



ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ: Π.2.5

«ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΛΛΕΡΓΙΑ (ΑΝΑΦΟΡΑ)»

για το ΥΠΟΕΡΓΟ 1 της Πράξης:

«ΘΑΛΗΣ- Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών- Ωρίμανση της μη ειδικής ανοσίας: επιρροή των λοιμώξεων και ρόλος τους στην ανάπτυξη ατοπίας και άσθματος» (MIS 377047)

του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση»

Επιστημονικός Υπεύθυνος Πράξης και Υπεύθυνος Υποέργου 1:
Ανδρεάκος Ευάγγελος

Επιμέλεια σύνταξης εγγράφου: ΟΜΑΔΑ ΥΠΟΕΡΓΟΥ 1

ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ	ΠΑΠΑΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΘΕΟΔΟΣΙΟΥ ΘΕΟΔΟΣΙΟΣ	ΠΑΥΛΟΠΟΥΛΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ
ΚΟΚΚΙΝΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ	ΡΟΥΜΠΕΔΑΚΗ ΕΙΡΗΝΗ
ΜΑΓΓΙΝΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ	ΣΚΕΥΑΚΗ ΧΡΥΣΑΝΘΗ
ΜΕΓΡΕΜΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	ΤΑΚΑ ΣΤΥΛΙΑΝΗ
ΞΕΠΑΠΑΔΑΚΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ	ΤΖΕΛΗ ΚΑΣΣΙΑΝΗ
ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ	ΤΣΟΛΙΑ ΜΑΡΙΑ



Η προαναφερθείσα συγχρηματοδοτούμενη πράξη ΕΚΤ-ΕΣΠΑ 2007-2013 έχει ως σκοπό να εξετάσει την υπόθεση ότι η ελαττωματική ωρίμανση της φυσικής ανοσίας νωρίς στη ζωή, επηρεαζόμενη από λοιμώξεις, συμβάλλει στην ανάπτυξη αλλεργικών παθήσεων του αναπνευστικού συστήματος.

Στόχοι της πράξης είναι να περιγραφεί η ωρίμανση της φυσικής ανοσίας σε υγιείς και ασθματικούς δότες, να διευκρινιστεί η επιρροή των λοιμώξεων στην ωρίμανση της φυσικής ανοσίας και την ανάπτυξη/επιμονή αλλεργικών αντιδράσεων στους αεραγωγούς, να προσδιοριστεί η συσχέτιση ιικών λοιμώξεων με τη μικροβιακή αποικιοποίηση του ανώτερου αναπνευστικού και να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του αναπνευστικού επιθηλίου και την αναδόμησης των αεραγωγών στην ανάπτυξη αλλεργίας και άσθματος. Σκοπός του προγράμματος είναι να αποκαλύψει σημαντικές βιολογικές διαδικασίες που ενεργοποιούνται στα πρώτα στάδια της ζωής και συμβάλλουν στην ανάπτυξη αλλεργικών παθήσεων του αναπνευστικού συστήματος με σημαντική διαγνωστική και θεραπευτική σημασία.

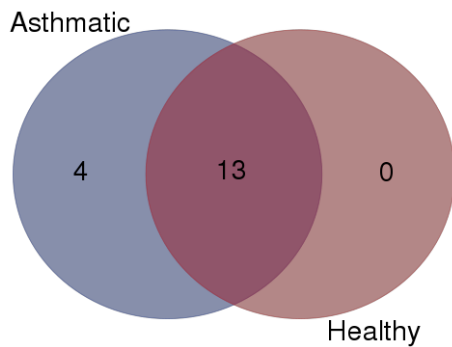
Στο πλαίσιο της πράξης, υλοποιείται το Υποέργο 1 με τίτλο «Ωρίμανση της μη-ειδικής ανοσίας: επιρροή των λοιμώξεων και ρόλος τους στην ανάπτυξη ατοπίας και άσθματος» και θα εκτελεστούν επτά (8) Δράσεις.

Το παρόν παραδοτέο 2.5 αποτελεί μέρος της Δράσης 2: «Επιρροή των λοιμώξεων στην ωρίμανση της φυσικής ανοσίας και την ανάπτυξη αλλεργίας και άσθματος» και περιλαμβάνει τις ενέργειες για την μελέτη της φυσικής ανοσίας σε σχέση με την παρουσία λοιμώξεων σε παιδιά ηλικίας 4-7 ετών που πάσχουν από αλλεργικό βρογχικό άσθμα συγκριτικά με υγιή μη ατοπικά παιδιά αντίστοιχης ηλικίας και φύλου.

