

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Στέλλα Π. Λογοθέτη, PhD

ΑΘΗΝΑ, 2019



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ. Ηλίας Ηλιόπουλος

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Systems Medicine

Στέλλα Π. Λογοθέτη

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Ηλίας Ηλιόπουλος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγητής Ηλίας Ηλιόπουλος (επιβλέπων)

Καθηγητής Πολυδεύκης Χατζόπουλος (μέλος)

Καθηγητής Νικόλαος Λάμπρου (μέλος)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε κάθε επίπεδο βιολογικής και κοινωνικής/περιβαλλοντικής οργάνωσης τείνουν να σχηματίζονται πολύπλοκα δίκτυα, τα οποία δημιουργούν περαιτέρω ποικιλομορφία στην εξέλιξη και την έκβαση των νόσων. Ο ανθρώπινος οργανισμός θεωρείται ένα δυναμικό δίκτυο μορίων, ιστών και οργάνων που αλληλεπιδρά διαδραστικά με κοινωνικά και περιβαλλοντικά δίκτυα. Αυτή η συνειδητοποίηση θέτει υπό αμφισβήτηση κραταιά δόγματα της μεταφραστικής έρευνας και της εξατομικευμένης ιατρικής. Για παράδειγμα, ακόμα και αν δύο ασθενείς εμφανίζουν παρόμοιο γενετικό υπόβαθρο, η προδιάθεση στην εμφάνιση νόσων, αλλά και η ανταπόκρισή τους σε θεραπείες μπορεί να διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα τόσο με συνολικά μοριακά τους προφίλ όσο και με το περιβάλλον στο οποίο ζουν. Ως αποτέλεσμα, για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της στοχευμένης θεραπείας και της εξατομικευμένης αντιμετώπισης των ασθενών απαιτείται μια αλλαγή παραδείγματος τόσο στις ερευνητικές ροές εργασίας για τη διαλεύκανση του μοριακού υποβάθρου διαφόρων νόσων, όσο και στη διασύνδεση της ακαδημίας με άλλους φορείς που σχετίζονται με την υγειονομική περίθαλψη. Για τη διαχείριση αυτής της αναπάντεχης πολυπλοκότητας, επιστρατεύεται πλέον η Ιατρική Συστημάτων, η οποία βασίζεται στη συστημική βιολογία. Στο πλαίσιο της Ιατρικής Συστημάτων, η ακαδημία αναμένεται να διαδραματίσει καταλυτικό ρόλο μέσω της δημιουργίας δεδομένων, της ενοποίησης δεδομένων και της μοντελοποίησης. Στην παρούσα εργασία (α) παρουσιάζεται και αναλύεται η έννοια της Ιατρικής Συστημάτων, (β) αξιολογείται η συνεισφορά της ακαδημίας στην Ιατρική Συστημάτων και (γ) ως απόδειξη αρχής της συνεισφοράς των συστημικών μεθόδων στην κατανόηση των νόσων, αναπτύσσονται βιοπληροφορικές ροές εργασίας για την βελτίωση της θεραπευτικής στόχευσης των ασθενών με καρκίνο. Μετα-αναλύονται δεδομένα υψηλής απόδοσης και ενοποιούνται με ευρήματα βιβλιογραφικής έρευνας και αποτελέσματα εξόρυξης σε δημόσιες βάσεις δεδομένων, προκειμένου να κατασκευαστούν μοριακά δίκτυα miRNA/mRNA που ελέγχονται από το p73, το ομόλογο γονίδιο του p53, το οποίο διαθέτει ευνοϊκά αντικαρκινικά χαρακτηριστικά. Τα δίκτυα αυτά θα μπορούσαν να μεταφραστούν σε θεραπευτικές λύσεις για την αντιμετώπιση των επιθετικών σταδίων του καρκίνου.

Λέξεις-κλειδιά: Ιατρική Συστημάτων, συστημική βιολογία, ιατρική P4, δίκτυο εντός δικτύων, πολυστρωματικό υποδίκτυο νόσων, αλλαγή παραδείγματος, διεπιστημονικές προσεγγίσεις, P73, miRNA, μεταγραφική ενεργοποίηση miRNA

ABSTRACT

Complex networks tend to form at every level of biological and social/environmental organization, which further individualize the course of diseases, even on the same molecular background. The human organism is considered as a dynamic network of molecules, tissues and organs which interacts with social and environmental networks. This realization has questioned robust dogmas of translational research and personalized medicine. For instance, even if two patients have a similar genetic background, they might have divergence in disease occurrence and response to therapy, depending on their comprehensive molecular profiles, as well as on their individual environment. Hence, the improvement of efficiency of targeted therapy and personalized patient management necessitates a paradigm shift not only in the research pipelines used to elucidate the molecular background underlying several diseases, but also in the interaction of academia with stakeholders involved in the healthcare. To handle this unforeseen complexity, Systems Medicine is now rising on the shoulders of Systems Biology. In the context of Systems Medicine, academia is anticipated to play a key role through data generation, integration and modeling. In this thesis (a) the concept of Systems Medicine is presented and thoroughly described, (b) the contribution of academia in Systems Medicine is evaluated, and (c) as a proof-of-principle of the contribution of systems biology methods in understanding diseases, bioinformatics analysis pipelines are developed towards improving therapeutic targeting of cancer patients. High throughput data are meta-analyzed and integrated with published experimental research findings and results of mining in publicly-available databases, in order to reconstruct miRNA/mRNA networks governed by p73, a p53 homologue, which poses advantageous anticancer characteristics. The resulting networks could be translated to therapeutic solutions for management of aggressive cancer stages.

Keywords: Systems medicine, systems biology, P4 medicine, network-within-networks, multilayer disease module, paradigm shift, multidisciplinary approaches, P73, miRNA, miRNA transcription

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού Βιολογίας Συστημάτων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Το θεωρητικό πλαίσιο της ιδέας της Ιατρικής Συστημάτων αναπτύχθηκε στο εργαστήριο Πρωτεομικής του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών. Η βιοπληροφορική απόδειξη αρχής πραγματοποιήθηκε στο Ίδρυμα Institute of Experimental Gene Therapy and Cancer Research, Rostock University Medicine.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Ι. Ζωιδάκη, για την αμέριστη πίστη και καθοδήγησή του, τη Δρ. Α. Βλάχου για την ευκαιρία που μου έδωσε να έρθω σε επαφή με τεχνολογίες πρωτεομικής αιχμής και την ομάδα του εργαστηρίου πρωτεομικής για την πρακτική εκπαίδευση σε τεχνικές ανάλυσης πρωτεϊνών υψηλής απόδοσης.

Ευχαριστώ ιδιαίτερω τη Δρ. Β. Pützer για την επίβλεψη και τη διαρκή στήριξή της και τον συνάδελφο και φίλο Δρ. Stephan Marquardt για τη μακροχρόνια και άψογη συνεργασία στην ανάπτυξη βιοπληροφορικών ροών εργασίας και στη διαχείριση μεγάλου όγκου βιολογικών δεδομένων. Η συνεισφορά τους κατέστησε εφικτή την ολοκλήρωση της εργασίας.

Ευχαριστώ τους επιβλέποντες της διπλωματικής εργασίας, Δρ. Π. Χατζόπουλο, Δρ. Α. Ηλιόπουλο και Δρ. Λάμπρου για την πολύτιμη βοήθειά τους και τα εποικοδομητικά σχόλια.

Πίνακας περιεχομένων

| | |
|---|-----------|
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 3 |
| ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΟΥ 21ΟΥ ΑΙΩΝΑ: ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΜΠΕΙΡΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ | 4 |
| ΤΟ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΟ ΙΔΕΟΛΟΓΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ | 9 |
| Η ανάγκη για καθιέρωση της Ιατρικής Συστημάτων και το πεδίο εφαρμογής της | 9 |
| Γεφυρώνοντας το χάσμα: Από τη βιολογία συστημάτων στην ιατρική συστημάτων | 10 |
| Ένας αρχικός ορισμός | 13 |
| Η προσέγγιση «δικτύου μέσα σε δίκτυο» στην Ιατρική Συστημάτων | 14 |
| Μεγάλες προσδοκίες για την Ιατρική Συστημάτων: το όραμα της P4 | 16 |
| ΠΩΣ Η ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΘΑ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΕΙ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗΣ ΠΕΡΙΘΑΛΨΗΣ | 19 |
| Οι πέντε πυλώνες της Ιατρικής Συστημάτων | 19 |
| Οι ενδιαφερόμενοι φορείς της Ιατρικής Συστημάτων | 20 |
| Τα κύρια πεδία για επιτυχή εφαρμογή | 21 |
| Βελτίωση της σχεδίασης των κλινικών δοκιμών | 22 |
| Ανάπτυξη μεθοδολογιών και τεχνολογιών, με έμφαση στη μοντελοποίηση | 23 |
| Δημιουργία δεδομένων | 24 |
| Επενδύσεις σε τεχνολογικές υποδομές | 24 |
| Βελτίωση της διαστρωμάτωσης ασθενών | 24 |
| Συνεργασία με τη βιομηχανία | 25 |
| Καθορισμός των ρυθμιστικών πλαισίων και των κανόνων δεοντολογίας | 25 |
| Διεπιστημονική εκπαίδευση | 26 |
| Δικτύωση μεταξύ όλων των ενδιαφερόμενων φορέων | 28 |
| Συντονισμένες ευρωπαϊκές προσπάθειες διάχυσης και υλοποίησης | 29 |
| Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ | 31 |
| Δημιουργία δεδομένων: ΟΜΙΚΕΣ τεχνολογίες | 33 |
| Ενοποίηση δεδομένων: Ταυτοποίηση υποδικτύων νόσων και πολυστρωματικά υποδίκτυα νόσων | 33 |
| Μοντελοποίηση: Υπολογιστικά και ζωικά μοντέλα για την κατανόηση του συστημικού πλαισίου μιας νόσου | 36 |
| ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ | 38 |
| ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ | 40 |
| ΧΡΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΗΓΩΝ | 41 |
| ΜΕΤΑΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ | 41 |

| | |
|--|-----------|
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 43 |
| ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ | 44 |
| Δίκτυα του p73: ένα ελκυστικό υποκατάστατο του «Ιερού Δισκοπότηρου» της αντικαρκινικής θεραπείας | 44 |
| Τα μόρια miRNA και η συμπεριφορά τους στα δίκτυα | 45 |
| ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ p73 ΜΕ ΤΑ MIRNA ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ | 49 |
| ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ, ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΙΣΟΜΟΡΦΗ P73, ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΣΤΑ ΔΙΚΤΥΑ miRNA/mRNA | 53 |
| Συνεργιστική δράση των πληθυσμών miRNA (miRNome) σε καθοδικούς στόχους mRNA | 53 |
| Άμεση μεταγραφική ενεργοποίηση miRNA-στόχων που είναι ειδικοί για κάθε ισομορφή | 55 |
| ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 58 |
| ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ | 59 |
| ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ, ΣΚΕΨΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ | 60 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ..... | 64 |

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΟΥ 21ΟΥ ΑΙΩΝΑ: ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΜΠΕΙΡΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Έως τα μέσα του 20^{ου} αιώνα, η υγειονομική περίθαλψη βασιζόταν στην εμπειρία. Η επονομαζόμενη εμπειρική θεραπεία εξαρτιόνταν κυρίως από δεδομένα παρατήρησης και από την κλινική εμπειρία. Οι επαγγελματίες υγείας, απουσία ολοκληρωμένων ή λεπτομερών πληροφοριών σχετικά με τους υποκείμενους μοριακούς μηχανισμούς κάποιας νόσου, συνταγογραφούσαν θεραπείες με χρήση κατευθυντηρίων οδηγιών που προέρχονταν από την πρακτική και την εμπειρία. Η εμπειρική ιατρική εφαρμοζόταν ανάλογα με την εμφάνιση των συμπτωμάτων και, συχνά, πριν από την οριστική επιβεβαίωση μιας διάγνωσης, προκειμένου να αποφευχθούν καθυστερήσεις στην αντιμετώπιση των ασθενών, οι οποίες θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε επιδείνωση της νόσου. Για παράδειγμα, αντιβιοτικά ευρέος φάσματος μπορεί να χορηγούνταν σε κάποιον ασθενή προτού ταυτοποιηθεί το συγκεκριμένο βακτηριακό στέλεχος που προκάλεσε τη λοίμωξη. Η καταπολέμηση μιας λοίμωξης όσο το δυνατόν πιο έγκαιρα είναι μείζονος σημασίας προκειμένου να μειωθεί η νοσηρότητα, ο κίνδυνος για τον ασθενή και οι επιπλοκές. Επομένως, είναι σημαντικότερο να χρησιμοποιηθούν, ως εφαλτήριο για τη θεραπευτική αντιμετώπιση, οι διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τα συμπτώματα παρά να παρατείνεται η αναμονή έως τη λήψη των λεπτομερών μοριακών διαγνωστικών πληροφοριών. Αυτές οι θεραπευτικές αποφάσεις βασίζονταν σε παρατηρήσεις σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των φαρμάκων στο συνολικό πληθυσμό και όχι σε μεμονωμένα άτομα. Ο κύριος υπεύθυνος για τη λήψη αποφάσεων ήταν ο θεράπων ιατρός, ο οποίος καλούνταν να αναλάβει την πρωτοβουλία κατά μιας αναμενόμενης και πιθανής αιτίας της εκδήλωσης μιας νόσου. Ωστόσο, η διάγνωση που στηρίζεται σε περιορισμένα αιτιολογικά δεδομένα και η σχετική συνταγογράφηση φαρμάκων με βάση την εκτίμηση της αναλογίας κινδύνου-οφέλους μετατρέπονται, συχνά, σε Δαμόκλειο σπάθη πάνω από τα κεφάλια των επαγγελματιών υγείας. Η υπερσυνταγογράφηση φαρμάκων, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στη θεραπεία, οι δυσκολίες αντιμετώπισης των ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στην αγωγή, οι ανεπιθύμητες ενέργειες, οι αλληλεπιδράσεις φαρμάκων και οι επιπλοκές λόγω καταστάσεων που είναι

ειδικές για κάθε ασθενή αποτελούσαν συνήθη προβλήματα της εμπειρικής προσέγγισης.

