

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
Ι Δ Ρ Υ Μ Α



ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Ανάπτυξη Υπολογιστικής Μεθοδολογίας για την Μελέτη της Γενετικής
Προδιάθεσης για Μεταβολικό Σύνδρομο σε Ποντίκια»**

Αγγελική Σωφρονά

Επιβλέπων καθηγητής: Διονύσιος Μάργαρης, Επιστημονικός Συνεργάτης

Αθήνα

Νοέμβριος 2017

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Ανάπτυξη Υπολογιστικής Μεθοδολογίας για την Μελέτη της Γενετικής Προδιάθεσης για
Μεταβολικό Σύνδρομο σε Ποντίκια»

Αγγελική Σωφρονά

A.M. 2012002

Επιβλέπων καθηγητής: Διονύσιος Μάργαρης, Επιστημονικός Συνεργάτης


ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΗΨΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ

"Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάση επιστημονικής παράφρασης.

Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης του Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων.

Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δε μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας."

Όνομα και Επώνυμο Συγγραφέα (Με Κεφαλαία): ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΣΟΦΡΟΝΑ

Υπογραφή (Ολογράφως, χωρίς μονογραφή): 

Ημερομηνία (Ημέρα – Μήνας – Έτος): 23/11/2017

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε αυτήν την εργασία εξετάζεται η γονιδιακή προδιάθεση στην παχυσαρκία που εμφανίζουν οργανισμοί ποντικών (*mus musculus*) και η συσχέτισή της με ασθένειες της καρδιάς με τη βοήθεια της Χαρτογράφησης Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων (Quantitative Trait Locus mapping). Για την ολοκλήρωση της εργασίας, πρώτα μελέτησα τον ορισμό του Μεταβολικού Συνδρόμου και κυρίως, δύο από τις κύριες παθήσεις που συσχετίζονται με την παχυσαρκία και που αποτελούν το Μεταβολικό Σύνδρομο. Οι δύο αυτές παθήσεις είναι ο Σακχαρώδης Διαβήτης ο Τύπου 2 (ΣΔ2) και η Καρδιοπάθεια. Η κατανόηση του πειράματος που έγινε σε σειρές γενετικά ίδιων ποντικών (Collaborative Cross Lines), ήταν σημαντική για να χρησιμοποιηθούν τα τεχνολογικά μέσα που αργότερα βοήθησαν στους υπολογισμούς της Βιοπληροφορικής για να επιτευχθεί η Χαρτογράφηση Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων. Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 634 ποντικάκια τα οποία υποβλήθηκαν σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (High – fat diet). Από αυτά, στα 393 ποντικάκια μετρήθηκε το βάρος της καρδιάς στο τέλος της δίαιτας, για να ποσοτικοποιηθεί ο φαινότυπος του βάρους της καρδιάς ως προς το συνολικό βάρος των ποντικών.. Ο αλγόριθμος έτρεξε σε Λειτουργικό Σύστημα (OS) MacOS και η γλώσσα προγραμματισμού που χρησιμοποιήθηκε είναι η R με τη βοήθεια του RStudio. Στη συνέχεια αναλύονται τα βήματα της QTL Ανάλυσης (Quantitative Trait Locus Analysis) και η λειτουργία του αλγορίθμου HAPPY μέσα από τα οποία ανακατασκευάστηκε ο γονότυπος κάθε ξεχωριστής σειράς ποντικών με βάση τους γονικούς γονότυπους και στη συνέχεια εντοπίστηκαν οι γενετικοί τόποι που εμπλέκονται στο φαινότυπο. Τα γονίδια που βρέθηκαν, έτρεξαν στο εργαλείο BioInfoMiner (BIM) και ως αποτέλεσμα βρέθηκαν οι στατιστικά σημαντικά εκφρασμένες βιολογικές οντολογίες και τα γονίδια που παίζουν κεντρικό ρυθμιστικό ρόλο στο οντολογικό δίκτυο.

Χαρτογράφηση Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων είναι μία επιστημονική μέθοδος που τα τελευταία χρόνια έχει ξεκινήσει να χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο από ερευνητές στον χώρο της Ιατρικής, της Βιολογίας και της Βιοπληροφορικής και μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη και την προκλινική διάγνωση για κάποιο νόσημα και να βοηθήσει στην βελτίωση της ανθρώπινης υγείας.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Διονύση Μάργαρη που μου έδωσε την ευκαιρία να υλοποιήσω την πτυχιακή μου εργασία και κυρίως, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για την καθοδήγησή του για την επίλυση διαφόρων θεμάτων. Επίσης, με ενέπνευσε πολύ κατά τη διάρκεια των σπουδών μου ώστε να προσπαθώ να γίνομαι όλο και καλύτερη.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την ομάδα της Μεταβολικής Μηχανικής και Βιοπληροφορικής του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για τις γνώσεις που μου μετέδωσαν και που μου χάρισαν την ευκαιρία να μπω στον κλάδο της Βιοπληροφορικής ως μαθητευόμενη τους. Η βιολόγος και υποψήφια διδάκτορας Ιλόνα Μπινενμπάουμ, με την έμπειρη καθοδήγησή της με βοήθησε να ολοκληρώσω όχι μόνο την πτυχιακή μου εργασία, αλλά και την επιτυχή ολοκλήρωση της πρακτικής μου άσκησης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένειά μου για τη στήριξή της και περισσότερο την μητέρα μου που δεν έπαψε στιγμή να πιστεύει σε μένα και με παρότρυνε να συνεχίζω σε στιγμές αδυναμίας που σκέφτηκα το αντίθετο.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη	3
Πίνακας περιεχομένων	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	6
ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ	6
<input type="checkbox"/> Βιοπληροφορική	6
<input type="checkbox"/> Η λειτουργία της Βιοπληροφορικής	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	9
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	9
<input type="checkbox"/> Μεταβολικό Σύνδρομο.....	9
<input type="checkbox"/> Διαβήτης Τύπου 2	10
<input type="checkbox"/> Γονίδια και Χρωμοσώματα	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	16
ΠΕΙΡΑΜΑ	16
<input type="checkbox"/> Πείραμα.....	16
<input type="checkbox"/> Φαινότυπος	18
<input type="checkbox"/> Γονότυπος.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	20
QTL ΑΝΑΛΥΣΗ	20
<input type="checkbox"/> Ανάλυση Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων (QTL Analysis).....	20
<input type="checkbox"/> Διασταυρώσεις σε σειρές ποντικών (Collaborative Cross Lines)	21
<input type="checkbox"/> Χαρτογράφηση Ανθρώπινου Γονιδιώματος	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	24
HAPPY PACKAGE	24
<input type="checkbox"/> Πακέτο «Happy»	24
<input type="checkbox"/> Υπολογιστική ανάλυση.....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	33
ΒΙΟINFOMINER	33
<input type="checkbox"/> Το εργαλείο Bioinfominer	33
<input type="checkbox"/> Χρησιμοποιώντας τον BIM	35

□Gene Ontology (GO) – Βάση Δεδομένων	37
□Mouse Genome Informatics (MGI) – Βαση Δεδομενων	39
□Reactome - Βάση Δεδομένων	40
Αποτελέσματα	42
Συμπεράσματα.....	56
Πίνακας Εικόνων.....	57
Βιβλιογραφία	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ

□ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ

Τα τελευταία χρόνια η πληροφορική κατακτά σημαντική θέση σε πολλούς τομείς της ζωής μας και κυρίως σε αρκετούς τομείς διαφόρων επιστημών. Η Βιοπληροφορική αποτελεί έναν τομέα έρευνας τόσο για τους μοριακούς βιολόγους όσο και για τους επιστήμονες της πληροφορικής. Η συνεργασία των δύο αυτών επιστημών χαρακτηρίζεται αρκετά υποσχόμενη και με ιδιαίτερη σημασία αφού ερμηνεύει το ρόλο της γονιδιακής πληροφορίας και κατ' επέκταση αρκετές διαδικασίες της ζωής που ζητούν ερμηνεία. *(Neil C. Jones)*

Η βιοπληροφορική είναι το εργαλείο που έχει βοηθήσει και θα βοηθήσει περαιτέρω να επιταχυνθούν οι εξελίξεις στην βιοϊατρική έρευνα. Είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο που αναπτύσσει μεθόδους και χρησιμοποιεί εργαλεία λογισμικού για την κατανόηση βιολογικών δεδομένων. Συνδυάζει την πληροφορική, τη στατιστική, τα μαθηματικά και τη μηχανική για να εκτελέσει αναλύσεις και να ερμηνεύσει διάφορα βιολογικά δεδομένα με την ανάπτυξη αλγορίθμων. Συνήθως η μεθοδολογία της Βιοπληροφορικής χρησιμοποιείται από επιστήμονες ώστε να επιτευχθεί η αναγνώριση υποψήφιων γονιδίων και μονονουκλεϊτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) ώστε να γίνει κατανοητή η γενετική βάση μίας ασθένειας. *(Wikipedia, Bioinformatics)*

Διάφοροι κλάδοι που χρησιμοποιούνται είναι αυτοί της τεχνητής νοημοσύνης, η εξόρυξη δεδομένων, νευρωνικά δίκτυα, ο εξελικτικός υπολογισμός (π.χ. γενετικοί αλγόριθμοι), κλπ. ενώ, βιολογικά δεδομένα όπως το DNA, RNA, πρωτεΐνες, μπορούν να θεωρηθούν ως ψηφιακή πληροφορία.

Τα τελευταία χρόνια, η Βιοπληροφορική έχει εξαπλωθεί σε πολλά πεδία της βιολογικής έρευνας αναλύοντας εικόνες και σήματα με βιοπληροφορικές τεχνικές με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται η εξόρυξη χρήσιμων αποτελεσμάτων από τεράστιο αριθμό δεδομένων. Η αλληλούχιση και ο σχολιασμός του γονιδιώματος είναι από τις κύριες διεργασίες στις οποίες βοηθάει η Βιοπληροφορική. Μεγάλες βιολογικές βιβλιογραφίες ανανεώνονται όλο και περισσότερο, υποστηρίζοντας την βιολογική έρευνα και την ανάπτυξη βιολογικών και γονιδιακών οντολογιών. Στη δομική βιολογία, βοηθάει στη προσομοίωση και μοντελοποίηση του DNA, RNA, πρωτεϊνών καθώς και βιομοριακών αλληλεπιδράσεων.

Με λίγα λόγια, η επιστήμη της Βιοπληροφορικής ξεκίνησε με την μετατροπή της γενετικής πληροφορίας (DNA, RNA) σε ψηφιακή πληροφορία (δυαδικό σύστημα), και πλέον έχει αποκτήσει τομείς όπως η προσομοίωση βιολογικών συστημάτων. *(Wikipedia, Bioinformatics)*

Σε αυτόν τον κλάδο, η πρόοδος της πληροφορικής επιτρέπει την προσπάθεια ανάλυσης διαφόρων προβλημάτων που προκύπτουν στον τομέα της μοριακής βιολογίας. Λόγω της αύξησης της ανεπτυγμένης τεχνολογίας γραφικών, είναι δυνατή η απεικόνιση της δομής των βιολογικών μορίων στην οθόνη του υπολογιστή. Επίσης, ο μεγάλος αριθμός δεδομένων που μεταφράζονται στην επιστήμη της μοριακής βιολογίας και ειδικότερα στην αλληλουχία του DNA, καθιστά απαραίτητη την συνεργασία της Μοριακής Βιολογίας με την επιστήμη της Πληροφορικής.

Ο επιστημονικός χώρος της ένωσης αυτών των πεδίων ονομάζεται διεθνώς Βιοπληροφορική (Bioinformatics).

Οι στόχοι της Βιοπληροφορικής μπορούν να ταξινομηθούν σε 3 ομάδες.

Σε πρώτο επίπεδο, η Βιοπληροφορική επιτρέπει την αποδοτική οργάνωση των δεδομένων ώστε να είναι δυνατή η αποθήκευση, η ανάκτηση και η ενημέρωσή του.

Σε δεύτερο επίπεδο, η Βιοπληροφορική περιλαμβάνει τα εργαλεία που επιτρέπουν την ανάλυση των βιολογικών δεδομένων. Για παράδειγμα, έχοντας ακολουθιοποιήσει μία πρωτεΐνη, οι επιστήμονες ενδιαφέρονται να τη συγκρίνουν με ήδη γνωστές και ταυτοποιημένες ακολουθίες.

Τέλος σε ένα τρίτο επίπεδο, η Βιοπληροφορική θέτει ως στόχο την ανάπτυξη εργαλείων που επιτρέπουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων βιολογικής σημασίας.

□ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

Οι ακολουθίες DNA αποτελούν συμβολοσειρές (strings) πάνω σε ένα αλφάβητο 4 γραμμάτων-βάσεων. Η Βάση Δεδομένων Gen Bank, περιέχει μέχρι στιγμής 11.5 εκατομμύρια εγγραφές. Αντίστοιχα, οι ακολουθίες πρωτεϊνών αποτελούν συμβολοσειρές (strings) πάνω σε ένα αλφάβητο 20 γραμμάτων – αμινοξέων. Μέχρι στιγμής υπάρχουν 400,000 γνωστές ακολουθίες πρωτεϊνών. (Περδικούρη, 2004)

Οι τεχνικές για την ανάλυση ακολουθιών εφαρμόζονται τόσο κατά το μήκος μίας ακολουθίας DNA, όσο και μεταξύ ακολουθιών διαφορετικών οργανισμών. Για αυτό το σκοπό η σύγκριση μεταξύ ακολουθιών, συχνά μετατρέπεται σε εύρεση συχνά επαναλαμβανόμενων μοτίβων σε διαφορετικές ακολουθίες.

Σκοπός μας είναι να μετρήσουμε την ομοιότητα που εμφανίζουν δύο υπό μελέτη συμβολοσειρές με τη βοήθεια μιας συνάρτησης επιτυχίας (score function), η οποία υπολογίζει με ένα σύνολο τιμών όλους τους πιθανούς συνδυασμούς μεταξύ δύο συμβόλων. (Neil C. Jones)

Οι βασικοί τομείς της Βιοπληροφορικής είναι οι εξής:

- ❖ Βάσεις Δεδομένων
- ❖ Ανάλυση ακολουθιών DNA, RNA, πρωτεϊνών (Sequence Analysis).
 - Στοίχιση ακολουθιών: Σύγκριση των αντίστοιχων/ομόλογων περιοχών, μεταξύ δύο ή περισσότερων ακολουθιών.
- ❖ Γονιδιακή ρύθμιση/έκφραση (Gene Expression)
- ❖ Εξόρυξη δεδομένων από βιβλιογραφία (text mining).
- ❖ Βιολογικά δίκτυα/μονοπάτια, Βιολογία Συστημάτων.
- ❖ Οντολογίες (Ontologies)
 - Η χρήση ενός ελεγχόμενου λεξιλογίου (με ιεραρχική δόμηση), για την περιγραφή των ιδιοτήτων και των λειτουργιών ομοειδών αντικειμένων (π.χ πρωτεϊνών).

Με τη βοήθεια της Βιοπληροφορικής λοιπόν, στην παρούσα εργασία εξετάζεται η γενετική προδιάθεση για Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ) που εμφανίζουν οργανισμοί ποντικών και η συσχέτισή της με παθήσεις της καρδιάς με τη βοήθεια της Χαρτογράφησης Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων (Quantitative Trait Locus mapping).

Για να επιτευχθεί η Χαρτογράφηση αυτή, χρησιμοποιήθηκαν όλοι οι παραπάνω τομείς της Βιοπληροφορικής με αποτέλεσμα να βρεθούν οι στατιστικά σημαντικά εκφρασμένες βιολογικές οντολογίες και τα γονίδια που παίζουν κεντρικό ρυθμιστικό ρόλο στο οντολογικό δίκτυο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

□ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Το Μεταβολικό Σύνδρομο είναι μία σύνθετη πάθηση η οποία περιγράφηκε σχετικά πρόσφατα, το 1988, και προέκυψε καθώς οι επιστήμονες παρατήρησαν ότι οι άνθρωποι που παρουσιάζουν συμπτώματα όπως αυξημένη χοληστερίνη, υπέρταση, παχυσαρκία, ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, συγκεντρώνουν πολλούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά προβλήματα και ότι όλοι αυτοί οι παράγοντες δρουν όχι απλώς αθροιστικά, αλλά πολλαπλασιαστικά ως προς αυτόν τον κίνδυνο.

Το Μεταβολικό Σύνδρομο, όπως σε όλες τις περιπτώσεις που αναφέρεται η λέξη «σύνδρομο», είναι μία ομάδα που περιέχει όλες τις παραπάνω επιπλοκές. Όλα αυτά τα χρόνια, πολλές έρευνες είχαν επικεντρωθεί σε αυτές τις σημαντικότερες απειλές της δημόσιας υγείας και τους παράγοντες εμφάνισής τους.

Όλο και περισσότεροι άνθρωποι έρχονται αντιμέτωποι με μια διάγνωση Μεταβολικού Συνδρόμου και συγκεκριμένα, περίπου το 25% του Ευρωπαϊκού πληθυσμού και το 32% του αμερικανικού πληθυσμού πάσχουν από Μεταβολικό Σύνδρομο. Τα αυξημένα ποσοστά, τόσο στους ενήλικους όσο και στα παιδιά, έχουν θορυβήσει τους επιστήμονες υγείας με αποτέλεσμα περισσότερες δράσεις να στρέφονται στην ενημέρωση του κοινού. *(Κομπογιάννης, 2010)*

ΠΩΣ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Οι επιστήμονες δεν γνωρίζουν ακριβώς πώς προκαλείται το Μεταβολικό Σύνδρομο. Θεωρούν όμως ότι υπάρχουν τρεις βασικές αιτίες, που συχνά είναι συνυπεύθυνες τόσο για την πρόκληση του συνδρόμου όσο και η μία για την ύπαρξη της άλλης. Αυτές είναι:

- **Η παχυσαρκία**, που τείνει να πάρει διαστάσεις επιδημίας στις μέρες μας και η οποία συνδυάζεται με την πολύ κακής ποιότητας διατροφή (πολλά λιπαρά), αλλά και με την έλλειψη σωματικής άσκησης.

