, differential gene expression, bioinformatics, microarray analysis, databases, meta-analysis, Βιοδείκτες, biological networks



## Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο της φοίτησης μου στο «ΜΔΕ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ» του τμήματος Βιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή και Επιβλέπων της διπλωματικής μου εργασίας τον Αλέξανδρο Γεωργακίλα για την συνεργασία και την καθοδήγηση. Επίσης τον δρ. Κωνσταντίνο Θεοφιλάτο, για την ευκαρία που μου έδωσε να χρησιμοποιήσω στην διπλωματική μου εργασία την πλατφόρμα της εταιρίας του και την καθοδήγηση για την χρήση της.

Εν τέλει, θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή Παντελή Μπάγκο και τον καθηγητή Κωνσταντίνο Βοργιά που δέχθηκαν να είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής της εξέτασης της διπλωματικής μου εργασίας.

Στην συνέχεια, θέλω να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου Ιωάννη Καταγά, Μαριέττα Ρήγα, Έφη Κολοτούρου, Βαρβάρα Δράκου και Μιχαήλ Ευγενίου για την βοήθεια τους και την συμπαράσταση τους σε όλην την διάρκεια του μεταπτυχιακού. Επίσης την οικογένεια μου για την αμέριστη ηθική και οικονομική συμπαράσταση που μου έχουν προσφέρει όλα τα χρόνια της εκπαιδευτικής μου πορείας.

---

## Περιεχόμενα

---

Περίληψη	7
Abstract	8
Ευχαριστίες	9
<b>Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> : Εισαγωγή</b>	<b>13</b>
1.1 Ορισμός ιοντίζουσας ακτινοβολίας	13
1.1.1 Διεισδυτικότητα ιοντίζουσας ακτινοβολίας	14
1.1.2 Γραμμική Μεταβίβαση Ενέργειας	15
1.2 Βιολογική επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας	15
1.2.1 Δοσιμετρία Ακτινοβολίας	15
1.2.2 Στάδια αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης	16
1.2.3 Μηχανισμοί δράσης ιοντίζουσας ακτινοβολίας	18
1.2.4 Εφαρμογές Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας	19
1.2.5 Επιδράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην έμβια ύλη.	23
1.3 Βλάβες DNA	24
1.3.1 Ο ρόλος του LET – Ομαδοποιημένες Βλάβες	28
1.3.2 Καρκινογένεση: Βλάβες DNA	29
1.3.3 Καρκινογένεση: Υψηλές και χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας	30
1.4 Φαινόμενο απόκρισης λόγω γειννίαςης – “Bystander Effect”	32
1.4 Μικροσυστοιχίες (Microarrays)	24
1.4.1 Γενικά	24
<b>Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> : Δεδομένα</b>	<b>34</b>
2.1 Επιλογή Δεδομένων	34
2.2.1 GSE21059	35
2.2.2 GSE23899	38
2.2.3 GSE16935	39
<b>Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> : Υπολογιστικά Εργαλεία και Ιστότοποι</b>	<b>41</b>
3.1 NCBI και Gene Expression Omnibus (GEO)	41
3.1.1 Αποθετήρια Δεδομένων	41
3.1.1.1 Gene Expression Omnibus (GEO)	41
3.2 MATLAB	43
3.2.1 Bioinformatics Toolbox – Ανάλυση μικροσυστοιχιών	45
3.2.2 Μεθοδολογία ανάκτησης και ανάλυσης δεδομένων GEO series	47

3.3 InSyBio Suite	48
3.4 DAVID – Σχολιασμός λειτουργίας (Functional Annotation)	58
<b>Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα</b>	60
4.1 GSE21059 – Alpha Particles	60
1 <sup>ο</sup> Βήμα – Εξαγωγή gene co-expression network	60
2 <sup>ο</sup> Βήμα - Ανάλυση δικτύου	61
4.1.1 Νόμοι δύναμης – Power Laws	70
3 <sup>ο</sup> Βήμα – Εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες)	75
4 <sup>ο</sup> Βήμα - Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based	77
5 <sup>ο</sup> Βήμα - Συγχωνευμένοι βιοδείκτες	79
6 <sup>ο</sup> Βήμα - Gene Enrichment Analysis	97
4.2 GSE23899 – Alpha Particles	104
1 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή gene co-expression network	104
2 <sup>ο</sup> Βήμα: Ανάλυση δικτύου	104
3 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών	107
4 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based	110
5 <sup>ο</sup> Βήμα: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες	111
6 <sup>ο</sup> Βήμα: Gene Enrichment Analysis	121
4.3 GSE16935 – Protons	124
1 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή gene co-expression network για κάθε ομάδα	124
2 <sup>ο</sup> Βήμα: Ανάλυση δικτύου	125
3 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες)	134
4 <sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based	137
5 <sup>ο</sup> Βήμα. Συγχωνευμένοι βιοδείκτες	140
6 <sup>ο</sup> Βήμα: Gene Enrichment Analysis	146
<b>Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>: Συζήτηση Αποτελεσμάτων</b>	152
Ευρετήριο Πινάκων	155
Ευρετήριο Εικόνων	157
Βιβλιογραφία	160



---

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> : Εισαγωγή

---

### 1.1 Ορισμός ιοντίζουσας ακτινοβολίας

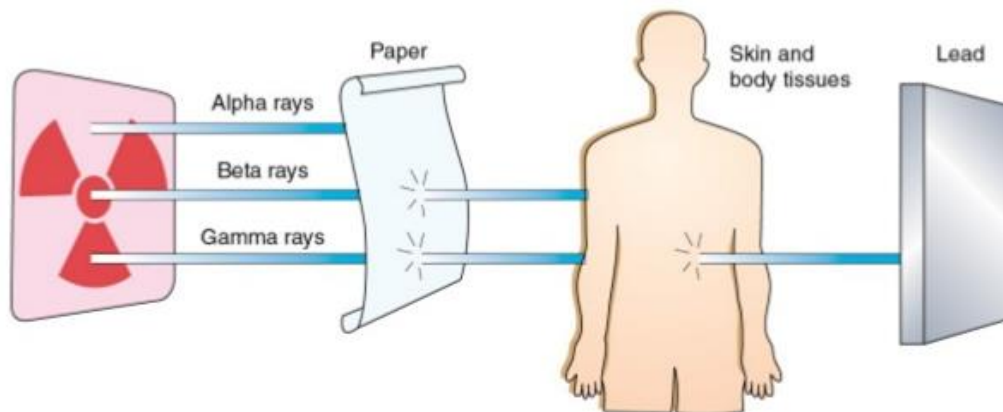
Πίνακας 1: Πηγές Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας

Φυσικές πηγές	Τεχνητές πηγές
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Κοσμική ακτινοβολία</li><li>➤ Έδαφος και ατμόσφαιρα (πετρώματα, νερό, αέρας)</li><li>➤ Τροφική αλυσίδα (πρόσληψη καλίου K-40)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Ιατρική (διάγνωση και θεραπεία)</li><li>➤ Παραγωγή ενέργειας (πυρηνικά εργοστάσια)</li><li>➤ Βιομηχανία (ραδιογραφίες)</li><li>➤ Γεωργία, έρευνα και εκπαίδευση</li></ul>

Ως ακτινοβολία ορίζεται το προϊόν της εκπομπής μιας πηγής που διαδίδεται στο χώρο με μεγάλη ταχύτητα. Στην ακτινοβολία συμπεριλαμβάνεται η ιοντίζουσα ακτινοβολία και η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ακτίνες-Χ). Η ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι η ενέργεια που διέρχεται μέσα από την ύλη, χάνει ενέργεια διασπώντας μοριακούς δεσμούς και δημιουργώντας ιόντα. Ο ιοντισμός ενός ατόμου είναι φυσικό φαινόμενο, που ακολουθεί την αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας υψηλής ενέργειας με την ύλη και αφορά στη βίαιη εκδίωξη ενός ηλεκτρονίου από το άτομο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ζεύγους αντίθετα φορισμένων ιόντων. Τα φορισμένα σωματίδια αλληλεπιδρούν άμεσα με τα ηλεκτρόνια στο υλικό. Η ιοντίζουσα ακτινοβολία προέρχεται είτε από φυσικές ή από τεχνητές πηγές. Ανεξάρτητα από την πηγή που προέρχεται, αποτελείται από **σωματίδια-α** (πυρήνες ηλίου  $^4\text{He}$ ), **σωματίδια-β** (ηλεκτρόνια ή ποζιτρόνια), **ακτίνες-γ** (υψηλής ενέργειας φωτόνια) και ακτίνες-Χ (ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία).

### 1.1.1 Διεσδυτικότητα ιονίζουσας ακτινοβολίας

Κάθε τύπος ακτινοβολίας παρουσιάζει μεγάλες διαφορές ως προς την ικανότητά του να διεισδύσει στην ύλη. Τα σωματίδια-α μόλις που διαπερνούν ένα φύλλο χαρτί, τα σωματίδια-β μπορούν να διαπεράσουν λίγα χιλιοστά αλουμινίου και οι ακτίνες-γ μπορούν να διαπεράσουν μερικά εκατοστά μολύβδου.



Εικόνα 1: Η διεσδυτικότητα των σωματιδίων-α, των σωματιδίων-β και των ακτίνων-γ (<https://www.slideshare.net/terrybear11/nursing-care-of-the-client-with-cancer>," n.d.).

Πιο αναλυτικά, τα σωματίδια -α έχουν πολύ μικρή εμβέλεια γιατί είναι πολύ βαριά σωματίδια και κινούνται σχετικά αργά μέσα από την ύλη με αποτέλεσμα να είναι μεγάλη η πιθανότητα αλληλεπίδρασης. Τα σωματίδια-α χάνουν πολύ γρήγορα όλη τους την ενέργεια και έτσι δεν μπορούν να εισχωρήσουν σε μεγάλο βάθος. Θεωρούνται ακίνδυνα για τον άνθρωπο καθώς δεν μπορούν να διαπεράσουν το ανθρώπινο δέρμα. Παρόλα αυτά αν με οποιοδήποτε τρόπο εισέρθουν στο ανθρώπινο σώμα θεωρούνται επικίνδυνα. Τα σωματίδια-β είναι πολύ πιο ελαφριά από τα α, άρα αλληλεπιδρούν λιγότερο με την ύλη και είναι πιο διεσδυτικά σωματίδια σε σχέση με τα σωματίδια-α. Η διεσδυτικότητά τους στα κύτταρα φτάνει το 1 cm. Θεωρούνται σχετικά ακίνδυνα για τον άνθρωπο εκτός αν ένας β-εκπομπός εισέρθει στο σώμα. Οι ακτίνες-γ είναι ακτινοβολίες υψηλής ενέργειας, άρα και πολύ διεσδυτικές μέσα στην ύλη. Μπορούν να διασχίσουν μεγάλες αποστάσεις και γι' αυτό τον λόγο θεωρούνται επικίνδυνες για τον άνθρωπο. Για την προστασία από τις ακτινοβολίες αυτές απαιτούνται αρκετά φύλλα μολύβδου ή κάποιο άλλο πυκνό μέσο.

### 1.1.2 Γραμμική Μεταβίβαση Ενέργειας

Η γραμμική μεταβίβαση ενέργειας, γνωστή και ως **LET** (Linear Energy Transfer) είναι ένα σημαντικό μέγεθος. Ορίζεται ως η γραμμική πυκνότητα ενέργειας που χάνεται από ένα ιονίζον φορτισμένο σωματίδιο καθώς αυτό ταξιδεύει μέσα στην ύλη (Menzel, 2014). Μαθηματικά συμβολίζεται ως :

$$L_{\Delta} = \frac{dE_{\Delta}}{dl},$$

όπου  $dE_{\Delta}$  είναι η μέση απώλεια ενέργειας του φορτισμένου σωματιδίου λόγω των ηλεκτρονικών αλληλεπιδράσεων όταν διανύει απόσταση  $dl$  ( $keV/\mu m$  στο SI). Είναι πάντα θετική ποσότητα και εξαρτάται από το είδος της ακτινοβολίας και από τη φύση του υλικού που θα διασχίσει. Πιο αναλυτικά τα σωματίδια-α επειδή είναι βαριά σωματίδια χάνουν ενέργεια με μεγάλο ρυθμό, και προκαλούν περισσότερους ιονισμούς ανά διανυόμενη απόσταση και γι' αυτό έχουν μεγάλο LET και θεωρούνται επικίνδυνα. Αντίθετα τα σωματίδια-β χάνουν λιγότερη ενέργεια σε κάθε αλληλεπίδραση με την ύλη σε σχέση με τα σωματίδια-α και γι' αυτό έχουν μικρότερο LET. Τέλος, οι ακτίνες-γ που έχουν πολύ μεγαλύτερη διεισδυτικότητα έχουν ακόμα μικρότερο LET.

## 1.2 Βιολογική επίδραση της ιονίζουσας ακτινοβολίας

### 1.2.1 Δοσιμετρία Ακτινοβολίας

Η δοσιμετρία ακτινοβολίας είναι η ποσοτική περιγραφή των επιδράσεων της ακτινοβολίας στους βιολογικούς ιστούς. Η απορροφηθείσα δόση ακτινοβολίας ορίζεται ως η ενέργεια που έχει αποθεθεί στους ιστούς ανά μονάδα μάζας (Menzel, 2014). Η **απορροφηθείσα δόση** μετριέται σε **Gray** (Gy, γκρέι) που αντιστοιχεί σε 1 *Joule*/Kg στο SI. Μια άλλη μονάδα που χρησιμοποιείται είναι το *rad* (radiation absorbed dose) που είναι ίσο με 0.01 J/kg. Από μόνη της, η απορροφηθείσα δόση, δεν επαρκεί ως μέτρο των βιολογικών επιπτώσεων της ακτινοβολίας, καθώς ίσα ποσά ενέργειας από διαφορετικά είδη ακτινοβολίας προκαλούν βιολογικά αποτελέσματα διαφορετικής έκτασης.

Η διαφοροποίηση της δράσης περιγράφεται από έναν αριθμητικό παράγοντα που ονομάζεται **σχετική βιολογική δραστηριότητα ή αποτελεσματικότητα** (RBE, Relative Biological Effectiveness). Συγκεκριμένα ορίζεται ως ο λόγος της δόσης μιας

ακτινοβολίας αναφοράς (συνήθως δέσμη ακτινών-X 250 keV) προς τη δόση της ακτινοβολίας υπό δοκιμή, που έχει σαν αποτέλεσμα την ίδια επίδραση σε ένα δεδομένο βιολογικό σύστημα, υπό τις ίδιες συνθήκες.

$$RBE = \frac{D(\text{standard radiation})}{D(\text{radiation} | \text{beexamined})} RBE = \frac{D(\text{standard radiation})}{D(\text{radiation} | \text{beexamined})}$$

Το RBE εξαρτάται από το είδος του ιστού που απορροφά την ακτινοβολία, από την ενέργεια της ακτινοβολίας και από την δόση της ακτινοβολίας. Προφανώς όσο μεγαλύτερη τιμή έχει το RBE τόσο πιο καταστροφική είναι η ακτινοβολία για το βιολογικό σύστημα.

Η βιολογική επίδραση, εν τέλει, περιγράφεται από το γινόμενο της απορροφηθείσας δόσης και του RBE της ακτινοβολίας και ονομάζεται βιολογικά **ισοδύναμη δόση**. Η μονάδα της για τον άνθρωπο είναι το **Sievert (Sv)** στο SI :

$$\text{Ισοδύναμη δόση (Sv)} = RBE \times \text{απορροφηθείσα δόση (Gy)}.$$

Επίσης μια ισοδύναμη και πιο συνηθισμένη μονάδα που αντιστοιχεί στο rad είναι το **rem** (Röntgen Equivalent for Man):

$$\text{Ισοδύναμη δόση (rem)} = RBE \times \text{απορροφηθείσα δόση (rad)}$$

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί και η **ενεργειακή δόση** ακτινοβολίας που ορίζεται ως η ενέργεια της ιοντίζουσας ακτινοβολίας  $W^D$  που απορροφάται από όγκο ύλης  $V$  και πυκνότητας  $\rho$ . Η μονάδα μέτρησης της είναι το Gray (Gy) :

$$D = \frac{dW^D}{\rho dV} D = \frac{dW^D}{\rho dV}$$

### 1.2.2 Στάδια αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης

Τα σημαντικότερα στάδια αλληλεπίδρασης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας με βιολογική ύλη είναι το φυσικό, το χημικό και το βιολογικό στάδιο.

- Φυσικό στάδιο

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία κατά την διέλευση της από την ύλη αποδίδει ενέργεια μέσω ιοντισμών και διεγέρσεων, με φυσικούς μηχανισμούς αλληλεπιδράσεων. Αυτό το στάδιο έχει διάρκεια μικρότερη από  $10^{-18}$  s και η κατανομή αυτής της μεταφοράς

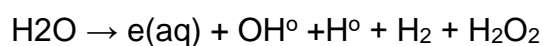


ενέργειας στον χώρο εξαρτάται από το είδος και την ενέργεια της ιοντίζουσας ακτινοβολίας. Εάν η τιμή της LET είναι χαμηλή (π.χ. ακτίνες-γ) τότε η ακτινοβολία προκαλεί μικρό αριθμό ιοντισμών και διεγέρσεων ανά μm διαδρομής. Εάν, όμως, η τιμή της LET είναι υψηλή (σωματίδια α, πρωτόνια) τότε παρατηρούνται πυκνοί ιοντισμοί ανά μm διαδρομής. Η ενέργεια που μεταφέρεται σε ένα μικρού όγκου βιολογικό υλικό δεν είναι η ίδια για όλους τους στόχους και τα μόρια που το αποτελούν. Η μέση τιμή της ενέργειας που μεταφέρεται στο βιολογικό υλικό είναι η απορροφηθείσα δόση.

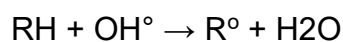
- Χημικό στάδιο

Σε αυτό το στάδιο τα άτομα του βιολογικού υλικού, που έχουν ακτινοβοληθεί κατά το φυσικό στάδιο, αντιδρούν με άλλα συστατικά των κυττάρων με ταχείες χημικές αντιδράσεις. Αυτό συμβαίνει επειδή οι ιοντισμοί και οι διεγέρσεις (που συμβαίνουν στο φυσικό στάδιο) προκαλούν ρήξη χημικών δεσμών και δημιουργία ελευθέρων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια ηλεκτρικά ουδέτερα, με ίσους αριθμούς πρωτονίων και ηλεκτρονίων, αλλά ένα ηλεκτρόνιο της εξωτερικής στιβάδας δεν σχηματίζει ζεύγος (ασύζευκτο ηλεκτρόνιο), με αποτέλεσμα οι ελεύθερες ρίζες να είναι εξαιρετικά χημικώς δραστικές. Επειδή στα βιολογικά συστήματα κυριαρχεί ποσοτικά το νερό, ο μεγαλύτερος αριθμός των ιοντισμών συμβαίνει στα μόρια του.

Συνοπτικά, η ραδιόλυση του ύδατος περιγράφεται από την εξίσωση:



Οι ελεύθερες ρίζες  $\text{OH}^\circ$ , είναι ασταθείς και εξαιρετικά δραστικές, γι' αυτό και η εμβέλεια τους είναι μικρότερη από 100 Angstrom. Εάν ένα οργανικό μόριο, RH (π.χ. DNA), βρεθεί μέσα στην τροχιά των ελευθέρων ριζών, θα συμβούν αντιδράσεις της μορφής:



Παράγονται οργανικές ρίζες  $\text{R}^\circ$ , που είναι ασταθείς και με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, οι οποίες μετασχηματίζονται γρήγορα προκαλώντας μεταβολή (βλάβη) στη δομή του οργανικού μορίου. Η χρονική διάρκεια του χημικού σταδίου είναι περίπου  $10^{-10}$  s και μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα τα ανωτέρω τρία βασικά προϊόντα της ραδιόλυσης του ύδατος δημιουργούν περαιτέρω αντιδράσεις. Οι βλάβες των κυττάρων

που οφείλονται στην δράση των ελεύθερων ριζών αναφέρονται ως *έμμεση* δράση της ακτινοβολίας, ενώ οι βλάβες από απευθείας ιοντισμό αναφέρονται ως *άμεση* δράση.

- Βιολογικό στάδιο

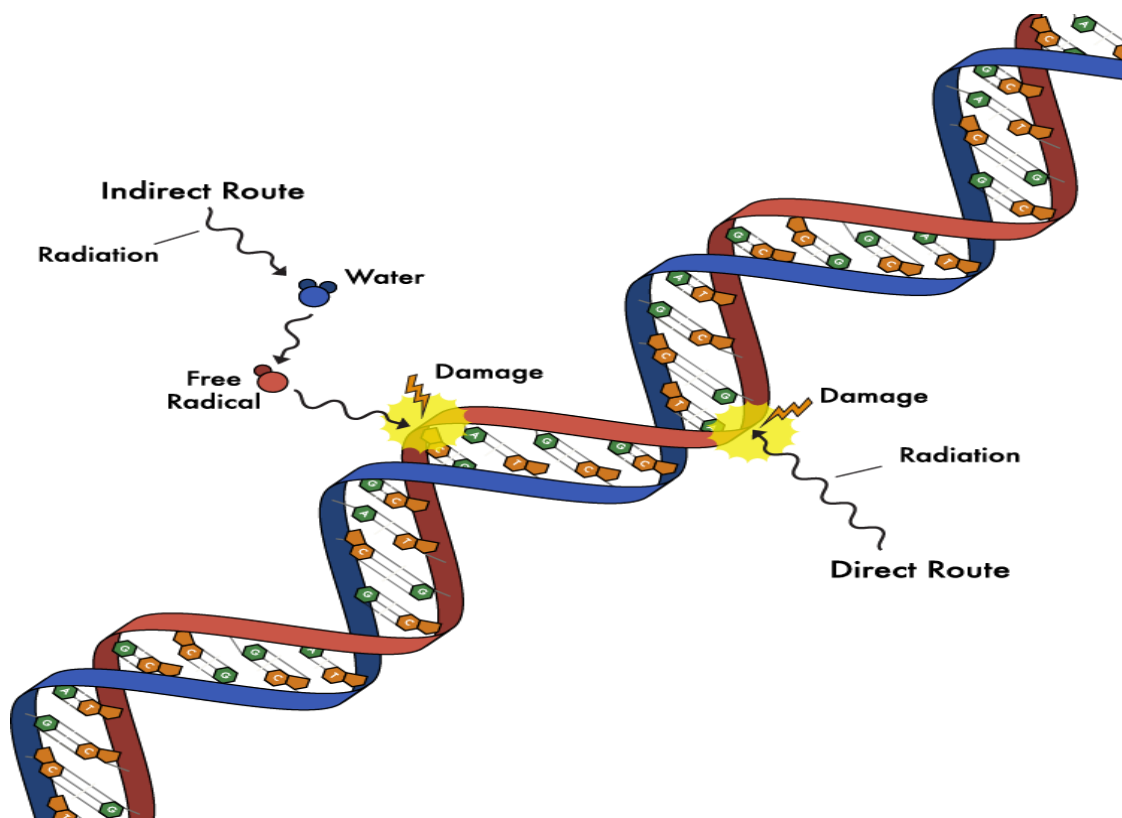
Το στάδιο αυτό αποτελείται από το βιοχημικό, το κυτταρικό και το συστημικό επίπεδο. Αρχίζει με το βιοχημικό όπου γίνεται η εμφάνιση ενζυμικών μηχανισμών που δρουν επιδιορθωτικά στους μοριακούς σχηματισμούς που υπέστησαν βλάβη στο χημικό στάδιο. Η διαδικασία της επιδιόρθωσης διαρκεί περίπου 4-12 ώρες αλλά και σε διάφορες περιπτώσεις μπορεί να φτάσει και τις 24-48 ώρες. Στο κυτταρικό επίπεδο παρατηρείται αναστολή της κυτταρικής διαίρεσης και δημιουργία βλαβών στους ιστούς. Έπειτα, όσες βλάβες δεν επιδιορθωθούν οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο ή γήρανση (senescence) ή μεταλλάξεις και γενωμική αστάθεια. Το επίπεδο αυτό διαρκεί ώρες-μήνες. Αυτές οι βλάβες σε συστημικό επίπεδο (που διαρκεί χρόνια) είναι υπεύθυνες για την πρόκληση λειτουργικών βλαβών, καρκινογένεση ως και θάνατο του οργανισμού.

### 1.2.3 Μηχανισμοί δράσης ιοντίζουσας ακτινοβολίας

Η δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας σε βιολογικούς στόχους συνίσταται από δύο κύριους μηχανισμούς, την άμεση και την έμμεση δράση. Οι δύο αυτοί μηχανισμοί αποτελούν τμήμα του φυσικού σταδίου. Έχει εκτιμηθεί ότι περίπου τα δύο τρίτα των βιολογικών βλαβών που προκαλούνται από ακτινοβολία χαμηλής LET οφείλονται σε έμμεση δράση ενώ από ακτινοβολία υψηλής LET προκαλούνται βλάβες λόγω άμεσης δράσης.

Ο μηχανισμός της **άμεσης** δράσης της ακτινοβολίας στηρίζεται στην θεωρία ότι η ιοντίζουσα ακτινοβολία δρα με άμεσα χτυπήματα στα άτομα του βιολογικού στόχου και αυτός υφίσταται χημική μεταβολή. Η άμεση δράση εκδηλώνεται συνήθως με διάσπαση ή χημική αλλοίωση του μορίου, μέσω θραύσης των χημικών δεσμών και αλληλεπίδρασης με τους πυρήνες όπως π.χ. στην περίπτωση βαρέων φορτισμένων σωματίων. Όλα τα άτομα και μόρια των κυττάρων (πχ. ένζυμα, πρωτεΐνες και RNA) είναι ευάλωτα σε τραυματισμούς λόγω ακτινοβολίας. Το DNA όμως είναι ο κύριος στόχος και σ' αυτό η ιοντίζουσα ακτινοβολία προκαλεί διάφορα είδη βλαβών, τα οποία θα αναλύσουμε παρακάτω.

Ο μηχανισμός της έμμεσης δράση μιας ακτινοβολίας στηρίζεται στη θεωρία ότι το μόριο που υφίσταται τη χημική μεταβολή δεν δέχεται άμεσα την ακτινοβολία, αλλά μέσω δευτερογενών αντιδράσεων και συγκεκριμένα μέσω της ραδιόλυσης του ύδατος και παραγωγής ελευθέρων ριζών στα κύτταρα και υδάτινο περιβάλλον. Πιο αναλυτικά οι δραστικές ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται κατά την ραδιόλυση του νερού αντιδρούν με τα άτομα και τα μόρια του κυττάρου, ιδιαίτερα με το DNA, και προκαλούν χημικές τροποποιήσεις και μετέπειτα βλάβες.



Εικόνα 2: Άμεση και έμμεση δράση ιοντίζουσας ακτινοβολίας (Georgakilas, O'Neill, & Stewart, 2013).

#### 1.2.4 Εφαρμογές Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας

Η χρήση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην ιατρική είναι διαδεδομένη σε όλο τον κόσμο. Οι διαδικασίες διάγνωσης, ιδιαίτερα με την χρήση ακτίνων – X, αποτελούν την πιο κοινή εφαρμογή της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην ιατρική. Η έκθεση σε ακτινοβολία των ασθενών για διαγνωστικούς σκοπούς χαρακτηρίζεται από τόσο χαμηλές δόσεις όσο να υπάρχει επάρκεια για να εξαχθεί η εκάστοτε απαραίτητη

ιατρική – κλινική πληροφορία [WHO Expert Committee on the Use of Ionizing Radiation και Radionuclides on Human Beings for Medical Research Training, 1977]. Όταν πρόκειται όμως να χρησιμοποιηθούν για θεραπεία (π.χ. θεραπεία του καρκίνου ή ανακούφιση των συμπτωμάτων του) οι δόσεις είναι αρκετά πιο υψηλές αλλά με λιγότερη συχνότητα. Η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται κυρίως για θεραπεία του καρκίνου όπου στόχος είναι να λάβει ο κακοήθης ιστός (όγκος) μεγάλη δόση ακτινοβολίας, μέσα στα όρια μιας καλά καθορισμένης περιοχής, αποφεύγοντας την ακτινοβόληση υγιών ιστών (Schottenfeld & Fraumeni, 2008).

Μέθοδος Διάγνωσης	Τυπική Μέση Δόση Ακτινοβολίας	Χρόνος έκθεσης
<b>Ακτινογραφία</b>	0.1mGy	Κλάσματα δευτερολέπτου
<b>Μαστογραφία</b>	0.56 mSv (αναλογικό φιλμ) 0.44mSv (ψηφιακό)	Κλάσματα δευτερολέπτου
<b>Αξονική Τομογραφία</b>	50mGy	1-2 λεπτά

*Εικόνα 3: Στην Ελλάδα η μέση ετήσια ενεργός δόση που δέχεται ένας κάτοικος είναι συνολικά 4,5 mSv ανά άτομο, όπου 2,7 mSv προέρχονται από φυσικές πηγές ακτινοβολίας και 1,8 mSv από τις διαγνωστικές ιατρικές πρακτικές. [<https://eeae.gr/images/anakoinoiseis/prism>]*

Οι εφαρμογές της ιονίζουσας ακτινοβολίας περιλαμβάνουν την *ακτινοδιαγνωστική* και την *ραδιοθεραπεία*.

### **Ακτινοδιαγνωστική**

Στη διαγνωστική ακτινολογία χρησιμοποιούνται απλά, αλλά και πολύ σύνθετα απεικονιστικά συστήματα, παρέχοντας εικόνες δύο και τριών διαστάσεων και εικόνες σε πραγματικό χρόνο, αποτυπώνοντας την κινητική των οργάνων. Γενικά, ένα διαγνωστικό ακτινολογικό σύστημα αποτελείται από την ακτινολογική λυχνία παραγωγής της ακτινοβολίας (ακτίνες-Χ) και το μηχανισμό απεικόνισης (π.χ. φιλμ, διατάξεις ανιχνευτών, ενισχυτής εικόνας). Ο εξεταζόμενος τοποθετείται κατάλληλα ανάμεσα στη λυχνία ακτίνων-Χ και στο σύστημα απεικόνισης (Simon, 1967). Η δέσμη ακτίνων-Χ επικεντρώνεται στην περιοχή του σώματος που πρέπει να απεικονιστεί. Κατά τη διέλευση της ακτινοβολίας από το σώμα η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τα διαφορετικά είδη ιστών που το αποτελούν.

Οι ιστοί, ανάλογα με τη πυκνότητά τους, εξασθενούν σε διαφορετικό βαθμό στη διερχόμενη ακτινοβολία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η εξασθένηση της δέσμης η οποία προκαλείται από τους ιστούς μικρής πυκνότητας (μαλακοί ιστοί) να είναι μικρότερη

από την αντίστοιχη των ιστών μεγάλης πυκνότητας (οστά). Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της εξερχόμενης από το σώμα ακτινοβολίας τόσο πιο έντονη είναι και η αμαύρωση του ακτινογραφικού φιλμ. Για αυτό το λόγο, τα οστά απεικονίζονται με λευκό χρώμα στο ακτινογραφικό φιλμ, ενώ οι μαλακοί ιστοί με διαφορετικές αποχρώσεις του γκρι.

### **Ακτινογραφία**

Η ακτινογραφία είναι η πιο συνηθισμένη και η πιο απλή διαγνωστική εξέταση. Οι συνηθέστερες ακτινογραφικές εξετάσεις περιλαμβάνουν αυτές του θώρακα, των άκρων, της αυχενικής, θωρακικής και οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, της λεκάνης - ισχίων, του κρανίου, των ιγμορείων, κ.ά. Η ακτινοβολήση διαρκεί μερικά κλάσματα του δευτερολέπτου. Η απορρόφηση από μία ακτινογραφία είναι της τάξης των 1.4 mGy (De la Matta Martín, Herrera González, López Conejos, & López Romero, 2011).

### **Μαστογραφία**

Μια ιδιαίτερη περίπτωση ακτινογράφησης είναι η μαστογραφία που χρησιμοποιείται για την απεικόνιση της μορφολογίας, της δομής και των παθολογικών αλλοιώσεων του μαστού. Η μαστογραφία παίζει πρωταρχικό ρόλο στην έγκαιρη ανίχνευση καρκίνου του μαστού, καθώς μπορεί να αναδείξει αλλαγές στη μορφολογία του μαστού σε προκλινικό στάδιο, όταν το μέγεθος του όγκου είναι πολύ μικρό και δεν είναι δυνατή η ψηλάφησή του. Κατά την ακτινοβολήση, που διαρκεί κλάσματα του δευτερολέπτου, ο μαστός εκτίθεται σε μικρή δόση ακτινοβολίας χαμηλής ενέργειας, προκειμένου να παραχθεί μια εικόνα της εσωτερικής του δομής. Η μέση ενεργός δόση από 2 λήψεις μαστογραφίας είναι 0.56 mSv από αναλογική με φιλμ ή 0.44 mSv από ψηφιακή μαστογραφία και ισοδυναμεί περίπου με 2 μήνες ακτινοβολία περιβάλλοντος (Johnson, 2017).

### **Αξονική Τομογραφία**

Η ακτινοσκόπηση είναι η τεχνική λήψης εικόνων της μορφολογίας και φυσιολογίας του ανθρώπινου σώματος σε πραγματικό χρόνο. Συνήθεις ακτινοσκοπικές εξετάσεις είναι αυτές του πεπτικού συστήματος (π.χ. με βαριούχο γεύμα, βαριούχος υποκλυσμός). Κατά την εξέταση, ο εξεταζόμενος προσλαμβάνει ένα σκιαγραφικό (π.χ. βαριούχο), δηλαδή υλικό το οποίο απεικονίζεται έντονα από το ακτινολογικό σύστημα. Η πορεία

του υλικού μέσα στο σώμα παρακολουθείται με χρήση ακτίνων-Χ, οι οποίες μετατρέπονται σε εικόνα. Ο εξεταζόμενος δέχεται ακτινοβολία ακτίνων-Χ για αρκετό χρόνο (1-2 λεπτά), ενώ παράλληλα λαμβάνονται ακτινογραφίες. Για τους λόγους αυτούς, η δόση ακτινοβολίας από αυτή την εξέταση είναι υψηλότερη σε σύγκριση με τις απλές ακτινογραφίες. Η αξονική τομογραφία αποτελεί την πιο σύγχρονη μορφή εξέτασης με ακτίνες-Χ. Οι συνηθέστερες εξετάσεις είναι αυτές του κρανίου, της αυχενικής, θωρακικής, οσφυϊκής μοίρας, της σπονδυλικής στήλης, του θώρακα, της κοιλιάς κ.α. Τα βασικά πλεονεκτήματα της αξονικής τομογραφίας, σε σχέση με άλλες διαγνωστικές τεχνικές, είναι η δυνατότητα λήψης πολλών δισδιάστατων ή και τρισδιάστατων εικόνων του ανθρωπίνου σώματος, μεγάλης ευκρίνειας, σε μικρό χρονικό διάστημα, οι οποίες παρέχουν σημαντικές μορφολογικές και λειτουργικές πληροφορίες (Seeram, 1997). Ο εξεταζόμενος τοποθετείται στην τράπεζα (κρεβάτι) του αξονικού τομογράφου η οποία μετατοπίζεται με σταθερό βήμα μέσα στο «άνοιγμα» - δακτύλιο του συστήματος. Η λυχνία ακτίνων-Χ του συστήματος και το σύστημα απεικόνισης (ανιχνευτές) που βρίσκεται αντιδιαμετρικά της λυχνίας περιστρέφονται γύρω από τον εξεταζόμενο. Σε κάθε περιστροφή παράγεται μια λεπτή δέσμη ακτίνων-Χ (πλάτους 1 mm - 10 mm) σε μορφή «βεντάλιας», η οποία ακτινοβολεί εγκάρσια τον εξεταζόμενο στη συγκεκριμένη τομή. Ανάλογα με την εξέταση, λαμβάνεται ένας αριθμός τομών (π.χ. 20-30), ώστε να «σαρώνεται» όλη η περιοχή ενδιαφέροντος. Η ακτινοβολήση σε κάθε τομή διαρκεί λιγότερο από δευτερόλεπτο, ενώ ο συνολικός χρόνος της εξέτασης (δηλαδή λήψη όλων των τομών) διαρκεί λίγα λεπτά ανάλογα με το σύστημα και την εξέταση. Η δημιουργία των εικόνων αξονικής τομογραφίας επιτυγχάνεται με την κατάλληλη επεξεργασία του σήματος των ανιχνευτών. Η δόση ακτινοβολίας από μία εξέταση αξονικής τομογραφίας είναι αρκετά μεγαλύτερη από τις υπόλοιπες συμβατικές ακτινολογικές εξετάσεις. Για το λόγο αυτό, η εξέταση πρέπει να γίνεται αφού προηγουμένως έχει τεκμηριωθεί και αιτιολογηθεί η αναγκαιότητά της και έχουν εξαντληθεί οι επιλογές άλλων συμβατικών τεχνικών μικρότερης ή μηδενικής δόσης (π.χ. ακτινογράφιση και υπέρηχοι (Pitman, 1997).

### **Ακτινοθεραπεία**

Στην ακτινοθεραπεία, η ακτινοβολία χρησιμοποιείται για να καταστρέψει τα νεοπλασματικά κύτταρα (καρκινικούς όγκους). Η θεραπεία σχεδιάζεται προσεκτικά για να εξασφαλιστεί ότι σωστή δόση ακτινοβολίας προσδίδεται στη σωστή περιοχή του όγκου, ενώ ταυτόχρονα η δόση στους φυσιολογικούς ιστούς ελαχιστοποιείται, ώστε η

βλάβη στα υγιή όργανα να είναι ελάχιστη. Στην ακτινοθεραπεία, η δόση ακτινοβολίας στον όγκο είναι αρκετές χιλιάδες ή και εκατομμύρια φορές μεγαλύτερη από τη δόση σε σύγκριση με διαγνωστικές εξετάσεις με ακτίνες Χ ή πυρηνικής ιατρικής. Η ακτινοθεραπεία γίνεται με διάφορους τρόπους, τεχνικές και τύπους ακτινοβολίας (Hendee, Ibbott, & Hendee, 2005).

### **Ραδιοθεραπεία**

Οι μέθοδοι τις ραδιοθεραπείας χρησιμοποιούν ιοντίζουσα ακτινοβολία, η οποία παρέχεται είτε από εξωτερικές πηγές, όπως οι γραμμικοί επιταχυντές ακτίνων-Χ και ακτίνων-γ, είτε από εσωτερικές, όπως τα ραδιοϊσότοπα. Έτσι, επιτυγχάνεται η στοχευμένη και η μη διεισδυτική σε άλλους ιστούς εξόντωση των καρκινικών κυττάρων, χωρίς παράλληλα να προκαλείται ανεπιθύμητη συστηματική τοξικότητα, όπως συμβαίνει σε μεθόδους χημειοθεραπείας (Kaliberon & Buchsbaum, 2012).

#### **1.2.5 Επιδράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην έμβια ύλη.**

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι επιβλαβής και δυνητικά θανατηφόρα για την έμβια ύλη ενώ μπορεί να ωφελήσει σε ορισμένες περιπτώσεις για την θεραπεία του καρκίνου. Οι ανεπιθύμητες επιπτώσεις της ακτινοβολίας στον ανθρώπινο ιστό μπορούν να χωριστούν στις παρακάτω κατηγορίες:

- **Ντετερμινιστικά** ή Αιτιοκρατικά αποτελέσματα (επιβλαβείς επιδράσεις στους ιστούς) που εμφανίζονται όταν έχει ξεπεραστεί το εκάστοτε κατώφλι της έκθεσης σε ακτινοβολία. Η σοβαρότητα αυτών των αποτελεσμάτων αυξάνεται όσο αυξάνεται και η δόση της ακτινοβολίας. Αυτό που προκαλεί ντετερμινιστικά αποτελέσματα είναι η αξιολημείωτη κυτταρική καταστροφή ή ο κυτταρικός θάνατος. Οι φυσικές επιπτώσεις θα παρατηρηθούν όταν το φορτίο του κυτταρικού θανάτου είναι τόσο μεγάλο που θα προκαλέσει φανερές δυσλειτουργίες στις φυσιολογικές λειτουργίες των ιστών ή των οργάνων.
- **Στοχαστικά** αποτελέσματα (π.χ. καρκίνος σε άτομα που έχουν εκτεθεί λόγω μεταλλάξεων στα σωματικά τους κύτταρα ή λόγω κληρονομήσιμων ασθενειών στους απογόνους που έχουν προκύψει από μεταλλάξεις στα γαμετικά κύτταρα). Υπάρχει η σκέψη ότι αν και δεν υπάρχει κάποιο κατώφλι που όταν ξεπεραστεί θα εμφανιστούν τα στοχαστικά αποτελέσματα, το ρίσκο αυξάνεται γραμμικά όσο αυξάνεται και η δόση της ακτινοβολίας. Οφείλονται στην

επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας των συμμετρικών μετατοπίσεων που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης.

## 1.4 Μικροσυστοιχίες (Microarrays)

### 1.4.1 Γενικά

Ως μικροσυστοιχίες (microarray) ορίζεται το σύνολο μικροσκοπικών σημείων στα οποία ακινητοποιούνται βιολογικά μόρια-ανιχνευτές, όπως μόρια DNA ή πρωτεΐνες, πάνω σε στερεό υπόστρωμα με προκαθορισμένη χωρική διεύθυνση. Ως επί το πλείστον είναι γυάλινες κατασκευές στην μορφή πλακιδίων μικροσκοπίου που διαθέτουν αύλακες μέσα στις οποίες πραγματοποιείται η ακινητοποίηση των μορίων-ανιχνευτών και η αιχμαλώτιση των μορίων-στόχων. Διάφορες μέθοδοι μικροσυστοιχιών είναι διαθέσιμοι και διαφέρουν στον τύπο του μορίου-ανιχνευτή, του υποστρώματος και στις μεθόδους αναγνώρισης των μορίων-στόχων (Miller & Tang, 2009).

Σε μικροσυστοιχίες DNA, για παράδειγμα, ως μόριο-ανιχνευτής σε κάθε σημείο μπορεί να λειτουργεί είτε μία γνωστή προκαθορισμένη *μονόκλωνη* αλληλουχία μήκους 25 με 70 νουκλεοτιδίων, είτε μεγαλύτερη, 200 με 800 βάσεις *δίκλωνου* DNA. Η διαδικασία ενός πειράματος μικροσυστοιχίας DNA περιλαμβάνει την υβριδοποίηση του δείγματος DNA στόχου, για το οποίο αναζητείται η παρουσία ή η πληθώρα, με ένα μεγάλο εύρος μορίων-ανιχνευτών που βρίσκονται ακινητοποιημένα στο υπόστρωμα. Αρχικά, το δείγμα-στόχος σημαίνεται με φθορίζοντα μόρια-ετικέτες (fluorescent tags) και, στην συνέχεια, οι μικροσυστοιχίες εκτίθενται στο μίγμα του δείγματος κάτω από συνθήκες που ευνοούν την υβριδοποίηση με τα μόρια-ανιχνευτές, ενώ κομμάτια του δείγματος που δεν κατάφεραν να υβριδοποιηθούν ξεπλένονται. Τα σημεία των μικροσυστοιχιών όπου έχει επιτευχθεί η υβριδοποίηση ανιχνεύονται οπτικά και, έτσι, υποδεικνύονται τα συστατικά που ήταν παρόντα στο αρχικό δείγμα. Εντούτοις, κάθε πείραμα μικροσυστοιχιών αποτελεί ουσιαστικά ένα μεγάλο σύνολο παράλληλων πειραμάτων υβριδοποίησης.

Οι μικροσυστοιχίες, ως μέθοδος υψηλής απόδοσης, αποτέλεσαν και αποτελούν ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την κατανόηση βιολογικών διεργασιών. Με δεδομένη την δυνατότητα τους να περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων σε πολύ μικρό μέγεθος και



το χαμηλό, σχετικά με άλλες σύγχρονες μεθόδους ταυτοποίησης όπως η αλληλούχηση RNA (RNA sequencing), κόστος τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συγκριτικές αναλύσεις γονιδιακής έκφρασης μεταξύ δύο διαφορετικών κυτταρικών τύπων ή ιστών (Lou, Schena, Horrigan, Lawn, & Davis, 2001). Μία συγκεκριμένη εφαρμογή αποτελεί η σύγκριση γονιδιακών προτύπων έκφρασης μεταξύ καρκινικών και υγιών κυττάρων, κάτι που βοηθά στην διαλεύκανση των παθολογικών μηχανισμών του καρκίνου ενώ, ταυτόχρονα, παρέχει την δυνατότητα πρόβλεψης της απόκρισης των ασθενών σε μία θεραπεία.

### 1.3 Βλάβες DNA

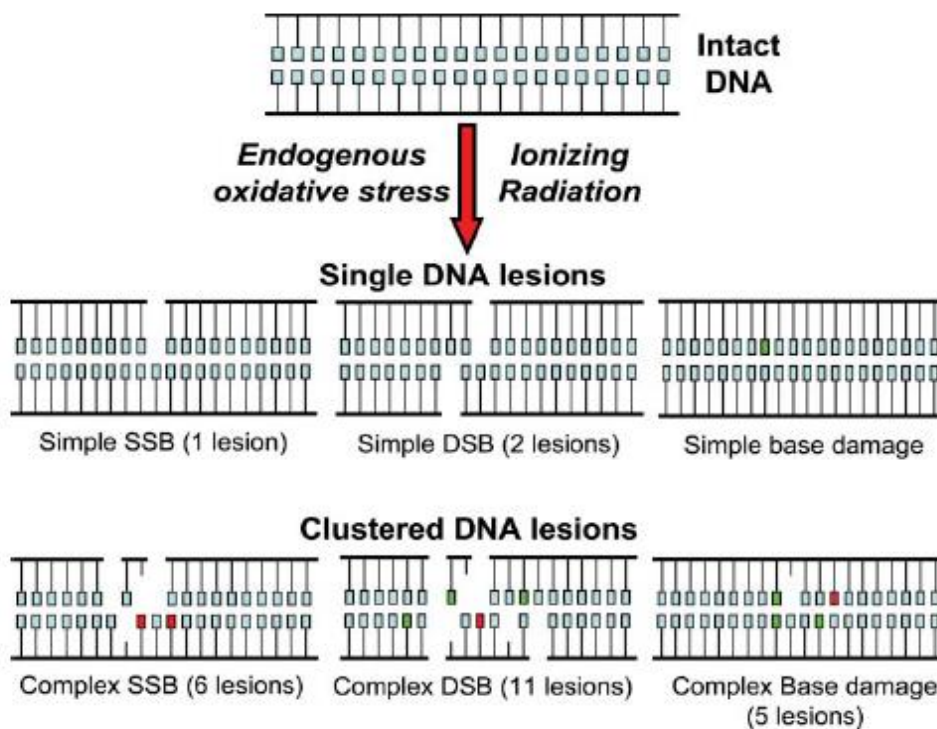
Οι βλάβες DNA χωρίζονται σε ενδογενείς, που προκαλούνται κατά την διάρκεια διαδικασιών όπως η αντιγραφή του DNA και ο μεταβολισμός, και σε εξωγενείς, που προκαλούνται από εξωτερικούς παράγοντες όπως ιοντίζουσα ακτινοβολία, τοξίνες, θερμική διάσπαση ουσιών, κάπνισμα, χημικά μεταλλαξογόνα (Nikitaki, Hellweg, Georgakilas, & Ravanat, 2015).

Τα είδη των βλαβών που προκαλούνται από ακτινοβόληση με ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι τα παρακάτω :

1. σπάσιμο ενός κλώνου της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας (Single Strand Break – SSB)
2. διπλό σπάσιμο της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας. Συμβαίνει όταν υπάρχει ρήξη και στις δύο αλυσίδες στην ίδια θέση ή σε γειτονικές θέσεις (Double Strand Break – DSB)
3. αλλοίωση μιας βάσης (οξειδωση, απαμίνωση, αλκυλίωση ή μεθυλίωση)
4. απώλεια μιας βάσης και δημιουργία αβασικού σημείου (apurinic/apyrimidinic sites - AP sites)
5. σπάσιμο δεσμών δρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων
6. εγκάρσιες διασυνδέσεις μεταξύ των κλώνων του DNA ή μεταξύ DNA και μοριακών πρωτεϊνών (διαδεσμοί – crosslinks)

Υψηλές δόσεις ιοντίζουσας ακτινοβολίας προκαλούν κυρίως θραύσεις των κλώνων του DNA (SSB ή/και DSB), ενώ χαμηλές δόσεις προκαλούν αλλοίωση ή/ και απώλεια βάσης. Ανά 1 Gy απορροφούμενης δόσης ακτινοβολίας χαμηλής LET προκαλούνται κατά μέσο όρο περίπου 105 ιοντισμοί ανά κύτταρο (διαμέτρου 10  $\mu\text{m}$ ) που οδηγούν, μέσω της άμεσης ή έμμεσης δράσης, σε περίπου 500-1000 SSB, 20-30 DSB και 1000-

2000 βλάβες βάσεων στο DNA (διαμέτρου 2,3 nm), κατά μέσο όρο (Georgakilas, O'Neill, & Stewart, 2013).