Η επανάσταση της μοριακής βιολογίας κατά το δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα οδήγησε στη γένεση της ιδέας της εξατομικευμένης ιατρικής. Η εξατομικευμένη ιατρική στηρίζεται στην ιδέα της «κατάλληλης θεραπείας, για τον κατάλληλο ασθενή, στην κατάλληλη στιγμή» (Schork, 2015). Τον ακρογωνιαίο λίθο αυτής της προσέγγισης αποτέλεσε η πλήρης αλληλούχιση και αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, η οποία οδήγησε, με τη σειρά της, σε σημαντική κατανόηση των μοριακών μηχανισμών διαφόρων νόσων. Συνειδητοποιήθηκε ότι κάθε ασθενής έχει ένα χαρακτηριστικό γενετικό υπόβαθρο το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη συχνότητα εμφάνισης μιας νόσου, την πορεία της νόσου, καθώς και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Έγινε επίσης αντιληπτό ότι πολλές ασθένειες μπορεί να είναι ασυμπτωματικές και να μην εκδηλώνονται προτού να είναι πλέον πολύ αργά για οποιαδήποτε αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση. Κατά συνέπεια, η έγκαιρη διάγνωση μιας νόσου με βάση αξιόπιστους βιολογικούς δείκτες θα μπορούσε να συμβάλλει στην πρόληψη εμφάνισης της νόσου, να αποτρέψει την επιδείνωσή της και να οδηγήσει σε βελτίωση της πρόγνωσης και της έκβασης. Η εξατομικευμένη ιατρική φιλοδοξεί να προσαρμόσει ειδικά τη διάγνωση και τη θεραπεία στις ανάγκες κάθε ξεχωριστού ασθενούς σε έναν πληθυσμό. Για την τελική λήψη αποφάσεων, ο ιατρός υποβοηθείται από εργαλεία μοριακής διαγνωστικής. Προς αυτόν το σκοπό, αναπτύχθηκαν σταδιακά αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κλινικών ιατρών, της ακαδημίας, της βιομηχανίας και της φαρμακοποιίας. Η εξατομικευμένη ιατρική προϋποθέτει, επίσης, ότι οι ασθενείς εμπλέκονται όλο και περισσότερο στην αγωγή τους, στο πλαίσιο της πρόληψης και της πρόγνωσης. Κατά τα πρόσφατα χρόνια, κλινικές μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος σε μεγάλες κοόρτες ασθενών έχουν εστιαστεί σε πτυχές των νόσων που αφορούν στην την ανταπόκριση των ασθενών στη φαρμακευτική αγωγή σε συνάρτηση με το αντίστοιχο γενετικό υπόβαθρο. Αυτή η προσέγγιση αναμενόταν να οδηγήσει σε δημιουργία κατευθυντήριων οδηγιών για τη λήψη ασφαλέστερων αποφάσεις κατά την αντιμετώπιση των ασθενών, οι οποίες να είναι βασισμένες στα γενετικά χαρακτηριστικά τους (Auffray et al., 2016).

Ωστόσο, η εξατομικευμένη ιατρική εμφάνισε μια πτυχή η οποία δεν είχε ληφθεί εξαρχής υπόψη: το γεγονός ότι κάθε ξεχωριστός ασθενής, δεν έχει μόνο ένα μοναδικό γενετικό υπόβαθρο, αλλά και ένα μοναδικό ιστορικό σχετικά με τις συνθήκες ανάπτυξης και διαβίωσής του, την έκθεση σε διαφορετικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, τις διατροφικές συνήθειές του, τον τρόπο ζωής του κ.λπ. Ως φυσική συνέπεια, κάθε άτομο παρουσιάζει διαφοροποιήσεις ως προς το κυτταρικό μικροπεριβάλλον, τη συμβιωτική χλωρίδα, τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή, την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος, τα επιγενετικά χαρακτηριστικά και ούτω καθεξής. Ακόμα και οι κοινωνικοί και οικονομικοί παράγοντες και το πολιτισμικό υπόβαθρο μπορεί να επηρεάσουν την κλινική κατάσταση ενός ασθενούς, την εξέλιξη της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Αυτοί οι παράγοντες, αθροιστικά, δημιουργούν ένα μοναδικό εξωτερικό και εσωτερικό περιβάλλον για κάθε ασθενή, το οποίο επηρεάζει την ευαισθησία του σε διάφορες νόσους, καθώς επίσης τη βαρύτητα και την έκβαση της νόσου. Επιπρόσθετα, οι συννοσηρότητες, η ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή και οι ανεπιθύμητες ενέργειες διαφοροποιούνται για κάθε ασθενή. Σύντομα έγινε αντιληπτό ότι οι εξατομικευμένοι γονότυποι συσχετίζονται με εξατομικευμένους φαινοτύπους (Snyder et al., 2009). Ως εκ τούτου, είναι αναγκαίες ολοκληρωμένες προσεγγίσεις στο πλαίσιο κάθε νόσου. Αυτό είναι το κενό που η Ιατρική Συστημάτων καλείται να καλύψει στις απαρχές του 21^{ου} αιώνα. Πρόκειται για μια προσπάθεια κατανόησης των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στον ανθρώπινο οργανισμό σε συνάρτηση με το γενετικό υπόβαθρο, τις συνήθειες και το περιβάλλον κάθε ασθενούς. Προκειμένου να επιτευχθεί αυτός ο σκοπός, χρειάζεται να αναπτυχθούν αλληλεπιδράσεις και δικτύωση ευρείας κλίμακας μεταξύ των κλινικών ιατρών, της ακαδημίας, της βιομηχανίας, της φαρμακοποιίας και των ίδιων των ασθενών (Boissel et al., 2015).

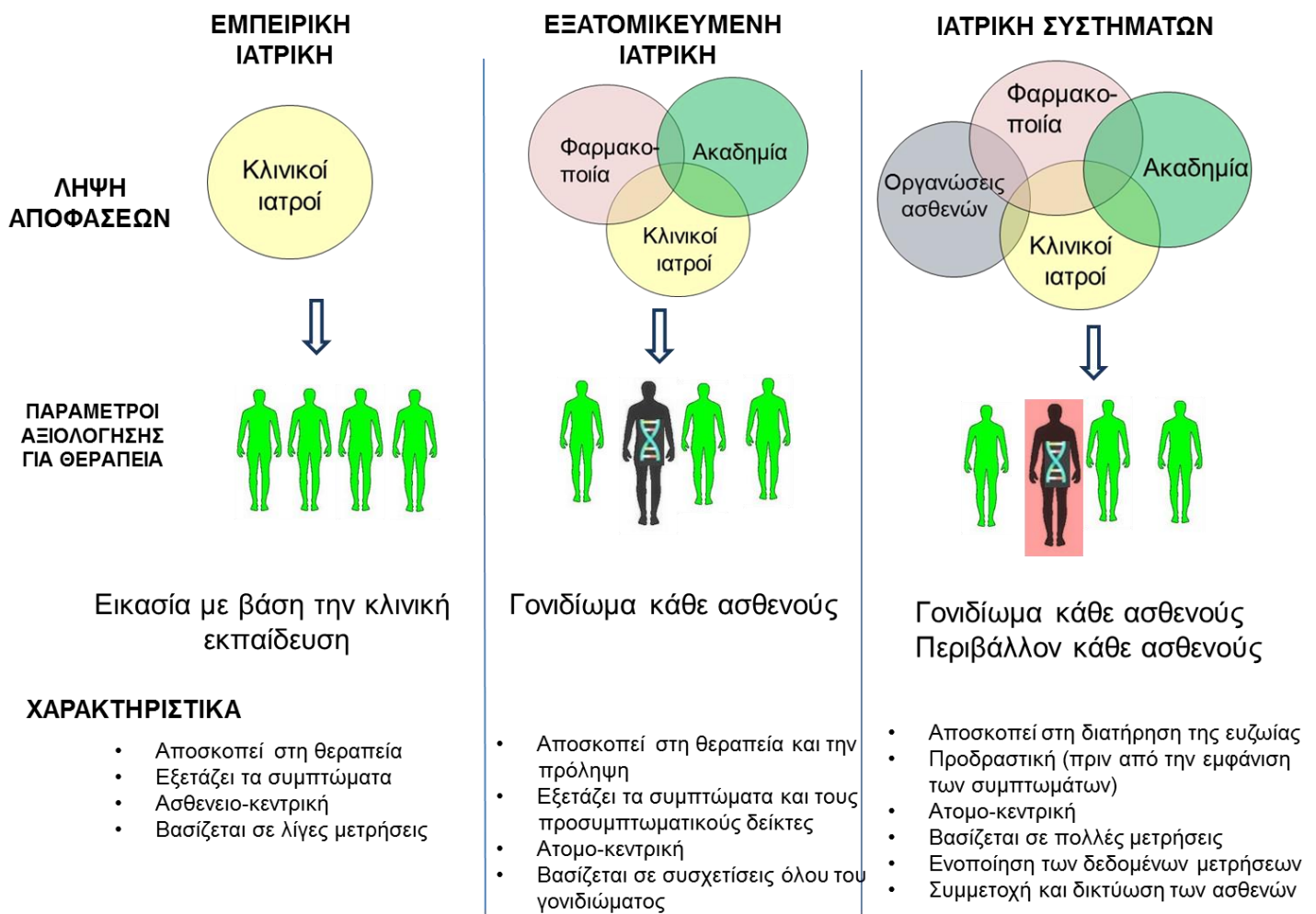
Εκ πρώτης όψεως, τέτοιες συστημικές προσεγγίσεις απαιτούν την ταυτοποίηση και τη συσχέτιση ενός πολύ μεγάλου αριθμού παραμέτρων (π.χ. γενετικών, επιγενετικών, βιοχημικών, ανοσολογικών, περιβαλλοντικών, αναπτυξιακών και κοινωνικών) σε πολλαπλά επίπεδα, γεγονός το οποίο κάνει το εκπόνημα να μοιάζει με Ηράκλειο Άθλο. Ωστόσο, μια πιο προσεκτική θεώρηση οδηγεί στη διαπίστωση ότι πολλές από αυτές τις παραμέτρους

σχετικά με κάποια νόσο, έχουν ήδη ταυτοποιηθεί, μεμονωμένα, σε ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών πεδίων, π.χ. γενετικής, επιγενετικής, επιδημιολογίας, ανοσολογίας κ.λπ. Η παρούσα πρόκληση είναι να συσχετιστούν και να ενοποιηθούν αυτές οι διαφορετικές παράμετροι στα σημεία διεπαφής των διαφορετικών επιστημονικών πεδίων με έναν ολοκληρωμένο και συστημικό τρόπο. Αυτή η προσπάθεια θα ενίσχυε, κατ' επέκταση, την εξατομικευμένη πρόληψη και τη βελτιστοποίηση της θεραπείας έναντι μιας συγκεκριμένης νόσου. Λόγω της προόδου που έχει σημειωθεί σε πολλούς ερευνητικούς τομείς κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, τα περισσότερα κομμάτια του παζλ έχουν ήδη παραχθεί. Είναι επίσης σημαντικό ότι τα ξεχωριστά ανθρώπινα γονιδιώματα μπορούν να αποκωδικοποιηθούν και να καταστούν διαθέσιμα και προσιτά (γονιδίωμα των χιλίων δολαρίων, \$1,000 genome), παρέχοντας τη δυνατότητα λήψης λεπτομερών πληροφοριών σχετικά με κάθε ασθενή (Mardis, 2006). Η πρόκληση της νέας χιλιετίας είναι οι τρόποι με τους οποίους αυτά τα κομμάτια θα συνδυαστούν και θα ενωθούν ώστε να προκύψει η συνολική εικόνα και να αναπτυχθεί μια νέα, ολοκληρωμένη στρατηγική διάγνωσης και θεραπείας κάθε μεμονωμένου ασθενούς.

Οι προηγμένες «ομικές» τεχνολογίες, σε συνδυασμό με τη δημιουργία μοντέλων και τις υπολογιστικές προσεγγίσεις θα διαδραματίσουν καταλυτικό ρόλο στην καθιέρωση αυτής της νέας στρατηγικής για την θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών (Snyder et al., 2009). Η Ιατρική Συστημάτων αποσκοπεί στην αντιμετώπιση μιας νόσου πριν από την εκδήλωση των συμπτωμάτων, καθώς και στη διατήρηση της ευεξίας του γενικού πληθυσμού. Παρόμοια με την εξατομικευμένη ιατρική, η Ιατρική Συστημάτων λαμβάνει υπόψη τα γενετικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε ασθενούς ώστε να δημιουργήσει θεραπευτικές λύσεις προσαρμοσμένες στις ειδικές ανάγκες κάθε ατόμου. Ωστόσο, σε αυτή την περίπτωση, επιπρόσθετα του καθορισμού του γονιδιακού προφίλ, η μοναδικότητα κάθε ασθενούς ορίζεται βάσει μετρήσεων πολλών άλλων μοριακών παραμέτρων, με μεθόδους υψηλής απόδοσης. Τα μοριακά δεδομένα συνδυάζονται με τα κλινικά στοιχεία και τις περιβαλλοντικές παραμέτρους ώστε να προκύψει ένα ολοκληρωμένο προφίλ για κάθε ασθενή. Μια επιπλέον καινοτομία της Ιατρικής Συστημάτων σε σύγκριση με τις ιατρικές προσεγγίσεις παλαιότερης γενιάς (Σχήμα 1) είναι η συμμετοχή και η διαδραστικότητα των ασθενών με τους κλινικούς ιατρούς, ώστε να παράγουν

πληροφορίες, να επηρεάσουν τη λήψη αποφάσεων και να συμμετάσχουν στη διατήρηση της ευεξίας τους μέσω αλλαγών του τρόπου ζωής τους (Hood, 2013).

Σχήμα 1: Επισκόπηση των βασικών χαρακτηριστικών της Εμπειρικής Ιατρικής, της Εξατομικευμένης Ιατρικής και της αναδυόμενης Ιατρικής Συστημάτων.