- **Η αντίσταση στην ινσουλίνη**, που ελέγχεται με ειδικές εξετάσεις και από την οποία χαρακτηρίζεται το Μεταβολικό Σύνδρομο (που αρχικά ονομάστηκε άλλωστε και Σύνδρομο Αντίστασης στην Ινσουλίνη).

- Καθώς και άλλοι παράγοντες (υπέρταση, διαταραχή των λιπιδίων - υψηλά τριγλυκερίδια, κλπ.), που καθορίζονται τόσο γενετικά (κληρονομικότητα) όσο και από το περιβάλλον (καθιστικός τρόπος ζωής και κακή διατροφή).

Το Μεταβολικό Σύνδρομο έχει συνδεθεί άμεσα με την αύξηση του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα (στεφανιαία νόσος και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια). Σύμφωνα δηλαδή με όλες τις ενδείξεις και τις μελέτες που έχουν γίνει πάνω σε αυτό το θέμα, τα «συστατικά» του Μεταβολικού Συνδρόμου αλληλοεπιδρούν έτσι μεταξύ τους, ώστε επιδεινώνουν την πρόγνωση των ασθενών πολύ περισσότερο από ότι αν απλώς αθροίζονταν. Η πρόγνωση βέβαια γίνεται ακόμα χειρότερη όταν συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες κινδύνου, που δεν εμπεριέχονται στο Μεταβολικό Σύνδρομο, αλλά επιβαρύνουν την κατάσταση, όπως είναι η υψηλή χοληστερίνη και το κάπνισμα, που χρειάζονται με τη σειρά τους ειδική θεραπευτική αντιμετώπιση. (Αναστασάκη, 2014)

Πέραν όμως του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου και της ανάπτυξης του διαβήτη τύπου 2, συχνά ακολουθούν και άλλα προβλήματα όπως διαταραχές στα μάτια, στην ακοή ή στα νεφρά. Ορισμένες φορές ακόμα και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, λιπώδες ήπαρ, χολολιθίαση, διαταραχές του ύπνου, καθώς και ορισμένες μορφές καρκίνου.

□ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2

Με το Μεταβολικό Σύνδρομο συνδέεται άμεσα ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2. Τα ποσοστά του διαβήτη τύπου 2 αυξάνουν παγκοσμίως και η Διεθνής Ομοσπονδία Διαβήτη έχει προβλέψει ότι από περίπου 366 εκατομμύρια ασθενείς που υπήρχαν το 2011, ο αριθμός τους θα έχει φτάσει τα 500 εκατομμύρια μέχρι το 2030. Η διάγνωση του διαβήτη τύπου 2 συνδέεται άμεσα με την αύξηση της παχυσαρκίας που παρατηρείται σε όλο τον κόσμο. (Ιωάννης Ράλλης, 2016)

Συνήθως, η διάγνωση γίνεται σε άτομα άνω των 40 ετών και η συχνότητα του διαβήτη τύπου 2 αυξάνει με την ηλικία. Δυστυχώς όμως, παρατηρείται τα τελευταία χρόνια ότι η συχνότητα αυτού του τύπου διαβήτη έχει αρχίσει να αυξάνει ακόμα και σε νεαρά άτομα, εφήβους και νέους ενήλικες, κι εδώ λόγω της αύξησης της παχυσαρκίας σε όλο και μικρότερες ηλικίες.

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2, είναι μία διαταραχή του μεταβολισμού που χαρακτηρίζεται από υψηλές τιμές γλυκόζης στο αίμα και σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης.

Ο ΣΔ2 χαρακτηρίζεται από δύο κύριες δυσλειτουργίες του οργανισμού:

- Υψηλές τιμές γλυκόζης στο αίμα και
- Σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης.

Στην ουσία, τα άτομα με Διαβήτη Τύπου 2 εμφανίζουν ινσουλινοαντίσταση ή και σχετική ανεπάρκεια της έκκρισης της ινσουλίνης από το πάγκρεας. Οι μεταβολές αυτές μπορεί να προϋπάρχουν αρκετά χρόνια πριν την εμφάνιση του κλινικού διαβήτη.

Η ινσουλινοαντίσταση, είναι η δυσλειτουργία του οργανισμού όπου τα κύτταρα αντιστέκονται στη δράση της ινσουλίνης και δε γίνεται σωστά η απορρόφηση της γλυκόζης.

Η ομαλή λειτουργία της Ινσουλίνης

Σε ένα υγιές άτομο, η ινσουλίνη βοηθά να μετατραπούν οι τροφές σε ενέργεια με αποτελεσματικό τρόπο.

Το στομάχι διασπά τους υδατάνθρακες από τα τρόφιμα σε σάκχαρα, συμπεριλαμβανομένης της γλυκόζης. Η γλυκόζη στη συνέχεια εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος, που διεγείρει το πάγκρεας για να απελευθερώσει την ινσουλίνη στην σωστή ακριβώς ποσότητα.

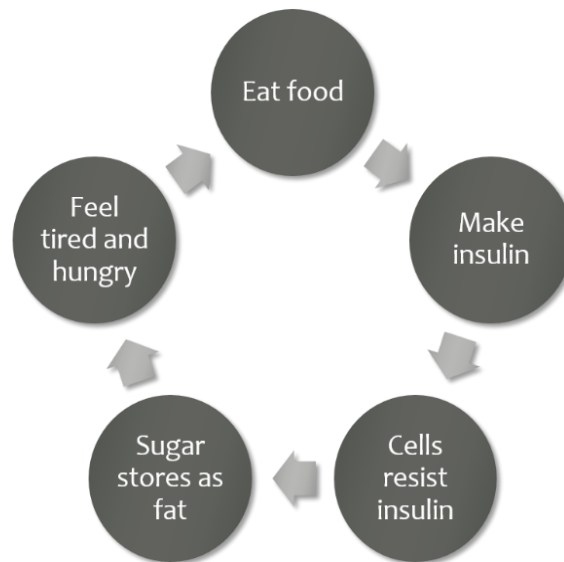
Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που παράγεται από το πάγκρεας και συγκεκριμένα από τα βήτα κύτταρα του παγκρέατος και επιτρέπει στη γλυκόζη να εισχωρήσει στα κύτταρα όλου του σώματος και να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο. Χωρίς την ινσουλίνη, πολύ λίγη γλυκόζη μπορεί να απορροφηθεί από τα μυϊκά κύτταρα και τους άλλους ιστούς. (Κατσαρού Βιβή, 2012)



Εικόνα 1 - Η ομαλή λειτουργία της ινσουλίνης.

Η διατροφή με υψηλά λιπαρά και κακής ποιότητας φαγητό (junk food) έχουν σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση λίπους. Στην περίπτωση αυτή, η ινσουλίνη του παγκρέατος, που ρυθμίζει το βασικό μεταβολισμό, δε μπορεί να επιδράσει σωστά στα κύτταρα, η

συγκέντρωση της γλυκόζης δε μειώνεται και ως αποτέλεσμα εκκρίνεται ακόμα μεγαλύτερη ποσότητα ινσουλίνης προκειμένου να τα καταφέρει. Στην Εικόνα παρακάτω φαίνεται ο φαύλος κύκλος που οδηγεί στην παχυσαρκία. Ο άνθρωπος λαμβάνει τροφή, εκκρίνει ινσουλίνη, τα κύτταρα της αντιστέκονται με αποτέλεσμα να μην απορροφάται η γλυκόζη από τα κύτταρα και να συσσωρεύεται σε μορφή λίπους και στη συνέχεια ο οργανισμός του να αισθάνεται πεινασμένος και χωρίς ενέργεια.



Εικόνα 2 - Ο φαύλος κύκλος που οδηγεί στην παχυσαρκία

Η παχυσαρκία, οι καρδιοπάθειες και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 επηρεάζονται τόσο από τα γονίδια όσο και από τον τρόπο ζωής. Είναι επιστημονικά αποδεδειγμένο ότι η αναστάτωση στον κερκαδικό ρυθμό μπορεί να οδηγήσει και στις τρεις παραπάνω ασθένειες κι ότι η δράση της ινσουλίνης επηρεάζεται από το κερκαδικό βιολογικό ρολόι του οργανισμού. Επίσης, είναι ενδιαφέρον να αναφέρουμε ότι ο ΔΤ2 ευθύνεται για το 90% περίπου των περιπτώσεων διαβήτη. Το υπόλοιπο 10% οφείλεται σε άλλους τύπους διαβήτη. Είναι ολοφάνερο λοιπόν ότι ο διαβήτης μπορεί να οδηγήσει σε ποικίλες ασθένειες και ακραίες καταστάσεις γι' αυτό και συνεχώς γίνονται έρευνες ώστε να βρεθεί η καλύτερη αντιμετώπισή του. (Κατσαρού Βιβή, 2012)

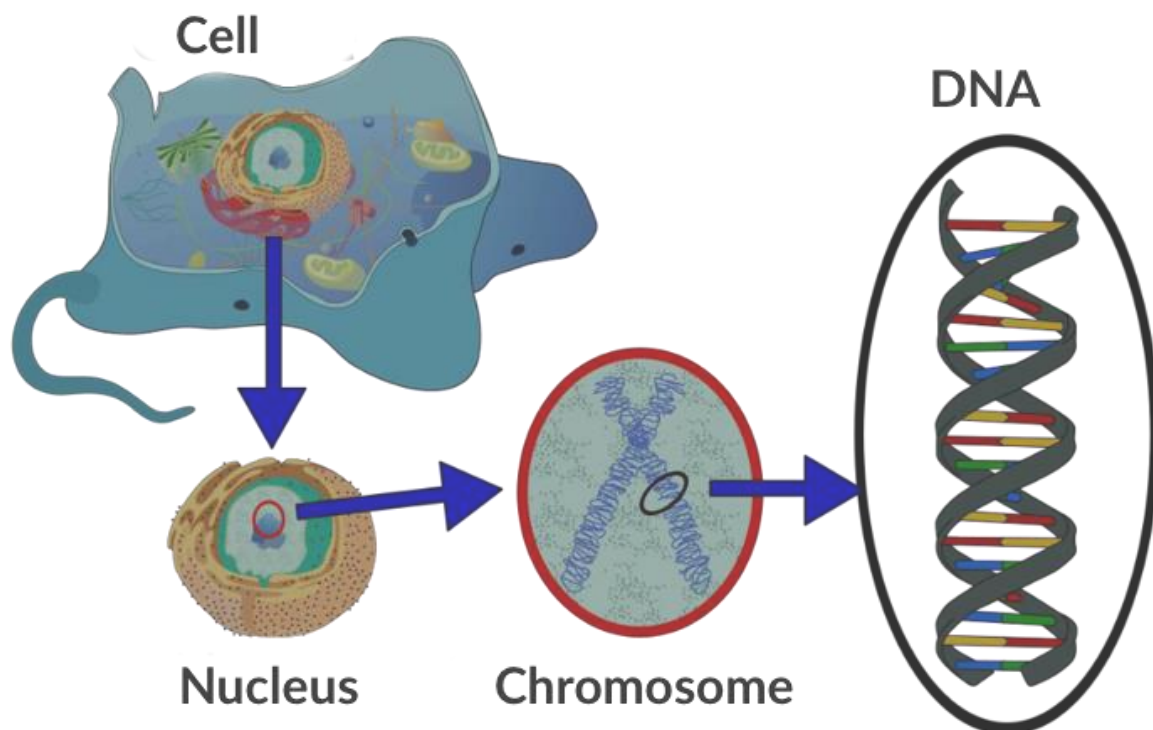
Αντιμετώπιση

Το πρώτο βήμα στην αντιμετώπιση του Διαβήτη Τύπου 2 είναι η αύξηση της άσκησης και η αλλαγή της διατροφής. Εάν αυτά τα μέτρα δεν επιφέρουν επαρκή μείωση των επιπέδων της γλυκόζης αίματος, τότε ενδέχεται να χρειαστεί η χορήγηση φαρμάκων. Οι μακροχρόνιες επιπλοκές λόγω του υψηλού σακχάρου στο αίμα μπορεί να περιλαμβάνουν τις εξής παθήσεις: καρδιοπάθεια, εγκεφαλικά επεισόδια, παθήσεις στην όραση, νεφρική

ανεπάρκεια για την αντιμετώπιση της οποίας μπορεί να χρειαστεί αιμοκάθαρση και κακή κυκλοφορία του αίματος στα άκρα που μπορεί να οδηγήσει σε ακρωτηριασμό. (2017)

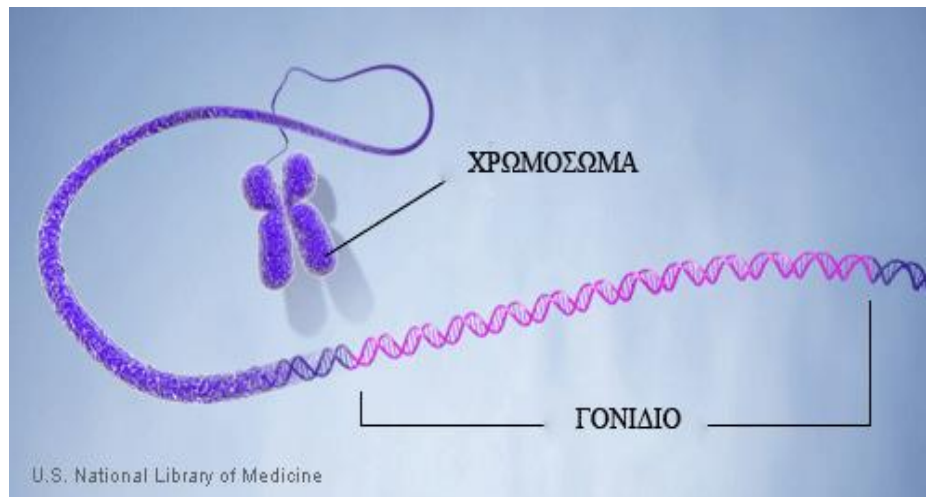
☐ ΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

Το σώμα μας αποτελείται από κύτταρα. Κάποιοι οργανισμοί, όπως ο άνθρωπος, αποτελούνται από τρισεκατομμύρια κύτταρα. Σε κάθε κύτταρο υπάρχει ο πυρήνας, με την εξαίρεση κάποιων κυττάρων, όπως τα ερυθρά αιμοσφαίρια, που δεν έχουν πυρήνα. Μέσα στον πυρήνα υπάρχει το DNA ή δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, ίδιο σε κάθε κύτταρο. Το DNA είναι ένα τεράστιο μόριο που αποτελείται από δομικές μονάδες όπως τα σάκχαρα και οι αζωτούχες βάσεις, οι οποίες ενώνονται σε σειρά η μία με την άλλη. (Γονίδια/Μεταλλάξεις)



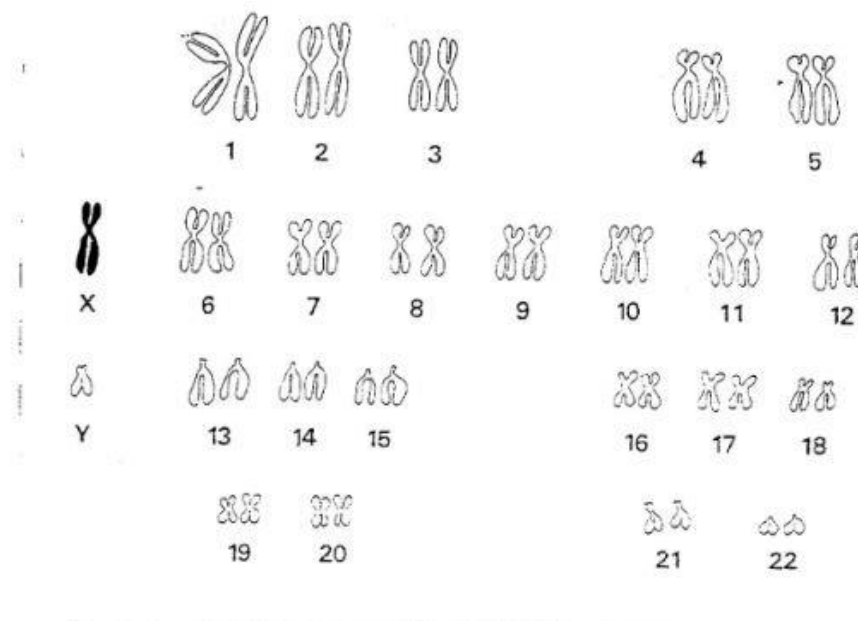
Εικόνα 3 - Στο Cell φαίνεται η δομή του κυττάρου, το Nucleus είναι ο πυρήνας του κυττάρου μέσα στον οποίο βρίσκονται τα χρωμοσώματα τα οποία αποτελούν το DNA.

Στη σειρά αυτή ή αλληλουχία, όπως λέγεται επιστημονικά, βρίσκεται η πληροφορία για την κατασκευή των πρωτεϊνών του κυττάρου. Η πληροφορία αυτή δεν είναι ενιαία, αλλά «κομμένη» σε πολλά κομμάτια πάνω στο DNA. Αυτά τα κομμάτια του DNA, οι αλληλουχίες δηλαδή βάσεων που περιέχουν πληροφορίες κατασκευής πρωτεϊνών, λέγονται γονίδια.



Εικόνα 4 - Στην εικόνα φαίνεται ένα χρωμόσωμα και ένα πιθανό γονίδιο που εμπεριέχεται σε αυτό.

