



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ
ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ**

**ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗ
ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ**

Ανέστης Σταματέλλος

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Επιβλέπουσα
Παναγιώτα Κοντού
Επίκουρη Καθηγήτρια**

Λαμία, Φεβρουάριος 2023

Με ατομική μου ευθύνη και γνωρίζοντας τις κυρώσεις ⁽¹⁾, που προβλέπονται από της διατάξεις της παρ. 6 του άρθρου 22 του Ν. 1599/1986, δηλώνω ότι:

1. Δεν παραθέτω κομμάτια βιβλίων ή άρθρων ή εργασιών άλλων αυτολεξεί **χωρίς να τα περικλείω σε εισαγωγικά** και χωρίς να αναφέρω το συγγραφέα, τη χρονολογία, τη σελίδα. Η αυτολεξεί παράθεση χωρίς εισαγωγικά χωρίς αναφορά στην πηγή, είναι λογοκλοπή. Πέραν της αυτολεξεί παράθεσης, λογοκλοπή θεωρείται και η παράφραση εδαφίων από έργα άλλων, συμπεριλαμβανομένων και έργων συμφοιτητών μου, καθώς και η παράθεση στοιχείων που άλλοι συνέλεξαν ή επεξεργάστηκαν, χωρίς αναφορά στην πηγή. Αναφέρω πάντοτε με πληρότητα την πηγή κάτω από τον πίνακα ή σχέδιο, όπως στα παραθέματα.
2. Δέχομαι ότι η αυτολεξεί **παράθεση χωρίς εισαγωγικά**, ακόμα κι αν συνοδεύεται από αναφορά στην πηγή σε κάποιο άλλο σημείο του κειμένου ή στο τέλος του, είναι αντιγραφή. Η αναφορά στην πηγή στο τέλος π.χ. μιας παραγράφου ή μιας σελίδας, δεν δικαιολογεί συρραφή εδαφίων έργου άλλου συγγραφέα, έστω και παραφρασμένων, και παρουσίασή τους ως δική μου εργασία.
3. Δέχομαι ότι υπάρχει επίσης περιορισμός στο μέγεθος και στη συχνότητα των παραθεμάτων που μπορώ να εντάξω στην εργασία μου εντός εισαγωγικών. Κάθε μεγάλο παράθεμα (π.χ. σε πίνακα ή πλαίσιο, κλπ), προϋποθέτει ειδικές ρυθμίσεις, και όταν δημοσιεύεται προϋποθέτει την άδεια του συγγραφέα ή του εκδότη. Το ίδιο και οι πίνακες και τα σχέδια
4. Δέχομαι όλες τις συνέπειες σε περίπτωση λογοκλοπής ή αντιγραφής.

Ημερομηνία: 15/02/2023

Ο Δηλών

Σταματέλλος Ανέστης

(Υπογραφή)

(1) «Όποιος εν γνώσει του δηλώνει ψευδή γεγονότα ή αρνείται ή αποκρύπτει τα αληθινά με έγγραφη υπεύθυνη δήλωση του άρθρου 8 παρ. 4 Ν. 1599/1986 τιμωρείται με φυλάκιση τουλάχιστον τριών μηνών. Εάν ο υπαίτιος αυτών των πράξεων σκόπευε να προσπορίσει στον εαυτόν του ή σε άλλον περιουσιακό όφελος βλάπτοντας τρίτον ή σκόπευε να βλάψει άλλον, τιμωρείται με κάθειρξη μέχρι 10 ετών.

**ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗΝ
ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ**

Ανέστης Σταματέλλος

Τριμελής Επιτροπή:

Παναγιώτα Κοντού, Επίκουρη Καθηγήτρια (επιβλέπουσα)

Παντελής Μπάγκος, Καθηγητής

Γεωργία Μπράλιου, Επίκουρη Καθηγήτρια

Πίνακας περιεχομένων

Πρόλογος.....	5
Περίληψη	6
Abstract.....	7
1. Εισαγωγή	8
1.1 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	8
1.1.1 Κλινικά χαρακτηριστικά	9
1.1.2 Παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας	11
1.1.3 Πρόγνωση	20
1.1.4 Διάγνωση	22
1.1.5 Θεραπεία	23
1.2 Μικροσυστοιχίες DNA	26
1.2.1 Κατασκευή πειράματος μικροσυστοιχιών DNA.....	28
1.2.2 Στατιστική ανάλυση μικροσυστοιχιών	37
1.2.3 Μέθοδοι διόρθωσης p-value	39
1.2.4 Μέθοδοι Αναδειγματοληψίας	40
1.2.5 Βάσεις δεδομένων μικροσυστοιχιών	41
1.3 Μετα-ανάλυση	42
1.3.1 Μοντέλα μετα-ανάλυσης	43
1.3.2 Έλεγχος ετερογένειας	45
1.3.3 Προβλήματα βιβλιογραφίας.....	47
1.3.4 Μετα-ανάλυση σε δεδομένα μικροσυστοιχιών.....	48
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	52
2.1 Σκοπός.....	52
2.2 Συλλογή και ανάλυση δεδομένων.....	52
2.3 Καταγραφή και επεξεργασία δεδομένων	53
2.4 Στατιστική ανάλυση.....	54
2.5 Σχηματισμός δικτύου και ανάλυση εμπλουτισμού	55
3. Αποτελέσματα	58
3.1 Συλλογή δεδομένων	58
3.2 Μετα-ανάλυση δεδομένων σε δείγματα αίματος.....	64
3.3 Ανάλυση εμπλουτισμού σε δείγματα αίματος	67

3.4 Μετα-ανάλυση δεδομένων σε δείγματα αρθρικού ιστού	83
3.5 Ανάλυση εμπλουτισμού σε δείγματα αρθρικού ιστού.....	85
3.6 Σύγκριση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων	112
4. Συζήτηση - Συμπεράσματα	116
Βιβλιογραφία	118
Παράρτημα	121

Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του προπτυχιακού κύκλου σπουδών του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας Παναγιώτας Κοντού του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από το 2020 έως το 2022.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους με βοήθησαν με την καθοδήγηση, τις συμβουλές και τις οδηγίες τους στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Αρχικά την επιβλέπουσα καθηγήτρια της εργασίας μου κυρία Παναγιώτα Κοντού, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της πτυχιακής εργασίας αλλά και για την στήριξη που μου έδωσε καθ' όλη τη διάρκεια τόσο της πτυχιακής όσο και των ακαδημαϊκών ετών μου στο Πανεπιστήμιο.

Επίσης, την κυρία Νάντια Βέννου, μεταδιδάκτορα του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την σπουδαία της βοήθεια σε ένα μεγάλο τμήμα της πτυχιακής, τον κύριο Παντελή Μπάγκο, Καθηγητή του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας που με μύησε στην επιστήμη της βιοπληροφορικής, την κυρία Γεωργία Μπράλιου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για όλες τις βιολογικές γνώσεις που μου μετέδωσε τόσο στις διαλέξεις όσο και στα εργαστήρια αλλά και ένα μεγάλο ευχαριστήσω σε όλη την επιστημονική ομάδα του Εργαστηρίου Μοριακής και Υπολογιστικής Βιολογίας και Γενετικής (ΕΜΥΒΓ) του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Φυσικά, δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου για την υποστήριξή τους σε όλη την πορεία μου έως τώρα.

Τέλος, θα ήθελα να αναφέρω την ευκαιρία που μου δόθηκε να συμμετάσχω και να παρουσιάσω την εργασία μου στο 16ο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Υπολογιστικής Βιολογίας και Βιοπληροφορικής που πραγματοποιήθηκε στην Αλεξανδρούπολη το 2022.

Περίληψη

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια αυτοάνοση φλεγμονώδης ασθένεια που επηρεάζει τις αρθρώσεις που περιβάλλονται από αρθρική μεμβράνη. Είναι ιδιαίτερα ετερογενής με αποτέλεσμα η διάγνωσή της να καθίσταται δύσκολη στα πρώιμα στάδια. Κατά την εξέλιξή της επιφέρει πολλές επιπτώσεις στον ασθενή όπως πόνο, αναπηρία και διάφορα συστημικά προβλήματα. Η παθογένειά της δεν έχει προσδιοριστεί πλήρως με αποτέλεσμα τη συνεχή μελέτη της ακόμα και σήμερα. Ωστόσο, η αποσαφήνιση ορισμένων μοριακών μηχανισμών έχει συμβάλει στην ανάπτυξη καινοτόμων θεραπειών για την αντιμετώπισή της.

Στην παρούσα έρευνα έγινε προσπάθεια προσδιορισμού των γενετικών τόπων που πιθανώς οδηγούν στην εμφάνιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Επιλέχθηκαν δεδομένα από πειράματα μικροσυστοιχιών DNA τα οποία αναλύθηκαν με την στατιστική μέθοδο της μετα-ανάλυσης. Οι μικροσυστοιχίες DNA παρέχουν τη δυνατότητα της ταυτόχρονης μελέτης της έκφρασης πολλών γονιδίων σε ένα μόλις πείραμα. Η χρήση πολλών αποτελεσμάτων από πειράματα μικροσυστοιχιών για το ίδιο ερευνητικό ερώτημα, προσδίδει μεγαλύτερη ακρίβεια στο τελικό συμπέρασμα των στατιστικώς σημαντικών διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων.

Στη συγκεκριμένη μελέτη αξιοποιήθηκαν δεδομένα από δημόσιες βάσεις δεδομένων στα οποία πραγματοποιήθηκε μετα-ανάλυση με το στατιστικό διαδικτυακό εργαλείο MAGE: Meta-analysis of gene expression. Πραγματοποιήθηκαν δύο μετα-αναλύσεις. Η πρώτη περιείχε μόνο δεδομένα από πειράματα μικροσυστοιχιών με δείγματα αίματος και η δεύτερη μόνο με δείγματα αρθρικού ιστού. Από την πρώτη μετα-ανάλυση προσδιορίστηκαν 371 γονίδια και από τη δεύτερη 637 γονίδια τα οποία συσχετίζονται με την εμφάνιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Η χρήση εργαλείων ανάλυσης όπως η STRING, το NAP και το g:profiler διευκολύνουν στη συσχέτιση των συγκεκριμένων γονιδίων μεταξύ τους αλλά και προσδίδουν επιπλέον πληροφορίες γι' αυτά. Περαιτέρω μελέτη κρίνεται απαραίτητη για τον εντοπισμό περισσότερων συσχετίσεων με την έναρξη της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

Λέξεις κλειδιά: Μικροσυστοιχίες DNA, μετα-ανάλυση, ρευματοειδής αρθρίτιδα, γονιδιακή έκφραση, διαφορικά εκφρασμένα γονίδια.

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune inflammatory disease that affects the synovial joints. It is particularly a heterogeneous disease that the diagnosis is difficult in the early stages. During the development, RA causes many effects on the patient such as pain, disability, and various systemic problems. The pathogenesis has not been fully determined so the research continues until to date. However, the elucidation of certain molecular mechanisms has contributed to the development of innovative treatments.

In this research, the genetic loci that probably cause the begging of rheumatoid arthritis was determined. Data from DNA microarray experiments were selected and analyzed using the statistical method of meta-analysis. DNA microarrays provide the simultaneously study of many genes' expression in only one experiment. The aim of the study is to identify differentially expressed genes that are consistently associated with Rheumatoid arthritis using multiple results from microarray experiments.

In this study, data from public databases were used and analyzed at the online statistical tool MAGE: Meta-analysis of gene expression. Two meta-analyses were performed. The first contains data of blood sample microarray experiments and the second data of synovial tissue samples. From the first meta-analysis were determined 371 genes and from the second one 637 genes which are associated with rheumatoid arthritis. The use of analysis tools such as STRING, NAP and g:profiler determines the gene interactions as well as provides additional gene information. Further research is needed to be necessary for the identification of more correlations with the onset of rheumatoid arthritis.

Keywords: DNA microarrays, meta-analysis, rheumatoid arthritis, gene expression, differentially expressed genes.

1. Εισαγωγή

1.1 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια συστηματική, χρόνια, φλεγμονώδης διαταραχή που επηρεάζει αρχικά τις μικρές αρθρώσεις που περιβάλλονται από αρθρική μεμβράνη στα χέρια και τα πόδια. Είναι η πιο κοινή μορφή φλεγμονώδους αρθρίτιδας και επιφέρει πολλές επιπτώσεις στον ασθενή όπως πόνο, διάβρωση των αρθρώσεων, αναπηρία και απώλεια παραγωγικότητας (Lee and Weinblatt 2001).

Είναι μια εξαιρετικά ετερογενής αυτοάνοση ασθένεια καθιστώντας δύσκολη τη διάγνωση από τις πρώτες της εκδηλώσεις όταν είναι δηλαδή σε πρώιμο στάδιο (πρώιμη ρευματοειδής αρθρίτιδα). Το πρώτο σύνολο διαγνωστικών κριτηρίων καθιερώθηκε από το Αμερικανικό Κολέγιο Ρευματολογίας (American College of Rheumatology, ACR) το 1987 (Marsal and Juliá 2010).

Υπήρχε σε ιθαγενείς αμερικανικούς πληθυσμούς πριν από αρκετές χιλιάδες χρόνια, αλλά πιθανότατα δεν είχε εμφανιστεί στην Ευρώπη μέχρι τον 17ο αιώνα (Firestein 2003).

Η ΡΑ δεν επηρεάζει μόνο τις αρθρώσεις αλλά εμφανίζονται διάφορα εξω-αρθρικά χαρακτηριστικά και συστηματικές επιπλοκές. Οποιοδήποτε όργανο μπορεί να συσχετίζεται ενισχύοντας ή ακόμα και πυροδοτώντας τη ΡΑ. Το δέρμα συχνά συμμετέχει στις πιο σοβαρές περιπτώσεις της ασθένειας όπως τα ρευματοειδή οζίδια (Lora, Cerroni, and Cota 2018).

Επηρεάζει περίπου το 0.5-1% του πληθυσμού, σε μια αναλογία γυναικών/ανδρών 2.5/1. Μπορεί να προκύψει σε οποιαδήποτε ηλικία αλλά εμφανίζεται κυρίως από την ηλικία των 40 έως 70 με την επίπτωση να αυξάνεται με την πάροδο των ετών. Η γεωγραφική κατανομή της είναι παγκόσμια, με σημαντικά χαμηλό επιπολασμό στις αγροτικές περιοχές της Αφρικής και σημαντικά υψηλό σε συγκεκριμένες φυλές τις Αμερικής (Pima και Chippe). Δεν υπάρχει ξεκάθαρη συσχέτιση μεταξύ του επιπολασμού της ασθένειας και της κοινωνικοοικονομικής κατάστασης του ασθενούς (Lee and Weinblatt 2001).

Ο αυξημένος επιπολασμός στις γυναίκες υποδηλώνει μια σύνδεση μεταξύ της ανάπτυξης της ασθένειας και των γυναικείων ορμονών. Έχει παρατηρηθεί μείωση της επίπτωσης και της σοβαρότητας της ασθένειας με τη λήψη αντισυλληπτικών

φαρμάκων. Επίσης, σε γυναίκες ασθενείς που βρίσκονται σε περίοδο εγκυμοσύνης παρατηρείται ύφεση των συμπτωμάτων της ΡΑ ενώ μετά το πέρας της, όταν τα επίπεδα ορμονών ελαττώνονται, τα συμπτώματα εμφανίζονται απότομα (Clancy and Hasthorpe 2011). Η πρώτη κορύφωση της επίπτωσης προκύπτει μετά την πρώτη εγκυμοσύνη ενώ η δεύτερη κοντά στην εμμηνόπαυση (Lora et al. 2018).

Θετικό οικογενειακό ιστορικό στη ΡΑ αυξάνει το ρίσκο εμφάνισης της ασθένειας περίπου 3 με 5 φορές και είναι μεγαλύτερο στα μονοζυγωτικά δίδυμα από τα διζυγωτικά (Lora et al. 2018).

Η παθογένειά της δεν έχει προσδιοριστεί πλήρως με αποτέλεσμα όλο και περισσότερες έρευνες να προσδίδουν σημαντικές πληροφορίες για τους κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς της ακόμα και σήμερα. Οι πρώτες θεωρίες για την παθογένεια της ΡΑ επικεντρώθηκαν σε αυτο-αντισώματα και ανοσοσυμπλέγματα (Firestein 2003). Το επικρατέστερο μοντέλο συνδυάζει την επαναλαμβανόμενη έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ. κάπνισμα) με την προδιάθεση σε γενετικούς παράγοντες που σχετίζονται με την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. γονίδιο HLA-DR4) (Ngian 2010).

Η αποσαφήνιση ορισμένων μοριακών μηχανισμών έχει συμβάλει στην ανάπτυξη νέων θεραπειών για την αντιμετώπισή της όπως τα DMARDs (Disease Modifying Antirheumatic Drugs), φάρμακα που τροποποιούν την ασθένεια (Lee and Weinblatt 2001).

1.1.1 Κλινικά χαρακτηριστικά

Η εμφάνιση της ΡΑ μπορεί να είναι οξεία ή χρόνια. Συνήθως, οι ασθενείς εμφανίζουν συμμετρική αρθρίτιδα που επηρεάζει τους καρπούς, τις μετακαρποφαλαγγικές και εγγύς διαφαλαγγειακές αρθρώσεις των χεριών αλλά και των μεταταρσιοφαλαγγικών αρθρώσεων των ποδιών. Ο αριθμός των πρησμένων αρθρώσεων στην αρχή της εμφάνισης της ασθένειας είναι ένας δείκτης της προοδευτικής εξέλιξής της (Ngian 2010).

Η κλινική πορεία της διαταραχής είναι εξαιρετικά μεταβλητή, που κυμαίνεται από ήπια αρθρίτιδα, αυτό-περιοριζόμενη αρθρίτιδα έως ταχέως προοδευτική πολυσυστηματική φλεγμονή με μεγάλη νοσηρότητα και θνησιμότητα (Lee and Weinblatt 2001).

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της ΡΑ είναι η δυσκαμψία νωρίς το πρωί, η οποία μπορεί να διαρκέσει για περισσότερο από μία ώρα, ο πόνος και το οίδημα των περιφερειακών αρθρώσεων (Ngian 2010).

Τα συστηματικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν συμπτώματα που μοιάζουν με γρίπη, κόπωση, αδιαθεσία και απώλεια βάρους. Τα ρευματοειδή οζίδια, που παρουσιάζονται συνήθως στην πάνω όψη των αγκώνων, είναι ένα ειδικό χαρακτηριστικό που εμφανίζεται αργά στη νόσο και παρατηρείται μόνο στο 30% των ασθενών (Ngian 2010).

Συνοπτικά τα κλινικά χαρακτηριστικά της ΡΑ είναι (Lee and Weinblatt 2001):

➤ **Συμπτώματα**

- Οίδημα στις αρθρώσεις
- Πόνος/δυσκαμψία (συνήθως το πρωί και διαρκεί για πάνω από 1 ώρα)
- Αδυναμία
- Παραμόρφωση
- Κούραση
- Λιποθυμία
- Πυρετός
- Απώλεια βάρους
- Κατάθλιψη

➤ **Αρθρικά χαρακτηριστικά**

- Ευαισθησία ψηλάφησης
- Πάχυνση των αρθρώσεων
- Περιαρθρική διάχυση
- Ερύθημα
- Μειωμένο εύρος κινήσεων
- Αγκύλωση
- Υπεξάρθρωμα-μερική εξάρθρωση

Συνοπτικά μερικά από τα εξω-αρθρικά χαρακτηριστικά της ΡΑ είναι (Lee and Weinblatt 2001):

- **Δερματικά**
 - Ρευματοειδή οζίδια, αγγειίτιδα
- **Οφθαλμικά**
 - ξηρά κερατοεπιπεφυκίτιδα (ξηροφθαλμία), ιρίτιδα, επισκληρίτιδα
- **Στοματικά**
 - φλεγμονή σιέλου (συμπτώματα ξηρότητας)
- **Αναπνευστικά**
 - πνευμονική ίνωση, πλευριτική συλλογή (πλευρίτιδα), κρικοαρυταινοειδής φλεγμονή
- **Καρδιακά**
 - Φλεγμονή περικαρδίου (περικαρδίτιδα), σχηματισμός βαλβιδικών οζιδίων, μυοκαρδίτιδα
- **Νευρολογικά**
 - μονονευρίτιδα, εγκλωβισμός νευρών
- **Ηπατικά**
 - αυξημένες συγκεντρώσεις αμινοτρανσφεράσης
- **Αιματολογικά**
 - αναιμία, θρομβοκυττάρωση, λευκοκυττάρωση, λεμφαδενοπάθεια, σύνδρομο Felty: σπληνομεγαλία, θρομβοπενία
- **Αγγειακά**
 - αγγειίτιδα

1.1.2 Παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Η ΡΑ είναι μια ομοιοστατική ανισορροπία που συνήθως αναφέρεται ως αυτοάνοση ασθένεια άγνωστης αιτιολογίας και ποικίλει ως προς τη σοβαρότητα και την εξέλιξή της. Προκαλείται από μία πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών παραγόντων, περιβαλλοντικών παραγόντων και επιγενετικών τροποποιήσεων. Χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λευκοκυττάρων στον αρθρικό χώρο, την παραγωγή αυτό-αντισωμάτων και την καταστροφή του χόνδρου και του οστού της προσβεβλημένης άρθρωσης (Nevius, Gomes, and Pereira 2016). Η καλύτερη κατανόηση του τρόπου με

τον οποίο οι παθολογικοί μηχανισμοί οδηγούν στην εμφάνιση της PA θα βοηθήσει στην ανάπτυξη θεραπειών για κάθε στάδιο της εξέλιξής της (Guo et al. 2018).

Γενετικοί παράγοντες

Μελέτες σε μονοζυγωτικά δίδυμα συσχετίζουν διάφορους γενετικούς παράγοντες με την παθογένεση της PA σε ποσοστό 15-30% ενώ σε διζυγωτικά δίδυμα το ποσοστό αυτό είναι μόλις 5%. Η πιο μελετημένη γενετική συσχέτιση αποτελεί μια μεγάλη ομάδα γονιδίων του χρωμοσώματος έξι, αυτή των ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων (Human Leukocyte Antigens, HLA) και πιο συγκεκριμένα ο γενετικός τύπος HLA-DRB1 (γνωστός και ως κοινός επίτοπος). Τα γονίδια αυτά συμμετέχουν στην ανοσοαπόκριση των T-βοηθητικά κυττάρων τα οποία στη συνέχεια ενεργοποιούν τα B-κύτταρα ώστε να παράξουν αντισώματα εναντίων πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη PA (Clancy and Hasthorpe 2011).

Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Ορισμένες μελέτες συσχετίζουν τη PA με περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το κάπνισμα καθώς και άλλες μορφές βρογχικού στρες (π.χ. έκθεση σε διοξείδιο του πυριτίου) αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης PA. Επιπλέον, διάφοροι μολυσματικοί παράγοντες (π.χ. ο ιός Epstein–Barr, ο κυτταρομεγαλοϊός, διάφορα είδη του βακτηρίου Πρωτέας, το βακτήριο *E.coli* και το βακτήριο της περιοδοντικής νόσου *Porphyromonas gingivalis*), το γαστρεντερικό μικροβίωμα και τα προϊόντα τους έχουν συσχετισθεί με τη PA. Τέλος, άλλοι πιθανοί παράγοντες ίσως είναι μικροαγγειακοί και νευρολογικοί μηχανισμοί και μηχανισμοί που συσχετίζονται με μικροτραύματα (Lora et al. 2018; McInnes and Schett 2011).

Επιγενετική

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις συμβάλλουν στην παθογένεση της PA, πιθανώς μέσω της σύνδεσης των γενετικών παραγόντων με τους περιβαλλοντικούς. Η ακετυλίωση των ιστονών και η μεθυλίωση του DNA μπορούν να μεταβάλουν τη λειτουργία των αρθρικών ινοβλαστών και λευκοκυττάρων. Τα microRNAs αποτελούν μια πρόσθετη επιγενετική πτυχή στη PA καθώς στοχεύουν μόρια mRNA με σκοπό την αποικοδόμησή τους. Πολλά microRNAs έχουν αναγνωριστεί ως βασικοί ρυθμιστές λεμφοκυττάρων,

μακροφάγων και αρθρικών ινοβλαστών (π.χ. miR146a ή miR155) (Smolen, Aletaha, and McInnes 2016).

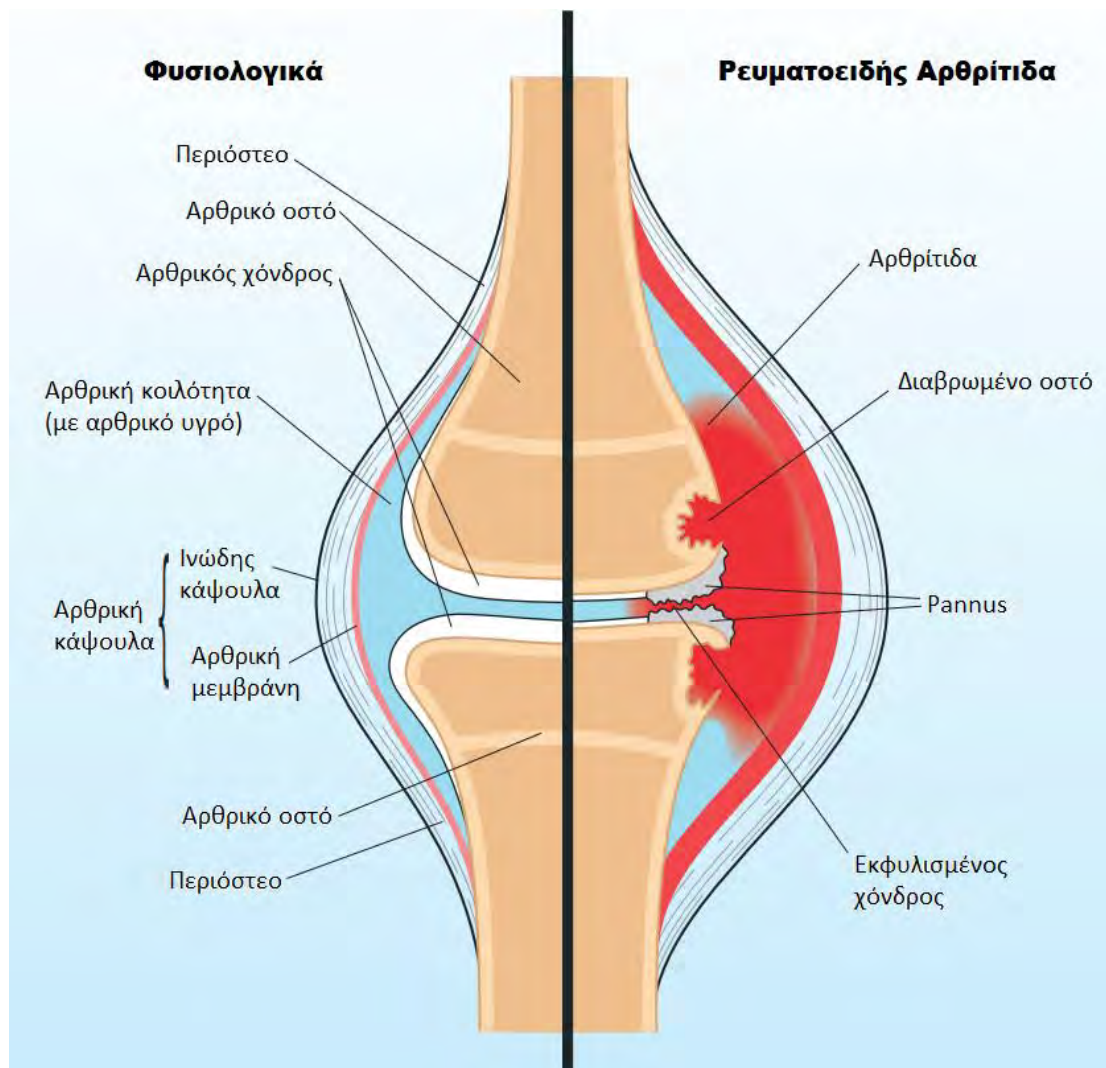
Χαρακτηριστικές μεταβολές

Ο αρθρικός υμένας δρα ως ομοιοστατικός ρυθμιστής για το περιβάλλον της άρθρωσης. Σχηματίζεται από δύο κυτταρικές επενδύσεις. Η εσωτερική επένδυση αποτελείται από μακροφάγα και κύτταρα ινοβλαστών και η εξωτερική περιλαμβάνει κυρίως ινοβλάστες και λιποκύτταρα (Clancy and Hasthorpe 2011).

Σε κάθε προσβεβλημένο οργανισμό εμφανίζονται ορισμένες αλλαγές. Οι κυριότερες είναι η ανάπτυξη φλεγμονής, η έντονη αγγειογένεση, η κυτταρική υπερπλασία, η στένωση του αρθρικού χώρου, η εισροή λευκοκυττάρων εντός της άρθρωσης, η παραγωγή αυτοαντισωμάτων (RF, ACPA), η υψηλή συγκέντρωση αρθρικού υγρού, οι αλλαγές στην έκφραση ποικίλων πρωτεϊνών (πρωτεΐνάσες, αναστολείς πρωτεϊνών, κυτταροκίνες, μόρια κυτταρικής προσκόλλησης), η καταστροφή του χόνδρου και του οστού και η ανάπτυξη συστηματικών διαταραχών (σκελετικές, καρδιαγγειακές, πνευμονικές, ψυχολογικές διαταραχές) (Clancy and Hasthorpe 2011; Lee and Weinblatt 2001; McInnes and Schett 2011).

Η ΡΑ ξεκινά με φλεγμονή της άρθρωσης στην εσωτερική επένδυση της κάψουλας. Παρατηρείται εισροή λευκοκυττάρων στον αρθρικό χώρο και αυξημένη συσσώρευση αρθρικού υγρού. Μέσα σε αυτό περιέχονται διάφορα ένζυμα όπως μεταλλοπρωτεϊνάσες (Clancy and Hasthorpe 2011). Η κυτταρική μετανάστευση ενεργοποιείται από την αρθρική μικροαγγείωση, η οποία αυξάνει την έκφραση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (όπως ιντεγγρίνες, σελεκτίνες, ανοσοσφαιρίνες) και χημειοκίνες (McInnes and Schett 2011). Η υπερβολική διείσδυση Τ βοηθητικών κυττάρων, Β κυττάρων και μακροφάγων του πλάσματος στον αρθρικό υμένα προκαλεί την πάχυνση του αρθρικού υμένα και τη δημιουργία υπερπλαστικού ιστού στην επιφάνεια του χόνδρου γνωστό ως pannus (Εικόνα 1.1) (Clancy and Hasthorpe 2011).

Τα αγγεία του αρθρικού υμένα αυξάνονται σε μέγεθος παρέχοντας άφθονο οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά στην υπερτροφική αρθρική μεμβράνη αλλά και διευκολύνοντας τη διέλευση των λευκοκυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος στους αρθρικούς ιστούς (Lee and Weinblatt 2001).



Εικόνα 1.1. Σύγκριση προσβεβλημένη από ΡΑ άρθρωσης με φυσιολογική. Από (Clancy and Hasthorpe 2011).

Αυτοαντισώματα

Η ΡΑ είναι μία ετερογενής ασθένεια που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ή απουσία αυτοαντισωμάτων. Εντοπίζονται κυρίως δύο κατηγορίες αυτοαντισωμάτων για τα οποία έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζονται με τη ΡΑ.

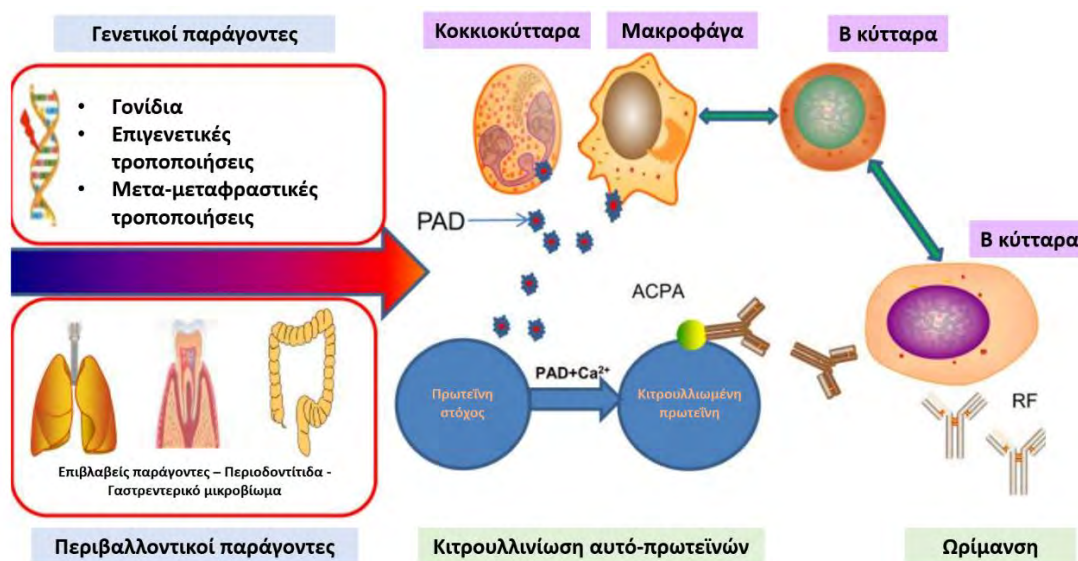
Ο ρευματοειδής παράγοντας (Rheumatoid Factor, RF) είναι το σύνολο των αντισωμάτων έναντι του Fc τμήματος της ανοσοσφαιρίνης IgG. Το Fc κλάσμα (επίτοπος) είναι το τμήμα του αντισώματος που συνδέεται με τα λευκοκύτταρα. Η παραγωγή RF οφείλεται στο ότι κατά την ένωση του αντιγόνου με την ανοσοσφαιρίνη IgG, το μόριο της IgG υφίσταται κάποια αλλοίωση κατά την οποία αλλάζει η στερεοδιάταξή της με αποτέλεσμα να αποκαλύπτονται συγκεκαλυμμένοι επίτοποι και

έτσι η τροποποιημένη IgG να δρα ως αυτοαντιγόνο προκαλώντας την παραγωγή αντισωμάτων.

Μια άλλη κατηγορία είναι τα αντισώματα που στρέφονται ενάντια στις κιτρουλλιωμένες πρωτεΐνες (Anti-citrullinated peptide antibodies ή ACPA). Η κιτρουλλινίωση ή κιτρουλλινοποίηση είναι μία μετα-μεταφραστική τροποποίηση που πραγματοποιείται σε ορισμένες πρωτεΐνες. Καταλύεται από το εξαρτώμενο από ασβέστιο ένζυμο πεπτιδυλοαργινίνη-αιμινάση (peptidylarginine deiminase ή PAD), αλλάζοντας μια θετικά φορτισμένη αργινίνη σε μια πολική αλλά ουδέτερη κιτρουλλίνη. Η κιτρουλλινίωση επιτρέπει στις κιτρουλλιωμένες πρωτεΐνες (αντιγόνα) να προσαρμοστούν πάνω στους διαμεμβανικούς υποδοχείς του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex ή MHC), πρωτεϊνικό προϊόν των γονιδίων των ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων. Το αποτέλεσμα της σύνδεσης τους είναι η παραγωγή αντισωμάτων ενάντια στις κιτρουλλιωμένες πρωτεΐνες (Εικόνα 1.2) (Scott, Wolfe, and Huizinga 2010). Κιτρουλλιωμένα κατάλοιπα υπάρχουν σε πολλές πρωτεΐνες του οργανισμού (π.χ. βιμεντίνη, α-ενολάση, φιμπρίνη, φιλαγγρίνη, φιμπρονεκτίνη, ινωδογόνο, ιστόνες, κολλαγόνο τύπου 2, κερατίνη, ινονεκτίνη) (Guo et al. 2018).

Στη ΡΑ, ο ιστός στον οποίο πραγματοποιούνται αυτές οι ανοσολογικές αποκρίσεις δεν έχει προσδιοριστεί. Ωστόσο, οι πνεύμονες είναι ένα πιθανό σημείο καθώς η ΡΑ σχετίζεται με το κάπνισμα και με την παρουσία κιτρουλλιωμένων πεπτιδίων σε βιοψίες πνευμονικού και αρθρικού ιστού (Smolen et al. 2016).

Υπάρχουν δύο κύριοι υποτύποι ρευματοειδούς αρθρίτιδας ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία αυτοαντισωμάτων. Η παρουσία τους συσχετίζεται με πιο σοβαρά συμπτώματα και μεγαλύτερη καταστροφή των αρθρώσεων. Κατά τη διάγνωση της ασθένειας τα ACPA αποτελούν πιο ευαίσθητο και ειδικό διαγνωστικό δείκτη από τον RF.



Εικόνα 1.2. Παραγωγή αυτο-αντισωμάτων (ACPA και RF). Από (Guo et al. 2018).

Φλεγμονή

Το οίδημα στις αρθρώσεις αντανακλά την φλεγμονή της αρθρικής μεμβράνης. Περιλαμβάνει κύτταρα φυσικής ανοσίας (π.χ. μονοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, μαστικά κύτταρα, λεμφοειδή κύτταρα) και κύτταρα επίκτητης ανοσίας (π.χ. Τ-βοηθητικά κύτταρα τύπου 1, Τ-βοηθητικά κύτταρα τύπου 17, Β-κύτταρα, πλασματοκύτταρα, πλασματοβλάστες). Η φλεγμονή ρυθμίζεται από ένα σύνθετο δίκτυο κυτταροκινών και χημειοκινών. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι ορισμένες κυτταροκίνες επηρεάζουν σημαντικά τη ΡΑ (π.χ. TNF, IL-6, GM-CSF) ενώ άλλες είναι λιγότερο σημαντικές (π.χ. IL-1). Οι κυτταροκίνες και οι χημειοκίνες επάγουν την φλεγμονώδη απόκριση ενεργοποιώντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα και προσελκύοντας τα ανοσοκύτταρα για να συσσωρευτούν εντός του αρθρικού χώρου. Η εξωκυττάρια ουσία του χόνδρου αποικοδομείται από μεταλλοπρωτεϊνάσες εξωκυττάριας ουσίας και άλλα ένζυμα (Smolen et al. 2016).

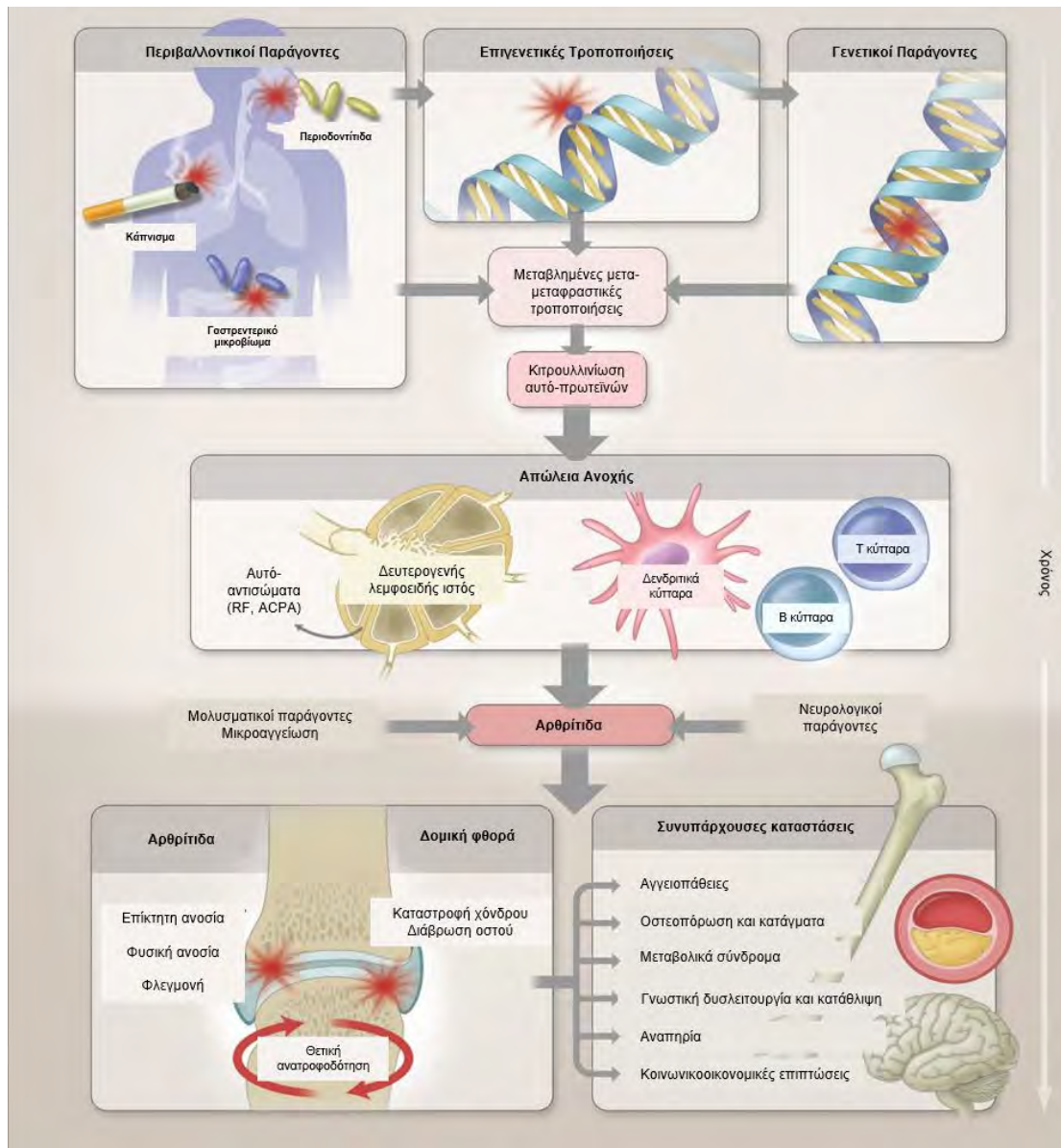
Φυσική ανοσία

Μια μεγάλη ποικιλία από κύτταρα που συμμετέχουν στην φυσική ανοσία της ΡΑ όπως μακροφάγα, μαστικά κύτταρα και κύτταρα φυσικοί φονείς (Natural Killers) βρίσκονται στην αρθρική μεμβράνη ενώ τα ουδετερόφιλα εντοπίζονται κυρίως στο αρθρικό υγρό. Οι παράγοντες διέγερσης αποικιών μακροφάγων (M-CSF), κοκκιοκύτταρο (G-CSF) και μακροφάγων-κοκκιοκυττάρων (GM-CSF) ενισχύουν την ωρίμανσή τους, την

εκροή τους από τον μυελό των οστών και τη μεταφορά τους στον αρθρικό χώρο. Τα μακροφάγα δρουν μέσω της απελευθέρωσης κυτταροκινών (π.χ. TNF-α, IL-1,6,12,15,18,23), δραστικών ενδιάμεσων οξυγόνου, νιτρικών ενδιάμεσων, της παραγωγής προστανοειδών και ενζύμων καταστροφής της εξωκυττάριας μήτρας, της φαγοκύτωσης, και της παρουσίας αντιγόνων. Τα ουδετερόφιλα συμβάλλουν στη σύνθεση προσταγλανδινών, πρωτεασών, χημειοκινών και δραστικών ενδιάμεσων οξυγόνου και τα μαστοκύτταρα παράγουν υψηλά επίπεδα αγγειοδραστικών αμινών, κυτταροκινών, χημειοκινών και πρωτεασών (McInnes and Schett 2011).

Επίκτητη ανοσία

Τα αντιγόνα που συνδέονται με την εμφάνιση της αρθρίτιδας (αυτοπρωτεΐνες) παρουσιάζονται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, ενεργοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα) σε ειδικά Τ-λεμφοκύτταρα, τα οποία και ενεργοποιούνται. Η ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων απαιτεί και ένα δεύτερο ερέθισμα από τα συνδιεγερτικά μόρια CD80 και CD86 που βρίσκονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Τα μόρια αυτά συνδέονται με το μόριο CD28 στην επιφάνεια των Τ-κυττάρων και οδηγούν στην πλήρη ενεργοποίησή τους. Στην πλειονότητά τους τα Τ-λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στον αρθρικό υμένα είναι ενεργοποιημένα και εκκρίνουν κυτταροκίνες, οι οποίες ενεργοποιούν μακροφάγα, Β-λεμφοκυττάρια, ινοβλάστες και οστεοκλάστες. Τα Β-λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε πλασματοκύτταρα, τα οποία εκκρίνουν αυτοαντισώματα (RF, ACPA). Τα αυτοαντισώματα αυτά μετά την αναγνώριση και πρόσδεση του ειδικού αντιγόνου σχηματίζουν ανοσοσυμπλέγματα, τα οποία με τη σειρά τους ενισχύουν την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF. Τα ενεργοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα αποκτούν και ρόλο αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων ενεργοποιώντας έτσι και άλλα Τ-λεμφοκύτταρα που εισέρχονται στον αρθρικό υμένα. Με αυτόν τον μηχανισμό δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος ενίσχυσης της αυτοάνοσης αντίδρασης στη ρευματοειδή αρθρίτιδα.



Εικόνα 1.3. Σταδιακή ανάπτυξη της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Από (Smolen et al. 2016).

Κυτταροκίνες

Οι κυτταροκίνες που εκφράζονται από τα Τ-κύτταρα έχουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της ΡΑ. Είναι μικρές διαλυτές πρωτεΐνες που μεσολαβούν στη διακυτταρική επικοινωνία και υπεύθυνες για την κυτταρική διαίρεση, τη διαφοροποίηση, την κυτταρική ανάπτυξη, την επιδιόρθωση των ιστών καθώς επίσης συμμετέχουν στην φλεγμονή με την προ-φλεγμονώδη και την αντι-φλεγμονώδη δράση τους (Clancy and Hasthorpe 2011; Lee and Weinblatt 2001).

Η υπερπαραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών θεωρείται ότι προκύπτει κυρίως από τα μακροφάγα (Scott et al. 2010).

Μελέτες έχουν αποδείξει ότι στον αρθρικό ιστό παρουσιάζονται κυρίως κυτταροκίνες όπως η IL-1, IL-2, IL-17, INF- γ , και ο TNF- α . Τόσο η IL-1 όσο και ο TNF- α λειτουργούν συνεργιστικά ως διεγέρτες στα κύτταρα του αρθρικού ιστού για λειτουργίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών, η έκφραση μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, η ενεργοποίηση και έκκριση άλλων κυτταροκινών και η παραγωγή προσταγλανδίνης (Lee and Weinblatt 2001).

Επιπλέον, μια ομάδα κυτταροκινών και υποδοχέων κυτταροκινών συμβάλλουν στην ομοιόσταση της φλεγμονής με την αντι-φλεγμονώδη δράση τους στην αρθρική μεμβράνη. Υπάρχουν δύο υποδοχείς του TNF (ο p55 και ο p75) και δύο της IL-1 (ο IL-1R1 και ο IL-1R2) οι οποίοι συνδέονται με τον TNF- α και την IL-1 λειτουργώντας ανταγωνιστικά για την πρόσδεσή τους με άλλους κυτταρικούς υποδοχείς. Ωστόσο, εντοπίζεται και ο αναστολέας του υποδοχέα της IL-1 (ο IL-1RA) ο οποίος εμποδίζει την δράση του (Lee and Weinblatt 2001). Η IL-1 ενεργοποιεί τα λευκοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα χονδροκύτταρα και τους οστεοκλάστες ενώ οι κινάσες Janus (JAK1, JAK3) μεσολαβούν για τη λειτουργία διάφορων κυτταροκινών, ιντερφερονών και αυξητικών παραγόντων στη ΡΑ.

Μεταλλοπρωτεϊνάσες εξωκυττάριας ουσίας

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι μια οικογένεια ενζύμων που συμμετέχουν στην καταστροφή και την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας μήτρας. Παράγονται σε μεγάλο βαθμό από τα αρθροκύτταρα τύπου ινοβλαστών. Υψηλά επίπεδα μεταλλοπρωτεϊνών συμβάλλουν στη διάβρωση των χόνδρων και των οστών (Lee and Weinblatt 2001).

Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης

Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης παίζουν ρόλο στην ενεργοποίηση των κυττάρων φλεγμονής. Προσδίδουν στα κύτταρα την ικανότητα να προσκολλώνται μεταξύ τους και στην εξωκυττάρια μήτρα. Είναι κεντρικά σε διάφορες βιολογικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένης της ομοιόστασης, της αγγειακής και επιθηλιακής ακεραιότητας, των ανοσολογικών αποκρίσεων και της οργανογένεσης (Lee and Weinblatt 2001).

Καταστροφή χόνδρου και οστού

Τα οστεοκύτταρα (οστεοκλάστες) έχουν σημαντικό ρόλο στην καταστροφή του οστού. Το πλήθος και η δραστηριότητα τους καθορίζεται από τον συνδέτη του υποδοχέα του

πυρηνικού παράγοντα κΒ (RANKL). Τα Τ-βοηθητικά κύτταρα ενεργοποιούν την παραγωγή του RANKL μέσω κυτταροκινών (TNF-α, IL-1,6,17). Η υπερβολική δραστηριότητα των Τ-βοηθητικών κυττάρων οδηγεί στην υπερ-έκφραση του RANKL με αποτέλεσμα τη μαζική παραγωγή οστεοκλαστών, γνωστή και ως οστεοκλαστογένεση. Οι οστεοκλάστες καταστρέφουν την εξωκυττάρια μήτρα του οστού και το διαβρώνουν (Clancy and Hasthorpe 2011). Επίσης, η καταστροφή του χόνδρου προκύπτει όταν κυτταροκίνες (TNF-α, IL-1,6) ενεργοποιούν τα αρθροκύτταρα με αποτέλεσμα την έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών εξωκυττάριας ουσίας στο αρθρικό υγρό. Τέλος, ορισμένες κυτταροκίνες ενεργοποιούν τα χονδροκύτταρα προκαλώντας την απελευθέρωση επιπλέον μεταλλοπρωτεϊνών στον χόνδρο (Choy 2012).

1.1.3 Πρόγνωση

Εργαστηριακές και ακτινολογικές αναλύσεις της ΡΑ καθώς και μελέτες από την κλινική πορεία της έχουν καθορίσει προγνωστικούς παράγοντες που υποδεικνύουν την εξέλιξή της. Δυστυχώς, κανένας δεν είναι αρκετά αξιόπιστος ώστε να επιτρέπει τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων. Η συχνή αξιολόγηση της δραστηριότητας της νόσου και η απόκριση στην εκάστοτε θεραπεία που εφαρμόζεται είναι ζωτικής σημασίας για την επιτυχή και μακροπρόθεσμη διαχείριση της ΡΑ (Lee and Weinblatt 2001).

Η καταστροφή των αρθρώσεων μπορεί να συμβεί γρήγορα στην πορεία της διαταραχής. Ακτινογραφικά αποτελέσματα υπάρχουν σε περισσότερο από το 70% των ασθενών εντός των πρώτων 2 ετών. Πιο ευαίσθητες τεχνικές, όπως η μαγνητική τομογραφία (MRI), μπορούν να εντοπίσουν από τους πρώτους 4 μήνες αρθρική υπερτροφία, οίδημα των οστών και πρώιμες διαβρωτικές αλλαγές. Επιπλέον, βιοψίες από κλινικά ασυμπτωματικές αρθρώσεις του γονάτου σε ασθενείς με πρώιμη ρευματοειδή αρθρίτιδα εμφανίζουν ενεργή αρθρίτιδα, που επισημαίνει τον ελλιπή συσχετισμό μεταξύ της κλινικής αξιολόγησης και της εξέλιξης της νόσου (Lee and Weinblatt 2001).

Ο ρυθμός εξέλιξης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας δεν έχει προσδιοριστεί. Τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών υποδεικνύουν μη γραμμική και ταχεία εξέλιξη κατά τα πρώτα χρόνια της νόσου, ενώ άλλες συνεχή, γραμμική και μακροπρόθεσμη εξέλιξη έως και 19 έτη. Ωστόσο, όλες οι μελέτες υποδεικνύουν την συσσώρευση μη

αναστρέψιμων καταστροφών στις αρθρώσεις σε όλες τις φάσεις της νόσου (Lee and Weinblatt 2001).

Μερικοί προγνωστικοί παράγοντες είναι (Lee and Weinblatt 2001):

- Παρουσία του ρευματοειδή παράγοντα (RF)
- Παρουσία των αλληλομόρφων HLA-DR4
- Πρόωρη διάβρωση των αρθρώσεων
- Σταδιακή αύξηση των προσβεβλημένων αρθρώσεων
- Πρόωρη αναπηρία
- Έναρξη σε μεγάλη ηλικία
- Παρουσία εξω-αρθρικών χαρακτηριστικών

Φλεγμονώδεις δείκτες

Η ταχύτητα καθίζησης ερυθροκυττάρων (Erythrocyte Sedimentation Rate, ESR) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP) είναι συνήθως αυξημένοι κατά τη διάγνωση της PA (Ngian 2010).

Ρευματοειδής παράγοντας (Rheumatoid Factor, RF)

Ο ρευματοειδής παράγοντας (RF) είναι ένα αυτο-αντίσωμα ενάντια στο Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης G (IgG). Είναι θετικός στο 60-70% των ασθενών με PA αλλά εμφανίζεται και σε άλλες φλεγμονώδεις ασθένειες όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ), το σύνδρομο Sjogren και η κρυοσφαιριναιμία. Η παρουσία του στη PA, υποδεικνύει την πιο επιθετική μορφή της (Ngian 2010).

Αντισώματα έναντι του κυκλικού κιτρουλλιωμένου πεπτιδίου (anti-CCP)

Τα αντισώματα anti-CCP έχουν παρόμοια ευαισθησία αλλά υψηλότερη εξειδίκευση για τη PA από τον RF. Ο έλεγχος για το συνδυασμό των αντισωμάτων anti-CCP και του RF μπορεί να είναι πιο αξιόπιστος από τον μεμονωμένο έλεγχο τους (Ngian 2010).

Απεικονιστικοί έλεγχοι

Οι ακτινογραφίες, οι μαγνητικές τομογραφίες και τα υπερηχογραφήματα από τις προσβεβλημένες αρθρώσεις των χεριών και των ποδιών καταδεικνύουν τις διαβρώσεις που έχουν υποστεί σε σχέση με την αρχική τους κατάσταση (Ngian 2010).

Άλλοι έλεγχοι

Ο πλήρης αιματολογικός έλεγχος και ο έλεγχος της υπατικής και νεφρικής λειτουργίας πρέπει να διεξάγονται για τον εντοπισμό ανωμαλιών. Πιθανές ανωμαλίες της ΡΑ είναι αναιμία, θρομβοκυττάρωση και λευκοκυττάρωση. Ο έλεγχος για αντι-πυρηνικά αντίσωματα (Anti-nuclear antibodies, ANA) μπορεί να είναι χρήσιμος εάν υπάρχει υποψία διάγνωσης ΣΕΛ, αν και ορισμένοι ασθενείς με ΡΑ είναι θετικοί. Ομοίως, μπορεί να είναι απαραίτητη η ανάλυση του αρθρικού υγρού για να αποκλειστούν άλλες αρθρίτιδες όπως η ουρική αρθρίτιδα ή η σηπτική αρθρίτιδα (Ngian 2010).

1.1.4 Διάγνωση

Τα πρώτα κριτήρια για την διάγνωση της ΡΑ καθιερώθηκαν από το Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας (American College of Rheumatology, ACR) το 1987. Ωστόσο, τα κριτήρια αυτά δεν ήταν ικανά να διαχωρίσουν την πρώιμη από την ενεργή ΡΑ. Το 2007, με την συνεισφορά διαφόρων μελετών τόσο στην πρώιμη όσο και στην ενεργή ΡΑ, καθορίστηκε το μοντέλο πρόγνωσης της πρώιμης ΡΑ. Το μοντέλο αυτό σε συνδυασμό με τα κριτήρια του ACR το 1987 και με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Κατά του Ρευματισμού (European League Against Rheumatism, EULAR) δημιούργησαν τα νέα κριτήρια που επιτρέπουν την εγκαίρως διάγνωση της ασθένειας (Scott et al. 2010; Wasserman 2011).

Κριτήρια ACR 1987

1. Πρωινή δυσκαμψία (τουλάχιστον για 1 ώρα)
2. Αρθρίτιδα σε 3 ή περισσότερες αρθρικές περιοχές
3. Αρθρίτιδα σε αρθρώσεις των χεριών (περισσότερες από 1 αρθρώσεις με οίδημα)
4. Συμμετρική αρθρίτιδα
5. Ρευματοειδή οζίδια
6. Αυξημένος ρευματοειδής παράγοντας στο πλάσμα
7. Ραδιογραφικές αλλαγές (π.χ. διαβρώσεις)

Για να έχει ο ασθενής ΡΑ, θα πρέπει να ισχύουν τουλάχιστον τέσσερα από τα επτά κριτήρια. Τα κριτήρια 1 έως 4 θα πρέπει να υπάρχουν για τουλάχιστον 6 εβδομάδες.

Κριτήρια ACR/EULAR 2010

1. Συμμετοχή αρθρώσεων (0-5)
 - Μια μέτρια προς μεγάλη άρθρωση (0)
 - Δύο έως δέκα μέτριες προς μεγάλες αρθρώσεις (1)
 - Μια έως τρεις μικρές αρθρώσεις (οι μεγάλες αρθρώσεις δεν προσμετρώνται) (2)
 - Τέσσερις έως δέκα μικρές αρθρώσεις (οι μεγάλες αρθρώσεις δεν προσμετρώνται) (3)
 - Περισσότερες από δέκα αρθρώσεις (με τουλάχιστον μία μικρή άρθρωση) (5)
2. Ορολογικός έλεγχος (0-3)
 - Αρνητικός στον RF και στα ACPA (0)
 - Θετικός και χαμηλός στον RF και στα ACPA (2)
 - Θετικός και υψηλός στον RF και στα ACPA (3)
3. Αντιδραστήρια οξείας φάσης (0-1)
 - Φυσιολογικά επίπεδα CRP και ESR (0)
 - Μη φυσιολογικά επίπεδα CRP ή ESR (1)
4. Διάρκεια συμπτωμάτων (0-1)
 - Λιγότερο από έξι εβδομάδες (0)
 - Τουλάχιστον έξι εβδομάδες (1)

Οι πόντοι δίνονται στις παρενθέσεις. Για να έχει ο ασθενής RA, θα πρέπει να συγκεντρώνει τουλάχιστον έξι πόντους. RF=rheumatoid factor (ρευματοειδής παράγοντας), ACPA=antibodies against citrullinated antigens (αντισώματα κατά των κιτρουλλιωμένων αντιγόνων), CRP=C-reactive protein (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη), ESR=erythrocyte sedimentation rate (ταχύτητα καθίζησης ερυθροκυττάρων).

1.1.5 Θεραπεία

Απλά αναλγητικά και μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Τα απλά αναλγητικά φάρμακα είναι ιδιαίτερως σημαντικά σε ασθενείς που πάσχουν από RA. Η παρακεταμόλη αποτελεί το αναλγητικό που συνήθως επιλέγεται λόγω του εξαιρετικού προφίλ ασφάλειας. Ωστόσο, δεν προσφέρει επαρκή ανακούφιση από τον

πόνου. Τα συμβατικά μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) και οι αναστολείς κυκλο-οξυγενάσης-2 (COX-2) είναι αποτελεσματικότερα από τα απλά αναλγητικά αλλά με σημαντική γαστρεντερική, νεφρική και καρδιαγγειακή τοξικότητα. Παρόλο που μειώνουν τον πόνο και τη δυσκαμψία, δεν προστατεύουν από την καταστροφή των αρθρώσεων και επομένως δεν τροποποιούν την ασθένεια. Εάν χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να χορηγούνται στην χαμηλότερη και αποτελεσματικότερη δόση καθώς επίσης και για τη μικρότερη δυνατή χρονική διάρκεια (Ngian 2010).

Κορτικοστεροειδή

Σε ασθενείς που τα απλά αναλγητικά και τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα δεν επαρκούν, προτείνονται τα κορτικοστεροειδή. Τα στοματικά κορτικοστεροειδή είναι αποδοτικότερα αλλά δε συνιστώνται για καθημερινή χρήση εξαιτίας των παρενεργειών τους όπως η οστεοπόρωση (Ngian 2010).