ΤΟ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΟ ΙΔΕΟΛΟΓΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Η ανάγκη για καθιέρωση της Ιατρικής Συστημάτων και το πεδίο εφαρμογής της

Στην αυγή του 21^{ου} αιώνα, έχει ανακύψει μια μοναδική παγκόσμια κατάσταση χωρίς ιστορικό προηγούμενο: η γήρανση του πληθυσμού. Συγκεκριμένα, υπολογίζεται ότι, πριν από το 2020, ο πληθυσμός των ατόμων με ηλικία άνω των 65 ετών θα υπερβεί αριθμητικά τον πληθυσμό των ατόμων ηλικίας κάτω των 5 ετών. Αυτό σημαίνει ότι σύντομα οι ηλικιωμένοι θα είναι περισσότεροι από τα παιδιά και θα υπάρχουν περισσότερα υπέργηρα άτομα από ποτέ. Η γήρανση του πληθυσμού είναι μια ισχυρή δημογραφική τάση, ικανή να προκαλέσει μείζονες αλλαγές στον πληθυσμό και να καθορίσει το μέλλον των προσεγγίσεων υγειονομικής περίθαλψης. Τόσο το ποσοστό των ηλικιωμένων ατόμων όσο και το προσδόκιμο ζωής αυξάνονται παγκοσμίως, γεννώντας κρίσιμα ερωτήματα. Τα ζητήματα που αναδύονται είναι εάν και κατά πόσο η γήρανση του πληθυσμού μπορεί να συνοδεύεται από παρατεταμένες περιόδους καλής υγείας, ευεξίας, συμμετοχής σε κοινωνικές δραστηριότητες και παραγωγικότητας ή εάν η γήρανση θα συσχετίζεται με περισσότερες ασθένειες, αναπηρία/ανικανότητα και εξάρτηση από τρίτους. Άλλα ζητήματα είναι πώς η γήρανση θα επηρεάσει την υγειονομική περίθαλψη και το κόστος της κοινωνικής ασφάλισης, εάν μπορούν να καθιερωθούν φυσικές και κοινωνικές υποδομές για τη βελτίωση της υγείας και της ευεξίας σε μεγαλύτερες ηλικίες, καθώς και πώς η γήρανση του πληθυσμού θα επηρεάσει διαφορετικά τις χώρες χαμηλού εισοδήματος στον αναπτυσσόμενο κόσμο, σε σύγκριση με τις βιομηχανοποιημένες και ανεπτυγμένες χώρες (WHO, 2011).

Αυτή η κατάσταση επιδεινώνεται από την αύξηση του επιπολασμού και το φορτίο διαφόρων χρόνιων νόσων που σχετίζονται σημαντικά με την ηλικία, π.χ. διαβήτη, καρκίνος, καρδιαγγειακές νόσοι και χρόνιες αναπνευστικές νόσοι. Σε αυτές τις παθήσεις, η γνώση του υποβάθρου και του γενικού ιστορικού ενός ασθενή, επιπρόσθετα των γενετικών και επιγενετικών χαρακτηριστικών του, μπορεί να αποτελέσει προϋπόθεση για αποτελεσματική και βιώσιμη αντιμετώπιση της νόσου.

Εκτός από τις προαναφερθείσες μη μεταδιδόμενες νόσους, έχει σημειωθεί επανεμφάνιση των μεταδιδόμενων νόσων λόγω της ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών βακτηρίων και ιών που μπορούν πλέον να εξαπλώνονται ταχύτερα σε σχέση με το παρελθόν εξαιτίας της αυξημένης κινητικότητας και μεταναστευτικότητας μεγάλων ομάδων πληθυσμών. Η πληθυσμιακή κινητικότητα υποβοηθά σημαντικά την ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών παθογόνων μικροοργανισμών και την ταχεία εξέλιξη των νόσων από επιδημίες σε πανδημίες (WHO, 2011).

Οι προσεγγίσεις της εξατομικευμένης ιατρικής δεν επαρκούν για την επίλυση των αυτών των αναδυόμενων προκλήσεων που προκύπτουν στον τομέα υγειονομικής περίθαλψης (CASyM_Consortium, 2014). Η αυξημένη ανάγκη για εξατομικευμένη και προγνωστική θεραπεία μπορεί να καλυφθεί σε έναν επαρκή βαθμό με βάση τις τρέχουσες προσεγγίσεις. Ωστόσο, αυτές οι δημογραφικές τάσεις δημιουργούν μια επιπρόσθετη ανάγκη για ενίσχυση των προγνωστικών μέσων και προδραστική/προφυλακτική συμμετοχή του ασθενούς στην υγειονομική περίθαλψη. Για αυτόν το σκοπό, χρειάζεται να αναπτυχθούν κατάλληλα συστήματα δεδομένων και ερευνητικές δυνατότητες, οι οποίες να αποσκοπούν στην παρακολούθηση και την κατανόηση των προτύπων και των σχέσεων. Επίσης, χρειάζεται μεγαλύτερος ερευνητικός συντονισμός, ώστε να αποκαλυφθούν οικονομικά αποδοτικοί τρόποι βελτίωσης της υγειονομικής περίθαλψης και της ευζωίας σε χώρες που παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα οικονομικής ανάπτυξης και ποικιλομορφία πόρων (CASyM_Consortium, 2014). Η Ιατρική Συστημάτων έχει επιστρατευθεί για να συμπληρώσει την εξατομικευμένη ιατρική προς αυτή την κατεύθυνση.

Γεφυρώνοντας το χάσμα: Από τη βιολογία συστημάτων στην ιατρική συστημάτων

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαπέντε ετών, η επιτυχής καθιέρωση της βιολογίας συστημάτων ως αυτόνομου ερευνητικού πεδίου έχει φέρει επανάσταση στην κατανόηση της πολυπλοκότητας του ανθρώπινου οργανισμού και των σχετικών με αυτόν νόσων. Η βιολογία συστημάτων αποτελεί μια διατμηματική προσέγγιση, η οποία εστιάζεται σε πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις εντός των βιολογικών συστημάτων με ολιστικό παρά με

αναγωγικό τρόπο. Πρόκειται, συνολικά, για μια συντονισμένη προσπάθεια κατανόησης των ιδιοτήτων ενός συστήματος ως συνόλου αντί για εστιασμένη μελέτη των ιδιοτήτων των μεμονωμένων συστατικών του. Αυτό αποτελεί απόρροια της συνειδητοποίησης ότι οι ιδιότητες ενός μεμονωμένου συστατικού μπορεί να επηρεάζονται σημαντικά από το περιβάλλον. Για παράδειγμα, μέχρι σήμερα, εστιάζομασταν στον χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων των μεμονωμένων μορίων, υποθέτοντας ότι ένα μόριο έχει ειδικές λειτουργίες και σχετίζεται με συγκεκριμένους φαινοτύπους. Ωστόσο, αυτό το μόριο αποτελεί μέρος ενός σύνθετου μοριακού δικτύου και η επίδρασή του στον κυτταρικό φαινότυπο επηρεάζεται ιδιαίτερα από άλλα συστατικά του δικτύου. Κατά συνέπεια, οι ιδιότητές του ως εξατομικευμένη μονάδα δεν είναι οι ίδιες όταν εξετάζεται ως μέρος ενός μεγαλύτερου δικτύου (Chuang et al., 2010). Τα βιολογικά συστήματα εξετάζονται πλέον ως σύνολα δικτύων που λειτουργούν σε πολλαπλά επίπεδα, από τα μόρια και τα κύτταρα, έως τους ιστούς, τους οργανισμούς και τους πληθυσμούς (Flores et al., 2013). Η βιολογία συστημάτων αποσκοπεί στην υπολογιστική και μαθηματική μοντελοποίηση των σύνθετων βιολογικών δικτύων, σε όλα τα επίπεδα, προκειμένου να καθορίσει τις ιδιότητες των κυττάρων, των ιστών και των οργανισμών που λειτουργούν ως ένα σύστημα.

Αυτή η ιδέα σηματοδοτεί, πιθανόν, το τέλος μιας εποχής αναγωγισμού, η οποία επικρατούσε τις προηγούμενες δεκαετίες και χαρακτηριζόταν από τη διαλεύκανση λειτουργιών μεμονωμένων μορίων (Federoff and Gostin, 2009). Η διάσπαση ενός σύνθετου προβλήματος σε μικρότερες και απλούστερες μονάδες διευκολύνει την ανάλυση των μεμονωμένων παραμέτρων του. Αυτή η προσπάθεια έχει φθάσει πλέον σε ένα πλατό. Οι σοβαρές νόσοι είναι επιπλεγμένες και πολυπαραγοντικές και, κατά συνέπεια, ο αναγωγισμός είναι ανεπαρκής για να παρέχει λύσεις. Αντίθετα, η αντιμετώπιση αυτών των νόσων μέσα από το πρίσμα της βιολογίας συστημάτων μπορεί να αποτελέσει μια ακριβέστερη προοπτική ως προς τους νόμους που διέπουν την παθογένεση και την κατάλληλη διαχείρισή τους. Αυτός είναι ο βασικός λόγος για τον οποίο ο αναγωγισμός τείνει να αντικατασταθεί σταδιακά από συστημικές προσεγγίσεις, ειδικά στη μελέτη των χρόνιων νόσων (Federoff and Gostin, 2009).

Η βιοϊατρική έρευνα εγκαταλείπει σταδιακά την αναγωγική προσέγγιση και τείνει να υιοθετήσει μια συστημική προσέγγιση ώστε να κατανοήσει την παθοφυσιολογία με έναν ολοκληρωμένο τρόπο. Για τον σκοπό αυτό, αξιοποιούνται τα ταχέως και συνεχώς αυξανόμενα ποσά δεδομένων υψηλής απόδοσης, καθώς και άλλα σχετικά ποσοτικά βιολογικά/ιατρικά δεδομένα τα οποία έχουν καταστεί διαθέσιμα και προσβάσιμα. Για την εξαγωγή και την εξόρυξη σημαντικών πληροφοριών από αυτά τα δεδομένα και την πλήρη αξιοποίησή τους στο πλαίσιο της διαχείρισης μιας σύνθετης νόσου, υιοθετούνται από το πεδίο των βιολογικών επιστημών ιδέες προερχόμενες από ένα ευρύ φάσμα επιστημών, όπως τα μαθηματικά, η φυσική και η μηχανική. Για την προσπάθεια αυτή, απαιτείται επίσης ειδικευμένοι επιστήμονες να αναπτύξουν συνεργασία στη διεπαφή αυτών των πεδίων.

Οι τεχνολογικές εξελίξεις του προηγούμενου αιώνα έχουν παράγει επαρκή νέα γνώση τόσο στο προκλινικό όσο και στο κλινικό πλαίσιο. Η πρόκληση του νέου αιώνα είναι να βρεθούν τρόποι ώστε να οργανωθούν και να ενοποιηθούν οι γνώσεις και οι πληροφορίες και να καθοριστούν γενικές κατευθυντήριες οδηγίες που να διέπουν τη συνεργασία μεταξύ πολλών πεδίων και ενδιαφερόμενων μερών με σκοπό την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των νόσων, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης, της πρόγνωσης και της θεραπείας. Πολυετείς έρευνες έχουν δημιουργήσει λεπτομερείς πληροφορίες σε όλα τα επίπεδα οργάνωσης των βιολογικών συστημάτων, από τα μόρια και τα κύτταρα έως τα οικοσυστήματα. Η τρέχουσα περίοδος είναι η πιο κατάλληλη περίοδος για την ενοποίηση των διαθέσιμων πληροφοριών ώστε να γίνει κατανοητό πώς όλα αυτά τα συστατικά λειτουργούν μαζί, ως συστήματα (Flores et al., 2013).

Η Ιατρική Συστημάτων είναι ένα πρόσφατα αναδυόμενο πεδίο που αποσκοπεί να παράγει ένα εννοιολογικό και θεωρητικό πλαίσιο για την ερμηνεία και την εφαρμογή των νόμων οι οποίοι διέπουν αυτόν το νέο τρόπο οργάνωσης της βιοϊατρικής πληροφορίας. Μια συστημική προσέγγιση στην υγειονομική περιθαλψη, η οποία μπορεί να υποβοηθηθεί από τη διεπιστημονική συνεργασία και δικτύωση μεταξύ της ακαδημίας, της κλινικής, της φαρμακοποιίας και των ασθενών, είναι θεμελιώδης για την επιτυχημένη εφαρμογή και επίτευξη μιας επαναστατικής αλλαγής παραδείγματος στον τομέα της υγείας. Η Ιατρική Συστημάτων έχει θέσει τα θεμέλιά της στην

επιτυχία που έχει ήδη σημειώσει το πεδίο της βιολογίας συστημάτων, στο οποίο ο ανθρώπινος οργανισμός ορίζεται ως ένα πολυδιαστατικό σύνολο δικτύων. Με άλλα λόγια, η Ιατρική Συστημάτων αντιλαμβάνεται τον ανθρώπινο οργανισμό ως μια πολυστρωματική διάταξη «δικτύου μέσα σε δίκτυο» και επιχειρεί να κατανοήσει τους κανόνες που διέπουν τη συλλογική συμπεριφορά των δικτύων αυτών (Vandamme et al., 2013).

Στην Ευρώπη, το σημαντικό δυναμικό της Ιατρικής Συστημάτων έχει αναγνωριστεί από το 2004, ενώ έχουν ήδη χρηματοδοτηθεί 73 έργα στον τομέα της υγείας, που αφορούν σε έρευνα, εκπαίδευση και υποδομές βιολογίας συστημάτων (CASyM_Consortium, 2014).

Ένας αρχικός ορισμός

Η Ιατρική Συστημάτων είναι ένα ταχέως μεταβαλλόμενο πεδίο, σε πολύ πρώιμο στάδιο ακόμα. Όπως συμβαίνει συνήθως σε αυτές τις περιπτώσεις, δεν υπάρχει ακόμα κάποιος εκχωρημένος ορισμός της. Ο ορισμός του συζητήθηκε πρόσφατα από τη συνεργατική ομάδα του CasyM (Coordinating Systems Medicine across Europe, Ομάδα Συντονισμού της Ιατρικής Συστημάτων σε ολόκληρη την Ευρώπη), δηλαδή από την επίσημη διεπιστημονική κοινοπραξία της Ευρώπης, η οποία αποσκοπεί να αναπτύξει μια στρατηγική εφαρμογής της Ιατρικής Συστημάτων. Κατά συνέπεια, η Ευρωπαϊκή ομάδα των ειδικών κατέληξε στον εξής ορισμό για την Ιατρική Συστημάτων:

“Η Ιατρική Συστημάτων είναι η εφαρμογή των προσεγγίσεων της συστημικής βιολογίας στην ιατρική θεωρία, έρευνα και πρακτική. Αυτό συμπεριλαμβάνει επαναληπτική και αμφίδρομη ανάδραση μεταξύ των κλινικών ερευνών και της ιατρικής πρακτικής με υπολογιστική, στατιστική και μαθηματική πολυεπίπεδη ανάλυση και μοντελοποίηση των μηχανισμών παθογένεσης, της επιδείνωσης και ύφεσης των νόσων, της εξάπλωσης και ίασης των νόσων, της ανταπόκρισης στη θεραπεία και των ανεπιθύμητων ενεργειών, καθώς επίσης και της πρόληψης των νόσων τόσο σε επιδημιολογικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο μεμονωμένου ασθενούς. Κατά συνέπεια, η Ιατρική Συστημάτων αποσκοπεί σε μια μετρήσιμη βελτίωση της υγείας του ασθενούς μέσω προσεγγίσεων και πρακτικής με βάση τα συστήματα.”