Εικόνα 4: Οι κατηγορίες βλαβών DNA

Στην περίπτωση που 2 ή περισσότερες βλάβες βρίσκονται σε κοντινή απόσταση, δηλαδή μέσα σε 1 ή 2 περιστροφές της έλικας του DNA τότε θεωρούμε πως έχουμε *ομαδοποιημένες βλάβες* (clustered DNA lesions). Οι βλάβες αυτές μπορεί να είναι ίδιου ή διαφορετικού τύπου. Αν είναι διαφορετικού τύπου ονομάζονται *σύνθετες* ομαδοποιημένες βλάβες (complex clusters). Οι ομαδοποιημένες βλάβες διακρίνονται σε 2 κατηγορίες: τις DSBs και τις μη DSBs οξειδωτικές ομαδοποιημένες βλάβες DNA (OCDLs – Oxidative Clustered DNA Lesions) (Cadet, Ravanat, TavernaPorro, Menoni, & Angelon, 2012). Οι OCDLs περιλαμβάνουν SSBs, οξειδωμένες πουρίνες και πυριμιδίνες και οξειδωμένα αβασικά σημεία, που κατανέμονται με διάφορους τρόπους στο μόριο του DNA σε απόσταση 1-10 ζεύγη βάσεων. Ιδιαίτερα σημαντικά και εξαιρετικά επικίνδυνα είναι τα συμπλέγματα όπου οι βλάβες τους βρίσκονται σε απέναντι κλώνους του DNA (bistranded clusters) καθώς σε περίπτωση μη επιδιόρθωσης μπορεί να οδηγήσουν σε DSBs, χρωμοσωμικές βλάβες, αυξημένη πιθανότητα μεταλλάξεων και γενωμική αστάθεια.

Η ύπαρξη βλαβών DNA προκαλεί την ενεργοποίηση ενός μηχανισμού σηματοδότησης απόκρισης στις βλάβες DNA (DNA Damage Response – DDR) που οδηγεί σε τρεις ενδεχόμενες κυτταρικές διαδικασίες: τη μόνιμη ή προσωρινή αναστολή του κυτταρικού κύκλου, τον κυτταρικό θάνατο μέσω της αποπτωτικής οδού ή την ενεργοποίηση των εξειδικευμένων επιδιορθωτικών μηχανισμών. Τέτοιοι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί είναι:

- το σύστημα επιδιόρθωσης αταίριαστου ζεύγους βάσεων (mismatch repair),
- η επιδιόρθωση εκτομής βάσεων (base excision repair – BER),
- η επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίου (nucleotide excision repair – NER)
- ομόλογος ανασυνδυασμός (homologous recombination – HR), και
- η μη-ομόλογη σύνδεση άκρων (non-homologous end joining - NHEJ).

Οι HR και NHEJ αποτελούν τους βασικούς μηχανισμούς για την επιδιόρθωση των δίκλωνων θραύσεων του DNA.

### 1.3.1 Ο ρόλος του LET – Ομαδοποιημένες Βλάβες

Η πολυπλοκότητα και η σοβαρότητα μίας σύνθετης βλάβης αυξάνεται με την αύξηση της LET και, κατά συνέπεια, η μεταλλαξογόνος και η καρκινογόνος δράση. Σε χαμηλή τιμή LET και χαμηλή δόση ακτινοβολίας εμφανίζονται προσαρμοστικές αποκρίσεις στα κύτταρα και στους ιστούς. Αντιθέτως, στην περίπτωση υψηλής τιμής LET ακτινοβολίας, εμφανίζονται επιδράσεις στρες που επιμένουν. Το οξειδωτικό και θερμικό στρες που προκαλείται δεν περιορίζεται στον ιστό-στόχο, αλλά διαδίδεται και σε γειτονικά κύτταρα/ιστούς. Οι σύνθετες βλάβες DNA αποτελούν την υπογραφή της υψηλής LET ακτινοβολίας. Παρόλο που πολλαπλά μονοπάτια για την επαγωγή και διαιώνιση της γονιδιωματικής αστάθειας είναι πιθανά, θεωρείται ότι οι DSBs και άλλες μορφές ομαδοποιημένων βλαβών εμπλέκονται στη γονιδιωματική αστάθεια και την γέννηση χρωμοσωμικών ανωμαλιών.

Οι χημικές διαδικασίες και οι κυτταρικοί μηχανισμοί επιδιόρθωσης σύνθετων βλαβών στο DNA δεν έχουν χαρακτηριστεί πλήρως, σε αντίθεση με την περίπτωση των μεμονωμένων βλαβών, όπως μια οξειδωση βάσης ή το σπάσιμο μιας αλυσίδας.

Οι ομαδοποιημένες βλάβες DNA σε αντίθετους κλώνους, λοιπόν, παρουσιάζουν μία αξιοσημείωτη πολυπλοκότητα που τις καθιστά δύσκολο να επιδιορθωθούν και ικανές

να προκαλέσουν μεταλλαξογόνες ή ακόμη και θανατηφόρες επιπτώσεις σε ένα κύτταρο σε σχέση με τυχόν απομονωμένες (Georgakilas, Bennett, Wilson, & Sutherland, 2004). Πιο συγκεκριμένα, κατά την επιδιόρθωση σημείων όπου δημιουργούνται συστάδες βλαβών (heavily clustered sites) το κύτταρο οδηγείται σε μεγάλες διαγραφές αλληλουχιών γεγονός το οποίο συντελεί σε γέννηση περίπλοκων μεταλλάξεων. Αποτέλεσμα της έκθεσης στην περίπτωση της υψηλής LET ακτινοβολίας είναι ο σχηματισμός καινοφανών αλληλουχιών σε ακτινοβολημένες περιοχές του κυττάρου που συμμετέχουν σε σύνθετες αναδιατάξεις και καταλήγουν σε ορατές χρωμοσωμικές αλλοιώσεις που, συνήθως, συνιστούν στη δημιουργία καρκινογένεσεων εάν δεν επέλθει κυτταρικός θάνατος (Singleton, Griffin, & Thacker, 2002; Stewart et al., 2011).

### 1.3.2 Καρκινογένεση: Βλάβες DNA

Η δημιουργία καρκινικού όγκου είναι αποτέλεσμα πολλαπλών συνθηκών και παραγόντων που δρουν συνεργατικά. Πιο συγκεκριμένα, η συσσώρευση μεγάλου αριθμού βλαβών DNA σε ένα πληθυσμό κυττάρων, σε ορισμένο χρονικό διάστημα, κατά το οποίο οι εγγενείς μηχανισμοί επιδιόρθωσης βλαβών αποτυγχάνουν να πραγματοποιήσουν την προγραμματισμένη λειτουργία τους, σε συνδυασμό με πολλαπλές μοριακές και επιγενετικές μεταβολές, έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή της φυσιολογικής συμπεριφοράς των κυττάρων σε παθολογική.

Ως καρκινικά, λοιπόν, χαρακτηρίζονται τα κύτταρα εκείνα που έχουν αποκτήσει τα εξής τρία χαρακτηριστικά:

- ανεξέλεγκτη διαίρεση/πολλαπλασιασμός
- ικανότητα εισβολής σε γειτονικούς ιστούς
- ικανότητα εξάπλωσης σε άλλους ιστούς και όργανα του σώματος μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και των λεμφικών συστημάτων

Ο προσδιορισμός του καρκινικού τύπου γίνεται με βάση τον ιστό ή το όργανο που αποτελεί το σημείο εκκίνησης των καρκινικών κυττάρων. Για το λόγο αυτό, έχουν περιγραφεί αρκετοί διαφορετικοί τύποι καρκίνων, ο καθένας με τα δικά του ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ιδιότητες.

### 1.3.3 Καρκινογένεση: Υψηλές και χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας

#### **Υψηλές Δόσεις Ακτινοβολίας**

Οι βιολογικές επιδράσεις έπειτα από έκθεση σε υψηλά επίπεδα ακτινοβολίας σκιαγραφούνται αρκετά ξεκάθαρα σε σχέση με την έκθεση σε χαμηλές δόσεις καθώς το μοντέλο που τις περιγράφει είναι γραμμικό (Dauer & Worman, 2010). Τα μοριακά φαινόμενα που παρατηρούνται είναι κοινά για χαμηλές και υψηλές δόσεις, αλλά η αύξηση της δόσης συντελεί στην αύξηση της πιθανότητας προκαλούμενων ιοντισμών. Έτσι, σκιαγραφείται με σιγουριά η βιολογική απόκριση που σχετίζεται με τις διαδικασίες επιδιόρθωσης DNA, τον οξειδωτικό μεταβολισμό και τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου (cell cycle checkpoints) λόγω της διαφορικής ρύθμισης διαδικασιών σηματοδότησης. Το αποτέλεσμα της έκθεσης σε πολύ υψηλή δόση ακτινοβολίας χαρακτηρίζεται ως οξεία ακτινοπληξία, ενώ συχνή συνέπεια αποτελεί και η δημιουργία καρκίνου. Τα συμπτώματα οφείλονται κυρίως σε μη στοχαστικά αποτελέσματα και περιλαμβάνουν κοκκίνισμα του δέρματος, πόνο, έλκος, διάρροια ακόμη και αναιμία, αν ακτινοβοληθεί σημαντική ποσότητα μυελού των οστών. Στην περίπτωση που τα αναπαραγωγικά κύτταρα (γαμέτες) έρθουν σε επαφή με την ακτινοβολία είναι πιθανό να εμφανιστούν μεταλλάξεις στους απογόνους ή εναλλακτικά να προκληθεί στειρώση.

#### **Χαμηλές Δόσεις Ακτινοβολίας (Low doses)**

Στην περίπτωση που έχουμε έκθεση σε χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας η κατάσταση είναι περισσότερο σύνθετη και εξαρτάται από το κατά πόσο η ποσότητα της ακτινοβολίας είναι ικανή ή όχι να ενεργοποιήσει διαδικασίες που μπορούν να μειώσουν το κίνδυνο καρκινογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, οι χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας επάγουν μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA, διακυτταρικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις και μονοπάτια που σχετίζονται με σημεία ελέγχου του κυττάρου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μάλιστα, ένα κύτταρο μπορεί να οδηγηθεί ακόμα και σε απόπτωση ή σε κυτταρικό θάνατο, ως απόπειρα προστασίας ενάντια στην ανεξέλεγκτη εξάπλωση των βλαβών στον ιστό, στο όργανο ή και, κατ' επέκταση, στον οργανισμό. Επίσης, πολλαπλές επιδράσεις προσαρμογής (adaptive effects) μεταδίδονται σε γειτονικά μη στοχευμένα κύτταρα και τα προστατεύουν από έκθεση σε high LET ακτινοβολία (de Toledo et al., 2011). Τα κύτταρα αυτά είναι ικανότερα στο

να αποκαταστήσουν σωστά βλάβες DNA και επομένως λιγότερο πιθανό να μετασχηματιστούν στο νεοπλαστικό φαινότυπο.

Ως εκ τούτου, μέχρι πρόσφατα οι χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας θεωρούνταν σχετικά αβλαβείς. Πιο πρόσφατες μελέτες, ωστόσο, καταδεικνύουν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου μετά από έκθεση σε χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας είναι υπαρκτός (Little, Wakeford, & Kendall, 2009).

Η συσχέτιση της δόσης ακτινοβολίας με συγκεκριμένους μηχανισμούς που ενεργοποιούνται ως απόκριση είναι δύσκολη εξαιτίας της έλλειψης αξιόπιστων βιοδεικτών (Georgakilas et al., 2014). Αν και είναι γνωστό ότι υπάρχει μεγάλος αριθμός ποσοτικών προσδιορισμών μετάλλαξης, δεν είμαστε σε θέση να ανιχνεύσουμε τον τρόπο και την συχνότητα των παραγόντων που συντελούν στις βλάβες και τις κυτταρικές δυσλειτουργίες. Η δόση της ακτινοβολίας που χορηγείται σε έναν οργανισμό επιτρέπει εκτιμήσεις του αριθμού των τροχιών ιονισμού σε μεμονωμένα κύτταρα. Σε πολύ χαμηλές δόσεις πολύ λίγα κύτταρα θα υποστούν άμεσο χτύπημα, καθιστώντας τα μη ικανά να ενεργοποιήσουν την κατάλληλη απόκριση για έκθεση σε ακτινοβολία. Το γεγονός αυτό, ειδικά σε δόσεις χαμηλότερες του 1 mGy, έχει ως αποτέλεσμα να μην δεχτούν όλα τα κύτταρα κάποια εναπόθεση ενέργειας (Sykes & Day, 2007). Έτσι το κύτταρο που εκτίθεται σε πολύ χαμηλή δόση ακτινοβολίας, κάποιες φορές αποτυγχάνει στην επιτυχή ενεργοποίηση των μηχανισμών επιδιόρθωσης DNA, κυρίως μέσω της πρωτεϊνικής κινάσης σερίνης/θρεονίνης (ATM).

Η ATM ενεργοποιείται όταν συμβαίνουν DSBs, φωσφορυλιώνοντας αρκετές πρωτεΐνες, όπως η p53, η H2AX και άλλους ογκο-καταστολείς, που με την σειρά τους είναι υπεύθυνες για την ενεργοποίηση σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, πολλαπλών επιδιορθωτικών μηχανισμών αλλά και μηχανισμών απόπτωσης. Φαίνεται πως η ποσότητα της φωσφορυλιωμένης H2AX ( $\gamma$ -H2AX) σε ινοβλάστες (fibroblasts) που ακτινοβολήθηκαν με χαμηλή δόση είχε διατηρηθεί στα φυσιολογικά επίπεδα, ενώ η ποσότητα του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B που ρυθμίζει τα επίπεδα ελευθέρων ριζών είχε αυξηθεί (Dauer & Worman, 2010). Καθώς η έκθεση σε χαμηλές δόσεις προκαλεί την παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά μεγαλύτερο ποσοστό από τις θραύσεις διπλής έλικας (DSBs), ο NF- $\kappa$ B αποτελεί πιθανότερο βιοδείκτη για τα αποτελέσματα αυτής. Η φλεγμονώδης απόκριση όπως και η επαγωγή του αναστολέα

της απόπτωσης (XIAP), καθορίζονται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB. Κατά την θεραπεία με ακτινοβολία χαμηλής δόσης προκαλούνται αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα μεταβάλλοντας τον φαινότυπο των ανοσοκυττάρων. Όταν τα κύτταρα της ανοσοαπόκρισης (μακροφάγα) ενεργοποιηθούν, αποτελούν κύρια πηγή αρκετών κυτοκινών και χημοκινών, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ανοσοαπόκρισης. Φαίνεται ότι ειδικά η κυτοκίνη IL-1β έχει πολύπλευρη επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα δρώντας σε πολλαπλά ανοσοκύτταρα. Έχει παρατηρηθεί σημαντικά μειωμένα ποσότητα της βιολογικώς δραστικής μορφής (διασπασμένη μορφή) της IL-1β μετά από θεραπεία με χαμηλές δόσεις ακτίνων-Χ, οι οποίες ρυθμίζουν τον φαινότυπο των ανοσοποιητικών κυττάρων με έναν τρόπο εξαρτώμενο από τον NF-κB. Επιπλέον τα επίπεδα της ογκο-κατασταλτικής πρωτεΐνης p35 καθώς και η ενεργή διασπασμένη μορφή της IL-1β (p17) μειώνονται εντός των ακτινοβολημένων μακροφάγων (Lödermann et al., 2012). Συνεπώς η τροποποιημένη έκφραση και έκκριση της IL-1β ρυθμίζεται μέσω του NF-κB μετά από έκθεση των ενεργοποιημένων μακροφάγων σε χαμηλές δόσεις ακτίνων-Χ.

Οι κίνδυνοι από έκθεση σε χαμηλές δόσεις, σε σύγκριση με έκθεση σε υψηλές, μπορεί να θεωρούνταν κάποτε αμελητέοι, αλλά τα νεότερα δεδομένα συσχετίζουν την έκθεση σε χαμηλές δόσεις με την δημιουργία όγκων, ενώ παράλληλα υπάρχουν πολλά ζητήματα να διευθετηθούν ως προς: την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου έπειτα από την έκθεση, τους ακριβείς μηχανισμούς απόκρισης και πως είναι δυνατό να τους διαχειριστούμε καταλλήλως σε κάθε περίπτωση (Schüler & Gutzwiller, 1991). Για το λόγο αυτό απαιτούνται ευρείες επιδημιολογικές μελέτες για τον ακριβή προσδιορισμό των επιδράσεων αυτού του είδους ακτινοβολίας (Brenner et al., 2003).

#### **1.4 Φαινόμενο απόκρισης λόγω γειννίαςης – “Bystander Effect”**

Ως «φαινόμενο απόκρισης λόγω γειννίαςης» ή «φαινόμενο του παρατυχόντος» (bystander effect) ορίζεται η επαγωγή βιολογικών αλλαγών σε κύτταρα τα οποία δεν εκτίθενται άμεσα σε φορτισμένα σωματίδια. Τα κύτταρα αυτά, μολονότι μη ακτινοβολημένα, εμφανίζουν αποκρίσεις παρόμοιες με τα γειτονικά τους ακτινοβολημένα κύτταρα, λόγω παραγωγής χημικών σημάτων και σημάτων ανοσοαπόκρισης από τα δεύτερα (Georgakilas, 2015). Στην επιστημονική βιβλιογραφία συναντούμε για πρώτη φορά τον όρο το 1993, ως «τοπικά φαινόμενα απόκρισης λόγω γειννίαςης» (local bystander effect), όπου έγινε συσχέτιση του



φαινομένου με την ολική καταστολή του αναδιπλασιαμού καρκινικών κυττάρων μετά από αντικαρκινική θεραπεία και όχι μόνο του μικρού αριθμού κυττάρων που παρουσίασαν άμεση ευαισθησία σε αυτή (Freeman et al., 1993).

Ακόλουθες μελέτες που ασχολήθηκαν με το φαινόμενο του παρατυχόντος προσδιόρισαν και περιέγραψαν τους παράγοντες εκείνους που, εκκρινόμενοι από τα ακτινοβολημένα κύτταρα, συμβάλλουν στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες σε γειτονικά μη ακτινοβολημένα (Pouget, Georgakilas, & Ravanat, 2018). Έτσι, τα φαινόμενα απόκρισης λόγω γεινίασης συνδέθηκαν με ένα φάσμα βιολογικών αποκρίσεων, όπως ο κυτταρικός θάνατος και η απόπτωση (Belyakov, Prise, Trott, & Michael, 1999), το οξειδωτικό στρες, οι αλλαγές στο προφίλ έκφρασης microRNA, η δημιουργία μικροπυρήνων (Shao, 2003), η γονιδιακή αστάθεια (Ponnaiya, Jenkins-Baker, Bigelow, Marino, & Geard, 2004) και η επαγωγή βλαβών DNA (Zhou et al., 2000), ο αυξημένος πολλαπλασιασμός των κυττάρων (Gerashchenko & Howell, 2005) και η απελευθέρωση αναστολέων αυξητικών παραγόντων (Komarova et al., 1998; Nikitaki et al., 2016; Sprung et al., 2015)

Από την άλλη πλευρά, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι, κύτταρα που δεν έχουν εκτεθεί άμεσα, εμφανίζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στην ακτινοβολία σε σχέση με κύτταρα που δεν έχουν δεχτεί σήματα από γειτονικά «εκτεθειμένα» (Iyer & Lehnert, 2002). Μία τέτοια παρατήρηση υποδεικνύει ότι μέσω των φαινομένων απόκρισης λόγω γεινίασης, δεν μεταβιβάζονται μόνο στρεσογόνα σήματα, αλλά και σήματα που αυξάνουν τις θετικές αποκρίσεις των γειτονικών μη ακτινοβολημένων κυττάρων. Η ισορροπία μεταξύ αυτών των σημάτων και των αλλαγών που προκαλούν στους κυτταρικούς πληθυσμούς-στόχους, καθώς και των εγγενών χαρακτηριστικών αυτών (τύπος, γονότυπος) είναι καθοριστική για τον τελικό φαινότυπο της απόκρισης.

---

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> : Δεδομένα

---

### 2.1 Επιλογή Δεδομένων

Η επιλογή των δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την εργασία έγινε με βάση την αναζήτηση ορισμένων λέξεων-κλειδιών στο δημόσιο αποθετήριο δεδομένων GEO στο οποίο γίνεται εκτενής αναφορά στο κεφάλαιο 3. Οι λέξεις που χρησιμοποιήθηκαν στην αναζήτηση ήταν:

- ✦ High LET, High LET Radiation
- ✦ Low LET, Low LET Radiation
- ✦ irradiation therapy, radiation therapy
- ✦ proton, proton radiation, proton irradiation
- ✦ carbon, carbon radiation, carbon radiation therapy
- ✦ x-rays
- ✦ y-rays
- ✦ alpha, alpha particles

Σε κάθε αναζήτηση χρησιμοποιήθηκαν τα φίλτρα αναζήτησης :

- ✦ Entry type : GEO Datasets, GEO Series
- ✦ Organism : Homo Sapiens

Με τις αναζητήσεις αυτές συγκεντρώθηκαν 15 datasets. Αφού συγκεντρώθηκε ένας ικανοποιητικός αριθμός δεδομένων έπρεπε να γίνει η κατάλληλη επιλογή των dataset που θα χρησιμοποιούντο σε αυτή την εργασία. Χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Excel (MS OFFICE 2013), καταγράφηκαν σε πίνακα όλα τα στοιχεία και οι λέξεις κλειδιά που αφορούσαν κάθε dataset. Πιο αναλυτικά, αν το dataset περιείχε δεδομένα από low LET ή high LET, η κατηγορία των σωματιδίων (alpha, protons, x-rays, carbon ions, y-rays), η απορροφηθείσα δόση, οι χρονικές στιγμές και το είδος των στόχων - κυττάρων. Στόχος ήταν να επιλεγούν 4 datasets που να έχουν χρησιμοποιηθεί παρόμοια είδη κυττάρων (π.χ. του δέρματος), να έχει γίνει η ακτινοβολήση με διαφορετικά είδη σωματιδίων και να υπάρχει αντιστοίχιση στις χρονικές στιγμές (στις πόσες ώρες κατόπιν έκθεσης σε ακτινοβολία έγινε προσδιορισμός της γονιδιακής

έκφρασης) για να γίνουν οι κατάλληλες συγκρίσεις. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται συνοπτικά τα χαρακτηριστικά των τεσσάρων επιλεγμένων dataset.

*Πίνακας 2: Συνοπτική περιγραφή των επιλεγμένων dataset.*

Αριθμός Dataset	Αριθμός Δειγμάτων	Είδος ακτινοβολήσης (σωματίδιο, δόση)	Χρονικές Στιγμές (σε ώρες)	Είδος κυττάρων	Bystander Effect
<b>GSE21059</b>	72	alpha, 0.5 Gy	0.5,1, 2, 3, 4, 6, 24	IMR90 Fibroblasts	Yes
<b>GSE23899</b>	16	alpha, 0.5 Gy	16 (διαφορετικές αποστάσεις)	3D Skin model	Yes
<b>GSE16935</b>	27	protons, 0.1 Gy, 2.5 Gy	4, 16, 24	3D Skin model	No
<b>GSE29344</b>	24	x-rays, 0.1 Gy, 1 Gy	3, 8, 24	Skin model-reconstructed tissue	No

### 2.2.1 GSE21059

Όπως περιεγράφηκε και νωρίτερα, το «φαινόμενο του παρατυχόντος» (bystander effect) που προκαλείται από την ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι ένα σημαντικό συστατικό της συνολικής απόκρισης των κυττάρων και των ιστών. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για το κατά πόσο οι αλλαγές σε επίπεδο γονιδιώματος των γειτονικών κυττάρων συνεισφέρουν στην δημιουργία στρες στους ιστούς και στα όργανα μετά από ακτινοβολήση. Για την κατανόηση αυτού του φαινομένου είναι απαραίτητο να μελετηθεί το χρονικό πλαίσιο τόσο των μεταδιδόμενων σημάτων όσο και των αλλαγών στο ευρύτερο πλαίσιο έκφρασης (global transcriptomics). Έτσι, στην μελέτη αυτή (Ghandhi, Sinha, Markatou, & Amundson, 2011) παρουσιάστηκε μία στρατηγική για την αναγνώριση των διαφόρων βιολογικά σημαντικών σημάτων που δρουν σε συγχρονισμό, ως απόκριση, λόγω της ακτινοβολίας και του φαινομένου του παρατυχόντος.

Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα, υγιή κύτταρα ινοβλαστών. Συνολικά υπήρχαν 72 δείγματα, σε 4 βιολογικές επαναλήψεις των IMR90 κυττάρων τα οποία χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες:

- μη ακτινοβολημένα (control=C)
- ακτινοβολημένα (alpha=A)
- bystander (B)

στα οποία έγινε προσδιορισμός της γονιδιακής έκφρασης σε 6 διαφορετικές χρονικές στιγμές (0,5 ώρες, 1 ώρα, 2, ώρες, 4 ώρες, 6 ώρες και 24 ώρες) μετά από ακτινοβολήση σε συνδυασμό με την καινοτόμο αλγόριθμο ομαδοποίησης Feature Based Partitioning around medoids Algorithm (FBPA) για τον εντοπισμό των γονιδίων που συνρρυθμίζονται.

Ακόμα, στα ίδια σετ δεδομένων εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι FBPA και STEM (Short Time series Expression Miner) τα αποτελέσματα των οποίων παρουσιάζονται χρησιμοποιώντας υπολογιστικούς δείκτες (computational metrics) και δείκτες βιολογικού εμπλουτισμού. Η ανάλυση εμπλουτισμού έδειξε ότι η γονιδιακή έκφραση των ακτινοβολημένων κυττάρων εμπίπτει σε δύο γενικές κατηγορίες μεταγωγής σήματος:

- κυτταρικός κύκλος/κυτταρικός θάνατος
- φλεγμονή/ανοσία

Ωστόσο, η ομαδοποίηση με βάση την λειτουργία ήταν επιτυχημένη μόνο μέσω της μεθόδου FBPA. Όσον αφορά τα Bystander κύτταρα, παρατηρήθηκε και σε αυτά ότι οι αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση λόγω απόκρισης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση λειτουργίες που σχετίζονται με

- την διακυτταρική επικοινωνία,
- την κινητικότητα,
- την μεταγωγή σήματος και
- την φλεγμονή.

Καμία από τις μεθόδους STEM και FBPA, όμως, δεν ήταν ικανή να διαχωρίσει βιολογικές λειτουργίες το ίδιο καλά όπως στην περίπτωση των απευθείας ακτινοβολημένων κυττάρων.

Ένα άλλο ενδιαφέρον εύρημα που αναδείχθηκε μέσω ανάλυσης δικτύων είναι ότι η p53 και ο NF-κB αποτελούν κεντρικούς συντελεστές της γονιδιακής έκφρασης και στις δύο ομάδες γονιδίων, αυτές των ακτινοβολημένων κυττάρων και των Bystander.

Ανάλυση μεμονωμένων ομάδων υποδεικνύει νέους ρυθμιστές τις γονιδιακής έκφρασης, ξανά, και στις δύο κατηγορίες, ακτινοβολημένων και Bystander κυττάρων. Οι συντελεστές αυτοί, απακεταλύσες ιστονών (HDAC1 και HDAC2) και μεθυλάσες (KDM5B), μπορεί να δρουν στο επίπεδο επιγενετικών τροποποιήσεων ως ισχυροί καταστολείς της μεταγραφής.

Τέλος, με βάση όλα τα παραπάνω αποτελέσματα, προτείνεται η μέθοδος FBPA ως μία αρκετά αποδοτική προσέγγιση σε περιπτώσεις όπου τα σύνολα δεδομένων είναι σποραδικά και η επιλογή των χαρακτηριστικών με βάση τα οποία θα γίνει η ομαδοποίηση και η στατιστική ανάλυση μπορεί να ενισχύσει την γνώση για τους υποκείμενους μηχανισμούς στις βιολογικές διεργασίες.

Το αρχείο με τα δεδομένα αυτά περιέχει 72 συνολικά δείγματα, 4 αντίστοιχες βιολογικές επαναλήψεις κυττάρων IMR90 που δεν είχαν ακτινοβοληθεί, που είχαν ακτινοβοληθεί (50 cGy 4He ions (125 keV per micron), και Bystander. Τα κύτταρα συλλέχθηκαν στα διαστήματα μισή ώρα (0.5hr), μία (1) ώρα, δύο (2) ώρες, τέσσερις (4) ώρες, έξι (6) ώρες και εικοσιτέσσερις (24) ώρες κατόπιν θεραπείας.

- ομάδα με 16 δείγματα Non Irradiated – 0.5 - 4hr
- ομάδα με 4 δείγματα Non Irradiated- 6hr
- ομάδα με 4 δείγματα Non Irradiated- 24hr
- ομάδα με 16 δείγματα bystander – 0.5 - 4hr
- ομάδα με 4 δείγματα bystander - 6hr
- ομάδα με 4 δείγματα bystander - 24hr
- ομάδα με 16 δείγματα irradiated – 0.5 - 4hr
- ομάδα με 4 δείγματα irradiated - 6hr
- ομάδα με 4 δείγματα irradiated - 24hr

Τα δείγματα ομαδοποιήθηκαν σε εννέα ομάδες βάσει της ακτινοβολήσης ή μη και βάσει την ώρα που συλλέχθηκαν. Υπάρχει μια ομάδα με 16 δείγματα που περιλαμβάνει τα κύτταρα που συλλέχθηκαν στην μισή ώρα, την μία ώρα, τις δύο ώρες και τις τέσσερις ώρες για τα ακτινοβολημένα δείγματα, τα μη ακτινοβολημένα και τα Bystander αντίστοιχα. Οι άλλες δύο ομάδες δειγμάτων αφορούν στα κύτταρα που συλλέχθηκαν στις 6 (4 δείγματα) και στις 24 ώρες (4 δείγματα). Στον παρακάτω Πίνακα 4.1 φαίνονται οι ομάδες των δειγμάτων ανά κατηγορία.

Πίνακας 3: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.

GSE21059	0.5 – 4 ώρες	6 ώρες	24 ώρες
non-irradiated	16	16	16
bystander	4	4	4
irradiated	4	4	4

### 2.2.2 GSE23899

Οι άμεσες και έμμεσες (Bystander) αποκρίσεις στην ιονίζουσα ακτινοβολία έχουν αρκετά κοινά τερματικά σημεία, όπως για παράδειγμα η απόπτωση, η δημιουργία μικροπυρήνων (micronucleation), η αναδιάταξη της χρωματίνης και η αλλαγή στα επίπεδα ή τις δραστηριότητες των ρυθμιστικών πρωτεϊνών. Ωστόσο, μπορεί να διαφέρουν ποσοτικά και ποιοτικά. Η πλειοψηφία των μελετών που ασχολούνται με τις επιδράσεις του φαινομένου του παρατυχόντος χρησιμοποιούν δισδιάστατα in vitro συστήματα. Οι ερευνητές της παρούσας μελέτης, όμως, παρουσίασαν τέτοιες επιδράσεις χρησιμοποιώντας ένα τρισδιάστατο μοντέλο ιστών, το EPI-200 (Mat-Tek, Ashika, MA), το οποίο μιμείται με ακρίβεια την δομή και την λειτουργία της ανθρώπινης επιδερμίδας.

Η καθολική γονιδιακή έκφραση (global gene expression) είναι ένα πανίσχυρο εργαλείο στην προσπάθεια αποκάλυψης τόσο των θεμελιωδών σηματοδοτικών διεργασιών όσο και της μηχανιστικής βάσης των επιπτώσεων σε επίπεδο κυττάρων ή φυσιολογίας. Μέσω της έκθεσης σε ακτινοβολία μόνο μίας μικρής λωρίδας κατά μήκος του κέντρου του EPI-200 ιστού, οι ερευνητές, μπόρεσαν να μετρήσουν τις αποκρίσεις, σε επίπεδο καθολικής γονιδιακής έκφρασης, των Bystander κυττάρων που εντοπίζονται σε απόσταση 0.125 και 0.625 μm από τη γραμμή ακτινοβολήσης, 16 ώρες μετά την έκθεση σε 0.5 Gy ακτινοβολήσης α-σωματιδίων. Τα δεδομένα αναλύθηκαν μέσω της σουίτας εργαλείων BRB-Array Tools (NIH), ενώ περαιτέρω ανάλυση των δικτύων έγινε μέσω του IPA (Ingenuity).

Γονίδια με σημαντική απόκριση εντοπίστηκαν και στις δύο αποστάσεις. Για παράδειγμα, όλα τα σύνολα δεδομένων έδειξαν θετική ρύθμιση δύο βασικών ενζύμων στην βιοσύνθεση λιπιδίων, του UGT1 και του PITPNB, και αρνητική ρύθμιση των προαποπτωτικών πρωτεϊνών BAX και ARHGEF5. Αντιθέτως, αρκετές πρωτεΐνες που

εμπλέκονται στην καταστολή της μεταγραφής (CHD6, CHD8, WRNIP1) έδειξαν να έχουν ισχυρή θετική ρύθμιση, κάτι που υποδεικνύει πως συμβαίνουν γενικότερες ανακατανομές στην γονιδιακή μεταγραφή. Οι αλλαγές αυτές, με την σειρά τους, υποδεικνύουν την ενεργοποίηση μηχανισμών στα Bystander κύτταρα διαφορετικών από αυτούς που έχουν παρατηρηθεί στις καλλιέργειες κυττάρων δύο διαστάσεων. Το αρχείο με τα δεδομένα GSE23899 με τα α-σωματίδια χωρίστηκε σε 3 αρχεία:

- ομάδα με όλα τα **Non Irradiated** samples (8 samples – 0 cGy)
- ομάδα 4 δειγμάτων με 0.5 cGy σε απόσταση **125-625um**
- ομάδα 4 δειγμάτων με 0.5 cGy σε απόσταση **625-1125um**

### 2.2.3 GSE16935

Η συσσώρευση των δεδομένων από μελέτες των βιολογικών αποκρίσεων σε υψηλή και χαμηλή δόση ακτινοβολίας υποδεικνύει ότι υπάρχουν ποσοτικές διαφορές μεταξύ των δύο καταστάσεων, κάτι που καθιστά απαραίτητη την μελέτη των αποκρίσεων σε χαμηλές δόσεις. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες χρησιμοποίησαν δισδιάστατα μοντέλα κυτταροκαλλιιεργειών, τα οποία όμως μπορεί να μην αντικατοπτρίζουν πλήρως το βαθμό απόκρισης στους τρισδιάστατους ιστούς. Για τον λόγο αυτό, σε αυτή την μελέτη (Mezentsev & Amundson, 2011), χρησιμοποιήθηκε το τρισδιάστατο μοντέλο προσομοίωσης του ανθρώπινου δέρματος που αναφέρθηκε και στην προηγούμενη υποενότητα, EPI-200. Έγινε ανάλυση του καθολικού προφίλ έκφρασης σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές: 4, 16 και 24 ώρες μετά από έκθεση σε υψηλές (2.5 Gy) και χαμηλές (0.1 Gy) δόσεις χαμηλών LET πρωτονίων.

Το αρχείο GSE16935 με τα πρωτόνια χωρίστηκε σε 9 αρχεία. Τα αρχεία αυτά χωρίζονται σε 3 κατηγορίες : δείγματα χωρίς ακτινοβολία (non irradiated – control), με χαμηλή δόση ακτινοβολίας 0.1Gy και με υψηλή δόση ακτινοβολίας 2.5Gy. Επίσης διαχωρίζονται και με βάση πόση ώρα έχει περάσει μετά την έκθεση σε ακτινοβολία. Συγκεκριμένα έχει 3 διαφορετικές στιγμές: 4 ώρες, 16 ώρες και 24 ώρες μετά την έκθεση. Συνολικά υπάρχουν 27 samples. Τα αρχεία χωρίστηκαν στις εξής 9 κατηγορίες:

- ομάδα με 3 δείγματα **non irradiated - 4hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **non irradiated - 16hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **non irradiated - 24hr**

- ομάδα με 3 δείγματα **low dose 0.1Gy - 4hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **low dose 0.1Gy - 16hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **low dose 0.1Gy - 24hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **high dose 2.5Gy - 4hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **high dose 2.5Gy - 16hr**
- ομάδα με 3 δείγματα **high dose 2.5Gy - 24hr**



---

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> : Υπολογιστικά Εργαλεία και Ιστότοποι

---

### 3.1 NCBI και Gene Expression Omnibus (GEO)

#### 3.1.1 Αποθετήρια Δεδομένων

Πειραματικές τεχνικές και μέθοδοι «υψηλής απόδοσης» (high-throughput), όπως οι μικροσυστοιχίες που αναλύθηκαν παραπάνω, παράγουν μεγάλο όγκο δεδομένων, όπως, για παράδειγμα, δεδομένα γονιδιακής έκφρασης. Τα δεδομένα αυτά κατατίθενται σε ειδικά αποθετήρια για την εύκολη ανεύρεση, προσπέλαση και ανάλυσή τους. Ένα από τα μεγαλύτερα δημόσια αποθετήρια είναι η Gene Expression Omnibus (GEO) του National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Ακόμη ένα δημόσιο αποθετήριο αποτελεί η Array Express (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>). Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από την βάση GEO, της οποίας η δομή θα περιγραφεί αναλυτικότερα παρακάτω.

##### 3.1.1.1 Gene Expression Omnibus (GEO)

Η βάση δεδομένων GEO αποτελεί αποθετήριο για ευρεία ποικιλία πειραματικών μεθόδων μεγάλης κλίμακας, όπως πειράματα μονοκάναλων και δικάναλων (cDNA) μικροσυστοιχιών mRNA, γονιδιωματικού DNA, πρωτεϊνών, καθώς και σειριακή ανάλυση έκφρασης γονιδίων (SAGE), φασματομετρία μάζας πρωτεϊνικών δεδομένων και η μέθοδος εύρεσης αλληλουχιών επόμενης γενιάς. Όπως είναι αναμενόμενο, οι διάφορες πειραματικές μέθοδοι παράγουν διαφορετικό τύπο δεδομένων, σε διαφορετική διαμόρφωση και διαφορετικό τύπο αρχείων που αποθηκεύονται. Επιπλέον των δεδομένων αυτών, είναι δυνατόν να κατατεθούν και τα ανεπεξέργαστα ή πρωτογενή (raw) δεδομένα από κάθε πειραματική διαδικασία. Η ποικιλία αυτή αυξάνει τις προκλήσεις και τις δυσκολίες που προκύπτουν στην διαχείριση των δεδομένων και την προσπέλασή τους από άλλους χρήστες. Για τον λόγο αυτό, τα δεδομένα που κατατίθενται στην GEO αποθηκεύονται σε μία βάση συγγένειας (relational) MSSQL η οποία αποτελείται από τρεις τύπους οντοτήτων: τις *πλατφόρμες* (platforms), τα *δείγματα* (samples) και τις *σειρές* (series).

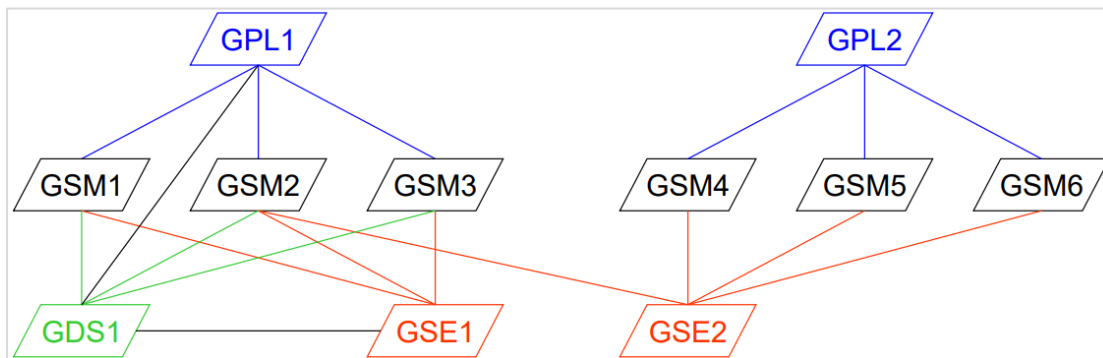
**Πλατφόρμες:** Μία καταγραφή *πλατφόρμας* αποτελείται από μία συνοπτική περιγραφή της μικροσυστοιχίας και έναν πίνακα με τα δεδομένα των στοιχείων που μπορούν να ανιχνευθούν και να ποσοτικοποιηθούν σε αυτό το πείραμα. Κάθε σειρά του πίνακα αντιστοιχεί σε ένα στοιχείο (feature) και ενδέχεται να περιέχει σχολιασμό που αφορά την αλληλουχία, ενώ η απουσία ορίου στον αριθμό των στηλών επιτρέπει την διεξοδική καταγραφή και σχολιασμό της μικροσυστοιχίας. Κάθε εγγραφή *πλατφόρμας* έχει έναν μοναδικό και σταθερό αριθμό καταχώρησης GEO που ξεκινάει πάντα με το πρόθεμα "GPL". Η *πλατφόρμα* μπορεί να παραπέμπει σε πολλά *δείγματα* που έχουν υποβληθεί από πολλαπλούς χρήστες.

**Δείγματα:** Μία καταγραφή *δείγματος* αποτελείται από μία περιγραφή του βιολογικού υλικού και των πειραματικών πρωτοκόλλων στα οποία υποβλήθηκε (π.χ. συλλογή, εκχύλιση, σήμανση), και από έναν πίνακα με δεδομένα μετρήσεων αφθονίας για κάθε στοιχείο που προκύπτει από το δείγμα. Κάθε καταγραφή *δείγματος* έχει έναν μοναδικό και σταθερό αριθμό καταχώρησης GEO που ξεκινάει πάντα με τα γράμματα "GSM". Κάθε *δείγμα* πρέπει να παραπέμπει σε μια μόνο Πλατφόρμα και μπορεί να συμπεριληφθεί σε μία ή περισσότερες *σειρές*.

**Σειρές:** Μία καταγραφή *σειράς* καθορίζει ένα σύνολο *δειγμάτων* τα οποία θεωρείται ότι ανήκουν σε μία μελέτη της οποίας περιγράφει, επίσης, τους στόχους και τον σχεδιασμό. Κάθε εγγραφή *σειράς* έχει έναν μοναδικό και σταθερό αριθμό GEO που ξεκινάει πάντα με τα γράμματα "GSE" και επίσης, μπορεί να περιλαμβάνει *δείγματα* από διαφορετικές *πλατφόρμες*.

**Σύνολα Δεδομένων:** Παρόλο που τα δεδομένα έκφρασης των παραπάνω καταγραφών, που παρέχονται από τους καταθέτες, είναι ετερογενή στην μορφολογία, στο περιεχόμενο και στο επίπεδο λεπτομέρειας με το οποίο περιγράφουν τις εκάστοτε πειραματικές διαδικασίες, όλα περιέχουν τρία βασικά στοιχεία: πληροφορίες που αφορούν την αντιστοίχισή τους σε μία *πλατφόρμα*, κανονικοποιημένες μετρήσεις έκφρασης και, τέλος, κείμενο που περιγράφει το βιολογικό υλικό και τον στόχο του πειράματος. Με βάση αυτά τα κοινά στοιχεία πραγματοποιείται αυτοματοποιημένη και χειροκίνητη επιμέλεια και οργάνωση των δεδομένων σε υπερ-σύνολα που ονομάζονται «Σύνολα Δεδομένων GEO» (GEO DataSet). Ένα *Σύνολο Δεδομένων* είναι μια συλλογή από βιολογικά και στατιστικά συγκρίσιμα *δείγματα* GEO, συνοψισμένα και κατηγοριοποιημένα σύμφωνα με τις πειραματικές μεταβλητές. Η

κάθε εγγραφή *Συνόλου Δεδομένων* έχει έναν μοναδικό και σταθερό αριθμό GEO που ξεκινάει πάντα με τα γράμματα “GDS”. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται ένα επίπεδο ομοιογένειας και κανονικότητας στην φόρμα των κατατιθέμενων δεδομένων που είναι απαραίτητο για την εκμετάλλευσή τους από μεταγενέστερες αναλύσεις.



*Εικόνα 5: Δομή αρχειοθέτησης δεδομένων στη GEO*

### 3.2 MATLAB

Το MATLAB (MATrix LABoratory) είναι ένα περιβάλλον υπολογιστικής αριθμητικής και μια προγραμματιστική γλώσσα «υψηλής απόδοσης» (high-performance) που αναπτύχθηκε από την MathWorks. Το MATLAB επιτρέπει την χρήση μητρώων (matrices), την κατασκευή και απεικόνιση δεδομένων σε μορφή διαγραμμάτων, την εφαρμογή αλγορίθμων, την δημιουργία περιβάλλοντος από τον χρήστη και την αλληλεπίδραση με προγράμματα γραμμένα σε άλλες γλώσσες όπως η C, η C++, η C#, η Java, η Fortran και η Python. Οι πιο συχνές χρήσεις του περιλαμβάνουν τα εξής:

- Μαθηματικούς υπολογισμούς
- Ανάπτυξη αλγορίθμων
- Μοντελοποίηση, προσομοίωση και δημιουργία πρωτοτύπων (prototyping)
- Ανάλυση, εξερεύνηση και απεικόνιση δεδομένων
- Ανάπτυξη εφαρμογών και γραφικών περιβαλλόντων χρήστη

Βασικό στοιχείο του MATLAB αποτελεί η οργάνωση των δεδομένων σε πίνακες (arrays), η οποία δεν προϋποθέτει την χρησιμοποίηση διαστάσεων (dimensioning). Αυτό επιτρέπει την επίλυση τεχνικών υπολογιστικών προβλημάτων σε πολύ

μικρότερο χρόνο σε σχέση με άλλες βαθμωτές (scalar) μη διαδραστικές γλώσσες όπως η C ή η Fortran.

Το οικοσύστημα της MATLAB αποτελείται από πέντε κύρια μέρη:

### *Η γλώσσα της MATLAB*

Όπως αναφέρθηκε ήδη παραπάνω, η γλώσσα της MATLAB αποτελεί μία «υψηλού επιπέδου» (high-level) γλώσσα βασισμένη σε μήτρες (matrices) και πίνακες (arrays) που επιτρέπει την χρήση δηλώσεων ελέγχου ροής (control flow statements), συναρτήσεων, δομών δεδομένων, την εισαγωγή και εξαγωγή δεδομένων καθώς και την χρήση αντικειμενοστρεφών προγραμματικών στοιχείων. Επιτρέπει, έτσι, τόσο τον προγραμματισμό σε μικρή κλίμακα με γρήγορο τρόπο και αποτέλεσμα όσο και σε μεγαλύτερη κλίμακα για την δημιουργία μεγαλύτερων και πολυπλοκότερων εφαρμογών και προγραμμάτων.

### *Το περιβάλλον εργασίας του MATLAB*

Το περιβάλλον εργασίας αποτελεί το σύνολο των εργαλείων και υποδομών με το οποίο δουλεύει ο εκάστοτε χρήστης και που βοηθούν στην διαχείριση των μεταβλητών που χρησιμοποιούνται και στην εισαγωγή και εξαγωγή δεδομένων. Επίσης, περιλαμβάνει εργαλεία για την ανάπτυξη, διαχείριση και την επιδιόρθωση (debugging) εφαρμογών που δημιουργούνται στο περιβάλλον αυτό.

### *Γραφικό περιβάλλον*

Το γραφικό περιβάλλον του MATLAB περιλαμβάνει «υψηλού επιπέδου» εντολές για την δισδιάστατη και τρισδιάστατη απεικόνιση των δεδομένων, την επεξεργασία στατικών και κινουμένων εικόνων, καθώς και γραφικών για την παρουσίασή τους. Επίσης, εμπεριέχει «χαμηλού επιπέδου» εντολές για την πλήρη προσαρμογή και εξατομίκευση της εμφάνισης των γραφικών αυτών, καθώς και τη δημιουργία πλήρους γραφικού περιβάλλοντος στις εφαρμογές που αναπτύσσει ο χρήστης.

### *Βιβλιοθήκη μαθηματικών συναρτήσεων*

Η βιβλιοθήκη μαθηματικών συναρτήσεων αποτελεί μία τεράστια συλλογή υπολογιστικών αλγορίθμων που κυμαίνονται από απλές, βασικές συναρτήσεις, όπως οι sum, sin και cosine, έως και περισσότερο «ανεπτυγμένες» και περίπλοκες συναρτήσεις, όπως οι matrix inverse, matrix eigenvalues, Bessel functions και η fast Fourier transforms.

### *Η διεπαφή προγραμματισμού εφαρμογών (API)*

Η διεπαφή προγραμματισμού εφαρμογών (API) επιτρέπει την εγγραφή προγραμμάτων στις γλώσσες C και Fortran, τα οποία αλληλεπιδρούν με την MATLAB. Περιλαμβάνει υποδομές για την επίκληση ρουτίνων από το MATLAB, την επίκληση του MATLAB ως υπολογιστική μηχανή και την ανάγνωση και εγγραφή αρχείων MAT.

Σημαντικό στοιχείο της εξέλιξης του MATLAB κατά την διάρκεια των χρόνων αποτελεί η συνεχής συνεισφορά των πολλών χρηστών του. Έως και το 2018, ο συνολικός αριθμός των χρηστών ανέρχεται στα 3 εκατομμύρια παγκοσμίως, ενώ οι χρήστες αυτοί κατέχουν διαφορετικό γνωσιακό και ακαδημαϊκό υπόβαθρο. Στα ακαδημαϊκά περιβάλλοντα, αποτελεί ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα διδακτικά εργαλεία σε εισαγωγικά και προχωρημένα μαθήματα μαθηματικών, μηχανικής, θετικών επιστημών και οικονομικών. Σε εταιρικό επίπεδο αποτελεί επίσης συχνή επιλογή ως εργαλείο για υψηλή παραγωγικότητα στην έρευνα, την ανάπτυξη και την ανάλυση.

Ένα σημαντικό κομμάτι της σουίτας του MATLAB είναι η μεγάλη γκάμα σε εξειδικευμένες εφαρμογές-πακέτα εργαλειοθήκες (toolboxes), που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επίλυση συγκεκριμένων προβλημάτων. Οι εργαλειοθήκες αποτελούν συνεκτικές συλλογές συναρτήσεων του MATLAB (M-files) οι οποίες επεκτείνουν το περιβάλλον του έτσι ώστε να επιλυθούν ξεχωριστές κατηγορίες προβλημάτων, όπως για παράδειγμα η επεξεργασία σημάτων, συστήματα ελέγχου, νευρωνικά δίκτυα, προβλήματα προσομοίωσης και, ειδικότερα στα πλαίσια αυτής της δουλειάς, προβλήματα βιοπληροφορικής.