Το DNA μέσα στον πυρήνα σχηματίζει διακριτές δομές που ονομάζονται χρωμοσώματα. Στον άνθρωπο υπάρχουν 46 χρωμοσώματα σε κάθε κύτταρο που φέρει πυρήνα, τα οποία σχηματίζουν 23 ομόλογα ζεύγη. (Vallianou, 2014)



Εικόνα 5 - Τα 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων του ανθρώπινου οργανισμού. 22 ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων και 1 ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων.

Είναι δηλαδή ανά δύο όμοια, με την έννοια ότι περιέχουν τα ίδια γονίδια στις ίδιες θέσεις (τα ανά δύο όμοια γονίδια, τα δύο αλληλόμορφα όπως λέμε, μπορεί ωστόσο να διαφέρουν στην πληροφορία που περιέχουν). Ένα από τα ζεύγη χρωμοσωμάτων είναι το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων, του X και του Y χρωμοσώματος. Αυτά είναι τα μόνα των οποίων η κατανομή διαφέρει μεταξύ των φύλων: Ο άντρας έχει ένα Y και ένα X (συμβολίζεται XY)

ενώ η γυναίκα έχει δύο X χρωμοσώματα (XX). Τα υπόλοιπα χρωμοσώματα λέγονται αυτοσωμικά και είναι κοινά σε όλα τα κύτταρα του ανθρώπου. Καθένα από τα χρωμοσώματα περιέχει χιλιάδες γονίδια, τα οποία διακρίνονται ανάλογα σε αυτοσωμικά και φυλετικά (τα γονίδια του ανθρώπου είναι συνολικά 30.000 περίπου).

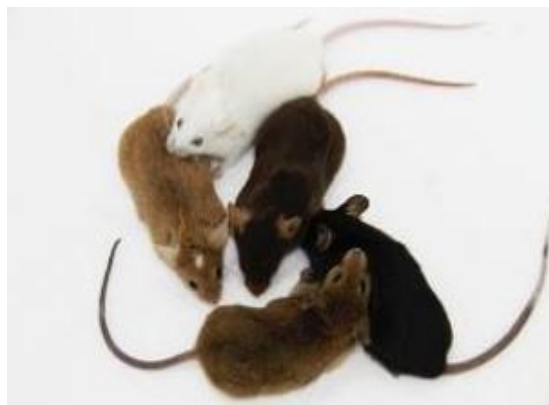
Κάθε παιδί κληρονομεί το 50% των χρωμοσωμάτων και γονιδίων του από τον πατέρα του και το άλλο 50% από τη μητέρα του. Παίρνει, δηλαδή, ένα χρωμόσωμα από κάθε ζεύγος ομολόγων χρωμοσωμάτων από τον πατέρα του και ένα χρωμόσωμα από κάθε ζεύγος ομολόγων χρωμοσωμάτων από τη μητέρα του. Αν από τον πατέρα του, που συμβολίζεται XY, πάρει το Y χρωμόσωμα θα είναι αγόρι, αν πάρει το X θα είναι κορίτσι. Από τη μητέρα του (XX) παίρνει πάντα ένα X χρωμόσωμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΕΙΡΑΜΑ

□ ΠΕΙΡΑΜΑ

Στο Πανεπιστήμιο του Tel Aviv στο Ισραήλ, έγινε ένα πείραμα από την επιστημονική ομάδα του Fuad Iraqi σε σειρές ποντικών για να μελετηθεί η ανάπτυξη της παχυσαρκίας και η συσχέτισή της με τον Διαβήτη Τύπου 2 και κατ' επέκταση με τις καρδιακές παθήσεις, μετά από μία δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (high-fat diet).



Εικόνα 6 – Τέσσερεις διαφορετικοί φαινότυποι ποντικών που αφορούν το χρώμα στο τρίχωμά τους.

Σε αυτό το πείραμα, 634 ποντικάκια, 64 σειρές (CC Lines) συμπεριλαμβανομένου και των δύο φύλων, υποβλήθηκαν σε μία δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά η οποία κράτησε για 12 εβδομάδες και γίνονταν μετρήσεις στον φαινότυπό τους (βάρος, μήκος και περιφέρεια) εβδομαδιαία. Στο τέλος της δίαιτας, έγινε ένα Τεστ Ανοχής Γλυκόζης (Intra-peritoneal glucose tolerance test, IPGTT) για να ανιχνευτεί η αντίδραση του οργανισμού στις αλλαγές του επιπέδου της γλυκόζης. Το τεστ αυτό κράτησε 180 λεπτά ξεχωριστά για την κάθε σειρά (Line).



Εικόνα 7 - Η ακολουθία διαδικασιών του πειράματος

Την επόμενη μέρα, έγινε καθαρισμός του RNA από το ήπαρ κάθε ποντικίου για να βρεθεί η γονιδιακή έκφραση που προκύπτει μετά την δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.

Επιπλέον για κάθε σειρά ποντικών καταγράφηκε ο γονότυπος τους με τη χρήση ειδικών μικροσυστοιχιών DNA που καταγράφουν το αλληλόμορφο που φέρει κάθε ποντίκι σε συγκεκριμένες θέσεις.

Η γονοτύπιση αυτή των σειρών των ποντικών μας βοήθησε να κάνουμε ανακατασκευή του γονιδιώματος των ποντικών και στη συνέχεια να βρεθούν οι θέσεις στο γονιδίωμα που στατιστικά έχουν τα πιο σημαντικά γονίδια που παίζουν ρόλο στην παχυσαρκία, τον ΔΤ2 και τις καρδιοπάθειες.

Εκτός από το ήπαρ, ζυγίστηκαν όλα τα όργανα από τα ποντικάκια και λόγω ότι τα αποτελέσματα στην μελέτη του φαινοτύπου της παχυσαρκίας έκλιναν προς τις καρδιακές παθήσεις, επιλέξαμε να μελετηθεί περαιτέρω ο φαινότυπος του σχετικού βάρους της καρδιάς με Χαρτογράφηση Γονιδιακών Τόπων.

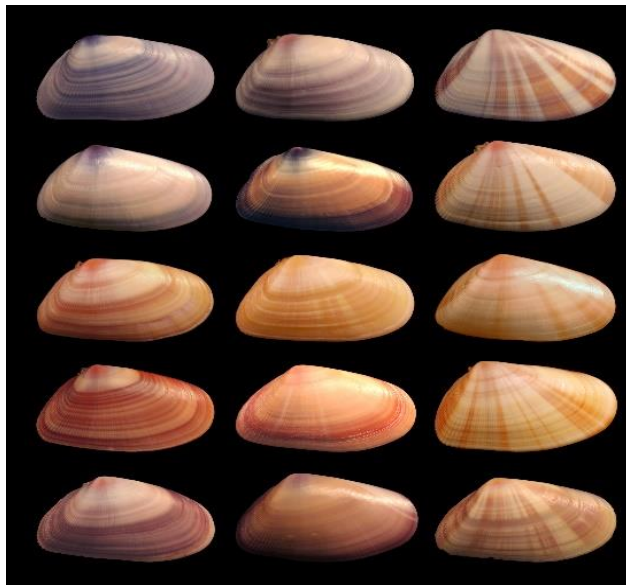
□ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ

Φαινότυπος είναι όλα τα μορφολογικά, παραγωγικά, ηθολογικά κ.λπ. χαρακτηριστικά που εκδηλώνει ένας οργανισμός σε μία δεδομένη στιγμή, δηλαδή το μέρος του γονοτύπου του οργανισμού το οποίο μπορούμε (άμεσα ή έμμεσα) να παρατηρήσουμε. (Φαινότυπος, 2017)

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι ο φαινότυπος ενός ατόμου εξαρτάται:

- Από τον γονότυπο που κληρονόμησε από τους γονείς του
- Από μη κληρονομικές περιβαλλοντικές επιδράσεις
- Από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο προηγούμενων
- Την τυχαία διαφοροποίηση

Έτσι, δύο άτομα με τον ίδιο ακριβώς γονότυπο, αλλά μεγαλωμένοι σε διαφορετικά περιβάλλοντα, πιθανότατα θα διαφέρουν στον φαινότυπό τους.



Εικόνα 8 - Άτομα του είδους *Donax variabilis* παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση στο χρώμα και συνεπώς στην έκφραση των φαινοτύπων τους.

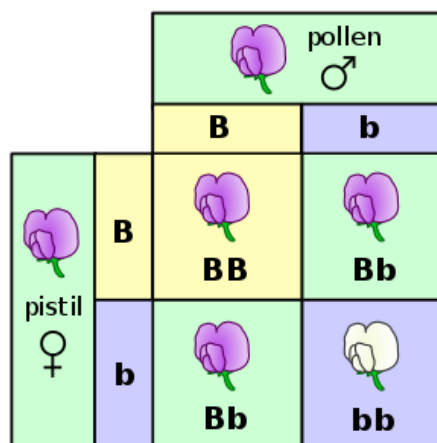
□ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ

Γονότυπος (genotype) καλείται το σύνολο των γονιδίων ενός οργανισμού, δηλαδή το σύνολο των αλληλόμορφων που απαρτίζουν το DNA του. Τα αλληλόμορφα γονίδια είναι γονίδια που δρουν για το ίδιο γνώρισμα αλλά με διαφορετικό τρόπο. Για παράδειγμα αν υπάρχουν δύο διαφορετικά γονίδια που ελέγχουν το χρώμα του άνθους ενός φυτού, τότε μεταξύ τους είναι αλληλόμορφα. Το ζευγάρι των αλληλόμορφων

συνιστά τον γονότυπο ενώ η έκφραση τους συνιστά τον φαινότυπο. Συνήθως από τα δύο αλληλόμορφα, το ένα επικρατεί έναντι του άλλου και καθορίζει τον φαινότυπο. Αυτό το αλληλόμορφο ονομάζεται επικρατές και το άλλο υπολειπόμενο. Το επικρατές συνήθως το συμβολίζουμε με ένα κεφαλαίο γράμμα, ενώ το υπολειπόμενο με ένα μικρό. Αν "A" είναι το επικρατές αλληλόμορφο που ελέγχει ένα χαρακτηριστικό, το υπολειπόμενο θα συμβολίζεται με "α". Οι δυνατοί γονότυποι από τον συνδυασμό των δύο αλληλόμορφων είναι τρεις (**AA**, **Aa**, **aa**) και οι δυνατοί φαινότυποι δύο (**A**, **a**). Ο φαινότυπος **A** εκφράζεται σε δύο περιπτώσεις, για γονότυπο **AA** και για γονότυπο **Aa** αφού το **A** είναι επικρατές. Αντίθετα ο φαινότυπος **a** εκφράζεται μόνο όταν έχουμε γονότυπο **aa**. (Γονότυπος, 2016)

Άτομα που φέρουν το ίδιο αλληλόμορφο και στις δύο θέσεις στα δύο χρωμοσώματα ονομάζονται ομοζυγωτικά, ενώ άτομα με διαφορετικά αλληλόμορφα ονομάζονται ετεροζυγωτικά.

Με αυτόν τον ορισμό, ο γονότυπος είναι ένα μέγεθος το οποίο δεν είναι παρατηρήσιμο.



Εικόνα 9 - Εδώ φαίνεται η σχέση μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου για το χρώμα των πετάλων στο λουλούδι του φασολιού. Τα B και b είναι γονίδια για το χρώμα, ενώ στα μικρά τετράγωνα φαίνονται τα λουλούδια που προκύπτουν από τη σύζευξη του αρσενικού με το θηλυκό λουλούδι.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

QTL ΑΝΑΛΥΣΗ

❑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΤΟΠΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ (QTL ANALYSIS)

Γενικά, QTL Analysis (Quantitative Trait Locus Analysis) είναι η στατιστική μέθοδος που συνδέει τα δεδομένα φαινότυπου και γονότυπου με σκοπό να βρει τις γενετικές βάσεις που υπάρχουν σε κάποια χαρακτηριστικά. Στην προκειμένη περίπτωση τα χαρακτηριστικά αυτά είναι η παχυσαρκία, ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 και οι καρδιοπάθειες.

Quantitative Trait ονομάζεται οποιοδήποτε μετρήσιμο ποσό όπως για παράδειγμα η πίεση, το σωματικό βάρος, το Ρh, ακόμα κι ο Διαβήτης λέμε ότι είναι μετρήσιμο ποσό.

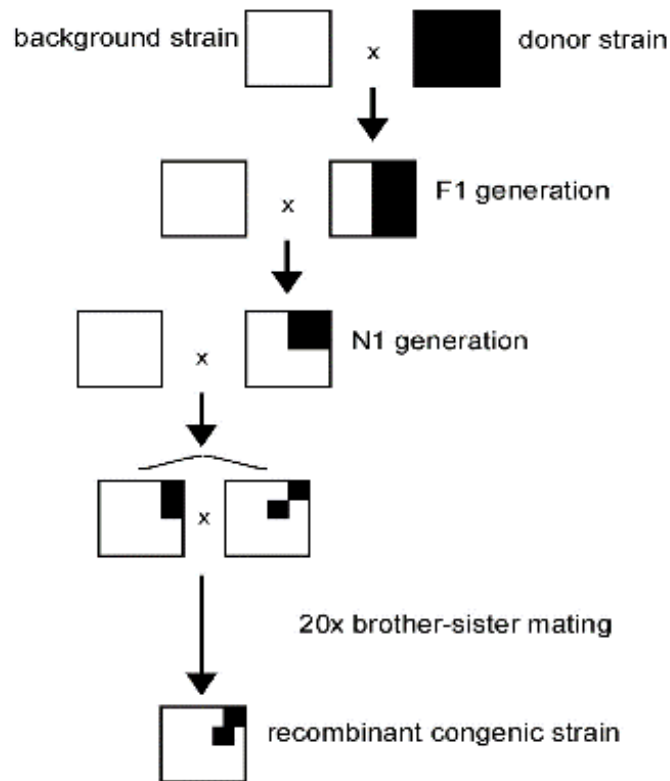
❑ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΕΙΡΕΣ ΠΟΝΤΙΚΙΩΝ (COLLABORATIVE CROSS LINES)

Τα ποντίκια που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα μοιάζουν πολύ μεταξύ τους.

Αυτό συμβαίνει γιατί είναι γενετικά σχεδόν ίδια, δηλαδή έχουν το ίδιο DNA.

Ξεκινώντας από 8 γονικές σειρές, έγιναν ποικίλες διασταυρώσεις μεταξύ τους για να δημιουργηθούν διαφορετικές σειρές ποντικών με μεγάλη γενετική ποικιλότητα και στη συνέχεια διασταυρώθηκαν αδέρφια μεταξύ τους για πολλές γενιές ώστε να επιτευχθεί υψηλό ποσοστό ομοζυγωτίας και να καταλήξουν να είναι γενετικά σχεδόν ίδια.

Στην παρακάτω Εικόνα φαίνεται πώς γίνονται οι διασταυρώσεις αυτές μεταξύ των ποντικών. Δύο διαφορετικά ποντίκια ζευγαρώνουν και ένα νέο ποντίκι (F1) γεννιέται με ένα χρωμόσωμα από τον πατέρα κι ένα από τη μητέρα. Ο γόνος F1 διασταυρώνεται με τον έναν γονιό και ένα νέο ποντίκι (N1) γεννιέται. Η διαδικασία συνεχίζεται με διασταυρώσεις αδελφός με αδελφή μέχρι τα ποντίκια να έχουν πανομοιότυπο γονιδίωμα.



Εικόνα 10 – Διασταυρώσεις μεταξύ σειρών ποντικών (CC Lines) ώστε να επιτευχθεί ομοζυγωτία.

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 64 Σειρές (Strains) ποντικών για να βρεθούν οι γενετικοί δείκτες (markers) που ξεχωρίζουν ανάμεσα στις διαφορετικές Σειρές. Αυτό επιτυγχάνεται με την διαδικασία της Χαρτογράφησης Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων (QTL Mapping).

❑ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

Χαρτογράφηση ανθρώπινου γονιδιώματος

Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος (DNA sequencing), το μεγαλύτερο μέχρι σήμερα εγχείρημα στην ιστορία της βιολογίας, άλλαξε ριζικά την ιατρική. Το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει το σύνολο της γενετικής πληροφορίας και αποτελείται περίπου από τρία δισεκατομμύρια βάσεις, που κατανέμονται στα 22 αυτοσωμικά χρωμοσώματα και τα 2 χρωμοσώματα του φύλου. Υπολογίζεται ότι υπάρχουν 50.000 – 100.000 γονίδια των οποίων οι κωδικοποιούσες περιοχές καλύπτουν το 2-3% του συνολικού DNA. Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος άρχισε το 1990 από την ακαδημαϊκή κοινότητα. Τα μέχρι σήμερα και τα αναμενόμενα οφέλη αφορούν τη γενετική διάγνωση και τις νέες θεραπευτικές μεθόδους. Η γενετική διάγνωση εφαρμόζεται για την πρόληψη και την προκλινική διάγνωση μονογονιδιακών νοσημάτων. Περίπου 1000 γενετικά νοσήματα έχουν μελετηθεί σε μοριακό επίπεδο και έχει μελετηθεί το υπεύθυνο για το νόσημα γονίδιο και οι αντίστοιχες

μεταλλάξεις. Όσον αφορά τα πολυγονιδιακά νοσήματα, η ανίχνευση της γενετικής προδιάθεσης σε συνδυασμό με την αποφυγή συγκεκριμένων περιβαλλοντικών επιδράσεων θα οδηγήσει στη μείωση του κινδύνου εκδήλωσης του νοσήματος ή την αναστολή της επιδείνωσης της κλινικής του πορείας. (E. Καναβάκης, 2001)

Ουσιαστική βοήθεια στην ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος προσφέρει η συγκριτική γονιδιωματική, η παράλληλη δηλαδή χαρτογράφηση του γονιδιώματος πρότυπων οργανισμών.