Σκοπός του Π.Ε.2.5 είναι να γίνει ο χαρακτηρισμός των βασικών μεταγραφικών μονοπατιών που συνδέονται με την αλλεργία και διεγείρονται ύστερα από ιογενείς λοιμώξεις.

Πιο συγκεκριμένα από τις αρχικές αναλύσεις της πρώτης επίσκεψης (baseline) και κατόπιν διέγερσης των PBMCs ασθενών και μαρτύρων με τον διεγέρτη R848 (TLR-7/8) που προσομοιάζοντας της επίδρασης της ιογενούς λοίμωξης προέκυψε μία σειρά φλεγμονωδών παραγόντων που διαφοροποιείται η έκφρασή τους στα υγιή ή/και στους ασθματικά παιδιά όπως παρουσιάζονται στο Π.Ε.2.4.

Παιρεταιίρω ανάλυση έδειξε ότι τα PBMCs των ασθενών ύστερα από τη διέγερση με τον R848 φαίνεται να διαφοροποιείται η έκφραση τεσσάρων κυτταροκινών περισσότερων σε σχέση με τα υγιή παιδιά (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Διάγραμμα Venn για τον εντοπισμό των κοινών αλλά και των διαφορετικών διαφορικά εκφραζόμενων κυτταροκινών υγιών και ασθενών παιδιών ύστερα από τη διέγερση των PBMCs με R848

Οι τέσσερις αποκλειστικώς σημαντικώς διαφοροποιούμενες κυτταροκίνες είναι: IL13, IL23A, IL7 και CXCL8

Οι συγκεκριμένες κυτταροκίνες εμπλέκονται κυρίως σε βιολογικές διεργασίες που αφορούν την ενεργοποίηση του πολλαπλασιασμού διαφόρων υποπληθυσμών των PBMCs και της ενεργοποίησης της ανοσιακής απόκρισης των κυττάρων (Πίνακας 1).

GO_id	Term	NumberOfGenes	p-value
GO:0050671	positive regulation of lymphocyte proliferation	3	7.26E-7
GO:0032946	positive regulation of mononuclear cell proliferation	3	7.45E-7
GO:0070665	positive regulation of leukocyte proliferation	3	8.24E-7
GO:0002684	positive regulation of immune system process	4	1.89E-6
GO:0050670	regulation of lymphocyte proliferation	3	2.16E-6
GO:0032944	regulation of mononuclear cell proliferation	3	2.2E-6
GO:0070663	regulation of leukocyte proliferation	3	2.45E-6
GO:0051094	positive regulation of developmental process	4	3.5E-6
GO:0090023	positive regulation of neutrophil chemotaxis	2	4.38E-6
GO:1902624	positive regulation of neutrophil migration	2	4.9E-6
GO:0051251	positive regulation of lymphocyte activation	3	5.64E-6
GO:0071624	positive regulation of granulocyte chemotaxis	2	6.01E-6
GO:0002696	positive regulation of leukocyte activation	3	7.41E-6
GO:0090022	regulation of neutrophil chemotaxis	2	7.9E-6
GO:0050867	positive regulation of cell activation	3	8.23E-6
GO:1902622	regulation of neutrophil migration	2	8.59E-6
GO:0002682	regulation of immune system process	4	9,00E-06
GO:2000026	regulation of multicellular organismal development	4	1.29E-5
GO:0071622	regulation of granulocyte chemotaxis	2	1.51E-5
GO:0051249	regulation of lymphocyte activation	3	1.54E-5
GO:0042127	regulation of cell proliferation	4	1.61E-5
GO:0030890	positive regulation of B cell proliferation	2	1.91E-5

GO:0045321	leukocyte activation	3	2.12E-5
GO:0002694	regulation of leukocyte activation	3	2.34E-5
GO:0050865	regulation of cell activation	3	2.88E-5
	positive regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein		
GO:0042531	protein	2	2.96E-5
GO:0009617	response to bacterium	3	3.08E-5
GO:0042509	regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein	2	3.94E-5
GO:0030888	regulation of B cell proliferation	2	4.24E-5
GO:0031341	regulation of cell killing	2	4.4E-5
GO:0050793	regulation of developmental process	4	4.62E-5
GO:0046427	positive regulation of JAK-STAT cascade	2	4.72E-5
GO:0050871	positive regulation of B cell activation	2	5.4E-5
GO:0045582	positive regulation of T cell differentiation	2	5.58E-5
GO:0002690	positive regulation of leukocyte chemotaxis	2	6.13E-5
GO:0030155	regulation of cell adhesion	3	6.56E-5
GO:0045621	positive regulation of lymphocyte differentiation	2	8.13E-5
GO:0002688	regulation of leukocyte chemotaxis	2	8.79E-5
GO:0001775	cell activation	3	8.92E-5