#### **3.2.1 Bioinformatics Toolbox – Ανάλυση μικροσυστοιχιών**

Η εξειδικευμένη εργαλειοθήκη που αφορά προβλήματα βιολογικής σημασίας (Bioinformatics Toolbox™) παρέχει αλγορίθμους και εφαρμογές για την ανάλυση δεδομένων από αλληλούχιση νέας γενιάς (NGS), ανάλυση δεδομένων μικροσυστοιχιών, φασματομετρίας μάζας και γενετικής οντολογίας. Χρησιμοποιώντας τις συναρτήσεις του πακέτου μπορούν να διαβαστούν γενωμικά και πρωτεομικά δεδομένα από ευρέως χρησιμοποιούμενους τύπους αρχείων, όπως SAM, FASTA, CEL και CDF, καθώς και δεδομένα από δημόσια αποθετήρια όπως το NCBI GEO και το GenBank. Δίνεται η δυνατότητα στον χρήστη να εξερευνήσει και να οπτικοποιήσει τα δεδομένα μέσα από φυλλομετρητές αλληλουχιών (sequence browsers), χωρικούς χάρτες θερμότητας (spatial heatmaps) και ανεπτυγμένων διαγραμμάτων (π.χ.

clustergrams). Τέλος, παρέχει στατιστικές τεχνικές για την ανίχνευση κορυφών και για απόδοση τιμών σε ελλιπή δεδομένα .

Η υπολογιστική προσέγγιση ενός βιολογικού προβλήματος απαιτεί την ανάλυση δεδομένων από διαφορετικές πηγές. Έτσι, για παράδειγμα, μπορεί να χρησιμοποιηθούν δεδομένα από πειράματα ChIP-Seq για την αναγνώριση μεταγραφικών παραγόντων, να αναλυθούν δεδομένα από πειράματα RNA-Seq για την αναγνώριση γονιδίων που μεταβάλλουν την έκφρασή τους ή δεδομένα μικροσυστοιχιών για τον προσδιορισμό του διαφορετικού αριθμού αντιγράφων ή, τέλος, να αναλυθούν δεδομένα φασματομετρίας μάζας για την κατάταξη των προφίλ πρωτεϊνών. Μέσα από συνδυασμό των συναρτήσεων που προσφέρει η εργαλειοθήκη είναι εφικτή η επίτευξη τέτοιων συνδυαστικών εργασιακών ροών εργασίας.

#### *Κανονικοποίηση δεδομένων μικροσυστοιχιών*

Η κανονικοποίηση των δεδομένων μικροσυστοιχιών μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους, όπως η LOWESS, την χρήση ολικού μέσου όρου (global mean), της μέσης απόλυτης απόκλισης (median absolute deviation) και την κανονικοποίηση μέσω τεταρτημορίων (quantile normalization). Οι μέθοδοι αυτοί μπορούν να εφαρμοστούν τόσο στο σύνολο της μικροσυστοιχίας όσο και σε συγκεκριμένες περιοχές της. Συναρτήσεις φιλτραρίσματος και απόδοσης επιτρέπουν τον καθαρισμό των πρωτογενών δεδομένων πριν την κύρια ανάλυση και οπτικοποίηση τους.

#### *Ανάλυση δεδομένων και οπτικοποίηση*

Η εργαλειοθήκη αυτή επιτρέπει την πραγματοποίηση προσαρμογών υποβάθρου και τον υπολογισμό τιμών γονιδιακής έκφρασης από μικροσυστοιχίες της εταιρείας Affymetrix® χρησιμοποιώντας τους αλγορίθμους Robust Multi-Array Average (RMA) και GC Robust Multi-Array Average (GCRMA). Επίσης, μπορεί να εφαρμοστεί κυκλικός διαδικός διαχωρισμός (circular binary segmentation) σε δεδομένα CGH και να εκτιμηθεί το ψευδώς αρνητικό ποσοστό εύρεσης πολλαπλών υποθέσεων ελέγχου σε δεδομένα γονιδιακής έκφρασης. Τέλος, μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί rank-invariant set κανονικοποίηση τόσο στην ένταση των ανιχνευτών (probe) για πολλαπλά Affymetrix CEL αρχεία όσο και στις τιμές γονιδιακής έκφρασης που καταγράφονται σε δύο διαφορετικές πειραματικές συνθήκες.

Όσον αφορά την οπτικοποίηση των δεδομένων, οι εξειδικευμένες ρουτίνες για τα δεδομένα μικροσυστοιχιών περιλαμβάνουν τους εξής τύπους διαγραμμάτων:

- Volcano plots
- Box plots
- Loglog plots
- I-R plots
- Χωρικούς θερμικούς χάρτες (spatial heat maps)

### 3.2.2 Μεθοδολογία ανάκτησης και ανάλυσης δεδομένων GEO series

#### *Ανάκτηση Δεδομένων GEO*

Η συνάρτηση *getgeodata* επιστρέφει μία δομή που περιέχει τα ανακτημένα δεδομένα από την βάση δεδομένων GEO. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να αποθηκευτούν τοπικά στην αρχική τους μορφή και να χρησιμοποιηθούν μέσω της MATLAB. Η συνάρτηση αυτή χρησιμοποιείται ως εξής:

```
π.χ. gseData= getgeodata('GSE5847', 'ToFile', 'GSE5847.txt')
```

Στην συνέχεια, η συνάρτηση *geoseriesread* επιτρέπει την προσπέλαση (parsing) των δεδομένων που έχουν ανακτηθεί σε GSE μορφή κειμένου.

```
π.χ. gseData = geoseriesread('GSE5847.txt')
```

Η δομή που δημιουργείται περιέχει ένα πεδίο επικεφαλίδας (*Header*) που περιέχει τα μεταδεδομένα της Σειράς Δεδομένων (*Series data*) και έναν πεδίο δεδομένων (*Data*) που περιέχει τον πίνακα (matrix) δεδομένων της Σειράς.

#### *Εξερεύνηση Δεδομένων GSE*

Χρησιμοποιώντας το σετ δεδομένων GSE5847, όπως και παραπάνω, ο πίνακας δεδομένων GSE5847 στο πεδίο δεδομένων αποθηκεύεται ως αντικείμενο *DataMatrix*. Αυτό αποτελεί μία δομή δεδομένων όπως πίνακας δύο διαστάσεων της MATLAB (2-D array), αλλά περιέχει και επιπλέον μεταδεδομένα για τα ονόματα των σειρών και

των στηλών. Οι ιδιότητες του DataMatrix μπορούν να προσπελαστούν όπως και στα άλλα αντικείμενα της MATLAB.

```
π.χ. get(gseData.Data)
```

Name: "

RowNames: {22283x1 cell}

ColNames: {1x95 cell}

NRows: 22283

NCols: 95

NDims: 2

ElementClass: 'double'

όπου τα ονόματα των σειρών είναι τα ονόματα των probe sets και τα ονόματα των στηλών ο αριθμός δείγματος GEO.

### 3.3 InSyBio Suite

Το Bionets είναι εργαλείο ανάλυσης βιολογικών δικτύων για:

- την προεπεξεργασία την μετα-ανάλυση και την οπτικοποίηση βιολογικών δικτύων
- την προεπεξεργασία και την ανάλυση δεδομένων έκφρασης γονιδίων
- την ανακάλυψη βιοδεικτών μέσω ανάλυσης διαφορικών εκφράσεων και σύγκρισης δικτύων

Η εκτέλεση περίπλοκων βιολογικών διαδικασιών απαιτεί την ακριβή διάδραση και ρύθμιση χιλιάδων κυττάρων. Συστηματικές προσεγγίσεις που μελετούν τις μεγάλες βάσεις δεδομένων για πρωτεΐνες, τις μεταβολές και τις τροποποιήσεις τους, έχουν φανερώσει περίπλοκα κυτταρικά δίκτυα. Η αντιπροσώπευση των διακυτταρικών δικτύων συνήθως λαμβάνει υπόψη τα συστατικά στοιχεία των κυττάρων ως κόμβους και τις άμεσες ή έμμεσες διαδράσεις τους ως άκρες. Η αντιπροσώπευση των δικτύων δημιουργεί την δυνατότητα για την ενσωμάτωση δεδομένων από πολλές διαφορετικές μελέτες σε ένα ενιαίο πλαίσιο. Τα βιολογικά δίκτυα είναι αρκετά διαφορετικά από τα υπόλοιπα δίκτυα και συχνά παρουσιάζουν εκτεταμένες ιδιότητες όσον αφορά την δομή και την οργάνωση τους. Η ανάλυση αυτών των δικτύων οδηγεί σε νέα συμπεράσματα



στην κατανόηση βασικών κυτταρικών μηχανισμών και τους μηχανισμούς της παθολογίας ασθενειών.

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες βιολογικών δικτύων. Με την InSyBio BioNets οι χρήστες μπορούν να χειριστούν μη-κατευθυνόμενα βιολογικά δίκτυα. Τα κύρια μη-κατευθυνόμενα δίκτυα είναι η συνέκφραση γονιδίων και τα δίκτυα διάδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Στα δίκτυα συν-έκφρασης γονιδίων, κάθε κόμβος είναι ένα γονίδιο και κάθε άκρη είναι μία συσχέτιση μεταξύ των προφίλ έκφρασης των δύο γονιδίων-κόμβων που συνδέει. Τα δίκτυα συν-έκφρασης γονιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ανακαλυφθούν γονίδια με παρόμοιες ιδιότητες λειτουργίας και για να ανακαλυφθούν βιοδείκτες μέσω της σύγκρισης των δικτύων που προκύπτουν από διαφορετικές καταστάσεις (π.χ. κατάσταση ελέγχου και ασθένειας). Τα δίκτυα συν-έκφρασης γονιδίων μπορούν να κατασκευαστούν χρησιμοποιώντας πειραματικές τεχνικές έκφρασης γονιδίων, όπως, λόγου χάρη, οι μικροσειρές ή τα πειράματα RNA-seq.

Τα δίκτυα διάδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης (PPI) αποτελούνται από κόμβους που συμβολίζουν τις πρωτεΐνες και άκρες που συμβολίζουν τις φυσικές ή λειτουργικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών-κόμβων. Τα δίκτυα PPI μπορούν να κατασκευαστούν με χρήση πειραματικών (π.χ. Yeast2hybrid technique, Tkaiem Affinity Purification κ.ά.) ή υπολογιστικών μεθόδων. Οι άκρες των δικτύων PPI μπορούν να έχουν βάρη που δείχνουν την σημασία της αλληλεπίδρασης ή την αυτοπεποίθηση της. Τα δίκτυα PPI μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να χαρακτηριστούν λειτουργικά οι πρωτεΐνες, να προβλέψουν συμπλέγματα πρωτεϊνών και πρωτεϊνικούς βιο-δείκτες με την σύγκριση δικτύων PPI από διαφορετικές κυτταρικές καταστάσεις και να εντοπίσουν περιοχές που έχουν υποστεί σημαντικές αλλαγές μεταξύ των δικτύων.

Το BioNets παρέχει ένα σύνολο εργαλείων για την κατασκευή, προ-επεξεργασία, μετά-ανάλυση και οπτικοποίηση βιολογικών δικτύων. Επιπλέον, επιπρόσθετα εργαλεία για την ανάγνωση αρχείων έκφρασης γονιδίων, για την δημιουργία αρχείων συν-έκφρασης γονιδίων και την ανακάλυψη διαφορικών εκφράσεων βιοδεικτών έχουν προστεθεί στο InSyBio BioNets για να καταστεί δυνατή η κατασκευή και ανάλυση των δικτύων γονιδιακής συν-έκφρασης. Οι χρήστες μπορούν να πραγματοποιήσουν

χρονοβόρες διαδικασίες και να αναλύσουν μεγάλα βιολογικά δίκτυα και μεγάλα αρχεία γονιδίων χρησιμοποιώντας το φιλικό προς τον χρήστη εργαλείο οργάνωσης εργασιών. Όσον αφορά τους βιοδείκτες που προκύπτουν, οι χρήστες έχουν πρόσβαση σε αναφορές που περιέχουν συνδέσμους για δημόσια διαθέσιμες βάσεις δεδομένων σχετικών με τους βιοδείκτες, συνδέσμους για το αποθετήριο PPI (InSyBio Interact) και πληροφορίες σχετικές με την προηγούμενη γνώση συσχέτισης των εν λόγω βιοδεικτών με ασθένειες.

Το InSyBio Bionets παρέχει τις εξής δυνατότητες για την κατασκευή, προεπεξεργασία, μετά-ανάλυση και οπτικοποίηση βιολογικών δικτύων:

1. Πρόβλεψη συστάδων (π.χ. συμπλέγματα πρωτεϊνών) από ένα βιολογικό δίκτυο (γράφημα αλληλεπίδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης)
2. Οπτικοποίηση βιολογικών δικτύων
3. Ανάλυση βιολογικών δικτύων με έλεγχο της ποιότητας τους, δυνατότητα εύρεσης των σημαντικών κόμβων και άκρων, ανάλυση εγγύτερης διαδρομής, κ.λπ.
4. Χρήση αρχείων .soft
5. Χρήση αρχείων έκφρασης γονιδίων
6. Κατασκευή δικτύων συν-έκφρασης γονιδίων από δεδομένα γονιδιακής έκφρασης
7. Ανακάλυψη βιοδεικτών με ανάλυση διαφορικής έκφρασης
8. Ανακάλυψη βιοδεικτών με σύγκριση δικτύων
9. Ενοποίηση των διαφορικών βιοδεικτών με τους βιοδείκτες που προκύπτουν από την διαδικασία σύγκρισης δικτύων
10. Πρόσβαση σε αναφορές για τους εξαχθέντες βιοδείκτες
11. Ανάλυση μεγάλων βιολογικών δικτύων και αρχείων γονιδιακής έκφρασης χρησιμοποιώντας το φιλικό προς τον χρήστη μηχανισμό οργάνωσης εργασίας.

#### *Πρόβλεψη συστάδων*

Μπορεί να γίνει ανάλυση δικτύων σε ένα βιολογικό δίκτυο είτε με τον MCL είτε με τον RNSC αλγόριθμο.

#### *Αλγόριθμος RNSC*

- Μέγιστος αριθμός συστάδων (Βασικό 1000),
- Μήκος tabu (Βασικό 50),

- Ανοχή tabu (Βασικό 1),
- Αφελής ανοχή σταματήματος (Βασικό 5),
- Κλιμακωτή ανοχή σταματήματος (Βασικό 500), και
- Αριθμός πειραμάτων (Βασικό 50)

Κάθε τύπος γραφήματος έχει περίπου ίδια ανταπόκριση σε αλλαγή του μήκους tabu, και οι συστάδες RNSC ο καθένας πολύ καλά (και πολύ γρήγορα) με ένα μήκος tabu περί του  $n/100$ , όπου  $n$  ο αριθμός κόμβων στο γράφημα.

Οι King et al έδειξαν ότι η συχνότητα διαφοροποίησης των  $n/50$  και διαφοροποίηση μήκους  $n/5$  ( $n$  ο αριθμός των κόμβων στο γράφημα), δίνουν αρκετά καλά αποτελέσματα τόσο σε απόδοση όσο και χρόνο αλλά κανένα σετ παραμέτρων δεν είναι ξεκάθαρα το καλύτερο για όλους τους τύπους γραφημάτων. Για περισσότερες πληροφορίες σε εκπαίδευση παραμέτρων και στατιστικών αποτελεσμάτων αναφερθείτε στην βιβλιογραφία (King, 2005).

Ο RNSC έχει την δυνατότητα να ψάξει αποδοτικά πολλά minima στο διάστημα αναζήτησης. Σε αυτή την ενότητα θα θεωρήσουμε μία βασική λίστα tabu, με ανοχή λίστας tabu ίση με 1, αφού έχει δειχθεί στην βιβλιογραφία ότι η επέκταση της ανοχής tabu δεν προσφέρει όφελος στην επίλυση του προβλήματος.

Για την αφελή και την κλιμακωτή ανοχή σταματήματος, υπάρχει πάντα η επιλογή μεταξύ ταχύτητας και ποιότητας. Για όλους τους τύπους γραφημάτων, το τελικό κλιμακωτό κόστος μειώνεται όσο η ανοχή σταματήματος αυξάνεται και η τυπική απόκλιση του κόστους μειώνεται αντίστοιχα.

#### *Αλγόριθμος MCL*

- Παράμετρος αύξησης (Βασικό 1.8)

Το αποτέλεσμα είναι μία λίστα των συστάδων που δημιουργήθηκαν από τον αλγόριθμο. Για κάθε συστάδα, οι αριθμοί ταυτοποίησης παρουσιάζονται σε λίστα.

### *Ανάλυση βιολογικών δικτύων*

Όταν οι χρήστες δημιουργούν ή ανεβάζουν ένα βιολογικό δίκτυο, αποκτούν πρόσβαση σε ένα μενού έξι αναλυτικών επιλογών που περιγράφονται ακολούθως. Για να κάνουν ανάλυση βιολογικών δικτύων οι χρήστες χρειάζεται να:

- Επιλέξουν ένα αρχείο βιολογικού δικτύου είτε από την βάση δεδομένων του InSyBio ή να ανεβάσουν ένα νέο αρχείο στην εν λόγω βάση.
- Εφόσον είναι έμπειροι, μπορούν να αλλάξουν τις ακόλουθες παραμέτρους:
  - Μέθοδος για την επιλογή σημαντικών κόμβων (Pagerank, Clustering coefficient, degree centrality)
  - Διάστημα αυτοπεποίθησης για τον εντοπισμό σημαντικών κόμβων
  - Μέθοδος για την επιλογή σημαντικών ακρών (Edge weight, In between centrality)
  - Διάστημα αυτοπεποίθησης για την επιλογή σημαντικών ακρών

### *Ανάλυση γενικών δικτύων*

Στον χώρο ανάλυσης γενικών δικτύων, οι χρήστες μπορούν να βλέπουν τους πιο σημαντικούς δείκτες του δικτύου (clustering coefficient, Estrada Index, κ.λπ.) και να συγκρίνουν την κατανομή του δικτύου με την κατανομή νόμου δύναμης ενός τυχαίου δικτύου. Οι πληροφορίες είναι διαθέσιμες για δίκτυα με περισσότερες από 225000 άκρες.

### *Ανακαλύπτοντας σημαντικούς κόμβους/άκρες*

Στην επιλογή “Uncovering Significant Nodes/Edges” οι χρήστες έχουν πρόσβαση σε δύο πίνακες που περιέχουν δείκτες σχετικούς με τους σημαντικούς κόμβους και τα p-values της σημαντικότητας τους. Οι σημαντικές άκρες δεν είναι διαθέσιμες για δίκτυα με περισσότερες από 225000 άκρες.

### *Δείκτες κόμβων/ακρών*

Στην επιλογή Node/Edges Metrics οι χρήστες μπορούν να βρουν δείκτες για όλους τους κόμβους και τις άκρες ενός δικτύου.

### *Οπτικοποίηση βιολογικών δικτύων*

Η επιλογή Biological Network Visualization προσφέρει μία διαδραστική οπτική αναπαράσταση του βιολογικού δικτύου, Όταν τα δίκτυα έχουν περισσότερες από

10000 άκρες, εφαρμόζεται φίλτρο κουρέματος πριν την οπτικοποίηση. Αν το φίλτρο δεν μπορεί να μειώσει τον αριθμό των ακρών κάτω των 10000 ακρών τότε δεν προσφέρεται οπτικοποίηση του δικτύου. Η οπτικοποίηση βασίζεται στο Cytoscape plugin και προσφέρει διαδραστική οπτική επιφάνεια. Οι χρήστες μπορούν να αντλήσουν πληροφορίες από επιλεγμένους κόμβους και άκρες, και να εξάγουν την εικόνα σε διάφορες μορφές, να μειώσουν την διαφάνεια και να δουν το δίκτυο με διαφορετικές οπτικές (Force detected, circle, radial).

#### *Ανάγνωση δεδομένων έκφρασης γονιδίων, προεπεξεργασία και ανάλυση*

Το BioNets προσφέρει ένα σετ εργαλείων για τον χειρισμό, την προεπεξεργασία και την ανάλυση δεδομένων έκφρασης γονιδίων με σκοπό την κατασκευή δικτύων συνέκφρασης γονιδίων και την πρόβλεψη βιο-δεικτών.

#### *Ανάγνωση αρχείων SOFT*

Το InSyBio BioNets υποστηρίζει το γενικά αποδεκτό τύπο αρχείου έκφρασης γονιδιακών δεδομένων SOFT. Αυτός είναι ο τύπος αρχείου που υποστηρίζεται από το Gene Expression Omnibus Database, και είναι ο κυρίαρχος τύπος που χρησιμοποιείται σε πειράματα γονιδιακής έκφρασης. Είναι ένας απλός τύπος αρχείου με γραμμές και κείμενο, που σημαίνει ότι τα αρχεία SOFT μπορούν να δημιουργηθούν και από εφαρμογές υπολογιστικών φύλλων ή βάσεων δεδομένων. Ένα αρχείο SOFT μπορεί να περιέχει πίνακες δεδομένων και περιγραφικές πληροφορίες για πολλές πλατφόρμες, δείγματα ή σειρές.

Η ανάγνωση από το InSyBio BioNets ακολουθεί τα εξής βήματα:

- Λογαριθμική κανονικοποίηση (αν οι τιμές της έκφρασης δεν είναι κανονικοποιημένες)
- Εκτίμηση τιμών που λείπουν με την μέθοδο knn-impute
- Το φιλτράρισμα με χρήση ελάχιστων μέσων τιμών έκφρασης και φίλτρων ελάχιστων μέσων τιμών διαφορετικότητας.

Οι διαφορετικές πειραματικές καταστάσεις (συνθήκες) που ορίζονται στο αρχείο SOFT θα αναγνωρίζονται αυτόματα και ένας πίνακας για κάθε έκφραση θα δημιουργείται για κάθε κατάσταση.

Οι χρήστες μπορούν να χρησιμοποιήσουν είτε τις βασικές τιμές είτε να παραμετροποιήσουν τις ακόλουθες μεταβλητές:

- Ελάχιστος αριθμός πειραμάτων για κάθε πειραματική κατάσταση
- Ελάχιστη μέση τιμή έκφρασης
- Ελάχιστη επιτρεπόμενη διαφορετικότητα τιμών γονιδιακής έκφρασης

Όταν αναγνωστεί ένα αρχείο SOFT, οι χρήστες μπορούν να αναλύσουν περαιτέρω τον εξαχθέντα πίνακα γονιδιακής έκφρασης. Μπορούν είτε να φτιάξουν ένα δίκτυο συνέκφρασης ή να εξάγουν βιοδείκτες χρησιμοποιώντας διαφορική ανάλυση έκφραση.

#### *Ανάγνωση αρχείων γονιδιακής έκφρασης*

Οι χρήστες μπορούν να δημιουργήσουν αρχεία γονιδιακής έκφρασης χρησιμοποιώντας τις δικές τους μεθόδους και να τις ανεβάσουν άμεσα στο InSyBio Data Store. Τα ανεβασμένα αρχεία πρέπει να είναι διαχωρισμένοι πίνακες με την πρώτη στήλη να αναφέρει το σύμβολο του γονιδίου ή το όνομα του και τις υπόλοιπες στήλες να περιέχουν διαφορετικά πειράματα, συνθήκες ή δείγματα.

#### *Κατασκευή δικτύων γονιδιακής συνέκφρασης*

Αρχεία γονιδιακής έκφρασης που είτε ανεβάστηκαν από τον χρήστη είτε δημιουργήθηκαν μέσω της ανάγνωσης αρχείων soft μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία δικτύων γονιδιακής συνέκφρασης με βαρύτητα. Έμπειροι χρήστες μπορούν να παραμετροποιήσουν τους αλγόριθμους που χρησιμοποιούνται σε αυτό το βήμα και να επιλέξουν τον αλγόριθμο που ταιριάζει πιο πολύ σε αυτούς με τις δύο επιλογές που προσφέρονται:

- Συσχέτιση Pearson: αυτή η μέθοδος προσθέτει μία άκρη σε ένα δίκτυο αν η συσχέτιση Pearson των κόμβων περνάει ένα κατώφλι.
- Αμοιβαία πληροφορία: αυτή η μέθοδος προσθέτει μία άκρη σε ένα δίκτυο αν η αμοιβαία πληροφορία των προφίλ έκφρασης δύο κόμβων περνάει ένα κατώφλι.

Τα κατώφλια για την προσθήκη ακρών δημιουργούνται δυναμικά για να επιλύσουν προβλήματα που προκύπτουν με την χρήση του ίδιου κατωφλιού για όλους τους κόμβους. Ειδικότερα, για τις τιμές ενός κόμβου η συσχέτιση Pearson/αμοιβαία πληροφορία σε σχέση με τους υπόλοιπους ακολουθούν κανονική κατανομή, τότε το κατώφλι για την προσθήκη ακρών επιλέγεται σε ένα προκαθορισμένο διάστημα

εμπιστοσύνης (90%, 95% ή 99%). Το διάστημα εμπιστοσύνης προκαθορίζεται σε 99% αλλά οι χρήστες μπορούν να αλλάξουν την τιμή για να λάβουν πυκνότερα ή αραιότερα δίκτυα. Για να αναγκάσουν τους κόμβους να έχουν ελάχιστο αριθμό ακρών, οι χρήστες μπορούν να καθορίσουν μία ελάχιστη τιμή για το κατώφλι της προσθήκης άκρης στο δίκτυο. Έμπειροι χρήστες μπορούν να φιλτράρουν ακόμα περισσότερο τους κόμβους, αλλάζοντας το κατώφλι της διαφορετικότητας της ελάχιστης έκφρασης ή το κατώφλι του ελάχιστου μέσου των τιμών λογαριθμημένης τιμής.

#### *Ανάλυση διαφορικής έκφρασης*

Μία άλλη δράση που μπορούν να κάνουν οι χρήστες εάν έχουν δύο αρχεία γονιδιακής έκφρασης είναι η ανάλυση διαφορικής έκφρασης για την ανακάλυψη βιοδεικτών. Έμπειροι χρήστες μπορούν να επιλέξουν μεταξύ των στατιστικών μεθόδων T-test και του Wilcoxon Rank Sum, ορίζοντας το κατώφλι του p-value. Η βασική μέθοδος και το κατώφλι που προτείνεται από την InSyBio είναι το Wilcoxon Rank sum με κατώφλι p-value ίσο με 0.05. Οι διορθώσεις Bonferoni εφαρμόζονται στον υπολογισμό του p-value για να μειώσουν τον αριθμό των false-positive προβλέψεων.

#### *Ανακάλυψη βιο-δεικτών*

Χρησιμοποιώντας τα InSyBio BioNets, οι χρήστες μπορούν να ανακαλύψουν βιοδείκτες με την εφαρμογή:

- Ανάλυση διαφορικής έκφρασης σε αρχεία γονιδιακής έκφρασης
- Σύγκριση βιολογικών δικτύων
- Ένωση βιοδεικτών διαφορικής έκφρασης και βιοδεικτών βασισμένων σε δίκτυα

Τα InSyBio BioNets εντοπίζουν αυτόματα τον τύπο των συμβόλων που χρησιμοποιούνται για τους κόμβους του δικτύου. Οι περισσότεροι τύποι συμβόλων υποστηρίζονται από το InSyBio για την δημιουργία αναφορών, και πιο ειδικά:

- Gene Symbols,
- Uniprot ids,
- Gene ids,
- EMBL ids,
- Refseq ids,
- RefseqNT ids,
- Kegg ids,
- Reactome ids, και πολλά άλλα (η λίστα επικαιροποιείται συνεχώς)

Όταν ο τύπος του συμβόλου εντοπίζεται, η αναφορά βιοδεικτών παρέχει πληροφορίες σχετικά με την σημαντικότητα του βιοδείκτη, συνδέσμους για το εργαλείο InSyBio Interact σχετικά με τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με τον βιοδείκτη, συνδέσμους για Genecards και OMIM και πληροφορίες για την προηγούμενη γνώση που σχετίζει τον συγκεκριμένο βιοδείκτη με ασθένειες και πληροφορίες που αλιεύονται από την βάση δεδομένων DisGeNet.

Οι βιοδείκτες διαφορικής έκφρασης μετρούνται με ενιαίο p-value σε δίκτυα με ένα όριο εμπιστοσύνης. Οι χρήστες έχουν την επιλογή να συνδυάσουν τα δύο πειράματα προβλέποντας συνδυασμούς βιοδεικτών, για τους οποίους τα BioNets χρησιμοποιούν συνδυασμένο διάστημα εμπιστοσύνης. Οι συνδυασμένοι βιοδείκτες έχουν σημαντικά διαφορετικά προφίλ έκφρασης για τις δύο συνθήκες που εξετάζονται και ο ρόλος τους στο δίκτυο αλλάζει ουσιαστικά.

#### *Βιοδείκτες διαφορικής έκφρασης*

Η διαφορική ανάλυση εκφράσεων προβλέπει διαφορικά εκφρασμένους βιοδείκτες.

#### *Βιοδείκτες από σύγκριση δικτύων*

Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι βιοδείκτες διαφορικής έκφρασης είναι πολύ μεγάλοι σε αριθμό, περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό false-positives και απεικονίζουν κυρίως το αποτέλεσμα του μηχανισμού ασθενείας και όχι την αιτία του. Για αυτό τον λόγο, η τρέχουσα πρακτική στην ανακάλυψη βιοδεικτών είναι ο εντοπισμός τους με την σύγκριση βιολογικών δικτύων. Τα βιολογικά δίκτυα αλλάζουν λίγο σε διαφορετικές βιολογικές καταστάσεις και αλλαγές σε αυτές συσχετίζονται με τις αιτίες των μηχανισμών ασθενείας με υψηλή πιθανότητα.

Όταν έχουμε δύο βιολογικά δίκτυα με διαφορετικές καταστάσεις, οι χρήστες μπορούν να τα χρησιμοποιήσουν για να προβλέψουν βιοδείκτες με την καινοτόμα μεθοδολογία της InSyBio. Πιο ειδικά, μία συγκεκριμένη παράμετρο του δικτύου επιλέγεται και τα InSyBio BioNets προσπαθούν να εντοπίσουν τους κόμβους με σημαντικά αλλαγμένη τιμή για την συγκεκριμένη παράμετρο. Έτσι, η προσέγγιση βρίσκει κόμβους των οποίων ο ρόλος έχει αλλάξει σημαντικά ανάμεσα στις διαφορετικές καταστάσεις. Οι έμπειροι χρήστες μπορούν να επιλέξουν ειδικά την παράμετρο αυτή από τις κάτωθι:

- Degree Centrality
- Clustering Coefficient
- Pagerank method



Η μέθοδος Pagerank είναι η βασική μέθοδος. Η μέθοδος ενεργοποιεί τυχαίους walkers από κάθε κόμβο. Οι σημαντικοί κόμβοι συλλέγουν περισσότερη πληροφορία από τις ποσότητες των τυχαίων walkers με τον χρόνο. Οι έμπειροι χρήστες μπορούν επίσης να επιλέξουν το διάστημα εμπιστοσύνης για την παραμετροποίηση του κατωφλιού για την ανάδειξη ενός κόμβου σε βιοδείκτη. Υψηλά διαστήματα εμπιστοσύνης οδηγούν σε καλύτερα σετ βιοδεικτών.

#### *Ενοποίηση βιοδεικτών*

Οι χρήστες μπορούν να επιλέξουν την ενοποίηση αποτελεσμάτων βιοδεικτών των δύο μεθόδων ανάλυσης. Στην πραγματικότητα, οι πραγματικοί βιοδείκτες πρέπει να έχουν διαφορετικά προφίλ έκφρασης στις εξεταζόμενες βιολογικές συνθήκες και ο ρόλος τους στα βιολογικά δίκτυα πρέπει να αλλάζει σημαντικά προκειμένου να διασφαλίζεται η εξακρίβωση της πραγματικής αιτίας της βιολογικής διαφοροποίησης της κατάστασης και όχι το αποτέλεσμα αυτής της διαφοροποίησης.

#### *Αναφορά βιοδεικτών*

Οι χρήστες επιτρέπεται να κατεβάσουν λεπτομερείς αναφορές για τους εξαχθέντες βιοδείκτες.

#### *Προγραμματιστής εργασιών Bionets*

Η ανάλυση βιολογικών δικτύων και των δεδομένων γενετικής έκφρασης περιέχει βήματα με υψηλή ένταση χρόνου. Για να αντιμετωπιστεί αυτή η περιπλοκότητα, τα InSyBio BioNets προσφέρουν έναν απλό και φιλικό προς τον χρήστη προγραμματιστή εργασιών. Οι χρήστες μπορούν να αρχίσουν όσες εργασίες χρειάζεται και να παρακολουθούν την εξέλιξη των εργασιών αυτών χρησιμοποιώντας τον προγραμματιστή. Όταν μία εργασία ολοκληρώνεται ενημερώνονται με e-mail ή ειδοποίηση στο μενού του InSyBio BioNets, εάν είναι συνδεδεμένοι. Τα αποτελέσματα και τα μετά-δεδομένα σχετικά με την εκτέλεση των εργασιών της ανάλυσης είναι προσβάσιμα μέσω του προγραμματιστή.

### 3.4 DAVID – Σχολιασμός λειτουργίας (Functional Annotation)

Η βάση δεδομένων DAVID (Database for Annotation, Visualization και Integrated Discovery) ξεκίνησε το 2003 (Dennis et al., 2003) και μαζί με μια σειρά άλλων παρόμοιων εργαλείων, όπως το GoMiner, GOstat, Onto-express, GoToolbox, FatiGO, GFINDER, GOBAr και το GSEA, προσπαθεί να αντιμετωπίσει το «πρόβλημα» της ανάλυσης της λειτουργίας μεγάλων λιστών γονιδίων. Αποτελεί ένα διαδικτυακό εργαλείο και, όπως όλα τα παραπάνω εργαλεία, έτσι και αυτό, ακολουθεί την μέθοδο της συστηματικής χαρτογράφησης ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων σε λίστα, που παρουσιάζουν ενδιαφέρον, με το αντίστοιχο βιολογικό ρόλο τους (π.χ. γενετική οντολογία) και, στην συνέχεια, τονίζει βάση στατιστικής τις περισσότερες εκπροσωπούμενες ή εμπλουτισμένες βιολογικές λειτουργίες. Έτσι, παρέχει την δυνατότητα για:

- Αναγνώριση εμπλουτισμένων βιολογικών θεμάτων, ειδικότερα όρων γενετικής οντολογίας (GO terms)
- Εύρεση λειτουργικά σχετιζόμενων γονιδιακών ομάδων που παρουσιάζουν εμπλουτισμό
- Οπτικοποίηση γονιδίων με βάση τους χάρτες μονοπατιών BioCarta και KEGG
- Δισδιάστατη απεικόνιση αντιστοίχισης πολλαπλών γονιδίων με πολλαπλούς όρους
- Εύρεση άλλων λειτουργικά σχετιζόμενων γονιδίων που δεν εμπεριέχονται στην αρχική λίστα
- Καταγραφή σε λίστες των πρωτεϊνών που αλληλοεπιδρούν
- Ομαδοποίηση όρων σχολιασμού (annotation terms) για τους οποίους υπάρχει νοηματική αλληλοεπικάλυψη
- Συσχέτιση γονιδίων με ασθένειες
- Επισήμανση των λειτουργικών περιοχών και μοτίβων των πρωτεϊνών
- Μετατροπή μεταξύ των διαφορετικών τύπων των γονιδιακών αναγνωριστικών (gene identifiers)

- Ανακατεύθυνση του χρήστη σε σχετική βιβλιογραφία

Το εργαλείο DAVID αποτελείται από τέσσερις κύριες λειτουργικές μονάδες: το Annotation Tool, το GoCharts, το KeggCharts και το DomainCharts. Το Annotation Tool είναι μία αυτοματοποιημένη μέθοδος για τον σχολιασμό της λειτουργίας γονιδίων σε μία δεδομένη λίστα. Κάθε πιθανός συνδυασμός των δεδομένων σχολιασμού μπορεί να επιλεγεί μέσα από 10 διαθέσιμες «πηγές», όπως η GenBank, η RefSeq, η OMIM κ.α. Οι σχολιασμοί μπορούν να προστεθούν άμεσα και εύκολα στην καταχωρημένη λίστα γονιδίων και, στην συνέχεια, παρέχεται πίνακας σε μορφή HTML που περιέχει τόσο την αυθεντική λίστα του χρήστη όσο και τους νεοεισαχθέντες σχολιασμούς λειτουργίας από τις πηγές που επέλεξε ο χρήστης καθώς και γονίδια για τα οποία δεν υπάρχει νέα πληροφορία σχολιασμού. Η μονάδα GoCharts παρουσιάζει, με την χρήση γραφικών στοιχείων, την κατανομή των διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων μεταξύ των διαφορετικών κατηγοριών λειτουργίας χρησιμοποιώντας το ελεγχόμενο λεξιλόγιο του Gene Ontology Consortium (GO). Αυτό παρέχει μία δομημένη γλώσσα που μπορεί να εφαρμοστεί στις λειτουργίες των γονιδίων και των πρωτεϊνών όλων των οργανισμών ακόμη κι αν η γνώση που παράγεται γύρω από αυτά συνεχίζει να συσσωρεύεται ή να αλλάζει. Η μονάδα KeggCharts απεικονίζει κι αυτή με την χρήση γραφικών στοιχείων την κατανομή των διαφορετικά εκφραζόμενων γονιδίων, όμως αναφορικά με τα βιοχημικά μονοπάτια KEGG. Κάθε μονοπάτι συνδέεται με τον χάρτη μονοπατιών KEGG, όπου τα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια της λίστας που εισάγει ο χρήστης τονίζονται χρωματικά (κόκκινο) και συνδέονται με περαιτέρω δεδομένα σχολιασμού διαθέσιμα μέσω του συστήματος ανάκτησης KEGG DBGET. Τέλος, η μονάδα DomainCharts βοηθά στην απεικόνιση της κατανομής των διαφορετικά εκφραζόμενων γονιδίων, αλλά αυτή την φορά σε σχέση με τις περιοχές των πρωτεϊνών PFAM. Κάθε ονομασία δομής συνδέεται με την βάση δεδομένων Conserved Domain Database (CDD) του NCBI, όπου βρίσκονται διαθέσιμες οι πληροφορίες για την λειτουργία, την δομή και την αλληλουχία των διαφόρων περιοχών. Οι τρεις τελευταίες μονάδες μοιράζονται τα ίδια δυναμικά στοιχεία οπτικοποίησης και επιτρέπουν στον χρήστη τον ορισμό παραμέτρων για την ταξινόμηση των εξερχόμενων δεδομένων και την απεικόνιση των κατηγοριών που περιέχουν έναν ελάχιστο αριθμό γονιδίων.

---

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα

---

### 4.1 GSE21059 – Alpha Particles

Το αρχείο αυτό περιέχει 72 συνολικά δείγματα, 4 αντίστοιχες βιολογικές επαναλήψεις κυττάρων IMR90 που δεν είχαν ακτινοβοληθεί, που είχαν ακτινοβοληθεί (50 cGy 4He ions (125 keV per micron), και Bystander. Τα κύτταρα συλλέχθηκαν στα διαστήματα μισή ώρα (0.5hr), μία (1) ώρα, δύο (2) ώρες, τέσσερις (4) ώρες, έξι (6) ώρες και εικοσιτέσσερις (24) ώρες κατόπιν θεραπείας.

Τα δείγματα ομαδοποιήθηκαν σε εννέα ομάδες βάσει της ακτινοβολήσης ή μη και βάσει την ώρα που συλλέχθηκαν. Υπάρχει μια ομάδα με 16 δείγματα που περιλαμβάνει τα κύτταρα που συλλέχθηκαν στην μισή ώρα, την μία ώρα, τις δύο ώρες και τις τέσσερις ώρες για τα ακτινοβολημένα δείγματα, τα μη ακτινοβολημένα και τα Bystander αντίστοιχα. Οι άλλες δύο ομάδες δειγμάτων αφορούν στα κύτταρα που συλλέχθηκαν στις 6 (4 δείγματα) και στις 24 ώρες (4 δείγματα). Στον παρακάτω Πίνακα 4.1 φαίνονται οι ομάδες των δειγμάτων ανά κατηγορία.

*Πίνακας 4: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.*

GSE21059	0.5 – 4 ώρες	6 ώρες	24 ώρες
non-irradiated	16	16	16
Bystander	4	4	4
irradiated	4	4	4

#### 1<sup>ο</sup> Βήμα – Εξαγωγή gene co-expression network

Το πρώτο βήμα είναι η εξαγωγή gene co-expression network για κάθε ομάδα (όπως έχει αναλυθεί στο κεφάλαιο 3). Στον Πίνακα 5 αναγράφεται ο συντελεστής Pearson ανά ομάδα δειγμάτων που επιλέχθηκε εν τέλει και αντίστοιχα ο αριθμός των ακμών του δικτύου για τον επιλεγμένο συντελεστή Pearson. Ο κατάλληλος συντελεστής Pearson επιλέγεται με βάση τον αριθμό των ακμών. Ο αριθμός των ακμών πρέπει να είναι περίπου 6-10 φορές ο αριθμός των γονιδίων. Όταν δεν πετυχαίνουμε αυτήν την αναλογία ακμών - κορυφών τότε επιλέγουμε ως κατώφλι τον συντελεστή Pearson 0.8.

Δεν χρησιμοποιείται χαμηλότερο κατώφλι γιατί τότε θα εμφανιστούν αρκετά false positives edges στα αρχεία με λίγα δείγματα ανά κατηγορία.

*Πίνακας 5: Ο επιλεγμένος συντελεστής Pearson για κάθε ομάδα δειγμάτων και ο αντίστοιχος αριθμός ακμών του δικτύου, με βάση τον οποίο γίνεται και η επιλογή του συντελεστή.*

Ομάδα	Συντελεστής Pearson	Αριθμός ακμών
Non-irradiated: 0.5-4hr	0,8	43436
Non-irradiated: 6hr	0,8	26977
Non-irradiated: 24hr	0,8	34510
Bystander: 0.5-4hr	0,8	57659
Bystander: 6hr	0,8	66816
Bystander: 24hr	0,8	12602
Irradiated: 0.5-4hr	0,8	66816
Irradiated: 6hr	0,8	12796
Irradiated: 24hr	0,8	53835

## 2<sup>ο</sup> Βήμα - Ανάλυση δικτύου

Στο δεύτερο βήμα γίνεται η ανάλυση των δικτύων για τις 9 ομάδες κατηγοριοποίησης. Στους πίνακες και στις εικόνες παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης. Σε κάθε πίνακα αναγράφονται τα 10 πιο σημαντικά nodes για κάθε ομάδα και οι αντίστοιχες μετρικές τους (π.χ p-value).