Το γενετικό υλικό που κληρονομείται από τους γονείς είναι αυτό που καθορίζει όχι μόνο τα εξωτερικά χαρακτηριστικά του ατόμου, αλλά επίσης τη μοριακή βάση της οργανογένεσης, της ομοιόστασης και της αναπαραγωγής. Επιπλέον, η βάση όλων των γενετικών ανωμαλιών βρίσκεται σε αλλαγές που συμβαίνουν στο μόριο του DNA.

Το κόστος της χαρτογράφησης τους γενετικού κώδικα ενός ασθενή έπεσε αισθητά, και μέχρι το 2007 οι επιστήμονες μπορούσαν να συνδέσουν συγκεκριμένα γονίδια με το διαβήτη, την αρθρίτιδα, την υπέρταση αλλά και την παχυσαρκία. Μαζί με αυτά ήρθαν και τα προγράμματα ανίχνευσης ανθρώπων, που διατρέχουν μεγαλύτερο γονιδιακό κίνδυνο για την εκδήλωση των ασθενειών αυτών.

Τα στάδια του προγράμματος αυτού είναι τα εξής:

- Καθορισμός του γενετικού και φυσικού χάρτη
- Ανάλυση της αλληλουχίας του DNA
- Ανάπτυξη της τεχνολογίας αυτόματης ανάλυσης της αλληλουχίας του DNA
- Μελέτη ετερογένειας στο ανθρώπινο γονιδίωμα – πολυμορφισμοί SNPs
- Εντόπιση γονιδίων
- Μελέτη έκφρασης γονιδίων
- Ανάλυση γονιδιώματος άλλων οργανισμών

Με την ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του γονιδιώματος, ο τομέας της διάγνωσης αναμένεται να αποκομίσει τα περισσότερα οφέλη με τη διερεύνηση του φάσματος των γενετικών νοσημάτων στα οποία θα μπορέσει να προσφερθεί η προγεννητική διάγνωση και την ανίχνευση ατόμων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο (γενετική προδιάθεση) για νοσήματα, όπως καρκίνο, σακχαρώδη διαβήτη, αρτηριοσκλήρωση.

Τα στοιχεία που προκύπτουν από την ανάλυση των διαφόρων γονιδιωμάτων καταχωρούνται σε βάσεις δεδομένων (όπως Cdna libraries, EST data-expressed sequenced tags). Για παράδειγμα, δύο προγράμματα ανάλυσης των δεδομένων αυτών είναι τα XREFdb και DRES.

XREFdb

Στο XREFdb, γονίδια πρότυπων οργανισμών συγκρίνονται με γονίδια που έχουν μεταλλαχθεί σε ανθρώπινες παθήσεις.

DRES

Το DRES (Drosophila – Related Expressed Sequences) επιτρέπει τον προσδιορισμό ανθρώπινων γονιδίων που ευθύνονται για την εμφάνιση μεταλλαγμένων φαινότυπων στην Drosophila. Προκύπτουν έτσι γονίδια υποψήφια για το συσχετισμό τους με ανθρώπινες παθήσεις.

Επιπλέον, η συγκριτική ανάλυση των μη κωδικοποιημένων περιοχών του DNA στον άνθρωπο και σε οργανισμούς όπως τα ποντίκια, απέδειξε το μεγάλο βαθμό διατήρησης των αλληλουχιών αυτών κατά την εξέλιξη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

HAPPY PACKAGE

□ ΠΑΚΕΤΟ «HAPPY»

Οι περισσότεροι φαινότυποι που είναι σημαντικοί για την ιατρική μπορούν να μετρηθούν ποσοτικά (quantitatively), και σε πολλές περιπτώσεις η γενετική συμβολή είναι σημαντική, αντιστοιχώντας στο 40% και πάνω της φαινοτυπικής διακύμανσης. Σημαντικές προσπάθειες έχουν γίνει για να απομονωθούν τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την ποσοτική γενετική διαφοροποίηση (quantitative genetic variation) σε ανθρώπινους πληθυσμούς. (Mott, 2013)

Το πακέτο HAPPY είναι ένα πακέτο της γλώσσας προγραμματισμού R που το χρησιμοποιήσαμε για να γίνει αρχικοποίηση και ανάλυση των δεδομένων μας. Είναι μία επέκταση του αρχικού πακέτου HAPPY που γράφτηκε στην γλώσσα C. Έτσι, χρησιμοποιεί την γλώσσα C για να υπολογίσει την πιθανότητα για κάθε σημείο του γονιδιώματος να φέρει ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο και στη συνέχεια τη συνεισφορά κάθε θέσης στον φαινότυπο. Εκτός από αυτό, παρέχει και μία ευρύτερη εμβέλεια εργαλείων και επιλογών που βοηθούν στον υπολογισμό και την παρουσίαση των δεδομένων.

Ένας αλγόριθμος Δυναμικού Προγραμματισμού χρησιμοποιήθηκε για να υπολογίσει την πιθανότητα F_{iLst} που ένα γνωστό άτομο i έχει τα γονικά αλληλόμορφα s . Το t είναι μεταβλητή πάνω σε όλη την πληροφορία του γονιδιώματος του συγκεκριμένου ατόμου, σε μία τοποθεσία L . Ο αναμενόμενος φαινότυπος είναι:

$$y = \sum T_{st} F_{iLst}$$

Αφού,

$$T = T_{st} = T_s + T_t$$

Χρησιμοποίησα το πακέτο HAPPY στο περιβάλλον της R(R version 3.4.0), RStudio έκδοση:Version 0.99.903.

Παρακάτω φαίνεται πώς έγινε η επεξεργασία των δεδομένων ώστε να γίνει στη συνέχεια η Χαρτογράφηση Γονιδιακών Τόπων Ποσοτικών Ιδιοτήτων (QTL mapping).

Οι εντολές έτρεξαν ξεχωριστά για τα αρσενικά και τα θηλυκά και, για το κάθε ένα από αυτά ξεχωριστά για το κάθε χρωμόσωμα (τα ποντίκια έχουν 20 χρωμοσώματα).

- **Η συνάρτηση happy()**

Η πρώτη συνάρτηση είναι η `happy()`, η οποία αρχικοποιεί τα δεδομένα με Δυναμικό Προγραμματισμό στη C, ώστε να χρησιμοποιηθούν στην επόμενη συνάρτηση την `hfit()`. Αυτό που κάνει στην ουσία, είναι να ανακατασκευάζει την αλληλουχία του DNA και να υπολογίζει την πιθανότητα του κάθε ποντικιού, να έχει το γονικό αλληλόμορφο σε κάθε θέση. Έχω δύο αρχεία για το κάθε χρωμόσωμα, τα οποία περιέχουν τις γενετικές πληροφορίες των ποντικών. Το ένα αρχείο ("`chr1.edited.alleles`") περιέχει τα διαφορετικά αλληλόμορφα του DNA των γονικών σειρών, και το άλλο αρχείο ("`chr1.edited.data`") περιέχει τις γνωστές βάσεις από κάποια σημεία του γονιδιώματος των διαφορετικών σειρών ποντικών που προέκυψαν από τη γονοτύπηση με μικροσυστοιχίες.

Αυτό που κάνει λοιπόν η συνάρτηση, είναι να συγκρίνει τις αλληλουχίες των δύο αρχείων και να ανακατασκευάζει την αλληλουχία του DNA με βάση τις γνωστές βάσεις και τις γονικές αλληλουχίες.

Για το 1^ο χρωμόσωμα λοιπόν έχουμε,

```
> library(happy.hbrem)
> chr1_hp <- happy("Documents/chr1.edited.data", "Documents/chr1.edited.alleles",
generations = 17, file.format = "ped")
```

Όπου,

chr1.edited.data = Αρχείο με γνωστές βάσεις από κάποιους γενετικούς δείκτες σε τύπο αρχείου HAPPY.

chr1.edited.alleles = Αρχείο με όλες τις αλληλόμορφες βάσεις του γονιδιώματος των γονέων.

generations = Είναι ο Μέσος Όρος των γενεών διασταύρωσης για κάθε σειρά ποντικών(CC line).

file.format = Ο τύπος του αρχείου. Ή θα είναι "`happy`" ή "`ped`". Τα αρχεία "`happy`" περιέχουν πληροφορίες μόνο για το άτομο που μας ενδιαφέρει και όχι για κάποιο προηγούμενο γονιό του. Ενώ τα αρχεία "`ped`", είναι σαν τα "`happy`" αλλά εκτός από το όνομα και τον φαινότυπο του ατόμου που μας ενδιαφέρει, έχει στήλες με πληροφορίες και για την «μητέρα», τον «πατέρα» και το «φύλο».

- **Η συνάρτηση hfit()**

Η δεύτερη συνάρτηση είναι η `hfit()`, η οποία παίρνει ως είσοδο το αποτέλεσμα της `happy()` (τις τοποθεσίες στο γονιδίωμα) και τον φαινότυπο που μας ενδιαφέρει (στην προκειμένη περίπτωση ο φαινότυπός μας είναι το ποσοστό του βάρους της καρδιάς των ποντικών σε σχέση με το βάρος σώματός τους) και επιστρέφει μία λίστα με τα $\log P$ values¹ και τις θέσεις (cM) τους στο χρωμόσωμα. Δηλαδή, εξετάζει σε κάθε περιοχή (loci) του γονιδιώματος για σημαντικούς γενετικούς δείκτες (significant markers) εξετάζοντας κάθε φορά την πιθανότητα

¹ $\log P$ = Ο αρνητικός λογάριθμος της τιμής p -value, η οποία αντιπροσωπεύει έναν δείκτη της αξιοπιστίας ενός αποτελέσματος.

της προέλευσης από την γονική σειρά για να εκτιμήσει την επίδραση στον φαινότυπο που προκύπτει από κάθε γονιό.

```
> fit1_f <- hfit(chr1_hp, model = "full", phenotype = phenotype_females)
```

Όπου,

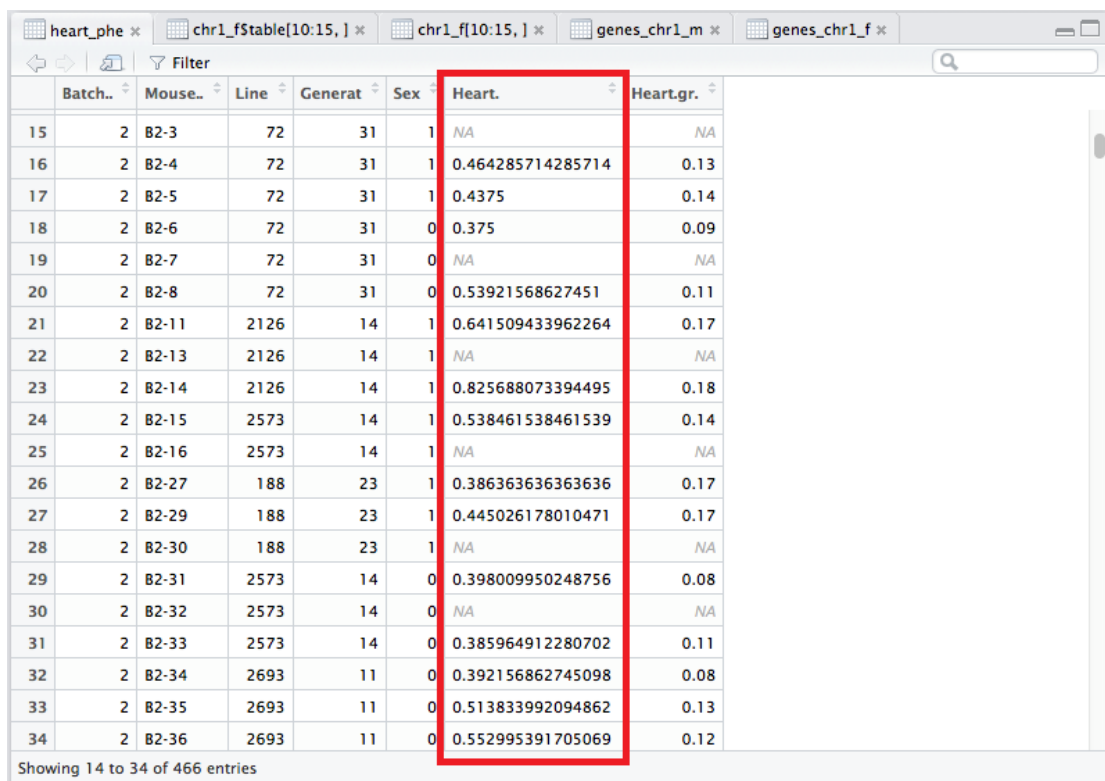
chr1_hp = το αντικείμενο που επιστρέφει η προηγούμενη εντολή `harry()`

model = ο τύπος του μοντέλου που τρέχει. Ή θα είναι "additive" όπου και θα αντιμετωπίζεται κάθε γενετικός δείκτης (`marker`) ξεχωριστά, ή θα είναι "full" και θα λαμβάνεται υπόψη και η αλληλεπίδραση μεταξύ διαφόρων `markers`.

phenotype = είναι η μέση τιμή (`median`) του ποσοστού του βάρους της καρδιάς ως προς το συνολικό βάρος του κάθε ποντικιού. Την τιμή αυτή την έχω ήδη υπολογίσει ξεχωριστά για τα θηλυκά και τα αρσενικά ποντίκια από πριν και είναι,

```
> phenotype_females -> median(as.numeric(levels(females$Heart.)), na.rm=TRUE)
```

```
> phenotype_males -> median(as.numeric(levels(males$Heart.)), na.rm=TRUE)
```



Batch..	Mouse..	Line	Generat	Sex	Heart.	Heart.gr.	
15	2	B2-3	72	31	1	NA	NA
16	2	B2-4	72	31	1	0.464285714285714	0.13
17	2	B2-5	72	31	1	0.4375	0.14
18	2	B2-6	72	31	0	0.375	0.09
19	2	B2-7	72	31	0	NA	NA
20	2	B2-8	72	31	0	0.53921568627451	0.11
21	2	B2-11	2126	14	1	0.641509433962264	0.17
22	2	B2-13	2126	14	1	NA	NA
23	2	B2-14	2126	14	1	0.825688073394495	0.18
24	2	B2-15	2573	14	1	0.538461538461539	0.14
25	2	B2-16	2573	14	1	NA	NA
26	2	B2-27	188	23	1	0.386363636363636	0.17
27	2	B2-29	188	23	1	0.445026178010471	0.17
28	2	B2-30	188	23	1	NA	NA
29	2	B2-31	2573	14	0	0.398009950248756	0.08
30	2	B2-32	2573	14	0	NA	NA
31	2	B2-33	2573	14	0	0.385964912280702	0.11
32	2	B2-34	2693	11	0	0.392156862745098	0.08
33	2	B2-35	2693	11	0	0.513833992094862	0.13
34	2	B2-36	2693	11	0	0.552995391705069	0.12

Εικόνα 11 - Στη στήλη `Heart.` φαίνεται το ποσοστό του βάρους της καρδιάς ως προς το συνολικό βάρος.

- **Η συνάρτηση happyplot()**

Η happyplot(), απλά αναπαριστά με τη βοήθεια διαγράμματος τη σχέση της κάθε θέσης (cM) του χρωμοσώματος με τη στατιστική επίδραση που έχει στο φαινότυπο (logP) και παίρνει ως είσοδο (input) το αποτέλεσμα της hfit().

```
> happyplot() -> (fit1_f, mode = "logP", main = "chr1_fit", ylab = "logP", xlab = "cM")
```

Όπου,

fit1_f = το αντικείμενο που επιστρέφει η προηγούμενη εντολή hfit().

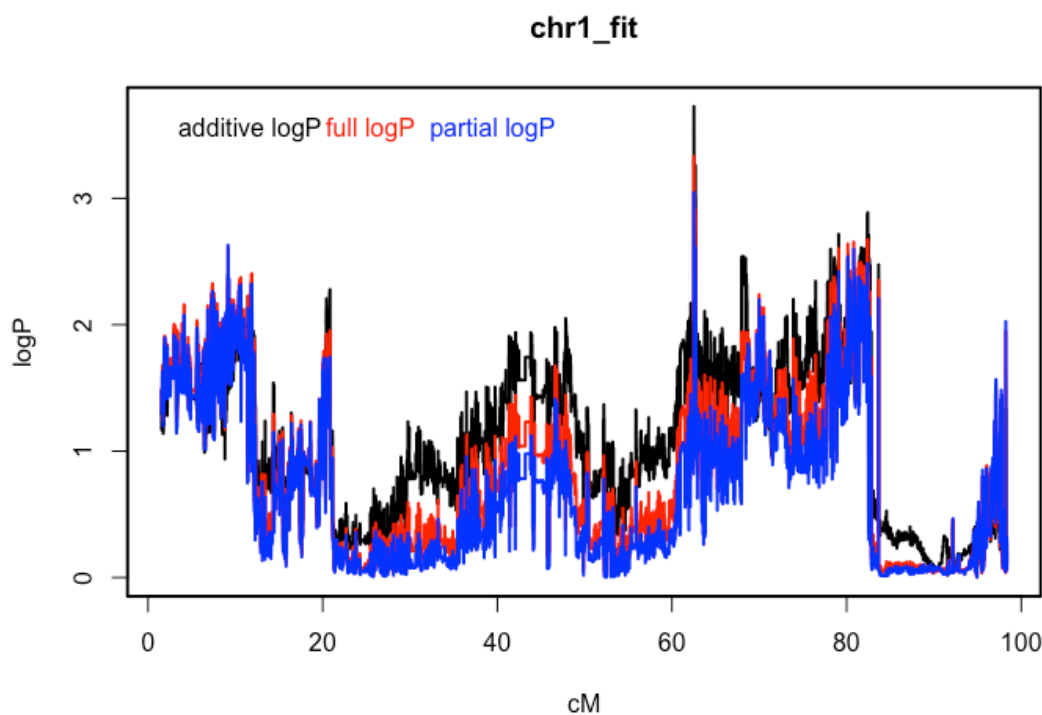
mode = η κατάσταση του διαγράμματος είναι logP, ο αρνητικός λογάριθμος της τιμής p_value με βάση το 10.

main = Το όνομα που δίνω στο διάγραμμα.

ylab = η ταμπέλα του άξονα y

xlab = η ταμπέλα του άξονα x

```
> write.table(fit1_f$table, " Documents/chr1_f_table.txt") /*Ο πίνακας αποθηκεύτηκε με το όνομα chr1_table στον φάκελο Documents.*/*
```



Εικόνα 12 - Διάγραμμα happyplot για το χρωμόσωμα 1.

additive logP: αντιμετωπίζεται ο κάθε marker ξεχωριστά και το σύνολο των markers αθροιστικά μεταξύ τους.

full logP: λαμβάνεται υπόψιν και η αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφόρων markers.

partial logP: δείχνει πόσο αποκλίνει το ένα από το άλλο.

