



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
"ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ"**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών
με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης
θεραπείας**

Μαριελένα Κ. Γεωργάκη

**Επιβλέπουσα: Δρ. Έμα Αναστασιάδου, Ερευνήτρια Δ', Ίδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (Ι.Ι.Β.Ε.Α.Α.)**

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2019

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

Μαριελένα Κ. Γεωργάκη

A.M.: ΠΙΒ0139

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: Έμα Αναστασιάδου, Ερευνητής Δ'

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ
ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

Δρ. Έμα Αναστασιάδου, Ερευνήτρια Δ', Ίδρυμα
Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (I.I.B.E.A.A.)
Δρ. Στυλιανή Γεωργίου, Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια, Ίδρυμα
Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (I.I.B.E.A.A.)
Δρ. Γεώργιος Μ. Σπύρου, Κάτοχος της Έδρας
Βιοπληροφορικής και Δ/ντής της Ομάδας Βιοπληροφορικής,
Ινστιτούτο Νευρολογίας και Γενετικής Κύπρου

Ιούλιος 2019

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) είναι η συνηθέστερη αυτοάνοση ασθένεια του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Πρόκειται για ένα απομυελινωτικό νόσημα κατά το οποίο η μυελίνη και οι άξονες των νευρώνων του ΚΝΣ σταδιακά καταστρέφονται λόγω φλεγμονωδών αποκρίσεων με αποτέλεσμα να προκαλούνται προβλήματα επικοινωνίας μεταξύ του εγκεφάλου και του υπόλοιπου σώματος.

Οι ανοσοθεραπείες όπως η Ιντερφερόνη βήτα καθώς και η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων (AHSCT) χρησιμοποιούνται ως βασικές στρατηγικές θεραπείας προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι επιθετικές μορφές ΠΣ.

Σε αυτή τη μελέτη, εκτιμούμε τα προφίλ έκφρασης γονιδίων σε δείγματα που προέρχονται από πλήρες αίμα ασθενών με ΠΣ, οι οποίοι είτε υποβάλλονται είτε όχι σε ανοσοθεραπεία με Ιντερφερόνη. Σκοπός αυτής της μελέτης είναι η παρατήρηση των μεταγραφικών μεταβολών με την πάροδο του χρόνου, οι οποίες θα μπορούσαν ενδεχομένως να σχετίζονται με την πρόοδο της νόσου και με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Με τη χρήση μεθόδων δικτύων στατιστικής συμπερασματολογίας παρατηρούμε τις διαφορές των γονιδίων μεταξύ των δικτύων, οι οποίες είναι ικανές να εντοπίσουν τους βιολογικούς μηχανισμούς που επηρεάζονται λόγω της εξέλιξης της νόσου και την πιθανή αποκατάστασή τους με την πάροδο του χρόνου έπειτα από τη χορήγηση της θεραπείας. Εκτός από την σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη, εισάγουμε και την έννοια της σύγκρισης πολλαπλών δικτύων, μια τεχνική που μας δίνει την δυνατότητα να παρατηρήσουμε τις αλλαγές στη «γειτονιά» ενός κόμβου δεδομένης μίας θεραπείας σε διαφορετικές χρονικές στιγμές αλλά και δεδομένης μίας χρονικής στιγμής σε διαφορετικές θεραπείες.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Ανάλυση Δικτύων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: πολλαπλή σκλήρυνση, ιντερφερόνη, σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη, σύγκριση πολλαπλών δικτύων

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is the most common autoimmune disease of the central nervous system (CNS). It is a demyelinating disease in which the CNS myelin and the axons are gradually damaged by inflammatory responses and eventually lead to communication problems between the brain and the rest of the body.

Immunotherapies such as Interferon-beta and the autologous hematopoietic stem-cell transplantation (AHSCT) are used as major treatment strategies in order to encounter refractory forms of MS.

In this study, we assess gene expression profiles in whole blood of MS patients who are either treated or untreated with an interferon substance. The aim of this study is to observe transcriptomic changes in the course of time while could potentially related to the progress of the disease, and more significantly, the effectiveness of a treatment. The use of statistical network inference methods could reveal differences in highlighted genes between two networks, which enable us to elucidate the affected mechanisms due to the disease progression and their own remediation given a treatment over time. In addition to pairwise network comparison, we also introduce the concept of multi-network comparison, a technique that enables us to observe the changes in a node's "neighborhood" given a treatment at different time points and also given a timepoint with different treatments.

SUBJECT AREA: Network Analysis

KEYWORDS: multiple sclerosis, interferon, pairwise network comparison, multi-network comparison

Η αφιέρωση της συγκεκριμένης Διπλωματικής Εργασίας στην οικογένεια μου είναι το ελάχιστο ευχαριστώ απέναντι στην ανιδιοτελή τους υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και τον Δρ. Γεώργιο Σπύρου καθώς και τον Ευάγγελο Καρατζά για την πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθεια που μου προσέφεραν στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	15
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	16
1.1 Πολλαπλή σκλήρυνση	16
1.2 Η παθολογία της ΠΣ	16
1.3 Ο ρόλος της α4-ιντεγκρίνης στην ΠΣ	18
1.4 Θεραπευτικές Παρεμβάσεις στην ΠΣ	20
1.3 Βιοπληροφορική Ανάλυση δεδομένων πειραμάτων γονιδιακής έκφρασης	21
1.3.1 Μέθοδοι Μελέτης Γονιδιακής έκφρασης	21
1.3.2 Μικροσυστοιχίες DNA (DNA microarrays)	21
1.3.3 Κανονικοποίηση και Διαφορική Έκφραση Γονιδίων	21
1.3.4 Ανάλυση Δικτύων Συνέκφρασης Γονιδίων.....	22
2. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΣ	23
3. ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	26
4. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	29
5. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΔΙΚΤΥΩΝ ΣΥΝΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ	31
6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΙΚΤΥΩΝ	34
6.1 Σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη.....	35
6.2 Σύγκριση πολλαπλών δικτύων	37

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ ΔΙΚΤΥΩΝ	41
7.1 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T0	41
7.1.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0	43
7.1.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0	45
7.1.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0	47
7.1.2.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0	48
7.1.2.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0	51
7.1.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0	52
7.1.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0	54
7.1.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0	55
7.1.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0	58
7.1.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T0	59
7.1.4.1 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0	60
7.1.4.2 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0	62
7.1.4.3 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0	65
7.1.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T0	66
7.2 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T1	71
7.2.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1	73
7.2.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1	73
7.2.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1	75
7.2.2.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1	76
7.2.2.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1	79
7.2.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1	80
7.2.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1	81
7.2.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1	83
7.2.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1	86
7.2.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T0	87
7.2.4.1 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1	88
7.2.4.2 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1	90
7.2.4.3 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1	91
7.2.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T1	93
7.3 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T2	97
7.3.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2	99
7.3.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2	100
7.3.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2	102
7.3.2.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2	103
7.3.2.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2	105
7.3.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2	107
7.3.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2	109

7.3.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2.....	110
7.3.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2	113
7.3.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T2.....	114
7.3.4.1 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2	115
7.3.4.2 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2	117
7.3.4.3 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2.....	120
7.3.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T2.....	122
7.4 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Betaseron.....	127
7.4.1 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron – Υγιείς	128
7.4.2 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron	129
7.4.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0	131
7.4.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1	133
7.4.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0	135
7.4.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Betaseron	137
7.5 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Rebif	145
7.5.1 Ασθενείς με θεραπεία Rebif – Υγιείς	146
7.5.2 Ασθενείς με θεραπεία Rebif – Ασθενείς με θεραπεία Rebif	148
7.5.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0	149
7.5.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1	150
7.5.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0	151
7.5.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Rebif	152
7.6 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Avonex	161
7.6.1 Ασθενείς με θεραπεία Avonex – Υγιείς.....	162
7.6.2 Ασθενείς με θεραπεία Avonex – Ασθενείς με θεραπεία Avonex	163
7.6.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0	164
7.6.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1	164
7.6.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0	165
7.6.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Avonex.....	165
7.7 Συγκρίσεις με βάση τη μη θεραπεία	171
8. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΔΙΚΤΥΩΝ.....	174
8.1 Ανοσοποιητικό σύστημα	175
8.1.1 Έμφυτο Ανοσοποιητικό Σύστημα	177
8.1.1.1 Επαγωγή της Ιντερφερόνης άλφα/βήτα μεσολαβούμενη του DDX58/IFIH1.....	177
8.1.2 Επίκτητο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Adaptive Immune System, R-HSA-1280218)	185
8.1.2.1 Επεξεργασία και Παρουσίαση Αντιγόνου μεσολαβούμενη από το Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας Τάξης I (Class I MHC mediated antigen processing & presentation, R-HSA- 983169)	185

8.1.3 Μεταγωγή σήματος κυτοκινών στο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Cytokine Signaling in Immune system, R-HSA-1280215)	206
8.1.4 Μεταγωγή σήματος Ιντερφερόνης (Interferon Signaling, R-HSA-913531)	208
8.1.4.1 Μεταγωγή Σήματος Ιντερφερόνης α/β (Interferon alpha/beta signaling, R-HSA-909733).....	209
8.1.4.2 Μεταγωγή Σήματος Ιντερφερόνης γ (Interferon gamma signaling,R-HSA-877300).....	223
8.1.4.3 Αντιϊικός μηχανισμός μέσω γονιδίων που διεγείρονται από Ιντερφερόνη (Antiviral mechanism by IFN-stimulated genes, R-HSA-1169410)	230
8.1.4.4 ISG15 αντι-ϊικός μηχανισμός (ISG15 antiviral mechanism, R-HSA-1169408)	230
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	238
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	243
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	244
ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	247

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Η Φλεγμονώδης φάση της Πολλαπλής Σκλήρυνσης	17
Εικόνα 2 : Κύτταρα του ανοσοποιητικού αποκτούν πρόσβαση στο ΚΝΣ μέσω του υποδοχέα α4-ιντεγκρίνης.....	19
Εικόνα 3: Αποτέλεσμα WGCNA για την επιλογή εκθέτη στο μετασχηματισμό της συνέκφρασης.....	34
Εικόνα 4: Τρισδιάστατος Πίνακας Γειτνίασης για όλες τις καταστάσεις S	39
Εικόνα 5: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168256 της Reactome	176
Εικόνα 6: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168249 της Reactome	177
Εικόνα 7: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168928 της Reactome	178
Εικόνα 8: Αναπαράσταση ISGylation	179
Εικόνα 12: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1280218 της Reactome	185
Εικόνα 13: Διαδικασία ουβικουιτινίωσης.....	187
Εικόνα 14: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-983169 της Reactome	189
Εικόνα 15: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1280215 της Reactome	207
Εικόνα 16: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-913531 της Reactome	208
Εικόνα 17: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-909733 της Reactome	209
Εικόνα 18: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-877300 της Reactome	223
Εικόνα 19: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1169410 της Reactome	230
Εικόνα 20: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1169408 της Reactome	231

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Περιγραφή δειγμάτων θεραπείας ιντερφερόνης.....	23
Πίνακας 2: Κώδικας R για λήψη δεδομένων και κατηγοριοποίηση δειγμάτων	24
Πίνακας 3: Κώδικας R για κανονικοποίηση των τιμών έκφρασης	28
Πίνακας 4: Κώδικας R για τη διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων	30
Πίνακας 5: Κώδικας R για τη κατασκευή δικτύων συνέκφρασης	33
Πίνακας 6: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0.....	41
Πίνακας 7: Dn-score για την χρονική στιγμή T0.....	67
Πίνακας 8: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T0	69
Πίνακας 9: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1	71
Πίνακας 10: Dn-score για την χρονική στιγμή T1.....	94
Πίνακας 11: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T1	96
Πίνακας 12: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2.....	97
Πίνακας 13: Dn-score για την χρονική στιγμή T2.....	122
Πίνακας 14: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T2	125
Πίνακας 15: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Betaseron.....	127
Πίνακας 16: Dn-score για την θεραπεία Betaseron	137
Πίνακας 17: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Betaseron	145
Πίνακας 18: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Rebif.....	145
Πίνακας 19: Dn-score για την θεραπεία Rebif	153
Πίνακας 20: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Rebif	160
Πίνακας 21: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Avonex.....	161
Πίνακας 22: Dn-score για την θεραπεία Avonex.....	166

Πίνακας 23: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Avonex.....	171
Πίνακας 24: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της μη θεραπείας.....	171
Πίνακας 25: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την μη θεραπεία.....	172
Πίνακας 26: Dn-score για την μη θεραπεία.....	173
Πίνακας 27 : Γονίδια που συμμετέχουν στα βιολογικά μονοπάτια της Reactome.....	175
Πίνακας 28: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0.....	180
Πίνακας 29: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T0.....	180
Πίνακας 30: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1.....	181
Πίνακας 31: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T1.....	182
Πίνακας 32: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1.....	183
Πίνακας 33: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T2.....	183
Πίνακας 34: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T0 στο R-HSA-983169.....	189
Πίνακας 35: Dn-score γονιδίων για T0 στο R-HSA-983169.....	191
Πίνακας 36: Μετρικές ακμών για T0 στο R-HSA-983169.....	192
Πίνακας 37: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T1 στο R-HSA-983169.....	192
Πίνακας 38: Dn-score γονιδίων για T1 στο R-HSA-983169.....	194
Πίνακας 39: Μετρικές ακμών για T1 στο R-HSA-983169.....	195
Πίνακας 40: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T2 στο R-HSA-983169.....	195

Πίνακας 41: Dn-score γονιδίων για T2 στο R-HSA-983169.....	197
Πίνακας 42: Μετρικές ακμών για T2 στο R-HSA-983169.....	198
Πίνακας 43: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Avonex στο R-HSA-983169	198
Πίνακας 44: Dn-score γονιδίων για Avonex στο R-HSA-983169	200
Πίνακας 45: Μετρικές ακμών για Avonex στο R-HSA-983169.....	200
Πίνακας 46: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Betaseron στο R-HSA-983169	201
Πίνακας 47: Dn-score γονιδίων για Betaseron στο R-HSA-983169.....	203
Πίνακας 48: Μετρικές ακμών για Betaseron στο R-HSA-983169	203
Πίνακας 49: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Rebif στο R-HSA-983169	204
Πίνακας 50: Dn-score γονιδίων για Rebif στο R-HSA-983169.....	205
Πίνακας 51: Μετρικές ακμών για Rebif στο R-HSA-983169	206
Πίνακας 52: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0.....	212
Πίνακας 53: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T0	213
Πίνακας 54: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1	215
Πίνακας 55: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T1	215
Πίνακας 56: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2.....	219
Πίνακας 57: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T2	219
Πίνακας 58: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0.....	224

Πίνακας 59: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T0	225
Πίνακας 60: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1	226
Πίνακας 61: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T1	226
Πίνακας 62: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2.....	228
Πίνακας 63: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T2	228
Πίνακας 64: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0.....	231
Πίνακας 65: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T0.....	232
Πίνακας 66: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1	233
Πίνακας 67: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T1.....	233
Πίνακας 68: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2.....	235
Πίνακας 69: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T2.....	235

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία με τίτλο «Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας» εκπονήθηκε στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών. Η εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας έγινε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος στον τομέα της Βιοπληροφορικής με τίτλο «Τεχνολογίες Πληροφορικής στην Ιατρική και τη Βιολογία».

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Πολλαπλή σκλήρυνση

Η Πολλαπλή Σκλήρυνση (ΠΣ), επίσης γνωστή ως Σκλήρυνση κατά πλάκας ή Διάχυτη Εγκεφαλομυελίτιδα, είναι μία φλεγμονώδης ασθένεια του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) κατά την οποία τα μονωτικά καλύμματα (μυελίνη) των νευρικών κυττάρων στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη καταστρέφονται. Αυτή η καταστροφή διαταράσσει την ικανότητα τμημάτων του νευρικού συστήματος να επικοινωνούν. Η πολλαπλή σκλήρυνση παίρνει αρκετές μορφές, με τα νέα συμπτώματα είτε να λαμβάνουν χώρα με μεμονωμένες κρίσεις (υποτροπιάζουσες μορφές) είτε να δημιουργούνται με την πάροδο του χρόνου (προοδευτικές μορφές). Μεταξύ των κρίσεων, τα συμπτώματα μπορεί να εξαφανίζονται τελείως, ωστόσο συχνά εμφανίζονται μόνιμα νευρολογικά προβλήματα, ειδικά καθώς προχωράει η ασθένεια. Τα σημεία και τα συμπτώματα της ΠΣ ποικίλλουν σημαντικά και εξαρτώνται από την ποσότητα νευρικών βλαβών και τα νεύρα που επηρεάζονται. Μερικοί άνθρωποι με σοβαρή ΠΣ μπορεί να χάσουν την ικανότητα να περπατούν, ενώ άλλοι μπορεί να βιώσουν μακρές περιόδους ύφεσης χωρίς νέα συμπτώματα.

Η ΠΣ προσβάλλει κατά προσέγγιση ένα εκατομμύριο ανθρώπους παγκοσμίως και πρωτοεμφανίζεται στην ενηλικίωση με επαναλαμβανόμενες φλεγμονώδεις επιθέσεις κατά της λευκής ουσίας του εγκεφάλου, προκαλώντας πλήθος νευρολογικών βλαβών όπως τύφλωση, απώλεια αίσθησης, έλλειψη συντονισμού, ακράτεια του εντέρου και της ουροδόχου κύστης και δυσκολία στο περπάτημα. Δεν υπάρχει θεραπεία για τη σκλήρυνση κατά πλάκας. Ωστόσο, ορισμένες θεραπείες μπορούν να βοηθήσουν στην επιτάχυνση της αποκατάστασης από υποτροπές, να τροποποιήσουν την πορεία της νόσου και να διαχειριστούν τα συμπτώματα της [1].

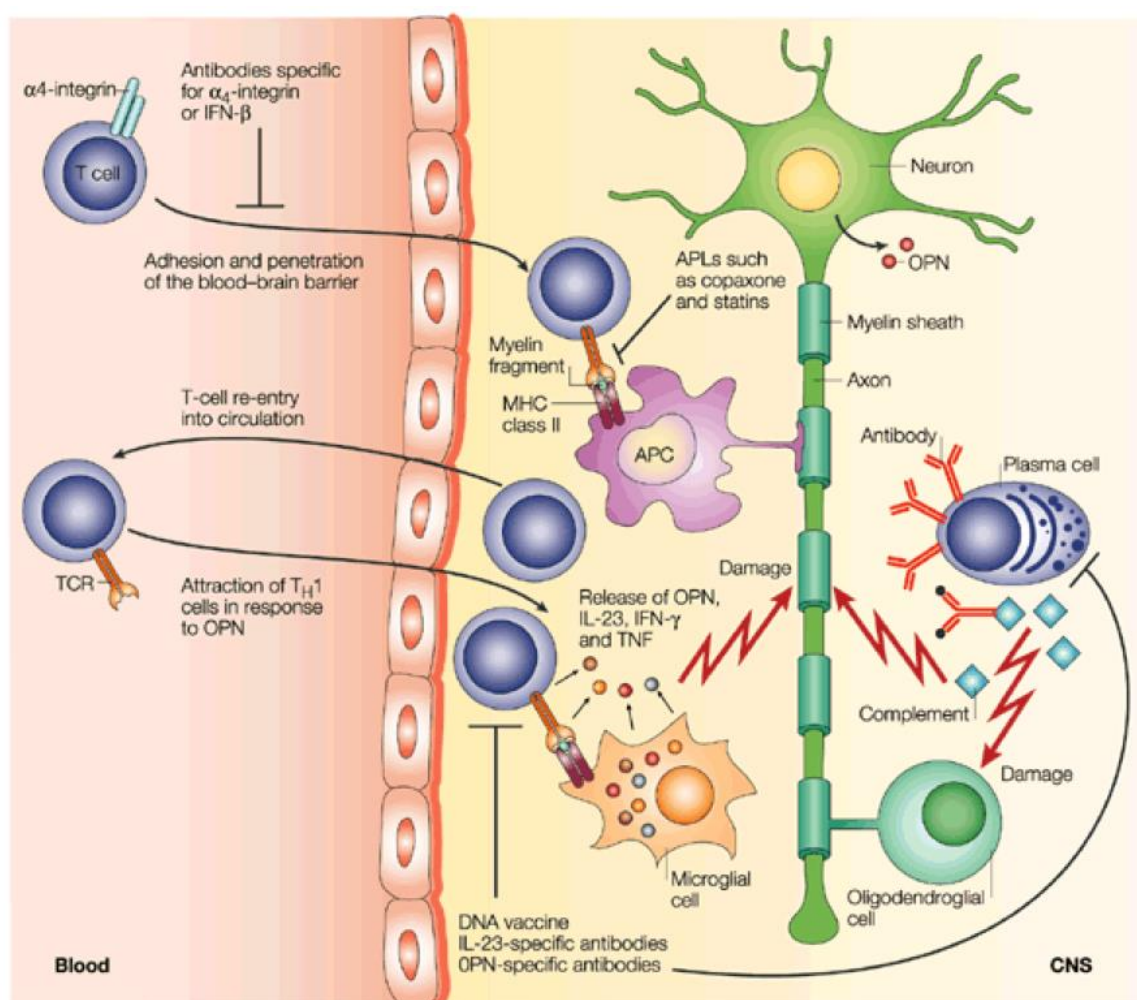
1.2 Η παθολογία της ΠΣ

Η παθογένεση της νόσου είναι γενικά άγνωστη. Η παθολογία της ΠΣ σχετίζεται με μία περιοχή της μυελίνης η οποία απογυμνώνεται μέσω φλεγμονής από μη-νευρικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μικρογλοιακών κυττάρων (μακροφάγα που "καθαρίζουν" το νευρικό σύστημα από τα κύτταρα που το ανοσοποιητικό σύστημα σημάνει ως μη λειτουργικά) και αστρογλοιακών κυττάρων (νευρογλοιακά κύτταρα με αστεροειδές σχήμα που προφυλάσσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό ενώ λαμβάνουν μέρος και σε πολύπλοκες διαδικασίες του ανοσοποιητικού και της ομοιόστασης). Στην **Εικόνα 1** παρουσιάζεται η φλεγμονώδης φάση της ασθένειας όπου κύτταρα του ανοσοποιητικού αποκτούν πρόσβαση στο ΚΝΣ μέσω διαταραχών στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και επιτίθενται στο έλυτρο της μυελίνης αναγνωρίζοντάς το ως «ξένο». Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (BBB) είναι ένα μέρος του τριχοειδούς συστήματος που παρεμποδίζει την είσοδο Τ κυττάρων στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Μπορεί να γίνει διαπερατό σε αυτούς τους τύπους κυττάρων σε μια μόλυνση από ιό ή βακτήριο. Αφού επιδιορθωθεί, συνήθως όταν η μόλυνση έχει αντιμετωπιστεί, τα Τ κύτταρα μπορεί να παραμείνουν παγιδευμένα στο εσωτερικό του ΚΝΣ.

Τα Τ και Β-λεμφοκύτταρα και τα Κύτταρα Παρουσίασης Αντιγόνου (APC), όπως τα μακροφάγα, εισάγονται στο ΚΝΣ όπου εκκρίνουν ορισμένες χημικές ουσίες, όπως κυτοκίνες, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν βλάβες στα ολιγοδενδροκύτταρα (τα κύτταρα του ΚΝΣ που μονώνουν τον νευροάξονα επενδύοντας τον με μια στιβάδα

λιπιδίων, την μυελίνη). Η μυελίνη λειτουργεί μονωτικά ηλεκτρικά, επιτρέποντας στο "ρεύμα" (το δυναμικό ενέργειας) να μην χάσει την ορμή του κατά την μετάδοσή του. Στην περίπτωση βλάβης, η μυελίνη δεν μπορεί να άγει ηλεκτρικές διεγέρσεις φυσιολογικά. Τα λεμφοκύτταρα διαπερνούν στο ΚΝΣ μέσω ενός υποδοχέα κυτταρικής μεμβράνης γνωστό ως $\alpha 4$ -ιντεγκρίνη όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**. Αυτό το βήμα εμποδίζεται από αντισώματα ειδικά για $\alpha 4$ -ιντεγκρίνη ή από IFN- β .

Μόλις ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός παραβιαστεί, άλλα φλεγμονώδη κύτταρα συγκεντρώνονται στη λευκή ουσία. Μέσα στον εγκέφαλο, τα T-λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα απελευθερώνουν OPN, IL-23, IFN- γ και TNF, μόρια που συμβάλουν στην καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης. Επιπλέον, η παρουσία της OPN μπορεί να οδηγήσει σε προσέλκυση T βοηθητικών κυττάρων. Συγχρόνως, τα B-κύτταρα (πλασματοκύτταρα) παράγουν αντισώματα ειδικά για μυελίνη, τα οποία αλληλεπιδρούν με το τερματικό συμπλήρωμα προκειμένου να παράγουν σύμπλοκα που επιτίθενται σε μεμβράνες και βλάπτουν περαιτέρω τα ολιγοδενδροκύτταρα [2].



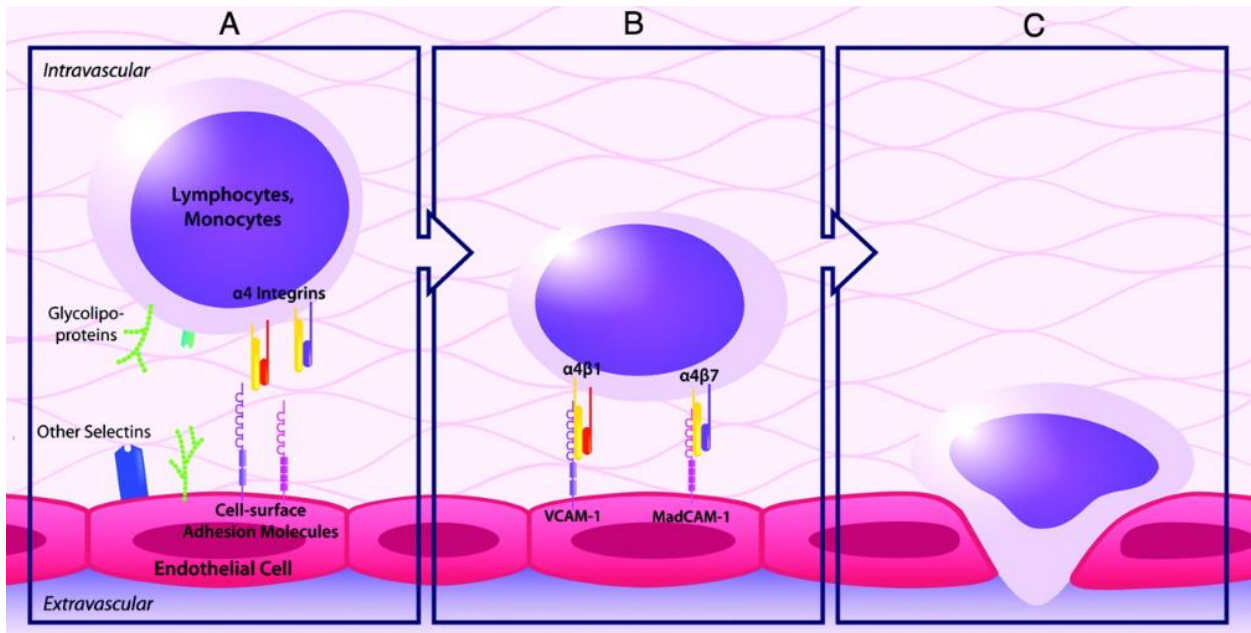
Nature Reviews | Immunology

Εικόνα 1: Η Φλεγμονώδης φάση της Πολλαπλής Σκλήρυνσης

1.3 Ο ρόλος της α4-ιντεγκρίνης στην ΠΣ

Η α4-ιντεγκρίνη είναι μέλος μιας μεγάλης οικογένειας μορίων προσκόλλησης στην κυτταρική επιφάνεια που μεσολαβούν στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων. Η α4-ιντεγκρίνη εκφράζεται κυρίως σε λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα και συνήθως δεν ανιχνεύεται στα ουδετερόφιλα. Ετεροδιμερίζεται με δύο υπομονάδες, 1 και 7, για να σχηματίσουν ένα λειτουργικό μόριο. Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**, ένας από τους προσδέτες για το α4β1 είναι το VCAM-1, το οποίο εκφράζεται στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, ειδικά σε εκείνα που ενεργοποιούνται από κυτοκίνη. Η αλληλεπίδραση της α4-ιντεγκρίνης με το VCAM-1 προωθεί την σταθερή προσκόλληση των λεμφοκυττάρων στο ενδοθήλιο κατά την προετοιμασία της «μετανάστευσης» των λεμφοκυττάρων. Η πρόσδεση της ιντεγκρίνης σε ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω του VCAM-1 πυροδοτεί έναν πλήθος κυτταρικών διεργασιών, οδηγώντας σε ενεργοποίηση του λεμφοκυττάρου και αλλαγή του φαινοτύπου του, με σκοπό την προώθηση της μεταναστευτικής του λειτουργίας, την ενεργοποίησή του και τον πολλαπλασιασμό του. Η στενή παράταξη των λεμφοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων επιτρέπουν την επιτόπου παραγωγή κυτοκινών και χημειοκινών για να ενεργοποιήσουν τα λεμφοκύτταρα και να προάγουν περαιτέρω την προσκόλληση και τη μετανάστευση στον φλεγμονώδη ιστό. Αν και η προσκόλληση των λευκοκυττάρων και η μετέπειτα μετανάστευσή τους στο BBB εμπλέκει αλληλεπιδράσεις μεταξύ της α4-ιντεγκρίνης και του VCAM-1 των ενδοθηλιακών και των γλοιακών κυττάρων, αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λευκοκυττάρων συμβαίνουν και με ορισμένα μόρια της εξωκυτταρικής μήτρας (EMC) όπως η OPN, γεγονός το οποίο ενδέχεται να διαιωνίζει τον φλεγμονώδη καταρράκτη εντός του εγκεφαλικού παρεγχύματος. Η OPN είναι μια πρωτεΐνη της EMC, γεγονός που την κατατάσσει στο σύνολο των εκκρινόμενων μορίων τα οποία καθορίζουν τη χημική σύσταση του μικροπεριβάλλοντος ανάπτυξης των κυττάρων. Έχει διπλό ρόλο, λειτουργεί και σαν μόριο προσκόλλησης αλλά και σαν T_h1 κυτοκίνη. Επιπλέον, δρα ως συν διεγερτικό σήμα για την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ποντίκια με έλλειψη OPN ήταν σχετικά ανθεκτικά σε EAE, ένα πειραματικό μοντέλο σε ζώα με σκοπό την προσομοίωση της ΠΣ.

Επειδή η α4-ιντεγκρίνη δεν εκφράζεται σε ουδετερόφιλα, συνεπώς η αναστολή της λειτουργίας της είναι απίθανο να αναστέλλει την απόκριση αυτών των κυττάρων σε βακτηριακή λοίμωξη. Αυτή η ιδιότητα καθιστά την α4-ιντεγκρίνη ελκυστικό στόχο για θεραπευτική παρέμβαση έναντι ασθενειών που αφορούν χρόνια φλεγμονή, όπως η ΠΣ [3].



Εικόνα 2 : Κύτταρα του ανοσοποιητικού αποκτούν πρόσβαση στο ΚΝΣ μέσω του υποδοχέα $\alpha 4$ -ιντεγκρίνης

1.4 Θεραπευτικές Παρεμβάσεις στην ΠΣ

Παρά το γεγονός ότι δεν υπάρχει γνωστή θεραπεία για την πολλαπλή σκλήρυνση, υπάρχουν ορισμένοι μέθοδοι αντιμετώπισης της ασθένειας που στοχεύουν κυρίως στην αποκατάσταση ύστερα από επεισόδιο και στην πρόληψη της αναπηρίας. Οι ανοσοθεραπείες όπως IFN-β-1α, IFN-β-1β, Οξική Γκλατιραμέρη, Μιτοξανδρόνη, Ναταλιζουμάμπη, Φιγκκολιμόδη, Τεριφλουνομίδη και Φουμαρικό διμεθύλιο αποδεικνύονται ολοένα και πιο αποτελεσματικές στην εξασθένηση φλεγμονών σε υποτροπιάζουσες μορφές της νόσου. Η IFN-β είναι το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο φάρμακο και έχει αποδειχθεί με κλινικές μελέτες ότι μειώνει τη συχνότητα των υποτροπών, επηρεάζει ευνοϊκά τις βλάβες που απεικονίζονται με την μέθοδο MRI και σε μερικές περιπτώσεις επηρεάζει ευνοϊκά την εξέλιξη της νόσου [4]. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί δράσης της IFN-β περιλαμβάνουν την αναστολή της ενεργοποίησης των «λοξοδρομούντων» Τ κυττάρων, μείωση της διαπερατότητας του BBB, αναστολή της μετανάστευσης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στο ΚΝΣ, μείωση της έκκρισης TFN και IFN-γ και ενίσχυση πολλών επιδιορθωτικών μηχανισμών [5]. Υπάρχουν διάφορα σκευάσματα Ιντερφερόνης τα οποία διαφέρουν σε δοσολογία, τρόπο χορήγησης και συχνότητα λήψης.

Το AVONEX (IFN-β-1α) κυκλοφόρησε για πρώτη φορά στην αγορά το 1996 στις ΗΠΑ και το 1997 στην Ευρώπη. Συνταγογραφείται σε περισσότερες από 80 χώρες και αποτελεί την κυρίαρχη θεραπεία Πολλαπλής Σκλήρυνσης στις ΗΠΑ. Το Avonex πωλείται σε τρία σκευάσματα, λυοφιλοποιημένη σκόνη που απαιτεί ανασύσταση, εξοπλισμός προγεμισμένης σύριγγας υγρού και στυλό. Χορηγείται μία φορά την εβδομάδα μέσω ενδομυϊκής ένεσης.

Το REBIF (IFN-β-1α) κυκλοφόρησε το 1998 στην Ευρώπη και το 2002 στις ΗΠΑ. Χορηγείται σε ενέσιμη μορφή υποδορίως, 3 φορές την εβδομάδα, σε δύο δοσολογίες 22mcg ή 44mcg. Χορηγείται για τη θεραπεία ασθενών με υποτροπιάζουσα ΠΣ και φαίνεται ότι καταπραΰνει το ανοσοποιητικό σύστημα και αποτρέπει τις υποτροπές της νόσου. Η IFN-β-1α παράγεται με μια μέθοδο γνωστή ως «τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA»: δηλαδή παρασκευάζεται από κύτταρα στα οποία έχει ενσωματωθεί ένα γονίδιο (DNA) το οποίο τα καθιστά ικανά να παράγουν IFN-β-1α. Η IFN-β-1α που προκύπτει από την υποκατάσταση αυτή δρα με τον ίδιο τρόπο που δρα και η IFN-β που παράγεται με φυσικό τρόπο.

Το BETASERON (IFN-β-1β) είναι φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη μείωση του αριθμού υποτροπών σε άτομα με υποτροπιάζουσες μορφές ΠΣ. Εμφανίστηκε για πρώτη φορά στο εμπόριο το 2000 και χορηγείται σε ενέσιμη μορφή υποδορίως, μέρα παρά μέρα, σε δοσολογία 8 MIU (250μg). Το BETASERON είναι παρόμοιο με ορισμένες πρωτεΐνες IFN που παράγονται στο σώμα. Δεν θεραπεύει την ασθένεια, αλλά μπορεί να μειώσει τον αριθμό των φλεγμονών της νόσου.

Ωστόσο, ασθενείς που έχουν προσβληθεί από πιο επιθετικές μορφές της νόσου συχνά δεν ανταποκρίνονται στις παραπάνω θεραπείες και αναπτύσσουν προοδευτική αναπηρία χωρίς υφέσεις. Μια νέα στρατηγική ριζικής θεραπείας που συνδυάζει υψηλή δόση ανοσοκατασταλτικών και αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων (AH SCT) στοχεύει στην επαναρρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και στην βελτίωση της κλινικής εικόνας ασθενών με προοδευτικές μορφές ΠΣ. Περίπου το 75% των ασθενών που έχουν υποβληθεί σε αυτού του είδους την θεραπεία, παρουσιάζουν

σταθεροποίηση ή βελτίωση της κατάστασής τους μέσω της ολικής ανανέωσης του ανοσοποιητικού ρεπερτορίου.

1.3 Βιοπληροφορική Ανάλυση δεδομένων πειραμάτων γονιδιακής έκφρασης

1.3.1 Μέθοδοι Μελέτης Γονιδιακής έκφρασης

Η κατανόηση των παθολογικών διεργασιών στην αυτοανοσία ήταν αρκετά περιορισμένη μέχρι πρόσφατα λόγω του γεγονότος ότι είναι σχεδόν αδύνατο να κατανοήσουμε όλες αυτές τις περίπλοκες και πολυσύνθετες διεργασίες που την απαρτίζουν σε μεγάλη κλίμακα. Για παράδειγμα, η μέτρηση της ανοσολογικής απόκρισης όλων των συστατικών ενός περίπλοκου οργάνου ήταν μη πρακτική. Παρότι ήταν δυνατό να καταμετρηθούν κάποια λίγα μετάγραφα mRNA με σκοπό τον εντοπισμό διαφορεικά ρυθμιζόμενων γονιδίων στα σημεία του σώματος που αναπτύσσεται η ασθένεια, ήταν πρακτικά αδύνατο μέχρι πρόσφατα να μετρηθούν τα επίπεδα έκφρασης των mRNA όλων των γονιδίων του ανθρώπινου γονιδιώματος στις περιοχές αυτές. Η έλευση καινοτόμων τεχνολογιών όπως οι Μικροσυστοιχίες DNA (DNA microarrays) και Αλληλούχιση RNA (RNA Sequencing) παρέχουν μια άνευ προηγουμένου εκτίμηση της πολυπλοκότητας μιας αυτοάνοσης ασθένειας. Αυτές οι μέθοδοι μοριακής βιολογίας έχουν το πλεονέκτημα ότι δύνανται να εξετάζουν ταυτόχρονα την έκφραση χιλιάδων γονιδίων, και ενδείκνυται για συγκριτικές μελέτες γονιδιωμάτων.

1.3.2 Μικροσυστοιχίες DNA (DNA microarrays)

Μια μικροσυστοιχία DNA περιέχει έναν πολύ μεγάλο αριθμό τμημάτων μονόκλωνου γονιδιωματικού DNA που έχουν ακινητοποιηθεί σε ένα στερεό υπόστρωμα. Τα τμήματα αυτά έχουν τη φυσική τάση να ζευγαρώνουν με τα συμπληρωματικά τους μονόκλιωνα μόρια εφόσον αυτά εντοπίζονται σ' ένα διάλυμα που διέρχεται πάνω από το υπόστρωμα (πλακίδιο), μέσω της ιδιότητας που ονομάζουμε υβριδοποίηση. Το πλακίδιο σχεδιάζεται με τέτοιο τρόπο ώστε να περιέχει χαρακτηριστικά τμήματα DNA απ' όσο το δυνατόν περισσότερα γονίδια του υπό μελέτη οργανισμού. Τα τμήματα αυτά ονομάζονται ανιχνευτές (probes) και μπορούν έτσι να υβριδοποιηθούν με συμπληρωματικά τμήματα cDNA των αντίστοιχων γονιδίων. Τόσο η ποιοτική ανίχνευση όσο και η ποσοτικοποίηση του mRNA γίνεται μέσω της μέτρησης φθορισμού που εκπέμπεται από τη στιγμή που τα δύο συμπληρωματικά μόρια υβριδοποιηθούν. Ο φθορισμός προκύπτει καθώς το δείγμα, πριν περάσει πάνω από το πλακίδιο, έχει σημειωθεί με μια συγκεκριμένη φθορίζουσα χρωστική, η οποία ενεργοποιείται και εκπέμπει μόνο σε δίκλινη διαμόρφωση. Το τελικό αποτέλεσμα ενός πειράματος σε μικροσυστοιχία DNA συνίσταται από μια σειρά από μετρήσεις φθορισμού που αντιστοιχούν στη σχετική αφθονία mRNA μορίων στο δείγμα μας και που ταυτοποιούνται με βάση τη συμπληρωματικότητά τους για συγκεκριμένους ανιχνευτές. Το σύνολο των τιμών που καταγράφονται εξαρτάται από το είδος του οργανισμού που μελετάται, τον αριθμό των γονιδίων, των οποίων την έκφραση επιθυμούμε να ποσοτικοποιήσουμε και τη διακριτική ικανότητα της μικροσυστοιχίας. Σε κάθε περίπτωση, πρόκειται για πειράματα μεγάλης κλίμακας, που μεταφράζεται σε μερικές χιλιάδες ή δεκάδες χιλιάδες τιμές [5].

1.3.3 Κανονικοποίηση και Διαφορική Έκφραση Γονιδίων

Οι μετρήσεις φθορισμού που προκύπτουν από ένα πείραμα μικροσυστοιχιών διατηρούν κάποια χαρακτηριστικά που δυσχεραίνουν την περαιτέρω ανάλυση. Πιο συγκεκριμένα, οι μη επεξεργασμένες τιμές φθορισμού εμφανίζουν μεγάλη διασπορά σε ό,τι αφορά το

εύρος της έντασης, με πολλές τιμές να είναι εξαιρετικά μικρές και λίγες να είναι πολύ μεγάλες. Προκειμένου τα πειράματα να είναι συγκρίσιμα, θα πρέπει η διασπορά των τιμών να είναι ανεξάρτητη της έντασης φθορισμού. Συνεπώς, το πρώτο βήμα της κανονικοποίησης περιλαμβάνει τον μετασχηματισμό των αρχικών τιμών ενός πειράματος μικροσυστοιχιών με τη λήψη λογαρίθμου. Αυτό συμβαίνει καθώς προσεγγιστικά η αρχική κατανομή των τιμών φθορισμού ακολουθεί τη λογαριθμοκανονική κατανομή. Η βάση που επιλέγουμε για το λογάριθμο είναι τις περισσότερες φορές το 2 για λόγους που έχουν να κάνουν με την εύκολη ερμηνεία των αποδιδόμενων τιμών σε περιπτώσεις σύγκρισης δύο δειγμάτων. Επιπλέον, στις περισσότερες περιπτώσεις ανάλυσης η σύγκριση επιπέδων γονιδιακής έκφρασης διεξάγεται μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων. Σε αυτήν την περίπτωση, η εσωτερική κανονικοποίηση με την χρήση λογαρίθμου δεν είναι αρκετή και είναι απαραίτητη η χρήση πιο εκλεπτυσμένων μεθόδων για την κανονικοποίηση των τιμών. Η κανονικοποίηση ποσοστημορίων (quantile normalization) είναι μία μη-παραμετρική μέθοδος κανονικοποίησης που οδηγεί σε συγκρίσιμες κατανομές τιμών ακόμα και στην περίπτωση που οι αρχικές κατανομές δεν είναι κανονικές. Η διαδικασία βασίζεται ουσιαστικά στη σύγκριση της κατάταξης των τιμών και για το λόγο αυτό είναι ανεξάρτητη των ροπών (μέση τιμή, διασπορά κλπ.).

Το επόμενο βήμα μετά την αρχική ανάλυση των δεδομένων έκφρασης είναι η διαφορική έκφραση γονιδίων μεταξύ δύο συνθηκών. Οι διαφορετικές συνθήκες μπορεί να είναι στάδια στην ανάπτυξη ενός οργανισμού, διαφορετικοί κυτταρικοί τύποι, ο ίδιος κυτταρικός τύπος πριν και μετά την επίδραση μιας ουσίας ή ενός τροποποιητικού παράγοντα ή ένας πληθυσμός υγιών έναντι παθολογικών δειγμάτων. Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να σημειώσουμε ότι η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο καταστάσεων, καθώς η διαφορική έκφραση βασίζεται στην έννοια της μεταβολής. Ο προσδιορισμός διαφορικά εκφραζόμενου γονιδίου γίνεται με τον υπολογισμό του βαθμού μεταβολής της έκφρασης του ίδιου γονιδίου μεταξύ δύο διαφορετικών συνθηκών με τη χρήση του λογαρίθμου των τιμών έκφρασης στη συνθήκη μελέτης προς τη συνθήκη ελέγχου.

1.3.4 Ανάλυση Δικτύων Συνέκφρασης Γονιδίων

Η ανάλυση δικτύων είναι σε θέση να διερευνήσει τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων προκειμένου να αποκαλυφθούν στατιστικά σημαντικά γονίδια. Τα γενετικά δίκτυα συνέκφρασης (GCN), είναι μη κατευθυνόμενα δίκτυα που μπορούν να δείξουν άμεσες ή έμμεσες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων. Με τα σύνολα των μεταγραφικών δεδομένων που υπάρχουν διαθέσιμα, τα GCN αποτελούν το πιο ευέλικτο εργαλείο για την μελέτη αλληλεπίδρασης γονιδίων, χρησιμοποιώντας τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης για τον προσδιορισμό πιθανών συσχετίσεων [7].

2. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΣ

Σε αυτή την ανάλυση, τα δείγματα έχουν ληφθεί από ασθενείς που πάσχουν από ΠΣ και έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με IFN. Οι ασθενείς έχουν υποβληθεί σε χορήγηση ή μη της θεραπείας σε τρεις χρονικές στιγμές με χρονική απόσταση ενός έτους. Τα δείγματα προέρχονται από πλήρες αίμα και είναι διαθέσιμα στην πλατφόρμα GEO με κωδικό GSE41850. Στο **Σχήμα 1** παρουσιάζονται όλες οι διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων, οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με την χρονική στιγμή λήψης του δείγματος και την κατάσταση των ασθενών (ασθενείς με θεραπεία, ασθενείς χωρίς θεραπεία, υγιείς).



Σχήμα 1: Κατηγοριοποίηση δειγμάτων

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά οι περιγραφές και ο αριθμός των δειγμάτων που απαρτίζουν τις κατηγορίες.

Στον **Πίνακα 1** παρουσιάζεται αναλυτικά η περιγραφή καθώς και το πλήθος των διαθέσιμων δειγμάτων για κάθε μία από τις παραπάνω κατηγορίες.

Πίνακας 1 : Περιγραφή δειγμάτων θεραπείας ιντερφερόνης

Κατηγορία	Πλήθος Δειγμάτων	Περιγραφή
Υγιείς	-	125 Δείγματα που προέρχονται από υγιή άτομα
Betaseron	Χρονική Στιγμή T0	11 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Betaseron τη χρονική στιγμή T0.
	Χρονική Στιγμή T1	11 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Betaseron τη χρονική στιγμή T0 και T1.
	Χρονική Στιγμή T2	11 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Betaseron και στις 3 χρονικές στιγμές.
Rebif	Χρονική Στιγμή T0	14 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Rebif τη χρονική στιγμή T0.
	Χρονική Στιγμή T1	14 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Rebif τη χρονική στιγμή T0 και T1.
	Χρονική Στιγμή T2	14 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Rebif και στις 3 χρονικές στιγμές.
Avonex	Χρονική Στιγμή T0	42 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Avonex τη χρονική στιγμή T0.
	Χρονική Στιγμή T1	42 Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Avonex τη χρονική στιγμή T0 και T1.

	Χρονική Στιγμή T2	42	Δείγματα ασθενών που έχουν λάβει μόνο Avonex και στις 3 χρονικές στιγμές.
Χωρίς Θεραπεία	Χρονική Στιγμή T0	84	Δείγματα ασθενών που έχουν δεν έχουν λάβει καμία θεραπεία μέχρι τη χρονική στιγμή T0.
	Χρονική Στιγμή T1	84	Δείγματα ασθενών που έχουν δεν έχουν λάβει καμία θεραπεία μέχρι τη χρονική στιγμή T1.
	Χρονική Στιγμή T2	84	Δείγματα ασθενών που έχουν δεν έχουν λάβει καμία θεραπεία μέχρι τη χρονική στιγμή T2.

Το αίμα συλλέχθηκε σε τρεις χρονικές στιγμές για όλους τους ασθενείς. Οι ασθενείς είτε υποβλήθηκαν είτε όχι σε αγωγή με IFN. Η πλατφόρμα που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση μικροσυστοιχιών είναι η Affymetrix Human Exon 1.0 ST Array. Ένας πίνακας δεδομένων που προέρχεται από την πλατφόρμα GEO Platform GPL16209 απαιτείται για την αντιστοίχιση αναγνωριστικών ανιχνευτών (probes) σε γονίδια. Όλοι οι ανιχνευτές που δεν αντιστοιχούν σε κάποιο γονίδιο αφαιρούνται. Οι εντάσεις των ανιχνευτών λαμβάνονται από το αρχείο «Series Matrix» του [GSE41850](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE41850). Ο Series Matrix είναι ένας δισδιάστατος πίνακας του οποίου οι σειρές αντιστοιχούν σε probes και τις στήλες σε δείγματα. Κάθε κελί περιέχει την ένταση ενός συγκεκριμένου probe που παρατηρείται σε ένα συγκεκριμένο δείγμα.

Η ανάλυση των γονιδιακών δεδομένων έχει υλοποιηθεί με την χρήση της γλώσσας προγραμματισμού ανοικτού κώδικα R, έκδοση 3.5.1. Το πρώτο βήμα της ανάλυσης είναι η λήψη του αρχείου τύπου Series Matrix για το GSE41850 με την χρήση του πακέτου «GEOquery» της «Bioconductor» βιβλιοθήκης (<http://www.bioconductor.org/>). Οι παρακάτω γραμμές κώδικα στον **Πίνακα 2** υλοποιούν αυτό το βήμα της ανάλυσης, κατηγοριοποιούν τα ονόματα των δειγμάτων στις προαναφερθείσες κατηγορίες χρησιμοποιώντας τα μεταδεδομένα που επιστρέφει η συνάρτηση «getGEO» του πακέτου «GEOquery» και αποδίδουν σε κάθε probe στο όνομα γονιδίου που αντιστοιχεί.

Πίνακας 2: Κώδικας R για λήψη δεδομένων και κατηγοριοποίηση δειγμάτων

```
library(Biobase)
library(GEOquery)
# load series and platform data from GEO
gset <- getGEO("GSE41850", GSEMatrix =TRUE, getGPL=TRUE)
if (length(gset) > 1) idx <- grep("GPL16209", attr(gset, "names")) else idx <- 1
gset <- gset[[idx]]
# Create a list with sample names per condition
samples.list <- load_samples_info(gset)
# Create gene - probe associations based in probeset information
probeannotation <- load_probeset_info(fData(gset))
sampleNames(gset) <- gset$geo_accession
```

Η getGEO είναι η κύρια συνάρτηση του πακέτου GEOquery [8] και υλοποιεί τη λήψη και την ανάλυση των δεδομένων που αντιστοιχούν στο GSE41850. Η συνάρτηση επιστρέφει ένα αντικείμενο κλάσης «ExpressionSet». Το «GSEMatrix =TRUE» υποδηλώνει τη χρήση του Series Matrix αρχείου από το GEO και το «getGPL=TRUE» την λήψη και την ενσωμάτωση των πληροφοριών της πλατφόρμας που χρησιμοποιείται στο πείραμα, όπως η αντιστοίχιση ανιχνευτών με γονίδια. Το πακέτο «Biobase» [9] της Bioconductor βιβλιοθήκης περιέχει τυποποιημένες δομές δεδομένων για την αναπαραγωγή γονιδιωματικών δεδομένων. Η κλάση ExpressionSet είναι σχεδιασμένη για να συνδυάζει

διάφορες πηγές πληροφοριών σε μία απλή δομή. Τα δεδομένα ενός ExpressionSet είναι πολύπλοκα και αποτελούνται από δεδομένα έκφρασης από πειράματα μικροσυστοιχιών (assayData), μεταδεδομένα που περιγράφουν τα δείγματα στο πείραμα (phenoData), σχόλια και μεταδεδομένα σχετικά με τα χαρακτηριστικά του τσιπ ή της τεχνολογίας που χρησιμοποιείται για το πείραμα (featureData, annotation), πληροφορίες σχετικά με το πρωτόκολλο για την επεξεργασία κάθε δείγματος (protocolData), και μια ευέλικτη δομή που περιγράφει το πείραμα (experimentData).

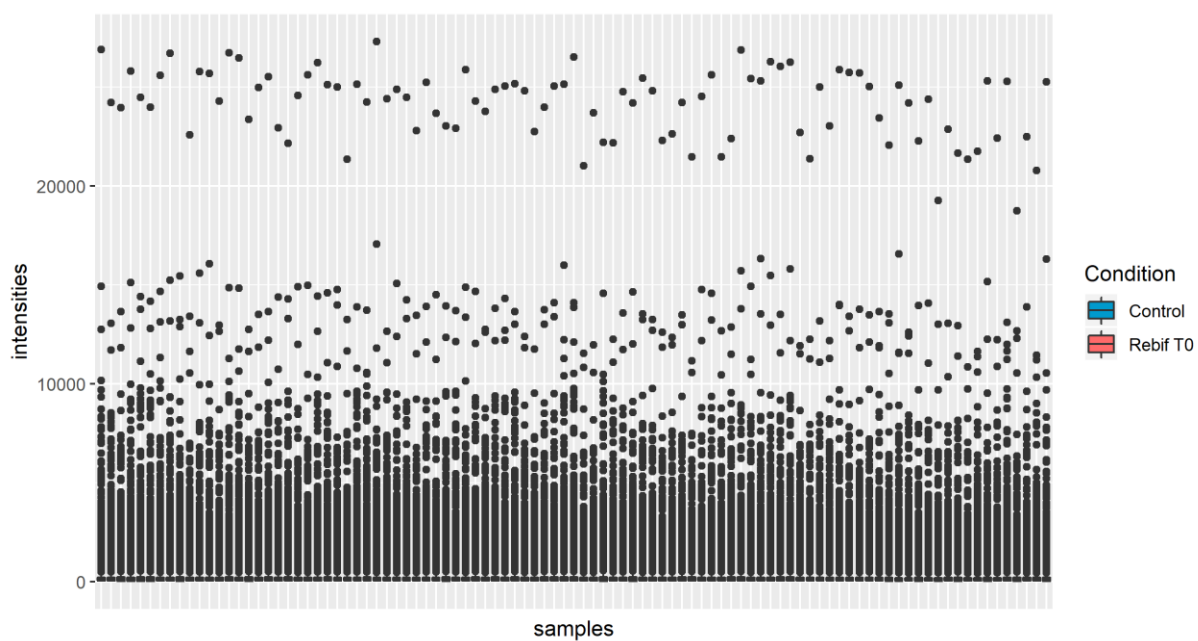
Έπειτα από την λήψη του αρχείου, εξάγονται τα δεδομένα έκφρασης και τα μεταδεδομένα που αντιστοιχούν στην πλατφόρμα «GPL16209». Η συνάρτηση «load_samples_info» έχει υλοποιηθεί με σκοπό την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων στις αντίστοιχες συνθήκες που ανήκουν. Τα δείγματα ενός ασθενούς που δεν παρουσιάζουν συνέπεια στην θεραπεία στο πέρασμα του χρόνου δεν συμπεριλαμβάνονται στην ανάλυση. Για παράδειγμα, εάν κάποιος ασθενής έχει λάβει θεραπεία Betaseron την χρονική στιγμή T0 και T2 και δεν έχει λάβει θεραπεία τη χρονική στιγμή T1, μόνο το δείγμα που αντιστοιχεί στην χρονική στιγμή T0 συμπεριλαμβάνεται στην ανάλυση. Το αποτέλεσμα της συνάρτησης «load_samples_info» είναι μια λίστα (συνθήκες) από λίστες (χρονικές στιγμές) από διανύσματα που περιλαμβάνουν τα ονόματα των δειγμάτων που ανήκουν σε αυτές τις κατηγορίες όπως αυτά αποδίδονται από το GEO (π.χ. GSM1026254). Η συνάρτηση «fData» του πακέτου Biobase εξαγάγει μεταδεδομένα που αντιστοιχούν στην πλατφόρμα και πιο συγκεκριμένα τον πίνακα αντιστοίχισης ανιχνευτών με λεπτομέρειες για γονίδια που καταγράφονται σε διάφορες βάσεις δεδομένων και η υλοποιημένη συνάρτηση «load_probe_info» χρησιμοποιεί αυτόν τον πίνακα για να αποδώσει σε κάθε ανιχνευτή το αντίστοιχο γονιδιακό του σύμβολο με βάση την HGNC ονοματολογία γονιδίων. Η συνάρτηση «sampleNames» του πακέτου Biobase ορίζει τα ονόματα των δειγμάτων που αποτελούν το ExpressionSet, τα οποία λαμβάνονται από τα μεταδεδομένα που παρέχονται από το GEO.

3. ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

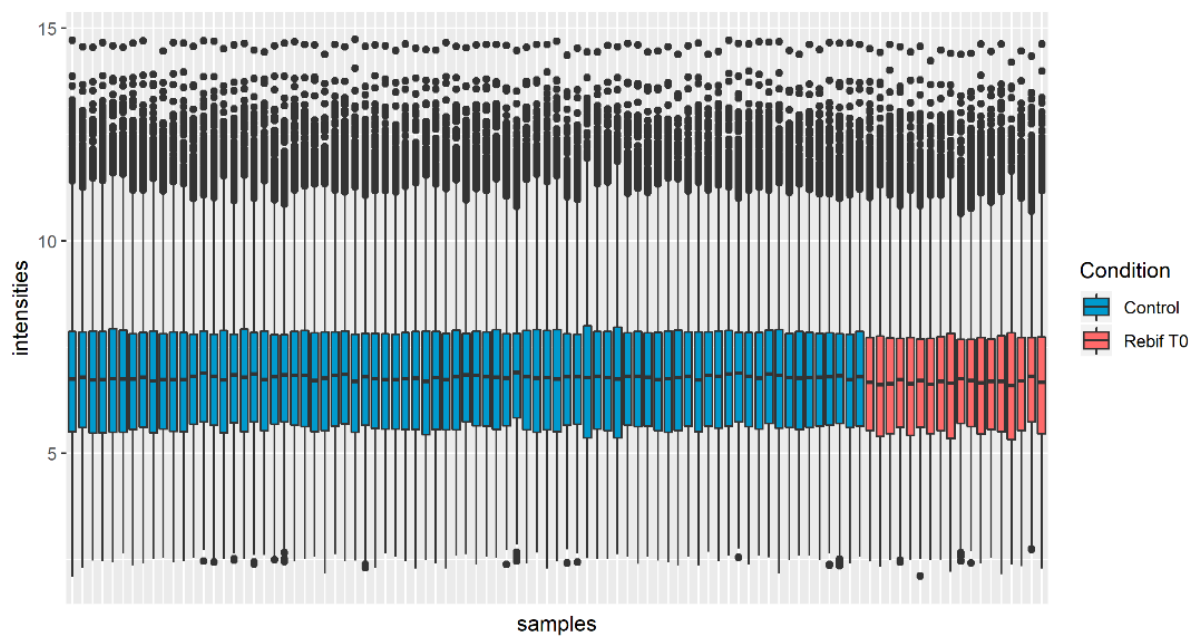
Οι μετρήσεις φθορισμού που προκύπτουν από ένα πείραμα μικροσυστοιχιών διατηρούν κάποια χαρακτηριστικά που δυσχεραίνουν την περαιτέρω ανάλυση. Πιο συγκεκριμένα, οι ανεπεξέργαστες τιμές φθορισμού εμφανίζουν μεγάλη διασπορά σε ό,τι αφορά το εύρος της έντασης, με πολλές τιμές να είναι εξαιρετικά μικρές και λίγες να είναι πολύ μεγάλες. Κάτι τέτοιο είναι προβληματικό καθώς ιδανικά, και προκειμένου τα πειράματα να είναι συγκρίσιμα, θα πρέπει η διασπορά των τιμών να είναι ανεξάρτητη της έντασης φθορισμού. Οι τιμές δηλαδή θα πρέπει να κατανέμονται με όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφο τρόπο. Προκειμένου να μειωθεί η επίδραση αυτής της τάσης για διασπορά που σχετίζεται με την ένταση, οι αρχικές τιμές ενός πειράματος μικροσυστοιχιών μετασχηματίζονται με τη λήψη λογαρίθμου. Η λογαρίθμηση των τιμών φθορισμού οδηγεί σε μια προσεγγιστικά κανονική κατανομή των τιμών που κάνει τον περαιτέρω χειρισμό τους πιο εύκολο. Αυτό συμβαίνει καθώς (επίσης προσεγγιστικά) η αρχική κατανομή των τιμών φθορισμού ακολουθεί τη λογαριθμοκανονική κατανομή (log-normal distribution). Η βάση που επιλέγουμε για το λογάριθμο είναι τις περισσότερες φορές το 2 για λόγους που έχουν να κάνουν με την εύκολη ερμηνεία των αποδιδόμενων τιμών σε περιπτώσεις σύγκρισης δύο δειγμάτων.

Επιπλέον, λόγω του ότι συγκρίνουμε τιμές γονιδίων μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων, είναι απαραίτητο να καταφύγουμε σε ορισμένες πιο εκλεπτυσμένες μεθόδους κανονικοποίησης τιμών ούτως ώστε οι γονιδιακές εκφράσεις να καθίστανται συγκρίσιμες. Η κανονικοποίηση ποσοστημορίων (quantile normalization) είναι μια μη-παραμετρική μέθοδος κανονικοποίησης που βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην ανάλυση δεδομένων γονιδιακής έκφρασης [10]. Η συγκεκριμένη μέθοδος οδηγεί σε συγκρίσιμες κατανομές τιμών ακόμα και στην περίπτωση που οι αρχικές κατανομές δεν είναι κανονικές. Η διαδικασία βασίζεται ουσιαστικά στη σύγκριση της κατάταξης των τιμών και για το λόγο αυτό είναι ανεξάρτητη των ροπών (μέση τιμή, διασπορά κλπ.). Το αποτέλεσμα της κανονικοποίησης είναι ένας πίνακας που περιέχει τις ίδιες ακριβώς τιμές σε κάθε στήλη με διαφορετική ωστόσο κατάταξη. Αυτός ο μετασχηματισμός, εξασφαλίζει ότι οι κατανομές είναι απολύτως συγκρίσιμες χωρίς όμως να χάνεται η εσωτερική τους δομή.

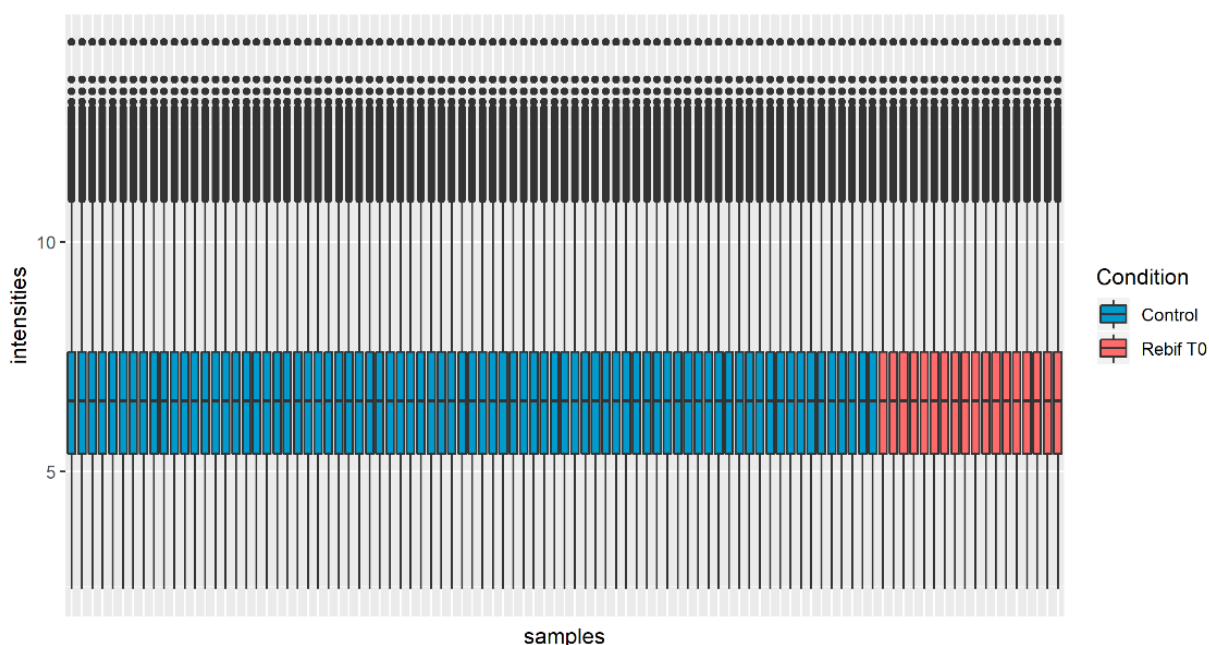
Στα παρακάτω σχήματα φαίνονται τα θηκογράμματα γονιδιακών εκφράσεων σε δύο διαφορετικές καταστάσεις (Υγιείς – Ασθενείς με Θεραπεία Rebif T0) πριν και μετά την κανονικοποίηση ποσοστημορίων και τη λογαρίθμηση.



Σχήμα 2: Θηκόγραμμα εκφράσεων γονιδίων χωρίς κανονικοποίηση ποσοστημορίων και λογαρίθμηση



Σχήμα 3: Θηκόγραμμα εκφράσεων γονιδίων με λογαρίθμηση αλλά χωρίς κανονικοποίηση ποσοστημορίων



Σχήμα 4: Θηκόγραμμα εκφράσεων γονιδίων με λογαρίθμηση και κανονικοποίηση ποσοστημορίων

Στον **Πίνακα 3** παρουσιάζεται η υλοποίηση της κανονικοποίησης των τιμών έκφρασης. Η συνάρτηση «exprs» του πακέτου Biobase επιστρέφει έναν πίνακα με τις τιμές έκφρασης ενός ExpressionSet αντικειμένου. Για την κανονικοποίηση ποσοστημορίων χρησιμοποιείται η συνάρτηση «normalizeQuantiles» του πακέτου «limma» [11]. Διατηρούνται στο ExpressionSet μόνο τα δείγματα που ανήκουν σε κάποια από τις παραπάνω καταστάσεις και για κάθε μια από αυτές, εξάγονται οι εκφράσεις γονιδίων που εμφανίζονται στα δείγματα που τις αποτελούν.

Πίνακας 3: Κώδικας R για κανονικοποίηση των τιμών έκφρασης

```
#quantile normalization and log2 transformation
exprs(gset)<-log2(normalizeQuantiles(exprs(gset)))
# Keep only samples from samples.list
gset <- gset[, sampleNames(gset) %in% sort(unlist(samples.list,recursive = TRUE))]

#Foreach condition keep the appropriate sample intensities
#E.g. treated with Rebif at timepoint T0
RtreatedIntensT0 <- exprs(gset[, gset$geo_accession %in% samples.list$Rebif$T0])
```

4. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η επόμενη διαδικασία είναι η εκτίμηση της διαφορικής έκφρασης γονιδίων από ένα πείραμα που διενεργείται σε γονιδιωματική κλίμακα. Οι διαφορετικές συνθήκες στην συγκεκριμένη εργασία αναφέρονται σε διαφορετικές καταστάσεις του ασθενούς ανά χρονική στιγμή αλλά και σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές ανά κατάσταση. Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να σημειώσουμε ότι η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο καταστάσεων, καθώς η διαφορική έκφραση βασίζεται στην έννοια της μεταβολής. Για τον προσδιορισμό διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων και την ποσοτικοποίηση της διαφορικότητας εισάγουμε τον όρο «βαθμός μεταβολής έκφρασης γονιδίου». Ο υπολογισμός του βαθμού της μεταβολής της έκφρασης του ίδιου γονιδίου μεταξύ δύο διαφορετικών συνθηκών γίνεται με τη χρήση του λογαρίθμου του λόγου των τιμών έκφρασης (\log_2FC) στη συνθήκη μελέτης προς τη συνθήκη ελέγχου. Τιμές του λόγου ≥ 0.5 θα είναι ενδεικτικές μεγαλύτερης έκφρασης στη συνθήκη μελέτης και συνεπώς ενεργοποίησης του γονιδίου ενώ τιμές < 0.5 θα είναι ενδεικτικές καταστολής του. Η εφαρμογή του λογαρίθμου γίνεται για να μειώσει τη διασπορά των τιμών λόγων έκφρασης, με τον ίδιο τρόπο που είδαμε παραπάνω για τις καθαρές τιμές έκφρασης. Οι τιμές \log_2FC είναι θετικές στην περίπτωση της ενεργοποίησης του γονιδίου, της αύξησης δηλαδή των επιπέδων έκφρασής του στη συνθήκη μελέτης σε σχέση με τη συνθήκη ελέγχου και αρνητικές στην περίπτωση καταστολής. Μηδενικές μεταβολές αντιστοιχίζονται στην τιμή 0. Επιπλέον, η χρήση του δυαδικού λογάριθμου επιτρέπει μια απευθείας ανάγνωση του βαθμού της διαφορικής έκφρασης. Μια τιμή $\log_2FC = 1$ σημαίνει διπλάσια έκφραση σε σχέση με τη συνθήκη ελέγχου, ενώ μια τιμή $\log_2FC = -1$ υποδηλώνει μείωση στο μισό. Η χρήση της λογαριθμικής κλίμακας επιτρέπει γενικότερα ευκολότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Κρατώντας σταθερή τη συνθήκη ελέγχου μπορεί να υπολογιστεί η σχετική έκφραση σε μια σειρά από καταστάσεις. Έτσι π.χ. μπορεί κανείς να συγκρίνει παθολογικά δείγματα με δείγματα στα οποία οι ασθενείς υποβάλλονται σε διαφορετικές θεραπείες ή να μελετήσει τη διαφορική έκφραση σε διαφορετικά στάδια μιας διαδικασίας εφ' όσον όλα συγκρίνονται με ένα αρχικό χρονικό σημείο $t=0$ κλπ.

Η ανάλυση διαφορικής έκφρασης υλοποιείται με τη χρήση του πακέτου «limma» [11]. Στη συνέχεια, αντιστοιχίζουμε τα γονίδια στους ανιχνευτές και αφαιρούμε τα αντίγραφα, διατηρώντας μόνο την ένταση του ανιχνευτή που αντιστοιχεί στην ελάχιστη τιμή σημαντικότητας (p -value) ανάμεσα στα διπλότυπα. Επομένως, κάθε γονίδιο βρίσκεται στον τελικό πίνακα μόνο μια φορά με την ελάχιστη δυνατή τιμή σημαντικότητας. Θεωρούμε διαφορικά εκφραζόμενα μόνο τα γονίδια που παρουσιάζουν p -value μικρότερο του 0,05 και \log_2FC μεγαλύτερο κατά απόλυτη τιμή του 0,5. Στον **Πίνακα 4** παρατίθεται η συνάρτηση που έχει υλοποιηθεί για την ανίχνευση διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων μεταξύ δύο διαφορετικών καταστάσεων.

Πίνακας 4: Κώδικας R για τη διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων

```

de_analysis <- function(x,y,probeannotation,tp1,tp2,tr1,tr2) {
  library("limma")
  #Create de input, model
  totintensities <- cbind(x,y)
  Classlabels <- c(rep(0,dim(x)[2]),rep(1,dim(y)[2]))
  Classlabels <- as.integer(Classlabels)
  class.factor <- factor(Classlabels,labels=c(tr1,tr2),ordered='TRUE')
  control<-0
  treatment<-0
  for(c in 1:length(Classlabels)){
    if(Classlabels[c]==1) {
      treatment<-treatment+1
    }
  }
  control<-length(Classlabels)-treatment
  features<-length(totintensities[,1])
  design <- model.matrix(~factor(Classlabels))
  colnames(design) <- c(tr2,paste(tr1,"_vs_",tr2,sep=""))
  # Fit linear model for each gene given a series of arrays
  fit <- lmFit(totintensities, design)
  # compute moderated t-statistics, moderated F-statistic, and log-odds by empirical Bayes moderation
  fit <- eBayes(fit)
  # Extract a table of the top-ranked genes from a linear model fit.
  table<-topTable(fit, coef=2,n=features, adjust.method="BH")
  pre_table<- data.table(probeID=rownames(table),logFC=table$logFC, pvalue=table$P.Val,
    adjpvalue=table$adj.P.Val)
  #Remove probes with inf p-values
  pre_table <- pre_table[!is.infinite(pre_table$pvalue),]
  #Assign genes names to probe ids
  total <- merge(pre_table,probeannotation,by="probeID")
  signtot <- total[total$pvalue < 0.05,]
  signtot$abslogfc <- abs(signtot$logFC)
  signtot <- signtot[order(signtot[, 'gene'],-signtot[, 'abslogfc']),]
  signtot <- signtot[!duplicated(signtot$gene),]
  signtot <- signtot [order(signtot [, 'probeID']),]
  rownames(signtot)<- signtot $gene
  return(signtot)
}

```

Η παραπάνω συνάρτηση λαμβάνει σαν είσοδο δύο πίνακες που περιέχουν εκφράσεις γονιδίων στις δυο καταστάσεις που θέλουμε να συγκρίνουμε (x και y). Το probeannotation είναι ο πίνακας αντιστοίχισης probes με γονίδια, τα tp1 και tp2 είναι οι χρονικές στιγμές που λαμβάνονται τα δείγματα των δύο καταστάσεων και τα tr1, tr2 είναι η κατάσταση των ασθενών που αντιστοιχούν τα δείγματα (υγιείς, ασθενείς χωρίς θεραπεία, ασθενείς με θεραπεία Rebif, κοκ.). Στις πρώτες γραμμές δημιουργούμε τον πίνακα που απαιτείται για τον υπολογισμό διαφορικής έκφρασης καθώς και το μοντέλο αυτού του πίνακα που περιέχει τις κλάσεις-κατηγορίες όπου ανήκουν τα δείγματα. Οι γραμμές του πίνακα αντιστοιχούν στους ανιχνευτές και οι στήλες στα δείγματα. Έπειτα, χρησιμοποιείται η συνάρτηση «lmFit» του πακέτου «limma» [11] η οποία ταιριάζει πολλαπλά γραμμικά μοντέλα σταθμισμένων ή γενικευμένων x τετραγώνων. Ένα γραμμικό μοντέλο δημιουργείται για κάθε ανιχνευτή προσαρμοσμένο από τα δεδομένα έκφρασης του. Οι συντελεστές των διαφόρων καταστάσεων των μοντέλων περιγράφουν τις διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που ανήκουν σε κάθε κατηγορία.

Εν συνεχεία γίνεται χρήση της συνάρτησης «eBayes» του πακέτου «limma» [11], η οποία χρησιμοποιείται για την κατάταξη των γονιδίων ως προς την εύρεση διαφορικής

έκφρασης. Χρησιμοποιεί μία εμπειρική Μπαεσιανή μεθοδολογία για την συρρίκνωση των διακυμάνσεων μεταξύ ανιχνευτών προς μία κοινή τιμή και αυξάνει του βαθμούς ελευθερίας για τις επιμέρους διαφορές.

Η επόμενη συνάρτηση που χρησιμοποιείται είναι η «topTable» του πακέτου «limma» η οποία συνοψίζει το αποτέλεσμα του γραμμικού μοντέλου που έχει προκύψει από την «eBayes» επιλέγοντας τα υψηλότερα στην κατάταξη γονίδια ως προς την διαφορική έκφραση για κάθε λαμβάνουσα διαφορά. Ως διαφορικά εκφρασμένα γονίδια λαμβάνονται όσα έχουν p-value μικρότερο του 0.05 και απόλυτο \log_2FC μεγαλύτερο του 0,5 (δηλαδή αν $\log_2FC=0,5$ τότε σημαίνει η έκφραση αυξάνεται κατά 50% σε σχέση με τη συνθήκη ελέγχου). Σχετικά με την επιλογή ενός probe ανά γονίδιο, διατηρούμε στο πίνακα μόνο εκείνο το probe που για p-value μικρότερο του 0.05 εμφανίζει το μεγαλύτερο δυνατό \log_2FC κατά απόλυτη τιμή.

5. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΔΙΚΤΥΩΝ ΣΥΝΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση των μεταβολών του γονιδιακού δικτύου με την πάροδο του χρόνου με μια δεδομένη θεραπεία με IFN. Η ανάλυση δικτύων είναι σε θέση να διερευνήσει τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε πολλαπλά γονίδια προκειμένου να αποκαλυφθούν στατιστικά σημαντικά γονίδια. Εξετάζουμε την ικανότητα των μεθόδων συμπερασμού στατιστικών δικτύων να επισημάνουν και να δώσουν προτεραιότητα σε σημαντικά γονίδια σε όλες τις συγκρίσεις. Τα γονίδια που συμμετέχουν στην κατασκευή του δικτύου είναι αυτά που παρουσιάζουν διαφορική έκφραση σε τουλάχιστον μια από τις συγκρίσεις και είναι 459 στον αριθμό. Σε αυτό το βήμα χρησιμοποιούμε τη μέθοδο που βασίζεται στην ανάλυση της συσχέτισης των τιμών των εντάσεων μεταξύ των γονιδίων. Αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την κατασκευή δικτύων γονιδιακής αλληλεπίδρασης με βάση τη συσχέτιση / μερική συσχέτιση ζευγών γονιδίων. Το WGCNA [12] είναι ένας αλγόριθμος που ανιχνεύει ομάδες γονιδίων με υψηλή συσχέτιση. Υπολογίζει έναν πίνακα συγγένειας χρησιμοποιώντας το συντελεστή συσχέτισης του Pearson.

Συνεπώς, λαμβάνουμε ένα πίνακα $N \times N$ όπου οι γραμμές και οι στήλες αντιπροσωπεύουν τα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια και το κάθε κελί περιέχει τον συντελεστή συσχέτισης της γονιδιακής έκφρασης κάθε ζεύγους γονιδίων. Προκειμένου να δώσουμε προτεραιότητα σε ακμές υψηλού βαθμού συσχέτισης υψώνουμε τους συντελεστές σε ένα βάρος ίσο με 6 όπως προτείνεται από το WGCNA πακέτο. Το δίκτυο που προκύπτει από αυτόν τον Πίνακα Γειννίαςσης συνδέει τα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια με βάση τη συνέκφραση τους. Οι κόμβοι του δικτύου αναπαριστούν τα γονίδια και οι ακμές τον συντελεστή συσχέτισης. Το δίκτυο είναι μη προσανατολισμένο καθώς η συνέκφραση ενός γονιδίου A με ένα γονίδιο B είναι ίση με την συνέκφραση του γονιδίου B με το A.

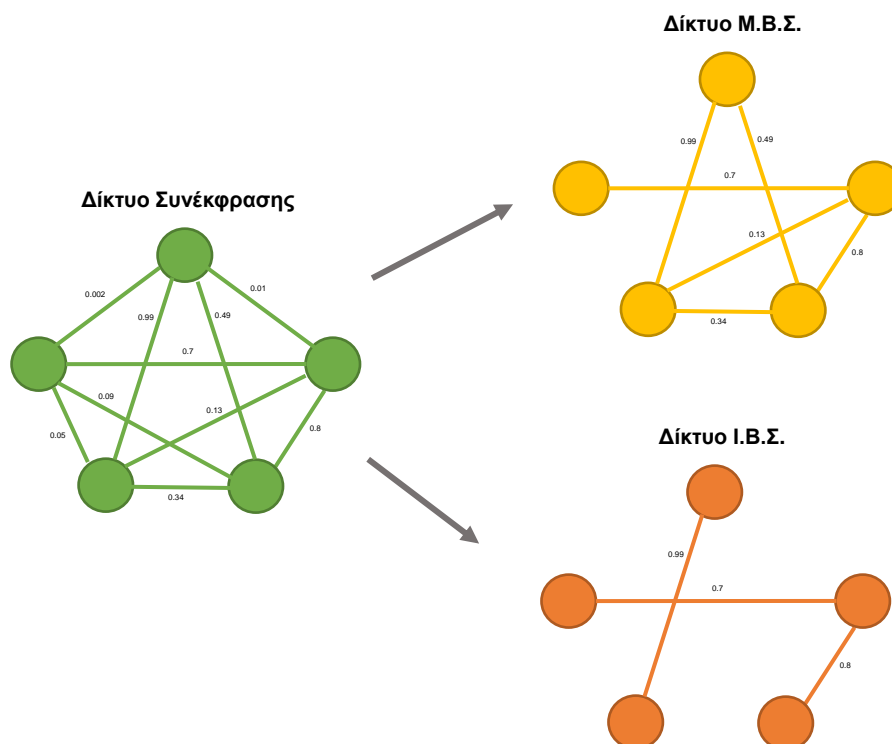
Για την λήψη απόφασης συσχέτισης δύο γονιδίων, είναι απαραίτητο να ορισθεί ένα κατώφλι για τον συντελεστή συσχέτισης. Προκειμένου να αποφύγουμε τη χρήση ενός μοναδικού αριθμού ως κατώφλι γεγονός που θα οδηγήσει σε πιθανή απώλεια ισχυρής συνέκφρασης μεταξύ δύο γονιδίων, εισάγουμε δύο όρους που χαρακτηρίζουν την ισχύ της συνέκφρασης δυο κόμβων.

- **Ισχυρού Βαθμού Συνέκφραση (ΙΒΣ):** όταν δύο κόμβοι συνδέονται με ακμή βάρους μεγαλύτερη ή ίση από 0,5, δηλαδή η απόλυτη τιμή του συντελεστή συσχέτισης τους

είναι μεγαλύτερη ή ίση με 0,89, γεγονός που υποδηλώνει ότι υπάρχει πολύ ισχυρή γραμμική συσχέτιση (θετική ή αρνητική) του επιπέδου έκφρασης των δύο γονιδίων.

- **Μέσου Βαθμού Συνέκφραση (ΜΒΣ):** όταν δύο κόμβοι συνδέονται με ακμή βάρους μεγαλύτερη ή ίση με 0,1, δηλαδή η απόλυτη τιμή του συντελεστή συσχέτισης τους είναι μεγαλύτερη ή ίση με 0,68, γεγονός που υποδηλώνει ότι υπάρχει μέση γραμμική συσχέτιση (θετική ή αρνητική) του επιπέδου έκφρασης των δύο γονιδίων.

Στο **Σχήμα 5** παρουσιάζεται ένα παράδειγμα της παραπάνω διαδικασίας, όπου ξεκινάμε από ένα δίκτυο συνέκφρασης με βάρη διαφόρων τιμών στο διάστημα (0,1) και εξαγάγουμε τα δίκτυα ΙΒΣ και ΜΒΣ σχετικά με τα κατώφλια που αναφέραμε για κάθε περίπτωση.



Σχήμα 5: Παράδειγμα εξαγωγής δικτύων Ισχυρής και Μέσης Συνέκφρασης

Προκειμένου να εξαγάγουμε συμπεράσματα για τα δίκτυα, χρησιμοποιούμε ορισμένες μετρικές δικτύων που αναφέρονται παρακάτω.

- **βαθμός κόμβου (degree)** σε ένα μη προσανατολισμένο δίκτυο είναι ο αριθμός των ακμών των οποίων μία κορυφή είναι αυτός ο κόμβος.
- **βαθμός κόμβου με βάρη (strength)** είναι το άθροισμα των βαρών των ακμών των οποίων μία κορυφή είναι αυτός ο κόμβος.
- **κεντρικότητα εγγύτητας (closeness centrality)** ορίζεται ως το αντίστροφο του αθροίσματος των αποστάσεων του κόμβου απ' όλους τους άλλους κόμβους. Μετράει πόσα βήματα απαιτούνται για την πρόσβαση σε κάθε άλλο κόμβο από έναν δεδομένο κόμβο. Βιολογικά αυτό σημαίνει ότι ένα γονίδιο με μεγάλη κεντρικότητα εγγύτητας μπορεί να κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που σχετίζεται λειτουργικά με πολλές άλλες πρωτεΐνες.

- **διακεντρικότητα (betweenness centrality)** ενός κόμβου ορίζεται ως ο αριθμός των συντομότερων διαδρομών (shortest paths) που διέρχονται το κόμβο. Αυτό σημαίνει ότι οι κόμβοι που μεσολαβούν σε γείτονες ταξινομούνται ψηλότερα και μέσω αυτών των κόμβων οι γείτονες είναι δυνατόν να επικοινωνούν μεταξύ τους. Βιολογικά αυτό ερμηνεύεται ότι μία πρωτεΐνη μπορεί να φέρει σε επικοινωνία δύο φαινομενικά «μακρινές» πρωτεΐνες.

Στον **Πίνακα 5** παρουσιάζεται ο κώδικας που υλοποιεί την κατασκευή δικτύων συνέκφρασης όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Πίνακας 5: Κώδικας R για τη κατασκευή δικτύων συνέκφρασης

```
network_analysis<- function(intens1, thr) {
  library("WGCNA")
  # scale-free fit
  ADJ1=abs(WGCNA::cor(t(intens1),use="all.obs",method="pearson"))^6
  #remove diameter and correlations smaller than correlation threshold
  diag(ADJ1)<-0
  ADJ1[ADJ1<thr]<-0

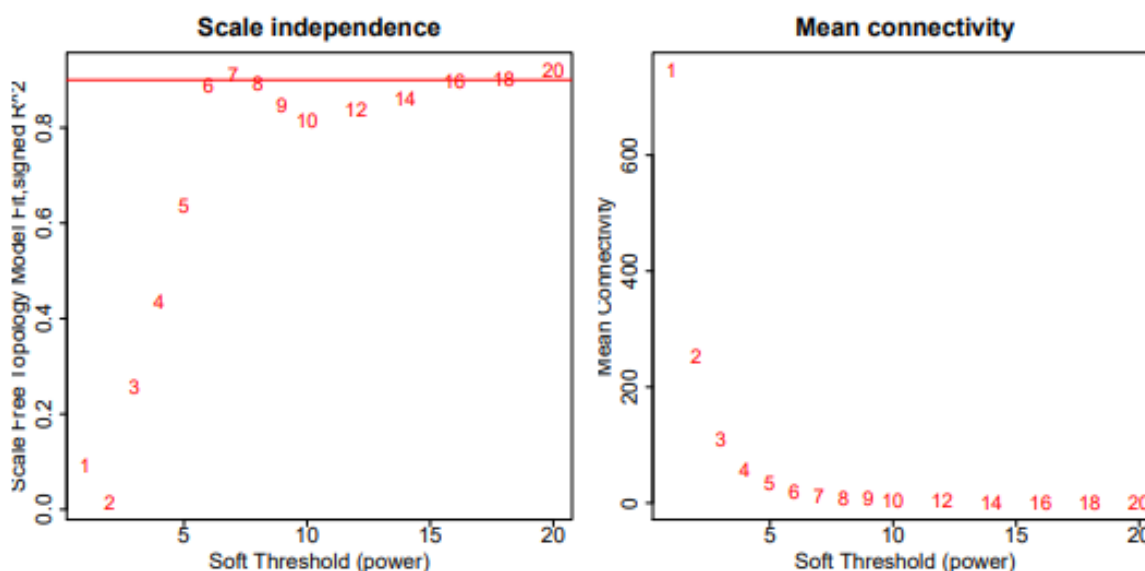
  #Create Networks
  library("igraph")
  g1<-graph_from_adjacency_matrix(ADJ1,mode="lower",weighted=TRUE,diag=FALSE)
  g1_list<-cbind( get.edgelist(g1) , E(g1)$weight )
  colnames(g1_list)<-c("from","to","score")

  #Network metrics
  metrics1 <- data.table(degree=igraph::degree(g1),
    strength= igraph::strength(g1),
    closeness=igraph::closeness(g1),
    betweenness=igraph::betweenness(g1))
  metrics1$gene_names<-vertex_attr(g1)$name
  # Neighborhood of graph vertices
  neigh_g1<-ego(g1,1,metrics1$gene_names)
  for(i in 1:length(neigh_g1)){
    neigh_g1[[i]]<-neigh_g1[[i]]$name
    names(neigh_g1)[i]<-neigh_g1[[i]][1]
    neigh_g1[[i]]<-neigh_g1[[i]][-1]
  }
  neigh_g1 = neigh_g1[order(names(neigh_g1))]
  list1<-list(neigh=neigh_g1,metrics=metrics1)
}
```

Η παραπάνω συνάρτηση καλείται δύο φορές για κάθε περίπτωση προκειμένου να εξάγουμε δίκτυα ισχυρού και δίκτυα μέσου βαθμού συνέκφρασης. Λαμβάνει σαν είσοδο τον πίνακα γονιδιακών εκφράσεων και το κατώφλι συσχέτισης. Η συνάρτηση «cor» του WGCNA πακέτου υλοποιεί ένα πιο γρήγορο υπολογισμό του συσχετίσης Pearson. Το αποτέλεσμα της συνάρτησης υψώνεται σε μια δύναμη ίση με 6 προκειμένου να μετατρέψουμε το δίκτυο σε μη-κλιμακούμενο (scale-free) που ακολουθεί τη κατανομή νόμου δύναμης (power law). Συνεπώς, η πιθανότητα ένας κόμβος να είναι υψηλά συνδεδεμένος στο μη-κλιμακούμενο δίκτυο είναι στατιστικώς πιο σημαντική απ' ότι σε ένα τυχαίο γράφημα. Ο εκθέτης που υψώνεται ο συντελεστής συσχέτισης θα πρέπει να είναι ο μικρότερος δυνατός (**Εικόνα 3**) που οδηγεί σε τοπολογία μη-κλιμακούμενου δικτύου (scale-free network topology). Η κατανομή των βαθμών των κόμβων ενός δικτύου ακολουθεί power law, η πιθανότητα ενός κόμβου να έχει k συνδέσεις είναι k^{γ} σύμφωνα με τον Barabási, ο οποίος έχει ανακαλύψει αρκετούς τύπους δικτύων που είναι σχεδόν μη-κλιμακούμενοι, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Σκοπός αυτού του μετασχηματισμού είναι η δημιουργία ενός

βιολογικά ρεαλιστικού δικτύου και η ενίσχυση των ακμών με σημαντικό συντελεστή συσχέτισης (0,9).

Στη συνέχεια, ορίζουμε τη διάμετρο του πίνακα γεινίασης ίση με μηδέν εφόσον ένα γονίδιο δεν συσχετίζεται με τον εαυτό του και μηδενίζουμε όλες τις τιμές που είναι μικρότερες από το κατώφλι. Έπειτα, ο πίνακας γεινίασης μετατρέπεται σε μη κατευθυνόμενο γράφημα με βάρη και υπολογίζονται οι μετρικές για κάθε κόμβο. Το πακέτο «igraph» [13] παρέχει τη συνάρτηση «graph_from_adjacency_matrix» για τη δημιουργία γραφών από πίνακες γεινίασης και τις συναρτήσεις «degree», «strength», «closeness» και «betweenness» για τον υπολογισμό των μετρικών του κόμβου. Η συνάρτηση «ego» του πακέτου igraph επιστρέφει τους γείτονες για κάθε κόμβο ενός γράφου.



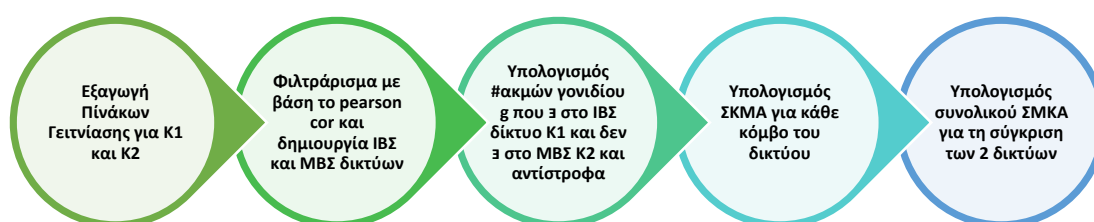
Εικόνα 3: Αποτέλεσμα WGCNA για την επιλογή εκθέτη στο μετασχηματισμό της συνέκφρασης

6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΙΚΤΥΩΝ

Η σύγκριση δικτύων αποτελεί το τελικό βήμα της ανάλυσης και χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει τις διαφορές που παρουσιάζονται ανάμεσα σε δύο ή και πολλαπλά δίκτυα που αναφέρονται σε διαφορετικές καταστάσεις. Η πιο σημαντική και εμφανής διαφορά που μπορεί να εντοπιστεί είναι σε επίπεδο ακμής και σχετίζεται με το κατά πόσο διαφοροποιείται το σκορ μίας ακμής ανάμεσα στα δίκτυα. Επιπλέον, το επόμενο στάδιο ανίχνευσης διαφορών αφορά στο επίπεδο γειονιάς ενός κόμβου και σχετίζεται με το κατά πόσο διαφοροποιούνται οι ακμές που προσπίπτουν σε αυτόν ανάμεσα στα δίκτυα. Τέλος, προκειμένου να έχουμε μια πιο γενική εικόνα διαφοράς σε επίπεδο δικτύου, υπολογίζουμε το ποσοστό κατά το οποίο διαφοροποιούνται δύο δίκτυα σε επίπεδο συνολικών ακμών. Η τελευταία τεχνική εφαρμόζεται μόνο στις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη.

6.1 Σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη

Εκτός από την εξαγωγή συμπερασμάτων με βάση τις μετρικές των κόμβων στα δίκτυα, είναι ιδιαίτερα χρήσιμο να εντοπισθούν και οι διαφορές στις ακμές ανάμεσα σε δύο δίκτυα συνέκφρασης. Σκοπός αυτής της σύγκρισης είναι ο εντοπισμός μη κοινών ακμών μεταξύ δυο δικτύων που έχουν δημιουργηθεί από ομάδες δειγμάτων που αντιστοιχούν σε διαφορετικές συνθήκες (π.χ. ασθενείς που έλαβαν την θεραπεία και ασθενείς που δεν έχουν λάβει θεραπεία τη χρονική στιγμή T1). Με τον τρόπο αυτό γίνεται δυνατή η ανίχνευση ομάδων γονιδίων που μπορεί να συνεκφράζονται σε μια από τις δύο καταστάσεις λόγω ενός ρυθμιστή γονιδίου όπως είναι οι μεταγραφικοί παράγοντες ή κάποιο άλλο γονίδιο που ενδέχεται να επάγει την μεταγραφή ορισμένων γονιδίων «στόχων».



Σχήμα 6: Ακολουθία βημάτων για τη Σύγκριση Δικτύων κατά ζεύγη

Επιπλέον, για να λάβουμε τις διαφορές στις ακμές, ανιχνεύουμε για κάθε κόμβο τις ακμές που μπορεί να εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ για τη μία κατάσταση και δεν εμφανίζονται στο δίκτυο MBΣ στην άλλη κατάσταση και αντίστροφα. Με αυτόν το τρόπο θεωρούμε ότι δύο γονίδια χάνουν τη συσχέτιση τους σε μια κατάσταση K1 σε σχέση με μία άλλη κατάσταση K2 εάν στην K1 παρουσιάζουν συνέκφραση μεγαλύτερη του 0,5 και στην K2 μικρότερη του 0,1. Συνεπώς μικρές μεταβολές στο βάρος των ακμών ή μεταβολές στο βάρος των ακμών που αντιπροσωπεύουν ασθενείς συσχετίσεις δεν οδηγούν στο συμπέρασμα μη κοινών ακμών στα δίκτυα.

Προκειμένου να ποσοτικοποιηθεί η πληροφορία των μη-κοινών ακμών μεταξύ δύο δικτύων για κάθε κόμβο ορίζουμε το ακόλουθο όρο.

$$\frac{(\#\gamma\epsilon\iota\tau\acute{o}\nu\omega\nu \exists \text{ IB}\Sigma \text{ K1 και δεν } \exists \text{ MB}\Sigma \text{ K2})(g) + (\#\gamma\epsilon\iota\tau\acute{o}\nu\omega\nu \exists \text{ IB}\Sigma \text{ K2 δεν } \exists \text{ MB}\Sigma \text{ K1})(g)}{d_{K1}(g) + d_{K2}(g)}$$

Το «Σκορ Μη-Κοινών Ακμών» (ΣΜΚΑ) για ένα γονίδιο g ορίζεται ως το άθροισμα του πλήθους των ακμών του γονιδίου g που εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 και λείπουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K2 και του πλήθους των ακμών του γονιδίου g που εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K2 και λείπουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K1, διαιρεμένο με το άθροισμα των βαθμών του γονιδίου στα δίκτυα IBΣ των δύο καταστάσεων. Με τον τρόπο αυτό μπορούμε να υπολογίσουμε το ποσοστό των σημαντικών ακμών που διαφέρουν σε σχέση με το σύνολο των σημαντικών ακμών και στα δύο δίκτυα. Ορίζουμε ως συνολικό ΣΜΚΑ μεταξύ δύο δικτύων το άθροισμα του πλήθους των ακμών όλων των γονιδίων που εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 και λείπουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση

K2 συν το άθροισμα του πλήθους των ακμών όλων των γονιδίων που εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K2 και λείπουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K1 διαιρεμένο με το άθροισμα των βαθμών όλων των κόμβων στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 συν το άθροισμα των βαθμών όλων των κόμβων στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K2.

$$\frac{\sum_g (\# \text{γειτόνων} \ni \text{IB}\Sigma \text{ K1 και δεν} \ni \text{MB}\Sigma \text{ K2}) + \sum_g (\# \text{γειτόνων} \ni \text{IB}\Sigma \text{ K2 και δεν} \ni \text{MB}\Sigma \text{ K1})}{\sum_g d_{k1} + \sum_g d_{k2}}$$

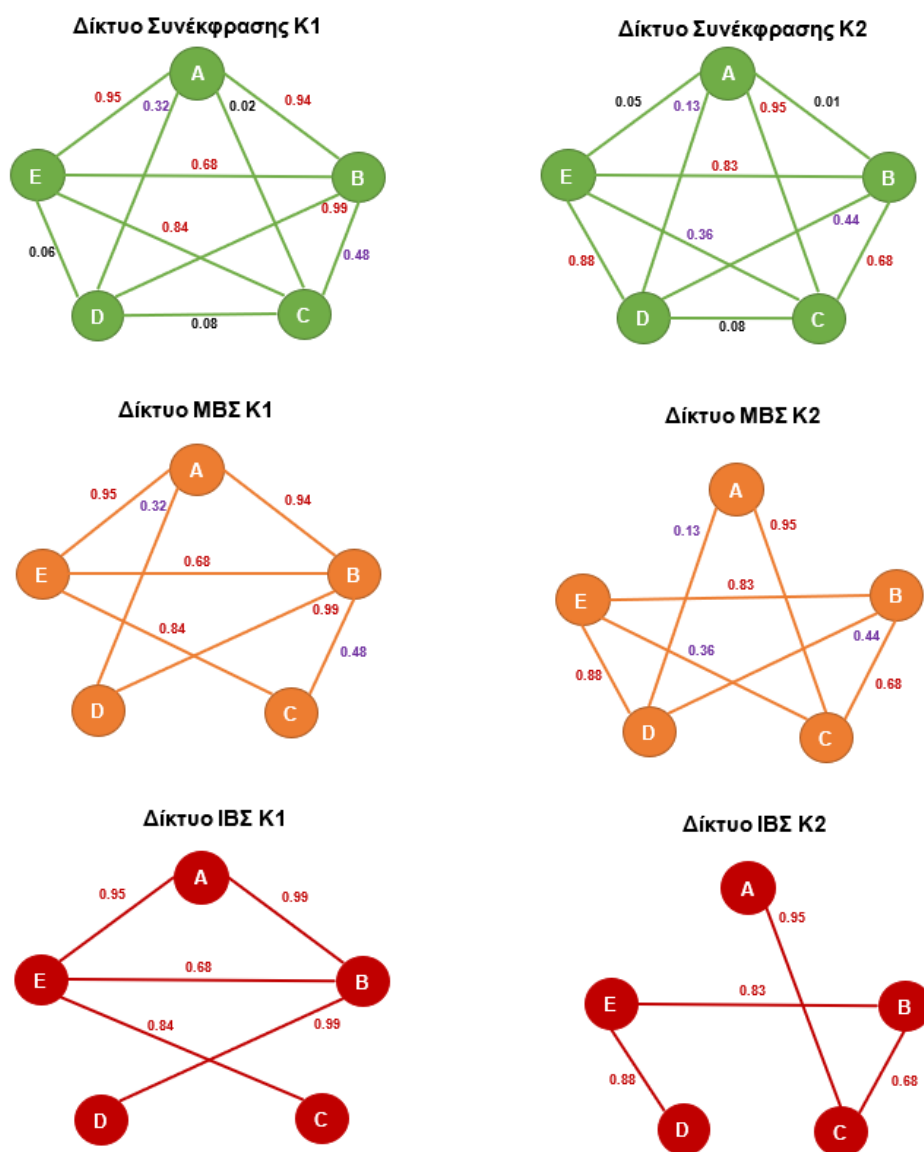
Στο **Σχήμα 7** παρουσιάζεται ένα παράδειγμα σύγκρισης δύο δικτύων τα οποία εκπροσωπούν δύο καταστάσεις K1 και K2. Με κόκκινο χρώμα φαίνονται οι ακμές με βαθμό συσχέτισης μεγαλύτερο του 0.5, με μωβ χρώμα οι ακμές με βαθμό συσχέτισης μεταξύ του 0.5 και του 0.1 και με μαύρο οι ακμές με βαθμό συσχέτισης μικρότερο του 0.1.

Ξεκινώντας από το αρχικό δίκτυο συνέκφρασης και εφαρμόζοντας το πρώτο κατώφλι για το βαθμό συσχέτισης, λαμβάνουμε τα δίκτυα MBΣ για τις δύο καταστάσεις. Στη συνέχεια εφαρμόζουμε και το δεύτερο κατώφλι και καταλήγουμε στα δίκτυα IBΣ για τις καταστάσεις K1 και K2. Για να υπολογίσουμε το ΣΜΚΑ για το γονίδιο E ακολουθούμε τα παρακάτω βήματα.

1. Μετράμε τις ακμές του E που βρίσκονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 αλλά απουσιάζουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K2 (1)
2. Μετράμε τις ακμές του E που βρίσκονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K2 αλλά απουσιάζουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K1 (1)
3. Αθροίζουμε τα δύο παραπάνω νούμερα και αυτό που προκύπτει είναι ο αριθμητής του ΣΜΚΑ. (2)
4. Υπολογίζουμε το βαθμό του κόμβου E στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 (3) και για την κατάσταση K2 (2)
5. Αθροίζουμε τους βαθμούς του κόμβου E (3+2) και αυτό που προκύπτει είναι ο παρονομαστής του ΣΜΚΑ. (5)
6. Υπολογίζουμε το ΣΜΚΑ για το κόμβο E. $2/5 = 0,4$. Συνεπώς, η γειτονιά του κόμβου E διαφοροποιείται κατά 40% ανάμεσα στις 2 καταστάσεις.

Σε περίπτωση που θέλουμε να υπολογίσουμε το συνολικό ΣΜΚΑ των δικτύων, δηλαδή το ποσοστό που διαφέρουν τα δύο δίκτυα σε επίπεδο ακμών ακολουθούμε τα παρακάτω βήματα.