*Πίνακας 6: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated:0.5-4 hr*

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>FASN</b>	0.01719901	0.02852986	0.00161651	5.09093735368e-29
<b>ACRC</b>	0.01053001	0.03881744	0.00148521	2.61029210158e-24
<b>CHPF</b>	0.01404001	0.02888077	0.00131328	8.24253145417e-19
<b>TEAD2</b>	0.01316251	0.03767297	0.00129547	2.77169537898e-18
<b>SEPT9</b>	0.00737100	0.04027633	0.00127955	8.06253917581e-18

<b>EML3</b>	0.01140751	0.03140430	0.00116986	8.43551240492e-15
<b>CYP2R1</b>	0.00877500	0.02778556	0.00111089	2.64904555095e-13
<b>CDH4</b>	0.01649701	0.01928695	0.00107472	1.98350435756e-12
<b>PPP5C</b>	0.00807300	0.04229516	0.00107382	2.0827627246e-12
<b>FKBP8</b>	0.00965250	0.04482027	0.00106393	3.56234977866e-12

*Πίνακας 7: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated: 6 hr*

<b>Node</b>	<b>Degree Centrality</b>	<b>Clustering Coefficient</b>	<b>Pagerank Centrality</b>	<b>P-value</b>
<b>TMPRSS2</b>	0.16494845	0.03260139	0.00784834	1.02330897449e-14
<b>C19orf46</b>	0.23402061	0.01429262	0.00749327	2.09278678901e-13
<b>C17orf103</b>	0.17628865	0.04148123	0.007151061	3.31091313361e-12
<b>PRG3</b>	0.13402061	0.06962678	0.005345746	6.46813991369e-07
<b>EYA4</b>	0.11649484	0.05573429	0.004993334	4.38517430596e-06
<b>HERPUD1</b>	0.15463917	0.02442168	0.004936506	5.88723965921e-06
<b>STX11</b>	0.11546391	0.04864194	0.004605934	3.02373965981e-05
<b>S100P</b>	0.18762886	0.01269257	0.004550439	3.92873613048e-05
<b>PPY2</b>	0.11855670	0.05013687	0.004448851	6.28422797735e-05
<b>KGFLP1</b>	0.11649484	0.01887540	0.004041078	0.000365868707545

Πίνακας 8: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated: 24 hr

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>GSTCD</b>	0.07624633	0.03852880	0.00393950	4.46067043332e-06
<b>ZC3H12A</b>	0.20527859	0.03630517	0.00348372	8.54594026199e-05
<b>NDUFA3</b>	0.20234604	0.05442048	0.00327916	0.000278361344006
<b>C19orf73</b>	0.20039100	0.03620252	0.00305681	0.000908739873461
<b>NEDD9</b>	0.17595307	0.02896911	0.00298990	0.00127126637172
<b>CXCL2</b>	0.20234604	0.03682792	0.00297908	0.00134099012893
<b>SAMD9</b>	0.1661779	0.04879232	0.00278704	0.00332254635369
<b>TNS4</b>	0.19159335	0.03668156	0.00276387	0.00368785618699
<b>SLC39A8</b>	0.17302052	0.03832479	0.00273848	0.00412915190846
<b>RACGAP1P</b>	0.06549364	0.03618655	0.00273083	0.00427100864121

Πίνακας 9: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander: 0.5 - 4 hr

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>MYB</b>	0.01470040	0.093134	0.00267183	2.65215528361e-69
<b>FKBP8</b>	0.02046892	0.032405871	0.00197820	5.07905706001e-37
<b>BGN</b>	0.01414216	0.043306341	0.00184125	7.14478713497e-32
<b>SOCS5</b>	0.00632675	0.008165829	0.00152055	2.14420640514e-21
<b>GSPT1</b>	0.0107927	0.022318546	0.00130663	1.24169815355e-15
<b>SLC4A2</b>	0.01525865	0.023192404	0.00121966	1.43667561292e-13
<b>FUBP3</b>	0.00837365	0.007283377	0.00116661	2.17148395571e-12
<b>TBX4</b>	0.01563081	0.028866337	0.00110924	3.50703251411e-11
<b>DIO2</b>	0.0078154	0.068942947	0.00109991	5.43203028453e-11
<b>FSCN1</b>	0.01656122	0.020252315	0.00109811	5.90622664214e-11

Πίνακας 10: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander: 6 hr

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>FKBP8</b>	0.01820128	0.032309579	0.00205932	3.64186328904e-46
<b>MYB</b>	0.01302640	0.069192821	0.00164561	7.07583316314e-29
<b>PRG4</b>	0.01284796	0.022771498	0.00143084	1.45405111382e-21
<b>TMEM214</b>	0.01534618	0.028443989	0.00138184	4.70215777515e-20
<b>CFD</b>	0.01213418	0.04027729	0.00119812	6.43890585156e-15
<b>OVGP1</b>	0.00802997	0.02752013	0.001170477	3.23744753719e-14
<b>DIO2</b>	0.00892219	0.030457447	0.001062508	1.17800772202e-11
<b>PMP22</b>	0.02658815	0.014657115	0.001047554	2.53208708403e-11
<b>MAN1C1</b>	0.01623840	0.017518528	0.000989317	4.42498085354e-10
<b>FSCN1</b>	0.00963597	0.033661202	0.000950453	2.68723329155e-09

Πίνακας 11: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander: 24 hr

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>LCE3C</b>	0.11516853	0.17139544	0.00773393	6.30364108011e-05
<b>MLXIPL</b>	0.10674153	0.223641	0.00720151	0.000312894543077
<b>SLC25A41</b>	0.08146067	0.531936	0.00570267	0.0120597019345
<b>KAT2B</b>	0.44662921	0.1494203	0.00566803	0.0129303492795



Πίνακας 12: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 0.5 - 4 hr

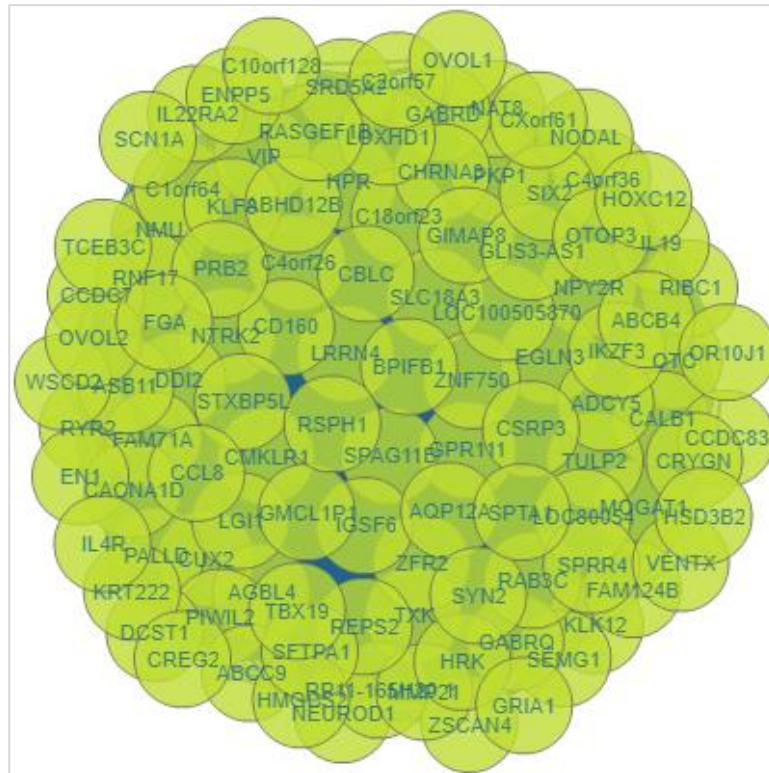
Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>FKBP8</b>	0.01820128	0.03230957	0.00205932	3.64186328904e-46
<b>MYB</b>	0.01302640	0.06919282	0.001645614	7.07583316314e-29
<b>PRG4</b>	0.01284796	0.02277149	0.001430845	1.45405111382e-21
<b>TMEM214</b>	0.01534618	0.02844398	0.001381844	4.70215777515e-20
<b>CFD</b>	0.01213418	0.04027729	0.001198120	6.43890585156e-15
<b>OVGP1</b>	0.00802997	0.02752013	0.001170477	3.23744753719e-14
<b>DIO2</b>	0.00892219	0.03045744	0.0010625022	1.17800772202e-11
<b>PMP22</b>	0.02658813	0.01465711	0.00104755	2.53208708403e-11
<b>MAN1C1</b>	0.0162384	0.01751852	0.00098931	4.42498085354e-10
<b>FSCN1</b>	0.00963597	0.03366120	0.00095045	2.68723329155e-09

Πίνακας 13: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 6 hr

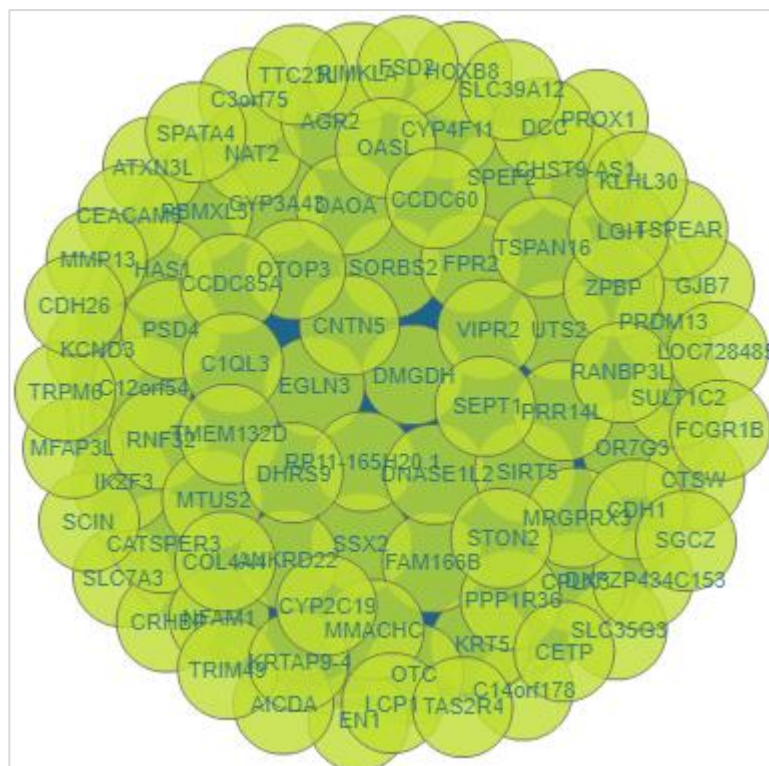
Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>KRT4</b>	0.11340206	0.08988352	0.00859166	2.84130516047e-09
<b>INCENP</b>	0.10721649	0.07213764	0.00789364	9.77937265227e-08
<b>CSF2RB</b>	0.10103092	0.16095595	0.00728379	1.58314714891e-06
<b>TBC1D2B</b>	0.09690721	0.12358010	0.00677219	1.31364425317e-05
<b>IRF5</b>	0.08865979	0.13331506	0.00587602	0.000331375038982
<b>MFF</b>	0.07835051	0.23208486	0.00561716	0.000752447359656
<b>POFUT1</b>	0.07835051	0.24633404	0.00558694	0.000825358255316
<b>DLX3</b>	0.08247422	0.14956729	0.00545107	0.00124046902016
<b>PRELP</b>	0.07216494	0.11780234	0.00518962	0.00261480925079
<b>HDHD1</b>	0.06597938	0.11048327	0.00511095	0.0032404967418

Πίνακας 14: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 24 hr

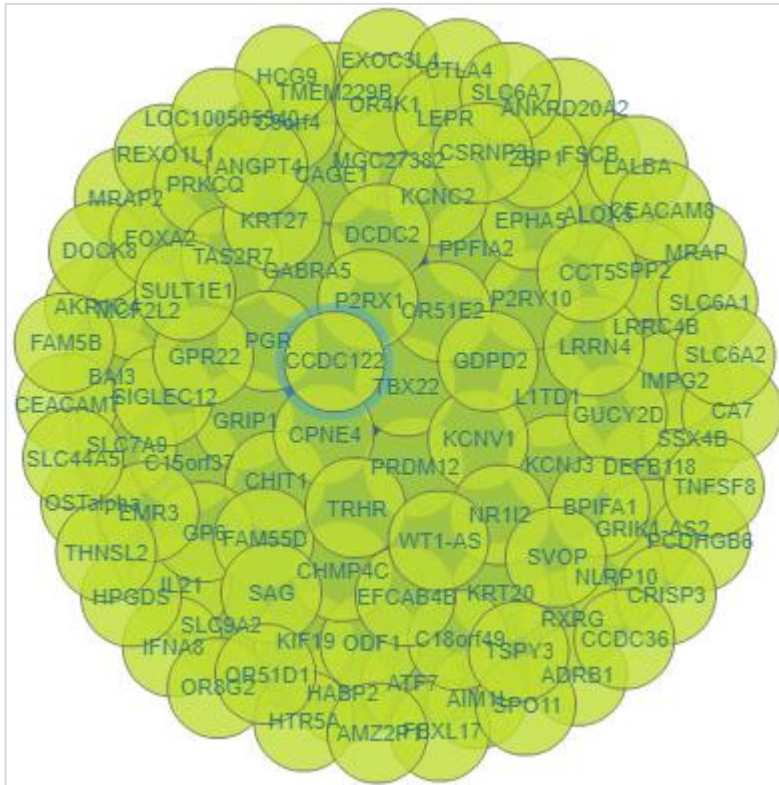
Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>ZBTB44</b>	0.10904872	0.01490560	0.00483220	4.58540475417e-21
<b>FMO3</b>	0.09106728	0.0629669	0.00354975	3.35682899229e-11
<b>CDC42BPA</b>	0.08236658	0.05944204	0.00294906	9.60293201131e-08
<b>IL36G</b>	0.12935034	0.06470405	0.00276506	7.83458650731e-07
<b>LRRK2</b>	0.12761020	0.06548914	0.00269027	1.75779169858e-06
<b>LINC00472</b>	0.11774941	0.08435013	0.00253772	8.42845043565e-06
<b>FOXP4</b>	0.11368909	0.10586909	0.00245671	1.85468260078e-05
<b>FAM71F1</b>	0.10962877	0.11592932	0.00233225	5.87296311418e-05
<b>GREB1</b>	0.06264501	0.05992480	0.00230795	7.2947601448e-05
<b>P2RX6</b>	0.10788863	0.11544333	0.00225920	0.000111766322487



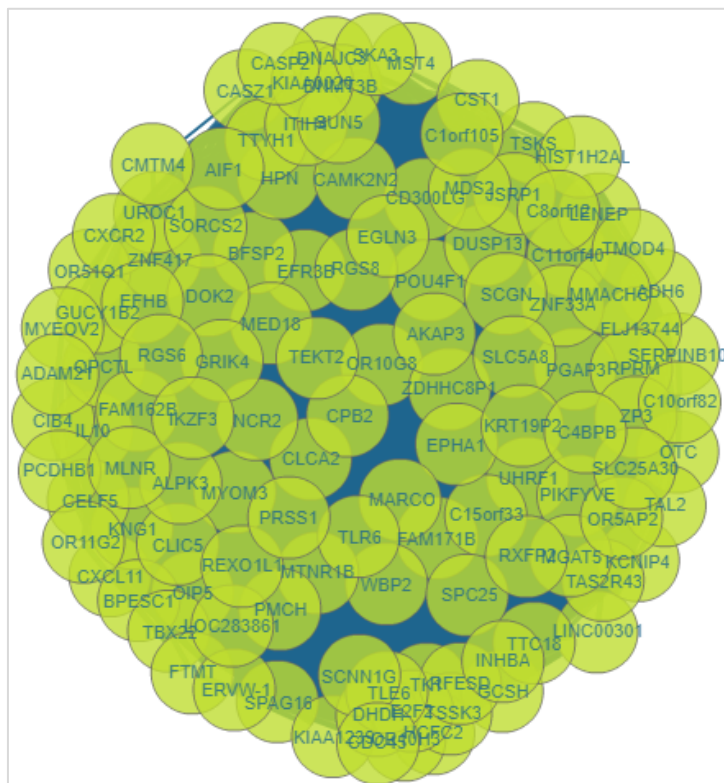
Εικόνα 6: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 4hr



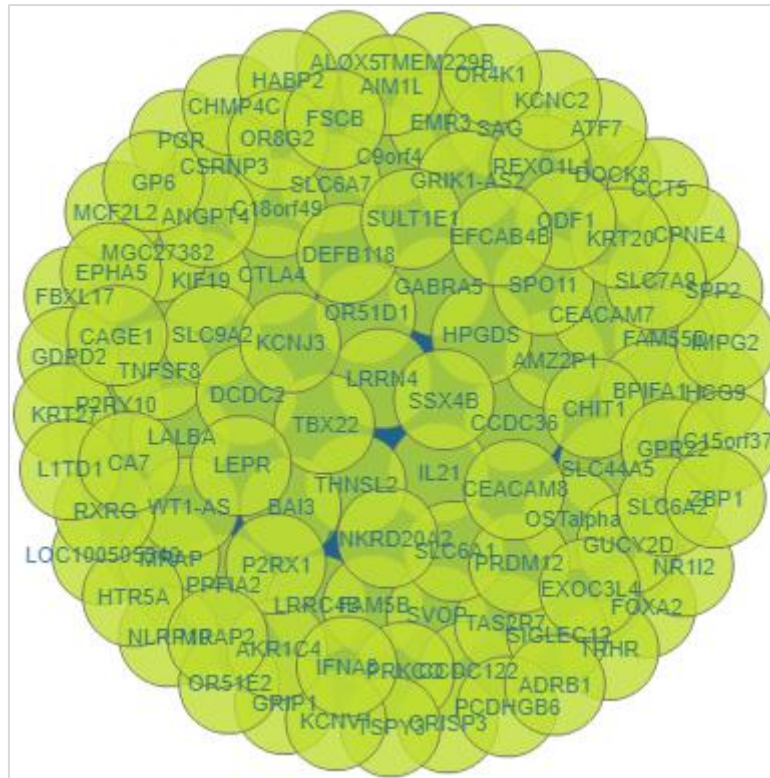
Εικόνα 7: Τοπολογία δικτύου Bystander: 4hr



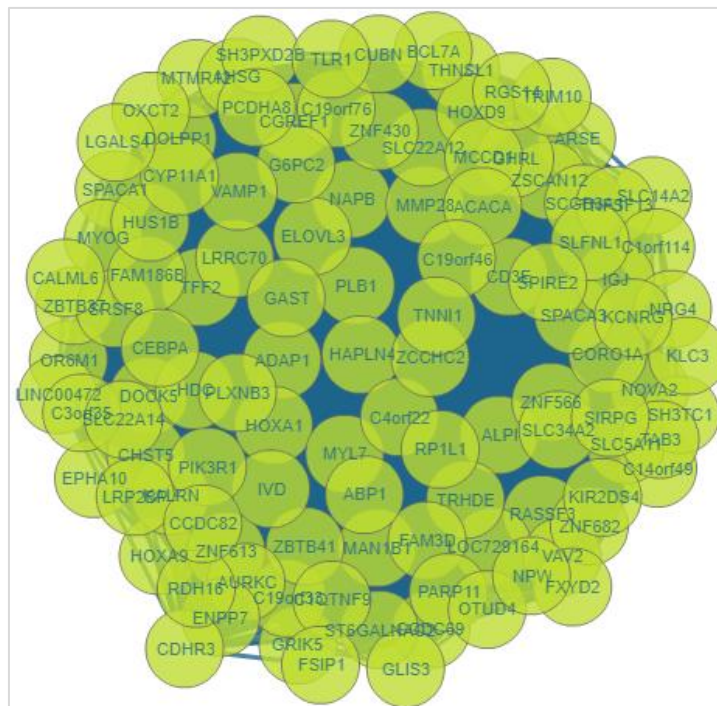
Εικόνα 8: Τοπολογία δικτύου Irradiated 4hr



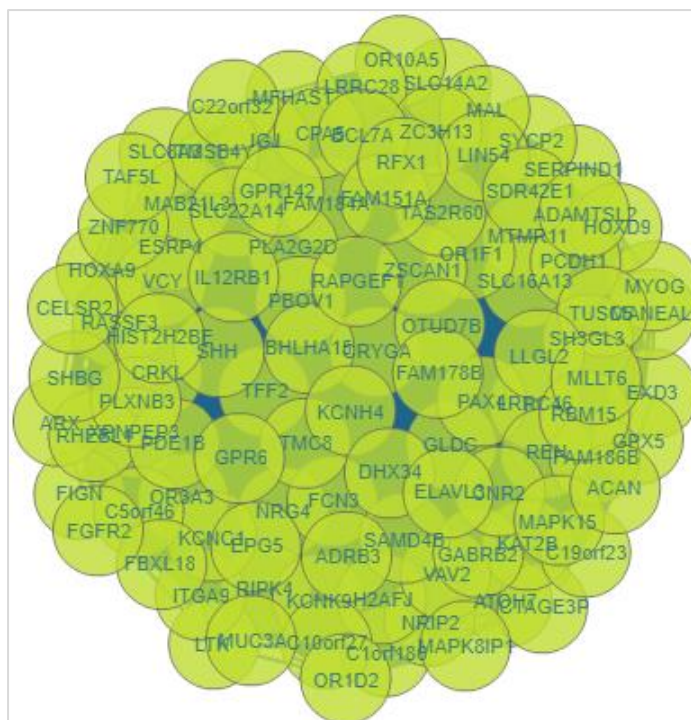
Εικόνα 9: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 6hr



Εικόνα 10: Τοπολογία δικτύου Bystander: 6hr



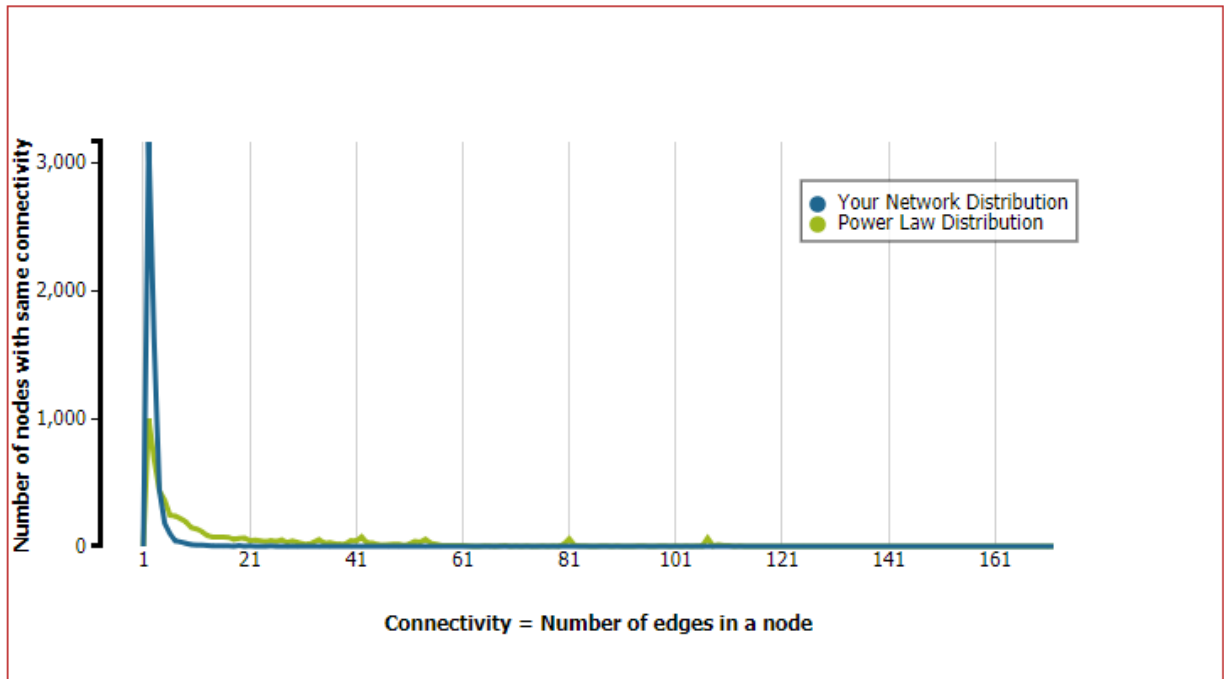
Εικόνα 11: Τοπολογία δικτύου Irradiated: 6hr



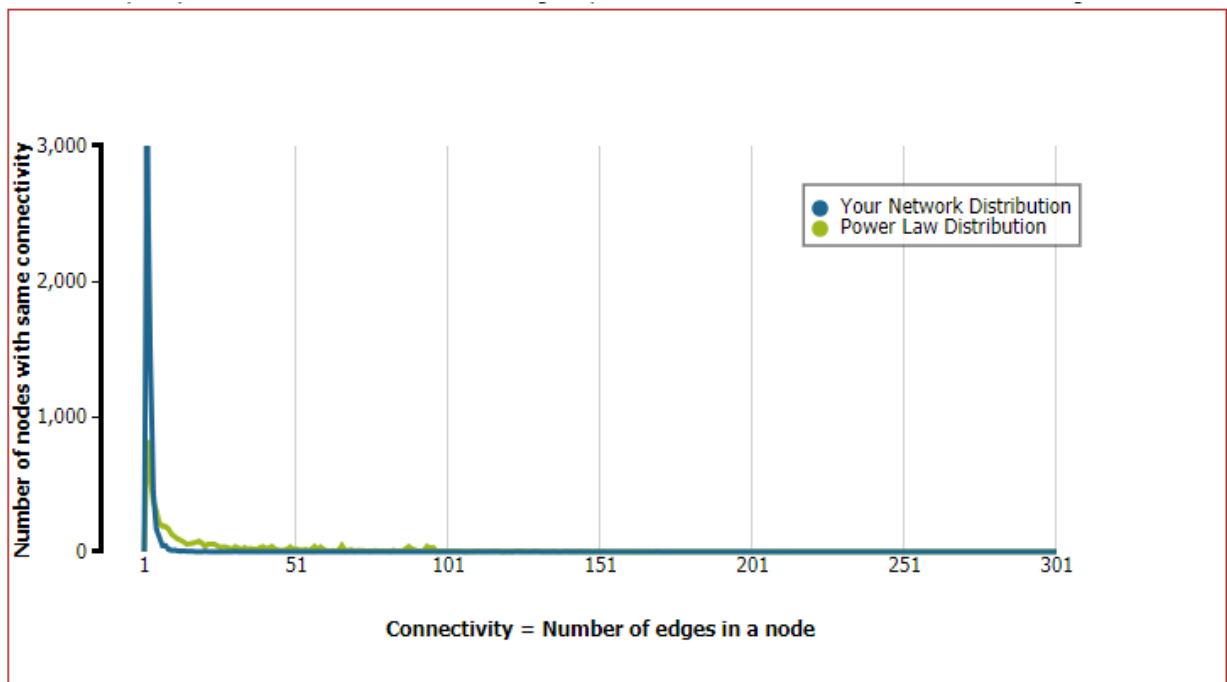
Εικόνα 12: Τοπολογία δικτύου Bystander: 24 hr

#### 4.1.1 Νόμοι δύναμης – Power Laws

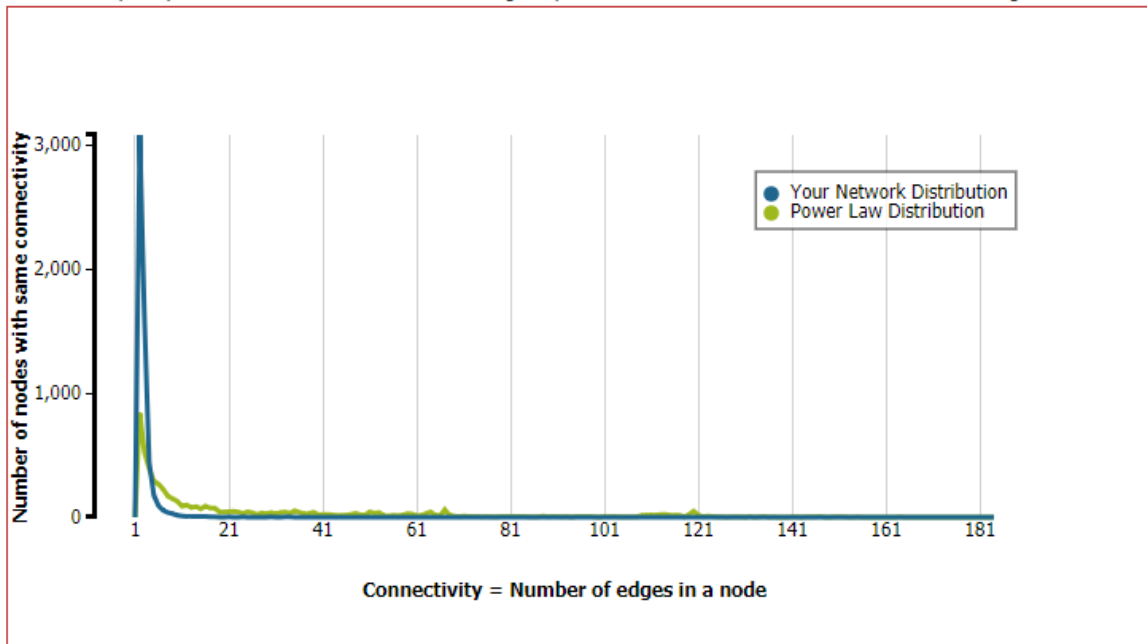
Στην στατιστική, ένας νόμος δύναμης είναι μία συναρτησιακή σχέση μεταξύ δύο ποσοτήτων, όπου η σχετική μεταβολή της μίας προκαλεί την αναλογική μεταβολή της άλλης, ανεξαρτήτως από το αρχικό μέγεθος των δύο ποσοτήτων. Ενδεικτικά παραδείγματα αποτελούν η επιφάνεια του τετραγώνου και ο όγκος του κύβου. Στο πρώτο, αν διπλασιαστεί το μήκος, η συνολική επιφάνεια τετραπλασιάζεται, ενώ στο δεύτερο, διπλασιάζοντας το μήκος της μία πλευράς, ο συνολικός όγκος οχταπλασιάζεται. Και στις δύο περιπτώσεις, ωστόσο, τα αρχικά μεγέθη δεν επηρεάζουν την σχέση των παραγόντων. Ένα νόμος δύναμης μπορεί να μετατραπεί σε γραμμική σχέση αν απεικονιστούν οι μεταβλητές σε διάγραμμα με λογαριθμικούς άξονες. Με αυτόν τον τρόπο απεικόνισης είναι δυνατό να καθοριστεί αν δύο ποσότητες έχουν μεταξύ τους μία σχέση νόμου δύναμης. Η σημασία των νόμων δύναμης έγκειται στο ότι είναι ικανοί να αναδείξουν την υποβόσκουσα κανονικότητα των ιδιοτήτων ενός συστήματος. Πολύ συχνά, περίπλοκα συστήματα έχουν ιδιότητες τέτοιες, όπου οι αλλαγές μεταξύ των φαινομένων στις διαφορετικές κλίμακες είναι ανεξάρτητες από τις συγκεκριμένες κλίμακες τις οποίες εξετάζουμε. Έτσι, η εικόνα που παίρνουμε μελετώντας ένα φαινόμενο σε μία κλίμακα είναι κατά κάποιον τρόπο παρόμοια με την εικόνα που θα παίρναμε μελετώντας το ίδιο φαινόμενο και σε διαφορετική κλίμακα.



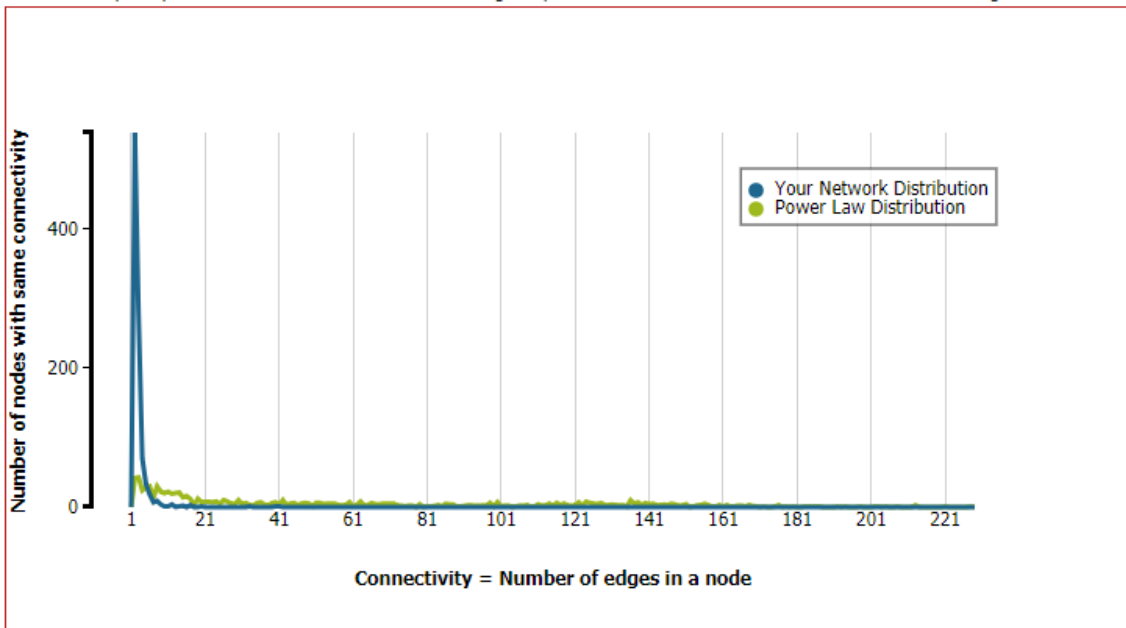
Εικόνα 13: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-irradiated 4h



Εικόνα 14: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 4h

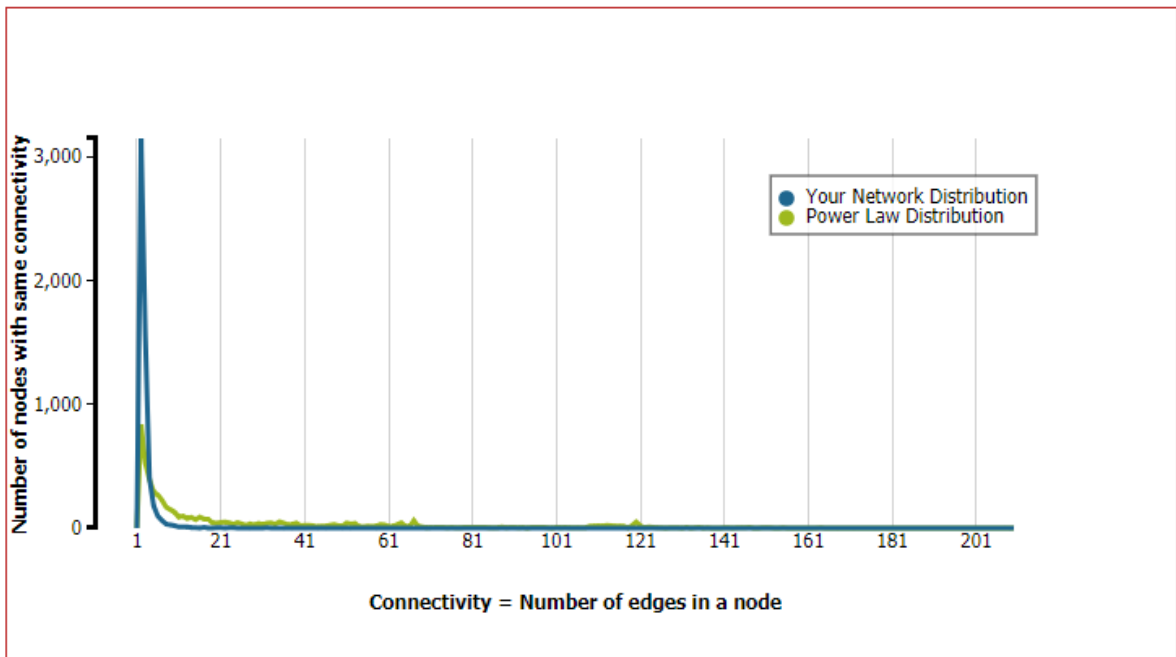


Εικόνα 15: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 6h

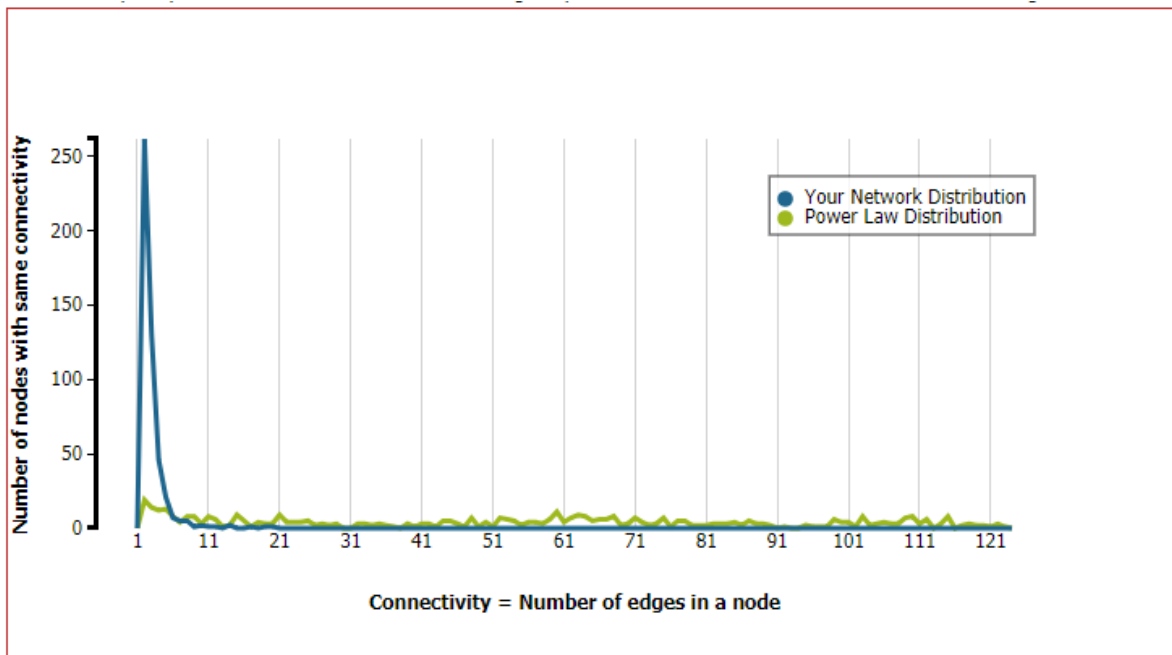


Εικόνα 16: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-Irradiated 6h

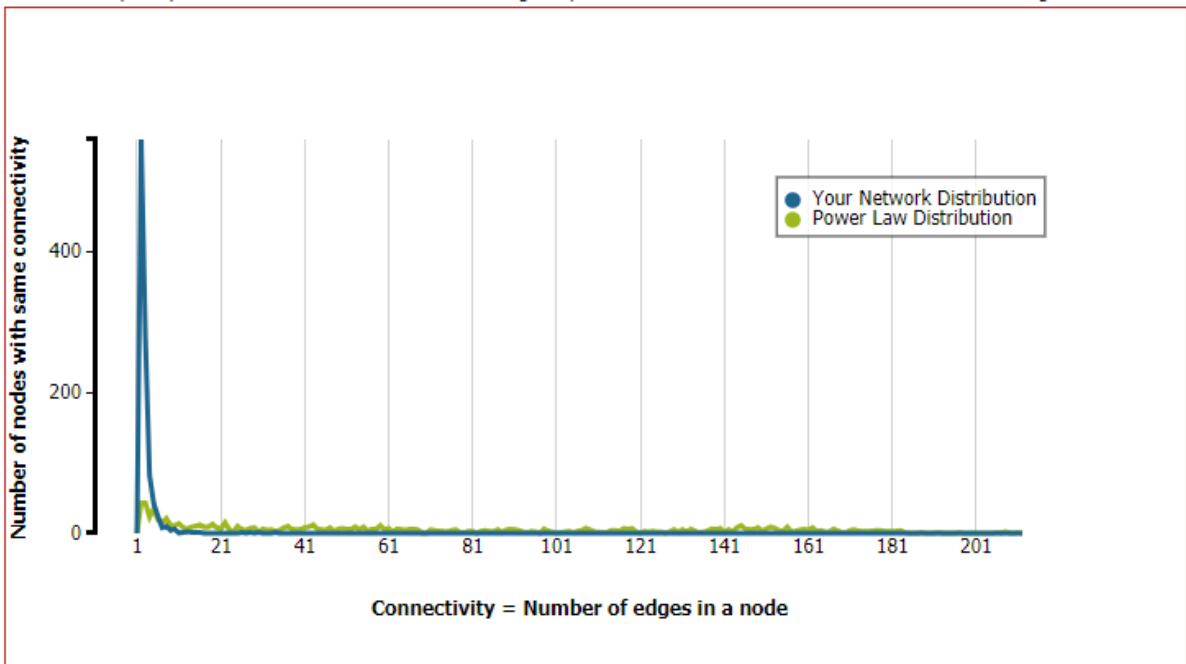




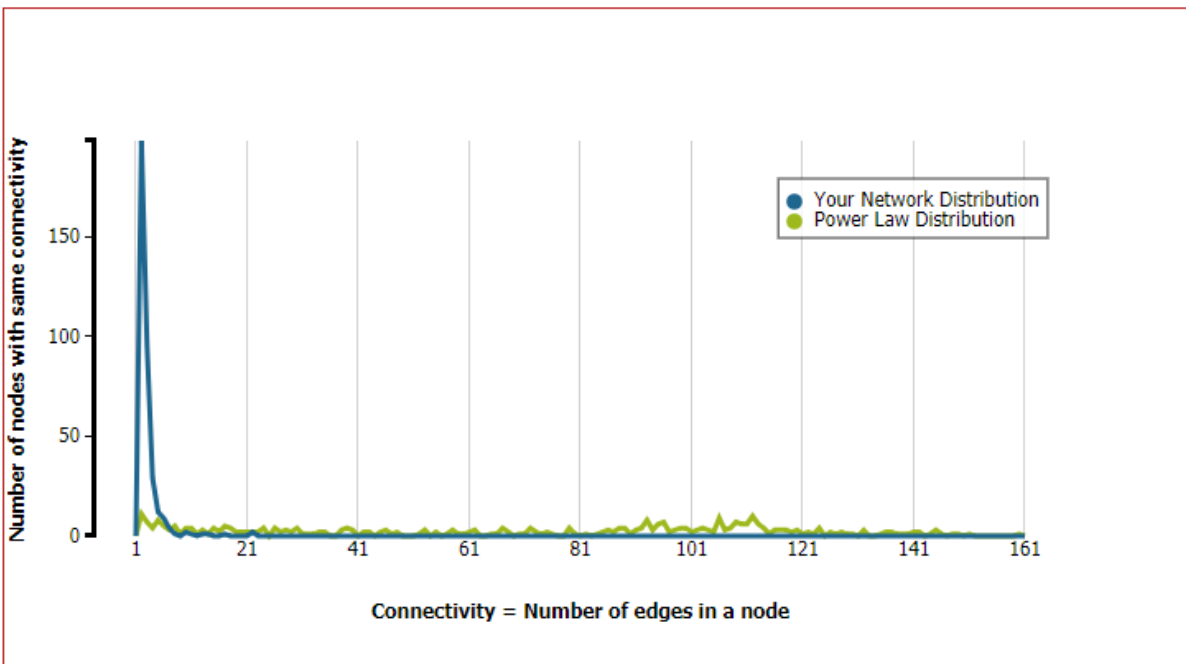
Εικόνα 17: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 6h



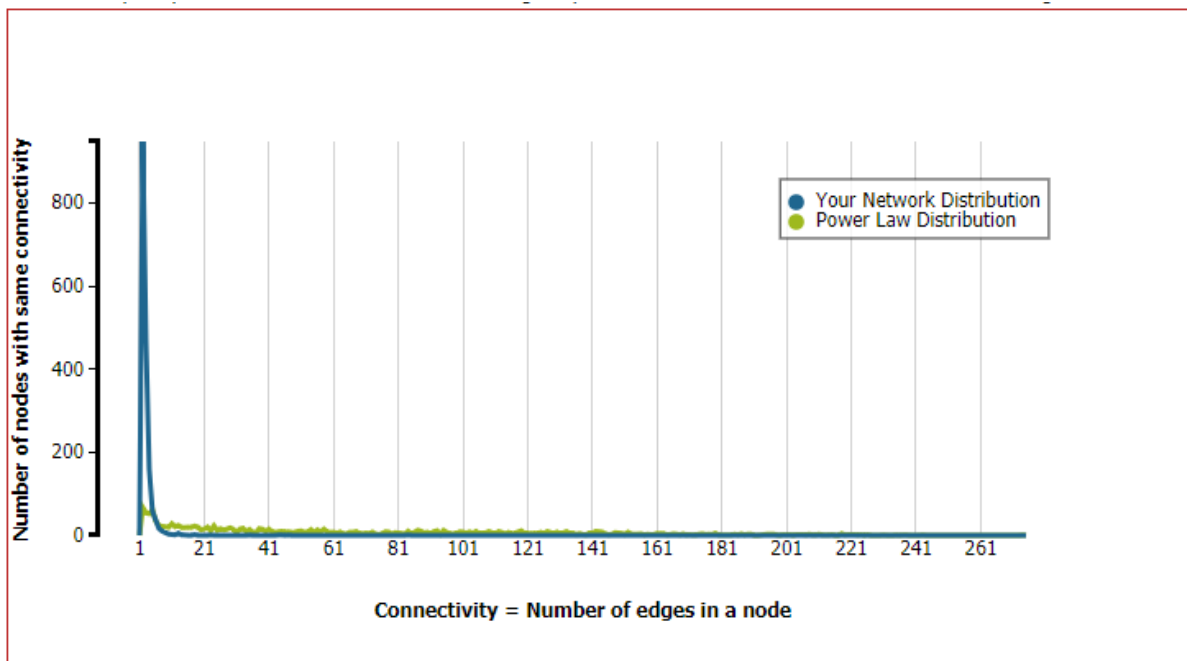
Εικόνα 18: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 6h



Εικόνα 19: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-Irradiated 24h



Εικόνα 20: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 24h



Εικόνα 21: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 24h

### 3<sup>ο</sup> Βήμα – Εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες)

Στο τρίτο βήμα πραγματοποιείται εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες) με Wilcoxon Rank Sum test και Sign Threshold: 0.05. Οι συγκρίσεις που έγιναν ήταν δύο κατηγοριών. Έγινε σύγκριση για τα τρία γκρουπ μεταξύ των ομάδων δειγμάτων για 0.5 έως 4 ώρες και 6 ώρες και μεταξύ των ομάδων για 0.5 ώρες έως 4 ώρες και 24 ώρες. Το δεύτερο είδος σύγκρισης πραγματοποιήθηκε μεταξύ μη ακτινοβολημένων δειγμάτων, Bystander δειγμάτων και ακτινοβολημένων δειγμάτων ανά ομάδα ώρας. Παρουσιάζονται ενδεικτικά οι 10 πρώτοι βιοδείκτες. Πρώτα παρουσιάζονται οι συγκρίσεις μεταξύ των ωρών και έπειτα οι συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων, Bystander και ακτινοβολημένων.

Πίνακας 15: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.

Non-Irradiated : 0.5-4 hr – 6 hr		Non-Irradiated : 0.5-4 hr – 24 hr	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
<b>ETS2</b>	0.0024969089	<b>DCP2</b>	0.0024969089
<b>KLF2</b>	0.0024969089	<b>PANX2</b>	0.0024969089
<b>SLC20A1</b>	0.0024969089	<b>PHOSPHO2</b>	0.0024969089
<b>TSPY26P</b>	0.0024969089	<b>FAM193B</b>	0.0024969089
<b>PER2</b>	0.0024969089	<b>KCNE4</b>	0.0024969089
<b>GINS3</b>	0.0024969089	<b>HMOX1</b>	0.0024969089
<b>ATF3</b>	0.0024969089	<b>MRPL42P5</b>	0.0024969089
<b>GSTP1</b>	0.0024969089	<b>COX17</b>	0.0024969089
<b>GCN1L1</b>	0.0024969089	<b>RPL13P5</b>	0.0024969089
<b>DCAF4</b>	0.0024969089	<b>GINS3</b>	0.0024969089

Πίνακας 16: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των bystander δειγμάτων για 0.5-4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.

Bystander : 0.5-4 hr – 6 hr		Bystander : 0.5-4 hr – 24hr	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
<b>PIK3R1</b>	0.0005255574	<b>SLC30A1</b>	0.0024969089
<b>PRODH</b>	0.0037073327	<b>HMGCS1</b>	0.0024969089
<b>RGS14</b>	0.0047034939	<b>SMEK2</b>	0.0024969089
<b>BBC3</b>	0.0052874340	<b>HMOX1</b>	0.0024969089
<b>CDKN1A</b>	0.0093078429	<b>KIF13A</b>	0.0024969089
<b>CAPNS2</b>	0.0103817957	<b>RPL13P5</b>	0.0024969089
<b>ZCCHC2</b>	0.0103817957	<b>RRN3</b>	0.0024969089
<b>C8orf42</b>	0.0103817957	<b>CEL</b>	0.0033980871
<b>CAMSAP1</b>	0.0115646443	<b>C14orf169</b>	0.0033980871
<b>NCAN</b>	0.0115646443	<b>CCNJ</b>	0.0033980871

Πίνακας 17: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.

Irradiated : 0.5_4 hr – 6 hr		Irradiated : 0.5_4 hr – 24 hr	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
<b>NBEA</b>	0.00249690891	<b>HLA-DRB5</b>	0.00249690891
<b>PGBD5</b>	0.00249690891	<b>HMOX1</b>	0.00249690891
<b>RELB</b>	0.00249690891	<b>ADD2</b>	0.00249690891
<b>C9orf156</b>	0.00249690891	<b>ESRRB</b>	0.00249690891
<b>ZMYM5</b>	0.00249690891	<b>EPB41</b>	0.00249690891
<b>SAMD9</b>	0.00249690891	<b>GPA33</b>	0.00249690891
<b>SON</b>	0.00249690891	<b>PRR11</b>	0.00249690891
<b>HMGCS1</b>	0.00249690891	<b>CCRL1</b>	0.00249690891
<b>DDN</b>	0.00249690891	<b>LOC653061</b>	0.00249690891
<b>ABLIM3</b>	0.00249690891	<b>PIWIL2</b>	0.00249690891

#### 4<sup>ο</sup> Βήμα - Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based

Παρουσιάζονται ενδεικτικά τα 10 πρώτα για κάθε σύγκριση που έγινε για τα τρία γκρουπ μεταξύ των ομάδων δειγμάτων για 0.5 έως 4 ώρες και 6 ώρες και μεταξύ των ομάδων για 0.5 ώρα έως 4 ώρες και 24 ώρες.

Πίνακας 18: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.

Non-Irradiated : 0.5_4 hr – 6 hr		Non-Irradiated : 0.5_4 hr – 6 hr	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>TMPRSS2</b>	1.0	<b>GSTCD</b>	1.0
<b>C19orf46</b>	0.9616888756	<b>ZC3H12A</b>	0.93739980812
<b>C17orf103</b>	0.9524999354	<b>NDUFA3</b>	0.88043218685
<b>PRG3</b>	0.8069471035	<b>NEDD9</b>	0.85222718315

<b>EYA4</b>	0.7833815042	<b>CXCL2</b>	0.85036136781
<b>HERPUD1</b>	0.7716677353	<b>C19orf73</b>	0.81808653547
<b>S100P</b>	0.7519032877	<b>MAFF</b>	0.80288459690
<b>PPY2</b>	0.7345502488	<b>SAMD9</b>	0.79897813415
<b>STX11</b>	0.72674541800	<b>PAG1</b>	0.78597946279
<b>KGFLP1</b>	0.70825556336	<b>TMEM52</b>	0.7849067129748

Πίνακας 19: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των Bystander δειγμάτων για 0.5 - 4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες

<b>Bystander : 0.5-4 hr – 6 hr</b>		<b>Bystander : 0.5-4 hr – 24hr</b>	
<b>Gene Expression</b>	<b>Confidence Score</b>	<b>Gene Expression</b>	<b>Confidence Score</b>
<b>SOCS5</b>	1.0	<b>LCE3C</b>	1.0
<b>OVGP1</b>	0.857116275357	<b>MLXIPL</b>	0.952856389227
<b>BGN</b>	0.825517666060	<b>KAT2B</b>	0.833754064107
<b>MYB</b>	0.798238052703	<b>SLC25A41</b>	0.824515882445
<b>GSPT1</b>	0.796119861975	<b>CIB4</b>	0.799352887932
<b>DCAF15</b>	0.791609331220	<b>PCDHGC3</b>	0.767856244783
<b>TMEM214</b>	0.782601409711	<b>NRIP2</b>	0.763904776407
<b>RSPO3</b>	0.776644503273	<b>FBXL18</b>	0.758792745281
<b>TBX4</b>	0.749794762459	<b>GPR6</b>	0.750933548289
<b>SPSB2</b>	0.7450508894717	<b>IL12RB1</b>	0.747882400901

Πίνακας 20: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.

Irradiated : 0.5_4 hr – 6 hr		Irradiated : 0.5_4 hr – 24 hr	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>KRT4</b>	1.0	<b>ZBTB44</b>	1.0
<b>INCENP</b>	0.962798150989	<b>FMO3</b>	0.855136739519
<b>CSF2RB</b>	0.912285145027	<b>CDC42BPA</b>	0.755169779962
<b>TBC1D2B</b>	0.883783357959	<b>IL36G</b>	0.749826712462
<b>RF5</b>	0.808071347652	<b>LRRK2</b>	0.719030011114
<b>MFF</b>	0.802403087282	<b>GREB1</b>	0.697955043788
<b>POFUT1</b>	0.786392158543	<b>FOXP4</b>	0.695294588934
<b>DLX3</b>	0.784681272131	<b>FAM71F1</b>	0.691731174989
<b>HDHD1</b>	0.766737220055	<b>PCDH10</b>	0.690383936783
<b>PRELP</b>	0.760974773838	<b>SULT1C4</b>	0.675071033843

### 5° Βήμα - Συγχωνευμένοι βιοδείκτες

Αυτό είναι το τελευταίο βήμα όπου η πλατφόρμα βγάζει ως αποτέλεσμα τους συγχωνευμένους βιοδείκτες από το βήμα 3 (differential expression βιοδείκτες) και από το βήμα 4 (network based βιοδείκτες). Ως σημαντική πληροφορία κρατούνται οι σχετιζόμενες ασθένειες των οποίων το disease score είναι μεγαλύτερο του 0.03. Στους παρακάτω πίνακες φαίνονται τα αποτελέσματα του βήματος 5 για τις ομάδες που μελετήθηκαν. Για κάθε συγχωνευμένο βιοδείκτη αναφέρεται η σχετιζόμενη ασθένεια με το αντίστοιχο disease score (όπου και εάν αυτή είναι γνωστή από την βιβλιογραφία), το Uniprot Id του βιοδείκτη και το όνομα του γονιδίου.