Το επόμενο βήμα είναι να βρεθούν τα logP που οι τιμές τους βρίσκονται στο 5% των μεγαλύτερων τιμών. Σε μία λίστα λοιπόν, συγκεντρώνονται όλες οι τιμές full logP από όλα τα χρωμοσώματα ξεχωριστά για θηλυκά και αρσενικά, για να βρεθεί η τιμή cutoff (95%) και να πάρουμε μόνο όσα είναι μεγαλύτερα από αυτήν την τιμή.

```
> head(chr1_f_table)
      cM      marker additive.logP full.logP partial.logP
1 1.518111 JAX000000002      0.3695063 0.07789893 0.02709246
2 1.518863 JAX000000003      0.3690989 0.07766016 0.02696654
3 1.522380 JAX00240566      0.3641775 0.07480557 0.02547588
4 1.525424 JAX00240567      0.3723391 0.07956124 0.02797178
5 1.525804 JAX000000004      0.3726024 0.07971632 0.02805416
6 1.526468 JAX00240569      0.3735851 0.08029365 0.02836068
```

Εικόνα 13 - Από το αρχείο chr1_f_table χρειαζόμαστε την στήλη full.logP

Η λίστα με τα full logP για τα θηλυκά:

```
> full_logp_list_f <- c(chr1_f_table[,4], chr2_f_table[,4], ....., chrX_f_table[,4])
```

Η λίστα για τα αρσενικά:

```
> full_logp_list_m <- c(chr1_m_table[,4], chr2_m_table[,4], ....., chrX_m_table[,4])
```

Βρίσκω το cutoff του 95%:

```
> cutoff_females <- quantile (full_logp_list_f, probs = 0.95)
```

```
> cutoff_males <- quantile (full_logp_list_m, probs = 0.95)
```

Παίρνω τους markers που έχουν full logP πάνω από το cutoff για το κάθε χρωμόσωμα ξεχωριστά:

```
> logP_values_1_f <- chr1_f_table[which(chr_f_table[,4] > cutoff_females),]
```

Από τα αρχεία .map που έχω για το κάθε χρωμόσωμα, κρατάω τους markers με τα significant logP και τις θέσεις τους (bp^{2*}):

```
> markers_chr1_f <- subset(chr1.edited.map, subset = marker, %in% logP_values_1_f[,2])
```

² bp = base pair. Ζεύγος βάσης στο DNA.

```

> head(markers_chr1_f)
      marker chromosome      bp
1820 JAX00001692         1 25754788
1823 JAX00244924         1 25787109
1825 JAX00244933         1 25822803
1827 JAX00244945         1 25837305
1828   UNC312831         1 25838944
1829 JAX00244947         1 25839222
> |

```

Εικόνα 14 - Αρχείο .map για το 1^ο χρωμόσωμα. bp = base pair, είναι το ζευγάρι βάσεων στο οποίο βρίσκεται ο συγκεκριμένος marker.

Οι βάσεις που αντιστοιχούν στους συγκεκριμένους markers, είναι οι τοποθεσίες στο γονιδίωμα που θέλουμε να εξετάσουμε αν υπάρχουν γονίδια που συσχετίζονται με την παχυσαρκία και τις καρδιοπάθειες.

Μία βιβλιοθήκη που μας βοηθάει να το κάνουμε αυτό είναι τα SNPtools και μας παρέχει πρόσβαση στα δεδομένα της βάσης δεδομένων MGI (Mouse Genome Informatics). Το SNPtools μας βοηθάει να βρούμε ποια γονίδια εντοπίζονται στις θέσεις του γονιδιώματος που έχουμε βρει ότι επηρεάζουν το φαινότυπο. Ορίζουμε εμείς την περιοχή του γονιδιώματος που θέλουμε να εξετάσουμε, και ο αλγόριθμος εξετάζει με τη σειρά του αν υπάρχει κάποιο γονίδιο μέσα από την λίστα γονιδίων της MGI.

Η στήλη bp στην παραπάνω εικόνα είναι και οι τοποθεσίες που μας ενδιαφέρουν. Επειδή όμως το γονιδίωμα δεν αποτελείται μόνο από ένα ζεύγος βάσεων αλλά από πολλές, και επιπλέον βάσεις εκτός της αλληλουχίας ενός γονιδίου μπορούν να επηρεάσουν την έκφρασή του, επιλέξαμε να εξετάσουμε τις περιοχές σε εύρος δύο χιλιάδες βάσεις πριν και δύο χιλιάδες βάσεις μετά από τους στατιστικά σημαντικούς markers.

```

> startbp_1_f <- markers_chr1_f[,3]-2000
> endbp_1_f <- markers_chr1_f[,3]+2000
> table1_f <- data.frame (markers_chr1_f, startbp_1_f, endbp_1_f)
> head(table1_f)
      marker chromosome      bp startbp_1_f endbp_1_f
1820 JAX00001692         1 25754788   25752788  25756788
1823 JAX00244924         1 25787109   25785109  25789109
1825 JAX00244933         1 25822803   25820803  25824803
1827 JAX00244945         1 25837305   25835305  25839305
1828   UNC312831         1 25838944   25836944  25840944
1829 JAX00244947         1 25839222   25837222  25841222
> |

```

Εικόνα 15 - startbp: 2000 βάσεις πριν τον marker και endbp: 2000 βάσεις μετά τον marker.

- **Η συνάρτηση `get.mgi.features()`**

Η συνάρτηση `get.mgi.features()` εδώ συγκρίνει την αλληλουχία των βάσεων, που βρίσκονται στις τοποθεσίες που ορίσαμε προηγουμένως, με τις καταχωρημένες αλληλουχίες βάσεων που σχηματίζουν γονίδια από την Βάση Δεδομένων MGI.

```
> genes_chr1_f <- get.mgi.features(file = "Documents/.../MGI.20130305.sorted.txt.gz", chr = table1_f[,2], start=table1_f[,4], end = table1_f[,5], source = "MGI", type = "gene")
```

Τα ονόματα των γονιδίων που βρέθηκαν φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.

	Name
1	Fam124b
2	Nyap2
3	4933436I20Rik
4	Pid1
5	Trip12
6	Fbxo36
7	Slc16a14
8	Csprs
9	C130026I21Rik

Εικόνα 16 - Τα ονόματα των γονιδίων που βρίσκονται στις περιοχές του γονιδιώματος που εξετάσαμε.

Αποθηκεύοντας την κάθε λίστα με τις ονομασίες των γονιδίων σε ξεχωριστά αρχεία `.txt`, καταλήγουμε να έχουμε 20 αρχεία (ένα για κάθε χρωμόσωμα) για τα θηλυκά και 20 για τα αρσενικά.

```
> write.table (genes_chr1_b, "Documents/.../genes_chr1_f.txt")
```

☐ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Χάρη στην ενοποίηση των διαφόρων βάσεων δεδομένων μπορεί κανείς να αποκτήσει πολύ περισσότερες πληροφορίες με λίγα μόνο πατήματα των πλήκτρων του υπολογιστή. Για παράδειγμα, στην ενότητα "Sonic hedgehog" της ιστοσελίδας UCSC υπάρχουν υπερσυνδέσεις προς τη Βάση Δεδομένων Πληροφορικής του Γονιδιώματος του Ποντικού (Mouse Genome Informatics). (James D. Watson)

Το μεγάλο μέγεθος του ανθρώπινου γονιδιώματος και το γεγονός ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό του γονιδιώματος κωδικοποιεί πρωτεΐνες καθιστούν τον εντοπισμό των γονιδίων στο γονιδίωμα ιδιαίτερα δύσκολο. Παρά την πολυπλοκότητα του προβλήματος, τα τελευταία χρόνια έχουν σημειωθεί σημαντικά άλματα στον εντοπισμό και στην καταγραφή των γονιδίων του γονιδιώματος.

Οι επιστήμονες που μελετούν την αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος ελπίζουν ότι τα δεδομένα που συλλέγουν θα οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση της γενετικής βάσης των ανθρώπινων διαταραχών. Το Πρόγραμμα του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (Human Genome Project), πρόσφερε σημαντικές πληροφορίες στην επιστημονική κοινότητα και συντέλεσε στην ανάπτυξη καινοτόμων τεχνολογικών εξελίξεων.

Οι γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο σε κάθε ασθένεια. Διαταραχές προκύπτουν όταν τα χρωμοσώματα βρίσκονται σε μεγαλύτερο ή μικρότερο αριθμό, όταν τμήματα ενός χρωμοσώματος χάνονται ή διπλασιάζονται ή μετατοπίζονται σε άλλο χρωμόσωμα και, τέλος, όταν μεταλλάξεις μικρότερης έκτασης αλλάζουν κωδικόνια* ή τροποποιούν ρυθμιστικές περιοχές. Σε πολλές κοινές διαταραχές ο σημαντικός ρόλος του γενετικού παράγοντα είναι δεδομένος, αλλά σε μεγάλο βαθμό παραμένει άγνωστος όπως για παράδειγμα ισχύει και στον Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2.

Με τον τρόπο αυτό, οι συγκριτικές αναλύσεις δε μας βοηθούν απλώς να κατανοήσουμε τη βασική βιολογία της λειτουργίας μίας πρωτεΐνης αλλά και μας δείχνουν πώς οι μεταλλαγές των πρωτεϊνών μπορούν να επηρεάσουν την εμφάνιση φαινοτύπων όπως ο καρκίνος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

BIOINFOMINER (BIM)

□ ΤΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ BIOINFOMINER

Το BioInfoMiner είναι ένα online εργαλείο-εφαρμογή που δίνει τη δυνατότητα μίας συνοπτικής και ολοκληρωμένης ερμηνείας των μοριακών πειραμάτων. Συνδυάζει υπολογιστικές μεθοδολογίες και τεχνικές απεικόνισης δεδομένων με σκοπό να δημιουργήσει σαφείς εικονικές αναπαραστάσεις της κυτταρικής πολυπλοκότητας παίρνοντας δεδομένα από ογκώδεις, μεγάλων διαστάσεων μοριακές Βάσεις Δεδομένων που εμπεριέχουν πληροφορίες για το γονιδίωμα ολόκληρης της λειτουργικής του δυνατότητας.

Η επίσημη σελίδα του εργαλείου: <https://e-nios.com/bioinfominer/>

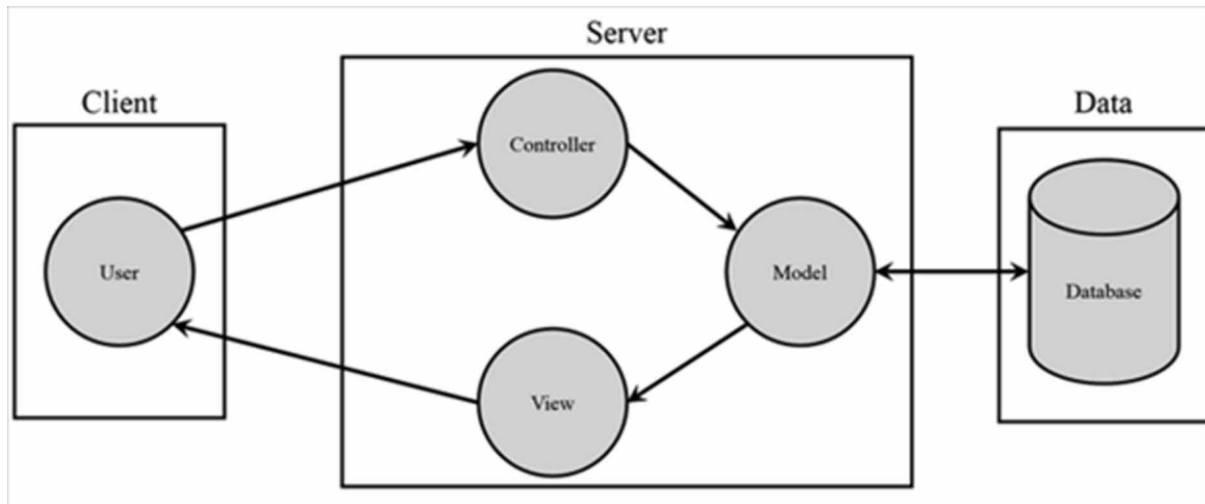
Η υπολογιστική ανάλυση του BioInfoMiner έχει βασιστεί στις λειτουργίες δύο βασικών αλγορίθμων, του StRAnGER και GOrevenge.

Ο αλγόριθμος StRAnGER, αναλύει τα γονίδια που του οργανισμού που του δίνουμε ως input, και αναδεικνύει τις στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες οντολογίας σε Βάσεις Δεδομένων όπως η Gene Ontology (GO), η Human Phenotype Ontology (HPO) και η Reactome Pathways Database. Έτσι καταφέρνει να αναδείξει σημαντικές πτυχές της λειτουργίας του κυττάρου και του φαινοτύπου, επισημαίνει αξιοσημείωτους μοριακούς μηχανισμούς για τα βιολογικά δεδομένα που εξετάζονται.

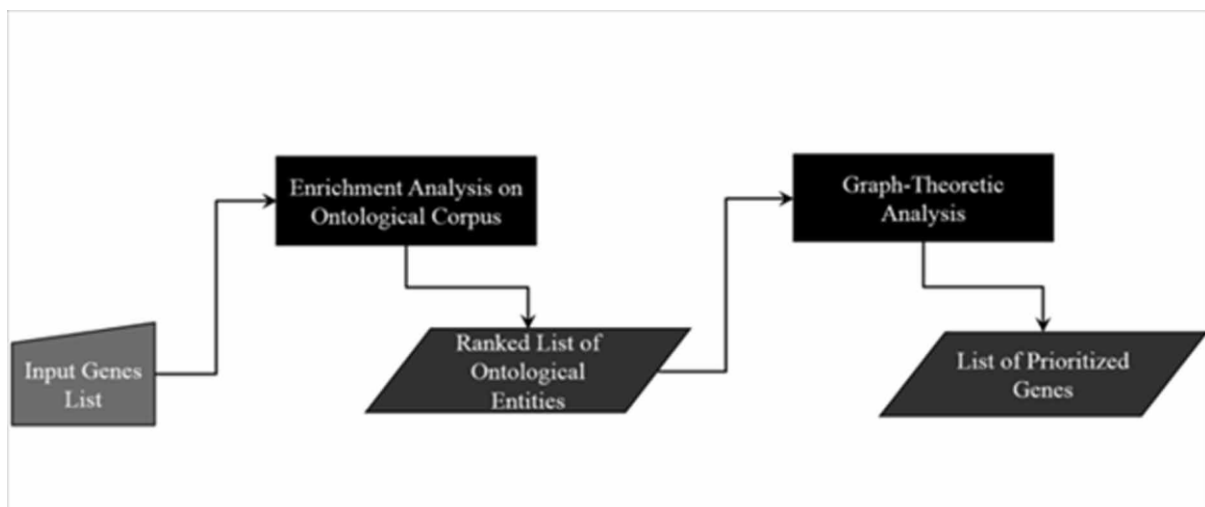
Ο αλγόριθμος επιτυγχάνει να μειώσει σημαντικά το θόρυβο από τα αρχικά μας δεδομένα και επιστρέφει του τελικούς όρους ταξινομημένους με βάση μία corrected p-value. Η τελική λίστα με τους όρους που έχουν μικρότερο p_value, αναπαριστά τα βασικά «συστατικά» που εμπλέκονται στην εκδήλωση του φαινοτύπου που δίνεται και αποτελεί ένα στιγμιότυπο που συνδέει και ενσωματώνει τα γονίδια που έχουν εξεταστεί σε ευρύτερες λειτουργικές ομάδες που μπορούν να θεωρηθούν απαραίτητες για τον σχηματισμό του κυτταρικού φαινοτύπου. Επιπλέον, οι προαναφερθείσες Βάσεις Δεδομένων περιγράφουν διαφορετικά επίπεδα της κυτταρικής κατάστασης και έτσι ο χρήστης μπορεί να βρει ένα ευέλικτο σημείο που να συμπίπτουν τα input γονίδια, παρατηρώντας απομονωμένες μοριακές λειτουργίες όπως επίσης και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά.

Ο αλγόριθμος GOrevenge, χρησιμοποιεί την οντολογική δομή κάθε διαφορετικής οντολογίας, με σκοπό να εντοπίσει και να κατατάξει τα σχετικά γονίδια στο γράφημα σύμφωνα με την επίπτωσή τους. Συγκεκριμένα, ένα θεωρητικό γράφημα ανάλυσης με βάση ένα οντολογικό δέντρο, συντελεί στην ανίχνευση συγκεκριμένων γονιδίων που φέρουν

σημαντική περιγραφική πληροφορία για την εξεταζόμενη τοπολογία. Όλη αυτή η διαδικασία γίνεται ξεκινώντας από ένα μεγάλο σετ από οντολογικές γειτονιές και τελειώνοντας με συσχετισμένα μεταξύ τους γονίδια. (Koutsandreas, 2016)



Εικόνα 17 - Μία τυπική δομή τριών επιπέδων, όπου το λογικό επίπεδο (server) είναι δομημένο με βάση το model-view-controller πρότυπο, το οποίο δέχεται εντολές από τον χρήστη (user) μέσω ενός web interface (client) και εκτελεί τις κατάλληλες διεργασίες εκμεταλλεύοντας τις Βάσεις Δεδομένων (data).