1. Μετράμε όλες τις ακμές που βρίσκονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 αλλά απουσιάζουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K2 (3)
2. Μετράμε τις ακμές που βρίσκονται στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K2 αλλά απουσιάζουν από το δίκτυο MBΣ για την κατάσταση K1 (2)
3. Αθροίζουμε τα δύο παραπάνω νούμερα και αυτό που προκύπτει είναι ο αριθμητής του συνολικού ΣΜΚΑ. (5)
4. Υπολογίζουμε το άθροισμα των βαθμών όλων των κόμβων στο δίκτυο IBΣ για την κατάσταση K1 (10) και για την κατάσταση K2 (8)
5. Αθροίζουμε τους βαθμούς (10+8) και αυτό που προκύπτει είναι ο παρονομαστής του συνολικού ΣΜΚΑ. (18)
6. Υπολογίζουμε το συνολικό ΣΜΚΑ. $5/18 \sim 0,28$. Συνεπώς, τα δύο δίκτυα διαφοροποιούνται κατά 28% σε επίπεδο ακμών.



Σχήμα 7: Παράδειγμα σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη

Συνεπώς, το ΣΜΚΑ υπολογίζει το ποσοστό κατά το οποίο διαφοροποιείται η γειτονιά ενός κόμβου σε δύο διαφορετικά δίκτυα ενώ το συνολικό ΣΜΚΑ το ποσοστό κατά το οποίο διαφοροποιούνται δύο δίκτυα σε επίπεδο συνολικών ακμών.

6.2 Σύγκριση πολλαπλών δικτύων

Όπως θα δούμε και στην συνέχεια, σκοπός της έρευνας δεν είναι μόνο ο εντοπισμός διαφορών ανάμεσα σε δύο δίκτυα αλλά και η ανίχνευση ακμών και κόμβων που διαφοροποιούνται στα δίκτυα συγκεκριμένης θεραπείας με το πέρασμα του χρόνου ή στα δίκτυα συγκεκριμένης χρονικής στιγμής με διαφορετικές θεραπείες. Η βιολογία των δικτύων είναι ένας ταχέως αναπτυσσόμενος τομέας έρευνας, ο οποίος αναγνωρίζει ότι οι κυτταρικές διεργασίες ελέγχονται και συντονίζονται σε πολλαπλά επίπεδα μέσω στενά ρυθμιζόμενων μοριακών δικτύων. Αυτή η αλληλεπίδραση είναι μια δυναμική οντότητα, εξαρτώμενη από μια σειρά χρονικών, χωρικών, κυτταρικών και περιβαλλοντικών σημάτων [14]. Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναφερθούμε στον αλγόριθμο του πακέτο DyNet [15], που παρέχει ένα εύρος λειτουργιών για την απεικόνιση και την ανάλυση μεγάλων

πολυδύναμων δικτύων μοριακής αλληλεπίδρασης και την ανίχνευση των πλέον σημαντικών κόμβων.



Σχήμα 8: Ακολουθία βημάτων για τη Σύγκριση πολλαπλών Δικτύων

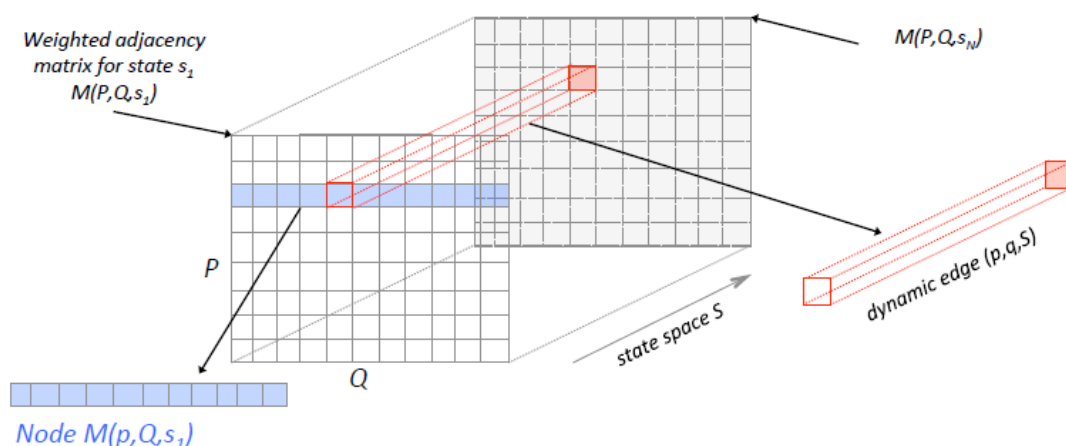
Για τη σύγκριση, λοιπόν περισσότερων από δύο δίκτυα εισάγουμε τον όρο «μέτρο ανομοιότητας» ή Dn-score ο οποίος χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην υλοποίηση του αλγορίθμου DyNet. Για κάθε ομάδα πολλαπλών δικτύων που θέλουμε να συγκρίνουμε ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Εντοπισμός των ακμών που εμφανίζονται τουλάχιστον σε ένα δίκτυο ΙΒΣ των περιπτώσεων που εξετάζουμε (π.χ. στην περίπτωση σύγκρισης δικτύων για την χρονική στιγμή T1, οι καταστάσεις που λαμβάνονται υπόψιν είναι οι : Υγιείς, Ασθενείς χωρίς θεραπεία την χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Avonex την χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Rebif την χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron την χρονική στιγμή T1).
- Εξαγωγή λιστών των παραπάνω ακμών (edge lists) για κάθε περίπτωση από τα δίκτυα ΜΒΣ.
- Μετατροπή των λιστών ακμών τις κάθε κατάστασης σε πίνακες γειτνίασης με βάρη διάστασης NxN, όπου N το πλήθος των γονιδίων που συνδέονται με ΙΒΣ με κάποιο άλλο γονίδιο σε τουλάχιστον μία κατάσταση.
- Υπολογισμός μέσης τιμής μη μηδενικών βαρών ακμών και δημιουργία νέου πίνακα NxN όπου θα αναπαριστά την μέση τιμή των μη μηδενικών συνεκφράσεων δύο γονιδίων σε όλες τις καταστάσεις.
- Κανονικοποίηση βαρών με διαίρεση με τις αντίστοιχες μέσες τιμές που υπολογίστηκαν στο προηγούμενο βήμα.
- Υπολογισμός «κεντροειδούς» (C), μέσης τιμής των κανονικοποιημένων βαρών σε όλες τις καταστάσεις.
- Υπολογισμός της ευκλείδειας απόστασης $d(x_i, C)$ του κάθε κόμβου με το κεντροειδές για κάθε κατάσταση. Το x_i αντιπροσωπεύει το διάνυσμα που περιέχει τα κανονικοποιημένα βάρη των ακμών του κόμβου i με τους υπόλοιπους κόμβους των δικτύων.
- Το μέτρο ανομοιότητας για κάθε κόμβο σε όλες τις υπό μελέτη καταστάσεις ορίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$Dn(M(p, Q, S)) = \frac{\sum_{i=1}^S d(x_i, C)}{S - 1}$$

Όπου $M(p, Q, S)$ είναι ο τρισδιάστατος πίνακας γειτνίασης που ορίζει τα βάρη κάθε κόμβου p με τους γείτονές του Q για τις καταστάσεις S . Κάθε ακμή ορίζεται από τρεις μεταβλητές,

τους δύο κόμβους που την ορίζουν και τη κατάσταση που παρατηρείται. Στην **Εικόνα 4** φαίνεται ο τρισδιάστατος πίνακας γειννίασης με βάρη.



Εικόνα 4: Τρισδιάστατος Πίνακας Γειννίασης για όλες τις καταστάσεις S

Αφού υπολογίσουμε το μέτρο ανομοιότητας για κάθε κόμβο, το διαιρούμε με το βαθμό του κόμβου στο δίκτυο που δημιουργήσαμε με τις ακμές ισχυρής συσχέτισης σε τουλάχιστον μία κατάσταση (Dn-score degree corrected). Επιπλέον υπολογίζεται και το «σκορ διασποράς» (Variance score, $Vscore$) για κάθε ακμή το οποίο ορίζεται με τον παρακάτω τύπο.

$$Vscore(M(p, q, S)) = var(M(p, q, S) / mean(M(p, q, S)))$$

Το $M(p, q, S)$ αντιπροσωπεύει το διάνυσμα που ορίζει τα βάρη της ακμής των κόμβων p και q σε όλες τις καταστάσεις S , το $var()$ αντιπροσωπεύει τη διασπορά και το $mean$ τη μέση τιμή. Με αυτόν τον τρόπο παρατηρούμε την διασπορά μίας συσχέτισης σε όλες τις υπό μελέτη καταστάσεις.

Τα δύο σκορ αναφέρονται παραπάνω, δηλαδή το Dn-score και το ΣΚΜΑ, υπολογίζονται με σκοπό την ανάδειξη γονιδίων, τα οποία παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές ανάμεσα σε δύο ή περισσότερα δίκτυα. Η μέθοδος υπολογισμού ΣΚΜΑ δεν επηρεάζεται από το βαθμό ενός κόμβου σε αντίθεση με την μέθοδο υπολογισμού Dn-score. Με άλλα λόγια, εάν ένας κόμβος συνδέεται με πολλούς άλλους γείτονες στο ΔΚΑ τότε το Dn-score μπορεί να είναι υψηλό λόγω μικρών διαφορών στις πολυάριθμες ακμές του. Από την άλλη πλευρά, το ΣΚΜΑ αντιπροσωπεύει το ποσοστό των γειτόνων ενός κόμβου που διαφοροποιείται ανάμεσα σε δύο δίκτυα ανεξάρτητα από το βαθμό αυτού. Λόγω της χρήσης των ΙΒΣ και ΜΒΣ δικτύων, δεν συμπεριλαμβάνονται στον υπολογισμό του ΣΚΜΑ ακμές με χαμηλή συσχέτιση ή ακμές με αμελητέες διαφορές ανάμεσα στα δύο δίκτυα. Από την άλλη πλευρά, για το Dn-score χρησιμοποιείται ένας πλήρης πίνακας γειννίασης ή ένα αυστηρό κατώφλι για τις συσχετίσεις, μέθοδος η οποία δεν ενδείκνυται για ακμές με βάρος κοντά στο κατώφλι. Με την χρήση του πλήρους πίνακα γειννίασης επιτρέπεται η ένταξη μη σημαντικών διαφορών στον υπολογισμό του Dn-score (ακμές με συντελεστή συσχέτισης μικρότερο από 0,9). Το ΣΚΜΑ παρέχει πληροφορία για το ποσοστό διαφοροποίησης τόσο της γειτονίας ενός κόμβου όσο και ολόκληρου του δικτύου ανάμεσα σε δύο καταστάσεις, ενώ το Dn-score εφαρμόζεται σε κόμβους και όχι σε ολόκληρο το δίκτυο. Επιπλέον, το υπολογιστικό κόστος που απαιτείται για τον υπολογισμό του ΣΚΜΑ είναι σχετικά μικρό σε σχέση με αυτό που απαιτείται για τον

υπολογισμό του Dn-score διότι στην πρώτη περίπτωση έχουμε αραιούς πίνακες γεινίασης ενώ στην δεύτερη πλήρης και απαιτούνται πολλαπλασιασμοί αυτών. Τέλος, το ΣΜΚΑ εφαρμόζεται μόνο σε ζεύγος δικτύων ενώ το Dn-score υποστηρίζει τη σύγκριση πολλαπλών δικτύων που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν θέλουμε να παρατηρήσουμε διαφορές συνέκφρασης γονιδίων στο πέρασμα του χρόνου ή σε πολλές διαφορετικές καταστάσεις όπως διαφορετική θεραπεία ασθενούς.

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ ΔΙΚΤΥΩΝ

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των δύο ανώτερο μεθόδων σύγκρισης δικτύων. Για την κατασκευή των δικτύων γίνεται χρήση των γονιδίων τα οποία παρουσιάζουν ΔΕ σε τουλάχιστον μία από τις αναλύσεις ΔΕΓ. Η επιλογή αυτών των γονιδίων γίνεται με σκοπό την παρακολούθηση των συσχετίσεων ενός ΔΕ γονιδίου σε όλες τις καταστάσεις και την ανίχνευση μεταβολών αυτών. Ο αριθμός αυτών των γονιδίων που λαμβάνουν μέρος στην συγκεκριμένη ανάλυση δικτύων είναι 459.

Οι συγκρίσεις πραγματοποιούνται είτε με βάση μία χρονική στιγμή λήψης των δειγμάτων είναι με βάση μία κατάσταση ασθενούς. Για παράδειγμα, στην πρώτη υποενοότητα παρατίθενται τα αποτελέσματα σύγκρισης δικτύων με βάση την χρονική στιγμή T0, δηλαδή τα δίκτυα που κατασκευάζονται για αυτή τη σύγκριση είναι τα ακόλουθα: Ασθενών ΧΘ για τη χρονική στιγμή T0, Ασθενών ΜΘ Rebif για τη χρονική στιγμή T0, Ασθενών ΜΘ Avonex για τη χρονική στιγμή T0, Ασθενών ΜΘ Betaseron για τη χρονική στιγμή T0 και Υγιών. Επιπλέον, στην υποενοότητα 4 παρατίθενται τα αποτελέσματα σύγκρισης δικτύων με βάση την θεραπεία Betaseron δηλαδή τα δίκτυα που κατασκευάζονται για αυτή τη σύγκριση είναι τα ακόλουθα: Ασθενών ΜΘ Betaseron για τη χρονική στιγμή T0, Ασθενών ΜΘ Betaseron για τη χρονική στιγμή T1, Ασθενών ΜΘ Betaseron για τη χρονική στιγμή T2 και Υγιών. Το δίκτυο των Υγιών χρησιμοποιείται σε όλες τις συγκρίσεις προκειμένου να παρατηρούνται οι διαφορές των δικτύων των διαφόρων καταστάσεων και με το Υγιές δείγμα, το οποίο είναι ανεξάρτητο της χρονικής στιγμής λήψης δεδομένων.

Συνεπώς, σε κάθε μια από τις παρακάτω ενότητες παρατίθενται τα αποτελέσματα των συγκρίσεων δικτύων κατά ζεύγη για όλα τα πιθανά ζεύγη δικτύων που εμπλέκονται στην εκάστοτε ενότητα και μία σύγκριση πολλαπλών δικτύων.

7.1 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T0

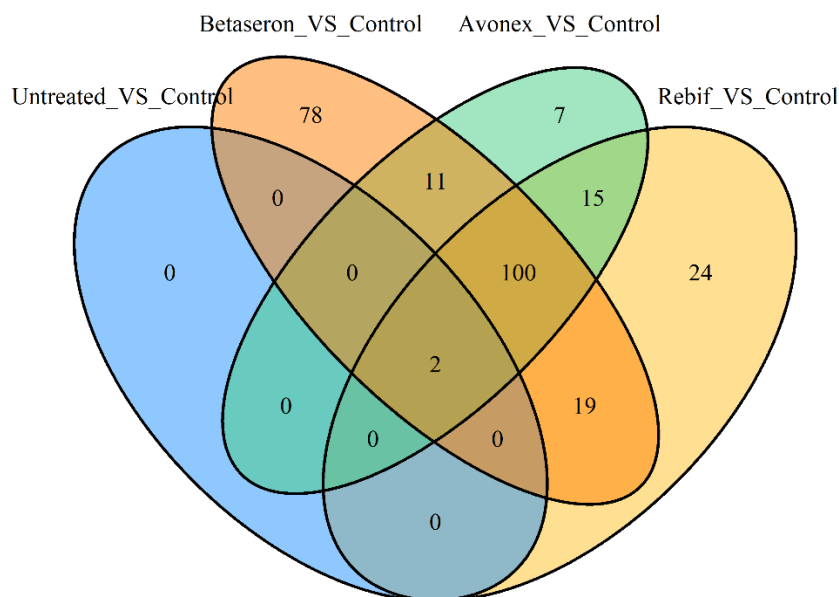
Για την χρονική στιγμή T0, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω δέκα συγκρίσεις.

Πίνακας 6: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς ΧΘ - Υγιείς	2	0
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Υγιείς	160	0.304922851
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Υγιείς	135	0.427382054
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Υγιείς	210	0.338374291
Ασθενείς ΜΘ. Rebif - Ασθενείς ΧΘ	152	0.242466713
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Ασθενείς ΧΘ	124	0.381916329
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΧΘ	248	0.245045045
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΜΘ Avonex	33	0.048208905
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Avonex	4	0.011546642
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Betaseron	10	0.04995417

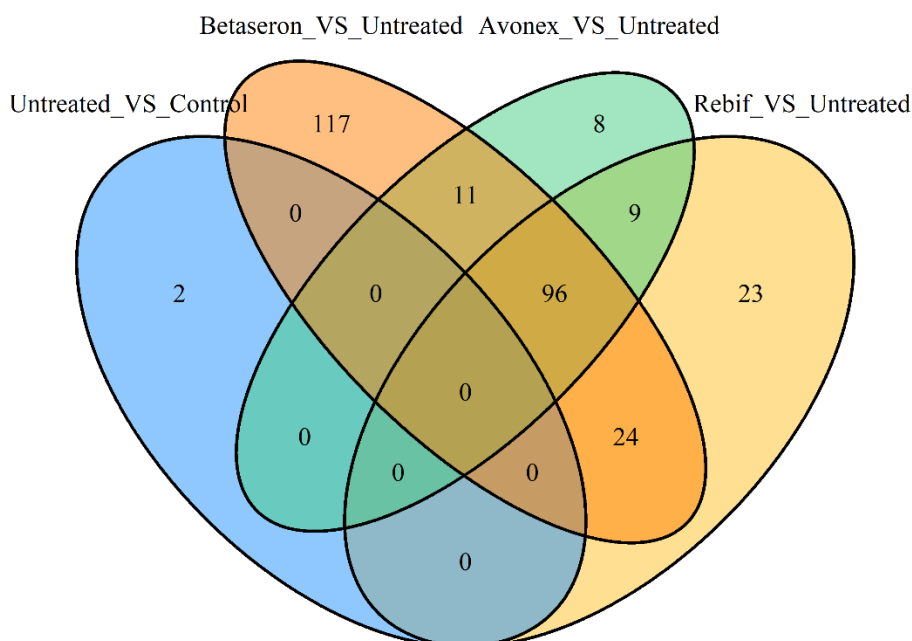
Στην σύγκριση δικτύων ασθενών ΧΘ και Υγιών παρατηρούνται μόνο δύο διαφορεικά εκφραζόμενα γονίδια ενώ το συνολικό ΣΜΚΑ είναι μηδενικό γεγονός που σημαίνει ότι τα δύο δίκτυα δεν διαφέρουν σε καμία σημαντική ακμή τους. Επιπλέον, η μεγαλύτερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex είτε με υγιείς είτε με Ασθενείς ΧΘ. Το δίκτυο θεραπείας που παρουσιάζει τις λιγότερες

δυνατές διαφορές με το δίκτυο των υγιών σε αυτή τη χρονική στιγμή είναι εκείνο ΜΘ Rebif. Στις συγκρίσεις δικτύων ασθενών με διαφορετικές θεραπείες για τη χρονική στιγμή T0 παρατηρούμε μικρές διαφορές καθώς τα συνολικά ΣΜΚΑ είναι κοντά στο μηδέν.



Σχήμα 9: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ για όλες τις θεραπείες τη χρονική στιγμή T0 και των υγιών.

Στο **Σχήμα 9** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τέσσερις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών – Υγιών. Τα δύο γονίδια που εμφανίζουν ΔΕ μεταξύ Ασθενών ΧΘ και Υγιών, εμφανίζονται ως ΔΕΓ και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η έκφραση των γονιδίων αυτών επηρεάζεται από την ασθένεια και όχι από την θεραπεία. Εκατό γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών, 11 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 19 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 15 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών, 78 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 24 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και 7 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Betaseron παρουσιάζει πολλά περισσότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες σε σύγκριση με τους Υγιείς για την χρονική στιγμή T0.



Σχήμα 10: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ γονιδίων μεταξύ ασθενών με θεραπεία για όλες τις θεραπείες και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T0

Στο **Σχήμα 10** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ και στη σύγκριση Ασθενών ΧΘ – Υγιών για τη χρονική στιγμή T0. Τα δύο γονίδια που εμφανίζουν ΔΕ μεταξύ Ασθενών ΧΘ και Υγιών, δεν εμφανίζονται ως ΔΕΓ στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ γεγονός που ενισχύει την συσχέτιση τους αποκλειστικά και μόνο με την ασθένεια και όχι με την θεραπεία. 96 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ, 11 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 24 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 9 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ, 117 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 23 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και 8 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Betaseron παρουσιάζει πολλά περισσότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες και σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ για την χρονική στιγμή T0.

7.1.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0

Το αποτέλεσμα της διαφορικής ανάλυσης γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T0 υποδεικνύει ότι τα γονίδια HLA-DRB1 και HLA-DRB5 υπερεκφράζονται στα δείγματα των Ασθενών ΧΘ. Το γονίδιο HLA-DRB1 είναι μέρος μιας οικογένειας γονιδίων που ονομάζεται Σύστημα HLA. Το σύμπλοκο HLA βοηθάει το ανοσοποιητικό σύστημα να διακρίνει τις πρωτεΐνες του οργανισμού από τις πρωτεΐνες που παράγονται από ξένους εισβολείς όπως οι ιοί και τα βακτηρίδια. Το σύμπλεγμα HLA είναι η ανθρώπινη εκδοχή του MHC, μιας οικογένειας γονιδίων που συναντάται σε πολλά είδη. Το γονίδιο HLA-DRB1 ανήκει σε μια ομάδα γονιδίων MHC που ονομάζεται MHC τάξης II. Τα γονίδια MHC τάξης II παρέχουν οδηγίες για την παρασκευή πρωτεϊνών που υπάρχουν στην επιφάνεια ορισμένων κυττάρων του

ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτές οι πρωτεΐνες συνδέονται με θραύσματα πρωτεΐνης (πεπτίδια) έξω από το κύτταρο. Οι πρωτεΐνες MHC τάξης II εμφανίζουν αυτά τα πεπτίδια στο ανοσοποιητικό σύστημα. Εάν το ανοσοποιητικό σύστημα αναγνωρίζει τα πεπτίδια ως ξένα (όπως ιικά ή βακτηριακά πεπτίδια), ενεργοποιεί μια απάντηση για να επιτεθεί στους εισβάλλοντες ιούς ή βακτηρίδια. Η πρωτεΐνη του HLA-DRB1 συνδέεται με την πρωτεΐνη του γονιδίου HLA-DRA. Μαζί, σχηματίζουν ένα λειτουργικό σύμπλεγμα πρωτεϊνών που ονομάζεται ετεροδιμερές δέσμευσης αντιγόνου HLA-DR. Αυτό το σύμπλεγμα εμφανίζει ξένα πεπτίδια στο ανοσοποιητικό σύστημα για να προκαλέσει την ανοσολογική απόκριση του σώματος.

Οι παραλλαγές στο γονίδιο HLA-DRB1 έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης Πολλαπλής Σκλήρυνσης. Μία μετάλλαξη αυτού του γονιδίου, η HLA-DRB1* 15:01, είναι ο πιο ισχυρά συνδεδεμένος γενετικός παράγοντας για τον κίνδυνο Πολλαπλής Σκλήρυνσης. Επειδή το γονίδιο HLA-DRB1 εμπλέκεται στο ανοσοποιητικό σύστημα, οι μεταβολές του μπορεί να σχετίζονται με την αυτοάνοση ανταπόκριση και τη φλεγμονή που καταστρέφουν τα νεύρα και την προστατευτική επικάλυψη που τους περιβάλλει (τη θήκη της μυελίνης), οδηγώντας στα σημεία και τα συμπτώματα της Πολλαπλής Σκλήρυνσης. Ωστόσο, δεν είναι σαφές ακριβώς ποιο ρόλο παίζουν οι παραλλαγές του γονιδίου HLA-DRB1 της ασθένειας. Ένας συνδυασμός γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων πιθανόν να εμπλέκεται σε αυτήν την κατάσταση [16,17].

Το HLA-DRB5 είναι σημαντικό παράλογο της βήτα αλυσίδας HLA τάξης II (δηλαδή και του HLA-DRB1). Αυτό το μόριο είναι ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από μια άλφα (DRA) και μια βήτα (DRB) αλυσίδα, και οι δύο αγκυρωμένες στη μεμβράνη. Δεσμεύει πεπτίδια που προέρχονται από αντιγόνα που έχουν πρόσβαση στην ενδοκυτταρική οδό κυττάρων παρουσίασης αντιγόνου (APC) και τα παρουσιάζει στην κυτταρική επιφάνεια για αναγνώριση από τα CD4 T-κύτταρα. Τα ετεροδιμερή HLA-DRB5 / DRA φαίνεται να είναι αποτελεσματικά μόρια που παρουσιάζουν αντιγόνο μυελίνης και τα πειράματα που χρησιμοποιούν τριπλά DRG1-DRB5-hTCR διαγονιδιακά ποντίκια υποστηρίζουν τη λειτουργική επίσταση (η κατάσταση κατά την οποία το φαινοτυπικό αποτέλεσμα ενός γονιδίου εξαρτάται από την δράση ενός άλλου μη αλληλόμορφου γονιδίου) μεταξύ των γονιδίων HLA-DRB1 και HLA-DRB5. Το DRB5 τροποποιεί την απόκριση κυττάρων T οδηγούμενη από DRB1 μέσω της ενεργοποίησης κυτταρικού θανάτου, με αποτέλεσμα μια πιο ήπια και υποτροπιάζουσα μορφή αυτοάνοσης πειραματικής νόσου απομυελίνωσης [16,17,18].



Σχήμα 11: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΧΘ στο T0 - Υγιών

Στο **Σχήμα 11** ο άξονας y αντιστοιχεί στο $-\log_{10}(p\text{-value})$ και ο άξονας x στο \log_2FC . Τα πράσινα σημεία αντιστοιχούν σε γονίδια που δεν εκφράζονται διαφορετικά ($p\text{-value} > 0.05$), τα κόκκινα σε γονίδια που παρουσιάζουν $p\text{-value}$ μικρότερο από 0.05 αλλά η απόλυτη τιμή του \log_2FC είναι μικρότερη από 0,5 και τα μωβ αντιστοιχούν στα σημαντικά διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια ($p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$).

Στην συγκεκριμένη σύγκριση δεν υπάρχει κάποια ακμή η οποία να εμφανίζεται σε ένα από τα δύο δίκτυα ΙΒΣ και να απουσιάζει από το δίκτυο ΜΒΣ. Συνεπώς, το σκορ που ορίζει την διαφορικότητα σε επίπεδο ακμών των δύο δικτύων δηλαδή το συνολικό ΣΜΚΑ είναι ίσο με 0.

7.1.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των υγιών, των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια HLA-DRB1 και HLA-DRB5 που σχετίζονται με την ασθένεια παρουσιάζουν υπερέκφραση στους ασθενείς στις συγκρίσεις υγιών και ασθενών ανεξαρτήτως λήψης ή μη θεραπείας. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1 και IFIT3, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS2, DDX60, IFIT2, OASL, LY6E, IFI27, IFI6, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, PNPT1, ISG15, PLSCR1,

TRIM22, ZBP1, CMPK2, SIGLEC1, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5 και IFI35 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς.

Δεν υπάρχουν ακμές οι οποίες παρουσιάζονται στο δίκτυο των Υγιών και απουσιάζουν στα δίκτυα θεραπειάς Rebif ή Avonex ενώ τρεις ακμές οι ASCC2-MARCH8, BSG-EBP42 και c20orf108-GLRX5 δεν εμφανίζονται στο δίκτυο Betaseron ενώ εμφανίζονται και στα υπόλοιπα δίκτυα θεραπειάς αλλά και στο δίκτυο Υγιών. Από την άλλη πλευρά, 54 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπειάς με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών. Επιπλέον, το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει 206 ακμές οι οποίες δεν εμφανίζονται σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπειάς ούτε και στο δίκτυο Υγιών, το δίκτυο Avonex 644 και το δίκτυο Rebif 195 ακμές αντίστοιχα. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών με θεραπεία Avonex γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 6**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και ασθενών ΜΘ. Το ελάχιστο Σ.Μ.Κ.Α παρουσιάζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και υποδεικνύει ομοιότητα της τάξης του 70% σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 212 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Υγιών τη χρονική στιγμή T0. Τα ακόλουθα 32 γονίδια ACOT9, APOL1, BATF2, BST2, C9orf91, CCL2, CCL8, CD300E, CEACAM1, CMPK2, CNP, CSRNP1, ETV7, FAM46A, FBXO6, FTSJD2, GALM, GRAMD1B, IL1RN, ISG15, ISG20, LGALS9, MOV10, MX2, RIN2, SHISA5, TAP2, TMEM123, TMEM62, TRIM14, TRIM21, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών. Ιδιαίτερα τα CCL8, CD300E, CSRNP1, GALM και SHISA5 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπειάς.

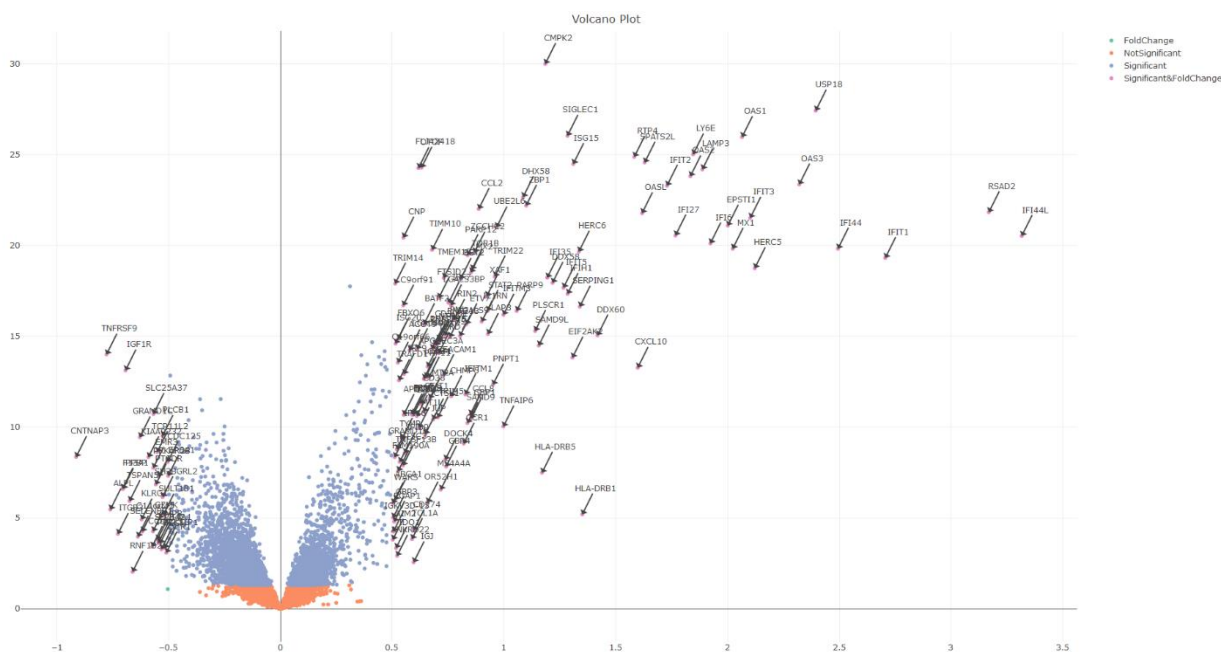
Επιπρόσθετα, τα CASP1, CASP5, CXorf21, DUSP5, DYNLT1, MAP2K6, SERPINB9, TLR7, TMEM140, TTC26 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BLVRA, C14orf45, DRAP1, GPR146, IFI30, IFITM3, IRF9, JUP, LGALS3BP, MYL4, SLC38A5, TIMM10, TMSB10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif–Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα AIF1, ALAS2, BSG, CCR1, CCRL2, CD2AP, CHMP5, FLJ42418, GLRX5, GPX4, IGF2BP2, LY86, MOP-1, PGAP1, PLAC8, PPM1K, PRDX2, PRDX5, PRDX6, PSMB3, PYGL, RAD23A, RARRES3, RPL36A, SAMHD1, SAT1, SLFN5, TCN2, TMEM111, TRAPPC5 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron–Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα AIM2, CD274, DOCK4, FRMD3, GCH1, MAFB, PHF11 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Avonex–Υγιών και ΜΘ Rebif – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron–Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα IDO1, OTOF, SOCS1, TFEC, TNFAIP6, TNFSF13B, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα HCST, IFITM1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και

ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.1.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 160 ΔΕΓ, 32 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 128 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 12** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 12: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T0-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Υγιών. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστικότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Υγιών φέρει 107 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1254. Και οι 107 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 839 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες απουσιάζουν.

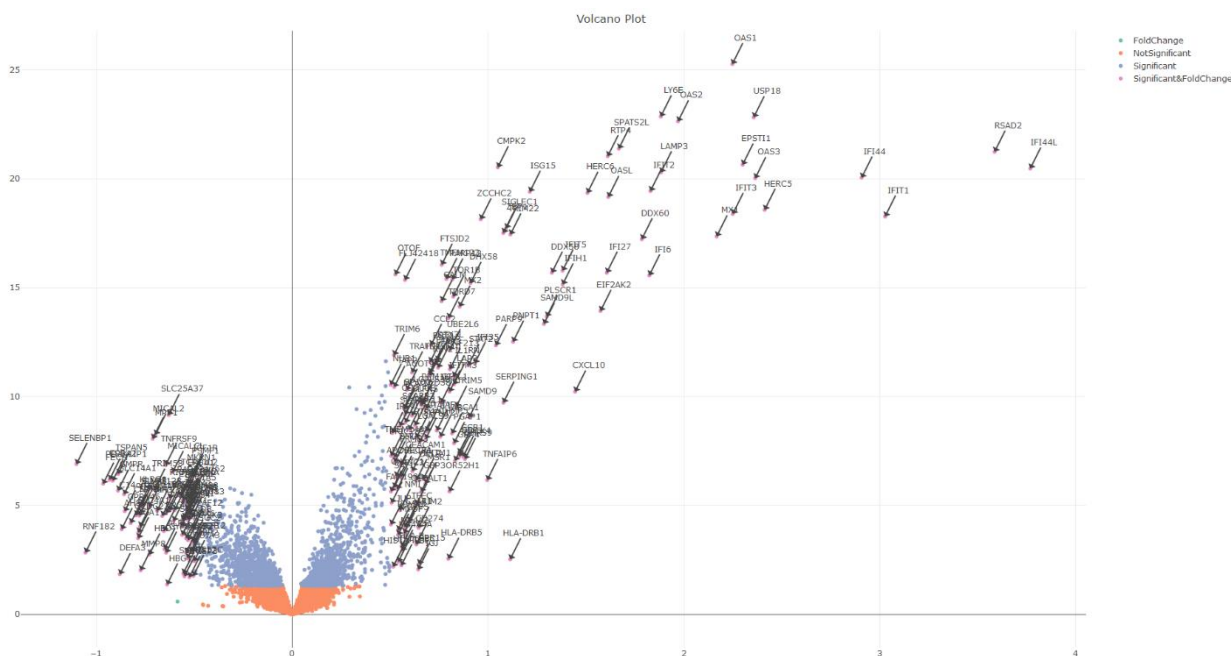
Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 323 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 136 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 25 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ACOT9, BLVRA, C14orf45, CCL2, CCL8, CD274, CD300E, CEACAM1, CSRNP1, DOCK4, ETV7, FAM46A, FBXO6, GALM, GPR146, IFI30, IFITM3, IL1RN, JUP, MAFB, RIN2, SHISA5, TIMM10, TMSB10, ZNF684. Τα **CEACAM1** και **IL1RN** χάνουν 19 γείτονες ενώ τα υπόλοιπα γονίδια από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.
- 40 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των υγιών συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των ασθενών: C9orf91, LGALS9, CNP, GRAMD1B, ISG20, TMEM123, PHF11, PIK3AP1, SP110, TNFSF10, BST2, MOV10, BATF2, FRMD3, TAP2, TRIM14, TRIM21, NT5C3, APOL1, CMPK2, IRF9, LGALS9C, TOR1B, SP140, APOL6, GCH1, LGALS3BP, DRAP1, MX2, PARP9, ISG15, FTSJD2, SIGLEC1, AIM2, HCST, IFITM1, MYL4, SLC38A5, TMEM62, TRIM6, HCST, IFITM1, TMEM62, AIM2, MYL4, SLC38A5. Τα **MOV10**, **TOR1B**, **MX2**, **SIGLEC1**, **TRIM14**, **PIK3AP1**, **SP110** και **FTSJD2** χάνουν περισσότερους από 15 γείτονες στο δίκτυο των υγιών. Οι 12 από τις 20 ακμές του MX2 αναφέρονται στην βιβλιογραφία και ως PPI.
- Οι υπόλοιποι 71 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: SPATS2L, PML, IRF7, SAMD9, ANKFY1, PTP4A1, NUB1, DHX58, PLSCR1, UBE2L6, RNF213, PARP12, ZBP1, IFI35, TRIM5, SERPING1, C19orf66, NTNG2, ADAR, APOBEC3A, COX6B1, CXCL10, FECH, MIA3, STRADB, IFI16, PRIC285, LAMP3, LY6E, RTP4, TDRD7, PNPT1, UNC93B1, TRAFD1, STAT1, IFI6, ZNFX1, GPD2, TYMP, SCARB2, DTX3L, OAS1, STAT2, CHMP2A, HERC5, OASL, OAS3, DDX58, EIF2AK2, IFIT2, MT2A, OAS2, USP18, SP100, IFIT3, TRIM22, LAP3, HERC6, SAMD9L, EPST11, BCL2L1, RSAD2, MX1, IFIH1, SLC4A1, DDX60, IFI44, IFIT5, ZCCHC2, IFIT1, IFI44L. Τα **SPATS2L**, **PARP12** και **ZBP1** χάνουν 17 γείτονες και το **DHX58** 15 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0,30423** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 70% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.2.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 210 ΔΕΓ, 78 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 132 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 13** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 13: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Υγιών φέρει 113 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron 945. Από τις 113 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών, οι 110 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ οι GLRX5-C20orf108, BSG- EPB42 και MARCH8- ASCC2 απουσιάζουν από αυτό. Αντιθέτως, μόνο οι 590 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 355 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 297 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 162 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 37 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: BSG, CCL2, CCL8, CCR1, CD2AP, CD300E, CHMP5, CSRNP1, ETV7, FAM46A, FLJ42418, GALM, GLRX5, GPX4, GRAMD1B, IDO1, MOP-1, OTOF, PGAP1, PLAC8, PPM1K, PRDX5, PRDX6, PYGL, RAD23A, RARRES3, SAMHD1, SAT1, SHISA5, SLFN5, SP110, TAP2, TCN2, TMEM111, TNFAIP6, TNFSF13B, XAF1. Το BSG συνδέεται μόνο με το EPB42 και το GLRX5 μόνο με το C20orf108 στο δίκτυο των υγιών ενώ στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron είναι πλήρως αποκλεισμένοι. Το FLJ42418 παρουσιάζει 10 γείτονες στο δίκτυο ασθενών ενώ στο δίκτυο υγιών κανέναν. Οι υπόλοιποι 34 κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 4 γείτονες στο δίκτυο των ασθενών και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των υγιών.
- 51 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: RIN2, APOBEC3A, C9orf91, TMEM62, CEACAM1, CNP, AIF1, FBXO6, BST2, ACOT9, IL1RN, LAP3, NTNG2, TRAPPC5, CCRL2, HCST, ISG20, PRDX2, ZNF684, ANKFY1, BATF2, CMPK2,

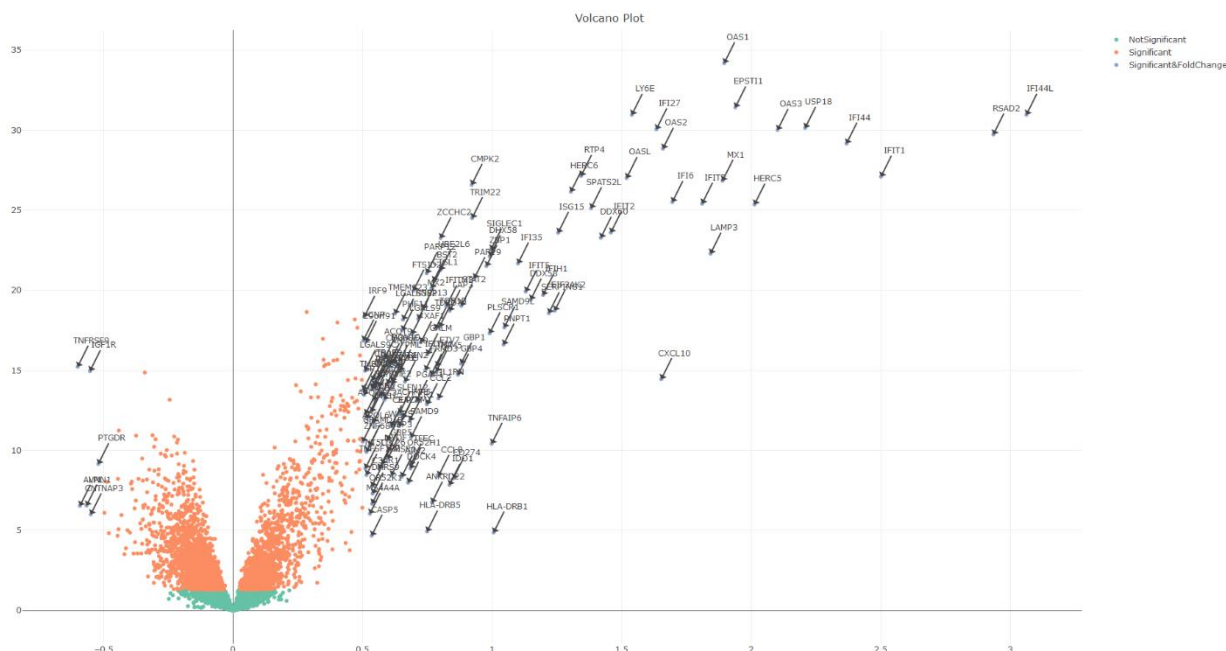
LY86, MOV10, TFEC, RPL36A, TRIM21, UNC93B1, SP140, COX6B1, FTSJD2, UBE2L6, SIGLEC1, SPATS2L, ALAS2, APOL1, CHMP2A, IFI35, IFITM1, IGF2BP2, IRF7, ISG15, LGALS9, MT1X, MX2, PARP11, PSMB3, SAMD9, SOCS1, TMEM123, TRIM14. Τα **RIN2**, **TMEM62**, **CEACAM1**, **ACOT9**, **SP140** και **SPATS2L** χάνουν περισσότερους από 15 έως 20 γείτονες στο δίκτυο των υγιών ενώ το **C9orf91** 22.

- Οι υπόλοιποι 74 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TRAFD1, ZBP1, PNPT1, NUB1, PARP12, TOR1B, ZNFX1, C19orf66, RNF213, LGALS9C, RTP4, PML, PLSCR1, UXT, LAMP3, ATP5J2, C12orf57, GSTP1, AP2S1, FAU, GBP3, NMI, EPSTI1, OASL, TDRD7, IFIT2, RPLP2, SERPING1, DHX58, OAS2, NME2, PRIC285, APOL6, C20orf108, MARCH8, PIK3AP1, PTP4A1, TNFSF10, TYMP, XK, HERC5, OAS1, DDX58, IFIT3, RPL18, RPS10, RSAD2, USP18, OAS3, ZCCHC2, MX1, RPS8, RPL35, ASCC2, EPB42, IFIT5, SCARB2, TRIM22, RPS15, SELENBP1, IFI44L, TRIM5, RPS17, LY6E, IFI44, HERC6, RPL18AP3, IFIT1, EIF2AK2, GBP4, DDX60, STAT2, IFI16, IFIH1. Το **ZBP1** χάνει 15 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.338374291** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 66% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ.

7.1.2.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Υγιείς τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 135 ΔΕΓ, 6 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 129 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 14** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 14: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Υγιών φέρει 111 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 2051. Οι 111 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 1127 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 924 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 327 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 132 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 17 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOBEC3A, CASP1, CASP5, CCL8, CD300E, CSRN1, DUSP5, GALM, IDO1, MAFB, OTOF, SERPINB9, SHISA5, TLR7, TMEM140, TNFSF13B, XAF1. Το GALM παρουσιάζει 24 γείτονες και το CSRN1 10 γείτονες στο δίκτυο ασθενών ενώ στο δίκτυο υγιών κανέναν. Οι υπόλοιποι 15 κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 4 γείτονες στο δίκτυο των ασθενών και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των υγιών.
- 60 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους

από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: CCL2, C9orf91, FAM46A, RIN2, ISG20, GRAMD1B, IL1RN, CEACAM1, CNP, ACOT9, CXorf21, SOCS1, TMEM62, ANKFY1, BST2, DOCK4, PHF11, CD274, TFEC, TMEM123, TTC26, PIK3AP1, BATF2, ISG15, TRIM21, APOL1, DYNLT1, MOV10, SAMD9, TAP2, CMPK2, NTNG2, TNFAIP6, NUB1, FBXO6, TOR1B, TRIM14, TNFSF10, ETV7, ZNFX1, CXCL10, FRMD3, PML, MAP2K6, MX2, ZNF684, TRAFD1, FTSJD2, AIM2, LGALS9, SPATS2L, DHX58, GCH1, ZBP1, PNPT1, PLSCR1, APOE, C19orf66, IRF7, RNF213. Η πλειοψηφία των παραπάνω κόμβων χάνει από 10 έως 48 γείτονες στο δίκτυο των υγιών. Ιδιαίτερα τα **C9orf91**, **IL1RN**, **ACOT9** και **TOR1B** χάνουν 48,46,42 και 40 γείτονες αντίστοιχα.

- Οι υπόλοιποι 55 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TDRD7, TRIM5, SP140, LAMP3, SERPING1, GBP1, UNC93B1, PARP12, UBE2L6, GBP3, PRIC285, MIA3, PTP4A1, GBP4, RTP4, LGALS9C, MT1G, OASL, IFIH1, IFIT5, STAT1, DDX58, NT5C3, PARP11, STAT2, SP110, TRIM22, LAP3, SIGLEC1, PARP9, HERC5, DTX3L, EIF2AK2, USP18, ZCCHC2, IFI35, SCARB2, TRIM6, MT1X, SAMD9L, IFIT2, GBP5, IFI16, OAS3, IFIT1, OAS2, DDX60, HERC6, IFI44, LY6E, RSAD2, IFIT3, OAS1, MX1, EPSTI1. Ιδιαίτερα τα **TDRD7**, **TRIM5**, **LAMP3**, **GBP1**, **PARP12**, **OASL**, **IFIH1** χάνουν από 20 έως 30 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.427382054** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 57% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ασθενών που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΧΘ, των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1, και IFIT3, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, σχεδόν τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς ΧΘ αλλά και σε σχέση με τους Υγιείς όπως είδαμε παραπάνω. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS2, DDX60, IFIT2, OASL, LY6E, IFI27, IFI6, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, PNPT1, ISG15, PLSCR1, TRIM22, ZBP1, CMPK2, SIGLEC1, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5 και IFI35 παρουσιάζουν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς που δεν υποβάλλονται σε καμία θεραπεία.

Η ακμή FAM104A-SPTB εμφανίζεται στο δίκτυο ασθενών ΧΘ καθώς και στα δίκτυο ΜΘ Avonex ενώ απουσιάζει από τα άλλα δύο δίκτυα θεραπείας. Επιπλέον, η ακμή RPL36A-RPL7 εμφανίζεται στο δίκτυο ασθενών ΧΘ καθώς και στα δίκτυο ΜΘ Betaseron ενώ απουσιάζει από τα άλλα δύο δίκτυα θεραπείας. Το TRIM58 συνδέεται με τα FECH, MARCH8, OSBP2 και SPTB σε όλα τα δίκτυα πλην αυτού των ασθενών ΜΘ Betaseron. Αυτό μπορεί να οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι κάποιος βιολογικός μηχανισμός που εμπλέκει το TRIM58 επηρεάζεται από την συγκεκριμένη θεραπεία και μόνο.

Από την άλλη πλευρά, 32 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο ΧΘ. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι οι 22 από αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών. Επιπλέον, οι ακμές AIF1-AP2S1, CCL8-FLJ42418, CCR1-CD300E, COX6B1-SAMHD1, HERC6-PYGL, OAS2-SLFN5, PRDX2-RPS10, PRDX2-SAMHD1, PRDX6-SELENBP1 εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο, η ακμή CEACAM1-LGALS3BP μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο και οι CD274-IL1RN, CD274-LAMP3, CD274-TOR1B, CXCL10-TRIM21, CXorf21-DYNLT1, FAM46A-TMEM62, FAM46A-TRIM5, GCH1-ISG15, IL1RN-TFEC, TDRD7-TNFAIP6 εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Avonex ενώ η GBP3-TRIM6 εμφανίζεται και στο δίκτυο Υγιών. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των ασθενών ΧΘ παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών με θεραπεία Avonex γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 6**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T0 το δίκτυο Avonex παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών ανάμεσα στα άλλα δίκτυα θεραπείας τόσο στην σύγκριση με του Υγιείς όσο και στην σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 191 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ τη χρονική στιγμή T0. Τα ακόλουθα 21 γονίδια BST2, C9orf91, CCL2, CCL8, CD300E, CEACAM1, CSRNP1, ETV7, FAM46A, IL1RN, ISG20, LAP3, LGALS9, RIN2, RPL36A, SAMD9, TAP2, TMEM123, TNFSF10, TRIM21, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΜΘ. Όλα τα παραπάνω εκτός των LAP3, RPL36A, SAMD9 και TNFSF10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών. Ιδιαίτερα τα BST2, CCL2, CCL8, CD300E, CSRNP1, FAM46A, και TMEM123 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας.

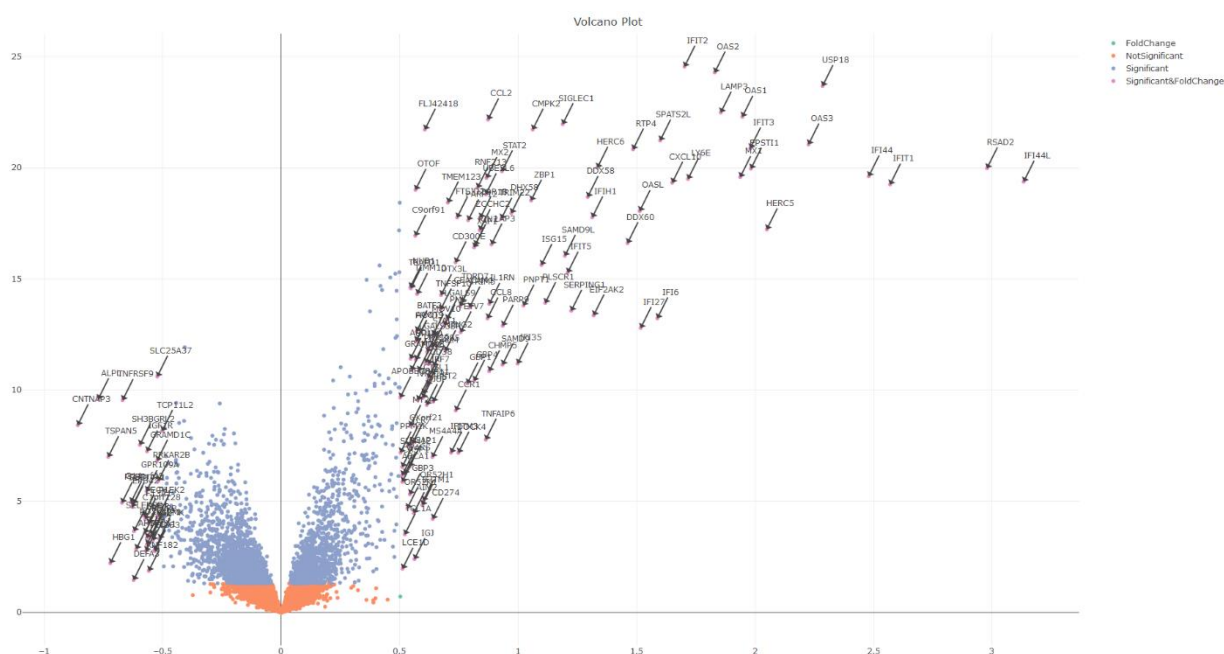
Επιπρόσθετα, τα ANKRD22, CASP1, CD274 CXorf21, DOCK4, DUSP5, DYNLT1, SERPINB9, SOCS1, TLR7, TMEM140, TTC26 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BLVRA, IRF9, JUP και TIMM10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα AP2S1, C19orf62, CCR1, CCRL2, CD2AP, CHMP5, FECH, FLJ42418, GPX4, MOP-1, MT1X, NMI, OTOF, PGAP1, PLAC8, PPM1K, PRDX2, PRDX6, PYGL, SAMHD1, SAT1, SLFN5, TCN2, TMEM111 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα CXCL10, FRMD3, GALM, MAFB, PHF11, RPL7, STAT1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα IDO1, TFEC, TMEM62, TNFAIP6, TNFSF13B, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος το APOBEC3A παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο

του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.1.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 152 ΔΕΓ, 34 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 118 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 15** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 15: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΧΘ στο T0

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστικότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 172 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1255. Οι 170 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών ενώ οι ακμές SPTB-FAM104A, RPL7-RPL36A απουσιάζουν από το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ των Ασθενών ΧΘ και όχι στο αντίστοιχο δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif ούτε στο δίκτυο των Υγιών γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας Rebif στους ασθενείς που την έλαβαν. Αντιθέτως, μόνο οι 911 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 340 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα Μ. Γεωργάκη

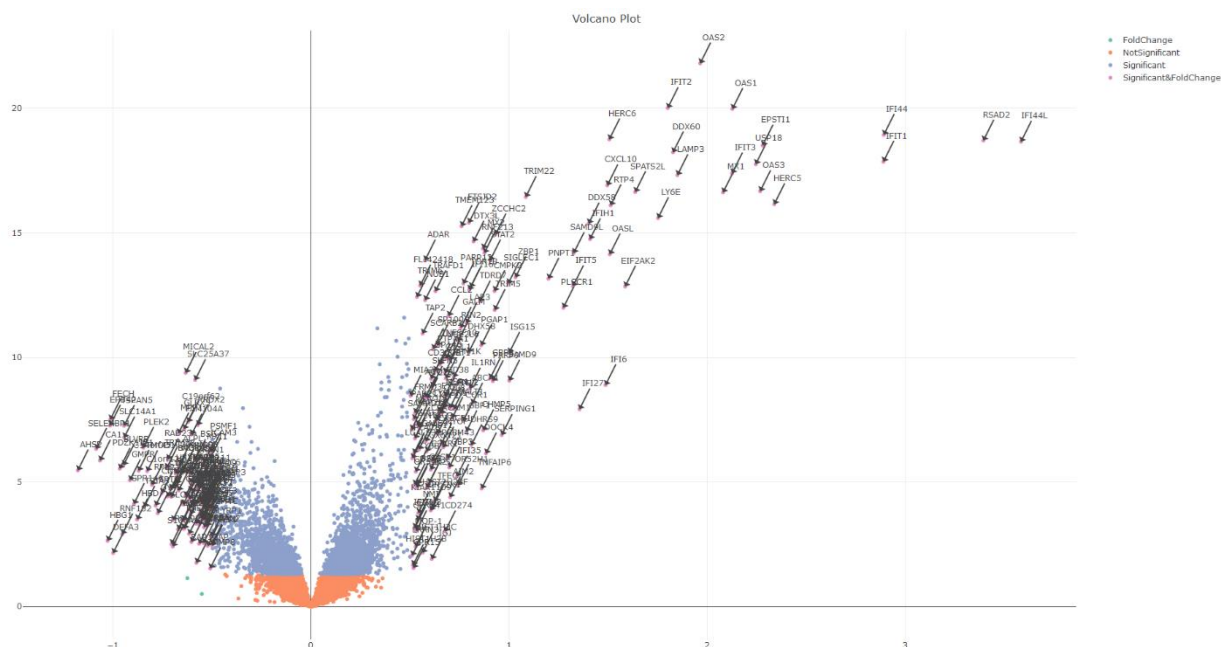
δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 119 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 17 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: BLVRA, BST2, CCL2, CCL8, CD300E, CSRNP1, FAM46A, IL1RN, JUP, MAFB, PHF11, RIN2, RPL36A, RPL7, TIMM10, TMEM123, ZNF684. Οι κόμβοι RPL7 και RPL36A συνδέονται μόνο μεταξύ τους και με κανέναν άλλο κόμβο μόνο στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ. Το **IL1RN** χάνει 19 γείτονες, τα **BST2** και **PHF11** 17 γείτονες και το **TMEM123** 12 γείτονες ενώ τα υπόλοιπα γονίδια από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ.
- 24 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif: C9orf91, LGALS9, CEACAM1, SAMD9, FRMD3, TAP2, TNFSF10, PIK3AP1, NT5C3, APOBEC3A, CXCL10, ETV7, ISG20, PARP9, SP110, BATF2, SP140, GALM, STAT1, LAP3, TRIM6, TRIM21, TOR1B, IRF9. Τα **TOR1B**, **CEACAM1** και **PIK3AP1** χάνουν περισσότερους από 15 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- Οι υπόλοιποι 78 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TRIM14, CNP, **PARP12**, DRAP1, PTP4A1, **FTSJD2**, NUB1, APOL6, GBP4, GCH1, ZNFX1, TRIM5, MX2, SIGLEC1, ISG15, MOV10, IFI35, DHX58, GRAMD1B, IFI16, MIA3, RNF213, DTX3L, SPATS2L, PML, PRIC285, ANKFY1, LGALS3BP, PNPT1, LAMP3, CMPK2, ZBP1, UBE2L6, GPD2, IFITM1, TYMP, LGALS9C, SCARB2, USP18, FAM104A, GBP1, PLSCR1, TDRD7, HERC5, TRAFD1, OAS3, STAT2, EIF2AK2, MT2A, NTNG2, SPTB, LY6E, RTP4, OAS1, IRF7, UNC93B1, IFIT5, HERC6, IFI6, IFIT2, IFIT3, OAS2, DDX58, C19orf66, SERPING1, OASL, EPSTI1, IFI44, IFIH1, SP100, DDX60, MX1, RSAD2, SAMD9L, TRIM22, ZCCHC2, IFI44L, IFIT1. Τα **PARP12** και **FTSJD2** χάνουν 21 και 17 γείτονες αντίστοιχα στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.242466713** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 75% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 248 ΔΕΓ, 112 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 136 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 16** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 16: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 173 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron 937. Από τις 173 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών, οι 167 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ οι TRIM58-FECH, TRIM58-MARCH8, TRIM58-OSBP2, TRIM58-SPTB, C19orf62-DPM2 και FAM104A-SPTB απουσιάζουν από αυτό. Αντιθέτως, μόνο οι 671 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 266 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 310 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 149 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 35 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: BST2, C19orf62, CCL2, CCL8, CCR1, CCRL2, CD2AP, CD300E, CHMP5, CSRNP1, ETV7, FAM46A, FLJ42418, GRAMD1B, IDO1, IL1RN, MOP-1, OTOF, PGAP1, PLAC8, PPM1K, PRDX6, PYGL, SAMHD1, SLFN12, SLFN5, SP110, TAP2, TCN2, TMEM111, TMEM123, TNFAIP6, TNFSF13B, XAF1, ZNF684. Το C19orf62 συνδέεται μόνο με το DPM2 στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron είναι πλήρως αποκλεισμένος. Το FLJ42418 και ο BST2 παρουσιάζουν 10 και 11 γείτονες, αντίστοιχα, στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν. Οι υπόλοιποι 32 κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- 29 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: RIN2, CNP, APOBEC3A, CEACAM1, SAMD9, LAP3, ISG20, PARP11, PTP4A1, C9orf91, TMEM62, NMI,

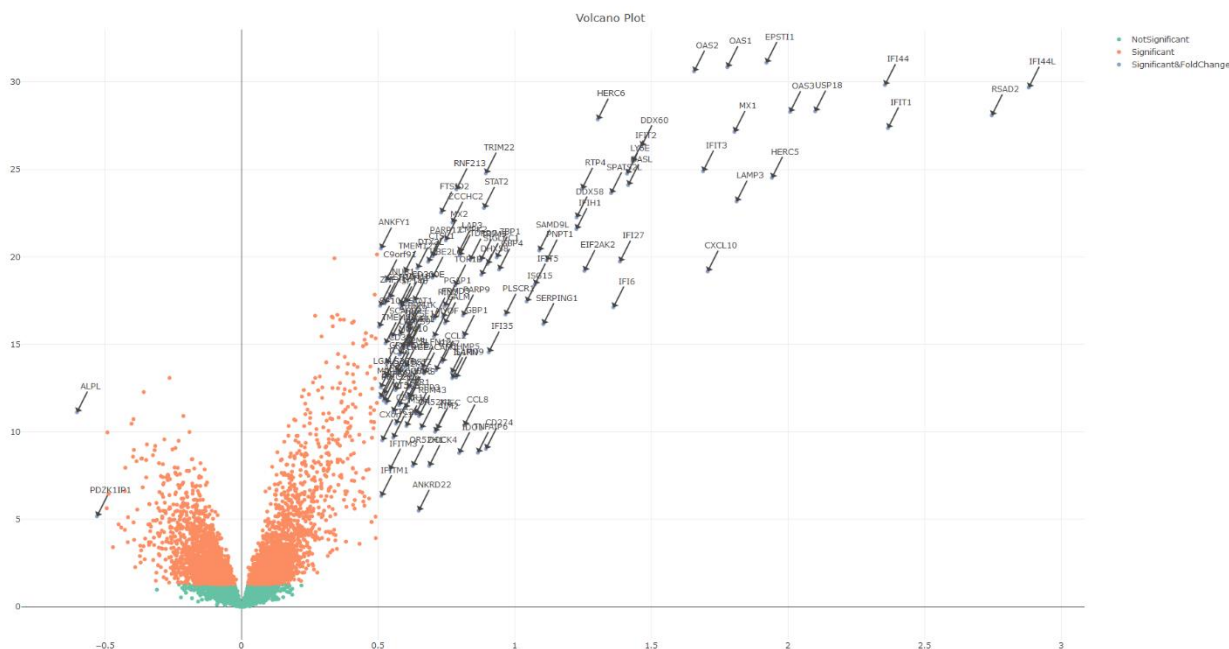
TFEC, PRDX2, RPL36A, TRIM21, ZNFX1, GBP4, ANKFY1, ISG15, AP2S1, GPX4, LGALS9, MT1X, TNFSF10, FECH, GCH1, SAT1, SHISA5. Τα **RIN2**, **CEACAM1** και **C9orf91** χάνουν από 15 έως 20 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Επιπλέον, το FECH χάνει την μία από τις δύο ακμές του, την FECH-TRIM58, στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ.

- Οι υπόλοιποι 85 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: SP140, ACOT9, PNPT1, NUB1, TRAFD1, UNC93B1, PARP12, TOR1B, FTSJD2, UBE2L6, APOL1, SIGLEC1, BATF2, IFIT5, FAM104A, GBP3, LY86, OSBP2, TRIM58, LAMP3, CMPK2, IFI35, TRIM5, RPL21P28, ZBP1, COX6B1, EPSTI1, SPATS2L, PLSCR1, AIF1, SPTB, ALAS2, APOL6, IFITM1, PIK3AP1, IFIT2, ZCCHC2, MX2, DHX58, HERC5, OAS1, NTNG2, RNF213, RPS10, LGALS9C, TRAPPC5, USP18, IFIT3, RPL18AP3, RPS8, OASL, TDRD7, RTP4, C19orf66, MOV10, STAT2, MARCH8, RSAD2, OAS3, IRF7, FBXO6, SERPING1, IFI44L, OAS2, MX1, RPL35, RPS17, HCST, PRIC285, SELENBP1, C12orf57, DPM2, STRADB, EIF2AK2, TRIM22, RPL18, SP100, DTX3L, IFIH1, IFI16, IFIT1, DDX58, IFI44, HERC6, DDX60. Το **PNPT1** χάνει 14 και το **SP140** χάνει 13 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με εκείνο των Ασθενών ΜΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.245045045** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 75% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 124 ΔΕΓ, 2 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 122 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 17** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 17: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 170 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 2053. Οι 169 από τις ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ η ακμή RPL36A-RPL7. Αντιθέτως, μόνο οι 1205 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 848 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 344 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 125 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 21 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ANKRD22, BST2, CASP1, CCL2, CCL8, CD300E, CSRN1, DUSP5, FAM46A, IDO1, MAFB, PHF11, RPL36A, RPL7, SERPINB9, TLR7, TMEM123, TMEM140, TNFSF13B, TTC26, XAF1. Το **BST2** και το **CCL2** παρουσιάζουν 35 γείτονες και το **FAM46A** 28 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν. Τα CSRN1 και TMEM123 επίσης χάνουν και τις 10 ακμές τους στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ ενώ οι κόμβοι

RPL36A και RPL7 συνδέονται μόνο μεταξύ τους στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ ενώ στο Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται ως αποκλεισμένοι. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ και είναι αποκλεισμένοι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

- 46 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ: RIN2, IL1RN, CXCL10, CEACAM1, GALM, SAMD9, C9orf91, LAP3, FRMD3, APOL6, GBP4, DYNLT1, ANKFY1, CNP, TNFAIP6, ZNFX1, ACOT9, NUB1, TRIM21, TNFSF10, ETV7, GCH1, APOL1, GBP3, PIK3AP1, ZNF684, GBP1, TFEC, ISG15, STAT1, SOCS1, ISG20, TRAFD1, LGALS9, MIA3, CD274, DOCK4, GRAMD1B, TMEM62, CXorf21, MOV10, TAP2, TOR1B, FTSJD2, TRIM5, BATF2. Η πλειοψηφία των παραπάνω κόμβων χάνει από 10 έως 44 γείτονες στο δίκτυο των υγιών. Ιδιαίτερα τα **C9orf91**, **IL1RN**, **APOL6** χάνουν 43,44,41 γείτονες αντίστοιχα.
- Οι υπόλοιποι 58 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: PARP12, DHX58, PNPT1, ZBP1, SPATS2L, FBXO6, LAMP3, MX2, CMPK2, TDRD7, PML, PARP9, PTP4A1, USP18, OASL, RNF213, MAP2K6, SCARB2, SHISA5, SP140, UNC93B1, IFIH1, DTX3L, AIM2, PLSCR1, NT5C3, PARP11, TRIM14, UBE2L6, IFIT5, IFI35, IFI16, DDX58, HERC5, ZCCHC2, STAT2, PRIC285, SERPING1, RTP4, EIF2AK2, GBP5, NTNG2, TRIM22, IFIT2, OAS3, SAMD9L, HERC6, SIGLEC1, OAS2, RSAD2, MX1, DDX60, IFI44, IRF7, SP110, TRIM6, C19orf66, IFIT1. Ιδιαίτερα τα **TDRD7**, **ZBP1**, **LAMP3**, **PARP9**, **USP18**, **SPATS2L**, **IFIH1** χάνουν από 25 έως 32 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.381916329** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 62% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T0

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με διαφορετικές θεραπείες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif.

Παρατηρούμε ότι τα γονίδια TAS2R31 και M4A2 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση και με τις δύο άλλες θεραπείες ενώ τα AHSP και TSTA3 μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα έκφρασής τους σε σχέση και με τις άλλες δύο θεραπείες. Επιπλέον, το γονίδιο ITGB3 ρυθμίζει αρνητικά την έκφρασή του στους Ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τις δύο άλλες θεραπείες.

Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα IBΣ δίκτυα και των τριών θεραπειών είναι 428. Οι παρακάτω 14 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Avonex και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας: GBP3-TRIM6, ACOT9-TNFAIP6, IFIH1-TNFAIP6, CD274-IL1RN, CD274-LAMP3, CD274-TOR1B, CXCL10-TRIM21, CXorf21-DYNLT1, FAM46A-TMEM6, FAM46A-TRIM5, GCH1-ISG15, IL1RN-TFEC, TDRD7-TNFAIP6, TDRD7-TNFSF13B. Οι παρακάτω 9 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας: AIF1-AP2S1, CCL8-FLJ42418, CCR1-CD300E, COX6B1-SAMHD1, HERC6-PYGL, OAS2-SLFN5, PRDX2-RPS10, PRDX2-SAMHD1, PRDX6-SELENBP1. Η ακμή CEACAM1-LGALS3BP εμφανίζονται μόνο στο

δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας. Όλες οι παραπάνω ακμές απουσιάζουν από τα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ εκτός από την GBP3-TRIM6 που εμφανίζεται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών και τις ACOT9-TNFAIP6, IFIH1-TNFAIP6 που εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Ασθενών ΧΘ αλλά με βάρος περίπου ίσο με 0.1. Δεν υπάρχει καμία ακμή που να εμφανίζεται στα ΙΒΣ δίκτυα Avonex και Betaseron και να απουσιάζει από το Rebif καθώς και καμία ακμή που να εμφανίζεται στα ΙΒΣ δίκτυα Betaseron και Rebif και να απουσιάζει από το Avonex. Αντιθέτως, οι 8 παρακάτω ακμές εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Avonex και Rebif αλλά απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron: ANK1-CDC34, ASCC2-EPB42, BSG-DPM2, C20orf108-GLRX5, GBP1-STAT2, IFIT5-OAS3, NT5C3-PNPT1, IL1RN-PML. Όλες εκτός από τις IL1RN-PML και IFIT5-OAS3 εμφανίζονται και στα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ. Συνεπώς, αυτές οι απώλειες ακμών στο δίκτυο ΜΘ Betaseron πιθανώς να σχετίζονται με κάποια παρενέργεια της εν λόγω θεραπείας.

Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών ΜΘ Avonex και των ασθενών ΜΘ Rebif γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 6**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΜΘ. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T0 το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με τα άλλα δίκτυα θεραπείας.

Τα γονίδια τα οποία παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΜΘ Betaseron και Ασθενών ΜΘ Avonex - Ασθενών ΜΘ Betaseron είναι τα CCR1, GPR146, PRDX2, PRDX6, PYGL, SAMHD1, SLC38A5, SLFN5. Συγκεκριμένα, το CCR1 συνδέεται μόνο με CD300E μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το GPR146 είναι πλήρως αποκλεισμένο τόσο στο ΙΒΣ όσο και στο ΜΒΣ δίκτυο ΜΘ Betaseron ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα είναι συνδεδεμένο με διάφορους γείτονες. Ο PRDX2 συνδέεται με RSP10 και SAMHD1 και το PRDX6 με SELENBP1 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το PYGL σχηματίζει ακμή με το HERC6 και το SAMDH1 με COX6B1 και PRDX2 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το SLC38A5 είναι πλήρως αποκλεισμένο στο δίκτυο Betaseron ενώ στα άλλα δύο δίκτυα όχι και το SLFN5 συνδέεται με OAS2 μόνο στο Betaseron.

7.1.4.1 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα Ασθενών ΜΘ Betaseron και Ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 33 ΔΕΓ, 28 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 5 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους ασθενείς ΜΘ Avonex. Στο **Σχήμα 18** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.

Συγκεκριμένα, τα GPR15, HIST1H2BA, LRRN3, MS4A2, TAS2R31 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron ενώ τα C1orf128, TRIM58, CCDC23, SELENBP1, TSPAN5, GYPB, RNF182, GMPR, GPR146, BPGM, DEFA3, CA1, TSTA3, TMOD1,

HBD, HBG1, MMP8, C14orf45, SPTB, PLEK2, EPB42, AHSP, SLC4A1, SLC14A1, FECH, BLVRB, LGALS2, ALAS2 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex.



Σχήμα 18: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron - Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 933 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 2054. Οι 921 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron εμφανίζονται ενώ 13 ακμές απουσιάζουν από ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex. Οι ακμές αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών και σχεδόν όλες απουσιάζουν και από το δίκτυο των ασθενών ΧΘ αλλά και από το δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με την αποκλειστική επίδραση της θεραπείας Betaseron σε ορισμένες συσχετίσεις ή με πιθανές παρενέργειες της θεραπείας. Από την άλλη πλευρά, 1922 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 132 απουσιάζουν. Το 90% αυτών εμφανίζονται και στο δίκτυο ΜΒΣ των Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ σχεδόν οι μισές από αυτές απουσιάζουν από το δίκτυο Υγιών αλλά και από το δίκτυο Ασθενών ΧΘ.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 337 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 122 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 12 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ANKRD22, CASP1, CCR1, DUSP5, GPR146, MBNL3, PLAC8, PYGL, SAMHD1, SLC38A5, SLFN5, TLR7. Οι κόμβοι ANKRD22, CASP1, DUSP5, MBNL3, SLC38A5 εμφανίζουν ένα γείτονα στο δίκτυο ΙΒΣ της θεραπείας Avonex και οι GPR146, TLR7 τέσσερις και δύο γείτονες αντίστοιχα στο δίκτυο ΙΒΣ της θεραπείας Avonex. Οι CCR1, PLAC8, PYGL, SLFN5

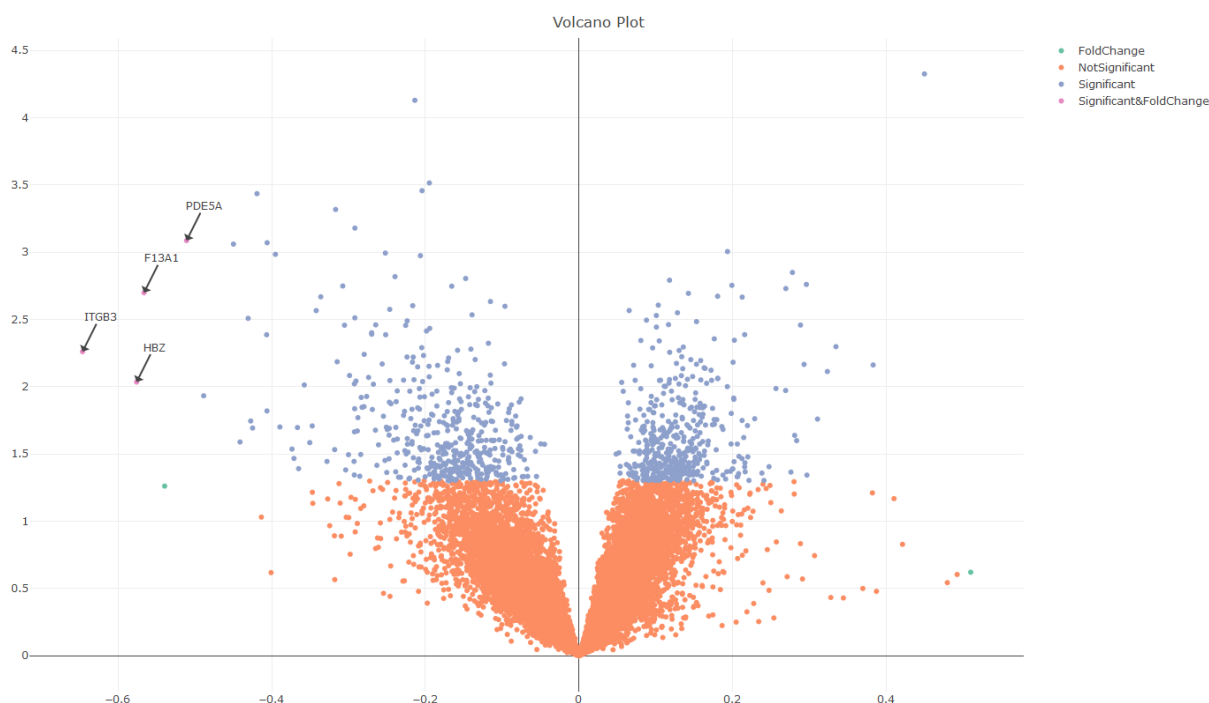
εμφανίζουν ένα γείτονα στο δίκτυο IBΣ της θεραπείας Betaseron και ο SAMHD1 δύο ενώ στο δίκτυο MBΣ Ασθενών MΘ Avonex δεν εμφανίζουν κανένα γείτονα.

- 3 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: MARCH8, PRDX2, PRDX6. Η IBΣ ακμή MARCH8-ASCC2 εμφανίζεται στο αντίστοιχο δίκτυο MΘ Avonex ενώ λείπει από το MBΣ δίκτυο MΘ Betaseron. Τα PRDX2, PRDX6 χάνουν ακριβώς τις μισές ακμές τους από το IBΣ δίκτυο Betaseron το MBΣ δίκτυο Avonex.
- Οι υπόλοιποι 107 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: CD274, GUK1, BSG, GLRX5, OSBP2, TNFSF13B, TTC26, WDR45, CXorf21, TNFAIP6, AP2S1, CCL8, CD300E, DYNLT1, HMBS, XAF1, PARP9, ASCC2, GALM, TRIM58, GBP1, DPM2, PPM1K, RARRES3, CCL2, ETV7, AIM2, BCL2L1, C20orf108, EPB42, GBP5, STAT1, ANK1, CSRN1, SPTB, TRIM21, MPP1, GBP3, GCH1, TRIM6, AIF1, AP2A1, NT5C3, RNF10, C12orf57, MAP2K6, RPS10, IFIT5, FRMD3, FAM46A, TMEM62, FLJ42418, TFEC, CXCL10, DOCK4, GMPR, SERPING1, IL1RN, ISG15, SELENBP1, LAP3, TRIM5, C22orf13, STAT2, TRIM14, PNPT1, CDC34, ACOT9, COX6B1, BATF2, TOR1B, PML, SCARB2, TMOD1, HERC6, SAMD9L, IFIH1, MX1, ZNFX1, APOL1, GBP4, MOV10, OAS2, OASL, FBXO6, TDRD7, SPATS2L, USP18, OAS3, SAMD9, CNP, CMPK2, IFI44L, RNF213, PLSCR1, NUB1, IFIT1, TNFSF10, APOL6, TRAFD1, C9orf91, MX2, IFIT2, PARP12, ZCCHC2, DDX58, LAMP3. Ο GBP1 χάνει 15 από τις συνολικά 57 ακμές ενώ τα **CCL2** και **CD274** χάνουν 8 ακμές που εμφανίζονται στο δίκτυο Avonex και όχι στο δίκτυο Betaseron.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.048208905** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 95% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.4.2 Ασθενείς MΘ Rebif – Ασθενείς MΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών MΘ Rebif και ασθενών MΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 4 ΔΕΓ τα οποία υπερεκφράζονται στους Ασθενείς MΘ Avonex και είναι τα PDE5A, F13A1, HBZ, ITGB3. Στο **Σχήμα 19** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 19: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T0 - Ασθενών ΜΘ Avonex

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif φέρει 1249 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 2042. Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στο δίκτυο ΜΘ Rebif και όχι στο δίκτυο ΜΘ Avonex είναι 36 ενώ στην αντίστροφη περίπτωση 2.

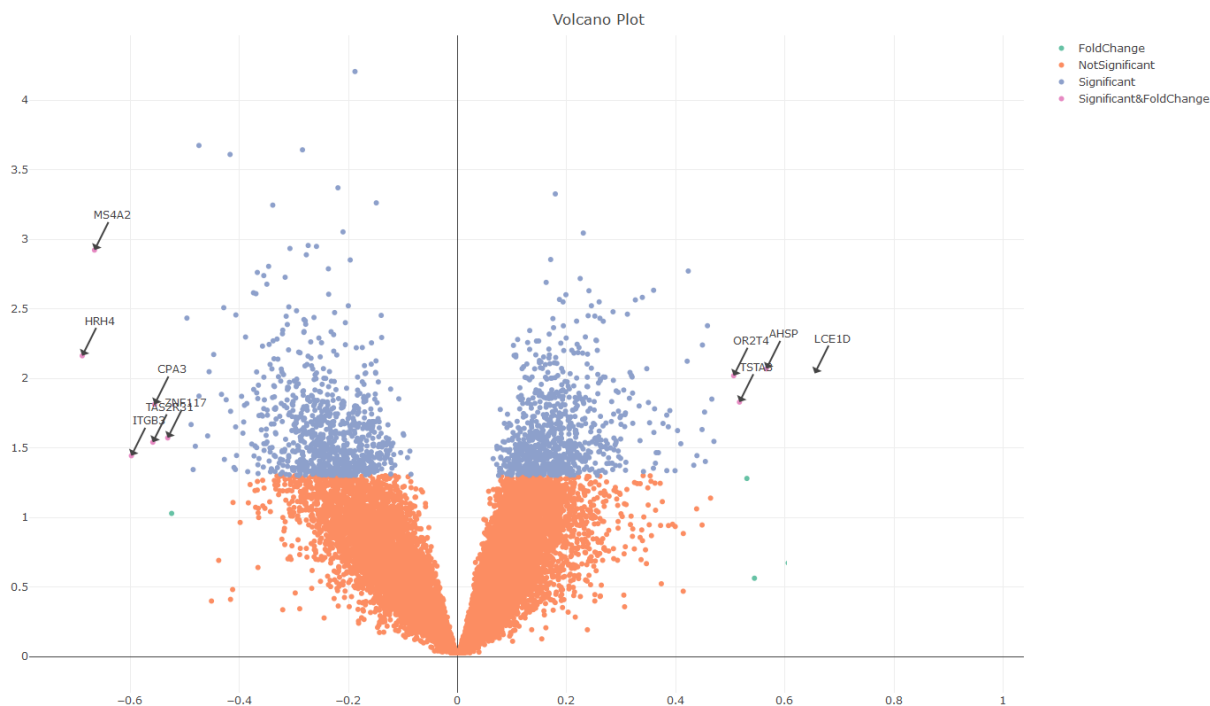
Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 419 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 40 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 3 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: CASP5, IFI30, TMSB10. Το CASP5 συνδέεται μόνο με το CD274 στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex ενώ στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif είναι πλήρως αποκλεισμένος. Τα IFI30 και ο TMSB10 συνδέονται μεταξύ τους και με κανέναν άλλο κόμβο μόνο στο δίκτυο ΜΘ Rebif ενώ στο άλλο δίκτυο είναι αποκλεισμένα.
- 3 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο ΜΘ Rebif συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο ΜΘ Avonex: AHSP, PLEK2, TNFAIP6. Το AHSP συνδέεται με PLEK2 και το TNFAIP6 με ACOT9, CD274, CXorf21, DOCK4, IFIH1, TDRD7 μόνο στο δίκτυο ΜΘ Avonex.
- Οι υπόλοιποι 34 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: CD274, TNFSF13B, DOCK4, MAP2K6, GBP3, APOL1, TFEC, LGALS3BP, CCL8, CXorf21, DYNLT1, GCH1, ACOT9, FAM46A, TMEM62, CXCL10, TRIM21, IL1RN, TRIM5, TRIM6, IFIH1, BATF2, TDRD7, GBP4, ZNFX1, ISG15, CEACAM1, C9orf91, NUB1, TNFSF10, PNPT1, TOR1B, DDX58, LAMP3. Το CD274 και το APOL1 χάνουν 7 γείτονες από το δίκτυο Avonex στο δίκτυο Rebif. Οι υπόλοιποι κόμβοι χάνουν από 1 μέχρι 4 γείτονες από το ένα προς το άλλο δίκτυο.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.011546642** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 99% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ.

7.1.4.3 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Rebif και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 10 ΔΕΓ, εκ των οποίων τα CPA3, ZNF117, MS4A2, TAS2R31, ITGB3, HRH4 ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ τα LCE1D, OR2T4, TSTA3, AHSP υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΜΘ Betaseron. Στο **Σχήμα 20** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 20: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T0 - Ασθενών ΜΘ Betaseron

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 931 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1251. Οι 891 από τις ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ οι υπόλοιπες 40 απουσιάζουν. Επιπλέον, οι 1182 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 69 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 338 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 121 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 15 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: BSG, C19orf62, CCR1, DOCK4, GLRX5, GPR146, MYL4, PRDX6, PYGL, RPL7, SAMHD1, SLC14A1, SLC38A5, SLFN5,

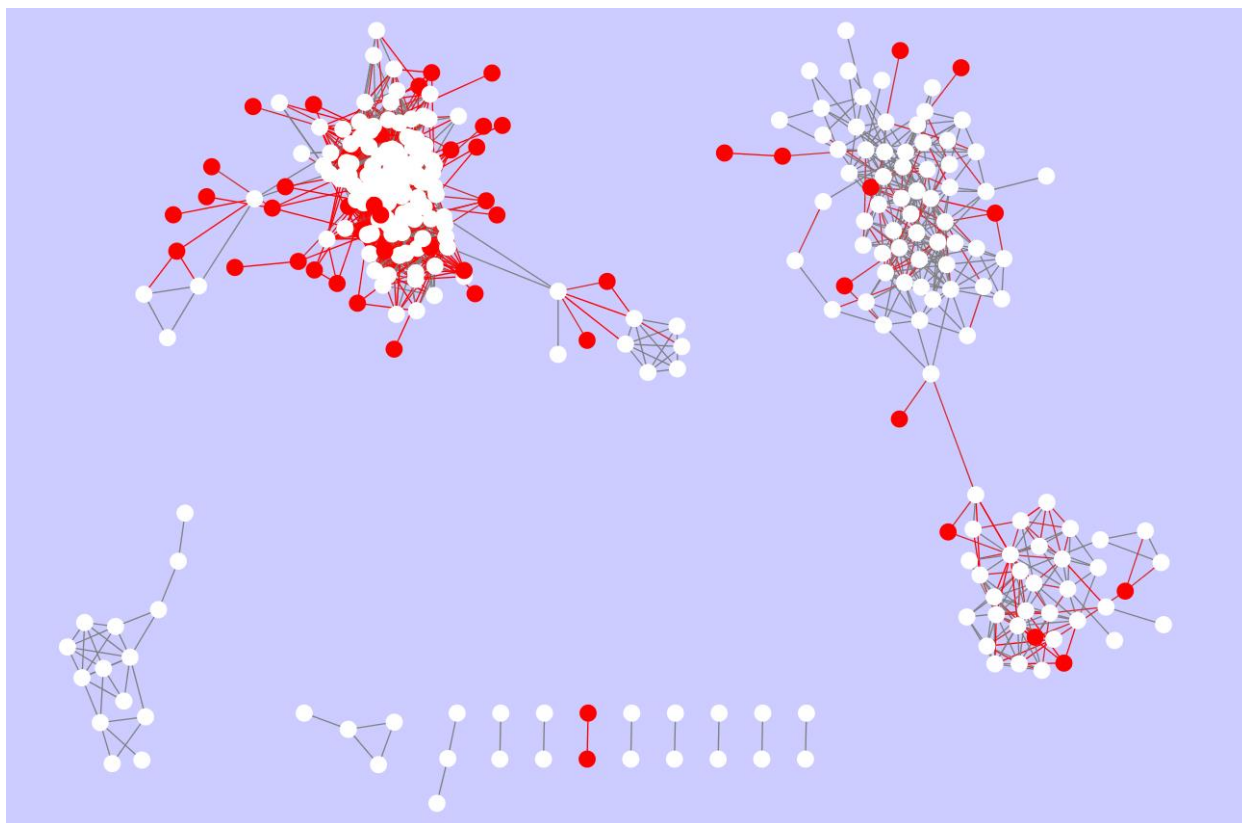
TMEM111. Ιδιαίτερα το BSG χάνει συνδέεται με 5 άλλους κόμβους στο IBΣ δίκτυο Betaseron, κανένας τους οποίους δεν εμφανίζεται στο MBΣ δίκτυο Rebif. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 με 2 γείτονες στο ένα δίκτυο και είναι αποκλεισμένοι στο άλλο.

- 13 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: PRDX2, RARRES3, RPS10, LGALS3BP, FECH, MAP2K3, CCL2, GPD2, RAD23A, RPL21P28, SAT1, SLC1A5, TNFSF13B. Το RPS10 χάνει 6 από τους 8 γείτονες του δικτύου Betaseron στο δίκτυο Rebif και ο LGALS3BP χάνει 5 από τους 7 γείτονες του δικτύου Rebif στο δίκτυο Betaseron. Στους υπόλοιπους κόμβους παρατηρούνται απώλειες από 1 έως 4 γείτονες ανάμεσα στα δύο δίκτυα.
- Οι υπόλοιποι 93 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: NT5C3, RPL35, GUK1, AP2S1, GBP3, MAFB, SHARPIN, FLJ42418, SP110, SLC4A1, AIF1, GCH1, OSBP2, PARP9, RPS15, TRIM6, EPB42, ANK1, CD300E, FAM104A, FRMD3, NMI, PSMF1, RPS3A, RPS7, APOBEC3A, COX6B1, SELENBP1, UXT, BLVRB, GBP1, TRAPPC5, IFI6, DPM2, ASCC2, C20orf108, MARCH8, RBM38, RPS17, BCL2L1, CCL8, NME2, MT1X, PHF11, RPS8, RNF10, IL1RN, C22orf13, MPP1, RPL18, UBXN6, PIK3AP1, SERPING1, STAT2, FTSJD2, SIGLEC1, CDC34, TMEM123, SCARB2, ZNFX1, DCAF12, LGALS9, CNP, OAS3, ACOT9, TRIM21, SP100, PML, RIN2, OAS2, BST2, PNPT1, IFIT5, RNF213, IFI35, LAMP3, DTX3L, NUB1, CEACAM1, UBE2L6, IFI16, IFI44L, TRIM22, MOV10, ZCCHC2, SAMD9L, HERC6, TOR1B, EPSTI1, MX2, IFIT3, OAS1, HERC5. Ιδιαίτερα τα **SP110** και **RPL35** χάνουν από 6 και 5 γείτονες αντίστοιχα του δικτύου Betaseron στο δίκτυο Rebif, ενώ τα **NT5C3**, **PARP9** και **TRIM6** χάνουν από 6,6 και 5 γείτονες αντίστοιχα του δικτύου Rebif στο δίκτυο Betaseron. Στους υπόλοιπους κόμβους παρατηρούνται απώλειες από 1 έως 4 γείτονες ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.04995417** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 95% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.1.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T0

Προκειμένου να παρατηρήσουμε διαφορές ανάμεσα σε όλες τις καταστάσεις των ασθενών για την χρονική στιγμή T0, χρησιμοποιούμε τον αλγόριθμο που έχει υλοποιηθεί για το πακέτο DyNet του Cytoscape [15]. Ο αλγόριθμος αυτός υπολογίζει ένα σκορ για κάθε κόμβο, το Dn-score, το οποίο ποσοτικοποιεί τις αλλαγές που συμβαίνουν στην γειτονιά ενός κόμβου σε διαφορετικές συνθήκες (π.χ. το γονίδιο A αλληλεπιδρά με διαφορετικά γονίδια σε διαφορετικές συνθήκες). Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις πέντε υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς χωρίς θεραπεία τη Χρονική Στιγμή T0, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη χρονική στιγμή T0, Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T0 και Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη χρονική στιγμή T0. Στο **Σχήμα 21** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T0, όπου οι κόμβοι και οι ακμές που απουσιάζουν από κάποιο δίκτυο διαφαίνονται με έντονο κόκκινο χρώμα.



Σχήμα 21: ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T0

Ο Πίνακας 7 παρουσιάζει αναλυτικά τα κορυφαία 100 γονίδια με τα υψηλότερα κανονικοποιημένα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο κεντρικό δίκτυο αναφοράς καθώς και το μη κανονικοποιημένο Dn-score. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 311.

Πίνακας 7: Dn-score για την χρονική στιγμή T0

Dn-score	#ακμών ΔΚΑ	Καν/vo Dn-score	Γονίδιο
2	1	2	CCR1
2	1	2	PYGL
2	1	2	SLFN5
1.587691	1	1.587691	TMEM111
1.5	1	1.5	DUSP5
1.5	1	1.5	PLAC8
2.828427	2	1.414214	SAMHD1
2.591265	2	1.295632	PRDX6
1.242982	1	1.242982	CASP5
1.208511	1	1.208511	SERPINB9
1.162251	1	1.162251	IFI30
1.162251	1	1.162251	TMSB10
1.15979	1	1.15979	ANKRD22
1.107216	1	1.107216	TCN2
2.161621	2	1.080811	TLR7
2.133137	2	1.066568	CASP1
1.054045	1	1.054045	BLVRA
1.026893	1	1.026893	TMEM140
3.484689	4	0.871172	TNFSF13B
1.74007	2	0.870035	SAT1
0.863371	1	0.863371	PRDX5
1.695386	2	0.847693	IDO1

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

0.805567	1	0.805567	IFITM3
2.354664	3	0.784888	MAFB
0.702208	1	0.702208	FBXO9
0.679139	1	0.679139	C14orf45
2.009714	3	0.669905	JUP
3.295433	5	0.659087	CD300E
1.87219	3	0.624063	TIMM10
2.486379	4	0.621595	AP2S1
0.600712	1	0.600712	CSTA
0.600712	1	0.600712	S100A12
3.573364	6	0.595561	PRDX2
1.777867	3	0.592622	MOP-1
0.582052	1	0.582052	CD14
2.894578	5	0.578916	TTC26
2.314123	4	0.578531	RARRES3
1.66936	3	0.556453	OTOF
0.542931	1	0.542931	SLC14A1
1.623317	3	0.541106	MYL4
1.610949	3	0.536983	SLC38A5
1.583542	3	0.527847	LY86
3.161989	6	0.526998	XAF1
2.051295	4	0.512824	GPX4
0.511912	1	0.511912	PROS1
1.998178	4	0.499544	GPD2
1.448354	3	0.482785	RPL7
1.924138	4	0.481034	CHMP5
0.470827	1	0.470827	NRGN
0.470257	1	0.470257	HBM
0.470257	1	0.470257	UBA52
0.46441	1	0.46441	PSME2
0.925823	2	0.462911	AHSP
3.20172	7	0.457389	LGALS3BP
3.188927	7	0.455561	AIF1
1.356624	3	0.452208	CD2AP
4.858531	11	0.441685	CCL8
3.897572	9	0.433064	DYNLT1
2.162281	5	0.432456	TRAPPC5
1.296524	3	0.432175	SLFN12
4.31501	10	0.431501	FLJ42418
0.855591	2	0.427795	C19orf62
5.068335	12	0.422361	TNFAIP6
0.838338	2	0.419169	PLEK2
2.084349	5	0.41687	PPM1K
2.396507	6	0.399418	RPL36A
0.398107	1	0.398107	DNAJC6
1.567962	4	0.391991	PGAP1
1.955018	5	0.391004	SHISA5
1.922883	5	0.384577	NMI
3.036668	8	0.379583	CCRL2
2.271675	6	0.378612	IRF9
1.118058	3	0.372686	ADAR
2.608635	7	0.372662	RPL21P28
3.33045	9	0.37005	MAP2K6
0.365171	1	0.365171	CPA3
0.365171	1	0.365171	MS4A2
1.416011	4	0.354003	FAU
2.474832	7	0.353547	MT1X
4.223123	12	0.351927	CSRNP1
0.701696	2	0.350848	C1GALT1
1.748962	5	0.349792	GPR146
2.762324	8	0.34529	SOCS1
1.693027	5	0.338605	GBP5
1.015782	3	0.338594	MT1G
6.084037	18	0.338002	CD274
3.02486	9	0.336096	RPS10
4.33191	13	0.333224	DOCK4
2.325921	7	0.332274	MIA3
0.659819	2	0.329909	MBNL3
0.323182	1	0.323182	DEFA3
1.586567	5	0.317313	ALAS2
2.206758	7	0.315251	IFITM1
4.083856	13	0.314143	ZNF684

1.220136	4	0.305034	MT1DP
5.475332	18	0.304185	CXorf21
1.516645	5	0.303329	RAD23A
0.300689	1	0.300689	C1orf128
0.895109	3	0.29837	RPS3A
0.894337	3	0.298112	RPS7

Όσο περισσότερους γείτονες έχει ένας κόμβος στο ΔΚΑ τόσο μεγαλύτερο Dn-score θα παρουσιάζει διότι παρατηρούνται περισσότερες μικρές ή μεγάλες αλλαγές στα βάρη των ακμών. Συνεπώς, η κανονικοποίηση του σκορ ως προς τις ακμές που εμφανίζει ο κόμβος στο ΔΚΑ μας επιτρέπει να παρατηρήσουμε κατά προσέγγιση τη μέση αλλαγή της γειονιάς ενός κόμβου ανά ακμή. Για παράδειγμα, σε έναν κόμβο ο οποίος συνδέεται με 70 άλλους κόμβους και το Dn-score του είναι 7, αυτό σημαίνει ότι η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,1 ενώ σε έναν κόμβο με 10 γείτονες και Dn-score 7, η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,7. Με άλλα λόγια, έχει περισσότερο ενδιαφέρον να εστιάσουμε σε κόμβους με μεγαλύτερες διαφορές στα βάρη των ακμών του και όχι σε κόμβους με μεγάλο αριθμό γειτόνων και μικρές διαφορές στα βάρη τους.

Στο **Σχήμα 21** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Ξεκινώντας από τα γονίδια που παρουσιάζουν το υψηλότερο κανονικοποιημένο Dn-score όπως φαίνεται στον **Πίνακα 7**, εντοπίζουμε ότι το IFI30 συνεκφράζεται σημαντικά μόνο με TMSB10 μόνο στο δίκτυο Rebif. Το CCR1 συνδέεται μόνο με CD300E, το PYGL μόνο με HERC5, το OAS2 μόνο με SLFN5, το SAMHD1 μόνο με PRDX2 και COX6B1 στο δίκτυο Betaseron ενώ σε όλα τα υπόλοιπα δίκτυα είναι αποκλεισμένο. Το PRDX6 συνδέεται με GSTP1 στο δίκτυο Betaseron και με TMEM111 και GSTP1 στο δίκτυο Betaseron και στο Avonex ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα δεν παρουσιάζει καμία συνέκφραση με άλλο γονίδιο. Το DUSP5 συνδέεται με CNP, το TLR7 με GBP4 και LAP3, το CASP1 με PHF11 και DDX58 μόνο στα δίκτυα Avonex και Rebif. Το CASP5 συνδέεται με CD274 μόνο στα δίκτυα Betaseron, Avonex και ΧΘ ενώ στο δίκτυο Υγιών και Rebif είναι πλήρως απομονωμένο. Το FTSJD2 συνεκφράζεται με SERPINB9, το OTOF με TCN2, το BLVRA με CD300E και το THEM140 με IL1RN μόνο στα δίκτυα θεραπείας ενώ στο δίκτυο Υγιών και Ασθενών ΧΘ είναι αποκλεισμένα. Τέλος, το ANKRD22 συνεκφράζεται με TRIM21 στα δίκτυα θεραπείας Avonex και Rebif καθώς και στο δίκτυο Υγιών.

Στον **Πίνακα 8** παρουσιάζονται αναλυτικά οι 50 κορυφαίες ακμές με βάση το varD. Οι ακμές με μη μηδενικό βάρος σε ένα μόνο δίκτυο παρουσιάζουν το μέγιστο δυνατό varD, ακολουθούν ακμές με μη μηδενικό βάρος σε δύο μόνο δίκτυα κ.ο.κ.

Πίνακας 8: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T0

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθ. χ.θ	Avonex	Betaseron	Rebif
CD274_IL1RN	5	0	0	0.512312	0	0
CD274_LAMP3	5	0	0	0.526365	0	0
CD274_TOR1B	5	0	0	0.515362	0	0
CXCL10_TRIM21	5	0	0	0.537246	0	0
CXorf21_DYNLT1	5	0	0	0.501214	0	0
FAM46A_TMME62	5	0	0	0.543653	0	0
FAM46A_TRIM5	5	0	0	0.517716	0	0
GCH1_ISG15	5	0	0	0.519573	0	0
IL1RN_TFEC	5	0	0	0.525457	0	0
TDRD7_TNFAIP6	5	0	0	0.536742	0	0
TDRD7_TNFSF13B	5	0	0	0.547427	0	0
AIF1_AP2S1	5	0	0	0	0.634936	0

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

CCL8_FLJ42418	5	0	0	0	0.674701	0
CCR1_CD300E	5	0	0	0	0.530691	0
COX6B1_SAMHD1	5	0	0	0	0.543321	0
HERC6_PYGL	5	0	0	0	0.510288	0
OAS2_SLFN5	5	0	0	0	0.537741	0
PRDX2_RPS10	5	0	0	0	0.51602	0
PRDX2_SAMHD1	5	0	0	0	0.553276	0
PRDX6_SELENBP1	5	0	0	0	0.672	0
CEACAM1_LGALS3BP	5	0	0	0	0	0.517316
ACOT9_TNFAIP6	3.397889	0	0.101764	0.57236	0	0
IFIH1_TNFAIP6	3.373923	0	0.105614	0.581465	0	0
CXCL10_PML	3.32044	0	0	0.551698	0	0.105045
PRDX6_TMEM111	3.278451	0	0	0.122677	0.621164	0
GBP3_TDRD7	3.268664	0	0	0.515132	0	0.102602
CD274_TNFAIP6	3.266455	0	0	0.626061	0.124935	0
GBP3_TRIM6	3.254757	0.101125	0	0.501656	0	0
FRMD3_TNFAIP6	3.238136	0	0	0.539694	0	0.110361
ACOT9_BATF2	3.215447	0	0	0.52727	0	0.109938
APOL1_PNPT1	3.20389	0	0	0.512608	0.107942	0
IFIT5_PARP9	3.198043	0	0	0.551351	0	0.116681
BATF2_NUB1	3.195629	0	0	0.520054	0.110285	0
DOCK4_TRIM5	3.170378	0	0	0.530389	0	0.114919
IFIH1_MAP2K6	3.097888	0	0	0.543057	0.125091	0
CCL2_IFI44L	3.088952	0	0	0.117734	0.507296	0
APOL1_TRIM5	3.036607	0	0	0.50908	0.123442	0
ACOT9_TNFSF13B	3.035515	0	0	0.583953	0	0.141726
APOL1_CCL8	2.998637	0	0	0.501533	0.125526	0
AIF1_TRAPPC5	2.996961	0	0	0.164881	0.657856	0
CD274_FRMD3	2.992362	0	0	0.538393	0	0.135457
APOL1_CXCL10	2.916624	0	0	0.568137	0.152237	0
FAM46A_ZNFX1	2.913092	0	0	0.522462	0	0.14041
MT1X_SAT1	2.889906	0	0	0.169309	0.617965	0
CASP1_DDX58	2.886755	0	0	0.527573	0	0.144923
C9orf91_GCH1	2.86654	0	0	0.512762	0.143243	0
BATF2_CCL2	2.862157	0	0	0.514079	0	0.144135
CXorf21_TFEC	2.820371	0	0	0.511324	0	0.148442
PRDX2_RPL21P28	2.808294	0	0	0	0.593789	0.174128
DDX58_GBP3	2.799698	0	0	0.501268	0.148055	0

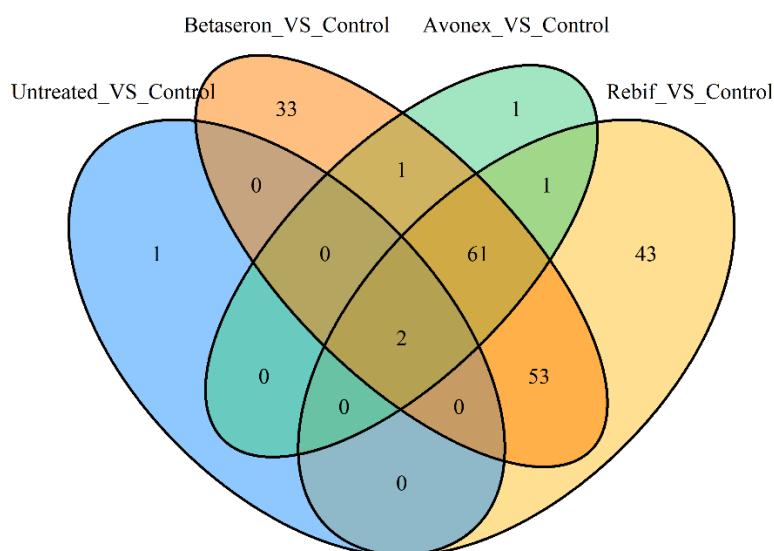
7.2 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T1

Για την χρονική στιγμή T1, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω δέκα συγκρίσεις.