### Non-Irradiated : 0.5-4 hr – 6 hr

*Πίνακας 21: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 - 4 hr – 6 hr*

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (Score)	Uniprot ID	Gene Name
<b>HERPUD1</b>	0.76537789	Prostatic Neoplasms / Peripheral Nervous System Disease (0.3)	Q15011, H3BV54, H3BQM2, H3BP08, H3BTA8, H3BRS4, H3BTT7, A4UAE9	<b>homocysteine inducible ER protein with ubiquitin like domain</b>
<b>WBP2</b>	0.60683623	-	Q969T9, A6NG10, B4DFG2, K7EIN1, K7ESN4, K7EIJ0, K7EIK1, K7EMC9, K7EJ75, K7ENL2, L0R5E7	<b>WW domain-binding protein 2</b>
<b>TTC12</b>	0.58737431	-	Q9H892, B0YJB4, J3KR69, A8K8G6, E9PKU6, A8MTE9, E9PIS6, C9JPY5, C9J1D2, E9PJI9, C9JYU1, E9PIB6, H0YDB4, E9PP06, L8ECH5, H0YEF6	<b>Tetratricopeptide Repeat Domain 12</b>
<b>TTY13</b>	0.577647685	-	-	-
<b>FLJ33996</b>	0.566094326	-	-	-
<b>OR4A15</b>	0.562643242	-	Q8NGL6	<b>Olfactory Receptor 4A15</b>
<b>GLYATL1</b>	0.560012802	-	Q969I3	<b>Glycine N-acyltransferase-like protein 1</b>
<b>MMP25</b>	0.558702793	-	<u>Q9NPA2</u>	<b>Matrix metalloproteinase-25</b>



<b>C20orf94</b>	0.547051891	-	-	-
<b>C3orf32</b>	0.546576658	-	-	-
<b>ATP6V1B1</b>	0.543746011	Renal Tubular Acidosis, Distal, with Progressive Nerve Deafness (0.6)	<u>P15313</u>	<b>V-type proton ATPase subunit B, kidney isoform</b>
<b>RG9MTD1</b>	0.542180109	-	-	-
<b>PRRG2</b>	0.537392719	-	O14669	<b>Transmembrane gamma- carboxyglutamic acid protein 2</b>
<b>CD160</b>	0.534420387	-	O95971	<b>CD160 antigen</b>
<b>AOC2</b>	0.533794599	-	O75106	<b>Retina-specific copper amine oxidase</b>
<b>SLC25A37</b>	0.532830383	Anemia (0.3)	Q9NYZ2, F8W9Q7, H0YAT5	<b>Mitoferrin-1</b>
<b>OIP5</b>	0.529923614	-	O43482	<b>Protein Mis18-beta</b>
<b>CCDC149</b>	0.523483672	-	Q6ZUS6	<b>Coiled-coil domain- containing protein 149</b>
<b>SATB1</b>	0.519043881	-	Q01826, C9JGL9, H0YN86, C9J7F3, C9JLL5, C9IZC5, C9JP21, C9J3I0	<b>DNA-binding protein SATB1</b>
<b>GCSH</b>	0.515118813	Hyperglycinemia, Nonketotic (0.3)	P23434	<b>Glycine cleavage system H protein, mitochondrial</b>
<b>ZNF396</b>	0.514411259	-	Q96N95	<b>Zinc finger protein 396</b>
<b>TDGF1</b>	0.511696416	Holoprosencephaly / Heterotaxy Syndrome (0.3)	P13385, F5H1T8, L8EA34	<b>Teratocarcinoma-derived growth factor 1</b>

<b>LGALS4</b>	0.511316020	-	P56470, Q6FHZ4, M0QZ93, M0R349, M0R1B2	<b>Galectin-4</b>
<b>OR51E2</b>	0.509683498	-	Q9H255, E9PPJ8	<b>Olfactory receptor 51E2</b>
<b>SEPT9</b>	0.509087769	Neuritis with brachial predilection (0.6), Leukemia, Myeloid, Acute /Brachial Plexus Neuritis (0.3)	<u>Q9UHD8</u> , K7EL40, K7EPY1, K7ER34, K7ER14, K7EQD7, K7EJZ2, K7EKN4, K7EK18, K7EN52, K7EIR4, K7ER52, K7ELJ9, K7ENL0, K7EJL9, K7EQ08, K7EJ51, K7EIE4, K7ERG1, K7EJV0, K7ENQ5, Q1WWK5, K7EKF9, K7EMW8	<b>Septin-9</b>
<b>FLCN</b>	0.506063646	Birt-Hogg-Dube Syndrome (0.711), Pneumothorax, Primary Spontaneous (0.6), Carcinoma, Renal Cell (0.305), Pneumothorax (0.304), Colorectal Neoplasms (0.302), RENAL CELL CARCINOMA, NONPAPILLARY/Ham artoma/Oncocytoma, renal / Liver Neoplasms (0.3), Kidney Neoplasms (0.1)	Q8NFG4	<b>Folliculin</b>
<b>RFESD</b>	0.505467756	-	Q8TAC1	<b>Rieske domain-containing protein</b>

<b>CABLES1</b>	0.502146654	Colorectal Neoplasms (0.3)	Q8TDN4, A7K6Y5, J3QRY5, V9GYB4	<b>CDK5 και ABL1 enzyme substrate 1</b>
<b>ISOC2</b>	0.500251322	Osteoarthritis (0.3)	Q96AB3	<b>Isochorismatase domain-containing protein 2</b>
<b>FAP</b>	0.495649442	-	Q12884, B4DLR2, F8WF29, H0YG61, H7C4D9, C9J131	<b>Prolyl endopeptidase FAP</b>
<b>C7orf29</b>	0.490639219	-	-	-
<b>SIM1</b>	0.486407832	Obesity (0.41), Hyperglycemia / Breast Neoplasms / Peripheral Nervous System Diseases (0.3)	P81133, L0R542	<b>Single-minded homolog 1</b>
<b>GNG11</b>	0.482627445		P61952	<b>Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-11</b>
<b>OTOP3</b>	0.481637857	-	-	-
<b>UHRF1</b>	0.480415590	-	Q96T88	<b>E3 ubiquitin-protein ligase UHRF1</b>

Πίνακας 22: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των: 0.5 - 4 hr – 24 hr

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>GDF15</b>	0.729769558	Prostatic Neoplasms(0.315), Melanoma/Heart Failure/Hypertrophy, Left Ventricular/Coronary Artery Disease/Carcinoma, Hepatocellular/ Weight Gain/ Myocardial Ischemia/ Anemia, Sideroblastic / Mouth Diseases (0.3)	Q99988	<b>Growth differentiation factor 15</b>
<b>EN1</b>	0.718619383	Salivary Gland Neoplasms / Nervous System Diseases/ Carcinoma, Adenoid Cystic (0.3)	Q05925	<b>Homeobox protein engrailed-1</b>

<b>BCL2A1</b>	0.708113902	Breast Neoplasms/ Esophageal Neoplasms (0.3)	Q16548	<b>Bcl-2-related protein A1</b>
<b>GBP4</b>	0.654478750	-	Q96PP9, D3DT27	<b>Guanylate - binding protein 4</b>
<b>RANBP3L</b>	0.605605421	-	Q86VV4, D6RCM9	<b>Ran-binding protein 3-like</b>
<b>TRMT5</b>	0.603948724	-	Q32P41, G3V494, G3V5X1	<b>tRNA (guanine(37)-N1) methyltransferase</b>
<b>CDH23</b>	0.595611019	Deafness, Autosomal Recessive 12 (0.7), Usher Syndrome, Type ID (0.4), Usher Syndromes (0.3)	Q9H251, Q6P152, A5D6V9, Q8N5B3, Q32P55, R4GN92, B1AVV0, G8JLI8, G3XCN8, R4GN22, L8EAB0	<b>Cadherin-23</b>
<b>SULT1A2</b>	0.58889593	Chromosome Aberrations (0.3), Hypotension (0.1)	P50226	<b>Sulfotransferase 1A2</b>
<b>FCN3</b>	0.588855018	Immunologic Deficiency Syndromes (0.3)	O75636, Q6UXM4	<b>Ficolin-3</b>
<b>C1orf135</b>	0.588801592	-	-	-
<b>KCNJ9</b>	0.582459469	-	Q92806	<b>G protein- activated inward rectifier potassium channel 3</b>

<b>RAB39B</b>	0.5551896132	Epilepsy/Autistic Disorder/Intellectual Disability/Mental Retardation, X-Linked/Cranofacial Abnormalities/ (0.3)	Q96DA2	<b>Ras-related protein Rab-39B</b>
<b>LONRF3</b>	0.5544609504	-	Q496Y0	<b>LON peptidase N-terminal domain και RING finger protein 3</b>
<b>C20orf195</b>	0.5487833099	-	-	-
<b>DUSP5</b>	0.5443212540	Brain Injuries/ Fetal Growth Retardation (0.1)	Q16690	<b>Dual specificity protein phosphatase 5</b>
<b>CFLAR</b>	0.534470344	Hodgin Disease(0.306)/ Leukeumia (0.305)/ 6Myelodysplastic Syndromes (0.303)/ Lymphoma, Extranodal NK-T-Cell / Pancreatic Neoplasms (0.3)	O15519, C9J408, C9JV51, F8WBH9, M0QYM0, M0R1A8, C9JSU3, M0QY57, E9PAP3, C9J4Q0	<b>CASP8 και FADD-like apoptosis regulator</b>
<b>TMPRSS9</b>	0.519589417	-	Q7Z410	<b>Transmembrane protease serine 9</b>
<b>KLF5</b>	0.516772497	Neointima(0.3), Vascular Diseases/ Graft Occlusion, Vascular (0.1)	Q13887, Q5T6X2	<b>Krueppel-like factor 5</b>
<b>PPP6R1</b>	0.515692809	-	Q9UPN7,K7EM28	<b>Serine/threonine-protein phosphatase 6 regulatory subunit 1</b>
<b>KCNG2</b>	0.513592909	-	Q9UJ96	<b>Potassium voltage-gated</b>

				channel subfamily G member 2
<b>IER3</b>	0.510437879	Hypertension/Arsenic Poisoning/Skin Diseases (0.3)	P46695, Q5ST79, O75353, Q5ST77, Q6LAI3	Radiation-inducible immediate-early gene IEX-1
<b>TSPAN6</b>	0.499970386	-	O43657	Tetraspanin-6
<b>CLDN15</b>	0.498930943	-	P56746	Claudin-15
<b>HS3ST3A1</b>	0.489726443	-	Q9Y663, J3KSX5	Heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 3A1

Πίνακας 23: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα bystander δείγματα των 0.5 4 hr – 6 hr

Gene Expression	Confidence Score	Disease Score	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>CAPNS2</b>	0.620310626	-	Q96L46	Calpain small subunit 2
<b>SESN2</b>	0.530727736	-	P58004	Sestrin-2
<b>NRBF2</b>	0.526031569	-	Q96F24	Nuclear receptor-binding factor 2
<b>CPLX2</b>	0.523177363	Schizophrenia (0.4), Psychotic Disorders/ Bipolar Disorder (0.3)	Q6PUV4, D3DQN5, D6RBA5, D6R960, D6RGY3, D6RDN3, D6RI05	Complexin-2
<b>CBL</b>	0.501736751	-	P22681, Q6LB30, L0R4V5	E3 ubiquitin-protein ligase CBL
<b>MOS</b>	0.481931096	-	P00540	Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase mos

Πίνακας 24: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα bystander δείγματα των 0.5 4 hr – 24 hr.

Gene Expression	Confidence Score	Disease Score	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>MAPK15</b>	0.72032607	-	Q8TD08	<b>Mitogen-activated protein kinase 15</b>
<b>TAS2R60</b>	0.68401760	Melanoma (0.3)	P59551	<b>Taste receptor type 2 member 60</b>
<b>RHOT1</b>	0.65718417	-	Q8IXI2, H7BXZ6, J3KSR5, K7EIQ7, J3KRG7, J3QLG2, K7EP86, J3QSG2	<b>Mitochondrial Rho GTPase 1</b>
<b>KCNJ6</b>	0.65668124 0	Nerve Degeneration (0.3)	P48051	<b>G protein-activated inward rectifier potassium channel 2</b>
<b>SHH</b>	0.64531909 5	Holoprosencephaly 3 (0.7), Single upper central incisor (0.6), Holoprosencephaly (0.33), Triphalangeal thumb polysyndactyly syndrome/ Coloboma/Microphthalmia, Isolated with Coloboma 5 (0.3), Hypothyroidism/Myocardial Reperfusion Injury, Brachydactyly type A1 (0.1)	Q15465, D9ZGF9, F8WEH4, F8WB84, C9JC48	<b>Sonic Hedgehog protein</b>

<b>TNNT1</b>	0.6321224	Nemaline myopathy 5 (0.3)	P13805 Q3B759, M0QZU8, K7EKM3, K7EQL4, M0QY38, M0QZY5, M0QX01, K7ELB0, K7EKB5, Q05DL6, Q56R94, Q56R93	<b>Troponin T, slow skeletal muscle</b>
<b>CNR2</b>	0.63064403	Pancreatitis (0.4), Leukemia Meloid, Acute/ Atherosclerosis Depressive Disorder/ Breast Neoplasms/ Immune System Diseases /Liver Cirrhosis/ Hyperalgesia/ Pancreatic Neoplasms (0.3), Huntington Disease / Spinal Cord Injuries/ Arthritis/ Pain/ Myocardial Reperfusion Injury (0.1)	P34972	<b>Cannabinoid receptor 2</b>
<b>APOC3</b>	0.62658192 7	Cardiovascular Diseases (0.314),Drug Eruptions / Hyperlipoproteinemias/ Lung Neoplasms (0.3), Metabolic Syndrome X (0.1202), Diabetes Mellitus Type 1/Hyperthyroidism (0.1), Coronary Artery Disease/Diabetes Mellitus Type 2 (0.035)	P02656	<b>Apolipoprotein C-III</b>
<b>LOC653061</b>	0.60556404 5	-	-	-



<b>P2RY6</b>	0.57458384 0	-	Q15077	<b>P2Y purinoceptor 6</b>
<b>RAB37</b>	0.56785959 8	Peripheral Nervous System Diseases (0.3)	Q96AX2, B7Z3L0, A8MTC6, A8MSP2, A8MUU7, A8MZI4, L8EBG4	<b>Ras-related protein Rab- 37</b>
<b>RABGAP1</b>	0.55054804	-	Q9Y3P9, B7Z2B4, C9JGR5, B5MCD9	<b>Rab GTPase-activating protein 1</b>
<b>NCAN</b>	0.53518330	-	O14594, K7EKF8, Q4LE67	<b>Neurocan core protein</b>
<b>G6PC2</b>	0.52213862 4	-	Q9NQR9	<b>Glucose-6-phosphatase 2</b>
<b>APOA1</b>	0.50568330 77	Amyloidosis, familial visceral ( <b>0.6</b> ), Hypertension ( <b>0.4</b> ), Stroke/ Hypoalphalipoproteinemias/ Inflammation/Adenocarcinoma /Lung Neoplasms/Carcinoma, Hepatocellular/Stomach Neoplasms / HIV Infections / Diabetic Cardiomyopathies/ Behcet Syndrome /Adenocarcinoma of lung/ Ataxia with vitamin E deficiency Drug Eruptions/ Glomerulonephritis, Membranous/ Drug-Induced Liver Injury ( <b>0.3</b> ), Metabolic Syndrome	P02647, Q6LEJ8, F8W696	<b>Apolipoprotein A-I</b>

		X/Arteriosclerosis / Nephrotic Syndrome / Hyperthyroidism / Sepsis / Hypoproteinemia / Depressive Disorder, Major/ Carcinoma, Transitional Cell /Liver Cirrhosis, Experimental (0.1), Coronary Artery Disease (0.05), Atherosclerosis / Diabetes Mellitus Type 2 (0.03)		
--	--	---	--	--

Πίνακας 25: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 4 hr – 6 hr.

Gene Expression	Confidence Score	Disease Score	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>PRELP</b>	0.72504085	-	P51888, Q7Z4B2, Q6FHG6	<b>Prolargin</b>
<b>TRIB1</b>	0.68056617	-	Q96RU8, E5RFH4	<b>Tribbles Homolog 1</b>
<b>TAF15</b>	0.61844560	Chondrosarcoma, Extraskeletal Myxoid/Stomach Neoplasms/ Disease Progression/ Osteosarcoma (0.3)	Q92804	<b>TATA – binding protein associated factor 2N</b>
<b>CST9L</b>	0.61550238	-	Q9H4G1	<b>Cystatin-9-Like</b>
<b>S100G</b>	0.60574992	-	P29377	<b>Protein S100-G</b>
<b>PJA1</b>	0.59110008	-	Q8NG27	<b>E3 ubiquitin-protein ligase Praja-1</b>
<b>FLJ40606</b>	0.59105325	-	-	-
<b>CKLF</b>	0.59058707	-	Q9UBR5, Q5BJH6, E9PLU7	<b>Chemokine-like factor</b>

<b>VNN1</b>	0.58072790	Psoriasis/ Dyslipidemias/ Hypertension (0.3)	O95497	<b>Pantetheinase</b>
<b>CUBN</b>	0.57681058	Imerslund-Grasbeck syndrome (0.6), Amphetamine-Related Disorders (0.3), Diabetic Nephropathies (0.1),	O60494, B0YIZ6, Q5JQ33, H7C480, Q96RV0, Q7LC53	<b>Cubilin</b>
<b>KIAA1239</b>	0.57257420	-	Q9ULI1	<b>NACHT και WD repeat domain-containing protein 2</b>
<b>CCL19</b>	0.57101848	Dermatitis, Allergic Contact / Hypersensitivity/Pneumonia (0.3)	Q99731	<b>C-C motif chemokine 19</b>
<b>SMC1B</b>	0.57047275	-	Q8NDV3	<b>Structural maintenance of chromosomes protein 1B</b>
<b>CKMT2</b>	0.56995679	-	P17540	<b>Creatine kinase S-type, mitochondrial</b>
<b>CHD2</b>	0.56887988	Epilepsy (0.3)	O14647, Q8N677, B7Z3I4	<b>Chromodomain- helicase-DNA-binding protein 2</b>
<b>CA10</b>	0.56807091	-	Q9NS85, I3L375, Q68D28, I3NI54, I3LOJ7, A0PJH9	<b>Carbonic anhydrase- related protein 10</b>
<b>KCNQ5</b>	0.56633640	Myopia (0.3)	Q9NR82, F8WEA4, A6PVT7, H0Y3Z0, A6PVT8	<b>Potassium voltage- gated channel subfamily KQT member 5</b>
<b>FAM189A2</b>	0.56463652	-	Q15884	<b>Protein FAM189A2</b>
<b>SRSF8</b>	0.56415588	-	-	-
<b>DIO1</b>	0.56328388	Metabolism, Inborn Errors / Hyperthyroxinemia /Liver	P49895, E9PI35,	<b>Type I iodothyronine deiodinase</b>

		Cirrhosis, Experimental/Thyroid Diseases (0.3), Mammary Neoplasms, Experimental (0.1)	D3DQ42, C6ZRC2, A8K415, E9PM07, E9PNR3	
<b>VAMP1</b>	0.56207213	-	P23763	<b>Vesicle-associated membrane protein 1</b>
<b>IL28B</b>	0.55892153	-	-	-
<b>G6PC2</b>	0.55813343	-	Q9NQR9	<b>Glucose-6-phosphatase 2</b>
<b>PRRG2</b>	0.55670149	-	O14669	<b>Transmembrane gamma-carboxyglutamic acid protein 2</b>
<b>APOL6</b>	0.53970855	Influenza, Human (0.3)	Q9BWW8, B3KTP4	<b>Apolipoprotein L6</b>
<b>LINC00472</b>	0.538079064	-	-	-
<b>ZBTB37</b>	0.535530476	-	Q5TC79	<b>Zinc finger and BTB domain-containing protein 37</b>
<b>SPHAR</b>	0.531818468	-	Q15513	<b>Protein SPHAR</b>
<b>ACTA1</b>	0.529492210	Nemaline myopathy 3 (0.7), Congenital myopathy with fiber type disproportion (0.6), Hypertrophy, Left Ventricular (0.3), Ventricular Fibrillation (0.1),	P68133, A6NL76, Q7Z7J6	<b>Actin, alpha skeletal muscle</b>
<b>LRIT1</b>	0.528164235	-	Q9P2V4L	<b>Leucine-rich repeat, immunoglobulin-like domain and transmembrane domain-containing protein 1</b>
<b>ADAM28</b>	0.513420730	-	Q9UKQ2, E5RGY1, B4DDY3,	<b>Disintegrin and metalloproteinase</b>

			H0YBG8, E5RJQ1, H0YBQ8	<b>domain containing protein 28</b>
<b>FAM27E3</b>	0.508428248	-	-	-
<b>H2AFV</b>	0.498215462	-	Q71UI9, C9J386, C9J0D1, E5RJU1	<b>Histone H2A.V</b>

Πίνακας 26: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 - 4 hr – 24 hr

Gene Expression	Confidence Score	Disease Score	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>ZBTB44</b>	0.9702419	-	Q8NCP5, H7BY22, H0YCZ0, H0YEM9	<b>Zinc finger και BTB domain-containing protein 44</b>
<b>MRVI1-AS1</b>	0.63714756	-	-	-
<b>CD300LF</b>	0.59544918	-	Q8TDQ1	<b>CMRF35-like molecule 1</b>
<b>MMAB</b>	0.573058706	Methylmalonic aciduria cblB type (0.6)	Q96EY8	<b>Methylmalonic aciduria (cobalamin deficiency) cblB type</b>
<b>RGS14</b>	0.56375168	-	O43566	<b>Regulator of G protein signaling 14</b>
<b>IL18RAP</b>	0.550281056	Colitis, Ulcerative / Inflammatory Bowel Diseases (0.3)	O95256	<b>Interleukin 18 receptor accessory protein</b>
<b>HLA-G</b>	0.538771586	Asthma (0.3)	P17693 , Q5RJ85, Q31611, Q29897	<b>Major histocompatibility complex, class I, G</b>

<b>COX4I2</b>	0.5344203115	Exocrine Pancreatic Insufficiency, Dyserythropoietic Anemia, και Calvarial Hyperostosis (0.6)	Q96KJ9	<b>Cytochrome c oxidase subunit 4I2</b>
<b>EPHA3</b>	0.5158537393	Spinal Cord Injuries (0.1)	P29320	<b>Ephrin type-A receptor 3</b>
<b>ARC</b>	0.5144218109	-	-	-
<b>NAALADL1</b>	0.5034748012	-	Q9UQQ1	<b>N-acetylated-alpha linked acidic dipeptidase-like protein</b>
<b>CCDC7</b>	0.50109782361	-	Q96M83	<b>Coiled-coil domain-containing protein 7</b>
<b>HPD</b>	0.4991003887	Tyrosinemia type III (0.4), Hawkinsinuria/ Tyrosinemias/ Drug-Induced Liver Injury (0.3)	P32754	<b>4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase</b>
<b>NS3BP</b>	0.4983952413	-	-	-
<b>LOC100129935</b>	0.4982200683	-	-	-
<b>BARHL2</b>	0.4974561056	-	Q9NY43	<b>BarH-like 2 homeobox protein</b>
<b>C4BPB</b>	0.4960411932	-	P20851	<b>C4b-binding protein beta chain</b>
<b>SLC13A4</b>	0.4952339808	-	Q9UKG4 , V9GYC7, V9GZ66	<b>Solute carrier family 13 member 4</b>
<b>TLR4</b>	0.4919243515	Sepsis/ Brain Injuries (0.4), Atherosclerosis/Crohn Disease (0.33), Macular Degeneration/Inflammation/ Colorectal Neoplasms (0.31), Coronary Artery Disease / Acute	O00206	<b>Toll-like receptor 4</b>

Coronary Syndrome /  
 Carcinoma/ Melanoma/ Prostatic  
 Neoplasms/ Diabetic  
 Neuropathies/ Lung Neoplasms/  
 Angina, ΣΠίνακας/ Fatty  
 Liver/Ovarian Neoplasms/  
 Adeonarcinoma of Esophagus/  
 Neoplasm Invasiveness/  
 Respiratory  
 Hypersensitivity/Macular  
 Degeneration, Age-Related, 10/  
 Hearing Loss/ Peripheral  
 Nervous System  
 Diseases/Dermatitis, Contact  
**(0.3)**, Pancreatitis /Enterocolitis,  
 Necrotizing /Obesity/ Colitis/  
 Encephalomyelitis, Autoimmune,  
 Experimental / **(0.11)**, Acute  
 Lung Injury/Reperfusion Injury /  
 Subarachnoid Hemorrhage /  
 Emphysema, Hereditary  
 Pulmonary / Renal Insufficiency /  
 TOLL-LIKE RECEPTOR 4 /  
 Acute Kidney Injury / Pain/ Lung  
 Diseases/ Eye Infections,  
 Fungal /  
 Diabetes Mellitus, Experimental /  
 Myocardial Reperfusion Injury /  
 Uveitis / Neuralgia / Hepatorenal  
 Syndrome / Hyperalgesia /  
 Pancreatitis, Acute Necrotizing /  
 Endotoxemia / Renal fibrosis /  
 Liver Cirrhosis, Experimental  
 /Neuritis, Autoimmune,  
 Experimental / Liver Failure,  
 Acute **(0.1)**, Van der Woude

<b>HIST1H2AC</b>	0.4915433987	syndrome <b>(0.06)</b> , Asthma <b>(0.04)</b> , Periodontitis/ Inflammatory Bowel Diseases/ Infection <b>(0.37)</b> / Malignant neoplasm of prostate <b>(0.32)</b>	-	Q93077	<b>Histone H2A type 1- C</b>
<b>KCNV2</b>	0.4893744317	Retinal Cone Dystrophy 3B (0.6)		Q8TDN2	<b>Potassium voltage- gated channel subfamily V member 2</b>
<b>RORC</b>	0.4822236579		-	P51449	<b>Nuclear receptor ROR-gamma</b>
<b>SLC8A3</b>	0.4813866945	Status Epilepticus (0.4), Seizures (0.3), Brain Ischemia / Reperfusion Injury (0.1)		P57103, L8E9C0, F2Z391, A7E249, A7E240	<b>Sodium/calcium exchanger 3</b>
<b>PPY2</b>	0.4786394901		-	-	-



## 6<sup>ο</sup> Βήμα - Gene Enrichment Analysis





Τα γονίδια από τους δύο πίνακες με τους κοινούς βιοδείκτες τα αναλύουμε με το DAVID 6.8. Functional Annotation Tool (<https://david.ncicrf.gov/>).

Στα αποτελέσματα διαλέγουμε να μας εμφανίσει μόνο τις εξής κατηγορίες:

- OMIM\_DISEASE,
- GOTERM\_BP\_DIRECT,
- GOTERM\_CC\_DIRECT,
- GOTERM\_MF\_DIRECT και
- KEGG\_PATHWAY

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του DAVID για τις ομάδες δειγμάτων που έχουν αναλυθεί.

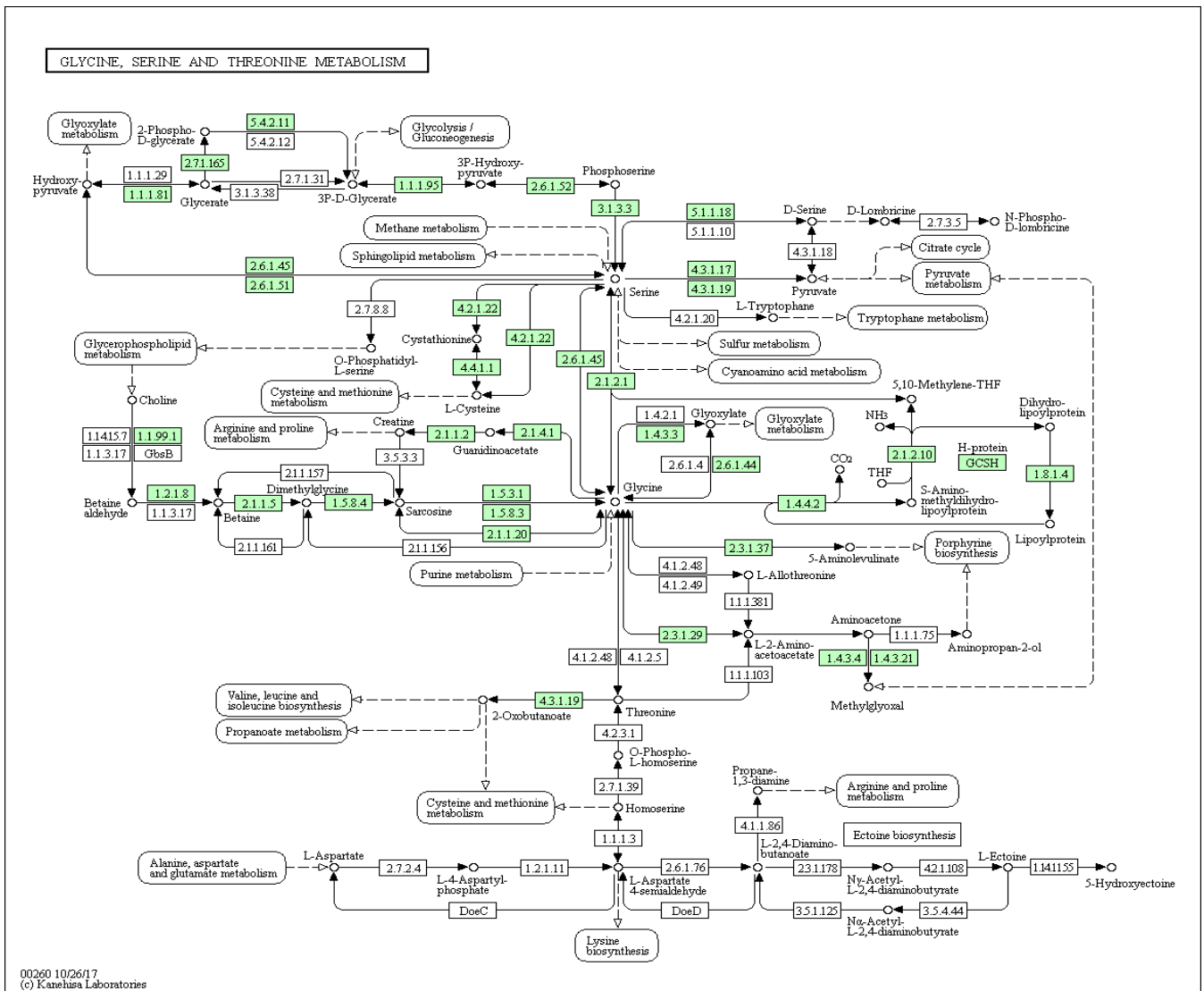
### 1. Non-Irradiated : 0.5\_4 hr – 6hr

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">nuclear heterochromatin</a>	<a href="#">RT</a>		2	6,7	3,2E-2	8,8E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">cell cycle</a>	<a href="#">RT</a>		3	10,0	3,5E-2	1,0E0
<input type="checkbox"/>	KEGG_PATHWAY	<a href="#">Glycine, serine and threonine metabolism</a>	<a href="#">RT</a>		2	6,7	4,4E-2	7,5E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">cell division</a>	<a href="#">RT</a>		3	10,0	8,2E-2	1,0E0

Εικόνα 22: Functional Annotation Chart for Non-Irradiated : 0.5\_4 hr – 6hr

Στις κατηγορίες που φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας συμμετέχουν τα συγκεκριμένα γονίδια:

- Nuclear Heterochromatin: SATB1, UHRF1
- Cell Cycle: CABLES1, SEPT9, UHRF1
- Glycine, Serine και threonine metabolism (Kegg Pathway, εικόνα 22): AOC2, GCSH



Εικόνα 23: Kegg pathway for Glycine, Serine and threonine metabolism

## 2. Non-Irradiated : 0.5\_4 hr – 24 hr

Στις κατηγορίες που φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας 23 συμμετέχουν τα συγκεκριμένα γονίδια:

- Proteolysis: CFLAR, LONRF3, FCN3, TMPRSS9
- Sulfotransferase activity: HS3ST3A1, SULT1A2
- NF-kappa B signaling pathway (εικόνα 24): BCL2A1, CFLAR

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">proteolysis</a>	RT	<input type="checkbox"/>	4	0,1	2,1E-2	9,2E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">sulfotransferase activity</a>	RT	<input type="checkbox"/>	2	0,1	4,5E-2	9,0E-1
<input type="checkbox"/>	KEGG_PATHWAY	<a href="#">NF-kappa B signaling pathway</a>	RT	<input type="checkbox"/>	2	0,1	7,3E-2	7,6E-1

Εικόνα 24: Functional Annotation Chart for Non-Irradiated : 0.5\_4 hr – 24 hr

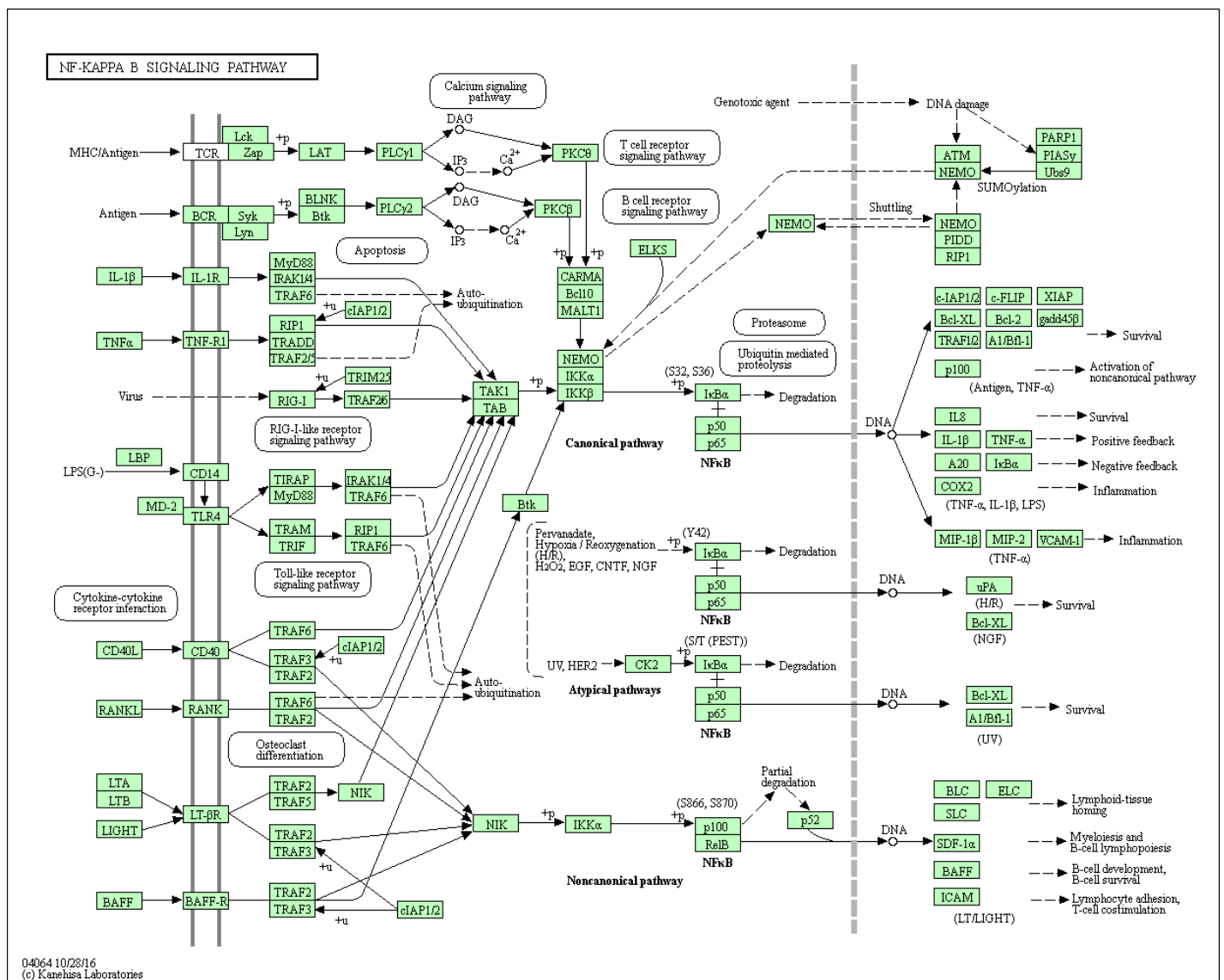
### 3. Bystander 0.5-4hr - 6hr

Στις κατηγορίες που φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας 25 συμμετέχουν τα συγκεκριμένα γονίδια:

- Autophagy: NRBF2, SESN2
- Cytosol: CBL, CAPNS2, CPLX2, SESN2

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
GOTERM_BP_DIRECT		autophagy	RT		2	33,3	3,9E-2	9,4E-1
GOTERM_CC_DIRECT		cytosol	RT		4	66,7	4,5E-2	7,0E-1

Εικόνα 26: Functional annotation chart for bystander 0.5\_ 4hr – 6hr



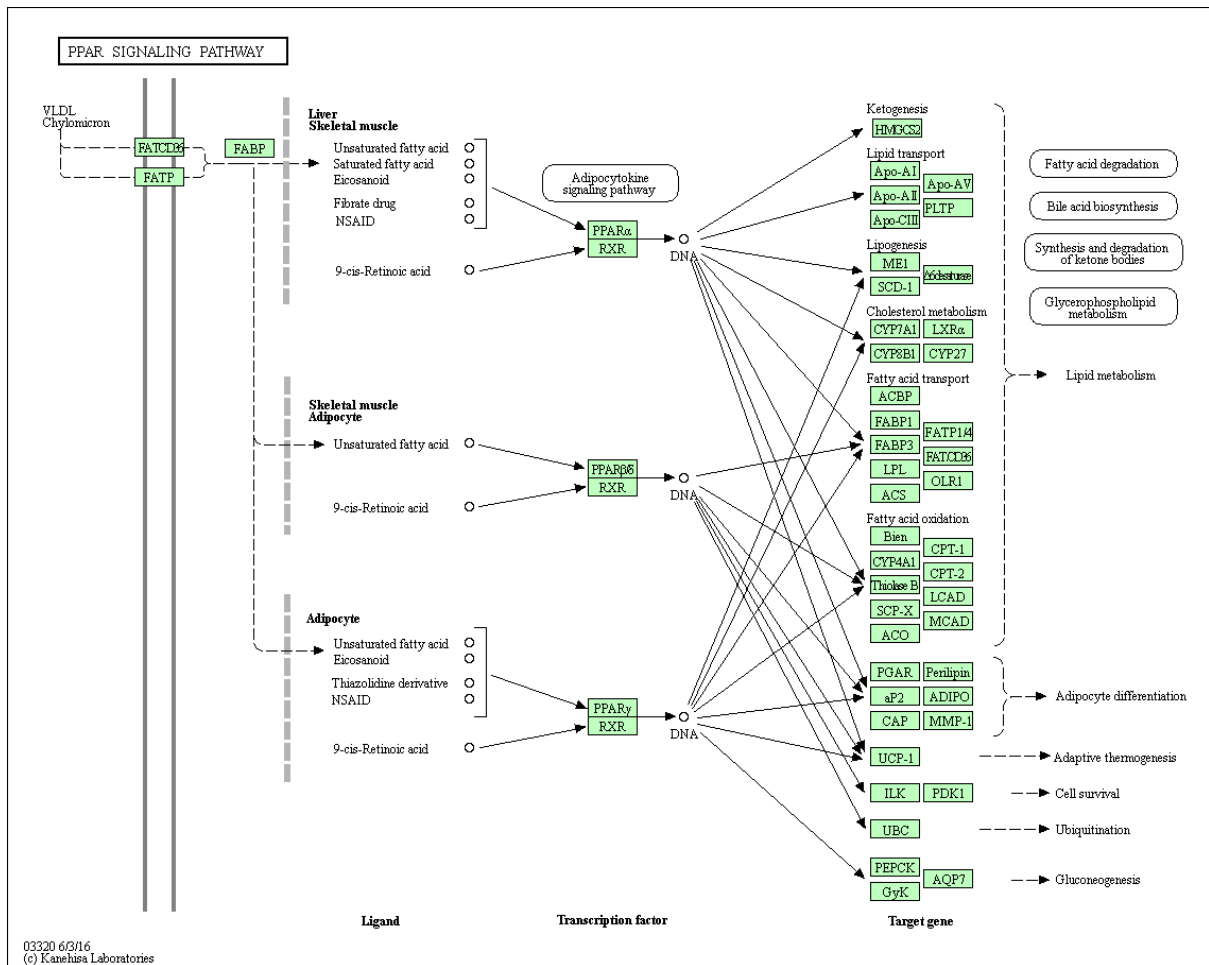
Εικόνα 25: Kegg pathway for NF – kappa B signaling pathway

#### 4. Bystander 0.5-4hr – 24hr

- KEGG PATHWAY (εικόνα 26): PPAR signaling pathway: APOA1, APOC3

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini	FDR	Fisher Exact
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">high-density lipoprotein particle receptor binding</a>	RT		2	0,1	2,3E-3	1,1E-1	2,2E0	1,9E-6
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">negative regulation of very-low-density lipoprotein particle remodeling</a>	RT		2	0,1	2,3E-3	4,8E-1	3,0E0	1,9E-6
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">regulation of Cdc42 protein signal transduction</a>	RT		2	0,1	3,9E-3	4,2E-1	5,0E0	6,4E-6
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">lipase inhibitor activity</a>	RT		2	0,1	4,6E-3	1,1E-1	4,3E0	9,6E-6
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">spherical high-density lipoprotein particle</a>	RT		2	0,1	5,7E-3	2,4E-1	5,3E0	1,5E-5
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">chylomicron</a>	RT		2	0,1	9,9E-3	2,1E-1	9,1E0	5,0E-5
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">phospholipid efflux</a>	RT		2	0,1	1,1E-2	6,4E-1	1,3E1	5,8E-5
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">high-density lipoprotein particle remodeling</a>	RT		2	0,1	1,2E-2	5,6E-1	1,4E1	6,7E-5
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">reverse cholesterol transport</a>	RT		2	0,1	1,4E-2	5,4E-1	1,7E1	9,8E-5
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">very-low-density lipoprotein particle</a>	RT		2	0,1	1,4E-2	2,0E-1	1,3E1	1,0E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">triglyceride catabolic process</a>	RT		2	0,1	1,9E-2	5,9E-1	2,3E1	1,9E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">cholesterol efflux</a>	RT		2	0,1	1,9E-2	5,9E-1	2,3E1	1,9E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">triglyceride homeostasis</a>	RT		2	0,1	2,0E-2	5,5E-1	2,3E1	2,1E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">lipoprotein metabolic process</a>	RT		2	0,1	2,9E-2	6,4E-1	3,2E1	4,5E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">cholesterol binding</a>	RT		2	0,1	3,1E-2	4,0E-1	2,6E1	5,1E-4
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">retinoid metabolic process</a>	RT		2	0,1	4,6E-2	7,7E-1	4,6E1	1,1E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">cholesterol homeostasis</a>	RT		2	0,1	4,8E-2	7,5E-1	4,8E1	1,3E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">lipid transport</a>	RT		2	0,1	5,7E-2	7,8E-1	5,4E1	1,8E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">negative regulation of inflammatory response</a>	RT		2	0,1	5,9E-2	7,6E-1	5,6E1	1,9E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">phospholipid binding</a>	RT		2	0,1	6,4E-2	5,5E-1	4,7E1	2,2E-3
<input type="checkbox"/>	KEGG_PATHWAY	<a href="#">PPAR signaling pathway</a>	RT		2	0,1	6,6E-2	8,7E-1	4,4E1	2,5E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">central nervous system development</a>	RT		2	0,1	8,9E-2	8,6E-1	7,1E1	4,4E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">extracellular region</a>	RT		5	0,2	2,3E-2	2,4E-1	2,0E1	5,4E-3
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">plasma membrane</a>	RT		7	0,3	5,2E-2	4,0E-1	4,0E1	2,3E-2

Εικόνα 27: Functional Annotation Chart for Bystander 0.5-4hr – 24hr



*Eukóna 28: Kegg pathway για PPAR signaling*

## 5. Irradiated 0.5-4hr - 6hr

Στις κατηγορίες που φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας 28 συμμετέχουν τα συγκεκριμένα γονίδια:

- Lymphocyte chemotaxis: CCL19, CKLF
- Lipoprotein metabolic process: APOL6, CUBN
- Extracellular region: ADAM28, CCL19, APOL6, CKLF, PRELP, PRRG2
- Chemokine activity: CCL19, CKLF

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">lymphocyte chemotaxis</a>	RT		2	6,7	3,8E-2	1,0E0
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">lipoprotein metabolic process</a>	RT		2	6,7	5,1E-2	9,8E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">extracellular region</a>	RT		6	20,0	6,4E-2	9,8E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">chemokine activity</a>	RT		2	6,7	6,7E-2	9,8E-1

Εικόνα 299: Functional annotation chart Irradiated 0.5-4hr - 6hr

## 6. Irradiated 0.5-4hr - 24hr

Στις κατηγορίες που φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας 28 συμμετέχουν τα συγκεκριμένα γονίδια:

- Genes of Cluster: ARC, RGS14, SLC8A3
- Plasma membrane: CD300LF, EPHA3, ARC, C4BPB, IL18RAP, HLA-G, KCNV2, RGS14, SLC13A4, SLC8A3, TLR4
- Positive regulation of interleukin-12 production: HLA-G, TLR4
- Intrinsic component of plasma membrane: SLC8A3, TLR4
- Long-term synaptic potentiation: RGS14, SLC8A3
- Negative regulation of ERK1 και ERK2 cascade: RGS14, TLR4
- Sodium ion transmembrane transport: SLC13A4, SLC8A3
- KEGG Pathway (εικόνα 31): Inflammatory Bowel Disease (IBD): RORC, IL18RAP, TLR4

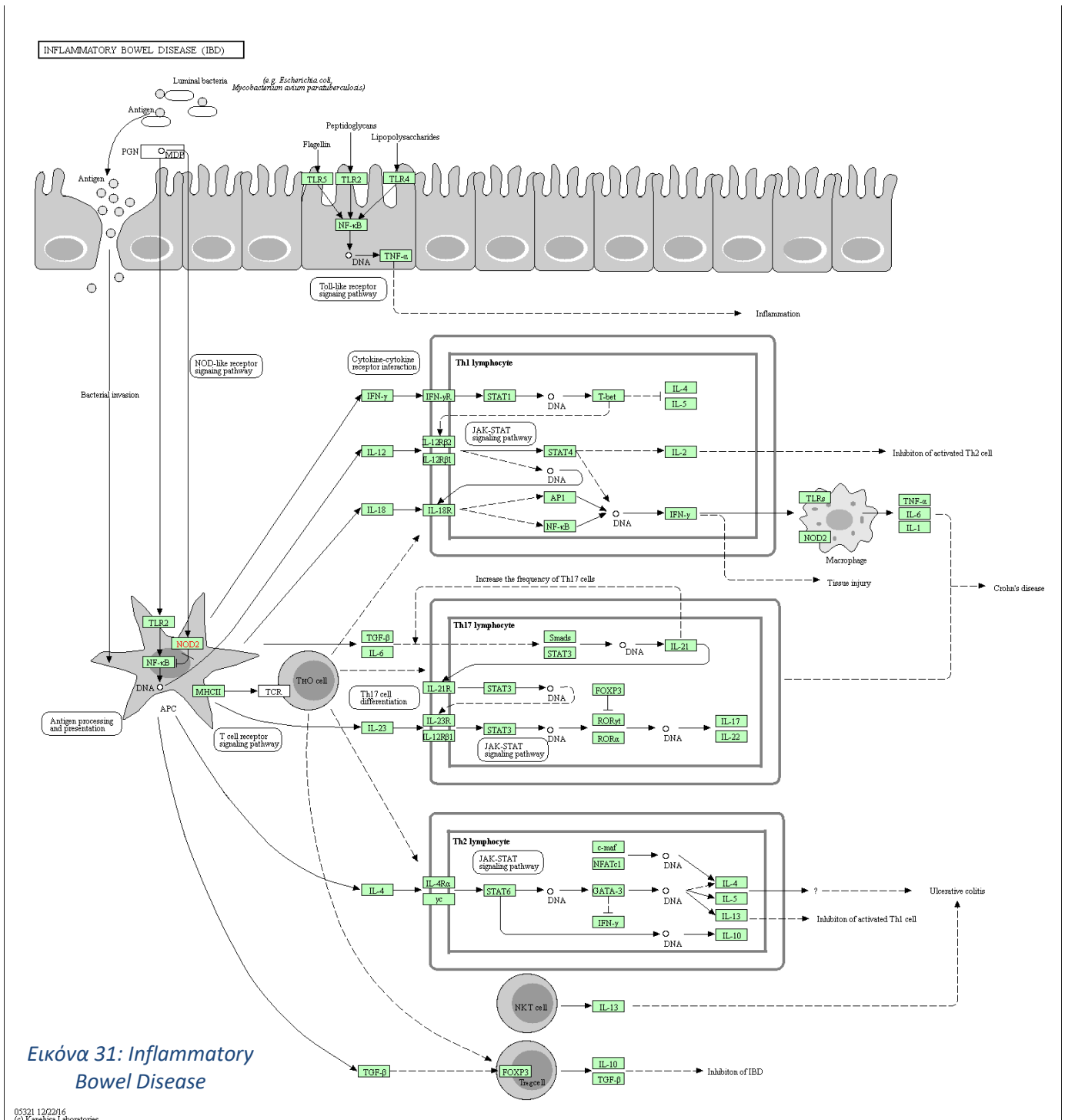
1 Cluster(s)  Download File

Annotation Cluster 1	Enrichment Score: 2.09		Count	P-Value	Benjamini		
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">learning</a>	RT		3	1.7E-3	2.8E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">dendritic spine</a>	RT		3	4.3E-3	1.1E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">cell junction</a>	RT		3	7.4E-2	7.6E-1

Εικόνα 30: Cluster for Irradiated 0.5-4hr - 24hr

Sublist	Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	learning	RT		3	13,6	1,7E-3	2,8E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	plasma membrane	RT		11	50,0	2,5E-3	1,3E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	dendritic spine	RT		3	13,6	4,3E-3	1,1E-1
<input type="checkbox"/>	KEGG_PATHWAY	Inflammatory bowel disease (IBD)	RT		3	13,6	5,3E-3	2,5E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of interleukin-12 production	RT		2	9,1	2,6E-2	9,3E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	intrinsic component of plasma membrane	RT		2	9,1	2,7E-2	4,0E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	long-term synaptic potentiation	RT		2	9,1	4,0E-2	9,3E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of ERK1 and ERK2 cascade	RT		2	9,1	6,0E-2	9,6E-1
<input type="checkbox"/>	GOTERM_CC_DIRECT	cell junction	RT		3	13,6	7,4E-2	6,5E-1

Εικόνα 32: Functional annotation chart Irradiated 0.5-4hr - 24hr



Εικόνα 31: Inflammatory Bowel Disease

05321 12/22/16  
© Kanevas Laboratories

## 4.2 GSE23899 – Alpha Particles

Το αρχείο GSE23899 με τα α-σωματίδια χωρίστηκε σε 3 αρχεία:

- ομάδα με όλα τα **Non Irradiated** samples ( 8 samples – 0 cGy)
- ομάδα 4 samples με 0.5 cGy σε απόσταση **125-625um**
- ομάδα 4 samples με 0.5 cGy σε απόσταση **625-1125um**

Τα βήματα είναι ακριβώς τα ίδια με αυτά που παρουσιάστηκαν στην ενότητα 4.1. Καθώς ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία σε αυτή την ενότητα γίνεται απλά παρουσίαση των αποτελεσμάτων για το κάθε βήμα ξεχωριστά.