Εικόνα 18 - Διεργασία υπολογιστικής ανάλυσης. Ξεκινώντας από μία λίστα γονιδίων, γίνεται ανάλυση στις οντολογίες και τα πιο σημαντικά γονίδια εμφανίζονται σε μία καινούρια λίστα.

❑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ BIM

Το κάθε αρχείο ξεχωριστά με τα γονίδια έτρεξε στον Bioinforminer για την κάθε μία από τις Βάσεις Δεδομένων. Από τις Βάσεις που ανατρέπει το εργαλείο, τρεις ΒΔ περιέχουν πληροφορίες για τον οργανισμό *mus musculus* (ποντίκι), η Gene Ontology (GO), η MGI Mammalian Phenotype και η Reactome Pathways Database.

The screenshot shows the Bioinformatics Miner (BIM) web interface. The page title is "e-NiQS BioInfoMiner Project - Heart Phenotype". The interface is divided into several sections:

- Analysis domain:** Genes
- Organism:** Mus musculus (mouse)
- Id type:** Gene symbol
- Terms:** Gene Ontology (selected from a dropdown menu)
- Fold Change Type:** Logarithmic, Natural, None (None is selected)
- Job tag:** Chromosome 1 Females
- Input ids:** A list of gene IDs: Ba13, 290002M20R1k, Gm5524, Khdrbs2, AFF3, Pdc13, Npas2, Hecw2, Bo11, P1c11, Thap4, Atg4b, Ing5, Fam5c, Gm15584
- Corrected pvalue:** 0.05

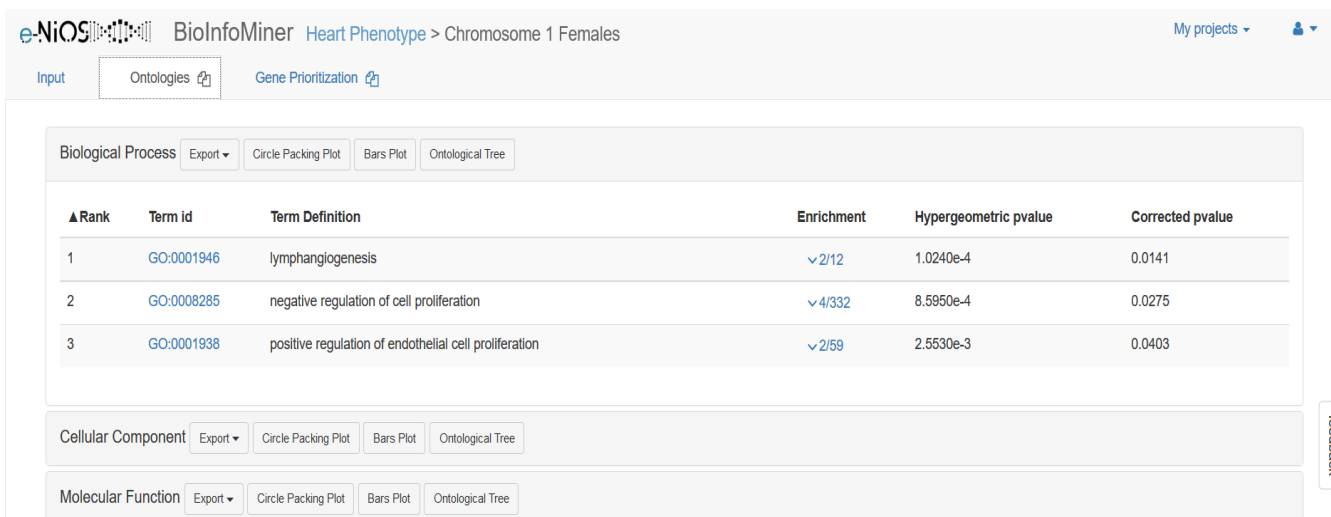
There are buttons for "Post New Experiment" and "Reset". A "feedback" button is visible on the right side.

Εικόνα 19 - Η αρχική πλατφόρμα του εργαλείου όπου ο χρήστης κάνει Input τη λίστα γονιδίων και επιλέγει οργανισμό, Βάση Δεδομένων, κλπ.

Οι πληροφορίες που μπορεί μας επιστρέφει ο BIM είναι στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες και λίστα των σημαντικότερων γονιδίων που εμπλέκονται σε αυτές.

Οντολογίες

Οι οντολογίες μπορούν να συσχετιστούν μεταξύ τους, δημιουργώντας ένα πλέγμα συνδεδεμένων πληροφοριών. Πρόκειται για τη διαδικασία αντιστοίχισης πεδίων μεταξύ οντολογιών. Έχοντας μια δική μας οντολογία, μπορούμε να την συσχετίσουμε με μία άλλη οντολογία που εμπεριέχει την υπάρχουσα. (Απόσπασμα κεφάλαιο 4, 2015)



Εικόνα 20 - Οι διεργασίες του οργανισμού που παίζουν σημαντικότερο ρόλο στο χρωμόσωμα 1 στα θηλυκά.

Πολύ σημαντικό κομμάτι στον σχολιασμό των εγγραφών (annotation) είναι και η ανάλυση των αλληλουχιών με τη βοήθεια της Βιοπληροφορικής.

☐ GENE ONTOLOGY (GO) – ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Χαρακτηριστικό των Βάσεων Δεδομένων αυτών είναι ότι συνδέονται μεταξύ τους με βιβλιογραφικές αναφορές.

Π.χ. Μία πρωτεϊνική ακολουθία συνδέεται:

- με την εγγραφή του γονιδίου στη ΒΔ GenBank,
- με βιβλιογραφικές αναφορές στην PubMed.

Η Gene Ontology είναι μία Βάση Δεδομένων οντολογιών – συσχετίσεων, η οποία βασίζεται πάνω σε MySQL, και περιλαμβάνει οντολογίες (ένα ελεγχόμενο λεξιλόγιο όρων για τη περιγραφή χαρακτηριστικών γονιδίων) και τα συσχίσεις (annotations) των γονιδίων και των γονιδιακών προϊόντων σε οντολογίες της GO. Η συγκεκριμένη οργάνωση όλων των συστατικών της GO σε μία Βάση Δεδομένων, δίνει τη δυνατότητα κατασκευής ισχυρών ερωτημάτων στη Βάση Δεδομένων, που στηρίζονται στα annotations τα οποία χρησιμοποιούνται στην οντολογία.

Για το επίσημο site της Gene Ontology: <http://www.geneontology.org/>

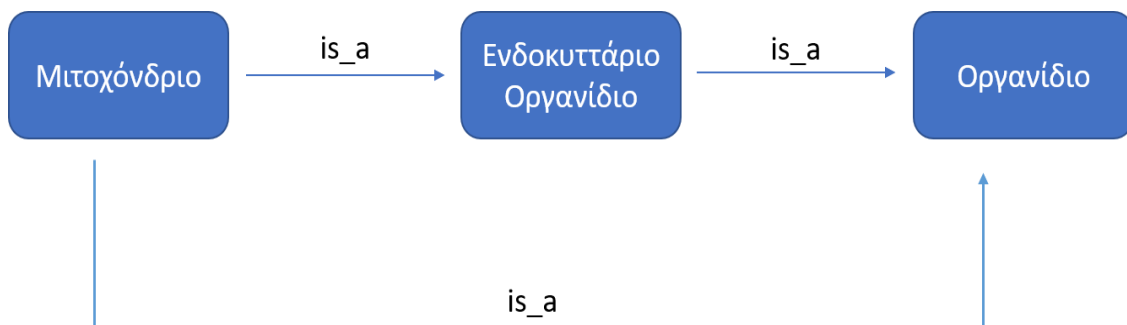
Η πρόσβαση στην Gene Ontology Database γίνεται εφικτή μέσω του AmiGO browser and search engine, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως για την δημιουργία ερωτημάτων στην οντολογία και ψάχνει στην GO με βάση κάποια GO terms, γονίδια, πρωτεΐνες ή και λέξεις κλειδιά.

Επιπλέον, το AmiGO επιτρέπει στο χρήστη να κατεβάσει ορολογίες και annotations, παρέχοντας ταυτόχρονα εργαλεία ανάλυσης και επεξεργασίας αυτών των δεδομένων, όπως είναι το GOOSE (online σύστημα εκτέλεσης ερωτημάτων στην GO database).

Συσχετίσεις στην Gene Ontology:

- a. Στην Gene Ontology, παράλληλα με τον ορισμό των βασικών χαρακτηριστικών των όρων, γίνεται ορισμός και των σχέσεων μεταξύ των όρων, που ουσιαστικά δείχνουν τη θέση κάθε όρου μέσα στην οντολογία ούτως ώστε να δοθεί τελικά η δομή ολόκληρης της οντολογίας. (Αντώνιος, 2014)

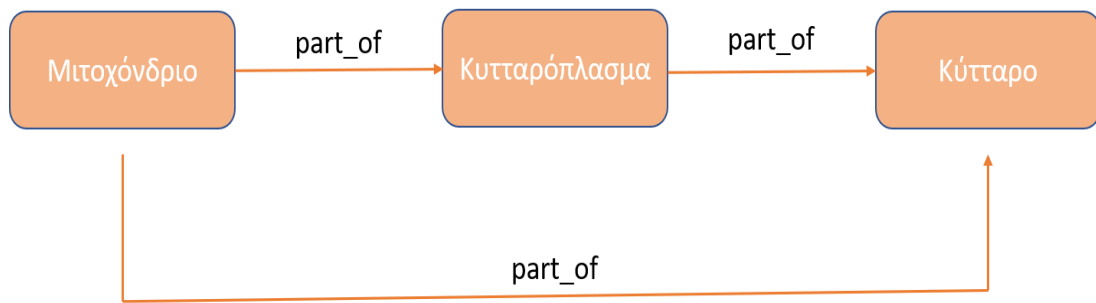
Η σχέση `is_a` υποδηλώνει ότι ένας όρος A είναι υπο-όρος του όρου B όταν `A is_a B`. Η συγκεκριμένη συσχέτιση δηλαδή οδηγεί από το ειδικό στο γενικό, δηλαδή από μία υποκλάση σε μία υπερκλάση και όχι το αντίστροφο. Η συσχέτιση αυτή υπόκειται στην μεταβατική ιδιότητα, δηλαδή αν `A is_a B` και `B is_a Γ`, τότε και `A is_a Γ` (εικόνα). Στην εικόνα, φαίνεται ένα παράδειγμα της συσχέτισης `is_a` σε δεδομένα της Gene Ontology.



Εικόνα 21 - Ένα μιτοχόνδριο είναι ενδοκυττάριο οργανίδιο, ένα ενδοκυττάριο οργανίδιο είναι ένα οργανίδιο. Άρα ένα μιτοχόνδριο είναι ένα οργανίδιο.

- b. Η σχέση `part_of`, χρησιμοποιείται για να αναπαραστήσει συσχέτισεις συνόλου, δηλαδή θα μπορούσαμε να πούμε ότι είναι συσχέτισεις από το γενικό στο ειδικό.

Στην Gene Ontology η σχέση `part_of` ισχύει μεταξύ δύο όρων εφόσον ο δεύτερος όρος (B) είναι απαραίτητα κομμάτι του πρώτου (A). Έτσι, όταν `A part_of B`, τότε η παρουσία του B υπονοεί απαραίτητα και την παρουσία του A, ενώ η αντίστροφη σχέση δεν ισχύει. Συνεπώς, η σχέση `part_of` αναφέρεται στη μεταβατική ιδιότητα αφού αν `A part_of B` AND `B part_of Γ`, τότε `A part_of Γ` (Εικόνα 16).



Εικόνα 22 - Ένα μιτοχόνδριο είναι μέρος του κυτταροπλάσματος, το κυτταρόπλασμα είναι μέρος του κυττάρου. Άρα, το μιτοχόνδριο είναι μέρος του κυττάρου.

Annotation Οντολογίας Gene Ontology (GO Annotation):

Το annotation (συσχέτιση) των πληροφοριών της οντολογίας είναι η διαδικασία κατά την οποία γίνεται ανάθεση όρων της Gene Ontology σε γονίδια και διάφορα γονιδιακά προϊόντα και συνεχώς νέοι ερευνητές συνεισφέρουν στον σχολιασμό δεδομένων αυτής της Βάσης Δεδομένων.

Τα annotation των δεδομένων της Gene Ontology, εκτός των χαρακτηριστικών που προσδιορίζουν το ID και τους σχετικούς όρους, παρέχουν δεδομένα για την πηγή που χρησιμοποιήθηκε για τον σχολιασμό, έναν κωδικό απόδειξης που δίνει τον τύπο της απόδειξης πάνω στην οποία βασίζεται ο σχολιασμός, καθώς και στοιχεία για τον δημιουργό του annotation.

❑ MOUSE GENOME INFORMATICS (MGI) – ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η Βάση Δεδομένων Mouse Genome Informatics (MGI), είναι μία παγκόσμια ΒΔ με πληροφορίες για το εργαστηριακό ποντίκι, παρέχοντας γενετικά, γονιδιακά και βιολογικά δεδομένα ώστε να διευκολυνθεί μέσω της αντιστοίχισής τους με ανθρώπινα γονίδια η μελέτη της ανθρώπινης υγείας και των ανθρώπινων νοσημάτων.

Η επίσημη σελίδα της MGI: <http://www.informatics.jax.org/>

Πολλά project συμβάλλουν στην MGI όπως,

Mouse Genome Database (MGD) Project: Περιέχει δεδομένα για τα χαρακτηριστικά των γονιδίων, ονοματολογίες, χαρτογράφηση, φαινοτύπους κ.α.

Gene Expression Database (GXD) Project: Ενσωματώνει διαφορετικούς τύπους γονιδιακών εκφράσεων για τα ποντίκια και παρέχει αποτελέσματα που έχουν ερευνηθεί και δημοσιευμένα πειράματα που βασίζονται στην γονιδιακή έκφραση κατά τη διάρκεια της εξέλιξης.

Mouse Tumor Biology (MTB) Database Project: Ενσωματώνει δεδομένων που βασίζονται στην συχνότητα, στην επίπτωση, γενετική, παθολογία και στις νεοπλασματικές ασθένειες,

δίνοντας έμφαση στα δεδομένα που αφορούν τους καρκινικούς όγκους που εμφανίζονται σε διαφορετικές σειρές ποντικών.

Gene Ontology (GO) Project at MGI: Η ομάδα της MGI είναι ιδρυτικό μέλος της Gene Ontology. Η MGI συνεργάζεται με την βάση δεδομένων της GO και παρέχει έναν GO browser.

Με λίγα λόγια, η MGI έχει την έννοια της Οντολογίας που αντιπροσωπεύει φαινοτυπικά διάφορα χαρακτηριστικά θηλαστικά.

❑ REACTOME - ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η επίσημη σελίδα της Reactome: <https://reactome.org/>

Η Reactome είναι μία ανοιχτού κώδικα, ελεύθερα προσβάσιμη, χειροκίνητη και επιστημονική Βάση Δεδομένων. Περιέχει πληροφορίες για αντιδράσεις του μεταβολισμού και της σηματοδότησης στα κύτταρα. Κύριος στόχος της ομάδας της Reactome είναι να παρέχει εργαλεία που βοηθούν στην βιοπληροφορική έρευνα, στην απεικόνιση δεδομένων, στην ερμηνεία και στην ανάλυση γνώσεων που υποστηρίζουν βασική και κλινική έρευνα, γενομική ανάλυση, μοντελοποίηση, συστήματα βιολογίας και εκπαίδευσης.

Άλλα προγράμματα για QTL ανάλυση:

Pheno2Geno -> R, Linux, MacOS, Windows

HrQTL -> R, Linux, MacOS, Windows

FastQTL -> C++, Linux, MacOS, Windows

Marker2sequence -> Java, Linux/Unix κ.α.

Σύμφωνα με την Omic Tools, την μηχανή αναζήτησης για omic data analysis εργαλεία, βρέθηκαν αρκετά εργαλεία για διάφορες γλώσσες προγραμματισμού για το κάθε Λειτουργικό Σύστημα.

Κρίναμε ότι το πακέτο HAPPY ήταν ιδανικό για την ανάλυσή μας καθώς έχει σχεδιαστεί για την QTL ανάλυση σε CC ποντίκια και παρέχει τη δυνατότητα ισχυρότερης και πιο λεπτομερούς χαρτογράφησης των θέσεων που επηρεάζουν το φαινότυπο σε αυτά τα ποντίκια. (Mott *et al.*, 2000)

Program Language	Πλήθος Εργαλείων
C	2
C++	5
Fortran	1
Java	4
Matlab	2
R	14

Εικόνα 23 – Άλλα εργαλεία για data analysis και από ποιες γλώσσες προγραμματισμού υποστηρίζονται.

Operating System	Πλήθος Εργαλείων
Unix/Linux	31
Mac OS	20
Windows	22

Εικόνα 24 - Άλλα εργαλεία για data analysis και σε ποια Λειτουργικά Συστήματα υποστηρίζονται.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρακάτω θα δείτε τα αποτελέσματα που εξάγαμε με το εργαλείο BioInfoMiner χωρισμένα σε δύο ομάδες. Πρώτα φαίνονται τα αποτελέσματα με βάση τον φαινότυπο από την διαφορά βάρους των ποντικιών πριν και μετά το πείραμα (παχυσαρκία). Στη συνέχεια φαίνονται τα αποτελέσματα από τον φαινότυπο του ποσοστού βάρους της καρδιάς στο τελικό βάρος.