Πίνακας 9: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς ΧΘ - Υγιείς	3	0
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Υγιείς	160	0.335671883
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Υγιείς	66	0.080872914
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Υγιείς	150	0.207692308
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΧΘ	156	0.490858726
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Ασθενείς ΧΘ	69	0.164864865
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΧΘ	153	0.335253456
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΜΘ Avonex	26	0.05838425
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Avonex	8	0.0226036
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Betaseron	3	0.140433925

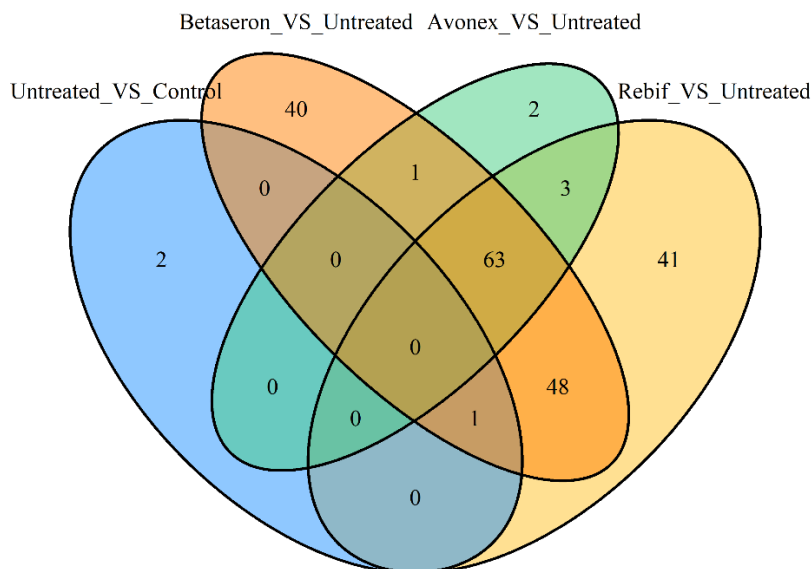
Στην σύγκριση δικτύων ασθενών ΧΘ και Υγιών όπως φαίνεται στον **Πίνακα 9**, παρατηρούνται μόνο τρία διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια ενώ το συνολικό ΣΜΚΑ είναι μηδενικό γεγονός που σημαίνει ότι τα δύο δίκτυα δεν διαφέρουν σε καμία σημαντική ακμή τους. Επιπλέον, η μεγαλύτερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif είτε με υγιείς είτε με Ασθενείς ΧΘ. Το δίκτυο θεραπείας που παρουσιάζει τις λιγότερες δυνατές διαφορές με το δίκτυο των υγιών σε αυτή τη χρονική στιγμή είναι εκείνο ΜΘ Avonex. Στις συγκρίσεις δικτύων ασθενών με διαφορετικές θεραπείες για τη χρονική στιγμή T1 παρατηρούμε μικρές διαφορές και τα δίκτυα θεραπείας που διαφέρουν περισσότερο είναι εκείνα των ασθενών ΜΘ Rebif και των ασθενών ΜΘ Betaseron.



Σχήμα 22: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ για όλες τις θεραπείες τη χρονική στιγμή T1 και των υγιών.

Στο **Σχήμα 22** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τέσσερις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών – Υγιών. Τα δύο από τα τρία γονίδια που εμφανίζουν ΔΕ μεταξύ Ασθενών ΧΘ και Υγιών, εμφανίζονται ως ΔΕΓ και στις συγκρίσεις

Ασθενών ΜΘ – Υγιών γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η έκφραση των γονιδίων αυτών επηρεάζεται από την ασθένεια και όχι από την θεραπεία. Εξήντα ένα γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών, 1 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 53 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 1 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών, 33 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 43 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και 1 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Avonex παρουσιάζει τα λιγότερα ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες σε σύγκριση με τους Υγιείς για την χρονική στιγμή T1.

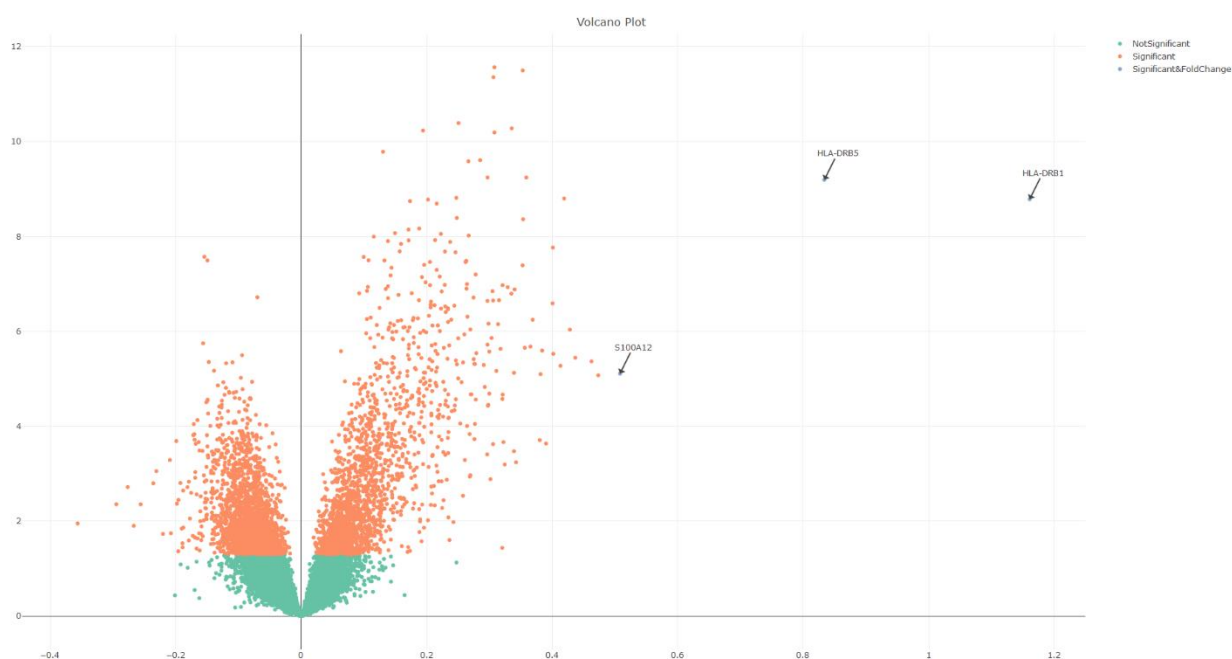


Σχήμα 23: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ γονιδίων μεταξύ ασθενών με θεραπεία για όλες τις θεραπείες και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T1

Στο **Σχήμα 23** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ και στη σύγκριση Ασθενών ΧΘ – Υγιών για τη χρονική στιγμή T1. Τα δύο από τα τρία γονίδια που εμφανίζουν ΔΕ μεταξύ Ασθενών ΧΘ και Υγιών, δεν εμφανίζονται ως ΔΕΓ στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ γεγονός που ενισχύει την συσχέτιση τους αποκλειστικά και μόνο με την ασθένεια και όχι με την θεραπεία, ενώ το τρίτο εκφράζεται διαφορετικά και στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ. 63 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ, 1 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 48 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 3 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ, 40 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 41 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και 2 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Avonex παρουσιάζει λιγότερα ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες και σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ για την χρονική στιγμή T1.

7.2.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1

Το αποτέλεσμα τις διαφορικής ανάλυσης γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T1, όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 24**, υποδεικνύει ότι τα γονίδια HLA-DRB1 και HLA-DRB5 υπερεκφράζονται στα δείγματα των Ασθενών ΧΘ όπως και στην προηγούμενη χρονική στιγμή. Επιπλέον, το γονίδιο S100A12 αυξάνει την έκφρασή του στα δείγματα των Ασθενών ΧΘ. Το S100A12 είναι πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο, ψευδάργυρο και χαλκό και διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο στη ρύθμιση των φλεγμονωδών διεργασιών και της ανοσολογικής αντίδρασης. Η προφλεγμονώδη δράση της περιλαμβάνει την στρατολόγηση λευκοκυττάρων, την προώθηση της παραγωγής κυτοκίνης και χημειοκίνης και τη ρύθμιση της πρόσφυσης και της μετανάστευσης των λευκοκυττάρων. Η δέσμευση της στο AGER ενεργοποιεί τις οδούς σηματοδότησης της MAP-κινάσης και της NF-κάππα-B που οδηγούν στην παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών και στην αύξηση της ρύθμισης των μορίων προσκόλλησης κυττάρων ICAM1 και **VCAM1**.



Σχήμα 24: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΧΘ στο T1 - Υγιών

Στην συγκεκριμένη σύγκριση δεν υπάρχει κάποια ακμή η οποία να εμφανίζεται σε ένα από τα δύο δίκτυα ΙΒΣ και να απουσιάζει από το δίκτυο ΜΒΣ. Συνεπώς, το σκορ που ορίζει την διαφορικότητα σε επίπεδο ακμών των δύο δικτύων δηλαδή το συνολικό ΣΜΚΑ είναι ίσο με 0.

7.2.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Υγιών, των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif της χρονικής στιγμής T1. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια HLA-DRB1 και HLA-DRB5 που σχετίζονται με την

ασθένεια παρουσιάζουν υπερέκφραση στους ασθενείς στις συγκρίσεις υγιών και ασθενών ανεξαρτήτως λήψης ή μη θεραπείας. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5 και OAS1, τα οποία διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια IFI6, SPATS2L, EIF2AK2, IFIH1, RTP4, LAMP3, HERC6, CXCL10, DDX60, SAMD9L, LY6E, DDX58, IFIT2, IFIT3, IFIT5, SERPING1, OAS2, OASL, IFI27, MX1, ISG15 παρουσιάζουν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς.

Δεν υπάρχουν ακμές οι οποίες παρουσιάζονται στο δίκτυο των Υγιών και απουσιάζουν στα δίκτυα θεραπείας Rebif ή Avonex ενώ τρεις ακμές οι CRISP3-LTF, CRISP3-MMP8 και DPM2-WDR45 δεν εμφανίζονται στο δίκτυο Betaseron ενώ εμφανίζονται και στα υπόλοιπα δίκτυα θεραπείας αλλά και στο δίκτυο Υγιών. Από την άλλη πλευρά, 7 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών. Επιπλέον, το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει 31 ακμές και το δίκτυο Rebif 30 ακμές οι οποίες δεν εμφανίζονται σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας ούτε και στο δίκτυο Υγιών, ενώ το δίκτυο Avonex δεν εμφανίζει καμία αποκλειστική ακμή. Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών ΜΘ Avonex γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 9**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και ασθενών ΜΘ.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 250 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Υγιών τη χρονική στιγμή T0. Τα ακόλουθα 13 γονίδια ACOT9, BATF2, C9orf91, CCL2, CD274, CEACAM1, CMPK2, CNP, IL1RN, ISG15, RIN2, TNFSF13B, TRIM14 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών. Ιδιαίτερα το RIN2 χάνει όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας.

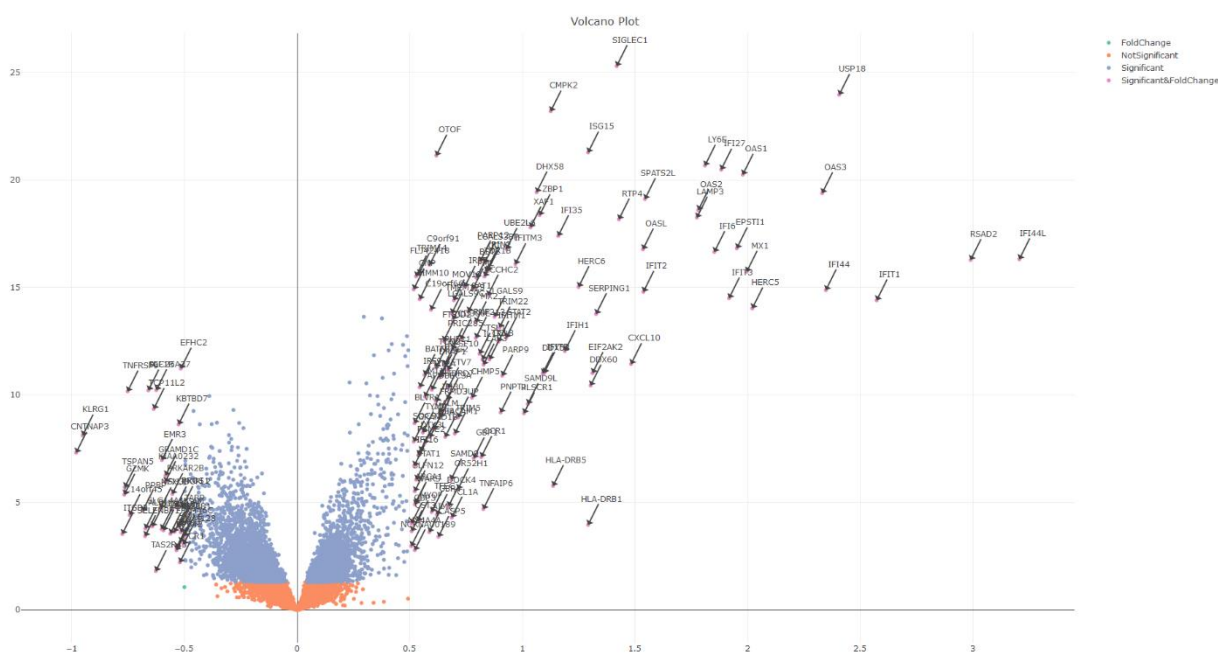
Επιπρόσθετα, το ISG20 παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ADAR, C9orf71, CA1, CASP1, CCR1, CHMP5, COX6B1, CXorf21, DHRS9, DYNLL1, ETV7, FAM46A, FPR3, GBP3, GCH1, GRAMD1B, KIAA1109, LGALS1, MIA3, OR52K1, PDCD1LG2, SAMD9, SERPINB9, TCN2, TLR7, TRIM5, TTC26, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif–Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ANKRD22, CD14, CD2AP, CNTNAP3, CRISP3, EFHC2, EMR3, FFAR2, FRMD3, GSTP1, GZMK, ICAM3, IFITM1, IFITM3, IGF1R, IRF7, KBTBD7, KIAA0232, KLRB1, LTF, MAN1A1, MICALCL, MMP8, MT1F, MT1G, MT1X, NAGK, NPC2, NQO2, OCR1, OR2T4, PGLYRP1, PLAC8, PLCB1, PRNP, PSMB3, PSMB9, PSME2, RAB27B, RARRES3, RNF182, SAMHD1, SAT1, SLC45A4, SLFN5, STEAP4, THBS1, TIMM10, TNFRSF9, UNC93B1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron–Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα CCL8, CSRNP1, MAP2K6, PPM1K, SLFN12, TAP2 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Avonex–Υγιών και ΜΘ Rebif – Υγιών ενώ στην

σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron–Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα APOBEC3A, APOL1, CD300E, DOCK4, DYNLT1, GALM, GPX4, IRF9, JUP, LGALS3BP, MAFB, NTNG2, OTOF, PDZK1IP1, PHF11, PIGX, SHISA5, TFEC, TMEM123, TMEM140, TNFAIP6, TOR1B, TRIM21, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.2.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 160 ΔΕΓ, 37 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 123 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 25** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 25: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T1-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Υγιών. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστικότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Υγιών φέρει 110 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1743. Και οι 110 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 1121 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 622 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 289 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα Μ. Γεωργάκη

δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 170 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

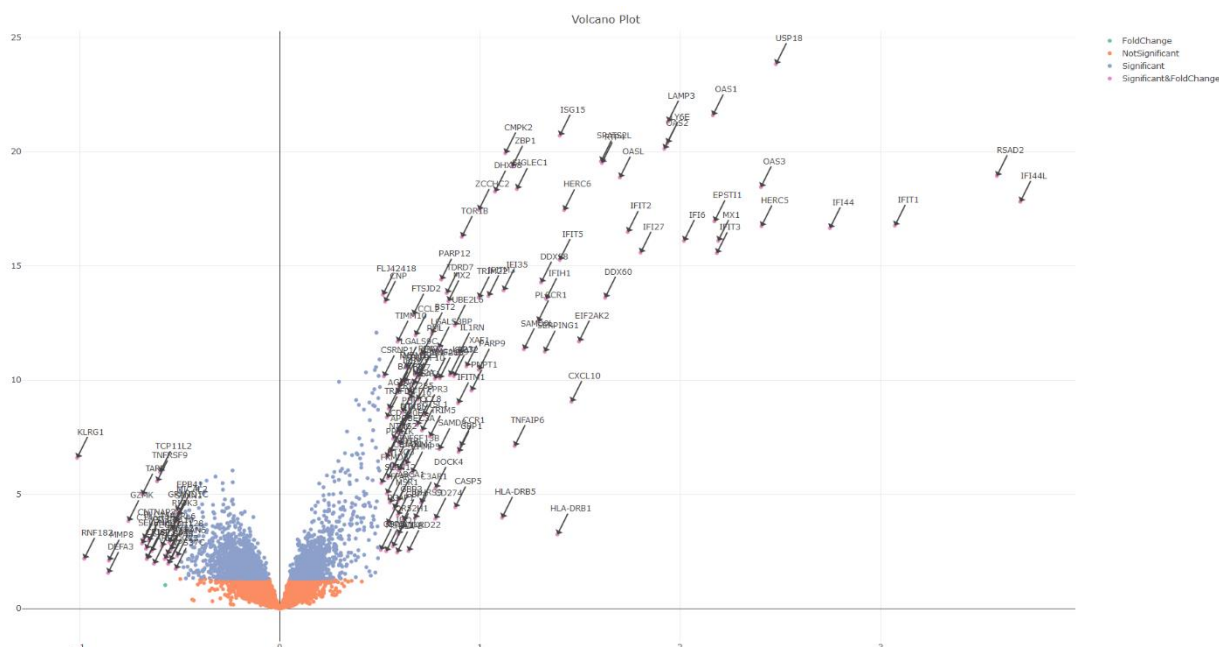
- 36 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOBEC3A, APOL1, BST2, C9orf71, CASP1, CCL2, CCL8, CCR1, CD274, CD300E, COX6B1, CSRNP1, DHRS9, DYNLL1, FPR3, GALM, GBP3, GPX4, GRAMD1B, JUP, LGALS1, LGALS3BP, MAFB, MAP2K6, NTNG2, OTOF, PDCD1LG2, PIGX, PPM1K, RIN2, SERPINB9, SHISA5, TCN2, TLR7, TMEM140, XAF1. Τα **CCR1, GALM, PPM1K** και **SHISA5** χάνουν 12, 10, 15 και 9 γείτονες αντίστοιχα ενώ τα υπόλοιπα γονίδια από 1 έως 6 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.
- 58 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των υγιών συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των ασθενών: CEACAM1, TNFAIP6, TNFSF13B, C9orf91, TMEM62, DOCK4, PIK3AP1, CXorf21, TMEM123, ADAR, OR52K1, TAP2, CNP, ZNF684, IL1RN, ACOT9, TRIM21, FBXO6, GCH1, LGALS9C, PDZK1IP1, LGALS9, PHF11, SAMD9, AIM2, ETV7, APOL6, BATF2, FAM46A, TRIM14, SP140, ANKFY1, TFEC, TNFSF10, IRF9, TRAFD1, ZNFX1, MOV10, TOR1B, CMPK2, SP110, MX2, FTSJD2, CXCL10, TRIM5, GBP5, KIAA1109, MIA3, ISG15, DHX58, SPATS2L, CA1, CHMP5, DYNLT1, NME2, SLFN12, TTC26, TYMP. Τα **FTSJD2, MX2, CEACAM1, PIK3AP1, TOR1B, SPATS2L, TRAFD1, ADAR, DHX58, TNFSF10, TRIM5, ZNFX1**, χάνουν περισσότερους από 20 έως και 31 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.
- Οι υπόλοιποι 76 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: PNPT1, TDRD7, PLSCR1, ZBP1, PRIC285, NT5C3, RPL36A, TRIM6, PTP4A1, TRIM22, IFIT5, SIGLEC1, STAT1, PARP12, RTP4, RNF213, CCDC125, DNAJC6, PARP9, RPS17, NUB1, PML, LAMP3, IFIH1, UBE2L6, DDX58, GBP1, IFIT2, SAMD9L, LAP3, SP100, DTX3L, BEND2, MYL4, PPBP, EIF2AK2, SERPING1, GPD2, TUBB1, OAS2, EPSTI1, IFIT3, LY6E, GBP4, HERC5, OASL, ZCCHC2, OAS3, RPL35, RPL18, RPS15, STRADB, IFI35, IFIT1, STAT2, HERC6, IFI6, RPL18AP3, RPS8, IFI16, OAS1, SCARB2, C19orf66, DDX60, GYPC, SPARC, RSAD2, USP18, RPS5, WDR45, MX1, BCL2L1, IFI44L, EPB42, MPP1, IFI44. Τα **TDRD7, ZBP1, PNPT1, PARP12, STAT1 TRIM22, IFIT5** και **IFIH1** και χάνουν περισσότερους από 15 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.335671883** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 66% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ, 4% λιγότερο από την χρονική στιγμή T0.

7.2.2.2 Ασθενείς MΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών MΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 150 ΔΕΓ, 30 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 120 υπερεκφράζονται στους ασθενείς MΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 26** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} <$

0.05 και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 26: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Υγιών φέρει 110 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron 800. Από τις 110 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών, οι 107 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ οι CRISP3-LTF, CRISP3-MMP8 και DPM2-WDR45 απουσιάζουν από αυτό. Αντιθέτως, μόνο οι 614 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 186 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 288 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 171 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 69 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ANKRD22, APOBEC3A, APOL1, C9orf91, CCDC125, CCL2, CD14, CD274, CD2AP, CD300E, CEACAM1, CNP, CNTNAP3, CRISP3, DYNLT1, EFHC2, FBXO6, FFAR2, FRMD3, GALM, GPX4, GZMK, ICAM3, IFITM1, IFITM3, IGF1R, JUP, KBTBD7, KIAA0232, KLRB1, MAFB, MAN1A1, MICALCL, MT1G, NAGK, NQO2, NTNG2, OCR1, OR2T4, OTOF, PDZK1IP1, PGLYRP1, PHF11, PIGX, PLAC8, PLCB1, PRNP, PSMB9, PSME2, RARRES3, RIN2, RNF182, SAMHD1, SAT1, SHISA5, SLC45A4, SLFN5, TFEC, THBS1, TIMM10, TMEM123, TMEM140, TNFAIP6, TNFRSF9, TNFSF13B, TRIM14, TRIM21, XAF1, ZNFX1. Το CRISP3 συνδέεται μόνο με το LTF και MMP8 στο δίκτυο των υγιών ενώ στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron είναι πλήρως αποκλεισμένο. Όλοι οι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των ασθενών και είναι αποκλεισμένοι στο δίκτυο των υγιών.

- 25 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: ANKFY1, IRF9, IRF7, BATF2, MT1X, PSMB3, UNC93B1, LGALS3BP, MOV10, CMPK2, ACOT9, DOCK4, EMR3, GSTP1, IL1RN, ISG15, LAMP3, LTF, MMP8, MT1F, NPC2, RAB27B, SCARB2, STEAP4, TOR1B, WDR45. Τα LTF και MMP8 παρουσιάζουν δύο ακμές στο δίκτυο των Υγιών, εκ των οποίων η μία τα συνδέει με το CRISP3 ενώ απουσιάζει από το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron και η οποία ευθύνεται για την απόδοση του ΣΜΚΑ στο 0.5. Ομοίως, το WDR45 παρουσιάζει το ίδιο ΣΜΚΑ διότι η μία εκ των ακμών του στο δίκτυο Υγιών που το συνδέει με το WDR45 απουσιάζει από το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ. Αντιθέτως, το **IRF7** χάνει 10 γείτονες, τα **ANKFY1** και **UNC93B1** χάνουν 9 γείτονες, το **BATF2** χάνει 8 γείτονες και το **MOV10** χάνει 8 γείτονες ενώ τα υπόλοιπα γονίδια χάνουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των Υγιών.
- Οι υπόλοιποι 77 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: APOL6, DHX58, TNFSF10, ZBP1, PARP9, HCST, IFI6, LGALS9, LGALS9C, SP110, UBE2L6, RTP4, PARP12, MX2, TRAFD1, NUB1, PML, F13A1, GYPB, IL1R2, PRIC285, SDPR, BEND2, PNPT1, SIGLEC1, FTSJD2, LY6E, PROS1, GBP5, IFI35, RPS10, RPS17, STRADB, STAT1, TYMP, HERC6, SPATS2L, DDX58, ATP5J2, C1orf128, MT1L, MT2A, PIK3AP1, C19orf66, DPM2, GBP1, RPL18, HERC5, MMRN1, PSMF1, GLRX5, GUCY1B3, NME2, PDE5A, RPS8, TDRD7, OAS3, USP18, OSBP2, RAB2B, XK, ALAS2, C14orf45, RIOK3, OAS2, EIF2AK1, ARHGEF12, FAM104A, MXI1, DCAF12, MX1, FECH, OASL, IFI44L, RSAD2, OAS1. Το **DHX58** χάνει 11 γείτονες εκ των οποίων οι οκτώ αναφέρονται και ως PPI και το **APOL6** χάνει 10 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.207692308** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 80% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ, 14% περισσότερο την χρονική στιγμή T0.

TRIM14. Το **C9orf91** χάνει 8 γείτονες ενώ οι υπόλοιποι κόμβοι το πολύ μέχρι 5 γείτονες στο δίκτυο των Υγιών.

- Οι υπόλοιποι 35 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: MX2, ANKFY1, SPATS2L, TRAFD1, FTSJD2, SP110, TNFSF10, BST2, CXCL10, TMEM62, ZBP1, AIM2, SERPING1, PNPT1, MOV10, NT5C3, TDRD7, PML, ZNFX1, RTP4, LAMP3, FBXO6, OASL, PARP12, SP140, HERC5, SP100, DHX58, DDX58, USP18, OAS2, OAS1, MX1, RSAD2, IFIT2. Το MX2 χάνει 8 ακμές στο δίκτυο των Υγιών, εκ των οποίων οι 5 είναι και PPI. Τα υπόλοιπα γονίδια χάνουν από 1 έως 5 ακμές στο δίκτυο των Υγιών πάντα σε σχέση με το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.080872914** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 92% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ, 35% περισσότερο από την χρονική στιγμή T0. Το ποσοστό αυτό αποτελεί το μέγιστο σε όλες τις συγκρίσεις Ασθενών-Υγιών σε όλες τις χρονικές στιγμές.

7.2.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ασθενών που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΧΘ, των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, σχεδόν τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς ΧΘ αλλά και σε σχέση με τους Υγιείς όπως είδαμε παραπάνω. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS1, OAS2, DDX60, IFIT2, OASL, LY6E, IFI27, MX1, USP18, IFI6, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, ISG15, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5 παρουσιάζουν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς που δεν υποβάλλονται σε καμία θεραπεία.

Εξήντα πέντε ακμές συνολικά περιέχονται στο ΙΒΣ δίκτυο Ασθενών ΧΘ, εκ των οποίων Οι 63 βρίσκονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας. Το γονίδιο WDR45 συνδέεται σημαντικά με CDC34 και TESC σε όλα τα δίκτυα εκτός αυτού των Ασθενών ΜΘ Betaseron. Από την άλλη πλευρά, 28 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο ΧΘ. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι οι 4 από αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών. Επιπλέον, 29 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο, 32 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο και οι AIM2-PTP4A1, DDX58-TOR1B, DTX3L-GBP4, FTSJD2-GBP4, GBP4-STAT1, TDRD7-TOR1B, TOR1B-TRAFD1, DDX58-RTP4 παρουσιάζονται στα δίκτυα ΙΒΣ Avonex και Rebif και στο δίκτυο ΜΒΣ Υγιών ενώ απουσιάζουν από τα δίκτυα ΜΒΣ Ασθενών ΧΘ και Betaseron. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των ασθενών ΧΘ παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών με θεραπεία Rebif γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 9**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΧΘ και Ασθενών

ΜΘ. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T1 το δίκτυο Rebif παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών ανάμεσα στα άλλα δίκτυα θεραπείας τόσο στην σύγκριση με του Υγείς όσο και στην σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 258 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ τη χρονική στιγμή T1. Τα ακόλουθα 22 γονίδια ACOT9, APOE6, C9orf91, CCL2, CD274, CEACAM1, CNP, CXCL10, IFI35, IL1RN, ISG15, LAMP3, MX2, RIN2, TNFSF10, TNFSF13B, TOR1B, TRAFD1, TRIM21, UBE2L6 και ZBP1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ. Τα C9orf91, CCL2, CD274, CEACAM1, CNP, RIN2, TNFSF13B παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών. Ιδιαίτερα τα CCL2, CEACAM1, CXCL10, IL1RN, RIN2, και TRIM21 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας.

Επιπρόσθετα, τα ADAR, C9orf71, CCR1, CHMP5, CXorf21, DHRS9, DYNLL1, FPR3, GBP3, GCH1, GRAMD1B, GRAMD1C, KIAA1109, LGALS1, MIA3, NMI, OR52K1, PDCD1LG2, PPM1K, PYGL, RNF213, SAMD9, TAP2, TCN2, TCP11L2, TLR7, TMEM62, TRIM6, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ANKRD22, CD14, CNTNAP3, CPD, EFHC2, FFAR2, HIST1H4C, IFITM3, IGF1R, KBTBD7, MAN1A1, MICALCL, MT1F, MT1G, NAGK, NQO2, NTNG2, OR2T4, PIGX, PLAC8, PLCB1, PRNP, PSMB9, PSME2, RAB27B, RNF182, SAMHD1, SAT1, SLC45A4, SLFN5, TESC, THBS1, TIMM10, TMEM111, UNC93B1, WDR45 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα BST2, CCL8, CSRNP1, GBP4, ISG20, MAP2K6, NT5C3, PTP4A1, SLFN12, TTC26 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Το MT1DP παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα APOBEC3A, C14orf45, CD2AP, CD300E, DOCK4, DYNLT1, EMR3, ETV7,, FRMD3, GALM, IL1R2, IRF9, JUP, KIAA0232, LAP3, LGALS3BP, LOC100131131, MAFB, MGAM, OCR1, OTOF, PDZK1IP1, PHF11, PIK3AP1, SCARB2, SHISA5, STEAP4, TFEC, TMEM123, TMEM140, TNFAIP6, TNFRSF9, TYMP, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.2.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 156 ΔΕΓ, 36 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 120 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 28** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια

με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 28: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΧΘ στο T1

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστικότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 63 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1742. Και οι 63 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 856 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 886 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 274 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 185 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

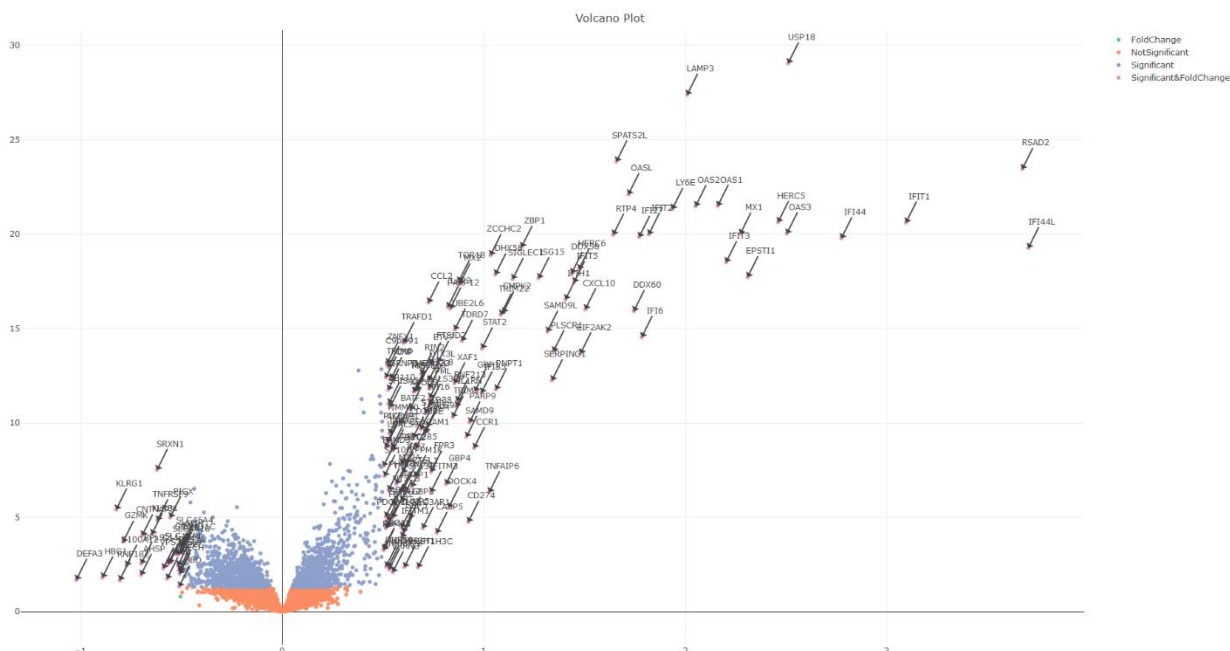
- 49 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOL1, BST2, C14orf45, C9orf71, C9orf91, CCL2, CCL8, CCR1, CD300E, CEACAM1, CHMP5, CSRNP1, CXCL10, DYNLL1, EMR3, ETV7, FAM46A, FPR3, FRMD3, GBP3, GCH1, GRAMD1B, GRAMD1C, IL1RN, ISG20, JUP, KIAA0232, LAP3, LGALS1, LGALS3BP, MAFB, MICAL2, OCR1, OTOF, PDCD1LG2, PYGL, RIN2, SHISA5, STEAP4, TCN2, TCP11L2, TLR7, TMEM140, TNFAIP6, TNFRSF9, TRIM21, TTC26, XAF1, ZNF684. Το **CEACAM1** χάνει 45, το **LAP3** 30, το **IL1RN** 22, το **TRIM21** 17, το **ETV7** 13 και το **CCR1** 12 γείτονες ενώ τα υπόλοιπα γονίδια από 1 έως 10 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ σε σχέση με το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif.

- 77 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif: TOR1B, APOL6, TAP2, PIK3AP1, PPM1K, UBE2L6, IFI35, SAMD9, PHF11, TRAFD1, CXorf21, ISG15, TNFSF13B, CNP, TMEM123, ACOT9, FTSJD2, OR52K1, TNFSF10, DOCK4, GALM, ZNFX1, RTP4, MOV10, GBP5, TMEM62, DYNLT1, ADAR, LGALS9, MX2, PTP4A1, DHX58, ANKFY1, TFEC, LAMP3, IRF9, TRIM5, PARP12, RNF213, FBXO6, KIAA1109, CD274, MGAM, TYMP, MAP2K6, PARP9, IFIT5, SP140, ZBP1, PLSCR1, SPATS2L, PNPT1, LGALS9C, TDRD7, SIGLEC1, AIM2, GBP1, NMI, STAT1, MIA3, TRIM6, SP110, GBP4, SERPING1, NUB1, DTX3L, STAT2, SCARB2, NT5C3, TRIM14, PDZK1IP1, SLFN12, APOBEC3A, CA1, CD2AP, DHRS9, IL1R2, LOC100131131. Τα **FTSJD2, TOR1B, TRAFD1, UBE2L6, MX2, PARP12, DHX58, ZBP1, SPATS2L** χάνουν από 31 έως 45 γείτονες και τα **PIK3AP1, LAMP3, TNFSF10, TDRD7, ISG15, RTP4, IFIT5, ZNFX1, PNPT1, TRIM5, STAT1, IFI35, STAT2, SAMD9, ADAR** χάνουν από 20 έως και 30 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif.
- Οι υπόλοιποι 59 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: IFIT2, CMPK2, IFIH1, OASL, IFIT3, OAS2, SAMD9L, DDX58, PRIC285, IFI16, C1GALT1, SLC14A1, ZCCHC2, EIF2AK2, TRIM22, IFI6, HERC5, HERC6, USP18, CCDC125, DNAJC6, EPST11, MME, OAS1, OAS3, GPD2, PML, LY6E, MARCH8, SP100, MX1, BAG1, BEND2, BLVRB, C20orf108, GPX4, IRF7, PLEK2, RPL36A, IFIT1, DDX60, MXI1, RSAD2, STRADB, FAM46C, MKRN1, RPS5, SPARC, IFI44L, C19orf66, SPTB, IFI44, MPP1, TMOD1, GUK1, TSPAN5, TRIM58, C22orf13. Τα **IFIT2, IFIH1, IFIT3, SAMD9L, ZCCHC2, HERC5** χάνουν περισσότερους από 20 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.490858726** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 51% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ, 24% λιγότερο από τη χρονική στιγμή T0. Αυτή είναι η μεγαλύτερη διαφορά που καταγράφεται σε όλες τις συγκρίσεις Ασθενών ΧΘ – Ασθενών ΜΘ. Παρόλα αυτά η θεραπεία Rebif παρουσιάζει και τη μεγαλύτερη διαφορά και με στους Υγιείς σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή ισχυρότερη δραστηριότητα της θεραπείας όχι απαραίτητα ωφέλιμη για τους ασθενείς.

7.2.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 153 ΔΕΓ, 27 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 126 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 29** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 29: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 63 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron 805. Από τις 63 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών, οι 61 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ οι CDC34-WDR45 και TESC-WDR45 απουσιάζουν από αυτό. Αντιθέτως, μόνο οι 516 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 289 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 271 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 188 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 70 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ANKRD22, APOBEC3A, APOL1, APOL6, C9orf91, CCL2, CD274, CD2AP, CD300E, CEACAM1, CNTNAP3, CPD, CXCL10, DOCK4, DYNLT1, EFHC2, EMR3, ETV7, FAM46A, FBXO6, FFAR2, FRMD3, GALM, HIST1H4C, IFITM3, IGF1R, IL1RN, JUP, KBTBD7, KIAA0232, LAP3, MAFB, MAN1A1, MICALCL, MT1G, NQO2, NTNG2, OCR1, OR2T4, OTOF, PDZK1IP1, PHF11, PIGX, PLAC8, PLCB1, PRNP, PSME2, RIN2, RNF182, SAMHD1, SAT1, SERPING1, SHISA5, SLC45A4, SLFN5, STEAP4, TESC, TFEC, THBS1, TIMM10, TMEM123, TMEM140, TNFAIP6, TNFSF13B, TOR1B, TRIM14, TRIM21, WDR45, XAF1, ZNF1. Το TESC χάνει το μοναδικό του γείτονα WDR45 και το WDR45 χάνει και τους δύο γείτονες του CDC34, TESC στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron. Τα APOL6 και ο TOR1B παρουσιάζουν 21 και 10 γείτονες, αντίστοιχα, στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 7 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

- 46 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ: UBE2L6, ANKFY1, PARP9, ISG15, MX2, LAMP3, LGALS3BP, PIK3AP1, PSMB9, ZBP1, BATF2, FTSJD2, TRAFD1, IFI35, PNPT1, MOV10, RTP4, NUB1, SCARB2, ACOT9, IL1R2, MGAM, TMEM111, TNFRSF9, IRF7, UNC93B1, C14orf45, DHX58, PARP12, STAT1, CNP, GBP1, IFI6, OASL, TNFSF10, TYMP, HERC6, SPATS2L, IRF9, MT2A, CD14, LOC100131131, MME, MT1DP, MT1F, NAGK, RAB27B. Τα **UBE2L6**, **ZBP1**, **DHX58**, **ISG15**, **HERC6** χάνουν από 11 έως 17 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 10 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- Οι υπόλοιποι 72 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: USP18, CMPK2, OAS2, SIGLEC1, STAT2, RAB2B, HCST, LGALS9, LGALS9C, MICAL2, SP110, LY6E, FBXO9, CA1, F13A1, GBP5, GYPB, IFITM1, MT1X, PRIC285, RPS17, RPS3A, SDPR, TRIM5, OAS3, GLRX5, HERC5, C20orf108, MXI1, RIOK3, CDC34, MT1L, MX1, FAM46C, DDX58, TMOD1, BSG, C1orf128, STRADB, ALAS2, SAMD9L, IGF2BP2, PML, TDRD7, EPB42, BEND2, MMRN1, PSMF1, ARHGEF12, EPB41, MPP1, MKRN1, IFI44, IFIT2, IFIT3, GUCY1B3, PDE5A, PROS1, RPS8, OAS1, NME2, OSBP2, BCL2L1, FAM104A, GSPT1, ZCCHC2, DCAF12, IFI44L, FECH, RSAD2, TSPAN5. Το **PNPT1** χάνει 14 και το **SP140** χάνει 13 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με εκείνο των Ασθενών ΜΘ. Το **USP18** χάνει 11 και το **OAS2** 10 ακμές από το δίκτυο των ασθενών ΜΘ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ, εκ των οποίων οι 6 και 8 αντίστοιχα αναφέρονται σε PPI.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.335253456** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 66% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ, 9% λιγότερο από την χρονική στιγμή T0.

7.2.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 69 ΔΕΓ, 5 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους, ενώ 64 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 30** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 30: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 64 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 676. Και οι 64 από τις ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 554 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 122 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 378 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 81 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 19 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOL6, BST2, CCL2, CCL8, CEACAM1, CNP, CSRNP1, CXCL10, IFI35, IL1RN, ISG20, PTP4A1, RIN2, SLFN12, TNFSF13B, TOR1B, TRIM21, TTC26, UBE2L6. Το **TOR1B** παρουσιάζει 9 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ και είναι αποκλεισμένοι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- 20 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς

κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ: CD274, GBP4, C9orf91, ACOT9, ISG15, TRAFD1, RTP4, MX2, ZBP1, LAMP3, TNFSF10, APOL1, CMPK2, FTSJD2, MAP2K6, MOV10, MT1DP, NT5C3, PARP9, STAT1, TRIM14. Ιδιαίτερα τα **RTP4** και **MX2** χάνουν 10 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ, εκ των οποίων οι 8 και 6 αντίστοιχα είναι και PPI.

- Οι υπόλοιποι 39 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: DHX58, AIM2, SERPING1, BATF2, ZNFX1, OASL, TDRD7, PNPT1, FBXO6, MT2A, PML, NUB1, SP140, SP110, GBP1, USP18, PARP12, TRIM5, ANKFY1, PRIC285, IFIT3, IFIH1, IFIT2, DTX3L, STAT2, OAS2, DDX58, PLSCR1, TRIM22, SPATS2L, HERC6, HERC5, IFIT5, DDX60, EIF2AK2, EPSTI1, OAS1, ZCCHC2, IFIT1, SAMD9L. Οι κόμβοι αυτοί χάνουν από 1 έως και 7 κόμβους από το δίκτυο Ασθενών ΜΘ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.164864865** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 84% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ, 12% περισσότερο από τη χρονική στιγμή T0.

7.2.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T0

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με διαφορετικές θεραπείες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif.

Παρατηρούμε ότι τα γονίδια TAS2R46 και GZMK υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση και με τις δύο άλλες θεραπείες. Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα IBΣ δίκτυα και των τριών θεραπειών είναι 221. 31 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας αλλά και ούτε στα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ. 35 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας και το 90% αυτών απουσιάζει και από το δίκτυο Υγιών και από το δίκτυο Ασθενών ΧΘ. Δεν υπάρχει καμία ακμή που να εμφανίζεται στα IBΣ δίκτυα Avonex και Betaseron και να απουσιάζει από το Rebif καθώς και καμία ακμή που να εμφανίζεται στα IBΣ δίκτυα Betaseron και Rebif και να απουσιάζει από το Avonex. Αντιθέτως, οι 16 παρακάτω ακμές εμφανίζονται στα IBΣ δίκτυα Avonex και Rebif αλλά απουσιάζουν από το MBΣ δίκτυο Betaseron: AIM2-PTP4A1, DDX58-TOR1B, DDX58-USP18, DPM2-WDR45, DTX3L-GBP4, EIF2AK2-HERC6, FTSJD2-GBP4, GBP4-STAT1, IFIT5-SAMD9L, MIA3-SP140, PML-SERPING1, SCARB2-TRIM5, STAT2-ZNFX1, TDRD7-TOR1B, TOR1B-TRAFD1, DDX58-RTP4, οι οποίες εμφανίζονται και στο MBΣ δίκτυο και περίπου οι μισές από αυτές και στο MBΣ δίκτυο Ασθενών ΧΘ. Συνεπώς, αυτές οι απώλειες ακμών στο δίκτυο ΜΘ Betaseron πιθανώς να σχετίζονται με κάποια παρενέργεια της εν λόγω θεραπείας.

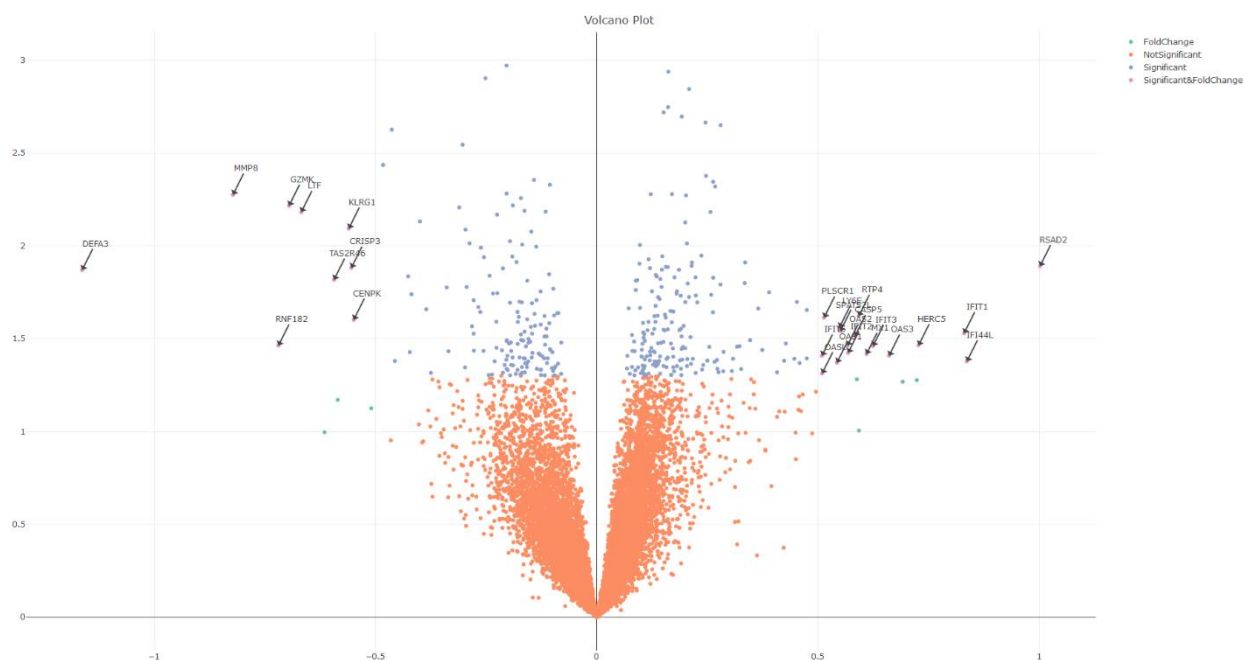
Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών ΜΘ Avonex και των ασθενών ΜΘ Rebif γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 9**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΜΘ. Για τη χρονική στιγμή T1, το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με τα άλλα δίκτυα θεραπείας.

Τα γονίδια τα οποία παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΜΘ Betaseron και Ασθενών ΜΘ Avonex - Ασθενών ΜΘ Betaseron είναι τα PIGX, TIMM10, TTC26. Το PIGX έχει επίσης σκορ μεγαλύτερο του 0,5 και στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex - Ασθενών ΜΘ Rebif, διότι στο δίκτυο Betaseron συνδέεται με CCDC125 και CNP, στο δίκτυο Rebif μόνο με CNP και στο Avonex με κανένα από τα δύο. Το TIMM10 είναι πλήρως αποκλεισμένο τόσο στο ΙΒΣ όσο και στο ΜΒΣ δίκτυο ΜΘ Avonex ενώ συνδέεται με APOBEC3A στο δίκτυο Betaseron και Rebif και με IFITM3 στο δίκτυο Betaseron. Επίσης, είναι αποκλεισμένο και στο δίκτυο Υγιών και στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ. Το TTC26 συνδέεται με AIM2 στο δίκτυο Avonex, Rebif και Υγιών, με IFI16 σε όλα τα δίκτυα θεραπείας και στο δίκτυο των Υγιών και με TRIM5 μόνο στο δίκτυο Avonex και Rebif. Επίσης, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ είναι αποκλεισμένο.

7.2.4.1 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα Ασθενών ΜΘ Betaseron και Ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 26 ΔΕΓ, 9 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 17 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους ασθενείς ΜΘ Avonex. Στο **Σχήμα 31** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.

Συγκεκριμένα, τα LTF, GZMK, CENPK, RNF182, CRISP3, DEFA3, MMP8, KLRG1, TAS2R46 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex ενώ τα IFI44L, RSAD2, SPATS2L, RTP4, PLSCR1, HERC5, LY6E, IFIT2, IFIT3, IFIT1, IFIT5 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron.



Σχήμα 31: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron - Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 806 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 667. Οι 758 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron εμφανίζονται ενώ 48 ακμές απουσιάζουν από ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex. Οι περισσότερες από τις ακμές αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών αλλά και από το δίκτυο των ασθενών ΧΘ ενώ σχεδόν οι μισές εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με την αποκλειστική επίδραση της θεραπείας Betaseron σε ορισμένες συσχετίσεις ή με πιθανές παρενέργειες της θεραπείας. Από την άλλη πλευρά, 629 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 38 απουσιάζουν. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται και στο δίκτυο ΜΒΣ των Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ το 85% από αυτές εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών και το 60% στο ΜΒΣ δίκτυο Ασθενών ΧΘ.

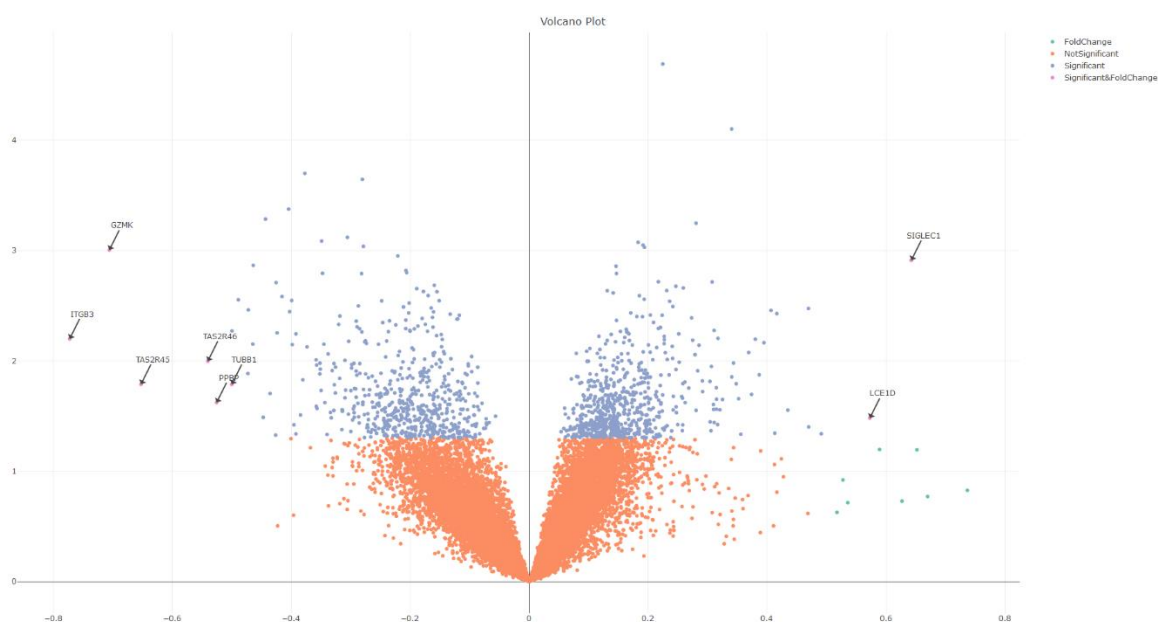
Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 334 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 125 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 34 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: το PLCB1 εμφανίζει 4 γείτονες, το PLAC8 3 γείτονες, τα CD14, EFHC2, MAN1A1, TIMM10 2 γείτονες και τα ANKRD22, CD2AP, CNTNAP3, GZMK, IGF1R, JUP, KBTBD7, KIAA0232, KLRB1, MAFB, MICALCL, NQO2, OCR1, OR2T4, PIGX, RNF182, SAMHD1, SLC45A4, SLFN5, THBS1, TMEM123 ένα γείτονα στο δίκτυο ΜΘ Betaseron, ενώ στο δίκτυο Avonex είναι αποκλεισμένα. Από την άλλη πλευρά τα MAP2K6, PPM1K εμφανίζουν δύο γείτονες και τα HRH4, IL5RA, PTP4A1, SLFN12, TTC26 ένα γείτονα στο δίκτυο ΙΒΣ της θεραπείας Avonex ενώ στο δίκτυο ΜΒΣ Ασθενών ΜΘ Betaseron δεν εμφανίζουν κανένα γείτονα.
- 15 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: PSMB9, WDR45, APOBEC3A, PDZK1IP1, MT1G, NT5C3, C19orf62, EMR3, MT1F, NAGK, RAB27B, SHARPIN, SHISA5, STEAP4, TNFRSF9. Το PSMB9 χάνει 4 ακμές, τα APOBEC3A, PDZK1IP1, MT1G χάνουν 2 ακμές και τα EMR3, MT1F, NAGK, RAB27B, SHISA5, STEAP4, TNFRSF9 χάνουν 1 ακμή από το δίκτυο θεραπείας Betaseron στο Avonex. Επιπλέον, το WDR45 χάνει 5 ακμές, το NT5C3 χάνει 2 ακμές και τα C19orf62, SHARPIN χάνουν μία ακμή από το δίκτυο θεραπείας Avonex στο Betaseron.
- Οι υπόλοιποι 76 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: GBP4, CD300E, GBP5, GYPB, IFITM1, IL1R2, PSMB3, TFEC, TMEM111, GUK1, AIM2, DTX3L, CCL2, CXCL10, GALM, IFITM3, IRF9, FBXO9, TOR1B, SP140, UBXN6, F13A1, MT1X, SERPING1, PARP9, SP100, CNP, HAGH, IFI6, MCOLN1, ZNF1X1, TRIM5, AP2A1, MT2A, DPM2, LAMP3, IRF7, BEND2, CDC34, MT1L, PDE5A, PROS1, RPS8, SIGLEC1, CD274, GLRX5, RPLP2, SCARB2, EIF2AK2, GUCY1B3, IFIT5, DDX58, APOL6, RBM38, RIOK3, CMPK2, STAT1, ANKFY1, PML, TRAFD1, OSBP2, STAT2, FTSJD2, UNC93B1, UBE2L6, FAM104A, C22orf13, TDRD7, GMPR, RTP4, IFIH1, SAMD9L, IFIT2, TMOD1, HERC6, USP18.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.05838425** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 94% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ, ποσοστό μειωμένο κατά 1% από το αντίστοιχο της χρονικής στιγμής T0.

7.2.4.2 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Rebif και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 8 ΔΕΓ, εκ των οποίων τα LCE1D, SIGLEC1 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Rebif και τα PPBP, GZMK, TAS2R46, ITGB3, TUBB1, TAS2R45 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex. Στο **Σχήμα 32** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 32: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif φέρει 1726 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 663. Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στο δίκτυο ΜΘ Rebif και όχι στο δίκτυο ΜΘ Avonex είναι 52 ενώ στην αντίστροφη περίπτωση 2.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 387 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 72 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 8 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι. Οι C9orf71, FPR3, GRAMD1C, JUP, OCR1, PIGX, TLR7, TNFRSF9 συνδέονται με ένα γείτονα στο δίκτυο Rebif τον οποίον και χάνουν στο δίκτυο Avonex και μάλιστα ο γείτονας του GRAMD1C είναι ο TNFRSF9.

- 7 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο MΘ Rebif συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο MΘ Avonex: GPX4, CA1, OR52K1, C14orf45, CCR1, CD2AP, CHMP5. Το CCR1 χάνει 6 και το OR52K1 4 κόμβους από το δίκτυο Rebif στο δίκτυο Avonex.
- Οι υπόλοιποι 57 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: SHISA5, MGAM, TYMP, C1orf128, CCDC125, SULT1B1, KIAA1109, ADAR, GBP5, DYNLT1, MYL4, MAP2K6, SLFN12, XK, CXorf21, DOCK4, TMEM123, RPS8, SAMD9, NMI, TRIM14, CXCL10, CEACAM1, PHF11, CD274, ETV7, NT5C3, RPL35, RPS5, TFEC, IFI35, IRF9, APOL6, FBXO6, PTP4A1, TRIM22, TRIM5, AIM2, SP140, SPATS2L, RNF213, ISG15, ZNFX1, IFI44L, UBE2L6, TNFSF10, TRAFD1, IFIT5, TOR1B, OAS1, EPSTI1, RSAD2, LAMP3, ZBP1, HERC6, FTSJD2, ZCCHC2. Το ADAR χάνει 7 από τους 27 γείτονες του από το δίκτυο Rebif στο δίκτυο Avonex. Οι υπόλοιποι κόμβοι χάνουν από 1 μέχρι 3 γείτονες από το ένα προς το άλλο δίκτυο.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.0226036** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 98% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ, ποσοστό κατά 1% μεγαλύτερο από το αντίστοιχο της χρονικής στιγμής T0.

7.2.4.3 Ασθενείς MΘ Rebif – Ασθενείς MΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών MΘ Rebif και ασθενών MΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 3 ΔΕΓ, τα CPA3, MS4A2, HRH4 τα υπερεκφράζονται στους ασθενείς MΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Ασθενείς MΘ Rebif. Στο **Σχήμα 33** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 33: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών MΘ Rebif - Ασθενών MΘ Betaseron στο T1

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 809 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1726. Οι 766 από τις ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ οι υπόλοιπες 43 απουσιάζουν. Από την άλλη, οι 1413 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 313 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 244 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 215 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

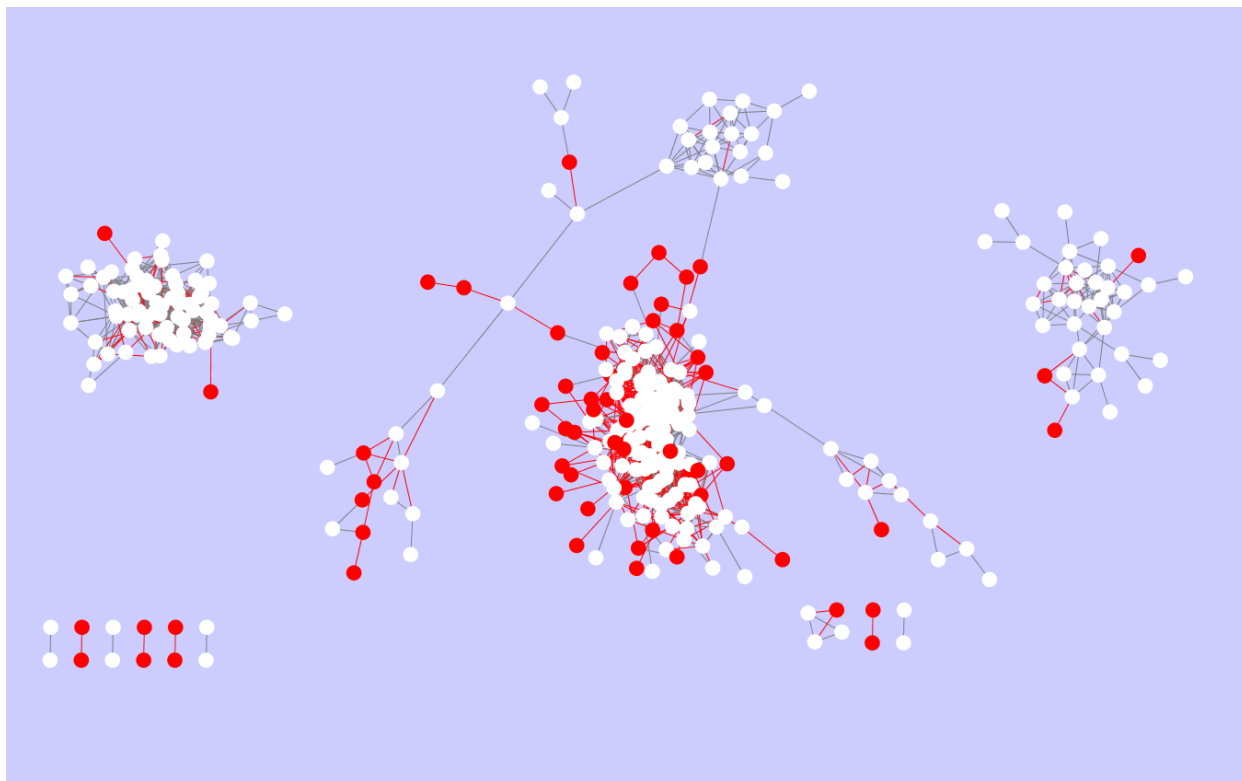
- 39 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ANKRD22, C19orf62, C9orf71, CCRL2, CD69, CNTNAP3, CRISP3, CSRNP1, DYNLL1, FPR3, GCH1, GPR146, GRAMD1B, GRAMD1C, GZMK, HINT1, HMBS, ICAM3, KLRB1, LGALS1, MAN1A1, MICALCL, MT1G, NQO2, PGLYRP1, PLAC8, PLCB1, PPM1K, PRNP, PYGL, RNF182, SAT1, SERPINB9, SLC45A4, SLFN12, SLFN5, THBS1, TLR7, ZNF684. Ιδιαίτερα το PPM1K συνδέεται με 15 άλλους κόμβους στο ΙΒΣ δίκτυο Rebif, κανένας τους οποίους δεν εμφανίζεται στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 με 5 γείτονες στο ένα δίκτυο και είναι αποκλεισμένοι στο άλλο.
- 38 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: ADAR, OR52K1, TMEM123, MYL4, GPD2, CXorf21, CXCL10, CD300E, TRIM6, KIAA1109, CD2AP, EMR3, GBP3, MAP2K6, TMEM140, DYNLT1, SAMD9, TFEC, TRIM21, TRIM5, AIM2, GBP4, CCR1, PHF11, NT5C3, TMEM62, OTOF, TNFRSF9, CD14, CHMP5, EFHC2, JUP, MT1F, OCR1, PIGX, TCN2, TIMM10, TTC26. Το ADAR χάνει τους 25 από τους 27, το TRIM5 τους 19 από τους 35, το CXorf21 τους 15 από τους 20, το SAMF9 τους 13 από τους 22 και το THEM123 τους 11 από τους 14 γείτονες του από το δίκτυο Rebif στο Betaseron. Στους υπόλοιπους κόμβους παρατηρούνται απώλειες από 1 έως 10 γείτονες ανάμεσα στα δύο δίκτυα.
- Οι υπόλοιποι 139 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: IFIT5, PTP4A1, C1GALT1, RPS17, SLC14A1, TMEM111, PLSCR1, SP100, BST2, FRMD3, IFITM1, MMP8, PSMB3, RAB27B, SULT1B1, DTX3L, GALM, NMI, TESC, DDX58, PIK3AP1, TRAFD1, DOCK4, TAP2, CD274, GLRX5, F13A1, FAM46A, IFITM3, SLC38A5, STEAP4, ZNFX1, TOR1B, GUK1, SCARB2, TNFAIP6, WDR45, EIF2AK2, APOBEC3A, BLVRB, BPGM, CA1, GYPB, IL1R2, PLEK2, PSMB9, IL1RN, ACOT9, SP140, UBXN6, C9orf91, GBP5, SHISA5, GMPR, STAT2, LGALS3BP, MICAL2, RPS3A, SERPING1, PNPT1, TDRD7, SAMD9L, ETV7, TNFSF10, CEACAM1, TRIM58, CDC34, GPX4, RPS7, LAMP3, STAT1, IFIT2, FTSJD2, PROS1, DPM2, RSAD2, IRF7, SP110, MGAM, RPL9, MX2, EPB42, STRADB, IFI35, IRF9, RAB2B, RIN2, SPATS2L, IFIH1, BAG1, BEND2, PDE5A, TRIM22, IFIT3, RTP4, C14orf45, GUCY1B3, PSMF1, APOL6, GBP1, GYPC, PARP9, RBM38, NUB1, HERC6, PRIC285, TYMP, IFI44, DDX60, GATA1, PML, UNC93B1, IFI16, USP18, MXI1, IFI44L, IFI6, TMOD1, ZCCHC2,

CNP, BCL2L1, OAS3, HERC5, C22orf13, C20orf108, IFIT1, OAS1, OSBP2, RNF213, FAM46C, LAP3, MKRN1, MX1, PARP12, ZBP1, EPSTI1, UBE2L6, OAS2. Ιδιαίτερα τα **IFIT5**, **DDX58**, **TRAFD1** και **TOR1B** χάνουν από 19, 14, 12 και 11 γείτονες αντίστοιχα του δικτύου Rebif στο δίκτυο Betaseron. Στους υπόλοιπους κόμβους παρατηρούνται απώλειες από 1 έως 10 γείτονες ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.140433925** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 86% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ, ποσοστό μειωμένο κατά 9% σε σχέση με το αντίστοιχο της χρονικής στιγμής T0.

7.2.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T1

Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις πέντε υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς χωρίς θεραπεία τη Χρονική Στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T1 και Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη χρονική στιγμή T1. Στο **Σχήμα 34** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T1, όπου οι κόμβοι με έντονο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τους κόμβους που είναι αποκλεισμένοι σε τουλάχιστον ένα από τα υπό μελέτη δίκτυα και οι κόκκινες ακμές τις ακμές που απουσιάζουν από τουλάχιστον ένα δίκτυο.



Σχήμα 34: ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T1

Ο **Πίνακας 10** παρουσιάζει αναλυτικά τα κορυφαία 100 γονίδια με τα υψηλότερα κανονικοποιημένα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο δίκτυο κεντρικής αναφοράς καθώς και το μη κανονικοποιημένο Dn-score. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός

των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 346.

Πίνακας 10: Dn-score για την χρονική στιγμή T1

Dn-score	# ακμών	Καν/vo Dn-score	Γονίδιο
2	1	2	ANKRD22
2	1	2	C9orf71
2	1	2	CD69
2	1	2	CNTNAP3
2	1	2	FPR3
2	1	2	MICALCL
2	1	2	NQO2
2	1	2	OR2T4
2	1	2	RNF182
2	1	2	SLC45A4
2	1	2	SLFN5
2	1	2	THBS1
2	1	2	TLR7
1.644525	1	1.644525	KBTBD7
1.614001	1	1.614001	GZMK
1.614001	1	1.614001	KLRB1
1.605509	1	1.605509	GRAMD1C
1.590428	1	1.590428	PRNP
1.5	1	1.5	CCRL2
1.5	1	1.5	DYNLL1
1.5	1	1.5	GRAMD1B
1.5	1	1.5	LGALS1
1.5	1	1.5	SAMHD1
1.5	1	1.5	SAT1
2.828427	2	1.414214	MAN1A1
2.698565	2	1.349282	JUP
2.592869	2	1.296434	EFHC2
2.541007	2	1.270504	TIMM10
2.525207	2	1.262603	IGF1R
2.519248	2	1.259624	OCR1
1.25617	1	1.25617	PYGL
2.443299	2	1.221649	PIGX
1.19316	1	1.19316	SERPINB9
2.365872	2	1.182936	CD14
1.172014	1	1.172014	FFAR2
3.464102	3	1.154701	PLAC8
1.153978	1	1.153978	PSME2
1.14332	1	1.14332	ICAM3
1.14332	1	1.14332	PGLYRP1
2.261502	2	1.130751	CHMP5
1.105768	1	1.105768	PDCD1LG2
2.186891	2	1.093445	KIAA0232
2.132764	2	1.066382	MAFB
2.013934	2	1.006967	MT1F
4	4	1	PLCB1
1.978075	2	0.989037	TCN2
0.934233	1	0.934233	TCP11L2
2.717513	3	0.905838	EMR3
0.891752	1	0.891752	HRH4
0.891752	1	0.891752	IL5RA
1.753422	2	0.876711	HINT1
2.594896	3	0.864965	TMEM140
2.592984	3	0.864328	CD2AP
3.42025	4	0.855063	TNFRSF9
0.845682	1	0.845682	HIST1H4C
1.686721	2	0.843361	NAGK
3.355789	4	0.838947	MT1G
3.264344	4	0.816086	CD300E
2.323113	3	0.774371	IL1R2
2.313805	3	0.771268	GBP3
1.518092	2	0.759046	CCL8
2.258322	3	0.752774	TTC26
2.229663	3	0.743221	RAB27B
2.203249	3	0.734416	IFITM1
2.927614	4	0.731903	OTOF

1.440835	2	0.720418	ISG20
4.313064	6	0.718844	OR52K1
2.855118	4	0.71378	GCH1
2.831179	4	0.707795	IFITM3
1.398797	2	0.699399	DHRS9
3.466172	5	0.693234	PSMB9
3.430419	5	0.686084	CSRNP1
1.359203	2	0.679601	NTNG2
2.033801	3	0.677934	FRMD3
3.387253	5	0.677451	APOBEC3A
3.380806	5	0.676161	ZNF684
3.300705	5	0.660141	SLFN12
3.290169	5	0.658034	MAP2K6
0.648552	1	0.648552	RARRES3
2.576134	4	0.644033	STEAP4
3.177007	5	0.635401	DYNLT1
0.620372	1	0.620372	LY86
2.47978	4	0.619945	FAM46A
0.60453	1	0.60453	GPR146
1.730516	3	0.576839	PSMB3
1.143896	2	0.571948	LOC100131131
2.23515	4	0.558788	GYPB
0.543353	1	0.543353	UBA52
1.022624	2	0.511312	NPC2
1.01477	2	0.507385	MT1DP
3.010676	6	0.501779	BST2
1.993591	4	0.498398	CCDC125
1.491894	3	0.497298	DNAJC6
2.928463	6	0.488077	LGALS3BP
2.437061	5	0.487412	RPS7
2.872676	6	0.478779	CCL2
2.38499	5	0.476998	CASP1
2.355276	5	0.471055	APOL1
3.292194	7	0.470313	GPX4
3.288782	7	0.469826	PDZK1IP1
2	1	2	ANKRD22

Στο **Σχήμα 34** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Ξεκινώντας από την κορυφή της λίστας, παρατηρούμε ότι τα ANKRD22, C9orf71, CD69, CNTNAP3, FPR3, MICALCL, NQO2, OR2T4, RNF182, SLC45A4, SLFN5, THBS1, TLR7 παρουσιάζουν το μέγιστο Dn-score ίσο με 2. Αυτό σημαίνει ότι τα γονίδια αυτά συνδέονται με ένα γείτονα σε ένα μόνο από τα υπό μελέτη δίκτυα και στα υπόλοιπα δίκτυα είναι αποκλεισμένα. Το ANKRD22 συνδέεται με LAMP3, το CD69 με RPS7, το CNTNAP3 με STEAP4, το F13A1 με MICALCL, το NQO2 με PLAC8, το OR2T4 με UBE2L6, το RNF182 με TMEM123, το IL1R2 με SLC45A4, το PLAC8 με SLFN5, το PLCB1 με THBS1 μόνο στο δίκτυο MΘ Betaseron και το C9orf71 συνδέεται με CD274, το FPR3 με GBP5, το CXCL10 με TLR7 μόνο στο δίκτυο MΘ Rebif.

Τα KBTBD7, GZMK, KLRB1, GRAMD1C, PRNP, CCRL2, DYNLL1, GRAMD1B, LGALS1, SAMHD1, SAT1 συνδέονται με ένα γείτονα σε μόνο δύο από τα υπό μελέτη δίκτυα ενώ στα υπόλοιπα είναι αποκλεισμένα. Το KBTBD7 συνδέεται με KIAA0232 και το CD2AP με SAMHD1 μόνο στα δίκτυα Rebif και Betaseron, το GZMK με KLRB1 μόνο στα δίκτυα XΘ και Betaseron, το GRAMD1C με TNFRSF9 μόνο στα δίκτυα Rebif και Υγιών, το PRNP με RPS17 και το PHF11 με SAT1 μόνο στα δίκτυα Avonex και Betaseron, το CCRL2 με TFEC, το DYNLL1 με LGALS1 και το CEACAM1 με GRAMD1B μόνο στα δίκτυα Rebif και Avonex.

Τα MAN1A1, JUP, EFHC2, TIMM10, IGF1R, OCR1, PYGL, PIGX, SERPINB9, CD14, FFAR2, PLAC8, PSME2, ICAM3, PGLYRP1, CHMP5, PDCD1LG2, KIAA0232, MAFB,

MT1F, PLCB1 παρουσιάζουν κανονικοποιημένο Dn-score από 1 έως 1,5. Το MAN1A1 συνδέεται με EMR3 και OCR1 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το JUP συνδέεται με MAFB στα δίκτυα Betaseron και Rebif και με TYMP μόνο στο δίκτυο Rebif. Το EFHC2 συνδέεται με BEND2 μόνο στο δίκτυο Betaseron και με BEND2 στο δίκτυο Betaseron και Rebif. Το TIMM10 συνδέεται με APOBEC3A στα δίκτυα Betaseron και Rebif και με IFITM3 μόνο στο Betaseron. Το IGF1R συνδέεται με PLAC8 μόνο στο δίκτυο Betaseron και με TNFRSF9 στο δίκτυο Betaseron και Rebif. Το OCR1 συνδέεται με MGAM στα δίκτυα Rebif και Betaseron και με MAN1A1 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το EMR3 συνδέεται με PYGL στα δίκτυα Avonex, Rebif και Υγιών και όχι στα δίκτυα ΧΘ και Betaseron. Το PIGX συνδέεται με CCDC125 στα δίκτυα ΧΘ, Betaseron και Rebif και με CNP μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το GBP4 συνδέεται με SERPINB9 στα δίκτυα Ασθενών ΧΘ, Avonex και Rebif. Το CD14 συνδέεται με NAGK στα δίκτυα Ασθενών ΧΘ, Betaseron και Rebif και με IRF9 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το APOL1 συνδέεται με FFAR2, το PSMB9 με PSME2 και το GBP5 με PDCD1LG2 μόνο στα τρία δίκτυα θεραπείας. Το PLAC8 συνδέεται με IGF1R, NQO2 και SLFN5 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το ICAM3 συνδέεται με PGLYRP1 στα δίκτυα Avonex, Betaseron και ΧΘ και όχι στους Υγιείς και στο Rebif. Το CHMP5 συνδέεται με PGLYRP1 στους Υγιείς και στα δίκτυα θεραπείας και με SLFN12 μόνο στο δίκτυο Rebif. Το KIAA0232 συνδέεται με CCDC125 στα δίκτυα θεραπείας και στους Υγιείς και με KBTBD7 μόνο στο δίκτυο Betaseron και Rebif. Το MAFB συνδέεται με TCN2 μόνο στα δίκτυα θεραπείας και με JUP μόνο στα δίκτυα Betaseron και Rebif. Το MT1F συνδέεται με MT2A και στα 5 δίκτυα και με PSMB9 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το PLCB1 συνδέεται με GUCY1B3, PDE5A, RAB27B και THBS1 μόνο στο δίκτυο Betaseron ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα είναι αποκλεισμένο.

Στον **Πίνακα 11** παρουσιάζονται αναλυτικά οι 50 κορυφαίες ακμές με βάση το varD. Όλες οι ακμές του πίνακα εμφανίζονται μόνο σε ένα δίκτυο είτε στο Betaseron είτε στο Rebif ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα απουσιάζουν.

Πίνακας 11: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T1

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθ. χ.θ	Avonex	Betaseron	Rebif
ANKRD22_LAMP3	5	0	0	0	0.54482	0
APOBEC3A_GALM	5	0	0	0	0.573834	0
APOL6_IRF7	5	0	0	0	0.524273	0
BEND2_EFHC2	5	0	0	0	0.537444	0
CD14_IRF9	5	0	0	0	0.836816	0
CD300E_SHISA5	5	0	0	0	0.567818	0
CD69_RPS7	5	0	0	0	0.621815	0
CNP_PIGX	5	0	0	0	0.562588	0
CNTNAP3_STEAP4	5	0	0	0	0.526844	0
EMR3_MAN1A1	5	0	0	0	0.62945	0
F13A1_MICALCL	5	0	0	0	0.553539	0
GLRX5_GYPB	5	0	0	0	0.581511	0
GUCY1B3_PLCB1	5	0	0	0	0.537018	0
IFI6_MT1G	5	0	0	0	0.736407	0
IFITM3_TIMM10	5	0	0	0	0.559176	0
IGF1R_PLAC8	5	0	0	0	0.537301	0
IL1R2_SLC45A4	5	0	0	0	0.536695	0
IRF7_TOR1B	5	0	0	0	0.53308	0
MAN1A1_OCR1	5	0	0	0	0.64734	0
MT1F_PSMB9	5	0	0	0	0.610408	0
MT1G_PARP9	5	0	0	0	0.53468	0
NQO2_PLAC8	5	0	0	0	0.541657	0
OR2T4_UBE2L6	5	0	0	0	0.552647	0
PDE5A_PLCB1	5	0	0	0	0.5025	0
PLAC8_SLFN5	5	0	0	0	0.561164	0
PLCB1_RAB27B	5	0	0	0	0.54708	0

PLCB1_THBS1	5	0	0	0	0.552551	0
PROS1_TNFRSF9	5	0	0	0	0.543498	0
RNF182_TMEM123	5	0	0	0	0.524125	0
ADAR_CEACAM1	5	0	0	0	0	0.517216
ADAR_IFIT5	5	0	0	0	0	0.523031
ADAR_LAMP3	5	0	0	0	0	0.618455
ADAR_SPATS2L	5	0	0	0	0	0.670189
ADAR_TNFSF10	5	0	0	0	0	0.554885
ADAR_TOR1B	5	0	0	0	0	0.509512
ADAR_TRIM5	5	0	0	0	0	0.543808
AIM2_OR52K1	5	0	0	0	0	0.557029
APOL6_TMEM123	5	0	0	0	0	0.541131
C9orf71_CD274	5	0	0	0	0	0.524538
CCR1_PHF11	5	0	0	0	0	0.55161
CCR1_SPATS2L	5	0	0	0	0	0.539526
CEACAM1_SAMD9	5	0	0	0	0	0.584015
CHMP5_SLFN12	5	0	0	0	0	0.514572
CXCL10_TLR7	5	0	0	0	0	0.5178
CXorf21_DOCK4	5	0	0	0	0	0.525034
CXorf21_KIAA1109	5	0	0	0	0	0.5028
CXorf21_OR52K1	5	0	0	0	0	0.503296
DOCK4_NT5C3	5	0	0	0	0	0.613156
DYNLT1_TFEC	5	0	0	0	0	0.570784
ETV7_SP140	5	0	0	0	0	0.559009

7.3 Συγκρίσεις με βάση τη Χρονική στιγμή T2

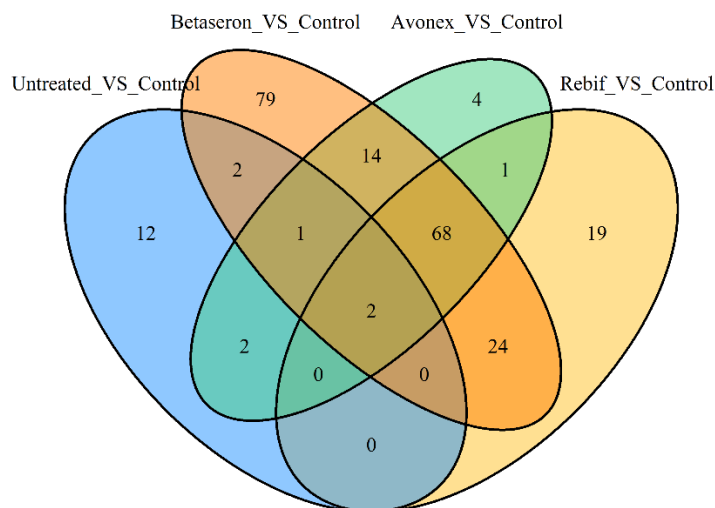
Για την χρονική στιγμή T2, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω δέκα συγκρίσεις.

Πίνακας 12: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς ΧΘ - Υγιείς	19	0.009615385
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Υγιείς	114	0.317149569
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Υγιείς	92	0.388601036
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Υγιείς	190	0.429513603
Ασθενείς ΜΘ. Rebif - Ασθενείς ΧΘ	97	0.412003244
Ασθενείς ΜΘ Avonex - Ασθενείς ΧΘ	78	0.474318658
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΧΘ	174	0.485957447
Ασθενείς ΜΘ Betaseron - Ασθενείς ΜΘ Avonex	18	0.239348805
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Avonex	5	0.121016949
Ασθενείς ΜΘ Rebif - Ασθενείς ΜΘ Betaseron	43	0.25991975

Η μικρότερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ η μεγαλύτερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron. Στις συγκρίσεις δικτύων ασθενών με διαφορετικές θεραπείες για τη χρονική στιγμή T2 παρατηρούμε μεγαλύτερες διαφορές σε σχέση με προηγούμενες χρονικές στιγμές και η μικρότερη διαφορά εντοπίζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών

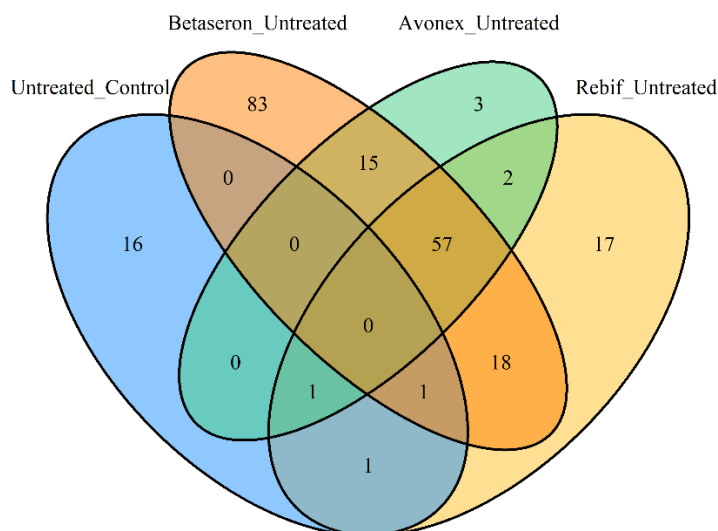
ΜΘ Rebif και Ασθενών ΜΘ Avonex, γεγονός που σημαίνει ότι το δίκτυο Betaseron διαφοροποιείται περισσότερο συγκριτικά με τις υπόλοιπες θεραπείες.



Σχήμα 35: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ για όλες τις θεραπείες τη χρονική στιγμή T2 και των υγιών.

Στο **Σχήμα 35** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τέσσερις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών – Υγιών. Δύο από τα 19 γονίδια, τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5, που εμφανίζουν ΔΕ μεταξύ Ασθενών ΧΘ και Υγιών, εμφανίζονται ως ΔΕΓ και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η έκφραση των γονιδίων αυτών επηρεάζεται από την ασθένεια και όχι από την θεραπεία. Ένα ακόμη από αυτά τα 19 γονίδια, το LY86, παρουσιάζει ΔΕ σε όλες τις συγκρίσεις με Υγιείς πλην της σύγκρισης Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. Δύο ακόμα γονίδια, τα TMEM176A και TMEM176B παρουσιάζουν ΔΕ μόνο στις συγκρίσεις Υγιών – Ασθενών ΧΘ και Υγιών – Ασθενών ΜΘ Betaseron. Τέλος, 12 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ αποκλειστικά μόνο στην σύγκριση Υγιών – Ασθενών ΧΘ.

Εξήντα οκτώ γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών, 14 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 24 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 1 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών, 79 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών, 19 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και 4 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Betaseron παρουσιάζει πολλά περισσότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες σε σύγκριση με τους Υγιείς για την χρονική στιγμή T2.



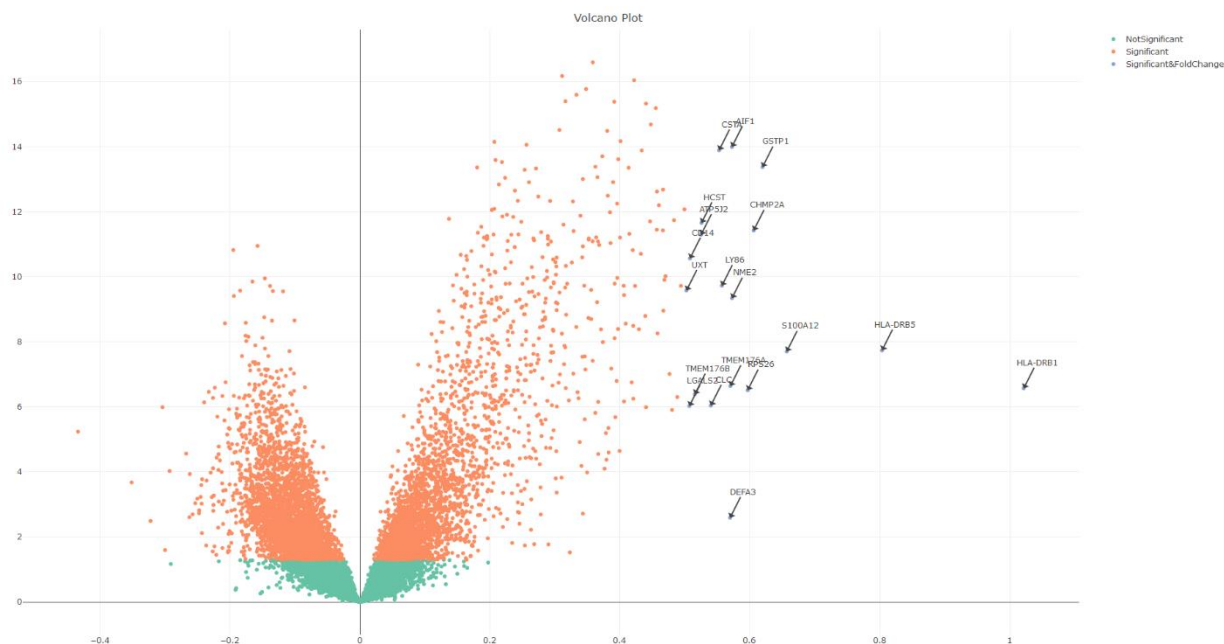
Σχήμα 36: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ γονιδίων μεταξύ ασθενών με θεραπεία για όλες τις θεραπείες και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T2

Στο **Σχήμα 36** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ και στη σύγκριση Ασθενών ΧΘ – Υγιών για τη χρονική στιγμή T2. Από τα συνολικά 19 ΔΕ γονίδια της σύγκρισης Ασθενών ΧΘ – Υγιών, τα 16 εμφανίζονται μόνο σε αυτή την σύγκριση και απουσιάζουν στις συγκρίσεις Ασθενών ΧΘ - Ασθενών ΜΘ. Το γονίδιο CLC εμφανίζει διαφορετική έκφραση σε όλες τις συγκρίσεις εκτός από τη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, το γονίδιο S100A12 εμφανίζει διαφορετική έκφραση σε όλες τις συγκρίσεις εκτός από τη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και το DEFA3 εμφανίζει διαφορετική έκφραση στις συγκρίσεις Υγιών – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ. 57 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ, 15 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 18 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 2 μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ, 83 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ, 17 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ και 3 μόνο στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Betaseron παρουσιάζει πολλά περισσότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες θεραπείες και σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ για την χρονική στιγμή T2.

7.3.1 Ασθενείς ΧΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2

Το αποτέλεσμα της διαφορετικής ανάλυσης γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών χωρίς θεραπεία τη χρονική στιγμή T2, όπως φαίνεται και στον **Σχήμα 37**, υποδεικνύει ότι τα 19 γονίδια υπερεκφράζονται στα δείγματα Ασθενών ΧΘ σε σχέση με τα δείγματα των Υγιών. Τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5 υπερεκφράζονται στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και σε αυτή τη χρονική στιγμή όπως και στις προηγούμενες. Το S100A12 είναι ένα μόριο που παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των φλεγμονωδών διαδικασιών και της ανοσολογικής απόκρισης. Επιπλέον, το S100A12 υπερεκφράζονται στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και κατά την χρονική στιγμή T1. Τέλος τα γονίδια CSTA, CD14, LY86, AIF1, TMEM176A, ATP5J2, TMEM176B, DEFA3, GSTP1, RPS26, NME2, HCST, CLC,

CHMP2A, LGALS2, UXT αυξάνουν και αυτά τα επίπεδα έκφρασής τους στα δείγματα των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με εκείνα των Υγιών. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε εδώ ότι τα γονίδια CSTA, CD14, AIF1, ATP5J2, GSTP1, RPS26, NME2, CHMP2A, LGALS2, UXT εκφράζονται διαφορετικά μόνο σε αυτή τη σύγκριση για τη χρονική στιγμή T2 γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η έκφρασή τους δεν επηρεάζεται σημαντικά από την θεραπεία.



Σχήμα 37: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΧΘ στο T2 - Υγιών

Στο **Σχήμα 37** ο άξονας y αντιστοιχεί στο $-\log_{10}(p\text{-value})$ και ο άξονας x στο \log_2FC . Τα πράσινα σημεία αντιστοιχούν σε γονίδια που δεν εκφράζονται διαφορετικά ($p\text{-value} > 0.05$), τα κόκκινα σε γονίδια που παρουσιάζουν $p\text{-value}$ μικρότερο από 0.05 αλλά η απόλυτη τιμή του \log_2FC είναι μικρότερη από 0,5 και τα μωβ αντιστοιχούν στα σημαντικά διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια ($p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$).

Στην συγκεκριμένη σύγκριση μόνο οι ακμές HCST-LGALS1 και HCST-RPL18 εμφανίζονται στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ και απουσιάζουν από το δίκτυο Υγιών. Το σκορ που ορίζει την διαφορικότητα σε επίπεδο ακμών των δύο δικτύων δηλαδή το συνολικό ΣΜΚΑ είναι ίσο με 0.009615385.

7.3.2 Ασθενείς ΜΘ – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορετικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Υγιών, των Ασθενών ΜΘ Avonex, των Ασθενών ΜΘ Betaseron και των Ασθενών ΜΘ Rebif. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια HLA-DRB1 και HLA-DRB5 που σχετίζονται με την ασθένεια παρουσιάζουν υπερέκφραση στους ασθενείς στις συγκρίσεις υγιών και ασθενών ανεξαρτήτως λήψης ή μη θεραπείας. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1 και IFI6, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την

έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS2, DDX60, IFIT2, IFIT3, OASL, LY6E, IFI27, PARP9, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, ISG15, PLSCR1, ZBP1, CMPK2, SIGLEC1, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5, IFITM1, IFITM3, DHX58 και IFI35 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους υγιείς.

Δεν υπάρχουν ακμές οι οποίες παρουσιάζονται στο δίκτυο των Υγιών και απουσιάζουν στα δίκτυα θεραπείας. Από την άλλη πλευρά, 17 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών, και σχεδόν όλες απουσιάζουν και από το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Επιπλέον, το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει 162 ακμές οι οποίες δεν εμφανίζονται σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας ούτε και στο δίκτυο Υγιών, το δίκτυο Avonex 102 και το δίκτυο Rebif 61 ακμές αντίστοιχα. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών με θεραπεία Betaseron γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 12**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και ασθενών ΜΘ. Το ελάχιστο Σ.Μ.Κ.Α παρουσιάζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και υποδεικνύει ομοιότητα της τάξης του 68% σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 278 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Υγιών τη χρονική στιγμή T1. Τα ακόλουθα 29 γονίδια ANKFY1, APOBEC3A, APOL6, BATF2, BST2, C9orf91, CCL2, CCL8, CD274, CEACAM1, CNP, DRAP1, FAM46A, GALM, GRAMD1B, IFITM1, ISG20, MAFB, MOV10, MX2, PIK3AP1, PML, RIN2, SAMD9, SOCS1, TNFAIP6, TNFSF10, TOR1B, TRIM21 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών. Ιδιαίτερα τα **CCL8, GALM** και **MAFB** χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας.

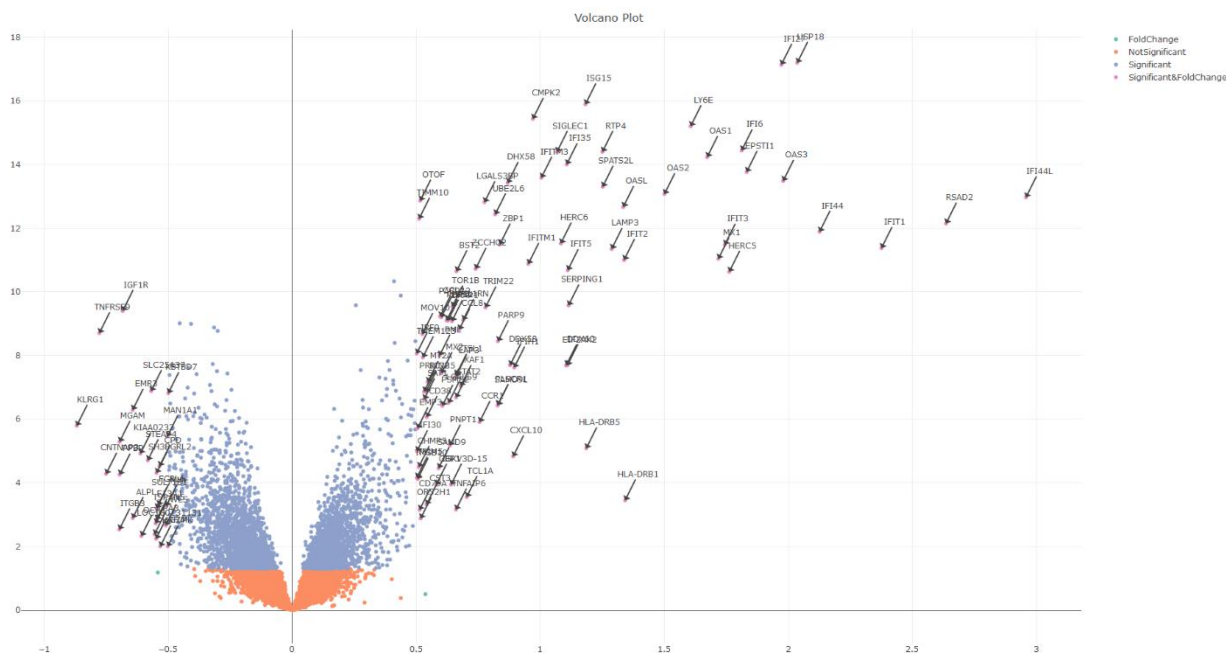
Επιπρόσθετα, τα ANKRD22, CHMP5, MAP2K6, TMEM62 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BEND2, CD300E, CYBB, GZMK, H2AFZ, HINT1, KIAA0232, KLRB1, MICALCL, MYOF, PGLYRP1, RPL7, SLC25A37, SLC45A4, SULT1B1, TARP, TNFRSF9, ZNF117 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif–Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα AP2S1, C3AR1, CCRL2, CD14, CPD, CSTA, DHRS9, FAU, FFAR2, GPR109A, GPX4, GRAMD1C, HBD, HBM, HRH4, IFI30, IL1R2, KBTBD7, MICAL2, MME, MMRN1, MT1DP, MT1G, MT1L, NAGK, NEXN, PDE5A, PLCB1, PRDX6, RAB27B, RPL9, RPS10, RPS26, S100A12, SAT1, SELL, SERPINB9, SLC38A5, STEAP4, TAS2R46, TESC, TMEM176A, TMEM176B, TMSB10, TRAPPC5, UBA52, VNN3 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron– Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα APOL1, CXorf21, OTOF, TLR7, TMEM123, TRIM14, TTC26, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Avonex– Υγιών και ΜΘ Rebif – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron–Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ACOT9,

ADAR, AIM2, BLVRA, CASP1, CSRNP1, DOCK4, DYNLT1, ETV7, FRMD3, IDO1, IFITM3, SLFN12, TAP2, TFEC, TMEM140, TNFSF13B, ZNF1X1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα CASP5, CCDC125, CCR1, CD2AP, CHMP2A, COX6B1, CST3, DUSP5, DYNLL1, EFHC2, FAM198B, FGD2, HCST, JUP, LGALS1, LGALS3BP, LGALS9, LGALS9C, LY86, NFXL1, NPC2, PIGX, PRDX5, PSMB9, PSME2, RARRES3, SESN1, SHISA5, TCN2, TIMM10, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.3.2.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 114 ΔΕΓ, 27 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 87 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο Σχήμα 38 παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 38: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T2-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Υγιών. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστηριότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Υγιών φέρει 110 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1167. Και οι 110 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως,

μόνο οι 762 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 405 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 277 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 182 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 46 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOL1, BATF2, BST2, CASP5, CCL2, CCL8, CCR1, CD274, CD300E, CXorf21, CYBB, DUSP5, DYNLL1, EFHC2, FAM198B, FGD2, GALM, GRAMD1B, GZMK, H2AFZ, HINT1, IFITM1, JUP, KIAA0232, KLRB1, MAFB, MICALCL, NFXL1, PGLYRP1, PIGX, PRDX5, PSMB9, RARRES3, RPL7, SESN1, SHISA5, SLC25A37, SLC45A4, TARP, TIMM10, TLR7, TNFAIP6, TRIM21, TTC26, XAF1, ZNF117. Το **JUP** χάνει 15 γείτονες και τα **MAFB**, **SHISA5** χάνουν 10 γείτονες ενώ τα υπόλοιπα γονίδια από 1 έως 6 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.
- 55 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των υγιών συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των ασθενών: OTOF, ISG20, APOBEC3A, CCDC125, LGALS9, TCN2, RIN2, CNP, DRAP1, FBXO6, LGALS9C, NTNG2, SULT1B1, LGALS3BP, TRIM14, CMPK2, MOV10, ANKFY1, C9orf91, CST3, FAM46A, HCST, IRF7, LGALS1, MIA3, PSME2, SAMD9, ZNF684, PIK3AP1, C19orf66, SOCS1, UNC93B1, COX6B1, TYMP, SIGLEC1, PLSCR1, PML, TNFSF10, TOR1B, APOL6, BEND2, CD2AP, CEACAM1, CHMP2A, DHX58, GBP1, IRF9, LY86, MX2, MYOF, NMI, NPC2, PPBP, TMEM123, TNFRSF9. Τα **OTOF**, **LGALS9C**, **CNP**, **LGALS9**, **DHX58**, **TRIM14**, **MOV10** χάνουν περισσότερους από 15 γείτονες στο δίκτυο των υγιών. Οι 8 από τις 18 ακμές του DHX58 αναφέρονται στην βιβλιογραφία και ως PPI.
- Οι υπόλοιποι 81 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: PRIC285, UBE2L6, RNF213, MT1X, UXT, ZBP1, ATP5J2, GSTP1, PSMB3, SERPING1, RPL18AP3, FTSJD2, SPATS2L, CXCL10, EMP3, NUB1, STRADB, TRIM22, PGAP1, SCARB2, SP140, STAT1, TIMP1, RTP4, IFIT5, RPL18, RPLP2, ISG15, TRAFD1, PNPT1, TDRD7, IFIT2, IFI35, RPL36A, GYPB, IFI6, KIAA1109, MT1F, LY6E, STAT2, USP18, C14orf45, DNAJC6, IGF2BP2, PLEK2, PTP4A1, OASL, PARP12, OAS3, OAS1, RPL35, MT2A, SP110, IFIT3, LAMP3, HERC6, BPGM, C12orf57, EIF2AK1, GBP4, DTX3L, GYPC, SPARC, TSPAN5, IFIT1, LAP3, NME2, MX1, DDX58, RPS5, OAS2, RPS15, RPS17, IFI44L, IFI16, MKRN1, SAMD9L, DDX60, IFI44, EPSTI1, RSAD2. Τα **SPATS2L**, **UBE2L6** και **ZBP1** χάνουν παραπάνω από 10 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.317149569** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 68% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ.

7.3.2.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 190 ΔΕΓ, 18 από τα οποία ρυθμίζουν

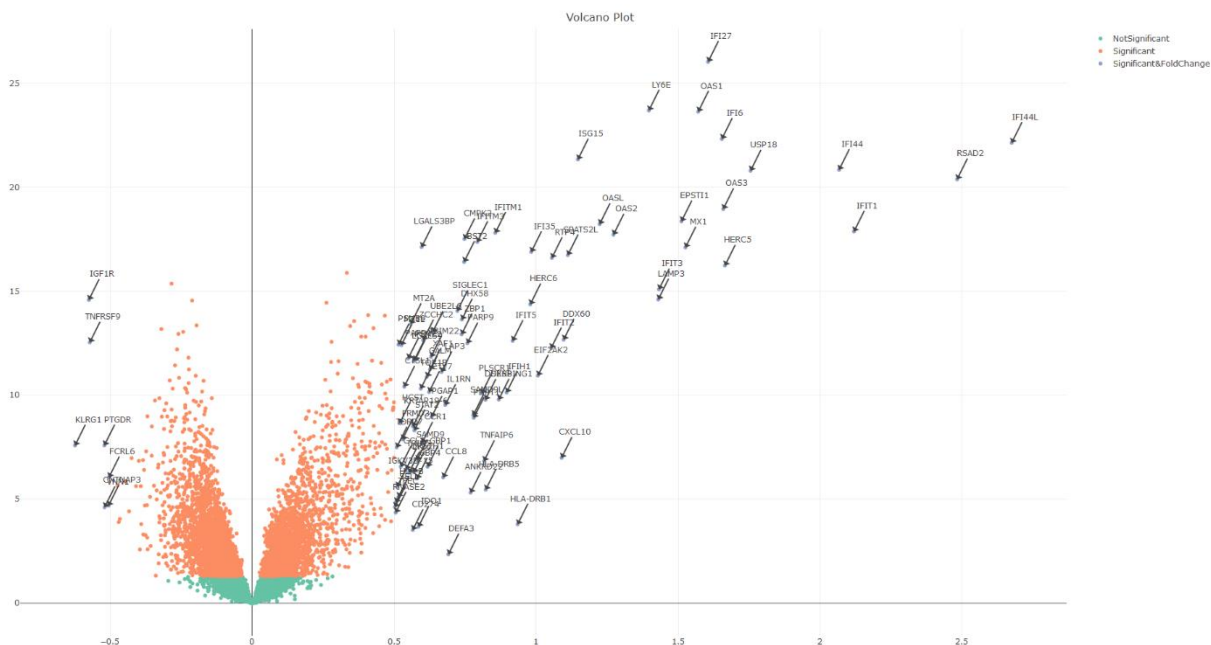
κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 13 γείτονες στο δίκτυο των ασθενών και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των υγιών.