(https://www.casym.eu/lw_resource/datapool/_items/item_328/roadmap_1.0.pdf, Clermont G 2009)

Η προσέγγιση «δικτύου μέσα σε δίκτυο» στην Ιατρική Συστημάτων

Τα σύνθετα συστήματα μπορούν να απεικονιστούν γραφικά ως δίκτυα. Τα συστατικά αντιπροσωπεύονται από τους κόμβους του δικτύου, ενώ οι μεταξύ τους συσχετίσεις αντιπροσωπεύονται από συνδέσμους ή ακμές. Τα δίκτυα σε τεχνολογικά, κοινωνικά και βιολογικά συστήματα έχουν κοινή σχεδίαση που υπόκειται σε θεμελιώδεις και μετρήσιμες αρχές οργάνωσης (Barabasi and Albert, 1999). Στα κυτταρικά δίκτυα, τα γονίδια, οι πρωτεΐνες και οι μεταβολίτες αντιπροσωπεύονται από κόμβους, ενώ οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις αντιπροσωπεύονται με ακμές. Εντός των δικτύων, ένα ποσοστό κόμβων έχουν πολλαπλές ακμές και λειτουργούν ως ομφαλοί (hub) που μπορούν να έχουν πολλαπλές επιδράσεις, εάν τροποποιηθούν μεμονωμένα. Η πλειονότητα των κόμβων έχει λίγες ακμές και παρουσιάζει πιο ήπιες επιδράσεις, εάν τροποποιηθεί μεμονωμένα. Ένα επιπλέον σημαντικό χαρακτηριστικό των δικτύων είναι ότι οι λειτουργικά αλληλοσχετιζόμενοι κόμβοι τείνουν να διασυνδέονται σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους και να παρουσιάζουν συνεντόπιση στα δίκτυα, με αποτέλεσμα να σχηματίζουν τμήματα που συμμετέχουν σε κοινές βιολογικές λειτουργίες (Mitra et al., 2013).

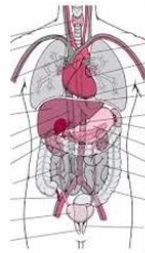
Η Ιατρική Συστημάτων λαμβάνει υπόψη ότι ο ανθρώπινος οργανισμός είναι ένα δυναμικό δίκτυο που αποτελεί μέρος άλλων δικτύων. Τα δίκτυα σχηματίζονται σε κάθε επίπεδο οργάνωσης της ύλης (μοριακό, κυτταρικό, οργάνων, ατόμων και κοινωνικό/περιβαλλοντικό). Αυτό σημαίνει ότι κάθε ανώτερο επίπεδο αποτελείται από τα δίκτυα που σχηματίζονται σε χαμηλότερα επίπεδα. Τα μόρια σχηματίζουν δίκτυα εντός των κυττάρων. Τα κύτταρα επικοινωνούν και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζουν δίκτυα (δηλαδή, ιστούς) εντός των οργάνων. Τα όργανα σχηματίζουν δίκτυα (δηλαδή, συστήματα οργάνων) εντός του ανθρώπινου οργανισμού. Κάθε άτομο αλληλεπιδρά με άλλα άτομα και συνιστά έναν κόμβο κοινωνικών και περιβαλλοντικών δικτύων (Σχήμα 2). Καθένα από αυτά τα δίκτυα έχει ιδιαίτερα δυναμικά, παρά στατικά, χαρακτηριστικά, γεγονός το οποίο

επηρεάζει σημαντικά τον τρόπο με τον οποίο θα αλληλεπιδράσει ένα άτομο στο πλαίσιο μιας παθολογικής κατάστασης (Vogt et al., 2016).

ΚΟΙΝΩΝΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ
Δίκτυα ενδιαφερόμενων φορέων



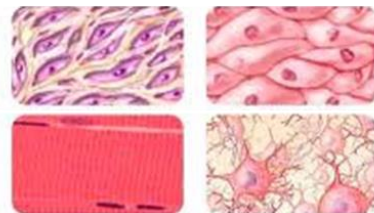
ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ
Δίκτυο οργάνων



ΟΡΓΑΝΑ
Δίκτυα ιστών



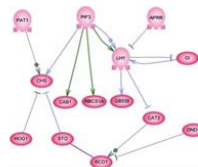
ΙΣΤΟΙ
Δίκτυα κυττάρων



ΚΥΤΤΑΡΑ
Δίκτυα μορίων



ΜΟΡΙΑ
Γονίδια και γονιδιακά ρυθμιστικά δίκτυα



Σχήμα 2: Η λογική του «δικτύου-εντός-δικτύου» αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της Ιατρικής Συστημάτων (προσαρμογή από Vogt H 2016)

Μεγάλες προσδοκίες για την Ιατρική Συστημάτων: το όραμα της P4

Το 2004, οι πρωτοπόροι της Ιατρικής Συστημάτων έθεσαν ένα όραμα, το οποίο αποκάλεσαν το «όραμα της P4». Η Ιατρική P4 είναι ένα σύστημα υγειονομικής περίθαλψης που εμπεριέχει χαρακτηριστικά πρόγνωσης (Predictive), πρόληψης (Preventive), εξατομίκευσης (Personalized) και συμμετοχής (Participatory). Αναμένεται ότι η Ιατρική Συστημάτων θα αποτελέσει καταλύτη για την ανάπτυξη αυτού του αναδυόμενου πεδίου και θα επιφέρει μια αλλαγή παραδείγματος στο σύστημα υγείας.

Πιο συγκεκριμένα, τρεις πρόσφατες εξελίξεις έχουν συγκλίνει προκειμένου να γεννηθεί η ιδέα της Ιατρικής P4:

- 1) Η ολοένα αυξανόμενη ικανότητα της βιολογίας συστημάτων και της Ιατρικής Συστημάτων να ερμηνεύσουν τη βιολογική πολυπλοκότητα μιας νόσου
- 2) Η επανάσταση της πληροφορίας, η οποία έχει διευκολύνει τη συλλογή, την ενοποίηση, τη μετα-ανάλυση, τη μετάδοση και την ανταλλαγή της πληροφορίας και των δεδομένων των ασθενών σε ευρεία κλίμακα.
- 3) Η προσβασιμότητα σε πληροφορίες που σχετίζονται με τις νόσους από όλους όσους εμπλέκονται στην αντιμετώπιση της νόσου, συμπεριλαμβανομένων των επαγγελματιών στον χώρο της υγείας, των ασθενών, των υγιών μελών του πληθυσμού, των επιστημόνων, των κλινικών ιατρών, της βιομηχανίας και των υπεύθυνων για τη χάραξη πολιτικής.

Ο τεράστιος όγκος δεδομένων που παρήχθη κατά τη διάρκεια των προηγούμενων ετών πρέπει πλέον να ενοποιηθεί ώστε να επιτευχθεί ολοκληρωμένη κατανόηση μιας ανθρώπινης νόσου. Για τον σκοπό αυτό, έχει προταθεί να ληφθούν τα λεπτομερή μοριακά προφίλ, σε συνδυασμό με τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά από όσο το δυνατόν περισσότερα άτομα. Κατόπιν, τα δεδομένα αυτά θα μπορούσαν να αναλυθούν με τη χρήση προηγμένων υπολογιστικών εργαλείων. Αυτό θα οδηγήσει στη δημιουργία νέων μοντέλων τα οποία θα διαλευκάνουν τον τρόπο με τον οποίο όλα τα συστατικά των βιολογικών δικτύων αλληλεπιδρούν μεταξύ τους ώστε να οδηγήσουν σε φαινοτύπους νόσου ή φυσιολογικούς φαινοτύπους. Αυτά τα μοντέλα αναμένεται όχι μόνο ότι θα αποκωδικοποιήσουν το «μαύρο κουτί»

των σύνθετων νόσων, αλλά επίσης ότι θα ποσοτικοποιήσουν τη σημασία του να είναι κάποιος υγιής (Flores et al., 2013).

Η ιατρική P4 περιλαμβάνει τέσσερα στοιχεία, τα οποία αναμένεται να ευνοηθούν σημαντικά από τη συλλογή, την αποθήκευση, την προσβασιμότητα και την αξιοποίηση της ιατρικής πληροφορίας σε διάφορα επίπεδα:

- a) *Πρόγνωση*: εάν συλλεχθεί και αξιολογηθεί συστηματικά όσο το δυνατόν περισσότερη πληροφορία από πολλά πεδία, θα μπορούσε να αξιοποιηθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να υποβοηθήσει τη διάγνωση μιας νόσου σε πιο πρώιμο στάδιο. Αυτό εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα: η νόσος είναι αντιμετωπίσιμη με τρόπο ευκολότερο και περισσότερο αποδοτικό ως προς το κόστος, τα φάρμακα χρησιμοποιούνται πιο αποτελεσματικά και εμφανίζουν λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες, οι εκβάσεις των ασθενών είναι περισσότερο ευνοϊκές και τα οικονομικά της υγείας βελτιώνονται.
- b) *Πρόληψη*: η αξιοποίηση της πληροφορίας θα μπορούσε να συντελέσει στην αποφυγή της νόσου στον πληθυσμό, για παράδειγμα μέσω μείωσης της έκθεσης σε σχετικούς παράγοντες κινδύνου. Αυτό αναμένεται να μειώσει συνολικά τη συχνότητα εμφάνισης και τον επιπολασμό στον γενικό πληθυσμό.
- c) *Εξατομίκευση*: Η διαλεύκανση των βιολογικών δικτύων που διαταράσσονται σε συγκεκριμένες ασθένειες μπορεί να οδηγήσει σε πιο συνετή επιλογή νέων θεραπευτικών στόχων, καθώς και στην προσαρμογή των στοχευμένων θεραπειών στις ανάγκες του κάθε ασθενούς. Ωστόσο, προκειμένου να κατανοηθούν οι ανάγκες του κάθε ασθενούς ξεχωριστά, είναι απαραίτητη η δημιουργία «υπολογιστικών νεφών προσωπικών δεδομένων». Αυτό σημαίνει ότι, για κάθε ασθενή, θα πρέπει να συλλέγονται και να αποθηκεύονται δεδομένα με την πάροδο του χρόνου, που να αφορούν στο γονιδίωμά τους, τις αιματολογικές εξετάσεις τους, τον τρόπο ζωής τους, τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά τους, τα επίπεδα δραστηριοτήτων και καταπόνησής τους, το μεταγράφημα, το μεταβόλωμα, το μικροβίωμα, τους τυπικούς ιατρικούς φακέλους τους κ.λπ. Αυτά τα ολοκληρωμένα και περιεκτικά σύνολα δεδομένων θα αποτελέσουν μια βάση πληροφοριών σχετικά με

την κατάσταση της υγείας και τις νόσους του κάθε ατόμου (Flores et al., 2013).

- d) *Συμμετοχή*: Το νέο στοιχείο της ιατρικής P4 σε σύγκριση με την Εξατομικευμένη Ιατρική είναι η συμμετοχή των πολιτών. Η Ιατρική Συστημάτων μπορεί να επεκταθεί από τα νοσοκομεία και τις κλινικές στα σπίτια, τους χώρους εργασίας και τα σχολεία. Οι ίδιοι οι πολίτες ενδιαφέρονται για την υγεία τους, εάν κρίνει κανείς από το γεγονός ότι ένας στους τρεις Αμερικανούς έχουν πραγματοποιήσει διαδικτυακή αναζήτηση προκειμένου να ενημερωθούν για μια ιατρική πάθηση. Αυτό το ενδιαφέρον δημιουργεί μια αλληλεπίδραση μεταξύ των πολιτών και του συστήματος υγειονομικής περίθαλψης όσον αφορά στην ανταλλαγή πληροφοριών. Οι πολίτες μπορούν να παρέχουν πληροφορίες, οι οποίες μπορούν να συγκεντρωθούν σε μια κεντρική «δεξαμενή δεδομένων» και να συνδυαστούν με άλλα δεδομένα σε αυτήν τη δεξαμενή. Αντίστροφα, οι πολίτες μπορούν να ανακτήσουν εξατομικευμένες πληροφορίες οι οποίες θα τους δώσουν τη δυνατότητα για να γίνουν προδραστικοί ή/και να αλλάξουν τις συνήθειές τους υιοθετώντας έναν τρόπο ζωής που θα ωφελήσει την προσωπική τους ευεξία. Από τη μια πλευρά, η συμμετοχική παράμετρος θα είναι ένα μέσο παρακολούθησης της κατάστασης της υγείας του κάθε ατόμου, η οποία θα ενημερώνεται από το ίδιο το άτομο και θα υποβοηθήσει την Ιατρική Συστημάτων να κατανοήσει την πολυπλοκότητα των νόσων. Από την άλλη πλευρά, αυτή η προσπάθεια διασφαλίζει το δικαίωμα των πολιτών να ενημερώνονται, να ενδιαφέρονται και να δραστηριοποιούνται εγκαίρως, σε πραγματικό χρόνο σχετικά με την κατάσταση της υγείας τους (Flores et al., 2013).