➤ Παχυσαρκία

Στη στήλη Definition αναγράφεται η διεργασία του οργανισμού που φαίνεται να επηρεάζεται, στην στήλη Chromosome είναι το χρωμόσωμα στο οποίο βρέθηκαν τα γονίδια που επηρεάζουν την συγκεκριμένη διεργασία και στη στήλη DB (Data Base) φαίνεται η Βάση Δεδομένων από την οποία εξάγαμε τη συγκεκριμένη διεργασία.

Μεταβολισμός

Definition	Chromosome	DB
Circadian rhythm	10	go
Metabolism of lipids and lipoproteins	3	reactome
Lipid digestion, mobilization, and transport	3	reactome
Hormone-sensitive lipase (HSL)-mediated triacylglycerol hydrolysis	3	reactome
Glucose homeostasis	10	go
Glycogen biosynthetic process	10	go
Triglyceride catabolic process	15	go
Amino acid transport across the plasma membrane	X	reactome

Εικόνα 25 – Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία του Μεταβολισμού.

Κύτταρα

Definition	Chromosome	DB
Abnormal effector T cell morphology	1	mgj
Voltage gated Potassium channels	1	reactome
Cell activation	2	go
Potassium ion transport	2	go
Potassium ion transmembrane transport	2	go
Potassium Channels	3	reactome
Ion homeostasis	7	reactome
Ion channel transport	7	reactome
Free fatty acid receptors	7	reactome
Cell-Cell communication	15	reactome

Εικόνα 26 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες της λειτουργίας των Κυττάρων.

Αιμόσταση

Definition	Chromosome	DB
Abnormal blood coagulation	1	mgj
Hemostasis	1	reactome
Formation of Fibrin Clot	1	reactome
Vasculogenesis involved in coronary vascular morphogenesis	15	go
Abnormal neural tube closure	15	mgj

Εικόνα 27 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την κυκλοφορία του αίματος.

Καρδιοπάθειες

Definition	Chromosome	DB
Cardiac conduction	3	reactome
Decreased heart rate	3	mgj
Dilated heart right ventricle	3	mgj
Abnormal heart left ventricle morphology	3	mgj
Cardiac conduction	7	reactome
Cardiac muscle tissue morphogenesis	15	go
Failure of heart looping	X	mgj

Εικόνα 28 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για τις επιπλοκές της καρδιάς.

Ανοσοποιητικό Σύστημα

Definition	Chromosome	DB
T cell proliferation	1	go
Increased T cell proliferation	1	mgj
Increased T cell number	2	mgj
Regulation of innate immune responses to cytosolic DNA	7	reactome
Regulation of inflammatory response	15	go

Εικόνα 29 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το Ανοσοποιητικό Σύστημα του οργανισμού.

Λειτουργία οργάνων

Definition	Chromosome	DB
Hepatic necrosis	1	mgj
Kidney hemorrhage	1	mgj
Decreased urine creatinine level	2	mgj
Abnormal pancreatic islet morphology	2	mgj
Muscle contraction	3	reactome
Abnormal adipose tissue morphology	15	mgj

Εικόνα 30 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για τη λειτουργία των οργάνων.

Εγκυμοσύνη

Definition	Chromosome	DB
Maternal effect	2	mgj
Abnormal placenta size	3	mgj
Everted embryonic neuroepithelium	15	mgj
Hydrops fetalis	15	mgj

Εικόνα 31 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την Εγκυμοσύνη.

Όραση

Definition	Chromosome	DB
Eye inflammation	1	mgj
Impaired pupillary reflex	15	mgj
Blepharitis	X	mgj
Blindness	X	mgj
Anterior subcapsular cataracts	X	mgj
Conjunctivitis	X	mgj
Retinal cone cell degeneration	X	mgj

Εικόνα 32 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την απώλεια της όρασης.

Gene	Protein	Helps
Igf1	insulin-like growth factor 1	Involved in mediating growth and development
Dmd	dystrophin	Muscles used for movement (skeletal muscles) and in heart (cardiac) muscle
Lmna	lamins	Provide stability and strength to cells
Tgfb1	TGFβ-1	Proliferation of cells
Calm3	a family of proteins	Important in the regulation of cell cycle
Rpgr	RPGR	Necessary for the perception of sensory input, including hearing, smell, and vision.
Pnpla3	adiponutrin	Regulate the development of adipocytes and breakdown of fats
Haus2		Circadian rhythm
Fxyd7		Cardiac conduction
Fbn1	fibrillin-1	

Εικόνα 33 - Στην εικόνα φαίνονται τα πιο στατιστικά σημαντικά εμπλεκόμενα γονίδια που βρέθηκαν από τον BIM.

➤ Καρδιά

Τα παρακάτω αποτελέσματα αφορούν τον φαινότυπο του βάρους της καρδιάς και φαίνονται τα αποτελέσματα ξεχωριστά για τα θηλυκά και ξεχωριστά για τα αρσενικά.

Στην στήλη Gene, αναγράφονται τα ονόματα των γονιδίων, στη στήλη Definition φαίνεται ολόκληρη η ονομασία του γονιδίου και στην Process φαίνεται η διεργασία στην οποία συμμετέχει η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το συγκεκριμένο γονίδιο. Στις στήλες DB και Chr φαίνονται οι Βάσεις Δεδομένων και τα χρωμοσώματα αντίστοιχα.

Θηλυκά

Gene	Definition	Process	DB	Chr
Mafb	masculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein B	important role in the regulation of hematopoiesis	GO	2
Plcb	phospholipase		GO, mgi	2
Rag	recombination activating gene	immune system cells	GO	2
Cxcl	chemokine		GO	5
Kl	klotho	phosphate homeostasis	mgi	5
Rxfp2	relaxin/insulin-like family peptide receptor 2		reactome	5
Gab2	growth factor receptor bound protein		mgi	7
Igf	insulin like growth factor	involved in mediating growth and development	GO, mgi	7, 10
St14	suppression of tumorigenicity 14 (colon carcinoma)		mgi	9
Ptpr	protein tyrosine phosphatase	activate hepatocyte growth factor	GO	10
Ppy	pancreatic polypeptide		GO	11
Cacng	calcium channel		GO	11
Mapt	microtubule-associated protein tau	associated with several neurodegenerative disorders	mgi	11
Ugg2	glucose glycoprotein glycosyltransferase	reglycosylates unfolded glycoproteins	GO	14
Mbln2	muscleblind-like 2		mgi	14
Fgf	fibroblast growth factor	embryonic development, cell growth, morphogenesis, tissue repair, tumor growth, and invasion	GO	16
Nrxn1	neurexin 1	form Ca in the central nervous system	GO	17

Εικόνα 34 - Τα πιο στατιστικά σημαντικά εμπλεκόμενα γονίδια που παίζουν κύριο ρόλο στα αποτελέσματα στα θηλυκά ποντίκια.

Μεταβολισμός

Definition	Chromosome	DB
increase pancreatic acinar cells	1	mgi
digestion	3	go
ATP hydrolysis coupled proton transport	3	go
mitochondrial fatty acid beta - oxidation	5	reactome
Regulation of KIT signaling	5	reactome
iron uptake and transport	6, 16	reactome, go
ion channel transport	6, 2	reactome, go
polydipsia	6	mgi
neurotransmitter release cycle	11	reactome
regulation of appetite	11	go
regulation of insulin secretion involved in cellular response to glucose stimulus	17	go
abnormal circadian phase	18	mgi
polyuria	6, 18	mgi
neurotransmitter catabolic process	X	go
response to insulin	X, 6	go, reactome
abnormal metabolism	X	mgi

Εικόνα 35 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία του Μεταβολισμού στα θηλυκά ποντίκια.

Νευρικό Σύστημα

Definition	Chromosome	DB
increased stereotypic behaviour	6	mgj
increased neuron apoptosis	10	mgj
neurotransmitter secretion	10	go
transmission of nerve impulse	11	go

Εικόνα 36 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το νευρικό σύστημα των θηλυκών ποντικών.

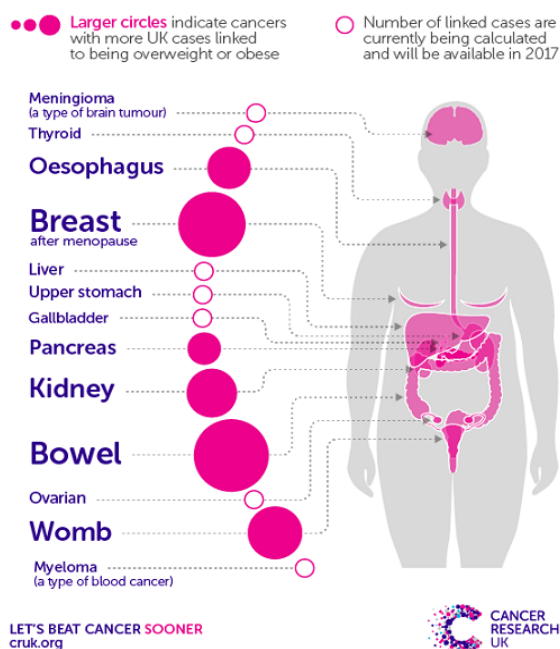
Καρκίνος

Definition	Chromosome	DB
lymphangiogenesis	1	go
increased tumor incidence	10	mgj
increased Schwannoma incidence	11	mgj

Εικόνα 37 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για καρκινικές παθήσεις στα θηλυκά ποντίκια.

Υπάρχουν πολλές έρευνες οι οποίες αναφέρουν τον κίνδυνο της εμφάνισης καρκίνου εξαιτίας της παχυσαρκίας. Το περίσσιο λίπος στο σώμα μπορεί να δημιουργήσει διάφορες επιπλοκές όπως να παράγει ορμόνες που επηρεάζουν τον τρόπο που λειτουργούν τα κύτταρά μας. Αυτό μπορεί να παράγει κινδύνους για διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου τον καρκίνο και επιπλοκές με την ακοή. (UK, 2016)

BEING OVERWEIGHT CAN CAUSE 13 TYPES OF CANCER



Εικόνα 38 - Η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσει και σε 13 τύπους καρκίνου. Οι κύκλοι που είναι γεμισμένοι με χρώμα, επισημαίνουν το όργανο που επηρεάζεται περισσότερο καρκινικά από τα υπόλοιπα. Οι άδειοι κύκλοι είναι υποθέσεις που ακόμα ερευνώνται.

Καρδιοπάθειες και Κυκλοφορία του αίματος

Definition	Chromosome	DB
abnormal heart shape	2	mgi
hemoglobinemia	2	mgi
abnormal myocardium layer morphology	5	mgi
Hemostasis	7	reactome
blood vessel maturation	8	go
cardiac conduction	11	reactome
sinus bradycardia	16	mgi
increased myocardial infarction size	16	mgi

Εικόνα 39 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για καρδιακές παθήσεις και κυκλοφορία του αίματος στα θηλυκά ποντίκια.

Ανάπτυξη και Εγκυμοσύνη

Definition	Chromosome	DB
abnormal endometrial gland development	3	mgi
increased lean body mass	11	mgi
abnormal skeletal muscle fiber morphology	14	mgi
pregnancy - related premature death	16	mgi
smooth muscle tissue development	16	go
epidermal growth factor	17	go
abnormal embryo development	X, 1	mgi
liver development	X	go

Εικόνα 40 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την ανάπτυξη των οργάνων και την εγκυμοσύνη.

Ανοσοποιητικό Σύστημα

Definition	Chromosome	DB
increased inflammatory response	1	mgi
increased immature B - cell number	2	mgi
increased macrophage cell number	2	mgi
interleukin 1 mediated signaling pathway	2	go
cellular response interferone beta and gamma	3	go
abnormal leukocyte cell number	5	mgi
intestinal inflammation	14	mgi
decreased IgG2a level	17	mgi
increased DN2 thymocyte number	17	mgi

Εικόνα 41 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού των θηλυκών ποντικών.

Circle Plot - Θηλυκά

Τα αποτελέσματα που είναι πιο στατιστικά σημαντικά και που αφορούν τα θηλυκά ποντικάκια φαίνονται στην παρακάτω απεικόνιση (Circle Plot). Το διάγραμμα circle plot ιεραρχεί τις βιολογικές διεργασίες και τα κομβικά γονίδια με βάση το p_value και τις Οντολογίες τους. Όσο πιο σκούρο είναι το χρώμα του κύκλου, τόσες λιγότερες πιθανότητες λάθους (p_value) έχει η συγκεκριμένη διεργασία, δηλαδή να εμφανίζεται τυχαία. Το μέγεθος του κύκλου μας δείχνει την ποσότητα των γονιδίων που εμπλέκονται στην συγκεκριμένη διεργασία, δηλαδή όσο πιο μεγάλος ο κύκλος, τόσο περισσότερα γονίδια παίζουν ρόλο.



Εικόνα 42 – Το διάγραμμα circle plot για τα θηλυκά ποντικάκια.

Αρσενικά

Gene	Definition	Process	DB	Chr
Ugt1a	UDP glukuronosyltransferase	converts the toxic form of bilirubinto its nontoxic form	GO, reactome	1
Atg	autophagy		GO, reactome	1, 18
Mafb	masculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein B	important role in the regulation of hematopoiesis	GO	2
Rag	recombination activating gene	immune system cells	GO	2
Insm	insulinoma		mgj	2
Itg	integrin	embryogenesis, hemostasis, tissue repair, immune response and metastatic diffusion of tumor cells	mgj	2
Pla2g4	phospholipase	hemodynamics, inflammatory responses, and other intracellular pathways	reactome	2
Fga	fibrinogen chain	important for blood clot formation (coagulation)	GO, reactome	3
Slc	solute carrier		GO, mgj, reactome	5, 10
Nrg1	Neuregulin 1	growth and development of multiple organ systems	GO, mgj, reactome	8
Lipc	lipase, hepatic	transportingHDLs that carry cholesterol and triglycerides from the blood to the liver	GO, reactome	9
Brms1	breast cancer metastasis		GO	12
Lpin	lipin	triglyceride synthesis	mgj	12,17
Thrb	theroid hormone receptor beta		GO, mgj	14

Εικόνα 43 - Τα πιο στατιστικά σημαντικά γονίδια που παίζουν κύριο ρόλο στα αποτελέσματα για τα αρσενικά.

Μεταβολισμός

Definition	Chromosome	DB
abnormal autophagy	1	mgj
increased cholisterol level	1, 9	mgj, go
glukuronate metabolic process	1	go, reactome
organic anion transport	1	go
abnormal osteoclast physiology	1	go
negative regulation of endopeptidase activity	1	go
intracellular protein transport	2	go
decrease urine megnesium level	2	mgj
increased apoptosis	2	mgj
hydrolysis of LPC	2	reactome
response to calcium ion	3, 14	go
endothelian cell proliferation	5	go
glycosaminoglycan metabolism	5	reactome
chondroitin sulfate/dermatan sulfate metabolism	5	reactome
short-chain fatty catabolic process	8	go
keratinocyte proliferation	8	go
signaling by Leptin	11	reactome
cellular response to insulin stimulus	12	go
decreased insulin secretion	12	mgj
decreased brown fat cell lipid droplet size	12	mgj
lipid transport	15	go
increased susceptibility to endotoxin shock	16	mgj
sodium ion transport	17	go
autophagosome assembly	18	go
macroautophagy	18	reactome

Εικόνα 44 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία του Μεταβολισμού στα αρσενικά ποντίκια.

Ανοσοποιητικό Σύστημα

Definition	Chromosome	DB
abnormal leukocyte physiology	1	mgi
abnormal interleukin level	1	mgi
defense response to bacterium	2	go
increased double-negative T cell number	2	mgi
decreased pancreatic beta cell number	2	mgi
negative regulation of T-helper 1 cell differentiation	7, 14	go
liver inflammation	7	mgi
abnormal circulating interferon-gamma level	7	mgi
increased respiratory mucosa goblet cell number	7	mgi
interferon signaling	14	reactome
increased susceptibility to bacterial infection	15	mgi
negative regulation of interleukin -1 beta and 12 production	16	go
decreased double-positive T cell number	17	mgi
decreased thymocyte number	17	mgi
negative regulation of tye 2 immune response	18	go

Εικόνα 45 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το ανοσοποιητικό σύστημα στα αρσενικά ποντίκια.

Καρδιοπάθειες και Αιμόσταση

Definition	Chromosome	DB
increased systemic arterial systolic blood pressure	5	mgi
abnormal embryonic hematopoiesis	5	mgi
poor circulation	8	mgi
atrial septal defect	16	mgi
thrombocytosis	17	mgi
tremors	X	mgi

Εικόνα 46 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για τις καρδιακές παθήσεις και την κυκλοφορία του αίματος αρσενικά ποντίκια.

Διαταραχές συμπεριφοράς

Definition	Chromosome	DB
increased serotonin level	3	mgi
locomotory behaviour	10	go
social behaviour	14	go
impaired contextual conditioning behaviour	X	mgi
abnormal motor capabilities/coordination/movement	X	mgi

Εικόνα 47 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για διαταραχές συμπεριφοράς στα αρσενικά ποντίκια.

Ο σακχαρώδης διαβήτης συνοδεύεται πολύ συχνά από μια ποικιλία νευροψυχολογικών προβλημάτων, τα οποία περιλαμβάνουν γνωσιακές, συναισθηματικές, αγχώδεις και ψυχωσικές διαταραχές, καθώς και διαταραχές προσωπικότητας. Σε αυτό το πλαίσιο, ένα

συνεχώς αυξανόμενο πλήθος ενδείξεων οδηγεί με εμφαντικό τρόπο στη συσχέτιση του ΣΔ με τα νευροψυχολογικά προβλήματα. Επίσης, ο διαβήτης μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τους ασθενείς ώστε να αναπτύξουν καταθλιπτικά συμπτώματα, μέσω βιολογικών μηχανισμών που συνδέουν τις μεταβολικές αλλαγές από το διαβήτη με αλλαγές στην εγκεφαλική δομή και στην εγκεφαλική λειτουργία. Μια σειρά μελετών αναδεικνύει υψηλού βαθμού διαταραχές προσωπικότητας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. (Κοντοάγγελος, 2013)

Απώλεια ακοής

Definition	Chromosome	DB
decreased threshold auditory brainstem response	10	mgi
increased susceptibility to noise-induced hearing loss	14	mgi
abnormal distortion product otoacoustic emission	14	mgi
abnormal cochlear inner hair cell physiology	14	mgi
degeneration of organ of Corti supporting cells	14	mgi

Εικόνα 48 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες της απώλειας ακοής στα αρσενικά ποντίκια.