Φάρμακα που τροποποιούν την ασθένεια (Disease Modifying Antirheumatic Drugs, DMARDs)

Έχουν σημειωθεί σημαντικές αλλαγές στη διαχείριση της ΡΑ από τα μέσα της δεκαετίας του '90. Τα DMARDs επιτυγχάνουν τη συντομότερη και επιθετικότερη αντιμετώπιση της ΡΑ καθώς μειώνουν το ρυθμό διάβρωσης των αρθρώσεων και επομένως έχουν τη δυνατότητα να αλλάξουν την πορεία της ασθένειας μέσω της πρόληψης. Οι ασθενείς με ΡΑ θα πρέπει να χορηγηθούν τα DMARDs όσο το δυνατόν συντομότερα μετά τη διάγνωση.

Υπάρχουν δύο μεγάλες κατηγορίες DMARDs: τα συνθετικά και τα βιολογικά. Τα συνθετικά DMARDs διακρίνονται περαιτέρω στα συμβατικά συνθετικά και στα στοχευμένα συνθετικά. Η χρήση συμβατικών συνθετικών DMARDs έχει εξελιχθεί εμπειρικά και οι τρόποι δράσης τους παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι. Αντίθετα, τα στοχευμένα συνθετικά DMARDs έχουν αναπτυχθεί για την τροποποίηση ενός συγκεκριμένου στόχου που εμπλέκεται στη δημιουργία φλεγμονής. Τα βιολογικά DMARDs είναι μια ομάδα φαρμάκων που στοχεύουν σε συγκεκριμένα μόρια ή μοριακά μονοπάτια που συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις της ΡΑ (Guo et al. 2018). Περιλαμβάνουν μονοκλωνικά αντισώματα και ανασυνδυασμένους υποδοχείς που εμποδίζουν τις κυτταροκίνες οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον καταρράκτη φλεγμονικών αντιδράσεων (Πίνακας 1.1) (Wasserman 2011).

Η μεθοτρεξάτη είναι το πιο κοινό DMARD λόγω της αποτελεσματικότητας, του θετικού προφίλ τοξικότητας και του χαμηλού κόστους της (Ngian 2010).

Η συνδυαστική θεραπεία με δύο ή περισσότερα DMARDs είναι πιο αποτελεσματική από τη μονοθεραπεία. Ωστόσο, οι αρνητικές επιπτώσεις μπορεί να είναι μεγαλύτερες (Wasserman 2011).

Πίνακας 1.1. Ενδεικτικά DMARDs και ο μηχανισμός λειτουργίας τους στη PA.

DMARDs	
Συμβατικά συνθετικά DMARDs	
Φάρμακο	Βιολογικός μηχανισμός στη PA
Methotrexate	Αναστολή της διϋδροφολικής αναγωγής
Leflunomide	Αναστολή σύνθεσης της πυριμιδίνης
Hydroxychloroquine	Αντιελονοσιακό Μπλοκάρισμα των toll υποδοχέων
Sulfasalazine	Μείωση φυλλικού οξέος
Minocycline	Αντιμικροβιακό
Χρυσό θειομαλικό νάτριο (Gold sodium thiomalate)	Αναστολή της επεξεργασίας αντιγόνων Μείωση κυτταροκινών (TNF, IL-6)
Cyclosporine	Αναστολή της καλσινευρίνης Μείωση της IL-2
Στοχευμένα συνθετικά DMARDs	
Tofacitinib	Αναστολή των janus κινασών 1/2/3 (JAK1/2/3)
Baricitinib	Αναστολή των janus κινασών 1/2 (JAK1/2)
Βιολογικά DMARDs	
Adalimumab	Αναστολέας του TNF-α
Certolizumab pegol	Αναστολέας του TNF-α
Etanercept	Αναστολέας του TNF-α
Golimumab	Αναστολέας του TNF-α
Infliximab	Αναστολέας του TNF-α
Abatacept	Αναστολή της συνδιέγερσης για την πλήρη ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων
Rituximab	Anti-CD20 Μείωση B-κυττάρων
Anakinra	Αναστολή των υποδοχέων της IL-1 (anti-IL-1)
Canakinumab	Αναστολή της IL-1
Rilonacept	Αναστολή της IL-1
Secukinumab	Αναστολή της IL-17
Ixekizumab	Αναστολή της IL-17

Tocilizumab	Αναστολή των υποδοχέων της IL-6
Denosumab	Αναστολή του RANKL

1.2 Μικροσυστοιχίες DNA

Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) αποτελεί τον πυρήνα των κύτταρων όλων των ζωντανών οργανισμών. Το DNA των ευκαρυωτικών οργανισμών και συνεπώς του ανθρώπου είναι ένα δίκλωνο μόριο όπου οι δύο κλώνοι συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου όπως είναι γνωστό από τη μοριακή βιολογία. Είναι οργανωμένο σε γονίδια και στις ρυθμιστικές περιοχές τους από όπου προκύπτουν μέσα από τη μεταγραφή τα διάφορα μόρια RNA (mRNA, tRNA, snRNA, rRNA, miRNA κτλ.). Μόνο τα mRNA μόρια προχωρούν στο στάδιο της μετάφρασης σε πρωτεΐνες οι οποίες καθορίζουν την ανάπτυξη και τις διάφορες λειτουργίες του κυττάρου. Το ίδιο DNA υπάρχει σε όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού αλλά σε κάθε κυτταρικό τύπο ακόμα και κάθε χρονική στιγμή λειτουργούν διαφορετικά γονίδια. Θα λέγαμε ότι κάθε στιγμή ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου ενεργοποιούνται κάποια γονίδια ενώ κάποια άλλα καταστέλλονται. Αυτή η επιλεκτική και πολύ καλά ελεγχόμενη ρύθμιση ονομάζεται γονιδιακή έκφραση. Από πολύ νωρίς οι επιστήμονες έδειξαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, ωστόσο, τα πρώτα πειράματα μπορούσαν να ελέγξουν λίγα μόνο γονίδια κάθε φορά με αποτέλεσμα να μην έχουν μια συνολική αποτύπωση της γονιδιακής λειτουργίας.

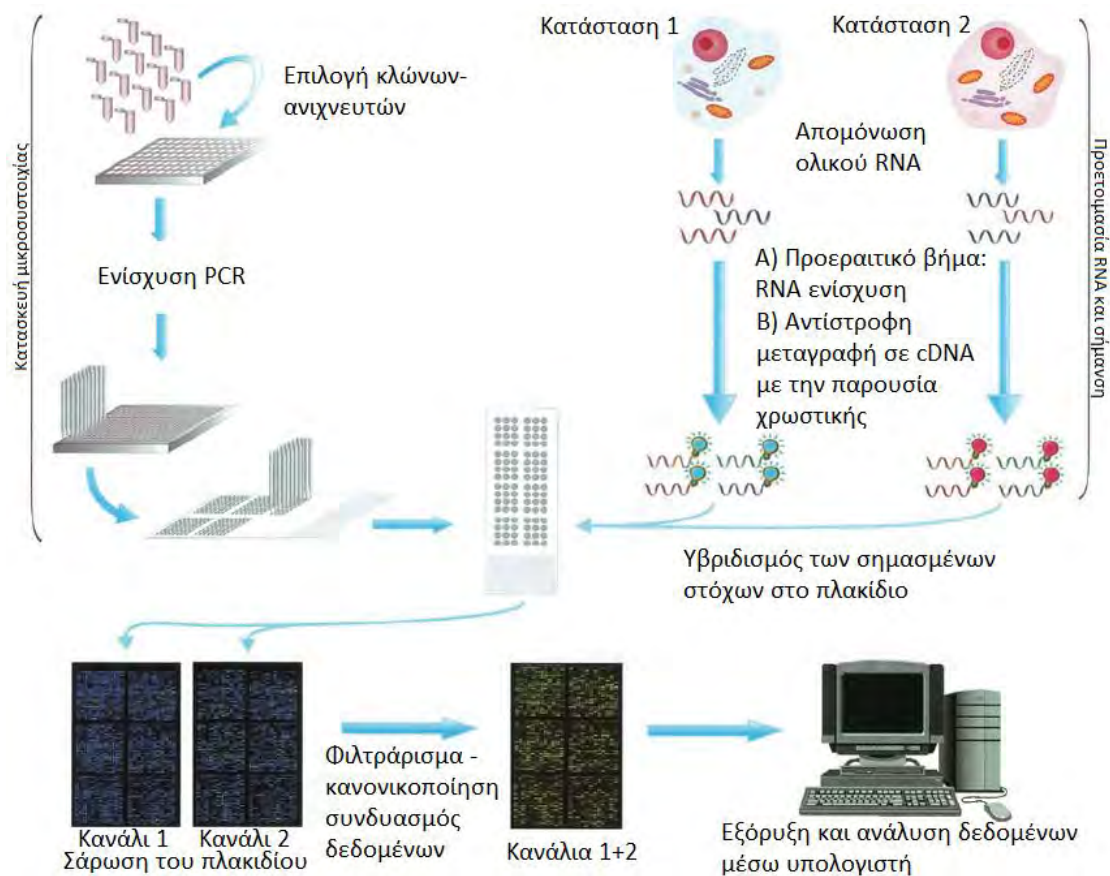
Η πραγματοποίηση της αλληλούχισης διάφορων ευκαρυωτικών γονιδιωμάτων ενίσχυσε τους γονιδιωματικούς ερευνητές. Ορισμένα από τα ερωτήματα που προέκυψαν ήταν: ποια είναι η λειτουργία των διάφορων γονιδίων και σε ποια κυτταρική διαδικασία συμμετέχουν, πως ρυθμίζονται τα γονίδια και πως αλληλεπιδρούν με τα γονιδιακά προϊόντα, πως διαφοροποιούνται τα επίπεδα έκφρασης στους διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους και καταστάσεις και πως αλλάζει η γονιδιακή έκφραση στις ασθένειες και στις θεραπείες με φάρμακα (Brazma and Vilo 2000).

Στις απαντήσεις των παραπάνω ερωτημάτων συνεισέφερε η ανακάλυψη των πειραμάτων μικροσυστοιχιών DNA. Οι μικροσυστοιχίες DNA μπορούν να ελέγξουν ταυτόχρονα χιλιάδες γονίδια με μεγάλη ταχύτητα και αποτελεσματικότητα απομονώνοντας απλά το mRNA των κυττάρων (Novoradovskaya et al. 2004). Καθοριστικό ρόλο είχε μια μοναδική ιδιότητα των μορίων DNA και RNA, αυτή της

συμπληρωματικότητας. Στο DNA η αδερίνη(A) δημιουργεί δεσμούς υδρογόνου μόνο με τη θυμίνη(T) και αντίστροφα και η γουανίνη(G) μόνο με την κυτοσίνη(C) και αντίστροφα (Watson and Crick 1953). Το ίδιο ισχύει και για τα μόρια mRNA με την μόνη διαφορά ότι η αδερίνη(A) συνδέεται με ουρακίλη(U). Ανάμεσα στην αδερίνη και τη θυμίνη αναπτύσσονται δύο δεσμοί υδρογόνου ενώ ανάμεσα στη γουανίνη και την κυτοσίνη αναπτύσσονται τρεις. Οι δεσμοί υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ δύο μονόκλωνων και συμπληρωματικών μορίων είναι ικανοί να σταθεροποιήσουν τη σύνδεσή τους. Αυτό ονομάζεται υβριδοποίηση και χρησιμοποιείται στις μικροσυστοιχίες DNA, γνωστές και ως DNA τσιπ (DNA chip).

Κάθε τσιπ αποτελείται από μία στερεή επιφάνεια, συνήθως γυάλινη, η οποία χωρίζεται σε μικρές κουκκίδες ή αλλιώς σποτάκια (spots). Κάθε γραμμή από κουκκίδες αντιπροσωπεύει ένα γονίδιο. Η επιλογή των γονιδίων που θα ελεγχθούν για την έκφραση τους καθορίζεται από το βιολογικό ερώτημα. Κάθε κουκκίδα περιέχει σταθεροποιημένους ανιχνευτές (probes) δηλαδή μια συγκεκριμένη μονόκλωνη αλληλουχία μερικών νουκλεοτιδίων, χαρακτηριστική για το κάθε γονίδιο. Τα μόρια mRNA που απομονώνονται χρησιμοποιούνται για την αντίστροφη μεταγραφή και την δημιουργία των αντίστοιχων μονόκλωνων DNA μορίων (cDNA). Τα cDNA μόρια ιχνηθετούνται με φθορίζουσες χρωστικές και υβριδοποιούνται με τους ανιχνευτές της μικροσυστοιχίας (Lee et al. 2004).

Σε επόμενο στάδιο το τσιπ σαρώνεται με λέιζερ και η ένταση της ακτινοβολίας μεταφράζεται σε έναν αριθμό ως τελική έξοδος, ο οποίος αντιπροσωπεύει την σχετική γονιδιακή έκφραση (Van Hal et al. 2000). Οι μικροσυστοιχίες χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο σε περιπτώσεις σύγκρισης των επιπέδων έκφρασης ανάμεσα σε δύο καταστάσεις. Η πρώτη κατάσταση είναι αυτή που φέρει το ερευνητικό ενδιαφέρον για μελέτη και η δεύτερη είναι η κατάσταση ελέγχου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση όπου η μια κατάσταση είναι τα επίπεδα έκφρασης ασθενών κυττάρων που δεν γνωρίζουμε ποια απορρυθμισμένα γονίδια προκαλούν την ασθένεια και η κατάσταση ελέγχου είναι τα επίπεδα έκφρασης υγιών κυττάρων (Macgregor and Squire 2002). Η διαφορική γονιδιακή έκφραση των δυο καταστάσεων συχνά φανερώνει τα γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά στην παθολογική κατάσταση δίνοντας την δυνατότητα στους ερευνητές να μελετήσουν περεταίρω τα συγκεκριμένα μόνο γονίδια (Εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.4. Συνολική διαδικασία παρασκευής ενός πειράματος μικροσυστοιχιών. Εικόνα από (Macgregor and Squire 2002).

1.2.1 Κατασκευή πειράματος μικροσυστοιχιών DNA

Τα πειράματα μικροσυστοιχιών DNA παρέχουν τη δυνατότητα ελέγχου πολλών γονιδίων ταυτόχρονα. Η πολυπλοκότητα τους καθιστά αναγκαία τη διάσπαση της πειραματικής διαδικασίας σε αυτοτελή και διαδοχικά στάδια. Η επιτυχής υλοποίηση του κάθε βήματος θα εξασφαλίσει την ορθότητα των τελικών αποτελεσμάτων.

ΣΤΑΔΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΣ

Πριν την έναρξη της κατασκευής ενός πειράματος μικροσυστοιχιών απαραίτητη προϋπόθεση είναι η διατύπωση του βιολογικού ερωτήματος. Θα πρέπει να προσδιοριστεί με ακρίβεια και σαφήνεια ώστε να καταγραφούν οι στόχοι του συγκεκριμένου πειράματος και οι συνθήκες κάτω από τις οποίες πρόκειται να διεξαχθεί. Για παράδειγμα στην περίπτωση της μελέτης μιας ασθένειας, ο στόχος του πειράματος είναι να βρεθούν τα γονίδια που λειτουργούν διαφορετικά στα ασθενή κύτταρα σε σχέση με τα υγιή ώστε να προσδιοριστούν τα αίτια της ασθένειας.

Επιπλέον, καθοριστικό ρόλο έχουν η διαθεσιμότητα του βιολογικού υλικού (δηλαδή αν υπάρχουν δείγματα που να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο πείραμα) και ποσότητα του καθώς μια μικρή ή μια μεγάλη ποσότητα θα επηρεάσει την ένταση φθορισμού των μορίων και συνεπώς τις τιμές στην τελική έξοδο των αποτελεσμάτων.

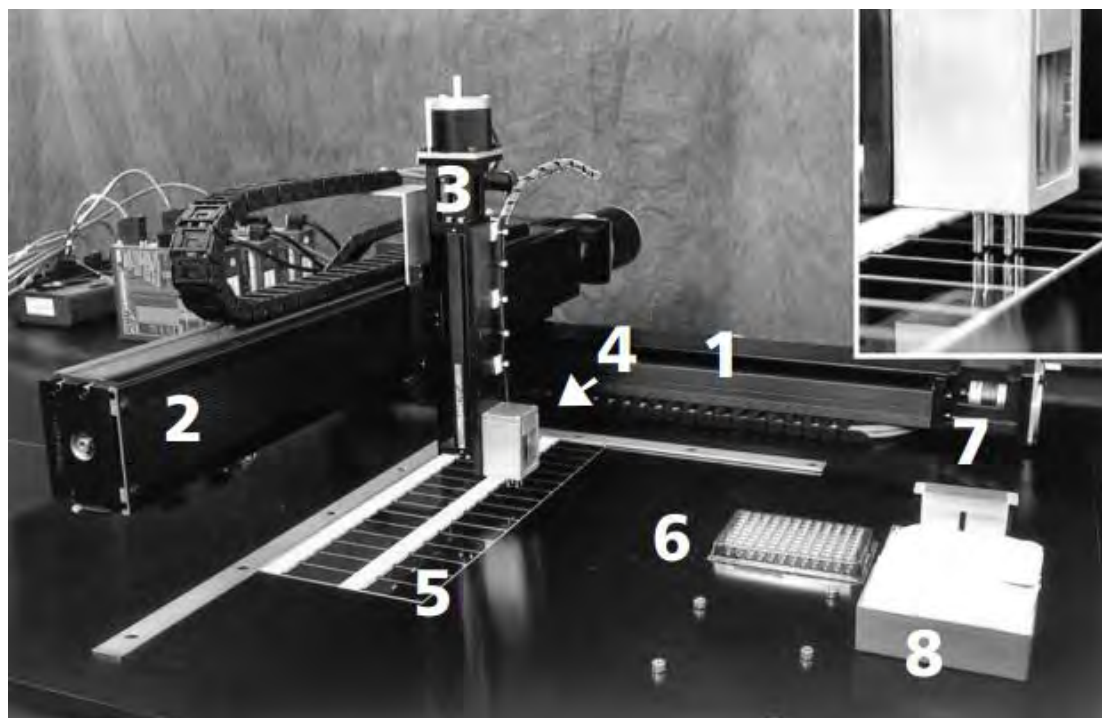
ΣΤΑΔΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΤΣΙΠ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΑΣ

Η διατύπωση του βιολογικού ερωτήματος καθορίζει και την επιλογή της καταλληλότερης τεχνολογίας τσιπ που έχει κατασκευαστεί μέχρι στιγμής. Υπάρχουν διάφοροι τύποι τσιπ μικροσυστοιχιών που ο καθένας έχει ορισμένα πλεονεκτήματα αλλά και μειονεκτήματα. Ωστόσο, έπειτα από έρευνες έχει αποδειχθεί ότι κάθε τύπος ευνοεί τη διεξαγωγή διαφορετικού πειραματικού σχεδιασμού. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι είναι δύο : οι μικροσυστοιχίες σύνθεσης επί τόπου (in situ microarrays) και οι μικροσυστοιχίες εκτύπωσης (spotted microarrays). Οι μικροσυστοιχίες εκτύπωσης χωρίζονται επιπλέον ως προς το μέγεθος των ανιχνευτών στις μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων (oligonucleotide microarrays) και στις μικροσυστοιχίες συμπληρωματικού DNA (cDNA microarrays) (Miller and Tang 2009).

Μικροσυστοιχίες εκτύπωσης

Οι μικροσυστοιχίες εκτύπωσης (spotted microarrays) ήταν η πρώτη μέθοδος που ανακαλύφθηκε και χρησιμοποιείται ακόμα και σήμερα σε πολλές περιπτώσεις. Η τεχνολογία τους βασίζεται στη σύνθεση των ανιχνευτών (probes) in vitro και έπειτα στη μηχανική εκτύπωσή τους πάνω στο τσιπ όπου και σταθεροποιούνται (Εικόνα 1.5) (Cheung et al. 1999). Η επιλογή των ανιχνευτών προκύπτει από τα γονίδια των οποίων η έκφραση πρόκειται να ελεγχθεί. Οι αλληλουχίες των γονιδίων στόχων λαμβάνονται από δημόσιες βάσεις δεδομένων όπως η GenBank (Benson et al. 2015) και οι ανιχνευτές συντίθενται ώστε να αντιπροσωπεύουν όσο γίνεται πιο ειδικά κάθε ένα από τα γονίδια που περιέχει το πείραμα μικροσυστοιχιών (Tomiuk and Hofmann 2001). Όσο περισσότερα γονίδια ελέγχονται σε ένα τσιπ τόσο πιο δύσκολη είναι η επιλογή ανιχνευτών μοναδικών για κάθε γονίδιο. Οι ανιχνευτές μπορεί να είναι ολιγονουκλεοτίδια (περίπου 20-70 νουκλεοτίδια) ή cDNA αλληλουχίες εκατοντάδων νουκλεοτιδίων που ενισχύονται με τη μέθοδο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (Stekel 2003).

Το κυριότερο πλεονέκτημα των μικροσυστοιχιών εκτύπωσης είναι η δυνατότητα δημιουργίας μεγάλου μήκους ανιχνευτών. Το μεγάλο μέγεθός τους προσφέρει υψηλή ευαισθησία κατά την υβριδοποίηση. Ωστόσο, από την αρνητική σκοπιά είναι ευκολότερη η ανάπτυξη μη ειδικής υβριδοποίησης (cross hybridization) σε σχέση με αλληλουχίες μικρότερου μήκους μειώνοντας έτσι την ακρίβεια (Halperin, Buhot, and Zhulina 2004).



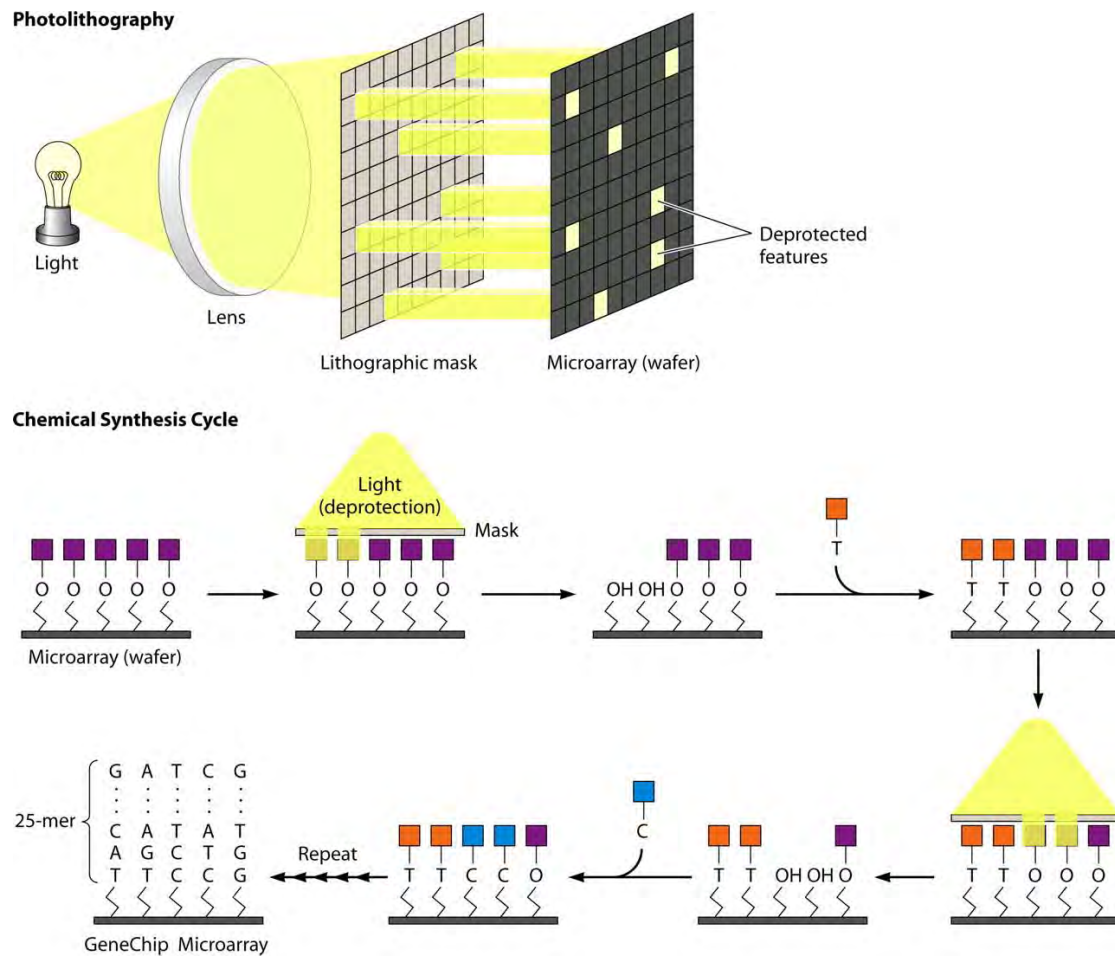
Εικόνα 1.5. Εκτυπωτής μικροσυστοιχιών. Τα σημεία (1), (2) και (3) αποτελούν τους άξονες x,y και z του εκτυπωτή. (4) είναι η κεφαλή του εκτυπωτή που έχει μέσα τις μύτες εκτύπωσης. (5) οι θέσεις στις οποίες τοποθετούνται τα γυάλινα πλακίδια. (6) τα επεξεργασμένα δείγματα. (7) και (8) οι θέσεις όπου οι μύτες πλένονται και στεγνώνονται αντίστοιχα μετά από την χρήση κάθε δείγματος. Εικόνα από (Cheung et al. 1999).

Μικροσυστοιχίες in situ

Η κατασκευή των μικροσυστοιχιών in situ δεν προετοιμάζει τους ανιχνευτές in vitro όπως οι μικροσυστοιχίες εκτύπωσης αλλά τους συνθέτη μηχανικά απευθείας πάνω στην γυάλινη επιφάνεια του τσιπ. Τα νουκλεοτίδια είναι συγκεντρωμένα και διαχωρισμένα μεταξύ τους καθώς επίσης φέρουν μια προστατευτική ομάδα που δεν τους επιτρέπει να αναπτύξουν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Οι ομάδες αυτές είναι ευαίσθητες και απομακρύνονται με την έκθεση υπεριώδους ακτινοβολίας. Αρχικά, όλες οι μελλοντικές θέσεις σταθεροποίησης των ανιχνευτών πάνω στην

μικροσυστοιχία φέρουν από μια προστατευτική ομάδα (microarray wafer). Στη συνέχεια, με την χρήση μιας λιθογραφικής μάσκας που χρησιμοποιείται ως φίλτρο, καθορίζονται οι θέσεις στις οποίες οι προστατευόμενες ομάδες θα διασπαστούν από το υπεριώδες φως. Με τέσσερις επαναλήψεις (μία για κάθε νουκλεοτίδιο) σε κάθε θέση θα έχει προστεθεί το πρώτο νουκλεοτίδιο. Η ίδια διαδικασία συνεχίζεται με διαδοχικές επαναλήψεις για την πρόσδεση των υπόλοιπων νουκλεοτιδίων που καθορίζεται από το πρότυπο της λιθογραφικής μάσκας (Pease et al. 1994). Η αλληλουχία των ανιχνευτών καθορίζεται όπως έχει ήδη αναφερθεί από βάσεις δεδομένων γονιδιακών αλληλουχιών (Εικόνα 1.6). Ο συγκεκριμένος τύπος μικροσυστοιχιών αναπτύχθηκε από την εταιρία Affymetrix.

Συνήθως οι ανιχνευτές έχουν μήκος 25 νουκλεοτιδίων αλλά δεν χρησιμοποιείται μόνο μία αλληλουχία για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης κάθε γονιδίου. Η Affymetrix χρησιμοποιεί ένα σύνολο ανιχνευτών για κάθε γονίδιο το οποίο χωρίζεται σε δύο τύπους. Ο πρώτος τύπος αποτελείται από ανιχνευτές με τέλειο ταίριασμα για τα γονίδια στόχους (perfect match, PM) και ο δεύτερος αποτελείται από ανιχνευτές με μη ταίριασμα (mismatch, MM). Ο ρόλος των mismatch ανιχνευτών είναι να λειτουργούν ως αρνητικός έλεγχος για τη μη ειδική υβριδοποίηση. Ένα τυπικό σύνολο ανιχνευτών της Affymetrix αποτελείται από 11 perfect match και 11 mismatch ανιχνευτές. Εμπνευσμένοι από τη νέα τεχνολογία της Affymetrix και άλλες εταιρίες δημιούργησαν in situ μικροσυστοιχίες όπως η Roche NimbleGen και η Agilent Technologies με ορισμένες διαφορές στην κατασκευή τους.



Εικόνα 1.6. Φωτολιθογραφική δημιουργία μικροσυστοιχιών. (Πάνω) Εφαρμογή της φωτολιθογραφίας σε μικροσυστοιχίες της Affymetrix. Μέσω ενός φακού το υπεριώδες φως προσπίπτει πάνω στη λιθογραφική μάσκα η οποία λειτουργεί ως φίλτρο καθορίζοντας ποιες χημικές ομάδες θα απενεργοποιηθούν στις επιλεγμένες θέσεις της μικροσυστοιχίας (wafer). (Κάτω) Κυκλική διαδικασία σύνθεσης μιας μικροσυστοιχίας. Η ακτινοβολία του φωτός απομακρύνει τις χημικές προστατευτικές ομάδες της μικροσυστοιχίας στις θέσεις που καθορίζει η λιθογραφική μάσκα. Σε εκείνες τις θέσεις προστίθεται μόνο ένα από τα τέσσερα είδη νουκλεοτιδίων. Το ίδιο επαναλαμβάνεται και για τα υπόλοιπα τρία είδη. Διαδοχικοί κύκλοι αυτής της διαδικασίας στοχεύουν στη δημιουργία των επιθυμητών ανιχνευτών (25 νουκλεοτιδίων) της μικροσυστοιχίας. Εικόνα από (Dalma-Weiszhausz et al. 2006).

ΣΤΑΔΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Για την υλοποίηση ενός πειράματος μικροσυστοιχιών είναι απαραίτητη η απομόνωση του βιολογικού υλικού που αντιπροσωπεύει τη γονιδιακή λειτουργία. Συνήθως, το βιολογικό υλικό είναι το συνολικό mRNA των κυττάρων του δείγματος. Το συνολικό RNA των κύτταρα των θηλαστικών αποτελείται κυρίως από ριβοσωμικό RNA καθώς και από άλλα μικρά μόρια RNA όπως tRNA, snRNA κ.α. Το mRNA αποτελεί περίπου το 1-5% του ολικού RNA ενός κυττάρου. Πέρα από το mRNA, το μέγεθος των οποίων εξαρτάται από την πρωτεΐνη που πρόκειται να κωδικοποιήσει, τα υπόλοιπα μόρια RNA

έχουν συγκεκριμένο μέγεθος που βοηθάει στην εύκολη απομόνωσή τους. Στον εντοπισμό του ευκαρυωτικού mRNA συμβάλλει η πολυαδενυλιακή ούρα (polyA) που φέρουν τα περισσότερα μόρια στο 3' άκρο τους η οποία λειτουργεί ως ετικέτα αναγνώρισης. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην ύπαρξη RNAσών που απελευθερώνονται στο δείγμα κατά τη λύση των κυττάρων. Οι RNAσες είναι ένζυμα που διασπούν τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς των ριβονουκλεοτιδίων και εντοπίζονται σε όλα τα κύτταρα. Η ακεραιότητα του βιολογικού υλικού καθορίζει σημαντικά την επιτυχία του πειράματος γι' αυτό και απαιτούνται λεπτοί χειρισμοί.

Έπειτα από την απομόνωση, η ιχνηθέτηση του δείγματος γίνεται με διάφορες μεθόδους. Η πιο απλή είναι με αντίστροφη μεταγραφή του mRNA σε cDNA με την προσθήκη εκ των προτέρων ιχνηθετιμένων νουκλεοτιδίων με φθορίζουσες ουσίες. Συνήθως, χρησιμοποιούνται δύο δείγματα mRNA. Το ένα προέρχεται από ιστό που δημιουργεί το βιολογικό ερώτημα (για παράδειγμα ιστός από την προς μελέτη ασθένεια) και ονομάζεται δείγμα αναφοράς, ενώ το δεύτερο αποτελεί το δείγμα ελέγχου και χρησιμοποιείται για τη σύγκριση με το δείγμα αναφοράς (για παράδειγμα ιστός που δεν πάσχει από την ασθένεια). Τα δύο δείγματα μεταγράφονται αντίστροφα σε cDNA σε ξεχωριστούς σωλήνες και με διαφορετικές φθορίζουσες ουσίες (Freeman, Robertson, and Vrana 2000).

Δύο είναι οι πιο συχνά εφαρμοζόμενες φθορίζουσες ουσίες σε πειράματα μικροσυστοιχιών, η κυανίνη3 (Cy3) και η κυανίνη5 (Cy5). Η κυανίνη3 προσδίδει πράσινο χρώμα και χρησιμοποιείται συνήθως στην ιχνηθέτηση του δείγματος αναφοράς ενώ η κυανίνη5 προσδίδει κόκκινο χρώμα και χρησιμοποιείται συνήθως στην ιχνηθέτηση του δείγματος ελέγχου. Έπειτα, τα δύο δείγματα μεταφέρονται προς υβριδοποίηση στο τσιπ των μικροσυστοιχιών.

ΣΤΑΔΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ:ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Επακόλουθο, μετά την παρασκευή των δειγμάτων είναι το στάδιο της υβριδοποίησης. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η υβριδοποίηση είναι η διαδικασία κατά την οποία δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ δύο μονόκλωνων και συμπληρωματικών μορίων. Σε αυτό το σημείο το ρυθμιστικό διάλυμα των ιχνηθετημένων δειγμάτων προστίθεται στο τσιπ προκειμένου να υβριδοποιηθούν τα ιχνηθετημένα μόρια των δειγμάτων με τα μόρια των ανιχνευτών. Ο χρόνος επώασης, η θερμοκρασία, η σύσταση και το μήκος των αλληλουχιών, το ρυθμιστικό διάλυμα και άλλοι παράγοντες καθορίζουν την επιτυχία της υβριδοποίησης. Στόχος είναι να δημιουργούνται οι ειδικές

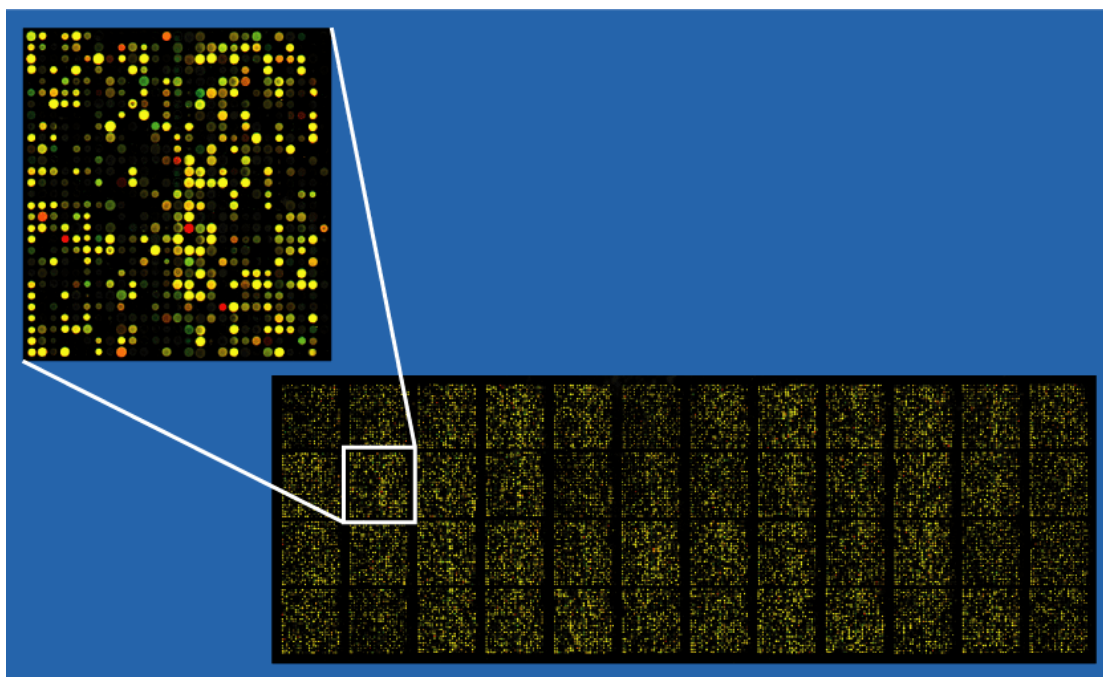
υβριδοποιήσεις (specific hybridization) και να μη δημιουργούνται οι μη ειδικές (non specific hybridization) (Freeman et al. 2000). Στη συνέχεια, το τσιπ υφίσταται διαδοχικές πλύσεις στις οποίες απομακρύνεται το ρυθμιστικό διάλυμα, τα ιχνηθετημένα μόρια που ίσως να μην έχουν υβριδοποιηθεί και οι μη ειδικές υβριδοποιήσεις που ίσως να έχουν αναπτυχθεί κατά την επώαση. Το τσιπ είναι πλέον έτοιμο για το στάδιο της σάρωσης από το ειδικό μηχάνημα λείζερ.

ΣΤΑΔΙΟ ΠΕΜΠΤΟ: ΣΑΡΩΣΗ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΑΣ

Μετά την υβριδοποίηση της μικροσυστοιχίας, το τσιπ περνάει στο στάδιο της σάρωσης. Στη σάρωση το τσιπ σκανάρεται από ένα ειδικό μηχάνημα το οποίο εκπέμπει ακτινοβολία στο μήκος κύματος που απορροφά η κάθε ουσία φθορισμού και καταγράφεται η ένταση φθορισμού δηλαδή η ένταση του σήματος που εκπέμπεται πίσω από την φθορίζουσα ουσία των ιχνηθετημένων μορίων.

Ο σαρωτής δημιουργεί μια ψηφιακή εικόνα του τσιπ στο οποίο η ένταση φθορισμού του κάθε σημείου είναι ανάλογη της ποσότητας των υβριδοποιημένων μορίων και συνεπώς της ποσότητας της γονιδιακής έκφρασης για το γονίδιο που το κάθε σημείο αντιπροσωπεύει. Στην περίπτωση των μικροσυστοιχιών όπου έχουμε δύο δείγματα, ένα ελέγχου και ένα αναφοράς, ο σαρωτής σκανάρει το τσιπ δύο φορές για τις δύο φθορίζουσες ουσίες (Kerr 2007). Στη συνέχεια, οι δύο εικόνες συγχωνεύονται με κατάλληλες μεθόδους και προκύπτει μια ενιαία εικόνα. Η τελική εικόνα επιτρέπει τον εντοπισμό των διαφορών στην γονιδιακή έκφραση του δείγματος ελέγχου σε σύγκριση με το δείγμα αναφοράς.

Στην περίπτωση που έχει χρησιμοποιηθεί η κυανίνη5 για το δείγμα ελέγχου και η κυανίνη3 για το δείγμα αναφοράς, ο σαρωτής εκπέμπει ακτινοβολία στα 630-660 nm και στα 510-550 nm αντίστοιχα για τις δύο φθορίζουσες ουσίες. Κάθε κουκκίδα στην τελική εικόνα λαμβάνει μία απόχρωση από το συνδυασμό του κόκκινου και του πράσινου.



Εικόνα 1.7. Ενιαία εικόνα ενός πειράματος μικροσυστοιχιών με δύο δείγματα, ένα ελέγχου και ένα αναφοράς. Εικόνα από: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Microarray2.gif>

Οι ερμηνείες των χρωμάτων όπως φαίνονται και στην Εικόνα 1.7 είναι οι εξής:

Κόκκινο χρώμα όταν το δείγμα ελέγχου (με Cy5) είναι σε υψηλή ποσότητα και το δείγμα αναφοράς (με Cy3) σε χαμηλή.

Πράσινο χρώμα όταν το δείγμα ελέγχου είναι σε χαμηλή ποσότητα και το δείγμα αναφοράς σε υψηλή.

Κίτρινο ή λευκό χρώμα όταν το δείγμα ελέγχου και το δείγμα αναφοράς είναι σε υψηλές και ίσες ποσότητες.

Μαύρο χρώμα όταν το δείγμα ελέγχου και το δείγμα αναφοράς είναι σε χαμηλές και ίσες ποσότητες ή όταν κανένα από τα δύο δείγματα δεν έχει υβριδοποιηθεί.

Όλες οι υπόλοιπες ενδιάμεσες αποχρώσεις προκύπτουν από τις διαφορετικές ποσότητες και αναλογίες ανάμεσα στα δύο δείγματα (Kerr 2007). Εν συνεχεία, κατάλληλοι αλγόριθμοι ανάλυσης εικόνων μετατρέπουν την εικόνα του τσιπ σε αριθμητικές τιμές που εκπροσωπούν τη γονιδιακή έκφραση του κάθε γονιδίου της μικροσυστοιχίας.

ΣΤΑΔΙΟ ΕΚΤΟ: ΚΑΝΟΝΙΚΟΠΟΙΗΣΗ

Ο στόχος ενός πειράματος μικροσυστοιχιών είναι η μέτρηση των επιπέδων γονιδιακής έκφρασης που να ανταποκρίνονται όσο το δυνατόν πιο κοντά στην πραγματικότητα.

Στα πειράματα μικροσυστοιχιών έχουν παρατηρηθεί τόσο τυχαία όσο και συστηματικά σφάλματα. Τα τυχαία σφάλματα προκύπτουν από παράγοντες που δεν μπορούν να εντοπιστούν καθώς συμβαίνουν τυχαία ενώ τα συστηματικά σφάλματα προκύπτουν κατά τη διάρκεια της κατασκευής της μικροσυστοιχίας ή απλά από τη δομή του ίδιου του πειράματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα συστηματικού σφάλματος αποτελεί η διαφορετική ποσότητα έντασης μεταξύ των δύο φθορίζουσών ουσιών ακόμα και αν τα μόρια του mRNA προέρχονται από το ίδιο δείγμα. Άλλοι παράγοντες που προσδίδουν συστηματικά σφάλματα μπορεί να είναι η επιτυχία ενσωμάτωσης των φθορίζουσών ουσιών, η επιτυχία της υβριδοποίησης, οι πιθανώς διαφορετικές ποσότητες των αρχικών δειγμάτων, οι διαφορετικές τεχνολογίες σαρωτών ακόμα και οι διαφορετικές ρυθμίσεις τους.

Μπορεί κάθε συστηματικό σφάλμα να έχει μικρή επίδραση στο αποτέλεσμα αλλά το σύνολό τους είναι ικανό να μετατοπίσει τις τιμές των εντάσεων φθορισμού επηρεάζοντας την αξιοπιστία του πειράματος. Η μέθοδος της κανονικοποίησης (normalization) ελαχιστοποιεί τα συστηματικά σφάλματα προσαρμόζοντας τις τιμές των εντάσεων. Η κανονικοποίηση στα πειράματα μικροσυστοιχιών συμβάλλει στον ευκολότερο εντοπισμό ακόμα και μικρών βιολογικών διαφορών και τη σύγκριση δεδομένων γονιδιακής έκφρασης από διαφορετικά πειράματα μικροσυστοιχιών (Quackenbush 2001).

ΣΤΑΔΙΟ ΕΒΔΟΜΟ: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα τελικά δεδομένα από το τσιπ των μικροσυστοιχιών είναι ένας πίνακας τιμών όπου οι γραμμές αποτελούν τα γονίδια που ελέγχονται στο πείραμα και οι στήλες τα δείγματα. Κάθε τιμή του πίνακα αντιστοιχεί στην τιμή της γονιδιακής έκφρασης του συγκεκριμένου γονιδίου στο συγκεκριμένο δείγμα υπό τις πειραματικές συνθήκες που έχει πραγματοποιηθεί η μικροσυστοιχία. Συνήθως, οι τιμές αυτές αποτελούν το λογάριθμο με βάση το 2 ($\log_2$) του λόγου της έντασης φθορισμού για την μία ουσία στο πρώτο κανάλι (π.χ. κόκκινο χρώμα) προς την ένταση φθορισμού για την άλλη ουσία στο δεύτερο κανάλι (π.χ. πράσινο χρώμα). Το πλήθος και η πολυπλοκότητα των δεδομένων έκφρασης των πειραμάτων μικροσυστοιχιών απαιτεί την χρήση στατιστικών μεθόδων για την επεξεργασία και ανάλυση τους ακόμα και για σχετικά μικρό αριθμό δειγμάτων. Ο στόχος της στατιστικής ανάλυσης είναι η εύρεση συσχετίσεων μεταξύ των δεδομένων και έπειτα η βιολογική ερμηνεία τους.

1.2.2 Στατιστική ανάλυση μικροσυστοιχιών

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων των μικροσυστοιχιών υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που στοχεύουν στην ανάδειξη των σχέσεων μεταξύ των γονιδίων ή των διαφορών μεταξύ δύο καταστάσεων (π.χ. σύγκριση υγιούς ιστού με ασθενή ιστό). Ορισμένες από τις μεθόδους ανάλυσης περιγράφονται παρακάτω.

Αλλαγή διπλώματος (fold-change, FC)

Η μέθοδος αλλαγής διπλώματος είναι από τις πρώτες στατιστικές μεθόδους για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης. Για κάθε γονίδιο υπολογίζεται η FC τιμή η οποία είναι η διαφορά μιας αρχικής τιμής από μια τελική και για τιμές $FC \pm 2$ το γονίδιο θεωρείται διαφορετικά εκφρασμένο δηλαδή είτε υπερεκφράζεται είτε υποεκφράζεται (Ramasamy et al. 2008). Ωστόσο, η μέθοδος αυτή δεν λαμβάνει υπόψη τη μεταβλητότητα των δεδομένων μίας μικροσυστοιχίας ούτε την επαναληψιμότητα (Tibshirani 2007).

Έλεγχος t-test (Student t-test)

Η στατιστική μέθοδος ανάλυσης t-test για δύο ανεξάρτητους πληθυσμούς (two sample t-test) αξιολογεί εάν η διαφορά των μέσων τιμών τους είναι στατιστικά σημαντική. Στη μηδενική υπόθεση θεωρεί ότι οι μέσες τιμές είναι ίσες για τους δύο ανεξάρτητους πληθυσμών ($H_0: \mu_1 = \mu_2$) ενώ η εναλλακτική υπόθεση θεωρεί ότι οι δύο μέσες τιμές διαφέρουν ($H_1: \mu_1 \neq \mu_2$). Επομένως, ελέγχεται αν η διαφορά των μέσων τιμών προέκυψε τυχαία ή όχι. Ο εκτιμητής t που χρησιμοποιείται, ακολουθεί την κατανομή Student (Student's distribution) και με την προϋπόθεση των ίσων διακυμάνσεων των δύο πληθυσμών, ο τύπος διαμορφώνεται ως εξής:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (1)$$

όπου $\bar{X}_1$ και $\bar{X}_2$ είναι οι μέσες τιμές των δειγμάτων των δύο ανεξάρτητων πληθυσμών, S_p είναι η ομαδοποιημένη διακύμανση και n_1 και n_2 είναι το πλήθος των δύο δειγμάτων.

Η ομαδοποιημένη διακύμανση S_p δίνεται από τον τύπο:

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{n_1+n_2-2}} \quad (2)$$

όπου S_1 και S_2 είναι οι διακυμάνσεις των δύο δειγμάτων.

Το τυπικό σφάλμα (Standard Error, SE) δίνεται από τον τύπο:

$$SE = \sqrt{\frac{S_p^2}{n_1} + \frac{S_p^2}{n_2}} \quad (3)$$

Ο εκτιμητής t έχοντας n_1+n_2-2 βαθμούς ελευθερίας συγκρίνεται με την Student κατανομή. Εάν οι διακυμάνσεις δεν είναι ίσες, ο εκτιμητής υπολογίζεται ως εξής:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}} \quad (4)$$

$$\text{όπου } S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}} \quad (5)$$

Ωστόσο δημιουργείται μια ασυμπτωτική κατανομή η οποία είναι δύσκολο να βρεθεί και γι' αυτό χρησιμοποιείται μια προσέγγιση όπου γίνεται χρήση της t κατανομής αλλά με βαθμούς ελευθερίας που υπολογίζονται από τον τύπο:

$$d.f. = \frac{(S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2)^2}{S_1^4/(n_1^2(n_1-1)) + S_2^4/(n_2^2(n_2-1))} \quad (6)$$

Στην πολυετή έρευνα της στατιστικής ανάλυσης μικροσυστοιχιών έχουν προταθεί και άλλες παραλλαγές του t -test που κάνουν καλύτερη εκτίμηση της διαφορικής γονιδιακής έκφρασης. Το επίπεδο σημαντικότητας (α) σύμφωνα με το οποίο ορίζονται τα όρια όπου η μηδενική υπόθεση μπορεί να απορριφθεί, καθορίζονται από τον ερευνητή και συνήθως είναι είτε 5% ($\alpha=0.05$) είτε 1% ($\alpha=0.01$). Η τιμή p -value λαμβάνει τιμές από το 0 έως το 1 και όσο μικρότερη είναι τόσο αυξάνεται η βεβαιότητα για την απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης.

Ένα βασικό πρόβλημα που προκύπτει από το μεγάλο πλήθος γονιδίων που μελετώνται στις μικροσυστοιχίες είναι η εμφάνιση πολλών εσφαλμένων αποτελεσμάτων ως στατιστικά σημαντικά (false positive). Η λύση σε αυτό έρχεται από τις μεθόδους διόρθωσης της τιμής p-value (Fay and Gerow 2013).

1.2.3 Μέθοδοι διόρθωσης p-value

Διόρθωση Bonferroni

Η p-value του κάθε γονιδίου πολλαπλασιάζεται με τον συνολικό αριθμό των γονιδίων που έχει η μικροσυστοιχία. Το γονίδιο είναι στατιστικά σημαντικό όταν η διορθωμένη τιμή της p-value είναι κάτω από το όριο σφάλματος (Armstrong 2014). Ο τύπος για κάθε γονίδιο i είναι:

$$p_{cor(i)} = p_{(i)} * n \quad (7)$$

Διόρθωση Bonferroni Step-Down (Holm)

Η μέθοδος διόρθωσης Bonferroni Step-Down (Holm) μοιάζει με τη μέθοδο Bonferroni, μόνο που είναι πιο αυστηρή ως προς τη νέα τιμή της p-value. Στην αρχή οι p-values των γονιδίων ταξινομούνται κατά αύξουσα σειρά. Έπειτα, η πρώτη p-value στην κατάταξη πολλαπλασιάζεται με τον συνολικό αριθμό γονιδίων της μικροσυστοιχίας (n). Οι επόμενες p-values διορθώνονται με τον τύπο (Holm 1979):

$$p_{cor(i)} = p_{(i)} * (n - i) \quad (8)$$

Διόρθωση Holland

Η μέθοδος διόρθωσης Holland μοιάζει με την μέθοδο Holm. Αρχικά, οι p-values των γονιδίων ταξινομούνται κατά αύξουσα σειρά. Έπειτα, η p-value που είναι πρώτη στην κατάταξη πολλαπλασιάζεται με το συνολικό αριθμό γονιδίων της μικροσυστοιχίας μείον ένα ($n-1$). Οι επόμενες p-values διορθώνονται με τον τύπο (Holland and Copenhaver 1987):

$$p_{cor(i)} = p_{(i)} * (n - i + 1) \quad (9)$$

Benjamini and Hochberg False Discovery Rate (FDR)

Η μέθοδος διόρθωσης False Discovery Rate (FDR) θεωρείται ισχυρότερη από τις παραπάνω καθώς αναγνωρίζει ποια γονίδια θεωρήθηκαν λανθασμένα μη στατιστικά σημαντικά (False Negative) και ποια θεωρήθηκαν λανθασμένα στατιστικά σημαντικά (False Positive). Αρχικά, οι p-values των γονιδίων ταξινομούνται κατά αύξουσα σειρά. Έπειτα, η μεγαλύτερη p-value παραμένει ίδια και οι επόμενες p-values διορθώνονται με τον τύπο (Benjamini and Hochberg 1995):

$$p_{cor(i)} = \frac{n}{n-i} * p_{(i)} \quad (10)$$

Διόρθωση Sidak

Η μέθοδος διόρθωσης Sidak χρησιμοποιείται στους πολλαπλούς ελέγχους. Η διόρθωση στις p-values γίνεται με τον τύπο (Sidak 1967):

$$p_{cor(i)} = 1 - (1 - p_{(i)})^{\frac{1}{n}} \quad (11)$$

1.2.4 Μέθοδοι Αναδειγματοληψίας

Ένα βασικό πρόβλημα του t-test στα πειράματα μικροσυστοιχιών είναι το μικρό μέγεθος των δύο δειγμάτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην ισχύει η κανονική κατανομή η οποία αποτελεί τη βασική προϋπόθεση για την εφαρμογή του t-test. Έτσι, το t-test συνήθως ακολουθείται από τη μέθοδο της αναδειγματοληψίας.

Η αναδειγματοληψία Bootstrap (Efron 1982; Efron and Tibshirani 1994) είναι μια στατιστική τεχνική η οποία εκτιμά την κατανομή του εκτιμητή με δειγματοληψία αντικατάστασης από το αρχικό δείγμα. Χρησιμοποιείται όταν η κατανομή του δείγματος δεν μπορεί να υπολογιστεί ή όταν δεν ικανοποιούνται οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή ενός στατιστικού ελέγχου όπως στην περίπτωση του t-test που απαιτείται μεγάλο μέγεθος δείγματος και κανονική κατανομή. Στόχος της είναι ο υπολογισμός πιο αξιόπιστου τυπικού σφάλματος και διαστήματος εμπιστοσύνης.

Η ακρίβεια της μεθόδου εξαρτάται από το μέγεθος του αρχικού δείγματος και από τον αριθμό των επαναλήψεων της δειγματοληψίας. Ακολουθούνται τρία βασικά βήματα. Το πρώτο είναι η τυχαία αναδειγματοληψία με επανατοποθέτηση κατά την

οποία δημιουργούνται νέα δείγματα ίδιου μεγέθους με το αρχικό. Στα νέα δείγματα κάποιες τιμές μπορεί να εμφανίζονται μία φορά, άλλες περισσότερες από μία ενώ άλλες καθόλου. Το δεύτερο βήμα είναι ο υπολογισμός της κατανομής Bootstrap για κάθε νέο δείγμα που δημιουργήθηκε. Τέλος, στο τρίτο βήμα χρησιμοποιείται η κατανομή Bootstrap για την εξαγωγή συμπερασμάτων (π.χ. μέση τιμή, τυπική απόκλιση, τυπικό σφάλμα) (Efron and Tibshirani 1994).

Για τον υπολογισμό του τυπικού σφάλματος, μία μικρή δειγματοληψία είναι αρκετή. Ωστόσο, η κατασκευή ενός διαστήματος εμπιστοσύνης 95% απαιτεί μεγαλύτερο δείγμα.

Μερικές από τις μεθόδους κατασκευής του διαστήματος εμπιστοσύνης από Bootstrap είναι:

- η μέθοδος διόρθωσης σφάλματος (the bias corrected method)
- η κανονική μέθοδος προσέγγισης (normal approximation method)
- η μέθοδος ποσοστημορίου t (t-percentile method)
- η μέθοδος ποσοστημορίων (percentile method) (Efron 1987)

1.2.5 Βάσεις δεδομένων μικροσυστοιχιών

Η σπουδαιότητα της ανακάλυψης των πειραμάτων μικροσυστοιχιών οδήγησε στην όλο και αυξανόμενη χρήση τους. Η σταδιακή επένδυση και βελτίωση των πειραματικών μεθόδων προσέφερε νέα και οικονομικότερα τσιπ μικροσυστοιχιών με αποτέλεσμα την πραγματοποίηση πολλών πειραμάτων γονιδιακής έκφρασης. Η αύξηση των δεδομένων που παρήχθησαν απαιτούσε την αποθήκευση των δεδομένων και τη διάθεσή τους στην επιστημονική κοινότητα για συνεχείς αναλύσεις. Έτσι, άρχισαν να δημιουργούνται διάφορες βάσεις δεδομένων για πειράματα μικροσυστοιχιών.

Οι βάσεις δεδομένων μικροσυστοιχιών παρέχουν τόσο τη δυνατότητα της αποθήκευσης όσο και της ανάκτησης των δεδομένων. Σε κάθε καταγραφή υπάρχουν πληροφορίες για τα δείγματα, τις πειραματικές συνθήκες, την πλατφόρμα που χρησιμοποιήθηκε, τα γονίδια που ελέγχονται και άλλες ακόμα λεπτομέρειες. Οι βάσεις δεδομένων είναι δημόσιες και οποιοσδήποτε ερευνητής μπορεί να χρησιμοποιήσει τα δεδομένα για επιπλέον αναλύσεις όπως στην περίπτωση της μετα-ανάλυσης. Οι πιο γνωστές βάσεις δεδομένων μικροσυστοιχιών είναι η Gene Expression Omnibus (GEO)

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) και η ArrayExpress (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>).

1.3 Μετα-ανάλυση

Με την αύξηση των γενετικών δεδομένων και των μελετών που τα αναλύουν, δημιουργήθηκε η ανάγκη για επιπρόσθετες αναλύσεις που θα συνδύαζαν τα αποτελέσματα όμοιων μεταξύ τους μελετών. Η μέθοδος της μετα-ανάλυσης αποτελεί ένα στατιστικό εργαλείο που έχει τη δυνατότητα να δέχεται και να επεξεργάζεται δεδομένα και αποτελέσματα μελετών που απαντούν στο ίδιο επιστημονικό ερώτημα.

Η μέθοδος της μετα-ανάλυσης άρχισε να αναπτύσσεται το 1920, την εποχή του Fisher. Η έννοιά της εμφανίστηκε για πρώτη φορά στον τομέα της ψυχολογίας στα τέλη του 1970. Πλέον, εφαρμόζεται σε διάφορα επιστημονικά πεδία με χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτά της γενετικής και της επιδημιολογίας.

Η πραγματοποίηση μίας μετα-ανάλυσης χαρακτηρίζεται από ορισμένα βήματα τα οποία πρέπει να εφαρμοστούν με ιδιαίτερη προσοχή ώστε τα αποτελέσματα να είναι όσο το δυνατόν πιο αξιόπιστα. Το αρχικό βήμα είναι ο προσδιορισμός του αντικειμένου της μελέτης και των ερωτημάτων που στοχεύει ο ερευνητής να απαντήσει. Έπειτα, γίνεται εκτενής αναζήτηση στη διαθέσιμη βιβλιογραφία για τον εντοπισμό όλων των σχετικών μελετών που ερευνούν το θέμα που προσδιορίστηκε (Normand 1999). Στη συνέχεια, τα δεδομένα των μελετών που συγκεντρώθηκαν, καταγράφονται για να χρησιμοποιηθούν στη μετα-ανάλυση. Συνήθως, ο αριθμός των μελετών για τη διεξαγωγή μίας μετα-ανάλυσης θα πρέπει να είναι μεγαλύτερος από τρεις. Κατά τη διαδικασία της καταγραφής θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή καθώς η επεξεργασία των αρχικών δεδομένων επηρεάζει σημαντικά την αξιοπιστία του αποτελέσματος. Τέλος, θα πρέπει να προσδιοριστεί το μέγεθος επίδρασης σύμφωνα με το οποίο θα ερμηνευτούν τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης. Μπορεί να είναι ο συντελεστής συσχέτισης, η διαφορά μέσων τιμών, ο σχετικός λόγος πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR) ή ο σχετικός κίνδυνος (Relative Risk, RR).

Ο υπολογισμός του μεγέθους επίδρασης από τον συνδυασμό των μεμονωμένων εκτιμήσεων των αρχικών μελετών, πραγματοποιείται από δύο μοντέλα :

- Το μοντέλο σταθερών επιδράσεων (Fixed effects model)
- Το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (Random effects model)

1.3.1 Μοντέλα μετα-ανάλυσης

Η επιλογή του κατάλληλου στατιστικού μοντέλου με το οποίο θα γίνει η μετα-ανάλυση εξαρτάται από τον τύπο των δεδομένων των μελετών που επιλέχθηκαν. Τα δεδομένα μπορεί να είναι συνεχή ή δυαδικά.

Το μέγεθος επίδρασης θ των συνεχών δεδομένων είναι η διαφορά μέσων τιμών μεταξύ των δειγμάτων ελέγχου και αναφοράς (Normand 1999). Η διαφορά μέσων τιμών μπορεί να είναι είτε η μη τυποποιημένη (un standardized mean difference) ή η τυποποιημένη διαφορά (standardized mean difference) (Thakkestian et al. 2005).

Ο τύπος της τυποποιημένης διαφοράς μέσων τιμών είναι:

$$d_i = \frac{\overline{x_{ti}} - \overline{x_{ci}}}{sd_i} \quad (12)$$

όπου $\overline{x_{ti}}$ η μέση τιμή του δείγματος αναφοράς $\overline{x_{ci}}$ η μέση τιμή του δείγματος ελέγχου και sd_i η τυπική απόκλιση για τη μελέτη (i).