- 94 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των Υγιών συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ: FAM46A, CCL2, PSMB9, DYNLT1, S100A12, CNP, CSTA, ISG20, NMI, PSME2, BST2, RARRES3, TFEC, IFITM1, DRAP1, TNFAIP6, MT1G, CHMP2A, LGALS1, DOCK4, NPC2, AP2S1, CST3, GBP3, GRAMD1B, IL1RN, NT5C3, TNFSF10, CMPK2, COX6B1, DHX58, BATF2, MT2A, MT1X, ISG15, ACOT9, C12orf57, GBP4, IFI35, KIAA1109, LY86, MT1L, RPS10, SAMD9, SCARB2, STAT2, TMEM176A, TRAPPC5, FTSJD2, IRF7, MT1DP, UNC93B1, MOV10, PML, SP140, IFI6, ADAR, GBP1, LGALS9, MX2, UBE2L6, FAU, HCST, SPATS2L, APOL6, ATP5J2, CPD, ETV7, FRMD3, HBD, HBM, IL1R2, LAP3, LGALS9C, MME, MMRN1, MT1F, PDE5A, PSMB3, RAB27B, RPL9, RPS5, SERPING1, SLC38A5, SOCS1, STAT1, STEAP4, TESC, TMEM176B, TMSB10, TOR1B, TRAFD1, VNN3, ZBP1. Τα **IFI35, IFITM1, DHX58, FAM46A, PSME2** χάνουν από 15 έως 18 γείτονες στο δίκτυο των Υγιών.
- Οι υπόλοιποι 61 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: LAMP3, PARP9, PLSCR1, NUB1, RPS15, OASL, GSTP1, TYMP, SP110, PARP12, RTP4, PNPT1, LY6E, C19orf66, EMP3, AIF1, EMR3, EPB41, FBXO6, MYL4, PDZK1IP1, PPBP, PYGL, HERC5, DTX3L, PSMF1, C1GALT1, MIA3, PROS1, EPSTI1, ZCCHC2, USP18, MX1, OAS3, GUK1, RPLP2, NME2, F13A1, RPS17, RSAD2, HERC6, IFIH1, IFI44, CA1, SAMD9L, IFIT2, RAB2B, EPB42, RPL21P28, DDX60, IFI16, SP100, BLVRB, DPM2, OSBP2, EIF2AK2, IFIT3, OAS1, RBM38, IFI44L, BCL2L1, IFIT1. Το **PARP9** χάνει 11 γείτονες στο δίκτυο των Υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.429513603** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 57% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.2.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Υγιείς τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα υγιών και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 92 ΔΕΓ, 7 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 85 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση με τους Υγιείς. Στο **Σχήμα 40** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 40: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2-Υγιών

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Υγιών φέρει 109 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 1821. Οι 109 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 1071 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των ασθενών παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Υγιών ενώ οι υπόλοιπες 750 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 322 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 137 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 15 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: APOBEC3A, BLVRA, CCL8, CSRNP1, CXorf21, DRAP1, GALM, GRAMD1B, IDO1, IFITM1, IFITM3, ISG20, MAFB, OTOF, TMEM140. Το **GALM** παρουσιάζει 22 γείτονες, το GRAMD1B 17 και τα CSRNP1, CXorf21 16 γείτονες στο δίκτυο ασθενών ενώ στο δίκτυο υγιών κανέναν. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 5 γείτονες στο δίκτυο των ασθενών και είναι επίσης αποκλεισμένοι στο δίκτυο των υγιών.
- 54 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο υγιών συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο ασθενών: CCL2, C9orf91, TTC26, TNFSF13B, ZNF684, IL1RN, CNP, DOCK4, TMEM123, RIN2, CD274, ADAR, DYNLT1, FAM46A, TAP2, CEACAM1, MAP2K6, ACOT9, PIK3AP1, TNFAIP6, ANKFY1, TFEC, BATF2, SOCS1, TLR7, APOL1, FBXO6, CXCL10, CASP1, ETV7, AIM2, MOV10, BST2, TMEM62, TOR1B, ZNFX1, TRIM21, MX2, TRAFD1, FRMD3, TRIM14, SPATS2L, TNFSF10, ISG15, FTSJD2, SAMD9, SP110, SP140, APOL6, NUB1, ANKRD22, CHMP5, PML, SLFN12. Η πλειοψηφία των παραπάνω κόμβων χάνει από 10 έως 51 γείτονες στο δίκτυο των υγιών. Ιδιαίτερα τα **IL1RN**,

TOR1B, SPATS2L, C9orf91 και **TRAFD1** χάνουν 51,41,36,35 και 30 γείτονες αντίστοιχα.

- Οι υπόλοιποι 68 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TDRD7, TRIM5, NT5C3, TRIM6, PNPT1, CMPK2, ZBP1, GBP1, RNF213, C1GALT1, GCH1, LAMP3, MIA3, NTNG2, PHF11, PPM1K, PARP11, DHX58, STAT1, C19orf66, GBP3, GBP5, IRF9, PRIC285, PARP12, PLSCR1, DTX3L, GBP4, RTP4, DDX58, NMI, PTP4A1, STAT2, IFIH1, LAP3, PARP9, IFI35, UBE2L6, EIF2AK2, UNC93B1, IRF7, TRIM22, IFI6, GPD2, OASL, IFI16, IFIT2, IFIT5, SIGLEC1, SERPING1, OAS2, USP18, SCARB2, HERC6, HERC5, ZCCHC2, SAMD9L, SP100, IFI44, OAS3, DDX60, MX1, IFIT1, IFIT3, OAS1, RSAD2, EPSTI1, IFI44L. Ιδιαίτερα τα **TDRD7, TRIM5, LAMP3, ZBP1** χάνουν από 20 έως 34 γείτονες στο δίκτυο των υγιών.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.388601036** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 61% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ.

7.3.3 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με κάποια θεραπεία και των ασθενών που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΧΘ, των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI27, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, σχεδόν τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς ΧΘ αλλά και σε σχέση με τους Υγιείς όπως είδαμε παραπάνω. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS2, DDX60, IFIT2, IFIT3, OASL, LY6E, IFI6, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, PNPT1, ISG15, PLSCR1, TRIM22, ZBP1, CMPK2, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες σε σχέση με τους ασθενείς που δεν υποβάλλονται σε καμία θεραπεία.

Η ακμή GBP5-STAT1 εμφανίζεται στο δίκτυο ασθενών ΧΘ, στο δίκτυο Υγιών καθώς και στο δίκτυο ΜΘ Avonex ενώ απουσιάζει από τα άλλα δύο δίκτυα θεραπείας. Επιπλέον, η ακμή BSG-TMOD1 εμφανίζεται στο δίκτυο ασθενών ΧΘ, στο δίκτυο Υγιών καθώς και στα δίκτυα ΜΘ Avonex και ΜΘ Betaseron ενώ απουσιάζει από το δίκτυο θεραπείας Rebif. Η ακμή C22orf13-GPR146 εμφανίζεται στο δίκτυο ασθενών ΧΘ, στο δίκτυο Υγιών καθώς και στα δίκτυα ΜΘ Avonex και ΜΘ Rebif ενώ απουσιάζει από το δίκτυο θεραπείας Betaseron.

Από την άλλη πλευρά, 36 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας με IFN ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο ΧΘ. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι οι 12 από αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών. Επιπλέον, 152 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο, 56 ακμές μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο και 106 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Avonex. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των ασθενών ΧΘ παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών με θεραπεία

Betaseron γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 12**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T2 το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών ανάμεσα στα άλλα δίκτυα θεραπείας τόσο στην σύγκριση με του Υγιείς όσο και στην σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ.

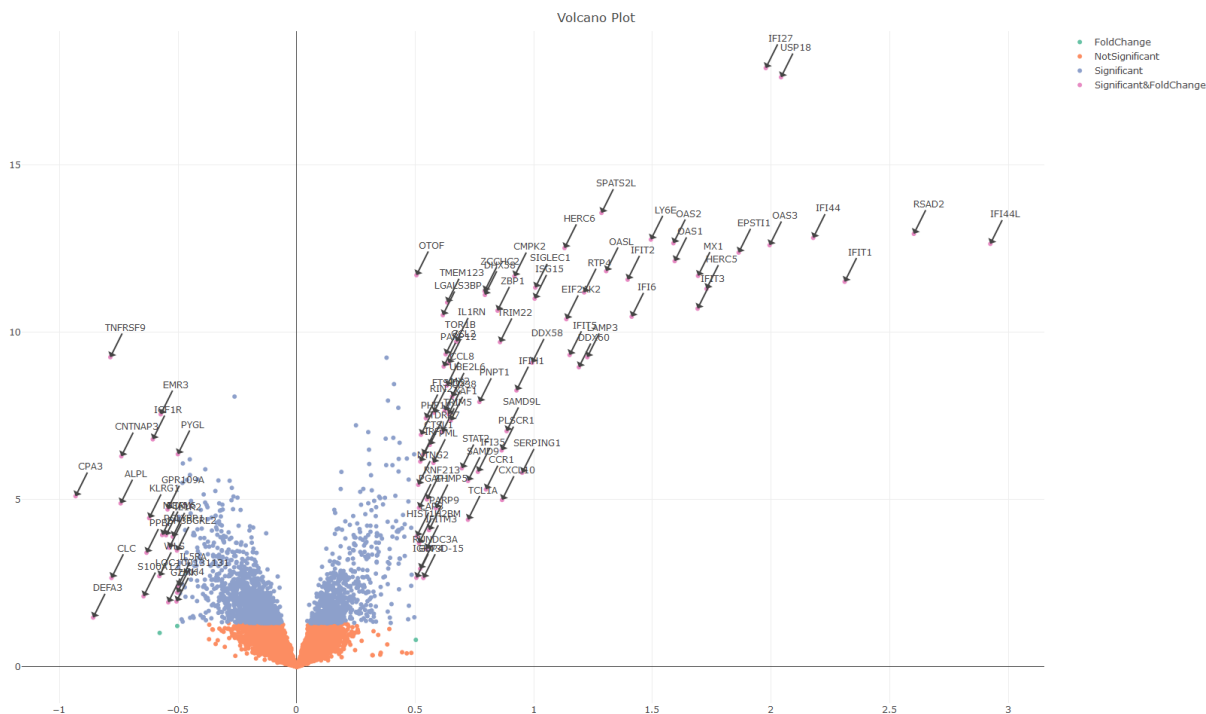
Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 308 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ τη χρονική στιγμή T2. Τα ακόλουθα 35 γονίδια AIM2, ANKFY1, APOBEC3A, BATF2, BST2, C19orf66, C1GALT1, CCL2, CCL8, CEACAM1, CMPK2, CNP, DHX58, DRAP1, FAM46A, FTSJD2, GALM, IL1RN, IRF7, ISG15, ISG20, LAP3, MAFB, NMI, RIN2, SAMD9, SIGLEC1, SOCS1, TNFAIP6, TNFSF10, TOR1B, TRIM21, UBE2L6, UNC93B1, ZBP1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΜΘ. Ιδιαίτερα τα APOBEC3A, BST2, CCL2, CCL8, CNP, FAM46A, ISG20, MAFB και SOCS1 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας.

Επιπρόσθετα, τα ANKRD22, CHMP5, GCH1, MAP2K6, PPM1K, TAP2, TMEM62, TRIM6 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BEND2, CD300E, CD79A, FAM198B, FBXO9, GYPB, H2AFZ, HINT1, IGF2BP2, KIAA0232, KLRB1, MAN1A1, MICALCL, NRG1, PGLYRP1, PLEK2, RPL7, SLC25A37, SLC45A4, SULT1B1, TARP, TCL1A, TCP11L2, TNFRSF9 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα C19orf62, C3AR1, CA1, CASP5, CCRL2, CD14, CHMP2A, CSTA, DHRS9, EMR3, FFAR2, HBD, HBM, HRH4, IFI30, IFITM3, KBTBD7, LY86, MMRN1, MT1DP, MT1G, MT1L, NAGK, NEXN, PDE5A, PLCB1, PRDX6, PSMB9, PYGL, RAB27B, RAD23A, RPL9, S100A12, SAT1, SELL, SLC1A5, SLC38A5, STEAP4, TAS2R46, TESC, TMEM111, TMEM176A, TMEM176B, TMSB10, TRAPPC5, TSPAN7, UBA52, VNN3 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα APOL1, CXorf21, NTNG2, OTOF, PTP4A1, TLR7, TMEM123, TRIM14, TTC26, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ACOT9, BLVRA, CASP1, CSRNP1, DOCK4, DYNLT1, GBP3, IDO1, NT5C3, PARP11, PARP9, PHF11, SLFN12, TMEM140, TNFSF13B παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΧΘ ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΧΘ το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα C14orf45, CCDC125, CCR1, CPD, CST3, DUSP5, EFHC2, FGD2, GBP5, GRAMD1C, FITM1, IL1R2, IRF9, JUP, KIAA1109, LGALS3BP, LGALS9, LGALS9C, LOC100131131, MGAM, MICAL2, MME, NFXL1, PIGX, PPBP, PRDX5, SESN1, SHISA5, TCN2, TIMM10, XAF1 παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών και ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.3.3.1 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 97 ΔΕΓ, 23 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 74 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τους ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 41** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 41: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif - Ασθενών ΧΘ στο T2

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, αξίζει να αναφέρουμε ότι σε όλα τα δίκτυα των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται αρκετά περισσότερες ακμές σε σχέση με το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποτελεί η δραστικότητα της θεραπείας στα επίπεδα ρύθμισης συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση όπως τα ISGs. Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 87 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1146. Οι 85 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών ενώ οι ακμές BSG-TMOD1, GBP5-STAT1 απουσιάζουν από το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται και στο δίκτυο των Υγιών γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με τις παρενέργειες της θεραπείας Rebif στους ασθενείς που την έλαβαν. Αντιθέτως, μόνο οι 640 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 506 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 265 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 194 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

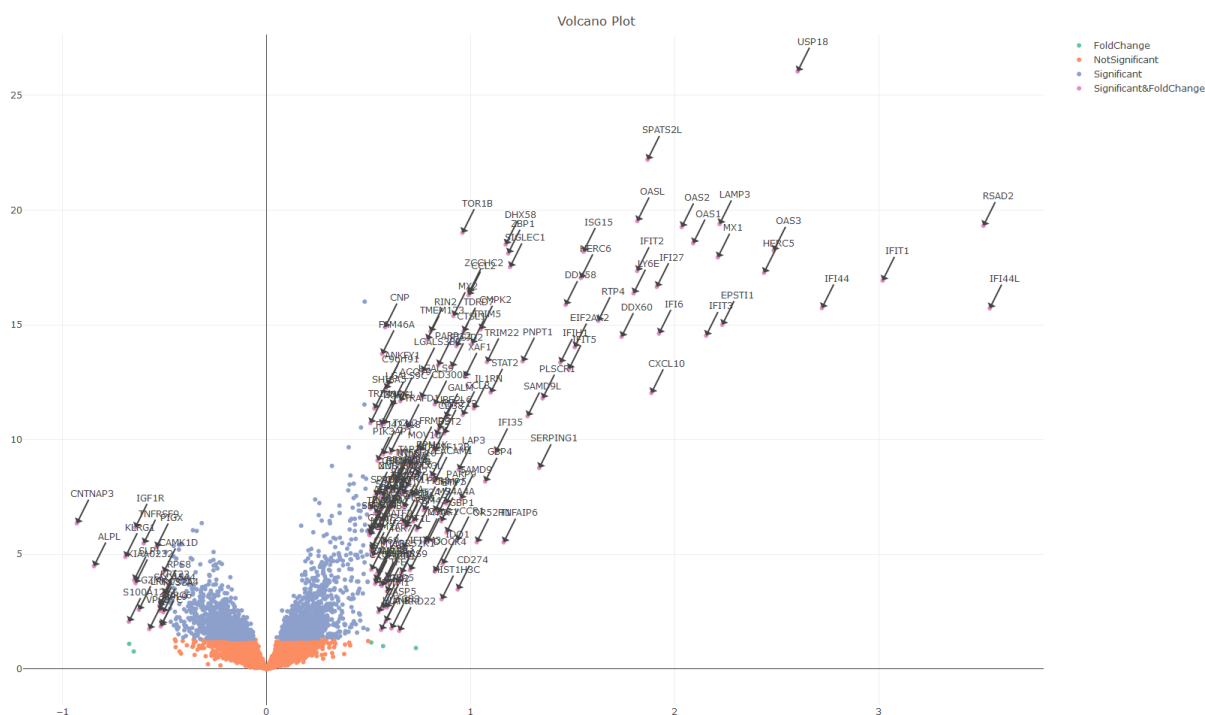
- 58 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: AIM2, APOBEC3A, BST2, CCL2, CCL8, CCR1, CD300E, CD79A, CEACAM1, CNP, CPD, CXorf21, DUSP5, EFHC2, FAM198B, FAM46A, FGD2, GALM, GRAMD1C, H2AFZ, HINT1, IL1R2, IL1RN, ISG15, ISG20, JUP, KIAA0232, KIAA1109, KLRB1, LGALS3BP, LOC100131131, MAFB, MAN1A1, MICALCL, NFXL1, NMI, NRG1, PGLYRP1, PIGX, PRDX5, PTP4A1, RPL7, SESN1, SHISA5, SLC14A1, SLC25A37, SLC45A4, SOCS1, TARP, TCL1A, TCP11L2, TIMM10, TLR7, TNFAIP6, TNFRSF9, TRIM21, XAF1, ZNF684. Το **CNP** χάνει 27, το **APOBEC3A** χάνει 16, το **JUP** χάνει 15 και τα **MAFB** και **SHISA5** χάνουν 10 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ.
- 61 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebiif: OTOF, UNC93B1, TRIM14, TOR1B, LGALS9C, RIN2, LGALS9, FBXO6, IRF7, TYMP, NTNG2, CCDC125, TCN2, CMPK2, SIGLEC1, C19orf66, C14orf45, CD2AP, DHX58, SULT1B1, BATF2, GYPB, PLEK2, TMEM123, MOV10, UBE2L6, LAP3, FTSJD2, ANKFY1, APOL1, CST3, IFITM1, SAMD9, TTC26, ZBP1, PRIC285, RTP4, MX2, TNFSF10, LY6E, C1GALT1, DRAP1, IGF2BP2, MIA3, IFIT5, PML, OASL, IFI35, TMOD1, GRAMD1B, APOL6, PPBP, ZNFX1, BEND2, CD274, FBXO9, GBP5, IRF9, MGAM, MICAL2, MME. Τα TMOD1 και BSG συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ όχι. Τα **DHX58**, **LGALS9C**, **OTOF**, **UNC93B1**, **ZBP1**, **TRIM14**, **LGALS9**, **TOR1B** χάνουν από 20 έως 28 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- Οι υπόλοιποι 75 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: RNF213, PLSCR1, USP18, EIF2AK1, PARP12, C20orf108, DNAJC6, SERPING1, CXCL10, MT1X, NUB1, STRADB, XK, HERC6, PNPT1, OAS1, IFIT2, OAS2, C9orf91, FECH, PGAP1, PSME2, SCARB2, TRIM5, STAT2, RPL36A, BPGM, GBP4, TRAFD1, TRIM22, LAMP3, PIK3AP1, BSG, C1orf128, EPB41, GBP1, GPR146, IFI6, RPS7, SP100, SPATS2L, MX1, OAS3, FAM46C, IFIT3, IFIT1, MT2A, STAT1, IFI44L, RPS5, SPARC, UXT, IFI16, HAGH, OSBP2, TSPAN5, TRIM58, RPL18, ZCCHC2, DTX3L, EMP3, GMPR, GSPT1, MARCH8, HERC5, EPSTI1, MKRN1, TDRD7, RPS8, RPLP2, IFI44, EIF2AK2, DDX60, SAMD9L, RSAD2. Το **USP18** χάνει 16 γείτονες, το **IFIT2** χάνει 12 γείτονες, τα **PARP12**, **OAS1** χάνουν 11 γείτονες και τα **RNF213** και **OAS2** χάνουν 10 γείτονες αντίστοιχα στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.412003244** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 59% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.3.2 Ασθενείς ΜΘ Betaseron – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 174 ΔΕΓ, 19 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 155 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 42** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value}$

< 0.05 και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 42: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 92 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron 1083. Από τις 92 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Υγιών, οι 90 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών, ενώ οι C22orf13-GPR146 και GBP5_STAT1 απουσιάζουν από αυτό. Μάλιστα, και οι δύο ακμές εμφανίζονται στο δίκτυο Υγιών και στο δίκτυο Anonex ενώ η ακμή GBP5_STAT1 απουσιάζει και από το Rebif όπως είδαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Αντιθέτως, μόνο οι 671 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 569 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 217 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 242 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 78 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: ACOT9, ANKFY1, APOBEC3A, BLVRA, BST2, C3AR1, C9orf91, CASP1, CCDC125, CCL2, CCL8, CCR1, CCRL2, CD14, CEACAM1, CNP, CSRNP1, CXCL10, DHRS9, DUSP5, DYNLT1, EFHC2, EMR3, FAM46A, FGD2, GBP3, GPD2, GPR146, GRAMD1C, HBD, HRH4, IDO1, IFI30, IL1R2, IRF9, ISG20, JUP, KBTBD7, KIAA1109, LAP3, LGALS3BP, LOC100131131, MAFB, MGAM, MICAL2, NEXN, NFXL1, PARP11, PHF11, PIGX, PIK3AP1, PLCB1, PRDX5, PRDX6, RAB27B, RIN2, RPL9, SAT1, SELL, SESN1, SIGLEC1, SLC1A5, SLFN12, SOCS1, STEAP4, TAS2R46, TCN2, TIMM10, TMEM111, TNFAIP6, TNFSF13B, TOR1B, TRIM21, TSPAN7, UBA52,

VNN3, XAF1, ZNFX1. Το C19orf62 συνδέεται μόνο με το DPM2 στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron είναι πλήρως αποκλεισμένος. Το GPR146 συνδέεται μόνο με C22orf13 στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ στο άλλο δίκτυο είναι αποκλεισμένο. Το **CCL8** παρουσιάζει 17 γείτονες, τα **BST2** και **FAM46A** 16 γείτονες και το **CCL2** 15 γείτονες αντίστοιχα, στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν.

- 85 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: IFI35, DHX58, PARP9, NAGK, NT5C3, ISG15, CMPK2, IFI6, IL1RN, IRF7, SAMD9, GALM, LAMP3, IFITM1, UBE2L6, TNFSF10, PSME2, OASL, PSMB9, UNC93B1, MT1G, FTSJD2, IFITM3, MT2A, DRAP1, S100A12, MT1L, SHISA5, DOCK4, MT1DP, CSTA, NMI, PLSCR1, RTP4, C19orf66, RAD23A, ZBP1, MT1X, AIM2, CA1, SERPING1, LY6E, BATF2, STAT1, TYMP, C14orf45, TMEM176A, TRAPPC5, ZCCHC2, MOV10, SP140, C1GALT1, CPD, TMEM140, ADAR, LGALS9, CHMP2A, LY86, SCARB2, TMSB10, BPGM, CASP5, FBXO6, GBP4, PPBP, PYGL, RPL36A, STAT2, CD274, CST3, GRAMD1B, LGALS9C, TMEM176B, APOL6, C19orf62, CD2AP, FFAR2, GBP5, GMPR, HBM, MME, MMRN1, PDE5A, SLC38A5, TESC. Το GBP5 συνδέεται με 2 κόμβους στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ εκ των οποίων ο ένας (STAT1) απουσιάζει από το άλλο δίκτυο. Τα **IFI35**, **DHX58** και **PARP9** χάνουν 23, 21 και 20 γείτονες, αντίστοιχα, στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.
- Οι υπόλοιποι 79 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: MX1, HERC5, PARP12, HERC6, NUB1, IFIH1, RAB2B, PNPT1, SPATS2L, USP18, SAMD9L, RPS15, BLVRB, COX6B1, SP110, OAS3, TMOD1, DDX60, IFI44, RPS5, AP2S1, HCST, MT1F, NPC2, DTX3L, OSBP2, EPSTI1, IFIT2, IFI16, FECH, C22orf13, RSAD2, GBP1, MX2, PROS1, DDX58, TFEC, EPB42, PML, FAU, SP100, PSMF1, C20orf108, EIF2AK2, OAS2, IFIT3, MXI1, RBM38, LGALS1, IFIT1, AIF1, EPB41, GPX4, GUK1, MYL4, PDZK1IP1, RPS10, ARHGEF12, ETV7, FRMD3, ITGB3, MIA3, XK, ATP5J2, F13A1, GATA1, GLRX5, PSMB3, WDR45, SLC14A1, EMP3, CDC34, DPM2, FAM46C, NME2, OAS1, IFI44L, BCL2L1, BSG. Το **MX1** και **HERC5** χάνουν 11 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ σε σχέση με εκείνο των Ασθενών ΜΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.485957447** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 51% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.3.3 Ασθενείς ΜΘ Avonex – Ασθενείς ΧΘ τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΧΘ και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 78 ΔΕΓ, 8 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 70 υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Avonex σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΧΘ. Στο **Σχήμα 43** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με πορτοκαλί χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$ και με πράσινο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 43: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2 - Ασθενών ΧΘ

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ φέρει 91 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 1817. Όλες οι ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των ασθενών. Αντιθέτως, μόνο οι 912 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ οι υπόλοιπες 905 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 321 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 138 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 23 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: **DYNLT1**, **CCL2**, **CNP**, **CSRNP1**, **CXorf21**, **ISG15**, **FAM46A**, **TNFSF13B**, **PTP4A1**, **ZNF684**, **BST2**, **PHF11**, **TMEM140**, **CCL8**, **SOCS1**, **ISG20**, **CHMP5**, **IDO1**, **APOBEC3A**, **BLVRA**, **DRAP1**, **MAFB**, **OTOF**. Τα **DYNLT1**, **CCL2** και το **CNP** παρουσιάζουν 28,25 και 17 γείτονες αντίστοιχα στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ ενώ στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ κανέναν. Τα

CSRNP1, CXorf21, ISG15 επίσης χάνουν και τις 16 ακμές τους στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ.

- 66 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο δίκτυο Ασθενών ΜΘ: TOR1B, IL1RN, TDRD7, TRIM5, ACOT9, ZBP1, LAMP3, ZNFX1, TRAFD1, OASL, MX2, TNFSF10, FTSJD2, CEACAM1, RIN2, APOL6, MAP2K6, DHX58, TTC26, ANKFY1, LAP3, C9orf91, GALM, CD274, AIM2, UBE2L6, SP110, TMEM123, PARP9, ETV7, APOL1, GBP3, PARP11, BATF2, RTP4, TNFAIP6, TAP2, FRMD3, NT5C3, UNC93B1, SIGLEC1, IFI35, TRIM21, NMI, CMPK2, GRAMD1B, TMEM62, TRIM14, SAMD9, TRIM6, C19orf66, TFEC, IRF7, CASP1, DOCK4, MIA3, LY6E, C1GALT1, GCH1, SLFN12, NTNG2, PPM1K, TLR7, TYMP, ANKRD22, CD2AP. Η πλειοψηφία των παραπάνω κόμβων χάνει από 10 έως 58 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ. Ιδιαίτερα τα **TOR1B, IL1RN, TDRD7, TRIM5, ACOT9, ZBP1, LAMP3** χάνουν περισσότερους από 30 γείτονες αντίστοιχα.
- Οι υπόλοιποι 49 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: USP18, SPATS2L, IFIH1, DDX58, STAT2, HERC6, NUB1, PNPT1, EIF2AK2, MX1, DTX3L, CXCL10, PARP12, OAS2, PIK3AP1, GBP1, ZCCHC2, IFI16, IFIT2, SP140, STAT1, MOV10, PLSCR1, IFIT5, SAMD9L, HERC5, PML, RNF213, GBP4, TRIM22, DDX60, SCARB2, FBXO6, IFI6, PRIC285, SP100, IFIT3, OAS1, IFI44, IFIT1, ADAR, OAS3, GPD2, EPSTI1, IFI44L, RSAD2, TMOD1, FECH, SERPING1. Ιδιαίτερα τα **USP18, SPATS2L, IFIH1** χάνουν από 27, το DDX58 22, το STAT1 21 και το HERC6 20 γείτονες στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.474318658** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 53% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ.

7.3.4 Ασθενείς ΜΘ - Ασθενείς ΜΘ τη χρονική στιγμή T2

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των ασθενών με διαφορετικές θεραπείες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των ασθενών ΜΘ Avonex, των ασθενών ΜΘ Betaseron και των ασθενών ΜΘ Rebif.

Παρατηρούμε ότι τα γονίδια ALOX15, MS4A2, MS4A4A, OR52H1 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση και με τις δύο άλλες θεραπείες. Επιπλέον, τα γονίδια PPBP, ITGB3, CLEC6A ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους στους Ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τις δύο άλλες θεραπείες.

Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα και των τριών θεραπειών είναι 218. Συνολικά, 130 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Avonex και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας, 167 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας και 62 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif και σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας. Οι ακμές DYNLT1-IL1RN, ETV7-FRMD3, GBP3-NUB1, IFIH1-NT5C3 εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Avonex και Betaseron και απουσιάζουν από το Rebif και το δίκτυο των Ασθενών ΧΘ ενώ εμφανίζονται με αρκετά χαμηλό βάρος στο δίκτυο των Υγιών. Οι ακμές ATP5J2-LY86, BAG1-RBM38, EMP3-PSME2, GSTP1-NPC2, HCST-NPC2, RARRES3-RPS15

εμφανίζονται στα IBΣ δίκτυα Rebif και Betaseron και απουσιάζουν από το Avonex. Επιπλέον, 67 ακμές εμφανίζονται στα IBΣ δίκτυα Avonex και Rebif αλλά απουσιάζουν από το MBΣ δίκτυο Betaseron. Συνεπώς, αυτές οι απώλειες ακμών στο δίκτυο MΘ Betaseron πιθανώς να σχετίζονται με κάποια παρενέργεια της εν λόγω θεραπείας.

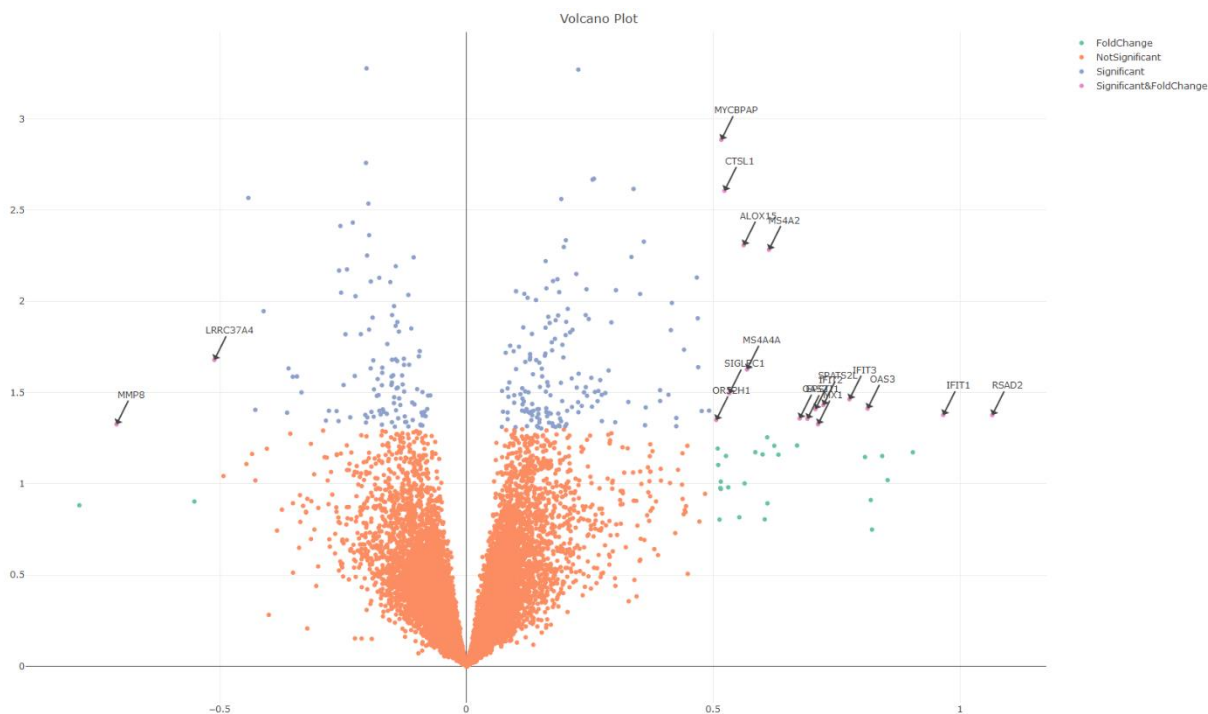
Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών MΘ Avonex και των ασθενών MΘ Rebif γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 12**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών MΘ. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T2 το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με τα άλλα δίκτυα θεραπείας.

Τα γονίδια τα οποία παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών MΘ - Ασθενών MΘ είναι 317. Τα γονίδια τα οποία παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις είναι τα CST3, DUSP5, EFHC2, FGD2, GPX4, IDO1, JUP, NFXL1, PARP11, PRDX5, SESN1, TLR7, TMSB10.

7.3.4.1 Ασθενείς MΘ Betaseron – Ασθενείς MΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα Ασθενών MΘ Betaseron και Ασθενών MΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 18 ΔΕΓ, 2 από τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους ενώ 16 υπερεκφράζονται στους ασθενείς MΘ Betaseron σε σύγκριση με τους ασθενείς MΘ Avonex. Στο **Σχήμα 44** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.

Συγκεκριμένα, τα RSAD2, SPATS2L, CTSL1, IFIT2, IFIT3, IFIT1, MS4A2, MS4A4A, OR52H1, OAS3, OAS2, EPST11, MYCBPAP, ALOX15, SIGLEC1, MX1 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς MΘ Betaseron ενώ τα MMP8 και LRRC37A4 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς MΘ Avonex.



Σχήμα 44: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron - Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 1074 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 1813. Οι 867 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron εμφανίζονται ενώ 207 ακμές απουσιάζουν από ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex. Οι ακμές αυτές απουσιάζουν και από το δίκτυο ΜΒΣ των Υγιών και σχεδόν όλες απουσιάζουν και από το δίκτυο των ασθενών ΧΘ αλλά και από το δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με την αποκλειστική επίδραση της θεραπείας Betaseron σε ορισμένες συσχετίσεις ή με πιθανές παρενέργειες της θεραπείας. Από την άλλη πλευρά, 1329 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 484 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 220 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 239 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 29 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: RNF213, SELL, GCH1, KBTBD7, CST3, GPX4, IFI30, C3AR1, DUSP5, EFHC2, HRH4, JUP, RAB27B, SESN1, SLC1A5, STEAP4, VNN3, CD14, FAM198B, GPR109A, MICAL2, NFXL1, OTOF, PGAP1, PLCB1, PRDX5, RUNDC3A, TAS2R46, UBA52. Το **RNF213** εμφανίζει 22 γείτονες, το GCH1 5 γείτονες και τα OTOF, PGAP1 από ένα γείτονα στο δίκτυο Avonex ενώ στο δίκτυο Betaseron τα γονίδια αυτά παρουσιάζονται ως αποκλεισμένα. Ο **SELL** παρουσιάζει 12 γείτονες, ο KBTBD7 5 γείτονες, ο CST3 4 γείτονες, οι GPX4, IFI30 3 γείτονες, οι C3AR1, DUSP5, EFHC2, HRH4, JUP, RAB27B, SESN1, SLC1A5, STEAP4, VNN3 2 γείτονες και οι CD14, FAM198B,

GPR109A, MICAL2, NFXL1, PLCB1, PRDX5, RUNDC3A, TAS2R46, UBA52 από ένα γείτονα στο δίκτυο Betaseron, ενώ οι κόμβοι αυτοί παρουσιάζονται ως αποκλεισμένοι στο δίκτυο Avonex.

- 57 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: ZNFX1, TRIM5, DTX3L, PIK3AP1, TRIM22, IFIT5, APOL1, PARP11, NAGK, MAP2K6, CXCL10, CCL8, TTC26, S100A12, LGALS1, TRIM6, AP2S1, CSTA, NPC2, SHISA5, CXorf21, PSME2, CASP1, TMEM62, COX6B1, CCR1, ZNF684, LY86, TMSB10, PPM1K, CHMP2A, RARRES3, TMEM176A, TRAPPC5, EMP3, FAU, ATP5J2, CD2AP, PRDX6, TLR7, FGD2, IDO1, KIAA1109, PDZK1IP1, RPL36A, RPS10, CPD, TMEM176B, ANKRD22, CHMP5, FFAR2, HBD, HBM, IL1R2, LGALS3BP, RPL9, SLC38A5. Τα **ZNFX1, TRIM5, DTX3L, PIK3AP1, TRIM22, IFIT5, APOL1** παρουσιάζουν από 20 έως και 40 ακμές στο IBΣ δίκτυο Avonex, οι οποίες απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron.
- Οι υπόλοιποι 153 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TDRD7, TRAFD1, APOL6, TOR1B, IFIH1, DDX58, STAT1, STAT2, EIF2AK2, NUB1, USP18, SPATS2L, GBP4, ANKFY1, RIN2, MX2, C9orf91, UBE2L6, OAS2, IL1RN, ACOT9, DYNLT1, DHX58, OASL, TAP2, CD274, AIM2, SP110, ZBP1, FTSJD2, MT1L, GBP1, ZCCHC2, IFI16, TNFSF10, DDX60, CSRNP1, CNP, SERPING1, GALM, PARP12, LAMP3, PSMB9, HCST, MT1G, IFITM1, SIGLEC1, TFEC, GRAMD1B, SCARB2, LAP3, TNFAIP6, SP100, ETV7, SP140, PLSCR1, PNPT1, HERC6, ADAR, IFITM3, MT1DP, PRIC285, TMEM123, TNFSF13B, GBP3, MT2A, CEACAM1, NT5C3, CCL2, IFIT2, SAMD9L, HERC5, DRAP1, ISG20, RPS5, MT1X, NMI, BST2, IRF7, PML, MOV10, IFI35, IFI44, MX1, BAG1, PTP4A1, SAT1, BLVRB, RBM38, TRIM21, BATF2, UNC93B1, FRMD3, SAMD9, FAM46A, IFI44L, IFI6, RTP4, PARP9, RSAD2, PROS1, GPD2, GSTP1, IRF9, SLFN12, GBP5, C1GALT1, NME2, OSBP2, PHF11, FBXO6, ISG15, OAS3, OAS1, AIF1, EMR3, GRAMD1C, MAFB, MYL4, PIGX, RPS8, APOBEC3A, EIF2AK1, GUK1, LGALS9C, MMRN1, PDE5A, TESC, ARHGEF12, C12orf57, EPB41, PSMB3, HMBS, RNF10, UBXN6, RAD23A, STRADB, TMEM140, CA1, PSMF1, RPLP2, TRIM14, RPL18, BSG, MIA3, RAB2B, C20orf108, DOCK4, C22orf13, FECH, CMPK2, IFIT3, EPSTI1. Οι **TDRD7, TRAFD1, APOL6, TOR1B** παρουσιάζουν από 19 έως και 29 ακμές στο IBΣ δίκτυο Avonex, οι οποίες απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.239348805** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 76% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.4.2 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Rebif και ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 5 ΔΕΓ τα οποία υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex και είναι τα PPBP, FAM198B, DEFA3, CLEC6A, ITGB3. Στο **Σχήμα 45** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 45: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T2 - Ασθενών ΜΘ Avonex

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif φέρει 1145 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex 1805. Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στο δίκτυο ΜΘ Rebif και όχι στο δίκτυο ΜΘ Avonex είναι 91 ενώ στην αντίστροφη περίπτωση 266.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 273 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 186 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 25 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: JUP, KIAA0232, EFHC2, SLC25A37, TARP, CST3, CHMP5, DYNLL1, FAM198B, H2AFZ, KLRB1, PSMB9, TNFRSF9, FGD2, GPX4, GRAMD1C, GZMK, MAN1A1, MICALCL, NFXL1, PDCD1LG2, PGLYRP1, PRDX5, SLC45A4, TMSB10. Το CHMP5 συνδέεται μόνο με IFIT5, TNFSF10 και το PDCD1LG2 συνδέεται μόνο με CD274 στο δίκτυο Avonex ενώ στο δίκτυο Rebif οι δύο αυτοί κόμβοι είναι αποκλεισμένοι. Από την άλλη, το **JUP** παρουσιάζει 15 γείτονες στο δίκτυο Rebif ενώ στο δίκτυο Avonex είναι αποκλεισμένο. Τα υπόλοιπα γονίδια συνδέονται με 1 έως 6 γείτονες στο δίκτυο Rebif ενώ στο δίκτυο Avonex με κανέναν.
- 24 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο 0.5, γεγονός που σημαίνει ότι ένα δίκτυο συνδέονται με τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: DYNLT1, CD274, MAP2K6, PARP11, SULT1B1, TFEC, CCDC125, SESN1, ADAR, EMP3, GBP5, PIGX, TMEM140, DRAP1, DUSP5, NPC2, TLR7, GPD2, LY86, PPBP, ANKRD22, BEND2, IDO1, RARRES3,. Τα **DYNLT1, CD274,**

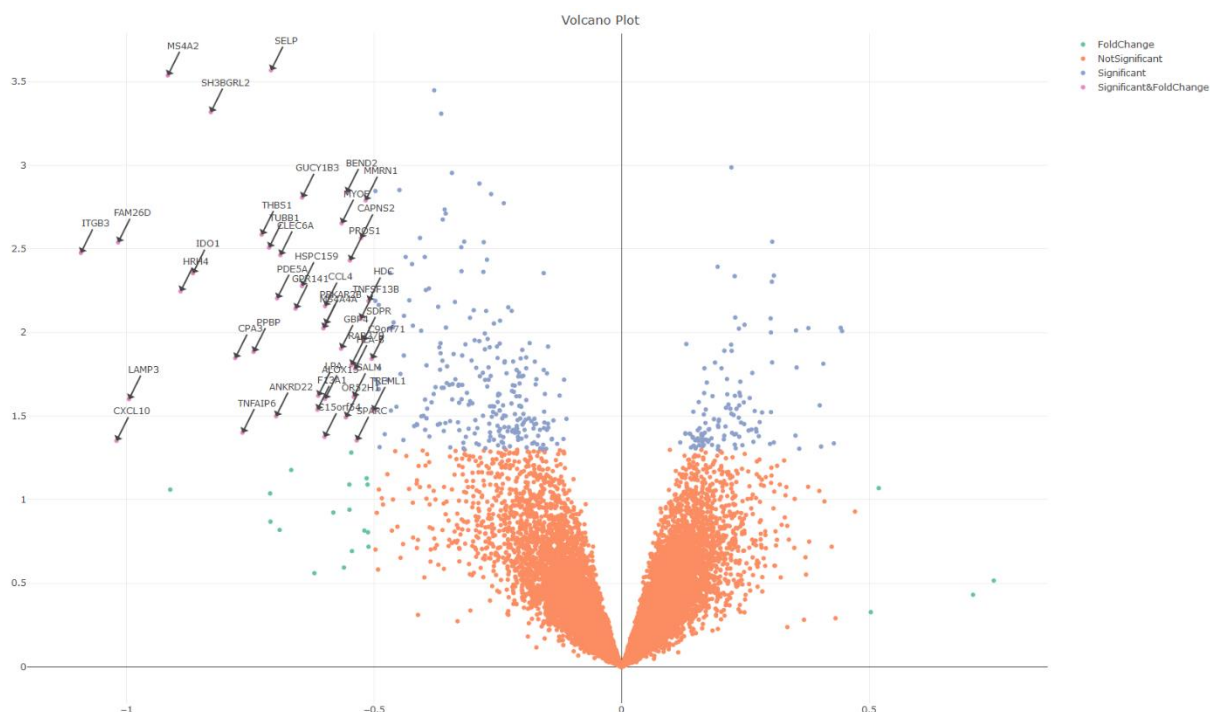
MAP2K6, PARP11 συνδέονται με 25, 20, 18, 17 γείτονες στο δίκτυο Avonex, οι οποίοι απουσιάζουν από το δίκτυο Rebif.

- Οι υπόλοιποι 137 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: DTX3L, IL1RN, TOR1B, IFIH1, TRAFD1, ACOT9, APOL1, TTC26, AIM2, ETV7, FRMD3, NUB1, ZNFX1, APOL6, GALM, TDRD7, C9orf91, DDX58, IFI16, CXCL10, EIF2AK2, SP110, SP140, TAP2, GBP1, GBP4, IRF7, SPATS2L, TNFSF10, TRIM5, TYMP, USP18, MX2, SP100, STAT1, STAT2, TNFSF13B, ZCCHC2, ANKFY1, C19orf66, CCL2, CXorf21, FBXO6, GBP3, LAMP3, NMI, PARP9, ZBP1, BATF2, CCL8, CEACAM1, CSRN1, DDX60, DOCK4, FAM46A, NT5C3, NTNG2, OASL, PHF11, PLSCR1, RIN2, SAMD9L, TMEM62, TRIM22, UNC93B1, COX6B1, FTSJD2, GCH1, GRAMD1B, GYPC, HCST, IFI35, IFIT5, LGALS9, LGALS9C, PARP12, PML, PNPT1, RPL35, RPLP2, SHISA5, SOCS1, TNFAIP6, TRIM21, APOBEC3A, ATP5J2, BAG1, C14orf45, C1GALT1, C1orf128, CASP1, CD300E, CNP, DNAJC6, EIF2AK1, EPB42, FAU, FECH, GSTP1, HERC6, IFITM1, IRF9, ISG15, LAP3, LGALS3BP, MAFB, MIA3, MKRN1, MOV10, MT1F, MT1X, MX1, NME2, OAS1, OTOF, PIK3AP1, PLEK2, PRIC285, PSME2, PTP4A1, RBM38, RNF213, RPL18AP3, RPS15, RPS17, RTP4, SCARB2, SIGLEC1, SLFN12, SPARC, TCN2, TIMP1, TMEM123, TRIM14, TSPAN5, UBE2L6, ZNF684. Τα **DTX3L, IL1RN, TOR1B, IFIH1, TRAFD1, ACOT9, APOL1, TTC26, AIM2, ETV7, FRMD3, NUB1, ZNFX1** χάνουν από 10 έως και 20 γείτονες από το δίκτυο Avonex στο δίκτυο Rebif.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.121016949** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 88% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.4.3 Ασθενείς ΜΘ Rebif – Ασθενείς ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Rebif και ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει 43 ΔΕΓ τα οποία υπερεκφράζονται στους ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σύγκριση με τους Ασθενείς ΜΘ Rebif. Στο **Σχήμα 46** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕΓ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 46: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif στο T2 - Ασθενών ΜΘ Betaseron

Εστιάζοντας στην σύγκριση δικτύων σε επίπεδο ακμών, το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron φέρει 1090 ακμές ενώ το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif 1153. Οι 772 από τις ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif ενώ οι υπόλοιπες 318 απουσιάζουν. Επιπλέον, οι 888 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron ενώ οι υπόλοιπες 265 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 167 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 292 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 49 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: SELL, S100A12, SAT1, KIAA0232, DNAJC6, PROS1, SLC25A37, ZNF1, RPS26, TARP, GPR146, MICAL2, BEND2, BLVRA, C3AR1, DHRS9, FFAR2, H2AFZ, HBD, HRH4, KLRB1, PDE5A,

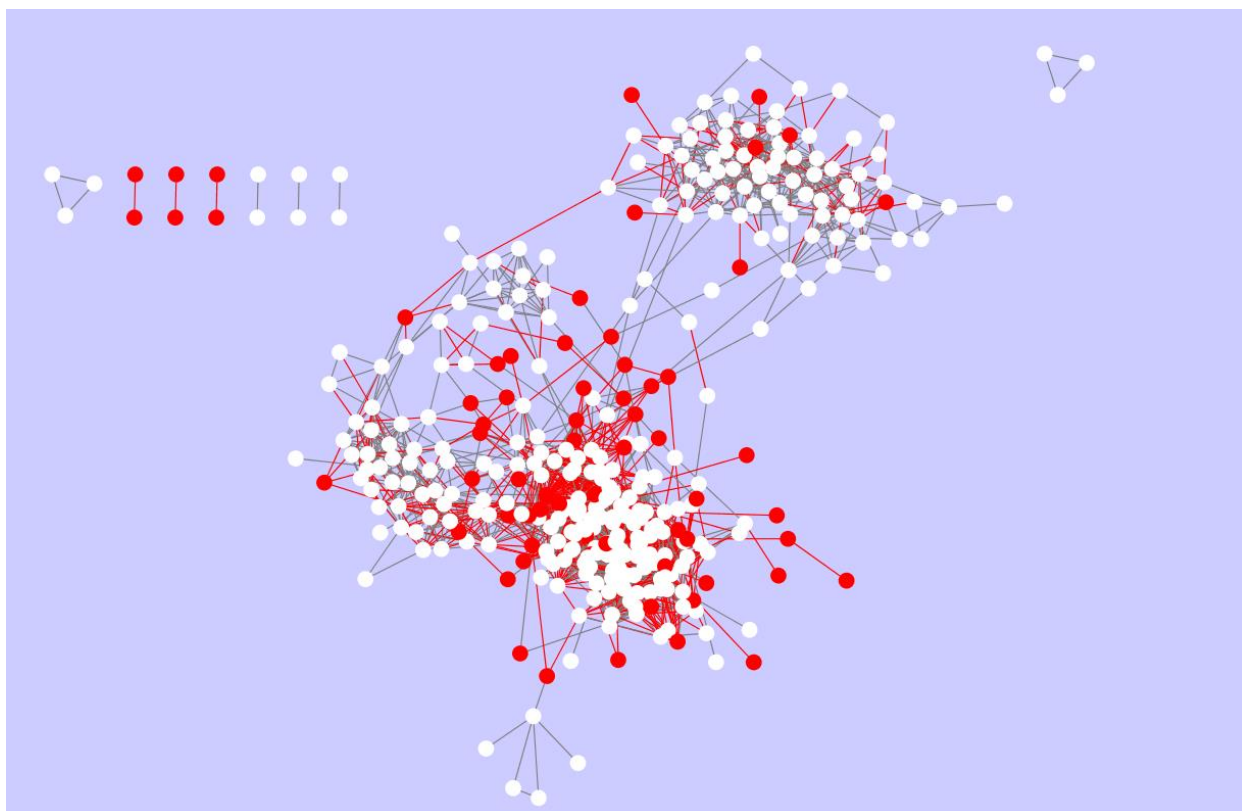
PRDX5, RAB27B, SLC1A5, STEAP4, VNN3, CASP1, CCRL2, CD14, CSRN1P1, GPR109A, GZMK, HINT1, IDO1, MICALCL, NEXN, PARP11, PLCB1, PPM1K, RPL7, SLFN12, TAP2, TAS2R46, TCP11L2, TLR7, TMEM111, TSPAN7, UBA52. Ιδιαίτερα το **SELL** παρουσιάζει 12 γείτονες και τα **S100A12**, **SAT1** 11 γείτονες στο δίκτυο Betaseron ενώ στο δίκτυο Rebif είναι αποκλεισμένοι. Οι υπόλοιποι κόμβοι παρουσιάζουν από 1 έως 6 χαμένες ακμές από το ένα ως προς το άλλο δίκτυο.

- 76 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους από τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: OTOF, RNF213, NAGK, IFIT5, NT5C3, SHISA5, TRIM22, GALM, DYNLT1, PRIC285, ANKFY1, JUP, AP2S1, BST2, MT1G, NMI, PSMB9, CSTA, RPL36A, DOCK4, PIK3AP1, TNFAIP6, GBP4, SESN1, UXT, AIM2, C12orf57, CCDC125, DUSP5, EFHC2, GRAMD1B, LGALS3BP, NTNG2, STAT1, TFEC, TRIM21, ADAR, CCR1, CD2AP, CEACAM1, CST3, GBP3, IGF2BP2, IRF9, KBTBD7, PIGX, TMEM176A, TMSB10, TRAPPC5, CD274, FGD2, KIAA1109, PHF11, PLEK2, PRDX6, PTP4A1, RPL9, TNFSF13B, CASP5, ETV7, GPX4, GYPB, IFI30, PGAP1, RPS10, TMEM123, TMEM176B, CYBB, GPD2, HBM, MAP2K3, MMRN1, MYOF, NFXL1, SLC38A5, TNFRSF9. Τα **OTOF**, **RNF213**, **IFIT5** χάνουν περισσότερους από 15 κόμβους από το δίκτυο Rebif στο δίκτυο Betaseron ενώ το **NAGK** χάνει 17 κόμβους από το δίκτυο Betaseron στο δίκτυο Rebif.
- Οι υπόλοιποι 167 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: DHX58, LGALS9, LGALS9C, OAS3, CCL8, PARP9, PML, TRIM14, TYMP, CNP, MOV10, PARP12, ZBP1, APOBEC3A, COX6B1, IRF7, MT1L, MX2, OASL, SERPING1, STAT2, UNC93B1, FTSJD2, IFITM1, RAB2B, SPATS2L, UBE2L6, C19orf66, HERC5, IFI35, IFIT2, IL1RN, MX1, OAS2, PSME2, RPS15, SIGLEC1, TRIM58, DRAP1, IFI6, IFIH1, ISG15, LGALS1, MT2A, NUB1, RIN2, RPS5, RPS8, TMOD1, USP18, ZCCHC2, ATP5J2, CCL2, CMPK2, DTX3L, IFITM3, ISG20, LAMP3, LY86, MAFB, MT1DP, MT1X, NPC2, OAS1, PNPT1, RNF10, SULT1B1, TCN2, TNFSF10, UBXLN6, BSG, C14orf45, CHMP2A, CXCL10, FBXO6, GMPR, GSPT1, HCST, IFI16, MIA3, MXI1, PPBP, RAD23A, RBM38, TOR1B, TRAFD1, ASCC2, BCL2L1, BLVRB, C1GALT1, C20orf108, C22orf13, C9orf91, CA1, CPD, EIF2AK1, EMP3, EPB41, EPB42, FAU, GBP1, GUCY1B3, GYPC, IFIT3, LAP3, MKRN1, PSMB3, PSMF1, RARRES3, RPL18, RPLP2, RSAD2, SAMD9, SP110, TDRD7, TSPAN5, XK, ACOT9, AIF1, ANK1, APOL1, ARHGEF12, BPGM, C1orf128, DCAF12, DDX58, DDX60, DPM2, DYNLL1, EIF2AK2, EMR3, EPSTI1, F13A1, FAM198B, FAM46A, FAM46C, FECH, FRMD3, GATA1, GRAMD1C, GUK1, HERC6, IFI44, IFI44L, IL1R2, ITGB3, MYL4, NME2, OSBP2, PDZK1IP1, PLSCR1, RIOK3, RPL18AP3, RPL35, SAMD9L, SDPR, SELENBP1, SELP, SOCS1, SP100, SP140, SPARC, STRADB, TESC, TMEM140, TRIM5, TTC26. Ιδιαίτερα τα **DHX58**, **LGALS9**, **LGALS9C**, **OAS3**, **CCL8**, **PARP9**, **PML**, **TRIM14**, **TYMP** παρουσιάζουν από 10 έως 14 χαμένες ακμές από το ένα ως προς το άλλο δίκτυο.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.25991975** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 74% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.3.5 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη χρονική στιγμή T2

Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις πέντε υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς χωρίς θεραπεία τη Χρονική Στιγμή T2, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη χρονική στιγμή T2, Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T2 και Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη χρονική στιγμή T2. Στο **Σχήμα 47** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T2, όπου οι κόμβοι με έντονο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τους κόμβους που είναι αποκλεισμένοι σε τουλάχιστον ένα από τα υπό μελέτη δίκτυα και οι κόκκινες ακμές τις ακμές που απουσιάζουν από τουλάχιστον ένα δίκτυο.



Σχήμα 47: ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T2

Ο **Πίνακας 13** παρουσιάζει αναλυτικά τα κορυφαία 100 γονίδια με τα υψηλότερα κανονικοποιημένα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο δίκτυο κεντρικής αναφοράς καθώς και το μη κανονικοποιημένο Dn-score. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 369.

Πίνακας 13: Dn-score για την χρονική στιγμή T2

Dn-score	# ακμών	Καν/vo Dn-score	Γονίδιο
2	1	2	CD14
2	1	2	GZMK
2	1	2	MICALCL
2	1	2	NRGN
2	1	2	PLCB1
2	1	2	TAS2R46
2	1	2	UBA52

3.122213	2	1.561106	PRDX5
1.5	1	1.5	CCRL2
1.5	1	1.5	GPR109A
1.5	1	1.5	HINT1
1.5	1	1.5	NEXN
1.5	1	1.5	PGLYRP1
1.5	1	1.5	RPL7
1.5	1	1.5	SLC45A4
2.864542	2	1.432271	NFXL1
2.828427	2	1.414214	C3AR1
2.828427	2	1.414214	H2AFZ
2.828427	2	1.414214	HRH4
2.828427	2	1.414214	KLRB1
2.592426	2	1.296213	RAB27B
2.520507	2	1.260253	STEAP4
2.520507	2	1.260253	VNN3
2.418763	2	1.209381	TNFRSF9
1.205546	1	1.205546	ZNF117
1.201868	1	1.201868	MAN1A1
2.362716	2	1.181358	HBD
2.35104	2	1.17552	CHMP5
1.154554	1	1.154554	TCP11L2
1.129592	1	1.129592	TSPAN7
3.359111	3	1.119704	IDO1
1.118789	1	1.118789	TMEM111
1.105467	1	1.105467	FLJ42418
2.209113	2	1.104557	BEND2
2.195696	2	1.097848	IL1R2
2.161922	2	1.080961	DHRS9
3.226482	3	1.075494	IFI30
2.140208	2	1.070104	FFAR2
2.100531	2	1.050266	HBM
2.02929	2	1.014645	SLC38A5
4	4	1	RPS26
3.973034	4	0.993259	FGD2
2.89967	3	0.966557	FAM198B
2.830245	3	0.943415	TMEM176B
2.755346	3	0.918449	BLVRA
3.660539	4	0.915135	PRDX6
1.794831	2	0.897415	ANKRD22
4.472136	5	0.894427	SLC25A37
4.472136	5	0.894427	TARP
2.638845	3	0.879615	MICAL2
4.309363	5	0.861873	KBTBD7
0.848728	1	0.848728	CD79A
0.848728	1	0.848728	TCL1A
4.898979	6	0.816497	KIAA0232
4.001286	5	0.800257	TMEM176A
3.176646	4	0.794161	GRAMD1C
2.356225	3	0.785408	EMR3
5.492087	7	0.784584	EFHC2
3.915724	5	0.783145	TLR7
2.349377	3	0.783126	CASP5
1.54798	2	0.77399	RUNDC3A
5.254887	7	0.750698	DUSP5
2.230236	3	0.743412	AIF1
2.893706	4	0.723427	GPX4
5.06036	7	0.722909	PIGX
4.31999	6	0.719998	LGALS3BP
2.148112	3	0.716037	MYL4
5.673899	8	0.709237	SESN1
1.399665	2	0.699832	MYOF
2.086838	3	0.695613	PDZK1IP1
4.107383	6	0.684564	TRAPPC5
4.781938	7	0.683134	CCR1
4.709708	7	0.672815	TMSB10
3.314894	5	0.662979	PROS1
4.613956	7	0.659137	CST3
1.93751	3	0.645837	PGAP1
0.637748	1	0.637748	TSTA3
1.269127	2	0.634563	CYBB
2.513114	4	0.628278	DYNLL1

3.131767	5	0.626353	PDE5A
5.621934	9	0.624659	CSTA
4.356038	7	0.622291	IRF9
2.440114	4	0.610029	CD300E
0.5984	1	0.5984	SERPINB9
3.556951	6	0.592825	PPBP
0.590299	1	0.590299	PD1LG2
6.408285	11	0.582571	S100A12
1.163244	2	0.581622	LOC100131131
6.928203	12	0.57735	SELL
5.166153	9	0.574017	CCDC125
4.533549	8	0.566694	TMEM140
3.384162	6	0.564027	CPD
3.888117	7	0.555445	KIAA1109
3.870417	7	0.552917	CHMP2A
4.420048	8	0.552506	LY86
1.644787	3	0.548262	PYGL
2.715148	5	0.54303	DNAJC6
2.166114	4	0.541529	TESC
2.704474	5	0.540895	PLEK2

Στο **Σχήμα 47** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Ξεκινώντας από την κορυφή της λίστας, παρατηρούμε ότι τα CD14, GZMK, MICALCL, NRGN, PLCB1, TAS2R46, UBA52 παρουσιάζουν το μέγιστο Dn-score ίσο με 2. Αυτό σημαίνει ότι τα γονίδια αυτά συνδέονται με ένα γείτονα σε ένα μόνο από τα υπό μελέτη δίκτυα και στα υπόλοιπα δίκτυα είναι αποκλεισμένα. Το CD14 συνδέεται με GALM, το PLCB1 με FAU, το TAS2R46 με PARP11 και το UBA52 με PIGX μόνο στο δίκτυο MΘ Betaseron ενώ το GZMK συνδέεται με TARP, το MICALCL με PLEK2 και το NRGN με TARP μόνο στο δίκτυο MΘ Rebif.

Τα PRDX5 συνδέεται με SESN1 μόνο στο δίκτυο MΘ Betaseron και με IFI16 μόνο το δίκτυο MΘ Rebif. Το CCRL2 με GRAMD1B και το NEXN με GPD2 μόνο στα δίκτυα Avonex και Betaseron. Το GPR109A με FFAR2 μόνο στα δίκτυα XΘ και Betaseron, το GRAMD1C με TNFRSF9 μόνο στα δίκτυα Rebif και Υγιών, το PRNP με RPS17 και το HINT1 με RPL7 μόνο στα δίκτυα Avonex και Betaseron και το PGLYRP1 με SLC45A4 μόνο στα δίκτυα Rebif και Betaseron.

Τα NFXL1, C3AR1, H2AFZ, HRH4, KLRB1, RAB27B, STEAP4, VNN3, TNFRSF9, ZNF117, MAN1A1, HBD, CHMP5, TCP11L2, TSPAN7, IDO1, TMEM111, FLJ42418, BEND2, IL1R2, DHRS9, IFI30, FFAR2, HBM, SLC38A5, RPS26 παρουσιάζουν κανονικοποιημένο Dn-score από 1 έως 1,5. Το NFXL1 συνδέεται με SLC38A5 μόνο στο δίκτυο MΘ Betaseron και με SULT1B1 μόνο στα δίκτυα Betaseron και Rebif. Το RAB27B συνδέεται με ARHGEF12 μόνο στα δίκτυα Betaseron και Υγιών και με MICAL2 μόνο στο Betaseron. Ομοίως, το STEAP4 συνδέεται με VNN3 μόνο στα δίκτυα Betaseron και Υγιών και με C3AR1 μόνο στο Betaseron και το VNN3 με C3AR1 μόνο στο Betaseron. Το TNFRSF9 συνεκφράζεται με GRAMD1C στους Υγιείς, στο Betaseron και στο Rebif ενώ συνεκφράζεται και με SHISA5 μόνο στο Betaseron. Το HBD συνδέεται με RAB2B στο δίκτυο Betaseron και στους Υγιείς και με EPB42 μόνο στο Betaseron και Avonex. Το CHMP5 συνδέεται με TNFSF10 στα δίκτυα Avonex, Betaseron και στους Υγιείς και με IFIT5 μόνο στο Avonex. Το IDO1 συνδέεται με FRMD3 μόνο στα δίκτυα Avonex και Betaseron, με TFEC μόνο στα δίκτυα Avonex και Rebif και με TMEM176A μόνο στο Betaseron. Το BEND2 συνεκφράζεται με SELP σε όλα τα δίκτυα εκτός από το Betaseron, και με FGD2 μόνο στο Rebif. Το IL1R2 συνδέεται με LOC100131131 σε όλα τα δίκτυα

εκτός από το δίκτυο Ασθενών ΧΘ, και με ZNFX2 μόνο στο Betaseron. Το FFAR2 συνδέεται με GPR109A μόνο στα δίκτυα Ασθενών ΧΘ και ΜΘ Betaseron και με TNFSF13B μόνο στο Betaseron και Avonex. Το HBM συνδέεται με AP2S1 σε όλα τα δίκτυα και με EMP3 μόνο στο Betaseron και το SLC38A5 με GATA1 σε όλα τα δίκτυα και με NFXL1 μόνο στο Betaseron. Το DHRS9 συνεκφράζεται με NUB1 και STAT1 μόνο στα δίκτυα θεραπείας Avonex και Betaseron. Το IFI30 συνδέεται με CST3, KBTBD7 και LGALS3BP δίκτυα θεραπείας Avonex και Rebif. Το C3AR1 συνδέεται με STEAP4 και VNN3, το HRH4 με CEACAM1 και PML και το RPS6 με MX1, OAS3, RIN2, RSAD2 μόνο στο δίκτυο Betaseron. Το ZNF117 συνεκφράζεται με MIA3 και το FLJ42418 με RNF213 μόνο στα δίκτυα θεραπείας. Το H2AFZ συνδέεται με KLRB1 και TARP, το KLRB1 με H2AFZ και TARP μόνο στο Rebif. Το C14orf45 συνεκφράζεται με TCP11L2 μόνο στα δίκτυα Υγιών, Avonex και Rebif ενώ το BPGM με TSPAN7 και το GMPR με TMEM111 μόνο στα δίκτυα Υγιών, Avonex και Betaseron.

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται αναλυτικά οι 50 κορυφαίες ακμές με βάση το varD. Όλες οι ακμές με varD ίσο με 5 εμφανίζονται μόνο σε ένα δίκτυο είτε στο Betaseron είτε στο Avonex ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα απουσιάζουν.

Πίνακας 14: Κορυφαίες πενήντα ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την χρονική στιγμή T2

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθ. χ.θ	Avonex	Betaseron	Rebif
CD274_IL1RN	5	0	0	0.512312	0	0
CD274_LAMP3	5	0	0	0.526365	0	0
CD274_TOR1B	5	0	0	0.515362	0	0
CXCL10_TRIM21	5	0	0	0.537246	0	0
CXorf21_DYNLT1	5	0	0	0.501214	0	0
FAM46A_TM62	5	0	0	0.543653	0	0
FAM46A_TRIM5	5	0	0	0.517716	0	0
GCH1_ISG15	5	0	0	0.519573	0	0
IL1RN_TFEC	5	0	0	0.525457	0	0
TDRD7_TNFAIP6	5	0	0	0.536742	0	0
TDRD7_TNFSF13B	5	0	0	0.547427	0	0
AIF1_AP2S1	5	0	0	0	0.634936	0
CCL8_FLJ42418	5	0	0	0	0.674701	0
CCR1_CD300E	5	0	0	0	0.530691	0
COX6B1_SAMHD1	5	0	0	0	0.543321	0
HERC6_PYGL	5	0	0	0	0.510288	0
OAS2_SLFN5	5	0	0	0	0.537741	0
PRDX2_RPS10	5	0	0	0	0.51602	0
PRDX2_SAMHD1	5	0	0	0	0.553276	0
PRDX6_SELENBP1	5	0	0	0	0.672	0
CEACAM1_LGALS3BP	5	0	0	0	0	0.517316
ACOT9_TNFAIP6	3.397889	0	0.101764	0.57236	0	0
IFIH1_TNFAIP6	3.373923	0	0.105614	0.581465	0	0
CXCL10_PML	3.32044	0	0	0.551698	0	0.105045
PRDX6_TM611	3.278451	0	0	0.122677	0.621164	0
GBP3_TDRD7	3.268664	0	0	0.515132	0	0.102602
CD274_TNFAIP6	3.266455	0	0	0.626061	0.124935	0
GBP3_TRIM6	3.254757	0.101125	0	0.501656	0	0
FRMD3_TNFAIP6	3.238136	0	0	0.539694	0	0.110361
ACOT9_BATF2	3.215447	0	0	0.52727	0	0.109938
APOL1_PNPT1	3.20389	0	0	0.512608	0.107942	0
IFIT5_PARP9	3.198043	0	0	0.551351	0	0.116681
BATF2_NUB1	3.195629	0	0	0.520054	0.110285	0
DOCK4_TRIM5	3.170378	0	0	0.530389	0	0.114919
IFIH1_MAP2K6	3.097888	0	0	0.543057	0.125091	0
CCL2_IFI44L	3.088952	0	0	0.117734	0.507296	0
APOL1_TRIM5	3.036607	0	0	0.50908	0.123442	0
ACOT9_TNFSF13B	3.035515	0	0	0.583953	0	0.141726
APOL1_CCL8	2.998637	0	0	0.501533	0.125526	0
AIF1_TRAPPC5	2.996961	0	0	0.164881	0.657856	0
CD274_FRMD3	2.992362	0	0	0.538393	0	0.135457
APOL1_CXCL10	2.916624	0	0	0.568137	0.152237	0

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

FAM46A_ZNFX1	2.913092	0	0	0.522462	0	0.14041
MT1X_SAT1	2.889906	0	0	0.169309	0.617965	0
CASP1_DDX58	2.886755	0	0	0.527573	0	0.144923
C9orf91_GCH1	2.86654	0	0	0.512762	0.143243	0
BATF2_CCL2	2.862157	0	0	0.514079	0	0.144135
CXorf21_TFEC	2.820371	0	0	0.511324	0	0.148442
PRDX2_RPL21P28	2.808294	0	0	0	0.593789	0.174128
DDX58_GBP3	2.799698	0	0	0.501268	0.148055	0

7.4 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Betaseron

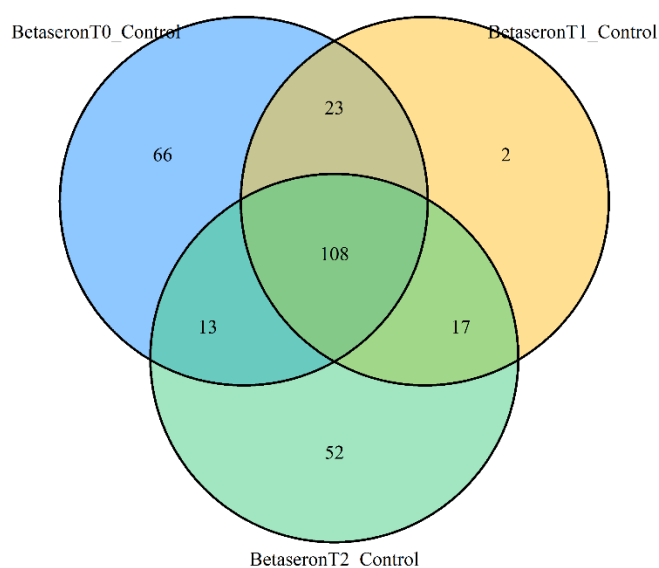
Για την θεραπεία Betaseron, πραγματοποιείται διαφορετική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω έξι συγκρίσεις.

Πίνακας 15: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Betaseron

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0 - Υγιείς	210	0.338374291
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1 - Υγιείς	150	0.207692308
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2 - Υγιείς	190	0.429513603
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0 - Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1	4	0.123209169
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0 - Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2	50	0.238258317
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1 - Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2	2	0.214435146

Η μικρότερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών τη χρονική στιγμή T1 και η μεγαλύτερη τη χρονική στιγμή T2, ενώ η μικρότερη διαφορά ανάμεσα σε δίκτυα ΜΘ παρατηρείται στην σύγκριση μεταξύ των χρονικών στιγμών T0 και T1.

Στο **Σχήμα 48** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών. 108 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις, 23 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T1, 17 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T1 και T2, 13 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T2, 66 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T0, 2 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T1 και 52 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T2. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Betaseron την χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει τα λιγότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες χρονικές στιγμές σε σύγκριση με τους Υγιείς.



Σχήμα 48: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ Betaseron και Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές.

Σχετικά με τις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Betaseron σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 15**, η σύγκριση ανάμεσα στα δίκτυα που αντιπροσωπεύουν τις ακραίες χρονικές στιγμές T0 και T2 φέρει τα περισσότερα ΔΕ γονίδια καθώς και το μεγαλύτερο Σ.Μ.Κ.Α. Δύο από τα ΔΕΓ της σύγκρισης T0-T2 παρουσιάζονται ως ΔΕ και στη σύγκριση T0-T1 και είναι τα RPLP2, POM121L1P.

7.4.1 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron – Υγιείς

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Betaseron και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Οι συγκρίσεις δικτύων ασθενών με θεραπεία Betaseron – Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές έχουν καταγραφεί σε προηγούμενες ενότητες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Υγιών, των ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0, των ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 και των ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1 και IFIT3, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Betaseron σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια LAMP3, CXCL10, OAS2, DDX60, IFIT2, OASL, LY6E, IFI27, IFI6, SPATS2L, HERC6, EIF2AK2, PNPT1, ISG15, PLSCR1, TRIM22, ZBP1, CMPK2, SIGLEC1, RTP4, DDX58, IFIH1, SERPING1, SAMD9L, IFIT5 και IFI35 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Betaseron σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους υγιείς.

Οι ακμές ASCC2-MARCH8, BSG-EPB42, C20orf108-GLRX5 απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0 ενώ εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Υγιών, Betaseron T1 και Betaseron T2. Επιπλέον, οι ακμές CRISP3-LTF, CRISP3-MMP8, DPM2-WDR45 απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 ενώ εμφανίζονται στα υπόλοιπα δίκτυα. Δεν υπάρχει ακμή η οποία να εμφανίζεται στο ΙΒΣ δίκτυο Υγιών και να απουσιάζει από το δίκτυο Betaseron T2. Από την άλλη πλευρά, οι ακμές CMPK2-PARP12, CMPK2-ZBP1, IFITM1-MT1X, MX1-SPATS2L, NUB1-TFEC, UBE2L6-UNC93B1 εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών. Επιπλέον, το δίκτυο Betaseron T0 παρουσιάζει 36 ακμές οι οποίες δεν εμφανίζονται σε κανένα άλλο δίκτυο θεραπείας ούτε και στο δίκτυο Υγιών, το δίκτυο Betaseron T1 22 και το δίκτυο Betaseron T2 167 ακμές αντίστοιχα. Συνεπώς, οι περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2, γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 15**, το οποίο αποτελεί το μέγιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και Ασθενών ΜΘ Betaseron. Το ελάχιστο Σ.Μ.Κ.Α παρουσιάζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών ΜΘ Betaseron T1 – Υγιών και υποδεικνύει ομοιότητα της τάξης του 79% σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 305 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών. Τα

ακόλουθα 23 γονίδια ANKFY1, APOBEC3A, BATF2, C9orf91, CCL2, CD2AP, CEACAM1, CMPK2, CNP, GALM, GPX4, MOV10, NTNG2, RARRES3, RIN2, SAT1, SHISA5, TFEC, TNFAIP6, TNFSF13B, TRIM21, UNC93B1, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών. Ιδιαίτερα τα CD2AP, GALM, GPX4, SAT1, SHISA5, TNFSF13B, XAF1 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας Betaseron.

Επιπρόσθετα, τα BSG, CHMP5, FLJ42418, IGF2BP2, MOP-1, PGAP1, PPM1K, PRDX2, RAD23A, RPL36A, TMEM111, TMEM62, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T0 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ANKRD22, CNTNAP3, CRISP3, GZMK, ICAM3, IGF1R, KIAA0232, KLRB1, LTF, MAN1A1, MICALCL, MMP8, NQO2, OCR1, OR2T4, PGLYRP1, PRNP, RNF182, SLC45A4, THBS1, TNFRSF9, WDR45 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T1 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τέλος, 46 γονίδια παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T2 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα APOL1, CD300E, OTOF, PLAC8, SAMHD1, SLFN5, TMEM123, TRIM14 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron T0 – Υγιών και ΜΘ Betaseron T1 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T2 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BST2, CCL8, CCR1, CCRL2, CHMP2A, COX6B1, CSRNP1, ETV7, FAM46A, GRAMD1B, IDO1, ISG20, LAP3, LY86, PARP11, PRDX5, PRDX6, SAMD9, SOCS1, SP140, TAP2, TCN2, TRAPPC5 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron T0 – Υγιών και ΜΘ Betaseron T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T1 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα CCDC125, CD14, CD274, DOCK4, DYNLT1, EFHC2, FFAR2, FRMD3, IFITM3, IRF9, JUP, KBTBD7, LGALS3BP, MAFB, MT1F, MT1G, NAGK, NPC2, PHF11, PIGX, PLCB1, PSMB9, PSME2, RAB27B, STEAP4, TIMM10, TMEM140 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron T1 – Υγιών και ΜΘ Betaseron T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron T0 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.4.2 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Betaseron σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0, των Ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 και των Ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Το γονίδιο RPLP2 υποεκφράζεται τη χρονική στιγμή T0 έναντι και της χρονικής στιγμής T1 και της χρονικής στιγμής T2 ενώ ανάμεσα σε αυτές της δύο χρονικές στιγμές δεν παρουσιάζει διαφορική έκφραση. Από την άλλη πλευρά, το γονίδιο POM121L1P υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T0 έναντι και της χρονικής στιγμής T1 και της χρονικής στιγμής T2 ενώ ανάμεσα σε αυτές της δύο χρονικές στιγμές δεν παρουσιάζει διαφορική έκφραση.

Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα και των τριών χρονικών στιγμών είναι 136. 49 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T0 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή, 39 μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή και 184 μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή. Οι ακμές ANKFY1-PIK3AP1, ATP5J2-RPS17, BEND2-SH3BGRL2, DDX58-EIF2AK2, DDX60-TRIM5, IFI44-TRIM22, IFI44-TRIM5, IFI44-ZCCHC2, IFI44L-TRIM22, RPL18AP3-RPS8, ATP5J2-HCST εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Betaseron τις χρονικές στιγμές T1 και T0 και απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών εκτός από την ATP5J2-HCST. Οι ακμές BLVRB-WDR45, CSTA-S100A12, DTX3L-SP100, HAGH-WDR45, BST2-CNP εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Betaseron τις χρονικές στιγμές T2 και T0 και απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών εκτός από την BST2-CNP. Τέλος, οι ακμές ASCC2-MARCH8, BCL2L1-MPP1, BSG-FECH, C20orf108-GLRX5, FECH-GLRX5, GATA1-SLC38A5, GMPR-TMEM111, LOC100131131-MGAM, MX1-PARP9, RAB2B-TSPAN5, RBM38-TMOD1, LY6E-XAF1, MT1F-PSMB9, OSBP2-PDZK1IP1 εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Betaseron τις χρονικές στιγμές T2 και T1 και απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0. Οι ακμές αυτές εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών εκτός από τις LY6E-XAF1, MT1F-PSMB9, OSBP2-PDZK1IP1.

Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 και των ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 15**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΜΘ Betaseron. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T2 το δίκτυο Betaseron παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με τα άλλα δίκτυα θεραπείας Betaseron.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 338 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΜΘ Betaseron. Τα ακόλουθα 25 γονίδια CCDC125, CCL8, CCRL2, CD14, CD274, CD2AP, CSTA, EFHC2, EMR3, GBP4, IDO1, KBTBD7, NMI, PARP11, PIGX, PLCB1, PRDX2, PRDX5, RAB27B, S100A12, SAMHD1, SLFN12, SLFN5, STEAP4, TMEM111 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron – Ασθενών ΜΘ Betaseron. Ιδιαίτερα τα KBTBD7, PARP11, SLFN5 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ ίσο με 1 και στις τρεις συγκρίσεις γεγονός που σημαίνει ότι παρουσιάζουν τελείως διαφορετική γειτονία σε κάθε χρονική στιγμή. Το KBTBD7 είναι πλήρως αποκλεισμένο στο T0 αλλά και στους Υγιείς ενώ στο T1 συνδέεται με KIAA0232 και στο T2 με CPD, CST3, DRAP1, IFI30, TMSB10. Το PARP11 είναι αποκλεισμένο στο T1, στο T2 συνδέεται με TAS2R46 και στο T0 με TRIM22, TRIM5, EPST1, THEM123. Και το SLFN5 είναι πλήρως αποκλεισμένο στο T2 και στους Υγιείς, στο T1 συνδέεται με OAS2 και στο T0 με PLAC8.

Επιπρόσθετα, τα IGF1R, NRG1, PLEK2, RNF182, SLC45A4, UBXN6 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron T0 – Ασθενών ΜΘ Betaseron T1 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα BLVRA, C19orf62, FAM198B, FFAR2, GPR109A, MAFB, PPM1K, TSPAN7 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron T2– Ασθενών ΜΘ Betaseron T0 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα C1GALT1, CRISP3,

GZMK, KLRB1, MMP8, PHF11, PRNP, RPS26, RUNDC3A, TMEM140, TSTA3 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Betaseron T1 – Ασθενών ΜΘ Betaseron T2 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα CHMP5, FLJ42418, GCH1, LOC100131131, MGAM, MME, TCN2, TMEM123, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 – T1 και T0 – T2 ενώ στην σύγκριση T1-T2 το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ANKRD22, CNTNAP3, CSRNP1, KIAA0232, MAN1A1, MICALCL, NQO2, OCR1, OR2T4, PLAC8, THBS1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 - T1 και T1 - T2 ενώ στην σύγκριση ασθενών T0 – T2 το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα ADAR, C3AR1, CASP5, CXCL10, DHRS9, DUSP5, GPD2, HBM, HMBS, HRH4, KIAA1109, NEXN, NFXL1, PIK3AP1, PPBP, PRDX6, RPL7, RPL9, SELL, SESN1, TAS2R46, TMEM176A, TMEM176B, TNFAIP6, UBA52, VNN3 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 – T2 και T1 – T2, ενώ στην σύγκριση ασθενών T0 – T1 το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.4.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T1 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 4 ΔΕΓ, από τα οποία τα IGJ, HIST1H2BA, POM121L1P υπερεκφράζονται ενώ το RPLP2 υποεκφράζεται τη χρονική στιγμή T0 έναντι της χρονικής στιγμής T1. Στο **Σχήμα 49** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 49: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 - Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 φέρει 807 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 φέρει 938. Οι 838 από τις 938 ακμές του δικτύου IBΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 100 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, μόνο οι 692 ακμές του IBΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 ενώ οι υπόλοιπες 115 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 248 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 211 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 42 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: PRDX2, CCL8, PARP11, PLCB1, GRAMD1B, PDZK1IP1, CHMP5, EFHC2, MAN1A1, MME, RAB27B, SLFN5, STEAP4, TNFRSF9, WDR45, ANKRD22, CCDC125, CCRL2, CNTNAP3, CSRNP1, CSTA, IDO1, IGF1R, KBTBD7, KIAA0232, MICALCL, NQO2, NRG1, OCR1, OR2T4, PIGX, PLEK2, PRDX5, PYGL, RAD23A, RNF182, S100A12, SLC38A5, SLC45A4, SLFN12, TCN2, THBS1. Το **PRDX2** χάνει 5 γείτονες και τα **CCL8, PARP11** χάνουν 4 γείτονες οι οποίοι εμφανίζονται στο T0 και όχι στο T1. Επιπλέον, το PLCB1 παρουσιάζει 4 γείτονες στο T1 ενώ στο T0 είναι αποκλεισμένο.
- 30 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: FAM104A, FLJ42418, GMPR, GBP4, GLRX5, GYPC, RBM38, BSG, MICAL2, MMRN1, PLAC8, TMEM111, TRAPPC5, ZNF684, CD14, CPD, MGAM, NMI, SAMHD1, TMEM123, UBXN6, CCL2, CD274, CD2AP, EMR3, GCH1, LOC100131131, MT1F, NAGK, PSME2. Ιδιαίτερα, τα **FLJ42418** και **GBP4** χάνουν 8 και 5 γείτονες αντίστοιχα από το T0 στο T1 ενώ τα **FAM104A, GMPR** χάνουν 8 γείτονες και τα **GLRX5, GYPC, RBM38** χάνουν 5 γείτονες από το T1 στο T0.
- Οι υπόλοιποι 138 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0,5: TSPAN5, SP140, LAMP3, BCL2L1, IFIT2, BST2, EIF2AK2, ACOT9, DTX3L, MPP1, RIOK3, RTP4, STAT2, C9orf91, CNP, EPB41, FECH, IFI44L, MARCH8, MBNL3, MX2, MXI1, NTNG2, OAS1, OAS2, PARP9, PLSCR1, RAB2B, SERPING1, UBE2L6, UNC93B1, ZNFX1, AIF1, ALAS2, AP2A1, AP2S1, APOL6, ARHGEF12, BEND2, C1orf128, C20orf108, CMPK2, COX6B1, DPM2, EPST11, HERC6, IFIT3, IL1RN, ISG15, LAP3, LGALS3BP, MKRN1, OSBP2, PSMB3, PSMB9, RSAD2, SAMD9, SELENBP1, SLC4A1, SP100, TDRD7, TNFSF10, TRIM22, XAF1, ZBP1, ZCCHC2, ANKFY1, APOBEC3A, ASCC2, BLVRB, C14orf45, C22orf13, CA1, CD300E, CDC34, CHMP2A, DDX58, DDX60, EIF2AK1, EPB42, ETV7, F13A1, FAM46C, FAU, FBXO6, FBXO9, FTSJD2, GALM, GATA1, GBP5, GSPT1, GUCY1B3, GYPB, HAGH, IFI44, IFIH1, IFIT5, IGF2BP2, IL1R2, IRF7, IRF9, LY6E, MCOLN1, MOP-1, MT1G, MX1, NUB1, OTOF, PARP12, PDE5A, PRIC285, PRKAR2B, PROS1, PSMF1, RARRES3,

RIN2, RNF213, RPL21P28, RPS10, RPS17, SAMD9L, SDPR, SELP, SH3BGRL2, SIGLEC1, SPTB, SRRD, STAT1, STRADB, TFEC, TMEM62, TMOD1, TNFSF13B, TRAFD1, TREML1, TRIM21, TRIM5, TYMP, USP18. Τα **TSPAN5** και **BCL2L1** χάνουν 12 και 6 ακμές αντίστοιχα από το T1 στο T0 ενώ τα **SP140**, **LAMP3**, **IFIT2**, **BST2** και **EIF2AK2** χάνουν 8, 7, 6, 5 και 5 ακμές αντίστοιχα από το T0 στο T1.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.123209169** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 88% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ

7.4.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 2 ΔΕΓ, τα LPA και MS4A4A τα οποία υπερεκφράζονται τη χρονική στιγμή T2 έναντι της χρονικής στιγμής T1. Στο **Σχήμα 50** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 50: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 - Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 φέρει 805 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 φέρει 1107. Οι 680 από τις 805 ακμές του δικτύου ΙΒΣ στο T1 εμφανίζονται και στο T2 ενώ οι υπόλοιπες 125 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, μόνο οι 822 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 285 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 180 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 279 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 41 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: CCL8, SELL, CSTA, KBTBD7, TRIM21, RPS26, CASP5, C3AR1, DUSP5, MAN1A1, OTOF, PLAC8, PRDX2, RPL36A, SESN1, ZNFX1, ANKRD22, CCRL2, CNTNAP3, CRISP3, CSRNP1, GPD2, GZMK, IDO1, KIAA0232, KLRB1, MICALCL, NEXN, NFXL1, NQO2, OCR1, OR2T4, PARP11, PRDX5, PRNP, SLFN12, SLFN5, TAS2R46, THBS1, TSTA3, UBA52. Τα **CCL8**, **SELL** και **CSTA** χάνουν 18, 12 και 9 γείτονες οι οποίοι εμφανίζονται στο T2 και όχι στο T1. Επιπλέον, τα **KBTBD7**, **TRIM21** παρουσιάζουν 5 και 4 γείτονες αντίστοιχα στο T2 ενώ στο T1 παρουσιάζουν από ένα γείτονα που δεν ανήκει στους γείτονες του T2.
- 60 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: NT5C3, APOL6, SHISA5, EPB41, S100A12, SAMD9, BLVRB, PLSCR1, NMI, RPS10, TNFAIP6, CCR1, DTX3L, SAT1, TFEC, ATP5J2, IGF2BP2, ADAR, CD274, PIK3AP1, PLCB1, RPL9, TMEM140, TMEM176A, TRAPPC5, WDR45, C1GALT1, CHMP2A, EFHC2, EMR3, HMBS, PHF11, PRDX6, RAB27B, CCDC125, CD14, CD2AP, CD300E, CXCL10, GBP4, GYPB, KIAA1109, MYL4, PIGX, PPBP, STEAP4, TMEM111, TMEM176B, TRIM5, DHRS9, HAGH, HBM, HRH4, MMP8, RPL7, RPS3A, RUNDC3A, SAMHD1, TESC, VNN3. Ιδιαίτερα, το **NT5C3** χάνει 16 από τους 20 γείτονες από το T2 στο T1 και το APOL6 12 από τους 21 γείτονες από το T1 στο T2.
- Οι υπόλοιποι 178 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: FTSJD2, FAM46A, HERC6, MT1L, BST2, MT1G, PARP9, CCL2, COX6B1, DHX58, DYNLT1, HCST, NAGK, NUB1, OAS2, SERPING1, BATF2, ETV7, IFI44, IFI6, IL1RN, MT1DP, MT1X, MX1, MX2, PSME2, RIN2, RIOK3, RPS5, TOR1B, ZBP1, ANKFY1, CNP, EIF2AK1, GALM, GMPR, GSPT1, IRF7, ISG20, LAMP3, LGALS1, MBNL3, MT2A, NPC2, OASL, PARP12, RAD23A, SCARB2, SPATS2L, STAT1, TMOD1, UBE2L6, AIM2, AP2S1, BAG1, DDX60, DOCK4, DRAP1, FAM104A, FAU, FBXO9, GSTP1, HERC5, IFI16, IFI35, IFIH1, IFITM1, OAS3, RBM38, RPS15, RPS17, SP100, STRADB, TSPAN5, UNC93B1, ANK1, ARHGEF12, BEND2, BSG, CDC34, CEACAM1, CST3, DCAF12, DDX58, EIF2AK2, F13A1, GATA1, GBP3, GUCY1B3, GYPC, IRF9, ISG15, LGALS3BP, LY86, MIA3, MICAL2, MKRN1, MMRN1, MOV10, OSBP2, PDE5A, PML, PROS1, PSMB9, RPS8, RSAD2, SH3BGRL2, SIGLEC1, SLC1A5, SP140, TIMM10, TMSB10, TNFSF13B, TRAFD1, TRIM22, TYMP, USP18, ZCCHC2, ACOT9, AIF1, APOL1, ASCC2, C14orf45, C19orf66, C20orf108, C22orf13, C9orf91, CMPK2, CPD, EMP3, EPB42, FAM46C, FBXO6, FGD2, GBP1, GBP5, GLRX5, GRAMD1B, GRAMD1C, GUK1, HBD, IFI30, IFI44L, IFIT1, IFIT2, IFIT3, IFITM3, IL1R2, ITGB3, JUP, LAP3, LGALS9, LGALS9C, MCOLN1, MPP1, MXI1, NME2, PDZK1IP1, PNPT1, PRIC285, PRKAR2B, PSMF1, PYGL, RARRES3, RNF10,

RNF213, RPL18AP3, RPLP2, RTP4, SLC14A1, SLC38A5, SP110, SPTB, STAT2, TDRD7, TNFRSF9, TNFSF10, TRIM58. Το **FTSJD2** χάνει 9 γείτονες από το T2 στο T1 και 1 γείτονα από το T1 στο T2 και τα FAM46A, MT1L χάνουν 8 γείτονες από το T2 στο T1. Ο HERC6 χάνει 5 γείτονες από το T1 στο T2 και 3 γείτονες από το T2 στο T1.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.214435146** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 79% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ

7.4.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T2 – Ασθενείς με θεραπεία Betaseron T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Betaseron τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 50 ΔΕΓ, από τα οποία τα KIAA0232, STEAP4, LMBR1, TAS2R31, POM121L1P υποεκφράζονται ενώ τα TRIM58, PDZK1IP1, SELENBP1, TSPAN5, GYPB, GMPR, TREML1, GPR146, TMOD1, BAG1, DPM2, ANKRD22, RPL21P28, RPLP2, RARRES3, GSTP1, NRGN, HBD, DYNLL1, TESC, C14orf45, SPTB, EPB42, RPS17, HBZ, HBM, AHSP, PSMB3, RUNDC3A, MYL4, NME2, SLC14A1, FECH, CDC34, RPS15, TRAPPC5, UBA52, COX6B1, HCST, BLVRB, AP2S1, ASCC2, TIMP1, SLC38A5, WDR45 υπερεκφράζονται τη χρονική στιγμή T2 έναντι της χρονικής στιγμής T0. Στο **Σχήμα 51** παρατηρούμε την γραφική αναπαράσταση των ΔΕ με τη χρήση του διαγράμματος Volcano, όπου με μωβ ανοιχτό χρώμα φαίνονται τα γονίδια με $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$, με μωβ σκούρο χρώμα τα γονίδια $p\text{-value} < 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$, με γαλάζιο χρώμα τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| > 0.5$ και με πορτοκαλί τα γονίδια με $p\text{-value} > 0.05$ και $|\log_2FC| < 0.5$.



Σχήμα 51: Διάγραμμα Volcano για την σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 - Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 φέρει 944 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2 φέρει 1100. Οι 769 από τις 944 ακμές του δικτύου IBΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T2 ενώ οι υπόλοιπες 175 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, μόνο οι 788 ακμές του IBΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T2

παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Betaseron στο T0 ενώ οι υπόλοιπες 312 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 182 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 277 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

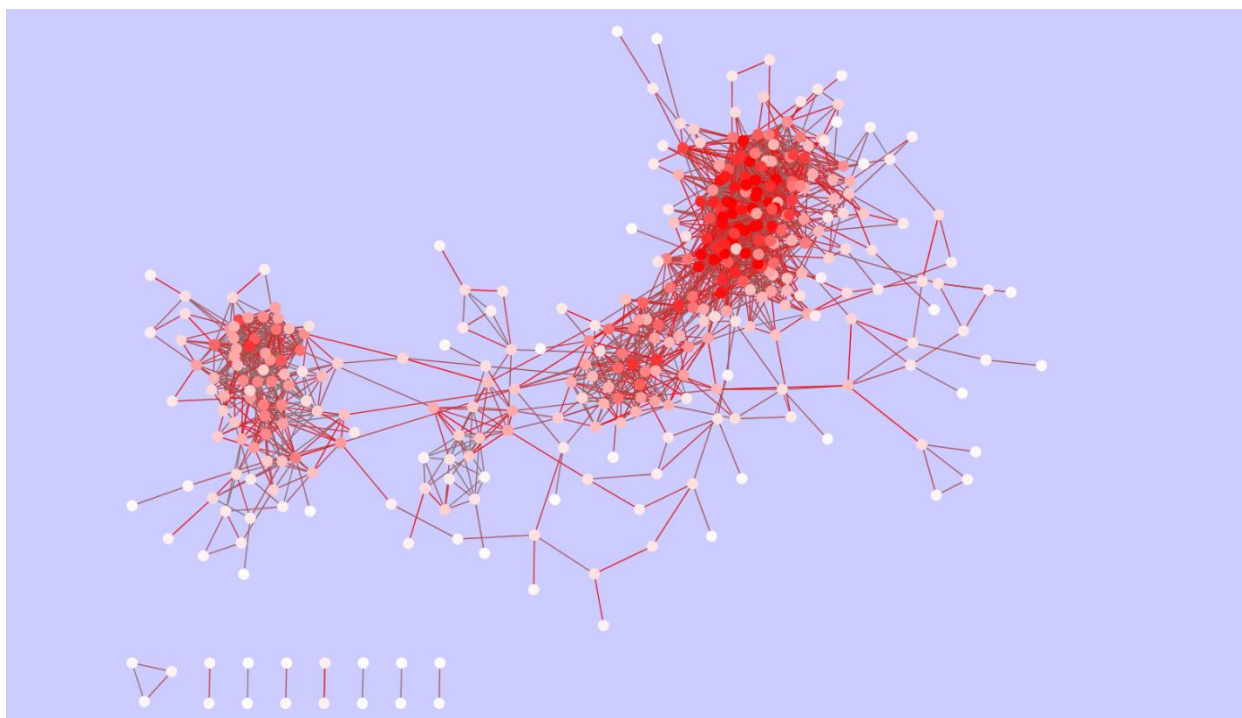
- 41 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: SELL, ZNFX1, KBTBD7, PARP11, PYGL, ZNF684, CD2AP, GRAMD1C, KIAA1109, PDZK1IP1, BLVRA, C19orf62, C3AR1, CD300E, DUSP5, EFHC2, GCH1, HBD, HRH4, IGF2BP2, LGALS3BP, OTOF, RAB27B, RPL7, SESN1, SLC38A5, STEAP4, TMEM111, VNN3, FAM198B, GPD2, GPR109A, MGAM, MICAL2, NEXN, NFXL1, PLCB1, SLFN5, TAS2R46, TSPAN7, UBA52. Το **SELL** χάνει 12 γείτονες οι οποίοι εμφανίζονται στο T2 και όχι στο T0 και το **ZNFX1** παρουσιάζει 7 γείτονες στο T0 και 1 γείτονα στο T2, ο οποίος δεν συγκαταλέγεται στους γείτονες του T0.
- 67 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: NAGK, CCL8, PSME2, TMEM62, MT1G, S100A12, BSG, CCL2, FLJ42418, GBP4, TRIM5, AIF1, AP2S1, CSTA, LGALS1, TNFAIP6, NMI, EMP3, GLRX5, RAD23A, RNF213, TRIM21, PRDX2, SLC14A1, SLC1A5, TMEM176A, TNFSF13B, CD274, HMBS, IRF9, PIK3AP1, PRDX6, ADAR, CASP5, CPD, CXCL10, EMR3, FGD2, IFI30, ITGB3, MOP-1, PIGX, PPBP, RPL9, SAMHD1, TCN2, TIMM10, TMEM176B, BEND2, CCDC125, CCRL2, CD14, CHMP5, DHRS9, FFAR2, HBM, IDO1, IL1R2, JUP, LOC100131131, MAFB, MME, MMRN1, PPM1K, PRDX5, SLFN12, TMEM123. Ιδιαίτερα, τα **NAGK** και **PSME2** χάνουν 16 και 12 γείτονες αντίστοιχα από το T2 στο T0 και το **TMEM62** χάνει 12 γείτονες από το T0 στο T2. Επιπλέον, ο CCL8 χάνει 2 γείτονες από το T0 στο T2 και 13 γείτονες από το T2 στο T0.
- Οι υπόλοιποι 169 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: COX6B1, C9orf91, PARP9, ACOT9, ANKFY1, BST2, CEACAM1, NT5C3, TRAFD1, FTSJD2, HERC5, IFI35, IFI6, LAMP3, MT1DP, MT1L, MT2A, RPS15, TRIM22, APOBEC3A, C22orf13, DDX60, HCST, IFI44, PNPT1, SPATS2L, UBE2L6, BCL2L1, DHX58, FECH, GALM, IFIH1, IFITM1, MX2, PSMB9, RAB2B, RIN2, RPS10, STAT2, ZCCHC2, BLVRB, CNP, DRAP1, HERC6, MT1X, RPS5, ATP5J2, C20orf108, CHMP2A, CMPK2, DOCK4, DTX3L, EIF2AK2, EPST11, IFI44L, IFIT2, IFITM3, RBM38, SHISA5, SP140, STAT1, TOR1B, TRAPPC5, UNC93B1, APOL1, BAG1, CCR1, DDX58, FAU, GATA1, IFI16, IFIT3, IL1RN, LGALS9C, LY86, MPP1, MT1F, MX1, NPC2, OAS1, OAS2, OAS3, OASL, OSBP2, PML, PSMB3, PSMF1, RPS17, RPS8, TDRD7, TMOD1, UXT, XAF1, C12orf57, CA1, DPM2, DYNLT1, FAM104A, FAM46C, GSTP1, IFIT1, ISG15, ISG20, LAP3, MXI1, PARP12, PLSCR1, RPL18, RPLP2, RSAD2, SAMD9L, SAT1, SERPING1, SIGLEC1, SP100, TNFSF10, USP18, WDR45, ZBP1, AIM2, ALAS2, ANK1, AP2A1, APOL6, ARHGEF12, ASCC2, BPGM, C19orf66, CDC34, CST3, EPB41, EPB42, F13A1, FAM46A, FBXO6, GBP1, GMPR, GPX4, GRAMD1B, GUCY1B3, GUK1, IFIT5, LY6E, MARCH8, MBNL3, MOV10, MYL4,

NME2, NTNG2, NUB1, PDE5A, PRIC285, PROS1, RPL18AP3, RPL21P28, RPL35, RPL36A, RPS3A, RPS7, SAMD9, SCARB2, SDPR, SH3BGRL2, SP110, TAP2, TESC, TFEC, TMSB10, TSPAN5. Το **COX6B1** χάνει 5 γείτονες από το T0 στο T2 και 6 γείτονες από το T2 στο T0.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.238258317** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 76% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ που αποτελεί το μικρότερο ποσοστό ομοιότητας στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Betaseron - Ασθενών ΜΘ Betaseron σε διαφορετικές χρονικές στιγμές.

7.4.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Betaseron

Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις τέσσερις υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη Χρονική Στιγμή T0, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Betaseron τη Χρονική Στιγμή T2. Στο **Σχήμα 55** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την θεραπεία Betaseron, όπου οι κόμβοι με μεγάλο Dn-score καθώς και οι ακμές με μεγάλη διακύμανση φαίνονται με έντονο κόκκινο.



Σχήμα 52: ΔΚΑ για την θεραπεία Betaseron

Ο **Πίνακας 16** παρουσιάζει αναλυτικά τα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο κεντρικό δίκτυο αναφοράς καθώς και την κανονικοποιημένη τιμή του Dn-score ως προς το πλήθος αυτό. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 367.