ΠΩΣ Η ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΘΑ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΕΙ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗΣ ΠΕΡΙΘΑΛΨΗΣ

Η ιατρική P4 αναμένεται να επιφέρει μετασχηματισμούς, οι οποίοι θα αποτελέσουν τη βάση ενός νέου συστήματος υγειονομικής περίθαλψης. Οι κύριοι μετασχηματισμοί είναι οι εξής (Flores et al., 2013):

1. Οι κλινικές μελέτες θα μετατραπούν σε μελέτες με βάση τον πληθυσμό. Αντί να βασίζονται σε δεδομένα από μικρές κοόρτες ασθενών, θα χρησιμοποιούν δεδομένα από ολόκληρο τον πληθυσμό. Το εγχείρημα αυτό θα υποβοηθηθεί από προηγμένες υπολογιστικές αναλύσεις, ώστε να δημιουργηθούν ολοκληρωμένα μοντέλα της νόσου
2. Η διάγνωση και η θεραπεία με βάση τα συμπτώματα θα αντικατασταθεί από θεραπευτικές επιλογές με βάση τα κυτταρικά και μοριακά προφίλ των ασθενών. Η βελτιστοποίηση των παραμέτρων για εξατομικευμένη θεραπεία, μέσω λήψης και ανάλυσης περισσότερων δεδομένων που αντιστοιχούν σε κάθε μεμονωμένο ασθενή, αναμένεται να βελτιώσει τις προσπάθειες για θεραπεία του κατάλληλου ασθενή, με το κατάλληλο φάρμακο, την κατάλληλη στιγμή, επιτυγχάνοντας καλύτερες εκβάσεις και καλύτερη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας
3. Οι βασικές και οι εφαρμοσμένες επιστήμες θα ενοποιηθούν με την κλινική πρακτική, την πρόληψη και τη φροντίδα της ευζωίας
4. Η υγειονομική περίθαλψη δεν περιορίζεται στην κλινική. Αντίθετα, περιλαμβάνει την ενεργή διατήρηση και ενίσχυση της ευζωίας από τα ίδια τα άτομα στα σπίτια και στους χώρους εργασίας τους.
5. Μια νέα βιομηχανία ευζωίας αναδύεται, η οποία θα επηρεάσει την οικονομική ανάπτυξη του 21^{ου} αιώνα.

Οι πέντε πυλώνες της Ιατρικής Συστημάτων

Η αντιμετώπιση μιας σύνθετης νόσου στο πλαίσιο της ιατρικής συστημάτων συσχετίζοντας μεγάλα σύνολα δεδομένων «όλα με όλα» (all-with-all) είναι ένας ελκυστικός στόχος, αλλά ταυτόχρονα, δύσκολα πραγματοποιήσιμος. Ωστόσο, οι πρόσφατες εξελίξεις της βιοπληροφορικής και της βιολογίας συστημάτων μπορούν να υποβοηθήσουν αυτές τις προσπάθειες. Γενικά, οι πρωτοπόροι της Ιατρικής Συστημάτων έχουν ορίσει πέντε πυλώνες, οι οποίοι θα μπορούσαν να υποστηρίξουν τη διαχείριση του μεγάλου όγκου δεδομένων

για την ανάπτυξη της Ιατρικής Συστημάτων (Flores et al., 2013). Αυτοί είναι οι εξής:

1. Τεχνολογίες αιχμής είναι διαθέσιμες και προσβάσιμες για τη δημιουργία δεδομένων σχετικά με τις καταστάσεις υγείας και νόσου για κάθε άτομο σε πολλαπλά επίπεδα (από το μοριακό προφίλ τους έως τη συμπεριφορά τους εντός των πληθυσμών).
2. Μια ψηφιακή υποδομή αναδύεται για να συνδέσει τη βασική έρευνα με τις κλινικές μονάδες, τους ασθενείς/καταναλωτές και τους παρόχους υγειονομικής περίθαλψης.
3. Υπολογιστικά νέφη προσωπικών δεδομένων που παρέχουν πληροφορίες σχετικά με πολλαπλές πτυχές κάθε ατόμου, όπως το μοριακό προφίλ, οι κοινωνικές και δημογραφικές παράμετροι, το ιατρικό ιστορικό, καθώς επίσης και τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του.
4. Νέες αναλυτικές τεχνικές και τεχνολογίες από τις οποίες μπορεί να προκύψει υλοποιήσιμη γνώση από τα δεδομένα.
5. Μοντέλα συστημάτων για την κατανόηση της κατάστασης της υγείας κάθε μεμονωμένου ατόμου με όρους καταστάσεων δυναμικών δικτύων.

Οι ενδιαφερόμενοι φορείς της Ιατρικής Συστημάτων

Η φιλοσοφία της Ιατρικής Συστημάτων καθιστά απαραίτητη τη συμμετοχή και την αλληλεπίδραση διαφόρων κοινωνικών οντοτήτων, δηλαδή της ακαδημίας, των κλινικών ιατρών, της βιομηχανίας, των χρηματοδοτικών φορέων, των πολιτών και των υπεύθυνων για τη χάραξη πολιτικής. Μια κύρια διαφορά της Ιατρικής Συστημάτων από την εξατομικευμένη ιατρική όσον αφορά στους ενδιαφερόμενους φορείς είναι ότι προσβλέπει σε μια πιο ενεργή συμμετοχή των ασθενών. Στην εξατομικευμένη ιατρική, οι ακαδημαϊκοί φορείς παρέχουν τη γνώση και τα εργαλεία για αποτελεσματική στόχευση, πρόγνωση και πρόληψη της νόσου στο προκλινικό πλαίσιο, σε στενή συνεργασία με τους κλινικούς ιατρούς. Κατόπιν, στο κλινικό πλαίσιο, σχεδιάζονται και πραγματοποιούνται δοκιμές από έμπειρους κλινικούς ιατρούς, οι οποίοι εργάζονται μαζί με τους χορηγούς (δηλαδή τη φαρμακευτική βιομηχανία, τις βιοτεχνολογικές εταιρείες και τις εταιρείες έρευνας και ανάπτυξης). Συνακόλουθα, οι επιτυχείς θεραπευτικές προσεγγίσεις και παρεμβάσεις,

καθώς επίσης και οι νέοι διαγνωστικοί δείκτες προωθούνται στην ιατρική πρακτική. Οι υπεύθυνοι για τη χάραξη πολιτικής λαμβάνουν υπόψη τις νέες τάσεις και εξελίξεις για να τροποποιήσουν τα υπάρχοντα νομικά πλαίσια και τη σχετική νομοθεσία της υγειονομικής περίθαλψης, π.χ. εγκρίνοντας νέες διαγνωστικές μεθόδους για εξετάσεις ρουτίνας και συμπεριλαμβάνοντας νέες μοριακές οντότητες ως εγκεκριμένα φάρμακα στο εθνικό συνταγολόγιο (Chan and Ginsburg, 2011).

Η Ιατρική Συστημάτων βασίζεται σημαντικά στη συμμετοχή και την εμπλοκή των πολιτών σε αυτή την προσπάθεια. Αντί να αντιμετωπίζει τους ασθενείς ως «συμμετέχοντες σε κλινικές δοκιμές» σύμφωνα με τη διακήρυξη του Ελσίνκι (WMA, 1964), θεωρεί τους πολίτες σημαντικούς «συνεργάτες» σε αυτή την προσπάθεια. Στην Ιατρική Συστημάτων, οι πολίτες αποτελούν απαραίτητα συστατικά του δικτύου των ενδιαφερόμενων φορέων, η αλληλεπίδραση των οποίων με άλλα μέρη του δικτύου αναμένεται να συνεισφέρει σημαντικά στον μετασχηματισμό της υγειονομικής περίθαλψης μέσω εισαγωγής περισσότερο αποτελεσματικών, ασφαλών και αποδοτικών ως προς το κόστος μεθόδων. Οι ενεργοί, ενημερωμένοι και δικτυωμένοι ασθενείς έχουν την ικανότητα τόσο να παρέχουν τον μεγάλο όγκο δεδομένων που είναι απαραίτητα για να τροφοδοτήσουν την καινοτομία στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης, όσο και να συμβάλλουν στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης και του επιπολασμού των νόσων στον γενικό πληθυσμό. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω ενημέρωσης σχετικά με το πώς να επιλέγουν τρόπους ζωής που είναι ωφέλιμοι για την υγεία (Flores et al., 2013).

Τα κύρια πεδία για επιτυχή εφαρμογή

Τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης στις διάφορες χώρες παρουσιάζουν ετερογένεια και αποκλίσεις, που μπορούν να θέσουν ορισμένα εμπόδια στην εφαρμογή της Ιατρικής Συστημάτων σε όλες τις ευρωπαϊκές χώρες με συνεπή και ενιαίο τρόπο. Επομένως, για την επιτυχή εφαρμογή της Ιατρικής Συστημάτων είναι απαραίτητη η ανταλλαγή εμπειριών αξιοποιώντας τις αναπτυσσόμενες νέες υποδομές της Ιατρικής Συστημάτων, ώστε να συνδεθούν οι πρωτοβουλίες και να εναρμονιστούν οι σχετικές δραστηριότητες. Σημαντικά βήματα προς την επίτευξη αυτού του στόχου είναι:

(α) η εγκαθίδρυση σταθερών τοπικών δικτύων που φέρνουν συνεχώς σε επαφή τους βασικούς ενδιαφερόμενους φορείς (ασθενείς, υπεύθυνους φροντίδας, προσωπικό φροντίδας, παρόχους τεχνολογίας, εργολάβους/επιχειρηματίες, υπεύθυνους για τη χάραξη πολιτικής και εκπροσώπους ρυθμιστικών αρχών), (β) η δημιουργία κέντρων αναφοράς για την ταυτοποίηση και την αντιμετώπιση των κατά τόπους εμποδίων και δυσκολιών, (γ) η ανταλλαγή ορθής πρακτικής και η μεταφορά γνώσης μεταξύ των κέντρων αναφοράς, (δ) η προσαρμογή των τρεχόντων νομικών, οικονομικών, ρυθμιστικών και εκπαιδευτικών μέτρων, καθώς και των ενθαρρυντικών κινήτρων (Kirschner et al., 2015).

Η συνεργατική ομάδα του CASyM, στο πιο πρόσφατο σεμινάριό της (workshop) όρισε δέκα κύρια πεδία τα οποία πρέπει να ενισχυθούν προκειμένου να διευκολυνθεί η εφαρμογή της Ιατρικής Συστημάτων στο ετερογενές τοπίο των συστημάτων υγειονομικής περίθαλψης των ευρωπαϊκών χωρών. Αυτά περιγράφονται λεπτομερώς παρακάτω.

Βελτίωση της σχεδίασης των κλινικών δοκιμών

Λόγω του τρέχοντος σχεδιασμού τους, οι κλινικές δοκιμές συχνά εμφανίζουν ελλείψεις που αφορούν σε προσβάσιμα και τυποποιημένα δεδομένα υψηλής ποιότητας. Τα δεδομένα σχετικά με κάθε ασθενή δημιουργούνται με ανάλυση των δειγμάτων τους και συχνή παρακολούθηση της κατάστασης της υγείας τους. Ωστόσο, τα δεδομένα αυτά δημιουργούνται με μη συνεπή τρόπο, δεν είναι εύκολα προσπελάσιμα και απαιτούν μετα-αναλύσεις. Αναμένεται ότι οι φάσεις I, II, III και IV των κλινικών δοκιμών θα επανασχεδιαστούν προκειμένου να υποβοηθηθούν προσεγγίσεις μεγάλης κλίμακας, οι οποίες να είναι προσανατολισμένες στον ασθενή. Στις ενέργειες που προτείνονται για την επίτευξη αυτού του σκοπού συγκαταλέγονται: (α) η στόχευση μονοπατιών, αντί μεμονωμένων μορίων, (β) η αξιολόγηση των συννοσηροτήτων και των αλληλεπιδράσεων φαρμάκων, (γ) η εξέταση του ενδεχομένου εφαρμογής σχεδιασμού προσαρμοστικής δοκιμής (adaptive trial design), (δ) η ανάπτυξη *in silico* σχεδιασμού κλινικών δοκιμών, (ε) η πρόσβαση στα σύνολα δεδομένων, (στ) η ανάπτυξη εύρωστων εργαλείων για την ενοποίηση συνόλων δεδομένων με χρήση υπολογιστικών περιβαλλόντων εργασίας που είναι φιλικά για τον χρήστη, με σκοπό την διευκόλυνση των

επαγγελματιών της μεταφραστικής έρευνας, (ζ) η κατηγοριοποίηση των προσεγγίσεων μοντελοποίησης (CASyM_Consortium, 2014).

Ανάπτυξη μεθοδολογιών και τεχνολογιών, με έμφαση στη μοντελοποίηση

Τα δεδομένα που έχουν δημιουργηθεί, με την πάροδο των ετών, χρησιμοποιώντας ένα ευρύ φάσμα τεχνολογιών και πηγών θα πρέπει να ενοποιηθούν με έναν ολοκληρωμένο και λογικό τρόπο. Η υπολογιστική μοντελοποίηση μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο βοήθημα σε αυτή την προσπάθεια, παρέχοντας τη δυνατότητα για δημιουργία μοντέλων σε πολλαπλά επίπεδα. Ο μεγάλος όγκος διαφορετικών δεδομένων και οι πολλοί διαφορετικοί τύποι δεδομένων, καθώς επίσης και οι πολλοί δυνατοί τρόποι συνδυασμού τους καθιστούν δύσκολη την ενοποίηση των δεδομένων με βάση τα μοντέλα που, έως σήμερα, βασίζονται κυρίως στην παλινδρόμηση. Απαιτούνται προηγμένες υπολογιστικές μέθοδοι ανάλυσης και μοντελοποίησης. Παρά τις επιστημονικές προόδους, η πλειονότητα των υπό έρευνα φαρμακευτικών προϊόντων με ικανοποιητικά προφίλ αποτελεσματικότητας και ασφάλειας στο προκλινικό πλαίσιο εμφανίζουν ασυνεπή και αναντίστοιχα προφίλ στις κλινικές δοκιμές, κατά τη μετάβαση «από τον από τον εργαστηριακό πάγκο στην κλίνη του ασθενούς» (from bench to bedside). Αυτό τελικά οδηγεί σε απaráδεκτα υψηλά ποσοστά αποτυχίας και υψηλά οικονομικά κόστη των κλινικών δοκιμών. Η δημιουργία και η εφαρμογή κατάλληλων μοντέλων αναμένεται να μειώσει την ασυμβατότητα μεταξύ των προκλινικών αποτελεσμάτων και των κλινικών εκβάσεων. Η μελλοντική πρόκληση των Μαθηματικών και των επιστημόνων Βιοπληροφορικής που εργάζονται στο πλαίσιο της Ιατρικής Συστημάτων θα είναι η δημιουργία αξιόπιστων μοντέλων από προκλινικές μελέτες *in vitro* και *in vivo*, οι οποίες θα προσφέρουν μεγαλύτερη ακρίβεια στην πρόβλεψη των εκβάσεων στο κλινικό πλαίσιο. Για παράδειγμα, η επιτυχής ενοποίηση των δεδομένων από το προκλινικό και το κλινικό πλαίσιο θα μπορέσει να βελτιώσει τις προβλέψεις ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία και τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (CASyM_Consortium, 2014).