Ο τύπος της τυπικής απόκλισης είναι:

$$sd_i = \sqrt{\frac{(n_{ti}-1)sd_{ti}^2 + (n_{ci}-1)sd_{ci}^2}{n_{ti} + n_{ci} - 2}} \quad (13)$$

Ο τύπος της μη τυποποιημένης διαφοράς μέσων τιμών είναι:

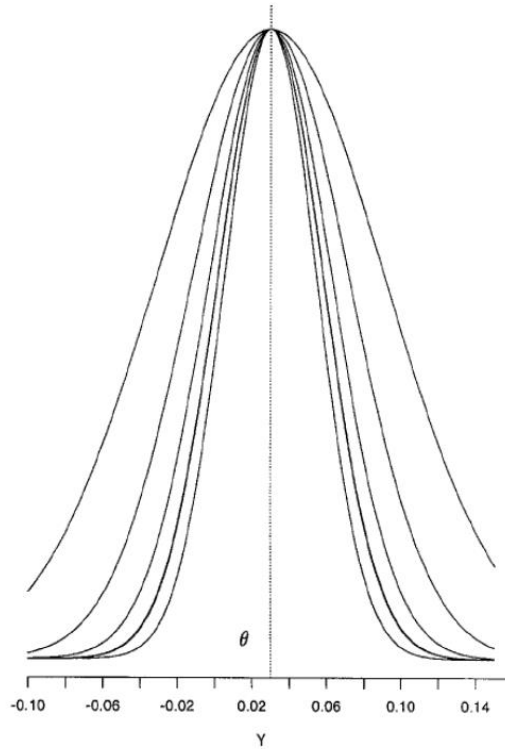
$$d_i = \overline{x_{ti}} - \overline{x_{ci}} \quad (14)$$

όπου $\overline{x_{ti}}$ η μέση τιμή του δείγματος αναφοράς $\overline{x_{ci}}$ η μέση τιμή του δείγματος ελέγχου για τη μελέτη (i).

Μοντέλο σταθερών επιδράσεων (Fixed effects model)

Το μοντέλο σταθερών επιδράσεων θεωρεί ότι όλες οι ανεξάρτητες μελέτες ($Y_i, i = 1, 2, \dots, n$) προέρχονται από έναν ενιαίο πληθυσμό και έχουν ένα κοινό μέγεθος επίδρασης θ . Το μέγεθος επίδρασης είναι ανεξάρτητο τόσο από τον αριθμό των μελετών (n) όσο και από τις διακυμάνσεις τους ($s_i^2, i = 1, 2, \dots, n$) (Εικόνα 1.8). Ο τύπος που αντιπροσωπεύει το μοντέλο είναι:

$$Y_i \sim N(\theta, s_i^2) \quad \text{με } i = 1, 2, \dots, n \quad (15)$$

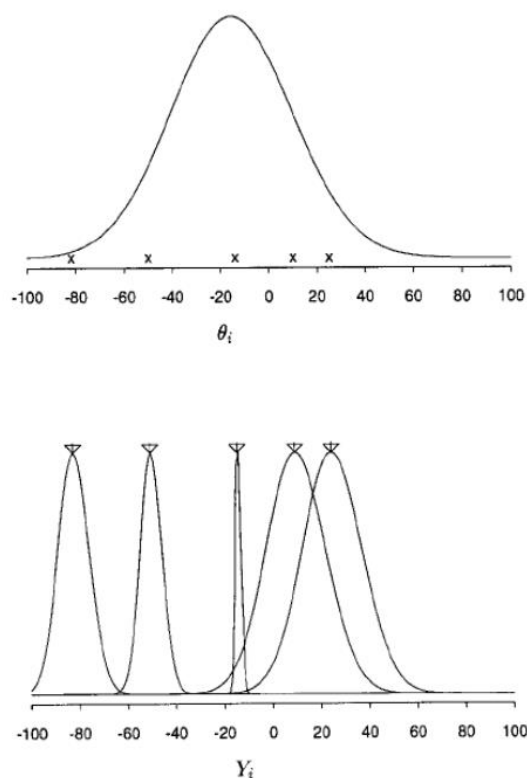


Εικόνα 1.8. Μοντέλο σταθερών επιδράσεων εφαρμοσμένο σε πέντε μελέτες. Στην εικόνα φαίνονται οι κατανομές των επιδράσεων των μεμονωμένων μελετών. Έχουν κοινό μέγεθος επίδρασης (θ) αλλά διαφορετική διακύμανση (s_i^2) (Normand 1999).

Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (Random effects model)

Το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων θεωρεί ότι όλες οι ανεξάρτητες μελέτες ($Y_i, i = 1, 2, \dots, n$) προέρχονται από μια κατανομή πληθυσμών. Επομένως, επιτρέπει την ύπαρξη ετερογένειας δηλαδή διαφορές ανάμεσα στα αποτελέσματα. Κάθε μελέτη Y_i έχει το δικό της μέγεθος επίδρασης θ_i και μια ξεχωριστή διακύμανση s_i^2 . Κάθε μέγεθος επίδρασης θ_i θεωρείται ότι προέρχεται από μια κατανομή με μέση τιμή θ και διακύμανση τ^2 . Η μεταβλητή τ^2 αντιπροσωπεύει στο μοντέλο την ετερογένεια μεταξύ των μεμονωμένων μελετών (Εικόνα 1.9). Εάν η ετερογένεια είναι μηδενική ($\tau^2 = 0$) τότε το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων ισοδυναμεί με το μοντέλο των σταθερών επιδράσεων. Ο τύπος που αντιπροσωπεύει το μοντέλο είναι:

$$Y_i \sim N(\theta_i, s_i^2) \quad \text{με } \theta_i \sim N(\theta, \tau^2) \quad (16)$$



Εικόνα 1.9. Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων εφαρμοσμένο σε πέντε μελέτες (Πάνω). Η κατανομή με μέγεθος επίδρασης θ και διακύμανση τ^2 από την οποία προκύπτουν τα μεγέθη επίδρασης θ_i (Κάτω). Οι κατανομές των μεγεθών επίδρασης των πέντε μελετών όπως προκύπτουν από τα μεγέθη επίδρασης θ_i και τις διακυμάνσεις s_i^2 (Normand, 1999).

1.3.2 Έλεγχος ετερογένειας

Κατά την πραγματοποίηση μιας μετα-ανάλυσης υπάρχουν διάφορα κρίσιμα σημεία στα οποία θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή. Ο έλεγχος της ετερογένειας ανάμεσα στις μελέτες αποτελεί ένα κρίσιμο σημείο καθώς η ανομοιογένεια μπορεί να αλλοιώσει το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης και να προκύψουν εσφαλμένα συμπεράσματα (Thakkestian et al. 2005). Ο στατιστικός έλεγχος για την ύπαρξη ετερογένειας προσδιορίζεται από το Q test του Cochran. Ο τύπος για τον υπολογισμό του Q είναι (Villanueva and Zavarsek 2004):

$$Q = \sum_i^k W_i(d_i - D)^2 \sim \chi_{k-1}^2 \quad \text{με} \quad D = \frac{\sum_{i=1}^k w_i d_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \quad \text{και} \quad w_i = \frac{1}{\text{var}(d_i)} \quad (17)$$

όπου k ο αριθμός των μελετών. Το Q ακολουθεί τη X^2 κατανομή έχοντας $k-1$ βαθμούς ελευθερίας. Μπορεί να εφαρμοστεί σε συνεχή και διακριτά δεδομένα καθώς επίσης δίνει καλύτερα αποτελέσματα σε μετα-αναλύσεις με μεγάλο πλήθος μελετών.

Μια δεύτερη στατιστική μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι το I^2 test το οποίο στηρίζεται στο Q test. Ο τύπος για τον υπολογισμό I^2 είναι:

$$I^2 = \max\left(0, \frac{Q - (k-1)}{Q}\right) \quad (18)$$

Το I^2 μπορεί να πάρει τιμές από 0 έως 100%. Όσο μικρότερη είναι η τιμή τόσο μικρότερη είναι η ετερογένεια και το αντίστροφο. Σε μία μετα-ανάλυση ισχύει ότι όταν η τιμή είναι κάτω από 25% η ετερογένεια θεωρείται μικρή ή ακόμα και αμελητέα, ενώ οι τιμές που υπερβαίνουν το 50% θεωρούνται μεγάλες και η ετερογένεια αποτελεί πρόβλημα στη μετα-ανάλυση.

Μία ακόμη μέθοδος για την εκτίμηση της ετερογένειας είναι ο υπολογισμός του τ^2 . Εκτιμάει τη μεταβλητότητα ανάμεσα σε δύο μελέτες. Ορίστηκε για πρώτη φορά από τους DerSimonian και Laird αλλά υπάρχουν και άλλες μέθοδοι. Ο τύπος του εκτιμητή είναι (Normand 1999):

$$\tau_{DL}^2 = \max\left(0, \frac{Q - (k-1)}{\sum w_i - \frac{\sum w_i^2}{\sum w_i}}\right) \quad (19)$$

Σε όλους τους εκτιμητές αυτής της κατηγορίας, η ύπαρξη ετερογένειας υποδεικνύεται από υψηλές τιμές ενώ η απουσία ετερογένειας φανερώνεται από τιμές κοντά στο μηδέν (DerSimonian and Laird 1986).

Ο στατιστικός έλεγχος για την ετερογένεια θεωρεί τις εξής στατιστικές υποθέσεις:

H_0 : Υπάρχει ομοιογένεια μεταξύ των μελετών.

H_1 : Υπάρχει ανομοιογένεια μεταξύ των μελετών.

Με το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων, ο υπολογισμός της ετερογένειας υπολογίζεται σύμφωνα με τους τύπους (DerSimonian and Laird 1986):

$$\theta(\tau)_{MLE} = \frac{\sum_i w_i(\tau) Y_i}{\sum_k w_i(\tau)} \quad \mu\epsilon \quad w_i(\tau) = \frac{1}{s_i^2 + \tau^2} \quad \kappa\alpha\iota \quad Y_i = \bar{x}_{1i} - \bar{x}_{2i} \quad (20)$$

Η απόρριψη της H_0 υποδεικνύει την ύπαρξη ετερογένειας μεταξύ των μελετών.

1.3.3 Προβλήματα βιβλιογραφίας

Κατά τη διεξαγωγή της μετα-ανάλυσης υπάρχουν διάφορα σημαντικά σημεία στα οποία θα πρέπει να δίνεται περισσότερη προσοχή. Ένα από αυτά ήταν ο έλεγχος της ετερογένειας που ήδη αναφέρθηκε ενώ ένα δεύτερο σημείο αποτελούν τα διάφορα προβλήματα κατά την αναζήτηση της βιβλιογραφίας.

Η ξενόγλωσση βιβλιογραφία αποτελεί ένα τέτοιο πρόβλημα καθώς πολλές έρευνες που πραγματοποιούνται σε μη αγγλόφωνες χώρες, δε δημοσιεύονται σε διεθνή περιοδικά στην αγγλική γλώσσα περιορίζοντας τον ερευνητή στον εντοπισμό τους αλλά και στην κατανόησή τους. Αυτό συμβαίνει κυρίως σε περιπτώσεις όπου τα αποτελέσματα μιας έρευνας δεν είναι τόσο σημαντικά. Συνήθως, δημοσιεύονται σε τοπικά περιοδικά και δεν καταχωρούνται στις διεθνείς βάσεις δεδομένων βιβλιογραφίας (Pan et al. 2005). Ένα δεύτερο αλλά εξίσου σημαντικό πρόβλημα είναι αυτό της γκρίζας βιβλιογραφίας (grey literature). Σε αυτή την περίπτωση μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί ακόμα και στην αγγλική γλώσσα αλλά τα αποτελέσματα είναι μέτρια ή ακόμα και αρνητικά, δεν δημοσιεύονται σε περιοδικά και διεθνείς βάσεις δεδομένων. Όσες από αυτές θα δημοσιευτούν, συνήθως θα παραμείνουν σε έντυπη μορφή και δε θα καταχωρηθούν σε κάποια βάση δεδομένων με αποτέλεσμα να μην υπάρχει εύκολη πρόσβαση σε αυτές (Hopewell et al. 2007). Το πρόβλημα αυτό ονομάζεται συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης (publication bias). Η παρουσία συστηματικού σφάλματος σε μία μετα-ανάλυση καθιστά το αποτέλεσμα της επισφαλές (Egger et al. 1997). Τέλος, ένα ακόμα πρόβλημα βιβλιογραφίας που εμφανίζεται συχνά σε μελέτες μοριακής επιδημιολογίας ονομάζεται «Φαινόμενο του Πρωτέα» (Proteus phenomenon) (Ioannidis and Trikalinos 2005). Αρχικές δημοσιεύσεις που συσχετίζουν ισχυρά ένα γενετικό παράγοντα με μία ασθένεια είτε θετικά είτε αρνητικά, προσελκύουν το ενδιαφέρον των ερευνητών για περεταίρω έρευνες. Η αυξημένη έρευνα πάνω στο ίδιο θέμα στοχεύει στην επαλήθευση της αρχικής συσχέτισης είτε αυτή πράγματι ισχύει είτε όχι. Ο αυξημένος όγκος παρόμοιων αποτελεσμάτων επηρεάζει την εγκυρότητα του αποτελέσματος μίας πιθανής μετα-ανάλυσης.

Για όλους τους παραπάνω λόγους είναι σημαντικό να δίνεται μεγαλύτερη βαρύτητα σε κάθε μία έρευνα είτε το αποτέλεσμα της είναι σημαντικό είτε όχι καθώς

ακόμα και αυτές έχουν σημαντική θέση σε μία μετα-ανάλυση, μειώνοντας το συστηματικό σφάλμα της και αυξάνοντας την εγκυρότητα του αποτελέσματος.

1.3.4 Μετα-ανάλυση σε δεδομένα μικροσυστοιχιών

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η τεχνολογία των πειραμάτων των μικροσυστοιχιών επιτρέπει τον ταυτόχρονο έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης χιλιάδων γονιδίων. Η ταχύτατη διεξαγωγή τέτοιων πειραμάτων οδήγησε στη μαζική παραγωγή πολλών μελετών που εξετάζουν τη γονιδιακή έκφραση. Η μέθοδος της μετα-ανάλυσης μπορεί να εφαρμοστεί σε δεδομένα μικροσυστοιχιών όταν οι έρευνες που συλλέγονται ακολουθούν τις απαραίτητες προϋποθέσεις ώστε τα δεδομένα τους να είναι συγκρίσιμα και να προκύψει ένα τελικό συμπέρασμα. Η εφαρμογή της συνηθίζεται στις περιπτώσεις όπου μελετάται η διαφορική έκφραση των γονιδίων ανάμεσα σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις.

Τρεις είναι οι βασικότερες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στη μετα-ανάλυση δεδομένων μικροσυστοιχιών και αναλύονται παρακάτω.

Μέθοδος βασισμένη στο t-test

Η μέθοδος βασισμένη στο t-test χρησιμοποιείται πολύ συχνά στη μετα-ανάλυση δεδομένων μικροσυστοιχιών. Το μέγεθος επίδρασης είναι η τυποποιημένη μέση διαφορά στις τιμές της γονιδιακής έκφρασης ανάμεσα στο δείγμα ελέγχου και αναφοράς για κάθε γονίδιο της μικροσυστοιχίας (Choi et al. 2003). Ο τύπος της μεθόδου είναι:

$$d_i = \frac{\overline{x_{ti}} - \overline{x_{ci}}}{sd_i} \quad (21)$$

όπου $\overline{x_{ti}}$ είναι η μέση τιμή του δείγματος αναφοράς για το γονίδιο (i), $\overline{x_{ci}}$ είναι η μέση τιμή του δείγματος ελέγχου για το γονίδιο (i) και sd_i είναι η τυπική απόκλιση για το γονίδιο (i) και δίνεται από τον τύπο:

$$sd_i = \sqrt{\frac{(n_{ti}-1)sd_{ti}^2 + (n_{ci}-1)sd_{ci}^2}{n_{ti} + n_{ci} - 2}} \quad (22)$$

Συνήθως, τα πειράματα μικροσυστοιχιών διαθέτουν μικρά μεγέθη δειγμάτων για τις δύο ομάδες και μη κανονική κατανομή στις τιμές της γονιδιακής έκφρασης με αποτέλεσμα πολύ συχνά, μετά την πραγματοποίηση του t-test, να εφαρμόζονται μέθοδοι αναδειγματοληψίας (π.χ. Bootstrap, Permutation test (Έλεγχος μεταθέσεων)). Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται εκ νέου και πιο αξιόπιστα το τυπικό σφάλμα (Standard Error) και το διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval) για κάθε ένα γονίδιο.

Μέθοδος συνδυασμού των p-values

Μια άλλη μέθοδος μετα-ανάλυσης που χρησιμοποιείται σε δεδομένα μικροσυστοιχιών είναι η μέθοδος συνδυασμού των p-values. Στη μέθοδο αυτή οι τιμές p-values μπορούν να συνδυαστούν αρκεί να δίνονται για όλα τα γονίδια που μελετώνται και με οποιαδήποτε μέθοδο ανάλυσης σε κάθε μία ανεξάρτητη μελέτη. Η συχνότερη εφαρμογή είναι η περίπτωση όπου το μέγεθος επίδρασης δίνεται από το άθροισμα των λογαρίθμων των p-values. Ο τύπος της μεθόδου είναι:

$$S_i = -2 \sum_{k=1}^k \log(p_{ik}) \quad (23)$$

Όπου S_i είναι το άθροισμα των λογαρίθμων των p-values για κάθε γονίδιο (i) για όλες τις k μελέτες (Campain and Yang 2010).

Παρόλα αυτά, η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσιάζει ορισμένα προβλήματα. Αρχικά, όταν οι μελέτες ελέγχουν διαφορετικές μηδενικές υποθέσεις εμφανίζονται προβλήματα κατά τον συνδυασμό των μεγεθών επίδρασης. Επιπλέον, η κατεύθυνση της συσχέτισης δεν λαμβάνεται υπόψιν, με αποτέλεσμα να μην εμφανίζονται τα γονίδια που υπερ-εκφράζονται και υπο-εκφράζονται. Επίσης, δεν ποσοτικοποιείται με κάποιον τρόπο το μέγεθος της επίδρασης και τέλος δεν υπολογίζεται, εάν υπάρχει, η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες. Η επίλυση όλων αυτών των προβλημάτων έχει δοθεί από ορισμένες παραλλαγές αυτής της μεθόδου μία εκ των οποίων αντί για τα p-values συνδυάζει τα z-scores (Kontou, Pavlopoulou, and Bagos 2018).

Μέθοδος βασισμένη στον βαθμό κατάταξης (rank product)

Μία ακόμα μέθοδος για μετα-ανάλυση δεδομένων γονιδιακής έκφρασης βασίζεται στον συνδυασμό των βαθμών κατάταξης των γονιδίων. Υπάρχουν διάφορες

παραλλαγές της συγκεκριμένης μεθόδου αλλά σε γενικές γραμμές η ιδέα στηρίζεται στο γεγονός ότι αν ένα γονίδιο είναι στην κορυφή σε μία λίστα κατάταξης των διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων σε μία μελέτη και αυτό ισχύει σε πολλές μελέτες της μετα-ανάλυσης, τότε το γονίδιο αυτό είναι με μεγάλη πιθανότητα διαφορετικά εκφρασμένο.

Η αρχική μέθοδος αναπτύχθηκε από τον Breitling και την ομάδα του και βασίζεται στο γινόμενο των βαθμών κατάταξης (Breitling et al. 2004). Στο πρώτο στάδιο, για κάθε γονίδιο υπολογίζεται η αλλαγή διπλώματος (Fold Change, FC). Στη συνέχεια, τα γονίδια κατατάσσονται σε φθίνουσα σειρά με βάση την τιμή FC και τους ανατίθεται ένας αριθμός (βαθμός κατάταξης) ανάλογα με τη θέση τους στη διατεταγμένη λίστα. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται για τα γονίδια όλων των μελετών που έχουν επιλεγθεί για μετα-ανάλυση. Το γινόμενο όλων των βαθμών κατάταξης για κάθε γονίδιο από κάθε μελέτη αποτελεί το μέγεθος επίδρασης. Ο τύπος της μεθόδου του Breitling είναι (Breitling et al. 2004):

$$RP_g = \left(\prod_{i=1}^k r_{gik} \right)^{1/k} \quad (24)$$

όπου RP_g είναι το Rank Product του γονιδίου g , r_{gik} είναι ο βαθμός κατάταξης του γονιδίου g στη λίστα κατάταξης της i -στης μελέτης και k είναι το πλήθος των μελετών όπου εντοπίζεται το γονίδιο g .

Μία ακόμα παραλλαγή είναι η Rank Sum η οποία μοιάζει με τη Rank Product με τη μόνη διαφορά ότι υπολογίζεται το άθροισμα των βαθμών κατάταξης ως μέγεθος επίδρασης.

Τέλος μία ακόμα γενική παραλλαγή είναι η METRADISC (Meta-analysis of Rank Discovery Dataset). Σε αυτήν ως μέθοδος επίδρασης υπολογίζεται ο μέσος όρος των βαθμών κατάταξης για κάθε γονίδιο. Ο τύπος της METRADISC είναι (Zintzaras and Ioannidis 2008):

$$R^* = \frac{\sum_{i=1}^k R_i}{k} \quad (25)$$

Όπου R^* είναι ο μέσος όρος των βαθμών κατάταξης ενός γονίδιο, R_i είναι ο βαθμός κατάταξης του γονιδίου στη μελέτη i και k είναι το πλήθος των μελετών στις οποίες εντοπίζεται το συγκεκριμένο γονίδιο.

Όλες οι μέθοδοι που στηρίζονται στην κατάταξη των γονιδίων παρουσιάζουν ορισμένα πλεονεκτήματα. Το σημαντικότερο από αυτά είναι το γεγονός ότι δεν απαιτείται η κανονικοποίηση των δεδομένων που προκύπτουν από τις διαφορετικές μικροσυστοιχίες. Στις μεθόδους βαθμού κατάταξης μπορούν να ενσωματωθούν διάφορα σύνολα δεδομένων ακόμα και αν προέρχονται από διαφορετικές πλατφόρμες μικροσυστοιχιών. Με αυτόν τον τρόπο επιλύεται το ζήτημα της προ-επεξεργασίας των δεδομένων για τη μετα-ανάλυση.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης της προχωρημένης ρευματοειδούς αρθρίτιδας με τη διαδικασία της μετα-ανάλυσης σε αποτελέσματα πειραμάτων μικροσυστοιχιών DNA. Η μέθοδος της μετα-ανάλυσης στοχεύει στην απόδοση συγκεκριμένων γονιδίων που προκαλούν ή επηρεάζουν τη συγκεκριμένη ασθένεια. Για την υλοποίησή της πραγματοποιήθηκε αναζήτηση δεδομένων σε εξιδεικευμένες βάσεις δεδομένων.

2.2 Συλλογή και ανάλυση δεδομένων

Για την συλλογή των κατάλληλων δεδομένων από πειράματα μικροσυστοιχιών DNA στον άνθρωπο για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα έγινε αναζήτηση στις διεθνείς βάσεις δεδομένων GEO (Gene Expression Omnibus), ArrayExpress και PubMed.

Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στην GEO με τις λέξεις-κλειδιά: (“Rheumatoid arthritis” OR “RA”) AND “Homo sapiens”. Από το σύνολο των αποτελεσμάτων επιλέχθηκαν οι έρευνες που αναφέρονταν στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, που πραγματοποιούσαν πειράματα μικροσυστοιχιών DNA στον άνθρωπο και ήταν μελέτες ασθενών-μαρτύρων (case-control studies). Όσες μελέτες δεν πληρούσαν αυτές τις προϋποθέσεις απορρίφθηκαν.

Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε για τη βάση δεδομένων ArrayExpress με λέξεις-κλειδιά: (“Rheumatoid arthritis” OR “RA”) AND “Homo sapiens”. Από το σύνολο των αποτελεσμάτων επιλέχθηκαν οι έρευνες που πληρούσαν τα ίδια κριτήρια με την GEO. Επιπλέον, απορρίφθηκαν οι έρευνες που είχαν ήδη εντοπιστεί στην GEO ώστε να μην υπάρχουν διπλές εγγραφές.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στη βιβλιογραφική βάση δεδομένων PubMed για τον εντοπισμό των ερευνών που έχουν δημοσιεύσει το άρθρο αλλά δεν έχουν καταθέσει τα δεδομένα τους σε μία από τις παραπάνω βάσεις. Η αναζήτηση έγινε με λέξεις-κλειδιά: (“microarray” OR “micro-array”) AND “rheumatoid arthritis”. Από το σύνολο των αποτελεσμάτων επιλέχθηκαν οι έρευνες που πληρούσαν τα κριτήρια

που αναφέρθηκαν παραπάνω και επιπλέον διέθεταν τα δεδομένα από τα πειράματα. Όπως και με την ArrayExpress, απορρίφθηκαν τα δεδομένα που είχαν ήδη εντοπιστεί από τις δύο παραπάνω βάσεις δεδομένων.

2.3 Καταγραφή και επεξεργασία δεδομένων

Για τις έρευνες που αφορούσαν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα στον άνθρωπο και πραγματοποιούσαν πειράματα μικροσυστοιχιών DNA καταγράφηκαν σε φύλλο Excel ο κωδικός της έρευνας, ο ιστός των δειγμάτων, ο κυτταρικός τύπος (εάν απομονώνεται κάποιος συγκεκριμένος από τον ιστό), και σχόλια που αφορούν την κάθε μελέτη (π.χ. είδος έρευνας). Από αυτές απορρίφθηκαν όσες τελικά δεν πληρούσαν τις προϋποθέσεις για τη μετα-ανάλυση (π.χ. είχαν ειδικές πειραματικές συνθήκες, μελετούσαν την πρώιμη ρευματοειδή αρθρίτιδα, αποτελούσαν κάποιο άλλο είδους μελέτης τελικά πέρα από ασθενών-μαρτύρων).

Από αυτές τις έρευνες αποθηκεύτηκαν σε αρχεία Excel οι πίνακες της γονιδιακής έκφρασής τους (series matrix file) και χρησιμοποιήθηκαν οι πληροφορίες του σχεδιασμού της κάθε πλατφόρμας μικροσυστοιχιών (GPL) σύμφωνα με τις οποίες πραγματοποιήθηκε το εκάστοτε πείραμα.

Τα αρχεία με τους πίνακες γονιδιακής έκφρασης περιέχουν τα δεδομένα από την έκφραση των γονιδίων και γονιδιακών τόπων για όλα τα δείγματα του πειράματος συνήθως μετά από κανονικοποίηση ή/και λογαρίθμιση μαζί με διάφορες πληροφορίες για τον κάθε ανιχνευτή. Η αντιστοίχιση των γονιδίων με τους ανιχνευτές γίνεται με τη βοήθεια των αρχείων GPL.

Σε κάθε ανιχνευτή των πινάκων γονιδιακής έκφρασης αντιστοιχήθηκε το σύμβολο του ονόματος του γονιδίου που αντιπροσωπεύει. Οι ανιχνευτές που αντιστοιχίζονταν σε παραπάνω από ένα γονίδια διαγράφηκαν από τα αρχεία Excel μαζί με τις τιμές έκφρασης των δειγμάτων τους. Επίσης, διαγράφηκαν οι ανιχνευτές που αποτελούσαν ανιχνευτές ελέγχου για τη διεξαγωγή του πειράματος.

Τα πειράματα μικροσυστοιχιών είχαν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές χρονικές περιόδους με αποτέλεσμα τα ονόματα ή οι κωδικοί των γονιδίων να αντιστοιχίζονταν στις πληροφορίες του γονιδιώματος εκείνη την χρονική περίοδο. Για την ανανεωμένη και κοινή ονοματολογία των γονιδίων σε όλα τα πειράματα μικροσυστοιχιών χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων του NCBI για τα γονίδια

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) και η βάση δεδομένων της επιτροπής της ονοματολογίας των γονιδίων HUGO (<https://www.genenames.org/>). Τα γονίδια που είχαν αποσυρθεί από τις βάσεις διαγράφηκαν από τα αρχεία Excel των δεδομένων έκφρασης.

Σε ορισμένες μελέτες παρατηρήθηκαν κενά στα φύλλα excel της γονιδιακής έκφρασής τους. Τα γονίδια που είχαν έστω και ένα κενό σε κάποιο από τα δείγματα, διαγράφηκαν εξ' ολοκλήρου. Στο τελικό excel παρέμειναν μόνο τα γονίδια που είχαν τιμές έκφρασης σε όλα τα δείγματα του πειράματος.

Επιπρόσθετα, πολλοί ανιχνευτές αντιστοιχίζονταν στο ίδιο γονίδιο καθώς υβριδοποιούνται από πολλαπλά μετάγραφα. Για τη μετα-ανάλυση απαιτείται κάθε γονίδιο να αποτελεί μία εγγραφή στο κάθε αρχείο Excel. Για την επίλυση των πολλαπλών εγγραφών χρησιμοποιήθηκε η εντολή collapse στο στατιστικό πρόγραμμα STATA 13. Με την εντολή αυτή δημιουργείται μια νέα γραμμή με τη μέση τιμή έκφραση για κάθε δείγμα συγχωνεύοντας έτσι τις πολλαπλές εγγραφές.

Η μέση τιμή υπολογιζόταν και σε περιπτώσεις όπου ένα πείραμα μικροσυστοιχιών περιλάμβανε παραπάνω από μία υβριδοποιήσεις για το ίδιο δείγμα. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα νέο αρχείο με τις μέσες τιμές έκφρασης για κάθε δείγμα συμπεριλαμβάνοντας την πληροφορία από όλες τις υβριδοποιήσεις.

Τέλος, σε νέο φύλλο Excel καταγράφηκε ο κωδικός της έρευνας, ο ιστός, ο κυτταρικός τύπος, το πλήθος των ασθενών δειγμάτων στο πείραμα μικροσυστοιχιών, το πλήθος των υγείων δειγμάτων στο πείραμα μικροσυστοιχιών, το πλήθος των ανιχνευτών, το πλήθος των τελικών γονιδίων προς μετα-ανάλυση, ο κωδικός της πλατφόρμας και το όνομα της πλατφόρμας. Για τη μετα-ανάλυση οι μελέτες θα πρέπει να έχουν δείγματα από τον ίδιο ιστό και κυτταρικό τύπο εάν αυτός αναφέρεται.

2.4 Στατιστική ανάλυση

Η πραγματοποίηση της μετα-ανάλυσης έγινε με το διαδικτυακό στατιστικό εργαλείο MAGE: Meta-Analysis of Gene Expression (<http://www.compgen.org/tools/mage>). Το εργαλείο χρησιμοποιεί το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων και την τυποποιημένη διαφορά μέσων τιμών του t-test ως μέγεθος επίδρασης. Τα αρχεία Excel αποθηκεύτηκαν σε αρχεία .txt σύμφωνα με τις οδηγίες μορφοποίησης του MAGE και

επιλέχθηκε επίπεδο σημαντικότητας 0.01 για τις πολλαπλές συγκρίσεις της μετα-ανάλυσης.

Τα αποτελέσματα αποθηκεύονται σε ένα αρχείο .txt και περιλαμβάνουν πληροφορίες, οι σημαντικότερες εκ των οποίων είναι τα ονόματα των γονιδίων (Genes) μαζί με το μέγεθος επίδρασης (Effect size (Hedge's g)), το τυπικό σφάλμα του μεγέθους επίδρασης (Standard_Error), τις τιμές p (p-value), τις ταξινομημένες τιμές p κατά αύξουσα σειρά (p_values_step_up) και κατά φθίνουσα σειρά (p_values_step_down) και τις διορθωμένες τιμές p με τις μεθόδους Bonferonni, Sidak, Holm, Holland, Hochberg και FDR (Simes). Εάν η τιμή του μεγέθους επίδρασης ήταν θετική τότε το γονίδιο υπερ-εκφραζόταν στους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, εάν ήταν αρνητική το γονίδιο υπο-εκφραζόταν ενώ εάν ήταν μηδενική η έκφραση παρέμενε ίδια σε υγιείς και ασθενείς.

Για την επιλογή των στατιστικά σημαντικών διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο η $p\text{-value} < 0.01$. Το επίπεδο σημαντικότητας 0.01 επιλέχθηκε καθώς το μεγάλο πλήθος γονιδίων αυξάνει την πιθανότητα να θεωρηθούν ορισμένα γονίδια λανθασμένα σημαντικά. Το πρόβλημα αυτό περιορίστηκε ακόμα περισσότερο με την επιλογή της μεθόδου διόρθωσης FDR. Τα γονίδια που ικανοποιούσαν τη συνθήκη $p\text{-values_step_up} < \text{simes}$ κρίθηκαν στατιστικά σημαντικά με τη διόρθωση FDR και χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό αλληλεπιδράσεων, το σχηματισμό και την ανάλυση δικτύων και για τον γονιδιακό σχολιασμό μέσω ανάλυσης εμπλουτισμού.

2.5 Σχηματισμός δικτύου και ανάλυση εμπλουτισμού

Για τον σχηματισμό του δικτύου χρησιμοποιείται αρχικά η βάση δεδομένων STRING (The Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes) (<https://string-db.org/>). Η STRING παρέχει πληροφορίες σχετικά με τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις (protein-protein interactions, PPIs) μίας ή ενός συνόλου πρωτεϊνών που δίνονται από τον χρήστη. Οι πληροφορίες των αλληλεπιδράσεων προέρχονται από τον συνδυασμό βιολογικών βάσεων δεδομένων (πειραματικών και προβλεπόμενων) και ανάλυσης κειμένου. Οι πηγές των αλληλεπιδράσεων είναι: πειράματα μεγάλης κλίμακας, προβλέψεις γονιδιωματικού περιεχομένου (γειτνίαση, συν-εμφάνιση, γονιδιακή

ένωση), συντηρημένη συν-έκφραση, εξόρυξη κειμένου και βιολογικές βάσεις δεδομένων.

Στην περίπτωση όπου δίνεται ένα σύνολο από γονίδια/πρωτεΐνες η STRING σχηματίζει ένα δίκτυο στο οποίο οι κόμβοι είναι οι δοθείσες πρωτεΐνες και οι ακμές οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους όπως καθορίζονται από τις διάφορες πηγές των αλληλεπιδράσεων. Επίσης, παρέχει τη δυνατότητα επιλογής του επιπέδου σημαντικότητάς σύμφωνα με το οποίο επιλέγονται οι αλληλεπιδράσεις που θα συμπεριληφθούν στο δίκτυο. Ένα υψηλό επίπεδο εμπιστοσύνης επιτρέπει τις πιο στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις να προστεθούν στο δίκτυο. Τέλος, η STRING δίνει τη δυνατότητα ομαδοποίησης με τις μεθόδους k-means και MCL. Το δίκτυο μπορεί να χωριστεί σε ομάδες επιλέγοντας τις κατάλληλες ρυθμίσεις που επιθυμεί ο χρήστης ανάλογα με το βιολογικό ερώτημα που τίθεται.

Η STRING παρέχει την επιλογή να αποθηκευτεί σε αρχείο .txt το σύνολο των αλληλεπιδράσεων του δικτύου. Χρησιμοποιείται αυτή η δυνατότητα με σκοπό να σχηματιστεί το δίκτυο στο διαδικτυακό εργαλείο οπτικοποίησης και ανάλυσης δικτύων NAP(v2.0): The Network Analysis Profiler (<https://bib.fleming.gr:8084/app/nap>) το οποίο παρέχει ένα σύνολο από μετρικές και τοπολογικά χαρακτηριστικά που βοηθούν στην ανάλυση του δικτύου. Στο NAP εισάγονται μόνο τα γονίδια που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Επομένως, τα ασύνδετα γονίδια από την STRING δεν αποτελούν μέρος του συνόλου των γονιδίων του NAP.

Η ανάλυση εμπλουτισμού των διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων εκτελείται στο διαδικτυακό εργαλείο g:profiler και συγκεκριμένα με το g:GOST (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>). Το g:GOST πραγματοποιεί την στατιστική ανάλυση εμπλουτισμού σε μια λίστα γονιδίων/γονιδιακών τόπων που δίνονται από τον χρήστη. Παρέχει δεδομένα από ποικίλες πηγές όπως αποτελέσματα από πειράματα, από πειράματα μεγάλης κλίμακας, από υπολογιστικές μεθόδους ανάλυσης δεδομένων και από βιβλιογραφικές αναφορές.

Ο χρήστης εισάγει τα δεδομένα, επιλέγει μία από τις τρεις διαθέσιμες στατιστικές μεθόδους διόρθωσης (g:SCS threshold, FDR, Bonferroni) και ένα επίπεδο σημαντικότητας (συνήθως 0.05).

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης περιέχει όρους οντολογιών, βιολογικά μονοπάτια, λειτουργικά μοτίβα για μεταγραφικούς παράγοντες και miRNAs, σχολιασμούς για ανθρώπινες ασθένειες και αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών (Protein-

Protein Interactions, PPIs). Οι πληροφορίες αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν και να ερμηνευτούν από τον ερευνητή σύμφωνα με το βιολογικό ερώτημα που τίθεται.

Οι γονιδιακές οντολογίες είναι κατευθυνόμενοι ακυκλικοί γράφοι που καθορίζουν τις βιολογικές λειτουργίες και τις σχέσεις μεταξύ τους. Υπάρχουν τρεις υπο-οντολογίες, η οντολογία των μοριακών λειτουργιών (Molecular Functions, MF) η οποία περιγράφει τις λειτουργίες των γονιδιακών προϊόντων, η οντολογία των βιολογικών διεργασιών (Biological Processes, BP) η οποία περιγράφει σε ποια βιολογική διεργασία συμμετέχει το γονιδιακό προϊόν και η οντολογία του κυτταρικού συστατικού (Cellular Component, CC) η οποία περιγράφει σε ποιο μέρος του κυττάρου εντοπίζεται φυσιολογικά το γονιδιακό προϊόν.

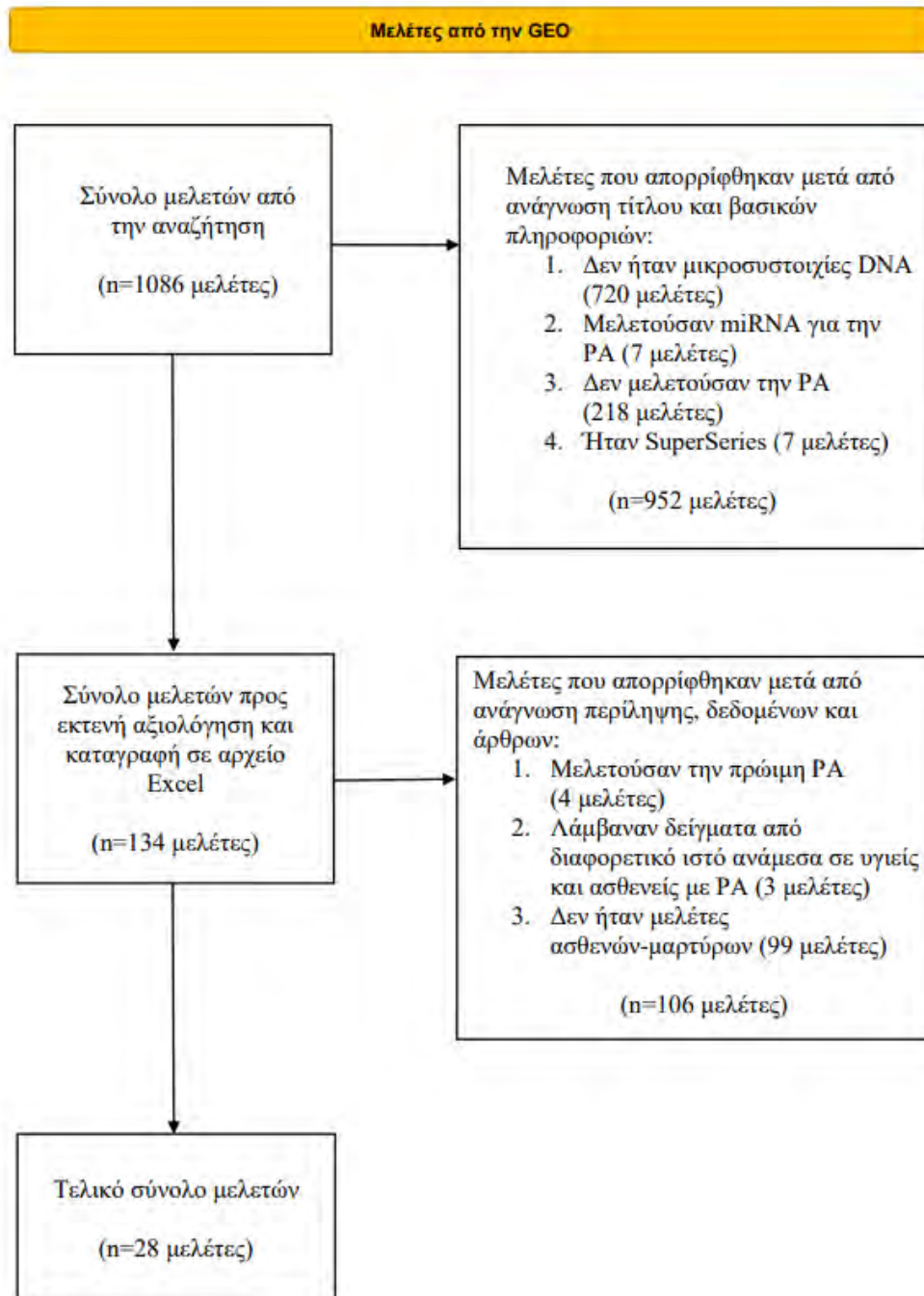
Τα βιοχημικά μονοπάτια είναι ένα σύνολο από βιοχημικές αντιδράσεις όπου ένα γονιδιακό προϊόν μπορεί να λειτουργεί ως αντιδρών μόριο ή ένζυμο.

3. Αποτελέσματα

3.1 Συλλογή δεδομένων

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης της προχωρημένης ρευματοειδούς αρθρίτιδας με τη διαδικασία της μετα-ανάλυσης σε αποτελέσματα πειραμάτων μικροσυστοιχιών DNA. Η συλλογή των δεδομένων από τις τρεις βάσεις δεδομένων (GEO, ArrayExpress και PubMed) πραγματοποιήθηκε στις 07/05/2022.

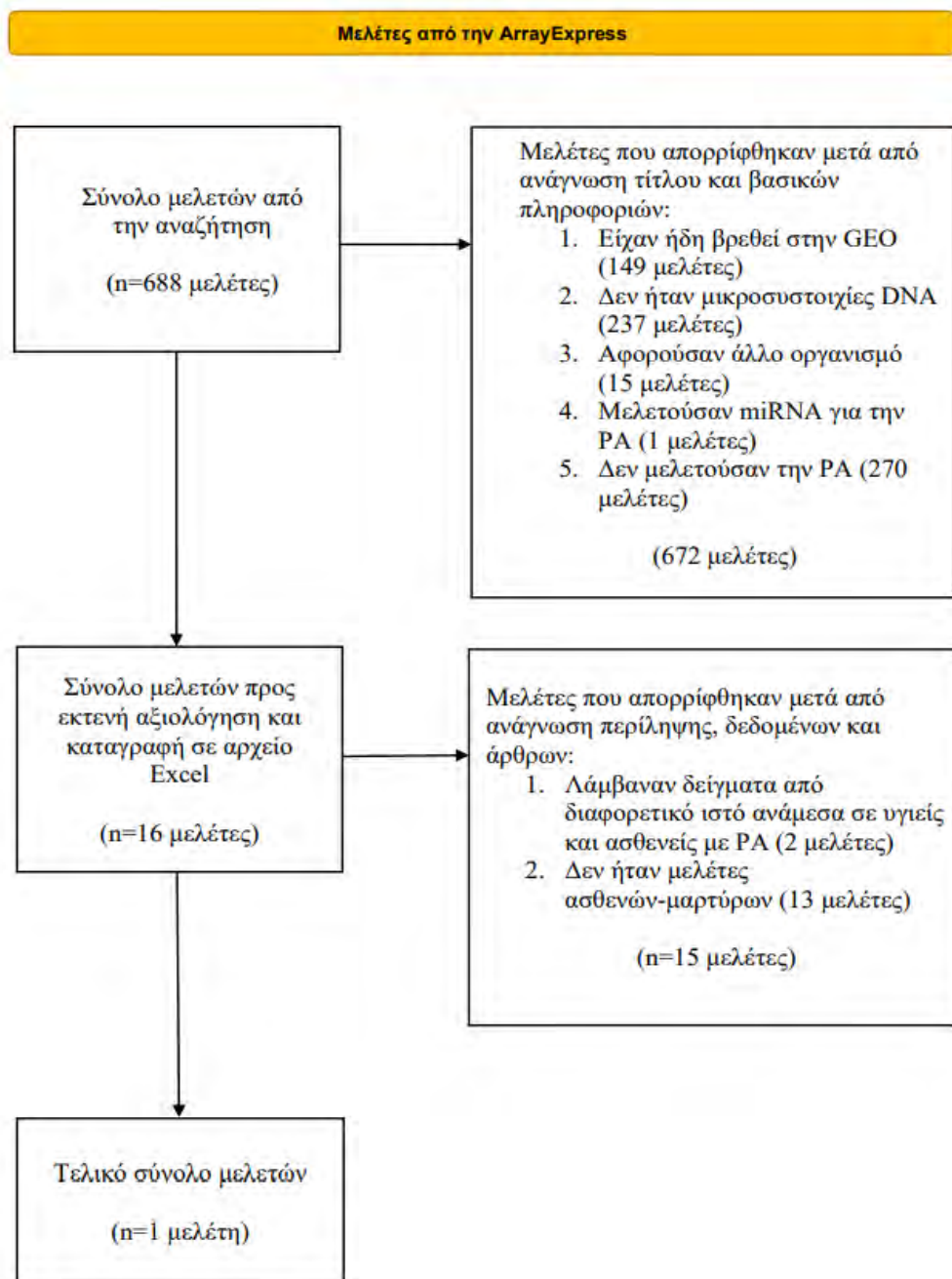
Τα αποτελέσματα από την GEO ήταν 1086 series. Από την ανάγνωση του τίτλου και των βασικών πληροφοριών που διαθέτει το κάθε αποτέλεσμα απορρίφθηκαν 720 έρευνες που πραγματοποιούσαν διαφορετικού είδους πειράματα πέρα από μικροσυστοιχίες DNA, 7 έρευνες που αφορούσαν miRNA για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, 218 έρευνες που αφορούσαν κάτι άλλο πέρα από τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και 7 εγγραφές που αποτελούσαν SuperSeries για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Οι έρευνες που περιέχονταν στις SuperSeries εγγραφές, εμφανίζονταν και ως μοναδικές εγγραφές στο σύνολο των αποτελεσμάτων. Οι υπόλοιπες 134 έρευνες μελετήθηκαν εκτενέστερα καθώς αφορούσαν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα στον άνθρωπο και πραγματοποιούσαν πειράματα μικροσυστοιχιών DNA. Από αυτές 4 αφορούσαν την πρώιμη ρευματοειδή αρθρίτιδα, 3 λάμβαναν δείγματα από διαφορετικούς ιστούς στους ασθενείς και στους υγιείς και 99 δεν ήταν μελέτες ασθενών-μαρτύρων (Εικόνα 3.1).



Εικόνα 3.1. Διάγραμμα ροής με τα στάδια αξιολόγησης και επιλογής των ερευνών έπειτα από αναζήτηση στη βάση δεδομένων GEO.

Τα αποτελέσματα από την ArrayExpress ήταν 688. Από την ανάγνωση του τίτλου και των βασικών πληροφοριών της κάθε εγγραφής απορρίφθηκαν 149 έρευνες που είχαν ήδη εντοπιστεί στην GEO, 237 έρευνες που πραγματοποιούσαν διαφορετικού είδους πειράματα πέρα από μικροσυστοιχίες DNA, 15 έρευνες που αφορούσαν κάποιο άλλο

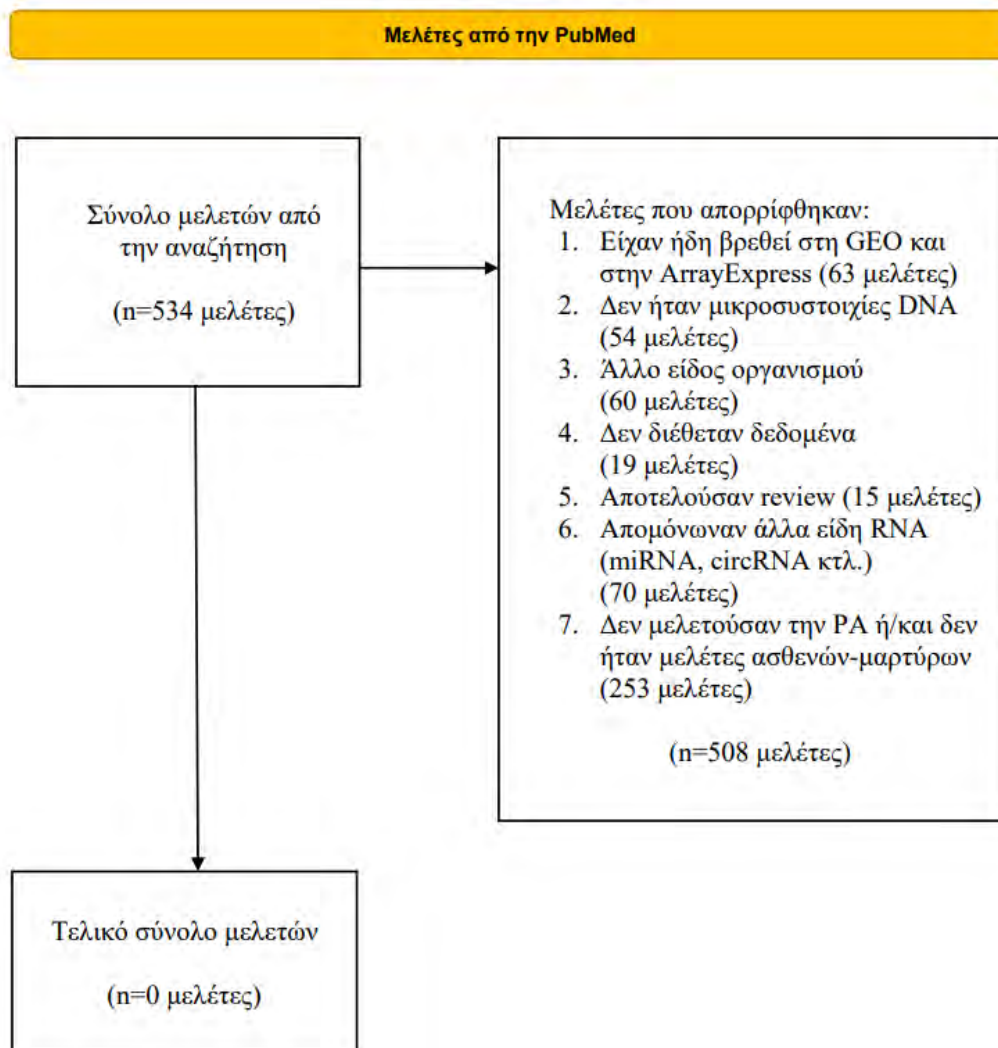
είδος οργανισμού πέρα από τον άνθρωπο (*Homo Sapiens*), 270 έρευνες που αφορούσαν κάτι άλλο πέρα από τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και 1 μελέτη που αφορούσε miRNA για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Οι υπόλοιπες 16 έρευνες μελετήθηκαν εκτενέστερα καθώς αφορούσαν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα στον άνθρωπο και πραγματοποιούσαν πειράματα μικροσυστοιχιών DNA. Από αυτές, 2 λάμβαναν δείγματα από διαφορετικούς ιστούς στους ασθενείς και στους υγιείς και 13 δεν ήταν μελέτες ασθενών-μαρτύρων (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2. Διάγραμμα ροής με τα στάδια αξιολόγησης και επιλογής των ερευνών έπειτα από αναζήτηση στη βάση δεδομένων ArrayExpress.

Τέλος, τα αποτελέσματα από την PubMed ήταν 534. Από αυτά, 63 έρευνες είχαν ήδη βρεθεί από τις παραπάνω βάσεις δεδομένων, 54 έρευνες πραγματοποιούσαν διαφορετικό είδος πειράματος πέρα από μικροσυστοιχίες DNA, 60 έρευνες αφορούσαν κάποιο άλλο είδος οργανισμού πέρα από τον άνθρωπο, 19 έρευνες δε διέθεταν τα δεδομένα από τα πειράματα που είχαν υλοποιηθεί, 15 άρθρα αποτελούσαν review, 70

έρευνες απομόνωναν κάποιο άλλο είδος RNA (π.χ. siRNA, circRNA, lncRNA, miRNA) και τέλος οι υπόλοιπες 253 έρευνες είτε μελετούσαν κάτι άλλο πέρα από τη ρευματοειδή αρθρίτιδα είτε δεν πληρούσαν τις προϋποθέσεις για τη μετα-ανάλυση (π.χ. δεν ήταν μελέτες ασθενών-μαρτύρων) (Εικόνα 3.3).



Εικόνα 3.3. Διάγραμμα ροής με τα στάδια αξιολόγησης και επιλογής των ερευνών έπειτα από αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed.

Οι συνολικά 29 έρευνες (28 από την GEO και 1 από την ArrayExpress) ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες ως προς τον τύπο ιστού των δειγμάτων. Για τη μετα-ανάλυση απαιτείται τα δείγματα από όλες τις έρευνες να προέρχονται από τον ίδιο κυτταρικό ιστό και ίδιο κυτταρικό τύπο αν αυτός αναφέρεται. Στα τελικά αποτελέσματα υπάρχουν 10 έρευνες που τα δείγματά τους είναι αρθρικός ιστός και 19 έρευνες που είναι αίμα.

Για τις 9 από τις 19 έρευνες που τα δείγματά τους είναι αίμα, απομονώνουν συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους. Γι' αυτές δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί μετα-ανάλυση καθώς δεν ξεπερνούν τις δύο έρευνες σε κάθε κατηγορία κυτταρικού τύπου.

Συγκεντρωτικά, πραγματοποιήθηκαν δύο μετα-αναλύσεις. Μία αποτελούμενη από 10 έρευνες ασθενών-μαρτύρων με δείγματα αίματος (Πίνακας 3.1) και μία αποτελούμενη από 10 έρευνες ασθενώς-μαρτύρων με δείγματα αρθρικού ιστού (Πίνακας 3.2).

Πίνακας 3.1. Πληροφορίες ερευνών με δείγματα αίματος.

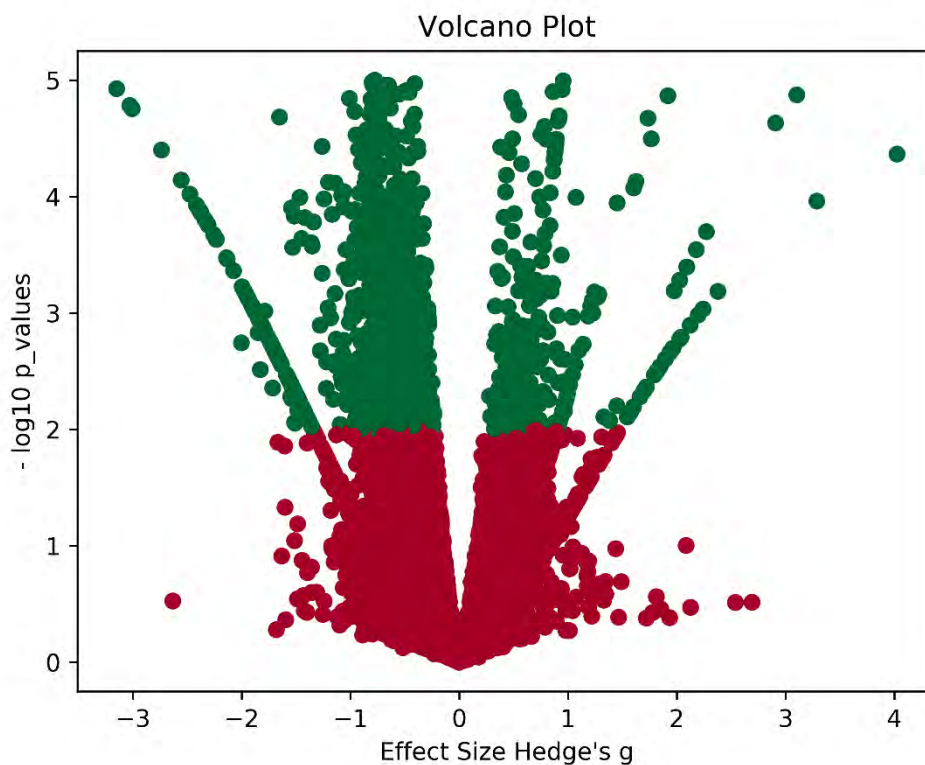
ID έρευνας	Πλήθος ασθενών	Πλήθος υγιών	ID πλατφόρμας	Πλήθος ανιχνευτών	Πλήθος γονιδίων
E-MTAB-6187	3	2	A-MEXP-2183	43118	21488
GSE3447	8	8	GPL538	4132	1611
GSE7524	2	2	GPL96	22215	12493
GSE15573	18	15	GPL6102	48701	20358
GSE17755	112	45	GPL1291	30144	9110
GSE23561	6	9	GPL10775	50400	18774
GSE38351	8	12	GPL96	22215	12493
GSE68689	10	5	GPL20171	19700	19584
GSE93272	66	35	GPL570	54613	20214
GSE110169	84	77	GPL13667	49293	18882
Σύνολο προς μετα-ανάλυση	317	210			25662

Πίνακας 3.2. Πληροφορίες ερευνών με δείγματα αρθρικού ιστού.

ID έρευνας	Πλήθος ασθενών	Πλήθος υγιών	ID πλατφόρμας	Πλήθος ανιχνευτών	Πλήθος γονιδίων
GSE1919	5	5	GPL91	12559	8585
GSE2053	4	4	GPL1740	16128	3875
GSE7307	5	6	GPL570	54613	20214
GSE12021	12	9	GPL96	22215	12493
GSE21959	6	6	GPL4133	45015	19134
GSE29746	9	11	GPL4133	45015	19134
GSE55235	10	10	GPL96	22215	12493
GSE55457	13	10	GPL96	22215	12493
GSE77298	16	7	GPL570	54613	20214
GSE13026	4	7	GPL5215	13824	6430
Σύνολο προς μετα-ανάλυση	84	75			21992

3.2 Μετα-ανάλυση δεδομένων σε δείγματα αίματος

Η μετα-ανάλυση σε δείγματα αίματος πραγματοποιήθηκε σε 25662 γονίδια από 10 μελέτες όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω (Πίνακας 3.1). Στα αποτελέσματα, 1800 γονίδια με $p\text{-value} < 0.01$ θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά. Από αυτά, τα 1475 γονίδια υπο-εκφράζονται στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς και τα 325 υπερ-εκφράζονται αντίστοιχα (Εικόνα 3.4).



Εικόνα 3.4. Διάγραμμα ηφαιστείου για τη διαφορική έκφραση γονιδίων από δείγματα αίματος. Τα γονίδια με $-\log_{10}(p_value) > 2$ είναι στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα ενώ με $-\log_{10}(p_value) < 2$ είναι στατιστικώς μη σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα. Τα γονίδια με $effect_size > 0$ υπερ-εκφράζονται στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους υγιείς και τα γονίδια με $effect_size < 0$ υπο-εκφράζονται στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους υγιείς.

Ωστόσο, ο μεγάλος αριθμός γονιδίων φανερώνει την ύπαρξη ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων και καταδεικνύει την ανάγκη διόρθωσης των p-values με τις μεθόδους διόρθωσης πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni, Sidak, Holm, Holland και FDR). Με τη χρήση των μεθόδων διόρθωσης τα στατιστικώς σημαντικά γονίδια περιορίστηκαν ακόμα περισσότερο. Το πλήθος τους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.3.

Πίνακας 3.3. Πλήθος στατιστικά σημαντικών γονιδίων.