Πίνακας 16: Dn-score για την θεραπεία Betaseron

Dn-score	# ακμών	Καν/νο Dn-score	Γονίδιο
0.745908	1	0.745908	ICAM3

0.745908	1	0.745908	PGLYRP1
0.679481	1	0.679481	TSTA3
0.672503	1	0.672503	NRGN
3.324787	5	0.664957	MIA3
0.649148	1	0.649148	TSPAN7
1.297079	2	0.648539	CASP1
0.636543	1	0.636543	PGAP1
1.89747	3	0.63249	MAFB
5.490693	9	0.610077	EMP3
1.198924	2	0.599462	GCH1
1.174659	2	0.58733	PPM1K
1.171062	2	0.585531	DHRS9
1.159182	2	0.579591	C19orf62
1.158134	2	0.579067	HINT1
6.679627	12	0.556636	ETV7
14.96978	27	0.554436	APOL6
1.106584	2	0.553292	RUNDC3A
2.205166	4	0.551292	C1GALT1
1.624709	3	0.54157	HBD
1.617915	3	0.539305	FFAR2
0.536298	1	0.536298	SERPINB9
1.59456	3	0.53152	JUP
1.594058	3	0.531353	FGD2
1.592454	3	0.530818	TAP2
0.530202	1	0.530202	HIST1H4C
7.887242	15	0.525816	DOCK4
9.447584	18	0.524866	FAM46A
1.049721	2	0.524861	CSRNP1
7.325959	14	0.523283	RNF213
1.046154	2	0.523077	HBM
0.52067	1	0.52067	FAM198B
4.659374	9	0.517708	CCRL2
1.026645	2	0.513322	SLFN12
3.0715	6	0.511917	CPD
9.712666	19	0.511193	TMEM62
1.525145	3	0.508382	MOP-1
6.603362	13	0.507951	SAT1
7.610703	15	0.50738	LGALS1
1.014052	2	0.507026	IGF1R
2.021968	4	0.505492	PYGL
3.537117	7	0.505302	TMSB10
4.03786	8	0.504732	MMRN1
12.03114	24	0.501298	ACOT9
3.985762	8	0.49822	PIK3AP1
3.459371	7	0.494196	AIM2
3.941871	8	0.492734	LGALS9
4.90278	10	0.490278	RAD23A
4.396134	9	0.488459	LY86
1.949602	4	0.4874	TMEM111
1.456798	3	0.485599	TNFRSF9
2.9043	6	0.48405	PHF11
15.00004	31	0.483872	SP140
6.283446	13	0.483342	DYNLT1
2.402463	5	0.480493	TMEM140
1.921714	4	0.480428	RAB27B
15.79533	33	0.478647	TOR1B
9.555626	20	0.477781	GALM
9.505478	20	0.475274	SAMD9
5.221589	11	0.47469	NPC2
1.416023	3	0.472008	TRIM14
2.355771	5	0.471154	PDZK1IP1
3.766677	8	0.470835	GYPC
3.76057	8	0.470071	SLC14A1
15.04204	32	0.470064	C9orf91
6.566439	14	0.469031	TRIM5
12.1843	26	0.468627	TRAFD1
9.354249	20	0.467712	NT5C3
10.28143	22	0.467338	NAGK
2.799333	6	0.466555	PRDX6
6.954291	15	0.463619	AP2S1
9.686302	21	0.461252	PLSCR1
4.570233	10	0.457023	FBXO9

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

0.911528	2	0.455764	LOC100131131
2.730925	6	0.455154	CD274
1.816673	4	0.454168	OTOF
5.426689	12	0.452224	GBP4
8.569714	19	0.451038	APOBEC3A
2.247313	5	0.449463	CD300E
3.590881	8	0.44886	CCR1
15.24254	34	0.44831	ISG15
13.86691	31	0.44732	RIN2
0.891446	2	0.445723	BLVRA
10.14089	23	0.440908	IFITM1
11.90221	27	0.440823	BST2
10.09132	23	0.438753	CEACAM1
4.823108	11	0.438464	BAG1
15.30387	35	0.437253	MX2
10.0462	23	0.436791	IL1RN
8.297013	19	0.436685	SERPING1
9.144915	21	0.435472	BATF2
3.042279	7	0.434611	BEND2
0.866813	2	0.433406	PLEK2
3.031636	7	0.433091	LGALS3BP
6.866298	16	0.429144	EPB41
11.14726	26	0.428741	ANKFY1
3.847529	9	0.427503	ZNFX1
2.956217	7	0.422317	GPX4
3.372083	8	0.42151	IGF2BP2
0.421252	1	0.421252	GZMK
0.421252	1	0.421252	KLRB1
13.44924	32	0.420289	PARP9
6.718771	16	0.419923	PSMB9
1.678807	4	0.419702	PTP4A1
4.184422	10	0.418442	PROS1
2.927143	7	0.418163	GRAMD1B
0.836259	2	0.41813	CHMP5
9.173919	22	0.416996	TRIM22
7.082645	17	0.416626	CCL2
2.076373	5	0.415275	ADAR
7.473904	18	0.415217	PSME2
9.954496	24	0.414771	TDRD7
5.792431	14	0.413745	SHISA5
3.722824	9	0.413647	XAF1
6.202862	15	0.413524	BLVRB
1.649272	4	0.412318	STEAP4
4.104621	10	0.410462	PDE5A
4.103517	10	0.410352	APOL1
6.140645	15	0.409376	IFITM3
1.214126	3	0.404709	KIAA1109
4.04348	10	0.404348	TFEC
3.638995	9	0.404333	RARRES3
1.212289	3	0.404096	GRAMD1C
4.436854	11	0.40335	UXT
1.206024	3	0.402008	TCN2
19.56361	49	0.399257	LAMP3
7.98326	20	0.399163	CNP
2.779368	7	0.397053	TNFSF13B
1.969695	5	0.393939	C1orf128
1.179354	3	0.393118	RPL7
2.351844	6	0.391974	IFIT5
4.309944	11	0.391813	DRAP1
5.856983	15	0.390466	MT1DP
6.231316	16	0.389457	SCARB2
7.396735	19	0.389302	RAB2B
4.670556	12	0.389213	ATP5J2
11.26241	29	0.388359	RTP4
2.325124	6	0.387521	MICAL2
2.31996	6	0.38666	HMBS
4.24305	11	0.385732	ISG20
2.699278	7	0.385611	PRDX2
8.846921	23	0.384649	STRADB
0.384616	1	0.384616	DYNLL1
3.066862	8	0.383358	MT1F
5.74638	15	0.383092	SP110

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

9.915561	26	0.381368	HCST
3.043244	8	0.380405	SLC1A5
1.901318	5	0.380264	FRMD3
10.25921	27	0.379971	IFI6
3.799339	10	0.379934	AIF1
1.519616	4	0.379904	ZNF684
8.347438	22	0.379429	TNFSF10
14.40632	38	0.379114	UBE2L6
4.164757	11	0.378614	GBP3
0.756817	2	0.378409	PRDX5
11.71575	31	0.377927	IFI35
4.508846	12	0.375737	GLRX5
1.501833	4	0.375458	CD2AP
13.87042	37	0.374876	FTSJD2
7.452909	20	0.372645	STAT2
2.979399	8	0.372425	WDR45
5.197652	14	0.371261	RIOK3
2.227269	6	0.371212	ITGB3
0.370497	1	0.370497	SLC45A4
3.69693	10	0.369693	LAP3
1.475545	4	0.368886	PLAC8
7.372353	20	0.368618	MT2A
4.788148	13	0.368319	TNFAIP6
1.469028	4	0.367257	IL1R2
9.913995	27	0.367185	COX6B1
1.092622	3	0.364207	CASP5
2.548516	7	0.364074	SELP
1.086857	3	0.362286	MGAM
6.156492	17	0.362147	BSG
3.960588	11	0.360053	PSMB3
1.078355	3	0.359452	PPBP
7.894073	22	0.358821	MOV10
4.305565	12	0.358797	RPL21P28
9.319129	26	0.358428	NUB1
1.789159	5	0.357832	MCOLN1
3.208155	9	0.356462	C12orf57
13.54324	38	0.356401	PNPT1
3.544404	10	0.35444	FBXO6
10.61659	30	0.353886	IRF7
16.96021	48	0.353338	SPATS2L
3.178545	9	0.353172	GBP1
0.706257	2	0.353129	HRH4
0.352649	1	0.352649	RNF182
9.846664	28	0.351667	TSPAN5
1.405966	4	0.351491	CXCL10
15.80706	45	0.351268	DHX58
0.349503	1	0.349503	GPR109A
9.076944	26	0.349113	CMPK2
4.875581	14	0.348256	ALAS2
3.82543	11	0.347766	GSTP1
3.47266	10	0.347266	NTNG2
0.346812	1	0.346812	PRNP
1.383498	4	0.345874	EMR3
5.876732	17	0.34569	GMPR
5.530709	16	0.345669	SIGLEC1
14.10983	41	0.344142	PARP12
9.63532	28	0.344119	DDX58
6.532311	19	0.343806	MT1G
1.374493	4	0.343623	CD14
3.4348	10	0.34348	TRIM21
1.715425	5	0.343085	TREML1
1.711248	5	0.34225	PARP11
1.025942	3	0.341981	IFI30
4.435864	13	0.34122	EIF2AK1
2.728553	8	0.341069	LGALS9C
5.769143	17	0.339361	DPM2
13.55415	40	0.338854	IFIT2
5.416796	16	0.33855	SP100
3.719675	11	0.338152	NMI
3.366294	10	0.336629	CHMP2A
6.393046	19	0.336476	DTX3L
2.355321	7	0.336474	IRF9

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

2.340168	7	0.33431	RPL36A
1.001398	3	0.333799	TMEM123
1.666773	5	0.333355	CST3
1.332635	4	0.333159	PIGX
1.657836	5	0.331567	TIMM10
3.646098	11	0.331463	TRAPPC5
1.656215	5	0.331243	RPS3A
0.65635	2	0.328175	IDO1
14.66682	45	0.325929	ZBP1
1.95483	6	0.325805	SRRD
10.4021	32	0.325066	UNC93B1
0.973283	3	0.324428	SOCS1
3.557345	11	0.323395	MBNL3
3.553596	11	0.323054	S100A12
4.514612	14	0.322472	MT1X
0.965984	3	0.321995	CCDC125
0.965906	3	0.321969	GYPB
1.609508	5	0.321902	BPGM
4.504045	14	0.321717	TYMP
0.321485	1	0.321485	LMBR1
0.321485	1	0.321485	USP53
10.60093	33	0.32124	ZCCHC2
3.522037	11	0.320185	PSMF1
4.782601	15	0.31884	RPS8
0.952987	3	0.317662	MYL4
12.56786	40	0.314197	HERC6
5.962805	19	0.313832	NME2
7.217158	23	0.313789	RPS15
5.638101	18	0.313228	OSBP2
7.82943	25	0.313177	FECH
11.57437	37	0.312821	EPST11
3.106203	10	0.31062	FLJ42418
3.101121	10	0.310112	PRIC285
1.236349	4	0.309087	EFHC2
6.792784	22	0.308763	CCL8
10.49564	34	0.308695	IFIT3
10.48835	34	0.308481	OAS1
1.539424	5	0.307885	PLCB1
6.758336	22	0.307197	RPS17
6.139788	20	0.306989	IFI16
0.613487	2	0.306743	VNN3
0.613152	2	0.306576	CRISP3
1.224814	4	0.306204	MME
3.973567	13	0.305659	RPL18
5.464019	18	0.303557	ARHGEF12
15.39989	51	0.301959	HERC5
1.50012	5	0.300024	TRIM58
11.66033	39	0.298983	OASL
5.673525	19	0.298607	MPP1
9.213495	31	0.29721	OAS2
13.63159	46	0.296339	IFIH1
4.987455	17	0.29338	C14orf45
11.97651	41	0.29211	USP18
6.693875	23	0.291038	MKRN1
4.361591	15	0.290773	PML
4.930256	17	0.290015	FAM104A
0.578793	2	0.289396	SLC38A5
4.626047	16	0.289128	STAT1
6.339119	22	0.288142	EIF2AK2
1.149847	4	0.287462	SAMHD1
12.28457	43	0.285688	OAS3
4.832199	17	0.284247	MT1L
1.989031	7	0.284147	RPL9
6.486201	23	0.282009	RPS10
7.590732	27	0.281138	SAMD9L
2.52488	9	0.280542	CSTA
11.96556	43	0.278269	MX1
0.831121	3	0.27704	RPS7
4.151527	15	0.276768	SELENBP1
4.149426	15	0.276628	MARCH8
3.871681	14	0.276549	RPLP2
10.98001	40	0.2745	RSAD2

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

1.088241	4	0.27206	TIMP1
5.673563	21	0.27017	MXI1
4.547158	17	0.26748	GSPT1
2.39547	9	0.266163	GATA1
9.844731	37	0.266074	IFI44
4.641917	18	0.257884	DCAF12
1.766138	7	0.252305	UBXN6
2.501395	10	0.250139	CA1
0.25	1	0.25	ANKRD22
0.5	2	0.25	C3AR1
0.25	1	0.25	CNTNAP3
0.5	2	0.25	DUSP5
0.25	1	0.25	GPD2
1.5	6	0.25	KBTBD7
0.25	1	0.25	KIAA0232
0.5	2	0.25	MAN1A1
0.25	1	0.25	MICALCL
0.25	1	0.25	NEXN
0.25	1	0.25	NFXL1
0.25	1	0.25	NQO2
0.25	1	0.25	OCR1
0.25	1	0.25	OR2T4
1	4	0.25	RPS26
3	12	0.25	SELL
0.5	2	0.25	SESN1
0.5	2	0.25	SLFN5
0.25	1	0.25	TAS2R46
0.25	1	0.25	THBS1
0.25	1	0.25	UBA52
2.486349	10	0.248635	GUCY1B3
3.439967	14	0.245712	FAU
3.681543	15	0.245436	RPL35
2.933879	12	0.24449	PRKAR2B
6.104615	25	0.244185	C22orf13
6.090401	25	0.243616	BCL2L1
3.640182	15	0.242679	EPB42
7.765	32	0.242656	DDX60
4.605857	19	0.242414	RBM38
0.241021	1	0.241021	AHSP
4.517519	19	0.237764	LY6E
8.110202	35	0.23172	TMOD1
3.701045	16	0.231315	C19orf66
0.922119	4	0.23053	AP2A1
1.107051	5	0.22141	TESC
3.541814	16	0.221363	C20orf108
2.422552	11	0.220232	SPTB
0.436762	2	0.218381	LTF
2.387006	11	0.217001	XK
4.317591	20	0.21588	FAM46C
1.074914	5	0.214983	GUK1
3.004214	14	0.214587	CDC34
5.701836	27	0.211179	IFI44L
3.497696	17	0.205747	ANK1
1.018615	5	0.203723	TMEM176A
0.40372	2	0.20186	MMP8
5.239217	26	0.201508	IFIT1
2.11995	11	0.192723	SLC4A1
2.281134	12	0.190095	SH3BGRL2
1.319843	7	0.188549	RNF10
0.726783	4	0.181696	HAGH
1.961772	11	0.178343	RPL18AP3
0.518615	3	0.172872	TMEM176B
1.370749	8	0.171344	SDPR
1.18677	7	0.169539	F13A1
0.168684	1	0.168684	CYBB
0.490288	3	0.163429	GBP5
1.855807	12	0.154651	RPS5
0.14892	1	0.14892	SULT1B1
0.136146	1	0.136146	MAP2K3
1.627198	12	0.1356	ASCC2
0.608149	5	0.12163	SPARC
0.451673	5	0.090335	TUBB1

0.086796	1	0.086796	HIST1H3B
0.086796	1	0.086796	HIST1H3C
0.047461	1	0.047461	HLA-DRB1
0.047461	1	0.047461	HLA-DRB5
0.039284	1	0.039284	OR52K1
0.039284	1	0.039284	OR52K2

Όσο περισσότερους γείτονες έχει ένας κόμβος στο ΔΚΑ τόσο μεγαλύτερο Dn-score θα παρουσιάζει διότι παρατηρούνται περισσότερες μικρές ή μεγάλες αλλαγές στα βάρη των ακμών. Συνεπώς, η κανονικοποίηση του σκορ ως προς τις ακμές που εμφανίζει ο κόμβος στο ΔΚΑ μας επιτρέπει να παρατηρήσουμε κατά προσέγγιση τη μέση αλλαγή της γειονιάς ενός κόμβου ανά ακμή. Για παράδειγμα, σε έναν κόμβο ο οποίος συνδέεται με 70 άλλους κόμβους και το Dn-score του είναι 7, αυτό σημαίνει ότι η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,1 ενώ σε έναν κόμβο με 10 γείτονες και Dn-score 7, η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,7. Με άλλα λόγια, έχει περισσότερο ενδιαφέρον να εστιάσουμε σε κόμβους με μεγαλύτερες διαφορές στα βάρη των ακμών του και όχι σε κόμβους με μεγάλο αριθμό γειτόνων και μικρές διαφορές στα βάρη τους.

Στο **Σχήμα 52** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Ξεκινώντας από τα γονίδια που παρουσιάζουν ένα γείτονα στο ΔΚΑ (κάτω αριστερά), εντοπίζουμε ότι τα ICAM3 και PGLYRP1 συνεκφράζονται σημαντικά μόνο στο δίκτυο Betaseron T1 και μεσαία στα Betaseron T0 και T2 με σκορ κοντά στο κατώτατο άκρο 0.1, και καθόλου στο δίκτυο Υγιών. Επιπλέον, το CRISP3 συνεκφράζεται σημαντικά με LTF και MMP8 στους Υγιείς και στο Betaseron T2, μεσαία στο Betaseron T0 και καθόλου στο Betaseron T1.

Όπως είναι εμφανές στο **Σχήμα 52**, όλα τα υπόλοιπα γονίδια συνδέονται μεταξύ τους σε ένα μεγάλο υπό-δίκτυο. Το **TSTA3**, το οποίο εμφανίζει και το μέγιστο κανονικοποιημένο Dn-score στον πίνακα, παρουσιάζει ισχυρή συνέκφραση με το MCOLN1 στο δίκτυο Betaseron T2, μεσαία συνέκφραση στα δίκτυα Υγιών και Betaseron T0 ενώ στο Betaseron T1 είναι αποκλεισμένο. Το **NRGN** συνδέεται με TREML1 στο IBΣ δίκτυο Betaseron T0, στα MBΣ δίκτυα Betaseron T2 και Υγιών ενώ δεν συνδέεται στο Betaseron T1. Το **MIA3** συνδέεται με SP100 σε όλα τα δίκτυα, με DTX3L και SP140 σε όλα τα δίκτυα πλην του Betaseron T1, με NMI σε όλα τα δίκτυα θεραπείας Betaseron και όχι στους Υγιείς και με ADAR μόνο στο δίκτυο Υγιών και Betaseron T2. Το **TSPAN7** συνδέεται με BPGM στο IBΣ δίκτυο IBΣ Betaseron T2 και στα MBΣ Betaseron T1 και Υγιών ενώ στο Betaseron T0 είναι αποκλεισμένο. Το **CASP1** συνδέεται με ACOT9 μόνο στο IBΣ δίκτυο Betaseron T1 και στο MBΣ δίκτυο Betaseron T0 και με PIK3AP1 μόνο στο IBΣ δίκτυο Betaseron T2 και στο MBΣ δίκτυο Betaseron T1. Το **MOP-1** συνδέεται με PGAP1 στο IBΣ δίκτυο Betaseron T0 και στα MBΣ δίκτυα Betaseron T1 & T2 αλλά όχι στο δίκτυο Υγιών. Το **MAFB** συνδέεται με JUP και LGALS9 στα δίκτυα θεραπείας Betaseron και όχι στους Υγιείς και με SIGLEC1 στο IBΣ δίκτυο Betaseron T2 και στο MBΣ δίκτυο Betaseron T1 ενώ στο Betaseron T0 και στους Υγιείς δεν συνδέονται. Το **EMP3** συνεκφράζεται σημαντικά στο Betaseron T2 με τα HCST, LGALS1, PSME2, RPL18, RPLP2, RPS15, HBM, DYNLL1, AP2S1. Από αυτά, όλα εκτός του HBM εμφανίζονται στο MBΣ δίκτυο Betaseron T1 ενώ, μόνο τα HCST, LGALS1, DYNLL1 εμφανίζονται ως γείτονες του EMP3 και στο MBΣ δίκτυο Betaseron T0. Επιπλέον, όλα εκτός από τα τρία τελευταία εμφανίζονται ως γείτονες του EMP3 και στο MBΣ δίκτυο Υγιών. Το **GCH1** συνδέεται με SCARB2 και SLFN12 στο IBΣ δίκτυο Betaseron T0 και MBΣ δίκτυο Υγιών, μόνο με

SCARB2 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και με κανένα στο δίκτυο Betaseron T2. Το **DHRS9** συνεκφράζεται σημαντικά με STAT1 και NUB1 μόνο στο Betaseron T2. Το APOL6 εμφανίζει 27 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 15 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, οι 4 στο ΙΒΣ και οι 21 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, οι 21 στο ΙΒΣ και οι 6 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και μόνο οι 2 στο ΙΒΣ και οι 14 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το ACOT6 εμφανίζει 24 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 4 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, οι 21 στο ΙΒΣ και οι 3 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, οι 4 στο ΙΒΣ και οι 15 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και μόνο οι 3 στο ΙΒΣ και οι 11 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το TMEM62 εμφανίζει 19 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 2 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, όλες στο ΙΒΣ δίκτυο Betaseron T0, οι 18 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και μόνο οι 5 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το FAM46A εμφανίζει 18 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 2 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, 1 στο ΙΒΣ και 16 στο ΙΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 1 στο ΙΒΣ και 9 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και 16 στο ΙΒΣ και 2 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το DOCK4 εμφανίζει 15 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 3 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, 11 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 2 στο ΙΒΣ και 10 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και 14 στο ΙΒΣ και 1 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το LGALS1 εμφανίζει 15 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 3 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, 7 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 10 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και όλες στο ΙΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το RNF213 εμφανίζει 14 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες οι 9 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, 13 στο ΙΒΣ και 1 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 5 στο ΙΒΣ και 9 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και μόνο 6 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το SAT1 εμφανίζει 13 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες καμία δεν εμφανίζεται στο δίκτυο Υγιών, 2 στο ΙΒΣ και 10 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 1 στο ΙΒΣ και 6 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και 11 στο ΙΒΣ και 2 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το ETV7 εμφανίζει 12 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες οι 9 εμφανίζονται στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, 11 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0, 7 στο ΙΒΣ και 4 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T1 και 4 στο ΙΒΣ και 4 στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Το CCRL2 συνεκφράζεται σημαντικά με SPATS2L, ZNF684, GALM, TOR1B, TRAFD1, ZBP1, BST2, C9orf91 στο ΙΒΣ Betaseron T0 και με GRAMD1B στο ΜΒΣ Betaseron T0, μόνο με BST2, SPATS2L, TOR1B στο ΜΒΣ Betaseron T1, μόνο με GRAMD1B στο ΙΒΣ και C9orf91, SPATS2L και GALM στο ΜΒΣ Betaseron T2. Το MMPN1 συνεκφράζεται σημαντικά στο T1 με PDE5A, PRKAR2B, PROS1, SELP, SH3BGRL2, SDPR, GUCY1B3, από τα οποία όλα εκτός του SDPR εμφανίζονται ως γείτονες και στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών, τα GUCY1B3, PDE5A, PROS1 εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T0 και όλα εκτός του SH3BGRL2 εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Betaseron T2. Επιπλέον, το MMRN1 συνεκφράζεται σημαντικά με EPB41 μόνο στο δίκτυο Betaseron T2 ενώ σε όλα τα άλλα δίκτυα η ακμή έχει σκορ 0. Το TMSB10 εμφανίζει ακμές στο ΙΒΣ Betaseron T2 με CST3, NME2, RPS8, CPD, LY86, RPS10, KBTBD7 και με όλους εκτός από το KBTBD7 σχηματίζει ακμές στα ΜΒΣ δίκτυα Betaseron T0 και T1, ενώ στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών συνδέεται μόνο με CST3, NME2, RPS8.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι είκοσι ακμές με τη μεγαλύτερη διασπορά στα τέσσερα δίκτυα.

Πίνακας 17: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Betaseron

Ακμές	varD	Υγιείς	Betaseron T0	Betaseron T1	Betaseron T2
ISG15_PSMB9	1.091088	0	0.112488	0.109372	0.724878
APOL6_DHX58	1.063947	0.104308	0.215408	0.720885	0.102649
DOCK4_PLSCR1	1.039253	0.108227	0.16631	0	0.828124
ALAS2_GYPC	0.995701	0.106368	0	0.639824	0.118044
NT5C3_SAMD9L	0.970191	0	0.109715	0.111393	0.608208
GBP4_SP100	0.966935	0.102935	0.597863	0.115529	0
HERC5_PLSCR1	0.96138	0.105138	0.246342	0.110444	0.716941
ETV7_MX1	0.960685	0.151905	0.132876	0.77232	0
RTP4_SP140	0.932949	0	0.61003	0.113518	0.120343
BST2_TOR1B	0.926969	0	0.746865	0.111999	0.179336
IFIH1_NT5C3	0.922545	0.103681	0.194349	0	0.754006
DHRS9_NUB1	0.921062	0	0.109776	0.116766	0.581001
IFIT2_TRIM5	0.902766	0	0.673606	0.114935	0.155701
EPB41_FBXO9	0.900127	0.168392	0	0.708243	0.117688
NT5C3_SAMD9	0.897048	0.164391	0.102166	0	0.654241
PARP12_PARP9	0.88451	0.110847	0.148674	0.331045	0.842957
FAM46A_SP110	0.881192	0	0.786745	0.169853	0.15498
ETV7_HERC6	0.879646	0.115837	0.108355	0.541886	0
MX2_OAS1	0.869266	0	0.733499	0.171269	0.137396
C9orf91_TRAFD1	0.860012	0	0.508615	0.115124	0.10145

7.5 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Rebif

Για την θεραπεία Rebif, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω έξι συγκρίσεις.

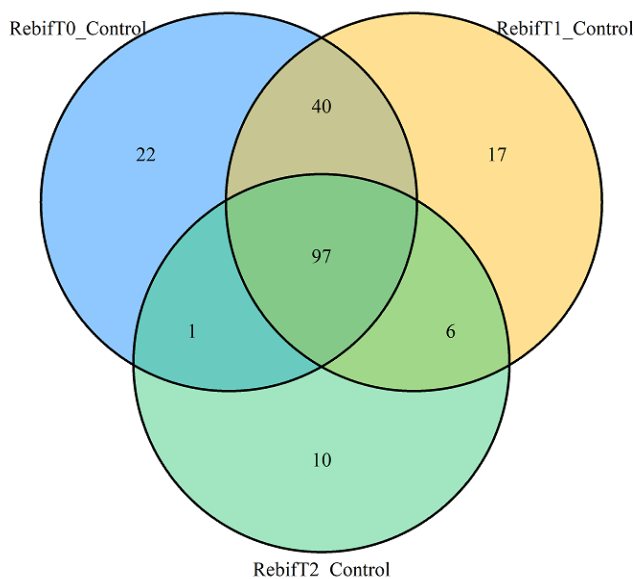
Πίνακας 18: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Rebif

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0 - Υγιείς	160	0.304922851
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1 - Υγιείς	160	0.335671883
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2 - Υγιείς	114	0.317149569
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0 - Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1	1	0.029875797
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0 - Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2	2	0.093981863
Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1 - Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2	3	0.06462702

Η μικρότερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών τη χρονική στιγμή T0 και η μεγαλύτερη τη χρονική στιγμή T1, ενώ η μικρότερη διαφορά ανάμεσα σε δίκτυα ΜΘ παρατηρείται στην σύγκριση μεταξύ των χρονικών στιγμών T0 και T1.

Στο **Σχήμα 53** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. 97 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις, 40 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T1, 6 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T1 και T2, 1 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών

στιγμών T0 και T2, 22 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T0, 17 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T1 και 10 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T2. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Rebif την χρονική στιγμή T2 παρουσιάζει τα λιγότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες χρονικές στιγμές σε σύγκριση με τους Υγιείς.



Σχήμα 53: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ Rebif και Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές.

Σχετικά με τις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 18**, η σύγκριση ανάμεσα στα δίκτυα που αντιπροσωπεύουν τις ακραίες χρονικές στιγμές T0 και T2 φέρει το μεγαλύτερο Σ.Μ.Κ.Α. Επιπλέον, το PRNP υπερεκφράζεται στην χρονική στιγμή T2 έναντι των δύο προηγούμενων χρονικών στιγμών, το IGJ υπερεκφράζεται την χρονική στιγμή T0 έναντι της T1, το FAM26D υπερεκφράζεται την χρονική στιγμή T0 έναντι της T2 και τα RPS7 και LOC147727 υπερεκφράζονται τη χρονική στιγμή T2 έναντι της T0.

7.5.1 Ασθενείς με θεραπεία Rebif – Υγιείς

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Rebif και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Οι συγκρίσεις δικτύων ασθενών με θεραπεία Rebif – Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές έχουν καταγραφεί σε προηγούμενες ενότητες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Υγιών, των ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0, των ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 και των ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, RSAD2, IFIT1, IFI44, USP18, OAS3, EPSTI1, HERC5, MX1, OAS1 και IFIT3, που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Rebif σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια IFI6, SPATS2L, CMPK2, EIF2AK2, IFIH1, RTP4, PARP9, PLSCR1, LAMP3, HERC6, CXCL10, DDX60, SAMD9L, LY6E,

DDX58, IFIT2, IFIT5, SERPING1, IFITM3, OAS2, OASL, IFI27, IFI35, DHX58, SIGLEC1, ZBP1, HLA-DRB5, HLA-DRB1, ISG15 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Rebif σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον, 97 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών και 40 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T1. Τα WLS, CPA3, MGAM, KBTBD7, PSME2, CST3 είναι ΔΕ τη χρονική στιγμή T1 και T2 και όχι T0 στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ – Υγιών ενώ το IGKV3D-15 εκφράζεται διαφορετικά τις χρονικές στιγμές T0 και T2 και όχι T1. Τα FBXO6, EPB41, CCDC23, PDZK1IP1, PGAP1, FAM190A, IGJ, CCDC125, RNF182, GMPR, NT5C3, IDO1, CD274, ANKRD22, TRAFD1, TNFSF13B, PTGDR, ISG20, FECH, PLCB1, APOL6, ACOT9 εκφράζονται διαφορετικά μόνο την χρονική στιγμή T0 σε σύγκριση με τους Υγιείς, τα C1orf128, FAM46C, SLC4A10, PROS1, USP53, NFXL1, BLVRA, TARP, TFEC, MYOF, CASP5, RAB2B, SOCS1, SLFN12, NCRNA00189, EFHC2, TAS2R45 εκφράζονται διαφορετικά μόνο την χρονική στιγμή T1 σε σύγκριση με τους Υγιείς και τα FCRL6, TMSB10, LOC100131131, MME, MAN1A1, STEAP4, CPD, HRH4, CD79A, EMP3 εκφράζονται διαφορετικά μόνο την χρονική στιγμή T2 σε σύγκριση με τους Υγιείς.

Όλες οι ακμές που εμφανίζονται στο IBΣ δίκτυο Υγιών εμφανίζονται και στα IBΣ δίκτυα Rebif T0, Rebif T1 και Rebif T2. Από την άλλη πλευρά, 48 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών. Επιπλέον, οι 11 ακμές BLVRA-CD300E, BST2-PARP9, C9orf91-IL1RN, HERC5-TRIM14, IFI30-TMSB10, IL1RN-PML, IL1RN-SIGLEC1, LAMP3-TRIM14, OAS1-SP110, OAS3-SP110, SP100-TMEM123 εμφανίζονται μόνο στο IBΣ δίκτυο Rebif T0 και σε κανένα άλλο δίκτυο της θεραπείας ούτε και στο δίκτυο Υγιών, 32 ακμές εμφανίζονται μόνο στο IBΣ δίκτυο Rebif T1 και σε κανένα άλλο δίκτυο της θεραπείας και 44 ακμές εμφανίζονται μόνο στο IBΣ δίκτυο Rebif T2 και σε κανένα άλλο δίκτυο της θεραπείας ούτε στο δίκτυο Υγιών. Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0, γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 18**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και Ασθενών ΜΘ Rebif. Το μέγιστο Σ.Μ.Κ.Α παρουσιάζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Υγιών και υποδεικνύει ανομοιότητα της τάξης του 33% σε επίπεδο ακμών IBΣ ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 240 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. Τα ακόλουθα 33 γονίδια APOL1, APOL6, BATF2, BST2, C9orf91, CCL2, CCL8, CD274, CD300E, CEACAM1, CMPK2, CNP, FAM46A, FBXO6, GALM, GRAMD1B, IRF9, JUP, LGALS3BP, LGALS9, LGALS9C, MAFB, MOV10, MX2, PIK3AP1, RIN2, SHISA5, TMEM123, TNFSF10, TOR1B, TRIM14, TRIM21, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. Ιδιαίτερα τα CCL2, CCL8, CD274, CD300E, GALM, JUP, MAFB, SHISA5 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας Rebif.

Επιπρόσθετα, τα BLVRA, GPR146, IFI30, IFITM3, TMSB10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ ίσο με 1 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T0 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα C9orf71, CASP1, DHRS9, FPR3, GBP3, GPX4, MAP2K6, PDCD1LG2,

PPM1K, SERPINB9, TMEM140 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ ίσο με 1 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τέλος, CASP5, CYBB, DUSP5, EFHC2, FAM198B, FGD2, GZMK, H2AFZ, HINT1, KIAA0232, KLRB1, MICALCL, NFXL1, PGLYRP1, PRDX5, PSMB9, RARRES3, RPL7, SESN1, SLC25A37, SLC45A4, TARP, ZNF117 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ ίσο με 1 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T2 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα ACOT9, AIM2, CSRNP1, DOCK4, ETV7, GCH1, IL1RN, PHF11, TAP2, TMEM62 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif T0 – Υγιών και ΜΘ Rebif T1 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T2 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα DRAP1, HCST, IFITM1, ISG20, TIMM10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif T0 – Υγιών και ΜΘ Rebif T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα CCR1, CXorf21, DYNLL1, LGALS1, OTOF, PIGX, TCN2, TLR7, TNFAIP6, TTC26, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Υγιών και ΜΘ Rebif T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T0 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.5.2 Ασθενείς με θεραπεία Rebif – Ασθενείς με θεραπεία Rebif

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Rebif σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0, των Ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 και των Ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Το PRNP υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T2 και σε σχέση με τη χρονική στιγμή T1 και με τη χρονική στιγμή T0 και μάλιστα παρουσιάζει αρκετά παρόμοιο logFC (0.5228261 στη σύγκριση T2 – T1, 0.5494018 στη σύγκριση T2 – T0). Παρόλα αυτά δε συνεκφράζεται με κανένα άλλο γονίδιο σε κανένα δίκτυο της εν λόγω θεραπείας. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι κανένα από τα ΔΕ γονίδια που ανιχνεύονται σε συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές δε συνεκφράζεται με κανένα άλλο γονίδιο στα υπό μελέτη δίκτυα.

Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα και των τριών χρονικών στιγμών είναι 433. 11 ακμές εμφανίζονται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T0 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή, 32 μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή και 44 μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή. Οι ακμές IFI16-SPATS2L, IFIH1-ZBP1 εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Rebif τις χρονικές στιγμές T1 και T0 και απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Rebif T2. Οι ακμές αυτές δεν εμφανίζονται ούτε στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών. Τέλος, οι ακμές CCDC125-SULT1B1, RPL35-UXT, COX6B1-RPL35 εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα Rebif τις χρονικές στιγμές T2 και T1 και απουσιάζουν από το ΜΒΣ δίκτυο Rebif T0. Οι δύο πρώτες ακμές εμφανίζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο Υγιών.

Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών ΜΘ Rebif στο T0 και των ασθενών ΜΘ Rebif στο T1 γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 18**, το οποίο αποτελεί το

ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΜΘ Rebif. Συνεπώς, για τη χρονική στιγμή T2 το δίκτυο Rebif παρουσιάζει τις περισσότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με τα άλλα δίκτυα θεραπείας Rebif.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 236 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΜΘ Rebif. Το KIAA0232 παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Rebif – Ασθενών ΜΘ Rebif. Το KIAA0232 συνεκφράζεται σημαντικά με SOCS1, TYMP, UNC93B1, C19orf66, DUSP5, IRF7 στο T2 ενώ στο T1, στο T0 και στους Υγιείς δεν παρουσιάζει ούτε ΜΒΣ με κανένα από τα παραπάνω γονίδια. Από την άλλη το KIAA0232 συνεκφράζεται με CCDC125 στο T1 με ΙΒΣ, στο T2 και στους Υγιείς με ΜΒΣ και στο T0 δεν παρουσιάζει συνέκφραση.

Επιπρόσθετα, τα CASP1, DHRS9, LGALS1, MGAM, OCR1, STEAP4, TMEM111 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif T0 – Ασθενών ΜΘ Rebif T1 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα AHSP, CASP5, CCL4, CYBB, FBXO9, FRMD3, GZMK, HINT1, MAN1A1, MYOF, NFXL1, PLAC8, PRDX5, RARRES3, RPL7, RPS10, SLC38A5 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif T2– Ασθενών ΜΘ Rebif T0 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα CHMP5, CSRNP1, PDCD1LG2, PGLYRP1, PSMB9, SLC45A4, THBS1, TMEM140 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Ασθενών ΜΘ Rebif T2 ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα BLVRA, IFI30, TMSB10 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 – T1 και T0 – T2 ενώ στην σύγκριση T1-T2 το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα C9orf71, DYNLT1, FPR3, OR52K1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 - T1 και T1 - T2 ενώ στην σύγκριση ασθενών T0 – T2 το ΣΜΚΑ είναι 0. Και τέλος τα FAM198B, FGD2, H2AFZ, KLRB1, MICALCL, PIGX, SESN1, TARP, TLR7 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις T0 – T2 και T1 – T2, ενώ στην σύγκριση ασθενών T0 – T1 το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.5.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 1 ΔΕΓ, το IGJ, το οποίο υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T1 έναντι της χρονικής στιγμής T0.

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif στο T1 φέρει 1729 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif στο T0 φέρει 1250. Οι 1233 από τις 1250 ακμές του δικτύου ΙΒΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 17 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, οι 1657 ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Rebif στο T1 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Rebif στο T0 ενώ οι υπόλοιπες 72 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 359 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 100 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 10 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών

παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: RPL36A, BLVRA, C9orf71, DYNLL1, FPR3, IFI30, KIAA0232, LGALS1, OCR1, UXT. Το **RPL36A** χάνει 3 γείτονες οι οποίοι εμφανίζονται στο T1 και όχι στο T0. Επιπλέον, τα BLVRA και IFI30 παρουσιάζουν 1 γείτονα στο T0 τον οποίον και χάνουν στο T1, ενώ τα υπόλοιπα 7 γονίδια παρουσιάζουν 1 γείτονα στο T1 τον οποίον και χάνουν στο T0.

- 16 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: TNFSF13B, TNFAIP6, OR52K1, CD274, DYNLT1, MAP2K6, MGAM, CASP1, CCDC125, SULT1B1, CA1, DHRS9, GYPB, STEAP4, TMEM111, TMSB10. Ιδιαίτερα, τα **TNFSF13B**, **TNFAIP6** και **OR52K1** χάνουν 8,7 και 5 γείτονες αντίστοιχα από το T1 στο T0.
- Οι υπόλοιποι 74 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: DOCK4, IL1RN, CEACAM1, IRF9, SAMD9, TFEC, AIM2, CXorf21, RPL35, SAMD9L, TRIM14, TRIM21, ACOT9, ISG15, KIAA1109, MIA3, NT5C3, OAS1, PTP4A1, RPL18AP3, RPS5, SP100, SP110, TRAFD1, TRIM6, ADAR, BAG1, BLVRB, BST2, C9orf91, CCL8, CD300E, COX6B1, DDX58, DNAJC6, DRAP1, FAM46A, FBXO6, GBP5, GPX4, HERC5, IFI35, IFI44L, IFIH1, IFIT1, IFIT3, LAMP3, LGALS3BP, MOV10, MYL4, NMI, OAS3, PARP9, PLEK2, PLSCR1, PML, PNPT1, PPM1K, RNF213, RPL18, RSAD2, SIGLEC1, SP140, SPATS2L, TDRD7, TESC, TMEM123, TMEM62, TNFSF10, TRIM22, TRIM5, TRIM58, UBE2L6, ZNF1. Το **DOCK4** χάνει 6 ακμές από το T1 στο T0, το **IL1RN** χάνει 5 ακμές από το T0 στο T1 και μία από το T1 στο T0 ενώ τα **CEACAM1**, **IRF9**, **SAMD9**, **TFEC** χάνουν 4 ακμές αντίστοιχα από το T1 στο T0.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.029875797** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 97% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.5.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών MΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 3 ΔΕΓ, τα RPS7, LOC147727 και PRNP τα οποία υπερεκφράζονται τη χρονική στιγμή T2 έναντι της χρονικής στιγμής T1.

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών MΘ Rebif στο T1 φέρει 1740 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών MΘ Rebif στο T2 φέρει 1169. Οι 1610 από τις 1740 ακμές του δικτύου IBΣ στο T1 εμφανίζονται και στο T2 ενώ οι υπόλοιπες 130 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, οι 1111 ακμές του IBΣ δικτύου των Ασθενών MΘ Rebif στο T2 παρουσιάζονται και στο MBS δίκτυο των Ασθενών MΘ Rebif στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 58 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 340 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 155 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

- 14 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο ένα δίκτυο συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο άλλο δίκτυο παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: SLC25A37, DYNLT1, CHMP5, FAM198B, H2AFZ, KLRB1, C9orf71, FGD2, FPR3, MICALCL, PDCD1LG2, PGLYRP1, SLC45A4, THBS1. Τα **SLC25A37** χάνει 5 γείτονες οι οποίοι

εμφανίζονται στο T2 και όχι στο T1. Επιπλέον, το **DYNLT1** παρουσιάζει 4 γείτονες στο T1 ενώ στο T2 είναι αποκλεισμένο.

- 16 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: ADAR, PPM1K, KIAA0232, GBP5, OR52K1, SESN1, CCL8, DRAP1, MYL4, PIGX, TARP, TIMM10, CSRNP1, PSMB9, TLR7, TMEM140. Ιδιαίτερα, τα **ADAR** και **PPM1K** χάνουν 14 και 8 γείτονες αντίστοιχα από το T1 στο T2 και το **KIAA0232** χάνει 6 γείτονες από το T2 στο T1.
- Οι υπόλοιποι 125 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: TRIM21, IFIH1, ZNFX1, CEACAM1, CXorf21, IL1RN, TFEC, TRIM5, ZCCHC2, ACOT9, CCDC125, ETV7, PHF11, PNPT1, SAMD9L, SP100, TAP2, TNFSF10, CCR1, IFI16, IRF7, TRAFD1, TYMP, UNC93B1, C19orf66, DTX3L, GALM, HCST, IFIT5, MIA3, NMI, NTNG2, PPBP, PTP4A1, SAMD9, SULT1B1, TNFAIP6, TNFSF13B, TOR1B, ZBP1, AIM2, DDX58, DOCK4, DUSP5, EMP3, GPD2, HERC5, IFI35, IRF9, KIAA1109, MKRN1, MPP1, NUB1, PLEK2, PLSCR1, RBM38, RSAD2, SHISA5, SPATS2L, STAT1, TCN2, TDRD7, TESC, TMOD1, TRIM6, TSPAN5, ANKFY1, APOBEC3A, ATP5J2, BEND2, BLVRB, C12orf57, C14orf45, C1orf128, CA1, CD274, CST3, DYNLL1, EFHC2, EIF2AK1, EIF2AK2, FTSJD2, GCH1, GSTP1, GUK1, GYPB, HMBS, IFI44, IFIT2, IFIT3, ISG15, ISG20, ITGB3, JUP, LAMP3, LAP3, LGALS3BP, LGALS9, LGALS9C, MAP2K6, MX2, NPC2, NT5C3, OTOF, PARP9, PDZK1IP1, PGAP1, PIK3AP1, PML, RPL36A, SDPR, SELENBP1, SERPING1, SLFN12, SOCS1, SP110, SP140, SPARC, STRADB, TMEM62, TNFRSF9, TRIM22, UBE2L6, WDR45, ZNF684. Το **FTSJD2** χάνει 9 γείτονες από το T2 στο T1 και 1 γείτονα από το T1 στο T2 και τα **FAM46A**, **MT1L** χάνουν 8 γείτονες από το T2 στο T1. Το **TRIM21** χάνει 8, **IFIH1**, **ZNFX1** χάνουν 7 και τα **CEACAM1**, **CXorf21**, **IL1RN**, **TFEC**, **TRIM5**, **ZCCHC2** χάνουν 6 γείτονες αντίστοιχα από το T1 στο T2.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.06462702** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 94% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ

7.5.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Rebif T2 – Ασθενείς με θεραπεία Rebif T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών MΘ Rebif τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 2 ΔΕΓ, το **FAM26D** το οποίο ρυθμίζει αρνητικά και το **PRNP** το οποίο ρυθμίζει θετικά την έκφρασή του τη χρονική στιγμή T2 σε σχέση με τη χρονική στιγμή T0.

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών MΘ Rebif στο T0 φέρει 1255 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών MΘ Rebif στο T2 φέρει 1171. Οι 1114 από τις 1255 ακμές του δικτύου IBΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T2 ενώ οι υπόλοιπες 141 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, οι 1084 ακμές του IBΣ δικτύου των Ασθενών MΘ Rebif στο T2 παρουσιάζονται και στο MBΣ δίκτυο των Ασθενών MΘ Rebif στο T0 ενώ οι υπόλοιπες 87 απουσιάζουν.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 285 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 174 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και αναφέρονται στη συνέχεια.

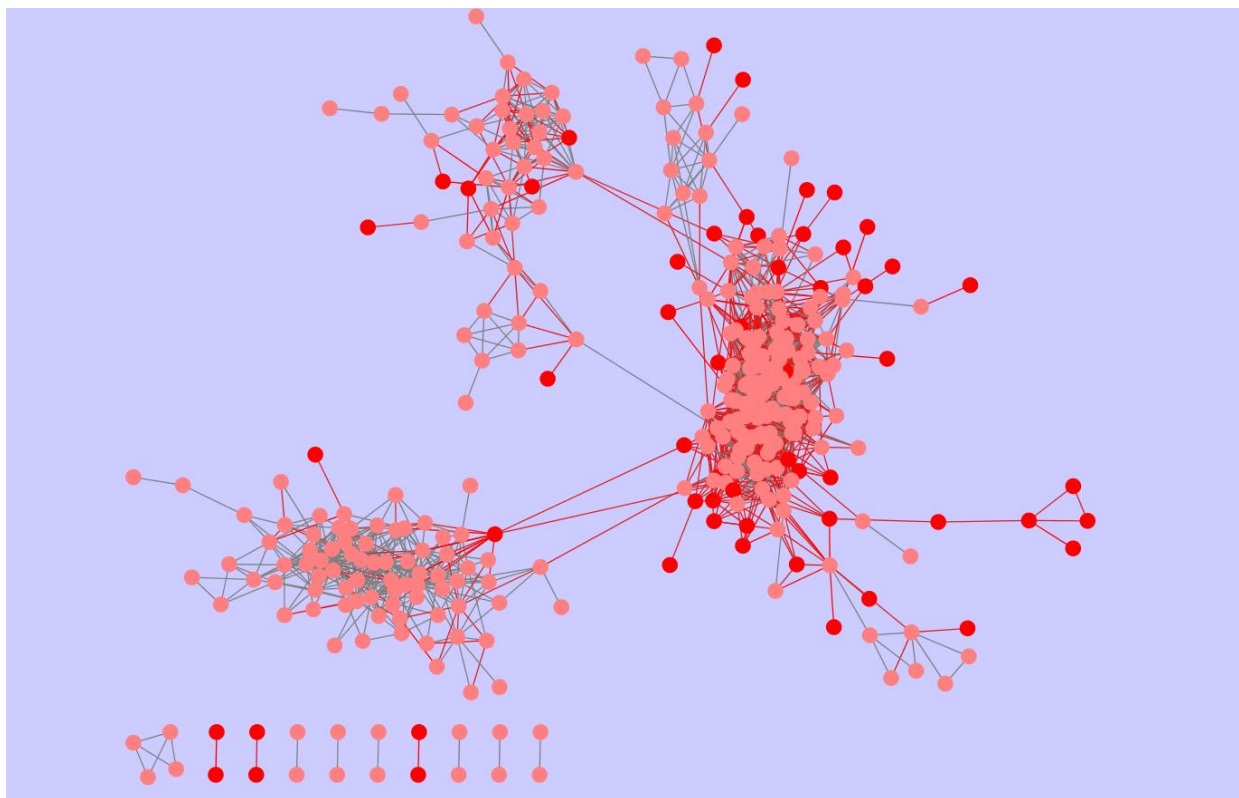
- 24 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ ίσο με ένα, γεγονός που σημαίνει ότι ενώ στο δίκτυο των ασθενών συνδέονται με έναν ή παραπάνω κόμβους, στο δίκτυο των υγιών παρουσιάζονται πλήρως αποκλεισμένοι: RPL36A, KIAA0232, TARP, DYNLL1, FAM198B, H2AFZ, KLRB1, BLVRA, CASP5, CCL4, CYBB, DOCK4, FGD2, GZMK, HINT1, IFI30, MAN1A1, MICALCL, NFXL1, PLAC8, PRDX5, RPL7, TLR7, TMSB10. Το **RPL36A** και το **KIAA0232** χάνουν 10 και 6 γείτονες αντίστοιχα, οι οποίοι εμφανίζονται στο T2 και όχι στο T0.
- 21 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 και μικρότερο του 1, γεγονός που σημαίνει ότι στο ένα δίκτυο συνδέονται με λιγότερους από τους μισούς κόμβους με τους οποίους συνδέονται στο άλλο δίκτυο: PARP9, NT5C3, CCDC125, SULT1B1, GCH1, RPS10, SESN1, DUSP5, EFHC2, GALM, PIGX, CST3, FRMD3, PPBP, AHSP, BEND2, FBXO9, MYOF, RARRES3, SLC38A5, TNFRSF9. Ιδιαίτερα, τα **PARP9** και **NT5C3** χάνουν 16 και 9 γείτονες αντίστοιχα από το T0 στο T2 και τα **CCDC125** και **SULT1B1** χάνουν 7 γείτονες από το T2 στο T0.
- Οι υπόλοιποι 129 κόμβοι εμφανίζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0 και μικρότερο του 0.5: IFI16, PARP12, SP110, OAS1, IFIH1, IL1RN, PHF11, RPL35, SP140, TRIM5, USP18, EIF2AK2, MX2, NUB1, OAS3, SIGLEC1, SP100, STAT2, TYMP, ZBP1, BST2, C19orf66, FTSJD2, LAMP3, OAS2, RPL18, RPLP2, TMEM123, TRIM6, UXT, BATF2, C12orf57, C9orf91, DTX3L, IFI35, IFIT2, IFIT3, IRF7, MOV10, RPL18AP3, RPS8, RTP4, TOR1B, CEACAM1, COX6B1, CXCL10, DDX60, EPSTI1, HERC5, HERC6, MIA3, NME2, NTNG2, PML, PNPT1, RPL9, RPS17, RPS5, SAMD9, SAMD9L, SCARB2, SHISA5, SLC25A37, TNFSF10, TRIM14, TRIM22, UNC93B1, APOBEC3A, APOL6, ATP5J2, BLVRB, C14orf45, C1orf128, CCL8, CD274, CD300E, CMPK2, DDX58, DHX58, DNAJC6, DPM2, DRAP1, GPD2, GSTP1, GYPB, IFI44, IFI44L, IFI6, IFIT1, IFIT5, IGF2BP2, IRF9, ISG15, JUP, LGALS9, LGALS9C, LY6E, LY86, MPP1, MX1, NMI, NPC2, OASL, PGAP1, PIK3AP1, PLEK2, PLSCR1, PRIC285, PSMB3, PTP4A1, RNF213, RPS15, RSAD2, SERPING1, SLC4A1, SOCS1, SPARC, SPATS2L, STAT1, STRADB, TAP2, TCN2, TIMM10, TMEM62, TRAFD1, TRIM21, UBE2L6, ZNF684, ZNFX1. Τα **IFI16**, **PARP12** και **SP110** χάνουν 14, 13 και 12 γείτονες από το T0 στο T2.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.093981863** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 91% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ που αποτελεί το μικρότερο ποσοστό ομοιότητας στις συγκρίσεις Ασθενών MΘ Rebif - Ασθενών MΘ Rebif σε διαφορετικές χρονικές στιγμές και φαίνεται λογικό γιατί οι υπό μελέτη χρονικές στιγμές είναι οι δύο ακραίες της ανάλυσης και αναμένουμε εξέλιξη της θεραπείας ως προς την γονιδιακή έκφραση με την πάροδο του χρόνου.

7.5.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Rebif

Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις πέντε υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T0, Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T1 και Ασθενείς με θεραπεία Rebif τη χρονική στιγμή T2. Στο **Σχήμα 54** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την χρονική στιγμή T2, όπου οι κόμβοι με έντονο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τους κόμβους που είναι αποκλεισμένοι σε τουλάχιστον ένα από τα

υπό μελέτη δίκτυα και οι κόκκινες ακμές τις ακμές που απουσιάζουν από τουλάχιστον ένα δίκτυο.



Σχήμα 54: ΔΚΑ για την θεραπεία Rebif

Ο Πίνακας 19 παρουσιάζει αναλυτικά τα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο κεντρικό δίκτυο αναφοράς καθώς και την κανονικοποιημένη τιμή του Dn-score ως προς το πλήθος αυτό. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 367.

Πίνακας 19: Dn-score για την θεραπεία Rebif

Dn-score	# ακμών	Καν/vo Dn-score	Γονίδιο
1.017639	1	1.017639	MAN1A1
2.588546	4	0.647137	PDZK1IP1
0.620159	1	0.620159	NFXL1
1.207028	2	0.603514	TMEM140
1.188041	2	0.59402	PSMB9
1.177091	2	0.588545	GBP3
0.568093	1	0.568093	GZMK
0.565415	1	0.565415	PRDX5
3.385057	6	0.564176	CASP1
1.097133	2	0.548567	RARRES3
0.540472	1	0.540472	SERPINB9
2.159274	4	0.539819	SLFN12
1.062196	2	0.531098	CHMP5
5.620018	11	0.510911	SULT1B1
2.537027	5	0.507405	EFHC2
8.016522	16	0.501033	DOCK4
2.504737	5	0.500947	MYL4
19.47119	39	0.499261	IL1RN
0.997042	2	0.498521	DHRS9
7.826607	16	0.489163	PPM1K
1.947793	4	0.486948	LGALS1

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

4.363635	9	0.484848	TNFSF13B
10.62188	22	0.482813	CXorf21
1.904085	4	0.476021	DYNLL1
7.606059	16	0.475379	GALM
1.881283	4	0.470321	FRMD3
1.870492	4	0.467623	LY86
3.737225	8	0.467153	EMP3
4.186484	9	0.465165	NME2
0.457408	1	0.457408	EMR3
0.457408	1	0.457408	PYGL
0.456427	1	0.456427	F13A1
0.456427	1	0.456427	RAB27B
4.106964	9	0.456329	TIMM10
5.928161	13	0.456012	DRAP1
0.454488	1	0.454488	CYBB
3.607988	8	0.450999	CCL8
0.448228	1	0.448228	PDCD1LG2
1.344394	3	0.448131	MICAL2
0.895084	2	0.447542	MYOF
12.07229	27	0.447122	ADAR
0.444803	1	0.444803	HBD
11.56448	26	0.444788	PHF11
2.667742	6	0.444624	CSRNP1
7.041507	16	0.440094	ETV7
6.600825	15	0.440055	JUP
9.226303	21	0.439348	NT5C3
0.436167	1	0.436167	PGLYRP1
0.436167	1	0.436167	SLC45A4
4.319515	10	0.431952	TNFAIP6
5.597443	13	0.430573	HCST
8.571598	20	0.42858	BST2
4.686985	11	0.42609	GCH1
3.401652	8	0.425207	DNAJC6
4.667012	11	0.424274	TMEM62
18.24358	43	0.424269	CEACAM1
4.66531	11	0.424119	KIAA1109
0.423115	1	0.423115	AIF1
11.84443	28	0.423016	SP110
5.920629	14	0.422902	ACOT9
3.367617	8	0.420952	GBP5
17.14828	41	0.418251	IFI35
5.822125	14	0.415866	CXCL10
7.893674	19	0.415457	AIM2
8.722723	21	0.415368	IRF9
3.300914	8	0.412614	C12orf57
2.472748	6	0.412125	PPBP
19.67396	48	0.409874	TRIM5
4.917817	12	0.409818	UXT
1.229294	3	0.409765	CA1
9.012969	22	0.40968	FBXO6
14.73187	36	0.409219	TRIM21
0.408433	1	0.408433	THBS1
12.64691	31	0.407965	SP140
5.26651	13	0.405116	RPL36A
2.020976	5	0.404195	ATP5J2
7.21356	18	0.400753	TAP2
2.003471	5	0.400694	GYPB
3.201017	8	0.400127	GSTP1
9.987227	25	0.399489	PARP9
5.569167	14	0.397798	TFEC
4.3587	11	0.396245	RPLP2
16.99136	43	0.395148	TRAFD1
1.972506	5	0.394501	DUSP5
0.787526	2	0.393763	DEFA3
7.082656	18	0.393481	APOBEC3A
10.19144	26	0.391978	OTOF
2.293211	6	0.382202	FAM46A
10.30314	27	0.381598	SAMD9
2.655434	7	0.379348	CD2AP
0.379141	1	0.379141	HINT1
0.379141	1	0.379141	RPL7
4.537896	12	0.378158	SLC25A37

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

3.402127	9	0.378014	CD274
4.141873	11	0.376534	GRAMD1B
3.381434	9	0.375715	TCN2
2.220608	6	0.370101	GPX4
0.361631	1	0.361631	TCP11L2
16.21566	45	0.360348	STAT1
12.22246	34	0.359484	ZNFX1
3.232261	9	0.35914	ZNF684
1.430219	4	0.357555	XAF1
15.70398	44	0.356909	TNFSF10
12.13202	34	0.356824	TRIM14
1.42351	4	0.355877	PGAP1
12.75158	36	0.354211	ISG15
1.410471	4	0.352618	DYNLT1
4.57526	13	0.351943	CCR1
11.94146	34	0.351219	TRIM6
0.70129	2	0.350645	AHSP
0.349616	1	0.349616	OCR1
4.889221	14	0.34923	STRADB
2.763215	8	0.345402	C1GALT1
7.916484	23	0.344195	TMEM123
15.78443	46	0.34314	IFI16
3.764464	11	0.342224	RPS10
0.342193	1	0.342193	CASP5
5.810766	17	0.34181	SHISA5
3.75208	11	0.341098	GPD2
3.0636	9	0.3404	CCDC125
1.701677	5	0.340335	TTC26
2.034894	6	0.339149	BEND2
20.96832	62	0.338199	TOR1B
1.012184	3	0.337395	CST3
2.017279	6	0.336213	IFITM1
9.029487	27	0.334425	UNC93B1
8.013597	24	0.3339	PTP4A1
0.666016	2	0.333008	STEAP4
3.657395	11	0.33249	MAFB
22.60394	68	0.332411	FTSJD2
1.327513	4	0.331878	MAP2K6
4.956544	15	0.330436	RPL18AP3
5.615823	17	0.330343	MIA3
0.660396	2	0.330198	TMEM111
1.318093	4	0.329523	TARP
3.283378	10	0.328338	LGALS3BP
5.855371	18	0.325298	RIN2
3.901686	12	0.325141	NTNG2
0.324516	1	0.324516	HBM
3.561803	11	0.3238	BATF2
3.233301	10	0.32333	NMI
15.17114	47	0.32279	RTP4
11.28284	35	0.322367	CNP
16.744	52	0.322	MOV10
11.21891	35	0.32054	PIK3AP1
0.639545	2	0.319773	TLR7
7.032256	22	0.319648	ANKFY1
1.909852	6	0.318309	NPC2
3.800579	12	0.316715	ISG20
14.23867	45	0.316415	EIF2AK2
2.515548	8	0.314444	PSMB3
2.820877	9	0.313431	COX6B1
14.10321	45	0.313405	TRIM22
18.16776	58	0.313237	MX2
0.626259	2	0.313129	UBA52
0.311933	1	0.311933	IFITM3
1.867594	6	0.311266	SESN1
14.24822	46	0.309744	PNPT1
11.44616	37	0.309356	PLSCR1
1.237256	4	0.309314	C1orf128
1.539859	5	0.307972	PIGX
18.0648	59	0.306183	IFIH1
3.652476	12	0.304373	RPL18
0.30295	1	0.30295	GRAMD1C
5.142315	17	0.302489	APOL6

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

7.549805	25	0.301992	C19orf66
9.960309	33	0.301828	PML
1.805734	6	0.300956	CCL2
1.803691	6	0.300615	IGF2BP2
11.07422	37	0.299303	LAP3
1.196567	4	0.299142	RPL21P28
5.085154	17	0.299127	C9orf91
0.896467	3	0.298822	MMP8
16.69764	56	0.298172	TDRD7
1.786157	6	0.297693	TIMP1
2.080747	7	0.29725	KIAA0232
7.412161	25	0.296486	SP100
1.184595	4	0.296149	PSME2
13.02218	44	0.295959	IFIT5
2.954114	10	0.295411	BPGM
19.19574	65	0.295319	PARP12
5.019744	17	0.295279	RPL35
8.553718	29	0.294956	LGALS9C
9.124603	31	0.294342	PRIC285
2.057841	7	0.293977	CD300E
17.31214	59	0.293426	SPATS2L
19.91352	68	0.292846	ZBP1
16.01181	55	0.291124	UBE2L6
10.67669	37	0.288559	DTX3L
10.09786	35	0.28851	NUB1
1.440633	5	0.288127	CHMP2A
1.721273	6	0.286879	C14orf45
12.31254	43	0.286338	SERPING1
8.299658	29	0.286195	LGALS9
7.697938	27	0.285109	IRF7
8.826623	31	0.28473	CMPK2
3.401057	12	0.283421	RPS8
5.634313	20	0.281716	TYMP
17.18061	61	0.281649	DHX58
14.85775	53	0.280335	DDX58
15.62142	56	0.278954	SAMD9L
1.384127	5	0.276825	RPL9
0.55295	2	0.276475	TNFRSF9
1.926648	7	0.275235	MGAM
1.100294	4	0.275073	APOL1
9.352152	34	0.275063	RNF213
0.808754	3	0.269585	FBXO9
1.876299	7	0.268043	HMBS
1.330836	5	0.266167	SOCS1
2.38605	9	0.265117	PLEK2
1.841856	7	0.263122	MT1X
4.997383	19	0.26302	SCARB2
1.312896	5	0.262579	GPR146
3.670393	14	0.262171	WDR45
5.970929	23	0.259606	GBP1
14.22879	55	0.258705	IFIT2
2.81898	11	0.256271	FAU
14.34888	56	0.25623	OAS1
1.02207	4	0.255517	MT1DP
12.99654	51	0.254834	ZCCHC2
16.0161	63	0.254224	LAMP3
3.813001	15	0.2542	RPS15
13.70479	54	0.253792	STAT2
11.91044	47	0.253414	SIGLEC1
8.815456	35	0.25187	LY6E
15.81262	63	0.250994	HERC5
0.250971	1	0.250971	MT1G
2.003151	8	0.250394	XK
0.25	1	0.25	BLVRA
0.25	1	0.25	C9orf71
0.25	1	0.25	CCL4
0.5	2	0.25	FAM198B
0.25	1	0.25	FGD2
0.25	1	0.25	FPR3
0.5	2	0.25	H2AFZ
0.25	1	0.25	IFI30
0.5	2	0.25	KLRB1

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

0.25	1	0.25	MICALCL
0.25	1	0.25	PLAC8
0.25	1	0.25	ZNF117
13.2352	53	0.249721	IFIT3
0.498586	2	0.249293	TMSB10
3.441619	14	0.24583	RPS17
15.46473	63	0.245472	USP18
0.244754	1	0.244754	CD79A
0.244754	1	0.244754	TCL1A
12.04001	51	0.236079	OAS2
5.405694	23	0.23503	IFI6
0.937572	4	0.234393	MME
1.863079	8	0.232885	BLVRB
9.945442	43	0.231289	EPSTI1
12.60181	55	0.229124	OAS3
2.7438	12	0.22865	RPS5
9.784032	43	0.227536	IFIT1
1.132631	5	0.226526	SELP
10.16187	45	0.225819	HERC6
9.465059	42	0.225359	DDX60
10.08037	45	0.224008	RSAD2
1.326774	6	0.221129	OR52K1
1.095139	5	0.219028	SDPR
10.82777	50	0.216555	OASL
7.704358	36	0.21401	IFI44L
4.054845	19	0.213413	GBP4
2.309884	11	0.209989	GMPR
1.043324	5	0.208665	GUCY1B3
0.412362	2	0.206181	LOC100131131
1.02902	5	0.205804	MT1F
0.817703	4	0.204426	RIOK3
8.937175	44	0.203118	IFI44
2.343611	12	0.195301	GYPC
1.707252	9	0.189695	EIF2AK1
1.872052	10	0.187205	SPARC
0.931853	5	0.186371	MT1L
0.734184	4	0.183546	SRRD
0.732243	4	0.183061	SLC38A5
1.096786	6	0.182798	TUBB1
8.217436	45	0.18261	MX1
1.637725	9	0.181969	TESC
4.973586	28	0.177628	TRIM58
1.405441	8	0.17568	HAGH
0.175562	1	0.175562	RAB2B
0.699342	4	0.174835	MBNL3
1.47947	9	0.164386	EPB41
2.927454	18	0.162636	C20orf108
3.211595	20	0.16058	TSPAN5
0.962469	6	0.160412	SH3BGRL2
1.108757	7	0.158394	SLC1A5
1.421835	9	0.157982	FECH
0.314637	2	0.157318	PRDX2
3.60274	23	0.156641	FAM46C
2.18055	14	0.155754	TMOD1
0.776478	5	0.155296	SHARPIN
1.860072	12	0.155006	BAG1
0.306174	2	0.153087	IL1R2
0.605096	4	0.151274	MCOLN1
0.755228	5	0.151046	MT2A
0.449143	3	0.149714	PDE5A
2.470954	17	0.14535	MKRN1
2.179115	15	0.145274	GUK1
3.625951	25	0.145038	MPP1
0.400545	3	0.133515	LTF
0.664527	5	0.132905	ITGB3
0.263493	2	0.131746	CPD
1.180376	9	0.131153	PRKAR2B
1.043473	8	0.130434	MAP2K3
0.905212	7	0.129316	ARHGEF12
2.182435	17	0.128379	SLC4A1
2.291073	18	0.127282	OSBP2
1.649439	13	0.12688	SELENBP1

3.155666	25	0.126227	RNF10
0.236825	2	0.118412	MMRN1
0.117319	1	0.117319	RAD23A
0.45339	4	0.113348	C19orf62
0.792977	7	0.113282	MXI1
1.458656	13	0.112204	GSPT1
0.981123	9	0.109014	SPTB
0.533307	5	0.106661	SLC14A1
2.303448	22	0.104702	DPM2
2.454179	24	0.102257	EPB42
1.216418	12	0.101368	MARCH8
1.711146	17	0.100656	GATA1
0.801836	8	0.100229	FAM104A
1.895654	19	0.099771	ASCC2
2.011675	21	0.095794	RBM38
1.614068	17	0.094945	DCAF12
0.1823	2	0.09115	CRISP3
0.454426	5	0.090885	BSG
1.662374	19	0.087493	UBXN6
0.921677	11	0.083789	BCL2L1
1.086764	13	0.083597	CDC34
0.161842	2	0.080921	ALAS2
1.039912	13	0.079993	PSMF1
1.197435	15	0.079829	ANK1
0.076774	1	0.076774	OR52K2
0.195991	3	0.06533	GLRX5
1.430218	22	0.06501	C22orf13
0.123056	2	0.061528	AP2A1
0.059362	1	0.059362	RPS3A
0.048667	1	0.048667	TMEM176A
0.048667	1	0.048667	TMEM176B
0.033508	1	0.033508	HIST1H3B
0.033508	1	0.033508	HIST1H3C
0.011987	1	0.011987	TREML1
0.008648	1	0.008648	HLA-DRB1
0.008648	1	0.008648	HLA-DRB5

Όσο περισσότερους γείτονες έχει ένας κόμβος στο ΔΚΑ τόσο μεγαλύτερο Dn-score θα παρουσιάζει διότι παρατηρούνται περισσότερες μικρές ή μεγάλες αλλαγές στα βάρη των ακμών. Συνεπώς, η κανονικοποίηση του σκορ ως προς τις ακμές που εμφανίζει ο κόμβος στο ΔΚΑ μας επιτρέπει να παρατηρήσουμε κατά προσέγγιση τη μέση αλλαγή της γειτονιάς ενός κόμβου ανά ακμή. Για παράδειγμα, σε έναν κόμβο ο οποίος συνδέεται με 70 άλλους κόμβους και το Dn-score του είναι 7, αυτό σημαίνει ότι η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,1 ενώ σε έναν κόμβο με 10 γείτονες και Dn-score 7, η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,7. Με άλλα λόγια, έχει περισσότερο ενδιαφέρον να εστιάσουμε σε κόμβους με μεγαλύτερες διαφορές στα βάρη των ακμών του και όχι σε κόμβους με μεγάλο αριθμό γειτόνων και μικρές διαφορές στα βάρη τους.

Στο **Σχήμα 57** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Ξεκινώντας από τα γονίδια που παρουσιάζουν ένα γείτονα στο ΔΚΑ (κάτω αριστερά), εντοπίζουμε ότι τα SLC45A4 και PGLYRP1 συνεκφράζονται σημαντικά μόνο στο δίκτυο Rebif T2, μεσαία στο Rebif T0 και καθόλου στο δίκτυο Υγιών και στο Rebif T1. Επιπλέον, το HINT1 συνεκφράζεται σημαντικά με RPL7 στο Rebif T2, μεσαία στο Rebif T1 και καθόλου στο Rebif T0 και στους Υγιείς. Τέλος, το MMP8 συνεκφράζεται με IBΣ με τα CRISP3, LTF και στους Υγιείς και στο Rebif T1 ενώ στα υπόλοιπα δίκτυα παρουσιάζει ΜΒΣ. Το MMP8 συνεκφράζεται σημαντικά και με DEFA3 στο Rebif T1 ενώ στα άλλα δίκτυα παρουσιάζουν και πάλι ΜΒΣ.

Όπως είναι εμφανές στο **Σχήμα 57**, όλα τα υπόλοιπα γονίδια συνδέονται μεταξύ τους σε ένα μεγάλο υπό-δίκτυο. Το **MAN1A1**, το οποίο εμφανίζει και το μέγιστο κανονικοποιημένο Dn-score στον πίνακα, παρουσιάζει ισχυρή συνέκφραση με το SULT1B1 στο δίκτυο Rebif T2, μεσαία συνέκφραση στα δίκτυα Υγιών και Rebif T1 ενώ στο Rebif T0 είναι αποκλεισμένο. Το **PDZK1IP1** συνδέεται με TSPAN5, WDR45, EPB42, MPP1 στο IBΣ δίκτυο Rebif T1 και στο MBΣ δίκτυο Rebif T0, μόνο με TSPAN5 στο δίκτυο MBΣ Υγιών και μόνο με TSPAN5, WDR45, EPB42 στο δίκτυο MBΣ Rebif T2. Το **NFXL1** συνδέεται με SULT1B1 μόνο στο IBΣ δίκτυο Rebif T2 και στο MBΣ δίκτυο Rebif T1. Το **TMEM140** συνδέεται με TNFAIP6 στο IBΣ δίκτυο IBΣ Rebif T1 και στα MBΣ Rebif T0 και T2 ενώ στους Υγιείς είναι αποκλεισμένο. Το **PSMB9** συνδέεται με HCST και LY86 στο IBΣ δίκτυο Rebif T2 και στο MBΣ δίκτυο Rebif T0, μόνο με LY86 στο MBΣ δίκτυο Rebif T1 και είναι αποκλεισμένο στους Υγιείς. Το **GBP3** συνδέεται με CXorf21 και KIAA1109 στο IBΣ δίκτυο Rebif T1 και στα MBΣ δίκτυα Rebif T0 και T2 αλλά όχι στο δίκτυο Υγιών. Το **GZMK** συνδέεται με TARP και το **PRDX5** με IFI16 μόνο στο IBΣ δίκτυο Rebif T2 και στο MBΣ δίκτυο Rebif T1. Το **CASP1** συνδέεται με CXorf21, PLSR1, TRIM5 και TRIM6 στο IBΣ δίκτυο Rebif T1 και στα MBΣ δίκτυο Rebif T0 & T2 και με TDRD7 και GCH1 στο IBΣ δίκτυο Rebif T2 δίκτυο Rebif T1 & T0. Το **RARRES3** συνεκφράζεται σημαντικά με PSMB3 και RPS15 μόνο στο δίκτυο IBΣ Rebif T2 και MBΣ Rebif T1, μόνο με RARRES3 στο MBΣ Rebif T0 και με κανένα στο δίκτυο Υγιών. Το **SERPINB9** συνεκφράζεται σημαντικά με GBP4 στο δίκτυο IBΣ Rebif T1 και MBΣ Rebif T0 και T2 και με κανένα στο δίκτυο Υγιών. Το **SLFN12** συνεκφράζεται σημαντικά με CHMP5, CXorf21, TFEC, TMEM62 στο δίκτυο IBΣ Rebif T1 και MBΣ Rebif T0, μόνο με CXorf21, TFEC, TMEM62 στο MBΣ Rebif T2 και μόνο με TFEC, TMEM62 στο MBΣ Υγιών. Το **CHMP5** συνεκφράζεται σημαντικά με CXorf21 και SLFN12 μόνο στο δίκτυο IBΣ Rebif T1 και MBΣ Rebif T0, μόνο με CXorf21 στο MBΣ Υγιών και με κανένα στο δίκτυο Rebif T2. Το **SULT1B1** εμφανίζει 11 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 4 εμφανίζονται στο MBΣ δίκτυο Υγιών, οι 9 στο IBΣ και οι 2 στο MBΣ δίκτυο Rebif T2, οι 3 στο IBΣ και οι 5 στο MBΣ δίκτυο Rebif T1 και μόνο οι 3 στο MBΣ δίκτυο Rebif T0. Το **EFHC2** συνεκφράζεται σημαντικά με C19orf66, CCDC125, IRF7, TYMP, NTNG2 μόνο στο δίκτυο IBΣ Rebif T2, με όλα τα παραπάνω εκτός του NTNG2 στο MBΣ Rebif T1 και μόνο με IRF7 στο MBΣ Rebif T0 ενώ στους Υγιείς είναι αποκλεισμένο. Το **DOCK4** εμφανίζει 16 ακμές στο ΔΚΑ από τις οποίες μόνο οι 2 εμφανίζονται στο MBΣ δίκτυο Υγιών, 1 στο IBΣ και οι 9 στο MBΣ δίκτυο Rebif T0, οι 15 στο IBΣ και 1 στο MBΣ δίκτυο Rebif T1 και οι 13 στο MBΣ δίκτυο Rebif T2. Το **MYL4** συνεκφράζεται σημαντικά με CA1, BCL2L1, STRADB, TMOD1, OSBP2 στο δίκτυο IBΣ Rebif T1, με όλα τα παραπάνω εκτός του CA1 στο Rebif T0, με όλα τα παραπάνω εκτός του BCL2L1 στο MBΣ δίκτυο Υγιών και μόνο με BCL2L1 και OSBP2 στο MBΣ Rebif T2. Να σημειώσουμε επίσης ότι το IL1RN που φέρει υψηλό απλό και κανονικοποιημένο Dn skor παρουσιάζει αρκετές ακμές με Ισχυρή συσχέτιση τη χρονική στιγμή T0 και T2 και λιγότερες τη χρονική στιγμή T2. Επιπλέον, από τις συνολικά 39 ακμές του που εμφανίζονται στο ΔΚΑ, μόνο οι 5 εμφανίζονται στο δίκτυο MBΣ Υγιών.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι είκοσι ακμές με τη μεγαλύτερη διασπορά στα τέσσερα δίκτυα.

Πίνακας 20: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Rebif

Ακμές	varD	Υγιείς	Rebif T0	Rebif T1	Rebif T2
MAN1A1_SULT1B1	1.017639	0.107312	0	0.100317	0.610856
IFI35_RSAD2	1.007139	0.117172	0.108554	0.583342	0.122457
EIF2AK2_OAS2	0.922423	0.120371	0.726659	0.265533	0.101402
TFEC_TRIM5	0.917826	0	0.107563	0.551688	0.10851
RPLP2_UXT	0.916807	0	0.109745	0.149852	0.659161
C20orf108_MICAL2	0.896145	0.107759	0.104478	0.115518	0.501784
JUP_OTOF	0.891389	0	0.185399	0.101454	0.694243
SAMD9_TOR1B	0.888988	0	0.10255	0.561135	0.126938
PDZK1IP1_TSPAN5	0.888389	0.109888	0.119498	0.509904	0.10589
IRF9_OAS3	0.877335	0.103619	0.138385	0.587456	0.149695
NME2_RPLP2	0.859248	0.111453	0	0.163902	0.641886
ATP5J2_HCST	0.857271	0	0.111351	0.180521	0.675751
IFI35_IFIT3	0.856179	0.118772	0.12804	0.551672	0.1257
CXorf21_IL1RN	0.852506	0	0.14229	0.622691	0.125741
DHX58_IL1RN	0.849848	0	0.664997	0.173377	0.116009
MYL4_STRADB	0.846171	0.102299	0.137063	0.54911	0
C19orf66_CEACAM1	0.844745	0	0.535984	0.122797	0.110469
SAMD9L_TRAFD1	0.836508	0	0.245355	0.810718	0.120403
PLEK2_WDR45	0.832684	0.267705	0.111849	0.674212	0.1111
IFI35_IFIT1	0.825729	0.108703	0.108614	0.599929	0.21108

7.6 Συγκρίσεις με βάση τη θεραπεία Avonex

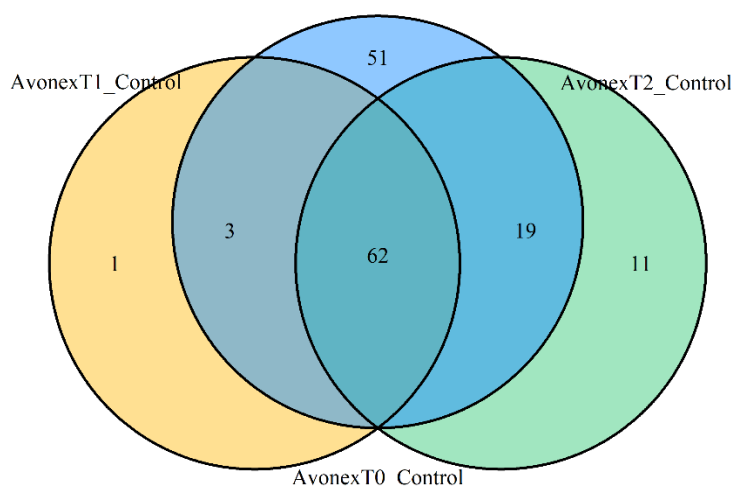
Για την θεραπεία Avonex, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω έξι συγκρίσεις.

Πίνακας 21: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της θεραπείας Avonex

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0 - Υγιείς	135	0.427382054
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1 - Υγιείς	66	0.080872914
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2 - Υγιείς	92	0.388601036
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0 - Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1	1	0.007336757
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0 - Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2	3	0.000258933
Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1 - Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2	1	0.006070417

Η μικρότερη διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών τη χρονική στιγμή T1 και η μεγαλύτερη τη χρονική στιγμή T0, ενώ η μικρότερη διαφορά ανάμεσα σε δίκτυα ΜΘ παρατηρείται στην σύγκριση μεταξύ των χρονικών στιγμών T0 και T2.

Στο **Σχήμα 58** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. 62 γονίδια παρουσιάζουν ΔΕ και στις τρεις συγκρίσεις, 3 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T1, 19 μόνο στις συγκρίσεις των χρονικών στιγμών T0 και T2, 51 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T0, 1 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T1 και 11 μόνο στη σύγκριση της χρονικής στιγμής T2. Όπως είναι εμφανές, η θεραπεία Avonex την χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει τα λιγότερα αποκλειστικά ΔΕΓ σε σχέση με τις υπόλοιπες χρονικές στιγμές σε σύγκριση με τους Υγιείς.



Σχήμα 55: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ Avonex και Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές.

Σχετικά με τις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ Avonex σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 21**, η σύγκριση ανάμεσα στα δίκτυα που αντιπροσωπεύουν τις ακραίες χρονικές στιγμές T0 και T2 φέρει το μικρότερο Σ.Μ.Κ.Α.

7.6.1 Ασθενείς με θεραπεία Avonex – Υγιείς

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Avonex και των ατόμων που δεν πάσχουν από την ασθένεια. Οι συγκρίσεις δικτύων ασθενών με θεραπεία Avonex – Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές έχουν καταγραφεί σε προηγούμενες ενότητες. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Υγιών, των ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0, των ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 και των ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Τα γονίδια IFI44L, IFI44, RSAD2, HERC5, IFIT1, OAS3, USP18 που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη, τετραπλασιάζουν την έκφρασή τους στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Avonex σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους Υγιείς. Επιπλέον τα γονίδια IFI6, SPATS2L, EIF2AK2, PNPT1, IFIH1, RTP4, LAMP3, HERC6, CXCL10, DDX60, SAMD9L, LY6E, DDX58, IFIT2, IFIT3, IFIT5, SERPING1, OAS1, OAS2, OASL, EPSTI1, IFI27, IFI35, MX1, HLA-DRB1, ISG15 παρουσιάζουν σχεδόν διπλάσια έκφραση στους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία Avonex σε οποιαδήποτε από τις τρεις χρονικές στιγμές σε σχέση με τους υγιείς.

Όλες οι ακμές που εμφανίζονται στο ΙΒΣ δίκτυο Υγιών εμφανίζονται και στα ΜΒΣ δίκτυα Avonex T0, Avonex T1 και Avonex T2. Από την άλλη πλευρά, 49 ακμές εμφανίζονται και στα τρία δίκτυα θεραπείας ενώ απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών. Επιπλέον, η ακμή IL1RN-NTNG2 εμφανίζεται μόνο στο ΙΒΣ δίκτυο Avonex T0 και σε κανένα άλλο δίκτυο της θεραπείας ούτε και στο δίκτυο Υγιών, ενώ δεν υπάρχουν ακμές οι οποίες να εμφανίζονται αποκλειστικά σε μία από τις άλλες δύο χρονικές στιγμές για την θεραπεία Avonex. Τέλος, 32 ακμές εμφανίζονται στα δίκτυα Avonex T0 & T2 αλλά απουσιάζουν τελείως από τα δίκτυα Υγιών και Avonex T1. Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρούνται στο δίκτυο των ασθενών ΜΘ Rebif τη χρονική στιγμή T1, γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 21**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Υγιών και Ασθενών ΜΘ Avonex και αποδίδει ομοιότητα στα δύο δίκτυα της τάξης του 92%. Το μέγιστο Σ.Μ.Κ.Α παρουσιάζεται στην σύγκριση δικτύων Ασθενών ΜΘ Avonex T0 – Υγιών και υποδεικνύει ανομοιότητα της τάξης του 43% σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ ανάμεσα στα δύο δίκτυα.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 140 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. Τα ακόλουθα 33 γονίδια APOT6, BATF2, C9orf91, CCL2, CCL8, CD274, CEACAM1, CNP, CSRNP1, ISG15, ISG20, MAP2K6, RIN2, TAP2, TNFSF13B, TRIM14 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών. Ιδιαίτερα τα CCL8, CSRNP1 χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Υγιών και στις τρεις συγκρίσεις, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι γείτονες των κόμβων που απουσιάζουν από το δίκτυο των Υγιών είναι όμοιοι ανάμεσα στα δίκτυα θεραπείας Rebif. Συγκεκριμένα, ο CCL8 χάνει τη συνέκφραση του με το CCL2 και το CSRNP1 με το PML στους Υγιείς και στις τρεις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών.

Επιπρόσθετα, τα CASP5, CD300E, DUSP5, LGALS9, SERPINB9, SHISA5, XAF1 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex T0 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0. Τα ADAR, ANKRD22, BLVRA, CHMP5, DRAP1, IFITM1, IFITM3 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 μόνο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex T2 – Υγιών ενώ στις άλλες δύο συγκρίσεις το ΣΜΚΑ είναι 0.

Τα APOBEC3A, APOL1, APOL6, CASP1, CXorf21, DOCK4, DYNLT1, ETV7, FAM46A, FRMD3, GALM, GRAMD1B, IDO1, MAFB, NUB1, OTOF, PIK3AP1, SAMD9, SOCS1, TFEC, TLR7, TMEM123, TMEM140, TNFAIP6, TOR1B, TRIM21, TTC26, ZNF684 παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex T0 – Υγιών και ΜΘ Avonex T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif T1 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0. Το SLFN12 παρουσιάζει ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0,5 στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex T1 – Υγιών και ΜΘ Avonex T2 – Υγιών ενώ στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex T0 – Υγιών το ΣΜΚΑ είναι 0.

7.6.2 Ασθενείς με θεραπεία Avonex – Ασθενείς με θεραπεία Avonex

Στο κεφάλαιο καταγράφονται τα αποτελέσματα της διαφορικής έκφρασης και της ανάλυσης και σύγκρισης δικτύων ανάμεσα στα δείγματα των Ασθενών ΜΘ Avonex σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές. Τα δίκτυα που λαμβάνουν μέρος σε αυτές τις συγκρίσεις είναι το δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0, των Ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 και των Ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2. Παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια των τριών αυτών περιπτώσεων. Το KRTAP19-6 υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T2 και σε σχέση με τη χρονική στιγμή T1 και με τη χρονική στιγμή T0 και μάλιστα παρουσιάζει αρκετά παρόμοιο logFC (0.5300042 στη σύγκριση T2 – T1, 0.5541175 στη σύγκριση T2 – T0). Παρόλα αυτά δε συνεκφράζεται με κανένα άλλο γονίδιο σε κανένα δίκτυο της εν λόγω θεραπείας. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι κανένα από τα ΔΕ γονίδια που ανιχνεύονται σε συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ Avonex σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές δε συνεκφράζεται με κανένα άλλο γονίδιο στα υπό μελέτη δίκτυα εκτός από το LAMP3 το οποίο υπερεκφράζεται στους Ασθενείς ΜΘ Avonex T0 έναντι των Ασθενών ΜΘ Avonex T1 και εμφανίζει 70 γείτονες στο ΔΚΑ όπως θα δούμε στη συνέχεια.

Ο αριθμός των ακμών που εμφανίζονται στα ΙΒΣ δίκτυα και των τριών χρονικών στιγμών είναι 502 και 453 από αυτές εμφανίζονται και στο δίκτυο των Υγιών. Η ακμή IL1RN-NTNG2 εμφανίζεται μόνο στο δίκτυο ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T0 και σε καμία άλλη χρονική στιγμή. Τέλος, 32 ακμές εμφανίζονται στα δίκτυα Avonex T0 & T2 αλλά απουσιάζουν τελείως από το δίκτυο Avonex T1. Συνεπώς, οι λιγότερες διαφορές σε επίπεδο ακμών εμφανίζονται στην σύγκριση των ασθενών ΜΘ Avonex στο T0 και των ασθενών ΜΘ Avonex στο T2 γεγονός που αποτυπώνεται και στο συνολικό Σ.Μ.Κ.Α της εν λόγω σύγκρισης στον **Πίνακα 21**, το οποίο αποτελεί το ελάχιστο ανάμεσα στα συνολικά Σ.Μ.Κ.Α συγκρίσεων δικτύων Ασθενών ΜΘ Avonex. Τα δύο δίκτυα Ασθενών ΜΘ Avonex για την χρονική στιγμή T0 και T2 είναι κατά 99,97% όμοια.

Από τα συνολικά 459 γονίδια που λαμβάνουν μέρος στην ανάλυση, τα 43 παρουσιάζουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ σε τουλάχιστον μία σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΜΘ Avonex. Κανένα από αυτά τα γονίδια δεν παρουσιάζουν ΣΜΚΑ μεγαλύτερο του 0.5 σε

κάποια σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΜΘ Avonex, το οποίο σημαίνει ότι οι διαφορές στις ακμές είναι μικρές ανάμεσα σε αυτά τα δίκτυα.

7.6.2.1 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T1 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 1 ΔΕΓ, το LAMP3, το οποίο υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T0 έναντι της χρονικής στιγμής T1.

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1 φέρει 672 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0 φέρει 2054. Οι 2034 από τις 2054 ακμές του δικτύου IBΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 20 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, όλες οι ακμές του δικτύου IBΣ Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 431 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 28 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και μικρότερο από 0.25 και είναι οι εξής: SOCS1, TFEC, GALM, CCL8, CSRNP1, DOCK4, ISG15, GCH1, RNF213, NTNG2, TRIM14, CXorf21, BATF2, CCL2, FAM46A, CMPK2, CXCL10, FRMD3, MOV10, NUB1, IFIT1, IL1RN, APOE6, ACOT9, RTP4, C9orf91, GBP1, FTSJD2. Το **GALM** χάνει 4 από τις 24 ακμές του από το T0 στο T1.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.007336757** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 99.27% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ.

7.6.2.2 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T1

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T1 παρουσιάζει 1 ΔΕΓ, το KRTAP19-6, το οποίο υπερεκφράζεται τη χρονική στιγμή T2 έναντι της χρονικής στιγμής T1.

Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1 φέρει 664 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2 φέρει 1807. Οι 1792 από τις 1807 ακμές του δικτύου IBΣ στο T2 εμφανίζονται και στο T1 ενώ οι υπόλοιπες 15 ακμές απουσιάζουν από αυτό. Επιπλέον, όλες οι ακμές του IBΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex στο T1 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2.

Σε επίπεδο κόμβων, από τους 459 υπό μελέτη κόμβους, οι 440 παρουσιάζουν μηδενικό ΣΜΚΑ. Αυτοί οι κόμβοι, δηλαδή, είτε δεν συνδέονται με κάποιον κόμβο σε κανένα από τα δύο δίκτυα, είτε συνδέονται με τους ίδιους κόμβους και στα δύο δίκτυα. Οι υπόλοιποι 19 φέρουν μη μηδενικό ΣΜΚΑ και μικρότερο από 0.25 και είναι οι εξής: GBP5, DYNLT1, GALM, CCL8, ADAR, NMI, TFEC, GBP3, GRAMD1B, LAP3, RIN2, TTC26, TRIM5, ETV7, TRAFD1, CXCL10, CD274, SP140, USP18. Τα **DYNLT1** και **GALM** χάνουν 6 και 4 ακμές αντίστοιχα από το T2 στο T1.

Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.006070417** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 99.39% όμοια σε επίπεδο ακμών IBΣ

7.6.2.3 Ασθενείς με θεραπεία Avonex T2 – Ασθενείς με θεραπεία Avonex T0

Η διαφορική ανάλυση γονιδιακών εκφράσεων σε δείγματα ασθενών ΜΘ Avonex τη χρονική στιγμή T2 και τη χρονική στιγμή T0 παρουσιάζει 3 ΔΕΓ, τα S100A12, DEFA3, KRTAP19-6 τα οποία ρυθμίζουν θετικά την έκφρασή τους τη χρονική στιγμή T2 σε σχέση με τη χρονική στιγμή T0.

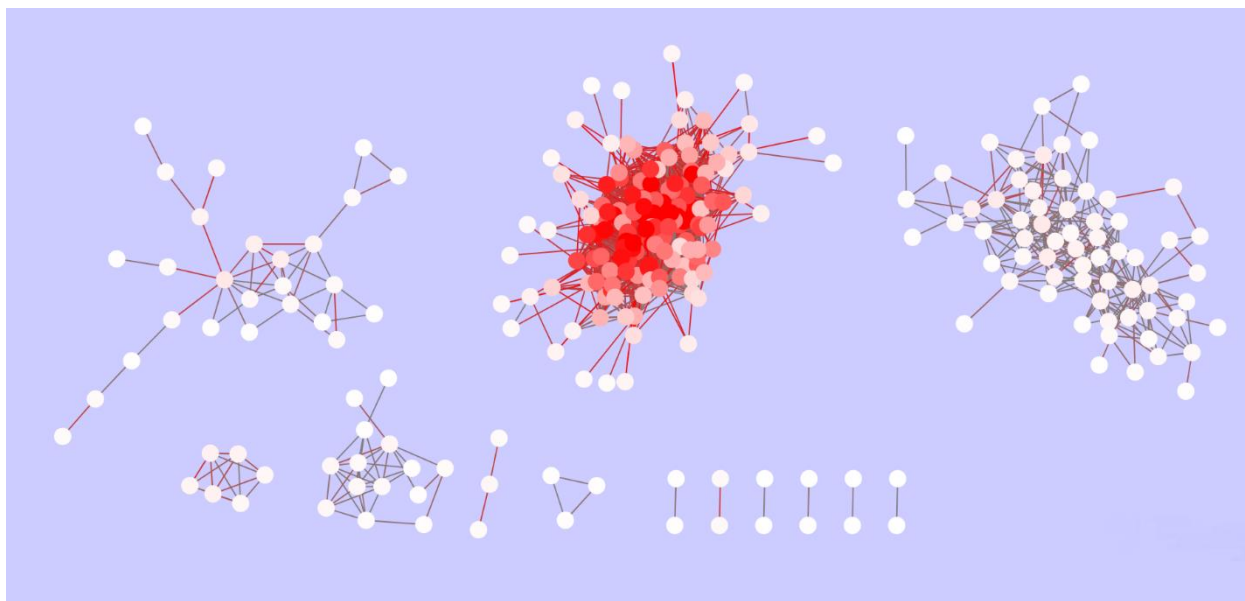
Σε αυτή την σύγκριση, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0 φέρει 2050 ακμές ενώ το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2 φέρει 1812. Οι 2049 από τις 2050 ακμές του δικτύου ΙΒΣ στο T0 εμφανίζονται και στο T2 ενώ η ακμή IL1RN-NTNG2 απουσιάζει από αυτό. Επιπλέον, όλες οι ακμές του ΙΒΣ δικτύου των Ασθενών ΜΘ Avonex στο T2 παρουσιάζονται και στο ΜΒΣ δίκτυο των Ασθενών ΜΘ Avonex στο T0.

Συνεπώς, η μοναδική ακμή που διαφέρει ανάμεσα στα δύο δίκτυα είναι η IL1RN-NTNG2 και τα μοναδικά γονίδια με μη μηδενικό ΣΚΜΑ είναι αυτά που την ορίζουν αν και το σκορ τους είναι μικρότερο του 0.1.

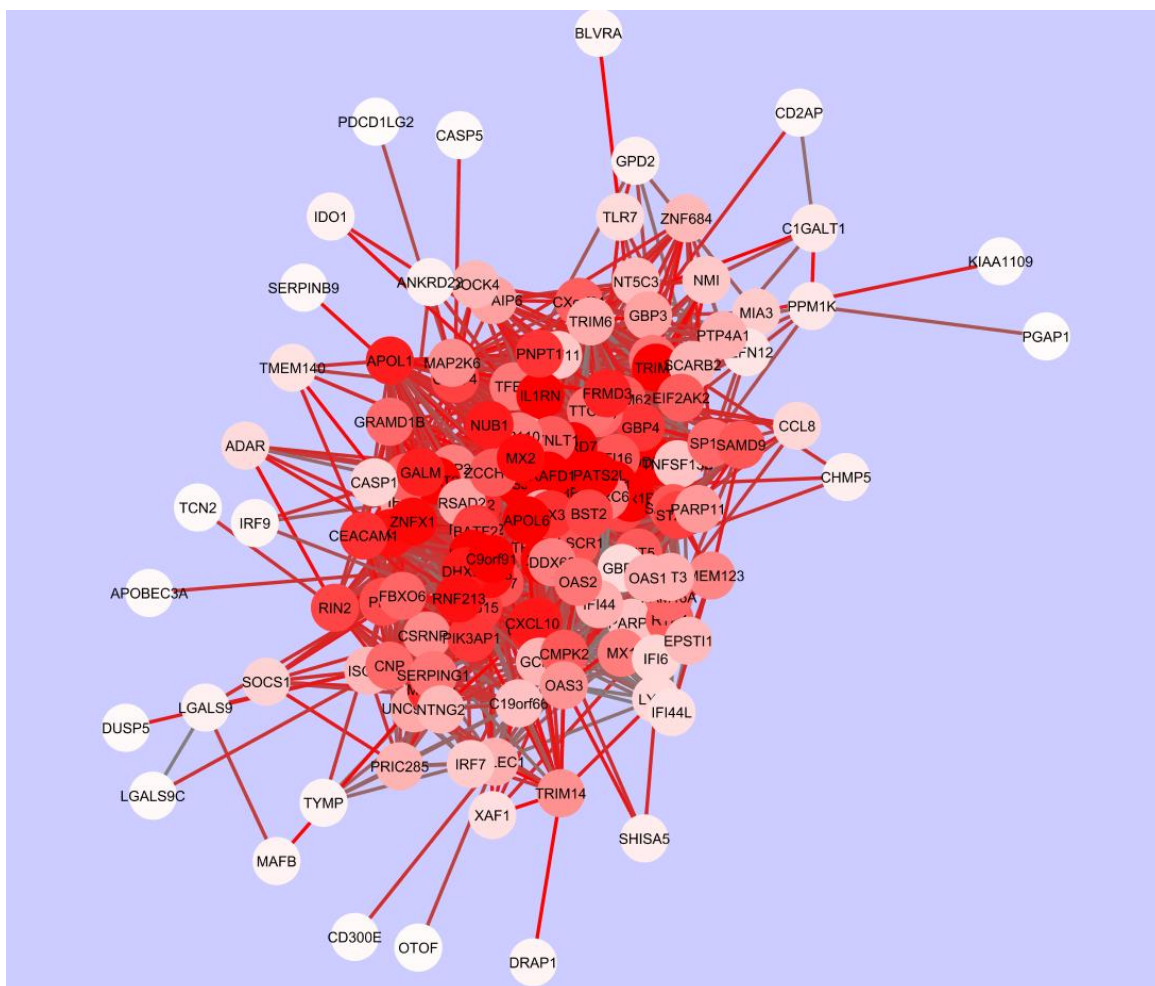
Τέλος, το ΣΜΚΑ των δύο δικτύων είναι ίσο με **0.000258933** γεγονός που υποδηλώνει ότι τα δύο δίκτυα είναι σχεδόν κατά 99.97% όμοια σε επίπεδο ακμών ΙΒΣ και είναι το μικρότερο που παρατηρείτε σε οποιαδήποτε σύγκριση σε όλη την εργασία.

7.6.3 Αποτελέσματα Πολλαπλών Συγκρίσεων για τη θεραπεία Avonex

Το Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς (ΔΚΑ) αντιπροσωπεύει την ένωση όλων των δικτύων σε επίπεδο ακμών και κόμβων για τις τέσσερις υπό μελέτη συνθήκες: Υγιείς, Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη Χρονική Στιγμή T0, Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη χρονική στιγμή T1, Ασθενείς με θεραπεία Avonex τη Χρονική Στιγμή T2. Στο **Σχήμα 59** παρουσιάζεται στο ΔΚΑ για την θεραπεία Avonex, όπου οι κόμβοι με μεγάλο Dn-score καθώς και οι ακμές με μεγάλη διακύμανση φαίνονται με έντονο κόκκινο.



Σχήμα 56: ΔΚΑ για την θεραπεία Avonex



Σχήμα 57: ΔΚΑ για την θεραπεία Avonex, Ομάδα Α

Ο Πίνακας 22 παρουσιάζει αναλυτικά τα Dn-score που προκύπτουν από τη χρήση του αλγορίθμου, το πλήθος των γειτόνων τους στο κεντρικό δίκτυο αναφοράς καθώς και την κανονικοποιημένη τιμή του Dn-score ως προς το πλήθος αυτό. Αυτή η κανονικοποίηση υπογραμμίζει τους κόμβους με μεγάλες αλλαγές σε επίπεδα συνέκφρασης για γονίδια που δεν παρουσιάζουν πολλούς γείτονες. Ο αριθμός των κόμβων που συνδέονται με τουλάχιστον μία ακμή σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε υπό μελέτη δίκτυα είναι 279.