Δημιουργία δεδομένων

Η Ιατρική Συστημάτων απαιτεί μεγάλους όγκους δεδομένων. Η δημιουργία δεδομένων θα πρέπει να βασίζεται στη συστηματική χρήση μεθόδων υψηλής απόδοσης, να αποσκοπεί στην απάντηση ενός κλινικά σχετικού ερευνητικού ερωτήματος, να βασίζεται σε κατάλληλες πληροφορίες από την ανάλυση κλινικών δειγμάτων και ιατρικών αρχείων ασθενών, να είναι κατάλληλο για τη δημιουργία προγνωστικών μοντέλων και να είναι επικυρωμένο με ορθό τρόπο (CASyM_Consortium, 2014).

Επενδύσεις σε τεχνολογικές υποδομές

Η αξιοποίηση της γνώσης από διαφορετικά πεδία απαιτεί υποδομές αιχμής οι οποίες να μπορούν να υποστηρίξουν τον χειρισμό, την αποθήκευση, την κοινοποίηση και την προσπέλαση των δεδομένων. Αυτό το εγχείρημα χρειάζεται να συνοδεύεται από πρότυπα για την αξιολόγηση της ποιότητας των δεδομένων και των μαθηματικών μοντέλων που χρησιμοποιούνται. Επίσης, απαιτείται η καθιέρωση κεντρικών υπηρεσιών διαχείρισης δεδομένων, καθώς επίσης και η δημιουργία αξιόπιστων τμημάτων τεχνικής υποστήριξης και αρχειοθέτησης (CASyM_Consortium, 2014).

Βελτίωση της διαστρωμάτωσης ασθενών

Η πλειονότητα των κλινικών δοκιμών παρουσιάζει αποτυχία λόγω ανεπαρκούς αποτελεσματικότητας ή ασφάλειας. Το γεγονός αυτό καθιστά αναγκαία τη βελτίωση της διαστρωμάτωσης των ασθενών οι οποίοι εγγράφονται στις κλινικές δοκιμές, με βάση τα ολοκληρωμένα κλινικά και μοριακά προφίλ τους. Η διαστρωμάτωση των ασθενών με βάση το γονιδιωματικό, πρωτεομικό ή/και μεταβολομικό προφίλ τους είναι δυνατό να διευκολύνει την προσαρμογή της θεραπείας στις προσωπικές παραμέτρους των ασθενών. Σε αυτό το πλαίσιο, η Ιατρική Συστημάτων μπορεί να συνεισφέρει στην εύρεση συγκεκριμένων συνδυασμών γονιδίων ανά ασθενή τα οποία σχετίζονται με την ασθένεια. Οι «ομικές» τεχνολογίες, οι οποίες επιτρέπουν τη δημιουργία, την ενοποίηση και την ερμηνεία των δεδομένων υψηλής απόδοσης για κάθε ασθενή και για τον συνολικό πληθυσμό των ασθενών αναμένεται να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο. Η διαστρωμάτωση δεν θα βασίζεται πλέον στην έκφραση μεμονωμένων γονιδίων που

σχετίζονται με μια νόσο, όπως ίσχυε μέχρι σήμερα, καθώς αυτή η προσέγγιση δεν παρείχε επαρκή στατιστική ισχύ. Αντιθέτως, θα βασίζεται στην έκφραση συγκεκριμένων συνδυασμών έντονα αλληλοσχετιζόμενων γονιδίων, πρωτεϊνών και μεταβολιτών που οργανώνονται σε δίκτυα σχετιζόμενα με τη νόσο. Η ανάλυση μοριακών δεδομένων υψηλής απόδοσης των ασθενών αναμένεται να αποκαλύψει τέτοιους συνδυασμούς. Οι συνδυασμοί αυτοί ορίζονται ως υποδίκτυα (modules), είναι χαρακτηριστικοί για διαδικασίες νόσων και μπορούν να στοχευθούν κατάλληλα (CASyM_Consortium, 2014).

Συνεργασία με τη βιομηχανία

Ο όρος «βιομηχανία» μπορεί να συμπεριλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εταιρειών, από πολυεθνικούς φαρμακευτικούς συνεταιρισμούς έως τεχνολογικές επιχειρήσεις ανάπτυξης διαγνωστικών kit που χρησιμοποιούνται από τον ίδιο τον ασθενή (technology-driven “do-it-yourself” diagnostics). Στο πλαίσιο της Ιατρικής Συστημάτων, δίνεται έμφαση σε συνεργασίες μεταξύ των δημοσίων φορέων και της ιδιωτικής πρωτοβουλίας. Αυτές θα πρέπει να συνδυάζουν πτυχές βασικής έρευνας, μεταφραστικής έρευνας, κλινικής έρευνας και υγειονομικής περίθαλψης. Επίσης, θα πρέπει να εστιάζονται στις ανάγκες του ασθενούς. Η αλληλεπίδραση μεταξύ τους αναμένεται να προσδιορίσει τα χάσματα και τις τεχνολογικές προκλήσεις που θα πρέπει να επιλύσει η μελλοντική έρευνα και ανάπτυξη. Επιπρόσθετα, λόγω των υψηλών ποσοστών αποτυχίας των κλινικών δοκιμών, η βιομηχανία διστάζει πλέον να προβεί σε επενδύσεις μεγάλης κλίμακας σε καινοτόμες προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση των νόσων. Η εισαγωγή ενός συστημικού πλαισίου είναι δυνατό να δημιουργήσει ένα περισσότερο εύρωστο χαρτοφυλάκιο απόδειξης της ιδέας (proof-of-concept), το οποίο μπορεί να ωφελήσει τη βιομηχανία και να ενθαρρύνει περαιτέρω επενδύσεις στην καινοτομία (CASyM_Consortium, 2014).

Καθορισμός των ρυθμιστικών πλαισίων και των κανόνων δεοντολογίας

Η συγκέντρωση και η διαχείριση αυτού του μεγάλου όγκου προσωπικών στοιχείων άρει δεοντολογικά, κοινωνικά, ρυθμιστικά και οικονομικά ζητήματα. Καταρχήν, η συμμετοχή των ασθενών στην προσπάθεια καθιέρωσης της Ιατρικής Συστημάτων απαιτεί βελτίωση και προαγωγή της εκπαίδευσης και

της ενημέρωσης σχετικά με την υγεία. Δεύτερον, απαιτείται ένα πανευρωπαϊκό νομικό πλαίσιο, καθώς επίσης και αντίστοιχα εκπαιδευτικά προγράμματα για την προστασία του απορρήτου και των δεδομένων των ασθενών. Επιπρόσθετα, η συλλογή και η διαθεσιμότητα δεδομένων ικανών να προβλέψουν τις ασθένειες θα επηρεάσει σημαντικά τα τρέχοντα μοντέλα ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης και υγειονομικής ασφάλισης. Αυτό, αναπόφευκτα, θα καταστήσει απαραίτητη την αναθεώρηση των σχημάτων υγειονομικής κάλυψης, καθώς και την καθιέρωση ενός νέου πλαισίου για τους ασφαλιστικούς φορείς και τους ασφαλισμένους, ώστε η περίθαλψη να είναι δυνατή για όλους (CASyM_Consortium, 2014).

Διεπιστημονική εκπαίδευση

Για αρκετές δεκαετίες, η επικρατούσα τάση για τους επιστήμονες και τους κλινικούς ιατρούς ήταν ο αναγωγισμός και η υπερεξειδίκευση. Ήταν απαραίτητο ο επιστήμονας να εστιάζει σε συγκεκριμένα θέματα, ώστε να τα διαλευκάνει με μεγαλύτερη λεπτομέρεια. Την τελευταία δεκαετία, η άνοδος της βιολογίας συστημάτων έχει ενισχύσει την ακριβώς αντίθετη τάση, δηλαδή του να κοιτάει κάποιος τη γενική εικόνα. Αυτό απαιτεί ο επιστήμονας ή ο κλινικός ιατρός να έχει εκπαίδευση σε ένα ευρύ φάσμα επιστημών, προκειμένου να είναι ικανός να ενοποιεί τα δεδομένα με ολοκληρωμένο τρόπο. Αυτή η φιλοδοξία θυμίζει την εποχή της Αναγέννησης, όπου η κατανόηση των επιστημονικών ιδεών διέπτονταν από την εφαρμογή νόμων με γενικευμένη ισχύ σε ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών πεδίων. Η εστίαση στην κατανόηση των συστημάτων δεν απαιτεί, φυσικά, από έναν ερευνητή ή έναν κλινικό ιατρό να έχει όλη τη γνώση από όλα τα επιστημονικά πεδία. Αντιθέτως, αναμένεται ο επιστήμονας να κατανοεί τις γενικές αρχές τις οποίες μπορεί να εφαρμόσει ώστε να ανακτά και να χρησιμοποιεί διεπιστημονικές πληροφορίες από διάφορες βάσεις δεδομένων. Η εκπαίδευση της μελλοντικής γενιάς αποτελεί μια πρόκληση, καθώς απαιτείται ο επιστήμονας να μπορεί να συνεργάζεται με συναδέλφους από διάφορα επιστημονικά πεδία σε καθημερινή βάση. Η μετάβαση από την αναγωγική στη συστημική προσέγγιση, η οποία θα διαμορφώσει τον τρόπο με τον οποίο ένας ερευνητής κατανοεί την ιατρική ή ένας κλινικός ιατρός κατανοεί την έρευνα απαιτεί κατάλληλη κατάρτιση σε διάφορα επίπεδα εκπαίδευσης. Στο πλαίσιο της ιατρικής εκπαίδευσης,

απαιτείται η δημιουργία ενός ενιαίου συνδέσμου μεταξύ των επιστημονικών πεδίων προκλινικής έρευνας (χημεία, βιοχημεία, κυτταρική και μοριακή βιολογία, στατιστική και παθολογική ανατομία), ο οποίος θα πρέπει να εμπλουτιστεί από εκπαίδευση σχετικά με τα δίκτυα, τη στατιστική, τη διαχείριση δεδομένων και τη μοντελοποίηση. Αυτός ο τύπος εκπαίδευσης είναι πολύ σημαντικός για τους ιατρούς και τους επαγγελματίες σε κλινικά περιβάλλοντα οι οποίοι βρίσκονται στην πρώτη γραμμή της διαχείρισης ασθενών και εμπλέκονται άμεσα στη διάγνωση και τη θεραπεία των νόσων. Αυτοί οι επαγγελματίες υγείας μπορούν να επωφεληθούν σημαντικά από την εξοικείωση με τη γενωμική, την ενοποίηση δεδομένων, τη βιοπληροφορική και τις «ομικές» τεχνολογίες, προκειμένου να μπορέσουν να τα ενσωματώσουν στην εργασία τους. Κατά συνέπεια, η Δια Βίου Ιατρική Εκπαίδευση αναμένεται να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο προς αυτό τον σκοπό. Τα προγράμματα εκπαίδευσης για όλα τα στάδια καριέρας, υποβοηθούμενα από προγράμματα ηλεκτρονικής εκμάθησης και εκπαίδευσης μέσω διαδικτύου θα αποτελέσουν τον ακρογωνιαίο λίθο της δια βίου μάθησης. Αυτά τα εκπαιδευτικά προγράμματα μπορούν να σχεδιαστούν ώστε να είναι ευέλικτα και προσαρμοσμένα σε κάθε επαγγελματία υγείας, π.χ. εκπαίδευση με θεματικές ενότητες, «μελέτη σε δικό σας ρυθμό και χρόνο» (study-at-own-pace) και εκπαίδευση αποδοτική ως προς το κόστος. Επίσης, θα πρέπει να μπορούν να εφαρμοστούν σε μια ποικιλία υποβάθρων επαγγελματιών υγείας, από κλινικούς ιατρούς έως ειδικούς ιατρικών επαγγελμάτων και νοσηλευτές (CASyM_Consortium, 2014). Η δημιουργία τέτοιων εκπαιδευτικών κύκλων εμφανίζει δυσκολίες όχι μόνο λόγω των διαφορετικών υποβάθρων των μαθητών, αλλά επίσης επειδή η βιολογία συστημάτων εναπόκειται σε ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών πεδίων, στα οποία κανένας μαθητής δεν μπορεί να είναι πλήρως ειδικευμένος. Κατά συνέπεια, δεν υπάρχει μία χρυσή τομή για τη διδασκαλία θεματικών ενοτήτων και τεχνικών. Αντίθετα, φαίνεται ότι είναι πολύ περισσότερο σημαντικό οι φοιτητές να εμπνέονται ώστε να έχουν κίνητρο να επιδιώκουν διεπιστημονικές πληροφορίες σχετικά με τα βιολογικά συστήματα και την αναζήτηση μοντέλων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διερεύνησή τους. Για τον επιστήμονα του μέλλοντος, η ικανότητα εκτίμησης της πολυπλοκότητας ενός συστήματος, η κατανόηση των ιατρικών προβλημάτων, καθώς και η δημιουργία και η διαχείριση σχετικών

πληροφοριών θα καταστούν πιο σημαντικές από την υπερεξειδίκευση σε τεχνικές συστημικής ανάλυσης (Voit et al., 2012).