	P-value<0.01	FDR	Bonferroni	Sidak	Holm	Holland
Στατιστικώς σημαντικά γονίδια	1800	371	184	184	184	184
Υπερ-εκφρασμένα γονίδια	325	96	53	53	53	53
Υπο-εκφρασμένα γονίδια	1475	275	131	131	131	131

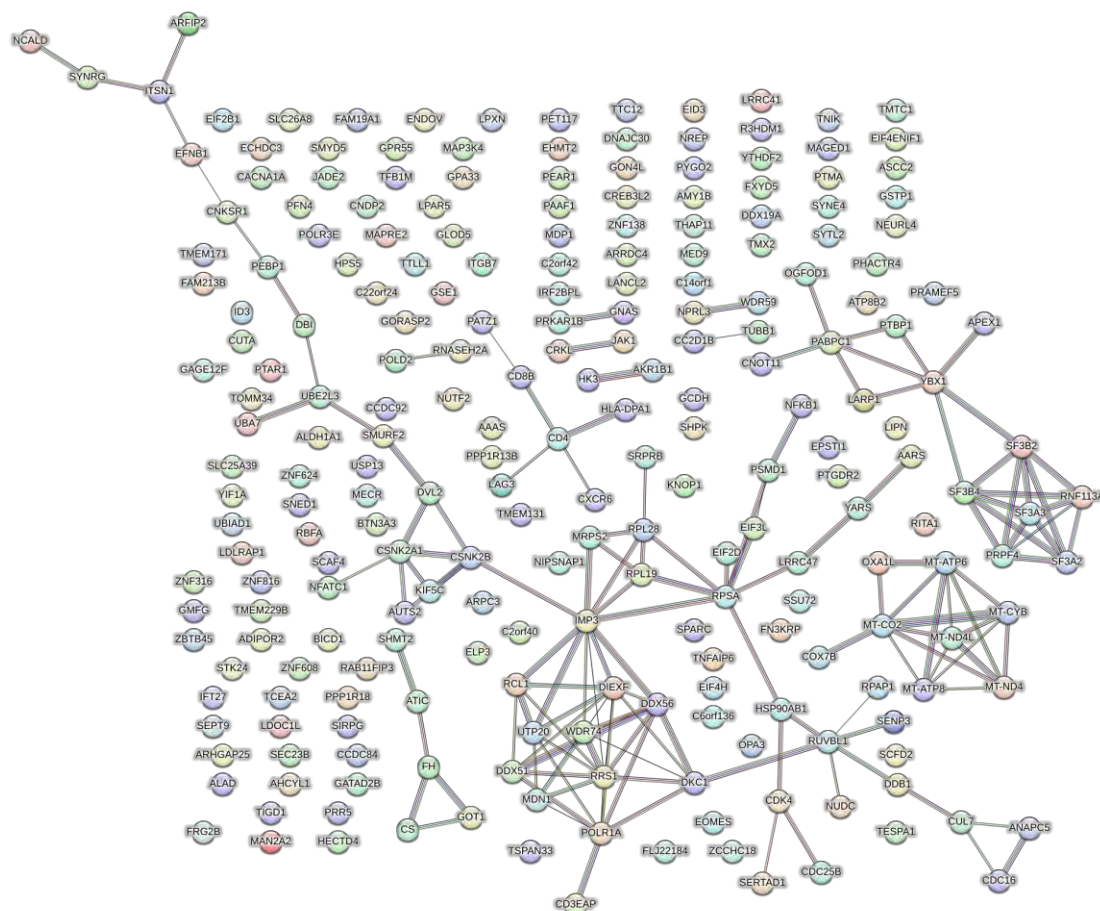
Τα κορυφαία 10 στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.4. Για την συνέχεια της ανάλυσης θεωρήθηκαν ως στατιστικώς σημαντικά τα 371 γονίδια κατά FDR (βλέπε Παράρτημα).

Πίνακας 3.4. Κορυφαία 10 στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια κατά FDR. Με κόκκινο χρώμα είναι τα υπο-εκφρασμένα και με πράσινο τα υπερ-εκφρασμένα γονίδια/γονιδιακοί τύποι.

Γονίδιο/ Γονιδιακός Τύπος
TUBB1
CTC-338M12.4
BTG2-DT
HLA-DPA1
RBFA
LOC100289230
LOC100310756
C6orf136
LIPN
EOMES

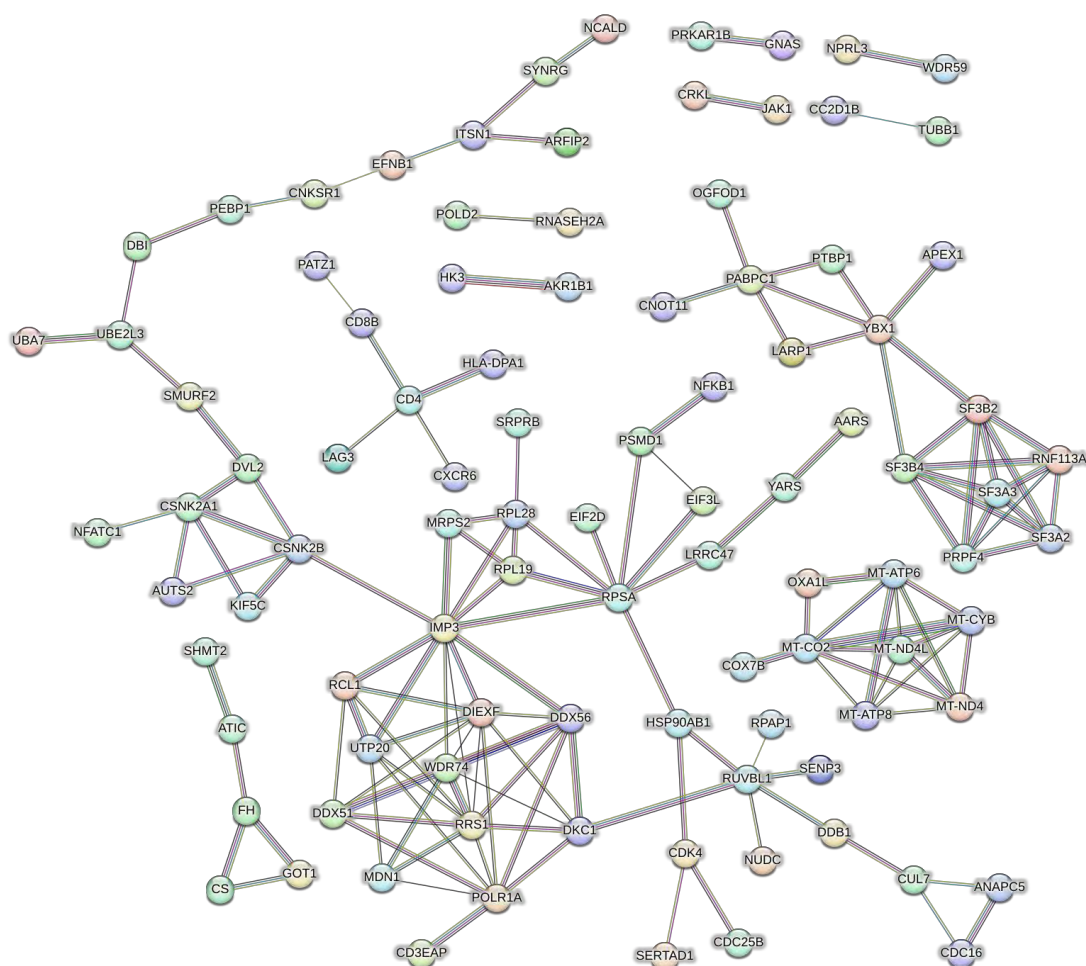
3.3 Ανάλυση εμπλουτισμού σε δείγματα αίματος

Τα 371 διαφορεικά εκφρασμένα γονίδια κατά FDR σε δείγματα αίματος εισάγονται στην STRING για τον σχηματισμό του δικτύου τους με υψηλό επίπεδο εμπιστοσύνης (0.7). Το αποτέλεσμα του δικτύου παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.5. Οι κόμβοι είναι τα γονίδια/γονιδιακοί τόποι και οι ακμές οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Τα διαφορετικά χρώματα των ακμών σηματοδοτούν τις διαφορετικές πηγές από τις οποίες προέρχεται η πληροφορία της κάθε αλληλεπίδρασης. Μία αλληλεπίδραση μπορεί να σχολιάζεται από παραπάνω πηγές και μεταξύ δύο ίδιων κόμβων να υπάρχουν παραπάνω από μία ακμές. Τα χρώματα των ακμών είναι ανοιχτό μπλε για τις καλώς σχολιασμένες βάσεις βιολογικών δεδομένων, μοβ για τις πειραματικά αποδεδειγμένες αλληλεπιδράσεις, πράσινο για τη γονιδιακή γειτνίαση, κόκκινο για τη γονιδιακή ένωση, μπλε για τη συν-εμφάνιση, ανοιχτό πράσινο για την εξόρυξη κειμένου, μαύρο για τη συν-έκφραση και ανοιχτό μοβ για τη γονιδιακή ομολογία.



Εικόνα 3.5. Το δίκτυο των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων των 371 διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος.

Από τα 371 γονίδια η STRING αναγνωρίζει και δίνει πληροφορίες για τα 237. Ο αριθμός των κόμβων είναι τα 237 γονίδια και ο αριθμός των ακμών είναι οι 147 αλληλεπιδράσεις. Υπάρχουν κόμβοι με μεγάλη συνδεσιμότητα αλλά και κόμβοι που είναι ασύνδετοι. Για την καλύτερη οπτικοποίηση του δικτύου αφαιρούνται οι ασύνδετοι κόμβοι. Το δίκτυο παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.6.



Εικόνα 3.6. Το δίκτυο αφαιρώντας τους μη συνδεδεμένους κόμβους.

Το σύνολο των αλληλεπιδράσεων εισάγεται στο NAP. Για την STRING το σύνολο των γονιδίων είναι 237 ενώ του NAP μόλις 97. Συνεπώς, υπάρχουν 140 γονίδια που δεν αλληλεπιδρούν. Μεταξύ των 97 γονιδίων σχηματίζονται 147 αλληλεπιδράσεις δημιουργώντας το τελικό δίκτυο γονιδιακών/πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (βλέπε Παράρτημα). Ορισμένα τοπολογικά χαρακτηριστικά του δικτύου δίνονται στον Πίνακα 3.5 και τοπολογικά χαρακτηριστικά των κόμβων και των ακμών του δικτύου δίνονται στον Πίνακα 3.6.

Πίνακας 3.5. Τοπολογικά χαρακτηριστικά δικτύου.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός κόμβων	97
Αριθμός ακμών	147
Διάμετρος	17
Ακτίνα	1
Μέσο μήκος μονοπατιού	5.18
Μέσος αριθμός γειτόνων	3.03
Πυκνότητα	0.03
Συντελεστής ομαδοποίησης	0.55

Για ένα δίκτυο, συντομότερο μονοπάτι μεταξύ δύο κόμβων είναι αυτό που απαιτεί για την επικοινωνία μεταξύ τους τον μικρότερο αριθμό ακμών. Το μεγαλύτερο από όλα τα συντομότερα μονοπάτια δηλαδή η μεγαλύτερη απόσταση για την επικοινωνία δύο τυχαίων κόμβων είναι 17 ενδιάμεσες ακμές (διάμετρος), η μικρότερη απόσταση είναι μόλις 1 ακμή (ακτίνα) ενώ η μέση απόσταση είναι περίπου 5 ακμές (μέσο μήκος μονοπατιού). Ο μέσος αριθμός γειτόνων είναι 3.03 δηλαδή ένας τυχαίος κόμβος συνδέεται άμεσα με περίπου 3 κόμβους. Η πυκνότητα είναι 0.03 που υποδηλώνει ότι αποτελεί ένα αραιό δίκτυο και ο συντελεστής ομαδοποίησης είναι 0.55 που δηλώνει ότι το δίκτυο δεν τείνει να σχηματίσει ομάδες.

Πίνακας 3.6. Τοπολογικά χαρακτηριστικά στους κορυφαίους 10 κόμβους και κορυφαίες 10 ακμές του δικτύου.

Βαθμός Κόμβου	
Γονίδιο	Τιμή
IMP3	11
RRS1	10
DIEXF	9
POLR1A	8
RPSA	8
DDX56	7
MT-CO2	7
DKC1	6
MT-ATP6	6
RUVBL1	6
SF3B2	6

SF3B4	6
UTP20	6
WDR74	6
YBX1	6
Ενδιάμεση Κεντρικότητα	
Γονίδιο	Τιμή
IMP3	756.2
CSNK2B	588.5
RPSA	494.23
DVL2	451
SMURF2	420
UBE2L3	395
RUVBL1	355.6
DBI	315
PEBP1	276
HSP90AB1	268.83
Ενδιάμεση Κεντρικότητα Αλληλεπιδράσεων	
Αλληλεπίδραση	Τιμή
CSNK2B—IMP3	612
DVL2—SMURF2	462
CSNK2B—DVL2	456
SMURF2—UBE2L3	430
DBI—UBE2L3	360
IMP3—RPSA	356.34
DBI—PEBP1	322
CNKSRI—PEBP1	282
HSP90AB1—RPSA	261.83
CNKSRI—EFNB1	240

Τα γονίδια IMP3, RRS1, DIEXF αλληλεπιδρούν με τα πιο πολλά γονίδια στο δίκτυο και συγκεκριμένα με 11, 10 και 9 γονίδια αντίστοιχα ενώ τα IMP3, CSNK2B, RPSA είναι τα κεντρικότερα γονίδια στο δίκτυο καθώς συμμετέχουν στα περισσότερα από τα συντομότερα μονοπάτια που μπορούν να σχηματιστούν. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ των γονιδίων CSNK2B και IMP3 είναι η κεντρικότερη στο δίκτυο καθώς συμμετέχει στα περισσότερα από τα συντομότερα μονοπάτια που μπορούν να σχηματιστούν (Πίνακας 3.6).

Για τα 371 διαφορεικά εκφρασμένα γονίδια πραγματοποιείται ανάλυση εμπλουτισμού με το διαδικτυακό εργαλείο g:profiler και συγκεκριμένα με το g:GOST (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>). Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιείται η μέθοδος διόρθωσης FDR και επίπεδο σημαντικότητας 0.05. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης εμπλουτισμού τα οποία είναι στατιστικά σημαντικά αναλύονται παρακάτω ανά κατηγορία. Οι οντολογικοί όροι που βρίσκονται πιο κοντά στο κάθε διάγραμμα είναι κοντινότεροι στον ακυκλικό γράφο της οντολογίας.

Ως προς τη μοριακή λειτουργία τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.7 και στον Πίνακα 3.7.



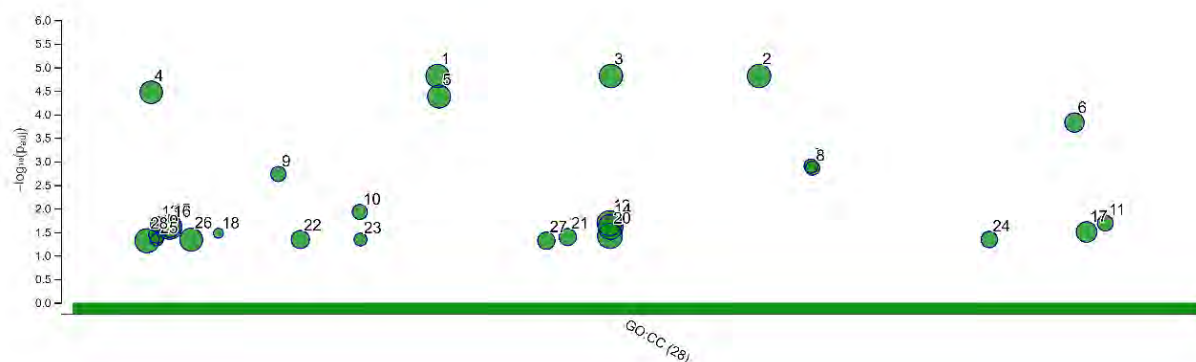
Εικόνα 3.7

Πίνακας 3.7. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Μοριακή Λειτουργία» των διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Translation regulator activity	GO:0045182	9 of 156	0.016258816	1.788911097
2	Translation regulator activity nucleic acid binding	GO:0090079	8 of 121	0.016258816	1.788911097
3	Catalytic activity acting on RNA	GO:0140098	15 of 401	0.016258816	1.788911097
4	C5-methylcytidine-containing RNA binding	GO:0062153	2 of 2	0.021914604	1.659266377
5	Protein binding	GO:0005515	190 of 14833	0.023319655	1.632277871

Τα γονίδια συμμετέχουν σε μοριακές λειτουργίες που σχετίζονται με τη ρύθμιση της μετάφρασης, την πρόσδεση των πρωτεϊνών και του RNA και με την ενεργώς δραστηριότητα του RNA.

Ως προς το κυτταρικό συστατικό τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.8 και στον Πίνακα 3.8.

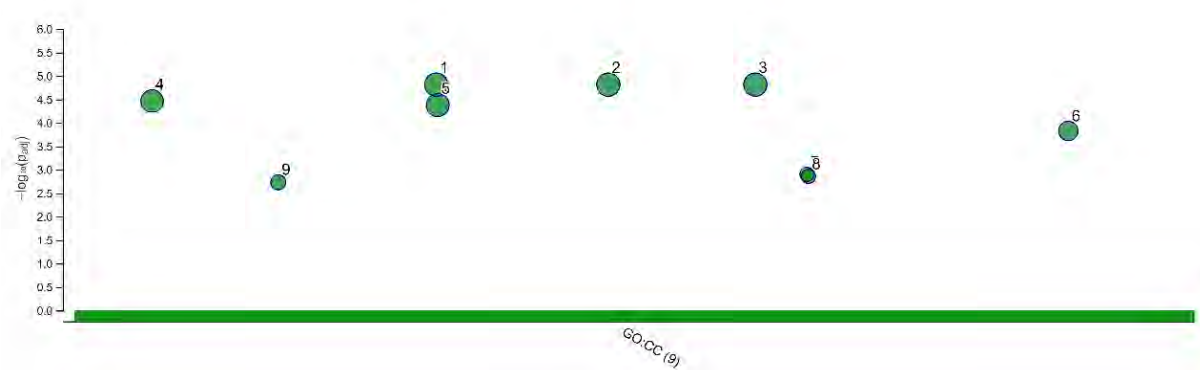


Εικόνα 3.8

Πίνακας 3.8. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Κυτταρικό Συστατικό» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Membrane-enclosed lumen	GO:0031974	111 of 6626	1.53208E-05	4.814717343
2	Intracellular organelle lumen	GO:0070013	111 of 6625	1.53208E-05	4.814717343
3	Organelle lumen	GO:0043233	111 of 6626	1.53208E-05	4.814717343
4	Nucleoplasm	GO:0005654	79 of 4215	3.40391E-05	4.468021979
5	Nuclear lumen	GO:0031981	95 of 5500	4.18488E-05	4.378316905
6	Intracellular protein-containing complex	GO:0140535	25 of 783	0.000148819	3.827340924
7	U2-type precatalytic spliceosome	GO:0071005	6 of 50	0.00125405	2.901685121
8	Precatalytic spliceosome	GO:0071011	6 of 52	0.001380442	2.859981705
9	Cytoplasmic stress granule	GO:0010494	7 of 82	0.001851953	2.73236997
10	Preribosome	GO:0030684	6 of 79	0.011799473	1.928137386
11	Ficolin-1-rich granule lumen	GO:1904813	7 of 124	0.020375234	1.690897387
12	Membrane-bounded organelle	GO:0043227	193 of 15617	0.020428921	1.689754581
13	U2-type spliceosomal complex	GO:0005684	6 of 93	0.021928904	1.65898307
14	Intracellular membrane-bounded organelle	GO:0043231	182 of 14570	0.024722766	1.606902934
15	Cytoplasm	GO:0005737	158 of 12241	0.024722766	1.606902934
16	Mitochondrion	GO:0005739	33 of 1683	0.024722766	1.606902934
17	Catalytic complex	GO:1902494	30 of 1505	0.031545284	1.501065561
18	Protein kinase CK2 complex	GO:0005956	2 of 5	0.033455248	1.475535741
19	Spliceosomal complex	GO:0005681	8 of 193	0.03587246	1.445238842
20	Intracellular organelle	GO:0043229	194 of 15936	0.038054162	1.419597835
21	Cytoplasmic ribonucleoprotein granule	GO:0036464	9 of 247	0.040449038	1.393091805
22	Nuclear speck	GO:0016607	12 of 416	0.045544347	1.341565519
23	Preribosome large subunit precursor	GO:0030687	3 of 24	0.045544347	1.341565519
24	Inner mitochondrial membrane protein complex	GO:0098800	7 of 161	0.045544347	1.341565519
25	Anaphase-promoting complex	GO:0005680	3 of 24	0.045544347	1.341565519
26	Cytosol	GO:0005829	79 of 5420	0.045801522	1.339120091
27	Ribonucleoprotein granule	GO:0035770	9 of 264	0.048310345	1.315959863
28	Nucleus	GO:0005634	132 of 10084	0.048310345	1.315959863

Επειδή τα αποτελέσματα είναι αρκετά, το επίπεδο σημαντικότητας περιορίζεται στο 0.01. Τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.9 και στον Πίνακα 3.9.



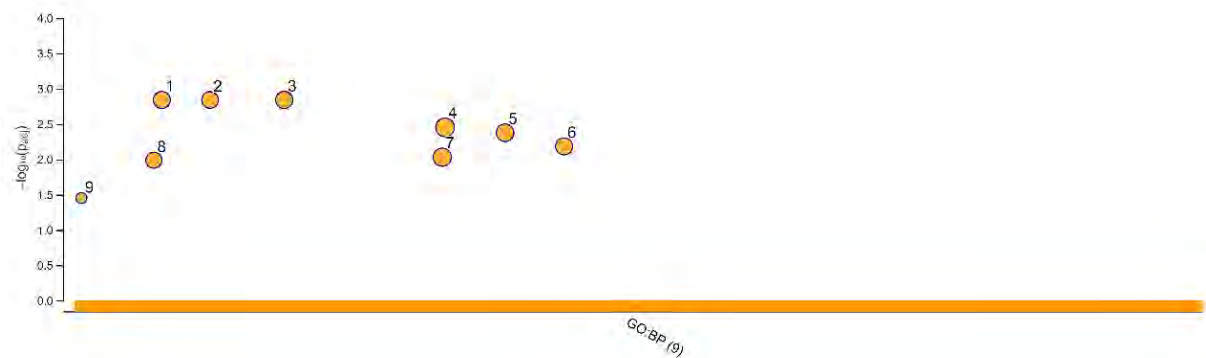
Εικόνα 3.9

Πίνακας 3.9. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Κυτταρικό Συστατικό» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος με επίπεδο σημαντικότητας 0.01.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Membrane-enclosed lumen	GO:0031974	111 of 6626	1.53208E-05	4.814717343
2	Organelle lumen	GO:0043233	111 of 6626	1.53208E-05	4.814717343
3	Intracellular organelle lumen	GO:0070013	111 of 6625	1.53208E-05	4.814717343
4	Nucleoplasm	GO:0005654	79 of 4215	3.40391E-05	4.468021979
5	Nuclear lumen	GO:0031981	95 of 5500	4.18488E-05	4.378316905
6	Intracellular protein-containing complex	GO:0140535	25 of 783	0.000148819	3.827340924
7	U2-type precatalytic spliceosome	GO:0071005	6 of 50	0.00125405	2.901685121
8	Precatalytic spliceosome	GO:0071011	6 of 52	0.001380442	2.859981705
9	Cytoplasmic stress granule	GO:0010494	7 of 82	0.001851953	2.73236997

Τα γονιδιακά προϊόντα εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, σε περιοχές που περικλείονται από μεμβράνες (κυτοσόλια, μιτοχόνδρια), σε ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα και ριβοσώματα.

Ως προς τη βιολογική διεργασία τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.10 και στον Πίνακα 3.10.



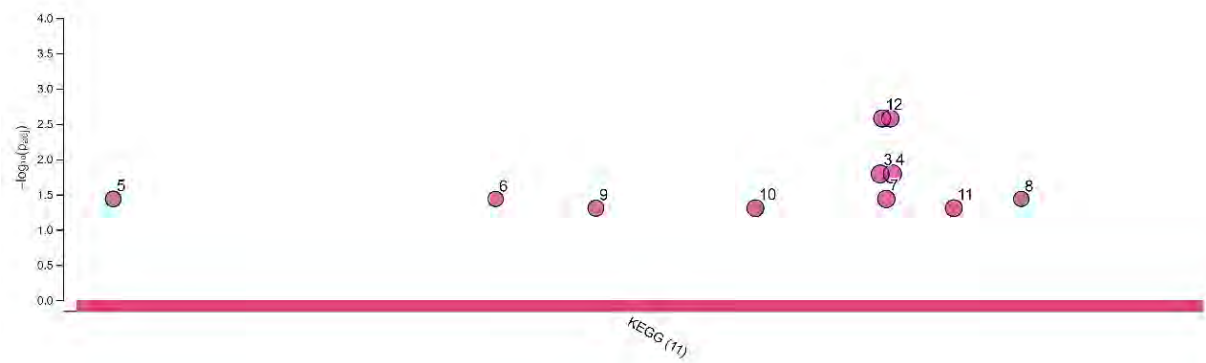
Εικόνα 3.10

Πίνακας 3.10. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Βιολογική Διεργασία» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	rRNA processing	GO:0006364	13 of 226	0.001439455	2.841801989
2	Aerobic respiration	GO:0009060	12 of 192	0.001439455	2.841801989
3	rRNA metabolic process	GO:0016072	14 of 264	0.001439455	2.841801989
4	ncRNA metabolic process	GO:0034660	20 of 568	0.003525807	2.452741513
5	Ribosome biogenesis	GO:0042254	14 of 304	0.004200305	2.37671918
6	Cellular respiration	GO:0045333	12 of 238	0.006542327	2.18426778
7	ncRNA processing	GO:0034470	16 of 429	0.009322851	2.030451273
8	Oxidative phosphorylation	GO:0006119	9 of 142	0.010278682	1.988062585
9	Endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA5.8S rRNA)	GO:0000447	3 of 9	0.035352736	1.451576969

Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε βιολογικές διεργασίες όπως η μεταβολική επεξεργασία του rRNA και του ncRNA, η βιογένεση των ριβοσωμάτων, η αερόβια αναπνοή και η οξειδωτική φωσφορυλίωση.

Ως προς τα βιολογικά μονοπάτια από την KEGG τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.11 και στον Πίνακα 3.11.



Εικόνα 3.11

Πίνακας 3.11. Στατιστικά σημαντικοί όροι των KEGG βιοχημικών μονοπατιών των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log(Adjusted_p_value)
1	Parkinson disease	KEGG:05012	13 of 238	0.002646667	2.577300722
2	Prion disease	KEGG:05020	13 of 243	0.002646667	2.577300722
3	Alzheimer disease	KEGG:05010	14 of 353	0.016204566	1.790362594
4	Pathways of neurodegeneration - multiple diseases	KEGG:05022	16 of 442	0.016204566	1.790362594
5	Oxidative phosphorylation	KEGG:00190	7 of 118	0.036667633	1.435717129
6	Ribosome biogenesis in eukaryotes	KEGG:03008	6 of 88	0.036667633	1.435717129
7	Huntington disease	KEGG:05016	11 of 272	0.036667633	1.435717129
8	PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	KEGG:05235	6 of 88	0.036667633	1.435717129
9	Ubiquitin mediated proteolysis	KEGG:04120	7 of 134	0.049533604	1.305100076
10	Thermogenesis	KEGG:04714	9 of 207	0.049533604	1.305100076
11	Human T-cell leukemia virus 1 infection	KEGG:05166	9 of 211	0.049533604	1.305100076

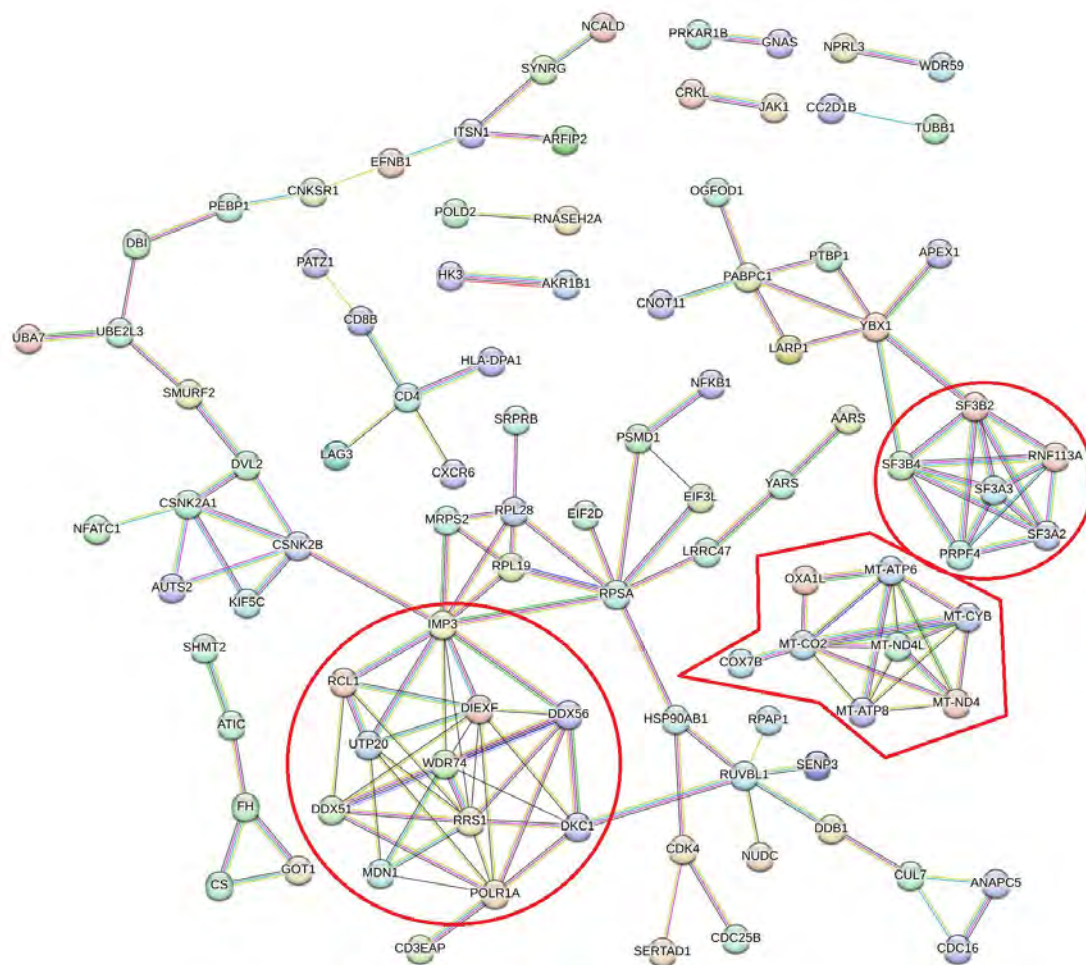
Τα γονιδιακά προϊόντα σχετίζονται με μονοπάτια διάφορων ασθενειών όπως Parkinson, Alzheimer και άλλων νευροεκφυλιστικών νόσων. Επίσης, σχετίζονται με μονοπάτια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και της βιογένεσης των ριβοσωμάτων τα οποία επιβεβαιώθηκαν παραπάνω στις βιολογικές διεργασίες.

Το συνολικό διάγραμμα για όλη την ανάλυση εμπλουτισμού φαίνεται στην Εικόνα 3.12.



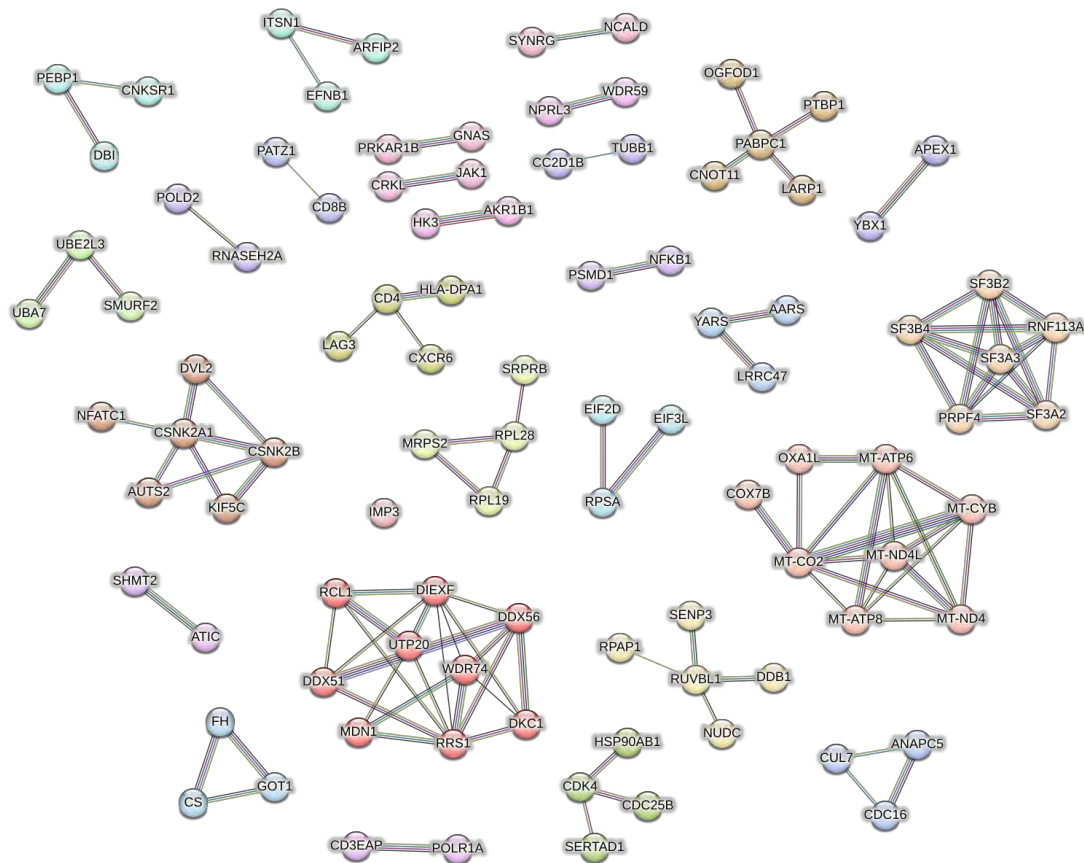
Εικόνα 3.12

Παρατηρώντας το δίκτυο όπως αυτό δημιουργείται από την STRING, σχηματίζονται κυρίως 3 μεγάλες ομάδες γονιδίων (Εικόνα 3.13).



Εικόνα 3.13. Οι 3 μεγαλύτερες ομάδες που φαίνεται οπτικά να σχηματίζονται στο δίκτυο.

Για την επιβεβαίωση της παραπάνω υπόθεσης στο δίκτυο πραγματοποιείται ομαδοποίηση με τον μη επιβλεπόμενο αλγόριθμο MCL με παράμετρο εμφύσησης (inflation) 3. Το αποτέλεσμα φαίνεται στην Εικόνα 3.14.



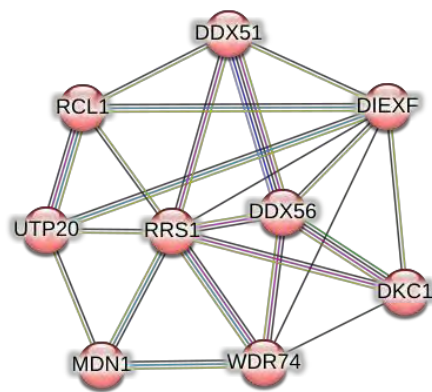
Εικόνα 3.14. Ομαδοποίηση του δικτύου με τον αλγόριθμο MCL.

Σχηματίζονται 29 ομάδες γονιδίων οι οποίες δίνονται στον Πίνακα 3.12.

Πίνακας 3.12. Οι ομάδες που σχηματίζονται μετά από την εφαρμογή του αλγορίθμου MCL.

Ομάδα	Πλήθος γονιδίων	Ονόματα γονιδίων
1	9	DDX51, DDX56, DIEXF, DKC1, MDN1, RCL1, RRS1, UTP20, WDR74
2	8	COX7B, MT-ATP6, MT-ATP8, MT-CO2, MT-CYB, MT-ND4, MT-ND4L, OXA1L
3	6	AUTS2, CSNK2A1, CSNK2B, DVL2, KIF5C, NFATC1
4	6	PRPF4, RNF113A, SF3A2, SF3A3, SF3B2, SF3B4
5	5	CNOT11, LARP1, OGFOD1, PABPC1, PTBP1
6	5	DDB1, NUDC, RPAP1, RUVBL1, SENP3
7	4	CD4, CXCR6, HLA-DPA1, LAG3
8	4	MRPS2, RPL19, RPL28, SRPRB
9	4	CDC25B, CDK4, HSP90AB1, SERTAD1
10	3	SMURF2, UBA7, UBE2L3
11	3	ARFIP2, EFN1, ITSN1
12	3	CNKS1, DBI, PEBP1
13	3	EIF2D, EIF3L, RPSA
14	3	CS, FH, GOT1
15	3	AARS, LRRC47, YARS
16	3	ANAPC5, CDC16, CUL7
17	2	CD8B, PATZ1
18	2	APEX1, YBX1
19	2	CC2D1B, TUBB1
20	2	POLD2, RNASEH2A
21	2	NFKB1, PSMD1
22	2	ATIC, SHMT2
23	2	CD3EAP, POLR1A
24	2	NPRL3, WDR59
25	2	AKR1B1, HK3
26	2	CRKL, JAK1
27	2	GNAS, PRKAR1B
28	2	NCALD, SYNRG
29	1	IMP3

Οι 4 μεγαλύτερες ομάδες παρουσιάζονται παρακάτω.

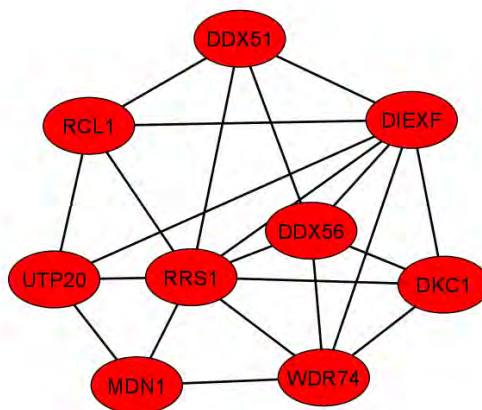


Εικόνα 3.15. Πρώτη ομάδα.

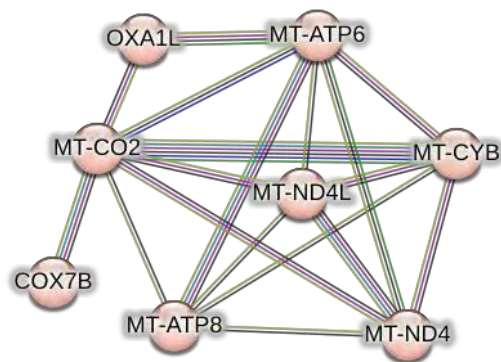
Πίνακας 3.13. Τοπολογικά χαρακτηριστικά πρώτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	9
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	22
Μέσος βαθμός κόμβου	4.89
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.73

Τα γονίδια της πρώτης ομάδας (Εικόνα 3.15) συμμετέχουν στη βιογένεση και την επεξεργασία του rRNA. Σχηματίζουν κυρίως τα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα και τα πρόδρομα μόρια του rRNA τόσο της μεγάλης όσο και της μικρής υπο-μονάδας. Όλα τα γονίδια της πρώτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.16).



Εικόνα 3.16. Έκφραση διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων πρώτης ομάδας.

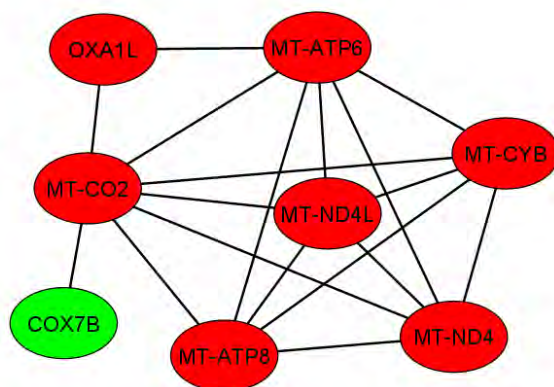


Εικόνα 3.17. Δεύτερη ομάδα.

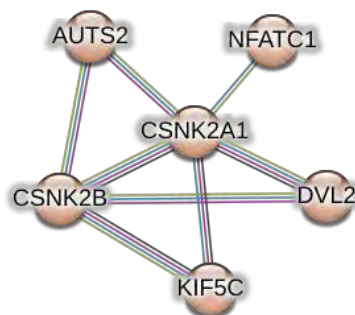
Πίνακας 3.14. Τοπολογικά χαρακτηριστικά δεύτερης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	8
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	18
Μέσος βαθμός κόμβου	4.5
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.907

Τα γονίδια της δεύτερης ομάδας (Εικόνα 3.17) εντοπίζονται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Συμμετέχουν στην κυτταρική αναπνοή των ευκαρυωτικών κυττάρων καθώς αποτελούν τμήματα συμπλόκων κυτοχρωμάτων τα οποία απαιτούνται για την παραγωγή της ενέργειας των κυττάρων. Όλα τα γονίδια της δεύτερης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα εκτός από το COX7B το οποίο είναι υπερ-εκφρασμένο (Εικόνα 3.18).



Εικόνα 3.18. Έκφραση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων δεύτερης ομάδας.

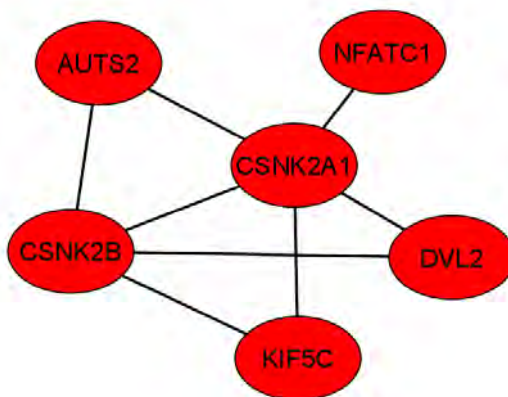


Εικόνα 3.19. Τρίτη ομάδα.

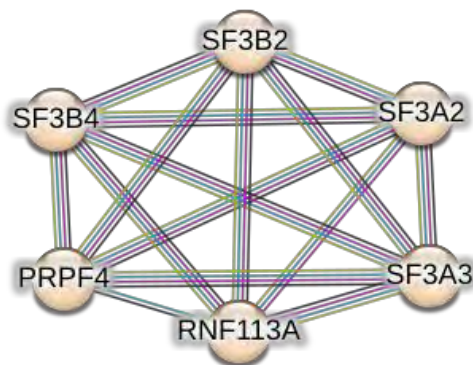
Πίνακας 3.15. Τοπολογικά χαρακτηριστικά τρίτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	6
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	8
Μέσος βαθμός κόμβου	2.67
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.8

Τα γονίδια της τρίτης ομάδας (Εικόνα 3.19) αποτελούν κυρίως κινάσες. Συμμετέχουν στα σηματοδοτικά μονοπάτια για την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τον προγραμματισμένο θάνατο λεμφοειδών και μη λεμφοειδών κυττάρων, τον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και τη μεταγραφή. Χαρακτηριστικό μονοπάτι αποτελεί η wnt σηματοδότηση η οποία συμμετέχει στην οστεοκλαστογένεση και στην οστεοβλαστογένεση. Όλα τα γονίδια της τρίτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.20).



Εικόνα 3.20. Έκφραση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων τρίτης ομάδας.

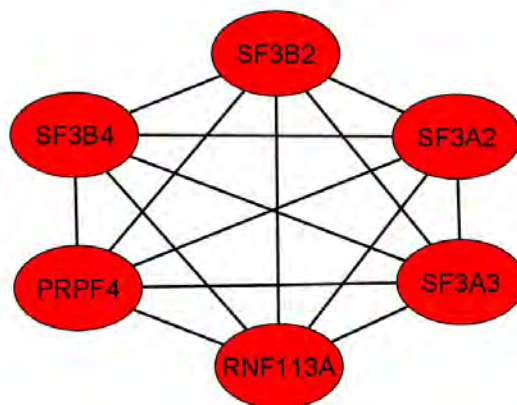


Εικόνα 3.21. Τέταρτη ομάδα.

Πίνακας 3.16. Τοπολογικά χαρακτηριστικά τέταρτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	6
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	15
Μέσος βαθμός κόμβου	5
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	1

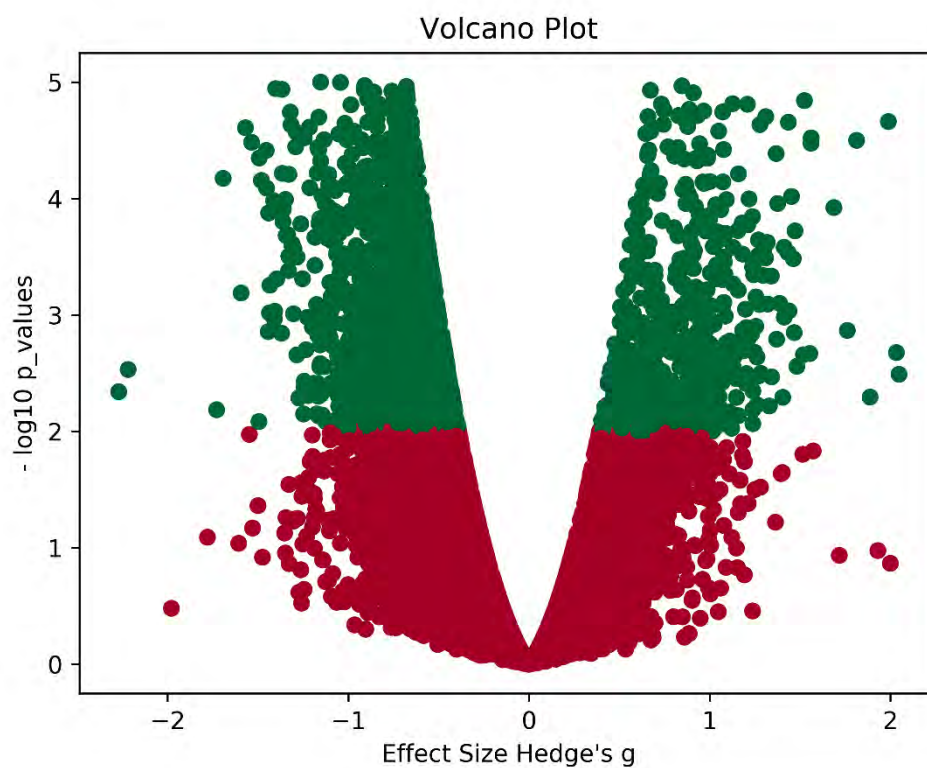
Τα γονίδια της τέταρτης (Εικόνα 3.21) ομάδας συμμετέχουν στην επεξεργασία και το μάτισμα του mRNA. Τα γονιδιακά προϊόντα αποτελούν παράγοντες συμπλοκών ματίσματος του πρόδρομου mRNA. Όλα τα γονίδια της τέταρτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.22).



Εικόνα 3.22. Έκφραση διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων τέταρτης ομάδας.

3.4 Μετα-ανάλυση δεδομένων σε δείγματα αρθρικού ιστού

Η μετα-ανάλυση σε δείγματα αίματος πραγματοποιήθηκε σε 21992 γονίδια από 10 μελέτες όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω (Πίνακας 3.2). Στα αποτελέσματα, 2462 γονίδια με $p\text{-value} < 0.01$ θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά. Από αυτά, τα 1851 γονίδια υπο-εκφράζονται στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς και τα 611 υπερ-εκφράζονται αντίστοιχα (Εικόνα 3.23).



Εικόνα 3.23. Διάγραμμα ηφαιστείου για τη διαφορική έκφραση γονιδίων από δείγματα αίματος. Τα γονίδια με $-\log_{10}(p\text{-value}) > 2$ είναι στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα ενώ με $-\log_{10}(p\text{-value}) < 2$ είναι στατιστικώς μη σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα. Τα γονίδια με $\text{effect_size} > 0$ υπερ-εκφράζονται στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους υγιείς και τα γονίδια με $\text{effect_size} < 0$ υπο-εκφράζονται στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους υγιείς.

Ωστόσο, ο μεγάλος αριθμός γονιδίων φανερώνει την ύπαρξη ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων και καταδεικνύει την ανάγκη διόρθωσης των $p\text{-values}$ με τις μεθόδους διόρθωσης πολλαπλών συγκρίσεων (Bonferroni, Sidak, Holm, Holland και FDR). Με

την χρήση των μεθόδων διόρθωσης τα στατιστικώς σημαντικά γονίδια περιορίστηκαν ακόμα περισσότερο. Το πλήθος τους παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.17.

Πίνακας 3.17. Πλήθος στατιστικά σημαντικών γονιδίων.

	P-value<0.01	FDR	Bonferroni	Sidak	Holm	Holland
Στατιστικώς σημαντικά γονίδια	2462	637	204	204	204	204
Υπερ-εκφρασμένα γονίδια	611	165	51	51	51	51
Υπο-εκφρασμένα γονίδια	1851	472	153	153	153	153

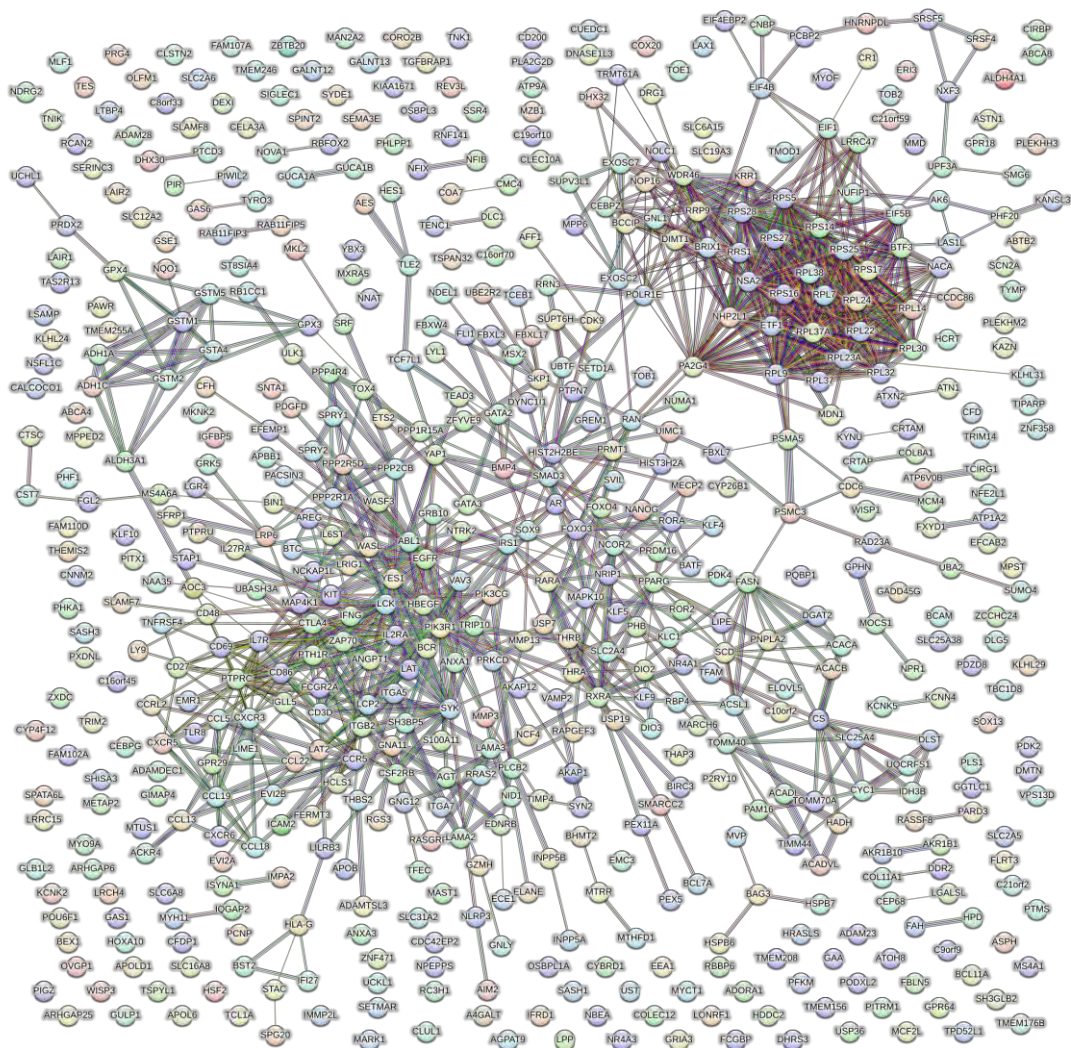
Τα κορυφαία 10 στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.18. Για την συνέχεια της ανάλυσης θεωρήθηκαν ως στατιστικώς σημαντικά τα 637 γονίδια κατά FDR (βλέπε Παράρτημα).

Πίνακας 3.18. Κορυφαία 10 στατιστικώς σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια κατά FDR. Με κόκκινο χρώμα είναι τα υπο-εκφρασμένα και με πράσινο τα υπερ-εκφρασμένα γονίδια/γονιδιακοί τύποι.

Γονίδιο/ Γονιδιακός Τύπος
UBTF
TCF7L1
CORO2B
MLF1
PDK2
PDK4
FAM110D
IMPA2
IGLV1_44
NBEA

3.5 Ανάλυση εμπλουτισμού σε δείγματα αρθρικού ιστού

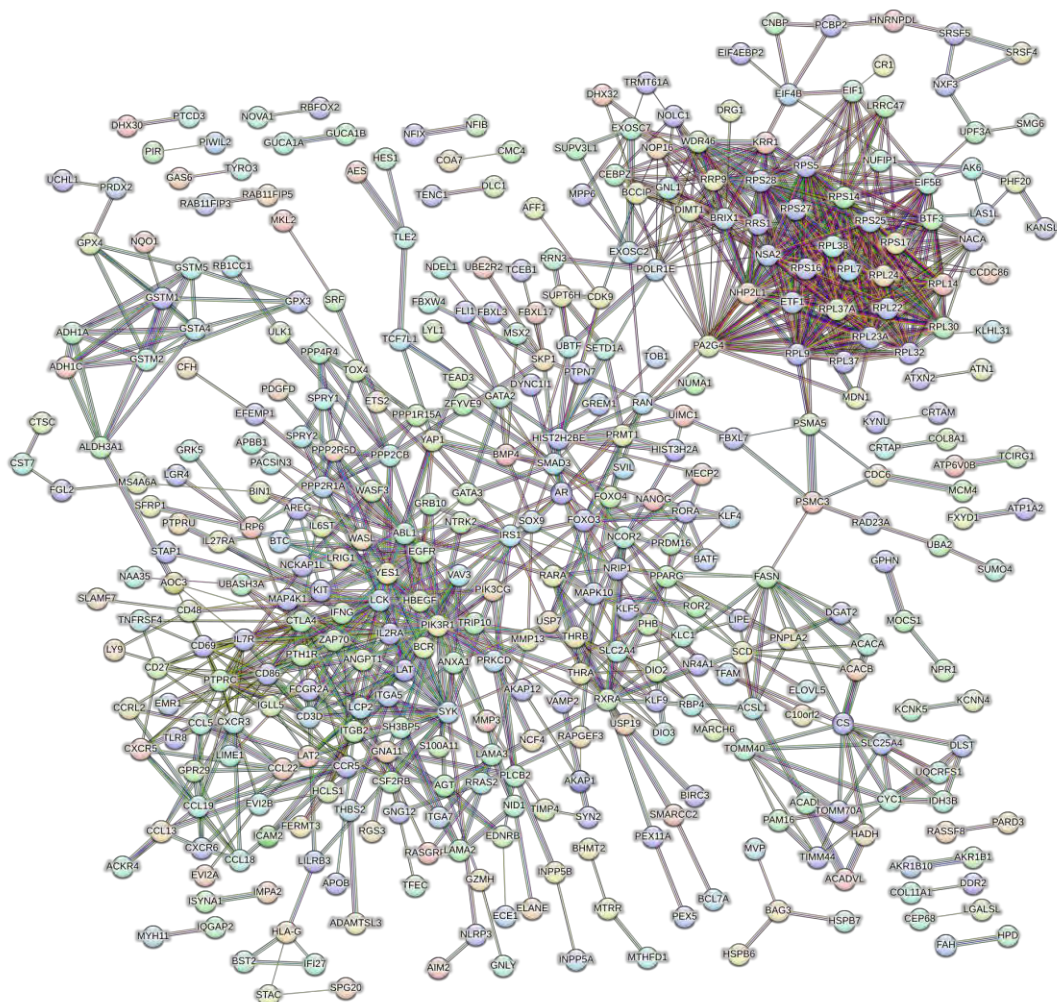
Τα 637 διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού εισάγονται στην STRING για τον σχηματισμό του δικτύου τους με υψηλό επίπεδο εμπιστοσύνης (0.7). Το αποτέλεσμα του δικτύου παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.24. Οι κόμβοι είναι τα γονίδια/γονιδιακοί τόποι και οι ακμές οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους.



Εικόνα 3.24. Το δίκτυο των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων των 637 διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού.

Από τα 637 γονίδια η STRING αναγνωρίζει και δίνει πληροφορίες για τα 597. Ο αριθμός των κόμβων είναι τα 597 γονίδια και ο αριθμός των ακμών είναι οι 1125

αλληλεπιδράσεις. Υπάρχουν κόμβοι με μεγάλη συνδεσιμότητα αλλά και κόμβοι που είναι ασύνδετοι. Για την καλύτερη οπτικοποίηση του δικτύου αφαιρούνται οι ασύνδετοι κόμβοι. Το δίκτυο παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.25.



Εικόνα 3.25. Το δίκτυο αφαιρώντας τους μη συνδεδεμένους κόμβους.

Το σύνολο των αλληλεπιδράσεων του δικτύου από την STRING εισάγεται στο NAP. Το σύνολο των γονιδίων που αλληλεπιδρούν είναι 380. Επομένως, υπάρχουν 217 ασύνδετοι κόμβοι. Μεταξύ των 380 γονιδίων σχηματίζονται 1125 αλληλεπιδράσεις δημιουργώντας το τελικό δίκτυο γονιδιακών/πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (βλέπε Παράρτημα). Ορισμένα τοπολογικά χαρακτηριστικά του δικτύου δίνονται στον Πίνακα 3.19 και τοπολογικά χαρακτηριστικά των κόμβων και των ακμών του δικτύου δίνονται στον Πίνακα 3.20.

Πίνακας 3.19. Τοπολογικά χαρακτηριστικά δικτύου.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός κόμβων	380
Αριθμός ακμών	1125
Διάμετρος	12
Ακτίνα	1
Μέσο μήκος μονοπατιού	4.59
Μέσος αριθμός γειτόνων	5.92
Πυκνότητα	0.02
Συντελεστής ομαδοποίησης	0.54

Για ένα δίκτυο, συντομότερο μονοπάτι μεταξύ δύο κόμβων είναι αυτό που απαιτεί για την επικοινωνία μεταξύ τους τον μικρότερο αριθμό ακμών. Το μεγαλύτερο από όλα τα συντομότερα μονοπάτια δηλαδή η μεγαλύτερη απόσταση για την επικοινωνία δύο τυχαίων κόμβων είναι 12 ενδιάμεσες ακμές (διάμετρος), η μικρότερη απόσταση είναι μόλις 1 ακμή (ακτίνα) ενώ η μέση απόσταση είναι περίπου 5 ακμές (μέσο μήκος μονοπατιού). Ο μέσος αριθμός γειτόνων είναι 5.9 δηλαδή ένας τυχαίος κόμβος συνδέεται άμεσα με περίπου 6 κόμβους. Η πυκνότητα είναι 0.02 που υποδηλώνει ότι αποτελεί ένα αραιό δίκτυο και ο συντελεστής ομαδοποίησης είναι 0.54 που δηλώνει ότι το δίκτυο δεν τείνει να σχηματίσει ομάδες.

Πίνακας 3.20. Τοπολογικά χαρακτηριστικά στους κορυφαίους 10 κόμβους και κορυφαίες 10 ακμές του δικτύου.