Πίνακας 22: Dn-score για την θεραπεία Avonex

Dn-score	# ακμών	Καν/vo Dn-score	Γονίδιο
0.66121	1	0.66121	DRAP1
0.564908	1	0.564908	BLVRA
0.47114	1	0.47114	SERPINB9
0.85922	2	0.42961	IDO1
2.086526	5	0.417305	XAF1
9.585757	23	0.416772	GRAMD1B
0.414411	1	0.414411	DUSP5
7.770041	19	0.40895	TMEM123
14.41397	36	0.400388	GALM
0.394639	1	0.394639	KIAA1109
2.304191	6	0.384032	TLR7
0.757882	2	0.378941	MAFB
0.371535	1	0.371535	CASP5
1.109428	3	0.369809	SHISA5
10.67418	29	0.368075	DYNLT1
1.822825	5	0.364565	TMEM140
8.729978	24	0.363749	TFEC
8.306439	23	0.36115	TAP2

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

4.667498	13	0.359038	DOCK4
14.32934	40	0.358234	FRMD3
10.28824	29	0.354767	CXorf21
7.081369	20	0.354068	TRIM14
10.26335	29	0.353909	TRIM21
12.71844	36	0.35329	ISG15
2.822017	8	0.352752	SOCS1
9.166311	26	0.35255	TTC26
4.49225	13	0.345558	ZNF684
20.27008	59	0.343561	APOL6
15.45608	45	0.343468	RNF213
7.542402	22	0.342836	CSRNP1
12.94747	38	0.340723	PIK3AP1
10.87017	32	0.339693	SAMD9
23.42513	69	0.339495	IL1RN
9.831279	29	0.33901	FBXO6
13.88059	41	0.338551	CCL2
11.11344	33	0.336771	ETV7
12.38775	37	0.334804	BATF2
12.00836	36	0.333565	BST2
0.998511	3	0.332837	CHMP5
13.30781	40	0.332695	CEACAM1
4.640155	14	0.33144	ISG20
0.330935	1	0.330935	HRH4
0.330935	1	0.330935	IL5RA
15.50439	47	0.329881	ANKFY1
9.89408	30	0.329803	LAP3
10.55351	32	0.329797	TMEM62
12.19597	37	0.329621	CD274
22.92097	70	0.327442	TOR1B
2.614845	8	0.326856	CCL8
14.98571	46	0.325776	CXCL10
0.324456	1	0.324456	CD300E
18.47046	57	0.324043	TRAFD1
9.719172	30	0.323972	FAM46A
14.52619	45	0.322804	APOL1
0.963604	3	0.321201	ANKRD22
7.353523	23	0.319718	MAP2K6
2.22997	7	0.318567	ADAR
6.042384	19	0.31802	TNFAIP6
3.494569	11	0.317688	NMI
0.31744	1	0.31744	TCN2
17.75549	56	0.317062	ACOT9
0.316008	1	0.316008	APOBEC3A
3.785717	12	0.315476	TNFSF13B
10.70523	34	0.31486	CMPK2
22.32279	71	0.314406	SPATS2L
13.50245	43	0.31401	MOV10
11.89579	38	0.313047	RIN2
6.573471	21	0.313022	PARP11
15.95186	51	0.312782	ZNFX1
16.86148	54	0.31225	C9orf91
0.312065	1	0.312065	TRAPPC5
11.49089	37	0.310565	PML
19.79218	64	0.309253	GBP1
2.768134	9	0.30757	CASP1
1.51024	5	0.302048	C1GALT1
9.642538	32	0.301329	CNP
4.76699	16	0.297937	GCH1
14.23778	48	0.29662	UBE2L6
16.94349	58	0.292129	TNFSF10
17.98163	62	0.290026	TRIM5
8.933034	31	0.288162	AIM2
15.76216	55	0.286585	MX2
9.735394	34	0.286335	SP140
18.02483	63	0.286108	FTSJD2
13.10999	46	0.285	GBP4
4.520084	16	0.282505	NTNG2
5.90303	21	0.281097	GBP3
0.279972	1	0.279972	IFITM3
14.78364	53	0.278937	DHX58
14.77786	53	0.278827	NUB1

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

3.564778	13	0.274214	PHF11
12.04185	44	0.273678	TRIM22
3.266992	12	0.272249	MIA3
1.621609	6	0.270268	SLFN12
12.4085	46	0.26975	STAT1
5.371481	20	0.268574	TRIM6
8.85161	33	0.268231	SERPING1
0.803623	3	0.267874	COX6B1
0.267811	1	0.267811	AIF1
5.07814	19	0.267271	PTP4A1
19.50868	73	0.267242	ZBP1
6.412041	24	0.267168	IFI35
8.513634	32	0.266051	SP110
0.531298	2	0.265649	IFITM1
20.92013	79	0.264812	TDRD7
19.0661	72	0.264807	STAT2
0.259819	1	0.259819	OTOF
10.6487	41	0.259724	IFIT5
11.04162	43	0.256782	PLSCR1
1.520765	6	0.253461	PPM1K
13.36262	53	0.252125	DTX3L
4.272615	17	0.25133	NT5C3
0.251327	1	0.251327	PSME2
5.524529	22	0.251115	UNC93B1
10.51089	42	0.250259	RTP4
10.93685	44	0.248565	IFI16
13.06839	53	0.246573	PNPT1
4.891749	20	0.244587	PRIC285
16.43077	70	0.234725	LAMP3
16.3844	70	0.234063	DDX58
18.95665	81	0.234033	IFIH1
2.316258	10	0.231626	GBP5
13.42231	58	0.231419	PARP12
0.918882	4	0.229721	LGALS9
14.7715	65	0.227254	OASL
0.680122	3	0.226707	IRF9
4.001191	18	0.222288	C19orf66
15.65214	71	0.220453	USP18
4.840503	22	0.220023	SCARB2
0.219432	1	0.219432	PDCD1LG2
3.290922	15	0.219395	IRF7
0.433965	2	0.216982	CD2AP
0.648918	3	0.216306	MT1G
5.183777	24	0.215991	SIGLEC1
0.427963	2	0.213981	AHSP
10.43724	50	0.208745	EIF2AK2
0.812998	4	0.20325	MT1DP
1.015803	5	0.203161	RPL18AP3
1.011473	5	0.202295	GPD2
10.78125	54	0.199653	ZCCHC2
10.84922	55	0.197259	SAMD9L
12.01719	61	0.197003	HERC5
8.75619	45	0.194582	OAS2
0.382369	2	0.191185	RPL36A
8.70889	46	0.189324	IFIT2
3.973661	22	0.180621	PARP9
8.340903	47	0.177466	MX1
0.176564	1	0.176564	PGAP1
0.868726	5	0.173745	MT1X
0.342755	2	0.171378	HCST
6.937763	41	0.169214	OAS3
3.868311	23	0.168187	SP100
8.38729	50	0.167746	HERC6
8.154702	49	0.166422	DDX60
0.332422	2	0.166211	LGALS9C
0.645593	4	0.161398	GPR146
0.159211	1	0.159211	PROS1
5.078426	32	0.158701	IFIT3
0.314047	2	0.157024	CHMP2A
0.312832	2	0.156416	NME2
2.501641	16	0.156353	LY6E
0.310599	2	0.1553	ATP5J2

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

1.085658	7	0.155094	C12orf57
0.774256	5	0.154851	MT1L
5.197594	34	0.15287	IFIT1
0.15268	1	0.15268	SLC38A5
2.556737	17	0.150396	IFI6
1.476606	10	0.147661	RPS15
4.400726	30	0.146691	EPSTI1
5.964959	41	0.145487	RSAD2
1.302229	9	0.144692	STRADB
5.145302	36	0.142925	OAS1
0.428276	3	0.142759	PLEK2
0.138026	1	0.138026	MYL4
5.094884	37	0.1377	IFI44
0.137556	1	0.137556	PSMB3
0.400387	3	0.133462	RAD23A
0.781743	6	0.130291	TYMP
0.258104	2	0.129052	RPS7
0.123519	1	0.123519	DNAJC6
0.488849	4	0.122212	MT1F
0.955134	8	0.119392	XK
0.340134	3	0.113378	BLVRB
0.663673	6	0.110612	RPS10
0.21445	2	0.107225	C19orf62
0.106753	1	0.106753	BAG1
0.319118	3	0.106373	C1orf128
0.29971	3	0.099903	RPL9
0.299114	3	0.099705	SHARPIN
0.489081	5	0.097816	MT2A
0.284965	3	0.094988	HMBS
1.31806	14	0.094147	FECH
0.463798	5	0.09276	RPL18
0.434265	5	0.086853	F13A1
0.254475	3	0.084825	PDE5A
0.167412	2	0.083706	BEND2
0.864934	11	0.07863	OSBP2
0.392946	5	0.078589	MCOLN1
1.950819	25	0.078033	IFI44L
0.155262	2	0.077631	MMRN1
0.458345	6	0.076391	RPS17
0.304238	4	0.07606	EIF2AK1
0.074745	1	0.074745	CPA3
0.074745	1	0.074745	MS4A2
0.580345	8	0.072543	GUCY1B3
1.083703	15	0.072247	GMPR
0.782477	11	0.071134	FAM46C
0.493643	7	0.07052	IGF2BP2
0.422383	6	0.070397	MBNL3
0.420696	6	0.070116	RPL35
0.489844	7	0.069978	ITGB3
1.428529	21	0.068025	TRIM58
0.066273	1	0.066273	HIST1H3B
0.066273	1	0.066273	HIST1H3C
0.462106	7	0.066015	SLC1A5
0.263021	4	0.065755	EPB41
0.846124	13	0.065086	TSPAN5
0.646253	10	0.064625	DCAF12
0.682301	11	0.062027	BSG
0.124009	2	0.062004	RPS3A
0.741692	12	0.061808	GUK1
0.304885	5	0.060977	CA1
0.060525	1	0.060525	GSTP1
0.357698	6	0.059616	RPS5
0.696333	12	0.058028	C20orf108
0.172054	3	0.057351	GSPT1
0.572077	10	0.057208	MKRN1
0.453385	8	0.056673	SH3BGRL2
0.337371	6	0.056229	AP2A1
0.560883	10	0.056088	GATA1
0.111661	2	0.05583	CRISP3
0.861391	16	0.053837	WDR45
0.107508	2	0.053754	RPL21P28
0.739396	14	0.052814	CDC34

0.313697	6	0.052283	HAGH
0.618559	12	0.051547	SLC4A1
0.86752	17	0.051031	BCL2L1
0.050956	1	0.050956	C14orf45
0.19893	4	0.049733	BPGM
0.098114	2	0.049057	ARHGEF12
0.097904	2	0.048952	LTF
0.238187	5	0.047637	MAP2K3
0.37523	8	0.046904	PRKAR2B
0.830276	18	0.046126	TMOD1
0.63708	14	0.045506	SELENBP1
0.565354	13	0.043489	UBXN6
0.780451	18	0.043358	MPP1
0.343406	8	0.042926	RBM38
0.423586	10	0.042359	EPB42
0.248147	6	0.041358	SPTB
0.243114	6	0.040519	GLRX5
0.319511	8	0.039939	SDPR
0.468068	12	0.039006	MARCH8
0.572196	15	0.038146	DPM2
0.148239	4	0.03706	GYPC
0.073552	2	0.036776	UXT
0.615895	17	0.036229	ANK1
0.21718	6	0.036197	TUBB1
0.675388	19	0.035547	C22orf13
0.210296	6	0.035049	TESC
0.274598	8	0.034325	PSMF1
0.034127	1	0.034127	TMEM176A
0.034127	1	0.034127	TMEM176B
0.3412	10	0.03412	FAM104A
0.032704	1	0.032704	GYPB
0.06488	2	0.03244	RPLP2
0.440194	14	0.031442	ASCC2
0.091694	3	0.030565	RPS8
0.357506	12	0.029792	RNF10
0.058051	2	0.029025	MMP8
0.11228	4	0.02807	SELP
0.027516	1	0.027516	HLA-DRB1
0.027516	1	0.027516	HLA-DRB5
0.116172	5	0.023234	SPARC
0.108336	6	0.018056	MXI1
0.023978	2	0.011989	FAU
0.010294	1	0.010294	OR52K1
0.010294	1	0.010294	OR52K2
0.007061	1	0.007061	TREML1

Όσο περισσότερους γείτονες έχει ένας κόμβος στο ΔΚΑ τόσο μεγαλύτερο Dn-score θα παρουσιάζει διότι παρατηρούνται περισσότερες μικρές ή μεγάλες αλλαγές στα βάρη των ακμών. Συνεπώς, η κανονικοποίηση του σκορ ως προς τις ακμές που εμφανίζει ο κόμβος στο ΔΚΑ μας επιτρέπει να παρατηρήσουμε κατά προσέγγιση τη μέση αλλαγή της γειονιάς ενός κόμβου ανά ακμή. Για παράδειγμα, σε έναν κόμβο ο οποίος συνδέεται με 70 άλλους κόμβους και το Dn-score του είναι 7, αυτό σημαίνει ότι η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,1 ενώ σε έναν κόμβο με 10 γείτονες και Dn-score 7, η διαφορά ανά ακμή είναι περίπου 0,7. Με άλλα λόγια, έχει περισσότερο ενδιαφέρον να εστιάσουμε σε κόμβους με μεγαλύτερες διαφορές στα βάρη των ακμών του και όχι σε κόμβους με μεγάλο αριθμό γειτόνων και μικρές διαφορές στα βάρη τους.

Στο **Σχήμα 59** παρατηρούμε ότι δημιουργούνται διάφορες ομάδες γονιδίων των οποίων τα μέλη συνεκφράζονται σε τουλάχιστον μία από τις υπό μελέτη συνθήκες. Παρόλα αυτά τα γονίδια με τα υψηλότερα Dn-score συγκεντρώνονται στην κεντρική ομάδα (**Σχήμα 60**).

Τα DRAP1 και BLVRA που παρουσιάζουν τα μεγαλύτερα κανονικοποιημένα Dn-score συνδέονται με TRIM14 και TLR7 αντίστοιχα στο δίκτυο IBΣ Avonex T2 και στα δίκτυα

ΜΒΣ Avonex T0 & T1, ενώ στο δίκτυο Υγιών είναι αποκλεισμένα. Το IL1RN που παρουσιάζει το μέγιστο απλό Dn-score συνδέεται με 69 άλλους κόμβους στο ΔΚΑ εκ των οποίων μόνο οι 6 εμφανίζονται στο δίκτυο Υγιών ενώ όλοι εμφανίζονται στα δίκτυα θεραπείας και τις τρεις χρονικές στιγμές.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι είκοσι ακμές με τη μεγαλύτερη διασπορά στα τέσσερα δίκτυα.

Πίνακας 23: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την θεραπεία Avonex

Ακμές	varD	Υγιείς	Avonex T0	Avonex T1	Avonex T2
IFI16_NMI	0.707324	0.101306	0.232403	0.12932	0.576837
BST2_PML	0.688694	0	0.627211	0.205773	0.142045
DRAP1_TRIM14	0.66121	0	0.196639	0.11017	0.521407
BATF2_IL1RN	0.621295	0	0.682999	0.149522	0.283279
IL1RN_PML	0.604953	0	0.518907	0.127958	0.204753
FBXO6_RNF213	0.595681	0	0.255152	0.102405	0.517814
C1GALT1_MAP2K6	0.579825	0	0.227888	0.122108	0.513468
PML_TRIM21	0.579245	0	0.543851	0.161122	0.197176
APOL6_TRIM5	0.57703	0	0.581817	0.10158	0.345146
GBP4_ZBP1	0.573928	0	0.51134	0.131022	0.216435
CXCL10_TAP2	0.572174	0	0.384615	0.113997	0.64305
CMPK2_SPATS2L	0.571844	0	0.595915	0.173755	0.225
BLVRA_TLR7	0.564908	0	0.281064	0.118872	0.549577
GBP3_TRIM6	0.557938	0.101125	0.501656	0.101802	0.41562
DHX58_GALM	0.555465	0	0.560065	0.102309	0.353625
SIGLEC1_TRIM14	0.550145	0	0.661586	0.104799	0.55483
BATF2_PIK3AP1	0.532841	0	0.438833	0.112451	0.607121
FBXO6_PIK3AP1	0.532671	0	0.272812	0.152516	0.573384
BATF2_RNF213	0.529764	0	0.330099	0.145458	0.611636
CXCL10_TTC26	0.529135	0	0.278226	0.13301	0.536655

7.7 Συγκρίσεις με βάση τη μη θεραπεία

Για την μη θεραπεία, πραγματοποιείται διαφορική ανάλυση και ανάλυση δικτύων για τις παρακάτω έξι συγκρίσεις.

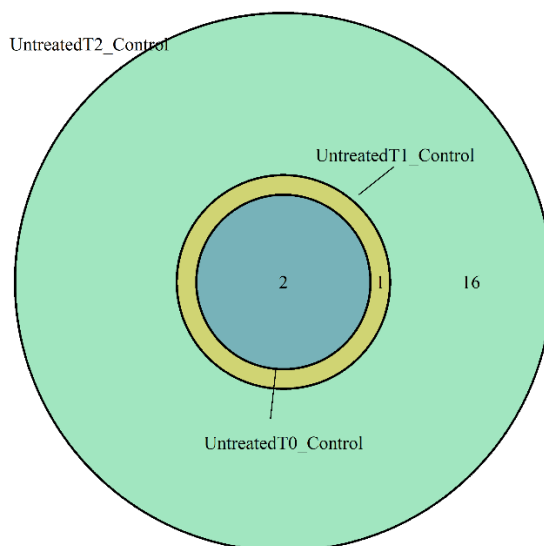
Πίνακας 24: Πληροφορίες για τις συγκρίσεις της μη θεραπείας

Σύγκριση	# ΔΕ γονιδίων	Συνολικό ΣΜΚΑ
Ασθενείς ΧΘ T0 - Υγιείς	2	0
Ασθενείς ΧΘ T1 - Υγιείς	3	0
Ασθενείς ΧΘ T2 - Υγιείς	19	0.009615385
Ασθενείς ΧΘ T0 - Ασθενείς ΧΘ T1	0	0
Ασθενείς ΧΘ T0 - Ασθενείς ΧΘ T2	3	0
Ασθενείς ΧΘ T1 - Ασθενείς ΧΘ T2	0	0

Η μοναδική διαφορά σε επίπεδο ακμών δικτύων συγκριτικά με το δίκτυο των Υγιών παρατηρείται στη σύγκριση Ασθενών ΧΘ – Υγιών τη χρονική στιγμή T2 όπου

παρατηρούμε ότι 2 ακμές, οι HCST-LGALS1 και HCST-RPL18, εμφανίζονται στο δίκτυο IBΣ Ασθενών ΧΘ αλλά όχι και στο ΜΒΣ Υγιών.

Στο **Σχήμα 61** παρουσιάζεται ένα διάγραμμα Venn με ΔΕΓ που παρατηρούνται στις τρεις συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΧΘ – Υγιών. Τα HLA-DRB5 και HLA-DRB1 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με τους Υγιείς και στις τρεις χρονικές στιγμές. Το S100A12 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με τους Υγιείς μόνο τις χρονικές στιγμές T1 και T2. Τέλος, τα CSTA, CD14, LY86, AIF1, TMEM176A, ATP5J2, TMEM176B, DEFA3, GSTP1, RPS26, NME2, HCST, CLC, CHMP2A, LGALS2, UXT υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με τους Υγιείς μόνο την χρονική στιγμή T2.



Σχήμα 58: Διάγραμμα Venn ΔΕΓ μεταξύ των ασθενών ΜΘ Avonex και Υγιών για όλες τις χρονικές στιγμές.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι είκοσι ακμές με τη μεγαλύτερη διασπορά στα τέσσερα δίκτυα όπως αποδίδονται από την σύγκριση πολλαπλών δικτύων και στον **Πίνακα 26** βλέπουμε τα γονίδια με τα υψηλότερα κανονικοποιημένα Dn-scores.

Πίνακας 25: Κορυφαίες είκοσι ακμές με την μεγαλύτερη διασπορά στα πέντε δίκτυα για την μη θεραπεία

Ακμές	varD	Υγιείς	ΧΘ T0	ΧΘ T1	ΧΘ T2
NME2_RPS17	0.486064	0.180049	0.117736	0.437738	0.633952
OASL_ZBP1	0.382486	0.477225	0.537653	0.214563	0.106523
HCST_LGALS1	0.380088	0	0.272208	0.28973	0.569001
RPL36A_RPL7	0.365169	0.279008	0.607749	0.411652	0.105649
HCST_RPL18	0.355149	0	0.279622	0.281482	0.530943
AP2S1_RPS15	0.334234	0.151497	0.297866	0.213621	0.550672
C20orf108_TMOD1	0.304682	0.482247	0.504294	0.207998	0.145119
RPS3A_RPS7	0.294522	0.1073	0.704219	0.567208	0.513399
LGALS1_RPS15	0.29395	0.129957	0.318639	0.297996	0.560207
CHMP2A_GSTP1	0.268418	0.122445	0.598876	0.375595	0.420719
HERC6_IFIH1	0.259645	0.564754	0.420044	0.194521	0.211962
RPL21P28_RPS17	0.252741	0	0.46913	0.470613	0.52405
AHSP_HMBS	0.242082	0.281139	0.531718	0.562652	0.172928
GSTP1_PSMB3	0.240696	0.142545	0.449334	0.268939	0.509732

OASL_ZCCHC2	0.236566	0.578753	0.41101	0.237406	0.201589
ARHGEF12_MBNL3	0.23315	0.424499	0.140794	0.507992	0.274036
DDX58 EIF2AK2	0.232993	0.385891	0.593966	0.343724	0.158276
HCST_RPS15	0.21703	0.18567	0.348812	0.233157	0.523633
EIF2AK1_STRADB	0.212843	0.182353	0.567592	0.423205	0.282611
FECH_TRIM58	0.21177	0.237857	0.538473	0.206313	0.319105

Πίνακας 26: Dn-score για την μη θεραπεία

Dn-score	# ακμών	Καν/νο Dn-score	Γονίδιο
0.382486	1	0.382486	ZBP1
0.365169	1	0.365169	RPL36A
0.365169	1	0.365169	RPL7
0.674038	2	0.337019	LGALS1
0.334234	1	0.334234	AP2S1
0.777313	3	0.259104	RPS17
1.033062	4	0.258265	HCST
0.252741	1	0.252741	RPL21P28
0.242082	1	0.242082	AHSP
0.242082	1	0.242082	HMBS
0.710061	3	0.236687	OASL
0.23315	1	0.23315	MBNL3
0.428342	2	0.214171	RPS7
0.212843	1	0.212843	STRADB
0.568132	3	0.189377	NME2
0.359278	2	0.179639	GBP5
0.50885	3	0.169617	PSMB3
0.668909	4	0.167227	GSTP1

8. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΔΙΚΤΥΩΝ

Η ανάλυση εμπλουτισμού μονοπατιών (Pathway Enrichment Analysis) είναι μια ευρέως γνωστή μέθοδος που χρησιμοποιεί μία λίστα γονιδίων τα οποία υπέρ-εκπροσωπούνται σε ένα μεγάλο σύνολο γονιδίων και μπορεί να σχετίζονται με φαινοτύπους ασθενειών. Η μέθοδος χρησιμοποιεί στατιστικές προσεγγίσεις για τον εντοπισμό σημαντικά εμπλουτισμένων ή μη εμπλουτισμένων ομάδων γονιδίων. Σε πειράματα υψηλής απόδοσης που αποδίδουν σύνολα γονιδίων (για παράδειγμα, γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά υπό διαφορετικές συνθήκες) συχνά υπάρχει η ανάγκη ανάκτησης ενός λειτουργικού προφίλ αυτού του συνόλου γονιδίων, με σκοπό την βέλτιστη να κατανόηση των υποκείμενων βιολογικών διεργασιών.

Η Reactome [29] είναι μια βάση δεδομένων για την ερμηνεία βιολογικών μονοπατιών με σκοπό την αποκάλυψη υψηλής σημαντικότητας μονοπατιών με χρήση δεδομένων υψηλής απόδοσης. Το πακέτο ReactomePA που έχει υλοποιηθεί με τη χρήση της γλώσσας προγραμματισμού R και εντάσσεται στα πακέτα που κυκλοφορούν μέσω του Bioconductor, χρησιμοποιεί ένα υπέρ-γεωμετρικό μοντέλο για να εκτιμήσει εάν ένας αριθμός γονιδίων σχετίζεται με κάποιο μονοπάτι της Reactome. Στις παρακάτω γραμμές κώδικα φαίνεται πώς από μία λίστα γονιδίων καταλήγουμε σε έναν πίνακα με βιολογικά μονοπάτια στα οποία συμμετέχουν. Η συνάρτη «mapIds» του πακέτου org.Hs.eg.db χρησιμοποιείται για να μετατρέψει τα ονόματα των γονιδίων σε entrez ids, όπως απαιτείται για την χρήση της συνάρτησης enrichPathway του ReactomePA.

```
library('org.Hs.eg.db')
library(ReactomePA)
y<-mapIds(org.Hs.eg.db, totaldegenes, 'ENTREZID', 'SYMBOL')
x <- ReactomePA::enrichPathway(gene=y,pvalueCutoff=0.05, readable=T)
```

Από αυτή τη διαδικασία προκύπτει ένας πίνακας στον οποίο παρουσιάζονται μονοπάτια της Reactome και τα αντίστοιχα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια που συμμετέχουν σε αυτά. Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται μόνο τα αποτελέσματα με τιμή σημαντικότητας μικρότερη από 0,05 και πλήθος γονιδίων μεγαλύτερο από 2.

Πίνακας 27 : Γονίδια που συμμετέχουν στα βιολογικά μονοπάτια της Reactome

Μονοπάτι Reactome	ID	p-value	Γονίδια	Επικάλυψη
Interferon Signaling	R-HSA-913531	1.509820e-36	HLA-DRB1; IFI6; RSAD2; EIF2AK2; HERC5; DDX58; IFIT2; IFIT3; IFIT1; OAS1; OAS3; OAS2; OASL; IFI27; IFI35; MX1; USP18; ISG15; TRIM22; HLA-DRB5; IFITM3; XAF1; STAT2; GBP4; IFITM1; UBE2L6; BST2; TRIM5	28/49
<i>Interferon alpha/beta signaling</i>	R-HSA-909733	3.378731e-30	IFI6; RSAD2; IFIT2; IFIT3; IFIT1; OAS1; OAS3; OAS2; OASL; IFI27; IFI35; MX1; USP18; ISG15; IFITM3; XAF1; STAT2; IFITM1; BST2	19/49
Antiviral mechanism by IFN-stimulated genes	R-HSA-1169410	8.159379e-16	EIF2AK2; HERC5; DDX58; IFIT1; OAS1; OAS3; OAS2; OASL; MX1; USP18; ISG15; UBE2L6	12/49
Interferon gamma signaling	R-HSA-877300	3.009925e-10	HLA-DRB1; OAS1; OAS3; OAS2; OASL; TRIM22; HLA-DRB5; GBP4; TRIM5	9/49
ISG15 antiviral mechanism	R-HSA-1169408	1.012886e-09	EIF2AK2; HERC5; DDX58; IFIT1; MX1; USP18; ISG15; UBE2L6	8/49
Negative regulators of DDX58/IFIH1 signaling	R-HSA-936440	4.399823e-07	IFIH1; HERC5; DDX58; ISG15; UBE2L6	5/49
DDX58/IFIH1-mediated induction of interferon-alpha/beta	R-HSA-168928	1.456364e-06	IFIH1; HERC5; DDX58; ISG15; DHX58; UBE2L6	6/49

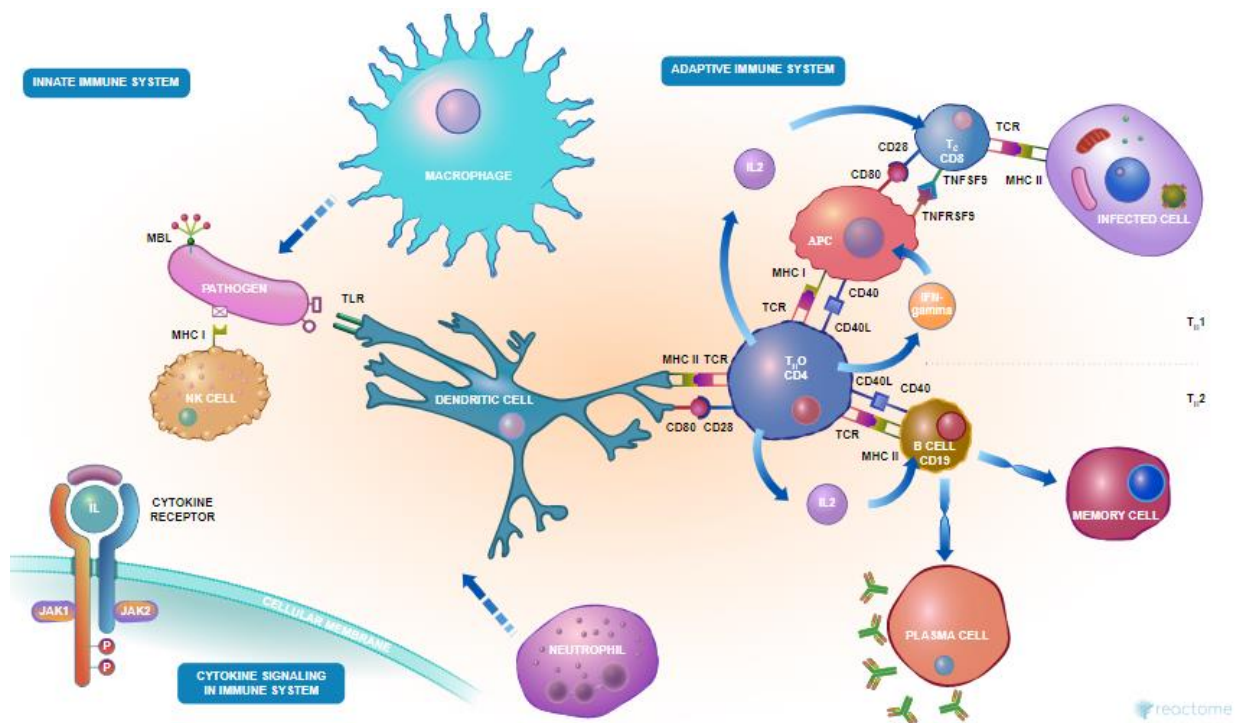
Αρχικά, όλα τα μονοπάτια που εμφανίζονται στον παραπάνω πίνακα ανήκουν στο υπερ-μονοπάτι του Ανοσοποιητικού συστήματος γεγονός που επιβεβαιώνεται από την ανοσοπαθγένεια της ασθένειας που διερευνάται. Στην συνέχεια ακολουθεί η ανάλυση δικτύων των γονιδίων που εμφανίζονται σε κάθε μονοπάτι προκειμένου να συνδέσουμε τις αλλαγές στα δίκτυά τους με τους βιολογικούς μηχανισμούς που τα εμπεριέχουν. Μόνο τα επισημασμένα μονοπάτια προχωρούν σε ανάλυση διότι τα υπόλοιπα είτε είναι πολύ γενικά υπέρ-μονοπάτια (π.χ. Interferon Signaling) είτε μικρά υπο-μονοπάτια με αμελητέες αλλαγές για γονίδια που συμμετέχουν.

8.1 Ανοσοποιητικό σύστημα

Το ανοσοποιητικό σύστημα (Immune system, R-HSA-168256) ενός οργανισμού είναι σύστημα βιολογικών μηχανισμών υπεύθυνο για την άμυνά του. Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από δύο βασικές ομάδες κυττάρων, τα κύτταρα της λεμφικής σειράς (λεμφοκύτταρα) και τα κύτταρα της μυελικής σειράς. Τα λεμφοκύτταρα περιλαμβάνουν τα Β-λεμφοκύτταρα, τα Τ-λεμφοκύτταρα, καθώς επίσης και τα μεγάλα κοκκιώδη κύτταρα (ή φυσικά φονικά κύτταρα - natural killer cells, NK). Τα κύτταρα της μυελικής σειράς αποτελούνται από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα (monocytes/macrophages), τα δενδριτικά κύτταρα (dendritic cells), τα ουδετερόφιλα (neutrophils), τα ηωσινόφιλα (eosinophils) και τα βασεόφιλα (basophils). Η ικανότητά του οργανισμού να αποφύγει τη μόλυνση εξαρτάται από το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα και κατά τις πρώτες κρίσιμες ώρες και ημέρες έκθεσης σε ένα νέο παθογόνο, από το έμφυτο ανοσοποιητικό μας.

Όπως φαίνεται και στην εικόνα που ακολουθεί, το R-HSA-168256 μονοπάτι αποτελείται από τρία άλλα μονοπάτια.

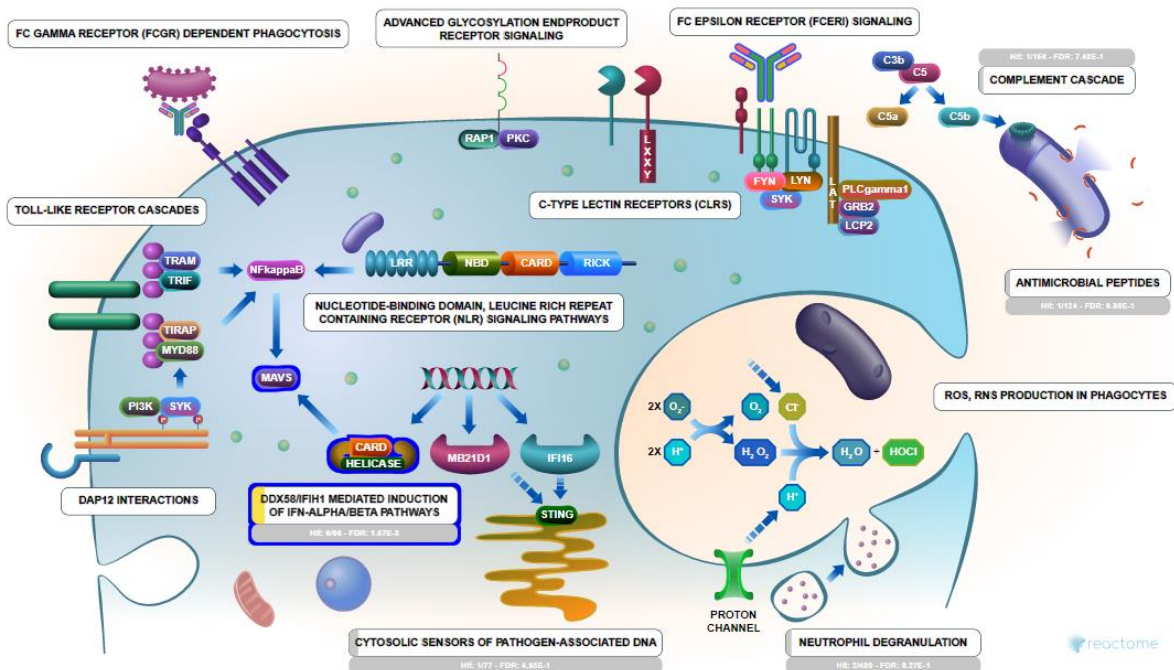
- Έμφυτο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Innate Immune System)
- Προσαρμοστικό Ανοσοποιητικό Σύστημα (Adaptive Immune System)
- Μεταγωγή σήματος κυτοκινών στο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Cytokine Signaling in Immune system)



Εικόνα 5: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168256 της Reactome

8.1.1 Έμφυτο Ανοσοποιητικό Σύστημα

Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα (Innate Immune system, R-HSA-168249) αποτελεί το μη ειδικό μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος. Η έμφυτη (φυσική) ανοσία υπάρχει από τη γέννηση του οργανισμού και δεν εξελίσσεται. Περιλαμβάνει τους φυσιολογικούς φραγμούς του δέρματος και των βλεννογόνων που αποτρέπουν την είσοδο λοιμογόνων παραγόντων στον οργανισμό, καθώς και μηχανισμούς άμυνας, που ενεργοποιούνται αμέσως μετά την επίδραση βλαπτικού ερεθίσματος. Οι μηχανισμοί αυτοί δεν διακρίνουν τους διάφορους λοιμογόνους παράγοντες μεμονωμένα, αλλά αντιλαμβάνονται τις διαφορές που δημιουργεί η παρουσία ξένου παράγοντα μέσα στον οργανισμό. Η παρακάτω εικόνα παρουσιάζει διάφορα μονοπάτια που εμπλέκονται στην διαδικασία της φυσικής ανοσίας και επισημαίνεται το μονοπάτι που θα εστιάσουμε στη συνέχεια.



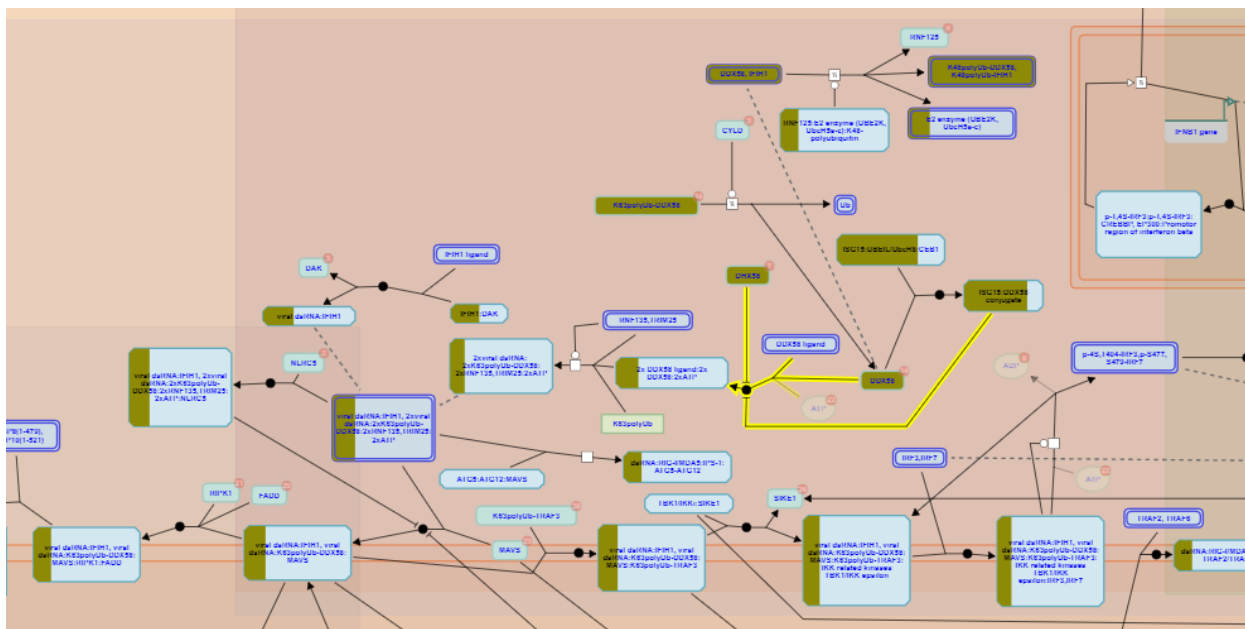
Εικόνα 6: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168249 της Reactome

8.1.1.1 Επαγωγή της Ιντερφερόνης άλφα/βήτα μεσολαβούμενη του DDX58/IFIH1

Η Επαγωγή της Ιντερφερόνης άλφα/βήτα μεσολαβούμενη του DDX58/IFIH1 (DDX58/IFIH1 - mediated induction of interferon-alpha/beta, R-HSA-168928) είναι μονοπάτι που ανήκει στην φυσική ανοσοακρόκριση και σχετίζεται με την αναγνώριση ιικού RNA με αποτέλεσμα την επαγωγή της IFNA και IFNB. Η RIG-I ελικάσες (DDX58 και IFIH1) είναι RNA ελικάσες που αναγνωρίζουν την ύπαρξη ιικού RNA μέσα στο κυτταρόπλασμα. Ρυθμίζουν θετικά τα γονίδια της Ιντερφερόνης με παρόμοιο τρόπο ενώ διαφέρουν στην απόκρισή τους σε διαφορετικά είδη ιών. Το αποτέλεσμα της σηματοδότησης των DDX58 και IFIH1 οδηγεί στην ενεργοποίηση του IKK έψιλον και του TBK1, δύο κινάσες που φωσφορυλιώνουν τους παράγοντες ρύθμισης ιντερφερόνης IRF3 και IRF7. Μετά τη φωσφορυλίωση, τα IRF3 και IRF7 μεταφέρονται στον πυρήνα και επάγουν της μεταγραφή του γονιδίου της IFNA και IFNB.

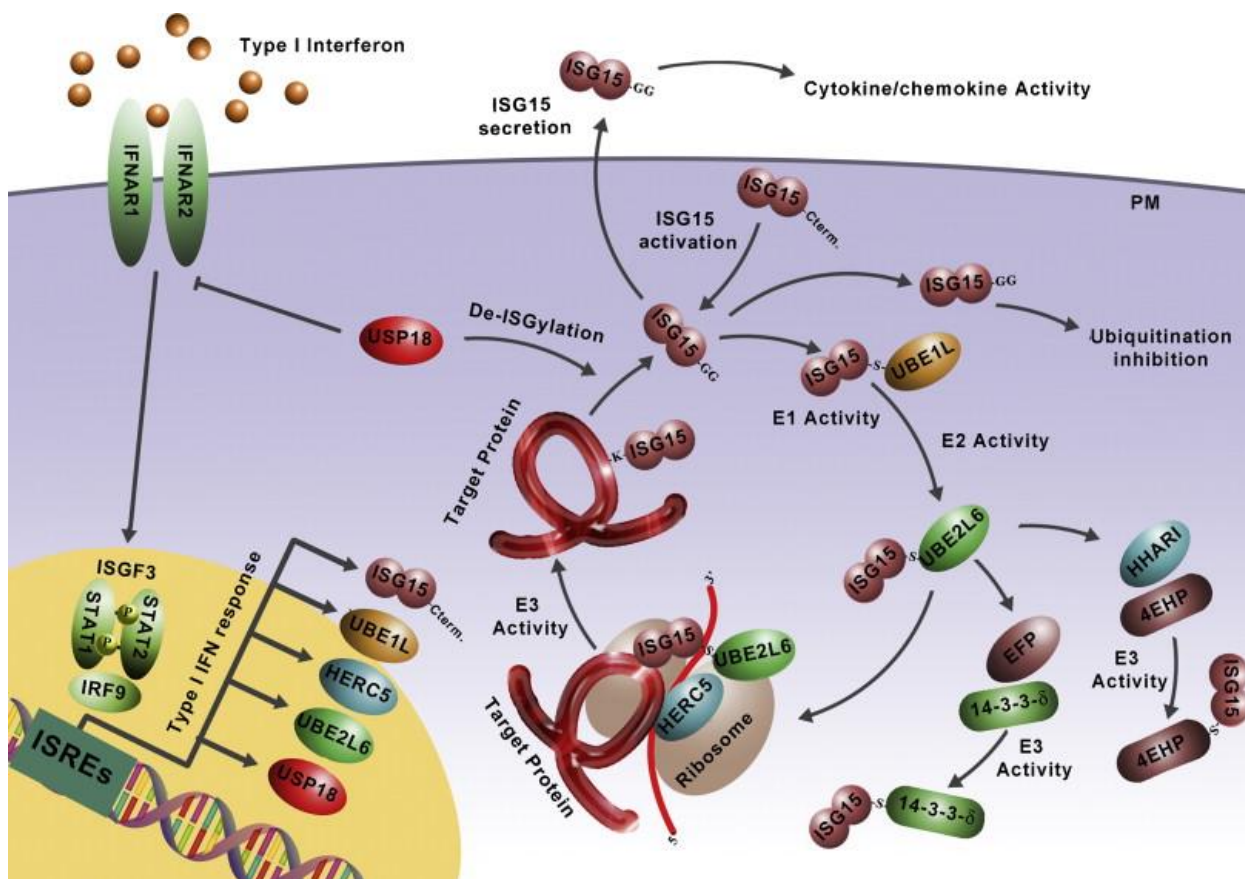
Το DDX58 έχει δύο τομείς πρόσληψης κασπάσης (caspase recruitment domain, CARD) στο N-τερματικό ρυθμιστικό πεδίο, ένα DExD/H τομέα ελικάσης με ένα μοτίβο πρόσδεσης

ATP στη μέση και ένα πεδίο καταστολέα (Repressor Domain, RD) στη C-τερματική περιοχή. Στην απουσία κατάλληλης διέγερσης, το DDX58 βρίσκεται σε “κλειστή διαμόρφωση” όπου το RD αλληλεπιδρά με το DExD/H καλύπτοντας το CARD. Σε ιική μόλυνση, το ιικό RNA ενεργοποιεί το DDX58 με πρόσδεση στο DExD/H, γεγονός που προκαλεί μία αλλαγή στο σχηματισμό του DDX58 εκθέτοντας το CARD. Έπειτα το DDX58 διμερίζεται και έχει τη δυνατότητα να αλληλεπιδράσει με MAVS και να ενεργοποιήσει κινάσες που οδηγούν στην παραγωγή ιντερφερονών και συνεπώς στην αντιική απόκριση [29].



Εικόνα 7: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-168928 της Reactome

Το ISG15 και το DHX58 είναι τα δύο βασικά γονίδια τα οποία ρυθμίζουν αρνητικά την αντιική σηματοδότηση, αλληλοεπιδρώνοντας με το DDX58. Η έκφραση του ISG15 ρυθμίζεται θετικά από IFNA/IFNB λόγω της ύπαρξης δύο ISRE περιοχών στον προωθητή του γονιδίου. Το ISG15 κωδικοποιεί πρωτεΐνη όμοια με την ουβικιτίνη που συζευγνύεται (conjugate) με ένα πλήθος άλλων ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών με ισοπτεπιδικό δεσμό (ISGylation) όπως φαίνεται στην εικόνα 33. Μετά την θεραπεία με Ιντερφερόνη, μπορεί να ανιχνευθεί και ελεύθερο και συζευγμένο σε μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα όπου λειτουργεί σαν κυτταροκίνη και να διαμορφώσει το JAK-STAT μονοπάτι και ορισμένες λειτουργίες της νευρολογικής νόσου [29]. Η σύζευξη του ISG15 με το DDX58 μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στην αρνητική ρύθμιση των αντιικών αποκρίσεων που προάγονται από Ιντερφερόνες. Το συζευγμένο DDX58 μεταβαίνει σε μη αναστρέψιμη βιοχημική διαδικασία όπως η πρωτεόλυση. Η σύζευξη του ISG15 με οποιαδήποτε πρωτεΐνη στόχο απαιτεί την δράση τριών ενζύμων : E1 (ένζυμα ενεργοποίησης), E2 (ένζυμα σύζευξης, UBE2L6) και E3 (λιγάσες, HERC5).



Εικόνα 8: Αναπαράσταση ISGylation

Το DHX58 λειτουργεί σαν ρυθμιστής του DDX58 και του IFIH1, μόρια που προάγουν την αντιική μεταγωγή σήματος. Αν και ελικάση με DExH τομέα, δεν μπορεί να ενεργοποιήσει την αντιική μεταγωγή σήματος διότι δεν περιέχει τον τομέα CARD που απαιτείται για να ενεργοποιήσει το MAVS. Δεσμεύεται στο DDX58 και διακόπτει τον διμερισμό του.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των δικτύων συνέκφρασης για κάθε χρονική στιγμή και για κάθε θεραπεία των έξι γονιδίων τα οποία παρουσιάζουν διαφορετική έκφραση στις παραπάνω συγκρίσεις και λαμβάνουν μέρος στο εν λόγω βιολογικό μονοπάτι. Τα γονίδια αυτά είναι τα εξής: DDX58, IFIH1, HERC5, UBE2L6, ISG15, DHX58.

8.1.1.1 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T0

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T0 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 28: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0

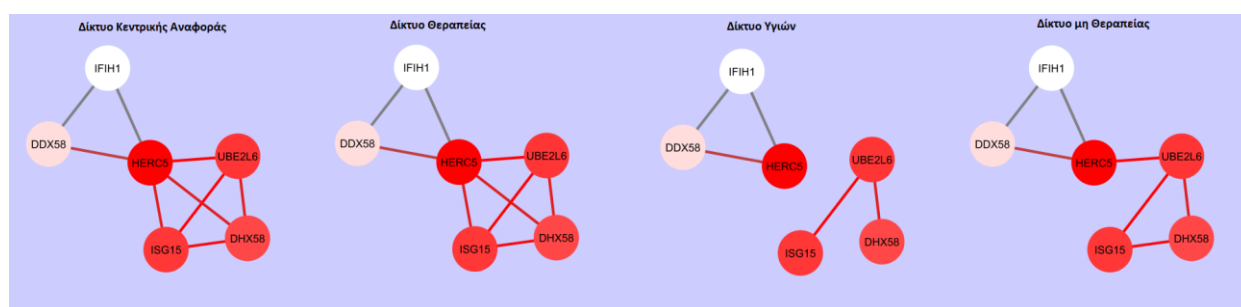
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.166666667
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.444444444
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.285714286
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.2
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.125
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Avonex παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με του υγιείς αλλά και σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία ανάμεσα στις τρεις θεραπείες.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T0. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T0.

Πίνακας 29: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T0

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
ISG15_UBE2L6	0.374554	0.116022	0.231318	0.685335	0.631519	0.808855
HERC5_UBE2L6	0.368882	0	0.138896	0.607423	0.537909	0.461728
DHX58_ISG15	0.356751	0	0.272306	0.748741	0.408789	0.786767
DHX58_UBE2L6	0.309512	0.110237	0.352687	0.782717	0.641201	0.803834
HERC5_ISG15	0.308532	0	0	0.504456	0.404415	0.406166
DHX58_HERC5	0.304357	0	0	0.531527	0.52106	0.446036
DDX58_HERC5	0.227187	0.244902	0.336435	0.825334	0.504211	0.759446
HERC5_IFIH1	0.077412	0.450609	0.412642	0.784895	0.718703	0.715472
DDX58_IFIH1	0.076199	0.366918	0.557664	0.828214	0.660126	0.617002



Σχήμα 59: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T0

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T0 (αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία για τη χρονική T0, (μέση-αριστερά), το δίκτυο M. Γεωργάκη

υγιών (μέση-δεξιά) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (δεξιά). Τα τρία δίκτυα θεραπείας για την δεδομένη χρονική στιγμή δεν παρουσιάζουν κάποια αλλαγή σε επίπεδο ακμών (ύπαρξης ή μη) και για αυτό το λόγο αναπαρίστανται σε ένα κοινό δίκτυο.

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκρίζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($\text{varD} < 0.1$), δύο ακμές, οι IFIH1-HERC5 και IFIH1-DDX58, συνεκφράζονται με αρκετά υψηλή συσχέτιση και στα 5 δίκτυα. Επιπλέον, η ακμή DDX58-HERC5 παρουσιάζει την πιο χαμηλή διασπορά σε σχέση με τις υπόλοιπες 6 ακμές του δικτύου αναφοράς διότι εμφανίζεται και στα 5 δίκτυα με σκορ μεγαλύτερο του 0.2. Συνεπώς το τρίγωνο των γονιδίων IFIH1, HERC5, DDX58 που παρατηρείται στο πάνω αριστερό άκρο των δικτύων παραμένει σχετικά σταθερό και στις 5 διαφορετικές καταστάσεις. Οι HERC5, ISG15, DHX58, UBE2L6 παρουσιάζουν υψηλό Dn-score στο δίκτυο κεντρικής αναφοράς (έντονο κόκκινο χρώμα) ως ρυθμιστές των υπόλοιπων δύο γονιδίων, αυξάνουν την εκφρασή τους και συνεκφράζονται μετά την χορήγηση θεραπείας ιντερφερόνης προκειμένου να ρυθμίσουν αρνητικά τα δύο αυτά γονίδια και να ανακόψουν την έναρξη της αντιικής απόκρισης. Στο δίκτυο των υγιών συνεκφράζονται μόνο το UBE2L6 με τα ISG15 και DHX58 κι αυτά με πολύ χαμηλό βαθμό συσχέτισης ($\sim 0,1$) ενώ στο δίκτυο των ασθενών χωρίς θεραπεία εμφανίζονται οι ISG15-UBE2L6, HERC5-UBE2L6, DHX58-ISG15, DHX58-UBE2L6, οι ίδιες όμως ακμές παρουσιάζουν συντελεστή συσχέτισης Pearson μεγαλύτερο του 0.9.

8.1.1.1.2 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T1

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T1 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 30: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

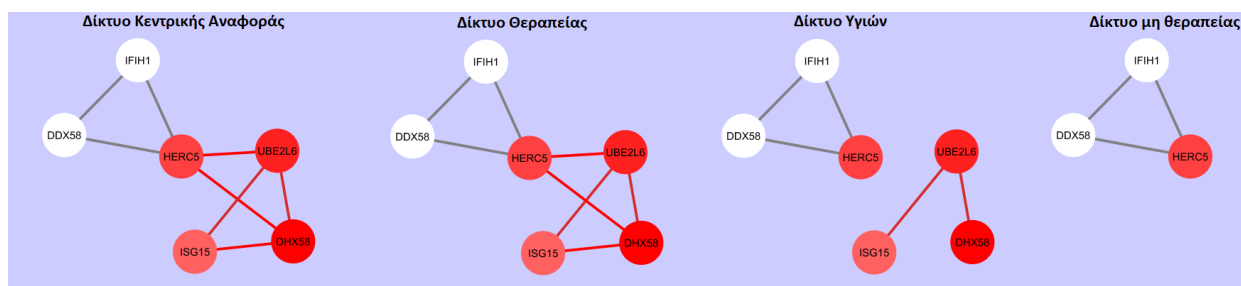
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.375
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.166666667
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.25
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.625
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.5
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.75
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα της χρονικής στιγμής T1 παρατηρούμε γενικά μεγαλύτερα σκορ μη κοινών ακμών από τον αντίστοιχο πίνακα στο παραπάνω κεφάλαιο της χρονικής στιγμής T0. Το δίκτυο θεραπείας Rebif παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με του υγιείς ενώ το δίκτυο θεραπείας Beataseron παρουσιάζει μεγαλύτερο σκορ μη κοινών ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία ανάμεσα στις τρεις θεραπείες.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T1. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T1.

Πίνακας 31: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T1

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T1	Avonex T1	Betaseron T1	Rebif T1
HERC5_UBE2L6	0.47542	0	0	0.184679	0.220163	0.515729
DHX58_UBE2L6	0.457589	0.110237	0	0.508223	0.704207	0.835351
DHX58_HERC5	0.408252	0	0	0.2433	0.264852	0.533203
ISG15_UBE2L6	0.399713	0.116022	0	0.546355	0.527808	0.662658
DHX58_ISG15	0.305549	0	0	0.650577	0.572132	0.70707
DDX58_HERC5	0.253941	0.244902	0.24263	0.665018	0.379158	0.7108
DDX58_IFIH1	0.112863	0.366918	0.417118	0.709898	0.441452	0.75756
HERC5_IFIH1	0.083186	0.450609	0.412908	0.722583	0.824974	0.650121



Σχήμα 60: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T1

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T1 (αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία για τη χρονική T1, (μέση-αριστερά), το δίκτυο υγιών (μέση-δεξιά) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (δεξιά). Τα τρία δίκτυα θεραπείας για την δεδομένη χρονική στιγμή δεν παρουσιάζουν κάποια αλλαγή σε επίπεδο ακμών (ύπαρξης ή μη) και για αυτό το λόγο αναπαρίστανται σε ένα κοινό δίκτυο.

Ομοίως με την προηγούμενη χρονική στιγμή, οι ακμές IFIH1-HERC5, DDX58-HERC5 και IFIH1-DDX58, συνεκφράζονται με σχετικά υψηλή συσχέτιση και στα 5 δίκτυα. Οι ρυθμιστές HERC5, ISG15, DHX58, UBE2L6 παρουσιάζουν υψηλό Dn-score στο δίκτυο κεντρικής αναφοράς (έντονο κόκκινο χρώμα), αυξάνουν την έκφρασή τους και συνεκφράζονται μετά την χορήγηση θεραπείας ιντερφερόνης προκειμένου να ρυθμίσουν αρνητικά τα δύο αυτά γονίδια και να ανακόψουν την έναρξη της αντιιικής απόκρισης. Στα δίκτυα των ασθενών με οποιαδήποτε θεραπεία απουσιάζει η ακμή που συνέδεε το ISG15 με το HERC5 τη χρονική στιγμή T0. Επιπλέον στο δίκτυο των ασθενών δεν συνεκφράζεται κανένα από τα 4 γονίδια μεταξύ τους ενώ στο δίκτυο των υγιών όπως είδαμε και παραπάνω καταγράφεται συνέκφραση του UBE2L6 με τα ISG15 και DHX58, το βάρος των οποίων ορίζεται κοντά στο 0,1 ενώ στα δίκτυα θεραπείας ξεπερνούν το 0,5.

8.1.1.1.3 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T2

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T2 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 32: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-168928 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

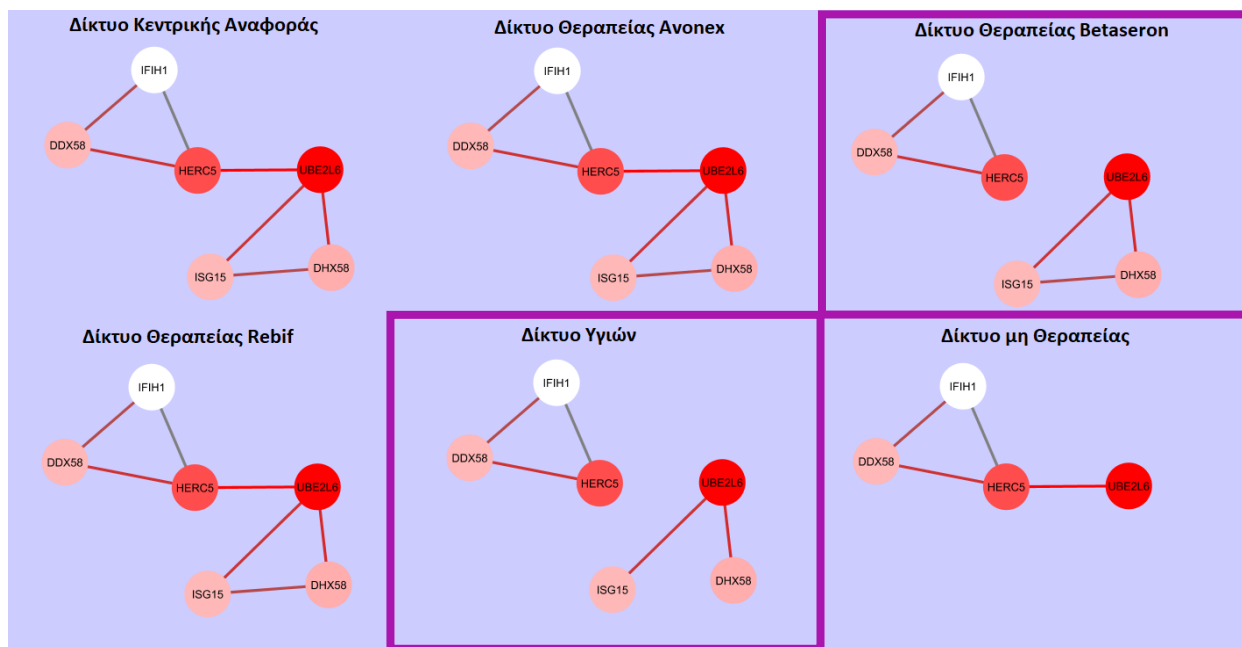
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.285714286
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.25
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.666666667
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.428571429
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.75
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.090909091
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα της χρονικής στιγμής T2 παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Betaseron παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με του υγιείς ανάμεσα στις τρεις θεραπείες τις χρονικές στιγμές T1 και T2 ενώ παρουσιάζει το μικρότερο σκορ μη κοινών ακμών σε σχέση με τους υγιείς ανάμεσα στις τρεις θεραπείες τη χρονική στιγμή T2.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T2. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T1.

Πίνακας 33: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T2

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T2	Avonex T2	Betaseron T2	Rebif T2
HERC5_UBE2L6	0.583339	0	0.102342	0.502241	0	0.216402
DHX58_UBE2L6	0.445844	0.110237	0	0.621579	0.593261	0.851557
DDX58_HERC5	0.417324	0.244902	0.249918	0.848998	0.22273	0.563904
ISG15_UBE2L6	0.405351	0.116022	0	0.639217	0.675949	0.697347
DHX58_ISG15	0.339151	0	0	0.709296	0.883072	0.494489
DDX58_IFIH1	0.329873	0.366918	0.339051	0.85128	0.196688	0.400663
HERC5_IFIH1	0.147428	0.450609	0.449996	0.788632	0.93236	0.429148



Σχήμα 61: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-168928 για τη χρονική στιγμή T2

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T2 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T2 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T2 (πάνω - δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T2 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά). Σε αυτή την εικόνα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Betaseron παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με το δίκτυο των υγιών εφόσον διαφέρουν σε μία και μόνο ακμή, η οποία εμφανίζεται στο δίκτυο Betaseron αλλά όχι στο δίκτυο των υγιών και είναι η HERC5-UBE2L6. Η ακμή αυτή εμφανίζεται στην πρώτη θέση στον παραπάνω πίνακα λόγω της μεγάλης διασποράς του βάρους της στα 5 δίκτυα. Μάλιστα στο δίκτυο Avonex παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση ενώ στο δίκτυο Rebif και μη θεραπείας, μεσαίου βαθμού συσχέτιση. Στα δίκτυα Betaseron και Υγιών δεν υπάρχει καθόλου συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο γονιδίων που συμβάλουν στην σύζευξη του ISG15 με το DDX58 και κατ' επέκταση στην αρνητική ρύθμιση των αντιικών αποκρίσεων που προάγονται από Ιντερφερόνες.

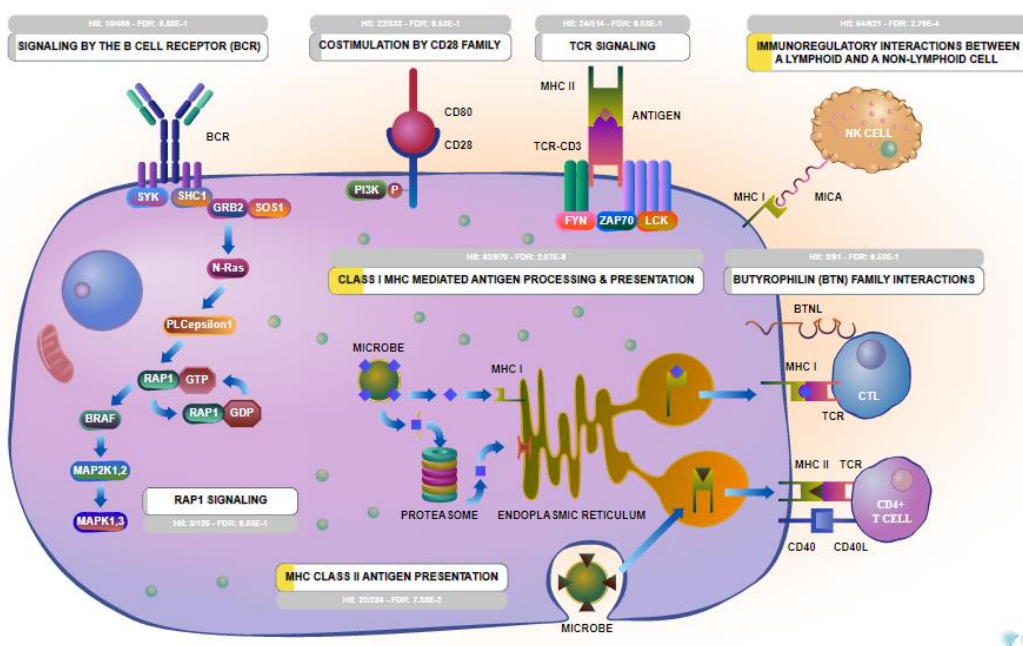
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα Dn-score για όλες τις παραπάνω κατηγορίες.

	T0	T1	T2	Χ.Θ.	Avonex	Betaseron	Rebif
DDX58	0.303386	0.366804	0.747197	0.053486	0.292583	0.362849	0.284963
DHX58	0.97062	1.17139	0.784995	0	0.913787	1.072808	0.931637
HERC5	1.28637	1.220798	1.148091	0	1.386	1.12104	0.927369
IFIH1	0.153611	0.196049	0.477302	0.053486	0.159698	0.292815	0.184121
ISG15	1.039837	0.705262	0.744502	0	0.909498	0.624614	0.578803
UBE2L6	1.052948	1.332722	1.434534	0	1.019479	1.00642	0.958743

Το DDX58 και το IFIH1 δεν παρουσιάζουν μεγάλα Dn-score στις παραπάνω συγκρίσεις σε αντίθεση με τα υπόλοιπα γονίδια. Ιδιαίτερα το UBE2L6 και το HERC5 φέρουν μεγάλες διαφορές τόσο στις διαφορετικές χρονικές στιγμές όσο και στις διαφορετικές θεραπείες.

8.1.2 Επίκτητο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Adaptive Immune System, R-HSA-1280218)

Η προσαρμοστική ανοσία αναφέρεται στην αντιγόνο-ειδική ανοσοαπόκριση που εμπλέκεται αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση έναντι των παθογόνων. Το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από τα Β και Τ λεμφοκύτταρα που εκφράζουν υποδοχείς με αξιοσημείωτη ποικιλομορφία προσαρμοσμένου με τέτοιο τρόπο που να αναγνωρίζουν θραύσματα συγκεκριμένων παθογόνων ή αντιγόνων. Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, τα δενδριτικά κύτταρα (DC) που δρουν ως φρουροί στους περιφερειακούς ιστούς αναγνωρίζουν και συλλέγουν το παθογόνο με τη μορφή αντιγονικών καθοριστών και στη συνέχεια επεξεργάζονται αυτά τα αντιγόνα και τα παρουσιάζουν στα Τ κύτταρα. Τα Τ κύτταρα κατάλληλης εξειδίκευσης ανταποκρίνονται στο αντιγόνο και είτε σκοτώνουν άμεσα το παθογόνο είτε εκκρίνουν κυτοκίνες που διεγείρουν την απόκριση των λεμφοκυττάρων Β. Τα Β κύτταρα παρέχουν χυμική ανοσία με την έκκριση αντισωμάτων που είναι ειδικά για το παθογόνο ή το αντιγόνο.



Εικόνα 9: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1280218 της Reactome

8.1.2.1 Επεξεργασία και Παρουσίαση Αντιγόνου μεσολαβούμενη από το Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας Τάξης Ι (Class I MHC mediated antigen processing & presentation, R-HSA-983169)

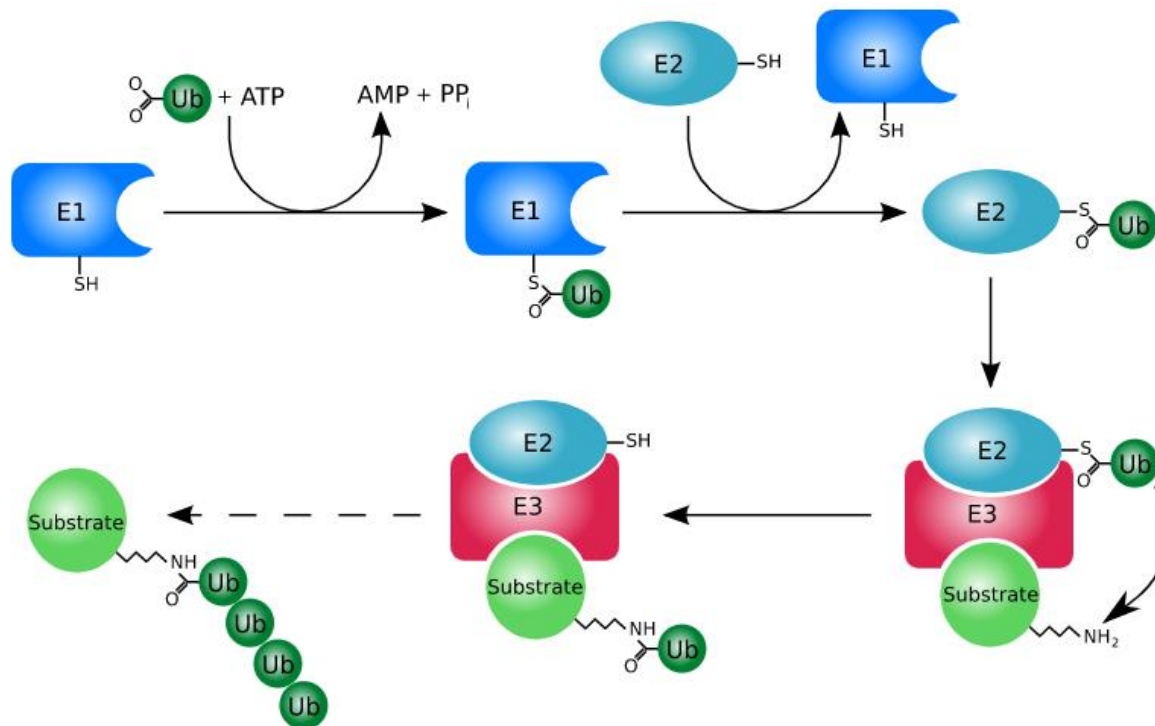
Τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης Ι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσία που προκαλείται από κύτταρα μέσω αναφοράς ενδοκυτταρικών συμβάντων όπως η ιϊκή μόλυνση, η παρουσία ενδοκυτταρικών βακτηρίων ή αντιγόνων που σχετίζονται με όγκους. Δεσμεύουν πεπτιδικά θραύσματα αυτών των πρωτεϊνών και τα παρουσιάζουν σε CD8 + Τ κύτταρα στην κυτταρική επιφάνεια. Αυτό επιτρέπει στα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα να αναγνωρίζουν και να εξαλείψουν κύτταρα που συνθέτουν μη φυσιολογικές ή ξένες πρωτεΐνες. Η τάξη Ι του MHC είναι ένα τριμερές σύμπλεγμα αποτελούμενο από μια πολυμορφική βαριά αλυσίδα (αλυσίδα HC ή άλφα) και μία αμετάβλητη ελαφριά αλυσίδα, γνωστή ως β2-μικροσφαιρίνη

(B2M). Τα γεγονότα στη βιοσύνθεση μορίων MHC τάξης I περιλαμβάνουν τη δημιουργία αντιγονικών πεπτιδίων από το σύστημα ουμπικουΐνης/26S-πρωτεασώματος, την παράδοση αυτών των πεπτιδίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), τη φόρτωση πεπτιδίων σε μόρια MHC τάξης I και την εμφάνιση των συμπλοκών MHC κατηγορίας I στην κυτταρική επιφάνεια.

Επεξεργασία αντιγόνου: Ουβικιτινίωση & αποικοδόμηση μέσω πρωτεασώματος

Οι ενδοκυτταρικές ξένες ή ανώμαλες πρωτεΐνες διασπώνται σε πεπτιδικά θραύσματα συγκεκριμένου μεγέθους, έτσι ώστε να μπορούν να φορτωθούν στα μόρια MHC I και να παρουσιαστούν εξωτερικά σε κυτταροτοξικά T κύτταρα. Το σύστημα πρωτεασώματος ουβικουΐνης-26S πρωτεασώματος παίζει κεντρικό ρόλο στην παραγωγή αυτών των MHC I αντιγόνων. Η ουβικουΐνωση είναι ο μηχανισμός προσθήκης ουβικουΐνης σε κατάλοιπα λυσίνης που οδηγεί στο σχηματισμό ενός πολυουβικουΐνιωμένου υποστρώματος όπως φαίνεται στη **Εικόνα 11**. Αυτή η διαδικασία εμπλέκει τρεις κατηγορίες ενζύμου, ένα ένζυμο ενεργοποίησης της ουβικουΐνης E1, ένα ένζυμο συζεύξεως ουβικουΐνης E2 και μια λιγάση ουβικουΐνης E3. Η πολυουβικουΐνωση μέσω λυσίνης-48 (K48) οδηγεί την πρωτεΐνη υποστρώματος σε καταστροφή μέσω πρωτεασώματος. Το πρωτεάσωμα που είναι υπεύθυνο για την αποικοδόμηση των K48-πολυουβικουΐνιωμένων πρωτεϊνών είναι το 26S. Αυτό το πρωτεάσωμα είναι ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών δύο υπομονάδων που αποτελείται από το 20S (καταλυτικό) και το 19S (ρυθμιστικό) σύμπλεγμα πρωτεασώματος. Το πρωτεάσωμα εξαλείφει τις περισσότερες από τις ξένες και μη λειτουργικές πρωτεΐνες από το κύτταρο, αποικοδομώντας τις σε μικρά πεπτιδικά. Το **UBA52** κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη σύντηξης που αποτελείται από ουβικουΐνη στο N-τελικό άκρο και ριβοσωμική πρωτεΐνη L40 στο C άκρο. Η ουβικουΐνη ενεργοποιείται με τρόπο εξαρτώμενο από ATP που καταλύεται από ένζυμο ενεργοποίησης ουβικουΐνης E1. Η ενεργοποιημένη ουβικουΐνη μεταφέρεται από την E1 στο ενεργό κέντρο των ενζύμων συζεύξεως ουβικουΐνης (E2s). Οι E2s καταλύουν τον ομοιοπολικό δεσμό ουβικουΐνης στις πρωτεΐνες στόχους. Όλες περιέχουν ένα κατάλοιπο κυστεΐνης στο ενεργό κέντρο που δεσμεύει ουβικουΐνη και διακρίνονται από την παρουσία περιοχής σύζευξης ουβικουΐνης (ubiquitin-conjugation domain, UBC) που απαιτείται για την πρόσδεση συγκεκριμένων λιγασών ουβικουΐνης ή E3. Μόλις συζευχθεί με ουβικουΐνη, το μόριο E2 δεσμεύει ένα από τα διάφορα E3 μόρια. Τα γονίδια που εμφανίζονται σε αυτό το μονοπάτι και λειτουργούν σαν E2 ενζύμων συζεύξεως ουβικουΐνης είναι τα **UBE2L6** και **CDC34**. Οι λιγάσες ουβικουΐνης E3 προσδίδουν εξειδίκευση στην ουβικιτινίωση αναγνωρίζοντας τις πρωτεΐνες στόχους και μεταφέροντας την ουβικουΐνη από ένα ένζυμο συζεύξεως E2 στις πρωτεΐνες στόχους. Οι λιγάσες E3 περιλαμβάνουν ένα μεγάλο, ποικίλο σύνολο πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται από διάφορα οριζόμενα μοτίβα τα οποία περιλαμβάνουν περιοχές HECT, RING και U-box. Οι λιγάσες E3 μπορεί να είναι σύμπλοκα πολλαπλών υπομονάδων και όχι ένα μεμονωμένο πολυπεπτιδίο. Η αλληλεπίδραση του E3 τόσο με τη πρωτεΐνη στόχο όσο και με το E2-Ub, τα φέρνει σε κοντινή απόσταση έτσι ώστε η ουβικουΐνη να μεταφερθεί από το E2 στη πρωτεΐνη στόχο. Τα γονίδια που κωδικοποιούν E3 λιγάσες και εμπλέκονται στην εν λόγω εργασία είναι τα ακόλουθα: **DTX3L, HERC6, HERC5, RNF213, RNF182, MKRN1, FBXO6, FBXO9, KBTBD7, SOCS1, TRIM21**. Το DTX3L μπορεί να λειτουργήσει σε συνδυασμό με το PARP9 σε ένα σύμπλεγμα για την ενίσχυση της απόκρισης σηματοδότησης IFN/STAT1 και επίσης δρα ανεξάρτητα από το

PARP9 για να στοχεύσει στην ιϊκή πρωτεάση με σκοπό την αποικοδόμησή της μέσω ουβικιτινίωσης [29].



Εικόνα 10: Διαδικασία ουβικουιτινίωσης

Το σύμπλοκο του πρωτεασώματος 26S αποτελείται από το σωματίδιο καταλυτικού πυρήνα 20S το οποίο φιλοξενεί τις πρωτεολυτικά δραστικές θέσεις και το ρυθμιστικό 19S σωματίδιο που είναι υπεύθυνο για την αλληλεπίδραση του υποστρώματος. Αυτή η διαδικασία παράγει έναν τεράστιο αριθμό (ίσως εκατοντάδες) διαφορετικών πεπτιδίων, ανάλογα με το μήκος και την αλληλουχία της πρωτεΐνης υποστρώματος. Μόνο ένα μικρό κλάσμα αυτών των πεπτιδίων (σχεδόν 10%) σχηματίζει το ακριβές μήκος που θα παρουσιαστεί από το MHC I. Τα περισσότερα (περίπου το 70%) είναι πολύ μικρά για να δεσμευτούν. Τα εναπομείναντα προϊόντα πρωτεασώματος (10-20%) είναι προεκτεθέντες N-τελικά εκτεινόμενοι πρόδρομοι που απαιτούν πρόσθετη διάσπαση από κυτοσολικές αμινοπεπτιδάσες για παρουσίαση από μόρια MHC I. Ο πυρήνας 20S αποτελείται από 4 δακτυλίους 28 διακριτών υπομονάδων. Οι δύο δακτύλιοι συντίθενται από τις άλφα υπομονάδες και οι άλλοι δύο από τις βήτα υπομονάδες. Ο ρυθμιστής 19S αποτελείται από μια βάση, η οποία περιέχει 6 υπομονάδες ATPάσης και 2 υπομονάδες μη-ATPάσης και ένα κάλυμμα, το οποίο περιέχει μέχρι 10 υπομονάδες μη-ATPάσης. Το πρωτεάσωμα του ανοσοποιητικού περιέχει έναν εναλλακτικό ρυθμιστή, που αναφέρεται ως ρυθμιστής 11S ή PA28, ο οποίος αντικαθιστά τον ρυθμιστή 19S. Έχουν ταυτοποιηθεί τρεις υπομονάδες (άλφα, βήτα και γ) του ρυθμιστή 11S. Το γονίδιο **PSME2** κωδικοποιεί τη βήτα υπομονάδα του 11S ρυθμιστή, μία από τις δύο 11S υπομονάδες που διεγείρεται από Ιντερφερόνη γάμμα. Το γονίδιο **PSMB9** κωδικοποιεί ένα μέλος της οικογένειας πρωτεασώματος B-τύπου, επίσης γνωστό ως οικογένεια TIB, που είναι μια υπομονάδα βήτα 20S πυρήνα. Η έκφραση αυτού του γονιδίου επάγεται από Ιντερφερόνη γάμμα. Αυτή η υπομονάδα εμπλέκεται στην επεξεργασία αντιγόνου για τη δημιουργία πεπτιδίων

δέσμευσης κατηγορίας I. Επίσης, το **PSMB3** κωδικοποιεί ένα μέλος της οικογένειας υπομονάδας βήτα 20S πυρήνα και εμπλέκεται στην πρωτεολυτική αποικοδόμηση των περισσότερων ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών. Τέλος, το **PSMF1** κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που αναστέλλει την ενεργοποίηση του πρωτεασώματος από τους 11S και 19S ρυθμιστές.

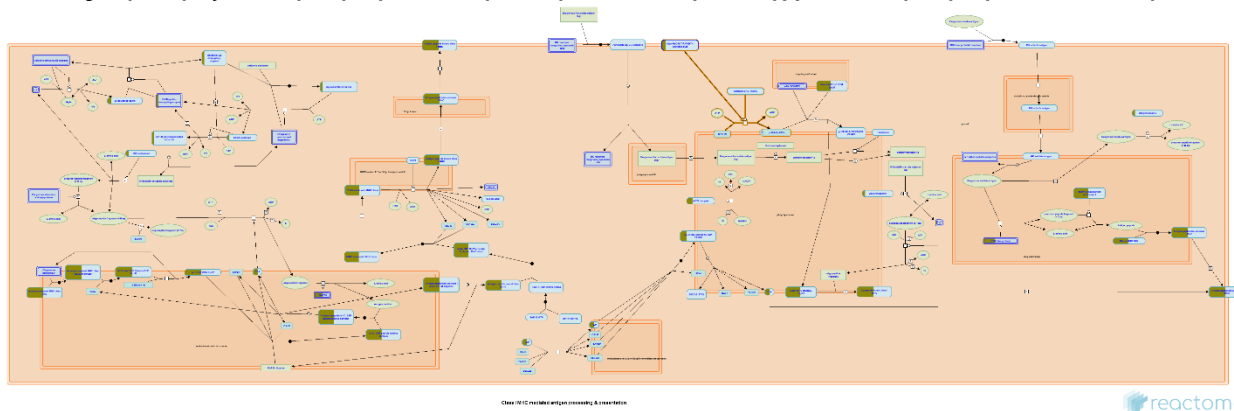
Παρουσίαση Αντιγόνου: Αναδίπλωση, συναρμολόγηση και φόρτωση πεπτιδίων MHC κατηγορίας I

Σε αντίθεση με άλλες γλυκοπρωτεΐνες, η σωστή αναδίπλωση των μορίων MHC κατηγορίας I δεν επαρκεί για να προκαλέσει την έξοδο τους από το ΕΔ, εξέρχονται μόνο μετά από φόρτωση πεπτιδίων. Η βαρεία αλυσίδα MHC κατηγορίας I (HC), που κωδικοποιείται από το γονίδιο **HLA-B**, αρχικά διπλώνεται με τη βοήθεια αρκετών τσαπερονών και έπειτα συνδέεται με β2-μικροσφαιρίνη (B2M). Αυτό το MHC:B2M ετεροδιμερές εισέρχεται στο σύμπλεγμα φόρτωσης πεπτιδίου (PLC), ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλεγμα που περιλαμβάνει καλρεκίνη, πρωτεΐνη 57 ενδοπλασματικού δικτυώματος 57 (ERp57), μεταφορέα που σχετίζεται με την επεξεργασία αντιγόνου (TAP) και ταραζίνη. Τα πεπτίδια που παράγονται από την πρωτεόλυση μεταφέρονται στο ΕΔ μέσω της TAP. Αυτά τα πεπτίδια περικλύονται περαιτέρω με αμινοπεπτιδάση (ERAP) και φορτώνονται σε μόρια MHC τάξης I. Σταθερά τριμερή MHC κατηγορίας I μεταφέρονται από το ER στην κυτταρική επιφάνεια μέσω του Golgi. Ο μεταφορέας που σχετίζεται με την επεξεργασία αντιγόνου (TAP) είναι ένα ετεροδιμερές σύμπλοκο, αποτελούμενο από πρωτεΐνες TAP1 και **TAP2**. Ο TAP προτιμά πεπτίδια μήκους 8-16 αμινοξέων, ελαφρώς μακρύτερα από τα κανονικά πεπτίδια που ταιριάζουν στις θέσεις δέσμευσης MHC τάξης I. Αυτά τα μακρύτερα πεπτίδια περικλύονται περαιτέρω στα N-άκρα τους από την ER-σχετιζόμενη αμινοπεπτιδάση (ERAP). Το **ERAP2** περικλύει τα πεπτίδια σε μήκος 8-10 αμινοξέων, κατάλληλα για φόρτωση στην περιοχή δέσμευσης MHC τάξης I.

Επεξεργασία αντιγόνων - Διασταυρούμενη παρουσίαση

Τα μόρια MHC κατηγορίας I παρουσιάζουν πεπτιδικά αντιγόνα που προέρχονται από πρωτεΐνες που συντίθενται από το ίδιο το κύτταρο σε T κύτταρα CD8+. Εντούτοις, σε μερικές περιπτώσεις, τα αντιγόνα από το εξωκυτταρικό περιβάλλον μπορούν να παρουσιαστούν στο MHC κατηγορίας I για να διεγείρουν την ανοσία των CD8+ T κυττάρων, μια διαδικασία που ονομάζεται διασταυρούμενη παρουσίαση. Η διασταυρούμενη παρουσίαση είναι η ικανότητα των κυττάρων παρουσίασης αντιγόνου (APCs) να παρουσιάζουν εξωγενή αντιγόνα σε μόρια MHC τάξης I σε CD8+ T λεμφοκύτταρα. Ανάμεσα σε όλα τα APCs, τα δενδριτικά κύτταρα (DC) είναι τα κυρίαρχα κύτταρα διασταυρούμενη παρουσίασης αντιγόνου. Τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) καταλαμβάνουν και επεξεργάζονται εξωγενή σωματιδιακά ή κυτταρο-συνδεδεμένα αντιγόνα όπως μικρόβια ή κύτταρα όγκου για διασταυρούμενη παρουσίαση MHC-I. Τα αντιγόνα εσωτερικοποιούνται από φαγοσώματα. Μετά την σύντηξη του φαγοσώματος, αυξάνεται η δραστηριότητα των λυσοσωμικών πρωτεασών, προσδίδοντας πρωτεολυτική ικανότητα. Ωστόσο, τα αντιγόνα πρέπει να αποφεύγονται από την πλήρη πρωτεολυτική καταστροφή. Τα DCs το επιτυγχάνουν ρυθμίζοντας το επίπεδο πρωτεόλυσης και οξυοποίησης του φαγοσωματικού συστήματος. Τα DCs στρατολογούν την NADPH οξειδάση NOX2 στο φαγόσωμα και μεσολαβούν στην παρατεταμένη παραγωγή χαμηλών επιπέδων δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), προκαλώντας ενεργή αλκαλοποίηση του φαγοσωμικού αυλού. Το NOX2, που κωδικοποιείται από το **CYBB**, καταναλώνει οξυγόνο

και πρωτόνια για να παράγει ROS και αυτό μειώνει την οξύτητα των φαγοσωμάτων. Αυτό προφανώς μειώνει την πρωτεόλυση αντιγόνου σε ένα επίπεδο που επιτρέπει την επεξεργασία αλλά δεν καταστρέφει πλήρως τα αντιγονικά πεπτίδια, ευνοώντας την αυξημένη διασταύρωση MHC-I. Τέλος, το CD14 κωδικοποιεί ένα αντιγόνο επιφάνειας το οποίο εκφράζεται κυρίως στα μακροφάγα. Συνεργάζεται με TLR4 και MD2 για την ανίχνευση και την αναγνώριση παθογόνων που σχετίζονται με μοριακά πρότυπα όπως το λιποθεικό οξύ. Η σηματοδότηση TLR ρυθμίζει την διασταυρούμενη παρουσίαση, καθώς ρυθμίζει τη φαγοκυττάρωση και τη συγχώνευση φαγολυσοσωμάτων.



Εικόνα 11: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-983169 της Reactome

8.1.2.1.1 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T0

Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη χρονική στιγμή T0. Αυτά είναι τα Ασθενείς ΧΘ T0 (UT0), Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Betaseron T0 (BT0), Ασθενείς ΜΘ Avonex T0 (AT0) και Ασθενείς ΜΘ Rebif T0 (RT0).

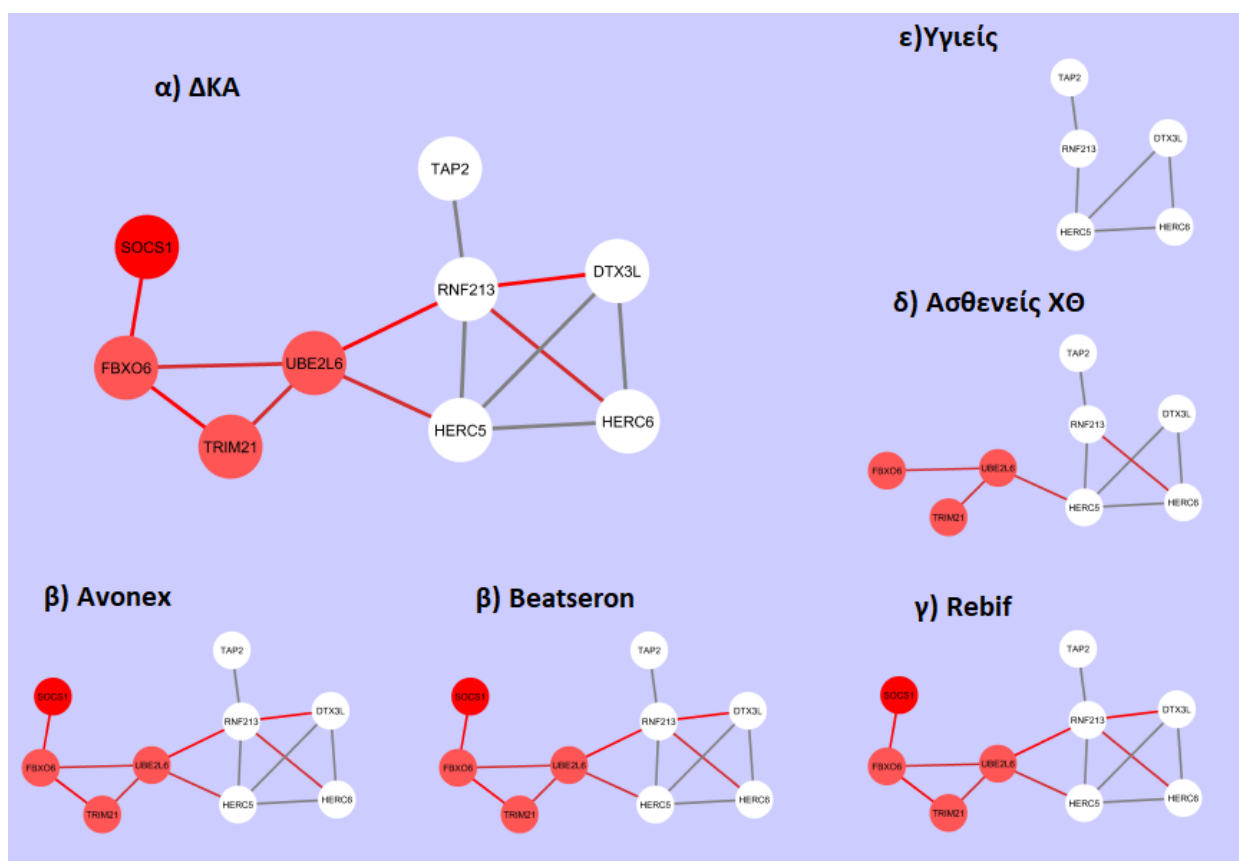
Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον Πίνακα 34.

Πίνακας 34: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T0 στο R-HSA-983169

		Ασθενείς – Υγιείς				Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ			Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ		
		UT0-C	BT0-C	AT0-C	RT0-C	B-UT0	A-UT0	R-UT0	B-AT0	R-AT0	R-BT0
CD14	FC	0.22	-0.12	0.15	0.14	-0.34	-0.07	-0.08	-0.27	-0.01	0.26
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CDC34	FC	0.15	-0.56	-0.1	-0.22	-0.71	-0.25	-0.37	-0.46	-0.12	0.34
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	-0.14	0.36	0.27	0.22	0.53	0.41	0.37	0.12	-0.04	-0.16
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	-0.08	0.74	0.56	0.59	0.82	0.64	0.67	0.18	0.03	-0.15
	ΣΜΚΑ	0	0	0.33	0	0	0.33	0	0	0	0
ERAP2	FC	-0.09	0.17	0.26	0.07	0.26	0.35	0.16	-0.08	-0.19	-0.1
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.08	0.38	0.49	0.52	0.3	0.41	0.44	-0.11	0.04	0.15
	ΣΜΚΑ	0	1	1	0	1	0.67	0	0	0	0
FBXO9	FC	0.04	-0.47	-0.26	-0.44	-0.51	-0.3	-0.48	-0.21	-0.18	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HERC5	FC	0.07	2.41	2.01	2.12	2.34	1.94	2.05	0.4	0.11	-0.29
	ΣΜΚΑ	0	0.5	0.25	0	0	0	0	0	0	0
HERC6	FC	0	1.51	1.3	1.33	1.51	1.3	1.33	0.2	0.03	-0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0.33	0	0	0	0	0	0	0

HLA-B	FC	0.18	0.54	0.46	0.31	0.36	0.28	0.13	0.08	-0.14	-0.23
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.01	-0.38	-0.3	-0.45	-0.37	-0.29	-0.44	-0.08	-0.15	-0.08
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MKRN1	FC	-0.05	-0.53	-0.2	-0.44	-0.48	-0.15	-0.38	-0.33	-0.24	0.1
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSMB3	FC	0.22	-0.26	0.09	0.1	-0.48	-0.13	-0.12	-0.35	0.01	0.35
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.18	0.2	0.37	0.4	0.02	0.19	0.22	-0.17	0.03	0.2
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSME2	FC	0.17	0.33	0.58	0.45	0.16	0.41	0.28	-0.25	-0.13	0.12
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSMF1	FC	0	-0.51	-0.2	-0.29	-0.51	-0.19	-0.28	-0.31	-0.09	0.23
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-0.1	-1.05	-0.25	-0.66	-0.95	-0.15	-0.56	-0.81	-0.41	0.39
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	-0.09	0.80	0.71	0.76	0.87	0.79	0.83	0.11	0.07	-0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	0.75	0	0	0.5	0	0	0	0
SOCS1	FC	0.09	0.23	0.49	0.48	0.15	0.4	0.4	-0.26	-0.01	0.25
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
TAP2	FC	-0.04	0.52	0.43	0.45	0.56	0.47	0.49	0.09	0.01	-0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TRIM21	FC	0.08	0.44	0.47	0.49	0.35	0.39	0.40	-0.04	0.01	0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
UBA52	FC	0.11	-0.42	-0.08	-0.06	-0.53	-0.19	-0.17	-0.34	0.02	0.36
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.10	0.80	0.80	0.97	0.70	0.70	0.86	0	0.17	0.16
	ΣΜΚΑ	0	0	1	1	0	0.33	0	0	0	0

Στον Πίνακα 34 παρατηρούμε ότι οι E3 λιγάσες DTX3L, FBXO6, SOCS1, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το E2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουπίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών.



Σχήμα 62: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για T0 στο R-HSA-983169

Στο **Σχήμα 62** φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔKA για τη χρονική στιγμή T0. Παρατηρούμε ότι οι ακμές στα δίκτυα θεραπείας παραμένουν ίδιες με το ΔKA. Αντιθέτως, στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ απουσιάζει η ακμή που συνδέει το UBE2L6 με το RNF213, το TRIM21 με το FBXO6 και το SOCS1 με το FBOX6. Στο δίκτυο Υγιών φαίνεται ότι 4 γονίδια, τα UBE2L6, FBXO6, SOCS1 και TRIM21 είναι πλήρως αποκλεισμένα. Η ακμή με την μεγαλύτερη διακύμανση σε επίπεδο συνέκφρασης είναι η DTX3L-RNF213 η οποία απουσιάζει από τα δίκτυα ΜΒΣ Υγιών και Ασθενών ΧΘ και εμφανίζεται μόνο στο δίκτυο ΙΒΣ ΜΘ Avonex όπως φαίνεται στον **Πίνακα 36**. Το RNF213 χάνει 2 γείτονες στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ και 3 γείτονες στο δίκτυο Υγειών και για αυτό το λόγο παρουσιάζει το μεγαλύτερο Dn-score στον **Πίνακα 35**. Επιπλέον, το SOSC1 χάνει το μοναδικό του γείτονα στα δίκτυα Υγειών και Ασθενών ΧΘ και για αυτό το λόγο παρουσιάζει κανονικοποιημένο Dn-score ίσο με τη μονάδα.

Πίνακας 35: Dn-score γονιδίων για T0 στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔKA	Dn-score	Καν. Dn-score
SOCS1	1	1	1
TRIM21	2	1.318179	0.65909
TAP2	1	0.653572	0.653572
FBXO6	3	1.564921	0.52164
DTX3L	3	1.303546	0.434515
UBE2L6	4	1.670729	0.417682
RNF213	5	1.918005	0.383601
HERC6	3	0.979168	0.326389
HERC5	4	1.209963	0.302491

Πίνακας 36: Μετρικές ακμών για T0 στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΧΘ	Ασθενείς ΜΘ Avonex	Ασθενείς ΜΘ Betaseron	Ασθενείς ΜΘ Rebif	var
DTX3L_RNF213	0	0	0.509411	0.411151	0.250141	0.989597
RNF213_UBE2L6	0	0	0.514757	0.384251	0.454462	0.862444
FBXO6_TRIM21	0	0	0.525417	0.533616	0.420053	0.85625
FBXO6_SOCS1	0	0	0.549135	0.461533	0.476662	0.845723
TRIM21_UBE2L6	0	0.112553	0.474156	0.385697	0.518366	0.59192
HERC5_UBE2L6	0	0.138896	0.607423	0.537909	0.461728	0.576377
HERC6_RNF213	0	0.189413	0.542835	0.379192	0.287479	0.528823
FBXO6_UBE2L6	0	0.285837	0.544288	0.451027	0.361895	0.399191
RNF213_TAP2	0.12498	0.132873	0.372852	0.501648	0.189785	0.394559
HERC5_RNF213	0.104909	0.215299	0.628217	0.409341	0.614476	0.352225
DTX3L_HERC5	0.363745	0.135647	0.672949	0.365874	0.571772	0.244198
DTX3L_HERC6	0.389213	0.145062	0.660967	0.415846	0.711452	0.242924
HERC5_HERC6	0.431258	0.381648	0.744498	0.657664	0.719272	0.082546

Συνολικά, σε αυτή τη χρονική στιγμή παρατηρούμε ότι ορισμένες Ε3 λιγάσες συνεκφράζονται μεταξύ τους και με το Ε2 ένζυμο συζεύξεως στους ασθενείς και όχι στους Υγιείς και ιδιαίτερα στους Ασθενείς ΜΘ παρατηρούμε περισσότερο αυτό το φαινόμενο.

8.1.2.1.2 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T1

Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη χρονική στιγμή T1. Αυτά είναι τα Ασθενείς ΧΘ T1 (UT1), Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Betaseron T1 (BT1), Ασθενείς ΜΘ Avonex T1 (AT1) και Ασθενείς ΜΘ Rebif T1 (RT1).

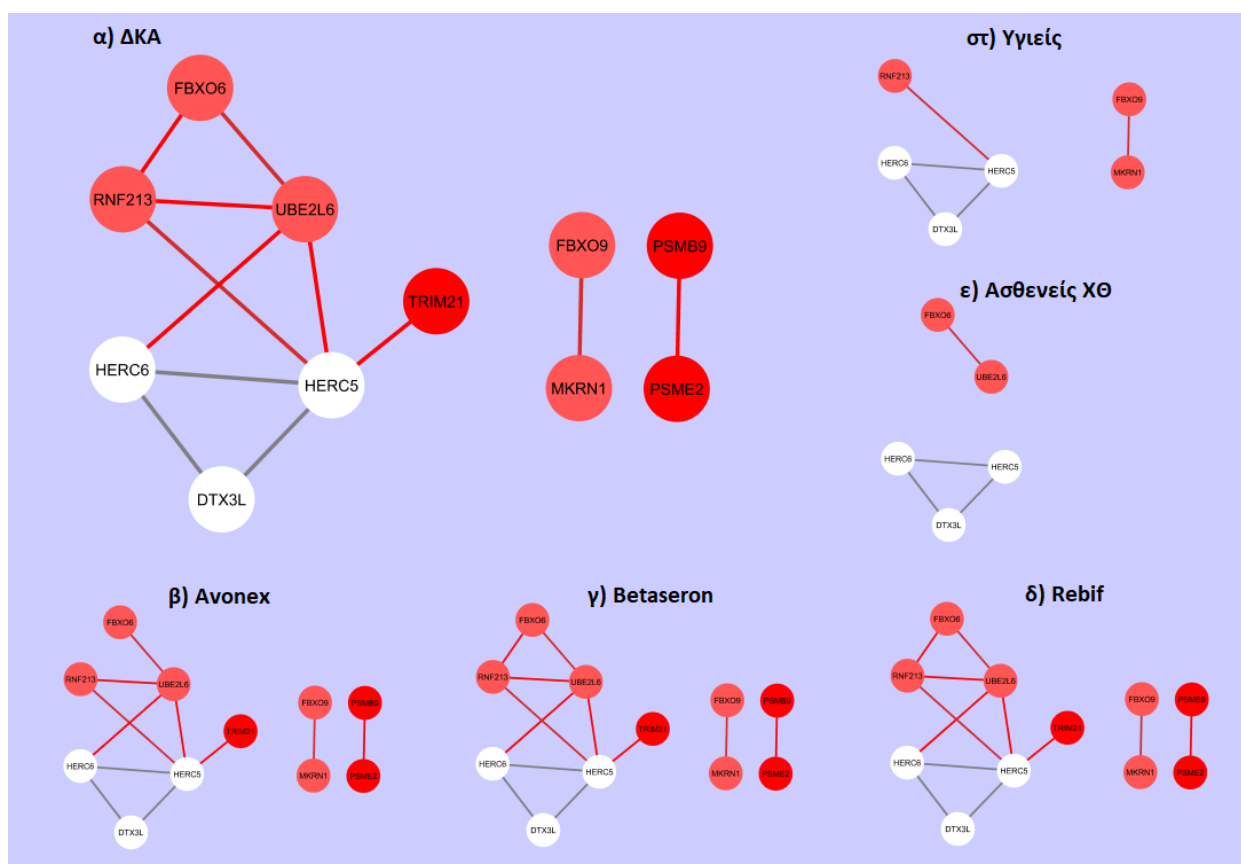
Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον **Πίνακα 37**.

Πίνακας 37: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T1 στο R-HSA-983169

		Ασθενείς – Υγιείς				Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ			Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ		
		UT1-C	BT1-C	AT1-C	RT1-C	B-UT1	A-UT1	R-UT1	B-AT1	R-AT1	R-BT1
CD14	FC	0.31	0.15	0.29	0.32	-0.17	-0.02	0.01	-0.14	0.03	0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CDC34	FC	-0.01	-0.29	-0.16	-0.11	-0.27	-0.14	-0.1	-0.13	0.04	0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	-0.15	0.27	0.13	0.24	0.42	0.28	0.39	0.14	0.11	-0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	-0.13	0.6	0.37	0.55	0.73	0.49	0.67	0.23	0.18	-0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ERAP2	FC	-0.17	0.06	0.29	0.03	0.23	0.45	0.19	-0.23	-0.26	-0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.03	0.47	0.3	0.49	0.44	0.28	0.47	0.16	0.19	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	1	0	0	0.5	0	0.5	0
FBXO9	FC	-0.03	-0.3	-0.2	-0.36	-0.26	-0.17	-0.33	-0.09	-0.16	-0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
HERC5	FC	-0.05	2.4	1.68	2.02	2.46	1.73	2.07	0.72	0.34	-0.38
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0.4	0	0	0.6	0	0	0
HERC6	FC	-0.05	1.42	1.01	1.25	1.47	1.06	1.3	0.41	0.24	-0.17
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
HLA-B	FC	0.12	0.59	0.4	0.22	0.46	0.28	0.1	0.18	-0.18	-0.36
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.07	-0.4	-0.36	-0.53	-0.34	-0.29	-0.46	-0.05	-0.17	-0.12
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

MKRN1	FC	-0.17	-0.44	-0.24	-0.46	-0.27	-0.07	-0.29	-0.2	-0.21	-0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
PSMB3	FC	0.26	0.04	0.14	0.11	-0.22	-0.13	-0.15	-0.1	-0.03	0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.19	0.29	0.34	0.34	0.11	0.15	0.15	-0.05	-0.01	-0.04
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
PSME2	FC	0.22	0.47	0.47	0.54	0.25	0.25	0.32	0	0.07	0.07
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
PSMF1	FC	-0.09	-0.28	-0.22	-0.3	-0.19	-0.13	-0.2	-0.06	-0.07	-0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-0.17	-0.98	-0.26	-0.5	-0.81	-0.09	-0.33	-0.72	-0.24	0.48
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	-0.13	0.77	0.47	0.79	0.87	0.56	0.89	0.31	0.32	0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0.67	0	0	1	0	0.33	0
SOCS1	FC	0.04	0.44	0.26	0.52	0.4	0.22	0.48	0.18	0.25	0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TAP2	FC	-0.13	0.41	0.22	0.4	0.54	0.35	0.53	0.19	0.18	-0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TRIM21	FC	0.07	0.49	0.32	0.42	0.42	0.24	0.35	0.17	0.11	-0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
UBA52	FC	0.15	-0.01	0.04	0.05	-0.16	-0.11	-0.1	-0.05	0.01	0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.02	0.87	0.61	0.93	0.86	0.59	0.91	0.26	0.31	0.06
	ΣΜΚΑ	0	1	0	1	0	1	0.67	0	0	0

Στον **Πίνακα 37** παρατηρούμε ότι οι Ε3 λιγάσες FBXO6, RNF213, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το Ε2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουιτίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών. Επιπλέον, τα PSMB9 και PSME2 στους Ασθενείς ΜΘ και χάνουν την ακμή που τους τα συνδέει στο δίκτυο Betaseron τόσο στους Υγιείς όσο και στους Ασθενείς ΧΘ. Το PSMB9 κωδικοποιεί μία υπομονάδα του πυρήνα ενώ το PSME2 μία υπομονάδα του ρυθμιστή του πρωτεασώματος.



Σχήμα 63: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για T1 στο R-HSA-983169

Στο **Σχήμα 63** φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔΚΑ για τη χρονική στιγμή T1. Παρατηρούμε ότι οι ακμές στα δίκτυα θεραπείας παραμένουν ίδιες με το ΔΚΑ εκτός από την ακμή FBXO6-RNF218 η οποία απουσιάζει από το δίκτυο Avonex. Στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και των Υγιών παρατηρούμε αρκετές απώλειες. Τα γονίδια PSMB9, PSME2, TRIM21 παρουσιάζουν το υψηλότερο καν. Dn-score λόγω του ότι παρουσιάζουν μία ακμή στο ΔΚΑ και η οποία εμφανίζεται στα τρία από τα 5 συνολικά δίκτυα, δηλαδή απουσιάζουν από τα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ. Τα RNF218 και UBE2L6 παρουσιάζουν αρκετές ακμές στο ΔΚΑ, ορισμένες από τις οποίες απουσιάζουν από κάποια δίκτυα. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι το RNF213 συνεκφράζεται με το HERC5 και το MKRN1 με το FBXO9 στους Ασθενείς ΜΘ, στους Υγιείς και όχι στους Ασθενείς ΧΘ.