### 1<sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή gene co-expression network

Πίνακας 27: Εξαγωγή gene co-expression network για κάθε ομάδα.

Ομάδα	Συντελεστής Pearson	Αριθμός ακμών
Non Irradiated	0.7	129487
125-625 um	0.5	11.167
625-1125 um	0.5	5962

### 2<sup>ο</sup> Βήμα: Ανάλυση δικτύου

Ανάλυση δικτύου για τις 3 ομάδες και παρουσίαση των 10 πιο σημαντικά nodes για κάθε ομάδα.

Πίνακας 28: General Non Irradiated

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>XBP1</b>	0.0644906033	0.0730076338	0.0058813782	9.3476141096e-106
<b>OSR1</b>	0.0233432245	0.0305405605	0.0057597757	2.2524290327e-101
<b>RPL27</b>	0.0377843719	0.1538018465	0.0041160045	2.1475467663e-51
<b>SPG21</b>	0.0207715133	0.1249599860	0.0031935268	6.9340412909e-31



<b>ARHGEF10</b>	0.0399604352	0.1876656143	0.0027739486	2.4030382904e-23
<b>ZFP36</b>	0.0363996043	0.2032203884	0.0024717448	1.319672514e-18
<b>RPS3</b>	0.0318496538	0.1004042636	0.0024560678	2.2417489535e-18
<b>USP9X</b>	0.0185954500	0.2036920600	0.0023511587	7.0891843612e-17
<b>BCL2A1</b>	0.0458951533	0.0745002035	0.0023430535	9.1959352237e-17
<b>AMPD3</b>	0.0449060336	0.0883814968	0.0023112011	2.5331096510e-16

*Πίνακας 29: Alpha particles 112-625 um (0.5 cGy)*

<b>Node</b>	<b>Degree Centrality</b>	<b>Clustering Coefficient</b>	<b>Pagerank Centrality</b>	<b>P-value</b>
<b>CAMSAP2</b>	0.2177314211	0.0168777745	0.0097449319	2.3294338641e-11
<b>SDHD</b>	0.2607561929	0.0123457284	0.0070981505	3.1183089945e-06
<b>CCNE1</b>	0.2451108213	0.0173785036	0.0068842102	6.7625653255e-06
<b>TRAK1</b>	0.1890482398	0.0153170939	0.0067172154	1.2147321067e-05
<b>WDR34</b>	0.2385919165	0.0137898421	0.0065880030	1.8900116431e-05
<b>CAV1</b>	0.2112125162	0.0234368772	0.0062736063	5.3214300274e-05
<b>FLII</b>	0.1747066492	0.0274205319	0.0061599880	7.6275533697e-05
<b>IMPA2</b>	0.1434159061	0.0171309765	0.0057634335	0.0002528172
<b>FAM53B</b>	0.2059973924	0.0159678365	0.0057529160	0.0002606608
<b>KLF5</b>	0.2099087353	0.0161456919	0.0056659288	0.0003347844

Πίνακας 30: Alpha particles 625-1125 um (0.5 cGy)

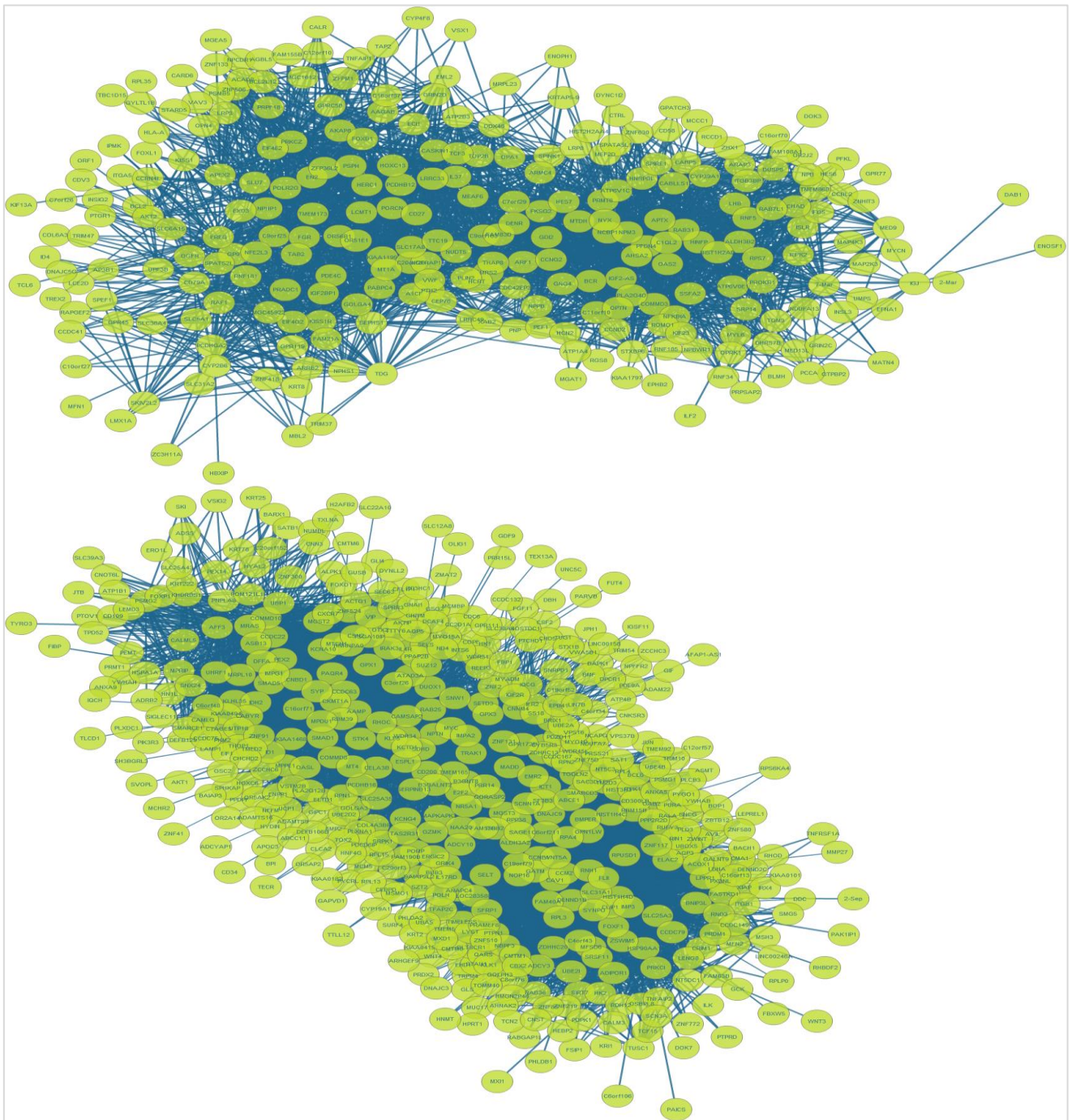
Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>CAPN5</b>	0.3052391799	0.0355887885	0.014080412 5	1.2909941993e- 08
<b>TMEM14C</b>	0.3416856492	0.0188332028	0.010201577 2	9.2497662086e- 05
<b>TEX101</b>	0.2186788154	0.0436459583	0.010180783 9	9.6171384196e- 05
<b>SPRR4</b>	0.2892938496	0.0316427097	0.009449701 1	0.0003570064
<b>TPST2</b>	0.1913439635	0.0673270716	0.009218649 3	0.0005279474
<b>TRPV2</b>	0.2346241457	0.0406661129	0.009169383 9	0.0005730530
<b>BCKDHA</b>	0.3029612756	0.0197749993	0.008679084 9	0.0012606460
<b>USP7</b>	0.2733485193	0.0281842766	0.008592122 5	0.0014423283
<b>POLD4</b>	0.3075170842	0.0193607321	0.008465885 4	0.0017487820
<b>ANK2</b>	2847380410	0195438417	0078466378	0042912384

### 3<sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών

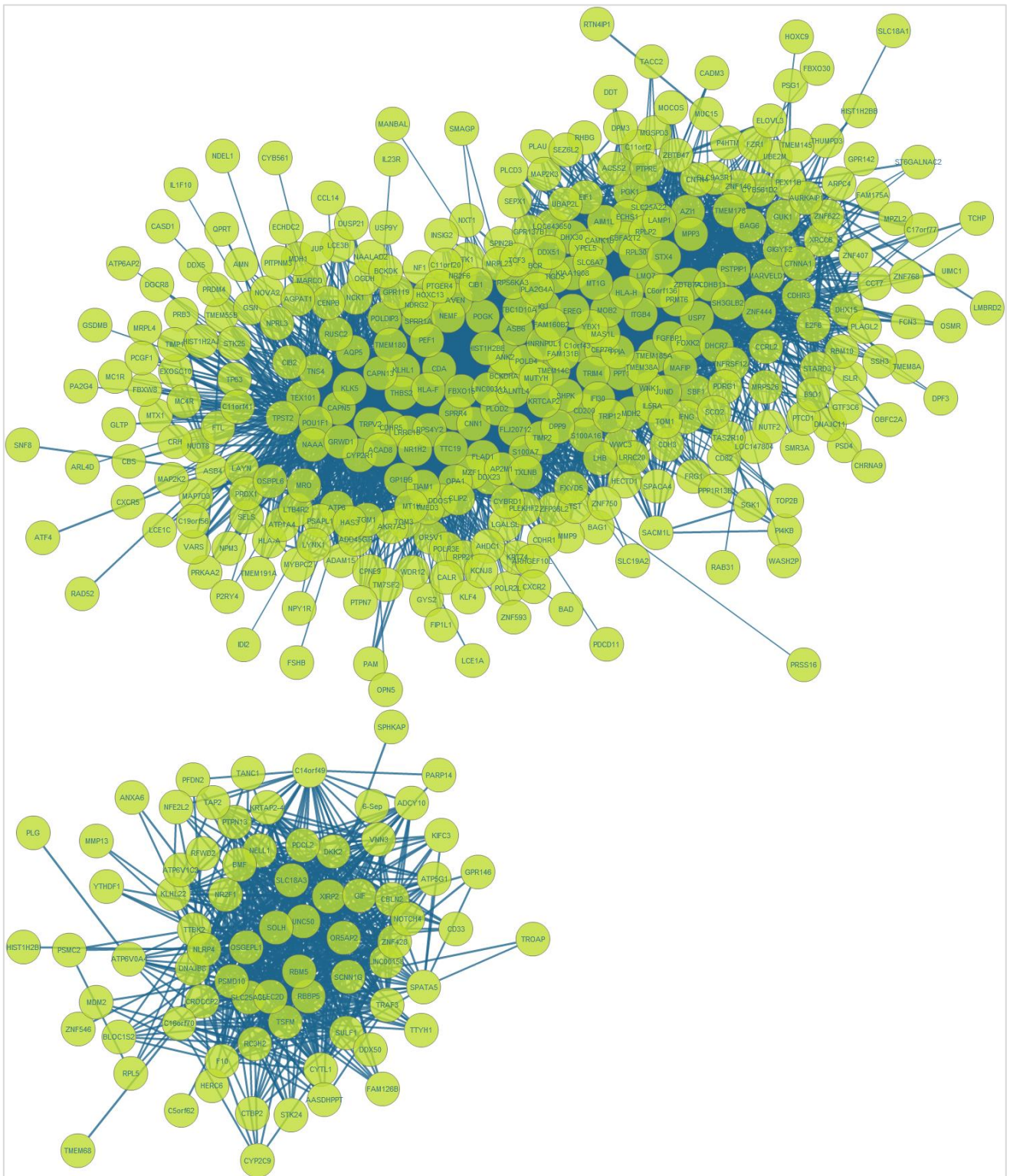
Εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες) με Wilcoxon rank sum test και κατώφλι 0.05.

Πίνακας 31: Rank Sum test και Sign Threshold: 0.05

General – 115-625 um(0.5cGy)		General – 625-1125um (0.5cGy)	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
<b>PLOD1</b>	0.0065784136	<b>CDH16</b>	0.0065784136
<b>BTF3</b>	0.0065784136	<b>BCL2L1</b>	0.0065784136
<b>BCL2L13</b>	0.0065784136	<b>GPR1</b>	0.0065784136
<b>UBQLN2</b>	0.0065784136	<b>C1orf131</b>	0.0065784136
<b>GPR1</b>	0.0065784136	<b>C9orf86</b>	0.0065784136
<b>ATP9A</b>	0.0065784136	<b>TGIF1</b>	0.0065784136
<b>UBL3</b>	0.0065784136	<b>CD68</b>	0.0065784136
<b>SUDS3</b>	0.0065784136	<b>ACLY</b>	0.0065784136
<b>BICD2</b>	0.0065784136	<b>ATP9A</b>	0.0065784136
<b>GALR3</b>	0.00657841361	<b>EDN1</b>	0.0065784136



Εικόνα 33: Co-expression Network για τα alpha particles σε απόσταση 112- 625 um (0.5cGy)



Εικόνα 344: Co-expression Network για τα alpha particles σε απόσταση 625-1125 um (0.5cGy)

#### 4<sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based

Πίνακας 32: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων και ακτινοβολημένων σε απόσταση 115-625  $\mu\text{m}$  και σε απόσταση 625-1125  $\mu\text{m}$ .

General – 115_625 (0.5cGy)		General – 625_1125 (0.5cGy)	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>CAMSAP2</b>	1.0	<b>CAPN5</b>	1.0
<b>SDHD</b>	0.8412005767	<b>TMEM14C</b>	0.8447202228
<b>CCNE1</b>	0.8283647619	<b>TEX101</b>	0.8249767278
<b>WDR34</b>	0.8105931630	<b>SPRR4</b>	0.8139434896
<b>TRAK1</b>	0.8084906947	<b>TPST2</b>	0.8044857870
<b>CAV1</b>	0.7917302475	<b>TRPV2</b>	0.8024691917
<b>FLII</b>	0.7849134700	<b>USP7</b>	0.7788400039
<b>XBP1</b>	0.7681976679	<b>POLD4</b>	0.7710418209
<b>OSR1</b>	0.7609018610	<b>ANK2</b>	0.7483248873
<b>FAM53B</b>	0.7604902963	<b>PRMT6</b>	0.7403850832

## 5<sup>ο</sup> Βήμα: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες

Πίνακας 33: Βιοδείκτες από την σύγκριση των Co-expression Network from Non Irradiated και Alpha particles σε απόσταση 112-625  $\mu\text{m}$  (0.5 cGy).

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (Score)	Related uniprot ID	Gene Name
<b>KLF5</b>	0.72389729	Neointima (0.3), Vascular Disease (0.1), Graft Occlusion/Vascular(0.1)	Q13887, Q5T6X2	Kruppel Like Factor 5
<b>C6orf211</b>	0.65677786	-	-	-
<b>GP9</b>	0.63892757	Bernard-Soulier Syndrome(0.62), Thrombocytopenia (0.3)	P14770	Glycoprotein IX Platelet
<b>POLR2G</b>	0.63530598	-	P62487, E9PIU7, E9PKH3, H0YEE4, E9PS03	RNA Polymerase II Subunit G
<b>RAB31</b>	0.62721414	-	Q13636, J3QR51, J3KRU3, J3KSM8	RAB31, Member RAS Oncogene Family
<b>C1QL2</b>	0.57789295	-	Q7Z5L3	Complement C1q Like 2
<b>ALDH3A2</b>	0.57175462	Sjogren-Larsson Syndrome	P51648, I3L2W1, K7EN73, J3QRD1, I3L1M4, J3KTG1, I3L4G6, I3L0X1, J3KTD9, J3QKK9, C9JGJ2, J3QQV9, J3QS00	Aldehyde Dehydrogenase 3 Family Member A2
<b>SELT</b>	0.56274257	-	P62341, Q6IAK0, F8WBD0	Selenoprotein T
<b>IMP3</b>	0.55199938	-	Q9NV31, Q96Q46	IMP3, U3 Small Nucleolar Ribonucleoprotein

<b>GPX1</b>	0.55177317	Diabetes Mellitus Experimental(0.4), Breast Neoplasms (0.3),Lung Neoplasms(0.308), Hypertension(0.307), Diabetes Mellitus Type 2(0.304), Cardiomyopathy Dilated (0.303), Autistic Disorder(0.303), Parkinson Disease (0.302), Carcinoma, Squamous Cell (0.302), Urinary Bladder Neoplasms (0.3025), Cardiovascular Diseases/ Hyperglycemia/ Osteoporosis /Obesity/Hyperinsulinism/Peripheral Nervous System Diseases/ Hyperthyroidism/Epilepsy/Fatty Liver, Head and Neck Neoplasms/ Carcinoma Transitional Cell (0.3), Brain Injuries (0.1), MALIGNANT LUNG NEOPLASM(0.036)	P07203, Q6NSD4, Q7L4Q3, X5D926, X5DQZ7	Glutathione Peroxidase 1
<b>ZFP36L2</b>	0.54916657	Prostatic Neoplasms (0.3), Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma(0.1)	P47974	ZFP36 Ring Finger Protein Like 2
<b>IL37</b>	0.54875387	-	Q9NZH6L	Interleukin 37
<b>FOXB1</b>	0.54508558	-	Q99853	Forkhead Box B1
<b>SERPINB13</b>	0.53987994	-	Q9UIV8, H7BZS9, F8WE70, C9JL93, B7ZKV6	Serpin Family B Member 13
<b>SLC17A8</b>	0.53745104	Deafness Autosomal Dominant 25(0.7)	Q8NDX2	Solute Carrier Family 17 Member 8
<b>CCNG2</b>	0.53388955	-	Q16589, Q8N5D4, D6RHI3	Cyclin G2
<b>ZNF117</b>	0.53139250	-	Q03924	Zinc Finger Protein 117
<b>PLA2G4D</b>	0.53109947	-	Q86XP0	Phospholipase A2 Group IVD



<b>GOLGA4</b>	0.53091588	Arsenic poisoning, Prostatic Neoplasms, Skin Diseases (0.3)	Q13439, Q86W71, H0Y6I0, E7EVX2, C9J0Y3, C9JHJ5, Q49A56	Golgin A4
<b>B3GNT8</b>	0.52643811	-	Q7Z7M8	UDP-GlcNAc:BetaGal Beta-1,3-N-Acetylglucosaminyl transferase 8
<b>C11orf10</b>	0.52048014	-	-	-
<b>PKM2</b>	0.52037957	-	P14618	Pyruvate Kinase, Muscle
<b>HIST1H2AD</b>	0.51830006	-	P20671	Histone Cluster 1 H2A Family Member D
<b>KIAA1468</b>	0.51623617	-	Q9P260, Q96ES0	KIAA1468
<b>RPS7</b>	0.51502391	Diamond - Blackfan Anemia 8, Breast Neoplasms (0.3)	P62081, B5MCP9	Ribosomal Protein S7
<b>MEAF6</b>	0.51480870	-	-	-
<b>GALNT9</b>	0.50929647	-	Q9HCQ5	Polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferase 9
<b>SOD1</b>	0.50585883	Amyotrophic lateral sclerosis 1 (0.66), Hypertension (0.401), Deficiency Diseases (0.4), Motor Neuron Disease (0.34), Down Syndrome(0.32), Atherosclerosis (0.31), Diabetes Mellitus Type 2(0.309), Ischemia (0.309), Parkinson Disease (0.308), Nerve Degeneration (0.307), Brain Ischemia (0.305), Myocardial Infarction (0.302), Reperfusion Injury(0.302), Nervous System Disease/Diabetic Retinopathy/Storke (0.301), Depressive Disorder/Glioma, Liver Diseases/Hyperthyroidism/Heart Failure/Retinal	P00441, V9HWC9, H7BYH4, X5D5A9, X5D3G4, A1YYW4, X5CHU1, X5CN18, W8Q444, L8E9E6, X5CQ60, X5D3F9	Superoxide Dismutase 1, Soluble

		Degeneration/Ovarian Neoplasms/Fetal Growth Retardation/Gait Disorders, Neurologic/Schistosomiasis mansoni/Hypothermia/Scrapie/ Asphyxia Neonatorum/Drug-Induced Liver Injury/ Hypotension/Anemia, Iron-Deficiency/Fatty Liver, Alcoholic/ (0.3),GLAUCOMA, NORMAL TENSION, SUSCEPTIBILITY TO/Ocular Hypertension (0.1)		
<b>IL4R</b>	0.50571222	HIV infections(0.307), Ige Responsiveness Atopic (0.3), Multiple Sclerosis (0.124), Asthma(0.112), Myocardial Infarction/Drug Hypersensitivity (0.103), Myasthenia Gravis, Autoimmune, Experimental/ Spinal Cord Injuries/Asthma (0.1)	P24394, J9JII2, Q5FC08, B9EGC0, H3BRH7, H3BTD9, I3L4W9, I3L4H7, H3BSE7	Interleukin 4 Receptor
<b>MTDH</b>	0.50358252	Neoplasm Metastasis (0.308), Breast Neoplasms (0.305)	Q86UE4, H0YB56, E5RJU9, H0YBE0, H0YBJ8	Metadherin
<b>PRKCI</b>	0.50051612	Diabetes Mellitus, Experimental(0.1)	P41743, B5BUK7	Protein Kinase C Iota
<b>SETD3</b>	0.50013358	-	Q86TU7, C9K0W5, Q6NXR6	SET Domain Containing 3
<b>ZCCHC6</b>	0.49936659	-	P01889, Q5VYS8, Q5VYT0, X6R3Q3, Q5VYS9, Q96KX5	Zinc Finger CCHC-Type Containing 6
<b>POLR2L</b>	0.49935861	-	P62875	RNA Polymerase II Subunit L
<b>SRP14</b>	0.49831385	-	P37108, H0YLW0, H0YLA2	Signal Recognition Particle 14

<b>FAM83D</b>	0.49727477	-	Q9H4H8	Family With Sequence Similarity 83 Member D
<b>SMAD5</b>	0.49671920	Malignant neoplasm of ovary (0.1)	Q99717, Q68DB7, D6RIZ9, H0YAK7, D6R9D4, D6RBB4, H0YAM3, Q6I9T1	SMAD Family Member 5
<b>RIPK2</b>	0.49586705	Colitis, Ulcerative (0.3)	O43353, E7ERW9, E5RGK6, Q6Q322	Receptor Interacting Serine/Threonine Kinase 2
<b>LENG8</b>	0.49309037	-	Q96PV6, C9JMY0, B0VJY8, E7EWC7, C9J1N5, H7BZP5, Q8WYW0	Leukocyte Receptor Cluster Member 8
<b>IDH2</b>	0.49070341	D-2-HYDROXYGLUTARIC ACIDURIA 2 (0.6), Oligodendroglioma (0.304), Chondroma/ Enchondromatosis/ Hemangioma/ Osteoporosis/ Osteoarthritis (0.3), Glioma (0.03)	P48735, H0YL11, H0YLL5, B4DSZ6	Isocitrate Dehydrogenase (NADP(+)) 2, Mitochondrial

Πίνακας 34: Βιοδείκτες από την σύγκριση των Co-expression Network from Non-Irradiated και alpha particles σε απόσταση 625 – 1125  $\mu\text{m}$  (0.5cGy)

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>TMEM14C</b>	0.83555842	-	Q9P0S9	Transmembrane Protein 14C
<b>TEX101</b>	0.81602907	-	Q9BY14	Testis Expressed 101
<b>POLD4</b>	0.73901269	-	Q9HCU8	DNA Polymerase Delta 4, Accessory Subunit
<b>CNN1</b>	0.73020012	-	P51911, B7Z7E1, K7ESJ2, K7ER02, K7ERK4, K7ENC5, K7ERM8, K7EQ72, V9HWA5	Calponin 1
<b>ZNF444</b>	0.65879772	-	Q8N0Y2	Zinc Finger Protein 444
<b>POGK</b>	0.65523803	-	Q9P215	Pogo Transposable Element With KRAB Domain
<b>MUTYH</b>	0.63979455	Colorectal Adenomatous Polyposis, Autosomal Recessive (0.6), Adenomatous Polyposis Coli (0.34), Stomach Neoplasms (0.302), Stomach Carcinoma (0.301), Pilomatrixoma/ Peripheral Nervous System Diseases (0.3), Colorectal	Q9UIF7	MutY DNA Glycosylase

		Cancer(0.107), Colorectal Neoplasms (0.04), Adenoma(0.3)		
<b>KLHL1</b>	0.62251335	-	Q9NR64,F5H1J3, Q8TBJ7, Q96RF4	Kelch Like Family Member 1
<b>PLA2G4A</b>	0.61720130	Amyotrophic Lateral Sclerosis/ Metabolism, Inborn Errors/ Duodenal Ulcer/ Autistic Disorder/Blood Platelet Disorders/ Breast Neoplasms/ Dermatitis/ Respiratory Distress Syndrome, Adult/ Asthma (0.3), Sepsis/ Carcinoma, Transitional Cell/Brain Ischemia/Reperfusion Injury/ Polycystic Kidney Diseases/Burns/Inflammation/ Hyperglycemia/ Metabolic Syndrome X/ Hyperalgesia/ Papilloma/ Wallerian Degeneration/ Liver Cirrhosis, Experimental/ Fever (0.1), Schizophrenia (0.033)	P47712	Phospholipase A2 Group IVA
<b>RPLP2</b>	0.61095847	-	P05387,H0YDD8	Ribosomal Protein Lateral Stalk Subunit P2
<b>TMEM38A</b>	0.60949553	-	Q9H6F2, M0QYB6	Transmembrane Protein 38A
<b>DPP9</b>	0.60647963	Idiopathic Pulmonary Fibrosis (0.3)	Q86TI2, M0R3C4, M0QXI5, M0R0I1, M0QXA6, M0R1L4, M0R145, M0QXG6, M0R3E8, M0R334, M0R162,	Dipeptidyl Peptidase 9

			M0R2G6, M0R2A8, M0QXN4, M0QZ97	
<b>SCNN1G</b>	0.59918762	Hypertension (0.32), Cystic Fibrosis (0.31), Pseudohypoaldosteronism/ Liddle Syndrome (0.302), Bronchiectasis With Or Without Elevated Sweat Chloride 3/ Hypotension (0.3), Pseudohypoaldosteronism, type I, autosomal recessive (0.1)	P51170	Sodium Channel Epithelial 1 Gamma Subunit
<b>CDHR3</b>	0.58269266	-	Q6ZTQ4, E9PEI5, E7EQG5, F8WF00, H7C555, H7C548	Cadherin Related Family Member 3
<b>TXLNB</b>	0.57634215	-	Q8N3L3,Q5HYH7 , H0UI60, H0UI61, H7BY59, Q8TE09	Taxilin Beta
<b>EIF1</b>	0.55048501	-	P41567	Eukaryotic Translation Initiation Factor 1
<b>MZF1</b>	0.54436951	-	P28698	Myeloid Zinc Finger 1
<b>KIAA1908</b>	0.54417431	-	-	-
<b>MPP3</b>	0.54187141	-	Q13368	Membrane Palmitoylated Protein 3
<b>MT1H</b>	0.53660904	Acute Lung Injury/ Kidney Diseases/ Brain Injuries/ Acute-Phase Reaction/ Cadmium	P80294	Metallothionein 1H

		Poisoning/ Peripheral Nerve Injuries/ Retinitis Pigmentosa/ Endotoxemia/ Cerebral Hemorrhage (0.1)		
<b>S100A7</b>	0.53586763	Psoriasis (0.303)	P31151	S100 Calcium Binding Protein A7
<b>ARHGEF10</b>	0.51822318	Slowed Nerve Conduction Velocity, Autosomal Dominant (0.6)	O15013	Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor 10
<b>PLEKHF2</b>	0.51605092	-	Q9H8W4	Pleckstrin Homology Kα1 FYVE Domain Containing 2
<b>SPATA5</b>	0.51101289	Schizophrenia (0.3)	Q8NB90	Spermatogenesis Associated 5
<b>PTPRE</b>	0.50697805	-	P23469 , S4R3B0, S4R2Y5, Q5VWH5, Q5VWH6, S4R448, S4R3X3, B4DRZ3, Q96P81, Q8TE48	Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor Type E
<b>RUSC2</b>	0.50403238	-	Q8N2Y8	RUN Kα1 SH3 Domain Containing 2
<b>ZNF146</b>	0.50076002	-	Q15072	Zinc Finger Protein 146
<b>GPR137B</b>	0.49894883	-	O60478, H0Y509, Q5TAF0	G Protein-Coupled Receptor 137B
<b>SCGB3A2</b>	0.49322096	Asthma (0.32)	Q96PL1	Secretoglobin Family 3A Member 2

<b>DTNB</b>	0.48730040	-	O60941 , E9PEY4, E9PE76, E7EVB6, E7ES64, F8WD22, F8W9U0, Q110L3, Q53SF9, Q53QV1, Q53TC8, B7Z202, Q53T51	Dystrobrevin Beta
<b>TK1</b>	0.48122257	Colorectal Neoplasms (0.302), Liver Neoplasms Experimental (0.3)	P04183 , K7ES52, K7ERV3, K7ERJ1, K7ENW5, B5BUF9, B5BU32	Thymidine Kinase 1

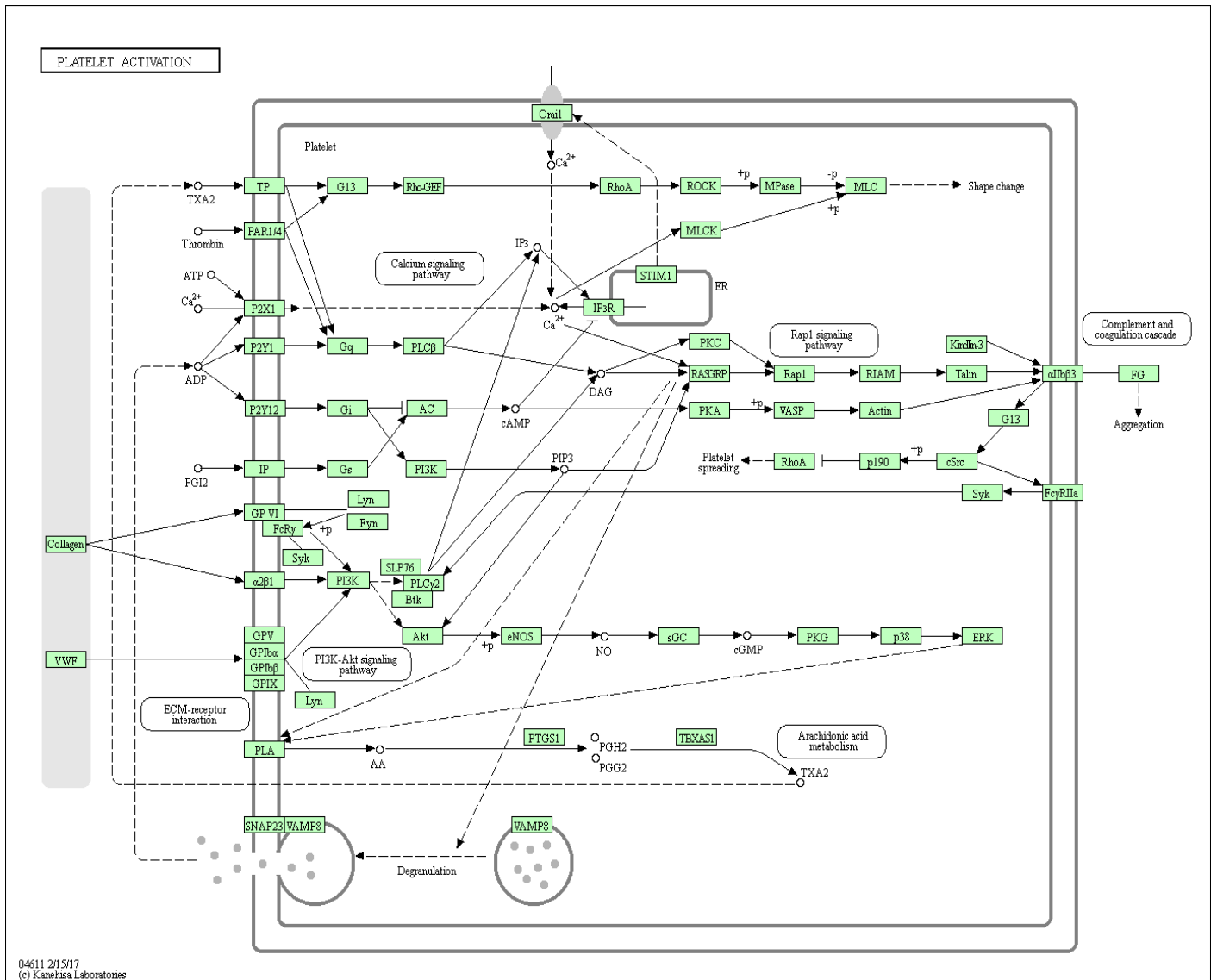


## 6° Βήμα: Gene Enrichment Analysis

1. Non Irradiated με ακτινοβολημένα alpha particles σε απόσταση 125 - 625 um (0.5 cGy)

Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">somatic stem cell population maintenance</a>	RT		3	0,0	7,2E-3	9,3E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">cytosol</a>	RT		13	0,2	1,3E-2	7,1E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">peroxisome</a>	RT		3	0,0	1,6E-2	5,2E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">cytoplasm</a>	RT		17	0,2	1,7E-2	4,1E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">nucleolus</a>	RT		6	0,1	2,0E-2	3,7E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">heart contraction</a>	RT		2	0,0	2,5E-2	9,9E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">nucleoplasm</a>	RT		11	0,1	2,7E-2	3,9E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">negative regulation of neuron apoptotic process</a>	RT		3	0,0	2,8E-2	9,7E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity</a>	RT		3	0,0	2,8E-2	9,3E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">sensory perception of sound</a>	RT		3	0,0	2,8E-2	9,3E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">extracellular exosome</a>	RT		11	0,1	2,8E-2	3,5E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">DNA-directed RNA polymerase II, core complex</a>	RT		2	0,0	3,3E-2	3,5E-1
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">protein complex</a>	RT		4	0,1	4,1E-2	3,8E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">Golgi to plasma membrane protein transport</a>	RT		2	0,0	5,2E-2	9,8E-1
KEGG_PATHWAY	<a href="#">Platelet activation</a>	RT		3	0,0	5,4E-2	9,9E-1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">positive regulation of viral transcription</a>	RT		2	0,0	5,5E-2	9,7E-1

Εικόνα 35: Functional Annotation Chart Non Irradiated με 125\_625 um (0.5 cGy)



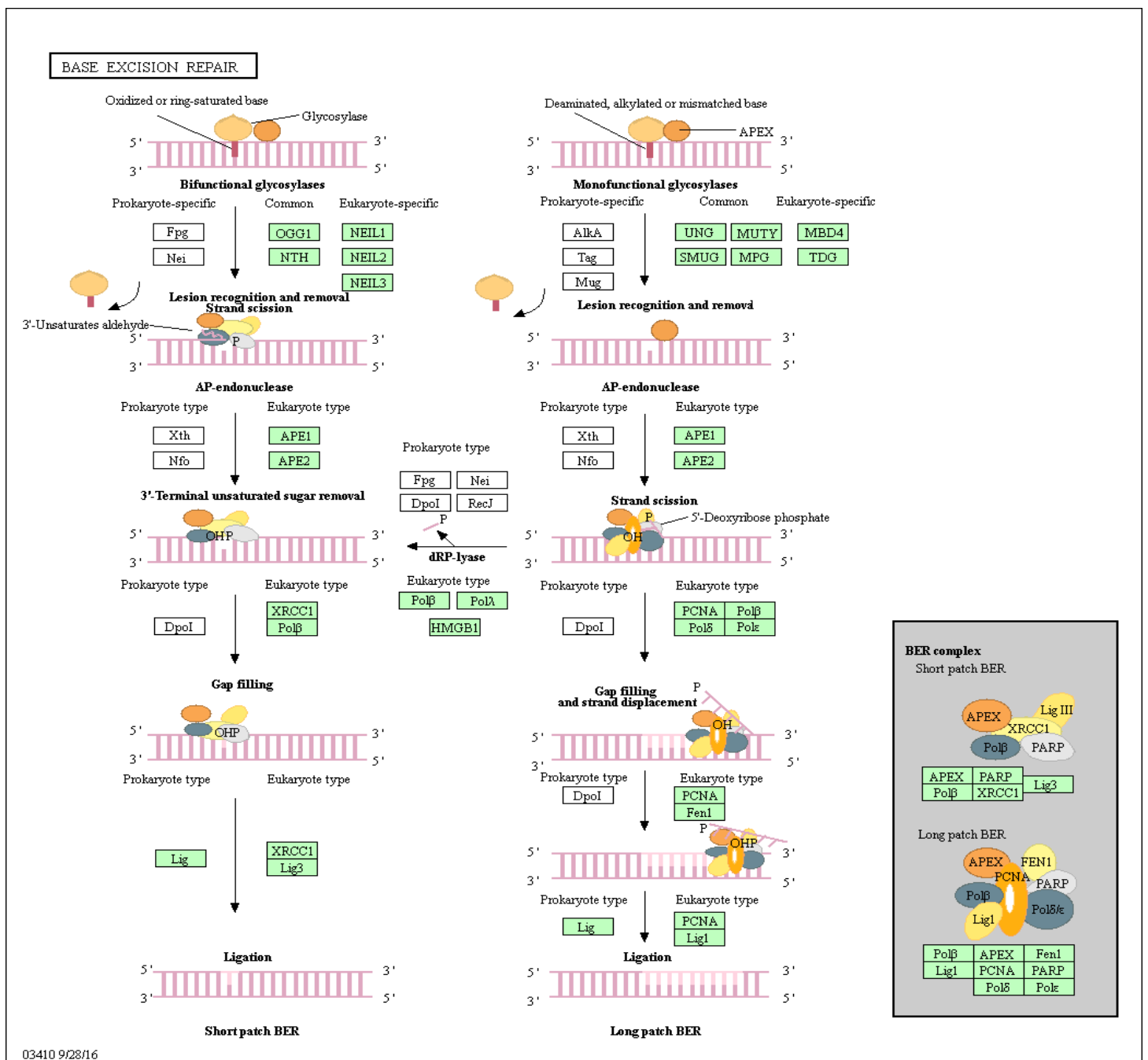
04611 2/15/17  
 (c) Kanehisa Laboratories

Εικόνα 36: Platelet activation kegg pathway

2. Non Irradiated με ακτινοβολημένα alpha particles σε απόσταση 625-1125 um (0.5cGy)

Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">mismatch repair</a>	RT		2	6,7	4,9E-2	1,0E0
KEGG_PATHWAY	<a href="#">Base excision repair</a>	RT		2	6,7	3,8E-2	7,4E-1

Εικόνα 37: Functional Annotation Chart



Εικόνα 36: Base excision repair Kegg pathway

### 4.3 GSE16935 – Protons

Τα αρχεία χωρίζονται σε 3 κατηγορίες : δείγματα χωρίς ακτινοβολία (non irradiated – control), με χαμηλή δόση ακτινοβολίας 0.1Gy και με υψηλή δόση ακτινοβολίας 2.5Gy. Επίσης διαχωρίζονται και με βάση πόση ώρα έχει περάσει μετά την έκθεση σε ακτινοβολία. Συγκεκριμένα έχει 3 διαφορετικές στιγμές: 4 ώρες, 16 ώρες και 24 ώρες μετά την έκθεση. Συνολικά υπάρχουν 27 samples και χωρίστηκαν στις εξής 9 κατηγορίες που φαίνονται στον Πίνακα 35 :

Πίνακας 35: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.

GSE21059	4 ώρες	16 ώρες	24 ώρες
non-irradiated	3	3	3
low dose 0.1Gy	3	3	3
high dose 2.5Gy	3	3	3

#### 1° Βήμα: Εξαγωγή gene co-expression network για κάθε ομάδα

Πίνακας 36: Ο επιλεγμένος συντελεστής Pearson για κάθε ομάδα δειγμάτων και ο αντίστοιχος αριθμός ακμών του δικτύου, με βάση τον οποίο γίνεται και η επιλογή του συντελεστή.

Ομάδα	Συντελεστής Pearson	Αριθμός ακμών
Non-Irradiated - 4 hr	0,2	2492
Non-Irradiated - 16 hr	0,2	10659
Non-Irradiated – 24hr	0,2	13823
Low Dose 0.1 Gy – 4hr	0,2	9034
Low Dose 0.1 Gy – 16hr	0,2	9411
Low Dose 0.1 Gy – 24hr	0,2	5144
High Dose 2.5 Gy – 4hr	0,2	5276
High Dose 2.5 Gy – 16hr	0,2	165053
High Dose 2.5 Gy – 24hr	0,2	177390

Ο κατάλληλος συντελεστής Pearson επιλέγεται με βάση τον αριθμό των ακμών. Ο αριθμός των ακμών πρέπει να είναι περίπου 6-10 φορές ο αριθμός των γονιδίων. Εδώ έχουμε σε όλα 0.2 για να θεωρηθεί σωστή αλληλεπίδραση γιατί είναι πολύ λίγα τα δείγματα και για να γίνει σωστή ανάλυση στην πλατφόρμα.

## 2<sup>ο</sup> Βήμα: Ανάλυση δικτύου

Ανάλυση δικτύου για τις 9 ομάδες και παρουσίαση των 10 πιο σημαντικά nodes για κάθε ομάδα.

- ✦ **Non-Irradiated - 4 hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.
- ✦ **Non-Irradiated - 16 hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.

*Πίνακας 37: Non-irradiated – 24hr*

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>ERI1</b>	0.3960674157	0.20284111	0.0061549821	0.0115303679198
<b>YPEL1</b>	0.4073033707	0.19270572	0.0060985521	0.0127352047289
<b>THRSP</b>	0.4016853932	0.17756276	0.0057083789	0.0244290170587

- ✦ **Low Dose 0.1 Gy – 4hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.
- ✦ **Low Dose 0.1 Gy – 16hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.

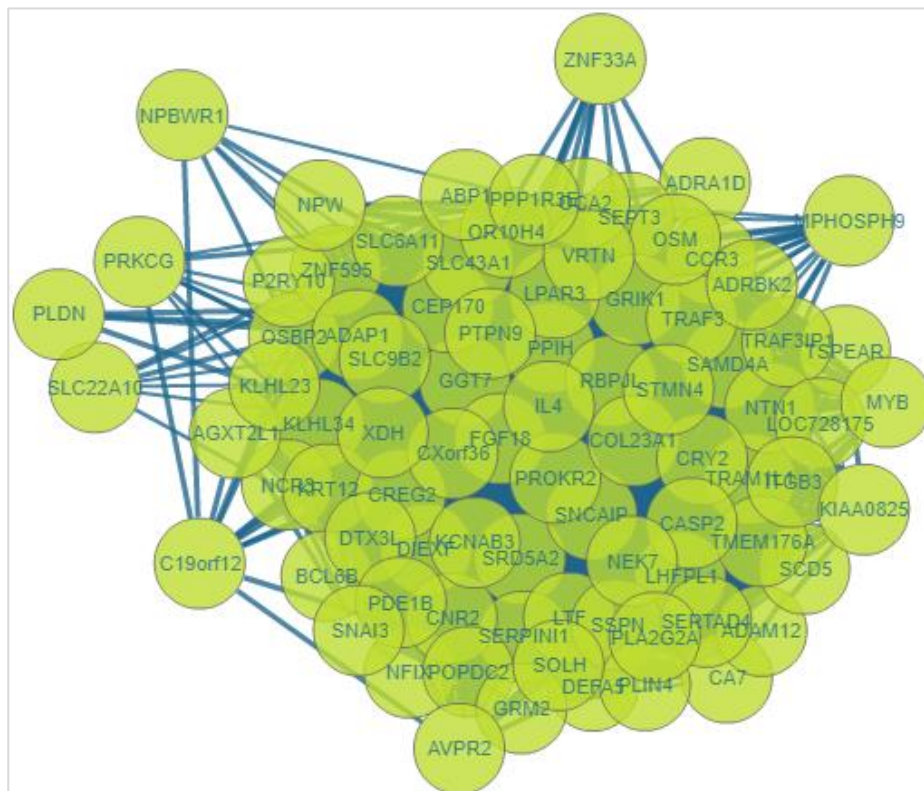
*Πίνακας 38: Low Dose 0.1 Gy – 24hr*

Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>LSP1</b>	0.8	0.1821594080517182	0.013398831599069875	0.0198896174481

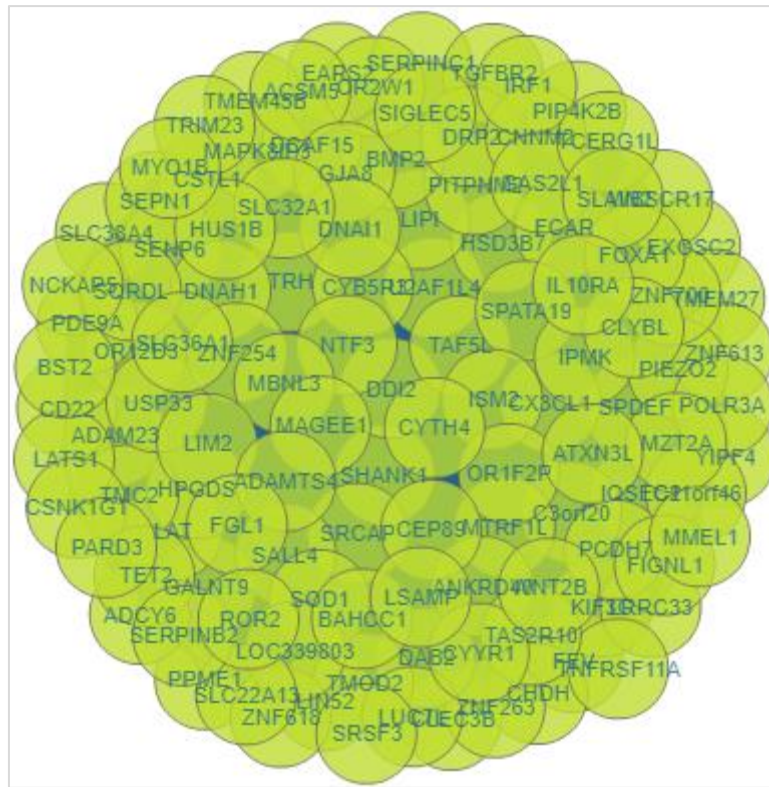
- ✦ **High Dose 2.5 Gy – 4hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.
- ✦ **High Dose 2.5 Gy – 16hr:** Κανένα σημαντικό node – edge.