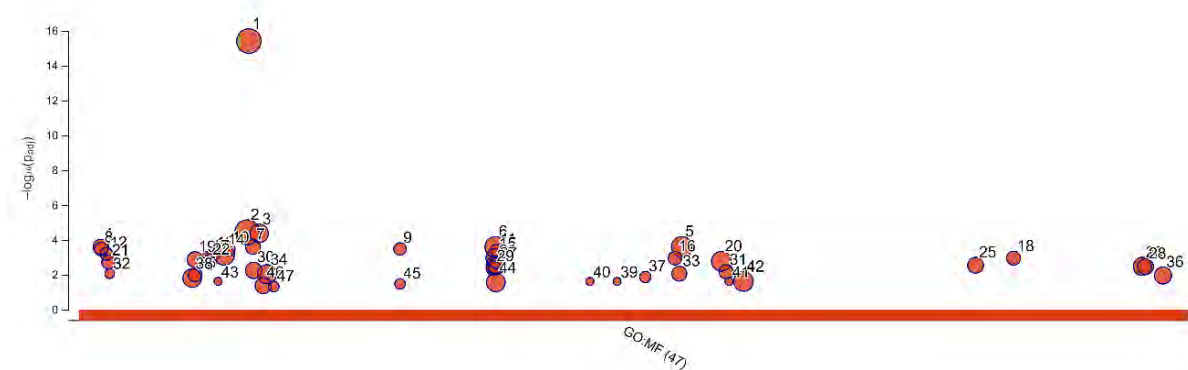
Βαθμός Κόμβου	
Γονίδιο	Τιμή
EGFR	33
PIK3R1	33
NSA2	32
RPS16	30
RPS28	30
RPS5	30
PA2G4	29
RPS14	29
NHP2L1	27
RPL23A	27
RPS27	27
Ενδιάμεση Κεντρικότητα	

Γονίδιο	Τιμή
AR	16937.68
PA2G4	11846.88
PIK3R1	10658.89
EGFR	10171.75
SMAD3	4630.91
IRS1	4229.19
YAP1	4226.48
RXRA	4162.37
FASN	3403.60
SYK	3195.85
Ενδιάμεση Κεντρικότητα Αλληλεπιδράσεων	
Αλληλεπίδραση	Τιμή
AR—PA2G4	11886.19
AR—PIK3R1	4820.36
AR—EGFR	4807.08
GPX3—YAP1	2815.38
PIK3R1—RXRA	2522.23
AR—PHB	2050.45
FASN—PSMC3	1819.39
PHB—TOMM40	1792.41
HLA-G—LILRB3	1605.00
ETF1—UPF3A	1578.17

Τα γονίδια EGFR, PIK3R1, NSA2 αλληλεπιδρούν με τα πιο πολλά γονίδια στο δίκτυο και συγκεκριμένα με 33, 33 και 32 γονίδια αντίστοιχα ενώ τα AR, PA2G4, PIK3R1, EGFR είναι τα κεντρικότερα γονίδια στο δίκτυο καθώς συμμετέχουν στα περισσότερα από τα συντομότερα μονοπάτια που μπορούν να σχηματιστούν. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ των γονιδίων AR και PA2G4 είναι η κεντρικότερη στο δίκτυο καθώς συμμετέχει στα περισσότερα από τα συντομότερα μονοπάτια που μπορούν να σχηματιστούν (Πίνακας 3.20).

Για τα 637 διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια πραγματοποιείται ανάλυση εμπλουτισμού με το διαδικτυακό εργαλείο g:profiler. Επιλέγεται μέθοδος διόρθωσης FDR και επίπεδο σημαντικότητας 0.05. Σε ορισμένες περιπτώσεις που τα αποτελέσματα είναι αρκετά το επίπεδο σημαντικότητας μειώνεται στο 0.01. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης εμπλουτισμού τα οποία είναι στατιστικά σημαντικά αναλύονται παρακάτω ανά κατηγορία.

Ως προς την μοριακή λειτουργία τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.26 και στον Πίνακα 3.21.



Εικόνα 3.26.

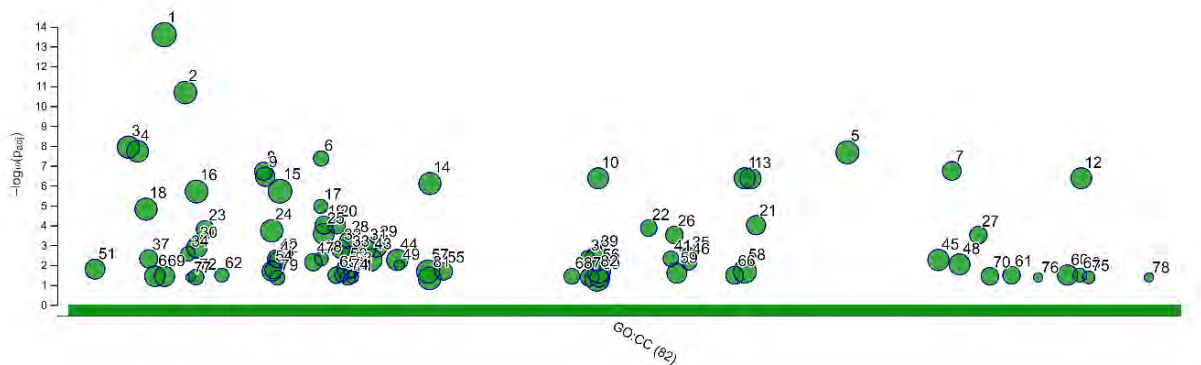
Πίνακας 3.21. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Μοριακή Λειτουργία» των διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Protein binding	GO:0005515	516 of 14833	3.98E-16	15.40005892
2	Binding	GO:0005488	563 of 18309	3.73685E-05	4.427494587
3	Transcription factor binding	GO:0008134	42 of 594	4.35208E-05	4.361303625
4	Transcription coregulator binding	GO:0001221	15 of 113	0.000261012	3.583339756
5	Identical protein binding	GO:0042802	98 of 2105	0.000261012	3.583339756
6	Enzyme binding	GO:0019899	96 of 2048	0.000261012	3.583339756
7	Beta-catenin binding	GO:0008013	13 of 88	0.000261012	3.583339756
8	Transcription coactivator binding	GO:0001223	9 of 42	0.000341542	3.466556348
9	C-C chemokine receptor activity	GO:0016493	7 of 23	0.000341542	3.466556348
10	Epidermal growth factor receptor binding	GO:0005154	8 of 32	0.000341542	3.466556348
11	C-C chemokine binding	GO:0019957	7 of 24	0.00042744	3.369125193
12	G protein-coupled chemoattractant receptor activity	GO:0001637	7 of 26	0.000653654	3.18465235
13	Chemokine receptor activity	GO:0004950	7 of 26	0.000653654	3.18465235
14	Signaling receptor binding	GO:0005102	75 of 1556	0.000766254	3.115627097
15	Kinase binding	GO:0019900	44 of 771	0.001145946	2.94083569
16	SH2 domain binding	GO:0042169	8 of 40	0.001145946	2.94083569
17	Nuclear receptor activity	GO:0004879	9 of 52	0.001145946	2.94083569
18	Ligand-activated transcription factor activity	GO:0098531	9 of 52	0.001145946	2.94083569
19	Protein tyrosine kinase activity	GO:0004713	15 of 145	0.001391787	2.856427208
20	Protein-containing complex binding	GO:0044877	63 of 1283	0.001736867	2.760233358
21	Phosphotyrosine residue binding	GO:0001784	8 of 44	0.001915502	2.717717458
22	Cytokine receptor activity	GO:0004896	12 of 100	0.001915502	2.717717458
23	Chemokine binding	GO:0019956	7 of 33	0.002012443	2.696276502
24	Protein kinase binding	GO:0019901	39 of 690	0.002929473	2.533210468

25	Growth factor receptor binding	GO:0070851	14 of 140	0.002929473	2.533210468
26	DNA-binding transcription factor binding	GO:0140297	30 of 479	0.003368655	2.47254348
27	Cytokine binding	GO:0019955	14 of 143	0.003368655	2.47254348
28	Immune receptor activity	GO:0140375	14 of 144	0.003504532	2.455369973
29	rRNA binding	GO:0019843	9 of 65	0.004426904	2.353899913
30	Protein C-terminus binding	GO:0008022	16 of 190	0.005782499	2.237884404
31	Protein phosphorylated amino acid binding	GO:0045309	8 of 55	0.007064464	2.150920764
32	Complement component C3b binding	GO:0001851	3 of 5	0.008901822	2.05052107
33	Hormone binding	GO:0042562	10 of 88	0.008901822	2.05052107
34	Lipid binding	GO:0008289	41 of 793	0.00953725	2.020576823
35	Non-membrane spanning protein tyrosine kinase activity	GO:0004715	7 of 45	0.010403922	1.982802894
36	Sulfur compound binding	GO:1901681	19 of 268	0.011309925	1.946540273
37	Nuclear glucocorticoid receptor binding	GO:0035259	4 of 13	0.013858744	1.858276137
38	Protein kinase activity	GO:0004672	32 of 586	0.016029983	1.795066947
39	Box C/D RNA binding	GO:0034512	2 of 2	0.024745226	1.606508572
40	Thyroxine 5-deiodinase activity	GO:0033798	2 of 2	0.024745226	1.606508572
41	Interleukin-27 receptor activity	GO:0045509	2 of 2	0.024745226	1.606508572
42	Protein dimerization activity	GO:0046983	50 of 1086	0.024745226	1.606508572
43	Epidermal growth factor receptor activity	GO:0005006	2 of 2	0.024745226	1.606508572
44	Protein domain specific binding	GO:0019904	35 of 689	0.027993434	1.552943822
45	C-X-C chemokine receptor activity	GO:0016494	3 of 8	0.034249249	1.46534895
46	Heparin binding	GO:0008201	13 of 172	0.042451091	1.372111139
47	Selenium binding	GO:0008430	3 of 9	0.048133315	1.317554225

Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε μοριακές λειτουργίες που σχετίζονται κυρίως με την πρόσδεση πρωτεϊνών. Ποιο συγκεκριμένα αποτελούν μέρη πρωτεϊνικών συμπλοκών και εμπλέκονται στην πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων, ορμονών, ενζύμων, rRNA, λιπιδίων και άλλων ενώσεων. Επιπλέον, συμμετέχουν σε σηματοδοτικά μονοπάτια ως υποδοχείς χημειοκινών, πρωτεϊνών τυροσίνης, κυτταροκινών και πυρηνικών υποδοχέων.

Ως προς το κυτταρικό συστατικό τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.27 και στον Πίνακα 3.22.



Εικόνα 3.27.

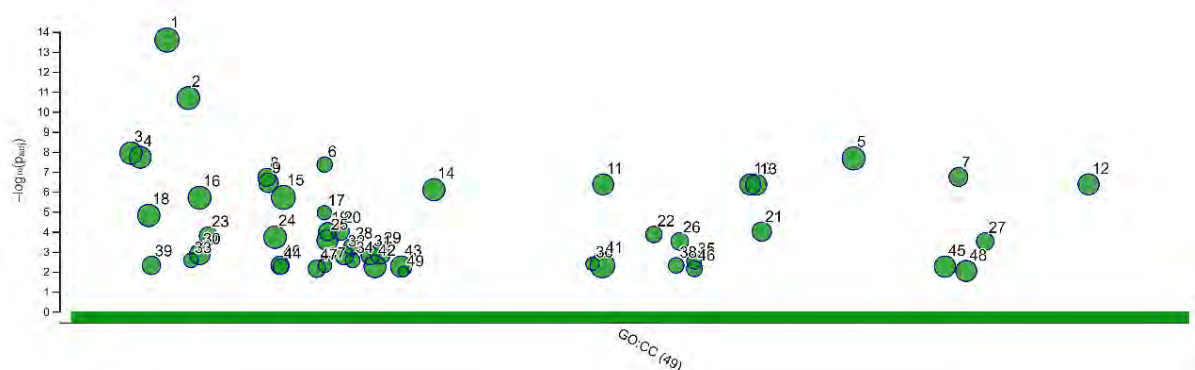
Πίνακας 3.22. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Κυτταρικό Συστατικό» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού.

Number	Term_name	Term id	Number of genes	Adjusted p_value	-log10(Adjusted p_value)
1	Extracellular space	GO:0005737	427 of 12241	2.58E-14	13.58794932
2	Cell periphery	GO:0005829	227 of 5420	2.09E-11	10.68072369
3	Cytosolic ribosome	GO:0005576	182 of 4315	1.17E-08	7.930024544
4	Side of membrane	GO:0005615	150 of 3364	1.90E-08	7.721084923
5	External side of plasma membrane	GO:0071944	239 of 6237	2.16E-08	7.665655528
6	Cell surface	GO:0022626	18 of 104	4.37E-08	7.359193746
7	Extracellular organelle	GO:0098552	47 of 661	1.84E-07	6.735984865
8	Extracellular membrane-bounded organelle	GO:0009897	37 of 449	1.91E-07	6.719269709
9	Extracellular vesicle	GO:0009986	58 of 941	3.61E-07	6.442705593
10	Extracellular exosome	GO:0043230	102 of 2134	4.30E-07	6.366625199
11	Vesicle	GO:0065010	102 of 2134	4.30E-07	6.366625199
12	Membrane	GO:1903561	102 of 2133	4.30E-07	6.366625199
13	Plasma membrane	GO:0070062	101 of 2110	4.44E-07	6.352766954
14	Cytosolic large ribosomal subunit	GO:0031982	161 of 3957	7.96E-07	6.09885139
15	Nucleoplasm	GO:0016020	330 of 9845	1.93285E-06	5.713801672
16	Cell-substrate junction	GO:0005886	214 of 5757	2.00258E-06	5.698411141
17	Endocytic vesicle	GO:0022625	11 of 56	1.12993E-05	4.946948427
18	Anchoring junction	GO:0005654	163 of 4215	1.54282E-05	4.811684419
19	Ribosomal subunit	GO:0030055	30 of 432	9.85766E-05	4.006226067
20	Focal adhesion	GO:0030139	26 of 343	9.85766E-05	4.006226067
21	Endomembrane system	GO:0070161	47 of 848	9.87315E-05	4.005544379
22	Cell junction	GO:0044391	18 of 189	0.000138065	3.859917465
23	Membrane raft	GO:0005925	29 of 423	0.000161552	3.791688867
24	Membrane microdomain	GO:0012505	172 of 4707	0.000188908	3.723749029
25	Endocytic vesicle membrane	GO:0030054	89 of 2086	0.000272045	3.565358966
26	Intrinsic component of plasma membrane	GO:0045121	24 of 327	0.00030516	3.515472872
27	Integral component of plasma membrane	GO:0098857	24 of 328	0.00030921	3.509746978
28	Extracellular matrix	GO:0030666	17 of 193	0.000560584	3.251359475

29	External encapsulating structure	GO:0031226	74 of 1724	0.001215566	2.91522143
30	Clathrin-coated endocytic vesicle membrane	GO:0005887	71 of 1642	0.001351928	2.869046511
31	Polysome	GO:0031012	32 of 561	0.001570748	2.803893501
32	Clathrin-coated endocytic vesicle	GO:0030312	32 of 562	0.001573464	2.80314308
33	Polysomal ribosome	GO:0030669	9 of 71	0.002723581	2.564859737
34	Transcription regulator complex	GO:0005844	9 of 71	0.002723581	2.564859737
35	Cytosolic small ribosomal subunit	GO:0045334	10 of 89	0.00313991	2.503082743
36	Membrane-bounded organelle	GO:0042788	6 of 32	0.004033134	2.394357297
37	Actin cytoskeleton	GO:0005667	28 of 502	0.004863627	2.313039769
38	Plasma membrane raft	GO:0022627	7 of 47	0.004863627	2.313039769
39	Large ribosomal subunit	GO:0043227	458 of 15617	0.004863627	2.313039769
40	Organelle membrane	GO:0015629	28 of 502	0.004863627	2.313039769
41	Cytoplasmic vesicle	GO:0044853	11 of 113	0.004863627	2.313039769
42	Intracellular vesicle	GO:0015934	11 of 116	0.005576855	2.253610667
43	Phagocytic vesicle	GO:0031090	131 of 3668	0.005576855	2.253610667
44	Extrinsic component of membrane	GO:0031410	94 of 2463	0.005576855	2.253610667
45	Bounding membrane of organelle	GO:0097708	94 of 2465	0.005589515	2.25262588
46	Box C/D RNP complex	GO:0045335	12 of 140	0.007086551	2.149565102
47	Cytoplasmic vesicle membrane	GO:0019898	20 of 318	0.007148236	2.145801114
48	Chromatin	GO:0098588	82 of 2125	0.009253888	2.033675745
49	Postsynaptic density	GO:0031428	3 of 7	0.009992016	2.000346878
50	Preribosome	GO:0030659	50 of 1176	0.015713589	1.803724606
51	Vesicle membrane	GO:0000785	53 of 1268	0.016006143	1.795713321
52	Asymmetric synapse	GO:0014069	19 of 320	0.017647695	1.753312021
53	Organelle lumen	GO:0030684	8 of 79	0.018987465	1.72153302
54	Membrane-enclosed lumen	GO:0012506	50 of 1195	0.02042814	1.689771176
55	Intracellular organelle lumen	GO:0032279	19 of 326	0.02068569	1.684329984
56	Synapse	GO:0043233	212 of 6626	0.021273104	1.672169136
57	Catalytic complex	GO:0031974	212 of 6626	0.021273104	1.672169136
58	Postsynaptic specialization	GO:0070013	212 of 6625	0.021273104	1.672169136
59	Protein serine/threonine phosphatase complex	GO:0045202	53 of 1305	0.025796104	1.588445889
60	Phosphatase complex	GO:1902494	59 of 1505	0.03195055	1.495521668
61	T-tubule	GO:0099572	19 of 343	0.032343604	1.490211593
62	Clathrin-coated vesicle	GO:0008287	6 of 52	0.032343604	1.490211593
63	Collagen-containing extracellular matrix	GO:1903293	6 of 52	0.032343604	1.490211593
64	Chromosome	GO:0030315	6 of 52	0.032343604	1.490211593
65	Sarcolemma	GO:0030136	13 of 197	0.032491783	1.488226458
66	Mitochondrion	GO:0062023	22 of 423	0.032491783	1.488226458
67	Neuron to neuron synapse	GO:0005694	69 of 1838	0.036571454	1.436857771
68	Preribosome large subunit precursor	GO:0042383	10 of 133	0.036842192	1.433654541
69	Actin filament	GO:0005739	64 of 1683	0.036842192	1.433654541
70	Neuronal cell body	GO:0098984	19 of 350	0.036842192	1.433654541
71	Clathrin-coated vesicle membrane	GO:0030687	4 of 24	0.039646046	1.40180012
72	Exoribonuclease complex	GO:0005884	9 of 114	0.040430909	1.393286496
73	Cone photoreceptor outer segment	GO:0043025	24 of 490	0.040891555	1.388366371

74	Nascent polypeptide-associated complex	GO:0030665	9 of 115	0.041686314	1.380006504
75	Perinuclear endoplasmic reticulum membrane	GO:1905354	4 of 25	0.04205839	1.376147352
76	Small ribosomal subunit	GO:0120199	2 of 4	0.04205839	1.376147352
77	Receptor complex	GO:0005854	2 of 4	0.04205839	1.376147352
78	Nuclear lumen	GO:1990578	2 of 4	0.04205839	1.376147352
79	Organelle	GO:0015935	7 of 76	0.043168292	1.364835135
80	Receptor complex	GO:0043235	25 of 526	0.045711451	1.339974995
81	Nuclear lumen	GO:0031981	176 of 5500	0.047131335	1.326690262
82	Organelle	GO:0043226	477 of 16739	0.048792665	1.311645458

Επειδή τα αποτελέσματα είναι αρκετά, το επίπεδο σημαντικότητας περιορίζεται στο 0.01. Τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.28 και στον Πίνακα 3.23.



Εικόνα 3.28.

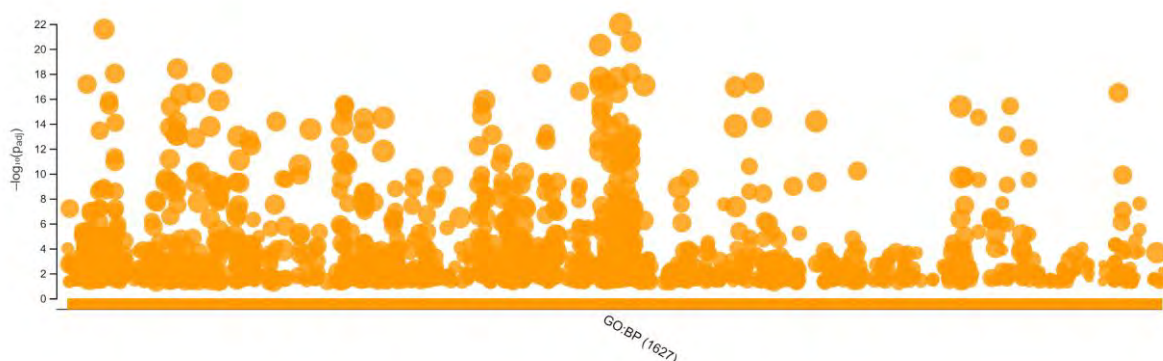
Πίνακας 3.23. Στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Κυτταρικό Συστατικό» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού με επίπεδο σημαντικότητας 0.01.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Cytoplasm	GO:0005737	427 of 12241	2.58E-14	13.58794932
2	Cytosol	GO:0005829	227 of 5420	2.09E-11	10.68072369
3	Extracellular region	GO:0005576	182 of 4315	1.17E-08	7.930024544
4	Extracellular space	GO:0005615	150 of 3364	1.90E-08	7.721084923
5	Cell periphery	GO:0071944	239 of 6237	2.16E-08	7.665655528
6	Cytosolic ribosome	GO:0022626	18 of 104	4.37E-08	7.359193746
7	Side of membrane	GO:0098552	47 of 661	1.84E-07	6.735984865
8	External side of plasma membrane	GO:0009897	37 of 449	1.91E-07	6.719269709
9	Cell surface	GO:0009986	58 of 941	3.61E-07	6.442705593
10	Extracellular membrane-bounded organelle	GO:0065010	102 of 2134	4.30E-07	6.366625199
11	Extracellular organelle	GO:0043230	102 of 2134	4.30E-07	6.366625199
12	Extracellular vesicle	GO:1903561	102 of 2133	4.30E-07	6.366625199
13	Extracellular exosome	GO:0070062	101 of 2110	4.44E-07	6.352766954
14	Vesicle	GO:0031982	161 of 3957	7.96E-07	6.09885139

15	Membrane	GO:0016020	330 of 9845	1.93285E-06	5.713801672
16	Plasma membrane	GO:0005886	214 of 5757	2.00258E-06	5.698411141
17	Cytosolic large ribosomal subunit	GO:0022625	11 of 56	1.12993E-05	4.946948427
18	Nucleoplasm	GO:0005654	163 of 4215	1.54282E-05	4.811684419
19	Cell-substrate junction	GO:0030055	30 of 432	9.85766E-05	4.006226067
20	Endocytic vesicle	GO:0030139	26 of 343	9.85766E-05	4.006226067
21	Anchoring junction	GO:0070161	47 of 848	9.87315E-05	4.005544379
22	Ribosomal subunit	GO:0044391	18 of 189	0.000138065	3.859917465
23	Focal adhesion	GO:0005925	29 of 423	0.000161552	3.791688867
24	Endomembrane system	GO:0012505	172 of 4707	0.000188908	3.723749029
25	Cell junction	GO:0030054	89 of 2086	0.000272045	3.565358966
26	Membrane raft	GO:0045121	24 of 327	0.00030516	3.515472872
27	Membrane microdomain	GO:0098857	24 of 328	0.00030921	3.509746978
28	Endocytic vesicle membrane	GO:0030666	17 of 193	0.000560584	3.251359475
29	Intrinsic component of plasma membrane	GO:0031226	74 of 1724	0.001215566	2.91522143
30	Integral component of plasma membrane	GO:0005887	71 of 1642	0.001351928	2.869046511
31	Extracellular matrix	GO:0031012	32 of 561	0.001570748	2.803893501
32	External encapsulating structure	GO:0030312	32 of 562	0.001573464	2.80314308
33	Polysome	GO:0005844	9 of 71	0.002723581	2.564859737
34	Clathrin-coated endocytic vesicle membrane	GO:0030669	9 of 71	0.002723581	2.564859737
35	Clathrin-coated endocytic vesicle	GO:0045334	10 of 89	0.00313991	2.503082743
36	Polysomal ribosome	GO:0042788	6 of 32	0.004033134	2.394357297
37	Cytosolic small ribosomal subunit	GO:0022627	7 of 47	0.004863627	2.313039769
38	Plasma membrane raft	GO:0044853	11 of 113	0.004863627	2.313039769
39	Transcription regulator complex	GO:0005667	28 of 502	0.004863627	2.313039769
40	Actin cytoskeleton	GO:0015629	28 of 502	0.004863627	2.313039769
41	Membrane-bounded organelle	GO:0043227	458 of 15617	0.004863627	2.313039769
42	Organelle membrane	GO:0031090	131 of 3668	0.005576855	2.253610667
43	Cytoplasmic vesicle	GO:0031410	94 of 2463	0.005576855	2.253610667
44	Large ribosomal subunit	GO:0015934	11 of 116	0.005576855	2.253610667
45	Intracellular vesicle	GO:0097708	94 of 2465	0.005589515	2.25262588
46	Phagocytic vesicle	GO:0045335	12 of 140	0.007086551	2.149565102
47	Extrinsic component of membrane	GO:0019898	20 of 318	0.007148236	2.145801114
48	Bounding membrane of organelle	GO:0098588	82 of 2125	0.009253888	2.033675745
49	Box C/D RNP complex	GO:0031428	3 of 7	0.009992016	2.000346878

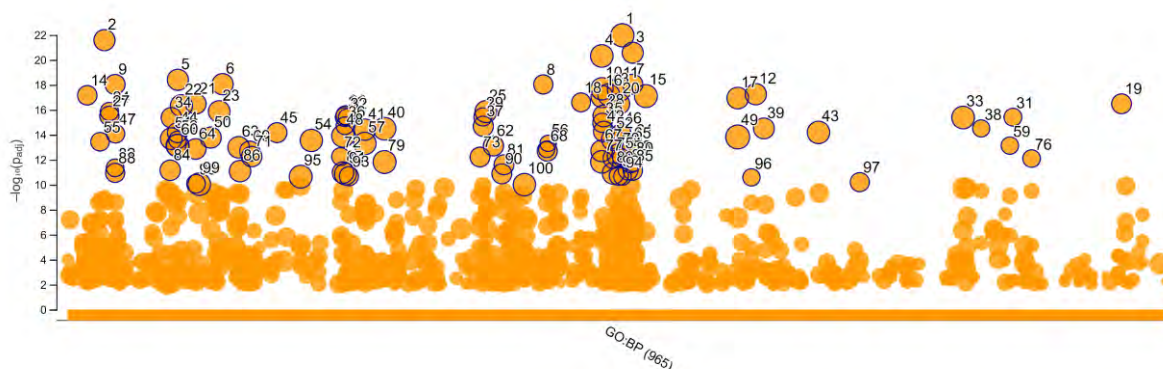
Τα γονιδιακά προϊόντα εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα ως μέρη ριβονουκλεοπρωτεϊνικών συμπλόκων και υπομονάδων ριβοσωμάτων, στο πυρηνόπλασμα ως τμήματα συμπλόκων ρύθμισης της μεταγραφής και γενικά στον ενδοκυττάριο χώρο ως ενδοκυτταρικά κυστίδια. Επιπλέον, εντοπίζονται στον εξωκυττάριο χώρο ως εξωσώματα δηλαδή εξωκυτταρικά κυστίδια και στην εξωκυττάρια μήτρα. Τέλος, εντοπίζονται σε μεμβράνες τόσο στην κυτταρική μεμβράνη όσο και σε μεμβράνες διάφορων οργανιδίων.

Ως προς τη βιολογική διεργασία, τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.29. Σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 είναι 1627 στατιστικά σημαντικοί όροι.



Εικόνα 3.29.

Επειδή τα αποτελέσματα είναι αρκετά, το επίπεδο σημαντικότητας περιορίζεται στο 0.01. Τα αποτελέσματα είναι 965 στατιστικά σημαντικοί όροι (βλέπε Παράρτημα). Οι 100 πρώτοι όροι φαίνονται στην Εικόνα 3.30 και στον Πίνακα 3.24.



Εικόνα 3.30.

Πίνακας 3.24. Οι 100 πρώτοι στατιστικά σημαντικοί όροι της οντολογίας «Βιολογική Διεργασία» των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού με επίπεδο σημαντικότητας 0.01.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Immune system process	GO:0002376	173 of 2781	5.00E-23	22.30098731
2	Response to stimulus	GO:0050896	367 of 8885	1.71E-22	21.766514
3	Positive regulation of biological process	GO:0048518	286 of 6224	2.04E-21	20.69064002

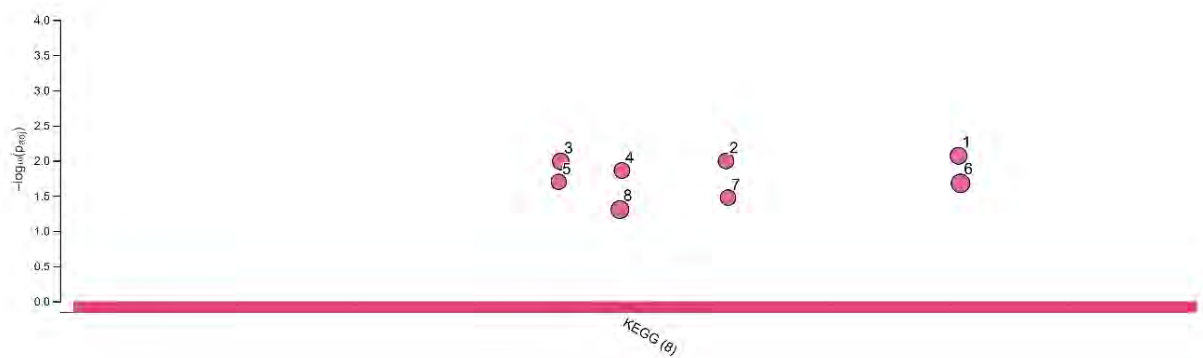
4	Regulation of multicellular organismal process	GO:0051239	162 of 2666	1.31E-20	19.88387713
5	Leukocyte activation	GO:0045321	85 of 953	4.19E-19	18.37823935
6	Response to organic substance	GO:0010033	171 of 3010	4.92E-19	18.30773695
7	Cell surface receptor signaling pathway	GO:0007166	163 of 2811	7.31E-19	18.13603923
8	Regulation of immune system process	GO:0002682	107 of 1442	9.99E-19	18.00049712
9	Cellular response to chemical stimulus	GO:0070887	170 of 3019	1.07E-18	17.97078717
10	Regulation of biological quality	GO:0065008	197 of 3768	1.07E-18	17.97078717
11	Negative regulation of cellular process	GO:0048523	233 of 4856	1.88E-18	17.72565941
12	Cell activation	GO:0001775	90 of 1094	2.20E-18	17.65700848
13	Positive regulation of multicellular organismal process	GO:0051240	105 of 1434	4.31E-18	17.365043
14	Positive regulation of cellular process	GO:0048522	258 of 5687	6.14E-18	17.21154333
15	System development	GO:0048731	213 of 4313	7.21E-18	17.1422129
16	Regulation of cellular process	GO:0050794	413 of 11193	9.68E-18	17.01393657
17	Cell population proliferation	GO:0008283	126 of 1958	1.25E-17	16.90347341
18	Organonitrogen compound metabolic process	GO:1901564	280 of 6446	1.51E-17	16.8214921
19	Multicellular organism development	GO:0007275	227 of 4768	1.51E-17	16.8214921
20	Cellular response to stimulus	GO:0051716	308 of 7399	2.07E-17	16.68357128
21	Leukocyte differentiation	GO:0002521	60 of 563	4.83E-17	16.31616623
22	Lymphocyte activation	GO:0046649	72 of 794	8.04E-17	16.0949438
23	Immune system development	GO:0002520	82 of 996	8.04E-17	16.0949438
24	Positive regulation of metabolic process	GO:0009893	191 of 3776	1.04E-16	15.98234356
25	Hemopoiesis	GO:0030097	77 of 899	1.06E-16	15.97398294
26	Developmental process	GO:0032502	273 of 6317	1.21E-16	15.91644335
27	Mononuclear cell differentiation	GO:1903131	52 of 440	1.29E-16	15.88936781
28	Response to chemical	GO:0042221	209 of 4336	2.12E-16	15.67336529
29	Regulation of developmental process	GO:0050793	141 of 2425	2.22E-16	15.65383719
30	Hematopoietic or lymphoid organ development	GO:0048534	78 of 938	2.87E-16	15.54228292
31	Regulation of cell adhesion	GO:0030155	68 of 740	3.23E-16	15.49094179
32	T cell differentiation	GO:0030217	40 of 267	3.52E-16	15.45318268
33	Immune response	GO:0006955	120 of 1906	3.67E-16	15.43512383
34	Lymphocyte differentiation	GO:0030098	48 of 391	5.23E-16	15.28150917
35	Regulation of multicellular organismal development	GO:2000026	96 of 1345	5.66E-16	15.24710406
36	Regulation of cell population proliferation	GO:0042127	109 of 1658	8.10E-16	15.09157165
37	Cellular response to organic substance	GO:0071310	138 of 2391	8.77E-16	15.05691295
38	Anatomical structure development	GO:0048856	252 of 5754	1.32E-15	14.87878772
39	T cell activation	GO:0042110	54 of 504	1.51E-15	14.82039669
40	Protein metabolic process	GO:0019538	243 of 5487	2.03E-15	14.69342284
41	Regulation of cellular metabolic process	GO:0031323	259 of 6004	2.16E-15	14.66637723
42	Cellular macromolecule metabolic process	GO:0044260	251 of 5766	3.36E-15	14.47383658
43	Regulation of leukocyte differentiation	GO:1902105	40 of 288	3.93E-15	14.40520165
44	Regulation of response to stimulus	GO:0048583	190 of 3895	3.93E-15	14.40520165
45	Cell migration	GO:0016477	99 of 1461	4.06E-15	14.39101417
46	Cell adhesion	GO:0007155	100 of 1489	4.86E-15	14.3131765

47	Positive regulation of cellular metabolic process	GO:0031325	168 of 3271	5.02E-15	14.29928805
48	Response to stress	GO:0006950	188 of 3851	5.37E-15	14.26978982
49	Regulation of cell activation	GO:0050865	62 of 671	5.85E-15	14.23305711
50	Signaling	GO:0023052	271 of 6451	5.99E-15	14.22230568
51	Regulation of primary metabolic process	GO:0080090	251 of 5812	7.98E-15	14.09822572
52	Response to external stimulus	GO:0009605	150 of 2788	8.00E-15	14.09665334
53	Regulation of leukocyte activation	GO:0002694	59 of 620	8.49E-15	14.07106718
54	Immune effector process	GO:0002252	61 of 661	1.03E-14	13.98712038
55	Regulation of cellular protein metabolic process	GO:0032268	134 of 2370	1.16E-14	13.93610082
56	Biological regulation	GO:0065007	447 of 13001	1.64E-14	13.78389608
57	Cell death	GO:0008219	122 of 2074	2.06E-14	13.68549483
58	Cellular protein metabolic process	GO:0044267	220 of 4882	2.30E-14	13.637748
59	Regulation of protein metabolic process	GO:0051246	139 of 2536	3.22E-14	13.49181057
60	Cell communication	GO:0007154	270 of 6508	3.52E-14	13.45356929
61	Regulation of cell death	GO:0010941	102 of 1592	4.03E-14	13.39423245
62	Regulation of lymphocyte differentiation	GO:0045619	31 of 185	5.65E-14	13.24757534
63	Animal organ development	GO:0048513	173 of 3513	6.33E-14	13.19825913
64	Signal transduction	GO:0007165	252 of 5957	7.82E-14	13.10702102
65	Positive regulation of macromolecule metabolic process	GO:0010604	171 of 3465	8.07E-14	13.09322811
66	Positive regulation of response to stimulus	GO:0048584	124 of 2169	8.36E-14	13.07782963
67	Programmed cell death	GO:0012501	114 of 1918	1.07E-13	12.9706528
68	Regulation of T cell differentiation	GO:0045580	28 of 154	1.57E-13	12.80485556
69	Leukocyte cell-cell adhesion	GO:0007159	43 of 373	1.60E-13	12.7971624
70	Homeostatic process	GO:0042592	103 of 1658	1.92E-13	12.71761289
71	Negative regulation of biological process	GO:0048519	248 of 5876	2.03E-13	12.69223975
72	Regulation of nitrogen compound metabolic process	GO:0051171	241 of 5654	2.20E-13	12.65821855
73	Multicellular organismal process	GO:0032501	292 of 7354	2.49E-13	12.60312046
74	Regulation of leukocyte cell-cell adhesion	GO:1903037	40 of 334	4.10E-13	12.38671258
75	Localization of cell	GO:0051674	102 of 1655	4.18E-13	12.3790888
76	Cell motility	GO:0048870	102 of 1655	4.18E-13	12.3790888
77	Regulation of biological process	GO:0050789	424 of 12276	5.76E-13	12.2399123
78	Regulation of programmed cell death	GO:0043067	93 of 1448	7.04E-13	12.15255227
79	Regulation of hemopoiesis	GO:1903706	42 of 374	7.56E-13	12.12174887
80	Regulation of cell-cell adhesion	GO:0022407	46 of 444	7.88E-13	12.10330967
81	Apoptotic process	GO:0006915	109 of 1865	1.37E-12	11.86384674
82	Negative regulation of multicellular organismal process	GO:0051241	73 of 1000	1.46E-12	11.83700073
83	Negative regulation of immune system process	GO:0002683	44 of 419	1.84E-12	11.73622334
84	Positive regulation of nitrogen compound metabolic process	GO:0051173	153 of 3083	2.58E-12	11.5884496
85	Locomotion	GO:0040011	107 of 1833	2.61E-12	11.5839246
86	Regulation of T cell activation	GO:0050863	39 of 342	3.94E-12	11.4045142
87	Regulation of cell migration	GO:0030334	67 of 893	5.08E-12	11.29411421
88	Regulation of cell differentiation	GO:0045595	95 of 1550	5.27E-12	11.27806177
89	Regulation of localization	GO:0032879	139 of 2725	6.99E-12	11.15565862

90	Regulation of lymphocyte activation	GO:0051249	49 of 529	6.99E-12	11.15565862
91	Regulation of cell communication	GO:0010646	160 of 3336	9.22E-12	11.03531798
92	Regulation of apoptotic process	GO:0042981	89 of 1419	9.76E-12	11.01051471
93	Cellular developmental process	GO:0048869	188 of 4184	1.22E-11	10.91359509
94	Regulation of signaling	GO:0023051	160 of 3351	1.31E-11	10.88268008
95	Cell differentiation	GO:0030154	187 of 4160	1.39E-11	10.85798455
96	Intracellular signal transduction	GO:0035556	134 of 2629	2.25E-11	10.64763891
97	Biosynthetic process	GO:0009058	240 of 5861	2.34E-11	10.63029917
98	Cellular biosynthetic process	GO:0044249	235 of 5700	2.41E-11	10.61824702
99	Regulation of metabolic process	GO:0019222	283 of 7313	2.83E-11	10.54759336
100	Regulation of cell motility	GO:2000145	68 of 952	2.83E-11	10.54759336

Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες οι περισσότερες εκ των οποίων αφορούν το ανοσοποιητικό σύστημα. Αρχικά, ενεργοποιούν και διαφοροποιούν τα Τ και Β-λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα μαστικά και μυελοειδή κύτταρα αλλά και τους ινοβλάστες, τους οστεοκλάστες, τους οστεοβλάστες, τα χοντροκύτταρα, τα μυϊκά και νευρικά κύτταρα, τα λιποκύτταρα και τα ερυθροκύτταρα. Επίσης, συμμετέχουν στην αγγειογένεση και την ανάπτυξη αιμοποιητικών, λεμφοειδών και άλλων οργάνων όπως τους νεφρούς. Ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση των κυττάρων και τον προγραμματισμένο θάνατό τους. Επιπλέον, σε κυτταρικό επίπεδο ρυθμίζουν τόσο θετικά όσο και αρνητικά μεταβολικές διεργασίες όπως ο μεταβολισμός μακρομορίων, νιτρικών και φωσφορικών χημικών ενώσεων και ενώσεων που περιέχουν οξυγόνο (π.χ. ROS). Συμβάλουν στη βιογένεση των ριβοσωμάτων και την επεξεργασία του rRNA ενώ σημαντική είναι η επίδρασή τους στη μεταγραφή των miRNAs. Τέλος, συμμετέχουν στην κυτταρική επικοινωνία και σε σηματοδοτικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται από χημικές και οργανικές ενώσεις (π.χ. ορμόνες) μέσω μεμβρανικών υποδοχέων.

Ως προς τα βιοχημικά μονοπάτια τα αποτελέσματα φαίνονται στην Εικόνα 3.31 και στον Πίνακα 3.25.



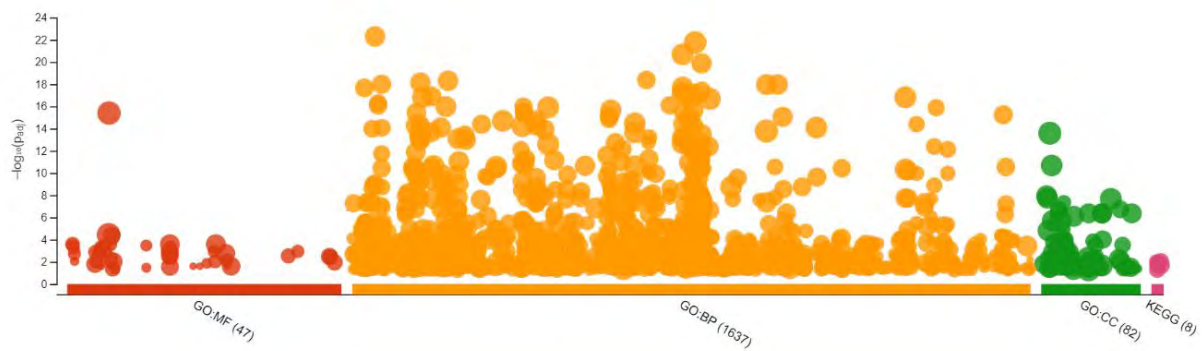
Εικόνα 3.31.

Πίνακας 3.25. Στατιστικά σημαντικοί όροι των KEGG βιοχημικών μονοπατιών των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού.

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Coronavirus disease - COVID-19	KEGG:05171	22 of 207	0.008550978	2.067984223
2	Th17 cell differentiation	KEGG:04659	14 of 104	0.010112862	1.995125915
3	Chemokine signaling pathway	KEGG:04062	19 of 179	0.010244148	1.989524159
4	AMPK signaling pathway	KEGG:04152	14 of 114	0.013820592	1.859473363
5	Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	KEGG:04061	12 of 93	0.020000385	1.698961642
6	Pathways in cancer	KEGG:05200	37 of 517	0.021052373	1.676698938
7	T cell receptor signaling pathway	KEGG:04660	12 of 102	0.033507145	1.47486258
8	PI3K-Akt signaling pathway	KEGG:04151	26 of 342	0.049702396	1.303622671

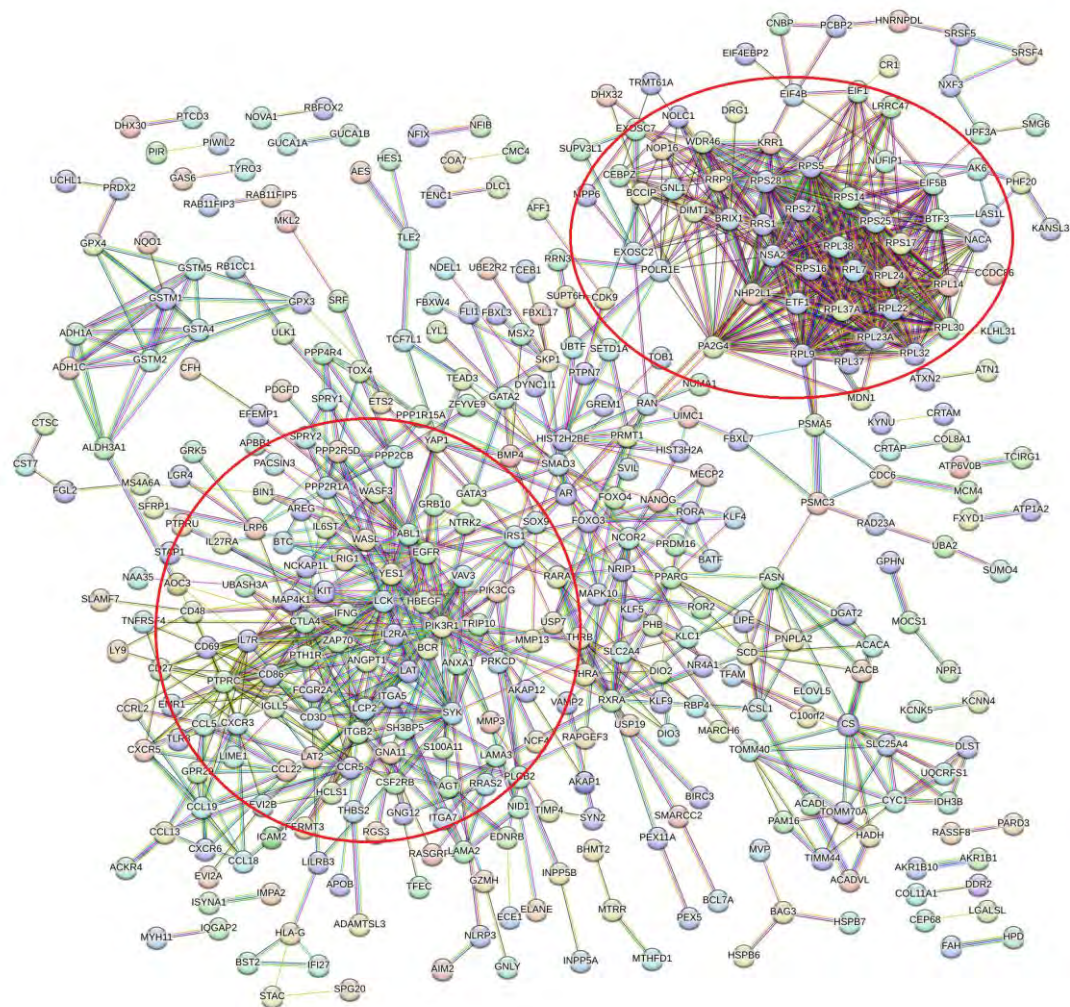
Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε βιοχημικά μονοπάτια του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς σχετίζονται με υποδοχείς κυτταροκινών, υποδοχείς T-λεμφοκυττάρων, και με τη διαφοροποίηση των T-βοηθητικών κυττάρων.

Το συνολικό διάγραμμα για όλη την ανάλυση εμπλουτισμού φαίνεται στην Εικόνα 3.32.



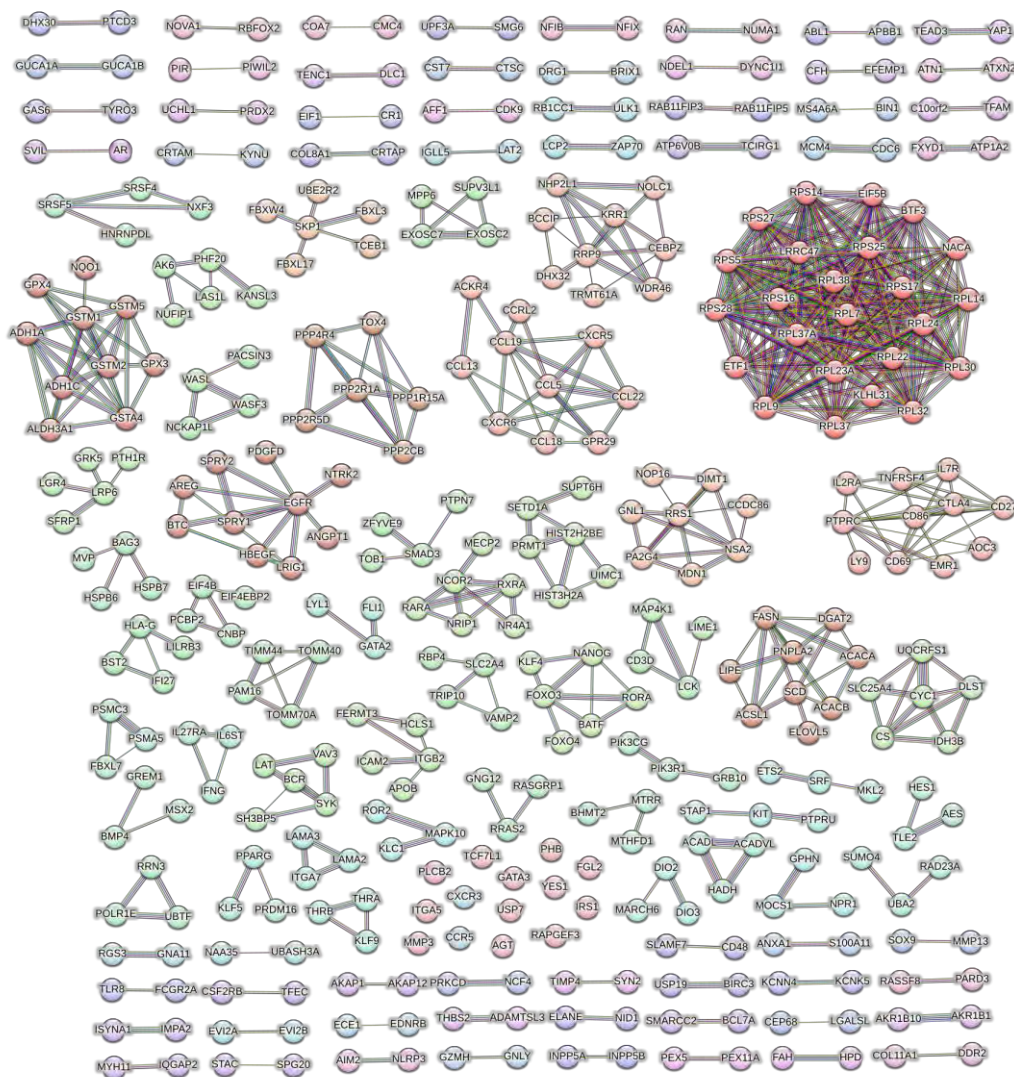
Εικόνα 3.32.

Εκ πρώτης όψεως παρατηρούνται 2 περιοχές οι οποίες είναι πιο πυκνές ως προς το πλήθος των αλληλεπιδράσεων χωρίς όμως να μπορούν να διακριθούν σαφή όρια προκειμένου να θεωρηθεί ότι σχηματίζουν 2 κύριες μεγάλες ομάδες γονιδίων (Εικόνα 3.33).



Εικόνα 3.33. Οι 2 πυκνές περιοχές αλληλεπιδράσεων που φαίνεται οπτικά να σχηματίζονται στο δίκτυο.

Στο δίκτυο πραγματοποιείται ομαδοποίηση με τον μη επιβλεπόμενο αλγόριθμο MCL με παράμετρο εμφύσησης (inflation) 3. Το αποτέλεσμα φαίνεται στην Εικόνα 3.34.



Εικόνα 3.34. Ομαδοποίηση του δικτύου με τον αλγόριθμο MCL.

Σχηματίζονται 121 ομάδες γονιδίων οι οποίες δίνονται στον Πίνακα 3.26.

Πίνακας 3.26. Οι ομάδες που σχηματίζονται μετά από την εφαρμογή του αλγορίθμου MCL.

Ομάδα	Πλήθος γονιδίων	Ονόματα γονιδίων
1	24	BTF3, EIF5B, ETF1, KLHL31, LRRC47, NACA, RPL14, RPL22, RPL23A, RPL24, RPL30, RPL32, RPL37, RPL37A, RPL38, RPL7, RPL9, RPS14, RPS16, RPS17, RPS25, RPS27, RPS28, RPS5
2	11	AOC3, CD27, CD69, CD86, CTLA4, EMR1, IL2RA, IL7R, LY9, PTPRC, TNFRSF4

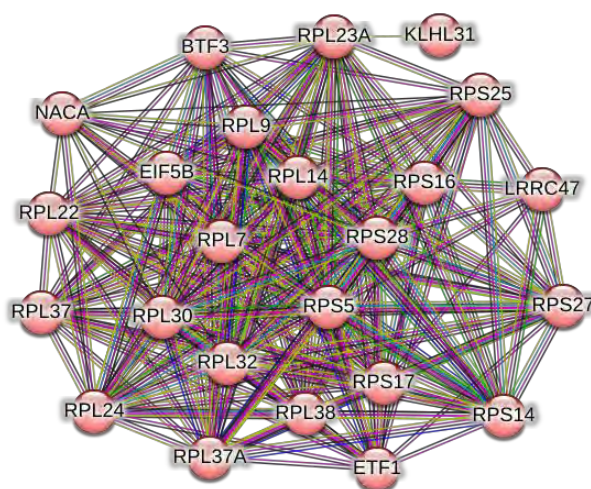
3	10	ADH1A, ADH1C, ALDH3A1, GPX3, GPX4, GSTA4, GSTM1, GSTM2, GSTM5, NQO1
4	10	ACKR4, CCL13, CCL18, CCL19, CCL22, CCL5, CCRL2, CXCR5, CXCR6, GPR29
5	10	ANGPT1, AREG, BTC, EGFR, HBEGF, LRIG1, NTRK2, PDGFD, SPRY1, SPRY2
6	9	BCCIP, CEBPZ, DHX32, KRR1, NHP2L1, NOLC1, RRP9, TRMT61A, WDR46
7	9	ACACA, ACACB, ACSL1, DGAT2, ELOVL5, FASN, LIPE, PNPLA2, SCD
8	8	CCDC86, DMT1, GNL1, MDN1, NOP16, NSA2, PA2G4, RRS1
9	6	PPP1R15A, PPP2CB, PPP2R1A, PPP2R5D, PPP4R4, TOX4
10	6	FBXL17, FBXL3, FBXW4, SKP1, TCEB1, UBE2R2
11	6	BATF, FOXO3, FOXO4, KLF4, NANOG, RORA
12	6	MECP2, NCOR2, NR4A1, NRIP1, RARA, RXRA
13	6	HIST2H2BE, HIST3H2A, PRMT1, SETD1A, SUPT6H, UIMC1
14	6	CS, CYC1, DLST, IDH3B, SLC25A4, UQCRCF1
15	5	APOB, FERMT3, HCLS1, ICAM2, ITGB2
16	5	BCR, LAT, SH3BP5, SYK, VAV3
17	5	GRK5, LGR4, LRP6, PTH1R, SFRP1
18	5	AK6, KANSL3, LAS1L, NUFIP1, PHF20
19	4	CD3D, LCK, LIME1, MAP4K1
20	4	PTPN7, SMAD3, TOB1, ZFYVE9
21	4	EXOSC2, EXOSC7, MPP6, SUPV3L1
22	4	NCKAP1L, PACSIN3, WASF3, WASL
23	4	RBP4, SLC2A4, TRIP10, VAMP2
24	4	BST2, HLA-G, IFI27, LILRB3
25	4	PAM16, TIMM44, TOMM40, TOMM70A
26	4	CNBP, EIF4B, EIF4EBP2, PCBP2
27	4	BAG3, HSPB6, HSPB7, MVP
28	4	HNRNPDL, NXF3, SRSF4, SRSF5
29	3	GNG12, RASGRP1, RRAS2
30	3	GRB10, PIK3CG, PIK3R1
31	3	POLR1E, RRN3, UBTF
32	3	BMP4, GREM1, MSX2
33	3	FBXL7, PSMA5, PSMC3
34	3	BHMT2, MTHFD1, MTRR
35	3	AES, HES1, TLE2
36	3	IFNG, IL27RA, IL6ST
37	3	ACADL, ACADVL, HADH

38	3	KLF5, PPARG, PRDM16
39	3	FLI1, GATA2, LYL1
40	3	RAD23A, SUMO4, UBA2
41	3	KLF9, THRA, THRB
42	3	ITGA7, LAMA2, LAMA3
43	3	DIO2, DIO3, MARCH6
44	3	ETS2, MKL2, SRF
45	3	KIT, PTPRU, STAP1
46	3	KLC1, MAPK10, ROR2
47	3	GPHN, MOCS1, NPR1
48	2	RB1CC1, ULK1
49	2	LCP2, ZAP70
50	2	EVI2A, EVI2B
51	2	NAA35, UBASH3A
52	2	IGLL5, LAT2
53	2	GNA11, RGS3
54	2	CCR5, CXCR3
55	2	ECE1, EDNRB
56	2	BRIX1, DRG1
57	2	CDC6, MCM4
58	2	GNLY, GZMH
59	2	ANXA1, S100A11
60	2	BIN1, MS4A6A
61	2	CST7, CTSC
62	2	CRTAM, KYNU
63	2	NCF4, PRKCD
64	2	GUCA1A, GUCA1B
65	2	CEP68, LGALS1
66	2	MMP13, SOX9
67	2	FCGR2A, TLR8
68	2	CR1, EIF1
69	2	ABL1, APBB1
70	2	DHX30, PTC3
71	2	RAB11FIP3, RAB11FIP5
72	2	INPP5A, INPP5B
73	2	COL8A1, CRTAP
74	2	KCNK5, KCNN4
75	2	SMG6, UPF3A
76	2	CD48, SLAMF7

77	2	BIRC3, USP19
78	2	GAS6, TYRO3
79	2	ELANE, NID1
80	2	CSF2RB, TFEC
81	2	ATP6V0B, TCIRG1
82	2	BCL7A, SMARCC2
83	2	IMPA2, ISYNA1
84	2	SPG20, STAC
85	2	IQGAP2, MYH11
86	2	AKAP1, AKAP12
87	2	TEAD3, YAP1
88	2	CFH, EFEMP1
89	2	AR, SVIL
90	2	DLC1, TENC1
91	2	C10orf2, TFAM
92	2	PRDX2, UCHL1
93	2	AKR1B1, AKR1B10
94	2	ADAMTSL3, THBS2
95	2	SYN2, TIMP4
96	2	FAH, HPD
97	2	PEX11A, PEX5
98	2	AFF1, CDK9
99	2	DYNC1I1, NDEL1
100	2	AIM2, NLRP3
101	2	ATN1, ATXN2
102	2	PIR, PIWIL2
103	2	ATP1A2, FXYD1
104	2	COL11A1, DDR2
105	2	NUMA1, RAN
106	2	CMC4, COA7
107	2	PARD3, RASSF8
108	2	NFIB, NFIX
109	2	NOVA1, RBFOX2
110	1	AGT
111	1	PLCB2
112	1	YES1
113	1	GATA3
114	1	MMP3
115	1	FGL2

116	1	RAPGEF3
117	1	ITGA5
118	1	IRS1
119	1	TCF7L1
120	1	USP7
121	1	PHB

Οι 5 μεγαλύτερες ομάδες παρουσιάζονται παρακάτω.

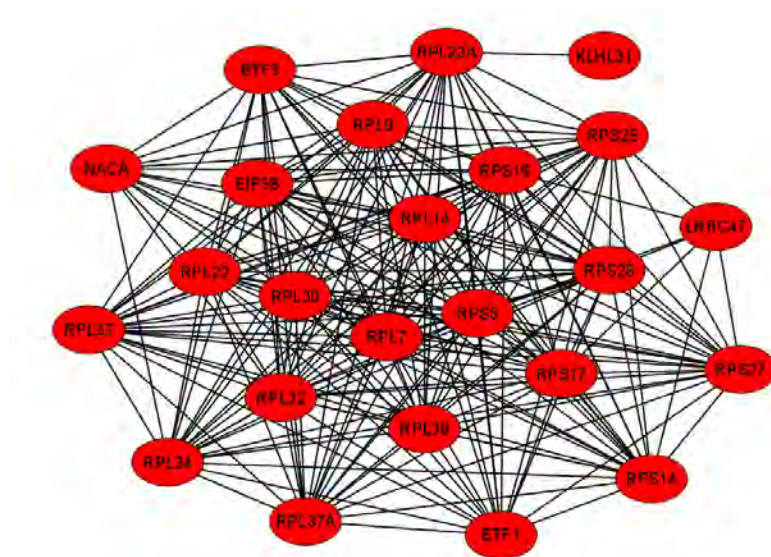


Εικόνα 3.35. Πρώτη ομάδα.

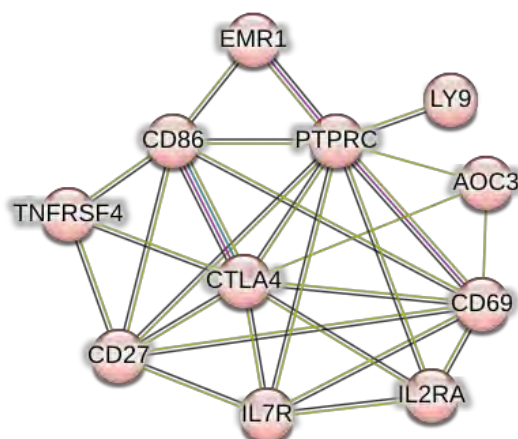
Πίνακας 3.27. Τοπολογικά χαρακτηριστικά πρώτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	24
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	227
Μέσος βαθμός κόμβου	18.9
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.942

Τα γονιδιακά προϊόντα της πρώτης ομάδας (Εικόνα 3.35) αποτελούν κυρίως τμήματα των ριβοσωμικών υπομονάδων και πρωτεΐνες των ριβονουκλεοπρωτεϊνικών συμπλόκων. Συμμετέχουν κυρίως στην μετάφραση των πρωτεϊνών και ορισμένες λειτουργούν και ως μεταγραφικοί παράγοντες όταν προσδεθούν στο DNA. Όλα τα γονίδια της πρώτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.36).