Πίνακας 38: Dn-score γονιδίων για T1 στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔΚΑ	Dn-score	Καν. Dn-score
PSMB9	1	1.153978	1.153978
PSME2	1	1.153978	1.153978
TRIM21	1	1.082426	1.082426
FBXO6	2	1.730206	0.865103
FBXO9	1	0.780666	0.780666
MKRN1	1	0.780666	0.780666
RNF213	3	2.14549	0.715163
UBE2L6	4	2.330156	0.582539
HERC6	3	1.447939	0.482646
HERC5	5	1.895346	0.379069

DTX3L	2	0.718719	0.359359
-------	---	----------	----------

Πίνακας 39: Μετρικές ακμών για T1 στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΧΘ	Ασθενείς ΜΘ Avonex	Ασθενείς ΜΘ Betaseron	Ασθενείς ΜΘ Rebif	var
FBXO6_RNF213	0	0	0	0.212752	0.553415	2.492806
RNF213_UBE2L6	0	0	0.135486	0.262547	0.697216	1.737513
HERC6_UBE2L6	0	0	0.160638	0.627664	0.353139	1.361861
HERC5_UBE2L6	0	0	0.184679	0.220163	0.515729	1.320611
HERC5_TRIM21	0	0	0.295287	0.163534	0.52025	1.257601
PSMB9_PSME2	0	0	0.163088	0.593497	0.421726	1.255952
FBXO9_MKRN1	0.264174	0	0.184733	0.775314	0.289277	0.90195
FBXO6_UBE2L6	0	0.100275	0.306631	0.242297	0.559962	0.78624
HERC5_RNF213	0.104909	0	0.228302	0.366418	0.547321	0.747537
DTX3L_HERC6	0.389213	0.2691	0.437019	0.114908	0.745389	0.357563
HERC5_HERC6	0.431258	0.234066	0.732407	0.448024	0.856447	0.214874
DTX3L_HERC5	0.363745	0.174354	0.524683	0.329867	0.641799	0.197701

Η ακμή με το υψηλότερο varD σκορ όπως φαίνεται στον **Πίνακα 39** είναι η FBXO6-RNF213, η οποία εμφανίζεται μόνο στο ΙΒΣ δίκτυο Rebif και ΜΒΣ δίκτυο Avonex ενώ απουσιάζει από τα υπόλοιπα. Επιπλέον, το UBE2L6 χάνει αρκετές από τις ακμές του στα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ σε σχέση με τα δίκτυα Ασθενών ΜΘ.

Συνολικά, σε αυτή τη χρονική στιγμή παρατηρούμε ότι ορισμένες Ε3 λιγάσες συνεκφράζονται με το Ε2 ένζυμο συζεύξεως στους Ασθενείς ΜΘ και όχι στους Υγιείς και στους Ασθενείς ΧΘ.

8.1.2.1.3 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T2

Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη χρονική στιγμή T2. Αυτά είναι τα Ασθενείς ΧΘ T2 (UT2), Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Betaseron T2 (BT2), Ασθενείς ΜΘ Avonex T2 (AT2) και Ασθενείς ΜΘ Rebif T2 (RT2).

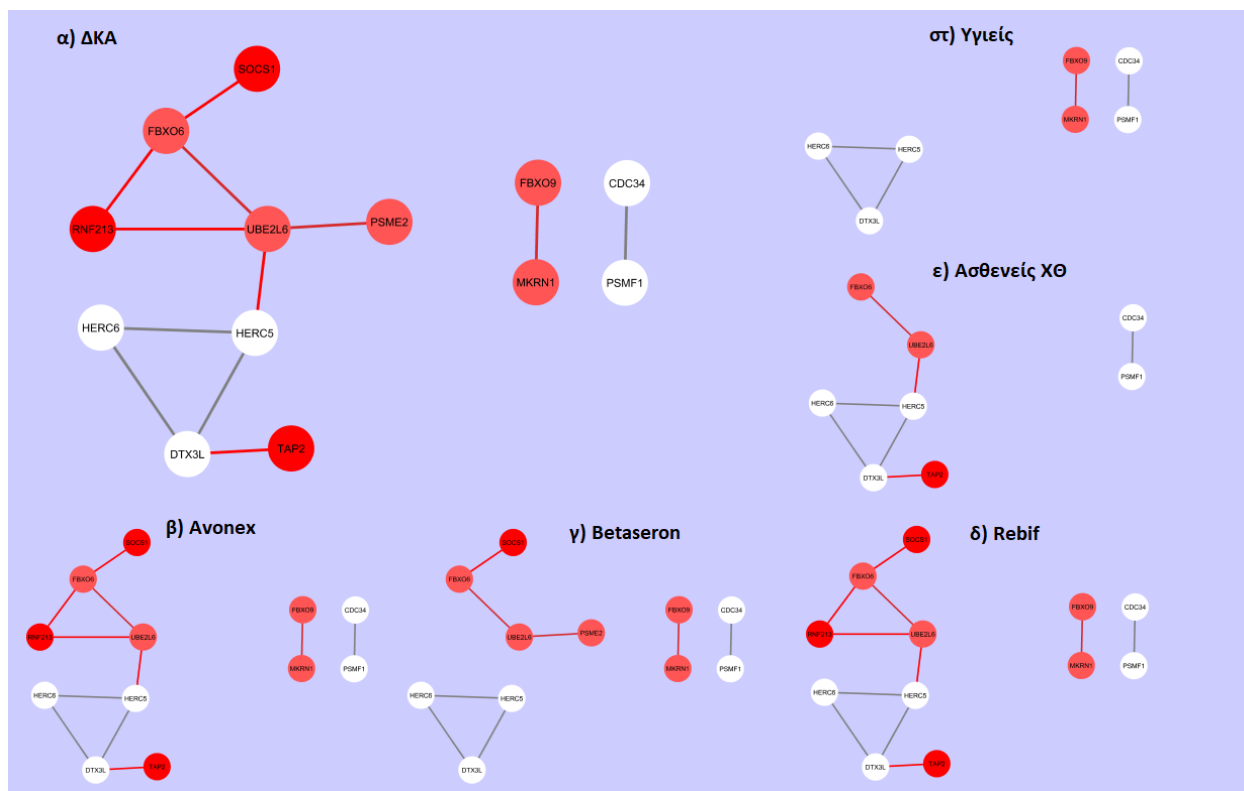
Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον **Πίνακα 40**.

Πίνακας 40: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για T2 στο R-HSA-983169

		Ασθενείς – Υγιείς				Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ			Ασθ. ΜΘ – Ασθ. ΧΘ		
		UT2-C	BT2-C	AT2-C	RT2-C	B-UT2	A-UT2	R-UT2	B-AT2	R-AT2	R-BT2
CD14	FC	0.51	0.33	0.49	0.31	-0.17	-0.02	-0.2	-0.16	-0.18	-0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CDC34	FC	-0.02	0.05	-0.09	0.05	0.06	-0.08	0.07	0.14	0.14	0
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	-0.16	0.27	0.08	0.01	0.44	0.24	0.18	0.2	-0.07	-0.26
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	-0.07	0.64	0.33	0.35	0.72	0.4	0.42	0.31	0.02	-0.29
	ΣΜΚΑ	0	0	0.33	0	0	0	0	0.33	0	0
ERAP2	FC	-0.18	0.1	0.33	0.03	0.27	0.51	0.21	-0.24	-0.3	-0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.1	0.57	0.41	0.37	0.47	0.31	0.27	0.16	-0.03	-0.19
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	0.5	0	0	0	0
FBXO9	FC	-0.03	-0.12	-0.12	-0.33	-0.08	-0.09	-0.3	0	-0.21	-0.21
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
HERC5	FC	0.03	2.47	1.67	1.76	2.44	1.63	1.73	0.81	0.1	-0.71
	ΣΜΚΑ	0	0	0.33	0	0	0	0	0.25	0	0
HERC6	FC	-0.05	1.49	0.98	1.08	1.54	1.03	1.13	0.52	0.1	-0.41

	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HLA-B	FC	0.17	0.73	0.51	0.18	0.56	0.35	0.02	0.21	-0.33	-0.54
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.13	-0.48	-0.3	-0.5	-0.35	-0.17	-0.37	-0.19	-0.21	-0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MKRN1	FC	-0.17	-0.3	-0.25	-0.33	-0.12	-0.07	-0.16	-0.04	-0.09	-0.04
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PSMB3	FC	0.42	0.25	0.3	0.27	-0.17	-0.12	-0.15	-0.05	-0.03	0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.36	0.51	0.52	0.4	0.16	0.16	0.04	0	-0.12	0.11
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSME2	FC	0.4	0.82	0.57	0.6	0.42	0.17	0.2	0.25	0.03	-0.22
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1
PSMF1	FC	-0.11	-0.11	-0.24	-0.22	0	-0.12	-0.11	0.13	0.02	-0.11
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-0.29	-0.72	-0.17	-0.29	-0.43	0.12	0	-0.55	-0.13	0.42
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	-0.11	0.8	0.41	0.48	0.87	0.48	0.55	0.39	0.09	-0.32
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
SOCS1	FC	0.13	0.4	0.41	0.47	0.27	0.28	0.34	-0.01	0.06	0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
TAP2	FC	-0.06	0.57	0.28	0.20	0.63	0.34	0.27	0.3	-0.07	-0.36
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
TRIM21	FC	0.15	0.59	0.38	0.35	0.44	0.23	0.2	0.21	-0.02	-0.23
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UBA52	FC	0.17	0.16	0.08	0.13	-0.01	-0.08	-0.04	0.07	0.04	-0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.16	1.01	0.64	0.82	0.84	0.47	0.66	0.37	0.18	-0.19
	ΣΜΚΑ	0	1	1	0	1	0.33	0	0.75	0	1

Στον Πίνακα 40 παρατηρούμε ότι οι E3 λιγάσες FBXO6, RNF213, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το E2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουιτίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών. Τα PSMB9, PSME2 επίσης υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ.



Σχήμα 64: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για T2 στο R-HSA-983169

Στο Σχήμα 64 φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔKA για τη χρονική στιγμή T1. Παρατηρούμε ότι οι ακμές στα δίκτυα θεραπείας Avonex και Rebif παραμένουν ίδιες ενώ σε αντίθεση με τις προηγούμενες χρονικές στιγμές το δίκτυο Betaseron εμφανίζει αρκετές διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τα άλλα δύο δίκτυα θεραπείας. Στο δίκτυο των Ασθενών ΧΘ και των Υγιών παρατηρούμε επίσης αρκετές απώλειες.

Πίνακας 41: Dn-score γονιδίων για T2 στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔKA	Dn-score	Καν. Dn-score
PSME2	1	2	2
TAP2	1	1.189225	1.189225
RNF213	2	2.12255	1.061275
SOCS1	1	1	1
UBE2L6	4	3.101587	0.775397
FBXO6	3	1.97539	0.658463
FBXO9	1	0.549994	0.549994
MKRN1	1	0.549994	0.549994
HERC5	3	1.428946	0.476315
DTX3L	3	1.404674	0.468225
CDC34	1	0.36727	0.36727
PSMF1	1	0.36727	0.36727
HERC6	2	0.709791	0.354896

Το PSME2 παρουσιάζει το μεγαλύτερο κανονικοποιημένο Dn-score στον Πίνακα 41 διότι συνεκφράζεται με IBΣ μόνο στο δίκτυο Betaseron ενώ σε όλα τα υπόλοιπα δίκτυα είναι πλήρως αποκλεισμένο. Το TAP2 συνδέεται με το DTX3L μόνο στο IBΣ δίκτυο Avonex και

Rebif καθώς και στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ ενώ αντίθετα απουσιάζει από το δίκτυο Betaseron και το δίκτυο των Υγιών. Το RNF213 το οποίο εμφανίζει αρκετά υψηλό απλό αλλά και κανονικοποιημένο Dn-score, έχει δύο ακμές στο ΔΚΑ, οι οποίες εμφανίζονται στο ΙΒΣ δίκτυο Avonex και ΜΒΣ δίκτυο Rebif αλλά απουσιάζουν από το δίκτυο Υγιών, Ασθενών ΧΘ και Ασθενών ΜΘ Betaseron. Τέλος, το UBE2L6 εμφανίζει 4 ακμές στο ΔΚΑ, οι οποίες απουσιάζουν από το δίκτυο ΜΒΣ Υγιών.

Πίνακας 42: Μετρικές ακμών για T2 στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΧΘ	Ασθενείς ΜΘ Avonex	Ασθενείς ΜΘ Betaseron	Ασθενείς ΜΘ Rebif	var
PSME2_UBE2L6	0	0	0	0.550369	0	5
FBXO6_RNF213	0	0	0.517814	0	0.346122	1.99842
RNF213_UBE2L6	0	0	0.569987	0	0.427076	1.9392
DTX3L_TAP2	0	0.115848	0.5751	0	0.240977	1.644635
HERC5_UBE2L6	0	0.102342	0.502241	0	0.216402	1.620386
FBXO6_SOCS1	0	0	0.522277	0.419426	0.429911	0.854617
FBXO6_UBE2L6	0	0.282495	0.609254	0.236137	0.398379	0.535428
FBXO9_MKRN1	0.264174	0	0.23854	0.302872	0.517338	0.485799
DTX3L_HERC6	0.389213	0.136769	0.622326	0.236674	0.442247	0.264555
HERC5_HERC6	0.431258	0.18048	0.77934	0.645435	0.827142	0.218411
DTX3L_HERC5	0.363745	0.232548	0.664534	0.294581	0.333912	0.196742
CDC34_PSMF1	0.206577	0.309918	0.373697	0.24238	0.542309	0.156348

Η ακμή με το υψηλότερο varD σκορ όπως φαίνεται στον **Πίνακα 42** είναι η PSME2-UBE2L6, η οποία εμφανίζεται μόνο στο ΙΒΣ δίκτυο Betaseron και σε κανένα άλλο δίκτυο. Σε αυτή τη χρονική στιγμή μόνο 5 από τις συνολικά 12 ακμές εμφανίζονται και στα 5 δίκτυα. Όλες εκτός από την πρώτη εμφανίζονται στα δίκτυα Avonex και Rebif ενώ μόνο 6 εμφανίζονται στο δίκτυο Υγιών.

Συνολικά, οι Ε3 λιγάσες FBXO9 και MKRN1 συνεκφράζονται σε όλες τις καταστάσεις εκτός από τους Ασθενείς ΧΘ. Είναι γνωστό ότι τα δύο αυτά μόρια εμπλέκονται στην ομπικουϊνίωση του PPARγ και στην αποικοδόμησή του μέσω του πρωτεασώματος [30]. Επιπλέον, στη θεραπεία Betaseron το RNF213 είναι αποκλεισμένο σε αντίθεση με τις άλλες θεραπείες και το HERC5 δεν συνδέεται με το UBE2L6 όπως στα δίκτυα των άλλων δύο θεραπειών και των Ασθενών ΧΘ. Τέλος, ο μεταφορέας TAP2 συνεκφράζεται με DTX3L σε όλα τα δίκτυα εκτός από εκείνο ΜΘ Betaseron και Υγιών. Τέλος, το Ε2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουϊνίνης UBE2L6 συνεκφράζεται με μία υπομονάδα του πρωτεασώματος μόνο στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron.

8.1.2.1.4 Αποτελέσματα για τη θεραπεία Avonex

Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη θεραπεία Avonex. Αυτά είναι τα Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Avonex T0 (AT0), Ασθενείς ΜΘ Avonex T1 (AT1) και Ασθενείς ΜΘ Avonex T2 (AT2).

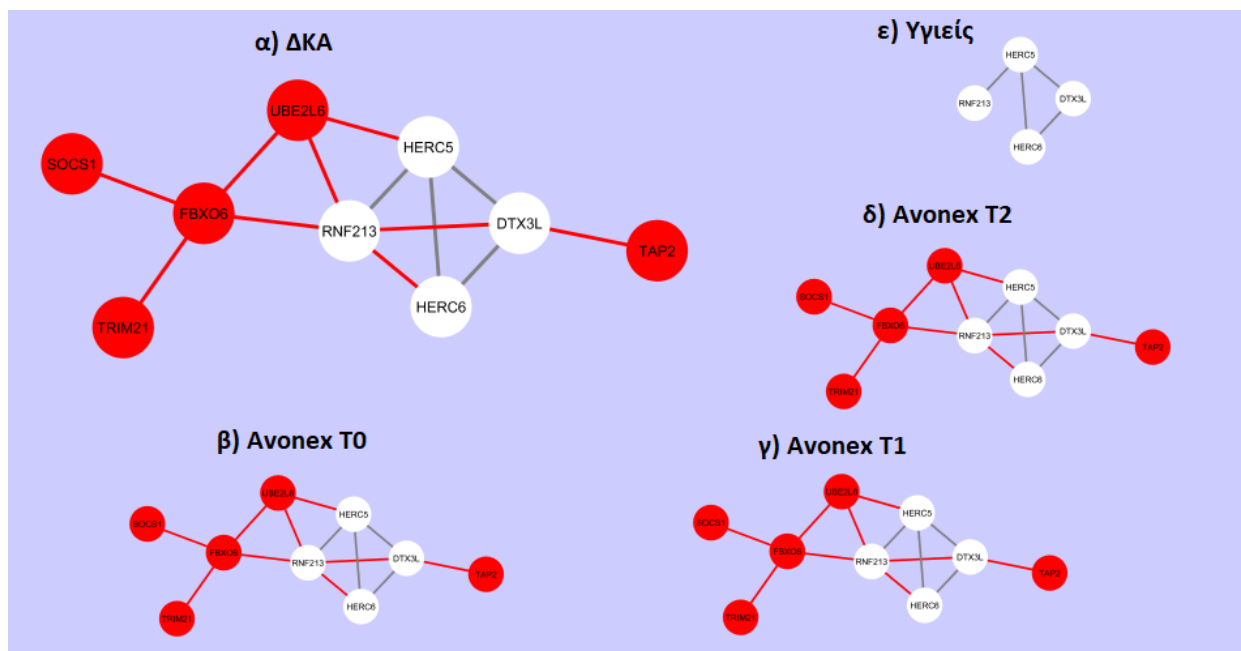
Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον **Πίνακα 43**.

Πίνακας 43: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Avonex στο R-HSA-983169

		Ασθ. ΜΘ Avonex – Υγιείς			Ασθ. ΜΘ Avonex – Ασθ. ΜΘ Avonex		
		AT0-C	AT1-C	AT2-C	AT1-AT0	AT2-AT0	AT2-AT1
CD14	FC	0.15	0.29	0.49	0.14	0.34	0.2
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0

CDC34	FC	-0.1	-0.16	-0.09	-0.06	0.01	0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	0.27	0.13	0.08	-0.14	-0.19	-0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	0.56	0.37	0.33	-0.2	-0.23	-0.04
	ΣΜΚΑ	0.33	0	0.33	0	0	0
ERAP2	FC	0.26	0.29	0.33	0.03	0.08	0.04
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.49	0.3	0.41	-0.19	-0.08	0.11
	ΣΜΚΑ	1	0	1	0	0	0
FBXO9	FC	-0.26	-0.2	-0.12	0.06	0.14	0.08
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
HERC5	FC	2.01	1.68	1.67	-0.34	-0.35	-0.01
	ΣΜΚΑ	0.25	0	0.33	0	0	0
HERC6	FC	1.3	1.01	0.98	-0.3	-0.32	-0.03
	ΣΜΚΑ	0.33	0	0	0	0	0
HLA-B	FC	0.46	0.4	0.51	-0.05	0.06	0.11
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.3	-0.36	-0.3	-0.06	0	0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
MKRN1	FC	-0.2	-0.24	-0.25	-0.04	-0.05	0
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB3	FC	0.09	0.14	0.3	0.05	0.21	0.16
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.37	0.34	0.52	-0.03	0.14	0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSME2	FC	0.58	0.47	0.57	-0.12	-0.01	0.11
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMF1	FC	-0.2	-0.22	-0.24	-0.03	-0.04	-0.02
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-0.25	-0.26	-0.17	-0.01	0.08	0.09
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	0.71	0.47	0.41	-0.25	-0.31	-0.07
	ΣΜΚΑ	0.75	0	1	0	0	0
SOCS1	FC	0.49	0.26	0.41	-0.22	-0.08	0.14
	ΣΜΚΑ	1	0	1	0	0	0
TAP2	FC	0.43	0.22	0.28	-0.21	-0.16	0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	1	0	0	0
TRIM21	FC	0.47	0.32	0.38	-0.16	-0.01	0.06
	ΣΜΚΑ	1	0	0	0	0	0
UBA52	FC	-0.08	0.04	0.08	0.12	0.16	0.04
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.80	0.61	0.64	-0.19	-0.17	0.02
	ΣΜΚΑ	1	0	1	0	0	0

Στον Πίνακα 43 παρατηρούμε ότι οι E3 λιγάσες DTX3L, FBXO6, RNF213, SOCS1, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το E2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουιπίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών. Σε όλες τις συγκρίσεις ανάμεσα σε δίκτυα ΜΘ Avonex δεν παρατηρούνται ΔΕ γονίδια αλλά ούτε και απώλειες ακμών.



Σχήμα 65: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για Avonex στο R-HSA-983169

Στο Σχήμα 65 φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔΚΑ για τη θεραπεία Avonex. Παρατηρούμε ότι οι ακμές στα δίκτυα θεραπείας Avonex για διαφορετικές χρονικές στιγμές παραμένουν ίδιες. Αντιθέτως, στο δίκτυο των Υγιών παρατηρούνται γονίδια-κόμβοι πλήρως αποκλεισμένα από το δίκτυο όπως TAP2, FBOX6, TRIM21, SOCS1, UBE2L6.

Πίνακας 44: Dn-score γονιδίων για Avonex στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔΚΑ	Dn-score	Καν. Dn-score
SOCS1	1	0.940520772	0.940520772
TRIM21	1	0.817889731	0.817889731
TAP2	1	0.666666667	0.666666667
UBE2L6	3	1.555427015	0.518475672
FBXO6	4	1.929949469	0.482487367
RNF213	5	2.018042457	0.403608491
HERC5	4	1.222216174	0.305554043
DTX3L	4	1.157358203	0.289339551
HERC6	3	0.82945701	0.27648567

Τα γονίδια που χάνουν όλους τους γείτονές τους στο δίκτυο των Υγιών εμφανίζονται σε υψηλές θέσεις στη λίστα. Επιπλέον, χάνει 4 από τις 5 ακμές του στο δίκτυο των Υγιών και για αυτό το λόγο παρουσιάζει το μέγιστο Dn-score.

Πίνακας 45: Μετρικές ακμών για Avonex στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΜΘ Avonex T0	Ασθενείς ΜΘ Avonex T1	Ασθενείς ΜΘ Avonex T2	var
FBXO6_RNF213	0	0.255152	0.102405	0.517814	1.058989
HERC5_UBE2L6	0	0.607423	0.184679	0.502241	0.75284
FBXO6_TRIM21	0	0.525417	0.197507	0.298888	0.7324
FBXO6_SOCS1	0	0.549135	0.185088	0.522277	0.722516
RNF213_UBE2L6	0	0.514757	0.198236	0.569987	0.705202
HERC6_RNF213	0	0.542835	0.29238	0.302168	0.610376

DTX3L_RNF213	0	0.509411	0.240171	0.495675	0.602612
FBXO6_UBE2L6	0	0.544288	0.306631	0.609254	0.571419
DTX3L_TAP2	0	0.451593	0.363595	0.5751	0.506741
HERC5_RNF213	0.104909	0.628217	0.259246	0.395521	0.409076
DTX3L_HERC5	0.363745	0.672949	0.524683	0.664534	0.068244
DTX3L_HERC6	0.389213	0.660967	0.437019	0.622326	0.064856
HERC5_HERC6	0.431258	0.744498	0.732407	0.77934	0.05788

Η ακμή με το υψηλότερο varD σκορ όπως φαίνεται στον **Πίνακα 45** είναι η FBXO6-RNF213, η οποία δεν εμφανίζεται στο δίκτυο Υγιών. Μόνο 4 από τις συνολικά 13 ακμές του ΔΚΑ εμφανίζονται στο δίκτυο των Υγιών. Οι ακμές που εμπλέκουν το FBOX6 παρουσιάζουν μεγάλη διασπορά.

Συνολικά, σε αυτή τη θεραπεία παρατηρούμε ότι μόνο 4 E3 λιγάσες συνεκφράζονται σε όλες τις καταστάσεις ενώ στους Ασθενείς ΜΘ Avonex εμφανίζεται συνέκφραση του E2 ένζυμου συζεύξεως και άλλων E3 λιγάσων.

8.1.2.1.5 Αποτελέσματα για τη θεραπεία Betaseron

Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη θεραπεία Betaseron. Αυτά είναι τα Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Betaseron T0 (BT0), Ασθενείς ΜΘ Betaseron T1 (BT1) και Ασθενείς ΜΘ Betaseron T2 (BT2).

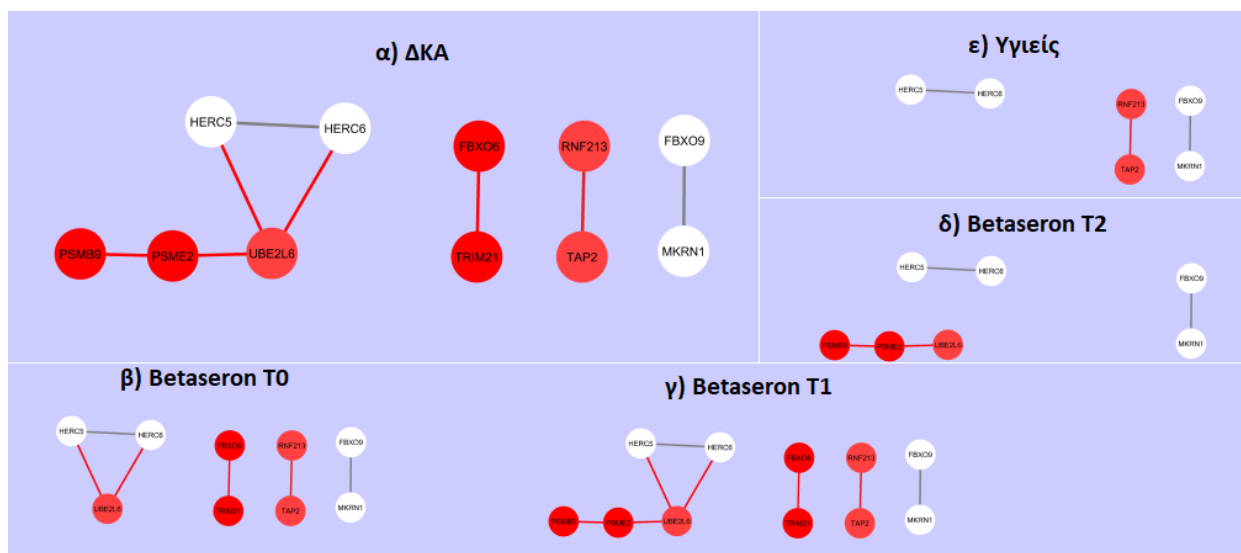
Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον **Πίνακα 46**.

Πίνακας 46: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Betaseron στο R-HSA-983169

		Ασθ. ΜΘ Betaseron – Υγιείς			Ασθ. ΜΘ Betaseron – Ασθ. ΜΘ Betaseron		
		BT0-C	BT1-C	BT2-C	BT1-BT0	BT2-BT0	BT2-BT1
CD14	FC	-0.12	0.15	0.33	0.27	0.45	0.19
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
CDC34	FC	-0.56	-0.29	0.05	0.27	0.61	0.33
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	0.36	0.27	0.27	-0.12	-0.11	0.01
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	0.74	0.6	0.64	-0.14	-0.1	0.04
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
ERAP2	FC	0.17	0.06	0.1	-0.11	-0.08	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.38	0.47	0.57	0.09	0.19	0.1
	ΣΜΚΑ	1	0	0	0	1	0
FBXO9	FC	-0.47	-0.3	-0.12	0.18	0.35	0.18
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
HERC5	FC	2.41	2.4	2.47	-0.01	0.06	0.07
	ΣΜΚΑ	0.5	0	0	0	0.33	0
HERC6	FC	1.51	1.42	1.49	-0.09	-0.01	0.07
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0	0	0.5
HLA-B	FC	0.54	0.59	0.73	0.04	0.19	0.14
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.38	-0.4	-0.48	-0.03	-0.1	-0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
MKRN1	FC	-0.53	-0.44	-0.3	0.09	0.24	0.15
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB3	FC	-0.26	0.04	0.25	0.3	0.5	0.2
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.2	0.29	0.51	0.1	0.31	0.22
	ΣΜΚΑ	0	1	0	1	0	0
PSME2	FC	0.33	0.47	0.82	0.14	0.49	0.36

	ΣΜΚΑ	0	1	1	1	1	0
PSMF1	FC	-0.51	-0.28	-0.11	0.23	0.4	0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-1.05	-0.98	-0.72	0.08	0.34	0.26
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	0.80	0.77	0.8	-0.08	-0.05	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	1	0
SOCS1	FC	0.23	0.44	0.4	0.21	0.17	-0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
TAP2	FC	0.52	0.41	0.57	-0.11	0.05	0.15
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	1	0
TRIM21	FC	0.44	0.49	0.59	0.05	0.15	0.1
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	1	0
UBA52	FC	-0.42	-0.01	0.16	0.41	0.58	0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.80	0.87	1.01	0.07	0.2	0.13
	ΣΜΚΑ	0	1	1	0	1	0.5

Στον Πίνακα 46 παρατηρούμε ότι οι E3 λιγάσες FBXO6, RNF213, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το E2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουιτίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών.



Σχήμα 66: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για Betaseron στο R-HSA-983169

Στο Σχήμα 66 φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔΚΑ για τη θεραπεία Betaseron. Σε αντίθεση με την προηγούμενη θεραπεία, εδώ παρατηρούμε αρκετές διαφορές και ανάμεσα στις χρονικές στιγμές μίας θεραπείας. Το δίκτυο Betaseron T1 περιέχει όλες τις ακμές του ΔΚΑ ενώ το T0 δεν περιέχει τις ακμές που συνδέουν το PSME2 με το PSMB9 (δηλαδή τον πυρήνα και τον ρυθμιστή του πρωτεασώματος) και το PSME2 με το UBE2L6. Στο Betaseron T2 λείπουν οι συσχετίσεις του UBE2L6 με τις E3 λιγάσες HERC5 και HERC6 καθώς και η ακμή FBXO6-TRIM21 και RNF213-TAP2. Ιδιαίτερα, η ακμή RNF213-TAP2 εμφανίζεται με όλες τις χρονικές στιγμές αλλά και στο δίκτυο των Υγιών και απουσιάζει από το δίκτυο Betaseron T2.

Πίνακας 47: Dn-score γονιδίων για Betaseron στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔΚΑ	Dn-score	Καν. Dn-score
FBXO6	1	1.333333333	1.333333333
PSMB9	1	1.333333333	1.333333333
TRIM21	1	1.333333333	1.333333333
PSME2	2	2.078531293	1.039265647
RNF213	1	0.990629167	0.990629167
TAP2	1	0.990629167	0.990629167
UBE2L6	3	2.753652037	0.917884012
HERC6	2	1.396451884	0.698225942
HERC5	2	1.37638919	0.688194595
FBXO9	1	0.627940582	0.627940582
MKRN1	1	0.627940582	0.627940582

Εδώ παρατηρούμε ότι τα γονίδια FBXO6, TRIM21 που χάνουν την ακμή που τα συνδέει σε 2 από τα 4 δίκτυα ιεραρχούνται πρώτα στη λίστα όπως και το PSMB9 με την ίδια λογική. Επιπλέον, το PSME2 και το UBE2L6 χάνουν όλες τις ακμές τους στους Υγιείς για αυτό και παρουσιάζουν μεγάλο Dn-score. Το FBXO6 συνεκφράζεται με το TRIM21 μόνο στα δίκτυα Betaseron για τις δύο πρώτες χρονικές στιγμές.

Πίνακας 48: Μετρικές ακμών για Betaseron στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΜΘ Betaseron T0	Ασθενείς ΜΘ Betaseron T1	Ασθενείς ΜΘ Betaseron T2	var
PSME2_UBE2L6	0	0	0.167749	0.550369	2.090362
FBXO6_TRIM21	0	0.533616	0.193266	0	1.917976
HERC6_UBE2L6	0	0.231101	0.627664	0	1.901983
HERC5_UBE2L6	0	0.537909	0.220163	0	1.801833
PSMB9_PSME2	0	0	0.593497	0.493182	1.356058
RNF213_TAP2	0.108092	0.501648	0.231349	0	1.055459
FBXO9_MKRN1	0.264174	0.254653	0.775314	0.302872	0.397037
HERC5_HERC6	0.431258	0.657664	0.448024	0.645435	0.050526

Μόνο 2 από τις συνολικά 8 ακμές στο ΔΚΑ εμφανίζονται στο δίκτυο Υγιών. Οι υπόλοιπες εμφανίζουν αρκετά υψηλό varD σκορ διότι απουσιάζουν από ένα ή δύο δίκτυα της ανάλυσης. Συνολικά, σε αυτή τη θεραπεία παρατηρούμε ότι το E2 ένζυμο συζεύξεως UBE2L6 συνεκφράζεται με τις E3 λιγάσες HERC5 και HERC6 μόνο κατά τις δύο πρώτες στιγμές της θεραπείας και με PSME2 μόνο στις δύο τελευταίες ενώ στους Υγιείς είναι πλήρως αποκλεισμένο.

8.1.2.1.6 Αποτελέσματα για τη θεραπεία Rebif

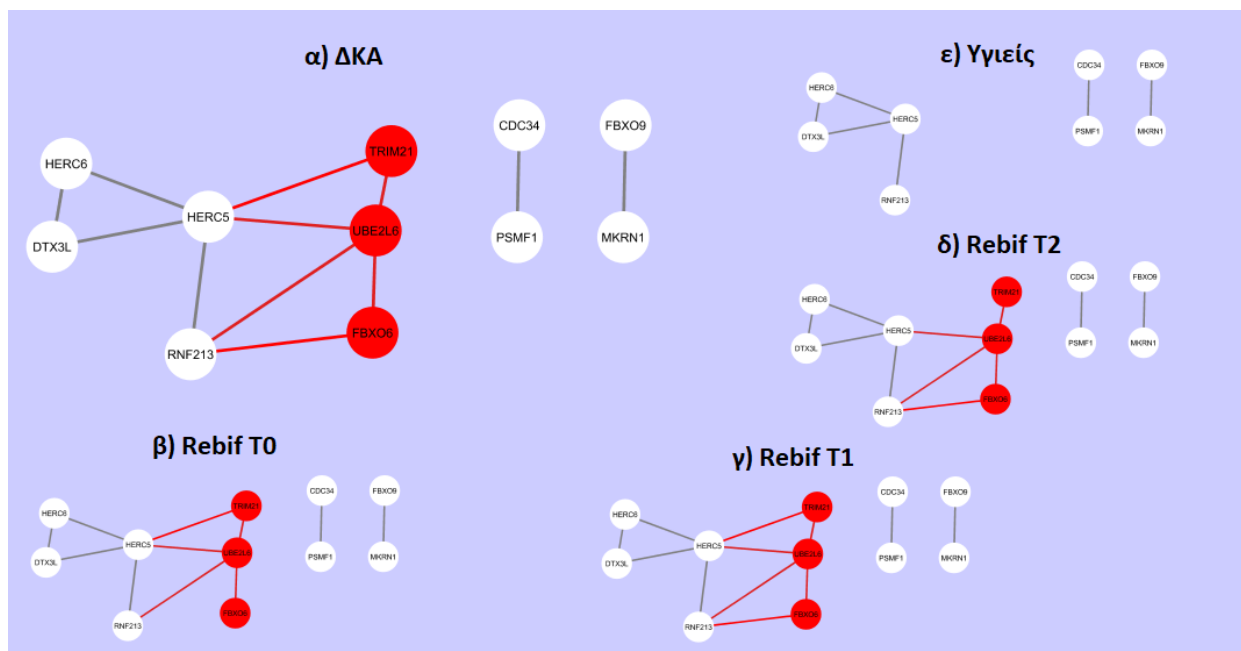
Σε αυτή την ενότητα πραγματοποιείται σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη και σύγκριση πολλαπλών δικτύων για όλα τα δίκτυα που αναφέρονται στη θεραπεία Rebif. Αυτά είναι τα Υγιείς (C), Ασθενείς ΜΘ Rebif T0 (RT0), Ασθενείς ΜΘ Rebif T1 (RT1) και Ασθενείς ΜΘ Rebif T2 (RT2).

Τα αποτελέσματα της Διαφορικής ανάλυσης και του υπολογισμού Σ.Μ.Κ.Α. για όλα τις συγκρίσεις δικτύων κατά ζεύγη φαίνονται στον **Πίνακα 49**.

Πίνακας 49: Αποτελέσματα Σύγκρισης δικτύων κατά ζεύγη για Rebif στο R-HSA-983169

		Ασθ. ΜΘ Rebif – Υγιείς			Ασθ. ΜΘ Rebif – Ασθ. ΜΘ Rebif		
		RT0-C	RT1-C	RT2-C	RT1-RT0	RT2-RT0	RT2-RT1
CD14	FC	0.14	0.32	0.31	0.18	0.17	-0.01
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
CDC34	FC	-0.22	-0.11	0.05	0.11	0.27	0.16
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
CYBB	FC	0.22	0.24	0.01	0.01	-0.21	-0.23
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
DTX3L	FC	0.59	0.55	0.35	-0.05	-0.24	-0.2
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
ERAP2	FC	0.07	0.03	0.03	-0.04	-0.04	0
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
FBXO6	FC	0.52	0.49	0.37	-0.03	-0.15	-0.12
	ΣΜΚΑ	0	1	0	0.5	0	0
FBXO9	FC	-0.44	-0.36	-0.33	0.08	0.11	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
HERC5	FC	2.12	2.02	1.76	-0.1	-0.36	-0.26
	ΣΜΚΑ	0	0.4	0	0	0	0.17
HERC6	FC	1.33	1.25	1.08	-0.09	-0.25	-0.17
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
HLA-B	FC	0.31	0.22	0.18	-0.09	-0.13	-0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
KBTBD7	FC	-0.45	-0.53	-0.5	-0.07	-0.05	0.03
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
MKRN1	FC	-0.44	-0.46	-0.33	-0.02	0.1	0.13
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB3	FC	0.1	0.11	0.27	0.01	0.17	0.16
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMB9	FC	0.4	0.34	0.4	-0.07	0	0.06
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSME2	FC	0.45	0.54	0.6	0.08	0.15	0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
PSMF1	FC	-0.29	-0.3	-0.22	-0.01	0.06	0.07
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF182	FC	-0.66	-0.5	-0.29	0.16	0.37	0.21
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
RNF213	FC	0.76	0.79	0.48	0.04	-0.28	-0.32
	ΣΜΚΑ	0	0.67	0	0.25	0	0
SOCS1	FC	0.48	0.52	0.47	0.03	-0.02	-0.05
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
TAP2	FC	0.45	0.4	0.20	-0.04	-0.24	-0.2
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
TRIM21	FC	0.49	0.42	0.35	-0.06	-0.13	-0.07
	ΣΜΚΑ	1	1	0	0	0	1
UBA52	FC	-0.06	0.05	0.13	0.11	0.19	0.08
	ΣΜΚΑ	0	0	0	0	0	0
UBE2L6	FC	0.97	0.93	0.82	-0.04	-0.15	-0.11
	ΣΜΚΑ	1	1	0	0	0	0

Στον Πίνακα 49 παρατηρούμε ότι οι E3 λιγάσες FBXO6, RNF213, TRIM21, HERC5 και HERC6 και το E2 ένζυμο συζεύξεως ουβικουιτίνης UBE2L6 το αυξάνουν την έκφρασή τους έπειτα από τη χορήγηση θεραπείας τόσο σε σύγκριση με τους Υγιείς όσο και με τους Ασθενείς ΧΘ και διαφοροποιούν τους γείτονές τους μεταξύ δικτύων θεραπείας και μη αλλά και δικτύων θεραπείας και Υγιών.



Σχήμα 67: Σύγκριση Πολλαπλών δικτύων για Rebif στο R-HSA-983169

Στο Σχήμα 67 φαίνονται όλα τα επιμέρους δίκτυα καθώς και το ΔΚΑ για τη θεραπεία Rebif. Παρατηρούμε ότι το δίκτυο Rebif T1 είναι όμοιο με το ΔΚΑ, το δίκτυο Rebif T0 χάνει την ακμή RNF213-FBXO6 και το δίκτυο Rebif T2 χάνει την ακμή HERC5-TRIM21. Στο δίκτυο των Υγιών παρατηρούμε ότι τα γονίδια TRIM21, UBE2L6 και FBXO6 είναι πλήρως αποκλεισμένα.

Πίνακας 50: Dn-score γονιδίων για Rebif στο R-HSA-983169

Γονίδιο	#ακμών ΔΚΑ	Dn-score	Καν. Dn-score
TRIM21	2	1.692123	0.846061
FBXO6	2	1.537972	0.768986
RNF213	3	1.735745	0.578582
UBE2L6	4	1.559119	0.38978
HERC5	5	1.928824	0.385765
FBXO9	1	0.383543	0.383543
MKRN1	1	0.383543	0.383543
CDC34	1	0.328625	0.328625
PSMF1	1	0.328625	0.328625
DTX3L	2	0.515648	0.257824
HERC6	2	0.466441	0.23322

Τα TRIM21 και FBXO6 που είναι αποκλεισμένα στους Υγιείς και χάνουν ακμή και στα υπόλοιπα δίκτυα παρουσιάζονται στην κορυφή της λίστας με τα υψηλότερα κανονικοποιημένα Dn-score. Το RNF213 και HERC5 που έχουν αρκετές ακμές στο ΔΚΑ και οι ορισμένες από τις ακμές τους απουσιάζουν σε περισσότερα από ένα δίκτυα εμφανίζουν υψηλό Dn-score.

Πίνακας 51: Μετρικές ακμών για Rebif στο R-HSA-983169

Ακμή	Υγιείς	Ασθενείς ΜΘ Rebif T0	Ασθενείς ΜΘ Rebif T1	Ασθενείς ΜΘ Rebif T2	var
HERC5_TRIM21	0	0.214008	0.52025	0	1.797206
FBXO6_RNF213	0	0	0.553415	0.33345	1.497377
HERC5_UBE2L6	0	0.461728	0.515729	0.216402	0.634904
TRIM21_UBE2L6	0	0.518366	0.277537	0.374931	0.558642
RNF213_UBE2L6	0	0.454462	0.67574	0.407794	0.53684
FBXO6_UBE2L6	0	0.361895	0.559962	0.398379	0.512445
HERC5_RNF213	0.104909	0.602521	0.547321	0.206594	0.455524
FBXO9_MKRN1	0.264174	0.242823	0.289277	0.517338	0.150447
CDC34_PSMF1	0.206577	0.472126	0.408584	0.542309	0.125966
DTX3L_HERC6	0.389213	0.711452	0.745389	0.442247	0.101606
DTX3L_HERC5	0.363745	0.571772	0.641799	0.333912	0.101385
HERC5_HERC6	0.431258	0.719272	0.856447	0.827142	0.074994

Η ακμή με το υψηλότερο varD σκορ όπως φαίνεται στον **Πίνακα 48** είναι η HERC5-TRIM21 και ακολουθεί η FBXO6-RNF213, οι οποίες απουσιάζουν από το δίκτυο των υγιών αλλά και από ακόμα ένα δίκτυο. Επιπλέον, το UBE2L6 χάνει αρκετές από τις ακμές του στα δίκτυα Υγιών.

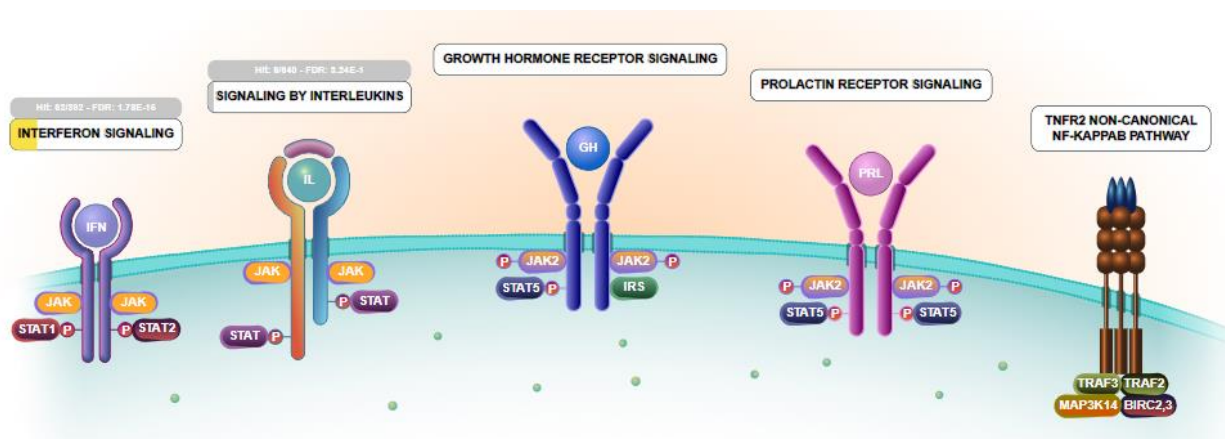
Συνολικά, σε αυτή τη θεραπεία δεν παρατηρούνται πολλές διαφορές ανάμεσα στις διαφορετικές στιγμές αλλά τα TRIM21, FBXO6, UBE2L6 τα οποία συνεκφράζονται μεταξύ τους αλλά και με τις λιγότερες HERC5, HEARC6 απουσιάζουν πλήρως από το δίκτυο των Υγιών.

8.1.3 Μεταγωγή σήματος κυτοκινών στο Ανοσοποιητικό Σύστημα (Cytokine Signaling in Immune system, R-HSA-1280215)

Οι κυτοκίνες παράγονται κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης της έμφυτης και επίκτητης ανοσίας και αποτελούν το κύριο μέσο για τη διακυτταρική επικοινωνία μιας εισβολής. Οι κυτοκίνες χρησιμεύουν για την έναρξη της φλεγμονώδους απόκρισης και για τον καθορισμό του μεγέθους και της φύσης της επίκτητης ανοσοαπόκρισης. Η ανταπόκριση των ασθενών εξαρτάται, σε μεγάλο βαθμό, από το πρότυπο των κυτοκινών που παράγονται. Η ανοσολογική ανταπόκριση των ασθενών μπορεί να ποικίλει από μια έντονα προφλεγμονώδη απόκριση, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη παραγωγή Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων α (TNF- α), Ιντερλευκίνης (IL) -1, Ιντερφερόνης (IFN) - γ και IL-12 σε μία κατά κύριο λόγο ανεργία, που χαρακτηρίζεται από αυξημένη παραγωγή T (H) 2 κυτοκινών, όπως IL-10 και IL-4. Οι κυτοκίνες δεσμεύονται σε συγκεκριμένους υποδοχείς μεμβράνης, οι οποίοι στη συνέχεια σηματοδοτούν το κύτταρο μέσω δεύτερων αγγελιοφόρων, για τη ρύθμιση της κυτταρικής δραστηριότητας.

Οι ιντερφερόνες (IFNs) είναι κυτοκίνες που παίζουν κεντρικό ρόλο στην εκκίνηση ανοσοαποκρίσεων, ιδιαίτερα αντι-ιικών και αντικαρκινικών επιδράσεων. Οι ιντερλευκίνες είναι πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους που δεσμεύονται με υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας και δρουν με αυτοκρινή και / ή παρακρινή τρόπο. Πρώτα ταυτοποιήθηκαν ως παράγοντες που παράγονται από λευκοκύτταρα, αλλά τώρα είναι γνωστό ότι παράγονται από πολλά άλλα κύτταρα σε όλο το σώμα. Έχουν πλειοτροπικές επιδράσεις στα κύτταρα που τις δεσμεύουν, επηρεάζοντας διαδικασίες όπως η ανάπτυξη ιστού, η αιματοποιητική ομοίωση και πολλαπλά επίπεδα άμυνας του ξενιστή έναντι παθογόνων οργανισμών.

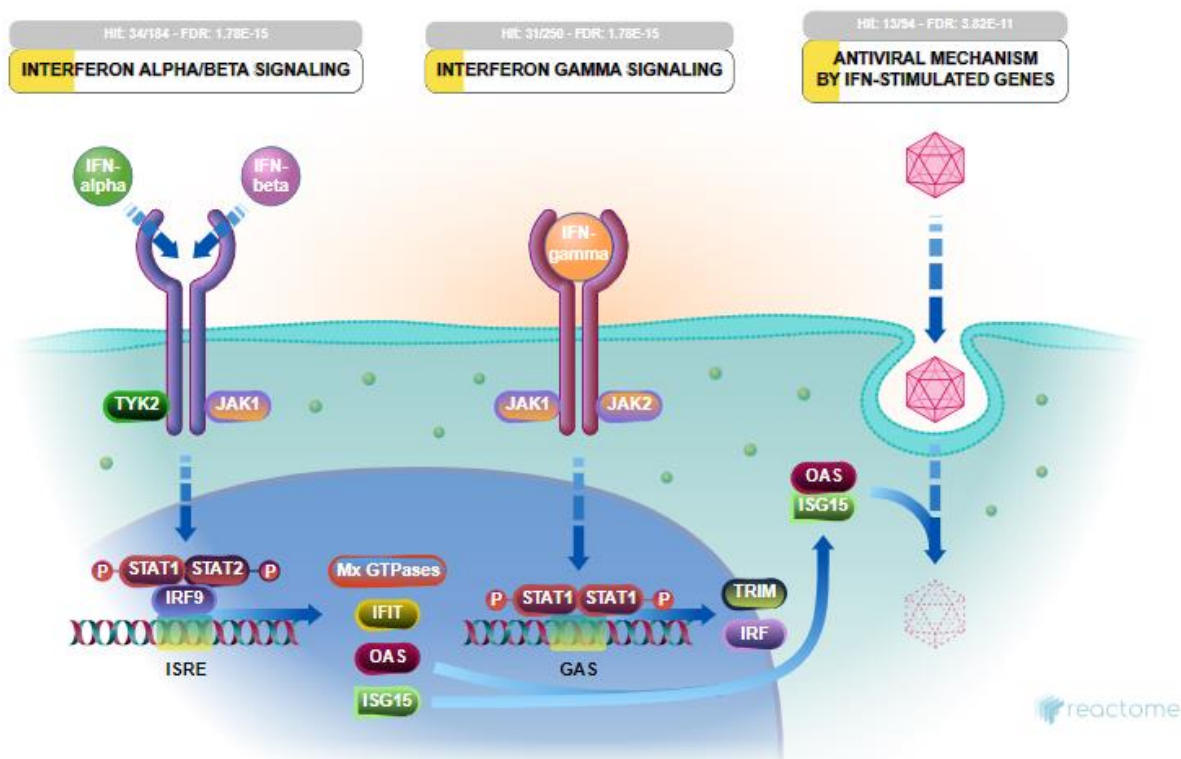
Η αυξητική ορμόνη (Σωματοτροπίνη ή GH) αποτελεί βασικό παράγοντα για τον προσδιορισμό της άλιπης σωματικής μάζας, διεγείροντας την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό των κυττάρων των μυών, των οστών και των χόνδρων, μειώνοντας ταυτόχρονα το σωματικό λίπος. Έχει πολλούς άλλους ρόλους, ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, επηρεάζοντας ποικίλες διεργασίες όπως η καρδιακή λειτουργία, η ανοσολογική λειτουργία, η λειτουργία του εγκεφάλου και η γήρανση. Η GH έχει επίσης αποτελέσματα παρόμοια με την ινσουλίνη, όπως η διέγερση της μεταφοράς αμινοξέων, σύνθεση πρωτεϊνών, μεταφορά γλυκόζης και λιπογένεση. Ο υποδοχέας ορμόνης ανάπτυξης (GHR) είναι ένα μέλος της οικογένειας υποδοχέα κυτοκίνης. Η προλακτίνη (PRL) είναι μια ορμόνη που εκκρίνεται κυρίως από την πρόσθια υπόφυση. Αρχικά αναγνωρίστηκε από την ικανότητά της να διεγείρει την ανάπτυξη του μαστικού αδένου και της γαλουχίας, αλλά τώρα είναι γνωστό ότι έχει πολλές και ποικίλες λειτουργίες. Παρόλα αυτά, λίγες παθολογίες έχουν συσχετιστεί με ανωμαλίες στην σηματοδότηση του υποδοχέα της προλακτίνης (PRLR), αν και έχουν προταθεί ρόλοι σε διάφορες μορφές καρκίνου και ορισμένες αυτοάνοσες διαταραχές. Ο PRLR είναι μέλος της υπεροικογένειας υποδοχέα κυτοκίνης. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-άλφα (TNFA) ασκεί ένα ευρύ φάσμα βιολογικών αποτελεσμάτων μέσω του TNF υποδοχέα 1 (TNFR1) και του TNF υποδοχέα 2 (TNFR2). Ο TNFR1 κατά την ενεργοποίηση με TNFA ενεργοποιεί την απόπτωση. Αντιθέτως, η σηματοδότηση TNFR2 ειδικά σε πολύ ενεργοποιημένα T κύτταρα, επάγει οδούς κυτταρικής επιβίωσης που μπορούν να οδηγήσουν σε πολλαπλασιασμό κυττάρων ενεργοποιώντας τον παράγοντα μεταγραφής NF-κΒ μέσω της εναλλακτικής οδού. Η σηματοδότηση TNFR2 φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο, ιδιαίτερα για τη λειτουργία ρυθμιστικών T κυττάρων. Παρέχει προστατευτικούς ρόλους σε διάφορες διαταραχές, όπως αυτοάνοσες ασθένειες, καρδιακές παθήσεις, απομυελινωτικές και νευροεκφυλιστικές διαταραχές και μολυσματικές ασθένειες.



Εικόνα 12: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1280215 της Reactome

8.1.4 Μεταγωγή σήματος Ιντερφερόνης (Interferon Signaling, R-HSA-913531)

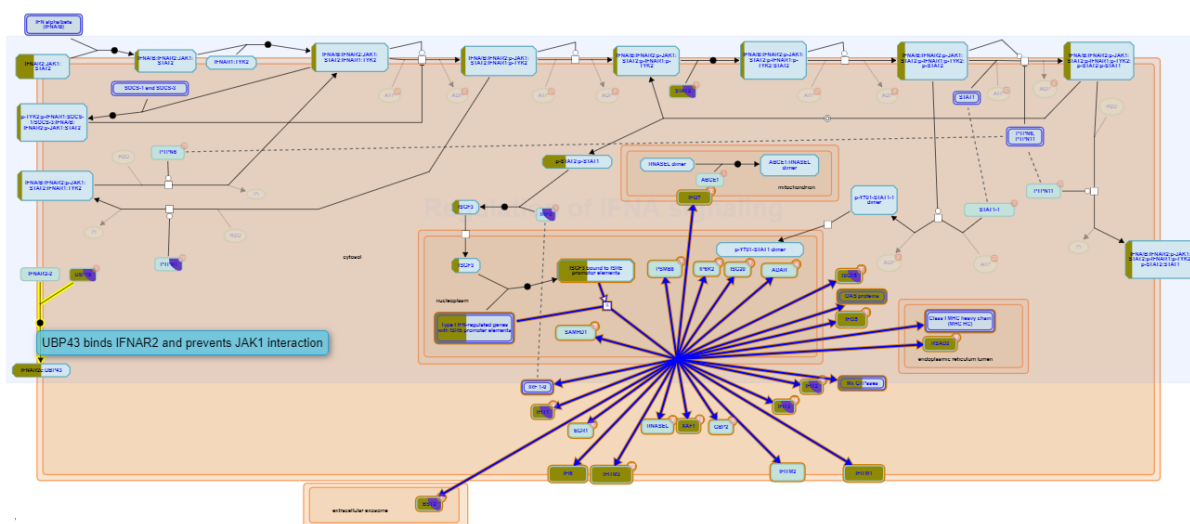
Οι ιντερφερόνες (IFNs) είναι κυτοκίνες που παίζουν κεντρικό ρόλο στην εκκίνηση ανοσοαποκρίσεων, ιδιαίτερα αντι-ιικών και αντικαρκινικών αποκρίσεων. Υπάρχουν τρεις τύποι IFN: Τύπος I (IFN-άλφα, βήτα ωμέγα, έψιλον και κάπα), Τύπου II (IFN-γάμμα) και Τύπου III (IFN-λάμδα). Σε αυτή την ενότητα εστιάζουμε κυρίως σε IFNs τύπου I άλφα και βήτα και τύπου II γάμμα. Και οι δύο IFN τύπου I και τύπου II ασκούν τις δράσεις τους μέσω συγγενών συμπλεγμάτων υποδοχέων, IFNAR και IFNGR αντιστοίχως, που υπάρχουν στις μεμβράνες της κυτταρικής επιφάνειας. Ο υποδοχέας IFN τύπου I είναι ετεροδιμερής υποδοχέας που αποτελείται από τις υπομονάδες IFNAR1 και IFNAR2, ενώ ο υποδοχέας IFN τύπου II αποτελείται από IFNGR1 και IFNGR2. Οι IFN τύπου I συνήθως προσλαμβάνουν τις πρωτεΐνες JAK1 και TYK2 για να μεταδώσουν τα σήματα τους σε STAT1 και STAT2. Σε συνδυασμό με το ρυθμιστικό παράγοντα Ιντερφερόνης IRF9, αυτές οι πρωτεΐνες σχηματίζουν το ετεροτριμερικό σύμπλοκο ISGF3. Στον πυρήνα το ISGF3 συνδέεται με τα στοιχεία απόκρισης που διεγείρονται από την IFN (ISRE) για την προώθηση της επαγωγής γονιδίων. Οι IFN τύπου II με τη σειρά τους βασίζονται στην ενεργοποίηση των JAK1, JAK2 και STAT1. Αφού ενεργοποιηθεί, το STAT1 διμερίζεται για να σχηματίσει τον ρυθμιστή μεταγραφής GAF (ενεργοποιημένο με IFNG παράγοντα) και αυτό συνδέεται με τα στοιχεία ενεργοποιημένης με IFNG αλληλουχίας (GAS) και ξεκινά τη μεταγραφή γονιδίων που ανταποκρίνονται στην IFNG.



Εικόνα 13: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-913531 της Reactome

8.1.4.1 Μεταγωγή Σήματος Ιντερφερόνης α/β (Interferon alpha/beta signaling, R-HSA-909733)

Οι ιντερφερόνες τύπου I (IFNs) αποτελούνται από διάφορα γονίδια που συμπεριλαμβάνουν τα IFN άλφα (IFNA), βήτα (IFNB), ωμέγα, έψιλον και κάπα. Στους ανθρώπους τα γονίδια IFNA αποτελούνται από περισσότερα από 13 γονίδια, ενώ υπάρχει μόνο ένα γονίδιο IFNB. Η μεγάλη οικογένεια των πρωτεϊνών IFNA / B δεσμεύεται σε έναν μόνο υποδοχέα ο οποίος αποτελείται από δύο διαφορετικές αλυσίδες: IFNAR1 και IFNAR2. Επειδή ο υποδοχέας δεν έχει την δυνατότητα κινάσης, βασίζεται σε Janus κινάσες (JAK1 και Tyk2) για να φωσφορυλιώσουν τον υποδοχέα και τα μόρια μετάδοσης σήματος όπως το STAT1 και το STAT2. Το IFNAR1 συνδέεται με το Tyk2 ενώ το IFNAR2 με το JAK1. Η φωσφορυλίωση του STAT1&STAT2 από το JAK1 και το Tyk2 οδηγεί στο σχηματισμό μεταγραφικών συμπλόκων που μεταφέρονται στον πυρήνα και επάγουν την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων. Τα γονίδια STAT1, STAT2 και IRF9 σχηματίζουν το σύμπλοκο ISGF3 (IFN-stimulated gene factor 3) το οποίο συνδέεται σε συγκεκριμένες περιοχές (ISRE) στον προωθητή γονιδίων και επάγουν την έκφρασή τους. Αυτά τα γονίδια ονομάζονται IFN επαγόμενα γονίδια (IFN-inducible genes). Επιπλέον, το USP18 συνδέεται απευθείας στο IFNAR2 και μπλοκάρει την αλληλεπίδραση του JAK1 και του υποδοχέα με σκοπό την διακοπή μεταγωγής σήματος.



Εικόνα 14: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-909733 της Reactome

Τα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια τα οποία λαμβάνουν μέρος σε αυτό το μονοπάτι είναι τα: BST2, IFI27, IFI35, IFI6, IFIT1, IFIT2, IFIT3, IFITM1, IFITM3, ISG15, MX1, OAS1, OAS2, OAS3, OASL, RSAD2, STAT2, USP18, XAF1. Εκτός από το STAT2 και το USP18 που έχουν ρυθμιστικό ρόλο, όλα τα υπόλοιπα γονίδια έχουν αναφερθεί ότι επάγουν την έκφρασή τους ως αποτέλεσμα της μεταγωγής σήματος IFNA/B.

Η BST2 / τεθερίνη είναι ένας διεγερόμενος από IFN-I παράγοντας ξενιστή ο οποίος περιορίζει την απελευθέρωση του HIV-1 με παγίδευση των εκκολλαπτικών βιριόνων στην κυτταρική επιφάνεια. Αυτή η μεμβράνικη πρωτεΐνη μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει τον πλασματοκυτταρικό δενδριτικό κύτταρο (pDC) -ειδικό υποδοχέα, αναστολέα μεταγραφής 7 (ILT7) για να ρυθμίσει αρνητικά την IFN-I απόκριση μέσω pDCs. Το IFI27 είναι ένα

γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί μία διεγερόμενη από IFN, εξαιρετικά υδρόφοβη πρωτεΐνη 122 αμινοξέων με συνολική ομοιότητα αλληλουχίας 33% με το προϊόν του IFI6 γονιδίου. Η βιολογική λειτουργία του IFI27 είναι άγνωστη, αλλά το σχετικό γονίδιο IFI6 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που παρεμβάλλεται στην απόπτωση που προκαλείται από το μόριο TRAIL. Αν και η λειτουργία του IFI35 δεν είναι ακόμη γνωστή, έρευνες έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση IFI35 κατέστειλε την ενεργοποίηση των προωθητών (promoters) των IFN-β και ISG56, ενώ η υποέκφρασή του είχε το αντίθετο αποτέλεσμα. Περαιτέρω έρευνα αποκάλυψε ότι το IFI35 αλληλεπιδρά ειδικά με το γονίδιο I (RIG-I) που επάγεται με ρετινοϊκό οξύ και ρυθμίζει αρνητικά την ενεργοποίησή του μέσω μηχανισμών που περιλαμβάνουν (i) την καταστολή της αποφωσφορυλίωσης (ενεργοποίηση) του RIG-I και (ii) την αποικοδόμηση RIG-I μέσω της ουβικιτίνης που συνδέεται με K48. Συνολικά, το IFI35 φαίνεται να παίζει κάποιον ρόλο στην αρνητική ρύθμιση της αντιικής σηματοδότησης μέσω RIG-I, η οποία έχει επιπτώσεις για ασθένειες που σχετίζονται με υπερβολική ανοσολογική σηματοδότηση.

Οι πρωτεΐνες που επάγονται από IFN με επαναλήψεις τετρατρικοπεπτιδίων (Interferon Induced Protein With Tetratricopeptide Repeats, IFITs) έχουν αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της ιογενούς λοίμωξης [29]. Τέσσερα μέλη, η IFIT1 (p56, ISG56), η IFIT2 (p54, ISG54), η IFIT3 (p60, ISG60) και η IFIT5 (p58, ISG58) αποτελούν οικογένεια στα θηλαστικά. Οι IFIT χαρακτηρίζονται από πολλαπλές επαναλήψεις τετρατρικοπεπτιδίων (TPRs), εκφυλισμένα μοτίβα έλικας-στροφής-έλικας μήκους 34 αμινοξέων. Κατά την τελευταία δεκαετία, η αντιική δράση και οι μηχανισμοί δράσης των πρωτεϊνών IFIT έχουν διαλευκανθεί. Πρόσφατα, τα μέλη της οικογένειας IFIT έχουν αποδειχθεί ότι περιορίζουν επιλεκτικά τον ιικό αναδιπλασιασμό ανιχνεύοντας την κατάσταση μεθυλίωσης του 5' άκρο ορισμένων ιικών RNA. Οι ιοί καταλαμβάνουν ένα άκρο από το mRNA του ξενιστή για να προσθέσουν μια δομή 5'-άκρου στο mRNA τους, αποφεύγοντας έτσι την αναγνώριση του IFIT. Η IFIT1 δεσμεύεται ειδικά με μονόκλωνο RNA που φέρει 5'-τριφωσφορική ομάδα (PPP-RNA), ενεργώντας ως αισθητήρας ιικών μονόκλωνων RNA και αναστέλλοντας την έκφραση ιικών mRNAs. Το IFIT2 ομοίως προσδένει πλούσια σε AU ιικά RNAs, με ή χωρίς 5' τριφωσφορυλίωση και ενδέχεται να προάγει την απόπτωση. Το IFIT3 ενισχύει τις αντι-ιικές αποκρίσεις του ξενιστή με τη μεσολάβηση του MAVS, ο οποίος οδηγεί στην ενεργοποίηση του TBK1 και φωσφορυλίωση του IRF3 το οποίο μετατοπίζεται στον πυρήνα για την προαγωγή της μεταγραφής αντι-ιικού γονιδίου. Παρουσιάζει μια αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα μέσω της θετικής ρύθμισης των αρνητικών ρυθμιστών κυτταρικού κύκλου CDKN1A / p21 και CDKN1B / p27. Αναπροσαρμόζει το CDKN1A / p21 με υποβάθμιση του MYC, ενός καταστολέα του CDKN1A / p21. Μπορεί να ρυθμίσει αρνητικά τις αποπτωτικές επιδράσεις του IFIT2. Το IFIT5 παρουσιάζει μια ευρεία και προσαρμόσιμη αναγνώριση δομής RNA σημαντική για την εξειδίκευση αναγνώρισης του RNA στην αντιική προστασία. Δεσμεύει τα πρόδρομα και τα επεξεργασμένα tRNAs καθώς επίσης και τα θραύσματα poly-U-tailed tRNAs. Αναγνωρίζει επίσης και επιλεκτικά δεσμεύει dsDNA πλούσια σε AT. Επιπροσθέτως, ως μεσολαβητής σε έμφυτη ανοσία, ρυθμίζει θετικά την σηματοδότηση IKK-NPKB με συνέργια της πρόσληψης IKK με MAP3K7.

Οι διεγερόμενες από ιντερφερόνη διαμεμβρανικές πρωτεΐνες IFITM περιλαμβάνουν μία οικογένεια ενδογενών περιοριστικών παραγόντων που διεγείρονται από ιντερφερόνη, με υψηλή έκφραση σε πολλά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων επιθηλιακών κυττάρων. Όπως υποδηλώνουν τα ονόματά τους, η έκφραση των ανθρώπινων IFITM1, IFITM2 και

IFITM3 είναι επίσης έντονα θετικά ρυθμισμένη τόσο από ιντερφερόνες τύπου I όσο και τύπου II [30]. Αποκλειστικά μεταξύ των γνωστών περιοριστικών παραγόντων, αυτές οι πρωτεΐνες εμποδίζουν τους ιούς να διασχίζουν τη λιπιδική διπλοστοιβάδα του κυττάρου και να έχουν πρόσβαση στο κυτταρόπλασμα. Οι πρωτεΐνες IFITM περιορίζουν σημαντικά έναν αριθμό ιικών παθογόνων που είναι σημαντικοί για την ανθρώπινη υγεία. Η διεγερόμενη από IFN αντι-ιική πρωτεΐνη IFITM1, αναστέλλει την είσοδο ιών στο κυτταρόπλασμα κυττάρου-ξενιστή, επιτρέποντας την ενδοκυττάρωση, και παρεμποδίζοντας επακόλουθη συγχώνευση ιού και απελευθέρωση ιικών περιεχομένων εντός του κυτοσολίου. Επίσης εμπλέκεται στην κυτταρική προσκόλληση και στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης και της μετανάστευσης. Παίζει έναν ρόλο κλειδί στην αντιπολλαπλασιαστική δράση της IFN- γ είτε με αναστολή της ενεργοποίησης ERK είτε με διακοπή της κυτταρικής ανάπτυξης στη φάση G1 με τρόπο εξαρτώμενο από p53. Λειτουργεί ως θετικός ρυθμιστής της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Η επαγόμενη από IFN αντι-ιική πρωτεΐνη IFITM3, διακόπτει την ενδοκυτταρική ομοίωση της χοληστερόλης. Αναστέλλει την είσοδο ιών στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων-ξενιστών εμποδίζοντας τη συγχώνευση του ιού με ενδοσώματα με μειωμένη χοληστερόλη. Μπορεί να απενεργοποιήσει τους νέους επικαλυμμένους ιούς που εκτοξεύονται από το μολυσμένο κύτταρο, αφήνοντάς τους να βγαίνουν με μεμβράνη χωρίς χοληστερόλη. Παίζει κρίσιμο ρόλο στη δομική σταθερότητα και τη λειτουργία της κενοτοπικής ATPάσης (v-ATPάσης) [20]. Το ISG15 όπως αναφέρεται και παραπάνω είναι γονίδιο που επάγεται από Ιντερφερόνη και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί έχει κοινές δραστηριότητες με την ουβικουιτίνη οι οποίες όμως ρυθμίζονται από ειδικά μονοπάτια σηματοδότησης της έμφυτης ανοσίας. Συζευγνύεται με μια πρωτεΐνη στόχο μέσω μίας διαδικασίας που ονομάζεται ISGylation. Μπορεί να συζευχθεί με IFIT1, MX1, UBE2L6, CMPK5. Επιπλέον, συζευγνύεται με EIF2AK2 που οδηγεί στην ενεργοποίησή του, με DDX58 που αναστέλλει την λειτουργία του στη σηματοδότηση αντι-ιικής απόκρισης. Το MX1 κωδικοποιεί πρωτεΐνη μετεμβολιασμού τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP) που συμμετέχει στην κυτταρική αντι-ιική αντίδραση. Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη επάγεται από ιντερφερόνες τύπου I και τύπου II και ανταγωνίζεται τη διαδικασία αντιγραφής πολλών διαφορετικών RNA και RNA ιών.

Μεταξύ των πρωτεϊνών που επάγονται από την IFN, οι πρωτεΐνες ολιγοαδενυλικής συνθετάσης (OAS) έχουν ταυτοποιηθεί ως ένζυμα που ανιχνεύουν εξωγενές νουκλεϊκό οξύ και εκκινούν αντι-ιικές οδούς. Το ολιγομερισμένο ένζυμο OAS παράγει την 2'-5'-συνδεδεμένη ολιγοαδενυλική (2-5A) ενεργοποιητική ενδοριβονουκλεάση, RNase L, η οποία αποικοδομεί κυτταρικό και ιικό RNA. Με τον τρόπο αυτό, η RNase L συμβάλλει στον έλεγχο της πρώιμης εξάπλωσης ενός ιού με αποικοδόμηση του ιικού RNA και ενεργοποίηση κυτταροπλασματικών υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων, συμπεριλαμβανομένων των RIG-I και MDA-5 [31]. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας OAS αποτελούνται από τις πρωτεΐνες OAS1, OAS2, OAS3 και OASL. Οι πρωτεΐνες OAS1-3 έχουν σημαντική ομολογία μεταξύ τους και διαφέρουν μόνο στον αριθμό των OAS μονάδων και παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική έμφυτη αντι-ιική απόκριση. Ενεργοποιούνται από δίκλωνο RNA και φαίνεται να επηρεάζουν και άλλες κυτταρικές λειτουργίες όπως η απόπτωση, η κυτταρική ανάπτυξη, η διαφοροποίηση και η γονιδιακή ρύθμιση. Συνθέτει ολιγομερή 2'-5'-ολιγοαδενυλικών (2-5A) από ATP τα οποία στη συνέχεια δεσμεύονται με την αδρανή μονομερή μορφή της ριβονουκλεάσης L (RNase L) που οδηγεί στο διμερισμό της και στην επακόλουθη ενεργοποίηση. Η ενεργοποίηση της RNase L οδηγεί σε αποικοδόμηση κυτταρικού και ιικού RNA, με αποτέλεσμα την

αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης, οπότε τερματίζεται η αντιγραφή του ιού. Μπορεί να μεσολαβήσει στο αντιικό αποτέλεσμα μέσω της κλασικής οδού που εξαρτάται από την RNase L ή από μια εναλλακτική αντιϊκή οδό ανεξάρτητη από την RNase L [20]. Το OASL σχετίζεται με την οικογένεια OAS με το άκρο N του όμοιο με OAS τομέα, αλλά στερείται δραστηριότητας 2'-5' ολιγοαδενυλικής συνθετάσης λόγω χαρακτηριστικών αλλαγών στην ενεργό θέση. Παρόλα αυτά δεσμεύει δίκλωνο RNA. Το OASL περιέχει δύο τομείς ουβικουιτίνης (UBL) στο άκρο C, οι οποίες απουσιάζουν από τις άλλες πρωτεΐνες OAS. Το OASL επάγεται ταχέως από μόλυνση από τον ιό μέσω του ρυθμιστικού παράγοντα 3 της ιντερφερόνης (IRF3) καθώς και από τη σηματοδότηση της IFN και έχει αποδειχθεί ότι έχει αντι-ιικές δραστηριότητες. Εντούτοις, ελλείπει της καταλυτικής δραστηριότητας, ο μηχανισμός της ανθρώπινης αντι-ιικής δραστηριότητας OASL παρέμεινε ασαφής. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι το OASL παρουσιάζει αντι-ιική δραστηριότητα και διαμεσολαβεί στην ενεργοποίηση του DDX58 παίζοντας ρόλο πολυουβικιτίνης [32].

Το RSAD2 αποτελεί μια διεγερόμενη από ιντερφερόνη αντι-ιική πρωτεΐνη δέσμευσης σιδήρου-θείου (4FE-4S), η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική αντι-ιική κατάσταση που επάγεται από ιντερφερόνη τύπου I και τύπου II και έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει ένα ευρύ φάσμα DNA και RNA ιών. Προωθεί την εξαρτώμενη από TLR7 και TLR9 παραγωγή IFN-β σε πλασμοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) και παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των CD4 + T-κυττάρων. Διευκολύνει την ενεργοποίηση GATA3 που προκαλείται από υποδοχέα T-κυττάρων (TCR) και τη βέλτιστη παραγωγή κυτοκινών Th2 μέσω ρύθμιση των δραστηριοτήτων NFκB1 και JUNB. Μπορεί να αναστέλλει την έκκριση διαλυτών πρωτεϊνών [20]. Το XAF1 λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής των μελών της οικογένειας των πρωτεϊνών αναστολής της απόπτωσης (IAP). Αναστέλλει τη δράση του BIRC4 κατά της κασπάσης. Διεγείρει τη διάσπαση και την απενεργοποίηση του BIRC4 ανεξάρτητα από την ενεργοποίηση της κασπάσης. Μπορεί να αναστέλλει έμμεσα το BIRC4 ενεργοποιώντας την οδό της μιτοχονδριακής απόπτωσης. Μετά από μετατόπιση στα μιτοχόνδρια, προωθεί τη μετατόπιση του BAX στα μιτοχόνδρια και την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια. Φαίνεται να προάγει την ανακατανομή του BIRC4 από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα, πιθανόν ανεξάρτητα από την απενεργοποίηση BIRC4 που φαίνεται να εμφανίζεται στο κυτταρόπλασμα.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των δικτύων συνέκφρασης για κάθε χρονική στιγμή και για κάθε θεραπεία των έξι γονιδίων τα οποία παρουσιάζουν διαφορετική έκφραση στις παραπάνω συγκρίσεις και λαμβάνουν μέρος στο εν λόγω βιολογικό μονοπάτι.

8.1.4.1.1 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T0

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T0 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 52: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0

Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.035294118
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.056818182
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.01754386
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.05952381

<i>Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.</i>	0.091954023
<i>Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.</i>	0.035714286
<i>Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex</i>	0.009009009
<i>Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex</i>	0
<i>Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron</i>	0

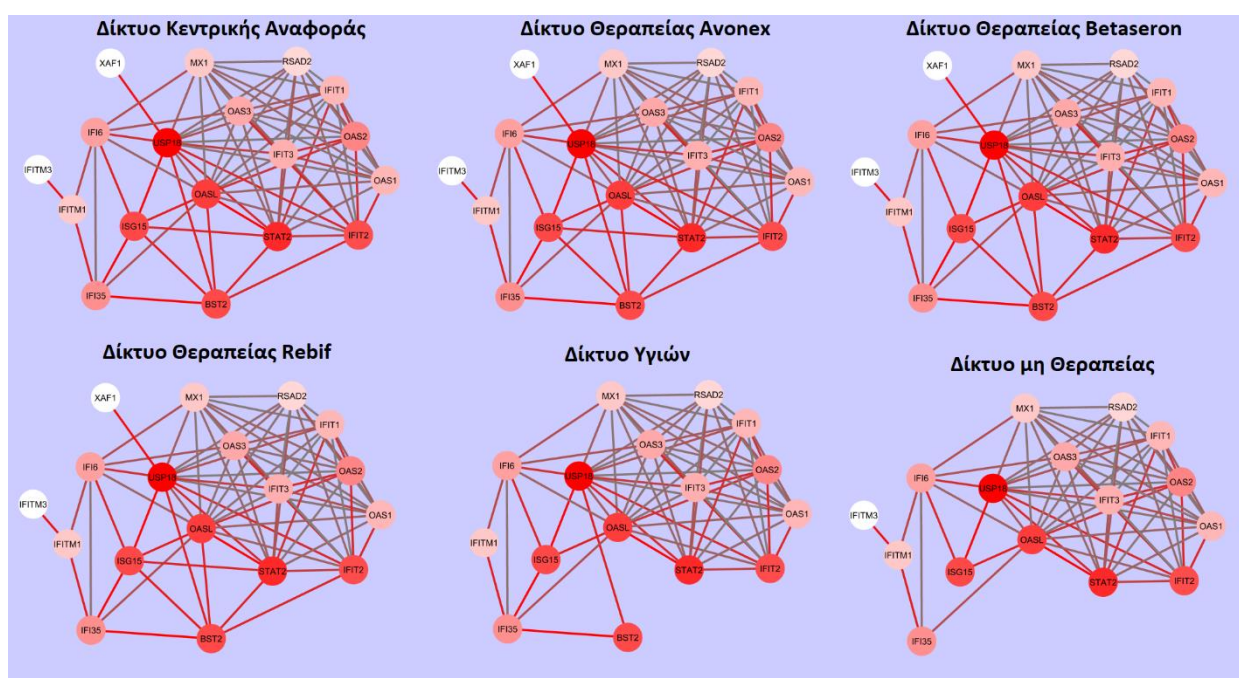
Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Avonex παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους υγιείς αλλά και σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία ανάμεσα στις τρεις θεραπείες.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T0. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T0.

Πίνακας 53: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T0

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
BST2_IFI35	0.506531	0.128626	0	0.708544	0.264281	0.524404
OASL_STAT2	0.444005	0.182021	0.257599	0.721487	0.162139	0.57253
IFI35_ISG15	0.432406	0.115805	0	0.592407	0.472704	0.744884
ISG15_USP18	0.428487	0.105577	0.213817	0.6798	0.288327	0.567171
USP18_XAF1	0.404714	0	0	0.542574	0.22191	0.31603
IFITM1_IFITM3	0.404478	0	0.159888	0.484746	0.229888	0.528693
BST2_ISG15	0.37022	0	0	0.662219	0.316383	0.431337
ISG15_OASL	0.359178	0.132762	0.243196	0.71544	0.561046	0.814772
BST2_USP18	0.344819	0.161361	0	0.609493	0.523797	0.534949
BST2_STAT2	0.344459	0	0	0.579154	0.311312	0.512709
IFI35_IFITM1	0.341368	0.108098	0.230603	0.424932	0.182648	0.513888
BST2_OASL	0.333037	0	0	0.634649	0.372908	0.530032
IFI6_ISG15	0.332086	0.185541	0.212363	0.459039	0.36992	0.749323
BST2_IFIT2	0.330974	0	0	0.357468	0.512626	0.327521
IFIT2_OAS2	0.322343	0.180244	0.242469	0.795818	0.695153	0.819177
ISG15_STAT2	0.3219	0	0	0.603919	0	0.394884
IFIT2_OAS1	0.318532	0.218678	0.220341	0.764665	0.76956	0.865498
IFIT2_OAS3	0.318514	0.237865	0.22713	0.728258	0.451059	0.843006
STAT2_USP18	0.313558	0.327802	0.198991	0.853744	0.34851	0.584597
IFIT2_USP18	0.31048	0.201655	0.217605	0.725929	0.812306	0.668898
IFIT3_OAS2	0.300122	0.243247	0.24417	0.755365	0.522636	0.877277
IFI6_USP18	0.288676	0.187897	0.209227	0.522769	0.25737	0.596955
OAS2_OASL	0.274237	0.217822	0.290636	0.624453	0.216695	0.592425
IFIT1_OAS2	0.267287	0.279614	0.357023	0.804414	0.384996	0.885214
IFIT1_STAT2	0.265079	0.217558	0.288403	0.61949	0.182885	0.418819
IFIT3_USP18	0.241674	0.256324	0.229776	0.620983	0.756613	0.711206
IFIT2_STAT2	0.23881	0.190516	0.236178	0.673558	0.445974	0.545744
IFI6_IFITM1	0.207749	0.143243	0.210592	0.421959	0.508583	0.407774
IFI6_MX1	0.191103	0.317415	0.385803	0.527334	0.115426	0.453131
IFI35_OASL	0.188889	0.214476	0.246163	0.537599	0.61706	0.554952
IFIT3_OAS1	0.188398	0.379547	0.300472	0.816014	0.748602	0.914319
IFIT3_OAS3	0.170647	0.397724	0.36158	0.76644	0.380192	0.809118
IFIT1_USP18	0.168013	0.276974	0.335024	0.724036	0.741424	0.67834
OAS2_RSAD2	0.165294	0.385321	0.438478	0.81966	0.40776	0.861829
IFI6_OAS3	0.156529	0.350356	0.379202	0.502838	0.147264	0.523431
RSAD2_STAT2	0.153515	0.237733	0.375704	0.62843	0.281199	0.42899
IFIT3_STAT2	0.152344	0.21074	0.272603	0.547868	0.339356	0.50633
IFIT1_OAS3	0.151095	0.423943	0.484174	0.778034	0.303296	0.778451
OASL_USP18	0.138079	0.39027	0.352743	0.832511	0.582334	0.778258
IFIT1_OAS1	0.130455	0.395393	0.427639	0.857709	0.609314	0.877389
MX1_USP18	0.129463	0.382895	0.37427	0.836411	0.773533	0.725356
IFIT2_MX1	0.127725	0.452189	0.342551	0.816941	0.705218	0.855731
IFIT2_OASL	0.115987	0.417759	0.298216	0.705478	0.416654	0.628344
IFI6_OASL	0.113522	0.344451	0.381431	0.555809	0.373575	0.719594
OAS1_OASL	0.109031	0.354219	0.329908	0.662654	0.533743	0.698867
MX1_OAS2	0.10127	0.447273	0.44158	0.869215	0.766613	0.855899
OAS3_RSAD2	0.099561	0.553636	0.67067	0.8006	0.319943	0.782121
OAS3_STAT2	0.097673	0.380794	0.346036	0.726223	0.510305	0.635149
OAS1_STAT2	0.092944	0.421576	0.340386	0.682285	0.35525	0.526539
MX1_STAT2	0.092747	0.39518	0.351037	0.740345	0.480403	0.559325
IFIT2_RSAD2	0.092657	0.442416	0.424357	0.831312	0.762595	0.775454
MX1_OAS1	0.092519	0.511177	0.433767	0.892596	0.714196	0.87754

RSAD2_USP18	0.086963	0.391589	0.393599	0.698852	0.714453	0.700303
OAS2_OAS3	0.079248	0.449509	0.518552	0.814151	0.572556	0.850649
OAS3_OASL	0.074981	0.409565	0.488377	0.78062	0.554788	0.753949
IFI35_IFI6	0.061195	0.37985	0.498881	0.633658	0.3723	0.611331
IFIT1_OASL	0.059869	0.418459	0.428825	0.691796	0.41028	0.562632
OASL_RSAD2	0.056448	0.489	0.445213	0.672255	0.352761	0.54817
OAS1_USP18	0.055312	0.532191	0.516732	0.758539	0.855579	0.838251
IFIT3_OASL	0.053129	0.475171	0.344003	0.621623	0.442599	0.596552
IFIT3_MX1	0.052511	0.573618	0.496638	0.824685	0.61482	0.83665
OAS1_RSAD2	0.051112	0.511392	0.619776	0.861938	0.748948	0.906522
MX1_RSAD2	0.050926	0.659491	0.67557	0.871552	0.4573	0.782329
OAS2_STAT2	0.050117	0.477059	0.415902	0.74182	0.552868	0.549416
MX1_OASL	0.048378	0.43757	0.503528	0.751588	0.527813	0.656686
OAS3_USP18	0.04815	0.509434	0.484722	0.784652	0.62328	0.762662
OAS1_OAS2	0.045114	0.589781	0.630772	0.896342	0.639476	0.907691
OAS1_OAS3	0.040052	0.633291	0.581356	0.860058	0.625566	0.884712
IFIT1_MX1	0.033327	0.701427	0.668851	0.869735	0.530738	0.804069
MX1_OAS3	0.031371	0.618658	0.621825	0.861377	0.830103	0.900208
IFIT3_RSAD2	0.026842	0.676621	0.630417	0.884126	0.804905	0.927275
IFIT1_IFIT2	0.026615	0.578391	0.635795	0.877415	0.722557	0.774103
OAS2_USP18	0.024838	0.57519	0.627655	0.791912	0.581062	0.775228
IFIT1_RSAD2	0.012789	0.773338	0.780656	0.907493	0.724797	0.940628
IFIT1_IFIT3	0.010188	0.81168	0.771868	0.936194	0.75478	0.922176
IFIT2_IFIT3	0.006764	0.751624	0.768704	0.865319	0.904147	0.876888



Σχήμα 68: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T0

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T0 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T0 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T0 (πάνω - δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T0 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.1$), ορισμένες ακμές παρουσιάζουν παρόμοια βάρη και στα 5 δίκτυα. Για παράδειγμα οι συσχετίσεις γονιδίων που ανήκουν στην ίδια οικογένεια όπως OAS(OAS1, OAS2, OAS3) και IFIT(IFIT1, IFIT2, IFIT3) δεν διαφοροποιούνται ανάμεσα στις διαφορετικές καταστάσεις. Επιπλέον οι ρυθμιστές STAT2 και USP18 δεν διαφοροποιούν

τα επίπεδα συνέκφρασής τους με την ομάδα OAS και το RSAD2 δεν διαφοροποιεί τα επίπεδα συνέκφρασής του με την IFIT ομάδα. Από την άλλη πλευρά, το BST2 είναι ένα γονίδιο που διαφοροποιεί αρκετά τη γειτονιά του ανάμεσα στις διαφορετικές καταστάσεις και όλες οι ακμές του στο δίκτυο αναφοράς παρουσιάζουν διασπορά μεγαλύτερη από 0.3. Ενώ στο δίκτυο θεραπείας παρουσιάζει 6 γείτονες, στο δίκτυο υγιών μόνο 2 ενώ στο δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία κανένα. Η ακμή XAF1-USP18 είναι μία από τις ακμές που παρουσιάζουν υψηλή διασπορά κι αυτό γιατί στα δίκτυα θεραπείας παρουσιάζουν συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο από 0.8 ενώ στις άλλες δύο καταστάσεις είναι ασυσχέτιστα. Σε γενικά πλαίσια, οι ακμές που συνδέουν τα γονίδια της ομάδας IFIT και της ομάδας OAS διαφοροποιούν τα βάρη τους ιδίως στις καταστάσεις θεραπείας Rebif και Avonex όπου τα γονίδια των δύο ομάδων συνεκφράζονται με πολύ υψηλό σκορ. Επιπλέον, η συσχέτιση των δύο διαμεμβρανικών πρωτεϊνών IFITM1 και IFITM3 εμφανίζεται σε όλες τις καταστάσεις πλην των υγιών. Τέλος, το IFI35 συσχετίζεται με ISG15 και BST2 στους υγιείς και στους ασθενείς με θεραπείας αλλά όχι και στους ασθενείς χωρίς θεραπεία.

8.1.4.1.2 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T1

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T1 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 54: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.05
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.015384615
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.063492063
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.295454545
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.113207547
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.215686275
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0.023255814

Στον παραπάνω πίνακα της χρονικής στιγμής T1 παρατηρούμε γενικά μεγαλύτερα σκορ μη κοινών ακμών από τον αντίστοιχο πίνακα στο παραπάνω κεφάλαιο της χρονικής στιγμής T0. Το δίκτυο θεραπείας Rebif παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία ανάμεσα στις τρεις θεραπείες. Το δίκτυο Betaseron και σε αυτή αλλά και στην προηγούμενη χρονική στιγμή παρουσιάζει τα μικρότερα σκορ μη κοινών ακμών.

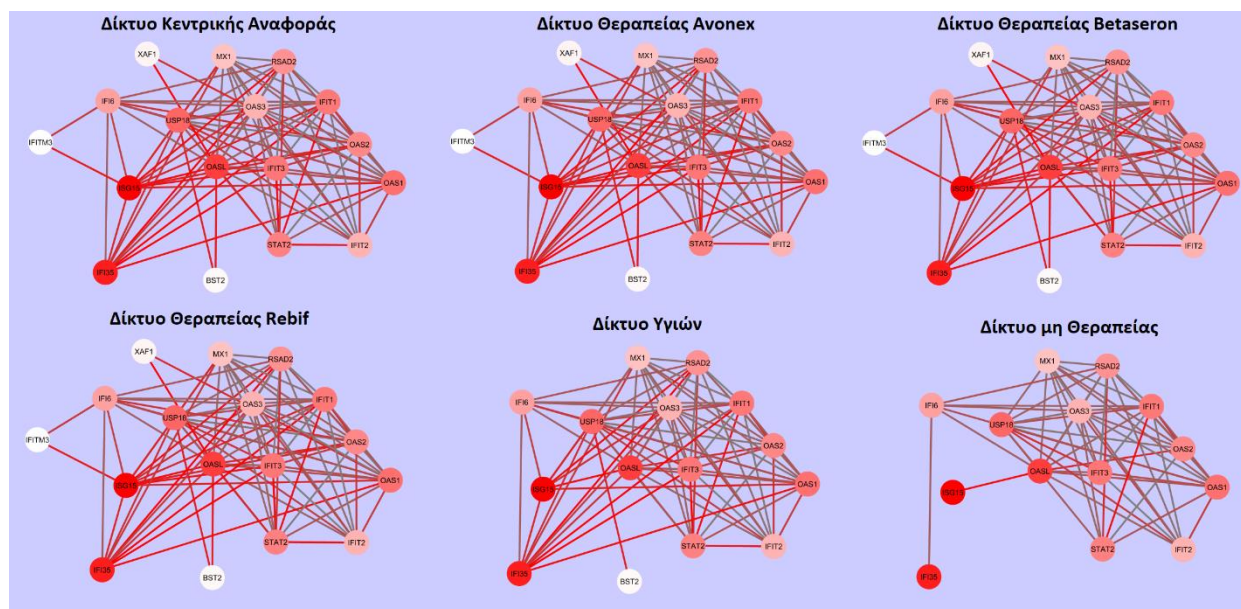
Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T1. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T1.

Πίνακας 55: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T1

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T1	Avonex T1	Betaseron T1	Rebif T1
IFI35_IFIT1	0.90114	0.108703	0	0.171028	0.104473	0.599929
IFI35_IFIT3	0.722898	0.118772	0	0.132361	0	0.551672
IFI35_RSAD2	0.722066	0.117172	0	0.149486	0	0.583342

OASL_XAF1	0.594802	0	0	0.100854	0.223905	0.522601
IFIT3_STAT2	0.558893	0.21074	0	0.277338	0.106842	0.579512
ISG15_OASL	0.553887	0.132762	0.10186	0.485529	0.830117	0.805836
ISG15_RSAD2	0.538829	0.114877	0	0.199921	0.401472	0.616837
IFI35_OAS1	0.530912	0.199942	0	0.273867	0.164167	0.620527
IFIT3_ISG15	0.530101	0	0	0.146917	0.307951	0.627949
IFIT1_STAT2	0.528363	0.217558	0.106347	0.25156	0	0.539068
IFIT2_STAT2	0.51481	0.190516	0	0.445547	0.127854	0.601053
IFITM3_ISG15	0.485648	0	0	0.208673	0.539871	0.202208
BST2_OASL	0.482046	0	0	0.51425	0.161682	0.242426
ISG15_USP18	0.480813	0.105577	0	0.407074	0.731867	0.744597
BST2_USP18	0.455898	0.161361	0	0.530898	0.172871	0.312557
ISG15_OAS2	0.447163	0	0	0.169436	0.544181	0.619602
ISG15_OAS1	0.440338	0.160421	0	0.294542	0.554146	0.688579
IFIT1_ISG15	0.431168	0	0	0.217744	0.427999	0.665062
ISG15_MX1	0.427649	0.131857	0	0.281222	0.523558	0.575443
OASL_STAT2	0.422834	0.182021	0	0.399618	0.17885	0.542174
OAS2_OASL	0.422612	0.217822	0.115957	0.405489	0.60366	0.798273
OAS1_XAF1	0.421687	0	0	0.172254	0.521355	0.371346
IFI35_ISG15	0.413548	0.115805	0	0.558932	0.457894	0.675861
IFIT3_USP18	0.394334	0.256324	0.188189	0.410038	0.475643	0.904888
ISG15_OAS3	0.393023	0.178574	0	0.365701	0.631734	0.681214
IFI35_USP18	0.381231	0.184665	0	0.326714	0.409439	0.643689
RSAD2_STAT2	0.369248	0.237733	0.14243	0.326	0.130365	0.537911
IFI6_OAS2	0.366333	0	0	0.228724	0.415086	0.500353
IFI6_USP18	0.366022	0.187897	0	0.309547	0.537547	0.596602
IFI35_OASL	0.365637	0.214476	0	0.519752	0.467834	0.783464
IFI35_MX1	0.351556	0.149667	0	0.318513	0.356938	0.517093
IFIT2_OAS2	0.349285	0.180244	0	0.674412	0.676483	0.634329
IFI6_IFITM3	0.34597	0	0	0.276215	0.51934	0.46218
IFIT1_OAS2	0.338333	0.279614	0.151825	0.578331	0.609719	0.89169
IFIT3_OAS2	0.338072	0.243247	0	0.574161	0.684071	0.832682
IFIT2_OAS1	0.334407	0.218678	0.11052	0.677657	0.51773	0.570018
IFI35_OAS3	0.33393	0.256398	0	0.344406	0.314981	0.621791
IFIT2_USP18	0.311383	0.201655	0.164585	0.59892	0.566104	0.722554
IFI6_ISG15	0.303573	0.185541	0	0.437746	0.481533	0.520338
IFIT2_OAS3	0.270586	0.237865	0.142377	0.537017	0.547982	0.651957
IFIT1_USP18	0.262076	0.276974	0.295413	0.56551	0.552936	0.94223
IFI6_OAS1	0.245159	0.287838	0.110006	0.431718	0.510954	0.59409
IFIT3_OAS1	0.236782	0.379547	0.173073	0.665923	0.651099	0.838967
OAS1_OASL	0.233551	0.354219	0.237068	0.569637	0.430919	0.851809
OAS1_STAT2	0.220643	0.421576	0.203871	0.413207	0.147285	0.530846
IFI6_RSAD2	0.219901	0.387485	0.136661	0.402573	0.275606	0.591678
OAS2_RSAD2	0.218415	0.385321	0.207526	0.667627	0.635095	0.86874
OASL_USP18	0.202582	0.39027	0.250873	0.612945	0.742952	0.894835
IFIT1_OAS1	0.200762	0.395393	0.248166	0.755832	0.708734	0.897312
STAT2_USP18	0.185454	0.327802	0.223176	0.557093	0.289627	0.617181
IFIT3_OASL	0.184889	0.475171	0.252202	0.471824	0.367407	0.797749
IFI6_OAS3	0.180415	0.350356	0.113382	0.376258	0.431862	0.523391
MX1_OAS2	0.174047	0.447273	0.287252	0.787569	0.860403	0.906098
IFI35_IFI6	0.173453	0.37985	0.228522	0.477422	0.431233	0.744846
IFI6_OASL	0.169887	0.344451	0.190722	0.384067	0.352288	0.624669
IFI6_IFIT1	0.160691	0.385654	0.179283	0.362108	0.326004	0.590941
OASL_RSAD2	0.159883	0.489	0.333583	0.467523	0.365589	0.834177
RSAD2_USP18	0.159062	0.391589	0.392678	0.545801	0.498815	0.924845
IFIT3_OAS3	0.155736	0.397724	0.267178	0.542214	0.530473	0.80724
MX1_OAS1	0.153551	0.511177	0.316152	0.836529	0.539883	0.90251
IFIT1_OAS3	0.152355	0.423943	0.288237	0.532471	0.498052	0.833572
IFIT2_MX1	0.15071	0.452189	0.199545	0.66586	0.672254	0.647511
OAS3_STAT2	0.150627	0.380794	0.341991	0.432731	0.224909	0.654019
OAS2_OAS3	0.146491	0.449509	0.291184	0.632412	0.733367	0.865099
MX1_USP18	0.146369	0.382895	0.355579	0.699485	0.798192	0.867865
IFIT1_OASL	0.144407	0.418459	0.352452	0.509207	0.420888	0.837813
OAS1_RSAD2	0.144041	0.511392	0.286193	0.798504	0.703114	0.893069
IFIT2_OASL	0.142865	0.417759	0.190332	0.586557	0.463752	0.631225
OAS3_OASL	0.141951	0.409565	0.347854	0.589	0.706329	0.894165
MX1_STAT2	0.127966	0.39518	0.227223	0.52595	0.357126	0.618905
MX1_OASL	0.103148	0.43757	0.350853	0.571076	0.696054	0.80062
IFIT3_MX1	0.098027	0.573618	0.323066	0.603177	0.576394	0.838182
OAS3_USP18	0.093842	0.509434	0.427823	0.544899	0.789728	0.876256
OAS1_USP18	0.087211	0.532191	0.395014	0.698345	0.729197	0.894583
OAS1_OAS2	0.08275	0.589781	0.382493	0.796034	0.704907	0.875632
MX1_RSAD2	0.081679	0.659491	0.478447	0.727605	0.455984	0.900247
IFIT2_RSAD2	0.07695	0.442416	0.390632	0.752125	0.69377	0.69014

OAS3_RSAD2	0.076006	0.553636	0.429896	0.615413	0.497544	0.854043
OAS1_OAS3	0.066333	0.633291	0.412531	0.757523	0.726193	0.884677
OAS2_USP18	0.060912	0.57519	0.484664	0.665251	0.806704	0.903227
IFIT1_MX1	0.055964	0.701427	0.496464	0.666878	0.500694	0.861023
MX1_OAS3	0.049511	0.618658	0.508968	0.7432	0.733687	0.930495
IFIT1_IFIT2	0.044836	0.578391	0.442536	0.7811	0.632624	0.738018
OAS2_STAT2	0.036686	0.477059	0.489468	0.603402	0.400943	0.648178
IFIT3_RSAD2	0.028518	0.676621	0.580892	0.833712	0.772015	0.90259
IFIT1_IFIT3	0.0196	0.81168	0.63524	0.840783	0.829622	0.951858
IFIT1_RSAD2	0.011522	0.773338	0.759362	0.876943	0.758474	0.956376
IFIT2_IFIT3	0.007776	0.751624	0.694024	0.826491	0.784232	0.875141



Σχήμα 69: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T1

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T1 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T1 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T1 (πάνω – δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T1 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($\text{varD} < 0.1$), ορισμένες ακμές παρουσιάζουν παρόμοια βάρη και στα 5 δίκτυα. Για παράδειγμα οι συσχετίσεις γονιδίων που ανήκουν στην ίδια οικογένεια όπως OAS(OAS1, OAS2, OAS3) και IFIT(IFIT1, IFIT2, IFIT3) δεν διαφοροποιούνται ανάμεσα στις διαφορετικές καταστάσεις. Επιπλέον τα MX1 και USP18 δεν διαφοροποιούν τα επίπεδα συνέκφρασής τους με την ομάδα OAS και τα RSAD2, MX1 και OASL δεν διαφοροποιούν τα επίπεδα συνέκφρασής τους με την IFIT ομάδα. Από την άλλη πλευρά, τα IFI35 και ISG15 είναι τα δύο γονίδια με τα μεγαλύτερα Dn-score σε αυτή τη χρονική. Το ISG15 συνδέεται με 12 ίδια γονίδια και στα τρία δίκτυα θεραπειών από τα οποία 8 εμφανίζονται ως γείτονές του και στο δίκτυο υγιών ενώ μόνο το OASL παραμένει γείτονας του και στο δίκτυο μη θεραπείας. Το IFI35 παρουσιάζει 10 ίδιους γείτονες στα δίκτυα θεραπειών Avonex και Rebif καθώς και στο δίκτυο υγιών, 8 από τους οποίους εμφανίζονται και στο δίκτυο Betaseron ενώ μόνο το IFI6 εμφανίζεται ως γείτονας του IFI35 και στο δίκτυο μη θεραπείας. Το XAF1 συνδέεται με USP18 και OAS3 και το IFITM3 με IFI6 και ISG15 μόνο στα δίκτυα θεραπειών, το BST2 συνδέεται με USP18 σε όλα τα δίκτυα θεραπειών και στο

δίκτυο υγιών και με OASL μόνο στα δίκτυα θεραπείας ενώ στο δίκτυο μη θεραπείας είναι αποκλεισμένος κόμβος. Επιπλέον, οι ακμές IFI35-IFIT3, IFI35-RSAD2, IFIT1-STAT2 εμφανίζονται στα δίκτυα θεραπείας Avonex και Rebif και στο δίκτυο Υγιών αλλά όχι στο δίκτυο θεραπείας Betaseron. Τέλος, τα IFI35, STAT2, USP18, OAS2 παρουσιάζουν μεγάλη διασπορά στις ακμές που τα συνδέουν με την οικογένεια IFIT και το ISG15 παρουσιάζει μεγάλη διασπορά στις ακμές που το συνδέουν με την οικογένεια OAS.

8.1.4.1.3 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T2

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T2 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 56: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-909733 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2

Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.065934066
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.140625
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.102941176
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.240963855
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.25
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.024793388
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0.037735849

Στον παραπάνω πίνακα της χρονικής στιγμής T2 παρατηρούμε ότι τα δίκτυο θεραπείας Betaseron και Avonex παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με του υγιείς ενώ το δίκτυο Avonex παρουσιάζει και το μικρότερο σκορ μη κοινών ακμών σε σχέση με τους υγιείς ανάμεσα στις τρεις θεραπείες τη χρονική στιγμή T2.

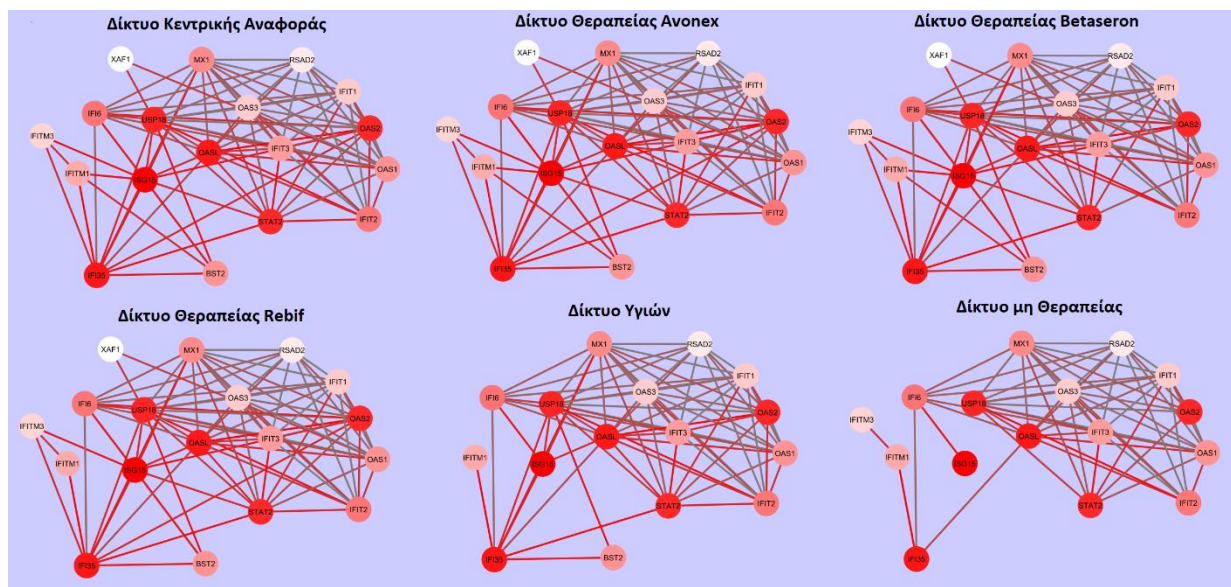
Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T2. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T1.