Πίνακας 39: High Dose 2.5 Gy – 24hr

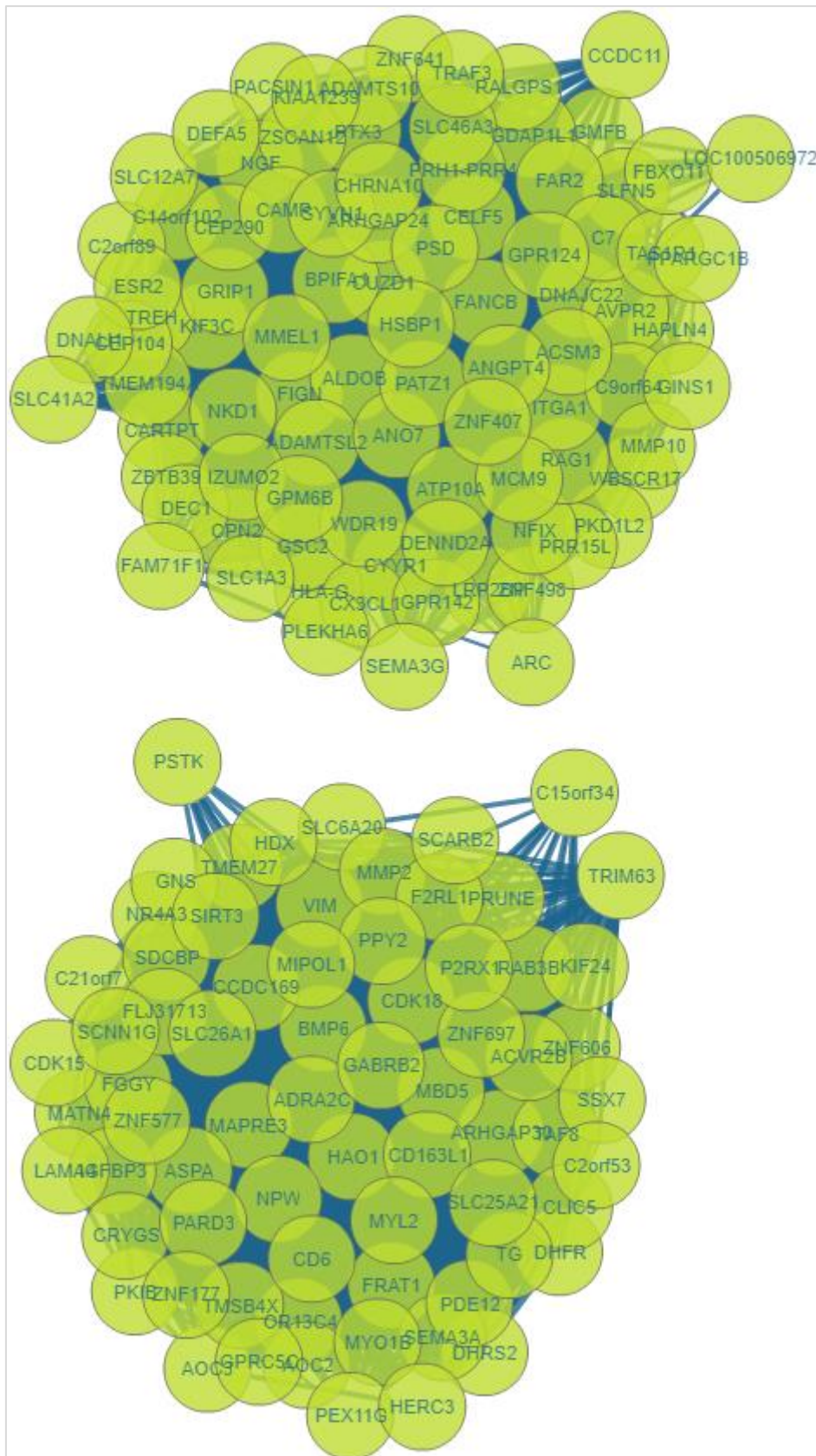
Node	Degree Centrality	Clustering Coefficient	Pagerank Centrality	P-value
<b>FAM115C</b>	0.26661197	0.24064127	0.00249411	6.5712617e-05
<b>CATSPER3</b>	0.25922887	0.26350519	0.00238905	0.00016927
<b>SOX11</b>	0.26579163	0.23288484	0.00237672	0.00018847
<b>CSF1</b>	0.26579163	0.23974273	0.00237155	0.00019711
<b>CCL20</b>	0.25594749	0.27232491	0.00230822	0.00033781
<b>LRTM1</b>	0.25758818	0.22959820	0.00223280	0.00062539
<b>KCNH7</b>	0.25512715	0.22918407	0.00219333	0.00085366
<b>SPATA4</b>	0.25348646	0.22912538	0.00214211	0.00126405
<b>TSPAN16</b>	0.25184577	0.23813049	0.00211707	0.00152439
<b>APBA1</b>	0.24446267	0.27255416	0.00211389	0.00156083



Εικόνα 38: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 4hr

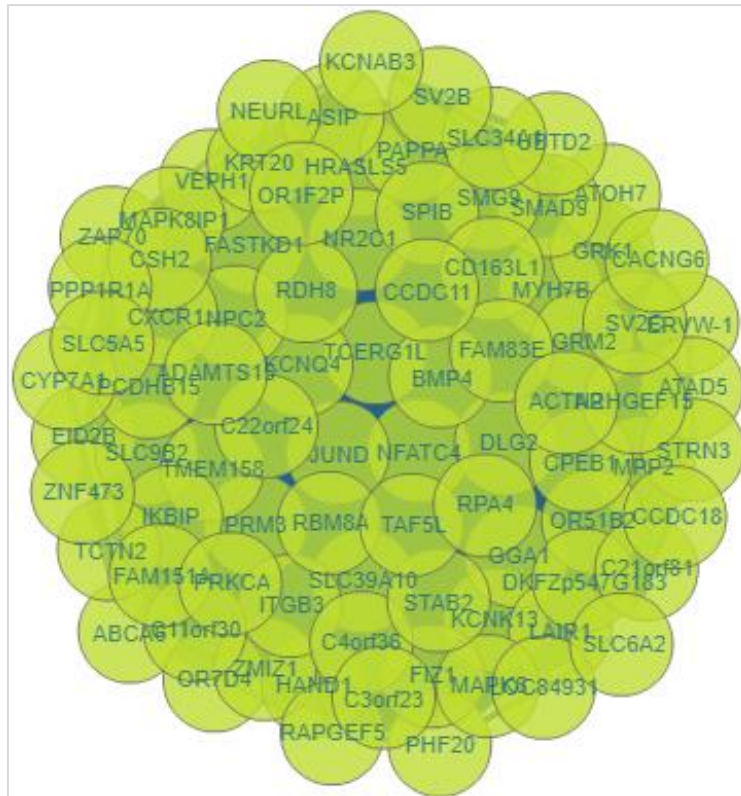


Εικόνα 39: Τοπολογία δικτύου Low dose: 4hr

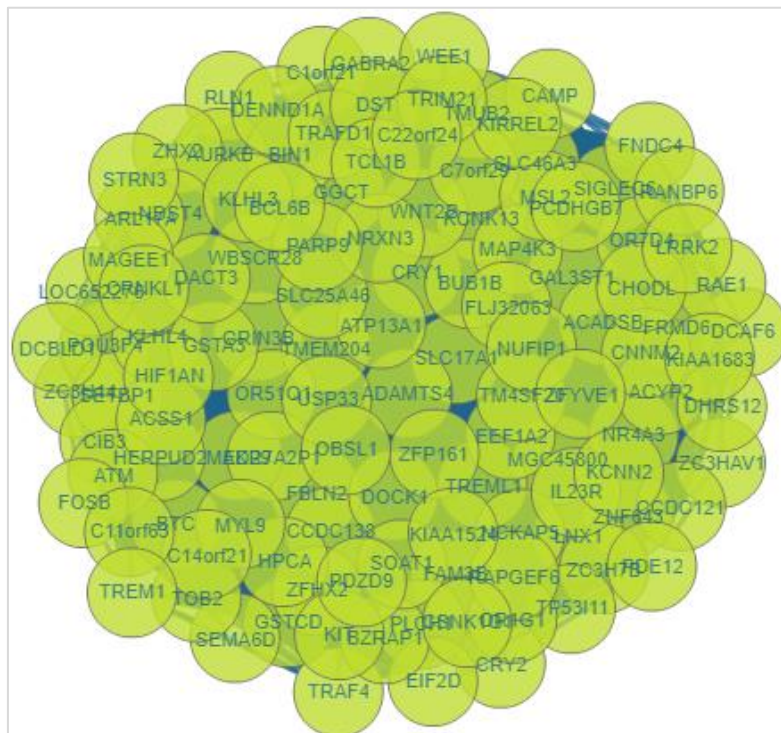


Εικόνα 40: Τοπολογία δικτύου High dose: 4hr

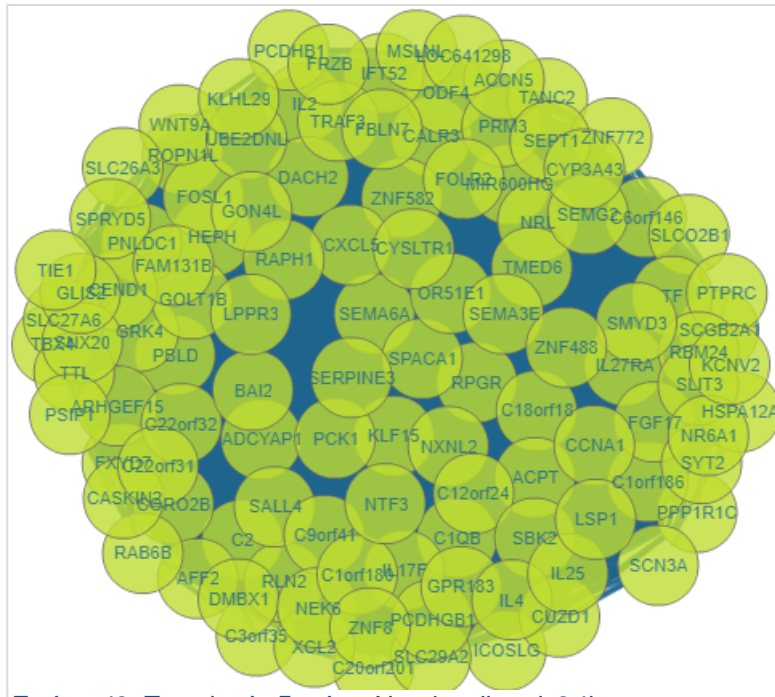




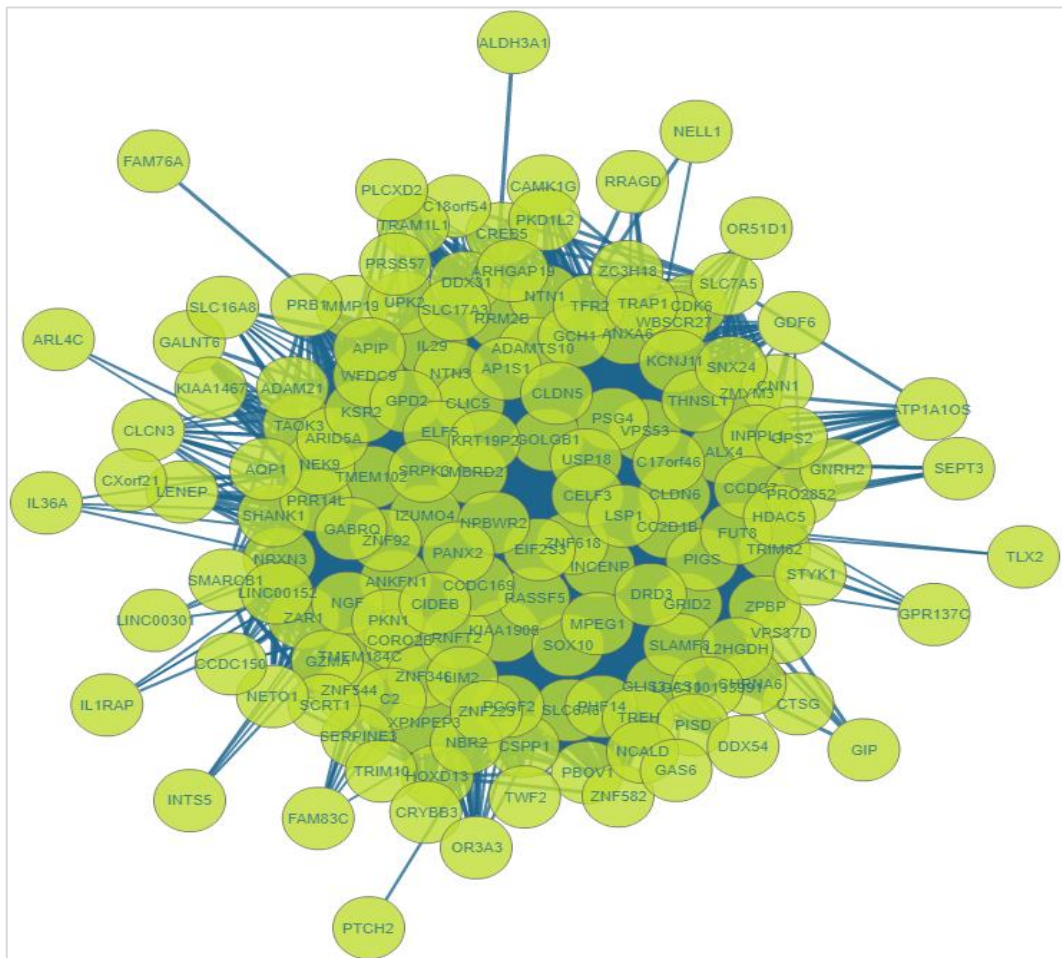
Εικόνα 42: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 16hr



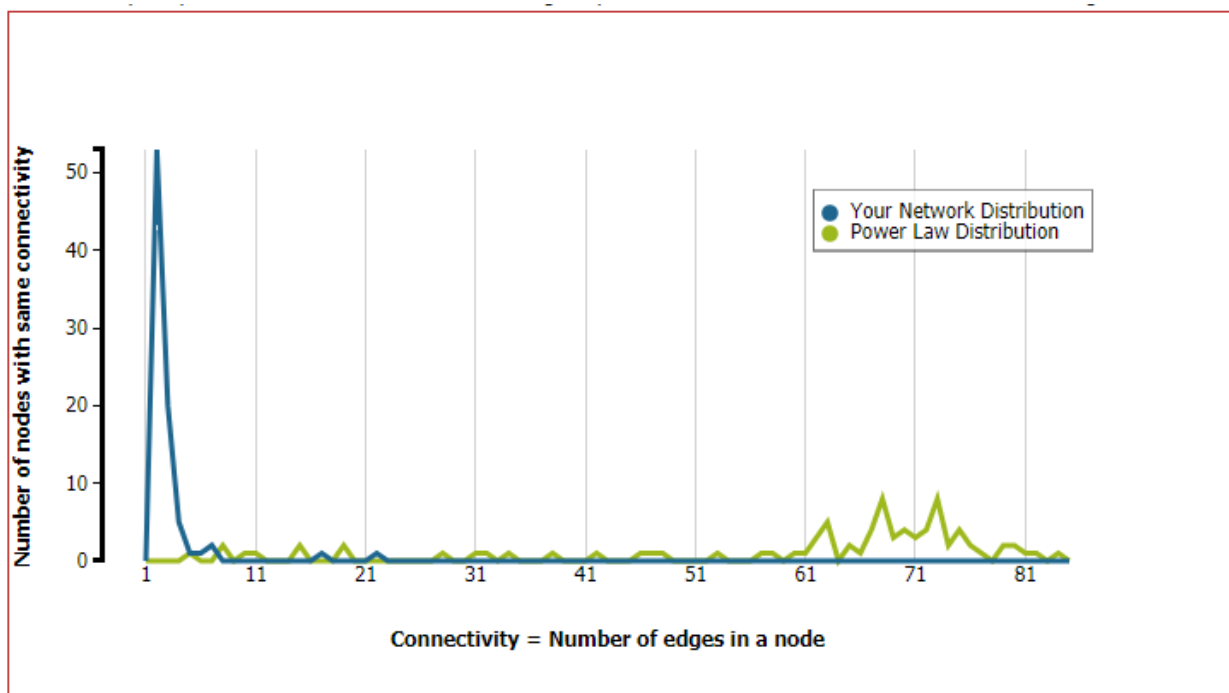
Εικόνα 41: Τοπολογία δικτύου protons Low dose: 16hr



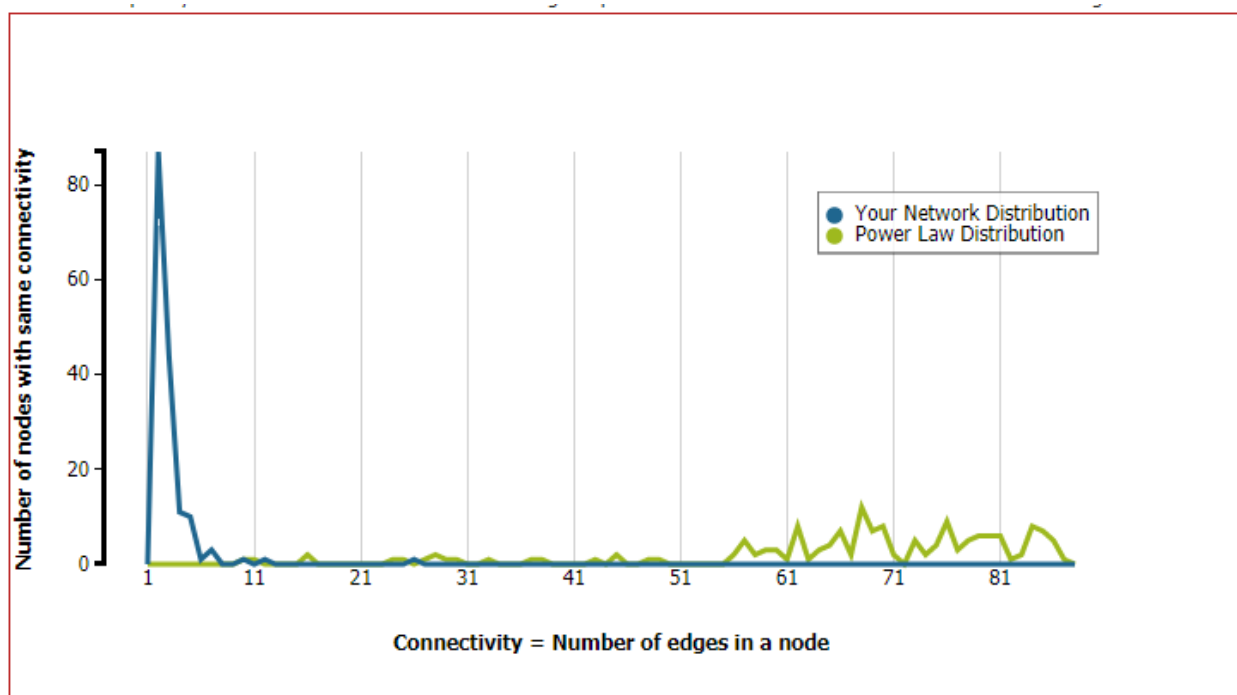
Εικόνα 43: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 24hr



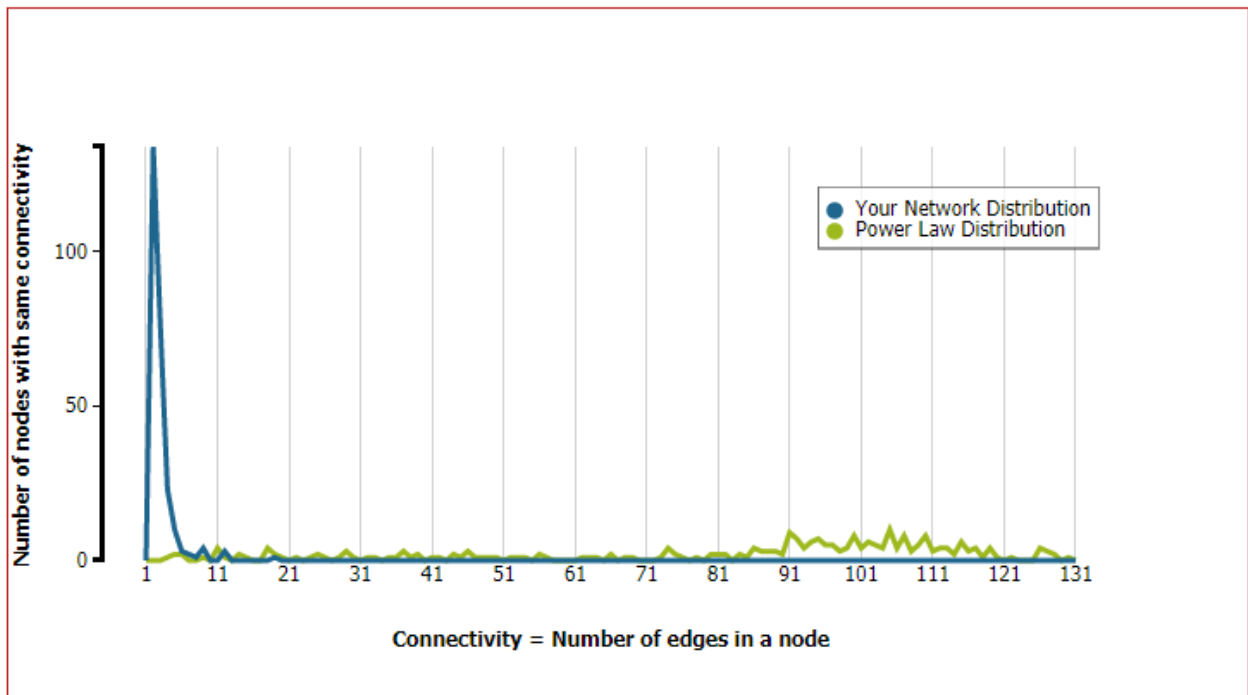
Εικόνα 44: Τοπολογία δικτύου Low dose: 24hr



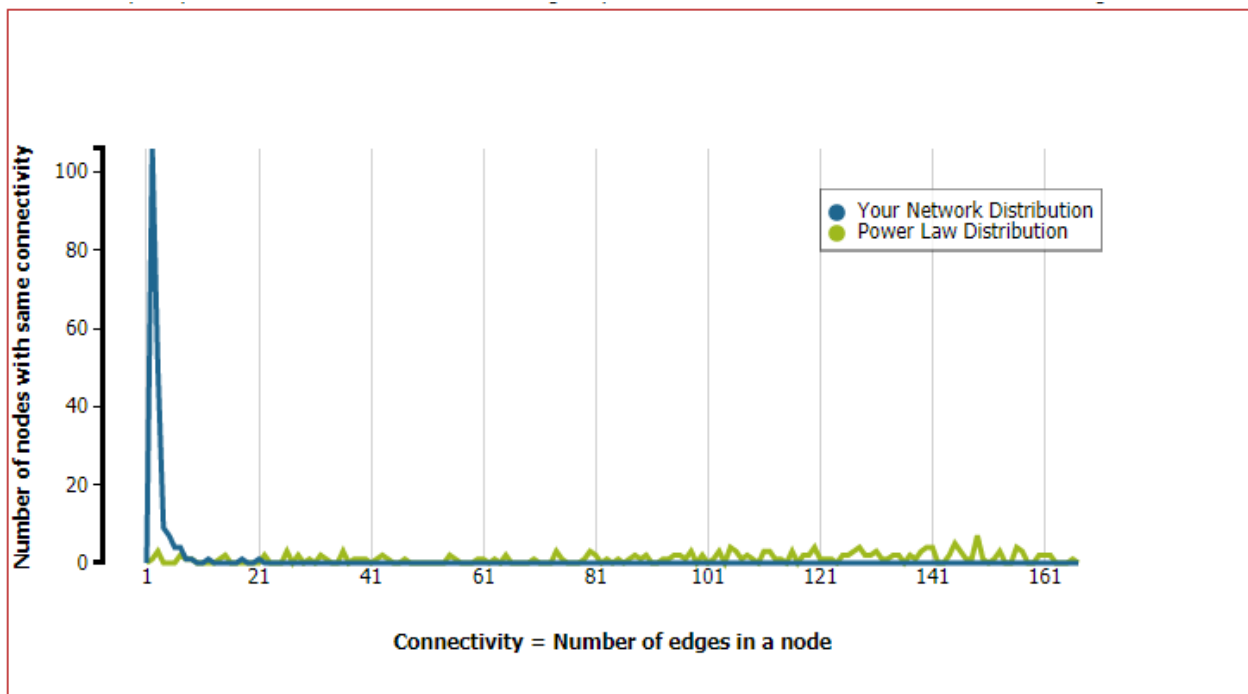
Εικόνα 45: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Non-irradiated 4h



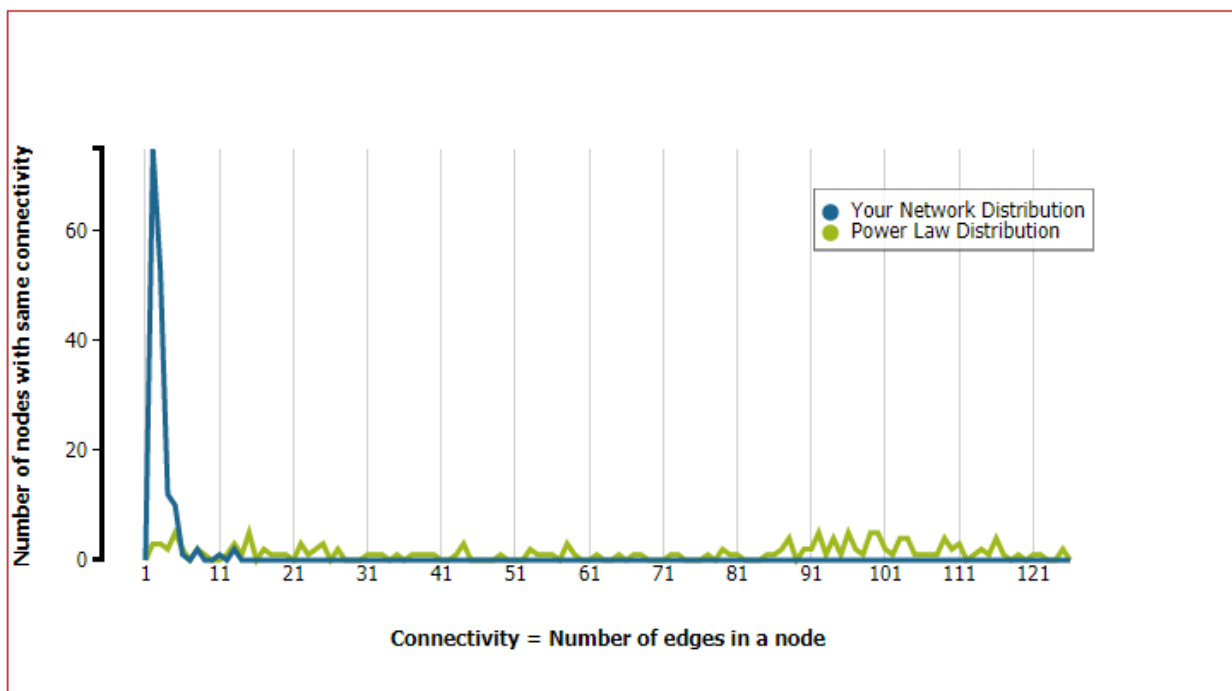
Εικόνα 46: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose: 4h



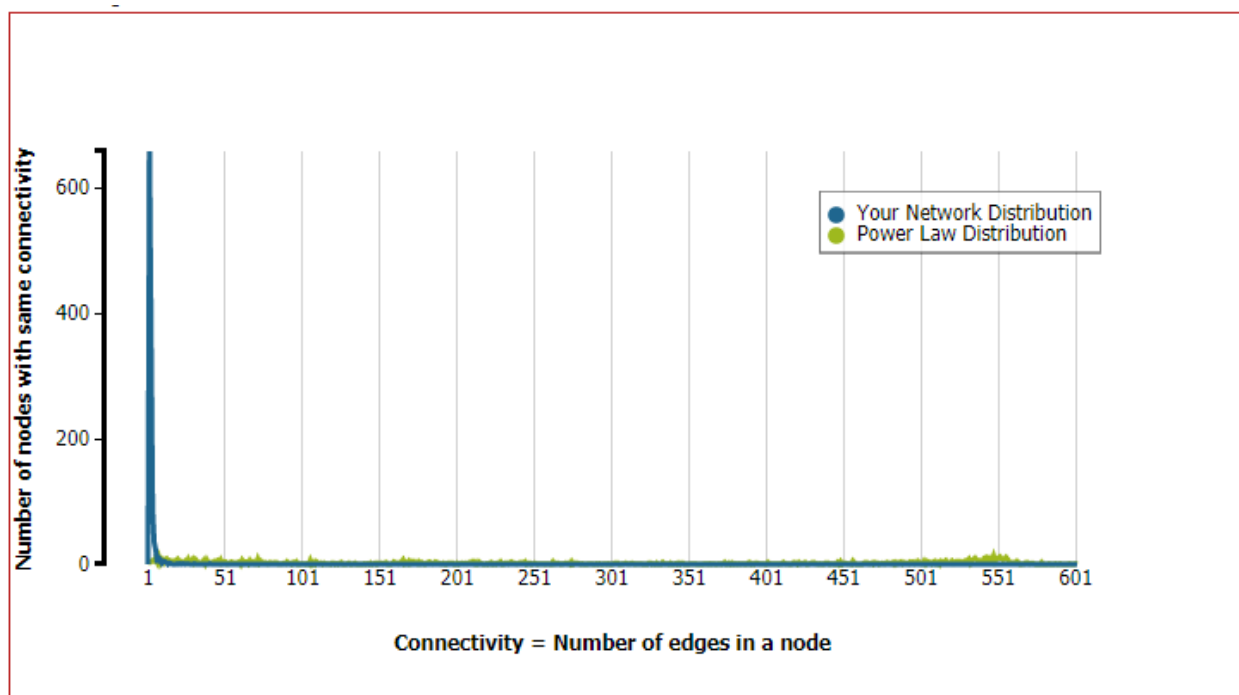
Εικόνα 48: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Non-irradiated 16h



Εικόνα 49: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose 4h



Εικόνα 52: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose 24h



Εικόνα 51: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: High dose 24h

### 3<sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών (Differential expression Βιοδείκτες)

Οι συγκρίσεις που έγιναν ήταν δύο κατηγοριών. Έγινε σύγκριση για τα τρία γκρουπ μεταξύ 4h-16h και 4h-24h και μια άλλου είδους σύγκριση μεταξύ μη ακτινοβολημένων (non-irradiated) και ακτινοβολημένων ανά ώρα. Παρουσιάζονται ενδεικτικά οι 10 πρώτοι βιοδείκτες. Πρώτα παρουσιάζονται οι συγκρίσεις μεταξύ των ωρών και έπειτα οι συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων.

*Πίνακας 40: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες.*

Non-Irradiated: 4 hr – 16 hr		Non-Irradiated: 4 hr – 24 hr	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
<b>ANAPC4</b>	0.04953461	<b>ANAPC4</b>	0.04953461
<b>ARMC8</b>	0.04953461	<b>HOXD11</b>	0.04953461
<b>SLC19A3</b>	0.04953461	<b>BCL2L14</b>	0.04953461
<b>CLIP1</b>	0.04953461	<b>ARMC8</b>	0.04953461
<b>EIF4A2</b>	0.04953461	<b>SLC19A3</b>	0.04953461
<b>NPFF</b>	0.04953461	<b>CCDC66</b>	0.04953461
<b>ST8SIA4</b>	0.04953461	<b>RPS16</b>	0.04953461
<b>CLRN1</b>	0.04953461	<b>MRGPRF</b>	0.04953461
<b>DCAKD</b>	0.04953461	<b>CLIP1</b>	0.04953461
<b>GPBAR1</b>	0.04953461	<b>NEK2</b>	0.04953461

Πίνακας 41: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy) για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες

Low Dose 0.1 Gy: 4hr – 16hr		Low Dose 0.1 Gy: 4hr – 24hr	
Gene Expression	P-value	Gene expression	P-value
ANAPC4	0.0495346134356	SLC34A1	0.0495346134356
ARMC8	0.0495346134356	C12orf43	0.0495346134356
SLC34A1	0.0495346134356	PRKX	0.0495346134356
PRKX	0.0495346134356	CLIP1	0.0495346134356
TBC1D20	0.0495346134356	ZNF689	0.0495346134356
CLIP1	0.0495346134356	NEK2	0.0495346134356
TRPC4	0.0495346134356	LSM3	0.0495346134356
ZNF689	0.0495346134356	OVGP1	0.0495346134356
NEK2	0.0495346134356	GPBAR1	0.0495346134356
LSM3	0.0495346134356	ARRDC2	0.0495346134356

Πίνακας 42: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (high dose 2.5 Gy) για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες.

High Dose 2.5 Gy: 4hr – 16hr		High Dose 2.5 Gy: 4hr – 24hr	
Gene Expression	P-value	Gene Expression	P-value
IGLL1	0.0495346134356	ANAPC4	0.0495346134356
SLC34A1	0.0495346134356	IGLL1	0.0495346134356
TBC1D20	0.0495346134356	SLC34A1	0.0495346134356
RPS16	0.0495346134356	PRKX	0.0495346134356
NEK2	0.0495346134356	RPS16	0.0495346134356
TMEM9B	0.0495346134356	LSM3	0.0495346134356
COASY	0.0495346134356	EIF4A2	0.0495346134356
CLRN1	0.0495346134356	TMEM9B	0.0495346134356
ATP5G3	0.0495346134356	OVGP1	0.0495346134356
SLC4A1AP	0.0495346134356	COASY	0.0495346134356

Πίνακας 43: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 4 ώρες.

4 hr			
Non -Irradiated – Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated– High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>AAPC4</b>	0.04953461	<b>PTPN9</b>	1.0
<b>IPLL1</b>	0.04953461	<b>FGF18</b>	0.88565849
<b>ARMC8</b>	0.04953461	<b>GGT7</b>	0.85452827
<b>SLC19A3</b>	0.04953461	<b>CXorf36</b>	0.80318380
<b>C12orf43</b>	0.04953461	<b>PPP1R3E</b>	0.79343431
<b>PRKX</b>	0.04953461	<b>PPIH</b>	0.77219580
<b>MACROD2</b>	0.04953461	<b>IL4</b>	0.71843146
<b>RPS16</b>	0.04953461	<b>CEP170</b>	0.69962486
<b>CLIP1</b>	0.04953461	<b>DTX3L</b>	0.60355038
<b>EIF4A2</b>	0.04953461	<b>SEPT3</b>	0.59428507

Πίνακας 44: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 16 ώρες.

16 hr			
Non -Irradiated - Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated– High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>BZRAP1</b>	1.0	<b>CD163L1</b>	1.0
<b>FBLN2</b>	0.84631187	<b>NFATC4</b>	0.98737160
<b>CSNK1G1</b>	0.83145281	<b>IKBIP</b>	0.97945392
<b>TMUB2</b>	0.75989289	<b>PPP1R1A</b>	0.97633266
<b>TREML1</b>	0.75338968	<b>DLG2</b>	0.97585610
<b>ATP13A1</b>	0.69746613	<b>VEPH1</b>	0.96040934
<b>PARP9</b>	0.69745631	<b>JUND</b>	0.95648236
<b>GGCT</b>	0.68279840	<b>NR2C1</b>	0.95336145
<b>BIN1</b>	0.61987117	<b>CXCR1</b>	0.89691149
<b>FAM3B</b>	0.61970488	<b>OR7D4</b>	0.89321452



Πίνακας 45: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 24 ώρες.

24 hr			
Non-Irradiated - Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated- High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>ANAPC4</b>	0.04953461	<b>ANAPC4</b>	0.04953461
<b>BCL2L14</b>	0.04953461	<b>SERPINB11</b>	0.04953461
<b>ARMC8</b>	0.04953461	<b>IGLL1</b>	0.04953461
<b>SLC34A1</b>	0.04953461	<b>SLC34A1</b>	0.04953461
<b>SLC19A3</b>	0.04953461	<b>SLC19A3</b>	0.04953461
<b>C12orf43</b>	0.04953461	<b>C12orf43</b>	0.04953461
<b>PRKX</b>	0.04953461	<b>PRKX</b>	0.04953461
<b>CCDC66</b>	0.04953461	<b>MACROD2</b>	0.04953461
<b>RPS16</b>	0.04953461	<b>TBC1D20</b>	0.04953461
<b>CLIP1</b>	0.04953461	<b>MRGPRF</b>	0.04953461

#### 4<sup>ο</sup> Βήμα: Εξαγωγή βιοδεικτών Network-based

Πίνακας 436: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων στις 4 και στις 16 ώρες και στις 4 και 24 ώρες.

Non-Irradiated: 4 hr – 16 hr		Non-Irradiated: 4 hr – 24 hr	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>PTPN9</b>	1.0	<b>FGF18</b>	1.0
<b>FGF18</b>	0.9239350	<b>CXorf36</b>	0.95050915
<b>GGT7</b>	0.9032258	<b>PPP1R3E</b>	0.94465875
<b>CXorf36</b>	0.8690692	<b>PPIH</b>	0.93191408
<b>PPP1R3E</b>	0.86258342	<b>GGT7</b>	0.92006756
<b>PPIH</b>	0.84845463	<b>CEP170</b>	0.88836622
<b>IL4</b>	0.812688235	<b>DTX3L</b>	0.83071451
<b>CEP170</b>	0.800177256	<b>SEPT3</b>	0.82515464
<b>DTX3L</b>	0.736264292	<b>SNCAIP</b>	0.82485536
<b>SEPT3</b>	0.730100594	<b>RBPJL</b>	0.80467019

Πίνακας 44: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy) στις 4 και 24 ώρες.

Low Dose 0.1 Gy: 4hr – 24hr	
Gene Expression	Confidence Score
LSP1	1.0
CC2D1B	0.79050215
KRT19P2	0.71166692
USP18	0.66286054
C17orf46	0.65871033
ANKFN1	0.54045906
IZUMO4	0.50013896
ZNF92	0.5

Πίνακας 45: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (high dose) στις 4 και στις 16 ώρες και στις 4 και 24 ώρες.

High Dose 2.5 Gy: 4hr – 16hr		High Dose 2.5 Gy: 4hr – 24hr	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
CAMP	1.0	FIGN	1.0
ZNF407	0.99153908	ZNF407	0.99991805
ITGA1	0.98036925	ITGA1	0.98803850
PRH1-PRR4	0.97688649	ADAMTSL2	0.98385667
SYVN1	0.97410189	SYVN1	0.98137293
MMEL1	0.96785422	MMEL1	0.97472828
NKD1	0.96773528	NKD1	0.97460179
FIGN	0.96527681	ANO7	0.97080720
ANO7	0.96416739	RAG1	0.97064989
RAG1	0.96401948	ZSCAN12	0.96936760

Πίνακας 46: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 4 ώρες.

4 hr			
Non -Irradiated - Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated– High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>PTPN9</b>	1.0	<b>PTPN9</b>	1.0
<b>FGF18</b>	0.87068722	<b>FGF18</b>	0.88565849
<b>GGT7</b>	0.83548097	<b>GGT7</b>	0.85452827
<b>CXorf36</b>	0.77741373	<b>CXorf36</b>	0.80318380
<b>PPP1R3E</b>	0.76638770	<b>PPP1R3E</b>	0.79343431
<b>PPIH</b>	0.74236832	<b>PPIH</b>	0.77219580
<b>IL4</b>	0.68156438	<b>IL4</b>	0.71843146
<b>CEP170</b>	0.66029534	<b>CEP170</b>	0.69962486
<b>DTX3L</b>	0.55164138	<b>DTX3L</b>	0.60355038
<b>SEPT3</b>	0.54116291	<b>SEPT3</b>	0.59428507

Πίνακας 47.: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 16 ώρες.

16 hr			
Non -Irradiated - Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated– High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>BZRAP1</b>	1.0	<b>CD163L1</b>	1.0
<b>FBLN2</b>	0.84631187	<b>NFATC4</b>	0.98737160
<b>CSNK1G1</b>	0.83145281	<b>IKBIP</b>	0.97945392
<b>TMUB2</b>	0.75989289	<b>PPP1R1A</b>	0.97633266
<b>TREML1</b>	0.75338968	<b>DLG2</b>	0.97585610
<b>ATP13A1</b>	0.69746613	<b>VEPH1</b>	0.96040934
<b>PARP9</b>	0.69745631	<b>JUND</b>	0.95648236
<b>GGCT</b>	0.68279840	<b>NR2C1</b>	0.95336145
<b>BIN1</b>	0.61987117	<b>CXCR1</b>	0.89691149
<b>FAM3B</b>	0.61970488	<b>OR7D4</b>	0.89321452

Πίνακας 48: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 24 ώρες.

24 hr			
Non -Irradiated - Low dose 0.1Gy		Non-Irradiated– High dose 2.5Gy	
Gene Expression	Confidence Score	Gene Expression	Confidence Score
<b>ANAPC4</b>	0.0495346134356	<b>ANAPC4</b>	0.0495346134356
<b>BCL2L14</b>	0.0495346134356	<b>SERPINB11</b>	0.0495346134356
<b>ARMC8</b>	0.0495346134356	<b>IPLL1</b>	0.0495346134356
<b>SLC34A1</b>	0.0495346134356	<b>SLC34A1</b>	0.0495346134356
<b>SLC19A3</b>	0.0495346134356	<b>SLC19A3</b>	0.0495346134356
<b>C12orf43</b>	0.0495346134356	<b>C12orf43</b>	0.0495346134356
<b>PRKX</b>	0.0495346134356	<b>PRKX</b>	0.0495346134356
<b>CCDC66</b>	0.0495346134356	<b>MACROD2</b>	0.0495346134356
<b>RPS16</b>	0.0495346134356	<b>TBC1D20</b>	0.0495346134356
<b>CLIP1</b>	0.0495346134356	<b>MRGPRF</b>	0.0495346134356

## 5° Βήμα. Συγχωνευμένοι βιοδείκτες

Πίνακας 49: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 4hr και 16hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>CRY2</b>	0.6003313	Leukemia, Myelogenous, Chronic, BCR-ABL Positive (0.3)	Q49AN0, A2I2P1, L8E920	Cryptochrome Circadian Clock 2

Πίνακας 50: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 4hr και 24hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>SLC43A1</b>	0.73392187	-	O75387, E9PRF0, E9PJ68, E9PR87, E9PJT8, H0YEH0	Solute Carrier Family 43 Member 1
<b>SLC6A11</b>	0.72253033	Melanoma (0.3), Reperfusion Injury/Seizures (0.1)	P48066	Solute Carrier Family 6 Member 11
<b>SCD5</b>	0.54507996	-	Q86SK9	Stearoyl-CoA Desaturase 5

- ✦ Για την σύγκριση των ακτινοβολημένων δειγμάτων low dose των 4 hr και 16 ωρών καθώς και των 4 και 24 ωρών δεν υπήρξαν αποτελέσματα για κοινούς βιοδείκτες.

Πίνακας 51: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr και 16hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>GPR124</b>	0.90530057	-	Q96PE1, D3DSW5, H7C1L1, Q6YN44	Adhesion G Protein-Coupled Receptor A2
<b>SLC6A11</b>	0.80595597	-	-	-
<b>NR4A3</b>	0.73826091	Chondrosarcoma, Extraskeletal Myxoid (0.307), Hypercholesterolemia/ Insulin Resistance (0.3)	Q92570	Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 3

Πίνακας 52: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr και 24hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>GPR124</b>	0.91090574	-	Q96PE1, D3DSW5, H7C1L1, Q6YN44	Adhesion G Protein-Coupled Receptor A2
<b>GPR142</b>	0.86353533	-	Q7Z601	G Protein-Coupled Receptor 142
<b>SCNN1G</b>	0.85248978	Hypertension (0.325), Cystic Fibrosis (0.3125), Pseudohypoaldosteronism/ Liddle Syndrome (0.302), Bronchiectasis with Or Without Elevated Sweat Chloride 3/Hypotension (0.3), Pseudohypoaldosteronism, Type I, Autosomal recessive (0.1)	P51170	Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 3

Πίνακας 53: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>CXorf36</b>	0.76339840	-	-	-
<b>KCNAB3</b>	0.49590080	-	O43448	Voltage-gated potassium channel subunit beta-3

Πίνακας 54: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (Low Dose 0.1 Gy) των 4hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>GSTA3</b>	0.560127022	-	Q16772	Glutathione S-transferase A3
<b>SIGLEC6</b>	0.475232693	-	043669	Sialic acid-binding Ig-like lectin 6

Πίνακας 55: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 16hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>SLC34A1</b>	0.84759635	Nephrolithiasis-Osteoporosis, Hypophosphatemic, 1(0.6), Hypercalcuria (0.401), Hypophosphatemia(0.4), Bone Diseases, Developmental/ Hypercalcemia/ Fanconi Syndrome (0.3), Autosomal recessive hypophosphatemic bone disease/Hyperthyroidism/Reperfusion Injury/Hypothyroidism/Kidney Failure, Chronic, Polycystic Kidney, Autosomal Dominant/ Renal Insufficiency, chronic/Potassium Deficiency, Acidosis (0.1)	Q06495	Sodium-dependent phosphate transport protein 2A
<b>KCNK13</b>	0.77669748	-	Q9HB14	Potassium channel subfamily K member 13
<b>FAM71E2</b>	0.71037810	-	Q8N5Q1	Protein FAM71E2
<b>LOC84931</b>	0.58241115	-	-	-
<b>NEURL</b>	0.55806165	-	O76050	E3 ubiquitin-protein ligase NEURL1
<b>ASIP</b>	0.51164803	Melanoma (0.312), Carcinoma, Basal Cell (0.302), Skin Neoplasms (0.3), Obesity (0.102), Diabetes Mellitus, Type 2 (0.101)	P42127	Agouti-signaling protein

Πίνακας 56: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (Low Dose 0.1 Gy) των 24hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>LDN6</b>	0.75386472	-	P56747	Claudin-6
<b>CCDC169</b>	0.742845759	-	A6NNP5	Coiled-coil domain-containing protein 169
<b>RNFT2</b>	0.71149311	-	Q96EX2, F8W6L4, F8VZS7, Q6UWZ0, L8EAK7	RING finger και transmembrane domain-containing protein 2

<b>NPBWR2</b>	0.69291563	-	P48146	Neuropeptides B/W receptor type 2
<b>CIDEB</b>	0.65150066	-	Q9UHD4,G3V4E2	Cell death activator CIDE-B
<b>GRID2</b>	0.60719562	-	O43424, D6R976, H0YA12,Q4W5B7, Q4W5L9,Q4W5F4, D6R9W8,Q4W5S4	Glutamate receptor ionotropic, delta-2
<b>GABRQ</b>	0.59238046	-	Q9UN88	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit theta
<b>TMEM102</b>	0.57151027	-	Q8N9M5	Transmembrane protein 102
<b>NGF</b>	0.57139393	Neuropathy, Hereditary sensory και autonomic, Type V (0.601), Inflammation (0.402), Cystitis/ Hyperalgesia/ Urinary, Bladder, Overactive (0.4), Seizures/ Heroin Dependence/ Nervous Systems Diseases/ Amnesia/ Peripheral Nervous Disease/ Epilepsy, Tonic-Clonic, Hyperkinesis, Neurogenic Inflammation / Lewy Body Disease/ Nerve Degeneration/Lung Injury/ Parkinsonian Disorders/ Status Epilepticus/ Parkinson Disease/ Cocaine-Related Disorders/ Neurobehavioral Manifestations/ Nephritis, Interstitial (0.3), Alzheimer Disease/ Respiratory Syncytial Virus Infections/ Pain/ Diabetic Neuropathies/ Stroke/ Depressive Disorder/ Pancreatitis, Chronic/ Intervertebral Disc Degeneration/ Spinal Cord Injuries/ Glaucoma/Rib Fractures/Hypertension/ Urinary, Bladder, Neurogenic/ Hypothyroidism/ Burns/ Hyperhomocysteinemia/ Myofascial Pain Syndromes/Encephalomyelitis, Autoimmune, experimental/ Diabetes Mellitus experimental, Retinitis Pigmentosa (0.1)	P01138	Beta-nerve growth factor
<b>CLDN5</b>	0.54808075	Schizophrenia (0.015)	O00501, D3DX19	Claudin-5



<b>LIM2</b>	0.53609136	Cataract (0.3)	P55344	lens intrinsic membrane protein 2, 19kDa
<b>APIP</b>	0.52051904	-	Q96GX9	Methylthioribulose-1-phosphate dehydratase
<b>THNSL1</b>	0.514899796	-	Q81YQ7	Threonine synthase-like 1
<b>SLAMF8</b>	0.506692111		Q9P0V8	SLAM family member 8
<b>IL29</b>	0.50174910	-	-	-
<b>ANXA6</b>	0.47859608	Leukemia, Myeloid, Acute (0.3)	P08133, E5RJF5, E5RIU8, E5RFF0, E5RI05, H0YC77, E7EMC6, E5RK69, E5RK63, E5RJR0	annexin A6
<b>FUT8</b>	0.47581291	Emphysema, Hereditary Pulmonary (0.1)	Q9BYC5, G3XAD2, Q546E0, A5PLL2, G3V509, G3V5E3, G3V4A8, G3V530, G3V443, G3V5Z4	fucosyltransferase 8 (alpha (1,6) fucosyltransferase)

Πίνακας 57: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 24hr.