Εικόνα 3.36. Έκφραση διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων πρώτης ομάδας.

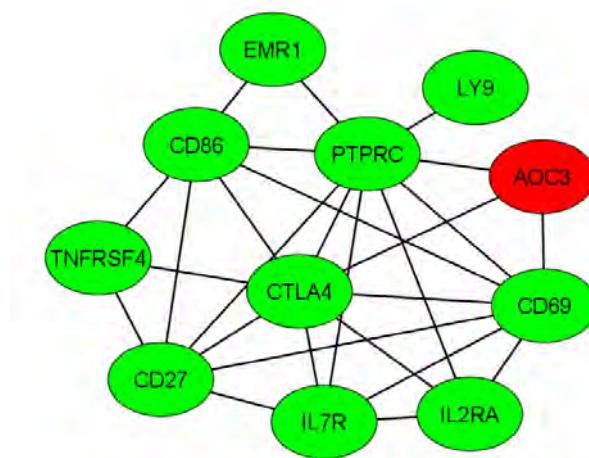


Εικόνα 3.37. Δεύτερη ομάδα.

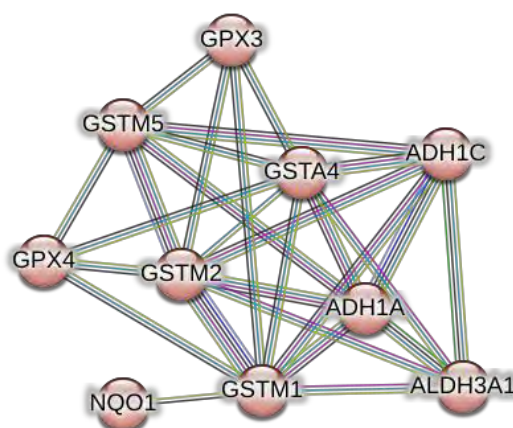
Πίνακας 3.28. Τοπολογικά χαρακτηριστικά δεύτερης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	11
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	27
Μέσος βαθμός κόμβου	4.91
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.808

Τα γονιδιακά προϊόντα της δεύτερης ομάδας (Εικόνα 3.37) συμμετέχουν κυρίως σε λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος και πιο συγκεκριμένα στη ρύθμιση των Β και Τ-λεμφοκυττάρων. Αποτελούν κυρίως πρωτεΐνες των κυτταρικών μεμβρανών των λεμφοκυττάρων οι οποίες λειτουργούν ως σηματοδοτικοί υποδοχείς. Όλα τα γονίδια της δεύτερης ομάδας είναι υπερ-εκφρασμένα εκτός από το AOC3 (Εικόνα 3.38).



Εικόνα 3.38. Έκφραση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων δεύτερης ομάδας.

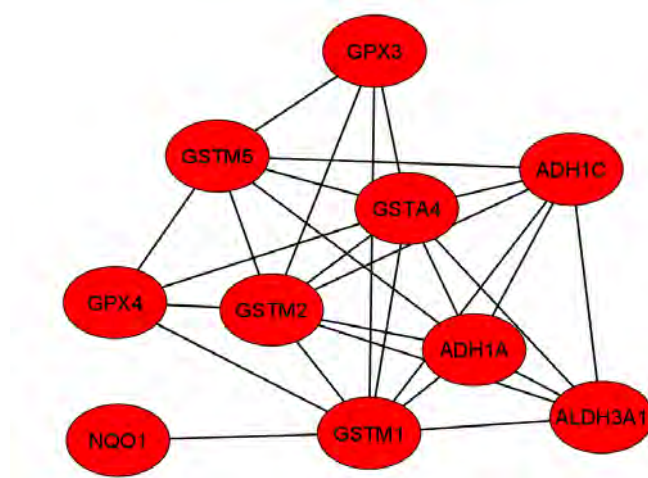


Εικόνα 3.39. Τρίτη ομάδα.

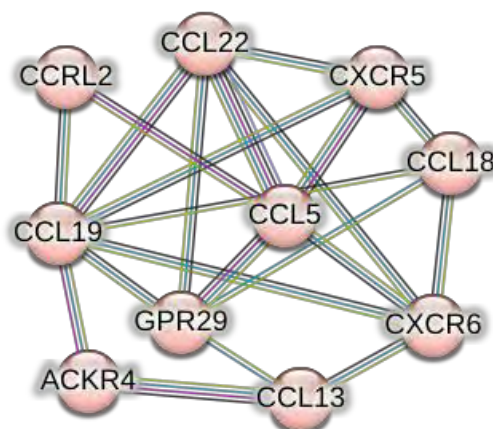
Πίνακας 3.29. Τοπολογικά χαρακτηριστικά τρίτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	10
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	28
Μέσος βαθμός κόμβου	5.6
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.792

Τα γονιδιακά προϊόντα της τρίτης ομάδας (Εικόνα 3.39) αποτελούν κυρίως υποοξειδάσες της γλουταθειόνης, τρανσφεράσες της γλουταθειόνης και αλκοολικές αφυδρογονάσες. Εντοπίζονται στα κυτοσόλια και στις διακυτταρικές γέφυρες. Συμμετέχουν σε λειτουργίες που μειώνουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, τα υδροϋροξείδια, και τα λιπιδικά υπεροξείδια με αποτέλεσμα την προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες και κατ' επέκταση από τον κυτταρικό θάνατο. Όλα τα γονίδια της τρίτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.40).



Εικόνα 3.40. Έκφραση διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων τρίτης ομάδας.

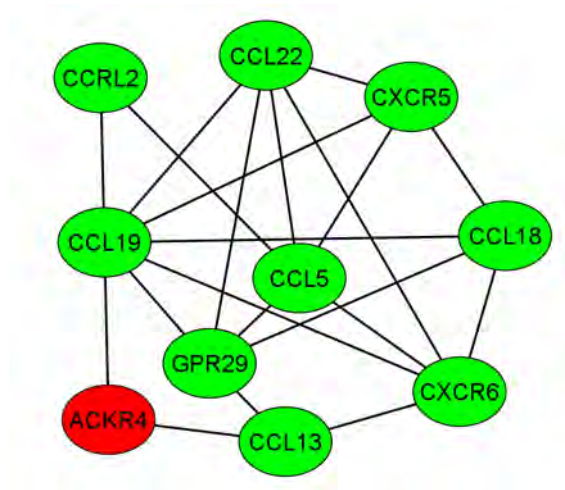


Εικόνα 3.41. Τέταρτη ομάδα.

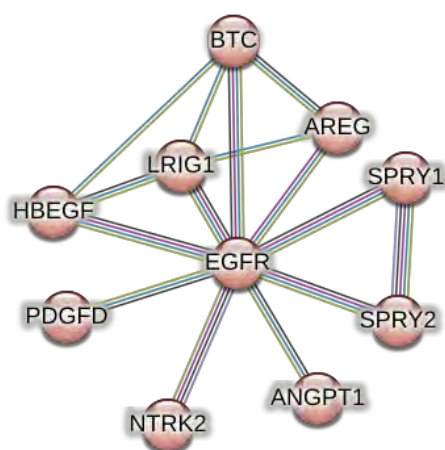
Πίνακας 3.30. Τοπολογικά χαρακτηριστικά τέταρτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	10
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	21
Μέσος βαθμός κόμβου	4.2
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.279

Τα γονιδιακά προϊόντα της τέταρτης ομάδας (Εικόνα 3.41) αποτελούν κυρίως υποδοχείς χημειοκινών και χημειοκίνες. Οι υποδοχείς χημειοκινών εντοπίζονται στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης και σχετίζονται με την ενεργοποίηση, την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των Β και Τ-λεμφοκυττάρων. Οι χημειοκίνες εντοπίζονται έξω από τον κυτταρικό χώρο ως εκκρινόμενες πρωτεΐνες χημειοταξίας. Ρυθμίζουν χημειοτακτικά τη μετακίνηση των λευκοκυττάρων (Β και Τ-λεμφοκύτταρα, δένδριτικά κύτταρα, ηωσινόφιλα, ουδετερόφιλα). Συνολικά, τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, στην φλεγμονή και στην στρατολόγηση των ανοσοκυττάρων. Όλα τα γονίδια της τέταρτης ομάδας είναι υπερ-εκφρασμένα εκτός από το ACKR4 (Εικόνα 3.42).



Εικόνα 3.42. Έκφραση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων τέταρτης ομάδας.



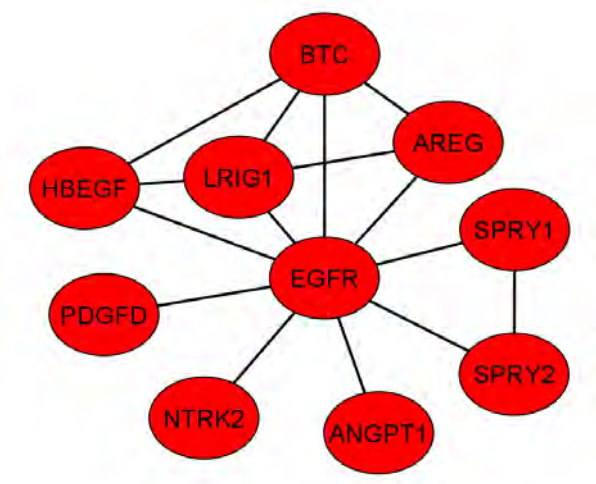
Εικόνα 3.43. Πέμπτη ομάδα.

Πίνακας 3.31. Τοπολογικά χαρακτηριστικά πέμπτης ομάδας.

Τοπολογικά χαρακτηριστικά	Τιμές
Αριθμός γονιδίων	10
Αριθμός αλληλεπιδράσεων	15
Μέσος βαθμός κόμβου	3
Μέσος τοπικός συντελεστής ομαδοποίησης	0.883

Τα γονιδιακά προϊόντα της πέμπτης ομάδας (Εικόνα 3.43) αποτελούνται κυρίως από συνδέτες-ενεργοποιητές μεμβρανικών υποδοχέων. Είναι κυρίως αυξητικοί παράγοντες οι οποίοι επιδρούν σε ποικίλους κυτταρικούς τύπους όπως αστροκύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, καρδιακά κύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα. Εντοπίζονται στις

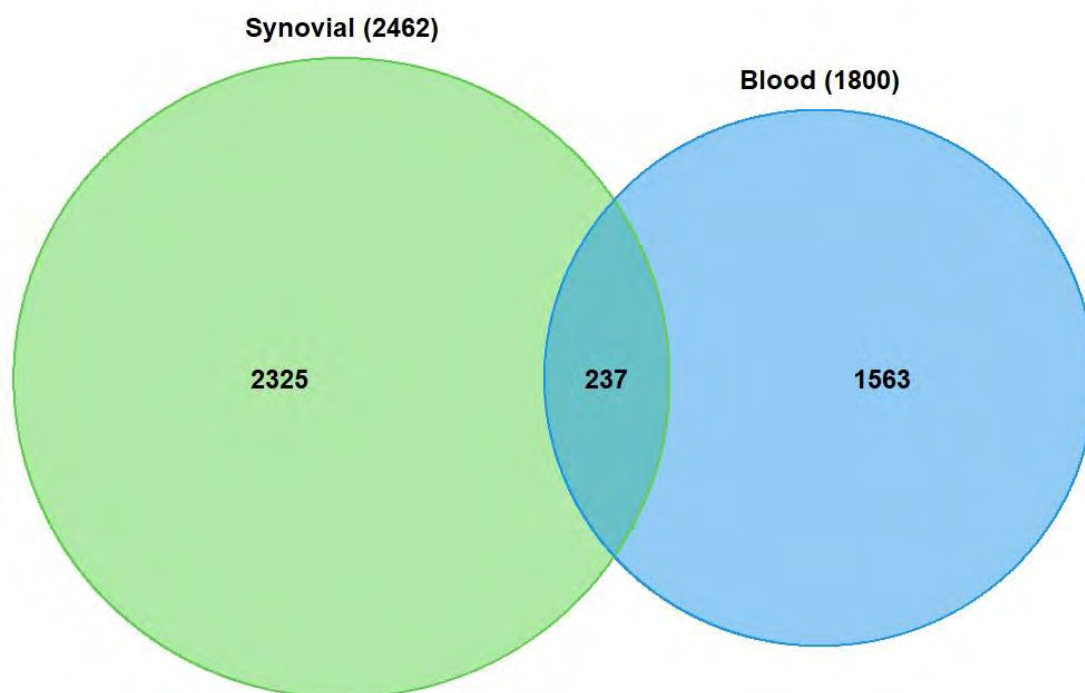
κυτταρικές μεμβράνες, σε μεμβράνες κυτταρικών οργανιδίων και στον εξωκυττάριο χώρο ως εκκρινόμενες πρωτεΐνες. Έχουν κυρίως μιτιγόνο δράση και συμβάλουν στον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων. Όλα τα γονίδια της πέμπτης ομάδας είναι υπο-εκφρασμένα (Εικόνα 3.44).



Εικόνα 3.44. Έκφραση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων πέμπτης ομάδας.

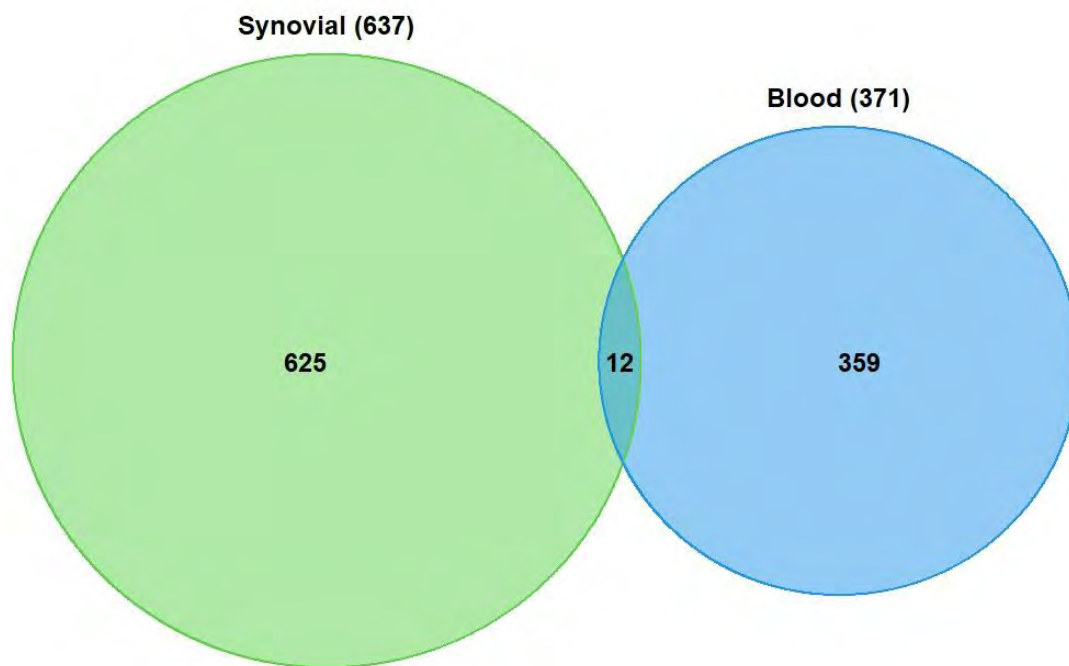
3.6 Σύγκριση διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων

Πραγματοποιείται σύγκριση των διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων μεταξύ των δύο ιστών. Αρχικά, συγκρίνονται τα γονίδια που είναι διαφορετικά εκφρασμένα από τη μετα-ανάλυση. Από τα 1800 διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια στο αίμα και τα 2462 στον αρθρικό ιστό, τα 237 είναι κοινά (Εικόνα 3.45).



Εικόνα 3.45. Διάγραμμα Venn διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων.

Από τα 1800 διαφορεικά εκφρασμένα γονίδια του αίματος μόνο τα 371 είναι στατιστικώς σημαντικά με τη μέθοδο διόρθωσης FDR και από τα 2462 διαφορεικά εκφρασμένα γονίδια του αρθρικού ιστού μόνο τα 637 είναι στατιστικώς σημαντικά κατά FDR. Από τα 371 και τα 637 γονίδια, κοινά είναι μόλις 12 (Εικόνα 3.46). Τα 12 γονίδια είναι τα: AKR1B1, ARHGAP25, CS, CXCR6, GSE1, LINC01094, LRRC47, MAN2A2, MDN1, RAB11FIP3, RRS1, TNIK.



Εικόνα 3.46. Διάγραμμα Venn διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR.

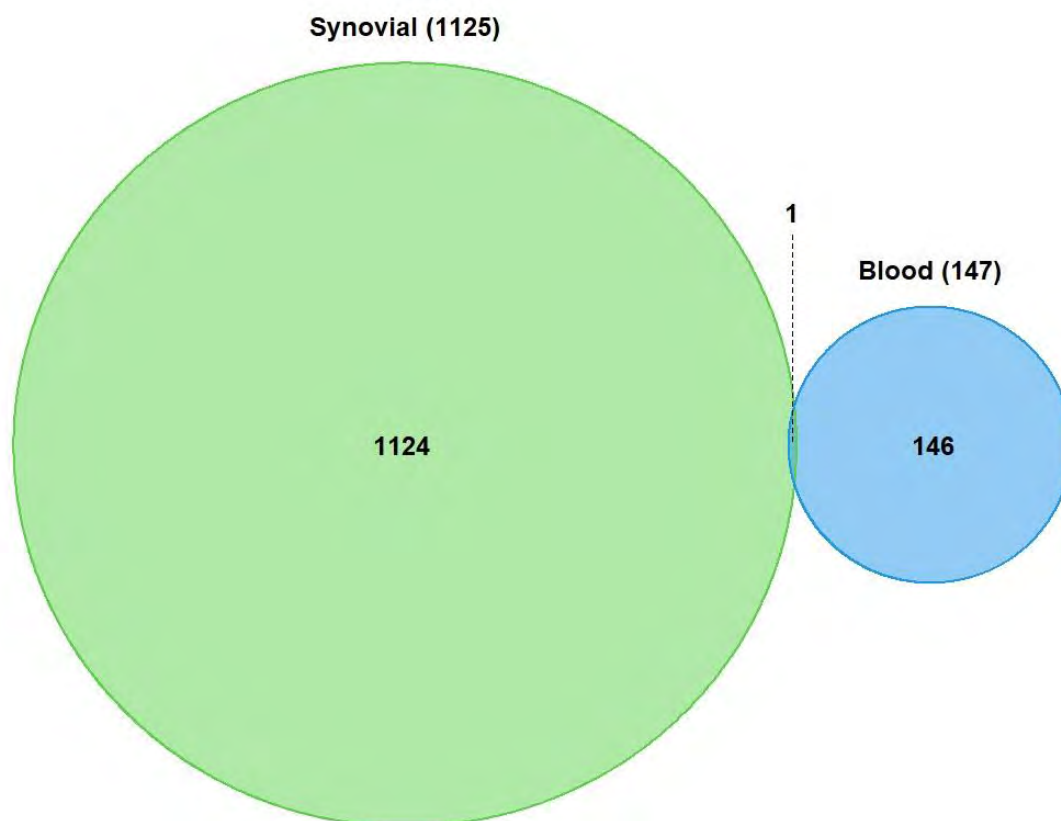
Το AKP1B1 έχει καταλυτική δράση σε χημικές αντιδράσεις που μετατρέπουν καρβονυλικές ενώσεις στις αντίστοιχες αλκοόλες τους. Εντοπίζεται στο πυρηνόπλασμα, σε κυτοσόλια και στον εξωκυττάριο χώρο. Το ARHGAP25 είναι ένας ενεργοποιητής GTPάσης. Εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη και συμμετέχει στην φαγοκυττάρωση. Το GSE1 είναι ένας γενετικός αναστολέας και το LINC01094 είναι μη κωδικό RNA. Το CS συμμετέχει στη σύνθεση του κιτρικού οξέος. Εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια όλων των κυττάρων για τον οξειδωτικό μεταβολισμό. Το CXCR6 είναι ένας υποδοχέας χημειοκίνης. Εντοπίζεται στις μεμβράνες και συμμετέχει στην ενεργοποίηση της φλεγμονής και του ανοσοποιητικού συστήματος. Το LRRC47 είναι μια λιγάση του tRNA και συμμετέχει στην διαδικασία της μετάφρασης. Το MAN2A2 έχει καταλυτική δράση διασπώντας την μαννόζη σε σύνθετες γλυκάνες και εντοπίζεται στο σύμπλεγμα Golgi. Το RAB11FIP3 λειτουργεί ως ρυθμιστής της ενδοκυτταρικής κυκλοφορίας μορίων όπως κινάσες. Επίσης, εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και συμμετέχει στον κυτταρικό κύκλο. Το TNIK είναι μία κινάση σερίνης/θρεονίνης και λειτουργεί ως ο βασικός ενεργοποιητής του Wnt σηματοδοτικού μονοπατιού. Το RRS1 αποτελεί μέρος της μεγάλης υπομονάδας των ριβοσωμάτων και το MDN1 είναι ένα πυρηνικό chaperone που συμβάλλει στην ωρίμανση ριβοσωμικών υπομονάδων.

Στον Πίνακα 3.32 παρουσιάζεται η έκφραση των 12 κοινών γονιδίων μεταξύ των δύο ιστών.

Πίνακας 3.32. Έκφραση των 12 κοινών διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR μεταξύ των δύο ιστών.

Αίμα	Αρθρικός ιστός
CS	CS
TNIK	TNIK
ARHGAP25	ARHGAP25
LINC01094	LINC01094
MDN1	MDN1
CXCR6	CXCR6
AKR1B1	AKR1B1
GSE1	GSE1
RRS1	RRS1
LRRC47	LRRC47
MAN2A2	MAN2A2
RAB11FIP3	RAB11FIP3

Τέλος, στο δίκτυο γονιδίων του αίματος, όπως αυτό σχηματίζεται από την STRING, δημιουργούνται 147 αλληλεπιδράσεις ενώ στο αντίστοιχο του αρθρικού ιστού 1125. Από αυτές υπάρχει μόνο 1 κοινή αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο συνόλων γονιδίων της STRING (Εικόνα 3.47) η οποία σχηματίζεται μεταξύ των γονιδίων RRS1 και MDN1.



Εικόνα 3.47. Διάγραμμα Venn των αλληλεπιδράσεων των διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR.

4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε μετά-ανάλυση δεδομένων γονιδιακής έκφρασης από πειράματα μικροσυστοιχιών σε δύο σύνολα δεδομένων σχετικά με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Το πρώτο σύνολο δεδομένων προερχόταν από δείγματα αίματος και το δεύτερο από δείγματα αρθρικού ιστού. Από τις δύο μετά-αναλύσεις προσδιορίστηκαν γονίδια τα οποία σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με την ασθένεια.

Από την πρώτη μετά-ανάλυση προσδιορίστηκαν 371 στατιστικώς σημαντικά διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια με τη μέθοδο διόρθωσης FDR σε επίπεδο σημαντικότητας 1%. Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε βιολογικές διεργασίες όπως η μετάφραση, η βιογένεση των ριβοσωμάτων, η πρόσδεσή τους στο RNA, η επεξεργασία του rRNA και του ncRNA, η αερόβια αναπνοή και η οξειδωτική φωσφορυλίωση. Επίσης, συμμετέχουν σε κοινά βιολογικά μονοπάτια με τη νόσο Parkinson, τη νόσο Alzheimer αλλά και άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

Από τη δεύτερη μετά-ανάλυση προσδιορίστηκαν 637 στατιστικών σημαντικά διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια με τη μέθοδο διόρθωσης FDR σε επίπεδο σημαντικότητας 1%. Τα γονιδιακά προϊόντα συμμετέχουν σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες τόσο θεμελιώδεις όσο και εξειδικευμένες για τον οργανισμό. Αρχικά, σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα. Συμμετέχουν στην ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των B και T-λεμφοκυττάρων αλλά και άλλων κυττάρων όπως μυοκύτταρα, οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, νευρικά κύτταρα και ερυθροκύτταρα. Συμβάλλουν στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στο μεταβολισμό μακρομορίων, στη μετανάστευση των κυττάρων (κυρίως του ανοσοποιητικού συστήματος) και στον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, συμμετέχουν στην αγγειογένεση και την ανάπτυξη άλλων οργάνων όπως οι νεφροί. Σε κυτταρικό επίπεδο συμμετέχουν σε πλήθος σηματοδοτικών μονοπατιών, στην επεξεργασία του rRNA, στη μετάφραση των miRNAs και στη βιογένεση των ριβοσωμάτων.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των δύο συνόλων των διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR στην οποία μόλις 12 γονίδια είναι κοινά και στατιστικά σημαντικά. Στα 8 από τα 12 γονίδια η έκφρασή τους είναι όμοια μεταξύ των δύο ιστών ενώ στα υπόλοιπα 4 είναι αντίθετη. Περαιτέρω έρευνα κρίνεται απαραίτητη για την ανακάλυψη περισσότερων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των γονιδίων αλλά και τη διερεύνηση των συσχετίσεών τους με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Βιβλιογραφία

- Armstrong, Richard A. 2014. "When to Use the Bonferroni Correction." *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)* 34(5):502–8.
- Benjamini, Yoav, and Yosef Hochberg. 1995. "Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing." *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)* 57(1):289–300. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- Benson, Dennis A., Karen Clark, Ilene Karsch-Mizrachi, David J. Lipman, James Ostell, and Eric W. Sayers. 2015. "GenBank." *Nucleic Acids Research* 43(D1):D30–35. doi: 10.1093/nar/gku1216.
- Brazma, Alvis, and Jaak Vilo. 2000. "Gene Expression Data Analysis." *FEBS Letters* 480(1):17–24.
- Breitling, Rainer, Patrick Armengaud, Anna Amtmann, and Pawel Herzyk. 2004. "Rank Products: A Simple, yet Powerful, New Method to Detect Differentially Regulated Genes in Replicated Microarray Experiments." *FEBS Letters* 573(1–3):83–92. doi: 10.1016/j.febslet.2004.07.055.
- Campaign, Anna, and Yee Hwa Yang. 2010. "Comparison Study of Microarray Meta-Analysis Methods." *BMC Bioinformatics* 11(1):1–11. doi: 10.1186/1471-2105-11-408.
- Cheung, Vivian G., Michael Morley, Francisco Aguilar, Aldo Massimi, Raju Kucheralapati, and Geoffrey Childs. 1999. "Making and Reading Microarrays." *Nature Genetics* 21(1S):19. doi: 10.1038/4439.
- Choi, Jung Kyoon, Ungsik Yu, Sangsoo Kim, and Ook Joon Yoo. 2003. "Combining Multiple Microarray Studies and Modeling Interstudy Variation." Pp. i84–90 in *Bioinformatics*. Vol. 19. Oxford Academic.
- Choy, Ernest. 2012. "Understanding the Dynamics: Pathways Involved in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis." *Rheumatology* 51(suppl_5):v3–11. doi: 10.1093/RHEUMATOLOGY/KES113.
- Clancy, John, and Heather Hasthorpe. 2011. "Pathophysiology of Rheumatoid Arthritis: Nature or Nurture?" *Primary Health Care* 21(9):29–36. doi: 10.7748/phc2011.11.21.9.29.c8797.
- Dalma-Weiszhauz, Dennise D., Janet Warrington, Eugene Y. Tanimoto, and C. Garrett Miyada. 2006. "[1] The Affymetrix GeneChip® Platform: An Overview." *Methods in Enzymology* 410:3–28.
- DerSimonian, Rebecca, and Nan Laird. 1986. "Meta-Analysis in Clinical Trials." *Controlled Clinical Trials* 7(3):177–88. doi: 10.1016/0197-2456(86)90046-2.
- Efron, Bradley. 1982. *The Jackknife, the Bootstrap and Other Resampling Plans*. Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Efron, Bradley. 1987. "Better Bootstrap Confidence Intervals." *Journal of the American Statistical Association* 82(397):171–85. doi: 10.1080/01621459.1987.10478410.
- Efron, Bradley, and R. J. Tibshirani. 1994. *An Introduction to the Bootstrap*. Chapman and Hall/CRC.
- Egger, Matthias, George Davey Smith, Martin Schneider, and Christoph Minder. 1997. "Bias in Meta-Analysis Detected by a Simple, Graphical Test." *British Medical Journal* 315(7109):629–34. doi: 10.1136/bmj.315.7109.629.
- Fay, David S., and Ken Gerow. 2013. "A Biologist's Guide to Statistical Thinking and Analysis." *WormBook : The Online Review of C. Elegans Biology* 1–54.
- Firestein, Gary S. 2003. "Evolving Concepts of Rheumatoid Arthritis." *Nature* 423(6937):356–61.
- Freeman, Willard M., Daniel J. Robertson, and Kent E. Vrana. 2000. "Fundamentals of DNA Hybridization Arrays for Gene Expression Analysis." *BioTechniques* 29(5):1042–55.
- Guo, Qiang, Yuxiang Wang, Dan Xu, Johannes Nossent, Nathan J. Pavlos, and Jiake Xu. 2018. "Rheumatoid Arthritis: Pathological Mechanisms and Modern Pharmacologic

- Therapies.” *Bone Research* 6(1):1–14.
- Van Hal, Nicole L. W., Oscar Vorst, Adèle M. M. L. Van Houwelingen, Esther J. Kok, Ad Peijnenburg, Asaph Aharoni, Arjen J. Van Tunen, and Jaap Keijer. 2000. “The Application of DNA Microarrays in Gene Expression Analysis.” *Journal of Biotechnology* 78(3):271–80. doi: 10.1016/S0168-1656(00)00204-2.
- Halperin, Avraham S., A. Buhot, and E. B. Zhulina. 2004. “Sensitivity, Specificity, and the Hybridization Isotherms of DNA Chips.” *Biophysical Journal* 86(2):718–30. doi: 10.1016/S0006-3495(04)74150-8.
- Holland, Burt S., and Margaret DiPonzio Copenhaver. 1987. “An Improved Sequentially Rejective Bonferroni Test Procedure.” *Biometrics* 43(2):417. doi: 10.2307/2531823.
- Holm, Sture. 1979. “Board of the Foundation of the Scandinavian Journal of Statistics A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure.” *Source: Scandinavian Journal of Statistics Scand J Statist* 6(6):65–70.
- Hopewell, Sally, Steve McDonald, Mike J. Clarke, and Matthias Egger. 2007. “Grey Literature in Meta-Analyses of Randomized Trials of Health Care Interventions.” *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2).
- Ioannidis, John P. A., and Thomas A. Trikalinos. 2005. “Early Extreme Contradictory Estimates May Appear in Published Research: The Proteus Phenomenon in Molecular Genetics Research and Randomized Trials.” *Journal of Clinical Epidemiology* 58(6):543–49. doi: 10.1016/j.jclinepi.2004.10.019.
- Kerr, Kathleen F. 2007. “Extended Analysis of Benchmark Datasets for Agilent Two-Color Microarrays.” *BMC Bioinformatics* 8(1):1–6. doi: 10.1186/1471-2105-8-371.
- Kontou, Panagiota I., Athanasia Pavlopoulou, and Pantelis G. Bagos. 2018. “Methods of Analysis and Meta-Analysis for Identifying Differentially Expressed Genes.” Pp. 183–210 in *Methods in Molecular Biology*. Vol. 1793. Humana Press, New York, NY.
- Lee, David M., and Michael E. Weinblatt. 2001. “Rheumatoid Arthritis.” *Lancet* 358(9285):903–11.
- Lee, Homin K., Amy K. Hsu, Jon Sajdak, Jie Qin, and Paul Pavlidis. 2004. “Coexpression Analysis of Human Genes across Many Microarray Data Sets.” *Genome Research* 14(6):1085–94. doi: 10.1101/gr.1910904.
- Lora, Viviana, Lorenzo Cerroni, and Carlo Cota. 2018. “Skin Manifestations of Rheumatoid Arthritis.” *Giornale Italiano Di Dermatologia e Venereologia* 153(2):243–55.
- Macgregor, Pascale F., and Jeremy A. Squire. 2002. “Application of Microarrays to the Analysis of Gene Expression in Cancer.” *Clinical Chemistry* 48(8):1170–77.
- Marsal, Sara, and Antonio Juliá. 2010. “Rheumatoid Arthritis Pharmacogenomics.” *Pharmacogenomics* 11(5):617–19.
- McInnes, Iain B., and Georg Schett. 2011. “The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis.” *The New England Journal of Medicine* 365(23):2205–19. doi: 10.1056/NEJMr1004965.
- Miller, Melissa B., and Yi Wei Tang. 2009. “Basic Concepts of Microarrays and Potential Applications in Clinical Microbiology.” *Clinical Microbiology Reviews* 22(4):611–33.
- Nevius, Erin, Ana Cordeiro Gomes, and João P. Pereira. 2016. “Inflammatory Cell Migration in Rheumatoid Arthritis: A Comprehensive Review.” *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 51(1):59–78.
- Ngian, Gene Siew. 2010. “Rheumatoid Arthritis.” *Australian Family Physician* 39(9):626–28.
- Normand, Sharon-Lise T. 1999. “TUTORIAL IN BIostatISTICS META-ANALYSIS: FORMULATING, EVALUATING, COMBINING, AND REPORTING.” *STATISTICS IN MEDICINE Statist. Med* 18:321–59. doi: 10.1002/(SICI)1097-0258(19990215)18:3.
- Novoradovskaya, Natalia, Michael L. Whitfield, Lee S. Basehore, Alexey Novoradovsky, Robert Pesich, Jerry Usary, Mehmet Karaca, Winston K. Wong, Olga Aprelikova, Michael Fero, Charles M. Perou, David Botstein, and Jeff Braman. 2004. “Universal Reference RNA as a Standard for Microarray Experiments.” *BMC Genomics* 5(1):1–13. doi: 10.1186/1471-2164-5-20.
- Pan, Zhenglun, Thomas A. Trikalinos, Fotini K. Kavvoura, Joseph Lau, and John P. .. Ioannidis. 2005. “Local Literature Bias in Genetic Epidemiology: An Empirical Evaluation of the Chinese Literature.” *PLoS Medicine* 2(12):1309–17. doi: 10.1371/journal.pmed.0020334.

- Pease, Ann Caviani, Dennis Solas, Edward J. Sullivan, Maureen T. Cronin, Christopher P. Holmes, and Stephen P. A. Fodor. 1994. "Light-Generated Oligonucleotide Arrays for Rapid DNA Sequence Analysis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(11):5022–26. doi: 10.1073/pnas.91.11.5022.
- Quackenbush, John. 2001. "Computational Analysis of Microarray Data." *Nature Reviews Genetics* 2(6):418–27.
- Ramasamy, Adaikalavan, Adrian Mondry, Chris C. Holmes, and Douglas G. Altman. 2008. "Key Issues in Conducting a Meta-Analysis of Gene Expression Microarray Datasets." *PLoS Medicine* 5(9):1320–32.
- Scott, David L., Frederick Wolfe, and Tom W. J. Huizinga. 2010. "Rheumatoid Arthritis." Pp. 1094–1108 in *The Lancet*. Vol. 376. Elsevier.
- Sidak, Zbynek. 1967. "Rectangular Confidence Regions for the Means of Multivariate Normal Distributions." *Journal of the American Statistical Association* 62(318):626. doi: 10.2307/2283989.
- Smolen, Josef S., Daniel Aletaha, and Iain B. McInnes. 2016. "Rheumatoid Arthritis." *The Lancet* 388(10055):2023–38.
- Stekel, Dov. 2003. *Microarray Bioinformatics*. Cambridge University Press.
- Thakkinstian, Ammarin, Patrick McElduff, Catherine D'Este, David Duffy, and John Attia. 2005. "A Method for Meta-Analysis of Molecular Association Studies." *Statistics in Medicine* 24(9):1291–1306. doi: 10.1002/sim.2010.
- Tibshirani, Robert. 2007. "A Comparison of Fold-Change and the t-Statistic for Microarray Data Analysis." *Analysis* 1(650):1–17.
- Tomiuk, Stefan, and Kay Hofmann. 2001. "Microarray Probe Selection Strategies." *Briefings in Bioinformatics* 2(4):329–40. doi: 10.1093/bib/2.4.329.
- Villanueva, Elmer V, and Silva Zavarsek. 2004. "Evaluating Heterogeneity in Cumulative Meta-Analyses." *BMC Medical Research Methodology* 4(1):1–8. doi: 10.1186/1471-2288-4-18.
- Wasserman, Amy M. 2011. "Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis." *American Family Physician* 84(11):1245–52.
- Watson, J. D., and F. H. C. Crick. 1953. "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid." *Nature* 171(4356):737–38. doi: 10.1038/171737a0.
- Zintzaras, Elias, and John P. A. Ioannidis. 2008. "Meta-Analysis for Ranked Discovery Datasets: Theoretical Framework and Empirical Demonstration for Microarrays." *Computational Biology and Chemistry* 32(1):39–47. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2007.09.003.

Παράρτημα

Πίνακας των 371 διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αίματος

AAAS	FLJ22184	LRRC47	RYS3-DT
AARS	FN3KRP	MAGED1	SCAF4
ADAMTS9-AS2	FRG2B	MAN2A2	SCFD2
ADIPOR2	FTX	MAP3K2-DT	SEC23B
AHCYL1	FXYD5	MAP3K4	SENP3
AKR1B1	GAGE5	MAPRE2	SEPT9
ALAD	GATAD2B	MDN1	SEPTIN7P14
ALDH1A1	GCDH	MDP1	SERTAD1
AMY1B	GIHCG	MECR	SF3A2
ANAPC5	GK-AS1	MED9	SF3A3
AP1G2-AS1	GLOD5	MIR1244-3	SF3B2
APEX1	GMFG	MMP25-AS1	SF3B4
APTR	GNAS	MRPS2	SH3PXD2A-AS1
ARFIP2	GON4L	MT-ATP6	SHMT2
ARHGAP25	GORASP2	MT-ATP8	SHPK
ARPC3	GOT1	MT-CO2	SINHCAFP3
ARRDC4	GPA33	MT-CYB	SIRPG
ASCC2	GPR55	MT-ND4	SLC25A25-AS1
ATIC	GS1-124K5.4	MT-ND4L	SLC25A39
ATP6V0E2-AS1	GS1-600G8.3	NCALD	SLC26A8
ATP8B2	GSE1	NCK1-DT	SMURF2
AUTS2	GSTP1	NCKAP5-AS2	SMYD5
BICD1	HECTD4	NDUFV2-AS1	SNED1
BTG2-DT	HECW2-AS1	NEURL4	SNHG15
BTN3A3	HK3	NFATC1	SNHG30
C14orf1	HLA-DPA1	NFKB1	SNORA12
C22orf24	HMG2P24	NIPAL4-DT	SNORA28
C2orf40	HNRNPD-DT	NIPSNAP1	SNORA62
C2orf42	HNRNPH1P3	NPRL3	SNORA68
C6orf136	HOXB-AS1	NREP	SNORA73B
CAHM	HPS5	NUDC	SPARC
CALHM6-AS1	HSP90AB1	NUP50-DT	SRPRB
CARD8-AS1	ID2-AS1	NUTF2	SRRM1P1
CASC17	ID3	OGFOD1	SSU72
CBLL1-AS1	IFT27	OPA3	ST13P5
CC2D1B	IGHV1OR15-1	OR10D1P	ST13P6
CCDC84	IGHV1OR15-9	OR52L2P	STAG3L3
CCDC92	IL10RB-DT	OR52P1	STK24
CD3EAP	ILRUN-AS1	OR5S1P	SYNE4
CD4	IMP3	OR7E84P	SYNRG

CD8B	IPO5P1	OSER1-DT	SYS1-DBNDD2
CDC16	IRF2BPL	OTUD6B-AS1	SYTL2
CDC25B	IRX4-AS1	OXA1L	TCEA2
CDK4	ITGB7	PAAF1	TESPA1
CHASERR	ITSN1	PABPC1	TFB1M
CNDP2	JADE2	PATZ1	THAP11
CNKSRI	JAK1	PEAR1	TIGD1
CNOT11	KIF5C	PEBP1	TMEM131
COX10-DT	KMT5AP1	PET117	TMEM147-AS1
COX7B	KNOP1	PFN4	TMEM171
CREB3L2	LAG3	PHACTR4	TMEM225B
CRKL	LANCL2	POLD2	TMEM229B
CRNDE	LARP1	POLR1A	TMTC1
CS	LDLRAP1	POLR3E	TMX2
CSNK2A1	LDOC1L	PPP1R13B	TNFAIP6
CSNK2B	LGTN	PPP1R18	TNIK
CTC-338M12.4	LINC00621	PRAMEF5	TOMM34
CUL7	LINC00888	PRKAR1B	TRAJ17
CUTA	LINC00899	PRPF4	TRBV9
CXCR6	LINC00968	PRR5	TRDD3
DBI	LINC00996	PSMD1	TRG-AS1
DDB1	LINC01004	PTAR1	TSPAN33
DDX19A	LINC01094	PTBP1	TSPOAP1-AS1
DDX51	LINC01342	PTGDR2	TTC12
DDX56	LINC01520	PTOV1-AS2	TTLL1
DEFA8P	LINC01550	PYGO2	TUBB1
DIEXF	LINC01644	R3HDM1	UBA7
DKC1	LINC01843	RAB11B-AS1	UBE2L3
DNAJB6P1	LINC02218	RAB11FIP3	UBIAD1
DNAJC30	LINC02256	RALGAPA1P1	UBR5-DT
DNAJC3-DT	LIPN	RARA-AS1	USP13
DVL2	LOC100287896	RB1-DT	USP32P1
ECHDC3	LOC100289230	RBFA	UTP20
EFNB1	LOC100289333	RBM12B-AS1	VASH1-AS1
EHMT2	LOC100310756	RCL1	VN1R101P
EID3	LOC100421561	RITA1	WDR59
EIF2B1	LOC100505711	RNASEH2A	WDR74
EIF3L	LOC100652768	RNF113A	YARS
EIF4A1P4	LOC100996385	RNF185-AS1	YBX1
EIF4ENIF1	LOC101927166	RPAP1	YIF1A
EIF4H	LOC101927609	RPL10P9	YTHDF2
ELP3	LOC101928152	RPL13P7	ZBTB45
ENDOV	LOC101928429	RPL19	ZC3H11B
EOMES	LOC101928728	RPL19P11	ZCCHC18
EPSTI1	LOC102723722	RPL28	ZDHHC12-DT
ERICH2-DT	LOC284685	RPL31P46	ZNF138
ERV3-2	LOC284898	RPL32P3	ZNF205-AS1

ERVH-4	LOC399783	RPS10P3	ZNF316
FAHD2CP	LOC400174	RPS10P5	ZNF407-AS1
FAM19A1	LOC729316	RPS15P3	ZNF608
FAM213B	LPAR5	RRN3P3	ZNF624
FAM238A	LPXN	RRS1	ZNF816
FH	LRRC41	RUVBL1	

Πίνακας των 637 διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων κατά FDR σε δείγματα αρθρικού ιστού

A4GALT	EIF5B	LSAMP	RPL29P7
ABCA4	ELANE	LTBP4	RPL30
ABCA8	ELOVL5	LY9	RPL32
ABL1	EMC3	LYL1	RPL37
ABTB2	EMR1	MAN2A2	RPL37A
ACACA	ERI3	MAP4K1	RPL38
ACACB	ETF1	MAPK10	RPL7
ACADL	ETS2	MARCH6	RPL9
ACADVL	EVI2A	MARK1	RPS10P2
ACKR4	EVI2B	MAST1	RPS14
ACSL1	EXOSC2	MCF2L	RPS16
ADAM23	EXOSC7	MCM4	RPS17
ADAM28	FAH	MDN1	RPS25
ADAMDEC1	FAM102A	MECP2	RPS27
ADAMTSL3	FAM107A	MEIS3P1	RPS28
ADH1A	FAM110D	METAP2	RPS5
ADH1C	FASN	MKL2	RRAS2
ADORA1	FBLN5	MKNK2	RRN3
AES	FBXL17	MLF1	RRP9
AFF1	FBXL3	MMD	RRS1
AGPAT9	FBXL7	MMP13	RXRA
AGT	FBXW4	MMP3	S100A11
AIM2	FBXW4P1	MOCS1	SASH1
AK6	FCGBP	MPP6	SASH3
AKAP1	FCGR2A	MPPED2	SCARNA15
AKAP12	FERMT3	MPST	SCD
AKR1B1	FGL2	MS4A1	SCN2A
AKR1B10	FLI1	MS4A6A	SEMA3E
ALDH3A1	FLRT3	MSX2	SERINC3
ALDH4A1	FOXO3	MTHFD1	SETD1A
ANGPT1	FOXO4	MTRR	SETMAR
ANXA1	FXYD1	MTUS1	SFRP1
ANXA3	GAA	MVP	SH3BP5
AOC3	GADD45G	MXRA5	SH3GLB2

APBB1	GALNT12	MYCT1	SHISA3
APOB	GALNT13	MYH11	SIGLEC1
APOL6	GAS1	MYO9A	SKP1
APOLD1	GAS6	MYOF	SLAMF7
AR	GATA2	MZB1	SLAMF8
AREG	GATA3	NAA35	SLC12A2
ARHGAP25	GGTLC1	NACA	SLC16A8
ARHGAP6	GIMAP4	NANOG	SLC19A3
ASPH	GLB1L2	NBEA	SLC25A38
ASTN1	GNA11	NCF4	SLC25A4
ATN1	GNG12	NCKAP1L	SLC2A4
ATOH8	GNL1	NCOR2	SLC2A5
ATP1A2	GPLY	NDEL1	SLC2A6
ATP2A1-AS1	GPHN	NDRG2	SLC31A2
ATP5G2P1	GPR18	NFE2L1	SLC6A15
ATP6V0B	GPR29	NFIB	SLC6A8
ATP9A	GPR64	NFIX	SMAD3
ATXN2	GPX3	NHP2L1	SMARCC2
BAG3	GPX4	NID1	SMG6
BATF	GRB10	NLRP3	SNTA1
BCAM	GREM1	NNAT	SOX13
BCCIP	GRIA3	NOLC1	SOX9
BCL11A	GRK5	NOP16	SPATA6L
BCL7A	GSE1	NOVA1	SPG20
BCR	GSTA4	NPEPPS	SPINT2
BEX1	GSTM1	NPR1	SPRY1
BHMT2	GSTM2	NQO1	SPRY2
BIN1	GSTM5	NR4A1	SRF
BIRC3	GUCA1A	NR4A3	SRSF4
BMP4	GUCA1B	NRIP1	SRSF5
BRIX1	GULP1	NSA2	SSR4
BST2	GZMH	NSFL1C	ST8SIA4
BTC	HADH	NTRK2	STAC
BTF3	HBEGF	NUFIP1	STAP1
C10orf2	HCLS1	NUMA1	SUMO4
C16orf45	HCP5	NXF3	SUPT6H
C16orf70	HCRT	OLFM1	SUPV3L1
C19orf10	HDDC2	OR7E37P	SVIL
C21orf2	HES1	OSBPL1A	SYDE1
C21orf59	HIST2H2BE	OSBPL3	SYK
C8orf33	HIST3H2A	OVGP1	SYN2
C9orf9	HLA-DRB6	P2RY10	TAS2R13
CALCOCO1	HLA-G	PA2G4	TBC1D8
CCDC86	HLA-J	PACSIN3	TCEB1
CCL13	HNRNPDL	PAM16	TCF7L1
CCL18	HOXA10	PARD3	TCIRG1
CCL19	HPD	PAWR	TCL1A

CCL22	HRASLS	PCBP2	TEAD3
CCL5	HSD11B1-AS1	PCNP	TENC1
CCR5	HSF2	PDGFD	TES
CCRL2	HSPB6	PDK2	TFAM
CD200	HSPB7	PDK4	TFEC
CD27	ICAM2	PDZD8	TGFBRAP1
CD3D	IDH3B	PELP1-DT	THAP3
CD48	IFI27	PEX11A	THBS2
CD69	IFNG	PEX5	THEMIS2
CD86	IFRD1	PFKM	THRA
CDC42EP2	IGFBP5	PGM5-AS1	THRB
CDC6	IGHD	PHB	TIMM44
CDK9	IGK	PHF1	TIMP4
CEBPA-DT	IGKC	PHF20	TIPARP
CEBPG	IGKV1-17	PHKA1	TLE2
CEBPZ	IGKV1-37	PHLPP1	TLR8
CELA3A	IGKV1OR2-108	PIGZ	TMEM156
CEP68	IGLC1	PIK3CG	TMEM176B
CFD	IGLJ3	PIK3R1	TMEM208
CFDP1	IGLL5	PIR	TMEM246
CFH	IGLV1-44	PITRM1	TMEM255A
CIRBP	IGLV4-60	PITX1	TMOD1
CLEC10A	IL27RA	PIWIL2	TNFRSF4
CLSTN2	IL2RA	PLA2G2D	TNIK
CLUL1	IL6ST	PLCB2	TNK1
CMC4	IL7R	PLEKHH3	TOB1
CNBP	IMMP2L	PLEKHM2	TOB2
CNNM2	IMPA2	PLS1	TOE1
COA7	INPP5A	PNPLA2	TOMM40
COL11A1	INPP5B	PODXL2	TOMM70A
COL8A1	IQGAP2	POLR1E	TOX4
COLEC12	IRS1	POU6F1	TP73-AS1
CORO2B	ISYNA1	PPARG	TPD52L1
COX20	ITGA5	PPP1R15A	TRBC1
CR1	ITGA7	PPP2CB	TRHDE-AS1
CRTAM	ITGB2	PPP2R1A	TRIM14
CRTAP	KANSL3	PPP2R5D	TRIM2
CS	KAZN	PPP4R4	TRIP10
CSF2RB	KCNK2	PQBP1	TRMT61A
CST7	KCNK5	PRDM16	TSPAN32
CTLA4	KCNN4	PRDX2	TSPYL1
CTSC	KIAA1671	PRG4	TYMP
CUEDC1	KIT	PRKCD	TYRO3
CXCR3	KLC1	PRMT1	UBA2
CXCR5	KLF10	PSMA5	UBASH3A
CXCR6	KLF4	PSMC3	UBE2R2
CYBRD1	KLF5	PTCD3	UBTF

CYC1	KLF9	PTH1R	UCLH1
CYCSP33	KLHL24	PTMS	UCKL1
CYP26B1	KLHL29	PTPN7	UIMC1
CYP4F12	KLHL31	PTPRC	ULK1
DDR2	KRR1	PTPRU	UPF3A
DEX1	KYNU	PWAR6	UQCRFS1
DGAT2	LAIR1	PXDNL	USP19
DHRS3	LAIR2	RAB11FIP3	USP36
DHX30	LAMA2	RAB11FIP5	USP7
DHX32	LAMA3	RAD23A	UST
DIMT1	LAS1L	RAN	VAMP2
DIO2	LAT	RAPGEF3	VAV3
DIO3	LAT2	RARA	VPS13D
DLC1	LAX1	RASGRP1	WASF3
DLEU2L	LCK	RASSF8	WASL
DLG5	LCP2	RB1CC1	WDR46
DLST	LGALS1	RBBP6	WISP1
DMTN	LGR4	RBFOX2	WISP3
DNASE1L3	LILRB3	RBMS3-AS3	YAP1
DRG1	LIME1	RBP4	YBX3
DTNB-AS1	LINC00452	RC3H1	YES1
DYNC1H1	LINC01094	RCAN2	ZAP70
ECE1	LINC01165	REV3L	ZBTB20
EDNRB	LINC01857	RGS3	ZCCHC24
EEA1	LIPE	RNF141	ZFYVE9
EFCAB2	LONRF1	RNF213-AS1	ZNF236-DT
EFEMP1	LPP	ROR2	ZNF358
EGFR	LRCH4	RORA	ZNF471
EIF1	LRIG1	RPL14	ZXDC
EIF3LP3	LRP6	RPL22	
EIF4B	LRRC15	RPL23A	
EIF4EBP2	LRRC47	RPL24	

Πίνακας αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδίων του δικτύου από δείγματα αίματος

ΓΟΝΙΔΙΟ 1	ΓΟΝΙΔΙΟ 2	ΓΟΝΙΔΙΟ 1	ΓΟΝΙΔΙΟ 2
AARS	YARS	IMP3	RPSA
AKR1B1	HK3	IMP3	RPL28
ANAPC5	CUL7	IMP3	WDR74
ANAPC5	CDC16	IMP3	RCL1
APEX1	YBX1	ITSN1	SYNRG
ARFIP2	ITSN1	LARP1	PABPC1

ATIC	FH	LARP1	YBX1
ATIC	SHMT2	LRRC47	RPSA
AUTS2	CSNK2A1	LRRC47	YARS
AUTS2	CSNK2B	MDN1	UTP20
CC2D1B	TUBB1	MDN1	POLR1A
CD3EAP	POLR1A	MDN1	RRS1
CD4	CXCR6	MDN1	WDR74
CD4	HLA-DPA1	MRPS2	RPL19
CD4	LAG3	MRPS2	RPL28
CD4	CD8B	MT-ATP6	MT-CYB
CD8B	PATZ1	MT-ATP6	OXA1L
CDC16	CUL7	MT-ATP6	MT-ND4L
CDC25B	CDK4	MT-ATP6	MT-CO2
CDK4	HSP90AB1	MT-ATP6	MT-ATP8
CDK4	SERTAD1	MT-ATP6	MT-ND4
CNKSRI	EFNB1	MT-ATP8	MT-CYB
CNKSRI	PEBP1	MT-ATP8	MT-ND4L
CNOT11	PABPC1	MT-ATP8	MT-CO2
COX7B	MT-CO2	MT-ATP8	MT-ND4
CRKL	JAK1	MT-CO2	MT-CYB
CS	GOT1	MT-CO2	MT-ND4L
CS	FH	MT-CO2	OXA1L
CSNK2A1	DVL2	MT-CO2	MT-ND4
CSNK2A1	KIF5C	MT-CYB	MT-ND4L
CSNK2A1	NFATC1	MT-CYB	MT-ND4
CSNK2A1	CSNK2B	MT-ND4	MT-ND4L
CSNK2B	DVL2	NCALD	SYNRG
CSNK2B	IMP3	NFKB1	PSMD1
CSNK2B	KIF5C	NPRL3	WDR59
CUL7	DDB1	NUDC	RUVBL1
DBI	PEBP1	OGFOD1	PABPC1
DBI	UBE2L3	PABPC1	PTBP1
DDB1	RUVBL1	PABPC1	YBX1
DDX51	DDX56	POLD2	RNASEH2A
DDX51	POLR1A	POLR1A	UTP20
DDX51	RRS1	POLR1A	RRS1
DDX51	RCL1	PRPF4	SF3A2
DDX51	DIEXF	PRPF4	SF3B4
DDX56	IMP3	PRPF4	SF3B2
DDX56	WDR74	PRPF4	RNF113A
DDX56	POLR1A	PRPF4	SF3A3
DDX56	DIEXF	PSMD1	RPSA
DDX56	RRS1	PTBP1	YBX1
DDX56	DKC1	RCL1	UTP20
DIEXF	UTP20	RCL1	RRS1
DIEXF	POLR1A	RNF113A	SF3A2
DIEXF	RRS1	RNF113A	SF3B4

DIEXF	IMP3	RNF113A	SF3B2
DIEXF	DKC1	RNF113A	SF3A3
DIEXF	RCL1	RPAP1	RUVBL1
DIEXF	WDR74	RPL19	RPSA
DKC1	POLR1A	RPL19	RPL28
DKC1	RUVBL1	RPL28	RPSA
DKC1	RRS1	RPL28	SRPRB
DKC1	WDR74	RRS1	UTP20
DVL2	SMURF2	RRS1	WDR74
EFNB1	ITSN1	RUVBL1	SEN3
EIF2D	RPSA	SF3A2	SF3A3
EIF3L	PSMD1	SF3A2	SF3B2
EIF3L	RPSA	SF3A2	SF3B4
FH	GOT1	SF3A3	SF3B4
GNAS	PRKAR1B	SF3A3	SF3B2
HSP90AB1	RUVBL1	SF3B2	SF3B4
HSP90AB1	RPSA	SF3B2	YBX1
IMP3	RPL19	SF3B4	YBX1
IMP3	UTP20	SMURF2	UBE2L3
IMP3	RRS1	UBA7	UBE2L3
IMP3	MRPS2		

Πίνακας αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδίων του δικτύου από δείγματα αρθρικού ιστού

ΓΟΝΙΔΙΟ 1	ΓΟΝΙΔΙΟ 2	ΓΟΝΙΔΙΟ 1	ΓΟΝΙΔΙΟ 2	ΓΟΝΙΔΙΟ 1	ΓΟΝΙΔΙΟ 2
ABL1	RARA	EGFR	LCK	NHP2L1	RPS17
ABL1	EGFR	EGFR	PPP2R1A	NHP2L1	RPL22
ABL1	NTRK2	EGFR	VAV3	NHP2L1	RPS27
ABL1	NCKAP1L	EGFR	IRS1	NHP2L1	WDR46
ABL1	BCR	EGFR	YES1	NHP2L1	NUFIP1
ABL1	BIN1	EGFR	PIK3R1	NHP2L1	RPL14
ABL1	WASF3	EIF1	RPS16	NHP2L1	NSA2
ABL1	LCK	EIF1	EIF5B	NHP2L1	RAN
ABL1	APBB1	EIF1	RPL38	NHP2L1	RPS25
ABL1	YES1	EIF1	RPS17	NHP2L1	RPL32
ABL1	PIK3R1	EIF1	RPS27	NHP2L1	RPL37A
ABL1	YAP1	EIF1	RPS14	NHP2L1	RPL23A
ACACA	DGAT2	EIF1	EIF4B	NHP2L1	NOP16
ACACA	FASN	EIF1	RPS5	NHP2L1	RPL9

ACACA	ACACB	EIF1	RPS28	NHP2L1	NOLC1
ACACA	CS	EIF1	RPS25	NHP2L1	RPL30
ACACA	SCD	EIF4B	EIF5B	NHP2L1	RPS14
ACACB	FASN	EIF4B	PCBP2	NHP2L1	RPS28
ACACB	SCD	EIF4B	EIF4EBP2	NHP2L1	RPS5
ACACB	CS	EIF5B	RPS16	NLRP3	SYK
ACADL	HADH	EIF5B	RPL37	NOLC1	RRP9
ACADL	ACADVL	EIF5B	RPL14	NOLC1	RRS1
ACADL	ACSL1	EIF5B	RPS27	NOLC1	POLR1E
ACADVL	HADH	EIF5B	RPS25	NOP16	RRS1
ACKR4	CCL13	EIF5B	RPL37A	NOP16	POLR1E
ACKR4	CCL19	EIF5B	RPS17	NOVA1	RBFOX2
ACSL1	LIPE	EIF5B	RPL32	NR4A1	RXRA
ACSL1	FASN	EIF5B	RPL38	NRIP1	RARA
ACSL1	PNPLA2	EIF5B	RPL22	NRIP1	RORA
ACSL1	SCD	EIF5B	RPL24	NRIP1	THRA
ACSL1	RXRA	EIF5B	RPL30	NRIP1	PPARG
ADAMTSL3	THBS2	EIF5B	RPS28	NRIP1	SCD
ADH1A	GSTM5	EIF5B	RPL7	NRIP1	RXRA
ADH1A	GSTA4	EIF5B	RPS14	NSA2	RRP9
ADH1A	GSTM2	EIF5B	RPL23A	NSA2	RPS16
ADH1A	GSTM1	EIF5B	RPL9	NSA2	PA2G4
ADH1A	ADH1C	EIF5B	RPS5	NSA2	RPL38
ADH1A	ALDH3A1	ELANE	NID1	NSA2	RRS1
ADH1C	GSTM2	ELOVL5	SCD	NSA2	RPL7
ADH1C	GSTM5	EMR1	FCGR2A	NSA2	RPS17
ADH1C	GSTM1	EMR1	PTPRC	NSA2	RPL22
ADH1C	GSTA4	ETF1	RPS16	NSA2	RPS27
ADH1C	ALDH3A1	ETF1	PSMA5	NSA2	WDR46
AES	TLE2	ETF1	RPL37	NSA2	POLR1E
AFF1	CDK9	ETF1	PA2G4	NSA2	RPL24
AGT	GNA11	ETF1	RPL38	NSA2	RPL14
AGT	GZMH	ETF1	RPL7	NSA2	RPS14
AGT	CCR5	ETF1	RPS17	NSA2	RPL23A
AGT	EDNRB	ETF1	RPL22	NSA2	RPL9
AGT	RXRA	ETF1	UPF3A	NSA2	RPL32
AGT	PIK3R1	ETF1	RPS27	NSA2	RPL37A
AIM2	NLRP3	ETF1	RPL24	NSA2	RPL30
AK6	PHF20	ETF1	RPS25	NSA2	RPS25