Πίνακας 57: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T2

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T2	Avonex T2	Betaseron T2	Rebif T2
OAS2_OASL	0.623445	0.217822	0	0.78886	0.103254	0.630824
IFI35_IFITM1	0.591101	0.108098	0.130804	0.249582	0.704767	0.400114
IFI35_STAT2	0.533161	0.103492	0	0.53989	0.352766	0.175288
IFIT2_USP18	0.527438	0.201655	0.15567	0.732077	0.199654	0.678055
IFITM1_ISG15	0.517865	0	0	0.127507	0.62275	0
IFIT3_STAT2	0.516885	0.21074	0.103215	0.439849	0.128726	0.589403
ISG15_OAS2	0.51323	0	0	0.519813	0.118771	0.28665
IFI6_ISG15	0.509656	0.185541	0.125672	0.456315	0.855427	0.394224
BST2_USP18	0.500886	0.161361	0	0.589472	0.208409	0.264033
IFITM3_ISG15	0.498249	0	0	0.1968	0.62631	0.270828
BST2_IFI35	0.479076	0.128626	0	0.588107	0.76299	0.342672
IFI35_MX1	0.475456	0.149667	0	0.531287	0.243395	0.202576
IFI35_ISG15	0.462851	0.115805	0	0.616749	0.871475	0.517758
BST2_ISG15	0.454676	0	0	0.509373	0.724299	0.196863
BST2_IFI6	0.448668	0	0	0.434609	0.625326	0.177235
IFIT2_STAT2	0.444343	0.190516	0	0.565306	0	0.685338
ISG15_USP18	0.429322	0.105577	0	0.692775	0.475721	0.629227
IFI35_USP18	0.428508	0.184665	0	0.707542	0.294869	0.460798
IFI6_OAS2	0.425182	0	0	0.504636	0.222479	0.232584
IFI35_OAS2	0.424733	0	0	0.501287	0	0.167334
OASL_STAT2	0.420045	0.182021	0	0.604635	0.225493	0.43672
OAS1_OASL	0.41494	0.354219	0.221519	0.744104	0.146774	0.739084
BST2_IFITM1	0.413717	0	0	0.214837	0.606562	0
IFIT2_OAS2	0.412139	0.180244	0	0.776335	0.504745	0.870502
IFI35_IFITM3	0.405914	0	0	0.245304	0.587607	0.329596
IFITM1_IFITM3	0.403269	0	0.188809	0.518241	0.686228	0.306352
ISG15_STAT2	0.402203	0	0	0.515938	0.440568	0.186992
ISG15_OASL	0.398298	0.132762	0	0.689983	0.719905	0.751347
IFIT2_OASL	0.373313	0.417759	0.198653	0.768126	0.150673	0.556
IFIT1_STAT2	0.367072	0.217558	0.138479	0.365983	0.13225	0.52092
ISG15_MX1	0.365576	0.131857	0	0.503825	0.353909	0.313192

Συγκριτική ανάλυση δικτύων γονιδιακής έκφρασης ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας

IFIT2_OAS1	0.361538	0.218678	0.137739	0.714079	0.379514	0.618392
USP18_XAF1	0.356104	0	0	0.338551	0.612509	0.377099
IFIT3_OAS2	0.34891	0.243247	0	0.767357	0.682617	0.923176
IFI6_USP18	0.344305	0.187897	0	0.621124	0.590519	0.415559
IFIT3_OASL	0.340101	0.475171	0.167323	0.710662	0.178981	0.63955
STAT2_USP18	0.326987	0.327802	0.208709	0.681049	0.192417	0.63536
IFIT2_OAS3	0.311982	0.237865	0.214543	0.6693	0.353701	0.748774
OAS1_XAF1	0.308226	0	0	0.463398	0.534481	0.414393
IFIT1_OAS2	0.295722	0.279614	0.194259	0.753408	0.683753	0.882866
IFIT3_USP18	0.28478	0.256324	0.180547	0.6596	0.385721	0.691354
OASL_USP18	0.280663	0.39027	0.275046	0.850088	0.376915	0.915471
OAS3_OASL	0.278529	0.409565	0.134678	0.742501	0.369063	0.673155
MX1_STAT2	0.271803	0.39518	0.196318	0.571911	0.17749	0.614846
IFI35_OASL	0.262722	0.214476	0.180773	0.618763	0.649495	0.512727
OASL_RSAD2	0.24446	0.489	0.184005	0.769715	0.303628	0.580581
OAS2_STAT2	0.238246	0.477059	0.456541	0.651323	0	0.72134
IFIT3_OAS1	0.227344	0.379547	0.196394	0.816481	0.704976	0.791464
MX1_OAS2	0.214554	0.447273	0.287508	0.863634	0.440712	0.878927
OAS1_STAT2	0.212687	0.421576	0.288961	0.512583	0.114247	0.519655
IFI6_OAS1	0.211738	0.287838	0.177505	0.609248	0.309868	0.490894
IFIT3_OAS3	0.211375	0.397724	0.259352	0.748096	0.475338	0.872149
OAS2_RSAD2	0.199282	0.385321	0.227461	0.821084	0.759501	0.700211
IFIT2_MX1	0.197068	0.452189	0.218126	0.832698	0.596418	0.819309
IFI6_OASL	0.1959	0.344451	0.157257	0.502312	0.665678	0.520811
IFI6_MX1	0.193231	0.317415	0.182713	0.613379	0.479976	0.310688
OAS3_STAT2	0.189627	0.380794	0.340517	0.498036	0.143395	0.592395
IFIT1_OASL	0.173467	0.418459	0.296867	0.709821	0.325122	0.715579
MX1_OASL	0.168353	0.43757	0.236887	0.808725	0.508419	0.658948
IFI6_RSAD2	0.164052	0.387485	0.179499	0.615103	0.412991	0.338401
IFIT3_MX1	0.154941	0.573618	0.282674	0.822265	0.519634	0.88124
IFIT1_USP18	0.151404	0.276974	0.348588	0.715405	0.616308	0.715463
MX1_OAS1	0.149895	0.51177	0.425876	0.863336	0.379236	0.854954
IFIT1_OAS1	0.13516	0.395393	0.380884	0.853246	0.707351	0.845003
IFI35_IFI6	0.135027	0.37985	0.253546	0.590663	0.719501	0.572046
IFI6_IFIT1	0.134672	0.385654	0.21927	0.626171	0.44166	0.34996
OAS2_OAS3	0.126437	0.449509	0.347272	0.775923	0.56164	0.846824
MX1_USP18	0.123266	0.382895	0.455194	0.838752	0.470341	0.763646
IFIT1_OAS3	0.097985	0.423943	0.381958	0.674692	0.524984	0.803105
RSAD2_USP18	0.097526	0.391589	0.34769	0.752913	0.626288	0.564671
OAS1_OAS3	0.095547	0.633291	0.34995	0.805569	0.586599	0.852017
OAS1_RSAD2	0.094629	0.511392	0.380486	0.867063	0.711695	0.781921
OAS2_USP18	0.064934	0.57519	0.447868	0.869167	0.57468	0.731584
IFIT2_RSAD2	0.059486	0.442416	0.465871	0.796676	0.585887	0.625295
OAS1_OAS2	0.05399	0.589781	0.503062	0.883042	0.836805	0.819721
OAS3_USP18	0.046614	0.509434	0.395709	0.633139	0.632933	0.712282
MX1_RSAD2	0.042195	0.659491	0.503499	0.897097	0.707463	0.778487
IFIT1_IFIT2	0.042174	0.578391	0.506946	0.78607	0.541966	0.765879
MX1_OAS3	0.040747	0.618658	0.499637	0.771173	0.59631	0.826478
IFIT1_MX1	0.034567	0.701427	0.570521	0.864842	0.609901	0.844754
OAS3_RSAD2	0.034503	0.553636	0.492804	0.763507	0.684518	0.750278
OAS1_USP18	0.031841	0.532191	0.547994	0.79502	0.714647	0.741467
IFIT3_RSAD2	0.022319	0.676621	0.597202	0.883185	0.748923	0.80487
IFIT1_IFIT3	0.021139	0.81168	0.615126	0.883325	0.74043	0.891796
IFIT2_IFIT3	0.010839	0.751624	0.741234	0.883529	0.756803	0.920093
IFIT1_RSAD2	0.00811	0.773338	0.739191	0.927206	0.858766	0.855797



Σχήμα 70: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-909733 για τη χρονική στιγμή T2

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T2 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T2 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T2 (πάνω – δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T2 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.1$), ορισμένες ακμές παρουσιάζουν παρόμοια βάρη και στα 5 δίκτυα. Για παράδειγμα οι συσχετίσεις γονιδίων που ανήκουν στην ίδια οικογένεια όπως OAS(OAS1, OAS2, OAS3) και IFIT(IFIT1, IFIT2, IFIT3) δεν διαφοροποιούνται ανάμεσα στις διαφορετικές καταστάσεις.

Επιπλέον τα RSAD2 και USP18 δεν διαφοροποιούν τα επίπεδα συνέκφρασής τους με την ομάδα OAS και τα RSAD2, MX1 δεν διαφοροποιούν τα επίπεδα συνέκφρασής τους με την IFIT ομάδα. Από την άλλη πλευρά, τα IFI35, ISG15, STAT2, USP18 και OAS2 είναι τα γονίδια με τα μεγαλύτερα Dn-score σε αυτή τη χρονική και φαίνονται με έντονο κόκκινο χρώμα στα παραπάνω δίκτυα. Το ISG15 συνδέεται με 10 ίδια γονίδια και στο δίκτυο Avonex και στο δίκτυο Betaseron από τα οποία 9 εμφανίζονται ως γείτονές του και στο δίκτυο Rebif, και 5 από αυτά είναι γείτονες του ISG15 και στο δίκτυο των υγιών ενώ μόνο το IFI6 παραμένει γείτονας του και στο δίκτυο μη θεραπείας. Το IFI35 παρουσιάζει 10 ίδιους γείτονες στα δίκτυα θεραπειών Avonex και Rebif, 9 από τους οποίους εμφανίζονται και στο δίκτυο Betaseron, 8 από αυτούς και στο δίκτυο υγιών ενώ μόνο τα IFI6, OASL, IFITM1 εμφανίζονται ως γείτονες του IFI35 και στο δίκτυο μη θεραπείας. Το XAF1 συνδέεται με USP18 και OAS1 μόνο στα δίκτυα θεραπειών, το IFITM1 με το IFITM3 μόνο στα δίκτυα ασθενών με ή χωρίς θεραπεία, το BST2 είναι πλήρως αποκλεισμένο στο δίκτυο μη θεραπείας ενώ συνδέεται με USP18 και IFI35 σε όλα τα υπόλοιπα δίκτυα, επιπλέον με ISG15 σε όλα τα δίκτυα θεραπειών και με IFITM1 μόνο στα δίκτυα θεραπειών Avonex και Betaseron.

Επιπλέον, οι ακμές OAS2-STAT2, IFIT2-STAT2 εμφανίζονται στα δίκτυα θεραπείας Avonex και Rebif και στο δίκτυο Υγιών αλλά όχι στο δίκτυο θεραπείας Betaseron και η ακμή IFI35-OAS2 απουσιάζει από όλα τα δίκτυα πλην των Avonex και Rebif. Επιπλέον, οι ακμές IFITM1-ISG15 και BST2-IFITM1 εμφανίζονται στις θεραπείες Avonex και Betaseron αλλά όχι στην Rebif και στους υγιείς. Τέλος, τα STAT2, OAS2 παρουσιάζουν μεγάλη διασπορά στις ακμές που τα συνδέουν με την οικογένεια IFIT και το IFIT2, IFIT3, OASL παρουσιάζουν μεγάλη διασπορά στις ακμές που το συνδέουν με την οικογένεια OAS.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα Dn-score για όλες τις παραπάνω κατηγορίες.

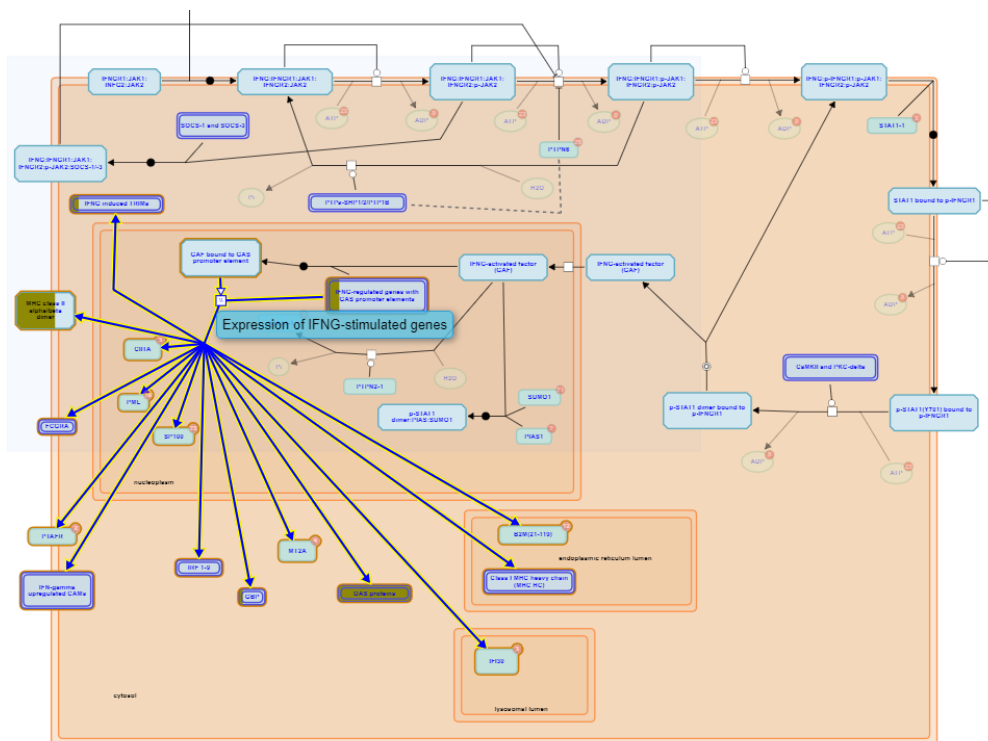
	T0	T1	T2	Χ.Θ.	Avonex	Betaseron	Rebif
BST2	2.230042	0.937944	2.297023	0	1.398596	2.612262	1.36607
IFI35	1.530389	4.896371	4.198547	0	2.115336	2.130196	5.35969
IFI6	1.35086	2.531405	2.762431	0.067444	0.988411	2.10566	1.255759
IFIT1	1.124716	3.250879	1.461473	0.02607	0.882996	0.436579	2.035381
IFIT2	2.209401	2.203607	2.74032	0.135188	1.185747	1.38379	1.205036
IFIT3	1.202618	3.275626	2.138635	0	0.777047	0.473319	2.079634
IFITM1	0.953595	0	1.925951	0	0.279972	2.218661	0.62283
IFITM3	0.404478	0.831618	1.307432	0	0.279972	1.511552	0.311933
ISG15	2.244277	5.445743	4.551928	0	2.28908	4.735872	3.667159
MX1	0.951339	1.920177	2.431653	0.306184	1.054439	0.837857	1.160343
OAS1	1.123468	3.398127	2.297536	0.279777	0.776815	1.688823	1.534871
OAS2	1.629868	2.9811	3.940804	0.131551	2.377695	2.304999	1.898954
OAS3	1.267822	2.210805	1.433348	0.202372	0.663162	1.203139	1.510106
OASL	2.36877	4.324643	4.174237	0.091009	1.787097	1.621061	2.301024
RSAD2	0.796106	2.80612	0.966562	0.179157	0.633698	0.401489	2.104877
STAT2	2.567154	3.115523	3.92306	0	2.459057	0.536041	1.238791
USP18	2.983226	3.587191	3.994577	0.0565	2.469013	2.753511	2.033756
XAF1	0.404714	1.01649	0.66433	0	0.429202	0.799913	0.343224

Γονίδια όπως τα ISG15, IFI35 παρουσιάζουν υψηλό Dn-score στις περισσότερες συγκρίσεις. Σε γενικά πλαίσια, οι μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο γειτονιάς των δικτύων παρουσιάζονται στις συγκρίσεις με βάση τις δύο τελευταίες χρονικές στιγμές και με βάση τις θεραπείες Betaseron και Rebif.

Συνεπώς, τις δύο τελευταίες χρονικές στιγμές το δίκτυο θεραπείας που φαίνεται να παρουσιάζει τις μικρότερες διαφορές σε σχέση με το δίκτυο των υγιών είναι αυτό της Avonex.

8.1.4.2 Μεταγωγή Σήματος Ιντερφερόνης γ (Interferon gamma signaling,R-HSA-877300)

Η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) ανήκει στην οικογένεια Ιντερφερόνης τύπου II και εκκρίνεται από ενεργοποιημένα κύτταρα ανοσίας - κυρίως κύτταρα T και Φυσικού Φονέα, αλλά επίσης και από B-κύτταρα και αντιγονοπαρουσιαστικά. Το IFNG ασκεί την επιρροή του στα κύτταρα αλληλεπιδρώντας με τον συγκεκριμένο υποδοχέα (IFNGR). Ο IFNGR αποτελείται από δύο αλυσίδες, συγκεκριμένα την IFNGR1 (επίσης γνωστή ως IFNGR άλφα αλυσίδα) και την IFNGR2 (επίσης γνωστή ως IFNGR βήτα αλυσίδα). Η IFNGR1 είναι ο υποδοχέας πρόσδεσης προσδέτη και απαιτείται για την μεταγωγή σήματος, ενώ η IFNGR2 δεν δεσμεύει την IFNG αλλά κυρίως παίζει ένα ρόλο στη σηματοδότηση της IFNG και είναι γενικά ο περιοριστικός παράγοντας στην ανταπόκριση της IFNG. Καμία από τις δύο αλυσίδες IFNGR δεν έχουν ενδογενή δραστηριότητα κινάσης / φωσφατάσης και συνεπώς βασίζονται σε άλλες πρωτεΐνες σηματοδότησης όπως STAT1 και JAK1, JAK2 για τη μεταγωγή σήματος. Το σύμπλοκο IFNGR στην κατάσταση ηρεμίας του είναι ένα προσχηματισμένο τετραμερές και μετά την ένωση με IFNG υφίσταται μεταβολή διαμόρφωσης. Αυτή η μετασχηματιστική αλλαγή επάγει τη φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση των JAK1, JAK2 και STAT1 η οποία με τη σειρά της επάγει γονίδια που περιέχουν την αλληλουχία ενεργοποίησης της IFNG (GAS) στον υποκινητή.



Εικόνα 15: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-877300 της Reactome

Τα διαφορεικά εκφραζόμενα γονίδια τα οποία λαμβάνουν μέρος σε αυτό το μονοπάτι είναι τα: GBP4, HLA-DRB1, HLA-DRB5, TRIM22, TRIM5, OAS1, OAS2, OAS3, OASL. Όλα τα γονίδια έχουν αναφερθεί ότι επάγουν την έκφρασή τους ως αποτέλεσμα της μεταγωγής σήματος IFNG.

Το GBP4 ανήκει στην οικογένεια πρωτεϊνών GBP, πρωτεΐνες που επάγονται από IFNG και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανοσία ενάντια στα μικροβιακά και ιικά παθογόνα. Το

GBP4 δεσμεύει GTP, GDP GMP και υδρολύει αποτελεσματικά GTP [20]. Τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5 όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω ανήκουν στην βήτα αλυσίδα των ανθρώπινων αντιγόνων λευκοκυττάρων τάξης II (HLA class II). Παίζουν σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα παρουσιάζοντας πεπτιδία που προέρχονται από εξωκυτταρικές πρωτεΐνες σε βοηθητικά κύτταρα T. Εκφράζονται συστηματικά σε κύτταρα που παρουσιάζουν αντιγόνο (APC: B λεμφοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα). Το γονίδιο HLA-DRB1 αναφέρεται ως ο ισχυρότερος παράγοντας γενετικής ευαισθησίας που έχει εντοπιστεί σε Πολλαπλή Σκλήρυνση. Το DRB1 εκφράζεται πέντε φορές περισσότερο από τα παράλογά του DRB3, DRB4 και DRB5. Η παρουσία του DRB5 συνδέεται με αλληλόμορφες μεταλλάξεις του DRB1, διαφορετικά παραλείπεται [20].

Οι πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια TRIM (οικογένεια τριμερούς μοτίβου, TRIfartile Motlf family) επάγονται από Ιντερφερόνη γάμμα και εμπλέκονται στην αναγνώριση παθογόνων και στην ρύθμιση μεταγραφικών οδών στην άμυνα του ξενιστή. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το TRIM5 λειτουργεί και ως λιγάση ουβικουιπίνης E3 και για να ρυθμίσει τον υποκυτταρικό εντοπισμό της ίδιας. Μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στον περιορισμό των ρετροϊών. Το TRIM22, παράλογο του TRIM5, εμπλέκεται στην κυτταρική έμφυτη ανοσία. Παίζει ρόλο στον περιορισμό της αντιγραφής του ιού HIV-1, του ιού της εγκεφαλομυοκαρδίτιδας (EMCV) και του ιού της ηπατίτιδας B (HBV). Λειτουργεί ως μεταγραφικός καταστολέας του προωθητή του HBV.

Οι πρωτεΐνες ολιγοαδενυλικής συνθετάσης (OAS) που έχουν ταυτοποιηθεί ως ένζυμα που ανιχνεύουν εξωγενές νουκλεϊκό οξύ και εκκινούν αντι-ιικές οδούς επάγουν την έκφρασή τους και με IFNA/B και με IFNG.

8.1.4.2.1 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T0

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T0 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 58: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0

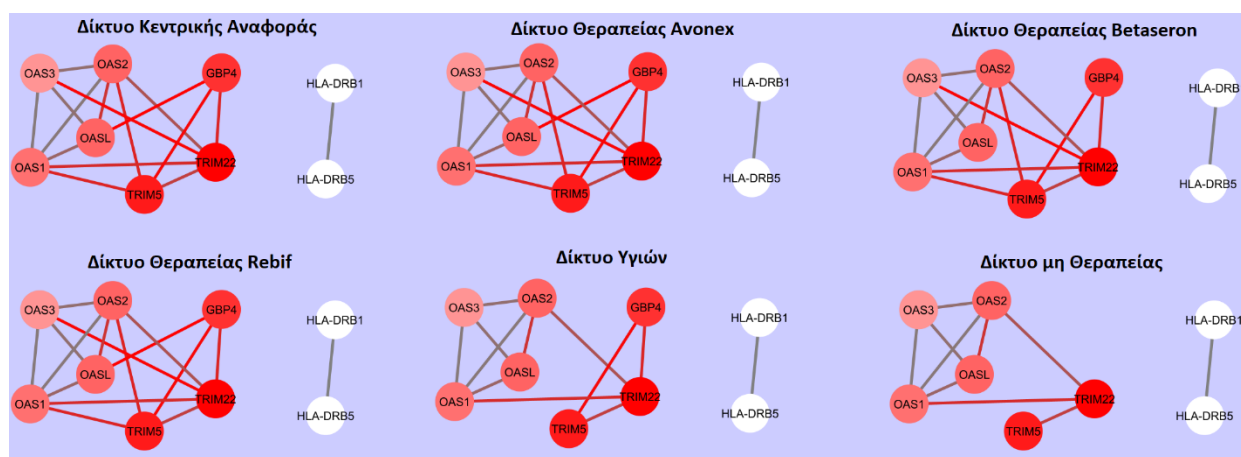
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.133333333
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.117647059
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.125
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.222222222
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.045454545
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Avonex παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία. Το δίκτυο θεραπείας Betaseron δεν παρουσιάζει καμία σημαντική διαφορά με το δίκτυο υγιών αλλά και με το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T0. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T0.

Πίνακας 59: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T0

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
GBP4_OASL	0.443392	0	0	0.503575	0	0.152326
OAS3_TRIM22	0.428863	0	0	0.536368	0.166861	0.499506
GBP4_TRIM5	0.421185	0.200425	0	0.634743	0.227616	0.420594
OAS2_TRIM5	0.330061	0	0	0.393019	0.370647	0.569575
OAS1_TRIM5	0.328135	0	0	0.318818	0.405691	0.514327
GBP4_TRIM22	0.31979	0.21235	0	0.534958	0.300882	0.321252
OAS1_TRIM22	0.304444	0.178892	0.191974	0.685955	0.443939	0.607092
OAS2_OASL	0.274237	0.217822	0.290636	0.624453	0.216695	0.592425
TRIM22_TRIM5	0.235212	0.251388	0.220814	0.54746	0.744582	0.623549
OAS2_TRIM22	0.170513	0.38467	0.242212	0.745361	0.505728	0.710741
OAS1_OASL	0.109031	0.354219	0.329908	0.662654	0.533743	0.698867
OAS2_OAS3	0.079248	0.449509	0.518552	0.814151	0.572556	0.850649
OAS3_OASL	0.074981	0.409565	0.488377	0.78062	0.554788	0.753949
OAS1_OAS2	0.045114	0.589781	0.630772	0.896342	0.639476	0.907691
OAS1_OAS3	0.040052	0.633291	0.581356	0.860058	0.625566	0.884712
HLA-DRB1_HLA-DRB5	0.019725	0.533413	0.769961	0.711262	0.690202	0.605646



Σχήμα 71: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T0

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T0 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T0 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T0 (πάνω - δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T0 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζού χρώματος) αλλά και στον πίνακα (varD<0.1), οι ακμές που ενώνουν τα γονίδια της ομάδας OAS (OAS1, OAS2, OAS3, OASL) δεν παρουσιάζουν διαφορές στα βάρη τους σε διαφορετικές συνθήκες πλην της ακμής OAS2-OASL που παρουσιάζει μια μέση διακύμανση της τάξης του 0,2. Επιπλέον, το βάρος της ακμής HLA-DRB1_HLA-DRB2 παραμένει σταθερό σε σχέση με τις διαφορετικές καταστάσεις του ασθενούς. Το δίκτυο κεντρικής αναφοράς είναι όμοιο με εκείνο της θεραπείας Avonex και Rebif σε επίπεδο παρουσίας ή μη ακμών. Το δίκτυο Betaseron είναι σχεδόν όμοιο με τα παραπάνω λόγω της απουσίας της ακμής GBP4-OASL, η οποία όμως απουσιάζει και από το δίκτυο των υγιών. Το GBP4 ενώνεται επίσης με τα γονίδια της TRIM οικογένειας σε όλες τις καταστάσεις πλην των ασθενών χωρίς θεραπεία. Το TRIM5 συνδέεται με μέλη της OAS οικογένειας μόνο σε δίκτυα θεραπείας και το TRIM22 συσχετίζεται με OAS1 και OAS2 παντού αλλά με OAS3 μόνο στα δίκτυα θεραπείας.

8.1.4.2.2 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T1

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T1 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 60: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

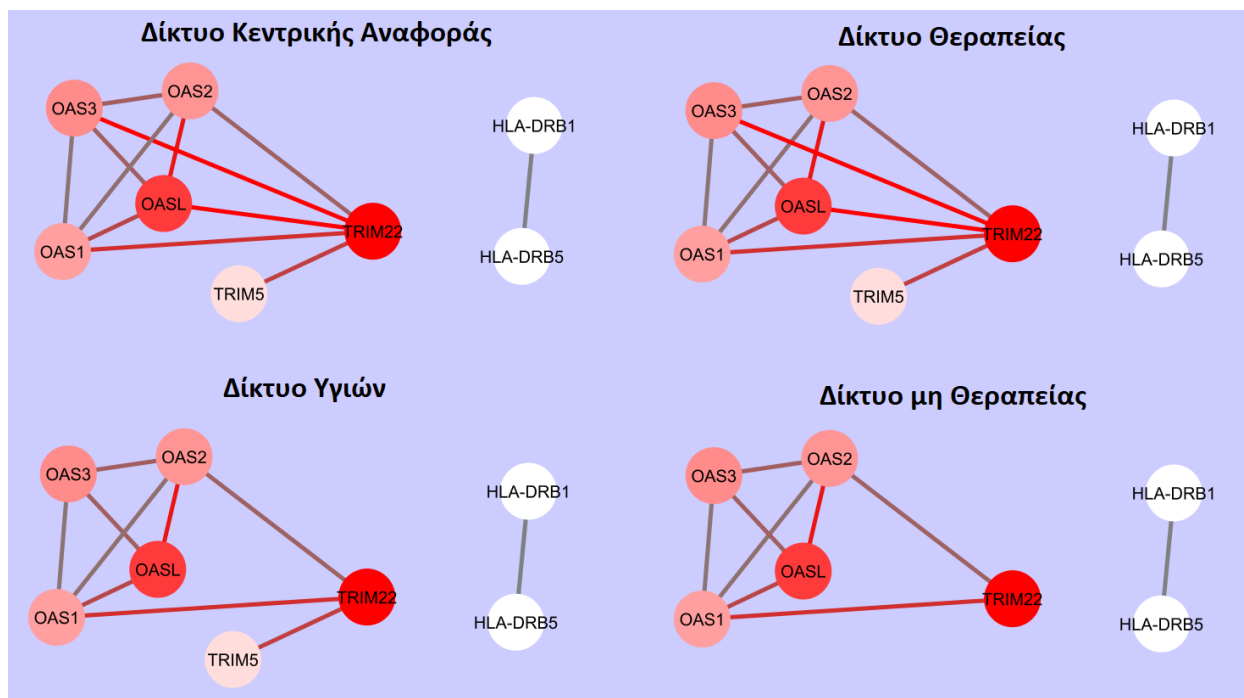
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.142857143
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.166666667
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.125
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Rebif παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία και με τους υγιείς συγκριτικά με τις υπόλοιπες θεραπείες. Επιπλέον, παρατηρούνται διαφορές στην σύγκριση του δικτύου ασθενών με θεραπεία Rebif και ασθενών χωρίς θεραπεία. Δεν παρατηρείται καμία σημαντική διαφορά σε επίπεδο ακμών για τις υπόλοιπες 7 συγκρίσεις.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T1. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T1.

Πίνακας 61: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T1

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T1	Avonex T1	Betaseron T1	Rebif T1
OASL_TRIM22	0.635565	0	0	0.170601	0.159696	0.609602
OAS3_TRIM22	0.493167	0	0	0.165495	0.319836	0.613731
OAS2_OASL	0.422612	0.217822	0.115957	0.405489	0.60366	0.798273
OAS1_TRIM22	0.323848	0.178892	0.166479	0.312894	0.55379	0.608658
TRIM22_TRIM5	0.261817	0.251388	0	0.509942	0.467609	0.371231
OAS1_OASL	0.233551	0.354219	0.237068	0.569637	0.430919	0.851809
OAS2_OAS3	0.146491	0.449509	0.291184	0.632412	0.733367	0.865099
OAS3_OASL	0.141951	0.409565	0.347854	0.589	0.706329	0.894165
OAS2_TRIM22	0.132042	0.38467	0.279932	0.475916	0.454377	0.736937
OAS1_OAS2	0.08275	0.589781	0.382493	0.796034	0.704907	0.875632
OAS1_OAS3	0.066333	0.633291	0.412531	0.757523	0.726193	0.884677
HLA-DRB1_HLA-DRB5	0.020784	0.533413	0.736892	0.73362	0.73808	0.597264



Σχήμα 72: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T1

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T1 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με οποιαδήποτε από τις τρεις θεραπείες για τη χρονική T1 (πάνω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - αριστερά) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρήθηκε και κατά την προηγούμενη χρονική στιγμή, η ακμή HLA-DRB1_HLA-DRB5 δεν διαφοροποιείται στις διαφορετικές καταστάσεις. Επιπλέον, οι ακμές που συνδέουν τα γονίδια της οικογένειας OAS δεν διαφοροποιούνται σημαντικά πλην της ακμής OAS2-OASL που παρουσιάζει διακύμανση της τάξης του 0,4. Το TRIM22 συνδέεται με όλα τα γονίδια της οικογένειας OAS στα δίκτυα θεραπείας ενώ στα δίκτυα μη θεραπείας και υγιών μόνο με το OAS1 και OAS2. Τέλος, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφέρουμε ότι το TRIM22 συνεκφράζεται με το παράλογό του TRIM5 σε όλα τα δίκτυα θεραπείας και στο δίκτυο των υγιών ενώ στο δίκτυο των ασθενών είναι αποκλεισμένος κόμβος.

8.1.4.2.3 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T2

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T2 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 62: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-877300 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2

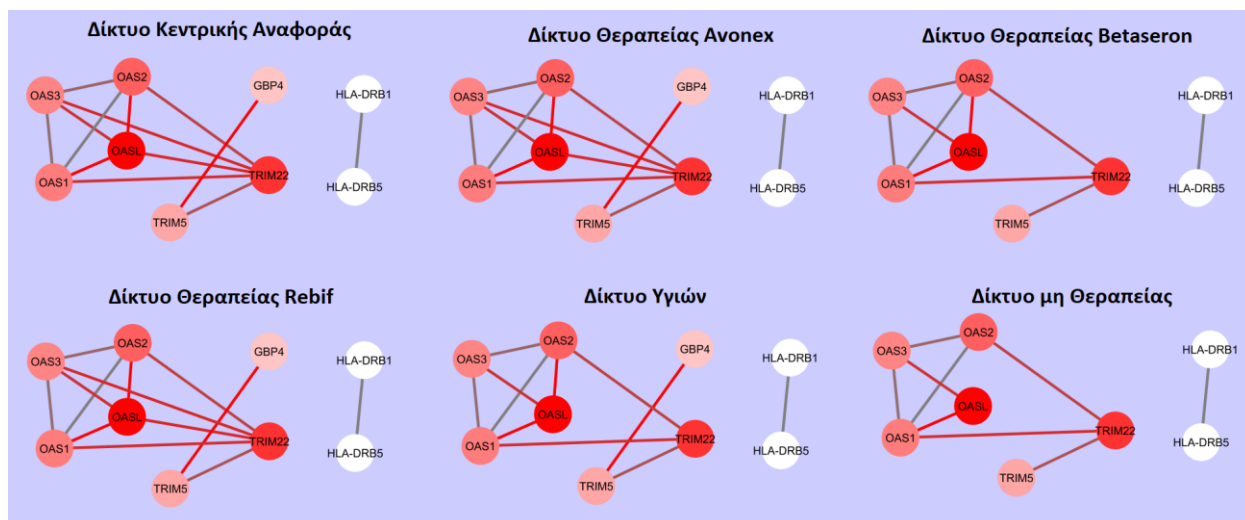
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.071428571
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.066666667
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.230769231
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.214285714
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.045454545
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Rebif παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία. Το δίκτυο θεραπείας Betaseron δεν παρουσιάζει καμία σημαντική διαφορά με το δίκτυο υγιών αλλά και με το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T2. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T2.

Πίνακας 63: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T2

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
OAS2_OASL	0.623445	0.217822	0	0.78886	0.103254	0.630824
OAS1_OASL	0.41494	0.354219	0.221519	0.744104	0.146774	0.739084
GBP4_TRIM5	0.409914	0.200425	0	0.553215	0	0.557364
OASL_TRIM22	0.307477	0	0	0.5148	0	0.402614
OAS3_TRIM22	0.304117	0	0	0.416909	0	0.50012
OAS1_TRIM22	0.291214	0.178892	0.225726	0.627008	0.269221	0.509608
OAS3_OASL	0.278529	0.409565	0.134678	0.742501	0.369063	0.673155
OAS2_TRIM22	0.229589	0.38467	0.240645	0.63346	0.279372	0.72942
TRIM22_TRIM5	0.183403	0.251388	0.317975	0.508205	0.209191	0.197822
OAS2_OAS3	0.126437	0.449509	0.347272	0.775923	0.56164	0.846824
OAS1_OAS3	0.095547	0.633291	0.34995	0.805569	0.586599	0.852017
OAS1_OAS2	0.05399	0.589781	0.503062	0.883042	0.836805	0.819721
HLA-DRB1_HLA-DRB5	0.044173	0.409565	0.488377	0.78062	0.554788	0.753949



Σχήμα 73: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T2

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T2 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T2 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T2 (πάνω – δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T2 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.15$), οι ακμές που ενώνουν τα γονίδια της ομάδας OAS (OAS1, OAS2, OAS3) δεν παρουσιάζουν διαφορές στα βάρη τους σε διαφορετικές συνθήκες πλην της ακμής. Επιπλέον, το βάρος των ακμών HLA-DRB1_HLA-DRB2 και TRIM22-TRIM5 παραμένει σχετικά σταθερό σε σχέση με τις διαφορετικές καταστάσεις του ασθενούς. Το δίκτυο κεντρικής αναφοράς είναι όμοιο με εκείνο της θεραπείας Avonex και Rebif σε επίπεδο παρουσίας ή μη ακμών. Το δίκτυο Betaseron είναι σχεδόν όμοιο με το δίκτυο μη θεραπείας απλά περιέχει την ακμή OAS2-OASL που απουσιάζει μόνο από το δίκτυο μη θεραπείας. Το GBP4 ενώνεται με το TRIM5 στις θεραπείες Avonex και Rebif καθώς και στους υγιείς ενώ απουσιάζει από τα άλλα δύο δίκτυα και το TRIM22 συνεκφράζεται με όλα τα μέλη της οικογένειας OAS στα δίκτυα Avonex και Rebif ενώ στα υπόλοιπα τρία δίκτυα συνεκφράζεται μόνο με OAS1 και OAS2.

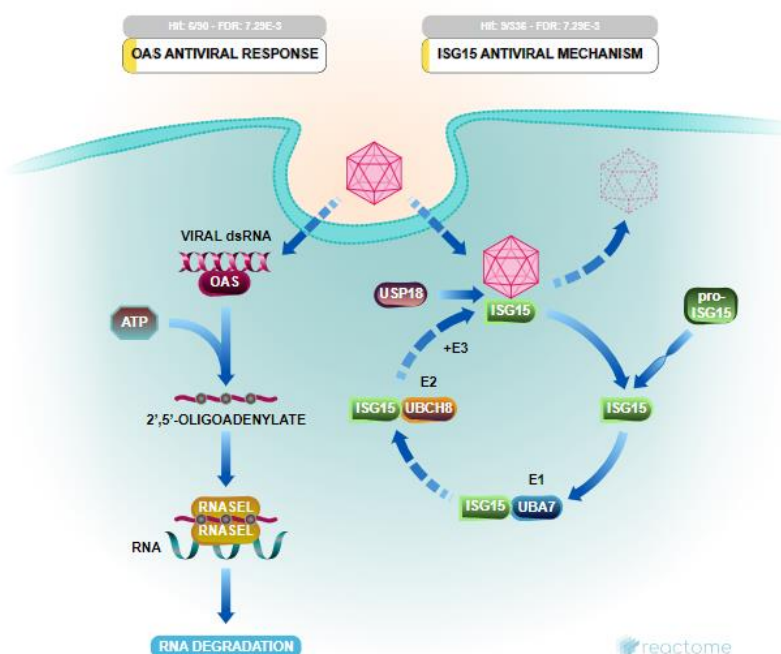
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα Dn-score για όλες τις παραπάνω κατηγορίες.

	T0	T1	T2	Χ.Θ.	Avonex	Betaseron	Rebif
GBP4	1.184366	0	0.409914	0	0.909266	0	0.138992
HLA-DRB1	0.019725	0.020784	0.044173	0.025765	0.027516	0.047461	0.008648
HLA-DRB5	0.019725	0.020784	0.044173	0.025765	0.027516	0.047461	0.008648
OAS1	0.826776	0.706482	0.855692	0.117732	0.424888	0.450779	0.889856
OAS2	0.899172	0.783894	1.033462	0.107784	0.416379	0.711164	0.845038
OAS3	0.623145	0.847941	0.80463	0.138549	0.570897	0.139511	0.443514
OASL	0.90164	1.433679	1.624391	0	1.288271	0.878823	0.748627
TRIM22	1.458822	1.84644	1.315801	0	1.455714	0.620645	1.15214
TRIM5	1.314593	0.261817	0.593317	0	0.353269	0.343993	1.439522

Το TRIM22 και το OASL είναι τα γονίδια που παρουσιάζουν μεγάλα Dn-score σχεδόν σε όλες στις συγκρίσεις πολλαπλών δικτύων.

8.1.4.3 Αντιϊικός μηχανισμός μέσω γονιδίων που διεγείρονται από Ιντερφερόνη (Antiviral mechanism by IFN-stimulated genes, R-HSA-1169410)

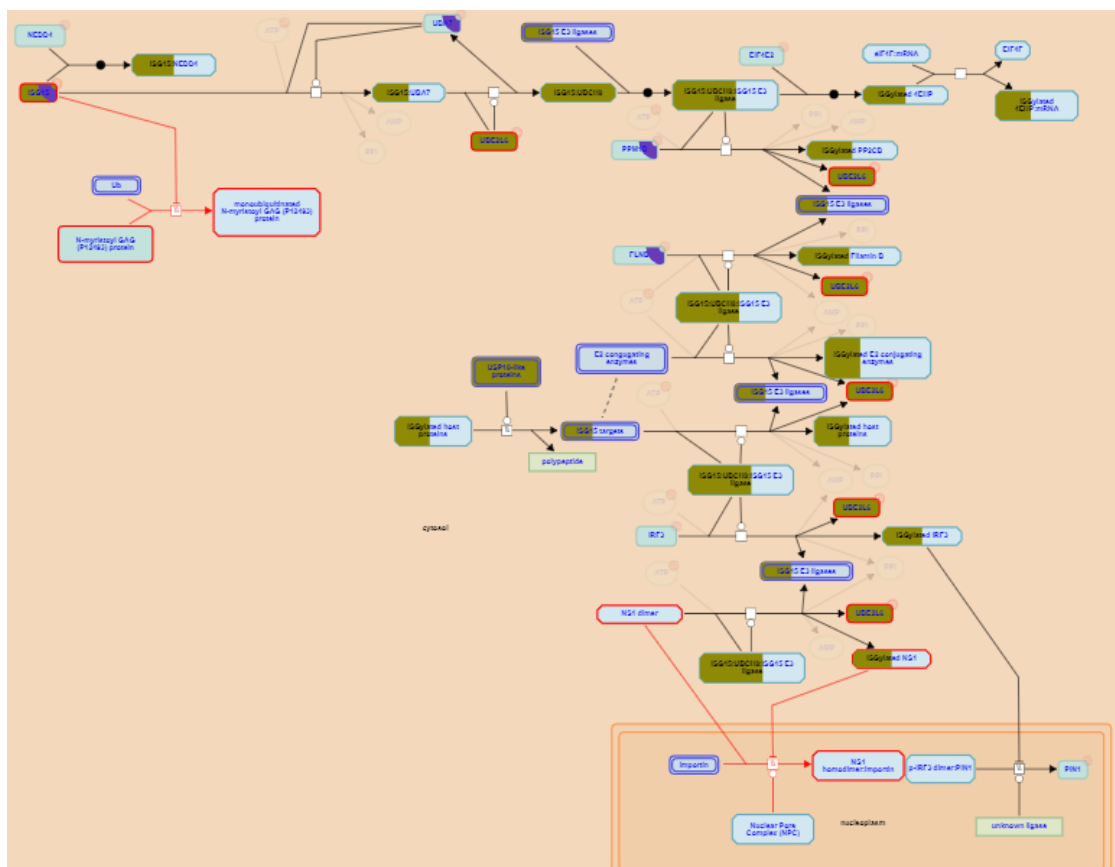
Οι ιντερφερόνες ενεργοποιούν την σηματοδότηση JAK-STAT, η οποία οδηγεί στη μεταγραφική επαγωγή εκατοντάδων γονιδίων που διεγείρονται από IFN (ISGs). Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από ISG γονίδια περιλαμβάνουν άμεσους τελεστές που αναστέλλουν την ιϊκή μόλυνση μέσω διαφόρων μηχανισμών καθώς και παράγοντες που προάγουν προσαρμοστικές ανοσοαποκρίσεις. Οι πρωτεΐνες ISG που παράγονται από μονοπάτια IFN παίζουν βασικό ρόλο στην επαγωγή έμφυτων και προσαρμοστικών ανοσοαποκρίσεων.



Εικόνα 16: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1169410 της Reactome

8.1.4.4 ISG15 αντι-ϊικός μηχανισμός (ISG15 antiviral mechanism, R-HSA-1169408)

Το ISG15 είναι μέλος της οικογένειας όμοιας με ουβικιτίνη (Ubl, ubiquitin-like). Διεγείρεται έντονα κατά την έκθεση σε ιντερφερόνες τύπου I, ιούς, βακτηριακά LPS και άλλες στρες. Μόλις απελευθερωθεί το ώριμο ISG15, συζευγνύεται με πρωτεΐνες-στόχους, μια διαδικασία που ονομάζεται ISGylation. Η ISGylation χρησιμοποιεί ένα μηχανισμό παρόμοιο με την ουβικιτινίωση, που απαιτεί τρία στάδια. Το UBE1L είναι το ISG15 E1 ένζυμο ενεργοποίησης το οποίο ενεργοποιεί ειδικά την ISG15 σε βάρος του ATP. Στη συνέχεια, το ISG15 μεταφέρεται από το E1 στο ένζυμο συζεύξεως E2 UBCH8 και έπειτα στην πρωτεΐνη στόχο με τη βοήθεια μιας ISG15 E3 λιγάσης, όπως η HERC5 και η EFP. Έχουν προσδιοριστεί εκατοντάδες πρωτεΐνες στόχοι για ISGylation. Αρκετές πρωτεΐνες που αποτελούν μέρος των οδών σηματοδότησης ιών, όπως οι RIG-I, MDA5, Mx1, PKR, STAT1, IRF3 και JAK1, έχουν ταυτοποιηθεί ως στόχοι για ISGylation. Το ISG15 επίσης συζεύγει μερικές πρωτεΐνες του ιού, αναστέλλοντας την εμφάνιση και απελευθέρωση του ιού. Η ISGylation φαίνεται να δρα είτε με διακοπή της δραστηριότητας μιας πρωτεΐνης στόχου και / ή με μεταβολή της τοποθεσίας του εντός του κυττάρου.



Εικόνα 17: Αναπαράσταση του μονοπατιού R-HSA-1169408 της Reactome

Τα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια τα οποία λαμβάνουν μέρος σε αυτό το μονοπάτι είναι τα: UBE2L6, EIF2AK2, DDX58, MX1, HERC5, USP18, ISG15, IFIT1. Τα DDX58, IFIT1, MX1 και EIF2AK2 αποτελούν στόχοι για ISGylation. Το UBE2L6 είναι ένζυμο συζεύξεως E2 που καταλύει ομοιοπολικό δεσμό του ISG15 με την πρωτεΐνη-στόχο. Το HERC5 αποτελεί την κύρια E3 λιγάση για την σύζευξη του ISG15 με την πρωτεΐνη-στόχο. Τέλος, το USP18 σε αυτό το μονοπάτι είναι το κύριο ένζυμο αποσυζεύξεως του ISG15. Αφαιρεί το ISG15 από πρωτεΐνες-στόχους. Η δραστηριότητα πρωτεάσης αυτού του ενζύμου είναι κρίσιμη για την σωστή κυτταρική ισορροπία των συζευγμένων με ISG15 πρωτεϊνών. Ωστόσο, δεν απαιτείται για την επεξεργασία ISG15 στην ώριμη μορφή.

8.1.4.4.1 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T0

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T0 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 64: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T0

Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.086956522
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0.071428571
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.045454545
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.083333333
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0

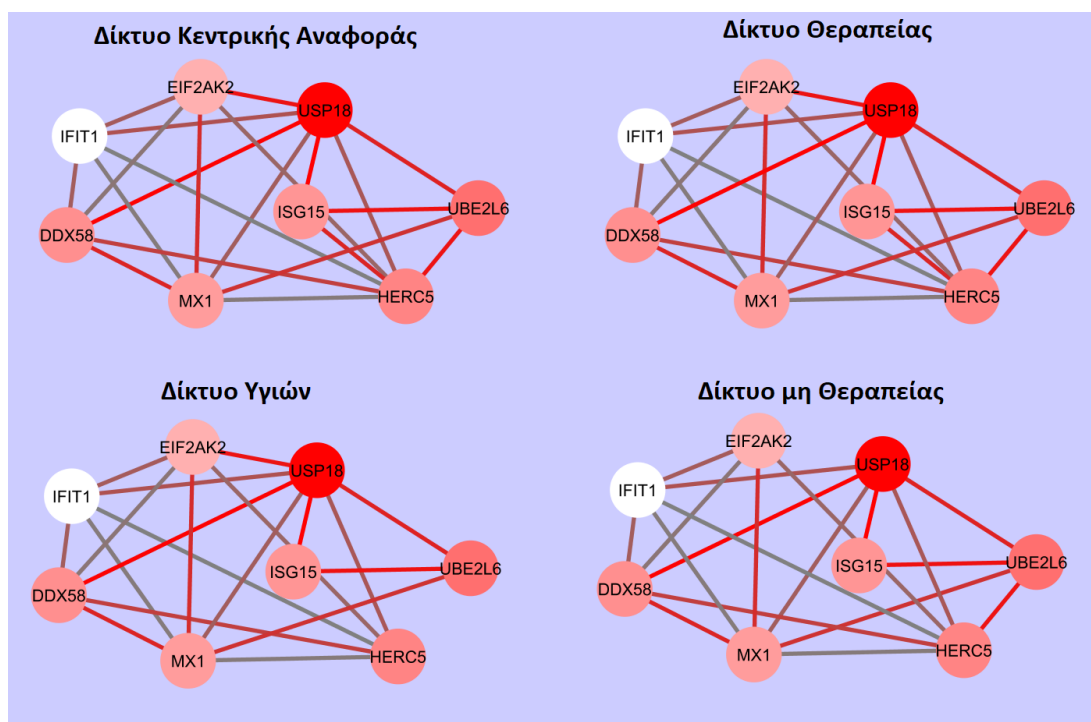
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0
---	---

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πολύ μικρές διαφορές ανάμεσα στα δίκτυα που χαρακτηρίζουν τη χρονική στιγμή T0.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T0. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T0.

Πίνακας 65: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T0

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
ISG15_USP18	0.428487	0.105577	0.213817	0.6798	0.288327	0.567171
DDX58_USP18	0.420882	0.13842	0.149003	0.762485	0.48607	0.61076
ISG15_UBE2L6	0.374554	0.116022	0.231318	0.685335	0.631519	0.808855
HERC5_UBE2L6	0.368882	0	0.138896	0.607423	0.537909	0.461728
EIF2AK2_USP18	0.366117	0.139509	0	0.537379	0.411405	0.56585
UBE2L6_USP18	0.320307	0.183834	0.18533	0.726847	0.433112	0.540751
DDX58_MX1	0.31281	0.262916	0.190283	0.679036	0.340554	0.724385
HERC5_ISG15	0.308532	0	0	0.504456	0.404415	0.406166
EIF2AK2_MX1	0.288683	0.184994	0.192059	0.49756	0.221242	0.538479
MX1_UBE2L6	0.269592	0.198736	0.167185	0.609768	0.346628	0.36991
DDX58_HERC5	0.227187	0.244902	0.336435	0.825334	0.504211	0.759446
IFIT1_USP18	0.168013	0.276974	0.335024	0.724036	0.741424	0.67834
HERC5_USP18	0.15014	0.451918	0.301026	0.79993	0.837105	0.822162
EIF2AK2_IFIT1	0.137238	0.235111	0.317214	0.515728	0.383364	0.617253
DDX58_IFIT1	0.131207	0.329274	0.352392	0.719477	0.645892	0.746139
MX1_USP18	0.129463	0.382895	0.37427	0.836411	0.773533	0.725356
EIF2AK2_HERC5	0.101763	0.365667	0.41461	0.719866	0.430921	0.69097
DDX58{EIF2AK2	0.05476	0.385891	0.593966	0.745836	0.51793	0.641065
HERC5_MX1	0.035823	0.544616	0.598458	0.798604	0.642464	0.844602
IFIT1_MX1	0.033327	0.701427	0.668851	0.869735	0.530738	0.804069
HERC5_IFIT1	0.018093	0.562339	0.695482	0.75486	0.618701	0.781524



Σχήμα 74: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-877300 για τη χρονική στιγμή T0

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T0 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία (πάνω - δεξιά), το δίκτυο υγιών (κάτω - αριστερά) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.1$), οι ακμές που ενώνουν τα γονίδια HERC5, IFIT1, MX1 δεν παρουσιάζουν διαφορές στα βάρη τους σε διαφορετικές συνθήκες. Το USP18 είναι το γονίδιο με το μεγαλύτερο Dn-score στη λίστα και τέσσερις από τις 6 ακμές του στο δίκτυο αναφοράς παρουσιάζουν διακύμανση μεγαλύτερη από 0,3. Όπως αναφέραμε το USP18 ρυθμίζει τόσο την έκφραση των ISG γονιδίων όσο και τη αποσύζευξη του ISG15 με τις πρωτεΐνες-στόχους. Τέλος, η ακμή HERC5-UBE2L6 εμφανίζεται στα δίκτυα των ασθενών με ή χωρίς θεραπεία αλλά όχι στα δίκτυα των υγιών, η EIF2AK2-USP18 εμφανίζεται μόνο στα δίκτυα των ασθενών με θεραπεία και των υγιών και η HERC5-ISG15 μόνο στα δίκτυα των ασθενών με θεραπεία. Οπότε υπάρχουν ενδείξεις ISGylation στους ασθενείς με θεραπεία. Το ISG15 βέβαια σε αυτή τη χρονική στιγμή δεν συνεκφράζεται με κάποια από τις πρωτεΐνες-στόχους, μόνο με τους παράγοντες που ρυθμίζουν την ISGylation.

8.1.4.4.2 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T1

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T1 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 66: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T1

Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0.090909091
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.4
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.076923077
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.454545455
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.045454545
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0.034482759

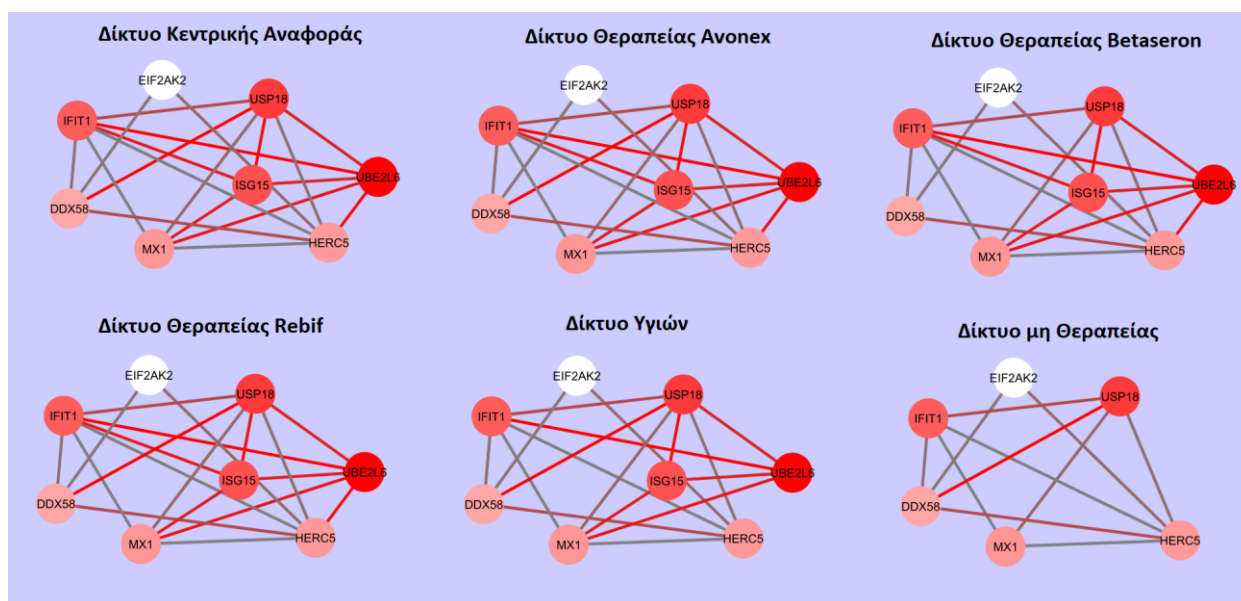
Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε αμελητέες διαφορές ανάμεσα στα δίκτυα ασθενών με θεραπεία και υγιών ενώ στις συγκρίσεις ασθενών με θεραπεία Betaseron/Rebif και υγιών η διαφορές στις ακμές αγγίζουν το 40%.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T1. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T0.

Πίνακας 67: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T1

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T1	Avonex T1	Betaseron T1	Rebif T1
IFIT1_UBE2L6	0.707642	0.189982	0	0.193328	0.185348	0.719337
DDX58_USP18	0.530333	0.13842	0.148992	0.528048	0	0.535741
ISG15_USP18	0.480813	0.105577	0	0.407074	0.731867	0.744597
HERC5_UBE2L6	0.47542	0	0	0.184679	0.220163	0.515729
MX1_UBE2L6	0.452212	0.198736	0	0.271207	0.546126	0.756544
IFIT1_ISG15	0.431168	0	0	0.217744	0.427999	0.665062
ISG15_MX1	0.427649	0.131857	0	0.281222	0.523558	0.575443
ISG15_UBE2L6	0.399713	0.116022	0	0.546355	0.527808	0.662658
UBE2L6_USP18	0.399474	0.183834	0	0.411806	0.60912	0.775795
IFIT1_USP18	0.262076	0.276974	0.295413	0.56551	0.552936	0.94223

DDX58_HERC5	0.253941	0.244902	0.24263	0.665018	0.379158	0.7108
MX1_USP18	0.146369	0.382895	0.355579	0.699485	0.798192	0.867865
EIF2AK2_HERC5	0.139134	0.365667	0.331143	0.598335	0.277431	0.640467
HERC5_USP18	0.117458	0.451918	0.370498	0.596984	0.352694	0.766975
DDX58_IFIT1	0.113476	0.329274	0.320202	0.594612	0.289073	0.527676
DDX58 EIF2AK2	0.096936	0.385891	0.343724	0.710277	0.581895	0.683
HERC5_IFIT1	0.068529	0.562339	0.643061	0.715116	0.355543	0.757657
HERC5_MX1	0.05654	0.544616	0.381802	0.679355	0.530216	0.72673
IFIT1_MX1	0.055964	0.701427	0.496464	0.666878	0.500694	0.861023



Σχήμα 75: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T1

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T1 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T1 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T1 (πάνω - δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T1 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.1$), οι ακμές που ενώνουν τα γονίδια HERC5, IFIT1, MX1 δεν παρουσιάζουν διαφορές στα βάρη τους σε διαφορετικές συνθήκες. Το ISG15 εδώ συνεκφράζεται με τους ρυθμιστές του USP18 και UBE2L6 στα δίκτυα θεραπείας και στο δίκτυο Υγιών και με τους στόχους του στόχους του IFIT1 και MX1 στα δίκτυα θεραπείας. Το ISG15 συνεκφράζεται μόνο με το στόχο MX1 στο δίκτυο υγιών ενώ στο δίκτυο των ασθενών χωρίς θεραπεία είναι πλήρως αποκλεισμένος. Παρόμοια εικόνα παρατηρούμε και για το γονίδιο UBE2L6 το οποίο συνεκφράζεται με ISG15, τους δύο παραπάνω στόχους του IFIT1 και MX1 και με τον άλλο ρυθμιστή του USP18 τόσο στο δίκτυο θεραπείας όσο και στο δίκτυο Υγιών ενώ στο δίκτυο ασθενών είναι αποκλεισμένος. Επίσης, στα δίκτυα θεραπείας συνεκφράζεται και με το HERC5. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι η ακμή DDX58-USP18 εμφανίζεται σε όλα τα δίκτυα εκτός από αυτό της θεραπείας Betaseron.

8.1.4.4.3 Αποτελέσματα για τη χρονική στιγμή T2

Τα σκορ μη κοινών ακμών για τις συγκρίσεις ανά δύο δικτύων τη χρονική στιγμή T2 παρατηρούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 68: Πληροφορίες γονιδίων στο R-HSA-1169408 για τις συγκρίσεις τη Χρονική στιγμή T2

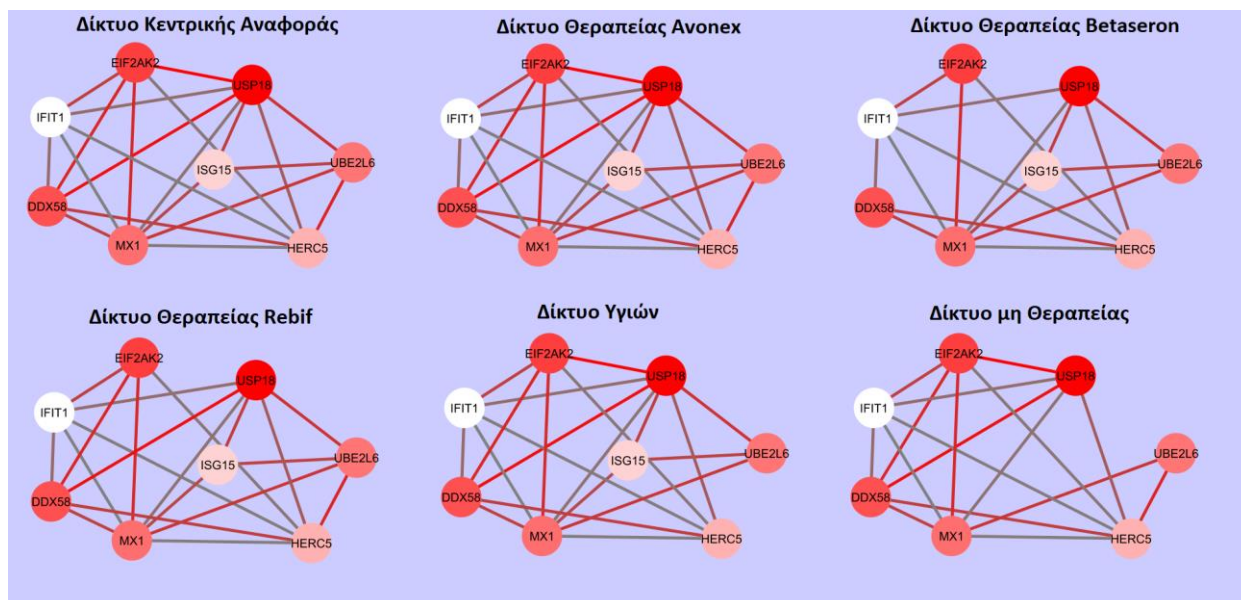
Σύγκριση	Σκορ διαφ/τας ακμών
Ασθενείς χωρίς θεραπεία - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Rebif - Υγιείς	0
Ασθενείς με θεραπεία Avonex - Υγιείς	0.041666667
Ασθενείς με θεραπεία Betaseron - Υγιείς	0
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς χ.θ.	0.25
Ασθενείς μ.θ. Avonex - Ασθενείς χ.θ.	0.173913043
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς χ.θ.	0.142857143
Ασθενείς μ.θ. Betaseron - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.153846154
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Avonex	0.032258065
Ασθενείς μ.θ. Rebif - Ασθενείς μ.θ. Betaseron	0

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι το δίκτυο θεραπείας Rebif παρουσιάζει τις μεγαλύτερες διαφορές σε επίπεδο ακμών σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς θεραπεία. Το δίκτυο θεραπείας Betaseron δεν παρουσιάζει καμία σημαντική διαφορά με το δίκτυο υγιών αλλά και με το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία.

Ο παρακάτω πίνακας περιέχει όλες τις ακμές που εμφανίζονται στα δίκτυα της χρονικής στιγμής T2. Οι ακμές αυτές έχουν παρατηρηθεί με βάρος μεγαλύτερο του 0.5 (δηλαδή βαθμός συσχέτισης 0.9) σε τουλάχιστον ένα δίκτυο συνέκφρασης για τη χρονική στιγμή T2.

Πίνακας 69: Ακμές δικτύων συνέκφρασης γονιδίων R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T2

Ακμές	varD	Υγιείς	Ασθενείς T0	Avonex T0	Betaseron T0	Rebif T0
EIF2AK2_USP18	0.78199	0.139509	0.101946	0.592131	0	0
DDX58_USP18	0.705682	0.13842	0.143886	0.760015	0	0.381254
HERC5_UBE2L6	0.583339	0	0.102342	0.502241	0	0.216402
DDX58{EIF2AK2	0.573091	0.385891	0.158276	0.80658	0	0.262588
EIF2AK2_MX1	0.553748	0.184994	0.102665	0.556047	0.321887	0.110138
UBE2L6_USP18	0.498008	0.183834	0	0.671483	0.291079	0.853498
MX1_UBE2L6	0.480744	0.198736	0.135512	0.605946	0.139762	0.467445
ISG15_USP18	0.429322	0.105577	0	0.692775	0.475721	0.629227
EIF2AK2_IFIT1	0.418458	0.235111	0.199454	0.541012	0.154117	0.141876
DDX58_HERC5	0.417324	0.244902	0.249918	0.848998	0.22273	0.563904
DDX58_MX1	0.408909	0.262916	0.109472	0.737464	0.321197	0.390111
ISG15_UBE2L6	0.405351	0.116022	0	0.639217	0.675949	0.697347
ISG15_MX1	0.365576	0.131857	0	0.503825	0.353909	0.313192
HERC5_USP18	0.259639	0.451918	0.324938	0.821332	0.210179	0.445661
DDX58_IFIT1	0.168497	0.329274	0.317652	0.67559	0.260671	0.411584
IFIT1_USP18	0.151404	0.276974	0.348588	0.715405	0.616308	0.715463
MX1_USP18	0.123266	0.382895	0.455194	0.838752	0.470341	0.763646
EIF2AK2_HERC5	0.095802	0.365667	0.401377	0.770772	0.589045	0.500216
HERC5_IFIT1	0.060502	0.562339	0.653959	0.774162	0.382979	0.706522
HERC5_MX1	0.057633	0.544616	0.441348	0.825765	0.748371	0.647154
IFIT1_MX1	0.034567	0.701427	0.570521	0.864842	0.609901	0.844754



Σχήμα 76: Δίκτυα συνέκφρασης R-HSA-1169408 για τη χρονική στιγμή T2

Η παραπάνω εικόνα αναπαριστά το δίκτυο αναφοράς για τη χρονική στιγμή T2 (πάνω αριστερά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Avonex για τη χρονική T2 (πάνω - μέση), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Betaseron για τη χρονική T2 (πάνω – δεξιά), το δίκτυο ασθενών με θεραπεία Rebif για τη χρονική T2 (κάτω - αριστερά), το δίκτυο υγιών (κάτω - μέση) και το δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία (κάτω - δεξιά).

Όπως παρατηρείται και στην εικόνα (ακμές γκριζου χρώματος) αλλά και στον πίνακα ($varD < 0.1$), οι ακμές που ενώνουν τα γονίδια HERC5, IFIT1, MX1 δεν παρουσιάζουν διαφορές στα βάρη τους σε διαφορετικές συνθήκες. Το ISG15 συνεκφράζεται με τους ρυθμιστές USP18 και UBE2L6 και το στόχο MX1 σε όλα τα δίκτυα πλην των ασθενών χωρίς θεραπεία. Το DDX58 συνδέεται με EIF2AK2 και USP18 σε όλα τα δίκτυα εκτός τους δικτύου Betaseron, το UBE2L6 με το HERC5 στα δίκτυα Avonex και Rebif και στο δίκτυο μη θεραπείας, το USP18 με το UBE2L6 στα δίκτυα ασθενών με θεραπεία και υγιών και στο EIF2AK2 με το USP18 στο δίκτυο ασθενών χωρίς θεραπεία, Avonex και υγιών.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα Dn-score για όλες τις παραπάνω κατηγορίες.

	T0	T1	T2	Χ.Θ.	Avonex	Betaseron	Rebif
DDX58	1.146847	0.994685	2.273502	0.232993	0.819063	0.646644	0.906947
EIF2AK2	0.948562	0.236071	2.423088	0.232993	0.773272	0.37724	1.601224
HERC5	1.21042	1.111022	1.474238	0.04735	1.199511	1.137143	0.751879
IFIT1	0.487877	1.638854	0.833427	0.03119	0.364497	0.445679	1.43686
ISG15	1.111573	1.739343	1.200249	0	1.247033	1.071972	1.254118
MX1	1.069698	1.138734	2.024443	0.06333	1.036531	0.868033	1.333082
UBE2L6	1.333335	2.434461	1.967441	0	1.216993	1.306795	1.506042
USP18	1.98341	1.936524	2.949311	0	1.485078	1.268516	1.700523

Το UBE2L6 και το USP18 που ρυθμίζουν τη διαδικασία ISGylation παρουσιάζουν υψηλά Dn-score σχεδόν σε όλες τις συγκρίσεις πολλαπλών δικτύων, ιδίως της χρονικής στιγμής T1 και T2. Αυτό οφείλεται στην πλήρη απουσία τους ISG15 από το δίκτυο των ασθενών

χωρίς θεραπεία. Αυτό σημαίνει ότι είναι πολύ πιθανό η διαδικασία ISGylation να υπάρχει συμβαίνει σε κάποιο βαθμό στους υγιείς, να απουσιάζει από τους ασθενείς και να επάγεται μετά την θεραπεία.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ΠΣ είναι μία φλεγμονώδης ασθένεια του ΚΝΣ κατά την οποία η μυελίνη των νευρικών κυττάρων στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη καταστρέφεται. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού αποκτούν πρόσβαση στο ΚΝΣ μέσω διαταραχών στον BBB και επιτίθενται στο έλυτρο της μυελίνης αναγνωρίζοντάς το ως «ξένο». Τα T και B-λεμφοκύτταρα και τα APC, εισάγονται στο ΚΝΣ όπου εκκρίνουν κυτοκίνες, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν βλάβες στα ολιγοδενδροκύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα διαπερνούν στο ΚΝΣ μέσω ενός υποδοχέα κυτταρικής μεμβράνης γνωστό ως α4-ιντεγκρίνη απελευθερώνουν OPN, IL-23, IFN-γ και TFN, μόρια που συμβάλουν στην καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης. Συγχρόνως, τα B-κύτταρα παράγουν αντισώματα ειδικά για μυελίνη, τα οποία βλάπτουν περεταίρω τα ολιγοδενδροκύτταρα. Η α4-ιντεγκρίνη εκφράζεται κυρίως σε λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα και δεν ανιχνεύεται στα ουδετερόφιλα. Ετεροδιμερίζεται με δύο υπομονάδες, 1 και 7, για να σχηματίσουν ένα λειτουργικό μόριο. Το α4β1 προσδένεται στο VCAM-1, το οποίο εκφράζεται στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και αλληλεπίδραση τους προωθεί την μεταναστευτική λειτουργία του λεμφοκυττάρου, την ενεργοποίησή του και τον πολλαπλασιασμό του. Επειδή η α4-ιντεγκρίνη δεν εκφράζεται σε ουδετερόφιλα, και δεν επηρεάζεται η απόκριση αυτών των κυττάρων σε βακτηριακή λοίμωξη αποτελεί ελκυστικό στόχο για θεραπευτική παρέμβαση έναντι ασθενειών που αφορούν χρόνια φλεγμονή, όπως η ΠΣ.

Παρά το γεγονός ότι δεν υπάρχει γνωστή θεραπεία για την πολλαπλή σκλήρυνση, υπάρχουν ορισμένοι μέθοδοι αντιμετώπισης της ασθένειας που στοχεύουν κυρίως στην αποκατάσταση ύστερα από επεισόδιο και στην πρόληψη της αναπηρίας. Η IFN-β είναι το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο φάρμακο και έχει αποδειχθεί με κλινικές μελέτες ότι μειώνει τη συχνότητα των υποτροπών και επηρεάζει ευνοϊκά την εξέλιξη της νόσου. Τα τρία σκευάσματα IFN-β τα οποία χρησιμοποιούνται ως θεραπευτικές παρεμβάσεις στα δείγματα ασθενών που αναλύσαμε σε αυτή την εργασία περιλαμβάνουν το AVONEX (IFN-β-1α) που χορηγείται μία φορά την εβδομάδα μέσω ενδομυϊκής ένεσης, το REBIF (IFN-β-1α) που χορηγείται σε ενέσιμη μορφή υποδορίως και παρασκευάζεται με την μέθοδο «ανασυνδυασμένου DNA» και το BETASERON (IFN-β-1β) που χορηγείται σε ενέσιμη μορφή υποδορίως, μέρα παρά μέρα.

Σε αυτή την εργασία χρησιμοποιήσαμε δείγματα ασθενών και υγιών από πλήρες αίμα τα οποία είναι διαθέσιμα στην πλατφόρμα GEO με κωδικό GSE41850. Η πλατφόρμα που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση μικροσυστοιχιών είναι η Affymetrix Human Exon 1.0 ST Array. Τα δείγματα χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, α) Ασθενείς που έχουν λάβει θεραπεία IFN, β) Ασθενείς που δεν έχουν λάβει θεραπεία και γ) Υγιείς. Η κατηγορία Ασθενών που έχουν λάβει θεραπεία IFN χωρίζεται σε τρεις υποκατηγορίες για κάθε μία από τις παραπάνω θεραπείες IFN. Τα δείγματα των ασθενών λαμβάνονται σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές ενώ τα δείγματα των υγιών σε μία. Συνολικά οι κατηγορίες των δειγμάτων που κληθήκαμε να αναλύσουμε είναι 13. Αρχικά, εξάγουμε από το Series Matrix αρχείο που λαμβάνουμε από το GEO όλα τα διαθέσιμα δείγματα των υγιών και τα δείγματα των ασθενών που παρουσιάζουν συνέπεια σε επίπεδο θεραπείας για όλες τις χρονικές στιγμές. Έπειτα από κανονικοποίηση ποσοστημορίων και λογαρίθμηση στις τιμές έκφρασης των probes, διεξάγουμε διαφορική ανάλυση σε όλες τις πιθανές συγκρίσεις που προκύπτουν δεδομένης μίας χρονικής στιγμής αλλά και δεδομένης μίας

θεραπείας. Ως διαφορεικά εκφραζόμενα γονίδια ανά σύγκριση θεωρούμε εκείνα που παρουσιάζουν τιμή p -value μικρότερη από 0,05 και απόλυτη τιμή $\log_2FC > 0,5$.

Εν συνεχεία, κατασκευάζουμε τα δίκτυα συνέκφρασης γονιδίων με τη βοήθεια του πακέτου WGCNA για κάθε μία από τις παραπάνω καταστάσεις δειγμάτων. Τα γονίδια που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση είναι εκείνα που παρουσίασαν διαφορεική έκφραση σε τουλάχιστον μία από τις παραπάνω συγκρίσεις και είναι 459. Για την λήψη απόφασης συσχέτισης δύο γονιδίων ορίζουμε δύο όρους που χαρακτηρίζουν την ισχύ της συνέκφρασης κόμβων, την ΙΒΣ η οποία χαρακτηρίζει ακμές που συνδέουν κόμβους με βάρος μεγαλύτερο ή ίσο από 0,5, δηλαδή η απόλυτη τιμή του συντελεστή συσχέτισης τους είναι μεγαλύτερη ή ίση από 0,89 και την ΜΒΣ η οποία χαρακτηρίζει ακμές που συνδέουν κόμβους με βάρος μεγαλύτερο ή ίσο από 0,1, δηλαδή η απόλυτη τιμή του συντελεστή συσχέτισης τους είναι μεγαλύτερη ή ίση από 0,68.

Για τη σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη, υπολογίζεται το ΣΜΚΑ για ένα γονίδιο, το οποίο μας ενημερώνει για το κατά πόσο διαφοροποιείται η γειτονιά ενός κόμβου ανάμεσα στα δύο δίκτυα. Επιπλέον, υπολογίζεται και το συνολικό ΣΜΚΑ, το οποίο μας παρέχει το ποσοστό διαφοροποίησης σε συνολικό επίπεδο ακμών ανάμεσα στα δύο δίκτυα. Σκοπός της έρευνας δεν είναι μόνο ο εντοπισμός διαφορών ανάμεσα σε δύο δίκτυα αλλά και η ανίχνευση ακμών και κόμβων που διαφοροποιούνται στα δίκτυα συγκεκριμένης θεραπείας με το πέρασμα του χρόνου ή στα δίκτυα συγκεκριμένης χρονικής στιγμής με διαφορετικές θεραπείες. Για το λόγο αυτό, εκτός από την σύγκριση δικτύων κατά ζεύγη, ορίσαμε και τον όρο της σύγκρισης πολλαπλών δικτύων. Η σύγκριση πολλαπλών δικτύων ακολουθεί τον αλγόριθμο που χρησιμοποιήθηκε για την υλοποίηση του πακέτου DyNet και λαμβάνοντας στην είσοδό του περισσότερα από δύο δίκτυα συνέκφρασης γονιδίων είναι ικανό να επιστρέψει μία λίστα από γονίδια και Dn-score αυτών, τα οποία ορίζουν το κατά πόσο διαφοροποιείται η γειτονιά ενός κόμβου ανάμεσα στα διαφορετικά δίκτυα-καταστάσεις. Οι δύο μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την ανάδειξη γονιδίων τα οποία παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα συνέκφρασης με άλλα γονίδια του δικτύου. Η μέθοδος υπολογισμού ΣΜΚΑ δεν επηρεάζεται από το βαθμό ενός κόμβου σε αντίθεση με την μέθοδο υπολογισμού Dn-score. Με άλλα λόγια, εάν ένας κόμβος συνδέεται με πολλούς άλλους γείτονες στο ΔΚΑ τότε το Dn-score μπορεί να είναι υψηλό λόγω μικρών διαφορών στις πολυάριθμες ακμές του. Από την άλλη πλευρά, το ΣΜΚΑ αντιπροσωπεύει το ποσοστό των γειτόνων ενός κόμβου που διαφοροποιείται ανάμεσα σε δύο δίκτυα ανεξάρτητα από το βαθμό αυτού. Λόγω της χρήσης των ΙΒΣ και ΜΒΣ δικτύων, δεν συμπεριλαμβάνονται στον υπολογισμό του ΣΜΚΑ ακμές με χαμηλή συσχέτιση ή ακμές με αμελητέες διαφορές ανάμεσα στα δύο δίκτυα. Από την άλλη πλευρά, για το Dn-score χρησιμοποιείται ένας πλήρης πίνακας γειννίασης ή ένα αυστηρό κατώφλι για τις συσχέτισεις, μέθοδος η οποία δεν ενδείκνυται για ακμές με βάρος κοντά στο κατώφλι. Με την χρήση του πλήρους πίνακα γειννίασης επιτρέπεται η ένταξη μη σημαντικών διαφορών στον υπολογισμό του Dn-score (ακμές με συντελεστή συσχέτισης μικρότερο από 0,9). Το ΣΜΚΑ παρέχει πληροφορία για το ποσοστό διαφοροποίησης τόσο της γειτονίας ενός κόμβου όσο και ολόκληρου του δικτύου ανάμεσα σε δύο καταστάσεις, ενώ το Dn-score εφαρμόζεται σε κόμβους και όχι σε ολόκληρο το δίκτυο. Επιπλέον, το υπολογιστικό κόστος που απαιτείται για τον υπολογισμό του ΣΜΚΑ είναι σχετικά μικρό σε σχέση με αυτό που απαιτείται για τον υπολογισμό του Dn-score διότι στην πρώτη περίπτωση έχουμε αραιούς πίνακες γειννίασης ενώ στην δεύτερη πλήρη και απαιτούνται πολλαπλασιασμοί αυτών. Τέλος, το ΣΜΚΑ εφαρμόζεται μόνο σε ζεύγος

δικτύων ενώ το Dn-score υποστηρίζει τη σύγκριση πολλαπλών δικτύων που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν θέλουμε να παρατηρήσουμε διαφορές συνέκφρασης γονιδίων στο πέρασμα του χρόνου ή σε πολλές διαφορετικές καταστάσεις όπως διαφορετική θεραπεία ασθενούς.

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης ζευγών δικτύων για τη χρονική στιγμή T0 υποδεικνύουν ότι το μεγαλύτερο συνολικό ΣΜΚΑ μεταξύ δικτύων Ασθενών ΜΘ και Υγιών φαίνεται στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών ενώ το μικρότερο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. Παρόλα αυτά, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Avonex παρουσιάζει το μέγιστο συνολικό ΣΜΚΑ και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ και Ασθενών ΧΘ ανάμεσα σε όλες τις θεραπείες. Το μικρότερο συνολικό ΣΜΚΑ σε συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ εντοπίζεται στη σύγκριση Rebif – Avonex όπου τα δύο δίκτυα είναι κατά 99 τις εκατό όμοια σε επίπεδο σημαντικών ακμών. Τα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ δεν παρουσιάζουν κάποια σημαντική απώλεια ακμής και τα γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά σε αυτή τη σύγκριση είναι μόνο τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5, γονίδια που κωδικοποιούν υποομάδες του HLA συμπλόκου, υπεύθυνου για την εμφάνιση «ξένων» πεπτιδίων στο ανοσοποιητικό σύστημα και την αναγνώρισή τους από CD4 T κύτταρα. Τα γονίδια αυτά εκφράζονται διαφορετικά και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ συνεπώς η έκφρασή τους δεν επηρεάζεται από την εκάστοτε θεραπεία και είναι αποτέλεσμα τις ασθένειας. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι και οι τρεις θεραπείες επάγουν την έκφραση συγκεκριμένων ISGs, γονιδίων που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη τόσο σε σύγκριση με τα δείγματα Υγιών όσο και με τα δείγματα Ασθενών ΧΘ. Επιπλέον, τα γονίδια που αναδεικνύονται από τον υπολογισμό του Dn-score στη σύγκριση πολλαπλών δικτύων για τη χρονική στιγμή T0 είναι τα CCR1, PYGL, SLFN5, TMEM111, DUSP5, PLAC8, SAMHD1, PRDX6, CASP5, SERPINB9, IFI30, TMSB10, ANKRD22, TCN2, TLR7, CASP1, BLVRA, TMEM140.

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης ζευγών δικτύων για τη χρονική στιγμή T1 υποδεικνύουν ότι το μεγαλύτερο συνολικό ΣΜΚΑ μεταξύ δικτύων Ασθενών ΜΘ και Υγιών φαίνεται στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών ενώ το μικρότερο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Υγιών, το ακριβώς αντίθετο από την προηγούμενη χρονική στιγμή. Παρόλα αυτά, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Rebif παρουσιάζει το μέγιστο συνολικό ΣΜΚΑ και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ και Ασθενών ΧΘ ανάμεσα σε όλες τις θεραπείες. Το μικρότερο συνολικό ΣΜΚΑ σε συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ εντοπίζεται στη σύγκριση Rebif – Avonex όπου τα δύο δίκτυα είναι κατά 98 τις εκατό όμοια σε επίπεδο σημαντικών ακμών (όμοια με την προηγούμενη χρονική στιγμή). Τα δίκτυα Υγιών και Ασθενών ΧΘ δεν παρουσιάζουν κάποια σημαντική απώλεια ακμής και τα γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά σε αυτή τη σύγκριση είναι μόνο τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5, γονίδια που κωδικοποιούν υποομάδες του HLA συμπλόκου, υπεύθυνου για την εμφάνιση «ξένων» πεπτιδίων στο ανοσοποιητικό σύστημα και την αναγνώρισή τους από CD4 T κύτταρα, καθώς και το S100A12 το οποίο αυξάνει την έκφρασή του στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με του Υγιείς. Η δέσμευσή του στο AGER προάγει την αύξηση ρύθμισης μορίων προσκόλλησης κυττάρων VCAM1. Τα γονίδια HLA αυτά εκφράζονται διαφορετικά και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Υγιών ενώ το S100A12 δεν εκφράζεται διαφορετικά στις αντίστοιχες συγκρίσεις παρά μόνο στις συγκρίσεις Ασθενών ΧΘ - Ασθενών ΜΘ Rebif και ΜΘ Betaseron. Συνεπώς, η θεραπεία Avonex δεν επηρεάζει την έκφραση του γονιδίου ενώ οι θεραπείες Rebif και Betaseron διαφοροποιούν την έκφρασή του σε σχέση με τους Ασθενείς ΧΘ. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι και οι τρεις θεραπείες επάγουν την

έκφραση συγκεκριμένων ISGs, γονιδίων που διεγείρονται από την Ιντερφερόνη τόσο σε σύγκριση με τα δείγματα Υγιών όσο και με τα δείγματα Ασθενών ΧΘ. Επιπλέον, τα γονίδια που αναδεικνύονται από τον υπολογισμό του Dn-score στη σύγκριση πολλαπλών δικτύων για τη χρονική στιγμή T1 είναι τα ANKRD22, C9orf71, CD69, CNTNAP3, FPR3, MICALCL, NQO2, OR2T4, RNF182, SLC45A4, SLFN5, THBS1, TLR7, KBTBD7, GZMK, KLRB1, GRAMD1C, PRNP, CCRL2, DYNLL1, GRAMD1B, LGALS1, SAMHD1, SAT1, MAN1A1, JUP, EFHC2, TIMM10, IGF1R, OCR1, PYGL, PIGX, SERPINB9, CD14, FFAR2, PLAC8, PSME2, ICAM3, PGLYRP1, CHMP5, PDCD1LG2, KIAA0232, MAFB, MT1F, PLCB1.

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης ζευγών δικτύων για τη χρονική στιγμή T2 υποδεικνύουν ότι το μεγαλύτερο συνολικό ΣΜΚΑ μεταξύ δικτύων Ασθενών ΜΘ και Υγιών φαίνεται στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Betaseron – Υγιών ενώ το μικρότερο στην σύγκριση Ασθενών ΜΘ Rebif – Υγιών. Παρόλα αυτά, το δίκτυο Ασθενών ΜΘ Betaseron παρουσιάζει το μέγιστο συνολικό ΣΜΚΑ και στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ και Ασθενών ΧΘ ανάμεσα σε όλες τις θεραπείες. Το μικρότερο συνολικό ΣΜΚΑ σε συγκρίσεις δικτύων Ασθενών ΜΘ εντοπίζεται στη σύγκριση Rebif – Avonex όπου τα δύο δίκτυα είναι κατά 88 τις εκατό όμοια σε επίπεδο σημαντικών ακμών (όμοια με τις προηγούμενες χρονικές στιγμές). Η σύγκριση Ασθενών ΧΘ-Υγιών παρουσιάζει 19 γονίδια τα οποία υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΧΘ και 10 από αυτά είναι ΔΕ μόνο σε αυτή τη σύγκριση της χρονικής στιγμής T2. Από τα υπόλοιπα 9, τα HLA-DRB1 και HLA-DRB5 εκφράζονται διαφορετικά στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ-Υγιών και όχι στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ-Ασθενών ΧΘ άρα η έκφρασή τους δεν επηρεάζεται από τις θεραπείες. Το S100A12 αυξάνει την έκφρασή του στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με του Υγιείς και με τους Ασθενείς ΜΘ Rebif και Betaseron και δεν παρουσιάζει ΔΕ στις συγκρίσεις Υγιών-Ασθενών ΜΘ άρα οι θεραπείες Betaseron και Rebif προσαρμόζουν την έκφραση του στους Ασθενείς κοντά σε εκείνη των Υγιών. Παρόμοια το CLC αυξάνει την έκφρασή του στους Ασθενείς ΧΘ σε σχέση με του Υγιείς και με τους Ασθενείς ΜΘ Rebif και Avonex και δεν παρουσιάζει ΔΕ στις συγκρίσεις Υγιών-Ασθενών ΜΘ άρα οι θεραπείες Avonex και Rebif προσαρμόζουν την έκφραση του στους Ασθενείς κοντά σε εκείνη των Υγιών. Το LY68 αυξάνει την έκφρασή του στους Ασθενείς ΧΘ, ΜΘ Avonex και Betaseron σε σχέση με τους Υγιείς και δεν είναι ΔΕ στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ άρα οι θεραπείες δεν επιδρούν στην έκφραση του γονιδίου. Όμοια, τα TMEM176A και TMEM176B υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΧΘ και ΜΘ Betaseron σε σχέση με τους Υγιείς και δεν είναι ΔΕ στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ άρα οι θεραπείες δεν επιδρούν στην έκφραση τους. Το HCST αυξάνει την έκφρασή του στους Ασθενείς ΧΘ και ΜΘ Avonex σε σχέση με τους Υγιείς και δεν είναι ΔΕ στις συγκρίσεις Ασθενών ΜΘ – Ασθενών ΧΘ άρα οι θεραπείες δεν επιδρούν στην έκφραση του. Επιπλέον το DEFA3 μειώνει την έκφρασή του στους Υγιείς έναντι των Ασθενών ΧΘ και των Ασθενών ΜΘ Avonex ενώ στη σύγκριση Ασθενών ΜΘ Avonex – Ασθενών ΧΘ δεν είναι ΔΕ συνεπώς η θεραπεία Avonex δεν αλλάζει την έκφραση του γονιδίου στους Ασθενείς. Αντιθέτως, η θεραπεία Rebif οδηγεί σε μείωση την έκφρασης του γονιδίου στους Ασθενείς ενώ σε σχέση με τους Υγιείς δεν υπάρχει σημαντική διαφορά. Οι ακμές HCST-LGALS1 και HCST-RPL18 εμφανίζονται στο δίκτυο Ασθενών ΧΘ και απουσιάζουν από το δίκτυο Υγιών. Το BSG συνδέεται με TMOD1 σε όλα τα δίκτυα εκτός αυτού των Ασθενών ΜΘ Rebif, το C22orf13 με GPR146 σε όλα τα δίκτυα εκτός των Ασθενών ΜΘ Betaseron και το GBR5 με STAT1 σε όλα τα δίκτυα εκτός των Rebif, Betaseron. Και οι 3 ακμές έχουν ΙΒΣ στο δίκτυο ΧΘ. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι και οι τρεις θεραπείες επάγουν την έκφραση συγκεκριμένων ISGs, γονιδίων που

διεγείρονται από την Ιντερφερόνη τόσο σε σύγκριση με τα δείγματα Υγιών όσο και με τα δείγματα Ασθενών ΧΘ. Τα ALOX15, MS4A2, MS4A4A, OR52H1 υπερεκφράζονται στους Ασθενείς ΜΘ Betaseron σε σχέση με τις άλλες δύο θεραπείες και τα PPBP, ITGB3, CLEC6A ρυθμίζουν αρνητικά την έκφρασή τους στους Ασθενείς ΜΘ Rebif σε σύγκριση με τις δύο άλλες θεραπείες. Επιπλέον, τα γονίδια που αναδεικνύονται από τον υπολογισμό του Dn-score στη σύγκριση πολλαπλών δικτύων για τη χρονική στιγμή T2 είναι τα CD14, GZMK, MICALCL, NRGN, PLCB1, TAS2R46, UBA52, PRDX5, CCRL2, GPR109A, HINT1, NEXN, PGLYRP1, RPL7, SLC45A4, NFXL1, C3AR1, H2AFZ, HRH4, KLRB1, RAB27B, STEAP4, VNN3, TNFRSF9, ZNF117, MAN1A1, HBD, CHMP5, TCP11L2, TSPAN7,IDO1, TMEM111, FLJ42418, BEND2, IL1R2, DHRS9, IFI30, FFAR2, HBM, SLC38A5, RPS26.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Blood-Brain Barrier	Αιματοεγκεφαλικός φραγμός
Antigen-presenting cell	Αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
Interferon	Ιντερφερόνη
Interleukin	Ιντερλευκίνη
Experimental Autoimmune Encephalomyelitis	Πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα
DNA microarrays	Μικροσυστοιχίες DNA
RNA Sequencing	Αλληλούχηση RNA
Probe	Ανιχνευτής
Quantile Normalization	Κανονικοποίηση Ποσοστημορίων
Log-normal Distribution	Λογαριθμοκανονική Κατανομή
Intensities	Εντάσεις Φθορισμού
Samples	Δείγματα
p-value	Τιμή σημαντικότητας
degree	Βαθμός
strength	Βαθμός με βάρη
closeness centrality	Κεντρικότητα εγγύτητας
betweenness centrality	Διακεντρικότητα
shortest path	Συντομότερο Μονοπάτι
scale-free	Μη κλιμακούμενο
power law	Νόμος δύναμης
edge list	Λίστα ακμών
Untreated	Χωρίς θεραπεία
Human Leukocyte Antigen	Ανθρώπινο Λευκοκυτταρικό Αντιγόνο
Major Histocompatibility Complex	Κύριο Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας
Plasmacytoid Dendritic Cells	Πλασμοκυτοειδή Δενδριτικά Κύτταρα

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

ΠΣ	Πολλαπλή σκλήρυνση
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
BBB	Blood-Brain Barrier
APC	Antigen-presenting cell
OPN	Osteopontin
IL	Interleukin
IFN-β	Interferon β
IFN-γ	Interferon γ
TFN	Tumor Necrosis Factor
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1
EMC	Extracellular Matrix
T _h 1	T helper cell Type 1
EAE	Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
MRI	Magnetic Resonance Imaging
DNA	Deoxyribonucleic Acid
mRNA	Messenger Ribonucleic acid
cDNA	complementary DNA
GCN	Gene Co-expression Networks
GEO	Gene Expression Omnibus
HGNC	HUGO Gene Nomenclature Committee
log ₂ FC	log ₂ Fold Change
WGCNA	WeiGhted Correlation Network Analysis
ΙΒΣ	Ισχυρού Βαθμού Συνέκφραση
ΜΒΣ	Μέσου Βαθμού Συνέκφραση
ΣΜΜ	Σκορ Μεταβολής Μετρικών
ΣΜΚΑ	Σκορ Μη-Κοινών Ακμών
ΔΕ	Διαφορική Έκφραση
ΔΕΓ	Διαφορικά Εκφραζόμενα Γονίδια
ΧΘ	Χωρίς Θεραπεία
ΜΘ	Με Θεραπεία
HLA	Human Leukocyte Antigen
MHC	Major Histocompatibility Complex

pDCs	Plasmacytoid dendritic cells
ISRE	Interferon-sensitive response element
GTP	Guanosine-5'-triphosphate
PPP-RNA	RNA bearing a 5'-triphosphate group
PPI	Protein-Protein Interaction
ATP	Adenosine triphosphate
IFITM	Interferon - induced transmembrane
ETS	E26 transformation-specific
CEA	carcinoembryonic antigen
ISGs	Interferon Stimulated Genes
ΔΚΑ	Δίκτυο Κεντρικής Αναφοράς
ΕΔ	Ενδοπλασματικό Δίκτυο

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] “Multiple Sclerosis - Wikipedia, the free encyclopedia”. https://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_sclerosis
- [2] L. Steinman and S. Zamvil, Transcriptional analysis of targets in multiple sclerosis, *National Review of Neuroimmunology* 3 (2003), 483–492
- [3] Calabresi PA, Stone LA, Bash CN, Frank JA, McFarland HF. Interferon beta results in immediate reduction of contrast-enhanced MRI lesions in multiple sclerosis patients followed by weekly MRI. *Neurology* 1997;48:1446-8
- [4] Rice, G. P. A., Hartung, H.-P., & Calabresi, P. A. (2005). Anti- α 4 integrin therapy for multiple sclerosis: Mechanisms and rationale. *Neurology*, 64(8), 1336–1342. Steinman L., Zamvil S. Transcriptional analysis of targets in multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology*. 2003; 3(6):483-492
- [5] Becher B., Giacomini P.S., Peletier D., McCrea E., Prat A., Antel J. Interferon gamma secretion by peripheral blood T-cell subsets in multiple sclerosis: correlation with disease phase and interferon beta therapy. *Ann Neurol* 1999;45:247-50
- [6] Baldi, Pierre, and G. Wesley Hatfield. *DNA Microarrays and Gene Expression: From Experiments to Data Analysis and Modeling*. Cambridge University Press. 2002.
- [7] Li Yupeng, Pearl, Stephanie A., Jackson, Scott A. *Gene Networks in Plant Biology: Approaches in Reconstruction and Analysis*. *Trends in Plant Science* 2015;20(10):664–675.
- [8] Davis, S. and Meltzer, P. S. GEOquery: a bridge between the Gene Expression Omnibus (GEO) and BioConductor. *Bioinformatics*, 2007, 14, 1846-1847
- [9] Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. W. Huber, V.J. Carey, R. Gentleman, ..., M. Morgan, *Nature Methods*, 2015;12, 115-121.
- [10] Hansen, Kasper D, Rafael A Irizarry, and Zhijin Wu. Removing Technical Variability in RNA-Seq Data Using Conditional Quantile Normalization. *Biostatistics (Oxford, England)*. 2012, 13 (2): 204–16.
- [11] Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., and Smyth, G.K. (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research* 43(7), e47
- [12] Langfelder P and Horvath S, WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 2008, 9:559
- [13] Csardi G, Nepusz T: The igraph software package for complex network research, *InterJournal, Complex Systems* 1695. 2006. <http://igraph.org>
- [14] Barrios-Rodiles M. et al. High-throughput mapping of a dynamic signaling network in mammalian cells. *Science* 2005, 307, 1621 – 1625.
- [15] Goenawan IH, Kenneth B, Lynn DJ. DyNet: visualization and analysis of dynamic molecular interaction networks. *Bioinformatics*. 2016;187
- [16] Alcina A, Abad-Grau Mdel M, Fedetz M, Izquierdo G, Lucas M, et al. Multiple sclerosis risk variant HLA-DRB1*1501 associates with high expression of DRB1 gene in different human populations. *PLoS one*. 2012;7:e29819
- [17] Cree BA. Multiple sclerosis genetics. *Handb clin neurol*. 2014;122:193–209.
- [18] Caillier S.J., Briggs F., Cree B.A., Baranzini S.E., Fernandez-Viña M., Ramsay P.P., Khan O., Royal W., Hauser S.L., Barcellos L.F., et al. Uncoupling the roles of HLA-DRB1 and HLA-DRB5 genes in multiple sclerosis. *J. Immunol*. 2008;181:5473–5480.
- [19] O’Leary NA, Wright MW, Brister JR, Ciufu S, Haddad D, McVeigh R, Rajput B, Robbertse B, Smith-White B, Ako-Adjei D, Astashyn A, Badretdin A, Bao Y, Blinkova O, Brover V, Chetvernin V, Choi J, Cox E, Ermolaeva O, Farrell CM, Goldfarb T, Gupta T, Haft D, Hatcher E, Hlavina W, Joardar VS, Kodali VK, Li W, Maglott D, Masterson P, McGarvey KM, Murphy MR, O’Neill K, Pujar S, Rangwala SH, Rausch D, Riddick LD, Schoch C, Shkeda A, Storz SS, Sun H, Thibaud-Nissen F, Tolstoy I, Tully RE, Vatsan AR, Wallin C, Webb D, Wu W, Landrum MJ, Kimchi A, Tatusova T, DiCuccio M, Kitts P, Murphy TD, Pruitt KD. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jan 4;44(D1):D733-45
- [20] Apweiler, R.; Bairoch, A.; Wu, C. H.; Barker, W. C.; Boeckmann, B.; Ferro, S.; Gasteiger, E.; Huang, H.; Lopez, R.; Magrane, M.; Martin, M. J.; Natale, D. A.; o’Donovan, C.; Redaschi, N.; Yeh, L. S. (2004). UniProt: The Universal Protein knowledgebase. *Nucleic Acids Research*. 32 (90001): 115D–1119.
- [21] Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, et al. (2003) Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 2610–2615.
- [22] Schoggins JW, Wilson SJ, Panis M, Murphy MY, Jones CT, et al. (2011) A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature* 472: 481–485.
- [23] Ge B, Li J, Wei Z, Sun T, Song Y, Khan NU (2017). Functional expression of CCL8 and its interaction with chemokine receptor CCR3. *BMC Immunol*. 18: 54.

- [24] Bin, Lianghua and Li, Xiaozhao and Feng, Juntao and Richers, Brittany and Leung, Donald Y.M. Ankyrin Repeat Domain 22 Mediates Host Defense Against Viral Infection Through STING Signaling Pathway. *The Journal of Immunology*. 2016; 196; 201.4-201.4
- [25] Zhu CH, Kim J, Shay JW, et al. (2008) SGNP: An essential Stress Granule/Nucleolar Protein potentially involved in 5.8s rRNA processing/transport. *PLoS One* 3: e3716
- [26] Y. Hu, et al. Guanylate binding protein 4 negatively regulates virus-induced type I IFN and antiviral response by targeting IFN regulatory factor 7. *J. Immunol.*, 187 (2011), pp. 6456-6462
- [27] Samarajiwa SA, Forster S, Auchettl K, Hertzog PJ. INTERFEROME: the database of interferon regulated genes. *Nucleic Acids Res.* 2009;37: D852–D857
- [28] D. Croft, A. F. Mundo, R. Haw, M. Milacic, J. Weiser, G. Wu, M. Caudy, P. Garapati, M. Gillespie, M. R. Kamdar, B. Jassal, S. Jupe, L. Matthews, B. May, S. Palatnik, K. Rothfels, V. Shamovsky, H. Song, M. Williams, E. Birney, H. Hermjakob, L. Stein and P. D'Eustachio, The Reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res.*, 2014, 42, D472–477.
- [29] Zhang Y, et al. PARP9-DTX3L ubiquitin ligase targets host histone H2BJ and viral 3C protease to enhance interferon signaling and control viral infection. *Nature Immunology* volume 16, 2015, 1215–1227
- [30] Lee KW, Kwak SH, Koo YD, et al.: F-box only protein 9 is an E3 ubiquitin ligase of PPARγ. *Exp Mol Med*. 2016; 48: e234.
- [31] Wang B, Chen Y, Mu C, Su Y, Liu R, et al. (2015) Identification and Expression Analysis of the Interferon-Induced Protein with Tetratricopeptide Repeats 5 (IFIT5) Gene in Duck (*Anas platyrhynchos domesticus*). *PLOS ONE* 10(3): e0121065
- [32] Bailey CC, Zhong G, Huang IC, Farzan M. (2014) IFITM-Family Proteins: The Cell's First Line of Antiviral Defense. *Annu Rev Virol*. 2014 Nov 1;1:261-283.
- [33] Un Yung Choi, Ji-Seon Kang, Yune Sahng Hwang & Young-Joon Kim. (2015) Oligoadenylate synthase-like (OASL) proteins: dual functions and associations with diseases. *Experimental & Molecular Medicine* volume 47, page e144
- [34] Jianzhong Zhu et al. (2014) Antiviral Activity of Human OASL Protein Is Mediated by Enhancing Signaling of the RIG-I RNA Sensor. *Immunity* Volume 40, Issue 6, 19 June 2014, Pages 936-948