Gene Expression	Confidence Score	Related Disease (score)	Related Uniprot ID	Gene Name
<b>TXNL4B</b>	0.74030400	-	Q9NX01, H3BUL8, H3BQ09, H3BN11, L8E8E2	thioredoxin-like 4B
<b>DOCK7</b>	0.71264244	-	Q96N67, H0Y7L2, A4FU72, L8EAM1	dedicator of cytokinesis 7
<b>NEK6</b>	0.66821694	-	Q9HC98, Q5TBH0, Q5TBG7, Q5TBG1, Q5TBH1, Q5TBG2, Q5TBG4, Q5TBH2	NIMA-related kinase 6
<b>SYT2</b>	0.6156983	-	Q8N9I0, A4FU00	Synaptotagmin-2

<b>ZNF488</b>	0.59376385	-	Q96MN9	Zinc finger protein 488
<b>ACPT</b>	0.56453976	-	Q9BZG2	Testicular acid phosphatase
<b>FBLN7</b>	0.55908987	-	Q53RD9, Q8IY13, H7BZ65, B8ZC1	Fibulin-7
<b>FAM131B</b>	0.55364686	-	Q86XD5, D3DXE4, E5RJ60, H0Y3V6, O94871, E5RI17	family with sequence similarity 131, member B
<b>PTPRC</b>	0.499456143	Multiple Sclerosis (0.33), Arthritis, Rheumatoid/ Hepatitis C/ Retinal Diseases/ Severe Combined Immunodeficiency, Autosomal Recessive, T Cell Negative, B Cell Positive, NK Cell Positive (0.3), Lupus Erythematosus, Systemic (0.1)	P08575, Q6LDN6, Q0VAE8, M3ZCP1, E9PKH0, X6R433, M9MMK9, Q6QIR3, Q6Q1P2, Q6QIM3, Q6PJK7, Q6QIN1, Q6QIQ5, M9MML4, M9MMK8, Q6QIN9, Q9H3X6, M9MML3	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
<b>CORO2B</b>	0.49230506	-	Q9UQ03	coronin, actin binding protein, 2B
<b>FXVD7</b>	0.48418668	-	P58549	FXVD domain-containing ion transport regulator 7

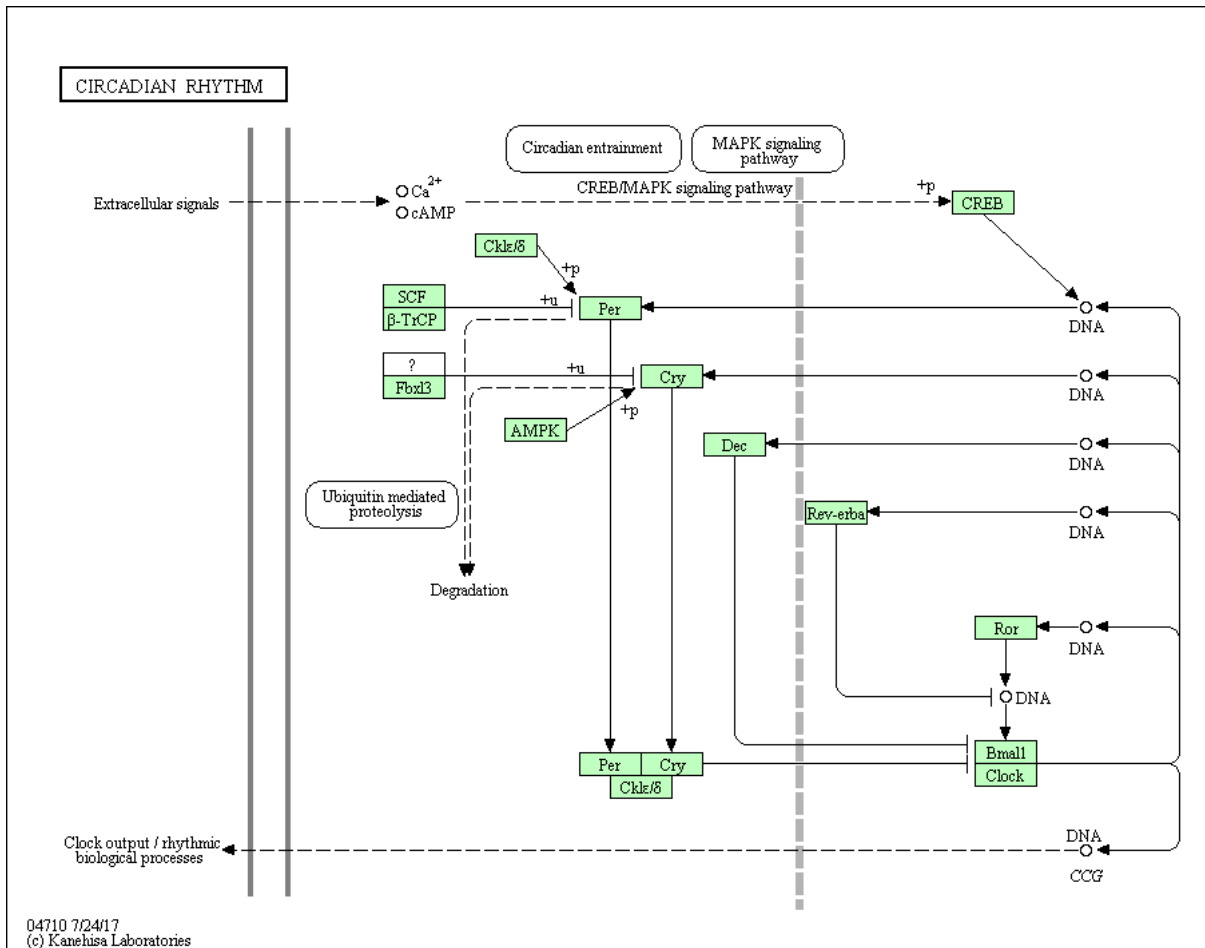
## 6° Βήμα: Gene Enrichment Analysis

### 1. Non-Irradiated 4hr και 16hr

CRY2	<u>cryptochrome circadian clock 2(CRY2)</u>	<u>Related Genes</u>	<u>Homo sapiens</u>
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter</a> , <a href="#">photoreactive repair</a> , <a href="#">transcription, DNA-templated</a> , <a href="#">protein import into nucleus</a> , <a href="#">circadian rhythm</a> , <a href="#">blue light signaling pathway</a> , <a href="#">protein-chromophore linkage</a> , <a href="#">lipid storage</a> , <a href="#">negative regulation of phosphoprotein phosphatase activity</a> , <a href="#">response to insulin</a> , <a href="#">circadian regulation of gene expression</a> , <a href="#">glucose homeostasis</a> , <a href="#">regulation of circadian rhythm</a> , <a href="#">negative regulation of circadian rhythm</a> , <a href="#">entrainment of circadian clock by photoperiod</a> , <a href="#">negative regulation of transcription, DNA-templated</a> , <a href="#">regulation of sodium-dependent phosphate transport</a> , <a href="#">negative regulation of glucocorticoid receptor signaling pathway</a> , <a href="#">negative regulation of glucocorticoid secretion</a> ,		
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">extracellular region</a> , <a href="#">nucleus</a> , <a href="#">cytoplasm</a> , <a href="#">mitochondrion</a> ,		
GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">transcription regulatory region sequence-specific DNA binding</a> , <a href="#">transcription factor activity</a> , <a href="#">transcription factor binding</a> , <a href="#">DNA binding</a> , <a href="#">damaged DNA binding</a> , <a href="#">single-stranded DNA binding</a> , <a href="#">deoxyribodipyrimidine photo-lyase activity</a> , <a href="#">DNA (6-4) photolyase activity</a> , <a href="#">protein binding</a> , <a href="#">blue light photoreceptor activity</a> , <a href="#">lyase activity</a> , <a href="#">phosphatase binding</a> , <a href="#">ubiquitin binding</a> , <a href="#">FAD binding</a> ,		
KEGG_PATHWAY	<a href="#">Circadian rhythm</a> ,		

Εικόνα 53: Functional Annotation Chart για τον συγχωνευμένο βιοδείκτη των δικτύων Non-Irradiated 4-16hr

Για τα μη ακτινοβολημένα δίκτυα των 4 και 16 ωρών σαν αποτέλεσμα υπήρξε ένας μόνο συγχωνευμένος βιοδείκτης, το γονίδιο CRY2. Με βάσει το Functional annotation chart της εικόνας 54 παρατηρείται ότι σχετίζεται με ένα μονοπάτι kegg, αυτό του κικκάδιου ρυθμού.



Εικόνα 54: Circadian rhythm Kegg pathway

## 2. Non-Irradiated 4hr και 24hr

Category	Term	RT	Genes	Count	%	P-Value	Benjamini	FDR
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">integral component of membrane</a>	RT		3	100,0	8,0E-2	3,9E-1	3,3E1
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">transmembrane transport</a>	RT		2	66,7	2,9E-2	3,7E-1	1,9E1

Εικόνα 54: Functional Annotation chart για τα Non-Irradiated 4-24hr

Για τα μη ακτινοβολημένα δείγματα στις 4 και 24 ώρες το αποτέλεσμα ήταν τρεις Συγχωνευμένοι βιοδείκτες οι οποίοι συμμετέχουν στα εξής:

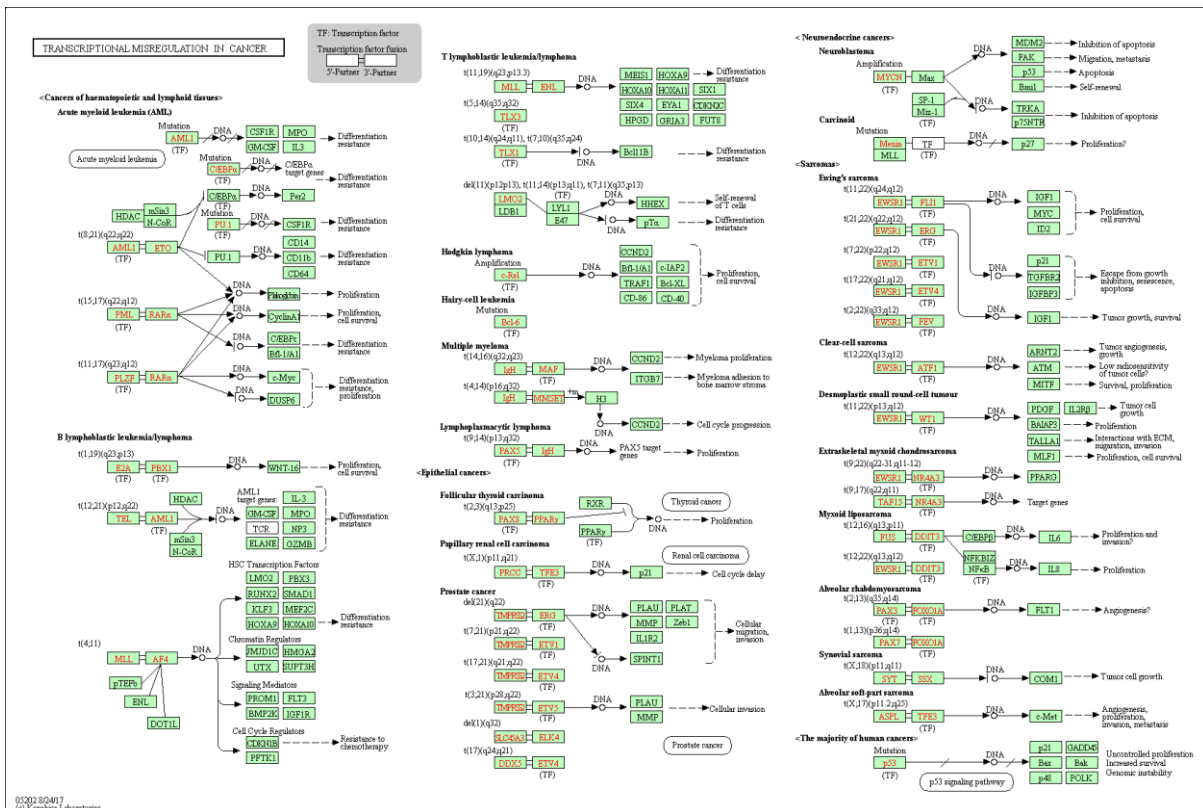
- Integral component of membrane: SLC43A1, SLC6A11
- Transmembrane transport: SLC43A1, SLC6A11, SCD5

### 3. High Dose 2.5 G

NR4A3	nuclear receptor subfamily 4 group A member 3(NR4A3)	Related Genes	Homo sapiens
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, mesoderm formation, transcription, DNA-templated, transcription initiation from RNA polymerase II promoter, gastrulation, axon guidance, pyruvate oxidation, positive regulation of cardiac muscle hypertrophy, positive regulation of glucose transport, hippocampus development, intracellular receptor signaling pathway, adult behavior, organ regeneration, positive regulation of mast cell cytokine production, common myeloid progenitor cell proliferation, positive regulation of mast cell activation by Fc-epsilon receptor signaling pathway, response to hydrogen peroxide, mast cell degranulation, steroid hormone mediated signaling pathway, negative regulation of neuron apoptotic process, cellular response to leptin stimulus, cellular respiration, fat cell differentiation, positive regulation of cell cycle, positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, positive regulation of fatty acid oxidation, regulation of smooth muscle cell proliferation, positive regulation of smooth muscle cell proliferation, semicircular canal morphogenesis, positive regulation of epithelial cell proliferation, neuromuscular process controlling balance, vestibular reflex, regulation of type B pancreatic cell proliferation, cellular response to corticotropin-releasing hormone stimulus, cellular response to catecholamine stimulus, energy homeostasis, positive regulation of monocyte aggregation, negative regulation of hydrogen peroxide-induced neuron death, positive regulation of leukocyte apoptotic process, positive regulation of feeding behavior, regulation of energy homeostasis,		
GOTERM_CC_DIRECT	nucleus, nucleoplasm, transcription factor complex, mast cell granule,		
GOTERM_MF_DIRECT	RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific DNA binding, core promoter sequence-specific DNA binding, transcriptional activator activity, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding, transcription coactivator binding, DNA binding, steroid hormone receptor activity, RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding, thyroid hormone receptor activity, protein binding, zinc ion binding, protein kinase binding, histone acetyltransferase binding, glucocorticoid receptor binding, protein homodimerization activity, sequence-specific DNA binding,		
KEGG_PATHWAY	Transcriptional misregulation in cancer,		
OMIM_DISEASE	Chondrosarcoma, extraskeletal myxoid,		
SLC6A11	solute carrier family 6 member 11(SLC6A11)	Related Genes	Homo sapiens
GOTERM_BP_DIRECT	neurotransmitter transport, chemical synaptic transmission, brain development, gamma-aminobutyric acid transport, response to drug, transmembrane transport,		
GOTERM_CC_DIRECT	cytoplasm, plasma membrane, integral component of plasma membrane, integral component of membrane, neuron projection,		
GOTERM_MF_DIRECT	neurotransmitter:sodium symporter activity, gamma-aminobutyric acid:sodium symporter activity, neurotransmitter binding,		

Εικόνα 55: Functional Annotation Chart για High dose 2.5 Gy 4-16hr

Όπως αναγράφεται στην εικόνα 57 το γονίδιο NR4A3 συμμετέχει στο kegg μονοπάτι για μεταγραφική λανθασμένη ρύθμιση στον καρκίνο (εικόνα 56).



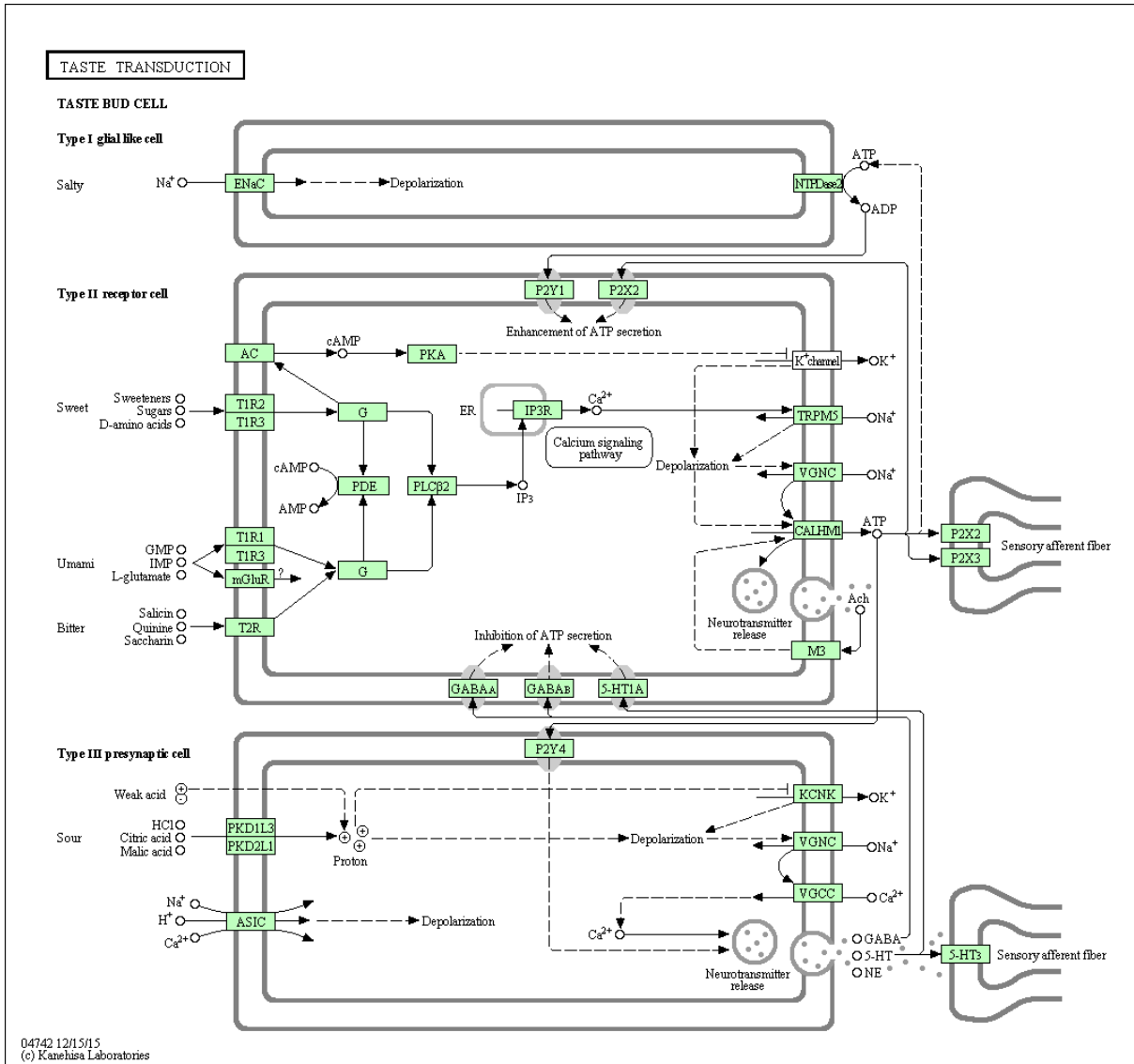
Εικόνα 56: Transcriptional misregulation in cancer Kegg pathway

#### 4. High Dose 2.5 Gy 4hr και 24hr

GPR142	G protein-coupled receptor 142(GPR142)	Related Genes	Homo sapiens
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">G-protein coupled receptor signaling pathway,</a>		
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">cytoplasm, plasma membrane, integral component of membrane, cell junction,</a>		
GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">G-protein coupled receptor activity,</a>		
SCNN1G	sodium channel epithelial 1 gamma subunit(SCNN1G)	Related Genes	Homo sapiens
GOTERM_BP_DIRECT	<a href="#">sodium ion transport, excretion, ion transmembrane transport, sodium ion transmembrane transport, multicellular organismal water homeostasis, response to stimulus, sensory perception of taste, sodium ion homeostasis,</a>		
GOTERM_CC_DIRECT	<a href="#">plasma membrane, integral component of plasma membrane, external side of plasma membrane, apical plasma membrane, sodium channel complex, extracellular exosome,</a>		
GOTERM_MF_DIRECT	<a href="#">ion channel activity, sodium channel activity, protein binding, ligand-gated sodium channel activity, WW domain binding,</a>		
KEGG_PATHWAY	<a href="#">Taste transduction, Aldosterone-regulated sodium reabsorption,</a>		
OMIM_DISEASE	<a href="#">Liddle syndrome, Pseudohypoaldosteronism, type I, Bronchiectasis with or without elevated sweat chloride 3,</a>		

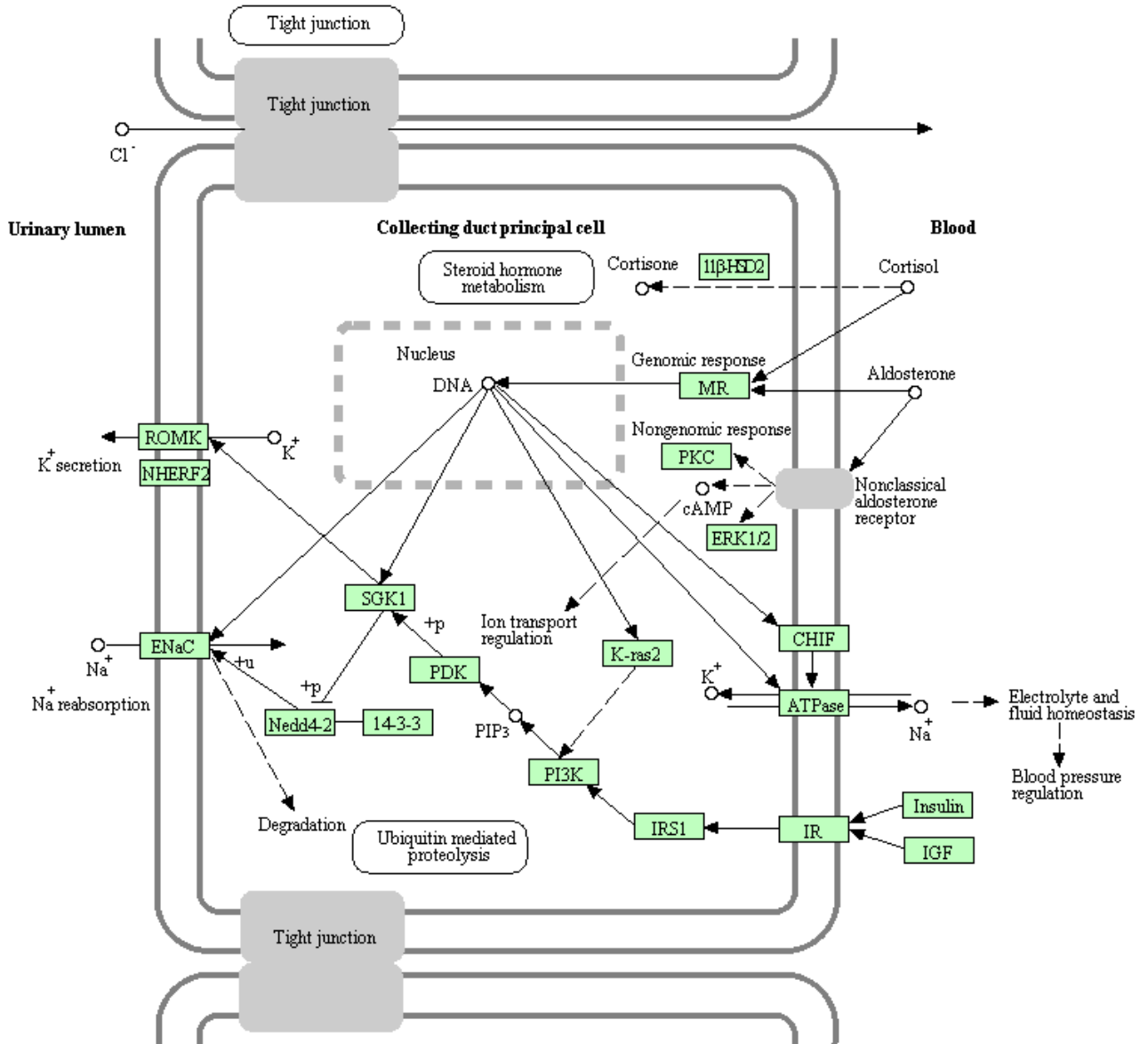
Εικόνα 57: Functional Annotation Chart για High dose 2.5 Gy 4-16hr

Όπως φαίνεται στην εικόνα 59 στα αποτελέσματα περιλαμβάνονται δύο Συγχωνευμένοι βιοδείκτες, εκ των οποίων ο SCNN1G συμμετέχει σε δύο kegg μονοπάτια, για την μεταγωγή γεύσης (εικόνα 58) και για την ρυθμιζόμενη επαναρρόφηση νατρίου της αλδοστερόνης (εικόνα 59).



*Eikóna 58: Taste transduction Kegg pathway*

ALDOSTERONE-REGULATED SODIUM REABSORPTION



04960 10/23/15  
 (c) Kanehisa Laboratories

Εικόνα 59: Aldosterone – regulated sodium reabsorption Kegg pathway

---

## Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>: Συζήτηση Αποτελεσμάτων

---

Σε αυτή την εργασία έγινε μια προσπάθεια να συγκριθούν και να διερευνηθούν σε διαφορετικές ώρες και ακτινοβολήσεις ποια γονίδια μπορεί να είναι κοινά και σε τι διαδικασίες συμμετέχουν. Στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων μπορεί κάποιος να παρατηρήσει ότι δεν υπάρχει κάποια απεικόνιση δικτύου. Αυτό συνέβη γιατί κατά την διαδικασία εύρεσης δικτύων στην πλατφόρμα InSybio δεν υπήρξε κανένα αποτέλεσμα ώστε να παρουσιαστεί μαζί με τα υπόλοιπα αποτελέσματα.

Επιπλέον οφείλει να σημειωθεί ότι τα δείγματα για κάθε dataset αποδείχθηκε εν τέλει ότι δεν ήταν επαρκή για να εξαχθούν σημαντικά συμπεράσματα και να συγκριθούν με την βιβλιογραφία. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να γίνει εάν κάθε πείραμα είχε πολύ μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων ώστε να μπορούν με την σωστή ανάλυση να διακριθούν γονίδια που μπορεί να συμμετέχουν σε μονοπάτια και δίκτυα και με βεβαιότητα να συνδεθούν με κάποια πειραματικά αποδεδειγμένη και βιβλιογραφικά συγκρίσιμη διαδικασία ή ασθένεια.

Παρόλο τον μικρό αριθμό δειγμάτων όμως υπήρξε μεγάλος όγκος δεδομένων, όπως φαίνεται και κατά την παρουσίαση αποτελεσμάτων. Συνεπώς γίνεται μια προσπάθεια να αναφερθούν κάποια σημεία από τα αποτελέσματα που χρήζουν ενδιαφέροντος και περαιτέρω συζήτησης.

Στα αποτελέσματα για τις χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας διακρίνεται στο φαινόμενο bystander το μονοπάτι σηματοδότησης του NF-κB (*NF-kappa B signaling pathway*). Ο NF-κB λειτουργεί ευρέως στο συντονισμό των κυτταρικών αποκρίσεων κατά τη διάρκεια της φλεγμονής και των ανοσολογικών αντιδράσεων και η σημασία του στην παθογένεση του καρκίνου αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο. Πολλές από τις οδούς μεταγωγής σήματος που ενεργοποιούν την ενεργοποίηση του κυτταροπλασματικού NF-κB σε απόκριση ευρείας σειράς ανοσολογικών και φλεγμονωδών διεγέρσεων έχουν επεξεργαστεί με μεγάλη λεπτομέρεια. Ο NF-κB μπορεί επίσης να ενεργοποιηθεί με βλάβη του DNA, αν και είναι σχετικά λιγότερο γνωστές οι μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που συνδέουν βλάβη του DNA στον πυρήνα με ενεργοποίηση του NF-κB στο κυτταρόπλασμα (McCool, Kevin W and Miyamoto, 2012).



Στην ίδια κατηγορία αποτελεσμάτων διακρίνεται στο φαινόμενο bystander το μονοπάτι KEGG των PPARs. Οι ενεργοποιημένοι με πολλαπλασιαστές υπεροξειδάσης υποδοχείς (PPARs) είναι παράγοντες μεταγραφής που εμπλέκονται στη ρύθμιση των διαφόρων πτυχών του μεταβολισμού των λιπιδίων, της παραγωγής ενέργειας και της φλεγμονής. Ο ρόλος των PPAR στην υγιή και νοσούντα καρδιά αποτέλεσε αντικείμενο έντονων ερευνών τα τελευταία χρόνια. Αν και πολλές μελέτες δείχνουν ευεργετικά αποτελέσματα της ενεργοποίησης του PPAR στην καρδιακή νόσο, οι μοριακοί μηχανισμοί παραμένουν άλλοι. Οι μεταβολικές και οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των PPAR πιθανώς παίζουν κάποιο ρόλο στις καρδιακές επιδράσεις των PPARs. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι αλλοιώσεις στη χρήση του υποστρώματος είναι σημαντικές στην παθογένεση της καρδιακής υπερτροφίας και της καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον, η ενεργοποίηση προφλεγμονωδών οδών εμπλέκεται στην υπερτροφική ανάπτυξη του μυοκαρδίου και οι PPARs έχουν αποδειχθεί ότι παρεμβαίνουν ισχυρά στην φλεγμονώδη σηματοδότηση (Planavila, Bilsen, 2015).

Εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει επιπλέον για το φαινόμενο bystander, σε χαμηλή δόση ακτινοβολίας (0.5cGy) και σε απόσταση από την ακτινοβολία 125 έως 625  $\mu\text{m}$  η εμφάνιση στα αποτελέσματα του γονιδίου CCNG2, κυκλίνη D2, το οποίο συμμετέχει στο μονοπάτι σηματοδότησης p53. Ο μεταγραφικός ρυθμιστής p53 έχει ουσιαστικό ρόλο στην καταστολή του όγκου. Σχεδόν το 50% των ανθρώπινων καρκίνων σχετίζεται με την απώλεια των λειτουργιών p53, όπου η p53 συσσωρεύεται συχνά στον πυρήνα καθώς και στο κυτταρόπλασμα (Ghose et al, 2017). Αν αυτό συνδυαστεί με το γεγονός ότι σε απόσταση 625-1125  $\mu\text{m}$  εμφανίζεται στα αποτελέσματα το μονοπάτι επιδιόρθωσης εκτομής βάσεων (*base excision repair*), μπορεί να γίνει μια υπόθεση ότι ενεργοποιούνται μηχανισμοί επιδιόρθωσης DNA.

Στα αποτελέσματα για υψηλές δόσεις (2.5Gy) παρουσιάζει ενδιαφέρον η εμφάνιση του γονιδίου NR4A3, υποοικογένεια πυρηνικού υποδοχέα 4 ομάδα A μέλος 3, το οποίο συμμετέχει στο KEGG μονοπάτι για μεταγραφική λανθασμένη ρύθμιση στον καρκίνο. Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί ένα μέλος της υπεροικογένειας των ρετινοειδών υποδεχέων των ορμονών στεροειδούς-θυρεοειδούς. Το γονίδιο αυτό έχει συσχετιστεί και με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης αλλά και βιβλιογραφικά με το χονδροσάρκωμα, το οποίο είναι ένας σπάνιος τύπος καρκίνου που επηρεάζει κυρίως τα οστά, ιδιαίτερα στη λεκάνη, τους γοφούς και τη βάση του κρανίου.

Η περιγραφή του μονοπατιού αυτού αναφέρει ότι στα κύτταρα όγκου, τα γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες μεταγραφής (TFs) συχνά ενισχύονται, διαγράφονται, αναδιατάσσονται μέσω χρωμοσωματικής μετατόπισης και αναστροφής ή υποβάλλονται σε σημειακές μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα κέρδος ή απώλεια λειτουργίας. Σε αιματοποιητικούς καρκίνους και συμπαγείς όγκους, οι μεταθέσεις και οι αναστροφές αυξάνουν ή απορρυθμίζουν τη μεταγραφή του ογκογονιδίου. Οι επαναλαμβανόμενες μετατοπίσεις χρωμοσωμάτων δημιουργούν νέες ογκοπρωτεΐνες σύντηξης, οι οποίες είναι συνήθεις σε μυελοειδείς καρκίνους και σε σάρκωμα μαλακών μορίων. Οι πρωτεΐνες σύντηξης έχουν παρεκκλίνουσα μεταγραφική λειτουργία σε σύγκριση με τους ομολόγους τους άγριου τύπου. Αυτοί οι παράγοντες μεταγραφής σύντηξης μεταβάλλουν την έκφραση των γονιδίων στόχων και συνεπώς οδηγούν σε μια ποικιλία αλλαγμένων κυτταρικών ιδιοτήτων που συμβάλλουν στην καρδιογενή διεργασία.

## Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Πηγές Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας.....	13
Πίνακας 2: Συνοπτική περιγραφή των επιλεγμένων dataset.....	35
Πίνακας 3: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.....	38
Πίνακας 4: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.....	60
Πίνακας 5: Ο επιλεγμένος συντελεστής Pearson για κάθε ομάδα δειγμάτων και ο αντίστοιχος αριθμός ακμών του δικτύου, με βάση τον οποίο γίνεται και η επιλογή του συντελεστή.....	61
Πίνακας 6: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated:0.5-4 hr.....	61
Πίνακας 7: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated: 6 hr.....	62
Πίνακας 8: Πίνακας αποτελεσμάτων Non-Irradiated: 24 hr.....	63
Πίνακας 9: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander: 0.5 - 4 hr.....	63
Πίνακας 10: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander:6 hr.....	64
Πίνακας 11: Πίνακας αποτελεσμάτων Bystander: 24 hr.....	64
Πίνακας 12: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 0.5 - 4 hr.....	65
Πίνακας 13: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 6 hr.....	65
Πίνακας 14: Πίνακας αποτελεσμάτων Irradiated: 24 hr.....	66
Πίνακας 15: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	76
Πίνακας 16: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των bystander δειγμάτων για 0.5-4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	76
Πίνακας 17: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	77
Πίνακας 18: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	77
Πίνακας 19: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των Bystander δειγμάτων για 0.5 - 4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	78
Πίνακας 20: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων για 0.5 -4 ώρες και για 6 ώρες, και μεταξύ 0.5-4 και 24 ώρες.....	79
Πίνακας 21: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 - 4 hr – 6 hr.....	80
Πίνακας 22: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των: 0.5 - 4 hr – 24 hr.....	83
Πίνακας 23: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα bystander δείγματα των 0.5 4 hr – 6 hr.....	86
Πίνακας 24: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα bystander δείγματα των 0.5 4 hr – 24 hr.....	87
Πίνακας 25: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 4 hr – 6 hr.....	90
Πίνακας 26: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες για τα ακτινοβολημένα δείγματα των 0.5 - 4 hr – 24 hr.....	93
Πίνακας 27: Εξαγωγή gene co-expression network για κάθε ομάδα.....	104
Πίνακας 28: General Non Irradiated.....	104
Πίνακας 29: Alpha particles 112-625 um (0.5 cGy).....	105
Πίνακας 30: Alpha particles 625-1125 um (0.5 cGy).....	106
Πίνακας 31: Rank Sum test και Sign Threshold: 0.05.....	107
Πίνακας 32: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων και ακτινοβολημένων σε απόσταση 115-625 um και σε απόσταση 625-1125 um.....	110
Πίνακας 33: Βιοδείκτες από την σύγκριση των Co-expression Network from Non Irradiated και Alpha particles σε απόσταση 112-625 um (0.5 cGy).....	111
Πίνακας 34: Βιοδείκτες από την σύγκριση των Co-expression Network from Non-Irradiated και alpha particles σε απόσταση 625 – 1125 um (0.5cGy).....	116
Πίνακας 35: Ομάδες και αριθμός δειγμάτων ανά κατηγορία ακτινοβολήσης.....	124
Πίνακας 36: Ο επιλεγμένος συντελεστής Pearson για κάθε ομάδα δειγμάτων και ο αντίστοιχος αριθμός ακμών του δικτύου, με βάση τον οποίο γίνεται και η επιλογή του συντελεστή.....	124
Πίνακας 37: Non-irradiated – 24hr.....	125
Πίνακας 38: Low Dose 0.1 Gy – 24hr.....	125
Πίνακας 39: High Dose 2.5 Gy – 24hr.....	126

Πίνακας 40: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες.....	134
Πίνακας 41: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy) για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες.....	135
Πίνακας 42: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (high dose 2.5 Gy) για 4 ώρες και 16 ώρες, και μεταξύ 4 και 24 ώρες.....	135
Πίνακας 46: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των μη ακτινοβολημένων δειγμάτων στις 4 και στις 16 ώρες και στις 4 και 24 ώρες.....	137
Πίνακας 47: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy) στις 4 και 24 ώρες.....	138
Πίνακας 48: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων (high dose) στις 4 και στις 16 ώρες και στις 4 και 24 ώρες.....	138
Πίνακας 49: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 4 ώρες.....	139
Πίνακας 50: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 16 ώρες.....	139
Πίνακας 51: Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τις συγκρίσεις μεταξύ μη ακτινοβολημένων και ακτινοβολημένων δειγμάτων (low dose 0.1 Gy και high dose 2.5 Gy) στις 24 ώρες.....	140
Πίνακας 52: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 4hr και 16hr.....	140
Πίνακας 53: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα των 4hr και 24hr.....	141
Πίνακας 54: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr και 16hr.....	141
Πίνακας 55: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr και 24hr.....	142
Πίνακας 56: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 4hr.....	142
Πίνακας 57: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (Low Dose 0.1 Gy) των 4hr.....	142
Πίνακας 58: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 16hr.....	143
Πίνακας 59: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (Low Dose 0.1 Gy) των 24hr.....	143
Πίνακας 60: Συγχωνευμένοι βιοδείκτες από τα μη ακτινοβολημένα δείγματα και τα ακτινοβολημένα δείγματα (High Dose 2.5 Gy) των 24hr.....	145

## Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1: Η διεισδυτικότητα των σωματιδίων-α, των σωματιδίων-β και των ακτίνων-γ (“ <a href="https://www.slideshare.net/terrybear11/nursing-care-of-the-client-with-cancer">https://www.slideshare.net/terrybear11/nursing-care-of-the-client-with-cancer</a> ,” n.d.).....	14
Εικόνα 2: Άμεση και έμμεση δράση ιοντίζουσας ακτινοβολίας (Georgakilas, O’Neill, & Stewart, 2013). .....	19
Εικόνα 3: Στην Ελλάδα η μέση ετήσια ενεργός δόση που δέχεται ένας κάτοικος είναι συνολικά 4,5 mSv ανά άτομο, όπου 2,7 mSv προέρχονται από φυσικές πηγές ακτινοβολίας και 1,8 mSv από τις διαγνωστικές ιατρικές πρακτικές. [ <a href="https://eeae.gr/images/anakoynoseis/prism">https://eeae.gr/images/anakoynoseis/prism</a> ].....	20
Εικόνα 4: Οι κατηγορίες βλαβών DNA .....	27
Εικόνα 5: Δομή αρχειοθέτησης δεδομένων στη GEO .....	43
Εικόνα 6: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 4hr .....	67
Εικόνα 7: Τοπολογία δικτύου Bystander: 4hr.....	67
Εικόνα 8: Τοπολογία δικτύου Irradiated 4hr.....	68
Εικόνα 9: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 6hr.....	68
Εικόνα 10: Τοπολογία δικτύου Bystander: 6hr.....	69
Εικόνα 11: Τοπολογία δικτύου Irradiated: 6hr.....	69
Εικόνα 12: Τοπολογία δικτύου Bystander: 24 hr.....	70
Εικόνα 13: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-irradiated 4h.....	71
Εικόνα 14: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 4h .....	71
Εικόνα 15: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 6h .....	72
Εικόνα 16: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-Irradiated 6h.....	72
Εικόνα 17: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 6h .....	73
Εικόνα 18: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 6h .....	73
Εικόνα 19: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Non-Irradiated 24h .....	74
Εικόνα 20: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Bystander 24h .....	74
Εικόνα 21: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου και Power Law: Irradiated 24h .....	75
Εικόνα 22: Functional Annotation Chart for Non-Irradiated : 0.5_4 hr – 6hr.....	97
Εικόνα 23: Kegg pathway for Glycine, Serine and threonine metabolism .....	98
Εικόνα 24: Functional Annotation Chart for Non-Irradiated : 0.5_4 hr – 24 hr.....	98
Εικόνα 26: Kegg pathway for NF – kappa B signaling pathway .....	99
Εικόνα 25: Functional annotation chart for bystander 0.5_4hr – 6hr .....	99
Εικόνα 27: Functional Annotation Chart for 4..... Bystander 0.5-4hr – 24hr	
100	
Εικόνα 28: Kegg pathway for NF – Kappa B signaling pathway.....	101
Εικόνα 29: Functional annotation chart Irradiated 0.5-4hr - 6hr .....	102
Εικόνα 30: Cluster for Irradiated 0.5-4hr - 24hr .....	102
Εικόνα 32: Inflammatory Bowel Disease.....	103
Εικόνα 31: Functional annotation chart Irradiated 0.5-4hr - 24hr .....	103
Εικόνα 33: Co-expression Network from Alpha particles 112 625 0.5cGy .....	108
Εικόνα 34: Co-expression Network from Alpha particles 625 1125 0.5cGy .....	109
Εικόνα 35: Functional Annotation Chart Non Irradiated με 125_625 um (0.5 cGy).....	121
Εικόνα 38: Base excision repair Kegg pathway.....	123
Εικόνα 37: Functional Annotation Chart.....	123
Εικόνα 39: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 4hr.....	126
Εικόνα 40: Τοπολογία δικτύου Low dose: 4hr.....	127
Εικόνα 41: Τοπολογία δικτύου High dose: 4hr.....	128
Εικόνα 43: Τοπολογία δικτύου protons Low dose: 16hr .....	129
Εικόνα 42: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 16hr.....	129
Εικόνα 45: Τοπολογία δικτύου Low dose: 24hr.....	130
Εικόνα 44: Τοπολογία δικτύου Non-irradiated: 24hr .....	130
Εικόνα 46: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Non-irradiated 4h.....	131
Εικόνα 47: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose: 4h.....	131

<i>Εικόνα 48: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: High dose: 4h .....</i>	<i>131</i>
<i>Εικόνα 48: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Non-irradiated 16h.....</i>	<i>132</i>
<i>Εικόνα 49: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose 4h .....</i>	<i>132</i>
<i>Εικόνα 51: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Non-irradiated 24h.....</i>	<i>133</i>
<i>Εικόνα 51: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: High dose 24h .....</i>	<i>133</i>
<i>Εικόνα 50: Σύγκριση κατανομών κόμβων δικτύου protons και Power Law: Low dose 24h .....</i>	<i>133</i>
<i>Εικόνα 52: Functional Annotation Chart για τον συγχωνευμένο βιοδείκτη των δικτύων Non-Irradiated 4-16hr .....</i>	<i>146</i>
<i>Εικόνα 53: Circadian rhythm Kegg pathway .....</i>	<i>147</i>



## Βιβλιογραφία

- Belyakov, O. V., Prise, K. M., Trott, K. R., & Michael, B. D. (1999). Delayed lethality, apoptosis και micronucleus formation in human fibroblasts irradiated with X-rays or  $\alpha$ -particles. *International Journal of Radiation Biology*, 75(8), 985–993.  
<http://doi.org/10.1080/095530099139746>
- Brenner, D. J., Doll, R., Goodhead, D. T., Hall, E. J., Lκαι, C. E., Little, J. B., ... Zaider, M. (2003). Cancer risks attribuΠίνακας to low doses of ionizing radiation: Assessing what we really know. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 13761–13766. <http://doi.org/10.1073/pnas.2235592100>
- Dauer, W. T., & Worman, H. J. (2010). New messages in the nuclear envelope. *Cell Cycle*, 9(4), 645–646. <http://doi.org/10.1111/j.1944-9720.2012.01179.x>.
- De la Matta Martín, M., Herrera González, A., López Conejos, J. A., & López Romero, J. L. (2011). Utilidad de la radiografía de tórax preoperatoria en pacientes fumadores sometidos a resección transuretral de cáncer vesical. *Revista Espanola de Anestesiologia y Reanimacion*, 58(4), 203–210.  
[http://doi.org/10.1016/S0034-9356\(11\)70041-X](http://doi.org/10.1016/S0034-9356(11)70041-X)
- de Toledo, S. M., Buonanno, M., Li, M., Asaad, N., Qin, Y., Gonon, G., ... Azzam, E. I. (2011). The impact of adaptive και non-targeted effects in the biological responses to low dose/low fluence ionizing radiation: the modulating effect of linear energy transfer. *Health Physics*, 100(3), 290–292.  
<http://doi.org/10.1097/HP.0b013e31820832d8>
- Dennis, G. J., Sherman, B. T., Hosack, D. A., Yang, J., Gao, W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2003). DAVID: Database for Annotation, Visualization, και Integrated Discovery. *Genome Biology*, 4(9), 1–11.  
<http://doi.org/10.1177/2325957415614642>
- Freeman, S. M., Abboud, C., Freeman, S. M., Packman, C. H., Koeplin, D. S., Moolten, F. L., & Abraham, G. N. (1993). The “Bystander Effect”: Tumor Regression When a Fraction of the Tumor Mass Is Genetically Modified. *Cancer Research*, 53(21), 5274–5283. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8221662>



- Georgakilas, A. G. (2015). Bystander και non-targeted effects: A unifying model from ionizing radiation to cancer. *Cancer Letters*, 356(1), 3–4.  
<http://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.03.032>
- Georgakilas, A. G., Bennett, P. V, Wilson, D. M., & Sutherland, B. M. (2004). Processing of bistranded abasic DNA clusters in  $\gamma$ -irradiated human hematopoietic cells. *Nucleic Acids Research*, 32(18), 5609–5620.  
<http://doi.org/10.1093/nar/gkh871>
- Georgakilas, A. G., O'Neill, P., & Stewart, R. D. (2013). Induction και Repair of Clustered DNA Lesions: What Do We Know So Far? *Radiation Research*, 180(1), 100–109. <http://doi.org/10.1667/RR3041.1>
- Georgakilas, A. G., Redon, C. E., Ferguson, N. F., Kryston, T. B., Parekh, P., Dickey, J. S., ... Martin, O. A. (2014). Systemic DNA damage accumulation under in vivo tumor growth can be inhibited by the antioxidant Tempol. *Cancer Letters*, 353(2), 248–257. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.07.030>
- Gerashchenko, B. I., & Howell, R. W. (2005, August). Proliferative response of Bystander cells adjacent to cells with incorporated radioactivity. *Cytometry Part A*. <http://doi.org/10.1002/cyto.a.20093>
- Ghosh, S. A., Sinha, A., Markatou, M., & Amundson, S. A. (2011). Time-series clustering of gene expression in irradiated και Bystander fibroblasts: an application of FBPA clustering. *BMC Genomics*, 12(1), 2.  
<http://doi.org/10.1186/1471-2164-12-2>
- Hendee, W. R., Ibbott, G. S., & Hendee, E. G. (2005). *Radiation Therapy Physics, 3rd Edition*. Hoboken, N.J.: J. Wiley.
- <https://www.slideshare.net/terrybear11/nursing-care-of-the-client-with-cancer>. (n.d).
- Iyer, R., & Lehnert, B. E. (2002). Alpha-particle-induced increases in the radioresistance of normal human Bystander cells. *Radiation Research*, 157(1), 3–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11754635>
- Johnson, M. M. (2017). Full-Field Digital Mammography και Digital Breast Tomosynthesis. *Radiologic Technology*, 88(3), 299M–319M. Retrieved from

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28298592>

Kaliberov, S. A., & Buchsbaum, D. J. (2012). Cancer Treatment with Gene Therapy και Radiation Therapy. *Advances in Cancer Research*, 115, 221–263.

<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-398342-8.00007-0>

King, A. (2005). An efficient cost-based graph clustering algorithm. Montreal: McGill University.

Komarova, E. A., Diatchenko, L., Rokhlin, O. W., Hill, J. E., Wang, Z. J., Krivokrysenko, V. I., ... Gudkov, A. V. (1998). Stress-induced secretion of growth inhibitors: A novel tumor suppressor function of p53. *Oncogene*, 17(9), 1089–1096. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1202303>

Little, M. P., Wakeford, R., & Kendall, G. M. (2009). Updated estimates of the proportion of childhood leukaemia incidence in Great Britain that may be caused by natural background ionising radiation. *Journal of Radiological Protection*, 29(4), 467–482. <http://doi.org/10.1088/0952-4746/29/4/001>

Lödermann, B., Wunderlich, R., Frey, S., Schorn, C., Stangl, S., Rödel, F., ... Frey, B. (2012). Low dose ionising radiation leads to a NF-κB dependent decreased secretion of active IL-1β by activated macrophages with a discontinuous dose-dependency. *International Journal of Radiation Biology*, 88(10), 727–734. <http://doi.org/10.3109/09553002.2012.689464>

Lou, X. J., Schena, M., Horrigan, F. T., Lawn, R. M., & Davis, R. W. (2001). Expression Monitoring Using cDNA Microarrays: A General Protocol. In *Genomics Protocols* (pp. 323–340). New Jersey: Humana Press. <http://doi.org/10.1385/1-59259-235-X:323>

Menzel, H. G. (2014). Key Data for Ionizing-Radiation Dosimetry: Measurement Standards και Applications. *Journal of the ICRU*, 14(1), 1–118. <http://doi.org/10.1093/jicru/ndw029>

Mezentsev, A., & Amundson, S. A. (2011). Global Gene Expression Responses to Low- or High-Dose Radiation in a Human Three-Dimensional Tissue Model. *Radiation Research*, 175(6), 677–688. <http://doi.org/10.1667/RR2483.1>

- Miller, M. B., & Tang, Y.-W. (2009). Basic Concepts of Microarrays και Potential Applications in Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4), 611–633. <http://doi.org/10.1128/CMR.00019-09>
- Pitman, S. C. (1997). *Radiology imaging words και phrases : diagnostic imaging, interventional radiology, therapeutic radiology, nuclear medicine, neuroradiology, ultrasonography, computed tomography, magnetic resonance imaging*. Health Professions Institute.
- Ponnaiya, B., Jenkins-Baker, G., Bigelow, A., Marino, S., & Geard, C. R. (2004). Detection of chromosomal instability in  $\alpha$ -irradiated και Bystander human fibroblasts. *Mutation Research/Fundamental και Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 568(1), 41–48. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.045>
- Schottenfeld, D., & Fraumeni, J. F. J. (2008). Cancer Epidemiology και Prevention. Third Edition: Edited by David Schottenfeld και Joseph F. Fraumeni, Jr. *American Journal of Epidemiology*, 168(4), 469–469. <http://doi.org/10.1093/aje/kwn197>
- Schüler, G., & Gutzwiller, F. (1991). Low dose ionising radiation και cancer: findings και methods. Report of a meeting και consequences for Switzerland. *Sozial- Und Praventivmedizin*, 36(4–5), 209–16. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1750269>
- Seeram, E. (1997). Computed Tomography: A Study Guide και Review. *Radiology*, 206(3), 842–842. <http://doi.org/10.1148/radiology.206.3.842>
- Shao, C. (2003). Bystander effect induced by counted high-LET particles in confluent human fibroblasts: a mechanistic study. *The FASEB Journal*, 17(11), 1422–1427. <http://doi.org/10.1096/fj.02-1115com>
- Simon, G. (1967). *X-ray diagnosis for clinical students* (3rd ed.). London : Butterworth.
- Singleton, B. K., Griffin, C. S., & Thacker, J. (2002). Clustered DNA damage leads to complex genetic changes in irradiated human cells. *Cancer Research*, 62(21), 6263–6269. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414656>

Stewart, R. D., Yu, V. K., Georgakilas, A. G., Koumenis, C., Park, J. H., & Carlson, D. J. (2011). Effects of Radiation Quality και Oxygen on Clustered DNA Lesions και Cell Death. *Radiation Research*, 176(5), 587–602.  
<http://doi.org/10.1667/RR2663.1>

Sykes, P. J., & Day, T. K. (2007). Requirements for identification of low dose και non-linear mutagenic responses to ionising radiation. *Dose-Response : A Publication of International Hormesis Society*, 5(4), 308–314.  
<http://doi.org/10.2203/dose-response.07-018.Sykes>

Zhou, H., Randers-Pehrson, G., Waldren, C. A., Vannais, D., Hall, E. J., & Hei, T. K. (2000). Induction of a Bystander mutagenic effect of alpha particles in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(5), 2099–2104. <http://doi.org/10.1073/pnas.030420797>

Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(6):a001651.

McCool, Kevin W and Shigeki Miyamoto. “DNA damage-dependent NF-κB activation: NEMO turns nuclear signaling inside out” *Immunological reviews* vol. 246,1 (2012): 311-26.

Anna Planavila, Marc van Bilsen,(2015). PPARs as Modulators of Cardiac Metabolism and Inflammation, *Inflammation in Heart Failure*  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800039-7.00011-6>

Ghosh S., Salot S. et al, (2017), p53 amyloid formation leading to its loss of function: implications in cancer pathogenesis, *Cell Death and Differentiation* volume 24, pages 1784–1798