AK6	LAS1L	ETF1	RPS14	NSA2	RPS28
AK6	NUFIP1	ETF1	RPL23A	NSA2	RPS5
AK6	RPS14	ETF1	RPL37A	NTRK2	PIK3R1
AKAP1	AKAP12	ETF1	RPL32	NUFIP1	RRP9
AKAP1	RAPGEF3	ETF1	RPS28	NUMA1	RAN
AKAP12	EGFR	ETF1	RPS5	NXF3	SRSF4
AKR1B1	AKR1B10	ETF1	RPL30	NXF3	UPF3A
ALDH3A1	GSTM2	ETF1	RPL14	NXF3	SRSF5
ALDH3A1	GSTM1	ETF1	RPL9	PA2G4	RRP9
ALDH3A1	AOC3	ETS2	SRF	PA2G4	RPS16
ALDH3A1	GSTA4	ETS2	GATA3	PA2G4	RPL37
ANGPT1	EGFR	EVI2A	EVI2B	PA2G4	POLR1E
ANGPT1	KIT	EVI2B	LCP2	PA2G4	RPS17
ANGPT1	ITGA5	EVI2B	HCLS1	PA2G4	RPS14
ANGPT1	PIK3R1	EVI2B	PTPRC	PA2G4	RPL14
ANXA1	CCL22	EXOSC2	MPP6	PA2G4	RRS1
ANXA1	S100A11	EXOSC2	RRP9	PA2G4	RPS27
ANXA1	EGFR	EXOSC2	EXOSC7	PA2G4	RPS28
ANXA1	USP7	EXOSC2	RRS1	PA2G4	RPS5
AOC3	CD69	EXOSC2	SUPV3L1	PA2G4	RPS25
AOC3	FCGR2A	EXOSC2	RAN	PA2G4	RPL22
AOC3	CTLA4	EXOSC2	WDR46	PA2G4	RPL32
AOC3	PTPRC	EXOSC7	MPP6	PA2G4	RPL37A
APOB	ITGB2	EXOSC7	RRP9	PA2G4	RPL38
AR	EGFR	EXOSC7	RPS28	PA2G4	RPL7
AR	PA2G4	EXOSC7	WDR46	PA2G4	RPL24
AR	IRS1	EXOSC7	SUPV3L1	PA2G4	RPL9
AR	DYNC1H1	FAH	HPD	PA2G4	RPL30
AR	SMAD3	FASN	LIPE	PA2G4	RPL23A
AR	GATA2	FASN	PPARG	PACSIN3	WASL
AR	SVIL	FASN	PNPLA2	PAM16	TIMM44
AR	HIST2H2BE	FASN	PSMC3	PAM16	TOMM70A
AR	VAV3	FASN	NRIP1	PAM16	TOMM40
AR	PHB	FASN	RXRA	PARD3	RASSF8
AR	NRIP1	FASN	SCD	PEX11A	RXRA
AR	RAN	FBXL17	SKP1	PEX11A	PEX5
AR	YAP1	FBXL3	SKP1	PHB	SYK
AR	PIK3R1	FBXL7	SKP1	PHB	TOMM40
AR	NCOR2	FBXL7	PSMA5	PHB	TFAM

AREG	LRIG1	FBXL7	PSMC3	PIK3CG	PLCB2
AREG	EGFR	FBXW4	SKP1	PIK3CG	SYK
AREG	KIT	FCGR2A	LILRB3	PIK3CG	PIK3R1
AREG	BTC	FCGR2A	TLR8	PIK3R1	RRAS2
ATN1	ATXN2	FCGR2A	PIK3R1	PIK3R1	THRA
ATP1A2	FXYD1	FCGR2A	PTPRC	PIK3R1	ZAP70
ATP6V0B	TCIRG1	FCGR2A	YES1	PIK3R1	VAV3
BAG3	HSPB7	FCGR2A	LAT	PIK3R1	SYK
BAG3	MVP	FCGR2A	ITGB2	PIK3R1	PRKCD
BAG3	HSPB6	FCGR2A	SYK	PIK3R1	THRB
BATF	NANOG	FERMT3	HCLS1	PIK3R1	RXRA
BATF	RORA	FERMT3	ITGB2	PIK3R1	YES1
BATF	FOXO3	FGL2	MS4A6A	PIR	PIWIL2
BCCIP	DIMT1	FLI1	GATA2	PLCB2	PRKCD
BCCIP	KRR1	FOXO3	NANOG	PNPLA2	PPARG
BCCIP	RRP9	FOXO3	RORA	POLR1E	RRN3
BCCIP	DHX32	FOXO3	IRS1	POLR1E	RRP9
BCCIP	RRS1	FOXO3	SMAD3	POLR1E	UBTF
BCCIP	BRIX1	FOXO3	USP7	POLR1E	RRS1
BCCIP	POLR1E	FOXO3	PIK3CG	POLR1E	WDR46
BCCIP	NSA2	FOXO3	MAPK10	PPARG	PRDM16
BCCIP	CDK9	FOXO3	FOXO4	PPARG	SCD
BCCIP	NOP16	FOXO3	KLF4	PPARG	SMAD3
BCL7A	SMARCC2	FOXO3	PRMT1	PPARG	SLC2A4
BCR	KIT	FOXO3	RAN	PPARG	RXRA
BCR	PIK3CG	FOXO4	SMAD3	PPP1R15A	TOX4
BCR	SH3BP5	FOXO4	USP7	PPP1R15A	PPP4R4
BCR	SYK	FOXO4	MAPK10	PPP1R15A	PPP2R1A
BCR	PTPRC	FOXO4	PRMT1	PPP1R15A	PPP2CB
BCR	PIK3R1	FOXO4	RAN	PPP1R15A	ZFYVE9
BHMT2	MTRR	GAS6	TYRO3	PPP2CB	SKP1
BIN1	WASL	GATA2	LYL1	PPP2CB	ULK1
BIN1	MS4A6A	GATA2	HIST2H2BE	PPP2CB	YES1
BIRC3	USP19	GATA2	GATA3	PPP2CB	TOX4
BMP4	PPP1R15A	GATA3	IFNG	PPP2CB	PPP4R4
BMP4	NANOG	GATA3	SMAD3	PPP2CB	PPP2R5D
BMP4	MSX2	GATA3	NRIP1	PPP2CB	PPP2R1A
BMP4	GATA2	GNA11	GNG12	PPP2R1A	PPP4R4
BMP4	SOX9	GNA11	PTH1R	PPP2R1A	SPRY2

BMP4	SMAD3	GNA11	RGS3	PPP2R1A	TOX4
BMP4	GREM1	GNA11	PIK3R1	PPP2R1A	YES1
BRIX1	DIMT1	GNA11	PLCB2	PPP2R1A	PPP2R5D
BRIX1	KRR1	GNG12	RRAS2	PPP2R5D	PPP4R4
BRIX1	RRP9	GNL1	KRR1	PPP2R5D	YES1
BRIX1	CEBPZ	GNL1	PA2G4	PPP4R4	TOX4
BRIX1	PA2G4	GNL1	RRS1	PRDM16	SMAD3
BRIX1	RRS1	GNL1	NSA2	PRDX2	UCHL1
BRIX1	DRG1	GNLY	GZMH	PRKCD	YES1
BRIX1	GNL1	GPHN	MOCS1	PRMT1	SETD1A
BRIX1	EIF4B	GPR29	IL7R	PSMA5	RPS16
BRIX1	ETF1	GPX3	GSTM2	PSMA5	RPL9
BRIX1	RPL7	GPX3	GSTM5	PSMA5	PSMC3
BRIX1	NOP16	GPX3	GSTM1	PSMC3	RAD23A
BRIX1	POLR1E	GPX3	GSTA4	PTPN7	SMAD3
BRIX1	NHP2L1	GPX3	YAP1	PTPRC	ZAP70
BRIX1	WDR46	GPX4	GSTM2	RAB11FIP3	RAB11FIP5
BRIX1	EXOSC2	GPX4	GSTM5	RAD23A	UBA2
BRIX1	NOLC1	GPX4	PRDX2	RAPGEF3	RRAS2
BRIX1	NSA2	GPX4	GSTM1	RARA	THRA
BST2	HLA-G	GPX4	GSTA4	RARA	THRB
BST2	IFI27	GRB10	KIT	RARA	RXRA
BTC	HBEGF	GRB10	IRS1	RASGRP1	RRAS2
BTC	LRIG1	GRB10	PIK3R1	RB1CC1	ULK1
BTC	EGFR	GRK5	LRP6	RBP4	SLC2A4
BTC	YES1	GSTA4	GSTM2	RPL14	RPS16
BTF3	RPS16	GSTA4	GSTM5	RPL14	RPL37
BTF3	RPL37	GSTA4	GSTM1	RPL14	RPL38
BTF3	RPL38	GSTM1	GSTM2	RPL14	RPL7
BTF3	RPL7	GSTM1	NQO1	RPL14	RPS17
BTF3	RPL22	GSTM2	GSTM5	RPL14	RPL22
BTF3	NSA2	GUCA1A	GUCA1B	RPL14	RPS27
BTF3	RPS5	HBEGF	YES1	RPL14	RPL24
BTF3	RPS28	HBEGF	PIK3R1	RPL14	RPS28
BTF3	RPS25	HBEGF	LRIG1	RPL14	RPS25
BTF3	RPL14	HBEGF	MMP3	RPL14	RPL30
BTF3	RPS14	HCLS1	LCP2	RPL14	RPL32
BTF3	RPL30	HCLS1	LCK	RPL14	RPL9
BTF3	RPL37A	HCLS1	ITGB2	RPL14	RPL37A

BTF3	RPL9	HCLS1	SYK	RPL14	RPS5
BTF3	RPL24	HES1	TLE2	RPL14	RPL23A
BTF3	RPL32	HIST2H2BE	SETD1A	RPL14	RPS14
BTF3	RPL23A	HIST2H2BE	TCF7L1	RPL22	RPS16
BTF3	NACA	HIST2H2BE	UBTF	RPL22	RPL37
C10orf2	SLC25A4	HIST2H2BE	HIST3H2A	RPL22	RPL38
C10orf2	TFAM	HIST2H2BE	PRMT1	RPL22	RPL7
CCDC86	NSA2	HIST2H2BE	RAN	RPL22	RPS17
CCDC86	RRS1	HIST2H2BE	MECP2	RPL22	RPL24
CCL13	CXCR6	HIST2H2BE	UIMC1	RPL22	RPL37A
CCL13	GPR29	HIST2H2BE	POLR1E	RPL22	RPS27
CCL13	CXCR3	HIST2H2BE	NCOR2	RPL22	RPS5
CCL13	CCR5	HIST3H2A	UIMC1	RPL22	RPS28
CCL18	CXCR5	HIST3H2A	NCOR2	RPL22	RPS25
CCL18	CCR5	HIST3H2A	PRMT1	RPL22	RPL30
CCL18	CCL19	HLA-G	LILRB3	RPL22	RPL32
CCL18	GPR29	HLA-G	STAC	RPL22	RPL9
CCL18	CXCR3	HLA-G	IFI27	RPL22	RPL23A
CCL18	CXCR6	HNRNPDL	PCBP2	RPL22	RPS14
CCL19	CCL22	HNRNPDL	SRSF5	RPL23A	RPS16
CCL19	CXCR5	ICAM2	ITGB2	RPL23A	RPL37
CCL19	CCR5	IFNG	IL6ST	RPL23A	RPL38
CCL19	IL7R	IFNG	IL27RA	RPL23A	RRS1
CCL19	CXCR6	IFNG	PTPRC	RPL23A	RPL7
CCL19	GPR29	IFNG	IL7R	RPL23A	RPS17
CCL19	CXCR3	IFNG	PIK3R1	RPL23A	RPS27
CCL19	CCRL2	IFNG	IL2RA	RPL23A	RPL24
CCL22	CXCR6	IFNG	PRKCD	RPL23A	RPS14
CCL22	CXCR5	IGLL5	LAT2	RPL23A	RPS25
CCL22	CCR5	IGLL5	YES1	RPL23A	RPS28
CCL22	CXCR3	IL27RA	IL6ST	RPL23A	RPL30
CCL22	GPR29	IL2RA	IRS1	RPL23A	RPL9
CCL22	CCL5	IL2RA	IL7R	RPL23A	RPL32
CCL5	IFNG	IL2RA	LCK	RPL23A	RPL37A
CCL5	CXCR5	IL2RA	SYK	RPL23A	RPS5
CCL5	CCR5	IL2RA	PTPRC	RPL24	RPS16
CCL5	GPR29	IL2RA	PIK3R1	RPL24	RPL37
CCL5	CCRL2	IL6ST	PIK3R1	RPL24	RPL38
CCL5	CXCR3	IL7R	KIT	RPL24	RRS1

CCL5	CXCR6	IL7R	PIK3R1	RPL24	RPL7
CCL5	PTPRC	IL7R	LCK	RPL24	RPS17
CCR5	GNA11	IL7R	PTPRC	RPL24	RPS27
CCR5	CD69	IMPA2	ISYNA1	RPL24	RPS5
CCR5	IFNG	INPP5A	INPP5B	RPL24	RPL37A
CCR5	CTLA4	INPP5B	PLCB2	RPL24	RPL9
CCR5	PTPRC	IQGAP2	MYH11	RPL24	RPL32
CCR5	CD86	IRS1	NTRK2	RPL24	RPL30
CCRL2	IL7R	IRS1	PPARG	RPL24	RPS25
CD27	CD69	IRS1	UBTF	RPL24	RPS28
CD27	IFNG	IRS1	USP7	RPL24	RPS14
CD27	CD86	IRS1	YAP1	RPL30	RPS16
CD27	CXCR5	IRS1	MAPK10	RPL30	RPL37
CD27	CXCR3	IRS1	SLC2A4	RPL30	RPL38
CD27	PTPRC	IRS1	LCK	RPL30	RPL7
CD27	TNFRSF4	IRS1	PIK3CG	RPL30	RPS17
CD27	IL7R	IRS1	PRKCD	RPL30	RPS27
CD27	CTLA4	IRS1	PIK3R1	RPL30	RPS14
CD3D	LCP2	ITGA5	THBS2	RPL30	RPL9
CD3D	ZAP70	ITGA5	ITGA7	RPL30	RPL32
CD3D	IL7R	ITGA5	LAMA2	RPL30	RPL37A
CD3D	MAP4K1	ITGA5	LAMA3	RPL30	RPS25
CD3D	SYK	ITGA5	ITGB2	RPL30	RPS28
CD3D	CD86	ITGA7	LAMA3	RPL30	RPS5
CD3D	LAT	ITGA7	ITGB2	RPL32	RPS16
CD3D	IL2RA	ITGA7	LAMA2	RPL32	RPL37
CD3D	PTPRC	ITGB2	LCP2	RPL32	RPL38
CD3D	LCK	ITGB2	VAV3	RPL32	RPL7
CD48	LY9	ITGB2	SYK	RPL32	RPS17
CD48	KIT	ITGB2	PTPRC	RPL32	RPS27
CD48	LCK	KANSL3	PHF20	RPL32	RPS14
CD48	SLAMF7	KCNK5	KCNN4	RPL32	RPL9
CD48	PTPRC	KIT	STAP1	RPL32	RPL37A
CD69	CXCR3	KIT	LCK	RPL32	RPS5
CD69	ZAP70	KIT	YES1	RPL32	RPS28
CD69	IL7R	KIT	PIK3CG	RPL32	RPS25
CD69	IL2RA	KIT	PTPRC	RPL37	RPS16
CD69	IFNG	KIT	PTPRU	RPL37	RPS27
CD69	CD86	KIT	PIK3R1	RPL37	RPS5

CD69	CTLA4	KLC1	MAPK10	RPL37	RPL7
CD69	PTPRC	KLF4	NANOG	RPL37	RPL37A
CD86	IFNG	KLF4	PPARG	RPL37	RPL9
CD86	ZAP70	KLF5	RARA	RPL37	RPS17
CD86	FCGR2A	KLF5	PPARG	RPL37	RPS25
CD86	CTLA4	KLF9	THRA	RPL37	RPS28
CD86	EMR1	KLF9	MAPK10	RPL37	RPL38
CD86	TLR8	KLF9	THRB	RPL37	RPS14
CD86	TNFRSF4	KLHL31	RPL23A	RPL37A	RPS16
CD86	PTPRC	KRR1	POLR1E	RPL37A	RPL38
CD86	PIK3R1	KRR1	RRS1	RPL37A	RRS1
CD86	LCK	KRR1	NSA2	RPL37A	RPL7
CDC6	PSMC3	KRR1	NHP2L1	RPL37A	RPS17
CDC6	PSMA5	KRR1	RPS27	RPL37A	RPS27
CDC6	MCM4	KRR1	RPS16	RPL37A	RPS14
CDK9	SUPT6H	KRR1	RPS28	RPL37A	RPL9
CDK9	SMAD3	KRR1	RPS5	RPL37A	RPS5
CDK9	HIST2H2BE	KRR1	RPS14	RPL37A	RPS28
CEBPZ	KRR1	KRR1	RRP9	RPL37A	RPS25
CEBPZ	RRP9	KRR1	WDR46	RPL38	RPS16
CEBPZ	PA2G4	LAMA2	NID1	RPL38	RPS27
CEBPZ	TRMT61A	LAMA2	LAMA3	RPL38	RPS5
CEBPZ	NOLC1	LAMA3	MMP13	RPL38	RPL7
CEBPZ	GNL1	LAMA3	NID1	RPL38	RPL9
CEBPZ	NSA2	LAMA3	MMP3	RPL38	RPS28
CEBPZ	RRS1	LAS1L	RRS1	RPL38	RPS17
CEBPZ	WDR46	LAS1L	PHF20	RPL38	RPS25
CEP68	LGALS1	LAT	LCP2	RPL38	RPS14
CFH	EFEMP1	LAT	ZAP70	RPL7	RPS16
CMC4	COA7	LAT	LCK	RPL7	RRS1
CNBP	PCBP2	LAT	VAV3	RPL7	RPL9
CNBP	EIF4B	LAT	SYK	RPL7	RPS25
COL11A1	DDR2	LAT	YES1	RPL7	RPS17
COL8A1	CRTAP	LAT	PIK3R1	RPL7	RPS28
CR1	EIF1	LAT	MAP4K1	RPL7	RPS27
CRTAM	KYNU	LAT	LAT2	RPL7	RPS5
CS	SLC25A4	LAT2	LCP2	RPL7	RPS14
CS	TOMM70A	LAT2	SYK	RPL9	RPS16
CS	FASN	LCK	LCP2	RPL9	RPS17

CS	UQCRFS1	LCK	PPP2CB	RPL9	RPS27
CS	CYC1	LCK	ZAP70	RPL9	RPS14
CS	DLST	LCK	LIME1	RPL9	RPS28
CS	HADH	LCK	PPP2R1A	RPL9	RPS25
CS	TFAM	LCK	PIK3CG	RPL9	RPS5
CS	TOMM40	LCK	PPP2R5D	RPS14	RRP9
CS	IDH3B	LCK	YES1	RPS14	RPS16
CSF2RB	TFEC	LCK	MAP4K1	RPS14	RPS17
CSF2RB	SYK	LCK	PRKCD	RPS14	RPS27
CSF2RB	ITGB2	LCK	SYK	RPS14	WDR46
CSF2RB	PTPRC	LCK	PIK3R1	RPS14	RPS5
CSF2RB	PIK3R1	LCK	PTPRC	RPS14	RPS28
CST7	CTSC	LCP2	RASGRP1	RPS14	RPS25
CST7	FGL2	LCP2	UBASH3A	RPS16	RRP9
CTLA4	IFNG	LCP2	PIK3R1	RPS16	WDR46
CTLA4	ZAP70	LCP2	PTPRC	RPS16	RPS17
CTLA4	FCGR2A	LCP2	VAV3	RPS16	RPS25
CTLA4	CXCR5	LCP2	SYK	RPS16	RPS27
CTLA4	ITGA5	LCP2	MAP4K1	RPS16	RPS5
CTLA4	GATA3	LCP2	ZAP70	RPS16	RPS28
CTLA4	CXCR3	LGR4	LRP6	RPS17	RPS28
CTLA4	IL2RA	LILRB3	SYK	RPS17	RPS25
CTLA4	PPP2R1A	LIPE	SLC2A4	RPS17	RPS5
CTLA4	PIK3R1	LIPE	PPARG	RPS17	RPS27
CTLA4	IL7R	LIPE	PNPLA2	RPS25	RPS27
CTLA4	PTPRC	LRP6	SFRP1	RPS25	RPS5
CTLA4	TNFRSF4	LRP6	PPP2CB	RPS25	RPS28
CTLA4	ITGB2	LRP6	PPP2R5D	RPS27	RRP9
CTLA4	LCK	LRP6	PPP2R1A	RPS27	WDR46
CXCR3	IFNG	LRP6	PTH1R	RPS27	RPS28
CXCR3	IL7R	LRRC47	RPS16	RPS27	RPS5
CXCR3	PTPRC	LRRC47	RPS17	RPS28	RRP9
CXCR5	PTPRC	LRRC47	RPS27	RPS28	WDR46
CYC1	TIMM44	LRRC47	RPS25	RPS28	RPS5
CYC1	SLC25A4	LRRC47	RPS28	RPS5	RRP9
CYC1	TOMM70A	LRRC47	RPS5	RPS5	WDR46
CYC1	UQCRFS1	LRRC47	RPS14	RRN3	UBTF
CYC1	IDH3B	LY9	PTPRC	RRP9	TRMT61A
CYC1	DLST	MAP4K1	ZAP70	RRP9	RRS1

CYC1	TOMM40	MAPK10	SMAD3	RRP9	WDR46
DGAT2	FASN	MAPK10	RAPGEF3	RRS1	WDR46
DGAT2	SCD	MAPK10	PRKCD	RXRA	THRA
DGAT2	PNPLA2	MAPK10	ROR2	RXRA	SMARCC2
DHX30	PTCD3	MDN1	PA2G4	RXRA	SLC2A4
DHX32	RRP9	MDN1	RRS1	RXRA	SCD
DIMT1	RPS5	MDN1	RPL23A	RXRA	THRB
DIMT1	NOP16	MDN1	NSA2	SETD1A	SUPT6H
DIMT1	PA2G4	MECP2	PPARG	SH3BP5	SYK
DIMT1	NHP2L1	MECP2	NCOR2	SKP1	UBE2R2
DIMT1	NSA2	MKL2	SRF	SKP1	SMAD3
DIMT1	WDR46	MMP13	SOX9	SKP1	TCEB1
DIMT1	RRS1	MMP3	NID1	SLC25A4	UQCRRS1
DIMT1	KRR1	MMP3	TIMP4	SLC25A4	TOMM70A
DIMT1	RRP9	MOCS1	NPR1	SLC25A4	TOMM40
DIO2	THRA	MTHFD1	MTRR	SLC2A4	VAMP2
DIO2	PRDM16	NAA35	UBASH3A	SLC2A4	TRIP10
DIO2	MARCH6	NACA	RPS16	SMAD3	SOX9
DIO2	THRB	NACA	RPL7	SMAD3	ZFYVE9
DIO2	DIO3	NACA	RPS17	SMAD3	TOB1
DIO3	THRA	NACA	RPL22	SMAD3	TEAD3
DIO3	THRB	NACA	RPL24	SMAD3	YAP1
DLC1	TENC1	NACA	RPL14	SMG6	UPF3A
DLST	UQCRRS1	NACA	RPL23A	SPG20	STAC
DLST	IDH3B	NACA	RPL9	SPRY1	SPRY2
DYNC1H1	NDEL1	NACA	RPL32	SRSF4	SRSF5
ECE1	EDNRB	NACA	RPL30	SUMO4	UBA2
EDNRB	GNA11	NACA	RPS25	SUPT6H	UBTF
EDNRB	PLCB2	NACA	RPS28	SYK	ZAP70
EFEMP1	EGFR	NACA	RPS5	SYK	VAV3
EGFR	PPP2CB	NANOG	RORA	SYK	YES1
EGFR	WASL	NCF4	PRKCD	SYN2	TIMP4
EGFR	IFNG	NCKAP1L	WASL	SYN2	VAMP2
EGFR	HBEGF	NCKAP1L	PTPRC	TCF7L1	YAP1
EGFR	ZAP70	NCKAP1L	WASF3	TCF7L1	TEAD3
EGFR	LRIG1	NCOR2	RARA	TCF7L1	TLE2
EGFR	WASF3	NCOR2	THRA	TEAD3	YAP1
EGFR	UBASH3A	NCOR2	PPARG	THRA	THRB
EGFR	ITGB2	NCOR2	SLC2A4	TIMM44	TOMM70A

EGFR	PDGFD	NCOR2	THRB	TIMM44	TOMM40
EGFR	MAP4K1	NCOR2	NRIP1	TOMM40	TOMM70A
EGFR	SPRY1	NCOR2	NR4A1	TRIP10	WASL
EGFR	NTRK2	NCOR2	RXRA	TRIP10	VAMP2
EGFR	MMP3	NFIB	NFIX	UBASH3A	ZAP70
EGFR	ITGA5	NHP2L1	RRP9	USP19	USP7
EGFR	YAP1	NHP2L1	RPS16	VAV3	ZAP70
EGFR	SPRY2	NHP2L1	RPL37	WASF3	WASL
EGFR	PPP2R5D	NHP2L1	RPL38	YAP1	YES1
EGFR	GRB10	NHP2L1	RRS1	YES1	ZAP70

Ανάλυση εμπλουτισμού ως προς την βιολογική διεργασία των 965 όρων του αρθρικού ιστού

Number	Term name	Term id	Number of genes	Adjusted_p_value	-log10(Adjusted_p_value)
1	Response to stimulus	GO:0050896	371 of 9000	1.07356E-22	21.96917557
2	Immune system process	GO:0002376	173 of 2842	2.62882E-22	21.58023873
3	Regulation of multicellular organismal process	GO:0051239	167 of 2753	2.66181E-21	20.57482228
4	Positive regulation of biological process	GO:0048518	287 of 6309	4.85336E-21	20.3139578
5	Cell surface receptor signaling pathway	GO:0007166	164 of 2816	3.93425E-19	18.40513786
6	Response to organic substance	GO:0010033	171 of 3034	8.88672E-19	18.05125827
7	Positive regulation of multicellular organismal process	GO:0051240	110 of 1507	8.88672E-19	18.05125827
8	Leukocyte activation	GO:0045321	86 of 995	9.34245E-19	18.02953941
9	Regulation of immune system process	GO:0002682	109 of 1488	9.34245E-19	18.02953941
10	Positive regulation of cellular process	GO:0048522	258 of 5641	2.06983E-18	17.68406612
11	Regulation of cellular process	GO:0050794	413 of 11130	2.40728E-18	17.61847347
12	Cellular response to chemical stimulus	GO:0070887	169 of 3049	5.62386E-18	17.24996566
13	System development	GO:0048731	215 of 4369	6.22602E-18	17.20578944
14	Cell activation	GO:0001775	91 of 1138	6.84777E-18	17.16445098
15	Cellular response to stimulus	GO:0051716	312 of 7494	8.01339E-18	17.09618391
16	Negative regulation of cellular process	GO:0048523	227 of 4749	8.60836E-18	17.06507964
17	Regulation of biological quality	GO:0065008	192 of 3726	1.15028E-17	16.93919703
18	Lymphocyte activation	GO:0046649	75 of 834	2.54249E-17	16.59474115
19	Regulation of multicellular organismal development	GO:2000026	101 of 1394	3.30881E-17	16.4803287
20	Regulation of developmental process	GO:0050793	146 of 2499	3.30881E-17	16.4803287
21	Cell population proliferation	GO:0008283	126 of 1988	3.30881E-17	16.4803287
22	Multicellular organism development	GO:0007275	227 of 4823	4.67434E-17	16.3302797
23	Positive regulation of metabolic process	GO:0009893	193 of 3849	1.36954E-16	15.8634239

24	Leukocyte differentiation	GO:0002521	61 of 595	1.36954E-16	15.8634239
25	Response to chemical	GO:0042221	211 of 4383	1.39192E-16	15.85638535
26	Regulation of cell adhesion	GO:0030155	70 of 775	2.71284E-16	15.56657657
27	Immune system development	GO:0002520	82 of 1023	3.07463E-16	15.51220682
28	Regulation of response to stimulus	GO:0048583	196 of 3970	3.07463E-16	15.51220682
29	T cell activation	GO:0042110	57 of 538	3.73684E-16	15.42749586
30	Hemopoiesis	GO:0030097	77 of 923	3.77358E-16	15.42324614
31	Mononuclear cell differentiation	GO:1903131	53 of 470	3.88792E-16	15.41028289
32	T cell differentiation	GO:0030217	42 of 297	4.07729E-16	15.38962826
33	Organonitrogen compound metabolic process	GO:1901564	277 of 6522	4.15069E-16	15.38187928
34	Immune response	GO:0006955	120 of 1913	4.25695E-16	15.37090193
35	Hematopoietic or lymphoid organ development	GO:0048534	78 of 964	1.10965E-15	14.95481286
36	Lymphocyte differentiation	GO:0030098	49 of 421	1.89796E-15	14.72171263
37	Regulation of cell population proliferation	GO:0042127	109 of 1683	2.1118E-15	14.67534718
38	Regulation of leukocyte differentiation	GO:1902105	42 of 315	3.09374E-15	14.50951579
39	Cellular response to organic substance	GO:0071310	137 of 2405	3.09544E-15	14.50927771
40	Developmental process	GO:0032502	271 of 6424	3.29704E-15	14.48187564
41	Positive regulation of cellular metabolic process	GO:0031325	162 of 3094	3.91157E-15	14.40764856
42	Positive regulation of response to stimulus	GO:0048584	129 of 2214	5.59311E-15	14.2523465
43	Regulation of primary metabolic process	GO:0080090	253 of 5869	6.48278E-15	14.18823838
44	Cell adhesion	GO:0007155	101 of 1521	6.71108E-15	14.17320744
45	Cell migration	GO:0016477	100 of 1498	6.79756E-15	14.167647
46	Regulation of cell activation	GO:0050865	64 of 712	6.81176E-15	14.16674092
47	Regulation of leukocyte activation	GO:0002694	61 of 657	8.33941E-15	14.07886484
48	Signaling	GO:0023052	271 of 6492	1.22785E-14	13.91085616
49	Biological regulation	GO:0065007	449 of 13096	1.49435E-14	13.82554665
50	Response to external stimulus	GO:0009605	150 of 2814	1.6729E-14	13.77652881
51	Response to stress	GO:0006950	189 of 3938	2.05177E-14	13.6878706
52	Anatomical structure development	GO:0048856	250 of 5836	2.28148E-14	13.64178401
53	Leukocyte cell-cell adhesion	GO:0007159	46 of 402	2.61051E-14	13.58327483
54	Protein metabolic process	GO:0019538	238 of 5462	2.84156E-14	13.54644312
55	Immune effector process	GO:0002252	61 of 680	3.61867E-14	13.4414507
56	Regulation of lymphocyte differentiation	GO:0045619	33 of 210	4.85895E-14	13.31345768
57	Regulation of cellular metabolic process	GO:0031323	243 of 5649	4.95666E-14	13.30481109
58	Cell communication	GO:0007154	270 of 6551	7.3033E-14	13.13648092
59	Regulation of leukocyte cell-cell adhesion	GO:1903037	43 of 364	7.34368E-14	13.13408638
60	Signal transduction	GO:0007165	253 of 5993	7.3628E-14	13.13295719
61	Regulation of protein metabolic process	GO:0051246	139 of 2567	7.57983E-14	13.12034036
62	Homeostatic process	GO:0042592	105 of 1684	7.71465E-14	13.11268363
63	Positive regulation of macromolecule metabolic process	GO:0010604	173 of 3535	1.00567E-13	12.99754235
64	Cell death	GO:0008219	121 of 2107	1.37777E-13	12.86082403
65	Regulation of nitrogen compound metabolic process	GO:0051171	243 of 5706	1.52779E-13	12.81593566
66	Regulation of T cell differentiation	GO:0045580	30 of 179	1.52779E-13	12.81593566

67	Animal organ development	GO:0048513	174 of 3591	1.94978E-13	12.71001521
68	Regulation of cell differentiation	GO:0045595	100 of 1587	2.02574E-13	12.6934163
69	Regulation of cell death	GO:0010941	102 of 1637	2.06001E-13	12.68613138
70	Regulation of biological process	GO:0050789	426 of 12361	4.68974E-13	12.32885126
71	Programmed cell death	GO:0012501	113 of 1942	5.57887E-13	12.25345377
72	Regulation of cell-cell adhesion	GO:0022407	48 of 475	5.57887E-13	12.25345377
73	Locomotion	GO:0040011	89 of 1349	6.06436E-13	12.21721486
74	Regulation of T cell activation	GO:0050863	42 of 372	6.3999E-13	12.19382657
75	Cell motility	GO:0048870	103 of 1698	7.79402E-13	12.10823869
76	Regulation of hemopoiesis	GO:1903706	44 of 409	8.03799E-13	12.09485274
77	Negative regulation of biological process	GO:0048519	246 of 5918	1.4867E-12	11.8277774
78	Positive regulation of nitrogen compound metabolic process	GO:0051173	156 of 3152	1.53034E-12	11.81521176
79	Multicellular organismal process	GO:0032501	292 of 7463	1.53034E-12	11.81521176
80	Regulation of lymphocyte activation	GO:0051249	52 of 565	1.61448E-12	11.79196769
81	Regulation of programmed cell death	GO:0043067	93 of 1482	2.52375E-12	11.59795327
82	Negative regulation of immune system process	GO:0002683	44 of 430	4.47479E-12	11.349227
83	Positive regulation of developmental process	GO:0051094	86 of 1337	6.86762E-12	11.16319364
84	Apoptotic process	GO:0006915	108 of 1889	6.98059E-12	11.15610795
85	Negative regulation of multicellular organismal process	GO:0051241	73 of 1035	7.44029E-12	11.12841004
86	Regulation of cell communication	GO:0010646	161 of 3363	8.15338E-12	11.08866217
87	Regulation of signaling	GO:0023051	161 of 3374	1.0681E-11	10.9713868
88	Positive regulation of immune system process	GO:0002684	69 of 954	1.12278E-11	10.94970392
89	Cellular developmental process	GO:0048869	191 of 4280	1.21952E-11	10.91381181
90	Regulation of apoptotic process	GO:0042981	90 of 1453	1.34551E-11	10.87111294
91	Cell differentiation	GO:0030154	190 of 4256	1.38822E-11	10.85754191
92	Regulation of immune response	GO:0050776	66 of 899	1.93882E-11	10.7124631
93	Regulation of cell migration	GO:0030334	67 of 923	2.1029E-11	10.67718104
94	Leukocyte migration	GO:0050900	41 of 397	2.15339E-11	10.66687793
95	Regulation of metabolic process	GO:0019222	285 of 7377	2.27147E-11	10.64369218
96	Leukocyte proliferation	GO:0070661	38 of 347	2.5994E-11	10.58512637
97	Cell-cell adhesion	GO:0098609	67 of 946	6.27503E-11	10.20238421
98	Negative regulation of cell population proliferation	GO:0008285	56 of 711	8.34216E-11	10.07872139
99	Biosynthetic process	GO:0009058	240 of 5941	9.12189E-11	10.03991529
100	Cellular biosynthetic process	GO:0044249	235 of 5782	9.93246E-11	10.00294328
101	B cell activation	GO:0042113	37 of 347	1.14486E-10	9.941249407
102	Regulation of phosphate metabolic process	GO:0019220	85 of 1391	1.27758E-10	9.893613114
103	Regulation of cell motility	GO:2000145	68 of 985	1.27758E-10	9.893613114
104	Regulation of phosphorus metabolic process	GO:0051174	85 of 1392	1.31466E-10	9.881187273
105	Intracellular signal transduction	GO:0035556	131 of 2627	1.81836E-10	9.740320555
106	Response to oxygen-containing compound	GO:1901700	95 of 1655	1.87944E-10	9.725971736
107	Organic substance biosynthetic process	GO:1901576	236 of 5854	1.95994E-10	9.707757459
108	Response to cytokine	GO:0034097	64 of 906	2.15172E-10	9.667214553
109	Peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0018108	38 of 375	2.5E-10	9.602059469
110	Negative regulation of cell death	GO:0060548	68 of 1001	2.5E-10	9.602059469

111	Phosphate-containing compound metabolic process	GO:0006796	137 of 2817	2.88415E-10	9.539982119
112	Peptidyl-tyrosine modification	GO:0018212	38 of 377	2.88697E-10	9.539558454
113	Positive regulation of signaling	GO:0023056	97 of 1722	2.95691E-10	9.529161782
114	Positive regulation of immune response	GO:0050778	49 of 591	3.15187E-10	9.501431135
115	Positive regulation of leukocyte differentiation	GO:1902107	26 of 182	3.15187E-10	9.501431135
116	Positive regulation of hemopoiesis	GO:1903708	26 of 182	3.15187E-10	9.501431135
117	Positive regulation of T cell differentiation	GO:0045582	21 of 116	3.45649E-10	9.461364425
118	T cell proliferation	GO:0042098	28 of 213	3.65681E-10	9.436897928
119	Negative regulation of programmed cell death	GO:0043069	63 of 900	4.30191E-10	9.366339146
120	Positive regulation of lymphocyte differentiation	GO:0045621	22 of 130	4.30191E-10	9.366339146
121	Anatomical structure morphogenesis	GO:0009653	133 of 2722	4.36869E-10	9.359649101
122	Positive regulation of phosphate metabolic process	GO:0045937	63 of 903	4.74443E-10	9.323815693
123	Positive regulation of phosphorus metabolic process	GO:0010562	63 of 903	4.74443E-10	9.323815693
124	Phosphorus metabolic process	GO:0006793	137 of 2841	4.74443E-10	9.323815693
125	Regulation of response to stress	GO:0080134	82 of 1356	4.74443E-10	9.323815693
126	Defense response	GO:0006952	97 of 1742	5.13469E-10	9.289486011
127	Positive regulation of cell communication	GO:0010647	96 of 1718	5.46749E-10	9.262212041
128	Positive regulation of cell population proliferation	GO:0008284	65 of 954	5.89276E-10	9.229681183
129	Regulation of locomotion	GO:0040012	68 of 1030	7.6093E-10	9.118655109
130	Positive regulation of molecular function	GO:0044093	90 of 1573	7.6093E-10	9.118655109
131	Positive regulation of leukocyte cell-cell adhesion	GO:1903039	31 of 269	7.87998E-10	9.103475076
132	Positive regulation of signal transduction	GO:0009967	88 of 1523	7.87998E-10	9.103475076
133	Lymphocyte proliferation	GO:0046651	33 of 305	9.60031E-10	9.01771465
134	Circulatory system development	GO:0072359	71 of 1109	1.02435E-09	8.989550708
135	Regulation of signal transduction	GO:0009966	140 of 2968	1.19469E-09	8.922745829
136	Leukocyte activation involved in immune response	GO:0002366	32 of 291	1.24491E-09	8.90486117
137	Regulation of macromolecule metabolic process	GO:0060255	262 of 6842	1.29566E-09	8.887507798
138	Negative regulation of apoptotic process	GO:0043066	61 of 881	1.29566E-09	8.887507798
139	Response to endogenous stimulus	GO:0009719	90 of 1592	1.35299E-09	8.868705244
140	Negative regulation of developmental process	GO:0051093	63 of 929	1.40451E-09	8.852473753
141	Enzyme-linked receptor protein signaling pathway	GO:0007167	65 of 976	1.42722E-09	8.845508509
142	Response to lipid	GO:0033993	62 of 909	1.59075E-09	8.798396826
143	Mononuclear cell proliferation	GO:0032943	33 of 312	1.64711E-09	8.78327841
144	Cell activation involved in immune response	GO:0002263	32 of 295	1.68501E-09	8.773396686
145	Homeostasis of number of cells	GO:0048872	32 of 296	1.82903E-09	8.737779886
146	Cellular amide metabolic process	GO:0043603	74 of 1201	2.02608E-09	8.693343458
147	Alpha-beta T cell activation	GO:0046631	24 of 170	2.10696E-09	8.676343526
148	Positive regulation of cell-cell adhesion	GO:0022409	33 of 316	2.2393E-09	8.649887223
149	Leukocyte mediated immunity	GO:0002443	40 of 446	2.25511E-09	8.646831503
150	Regulation of immune effector process	GO:0002697	36 of 372	2.55512E-09	8.592589035
151	Regulation of leukocyte proliferation	GO:0070663	30 of 267	2.75457E-09	8.559945876

152	Cytoplasmic translation	GO:0002181	23 of 158	2.75457E-09	8.559945876
153	Inflammatory response	GO:0006954	56 of 786	2.75457E-09	8.559945876
154	Positive regulation of cell differentiation	GO:0045597	60 of 877	2.77301E-09	8.557048104
155	Response to hormone	GO:0009725	59 of 857	3.14912E-09	8.501811242
156	Regulation of protein modification process	GO:0031399	87 of 1545	3.34944E-09	8.475027854
157	Negative regulation of cell adhesion	GO:0007162	31 of 287	3.50636E-09	8.4551434
158	Negative regulation of cellular metabolic process	GO:0031324	113 of 2248	3.61917E-09	8.441391108
159	Cellular response to cytokine stimulus	GO:0071345	57 of 817	3.97374E-09	8.400800351
160	Tube development	GO:0035295	68 of 1076	4.20304E-09	8.37643629
161	Ribosome biogenesis	GO:0042254	32 of 307	4.26753E-09	8.369823838
162	Positive regulation of cell adhesion	GO:0045785	41 of 477	4.40174E-09	8.356375588
163	Regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0050730	29 of 257	4.86594E-09	8.312833395
164	Regulation of phosphorylation	GO:0042325	74 of 1237	6.98444E-09	8.155868329
165	Regulation of biosynthetic process	GO:0009889	177 of 4175	7.05067E-09	8.151769629
166	Negative regulation of nitrogen compound metabolic process	GO:0051172	117 of 2392	7.97157E-09	8.0984561
167	Positive regulation of T cell activation	GO:0050870	28 of 246	8.1489E-09	8.088901141
168	Tube morphogenesis	GO:0035239	58 of 863	1.07815E-08	7.967319495
169	Positive regulation of biosynthetic process	GO:0009891	105 of 2069	1.08758E-08	7.963537042
170	Positive regulation of catalytic activity	GO:0043085	71 of 1176	1.10962E-08	7.954826458
171	Positive regulation of phosphorylation	GO:0042327	56 of 821	1.27487E-08	7.894534241
172	Regulation of cellular biosynthetic process	GO:0031326	174 of 4114	1.28188E-08	7.892151807
173	Protein phosphorylation	GO:0006468	86 of 1567	1.4302E-08	7.84460452
174	Alpha-beta T cell differentiation	GO:0046632	19 of 116	1.43526E-08	7.8430689
175	Regulation of inflammatory response	GO:0050727	34 of 360	1.4503E-08	7.838542578
176	Tissue development	GO:0009888	101 of 1973	1.54086E-08	7.812235664
177	Regulation of response to external stimulus	GO:0032101	61 of 948	1.90568E-08	7.71995074
178	Macromolecule biosynthetic process	GO:0009059	195 of 4801	1.93531E-08	7.713249625
179	Peptide metabolic process	GO:0006518	60 of 926	2.02493E-08	7.693590051
180	Regulation of miRNA transcription	GO:1902893	14 of 60	2.31473E-08	7.635499152
181	Positive regulation of cell migration	GO:0030335	42 of 527	2.38811E-08	7.621945928
182	Regulation of miRNA metabolic process	GO:2000628	15 of 71	2.49323E-08	7.603236937
183	Cell chemotaxis	GO:0060326	31 of 314	2.85025E-08	7.545116962
184	MiRNA transcription	GO:0061614	14 of 61	2.86604E-08	7.54271721
185	Phosphorylation	GO:0016310	96 of 1862	3.01374E-08	7.520893762
186	Positive regulation of protein modification process	GO:0031401	63 of 1010	3.18174E-08	7.497335972
187	Positive regulation of gene expression	GO:0010628	69 of 1158	3.2289E-08	7.490945437
188	Transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway	GO:0007169	46 of 619	3.32526E-08	7.478174091
189	Regulation of kinase activity	GO:0043549	53 of 776	3.39574E-08	7.469065696
190	Positive regulation of cellular biosynthetic process	GO:0031328	102 of 2033	3.46146E-08	7.460740203
191	Cellular response to oxygen-containing compound	GO:1901701	70 of 1186	3.52323E-08	7.453058495
192	Regulation of T cell proliferation	GO:0042129	23 of 182	3.85686E-08	7.413765635
193	Amide biosynthetic process	GO:0043604	58 of 896	3.87034E-08	7.412250471

194	Positive regulation of kinase activity	GO:0033674	40 of 495	3.87034E-08	7.412250471
195	Negative regulation of response to stimulus	GO:0048585	86 of 1604	3.97555E-08	7.400602597
196	Cellular nitrogen compound biosynthetic process	GO:0044271	195 of 4853	4.45332E-08	7.351315762
197	Positive regulation of cell activation	GO:0050867	38 of 457	4.54897E-08	7.342086466
198	Positive regulation of protein kinase activity	GO:0045860	36 of 417	4.56018E-08	7.341017678
199	Regulation of molecular function	GO:0065009	137 of 3055	4.56548E-08	7.340513918
200	Positive regulation of protein metabolic process	GO:0051247	82 of 1504	4.62716E-08	7.334685841
201	Regulation of transferase activity	GO:0051338	58 of 904	5.17235E-08	7.28631186
202	Positive regulation of leukocyte activation	GO:0002696	37 of 441	5.75915E-08	7.239641894
203	Adaptive immune response	GO:0002250	50 of 721	5.84775E-08	7.233011421
204	Myeloid leukocyte activation	GO:0002274	26 of 236	6.02775E-08	7.219844855
205	Biological process involved in interspecies interaction between organisms	GO:0044419	88 of 1675	6.35218E-08	7.197077264
206	MAPK cascade	GO:0000165	52 of 769	6.39282E-08	7.194307618
207	Positive regulation of locomotion	GO:0040017	43 of 570	6.95637E-08	7.157617484
208	Regulation of lymphocyte proliferation	GO:0050670	26 of 238	7.0844E-08	7.149696661
209	Regulation of protein kinase activity	GO:0045859	47 of 661	8.11246E-08	7.090847607
210	Positive regulation of cell motility	GO:2000147	42 of 554	9.18536E-08	7.036903611
211	Regulation of defense response	GO:0031347	45 of 620	9.48537E-08	7.022945835
212	Positive regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	GO:0045935	101 of 2048	9.57265E-08	7.018967758
213	Regulation of macromolecule biosynthetic process	GO:0010556	165 of 3951	9.82786E-08	7.007541229
214	Regulation of mononuclear cell proliferation	GO:0032944	26 of 242	9.82786E-08	7.007541229
215	Regulation of protein phosphorylation	GO:0001932	65 of 1095	1.05669E-07	6.976051987
216	Negative regulation of leukocyte activation	GO:0002695	23 of 193	1.08934E-07	6.962837093
217	Positive regulation of protein phosphorylation	GO:0001934	50 of 743	1.4832E-07	6.828800001
218	Anatomical structure formation involved in morphogenesis	GO:0048646	67 of 1157	1.5776E-07	6.802004381
219	Positive regulation of transferase activity	GO:0051347	43 of 587	1.58454E-07	6.800095459
220	NcRNA metabolic process	GO:0034660	45 of 634	1.80645E-07	6.743175241
221	Negative regulation of cell activation	GO:0050866	24 of 215	1.81061E-07	6.742175223
222	Negative regulation of cell differentiation	GO:0045596	47 of 682	2.05401E-07	6.687397926
223	Regulation of MAP kinase activity	GO:0043405	22 of 184	2.1763E-07	6.662281332
224	Growth	GO:0040007	59 of 972	2.57575E-07	6.589096537
225	Chemotaxis	GO:0006935	44 of 620	2.63755E-07	6.578799184
226	Positive regulation of macromolecule biosynthetic process	GO:0010557	95 of 1925	2.82875E-07	6.548405917
227	Taxis	GO:0042330	44 of 622	2.87768E-07	6.54095824
228	Regulation of MAPK cascade	GO:0043408	46 of 668	2.98689E-07	6.524781295
229	Regulation of catalytic activity	GO:0050790	110 of 2354	3.02936E-07	6.518648652
230	MiRNA metabolic process	GO:0010586	15 of 86	3.22121E-07	6.491980342
231	Protein modification process	GO:0036211	153 of 3649	3.43344E-07	6.464270785
232	Regulation of intracellular signal transduction	GO:1902531	87 of 1714	3.59344E-07	6.444489499
233	Response to biotic stimulus	GO:0009607	81 of 1554	3.88265E-07	6.410871516

234	Organonitrogen compound biosynthetic process	GO:1901566	89 of 1777	4.41616E-07	6.354955418
235	Regulation of localization	GO:0032879	100 of 2089	4.87222E-07	6.312273529
236	Phosphatidylinositol 3-kinase signaling	GO:0014065	19 of 145	4.87989E-07	6.311590395
237	Response to other organism	GO:0051707	79 of 1513	5.4989E-07	6.259724216
238	Positive regulation of intracellular signal transduction	GO:1902533	59 of 995	5.61704E-07	6.250492561
239	Response to external biotic stimulus	GO:0043207	79 of 1516	5.93907E-07	6.226281904
240	Regulation of protein localization	GO:0032880	53 of 850	6.01653E-07	6.220653664
241	RRNA processing	GO:0006364	24 of 230	6.25931E-07	6.20347377
242	Cellular response to lipid	GO:0071396	42 of 595	6.30255E-07	6.20048339
243	Regulation of cellular macromolecule biosynthetic process	GO:2000112	37 of 490	7.94666E-07	6.099815213
244	Activation of immune response	GO:0002253	32 of 386	8.13906E-07	6.089425598
245	Regulation of cellular localization	GO:0060341	57 of 959	8.91648E-07	6.049806556
246	Peptide biosynthetic process	GO:0043043	49 of 765	8.99693E-07	6.045905588
247	Positive regulation of miRNA transcription	GO:1902895	11 of 46	9.0411E-07	6.043778795
248	Cellular response to endogenous stimulus	GO:0071495	72 of 1348	9.90439E-07	6.004172253
249	Immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway	GO:0002768	29 of 331	1.08031E-06	5.966453152
250	Positive regulation of RNA metabolic process	GO:0051254	90 of 1842	1.08031E-06	5.966453152
251	Negative regulation of leukocyte cell-cell adhesion	GO:1903038	18 of 138	1.17379E-06	5.930409066
252	Regulation of anatomical structure morphogenesis	GO:0022603	55 of 919	1.22304E-06	5.912558828
253	Positive regulation of lymphocyte activation	GO:0051251	32 of 394	1.26864E-06	5.896661814
254	Cellular macromolecule metabolic process	GO:0044260	137 of 3234	1.33832E-06	5.873439406
255	Regulation of alpha-beta T cell differentiation	GO:0046637	13 of 71	1.52509E-06	5.816705701
256	Embryonic morphogenesis	GO:0048598	42 of 616	1.57145E-06	5.803698556
257	Blood vessel morphogenesis	GO:0048514	42 of 616	1.57145E-06	5.803698556
258	Peptidyl-amino acid modification	GO:0018193	69 of 1286	1.59376E-06	5.797576698
259	Cellular response to hormone stimulus	GO:0032870	41 of 595	1.68918E-06	5.772324225
260	Positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0050731	21 of 191	1.79476E-06	5.745993477
261	Translation	GO:0006412	47 of 736	1.79604E-06	5.745683712
262	Negative regulation of T cell activation	GO:0050868	17 of 127	1.81207E-06	5.741826096
263	Negative regulation of cell-cell adhesion	GO:0022408	21 of 192	1.94227E-06	5.711691195
264	Regulation of alpha-beta T cell activation	GO:0046634	16 of 113	1.96448E-06	5.706753022
265	Ribosomal large subunit biogenesis	GO:0042273	13 of 73	2.07279E-06	5.683445152
266	Phosphatidylinositol-mediated signaling	GO:0048015	20 of 176	2.07949E-06	5.682043262
267	CD4-positive alpha-beta T cell activation	GO:0035710	16 of 114	2.20334E-06	5.656918223
268	Negative regulation of protein metabolic process	GO:0051248	59 of 1039	2.26812E-06	5.64433345
269	Immune response-regulating signaling pathway	GO:0002764	36 of 491	2.3191E-06	5.634680081
270	Myeloid cell differentiation	GO:0030099	32 of 406	2.37821E-06	5.623748976
271	CD4-positive alpha-beta T cell differentiation	GO:0043367	14 of 87	2.4357E-06	5.613375849
272	RRNA metabolic process	GO:0016072	25 of 268	2.59938E-06	5.585129941
273	Negative regulation of lymphocyte activation	GO:0051250	19 of 163	2.8467E-06	5.545657663

274	Inositol lipid-mediated signaling	GO:0048017	20 of 180	2.9343E-06	5.53249591
275	Macromolecule modification	GO:0043412	156 of 3874	2.96538E-06	5.527919861
276	Positive regulation of miRNA metabolic process	GO:2000630	11 of 52	3.15812E-06	5.500571317
277	Positive regulation of cytokine production	GO:0001819	35 of 477	3.3477E-06	5.475253308
278	Regulation of cellular component organization	GO:0051128	106 of 2355	3.3714E-06	5.472190153
279	Regulation of protein transport	GO:0051223	36 of 501	3.67839E-06	5.434342754
280	Negative regulation of metabolic process	GO:0009892	146 of 3575	3.76539E-06	5.424190407
281	Regulation of cytokine production	GO:0001817	46 of 733	3.83533E-06	5.416197493
282	Vasculature development	GO:0001944	46 of 734	3.97478E-06	5.400687345
283	Regulation of establishment of protein localization	GO:0070201	37 of 526	4.12684E-06	5.384382709
284	Angiogenesis	GO:0001525	37 of 526	4.12684E-06	5.384382709
285	Positive regulation of MAPK cascade	GO:0043410	35 of 483	4.39564E-06	5.35697789
286	Leukocyte chemotaxis	GO:0030595	23 of 239	4.56133E-06	5.34090857
287	Cellular macromolecule biosynthetic process	GO:0034645	64 of 1193	4.56133E-06	5.34090857
288	Regulation of CD4-positive alpha-beta T cell differentiation	GO:0043370	11 of 54	4.56482E-06	5.340576605
289	Negative regulation of leukocyte differentiation	GO:1902106	15 of 106	4.61594E-06	5.335739576
290	Cytokine production	GO:0001816	46 of 739	4.69716E-06	5.328164874
291	Second-messenger-mediated signaling	GO:0019932	27 of 317	4.84488E-06	5.314717302
292	Developmental growth	GO:0048589	42 of 646	5.07961E-06	5.294169651
293	Mononuclear cell migration	GO:0071674	21 of 205	5.34622E-06	5.27195299
294	Regulation of cellular amide metabolic process	GO:0034248	34 of 466	5.452E-06	5.263444245
295	Lymphocyte migration	GO:0072676	16 of 123	5.83545E-06	5.233925948
296	Immune response-activating signal transduction	GO:0002757	26 of 302	6.47688E-06	5.188634232
297	Immune response-activating cell surface receptor signaling pathway	GO:0002429	26 of 302	6.47688E-06	5.188634232
298	Leukocyte degranulation	GO:0043299	13 of 81	6.56905E-06	5.182497428
299	Regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	GO:0019219	161 of 4088	6.73871E-06	5.171423404
300	Positive regulation of nucleic acid-templated transcription	GO:1903508	82 of 1703	7.23291E-06	5.140686874
301	Negative regulation of hemopoiesis	GO:1903707	15 of 110	7.23291E-06	5.140686874
302	Myeloid leukocyte mediated immunity	GO:0002444	15 of 110	7.23291E-06	5.140686874
303	Blood vessel development	GO:0001568	44 of 703	7.23291E-06	5.140686874
304	Positive regulation of DNA-templated transcription	GO:0045893	82 of 1703	7.23291E-06	5.140686874
305	Multicellular organismal homeostasis	GO:0048871	37 of 542	8.05362E-06	5.094009116
306	Positive regulation of RNA biosynthetic process	GO:1902680	82 of 1709	8.30333E-06	5.080747848
307	Positive regulation of transcription by RNA polymerase II	GO:0045944	65 of 1243	8.43766E-06	5.073777877
308	Myeloid cell activation involved in immune response	GO:0002275	14 of 97	8.62694E-06	5.064143229
309	Regulation of fatty acid oxidation	GO:0046320	9 of 36	8.70393E-06	5.060284846
310	Positive regulation of transport	GO:0051050	52 of 908	9.28071E-06	5.032418994
311	Regulation of system process	GO:0044057	38 of 569	9.46261E-06	5.02398916
312	Cytokine-mediated signaling pathway	GO:0019221	34 of 479	9.72707E-06	5.012018104
313	Response to nitrogen compound	GO:1901698	60 of 1117	9.98761E-06	5.000538384
314	Ossification	GO:0001503	31 of 415	1.05107E-05	4.978367862
315	Regulation of gene expression	GO:0010468	203 of 5494	1.05107E-05	4.978367862

316	Positive regulation of smooth muscle cell migration	GO:0014911	9 of 37	1.09762E-05	4.959546685
317	Negative regulation of T cell proliferation	GO:0042130	12 of 72	1.16189E-05	4.934836775
318	Negative regulation of inflammatory response	GO:0050728	17 of 147	1.26947E-05	4.896378072
319	Regulation of growth	GO:0040008	42 of 671	1.27597E-05	4.894158191
320	Positive regulation of leukocyte proliferation	GO:0070665	18 of 164	1.29129E-05	4.888975667
321	Positive regulation of immune effector process	GO:0002699	23 of 255	1.29404E-05	4.888053874
322	Blood circulation	GO:0008015	35 of 509	1.34196E-05	4.872259161
323	Myeloid leukocyte differentiation	GO:0002573	21 of 218	1.35004E-05	4.869652419
324	Production of molecular mediator of immune response	GO:0002440	21 of 218	1.35004E-05	4.869652419
325	Cell killing	GO:0001906	19 of 182	1.35186E-05	4.869066962
326	Ribosome assembly	GO:0042255	11 of 61	1.47775E-05	4.830398464
327	Muscle cell proliferation	GO:0033002	20 of 201	1.47775E-05	4.830398464
328	Response to organonitrogen compound	GO:0010243	56 of 1028	1.52712E-05	4.816125883
329	Myeloid leukocyte migration	GO:0097529	22 of 240	1.68489E-05	4.773428449
330	Cellular response to tumor necrosis factor	GO:0071356	21 of 222	1.78736E-05	4.747787343
331	Erythrocyte homeostasis	GO:0034101	16 of 135	1.87426E-05	4.727169195
332	Cell-cell signaling	GO:0007267	79 of 1663	1.90513E-05	4.720074766
333	B cell proliferation	GO:0042100	14 of 104	1.90513E-05	4.720074766
334	Myeloid cell homeostasis	GO:0002262	18 of 169	1.92878E-05	4.714718011
335	Regulation of protein serine/threonine kinase activity	GO:0071900	29 of 385	1.95524E-05	4.708800613
336	Positive regulation of alpha-beta T cell differentiation	GO:0046638	10 of 51	2.05932E-05	4.686275665
337	Antigen receptor-mediated signaling pathway	GO:0050851	22 of 244	2.17411E-05	4.662718911
338	Regulation of CD4-positive alpha-beta T cell activation	GO:2000514	12 of 77	2.30244E-05	4.637811541
339	Circulatory system process	GO:0003013	38 of 594	2.48286E-05	4.605048422
340	T cell differentiation involved in immune response	GO:0002292	12 of 78	2.63879E-05	4.578594812
341	Cellular process	GO:0009987	554 of 19221	2.65088E-05	4.576610604
342	Regulation of hydrolase activity	GO:0051336	54 of 996	2.70091E-05	4.568489249
343	Regulation of angiogenesis	GO:0045765	24 of 288	2.87484E-05	4.54138685
344	Regulation of leukocyte migration	GO:0002685	21 of 230	3.04055E-05	4.517048422
345	Negative regulation of defense response	GO:0031348	21 of 230	3.04055E-05	4.517048422
346	Primary metabolic process	GO:0044238	401 of 12718	3.10685E-05	4.507679338
347	Embryo development	GO:0009790	59 of 1135	3.24775E-05	4.488417937
348	Negative regulation of cell communication	GO:0010648	67 of 1352	3.24775E-05	4.488417937
349	Regulation of protein tyrosine kinase activity	GO:0061097	13 of 94	3.2554E-05	4.487395468
350	T-helper 2 cell differentiation	GO:0045064	6 of 15	3.25716E-05	4.487161313
351	Phagocytosis	GO:0006909	25 of 311	3.28151E-05	4.483926049
352	Lipid metabolic process	GO:0006629	69 of 1409	3.35737E-05	4.474000425
353	Regulation of transport	GO:0051049	81 of 1750	3.55239E-05	4.449479454
354	Regulation of vasculature development	GO:1901342	24 of 292	3.55239E-05	4.449479454
355	Regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling	GO:0014066	14 of 110	3.55239E-05	4.449479454
356	Negative regulation of signaling	GO:0023057	67 of 1357	3.58177E-05	4.44590192
357	Regulation of osteoblast differentiation	GO:0045667	15 of 126	3.58177E-05	4.44590192