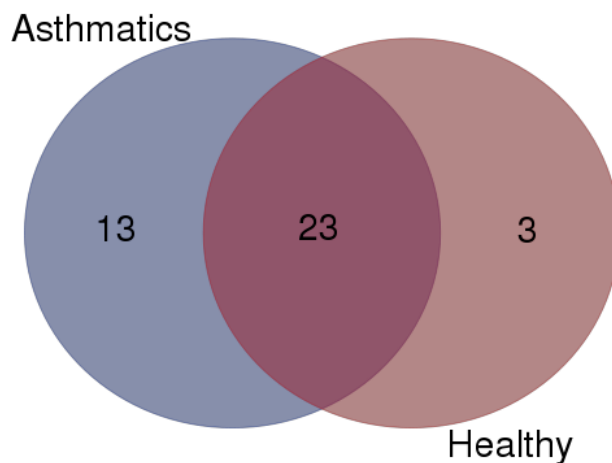
Πίνακας 1. Ανάλυση GO (gene ontology) των αποκλειστικά διαφορικώς εκφραζόμενων κυτταροκινών ασθματικών παιδιών.

Έπειτα, χρησιμοποιώντας τις κυτταροκίνες των οποίων η έκφραση ήταν στατιστικώς σημαντική ύστερα από τη διέγερση των PBMCs με R848 τόσο για τα υγιή (Πίνακας 2) όσο και για τα ασθματικά παιδιά (Πίνακας 2), δημιουργήσαμε τη μεταγραφική υπογραφή με τελικό στόχο την ανίχνευση των σημείων μεταγραφικού ελέγχου μεταξύ αλλεργικών και υγιών ατόμων. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές βάσεις δεδομένων θέσεων πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων, JASPAR και TRANSFAC, βρέθηκαν οι μεταγραφικοί παράγοντες καθώς και οι ακριβείς θέσεις πρόσδεσής τους (στην περιοχή -950, +50 του εκάστοτε γονιδίου). Τέλος, έγινε ομαδοποίηση των γονιδίων σε αυτά που υπόκεινται σε έλεγχο κοινών μεταγραφικών παραγόντων και σε αυτά που ρυθμίζονται από 1-2 ειδικούς μεταγραφικούς παράγοντες.

Asthmatic	Healthy
Transcriptional factors	
C/EBPbeta	C/EBPbeta
CEBPA	CEBPA
COUP-TF	c-Rel
Foxa2	Elf-1
FOXD3	Ets1
FOXL1	Foxa2
FOXO1	FOXL1
FOXO3	FOXO1
Gata1	FOXO3
GATA-2	Gata1
GATA-3	GATA-2
GATA-X	IRF-1

HOXA5	IRF2
IRF-1	MEF2A
IRF2	NF-AT
Lhx3	p65
MCM1	POU2F2
Mecom	PPARG
MEF2A	Spz1
Myb	SRF
NF-AT	STAT1
NFIL3	TBP
NFKB1	TCF3
p54	YY1
p65	ZEB1
Pax-2	NFKB1
POU2F2	
PPARG	
REL	
Spz1	
SRF	
STAT1	
TBP	
TCF3	
YY1	
ZEB1	

Πίνακας 2. Μεταγραφικοί παράγοντες σημαντικοί ($p < 0.05$) για το κοινό μεταγραφικό έλεγχο των διαφορετικώς εκφραζόμενων γονιδίων τόσο για τα ασθματικά όσο και για τα υγιή PBMCs ύστερα από διέγερση με R848.



Εικόνα 2. Διάγραμμα Vienn για τον εντοπισμό των κοινών αλλά και των διαφορετικών μεταγραφικών παραγόντων που φαίνεται να ρυθμίζουν τις διαφορετικώς εκφραζόμενες κυτταροκίνες υγιών και ασθενών παιδιών ύστερα από τη διέγερση των PBMCs με R848

Φαίνεται ότι υπάρχουν 23 κοινοί μεταγραφικοί παράγοντες που ελέγχουν τα κυτταρικά μονοπάτια έκφρασης των κυτταροκινών. Οι δεκατρείς παραπάνω παράγοντες στα κύτταρα των ασθματικών οφείλονται και στις τέσσερις επιπλέον κυτταροκίνες που φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσιακή απόκριση των ασθματικών παιδιών.

Αθήνα, Ιούνιος 2015