Πώς συνδέεται το περίσσιο βάρος με την απώλεια ακοής.

Τα αυτιά μας εσωτερικά αποτελούνται από ένα σύστημα από ημικύκλιους σωλήνες γεμάτους με υγρό και νευρικές απολήξεις. Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες αυτού του συστήματος είναι τα τριχοφόρα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τον εντοπισμό των ηχητικών σημάτων και την μεταφορά της πληροφορίας προς τον εγκέφαλο. Από τη στιγμή που τα τριχοφόρα κύτταρα υποστούν ζημιά, δεν παράγονται καινούρια και η απώλεια της ακοής είναι μόνιμη. Μελέτες υποδεικνύουν ότι η καλή κυκλοφορία αίματος και οξυγόνου, συμβάλλουν στην υγεία των τριχοφόρων αυτών κυττάρων. Σε κατάσταση όμως παχυσαρκίας, τα τοιχώματα των αγγείων διογκώνονται και δυσκολεύονται να μεταφέρουν ικανοποιητικό οξυγόνο στα κύτταρα. (Clason, 2015)

Νευρικό Σύστημα

Definition	Chromosome	DB
decreased cerebellar granule cell number	3	mgi
neuron projection development	10	go
abnormal CNS glial cell morphology	18	mgi
decreased Purkinje cell number	18	mgi

Εικόνα 49 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες του νευρικού συστήματος των αρσενικών ποντικών.

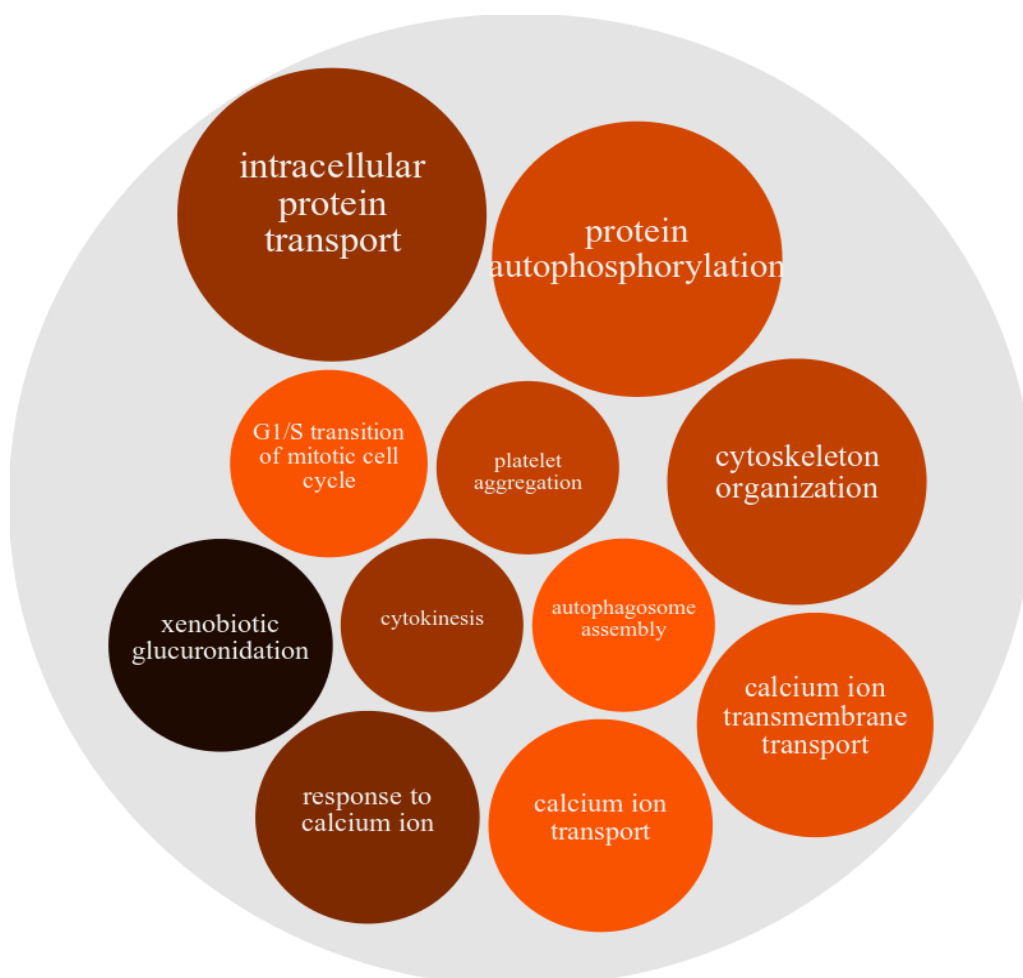
Ανάπτυξη

Definition	Chromosome	DB
abnormal endocrine pancreas morphology	2	mgi
nerve growth factor signaling pathway	3	go
reduced fertility	5, 2	mgi
abnormal pancreas morphology	10	mgi
abnormal blood vessel morphology	12	mgi
pale liver	12	mgi
muscle contraction	14, 17	reactome

Εικόνα 50 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες του νευρικού συστήματος των αρσενικών.

Circle Plot - αρσενικά

Εδώ φαίνονται τα αποτελέσματα που είναι πιο στατιστικά σημαντικά και που αφορούν τα αρσενικά ποντίκια. Όσο πιο σκούρο είναι το χρώμα του κύκλου, τόσες λιγότερες πιθανότητες λάθους (p_value) έχει η συγκεκριμένη διεργασία, δηλαδή να εμφανίζεται τυχαία. Το μέγεθος του κύκλου μάς δείχνει την ποσότητα των γονιδίων που εμπλέκονται στην συγκεκριμένη διεργασία, δηλαδή όσο πιο μεγάλος ο κύκλος, τόσο περισσότερα γονίδια παίζουν ρόλο.



Εικόνα 51 - Διάγραμμα circle plot για τα αρσενικά.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από αυτό το κομμάτι της έρευνας με το οποίο ασχολήθηκα, ποικίλουν καθώς συνδυάζονται οι διάφορες υπολογιστικές μεθοδολογίες με σκοπό την εξέταση της γενετικής προδιάθεσης για Μεταβολικό Σύνδρομο και κατ' επέκταση στην παχυσαρκία, που εμφανίζουν οργανισμοί ποντικών. Το Μεταβολικό Σύνδρομο είναι μία πάθηση που αφορά ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό των ανθρώπων ώστε να παρακινηθούν οι επιστήμονες στην συνεχή έρευνα της επίσπευσης της ανθρώπινης υγείας. Στην έρευνα αυτή, βοήθησαν τα αποτελέσματα που εμφανίστηκαν στο τέλος του πειράματος στο οποίο εξετάστηκε ο γονότυπος και ο φαινότυπος ποντικών μετά από μία δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (high-fat diet). Με τη βοήθεια του πακέτου HAPPY και της γλώσσας προγραμματισμού R, ομαδοποιήθηκαν τα γονίδια σε λίστες ανάλογα με το φύλο των ποντικών και στη συνέχεια οι λίστες αυτές ήταν τα input δεδομένα μας στο εργαλείο BioInfoMiner (BIM). Μέσω του BIM έγιναν οι υπολογιστικές αναλύσεις που μας έδωσαν πληροφορίες όσον αφορά την συνδεσμολογία μεταξύ κυτταρικών διεργασιών και τις οντολογίες τους στον οργανισμό. Αξιοσημείωτα είναι τα αποτελέσματα από τον φαινότυπο της διαφοράς του βάρους των ποντικών στις 12 εβδομάδες, αφού φαίνεται καθαρά η συσχέτιση του Διαβήτη Τύπου 2 με την παχυσαρκία αλλά και την τεράστια επιρροή τους στον Μεταβολισμό. Εκτός από τις αλλαγές του μεταβολισμού, εμφανίζονται και μεγάλες πιθανότητες Καρδιοπάθειας και για αυτό επιλέξαμε να εξετάσουμε περαιτέρω τον φαινότυπο που προκύπτει από το ποσοστό του βάρους της καρδιάς ως προς το συνολικό βάρος των ίδιων ποντικών. Τα αποτελέσματα, τα οποία επιβεβαιώνονται μέσα από πληθώρα έρευνες και επιστημονικά άρθρα, αναδεικνύουν συνεχώς την διαταραχή του Μεταβολισμού, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει πολλές διεργασίες του οργανισμού. Οι πιο σημαντικές επιπλοκές διεργασιών του οργανισμού με τις μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισής τους είναι, φλεγμονές και διαταραχή του ανοσοποιητικού συστήματος, Καρδιακά νοσήματα, προβλήματα στην ανάπτυξη, απώλεια ακοής και όρασης, επιπλοκές του νευρικού συστήματος, διαταραχές στην ψυχική υγεία του ασθενούς και μεγαλύτερες πιθανότητες ανάπτυξης καρκίνου. Η έρευνα της γενετικής προδιάθεσης για Μεταβολικό Σύνδρομο συνεχίζεται με τη βοήθεια της Βιοπληροφορικής από διάφορους επιστήμονες σε πολλές χώρες στον κόσμο για την καλύτερη αντιμετώπισή του.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 - Η ομαλή λειτουργία της ινσουλίνης.	11
Εικόνα 2 - Ο φαύλος κύκλος που οδηγεί στην παχυσαρκία	12
Εικόνα 3 - Στο Cellule φαίνεται η δομή του κυττάρου, το Νουκλεόσωμα είναι ο πυρήνας του κυττάρου μέσα στον οποίο βρίσκονται τα χρωμοσώματα τα οποία αποτελούν το DNA.	13
Εικόνα 4 - Στην εικόνα φαίνεται ένα χρωμόσωμα και ένα πιθανό γονίδιο που εμπεριέχεται σε αυτό.	14
Εικόνα 5 - Τα 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων του ανθρώπινου οργανισμού. 22 ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων και 1 ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων.	14
Εικόνα 6 – Τέσσερις διαφορετικοί φαινότυποι ποντικών που αφορούν το χρώμα στο τρίχωμά τους.	16
Εικόνα 7 - Η ακολουθία διαδικασιών του πειράματος	17
Εικόνα 8 - Άτομα του είδους <i>Drosophila melanogaster</i> παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση στο χρώμα και συνεπώς στην έκφραση των φαινοτύπων τους.	18
Εικόνα 9 - Εδώ φαίνεται η σχέση μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου για το χρώμα των πετάλων στο λουλούδι του φασολιού. Τα B και b είναι γονίδια για το χρώμα, ενώ στα μικρά τετράγωνα φαίνονται τα λουλούδια που προκύπτουν από τη σύζευξη του αρσενικού με το θηλυκό λουλούδι.	19
Εικόνα 10 – Διασταυρώσεις μεταξύ σειρών ποντικών (CC Lines) ώστε να επιτευχθεί ομοζυγωτία.	21
Εικόνα 11 - Στη στήλη Heart. φαίνεται το ποσοστό του βάρους της καρδιάς.	27
Εικόνα 12 - Διάγραμμα <i>heatmap</i> για το χρωμόσωμα 1.	28
Εικόνα 13 - Από το αρχείο <i>chr1_f_table</i> χρειαζόμαστε την στήλη <i>full.logP</i>.	29
Εικόνα 14 - Αρχείο <i>.map</i> για το 1^ο χρωμόσωμα. <i>bp</i> = base pair, είναι το ζευγάρι βάσεων στο οποίο βρίσκεται ο συγκεκριμένος marker.	29
Εικόνα 15 - <i>startbp</i>: 2000 βάσεις πριν τον marker και <i>endbp</i>: 2000 βάσεις μετά τον marker.	30
Εικόνα 16 - Τα ονόματα των γονιδίων που βρίσκονται στις περιοχές του γονιδιώματος που εξετάσαμε.	31
Εικόνα 17 - Μία τυπική δομή τριών επιπέδων, όπου το λογικό επίπεδο (<i>server</i>) είναι δομημένο με βάση το <i>model-view-controller</i> πρότυπο, το οποίο δέχεται εντολές από τον χρήστη (<i>user</i>) μέσω ενός <i>web interface</i> (<i>client</i>) και εκτελεί τις κατάλληλες διεργασίες εκμεταλλεύοντας τις Βάσεις Δεδομένων (<i>data</i>).	35
Εικόνα 18 - Διεργασία υπολογιστικής ανάλυσης. Ξεκινώντας από μία λίστα γονιδίων, γίνεται ανάλυση στις οντολογίες και τα πιο σημαντικά γονίδια εμφανίζονται σε μία καινούρια λίστα.	35
Εικόνα 19 - Η αρχική πλατφόρμα του εργαλείου όπου ο χρήστης κάνει <i>Input</i> τη λίστα γονιδίων και επιλέγει οργανισμό, Βάση Δεδομένων, κλπ.	36
Εικόνα 20 - Οι διεργασίες του οργανισμού που παίζουν σημαντικότερο ρόλο στο χρωμόσωμα 1 στα θηλυκά.	37
Εικόνα 21 - Ένα μιτοχόνδριο είναι ενδοκυττάριο οργανίδιο, ένα ενδοκυττάριο οργανίδιο είναι ένα οργανίδιο. Άρα ένα μιτοχόνδριο είναι ένα οργανίδιο.	38
Εικόνα 22 - Ένα μιτοχόνδριο είναι μέρος του κυτταροπλάσματος, το κυτταρόπλασμα είναι μέρος του κυττάρου. Άρα, το μιτοχόνδριο είναι μέρος του κυττάρου.	39
Εικόνα 23 – Άλλα εργαλεία για <i>data analysis</i> και από ποιες γλώσσες προγραμματισμού υποστηρίζονται.	41
Εικόνα 24 - Άλλα εργαλεία για <i>data analysis</i> και σε ποια Λειτουργικά Συστήματα υποστηρίζονται.	41
Εικόνα 25 – Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία του Μεταβολισμού των θηλυκών.	42
Εικόνα 26 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία των Κυττάρων στα θηλυκά.	43
Εικόνα 27 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την κυκλοφορία του αίματος στα θηλυκά.	43

<u>Εικόνα 28 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για τις επιπλοκές της καρδιάς στα θηλυκά.</u>	43
<u>Εικόνα 29 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το Ανοσοποιητικό Σύστημα του οργανισμού των θηλυκών.</u>	44
<u>Εικόνα 30 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για τη λειτουργία των οργάνων των θηλυκών.</u>	44
<u>Εικόνα 31 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την Εγκυμοσύνη.</u>	44
<u>Εικόνα 32 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την απώλεια της οράσεως στα θηλυκά.</u>	44
<u>Εικόνα 33 - Στην εικόνα φαίνονται τα πιο στατιστικά σημαντικά γονίδια που βρέθηκαν από τον BIM.</u>	45
<u>Εικόνα 34 - Τα πιο στατιστικά σημαντικά γονίδια που παίζουν κύριο ρόλο στα αποτελέσματα για τα θηλυκά.</u>	46
<u>Εικόνα 35 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για την βιολογική διεργασία του Μεταβολισμού στα αρσενικά.</u>	46
<u>Εικόνα 36 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για το νευρικό σύστημα των αρσενικών.</u>	47
<u>Εικόνα 37 - Στατιστικά σημαντικά εμπλουτισμένες Οντολογίες για καρκινικές παθήσεις στα αρσενικά.</u>	47
<u>Εικόνα 38 - Η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσει και σε 13 τύπους καρκίνου. Οι κύκλοι που είναι γεμισμένοι με χρώμα, επισημαίνουν το όργανο που επηρεάζεται περισσότερο καρκινικά από τα υπόλοιπα. Οι άδειοι κύκλοι είναι υποθέσεις που ακόμα ερευνώνται.</u>	48

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Clason, D. (2015, 01 23). Obesity and hearing loss. *Healthy Hearing*.
- James D. Watson, A. A. (χ.χ.). Γονίδια και Γονιδιώματα. Στο A. A. James D. Watson, *Ανασυνδυασμένο DNA*. Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
- UK, C. R. (2016, 07 22). How being overweight causes cancer.
- Αντώνιος, Β. (2014). Εφαρμογές Οντολογιών στην Βιοπληροφορική. Θεσσαλονίκη.
- Απόσπασμα κεφάλαιο 4. (2015). Στο Κ. Μ. Μελισίδης, *ΜΔΕ*.
- Γονίδια/Μεταλλάξεις. *Biomedical Research Foundation Academy of Athens*.
- Γονότυπος. (2016, 09 28).
- Ε. Καναβάκης, Α. Ξ. (2001). The human genome project.
- Ιωάννης Ράλλης, Ε. -Δ. (2016, 07 19).
- Κατσαρού Βιβή, Κ. Δ.-Δ. (2012, 01 23). Αντίσταση στην ινσουλίνη και διατροφή. *ιατροnet*.
- Κοντοάγγελος, Κ. (2013, 05 06). Σακχαρώδης Διαβήτης και Παχυσαρκία.
- Φαινότυπος. (2017, 05 06). *Βικιπαίδεια*.
- Koutsandreas *et al*. "Analyzing and Visualizing Genomic Complexity for the Derivation of the Emergent Molecular Networks." *IJMSTR* 4.2 (2016): 30-49.
- Mott R, Talbot CJ, Turri MG, Collins AC, Flint J. 2000. A method for fine mapping quantitative trait loci in outbred animal stocks. *Proc Natl Acad Sci* 97: 12649–12654.