358	Erythrocyte differentiation	GO:0030218	15 of 126	3.58177E-05	4.44590192
359	Cellular lipid metabolic process	GO:0044255	54 of 1008	3.68505E-05	4.433556303
360	Muscle cell differentiation	GO:0042692	28 of 377	3.6871E-05	4.433315097
361	Regulation of nucleocytoplasmic transport	GO:0046822	14 of 111	3.8989E-05	4.409057851
362	Positive regulation of cell death	GO:0010942	37 of 584	4.03541E-05	4.39411217
363	Negative regulation of macromolecule biosynthetic process	GO:0010558	73 of 1530	4.08309E-05	4.389011156
364	Positive regulation of CD4-positive alpha-beta T cell differentiation	GO:0043372	8 of 33	4.27678E-05	4.368883061
365	Negative regulation of cellular biosynthetic process	GO:0031327	75 of 1589	4.31249E-05	4.365271918
366	Negative regulation of leukocyte proliferation	GO:0070664	13 of 97	4.45767E-05	4.350891767
367	Cell-matrix adhesion	GO:0007160	21 of 237	4.62346E-05	4.335032942
368	CD4-positive alpha-beta T cell differentiation involved in immune response	GO:0002294	11 of 69	4.7001E-05	4.327892701
369	Smooth muscle cell proliferation	GO:0048659	16 of 146	4.80079E-05	4.318687335
370	Cellular response to chemokine	GO:1990869	13 of 98	4.94554E-05	4.305786651
371	Response to chemokine	GO:1990868	13 of 98	4.94554E-05	4.305786651
372	Urogenital system development	GO:0001655	27 of 363	5.28797E-05	4.276711287
373	Alpha-beta T cell activation involved in immune response	GO:0002287	11 of 70	5.35331E-05	4.271377384
374	Alpha-beta T cell differentiation involved in immune response	GO:0002293	11 of 70	5.35331E-05	4.271377384
375	Fc receptor signaling pathway	GO:0038093	10 of 57	5.38297E-05	4.268977964
376	Response to peptide hormone	GO:0043434	29 of 408	5.55329E-05	4.255449714
377	Positive regulation of hydrolase activity	GO:0051345	36 of 571	5.95049E-05	4.225447049
378	Positive regulation of alpha-beta T cell activation	GO:0046635	11 of 71	6.11511E-05	4.213595522
379	Response to tumor necrosis factor	GO:0034612	21 of 242	6.23508E-05	4.205158168
380	Positive regulation of protein tyrosine kinase activity	GO:0061098	10 of 58	6.26353E-05	4.203180876
381	Negative regulation of macromolecule metabolic process	GO:0010605	133 of 3357	6.3356E-05	4.198211963
382	Lymphocyte activation involved in immune response	GO:0002285	19 of 204	6.42638E-05	4.192033919
383	Carboxylic acid metabolic process	GO:0019752	50 of 925	6.59284E-05	4.180927248
384	Regulation of production of molecular mediator of immune response	GO:0002700	18 of 186	6.70219E-05	4.173782956
385	Columnar/cuboidal epithelial cell differentiation	GO:0002065	14 of 117	6.88387E-05	4.162167585
386	Establishment of cell polarity	GO:0030010	16 of 151	7.14365E-05	4.146080001
387	Nervous system development	GO:0007399	105 of 2504	7.86466E-05	4.104320229
388	Negative regulation of biosynthetic process	GO:0009890	75 of 1619	7.98646E-05	4.097645728
389	Negative regulation of angiogenesis	GO:0016525	13 of 103	8.2961E-05	4.081126144
390	Negative regulation of lymphocyte proliferation	GO:0050672	12 of 88	8.49047E-05	4.071068055
391	Cellular metabolic process	GO:0044237	384 of 12169	8.50861E-05	4.070141564
392	Osteoblast differentiation	GO:0001649	20 of 228	8.72447E-05	4.059260759
393	Negative regulation of DNA-templated transcription	GO:0045892	64 of 1314	8.81499E-05	4.054778125
394	Granulocyte activation	GO:0036230	9 of 48	9.08229E-05	4.041804405
395	Negative regulation of blood vessel morphogenesis	GO:2000181	13 of 104	9.08489E-05	4.041680478
396	Positive regulation of T cell proliferation	GO:0042102	13 of 104	9.08489E-05	4.041680478
397	Negative regulation of nucleic acid-templated transcription	GO:1903507	64 of 1316	9.16402E-05	4.037913827

398	Response to peptide	GO:1901652	32 of 489	9.30002E-05	4.03151597
399	Negative regulation of mononuclear cell proliferation	GO:0032945	12 of 89	9.3343E-05	4.029918087
400	Chemokine-mediated signaling pathway	GO:0070098	12 of 89	9.3343E-05	4.029918087
401	Negative regulation of RNA biosynthetic process	GO:1902679	64 of 1318	9.52634E-05	4.021073978
402	Protein autophosphorylation	GO:0046777	20 of 230	9.68183E-05	4.014042565
403	Regulation of intracellular protein transport	GO:0033157	20 of 230	9.68183E-05	4.014042565
404	Positive regulation of morphogenesis of an epithelium	GO:1905332	8 of 37	9.7321E-05	4.01179342
405	Negative regulation of vasculature development	GO:1901343	13 of 105	9.88922E-05	4.004838098
406	Calcium-mediated signaling	GO:0019722	19 of 211	9.90795E-05	4.00401619
407	Ribosomal large subunit assembly	GO:0000027	7 of 27	0.000102493	3.989307048
408	Dendritic cell chemotaxis	GO:0002407	7 of 27	0.000102493	3.989307048
409	Regulation of RNA metabolic process	GO:0051252	145 of 3775	0.000102493	3.989307048
410	Regulation of fatty acid metabolic process	GO:0019217	12 of 90	0.000102507	3.989246313
411	Epithelial cell differentiation	GO:0030855	41 of 711	0.000103829	3.983681939
412	Negative regulation of leukocyte migration	GO:0002686	9 of 49	0.000103845	3.983615021
413	Adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	GO:0002460	26 of 357	0.000106102	3.974276347
414	Regulation of protein import into nucleus	GO:0042306	10 of 62	0.000107414	3.968939427
415	Response to organic cyclic compound	GO:0014070	49 of 918	0.000107524	3.968495333
416	Negative regulation of signal transduction	GO:0009968	61 of 1243	0.000111909	3.95113555
417	Regulation of leukocyte mediated immunity	GO:0002703	20 of 233	0.000113671	3.944351929
418	Defense response to other organism	GO:0098542	58 of 1163	0.000118229	3.927275408
419	Muscle tissue development	GO:0060537	28 of 404	0.000118567	3.926035554
420	Regulation of intracellular transport	GO:0032386	25 of 338	0.000120033	3.920700304
421	Establishment or maintenance of cell polarity	GO:0007163	20 of 234	0.00012004	3.92067344
422	Cellular response to stress	GO:0033554	85 of 1934	0.000122939	3.910308786
423	Ribosomal small subunit biogenesis	GO:0042274	11 of 77	0.000123004	3.910080868
424	Negative regulation of locomotion	GO:0040013	25 of 339	0.000125147	3.902579232
425	Fat cell differentiation	GO:0045444	20 of 235	0.000126728	3.897127813
426	Oxoacid metabolic process	GO:0043436	50 of 951	0.000126885	3.896591392
427	Branch elongation of an epithelium	GO:0060602	6 of 19	0.000131528	3.880983408
428	Negative regulation of miRNA transcription	GO:1902894	6 of 19	0.000131528	3.880983408
429	Regulation of smooth muscle cell proliferation	GO:0048660	15 of 142	0.000132788	3.876840156
430	Regulation of translation	GO:0006417	28 of 407	0.000132788	3.876840156
431	Heterocycle biosynthetic process	GO:0018130	155 of 4122	0.000135815	3.867052352
432	Protein kinase B signaling	GO:0043491	18 of 198	0.000143064	3.844468923
433	Organic acid metabolic process	GO:0006082	50 of 958	0.000152173	3.817661301
434	Negative regulation of response to external stimulus	GO:0032102	27 of 388	0.000154713	3.810472125
435	Positive regulation of lymphocyte proliferation	GO:0050671	15 of 144	0.000155707	3.80769252
436	Axis elongation	GO:0003401	7 of 29	0.000161154	3.792757575
437	Regulation of morphogenesis of a branching structure	GO:0060688	9 of 52	0.000162126	3.790146424

438	Chemical homeostasis	GO:0048878	53 of 1041	0.000162126	3.790146424
439	Regulation of anatomical structure size	GO:0090066	32 of 505	0.000162126	3.790146424
440	Retinol metabolic process	GO:0042572	9 of 52	0.000162126	3.790146424
441	Organic hydroxy compound metabolic process	GO:1901615	34 of 553	0.000162454	3.789270645
442	Positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling	GO:0014068	11 of 80	0.000171454	3.765852748
443	Morphogenesis of a branching structure	GO:0001763	18 of 201	0.000171661	3.765328052
444	Epithelium development	GO:0060429	59 of 1208	0.000172533	3.763128108
445	Negative regulation of cell motility	GO:2000146	23 of 303	0.000172533	3.763128108
446	Monocarboxylic acid metabolic process	GO:0032787	36 of 604	0.000174501	3.758201259
447	Negative regulation of miRNA metabolic process	GO:2000629	6 of 20	0.000175766	3.75506391
448	Regulation of phospholipase activity	GO:0010517	10 of 66	0.000176624	3.752950336
449	Regulation of B cell activation	GO:0050864	18 of 202	0.000181312	3.741574599
450	Nucleobase-containing compound biosynthetic process	GO:0034654	152 of 4049	0.000181815	3.740369694
451	Lymphocyte mediated immunity	GO:0002449	25 of 348	0.000184613	3.733738552
452	Muscle structure development	GO:0061061	38 of 656	0.000187232	3.72762091
453	Organic cyclic compound biosynthetic process	GO:1901362	159 of 4280	0.000187422	3.727180288
454	Cell fate commitment	GO:0045165	22 of 284	0.000190203	3.720781526
455	Positive regulation of mononuclear cell proliferation	GO:0032946	15 of 147	0.000191182	3.718552085
456	Regulation of DNA-templated transcription	GO:0006355	134 of 3474	0.000191588	3.717631621
457	Regulation of nucleic acid-templated transcription	GO:1903506	134 of 3475	0.00019396	3.712288312
458	T-helper cell differentiation	GO:0042093	10 of 67	0.000198173	3.702954782
459	Negative regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	GO:0045934	71 of 1554	0.000198586	3.702051022
460	NcRNA processing	GO:0034470	29 of 441	0.000202087	3.694462436
461	Export from cell	GO:0140352	46 of 866	0.000211834	3.674005204
462	Regulation of RNA biosynthetic process	GO:2001141	134 of 3484	0.00021847	3.660608659
463	Positive regulation of CD4-positive alpha-beta T cell activation	GO:2000516	8 of 42	0.000228747	3.640645522
464	Neutrophil activation	GO:0042119	8 of 42	0.000228747	3.640645522
465	Regulation of T-helper cell differentiation	GO:0045622	8 of 42	0.000228747	3.640645522
466	Regulation of phospholipase C activity	GO:1900274	8 of 42	0.000228747	3.640645522
467	T cell receptor signaling pathway	GO:0050852	14 of 132	0.000231953	3.634600771
468	Retinoid metabolic process	GO:0001523	11 of 83	0.000231953	3.634600771
469	Morphogenesis of a branching epithelium	GO:0061138	17 of 187	0.000232696	3.633210441
470	Gamma-delta T cell differentiation	GO:0042492	5 of 13	0.000236974	3.625299294
471	Negative regulation of MAPK cascade	GO:0043409	16 of 169	0.000247325	3.606732172
472	T cell activation involved in immune response	GO:0002286	13 of 116	0.000254446	3.594404597
473	Wnt signaling pathway	GO:0016055	29 of 448	0.000263011	3.580026381
474	Catabolic process	GO:0009056	105 of 2587	0.000263011	3.580026381
475	Positive regulation of gamma-delta T cell differentiation	GO:0045588	4 of 7	0.000263011	3.580026381
476	Negative regulation of fibroblast apoptotic process	GO:2000270	4 of 7	0.000263011	3.580026381

477	Bud elongation involved in lung branching	GO:0060449	4 of 7	0.000263011	3.580026381
478	Negative regulation of RNA metabolic process	GO:0051253	66 of 1427	0.000270264	3.568212378
479	Cell-cell signaling by wnt	GO:0198738	29 of 450	0.000282671	3.548718084
480	Positive regulation of smooth muscle cell proliferation	GO:0048661	11 of 85	0.000284283	3.546248461
481	Cell-substrate junction organization	GO:0150115	12 of 101	0.000289692	3.538064054
482	Positive regulation of thyroid hormone mediated signaling pathway	GO:0002157	3 of 3	0.000292305	3.534164102
483	Ameboidal-type cell migration	GO:0001667	28 of 428	0.000296922	3.527357519
484	Integrin-mediated signaling pathway	GO:0007229	13 of 118	0.000298522	3.5250241
485	Muscle system process	GO:0003012	28 of 429	0.000307766	3.511779817
486	Regulation of cell growth	GO:0001558	28 of 429	0.000307766	3.511779817
487	Diterpenoid metabolic process	GO:0016101	11 of 86	0.000312849	3.504665523
488	Hematopoietic progenitor cell differentiation	GO:0002244	14 of 136	0.000312849	3.504665523
489	Aromatic compound biosynthetic process	GO:0019438	153 of 4133	0.000331644	3.479327883
490	Cell surface receptor signaling pathway involved in cell-cell signaling	GO:1905114	33 of 551	0.000334458	3.475657885
491	Regulation of lipid metabolic process	GO:0019216	24 of 340	0.00033624	3.473350865
492	Muscle cell migration	GO:0014812	11 of 87	0.000346594	3.46017878
493	Olefinic compound metabolic process	GO:0120254	15 of 156	0.000358321	3.445728159
494	Branching morphogenesis of an epithelial tube	GO:0048754	15 of 156	0.000358321	3.445728159
495	Neuron death	GO:0070997	25 of 364	0.000358656	3.445321448
496	Cellular ketone metabolic process	GO:0042180	18 of 214	0.000358656	3.445321448
497	Negative regulation of MAP kinase activity	GO:0043407	9 of 58	0.00035871	3.445256524
498	Secretion by cell	GO:0032940	43 of 808	0.000359299	3.444544491
499	Cell-substrate adhesion	GO:0031589	25 of 365	0.000372405	3.428984373
500	Renal system development	GO:0072001	23 of 321	0.000384676	3.414904585
501	DNA-templated transcription	GO:0006351	136 of 3595	0.000388688	3.410398708
502	Nucleic acid-templated transcription	GO:0097659	136 of 3596	0.000393257	3.405323811
503	Immunoglobulin production	GO:0002377	12 of 105	0.000410868	3.38629796
504	Negative regulation of molecular function	GO:0044092	54 of 1111	0.000417662	3.379174739
505	ERK1 and ERK2 cascade	GO:0070371	23 of 323	0.000418963	3.377823933
506	Epithelial cell migration	GO:0010631	22 of 301	0.000418963	3.377823933
507	Dendritic cell migration	GO:0036336	7 of 34	0.000423488	3.373158811
508	Fc receptor mediated stimulatory signaling pathway	GO:0002431	7 of 34	0.000423488	3.373158811
509	Organ growth	GO:0035265	15 of 159	0.000433676	3.362834995
510	Temperature homeostasis	GO:0001659	16 of 178	0.000433676	3.362834995
511	Smooth muscle cell migration	GO:0014909	10 of 74	0.000433676	3.362834995
512	Regulation of cellular component size	GO:0032535	25 of 369	0.000434657	3.361853686
513	Endothelial cell migration	GO:0043542	18 of 218	0.000443747	3.352864932
514	Negative regulation of phosphate metabolic process	GO:0045936	27 of 417	0.00046739	3.330320788
515	ERBB2-EGFR signaling pathway	GO:0038134	4 of 8	0.00047482	3.32347059
516	Positive regulation of gamma-delta T cell activation	GO:0046645	4 of 8	0.00047482	3.32347059
517	Type I pneumocyte differentiation	GO:0060509	4 of 8	0.00047482	3.32347059
518	Epithelium migration	GO:0090132	22 of 304	0.000475033	3.323276447

519	Negative regulation of fatty acid oxidation	GO:0046322	5 of 15	0.00047851	3.320108882
520	Regulation of immunoglobulin production	GO:0002637	10 of 75	0.00047988	3.318867604
521	Negative regulation of phosphorus metabolic process	GO:0010563	27 of 418	0.000480583	3.318231985
522	Negative regulation of osteoblast differentiation	GO:0045668	8 of 47	0.000482567	3.316442096
523	RNA biosynthetic process	GO:0032774	136 of 3615	0.00048839	3.311233537
524	Fc-gamma receptor signaling pathway	GO:0038094	7 of 35	0.000501198	3.299990954
525	Formation of primary germ layer	GO:0001704	13 of 125	0.000509193	3.293117517
526	Smooth muscle cell differentiation	GO:0051145	9 of 61	0.000512896	3.289970544
527	Animal organ morphogenesis	GO:0009887	52 of 1066	0.000512896	3.289970544
528	Positive regulation of programmed cell death	GO:0043068	31 of 517	0.000534438	3.272102613
529	Cellular response to nitrogen compound	GO:1901699	38 of 694	0.00054819	3.261069237
530	Sulfur compound biosynthetic process	GO:0044272	14 of 145	0.000589691	3.229375857
531	Negative regulation of cell migration	GO:0030336	21 of 287	0.000591141	3.228308722
532	Regulation of hormone levels	GO:0010817	31 of 520	0.000591141	3.228308722
533	Leukocyte mediated cytotoxicity	GO:0001909	13 of 127	0.000592887	3.227027774
534	Renal system process involved in regulation of systemic arterial blood pressure	GO:0003071	6 of 25	0.000598437	3.222981258
535	Tissue migration	GO:0090130	22 of 310	0.000616907	3.209780085
536	Cell growth	GO:0016049	30 of 497	0.000617756	3.209182907
537	Negative regulation of immune response	GO:0050777	16 of 184	0.000617756	3.209182907
538	Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration	GO:0007204	17 of 204	0.000619627	3.207869924
539	Negative regulation of protein modification process	GO:0031400	30 of 498	0.000638461	3.194865561
540	Organic substance catabolic process	GO:1901575	88 of 2128	0.000644514	3.190767477
541	Positive regulation of nucleocytoplasmic transport	GO:0046824	9 of 63	0.00064892	3.187808692
542	Cellular modified amino acid metabolic process	GO:0006575	16 of 185	0.000653369	3.184841605
543	Kidney development	GO:0001822	22 of 312	0.000668997	3.174575741
544	Negative regulation of growth	GO:0045926	19 of 247	0.000673031	3.171964699
545	Stem cell differentiation	GO:0048863	19 of 247	0.000673031	3.171964699
546	Response to growth factor	GO:0070848	38 of 702	0.000677541	3.169064456
547	Morphogenesis of an epithelium	GO:0002009	31 of 525	0.000687097	3.162981824
548	Secretion	GO:0046903	47 of 943	0.000701145	3.154192403
549	Localization	GO:0051179	193 of 5540	0.00070254	3.15332894
550	Innate immune response	GO:0045087	46 of 916	0.00070254	3.15332894
551	Positive regulation of epithelial cell migration	GO:0010634	14 of 148	0.000705992	3.151200055
552	Tumor necrosis factor superfamily cytokine production	GO:0071706	15 of 167	0.000705992	3.151200055
553	Regulation of protein kinase B signaling	GO:0051896	15 of 167	0.000705992	3.151200055
554	Cell-substrate junction assembly	GO:0007044	11 of 95	0.000705992	3.151200055
555	Regulation of tumor necrosis factor superfamily cytokine production	GO:1903555	15 of 167	0.000705992	3.151200055
556	Positive regulation of interleukin-4 production	GO:0032753	6 of 26	0.000730029	3.136659922
557	Epithelial tube morphogenesis	GO:0060562	23 of 338	0.000766912	3.115254515
558	Positive regulation of protein kinase B signaling	GO:0051897	12 of 113	0.000768399	3.114413355

559	Negative regulation of phosphorylation	GO:0042326	24 of 361	0.000768399	3.114413355
560	Negative regulation of T cell mediated cytotoxicity	GO:0001915	4 of 9	0.000769242	3.113937243
561	Regulation of gamma-delta T cell differentiation	GO:0045586	4 of 9	0.000769242	3.113937243
562	Cell morphogenesis	GO:0000902	50 of 1030	0.000769242	3.113937243
563	Positive regulation of establishment of protein localization	GO:1904951	22 of 316	0.00077941	3.108233918
564	Positive regulation of apoptotic process	GO:0043065	30 of 505	0.000786003	3.104575748
565	Regulation of morphogenesis of an epithelium	GO:1905330	9 of 65	0.000799608	3.097122723
566	Type 2 immune response	GO:0042092	7 of 38	0.000811207	3.090868342
567	Negative regulation of catalytic activity	GO:0043086	40 of 762	0.000814569	3.089072095
568	T cell selection	GO:0045058	8 of 51	0.000814569	3.089072095
569	Lung morphogenesis	GO:0060425	8 of 51	0.000814569	3.089072095
570	Positive regulation of production of molecular mediator of immune response	GO:0002702	13 of 132	0.000828349	3.081786658
571	Regulation of cell killing	GO:0031341	11 of 97	0.000828349	3.081786658
572	Terpenoid metabolic process	GO:0006721	11 of 97	0.000828349	3.081786658
573	Connective tissue development	GO:0061448	20 of 274	0.000853337	3.06887957
574	Ribosomal small subunit assembly	GO:0000028	5 of 17	0.000853337	3.06887957
575	Positive regulation of protein localization	GO:1903829	28 of 459	0.000855031	3.068017912
576	Regulation of smooth muscle cell migration	GO:0014910	9 of 66	0.000878422	3.056296979
577	Immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway involved in phagocytosis	GO:0002433	6 of 27	0.000878422	3.056296979
578	Response to interleukin-1	GO:0070555	13 of 133	0.000878422	3.056296979
579	Superoxide metabolic process	GO:0006801	9 of 66	0.000878422	3.056296979
580	Insulin receptor signaling pathway	GO:0008286	12 of 115	0.000878422	3.056296979
581	Positive regulation of MAP kinase activity	GO:0043406	12 of 115	0.000878422	3.056296979
582	Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis	GO:0038096	6 of 27	0.000878422	3.056296979
583	Positive regulation of cold-induced thermogenesis	GO:0120162	11 of 98	0.000893299	3.04900306
584	Positive regulation of lipid metabolic process	GO:0045834	14 of 152	0.00089724	3.04709121
585	Regulation of developmental growth	GO:0048638	22 of 320	0.000902689	3.044461659
586	Regulation of DNA-binding transcription factor activity	GO:0051090	27 of 437	0.000909636	3.041132181
587	Small molecule biosynthetic process	GO:0044283	32 of 561	0.000935387	3.029008552
588	Negative regulation of neurotrophin TRK receptor signaling pathway	GO:0051387	3 of 4	0.000935833	3.028801642
589	Positive regulation of mast cell cytokine production	GO:0032765	3 of 4	0.000935833	3.028801642
590	Regulation of adaptive immune response	GO:0002819	16 of 192	0.000935833	3.028801642
591	Cellular response to organonitrogen compound	GO:0071417	35 of 638	0.000946783	3.023749483
592	B cell differentiation	GO:0030183	14 of 153	0.000950345	3.02211849
593	Positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade	GO:0070374	17 of 213	0.000962723	3.016498835
594	Regulation of muscle system process	GO:0090257	18 of 234	0.000964837	3.015546024
595	Regulation of B cell proliferation	GO:0030888	9 of 67	0.000966054	3.014998564
596	Somatic stem cell population maintenance	GO:0035019	9 of 67	0.000966054	3.014998564
597	Positive regulation of protein transport	GO:0051222	21 of 300	0.000992701	3.003181603

598	Cellular homeostasis	GO:0019725	40 of 772	0.001022675	2.990262426
599	Mast cell degranulation	GO:0043303	8 of 53	0.001026705	2.988554168
600	Ureteric bud development	GO:0001657	11 of 100	0.001044676	2.981018202
601	Mast cell activation	GO:0045576	9 of 68	0.001076008	2.96818449
602	Positive regulation of phospholipase C activity	GO:0010863	7 of 40	0.001076008	2.96818449
603	Organic substance metabolic process	GO:0071704	422 of 13929	0.001088097	2.963332484
604	Activation of transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity	GO:0007171	5 of 18	0.001094548	2.960765227
605	Regulation of small molecule metabolic process	GO:0062012	22 of 325	0.001094548	2.960765227
606	JNK cascade	GO:0007254	15 of 175	0.001101617	2.957969325
607	Mesonephric tubule development	GO:0072164	11 of 101	0.001128922	2.947335911
608	Mesonephric epithelium development	GO:0072163	11 of 101	0.001128922	2.947335911
609	Epithelial to mesenchymal transition	GO:0001837	14 of 156	0.001139072	2.943448931
610	Regulation of gamma-delta T cell activation	GO:0046643	4 of 10	0.001155669	2.937166699
611	Mesenchymal cell differentiation	GO:0048762	18 of 238	0.001162469	2.934618692
612	Small molecule metabolic process	GO:0044281	77 of 1837	0.001162469	2.934618692
613	Skeletal system development	GO:0001501	31 of 544	0.001175225	2.92987881
614	Regulation of cell-substrate junction organization	GO:0150116	9 of 69	0.001184273	2.926548199
615	Vacuolar localization	GO:1990849	10 of 85	0.001194567	2.922789619
616	Cellular response to growth factor stimulus	GO:0071363	36 of 673	0.001194567	2.922789619
617	Lysosome localization	GO:0032418	10 of 85	0.001194567	2.922789619
618	Focal adhesion assembly	GO:0048041	10 of 85	0.001194567	2.922789619
619	Cellular hormone metabolic process	GO:0034754	13 of 138	0.001206075	2.918625692
620	Stress-activated MAPK cascade	GO:0051403	18 of 239	0.001210157	2.91715843
621	Response to abiotic stimulus	GO:0009628	53 of 1138	0.001215142	2.915372901
622	Positive regulation of protein import into nucleus	GO:0042307	7 of 41	0.001225072	2.911838435
623	Negative regulation of immune effector process	GO:0002698	12 of 120	0.001237834	2.907337531
624	Epithelial tube branching involved in lung morphogenesis	GO:0060441	6 of 29	0.001251831	2.90245433
625	Positive regulation of intracellular protein transport	GO:0090316	14 of 158	0.001272242	2.895430324
626	Positive regulation of phospholipase activity	GO:0010518	8 of 55	0.001284512	2.891261808
627	Mast cell activation involved in immune response	GO:0002279	8 of 55	0.001284512	2.891261808
628	System process	GO:0003008	91 of 2275	0.001350549	2.869489725
629	Regulation of actin filament-based process	GO:0032970	25 of 402	0.001395965	2.8551254
630	Neutrophil activation involved in immune response	GO:0002283	5 of 19	0.001395965	2.8551254
631	Leukocyte homeostasis	GO:0001776	11 of 104	0.00141833	2.848222795
632	T cell differentiation in thymus	GO:0033077	10 of 87	0.001422511	2.846944308
633	Regulation of cellular component biogenesis	GO:0044087	46 of 950	0.001427427	2.845446148
634	Adaptive thermogenesis	GO:1990845	14 of 160	0.001433873	2.843489196
635	Lymphocyte homeostasis	GO:0002260	9 of 71	0.001433873	2.843489196
636	Mast cell mediated immunity	GO:0002448	8 of 56	0.001442503	2.840883196
637	Cellular response to insulin stimulus	GO:0032869	16 of 201	0.00148377	2.828633559
638	Activation of phospholipase C activity	GO:0007202	6 of 30	0.001495381	2.825248235
639	Mesonephros development	GO:0001823	11 of 105	0.001519489	2.818302522

640	Nitrogen compound metabolic process	GO:0006807	376 of 12209	0.001519489	2.818302522
641	Positive regulation of endothelial cell migration	GO:0010595	11 of 105	0.001519489	2.818302522
642	Biomining	GO:0110148	15 of 181	0.001519489	2.818302522
643	Carboxylic acid biosynthetic process	GO:0046394	21 of 311	0.001526544	2.816290629
644	Regulation of lipase activity	GO:0060191	10 of 88	0.001537124	2.813290959
645	Cellular response to reactive oxygen species	GO:0034614	13 of 142	0.00154599	2.810793221
646	Tumor necrosis factor production	GO:0032640	14 of 162	0.001603126	2.795032318
647	Regulation of tumor necrosis factor production	GO:0032680	14 of 162	0.001603126	2.795032318
648	Regulation of muscle hypertrophy	GO:0014743	8 of 57	0.001608061	2.793697399
649	Metabolic process	GO:0008152	433 of 14408	0.001611489	2.792772711
650	Regulation of cellular response to stress	GO:0080135	37 of 712	0.001626142	2.78884151
651	Cellular response to interleukin-1	GO:0071347	11 of 106	0.00163155	2.787399516
652	Organic acid biosynthetic process	GO:0016053	21 of 313	0.001645077	2.783813762
653	Stress-activated protein kinase signaling cascade	GO:0031098	18 of 246	0.001651942	2.782005258
654	Negative regulation of collateral sprouting	GO:0048671	4 of 11	0.001652259	2.781922001
655	Regulation of T-helper 2 cell differentiation	GO:0045628	4 of 11	0.001652259	2.781922001
656	Regulation of hydrogen peroxide-mediated programmed cell death	GO:1901298	4 of 11	0.001652259	2.781922001
657	Extrinsic apoptotic signaling pathway	GO:0097191	17 of 225	0.001690435	2.772001549
658	Heart development	GO:0007507	32 of 583	0.001690435	2.772001549
659	Cartilage development	GO:0051216	16 of 204	0.001702323	2.768958036
660	Regulation of actin cytoskeleton organization	GO:0032956	23 of 361	0.001728093	2.762432813
661	Negative regulation of cartilage development	GO:0061037	6 of 31	0.001746118	2.757926462
662	Fibroblast proliferation	GO:0048144	11 of 107	0.001746118	2.757926462
663	Positive regulation of protein serine/threonine kinase activity	GO:0071902	17 of 226	0.001769294	2.752199891
664	Negative regulation of lymphocyte differentiation	GO:0045620	8 of 58	0.001777444	2.750204042
665	Regulation of fibroblast proliferation	GO:0048145	10 of 90	0.001797068	2.745435497
666	T-helper 17 type immune response	GO:0072538	7 of 44	0.001816988	2.740647985
667	Negative regulation of transcription by RNA polymerase II	GO:0000122	46 of 963	0.001844485	2.734124828
668	Regulation of epithelial cell migration	GO:0010632	17 of 227	0.001851279	2.732528024
669	Glandular epithelial cell differentiation	GO:0002067	9 of 74	0.00187879	2.726121865
670	Cellular localization	GO:0051641	131 of 3580	0.001949238	2.710135064
671	Activation of protein kinase activity	GO:0032147	13 of 146	0.001962798	2.70712438
672	Macrophage migration	GO:1905517	8 of 59	0.001983849	2.702491412
673	Positive regulation of hydrogen peroxide-mediated programmed cell death	GO:1901300	3 of 5	0.002006099	2.697647644
674	Activation of protein kinase C activity	GO:1990051	3 of 5	0.002006099	2.697647644
675	Cellular catabolic process	GO:0044248	85 of 2121	0.002039137	2.690553506
676	Negative regulation of protein phosphorylation	GO:0001933	21 of 319	0.002059107	2.686321145
677	Cell fate determination	GO:0001709	7 of 45	0.002067444	2.684566278
678	Regulation of cold-induced thermogenesis	GO:0120161	13 of 147	0.002075909	2.682791657
679	Cold-induced thermogenesis	GO:0106106	13 of 147	0.002075909	2.682791657
680	B cell receptor signaling pathway	GO:0050853	12 of 128	0.002095981	2.678612559

681	Regulation of endothelial cell migration	GO:0010594	14 of 167	0.002095992	2.678610287
682	Regulation of cell cycle	GO:0051726	51 of 1111	0.002117113	2.674255972
683	Gland development	GO:0048732	26 of 440	0.002139976	2.669591072
684	Gamma-delta T cell activation	GO:0046629	5 of 21	0.002147813	2.668003528
685	Positive regulation of dephosphorylation	GO:0035306	8 of 60	0.002192657	2.659029252
686	Wound healing	GO:0042060	26 of 441	0.002207427	2.656113641
687	Regulation of cellular ketone metabolic process	GO:0010565	12 of 129	0.002231835	2.65133787
688	Sulfur compound metabolic process	GO:0006790	22 of 345	0.002255789	2.646701527
689	Negative regulation of cell growth	GO:0030308	15 of 189	0.002273006	2.643399436
690	Metanephros development	GO:0001656	10 of 93	0.002274078	2.643194694
691	Regulation of neuron death	GO:1901214	21 of 322	0.002285581	2.641003297
692	Cellular response to peptide hormone stimulus	GO:0071375	20 of 299	0.002285581	2.641003297
693	Regulation of ERK1 and ERK2 cascade	GO:0070372	20 of 299	0.002285581	2.641003297
694	Negative regulation of muscle tissue development	GO:1901862	4 of 12	0.002285581	2.641003297
695	Negative regulation of macrophage migration	GO:1905522	4 of 12	0.002285581	2.641003297
696	Neutrophil degranulation	GO:0043312	4 of 12	0.002285581	2.641003297
697	Fatty acid oxidation	GO:0019395	11 of 111	0.002295415	2.639138824
698	Response to insulin	GO:0032868	18 of 254	0.002296165	2.638996858
699	Kidney epithelium development	GO:0072073	13 of 149	0.002303505	2.637610901
700	Extracellular matrix assembly	GO:0085029	7 of 46	0.002303505	2.637610901
701	Regulation of interleukin-4 production	GO:0032673	6 of 33	0.00234817	2.629270502
702	Regulation of type 2 immune response	GO:0002828	6 of 33	0.00234817	2.629270502
703	Regulation of renal system process	GO:0098801	6 of 33	0.00234817	2.629270502
704	Regulation of response to reactive oxygen species	GO:1901031	6 of 33	0.00234817	2.629270502
705	Establishment of mitotic spindle orientation	GO:0000132	6 of 33	0.00234817	2.629270502
706	Interleukin-4 production	GO:0032633	6 of 33	0.00234817	2.629270502
707	Regulation of B cell differentiation	GO:0045577	6 of 33	0.00234817	2.629270502
708	Cellular response to BMP stimulus	GO:0071773	14 of 170	0.002422399	2.615754333
709	Response to BMP	GO:0071772	14 of 170	0.002422399	2.615754333
710	Actin cytoskeleton reorganization	GO:0031532	11 of 112	0.002438442	2.612887572
711	Regulation of body fluid levels	GO:0050878	24 of 396	0.002460796	2.608924332
712	Gastrulation	GO:0007369	15 of 191	0.002462379	2.608645021
713	Regulation of blood pressure	GO:0008217	15 of 191	0.002462379	2.608645021
714	Positive regulation of T-helper cell differentiation	GO:0045624	5 of 22	0.002581575	2.588115197
715	Thymic T cell selection	GO:0045061	5 of 22	0.002581575	2.588115197
716	Regulation of acute inflammatory response	GO:0002673	7 of 47	0.002581575	2.588115197
717	Regulation of branching involved in ureteric bud morphogenesis	GO:0090189	5 of 22	0.002581575	2.588115197
718	Lymphoid progenitor cell differentiation	GO:0002320	5 of 22	0.002581575	2.588115197
719	Regulation of muscle tissue development	GO:1901861	7 of 47	0.002581575	2.588115197
720	Negative regulation of mononuclear cell migration	GO:0071676	5 of 22	0.002581575	2.588115197
721	Negative regulation of protein serine/threonine kinase activity	GO:0071901	11 of 113	0.002595949	2.585703764
722	Negative regulation of response to cytokine stimulus	GO:0060761	9 of 78	0.002608443	2.583618622

723	Cell development	GO:0048468	85 of 2142	0.002624556	2.580944113
724	Cellular response to organic cyclic compound	GO:0071407	31 of 575	0.002644106	2.577721064
725	Regulation of neuroinflammatory response	GO:0150077	6 of 34	0.002713229	2.56651359
726	Regulation of kidney development	GO:0090183	6 of 34	0.002713229	2.56651359
727	Response to xenobiotic stimulus	GO:0009410	25 of 424	0.002733124	2.563340641
728	Digestive tract development	GO:0048565	12 of 133	0.002795314	2.553569433
729	Homotypic cell-cell adhesion	GO:0034109	10 of 96	0.002795314	2.553569433
730	Positive regulation of cellular component biogenesis	GO:0044089	28 of 500	0.00279895	2.5530048
731	Developmental growth involved in morphogenesis	GO:0060560	17 of 237	0.00281505	2.55051385
732	Response to fatty acid	GO:0070542	8 of 63	0.0028914	2.538891803
733	Regulation of nervous system development	GO:0051960	26 of 451	0.002921475	2.534397796
734	Regulation of fat cell differentiation	GO:0045598	12 of 134	0.002971286	2.5270556
735	Biomineral tissue development	GO:0031214	14 of 174	0.002971286	2.5270556
736	Hydrogen peroxide-mediated programmed cell death	GO:0010421	4 of 13	0.003046436	2.5162079
737	Positive regulation of epidermal growth factor-activated receptor activity	GO:0045741	4 of 13	0.003046436	2.5162079
738	Positive regulation of vascular associated smooth muscle cell migration	GO:1904754	4 of 13	0.003046436	2.5162079
739	Regulation of muscle adaptation	GO:0043502	9 of 80	0.003088294	2.510281406
740	Cellular response to chemical stress	GO:0062197	21 of 331	0.003094989	2.509340952
741	Response to reactive oxygen species	GO:0000302	15 of 196	0.003128785	2.504624235
742	Lipid oxidation	GO:0034440	11 of 116	0.003169491	2.499010447
743	Regulation of cell-substrate junction assembly	GO:0090109	8 of 64	0.003170333	2.498895074
744	Lymphocyte chemotaxis	GO:0048247	8 of 64	0.003170333	2.498895074
745	Regulation of focal adhesion assembly	GO:0051893	8 of 64	0.003170333	2.498895074
746	Negative regulation of epithelial cell differentiation	GO:0030857	7 of 49	0.0032238	2.491631893
747	Endodermal cell differentiation	GO:0035987	7 of 49	0.0032238	2.491631893
748	Positive regulation of endocytosis	GO:0045807	10 of 98	0.0032238	2.491631893
749	Hormone-mediated signaling pathway	GO:0009755	15 of 197	0.003268214	2.485689541
750	Regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	GO:0002822	14 of 176	0.003269667	2.485496508
751	Regulation of muscle cell differentiation	GO:0051147	12 of 136	0.003332738	2.477198869
752	Regulation of systemic arterial blood pressure	GO:0003073	10 of 99	0.003478088	2.458659473
753	Regulation of thyroid hormone mediated signaling pathway	GO:0002155	3 of 6	0.003518279	2.453669729
754	Negative regulation of cell-matrix adhesion	GO:0001953	6 of 36	0.003610858	2.442389588
755	Regulation of interferon-gamma production	GO:0032649	11 of 118	0.003610858	2.442389588
756	Columnar/cuboidal epithelial cell development	GO:0002066	7 of 50	0.00362275	2.440961643
757	Negative regulation of tissue remodeling	GO:0034104	5 of 24	0.003788232	2.421563456
758	Alcohol metabolic process	GO:0006066	22 of 361	0.003823652	2.417521665
759	Regulation of cytoskeleton organization	GO:0051493	29 of 537	0.003828637	2.416955766
760	Positive regulation of NIK/NF-kappaB signaling	GO:1901224	8 of 66	0.003845147	2.415087044

761	Interferon-gamma production	GO:0032609	11 of 119	0.003846998	2.414878056
762	Isoprenoid metabolic process	GO:0006720	11 of 119	0.003846998	2.414878056
763	Chordate embryonic development	GO:0043009	34 of 670	0.003907302	2.408122977
764	Establishment of organelle localization	GO:0051656	25 of 436	0.003935505	2.404999585
765	Positive regulation of intracellular transport	GO:0032388	15 of 201	0.003959469	2.402363091
766	Actin filament bundle assembly	GO:0051017	13 of 159	0.003959469	2.402363091
767	Cellular carbohydrate metabolic process	GO:0044262	19 of 291	0.003977964	2.400339169
768	Positive regulation of phagocytosis	GO:0060100	4 of 14	0.003994594	2.398527327
769	Positive thymic T cell selection	GO:0045059	4 of 14	0.003994594	2.398527327
770	Positive regulation of membrane invagination	GO:1905155	4 of 14	0.003994594	2.398527327
771	Programmed cell death in response to reactive oxygen species	GO:0097468	4 of 14	0.003994594	2.398527327
772	Regulation of endothelial cell apoptotic process	GO:2000351	7 of 51	0.004016554	2.396146353
773	Regulation of circadian rhythm	GO:0042752	11 of 120	0.00407428	2.389949133
774	Regulatory T cell differentiation	GO:0045066	6 of 37	0.004093968	2.387855583
775	Neutrophil mediated immunity	GO:0002446	6 of 37	0.004093968	2.387855583
776	Maturation of 5.8S rRNA	GO:0000460	6 of 37	0.004093968	2.387855583
777	Reactive oxygen species metabolic process	GO:0072593	16 of 224	0.004137125	2.383301406
778	Positive regulation of lipase activity	GO:0060193	8 of 67	0.004165151	2.38036929
779	Negative regulation of cellular response to growth factor stimulus	GO:0090288	10 of 102	0.004263027	2.370281949
780	Carbohydrate metabolic process	GO:0005975	31 of 594	0.004263027	2.370281949
781	Regulation of myeloid leukocyte differentiation	GO:0002761	11 of 121	0.004328855	2.363626928
782	Sensory organ development	GO:0007423	31 of 595	0.004370807	2.359438378
783	Regulation of protein localization to nucleus	GO:1900180	12 of 141	0.004435037	2.353102752
784	Regulation of JNK cascade	GO:0046328	12 of 141	0.004435037	2.353102752
785	Prostate gland development	GO:0030850	7 of 52	0.004436358	2.352973401
786	Metanephric nephron morphogenesis	GO:0072273	5 of 25	0.004436358	2.352973401
787	Negative regulation of chondrocyte differentiation	GO:0032331	5 of 25	0.004436358	2.352973401
788	Regulation of hydrogen peroxide-induced cell death	GO:1903205	5 of 25	0.004436358	2.352973401
789	Negative regulation of fat cell differentiation	GO:0045599	7 of 52	0.004436358	2.352973401
790	Positive regulation of immunoglobulin production	GO:0002639	7 of 52	0.004436358	2.352973401
791	Apoptotic signaling pathway	GO:0097190	31 of 596	0.004443783	2.352247157
792	Epidermal growth factor receptor signaling pathway	GO:0007173	10 of 103	0.004521405	2.344726624
793	Endoderm development	GO:0007492	9 of 85	0.004521405	2.344726624
794	Neuroinflammatory response	GO:0150076	8 of 68	0.004521405	2.344726624
795	Regulation of BMP signaling pathway	GO:0030510	10 of 103	0.004521405	2.344726624
796	Actin filament bundle organization	GO:0061572	13 of 162	0.004549944	2.341993931
797	Bone mineralization	GO:0030282	11 of 122	0.004549944	2.341993931
798	Positive T cell selection	GO:0043368	6 of 38	0.004619677	2.335388425
799	Regulation of heart contraction	GO:0008016	15 of 205	0.004657896	2.331810196
800	Negative regulation of protein kinase activity	GO:0006469	15 of 205	0.004657896	2.331810196
801	Response to wounding	GO:0009611	30 of 572	0.004698984	2.327996012
802	Response to estradiol	GO:0032355	11 of 123	0.004845995	2.314617074

803	Negative regulation of kinase activity	GO:0033673	16 of 228	0.004857357	2.313599936
804	Establishment of localization	GO:0051234	168 of 4913	0.00488146	2.311450246
805	Negative regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0050732	7 of 53	0.004893097	2.310416202
806	Monocyte chemotaxis	GO:0002548	8 of 69	0.004908477	2.309053261
807	Extracellular matrix organization	GO:0030198	20 of 321	0.004908477	2.309053261
808	Regulation of cell size	GO:0008361	14 of 185	0.005013218	2.299883427
809	Neural crest formation	GO:0014029	4 of 15	0.005060915	2.29577093
810	Establishment of T cell polarity	GO:0001768	4 of 15	0.005060915	2.29577093
811	Renal system process involved in regulation of blood volume	GO:0001977	4 of 15	0.005060915	2.29577093
812	Camera-type eye development	GO:0043010	21 of 346	0.005060915	2.29577093
813	Extracellular structure organization	GO:0043062	20 of 322	0.00506213	2.295666673
814	Sprouting angiogenesis	GO:0002040	11 of 124	0.005100569	2.292381414
815	Response to hydrogen peroxide	GO:0042542	11 of 124	0.005100569	2.292381414
816	Regulation of actin filament organization	GO:0110053	18 of 275	0.005100569	2.292381414
817	Primary alcohol metabolic process	GO:0034308	10 of 105	0.005119337	2.290786267
818	Positive regulation of tumor necrosis factor superfamily cytokine production	GO:1903557	10 of 105	0.005119337	2.290786267
819	Digestive system development	GO:0055123	12 of 144	0.005130616	2.289830502
820	Fatty acid metabolic process	GO:0006631	23 of 396	0.005148656	2.28830611
821	Vascular associated smooth muscle cell migration	GO:1904738	5 of 26	0.005154968	2.287774007
822	Positive regulation of extracellular matrix organization	GO:1903055	5 of 26	0.005154968	2.287774007
823	Trabecula formation	GO:0060343	5 of 26	0.005154968	2.287774007
824	Establishment of mitotic spindle localization	GO:0040001	6 of 39	0.005166757	2.286781932
825	Cellular response to hydrogen peroxide	GO:0070301	9 of 87	0.005170661	2.286453968
826	Regulation of blood circulation	GO:1903522	17 of 253	0.005268046	2.278350404
827	Cell migration involved in sprouting angiogenesis	GO:0002042	7 of 54	0.005306855	2.275162811
828	Negative regulation of leukocyte apoptotic process	GO:2000107	7 of 54	0.005306855	2.275162811
829	Tissue morphogenesis	GO:0048729	32 of 631	0.005306855	2.275162811
830	Positive regulation of fibroblast proliferation	GO:0048146	7 of 54	0.005306855	2.275162811
831	Regulation of cardiac muscle hypertrophy	GO:0010611	7 of 54	0.005306855	2.275162811
832	Positive regulation of cellular component organization	GO:0051130	47 of 1050	0.005306855	2.275162811
833	Regulation of extracellular matrix organization	GO:1903053	7 of 54	0.005306855	2.275162811
834	External encapsulating structure organization	GO:0045229	20 of 324	0.005331762	2.273129277
835	Positive regulation of T-helper 2 cell differentiation	GO:0045630	3 of 7	0.005362597	2.270624809
836	Trachea cartilage development	GO:0060534	3 of 7	0.005362597	2.270624809
837	Positive regulation of cell proliferation involved in heart morphogenesis	GO:2000138	3 of 7	0.005362597	2.270624809
838	Regulation of mast cell cytokine production	GO:0032763	3 of 7	0.005362597	2.270624809
839	Adiponectin secretion	GO:0070162	3 of 7	0.005362597	2.270624809
840	Positive regulation of hydrogen peroxide-induced cell death	GO:1905206	3 of 7	0.005362597	2.270624809
841	Regulation of metal ion transport	GO:0010959	23 of 398	0.005362597	2.270624809
842	Mast cell cytokine production	GO:0032762	3 of 7	0.005362597	2.270624809

843	Thyroid hormone mediated signaling pathway	GO:0002154	3 of 7	0.005362597	2.270624809
844	Ureter morphogenesis	GO:0072197	3 of 7	0.005362597	2.270624809
845	Regulation of adiponectin secretion	GO:0070163	3 of 7	0.005362597	2.270624809
846	Positive regulation of response to reactive oxygen species	GO:1901033	3 of 7	0.005362597	2.270624809
847	Neutrophil chemotaxis	GO:0030593	10 of 106	0.005362597	2.270624809
848	Mesenchyme development	GO:0060485	19 of 301	0.005424488	2.265641212
849	Positive regulation of response to external stimulus	GO:0032103	25 of 449	0.005424488	2.265641212
850	Regulation of myeloid cell differentiation	GO:0045637	15 of 210	0.00562986	2.249502419
851	Establishment of spindle orientation	GO:0051294	6 of 40	0.005751517	2.240217599
852	Sodium ion homeostasis	GO:0055078	7 of 55	0.005800504	2.236534298
853	Negative regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	GO:0002823	7 of 55	0.005800504	2.236534298
854	Regulation of oligodendrocyte apoptotic process	GO:1900141	2 of 2	0.00597764	2.223470269
855	Response to water-immersion restraint stress	GO:1990785	2 of 2	0.00597764	2.223470269
856	Negative regulation of protein localization to endoplasmic reticulum	GO:1905551	2 of 2	0.00597764	2.223470269
857	Malonyl-CoA biosynthetic process	GO:2001295	2 of 2	0.00597764	2.223470269
858	Retinal cone cell apoptotic process	GO:0097474	2 of 2	0.00597764	2.223470269
859	Lung smooth muscle development	GO:0061145	2 of 2	0.00597764	2.223470269
860	Wnt signaling pathway involved in kidney development	GO:0061289	2 of 2	0.00597764	2.223470269
861	Canonical Wnt signaling pathway involved in metanephric kidney development	GO:0061290	2 of 2	0.00597764	2.223470269
862	Female courtship behavior	GO:0008050	2 of 2	0.00597764	2.223470269
863	Bronchus cartilage development	GO:0060532	2 of 2	0.00597764	2.223470269
864	Cell-cell signaling involved in metanephros development	GO:0072204	2 of 2	0.00597764	2.223470269
865	Cell-cell signaling involved in kidney development	GO:0060995	2 of 2	0.00597764	2.223470269
866	Thyroid hormone catabolic process	GO:0042404	2 of 2	0.00597764	2.223470269
867	Embryo development ending in birth or egg hatching	GO:0009792	34 of 692	0.006057126	2.217733365
868	Platelet aggregation	GO:0070527	8 of 72	0.006082818	2.21589516
869	Negative regulation of cytokine production	GO:0001818	18 of 281	0.006140432	2.211801083
870	Establishment of lymphocyte polarity	GO:0001767	4 of 16	0.006148594	2.211224209
871	Regulation of phagocytosis engulfment	GO:0060099	4 of 16	0.006148594	2.211224209
872	Regulation of membrane invagination	GO:1905153	4 of 16	0.006148594	2.211224209
873	Striated muscle tissue development	GO:0014706	16 of 235	0.00618992	2.208314953
874	Positive regulation of DNA binding	GO:0043388	7 of 56	0.006312686	2.199785781
875	Endothelial cell apoptotic process	GO:0072577	7 of 56	0.006312686	2.199785781
876	Circadian rhythm	GO:0007623	15 of 213	0.006319754	2.199299813
877	Regulation of supramolecular fiber organization	GO:1902903	22 of 380	0.006542558	2.184252441
878	T cell migration	GO:0072678	8 of 73	0.006576511	2.182004481
879	Nucleocytoplasmic transport	GO:0006913	20 of 331	0.006576511	2.182004481
880	Nuclear transport	GO:0051169	20 of 331	0.006576511	2.182004481
881	Positive regulation of phagocytosis	GO:0050766	8 of 73	0.006576511	2.182004481
882	Organelle organization	GO:0006996	126 of 3545	0.006593444	2.180887708

883	Regulation of stress-activated MAPK cascade	GO:0032872	14 of 192	0.006605444	2.180097977
884	Regeneration	GO:0031099	14 of 192	0.006605444	2.180097977
885	Actin cytoskeleton organization	GO:0030036	35 of 724	0.006630729	2.178438708
886	Protein polymerization	GO:0051258	18 of 284	0.00680504	2.16716929
887	Lung cell differentiation	GO:0060479	5 of 28	0.006816354	2.16644786
888	Endochondral bone growth	GO:0003416	5 of 28	0.006816354	2.16644786
889	Lung epithelial cell differentiation	GO:0060487	5 of 28	0.006816354	2.16644786
890	Regulation of dephosphorylation	GO:0035303	11 of 130	0.006943376	2.158429342
891	Reproductive structure development	GO:0048608	19 of 309	0.007068745	2.150657665
892	Regulation of tissue remodeling	GO:0034103	8 of 74	0.007107676	2.148272354
893	Actin filament polymerization	GO:0030041	13 of 172	0.007120194	2.147508162
894	Actin filament-based process	GO:0030029	38 of 811	0.007120194	2.147508162
895	Cellular response to nutrient	GO:0031670	6 of 42	0.007137387	2.146460765
896	Regulation of epithelial cell differentiation	GO:0030856	12 of 151	0.007141044	2.14623831
897	Hormone metabolic process	GO:0042445	16 of 239	0.007208716	2.142142105
898	Lipid localization	GO:0010876	25 of 460	0.00723132	2.140782448
899	Regulation of cellular response to growth factor stimulus	GO:0090287	19 of 310	0.007278647	2.137949313
900	Granulocyte chemotaxis	GO:0071621	11 of 131	0.007307203	2.136248812
901	Neutrophil migration	GO:1990266	11 of 131	0.007307203	2.136248812
902	Cellular response to peptide	GO:1901653	21 of 360	0.007514126	2.124121535
903	Regulation of stress-activated protein kinase signaling cascade	GO:0070302	14 of 195	0.007514126	2.124121535
904	Positive regulation of cytoskeleton organization	GO:0051495	14 of 195	0.007514126	2.124121535
905	Endoderm formation	GO:0001706	7 of 58	0.007550594	2.122018861
906	Negative regulation of cell-substrate junction organization	GO:0150118	4 of 17	0.007564287	2.121231992
907	Negative regulation of focal adhesion assembly	GO:0051895	4 of 17	0.007564287	2.121231992
908	Regulation of neutrophil degranulation	GO:0043313	3 of 8	0.007824289	2.106555137
909	Metanephric nephron tubule morphogenesis	GO:0072282	3 of 8	0.007824289	2.106555137
910	Negative regulation of striated muscle contraction	GO:0045988	3 of 8	0.007824289	2.106555137
911	Negative regulation of protein localization	GO:1903828	14 of 196	0.007828791	2.106305316
912	Cell death in response to hydrogen peroxide	GO:0036474	5 of 29	0.007841672	2.105591341
913	Regulation of superoxide metabolic process	GO:0090322	5 of 29	0.007841672	2.105591341
914	Regulation of protein-containing complex assembly	GO:0043254	23 of 412	0.007873443	2.103835318
915	Anatomical structure homeostasis	GO:0060249	20 of 337	0.007885247	2.103184684
916	Lung epithelium development	GO:0060428	6 of 43	0.007911554	2.101738182
917	Regulation of actin cytoskeleton reorganization	GO:2000249	6 of 43	0.007911554	2.101738182
918	Reproductive system development	GO:0061458	19 of 313	0.007983633	2.097799446
919	Regulation of cell projection organization	GO:0031344	32 of 651	0.008033338	2.095103977
920	Post-embryonic development	GO:0009791	9 of 94	0.008128733	2.089977127
921	Nephron development	GO:0072006	12 of 154	0.008212107	2.085545409
922	Cell differentiation involved in kidney development	GO:0061005	7 of 59	0.008212107	2.085545409
923	Negative regulation of epithelial cell apoptotic process	GO:1904036	7 of 59	0.008212107	2.085545409
924	Regulation of cell shape	GO:0008360	12 of 154	0.008212107	2.085545409

925	Intracellular receptor signaling pathway	GO:0030522	17 of 266	0.008212107	2.085545409
926	Organelle localization	GO:0051640	29 of 571	0.008231667	2.084512221
927	Neurogenesis	GO:0022008	67 of 1680	0.008410353	2.075185794
928	Positive regulation of DNA-binding transcription factor activity	GO:0051091	17 of 267	0.008490626	2.071060271
929	Negative regulation of transferase activity	GO:0051348	17 of 267	0.008490626	2.071060271
930	Gliogenesis	GO:0042063	19 of 315	0.008490626	2.071060271
931	Platelet activation	GO:0030168	11 of 134	0.008517204	2.069702928
932	Epithelial cell proliferation	GO:0050673	24 of 441	0.008584241	2.066298117
933	Fatty acid biosynthetic process	GO:0006633	12 of 155	0.008607188	2.065138734
934	Regulated exocytosis	GO:0045055	16 of 244	0.008607188	2.065138734
935	Regulation of epithelial to mesenchymal transition	GO:0010717	9 of 95	0.008626121	2.06418444
936	T cell homeostasis	GO:0043029	6 of 44	0.008761296	2.057431636
937	Regulation of macrophage migration	GO:1905521	6 of 44	0.008761296	2.057431636
938	Cation homeostasis	GO:0055080	30 of 601	0.008802286	2.055404539
939	Stem cell population maintenance	GO:0019827	13 of 177	0.008810889	2.054980273
940	Heterotypic cell-cell adhesion	GO:0034113	7 of 60	0.008861313	2.052501909
941	Negative regulation of adaptive immune response	GO:0002820	7 of 60	0.008861313	2.052501909
942	Membrane organization	GO:0061024	40 of 880	0.008861313	2.052501909
943	Glucose homeostasis	GO:0042593	16 of 245	0.008861313	2.052501909
944	Response to thyroid hormone	GO:0097066	5 of 30	0.008861313	2.052501909
945	Negative regulation of cell-substrate adhesion	GO:0010812	7 of 60	0.008861313	2.052501909
946	Spindle localization	GO:0051653	7 of 60	0.008861313	2.052501909
947	T-helper 17 cell differentiation	GO:0072539	5 of 30	0.008861313	2.052501909
948	Regulation of smooth muscle cell differentiation	GO:0051150	5 of 30	0.008861313	2.052501909
949	Transport	GO:0006810	161 of 4755	0.008917814	2.049741578
950	Tube formation	GO:0035148	12 of 156	0.008933047	2.04900039
951	Blood vessel endothelial cell migration	GO:0043534	10 of 115	0.008933047	2.04900039
952	ERBB2 signaling pathway	GO:0038128	4 of 18	0.009033505	2.044143691
953	Regulation of microglial cell activation	GO:1903978	4 of 18	0.009033505	2.044143691
954	Positive regulation of superoxide anion generation	GO:0032930	4 of 18	0.009033505	2.044143691
955	Regulation of GTPase activity	GO:0043087	21 of 367	0.009033505	2.044143691
956	Positive regulation of type 2 immune response	GO:0002830	4 of 18	0.009033505	2.044143691
957	Neural crest cell differentiation	GO:0014033	9 of 96	0.009079498	2.04193816
958	Positive regulation of binding	GO:0051099	13 of 178	0.009090359	2.041418951
959	Carbohydrate homeostasis	GO:0033500	16 of 246	0.009127348	2.039655405
960	Regulation of chemotaxis	GO:0050920	15 of 224	0.009584435	2.018433464
961	Thioester biosynthetic process	GO:0035384	6 of 45	0.009592722	2.018058134
962	Muscle contraction	GO:0006936	20 of 344	0.009592722	2.018058134
963	Acyl-CoA biosynthetic process	GO:0071616	6 of 45	0.009592722	2.018058134
964	MRNA transcription by RNA polymerase II	GO:0042789	6 of 45	0.009592722	2.018058134
965	Positive regulation of protein dephosphorylation	GO:0035307	6 of 45	0.009592722	2.018058134