Δικτύωση μεταξύ όλων των ενδιαφερόμενων φορέων

Η επιτυχής εφαρμογή της Ιατρικής Συστημάτων θα είναι αδύνατη χωρίς την αποτελεσματική δικτύωση και επικοινωνία μεταξύ όλων των ενδιαφερόμενων φορέων, συμπεριλαμβανομένων των οργανώσεων ασθενών, της ακαδημίας, της βιομηχανίας, των επαγγελματιών υγείας και των υπεύθυνων χάραξης πολιτικής. Κάθε φορέας διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στη μετάφραση της έρευνας σε νέα προγνωστικά εργαλεία, μέτρα πρόληψης, καθώς και σε εξατομικευμένες θεραπείες στόχευσης. Απαιτείται συνεχής συζήτηση και αλληλεπίδραση μεταξύ όλων των ενδιαφερόμενων φορέων, μέσω συχνών συνδιασκέψεων, σεμιναρίων και εκπαιδευτικών ημερίδων και έχουν ήδη δρομολογηθεί οι αρχικές δράσεις. Προς αυτό τον σκοπό, έχει ήδη δημιουργηθεί η Συμβουλευτική Επιτροπή Ενδιαφερόμενων Φορέων (Stakeholder Advisory Board) (<http://www.healthydietforhealthylife.eu/index.php/organisation/stakeholder-advisory-board>). Η επιτροπή περιλαμβάνει μια ομάδα ειδικών από διάφορα επιστημονικά πεδία, καθώς επίσης και εκπροσώπους της πρωτοβουλίας για την υλοποίηση της Ιατρικής Συστημάτων σε όλη την Ευρώπη. Έχουν στρατολογηθεί εκπρόσωποι οργανώσεων κλινικών ιατρών και ασθενών σε κάθε πτυχή αυτών των δικτύων, έτσι ώστε να αποκτήσουν φωνή όλοι οι φορείς. Οι βασικοί σκοποί αυτών των δικτύων θα πρέπει να είναι: α) να απευθύνονται στις ανάγκες των αναγκών των κλινικών ιατρών και των ασθενών και β) να προτείνουν τρόπους χρήσης τόσο των υπαρχόντων όσο και των νέων δομών για την κάλυψη αυτών των αναγκών. Μέχρι σήμερα, διάφορες πρωτοβουλίες συνεργασίας και συνέργειες έχουν ξεκινήσει μεταξύ των ενδιαφερόμενων φορέων σε όλη την Ευρώπη, π.χ. το Ευρωπαϊκό Στρατηγικό Φόρουμ Ερευνητικών Υποδομών (ESFRI, European Strategy Forum on Research Infrastructures), τις Υποδομές για τη Βιολογία Συστημάτων στην Ευρώπη (ISBE, Infrastructure for Systems Biology Europe) και τις Ερευνητικές Υποδομές Βιοτραπεζών και Βιομοριακών πηγών (BBMRI, Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure). Άλλες πρωτοβουλίες αποσκοπούν στην ενημέρωση σχετικά με τις οικονομικές

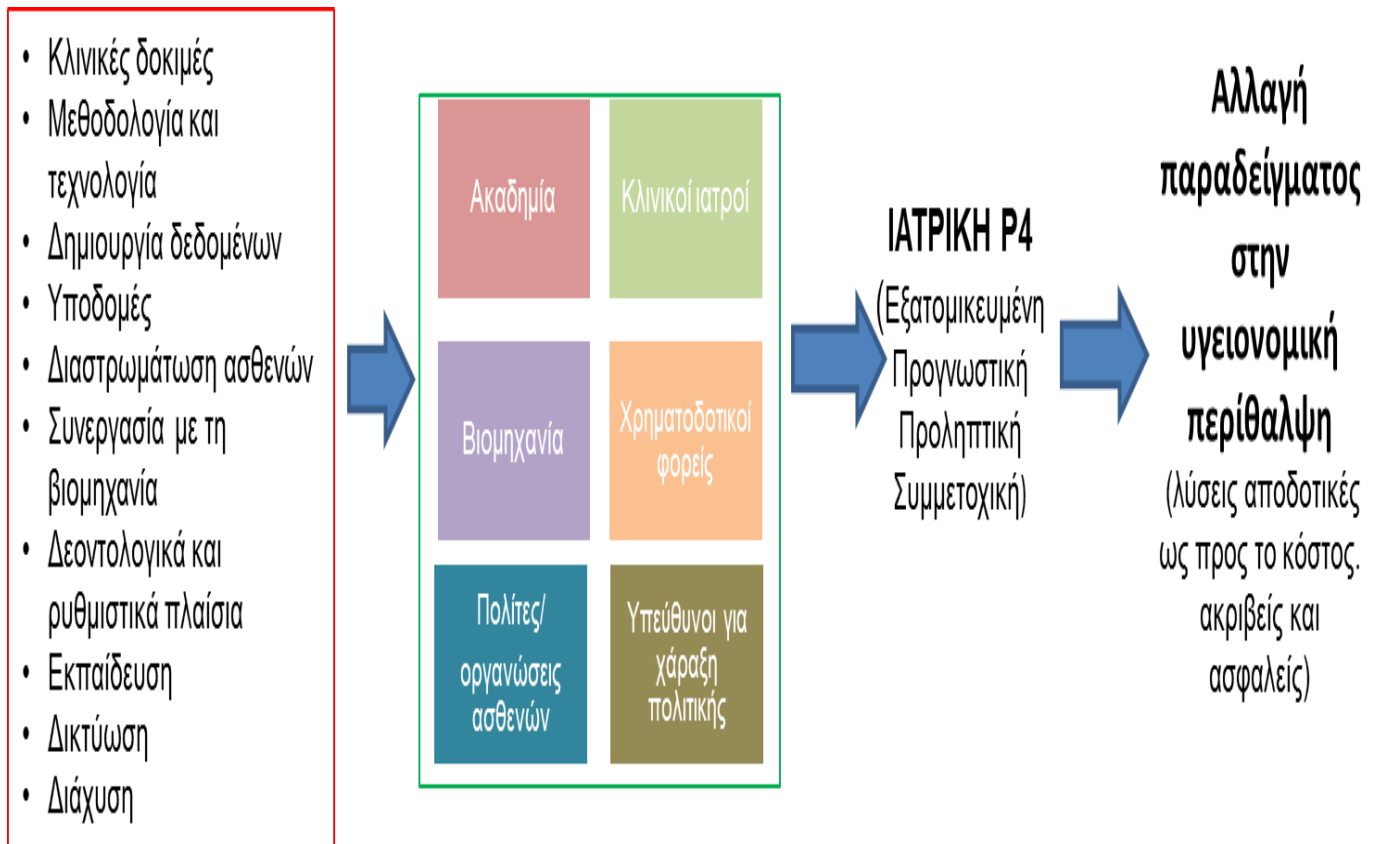
ευκαιρίες για επενδυτές και πολιτικούς παράγοντες (CASyM_Consortium, 2014).

Συντονισμένες ευρωπαϊκές προσπάθειες διάχυσης και υλοποίησης

Η δημιουργία μιας Ευρωπαϊκής Ένωσης Ιατρικής Συστημάτων, με τη συμμετοχή εκπροσώπων από όλες τις ομάδες ενδιαφερόμενων φορέων θα υποβοηθήσει την αποτελεσματική υλοποίηση της Ιατρικής Συστημάτων σε ολόκληρη την Ευρώπη. Αυτή η ένωση ιδρύθηκε πρόσφατα (<http://www.eisbm.org/projects/easym/>). Αποσκοπεί στην εφαρμογή δράσεων για τη συμπερίληψη και τον συντονισμό των προσπαθειών σε όλη την Ευρώπη κάτω από την ομπρέλα της Ιατρικής Συστημάτων. Σε αυτές συγκαταλέγονται: i) η εμπλοκή των πηγών δημοσίων κονδυλίων στις πανευρωπαϊκές πρωτοβουλίες, ii) η ανάπτυξη πανευρωπαϊκών ερευνητικών προγραμμάτων προσανατολιζόμενων σε βιολογία συστημάτων, iii) η προσέλκυση δημοσίων κονδυλίων, iv) η δημιουργία εκτεταμένων δικτύων μεταξύ των κλινικών και των ερευνητικών κέντρων, v) συμπερίληψη της ιατρικής P4 στην ημερήσια διάταξη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η οποία θα μεταφραστεί σε συντονισμένη υποστήριξη σε διάφορα επίπεδα (επιστημονικό, ρυθμιστικό, νομικό, πολιτικό, κλινικό). Σταθερές και διαρκείς συνεργασίες μεταξύ μεγάλων ερευνητικών κέντρων Βιολογίας Συστημάτων, υπολογιστικών ερευνητικών κέντρων και ακαδημαϊκών κλινικών σε ολόκληρη την Ευρώπη θα ενισχύσουν, επίσης, αυτή την προσπάθεια. Ο σκοπός είναι η δημιουργία μιας ενιαίας και ανοιχτής κοινότητας ερευνητών και κλινικών ιατρών, καθώς επίσης και η δημιουργία μιας πλατφόρμας επικοινωνίας για ερευνητές που εμπλέκονται στην Ιατρική Συστημάτων (CASyM_Consortium, 2014).

Παρόμοιες πρωτοβουλίες στο πλαίσιο της Ιατρικής ακριβείας (precision medicine) και της βελτίωσης της εξατομικευμένης ιατρικής έχουν ανακοινωθεί επίσης από τον Λευκό Οίκο στις Η.Π.Α., με ειδική μνεία στη θεραπεία του καρκίνου και του διαβήτη. Η πρωτοβουλία περιλαμβάνει τη συμμετοχή του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH, National Institutes of Health) με σκοπό την υλοποίηση της ιατρικής P4 (Collins and Varmus, 2015, Fox, 2015). Το σχήμα 3 περιγράφει πώς η έμφαση σε βασικά πεδία της Ιατρικής Συστημάτων, πλαισιωμένη από τη συμμετοχή του δικτύου των ενδιαφερόμενων φορέων, θα

οδηγήσει στην υλοποίηση της Ιατρικής P4 και σε αλλαγή παραδείγματος στη μελλοντική υγειονομική περίθαλψη.



Σχήμα 3: Η Ιατρική Συστημάτων ως βάση για την υλοποίηση της Ιατρικής P4 και για αλλαγή παραδείγματος στην υγειονομική περίθαλψη.

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

Η ακαδημία παίζει αποφασιστικό ρόλο στην αλλαγή του τοπίου της εξατομικευμένης θεραπείας και την καθιέρωση της Ιατρικής Συστημάτων. Αναμένεται να έχει μείζονα συμβολή στην παραγωγή και τη πολυεπίπεδη διαχείριση δεδομένων υψηλής απόδοσης. Η ακαδημία θα συμβάλλει σημαντικά στην επίλυση των τεχνικών δυσκολιών που ανακύπτουν κατά τη δημιουργία ποσοτικών συνόλων δεδομένων για μεγάλους αριθμούς μεταβλητών των συστημάτων σε διάφορα επίπεδα οργάνωσης. Μια επιπλέον πρόκληση είναι η ανάπτυξη αποτελεσματικών εργαλείων για τη διαχείριση ενός ευρέος φάσματος διαθέσιμων δεδομένων και την εξόρυξη συνόλων δεδομένων που είναι σχετικά με μια νόσο. Η υπέρβαση αυτών των εμποδίων θα οδηγήσει, συνακόλουθα, στην ανάπτυξη μοντέλων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πρακτική για πρόβλεψη και πρόγνωση νόσων, καθώς επίσης και στη βελτιστοποίηση της εξατομικευμένης θεραπείας. Συνεπώς, οι βασικές συνεισφορές της ακαδημίας στην Ιατρική Συστημάτων θα είναι οι εξής:

- (a) η δημιουργία και η διαχείριση μεγάλου όγκου δεδομένων από κάθε ασθενή. Οι τεχνολογίες «ομικής» (omics) και «πολυομικής» (multiomics) θα αποτελέσουν τους ακρογωνιαίους λίθους αυτής της προσπάθειας. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει κάνει ήδη αποφασιστικά βήματα προς τη διαχείριση δεδομένων, μέσω χρηματοδότησης σχετικών υποδομών για τη διαχείριση μεγάλου όγκου δεδομένων όπως η πλατφόρμα ELIXIR (www.elixir-europe.org)
- (b) η ενοποίηση του μεγάλου όγκου δεδομένων, η οποία βασίζεται σημαντικά σε βιοπληροφορικές προσεγγίσεις, αλλά θα πρέπει να εξελιχθεί προς την κατεύθυνση της υπολογιστικής μοντελοποίησης δικτύων.
- (c) η ανάπτυξη ισχυρών προγνωστικών μοντέλων νόσου, με βάση την ενοποίηση του μεγάλου όγκου δεδομένων. Η υπολογιστική μοντελοποίηση επαφίεται σημαντικά στα μαθηματικά και στην υπολογιστική βιολογία (Chen and Snyder, 2012). Ωστόσο, θα μπορούσαν να αναπτυχθούν νέα ζωικά μοντέλα προσομοίωσης της νόσου στο ερευνητικό πλαίσιο της μοριακής βιολογίας, ώστε να

συμπληρωθούν τα δεδομένα με αντίστοιχο τρόπο (Bousquet et al., 2016).

Το Σχήμα 4 συνοψίζει αυτές τις συνεισφορές της ακαδημίας στην Ιατρική Συστημάτων.



Σχήμα 4: Οι βασικές συνεισφορές της ακαδημίας στην Ιατρικής Συστημάτων περιλαμβάνουν τη δημιουργία, την ενοποίηση και τη μοντελοποίηση δεδομένων σχετικών με τη νόσο με έναν αλληλοσχετιζόμενο και αλληλοεμπλεκόμενο τρόπο.

Δημιουργία δεδομένων: ΟΜΙΚΕΣ τεχνολογίες

Η εξέλιξη των αναλύσεων υψηλής απόδοσης έχει παρέχει τη δυνατότητα για συλλογή και επεξεργασία πληροφοριών σχετικά με τα επίπεδα όλων των μορίων σε ένα δείγμα, σε καθορισμένα χρονικά σημεία. Οι «ομικές» τεχνολογίες μπορούν να παρέχουν πληροφορίες σε επίπεδο συστημάτων για όλα τα γονίδια ή τα γονιδιακά προϊόντα σε οποιοδήποτε δείγμα, π.χ. για το γονιδίωμα (γενωμική), το επιγονιδίωμα (επιγενωμική), τα κωδικά και μη κωδικά μετάγραφα RNA (μεταγραφωμική), τα πρωτεϊνικά προϊόντα (πρωτεομική), τα λιπίδια (λιπιδομική) και τους μεταβολίτες (μεταβολομική). Πρέπει να σημειωθεί ότι ο όρος «ομική» επεκτείνεται ώστε να συμπεριλάβει και άλλα συστήματα, όπως το σύνολο των μικροβίων (μικροβίωμα), τις περιβαλλοντικές εκθέσεις (exposome, εκθέσομα) ή ακόμα και το σύνολο των νόσων (diseasome, ασθενόσομα). Η ανάλυση υψηλής απόδοσης σε δείγματα ασθενών, ακολουθούμενη από την κατάλληλη ενοποίηση δεδομένων, μπορεί να αξιοποιηθεί για την ολοκληρωμένη κατανόηση των νόσων στο πλαίσιο της Ιατρικής Συστημάτων (Benson, 2016).

Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες «ομικές» τεχνολογίες είναι η γονιδιωματική και η μεταγραφωμική. Άλλες δημοφιλείς «ομικές» τεχνολογίες, οι οποίες θέτουν μεγάλες προκλήσεις είναι η πρωτεομική και η μεταβολομική.

Ενοποίηση δεδομένων: Ταυτοποίηση υποδικτύων νόσων και πολυστρωματικά υποδίκτυα νόσων

Οι «ομικές» προσεγγίσεις μπορούν να ταυτοποιήσουν γονίδια/γονιδιακά προϊόντα/μεταβολίτες που είναι συχνά απορρυθμισμένα σε μια συγκεκριμένη νόσο. Ωστόσο, λόγω της πολυπλοκότητας των οργανισμών, αυτές οι πληροφορίες αυτές καθαυτές δεν υποδεικνύουν αυτόματα τα πιο κατάλληλα μόρια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί στόχοι. Αυτά τα μόρια μπορούν να ταυτοποιηθούν με προσεγγίσεις σε επίπεδο συστημάτων. Οι ολοκληρωμένες πολυομικές προσεγγίσεις προτιμώνται περισσότερο συγκριτικά με την ομική ανάλυση η οποία βασίζεται σε έναν μόνο τύπο δεδομένων. Ο συνδυασμός πολλών διαφορετικών τύπων δεδομένων και πολλών επιπέδων πληροφοριών υψηλής απόδοσης αντισταθμίζει για ελλείψεις ή μη αξιόπιστες πληροφορίες που

προκύπτουν από έναν μόνο τύπο δεδομένων. Επιπρόσθετα, ένα μονοπάτι ή ένα γονίδιο το οποίο επιβεβαιώνεται από πολλές πηγές στοιχείων υψηλής απόδοσης είναι λιγότερο πιθανό να αποτελεί μια ψευδώς θετική πρόβλεψη. Επίσης, ενοποιώντας όλα τα διαφορετικά επίπεδα γενετικής, γονιδιωματικής και πρωτεομικής πληροφορίας μπορεί να δημιουργηθεί μια πιο ολοκληρωμένη περιγραφή μιας συγκεκριμένης νόσου, η οποία να είναι περισσότερο αντιπροσωπευτική της πολυπλοκότητάς της. Τα δεδομένα μπορούν να ενοποιηθούν μέσω δύο κύριων προσεγγίσεων: είτε την πολυσταδιακή ανάλυση, η οποία ενοποιεί πληροφορίες με βηματική ή ιεραρχική ανάλυση, είτε τη μετα-διαστατική ανάλυση, η οποία ενοποιεί πολλά διαφορετικά επίπεδα τύπων δεδομένων για την ανάπτυξη ενός πολυπαραγοντικού μοντέλου το οποίο σχετίζεται με μια έκβαση ή φαινότυπο (Ritchie et al., 2015).

Υπάρχει ένα πολύ σημαντικός λόγος για την ενοποίηση δεδομένων ομικής στο πλαίσιο μιας νόσου: έχει παρατηρηθεί ότι γονίδια που σχετίζονται με μια νόσο τείνουν να σχηματίζουν δίκτυα λειτουργικά σχετιζόμενων γονιδίων, τα οποία ονομάζονται «υποδίκτυα νόσου» (disease modules). Αυτά τα υποδίκτυα νόσου μπορούν να υποβοηθήσουν στην ταυτοποίηση της οργάνωσης και στην ιεράρχηση των γονιδίων που σχετίζονται με τη νόσο, και τα οποία συλλέγονται από τις αναλύσεις υψηλής απόδοσης. Επίσης, μπορούν να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς και τα μονοπάτια που διαμεσολαβούν μια νόσο. Επίσης, τα υποδίκτυα νόσου μπορούν να αποκαλύψουν νέα γονίδια σχετιζόμενα με τη νόσο, βιολογικούς δείκτες ή θεραπευτικούς στόχους που δεν μπορούν να ταυτοποιηθούν αρχικά με αναλύσεις ομικής από έναν μόνο τύπο δεδομένων. Τα υποδίκτυα νόσου ακολουθούν τις γενικές αρχές των δικτύων. Για παράδειγμα, αλλαγές σε γονίδια-ομφαλούς είναι πιθανό να έχουν μεγάλες επιδράσεις, ενώ αλλαγές σε πολλά γονίδια με λίγους συνδέσμους θα έχουν πιθανόν μικρές επιδράσεις. Η θεραπευτική στόχευση ενός γονιδίου-ομφαλού είναι πιο πιθανό να είναι αποτελεσματική σε σύγκριση με τη στόχευση ενός γονιδίου με λίγες αλληλεπιδράσεις. Ωστόσο, αυτό αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης μη στοχευμένων επιδράσεων, καθώς ο ομφαλός είναι συνδεδεμένος με πολλά άλλα συστατικά του δικτύου που δεν συσχετίζονται πάντοτε αιτιολογικά με τη νόσο. Η ταυτοποίηση των υποδικτύων νόσου μπορεί να βελτιώσει την

επιλογή των πιο κατάλληλων για φαρμακευτική στόχευση στοιχείων του υποδικτύου νόσου, με τρόπο ώστε να αυξάνεται η αποτελεσματικότητα, αποφεύγοντας ταυτόχρονα τις παρενέργειες λόγω ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων με μόρια εκτός του υποδικτύου νόσου. Αυτή η προσέγγιση αναμένεται να βελτιστοποιήσει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της θεραπευτικής στόχευσης (Gustafsson et al., 2014).

Είναι πολύ σημαντικό ότι τα υποδίκτυα νόσου είναι πολυστρωματικά. Αυτό σημαίνει ότι τα σχετικά υποδίκτυα νόσου δεν περιλαμβάνουν μόνο μία κατηγορία μορίων, π.χ. πρωτεΐνες, και κατά συνέπεια δεν μπορούν να αποκαλυφθούν χρησιμοποιώντας έναν μόνο τύπο δεδομένων. Τα υποδίκτυα νόσου αποτελούνται από στοιχεία διαφόρων κατηγοριών μορίων, όπως μεταγραφικοί παράγοντες, μη κωδικά μόρια RNA, γονιδιακά προϊόντα και άλλα τροποποιητικά μόρια γονιδιακής λειτουργίας (π.χ. επιγενετικοί παράγοντες) τα οποία αλληλεπιδρούν δυναμικά μεταξύ τους. Η ενοποίηση δεδομένων υψηλής απόδοσης από πολλά επίπεδα, τόσο μοριακά όσο και κλινικά, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία πολυστρωματικών υποδικτύων νόσου, τα οποία μπορούν να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την παθογένεση της νόσου. Για παράδειγμα, ο καθορισμός ενός κατάλληλου πολυστρωματικού υποδικτύου νόσου που βασίζεται στην ενοποίηση κλινικών και μοριακών πληροφοριών θα μπορούσε να οδηγήσει στην καθιέρωση ενός βέλτιστου συνδυασμού κλινικών εξετάσεων/μοριακών διαγνωστικών ελέγχων για την έγκαιρη πρόβλεψη της έκβασης μιας νόσου σε κάθε μεμονωμένο ασθενή.

Ένα άλλο στοιχείο που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά τον καθορισμό των πολυστρωματικών δικτύων νόσου είναι ότι αυτά τείνουν να μεταβάλλονται δυναμικά με την πάροδο του χρόνου, αντικατοπτρίζοντας την επιδείνωση της νόσου. Τα στοιχεία των δικτύων μπορούν να επανασυνδεθούν με την πάροδο του χρόνου, σε σχέση με την έκβαση της νόσου. Η ενοποίηση των δεδομένων που παράγονται σε διάφορα χρονικά σημεία μπορεί να υποβοηθήσει τη βηματική παρακολούθηση της πορείας μιας νόσου (Benson, 2016, Gustafsson et al., 2014). Συνολικά, μια σημαντική πρόκληση της Ιατρικής Συστημάτων είναι η ανάπτυξη εύρωστων μεθόδων για την ενοποίηση όλων των πληροφοριών ομικής και των κλινικών δεδομένων.

Αυτό το βήμα της διαδικασίας καθιστά απαραίτητη την ανάπτυξη υπολογιστικών εργαλείων που είναι προσπελάσιμα και φιλικά για τον χρήστη, με σκοπό τη συλλογή, την αποθήκευση και τη διαχείριση των πληροφοριών. Επιπρόσθετα, η δημιουργία πλατφορμών και βάσεων δεδομένων για τη διαχείριση της γνώσης θα υποβοηθήσει τις προσπάθειες ενοποίησης του μεγάλου όγκου δεδομένων (Bousquet et al., 2016).

Μοντελοποίηση: Υπολογιστικά και ζωικά μοντέλα για την κατανόηση του συστημικού πλαισίου μιας νόσου

Η ενοποίηση των κλινικών και μοριακών δεδομένων που αφορούν σε μία νόσο σε όλα τα σχετικά επίπεδα οργάνωσης θα δημιουργήσει μοντέλα νόσου τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία για περαιτέρω κατανόηση μιας νόσου και δημιουργία προγνωστικών μέσων για τη βελτίωση της θεραπείας και της πρόληψης. Η μοντελοποίηση περιλαμβάνει τη μοριακή μοντελοποίηση (π.χ. πρόβλεψη στόχων φαρμάκου/εμβολίου, αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών), μοντελοποίηση υποκυτταρικών διαδικασιών (π.χ. συσχέτιση σηματοδοτικών μονοπατιών με φαινοτύπους), μοντελοποίηση με βάση το κύτταρο (π.χ. αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων, αλληλεπιδράσεις κυττάρων με το μικροπεριβάλλον τους), μοντελοποίηση σε επίπεδο ιστού/οργάνου (π.χ. βιο-μηχανικά μοντέλα, δημιουργία και διατήρηση αρχιτεκτονικής ιστού), μοντελοποίηση σε επίπεδο συστημάτων οργάνων (π.χ. προβλέψεις φαρμακοκινητικής/φαρμακοδυναμικής, προβλέψεις ποσοστών συνολικής επιβίωσης). Τα δείγματα και τα πειραματικά μοντέλα δεν μπορούν να παράγουν όλα τα δεδομένα για όλες τις παραμέτρους που αφορούν σε μια νόσο. Κατά συνέπεια, η υπολογιστική μοντελοποίηση επιστρατεύεται για να καλύψει το χάσμα που δημιουργείται λόγω μη ολοκληρωμένων πειραματικών δεδομένων, μέσω προσεγγίσεων προεκβολής και προσομοίωσης. Για τη δημιουργία μοντέλων πολλαπλής κλίμακας που αντικατοπτρίζουν την πολυπλοκότητα μιας νόσου σε όλα τα επίπεδα, από το μοριακό/κυτταρικό έως το επίπεδο οργανισμού/περιβάλλοντος, πρέπει να πραγματοποιηθούν διάφορες ενέργειες. Σε αυτές συγκαταλέγονται (α) η ανάπτυξη υπολογιστικών εργαλείων και αλγορίθμων για εύρωστες προσομοιώσεις πολλαπλής κλίμακας, (β) η ανάπτυξη μαθηματικών προσεγγίσεων για την ανάλυση μοντέλων πολλαπλής κλίμακας που συμπεριλαμβάνουν την αξιολόγηση

παραμέτρων, την ανάλυση ευαισθησίας, την ανάλυση προσδιορισιμότητας και την ανάλυση εικόνας, (γ) η δημιουργία ρών εργασίας για μοντελοποίηση, συμπεριλαμβανομένων των υπολογιστικών εργαλείων που υποβοηθούν τη διαχείριση δεδομένων, την κατασκευή δεδομένων και την ανάλυση, (δ) προσεγγίσεις για τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ του περιβάλλοντος και της κυτταρικής απόκρισης και την ενοποίηση των σχετικών δεδομένων σε ολοκληρωμένα μοντέλα νόσου (Wolkenhauer et al., 2014).

Τα υπολογιστικά μοντέλα μπορούν να αποκαλύψουν νέες συσχετίσεις γονιδίων με τις διάφορες νόσους. Αυτά θα μπορούσαν να κατευθύνουν την ανάπτυξη νέων ζωικών μοντέλων στο προκλινικό πλαίσιο, τα οποία είναι συμπληρωματικά στα ήδη υπάρχοντα για πιο ολοκληρωμένη κατανόηση της παθογένεσης μιας νόσου. Για παράδειγμα, εάν η ανάλυση δεδομένων υψηλής απόδοσης υποδείξει ότι συγκεκριμένα γονίδια χωρίς προηγούμενη συσχέτιση με μια νόσο εμπλέκονται ειδικά με ένα υποδίκτυο της νόσου, τότε θα μπορούσαν να δημιουργηθούν συγκεκριμένα ζωικά μοντέλα με κατευθυνόμενη απενεργοποίηση ενδογενούς γονιδίου (knockout) ή/και με κατευθυνόμενη εισαγωγή μετάλλαξης γονιδίου (knockin) για την επικύρωση και την περαιτέρω διερεύνηση αυτής της άποψης (Bousquet et al., 2016).

ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Όπως προαναφέρθηκε, όταν ένα μόριο αποτελεί μέρος ενός σύνθετου δικτύου, η επίδρασή του στον κυτταρικό φαινότυπο επηρεάζεται από τη δομή του δικτύου, γιατί οι ιδιότητές του ως εξατομικευμένη μονάδα δεν είναι οι ίδιες με εκείνες που παρουσιάζει όταν εξετάζεται ως μέρος ενός μεγαλύτερου δικτύου (Chuang et al., 2010). Κατά συνέπεια, η αντιμετώπιση πολυπαραγοντικών νόσων, όπως για παράδειγμα ο καρκίνος, μέσα από συστημικές προσεγγίσεις μπορεί να αποτυπώσει με μεγαλύτερη ακρίβεια τους μηχανισμούς παθογένεσης (Federoff and Gostin, 2009). Σε συμφωνία με το παραπάνω ιδεολογικό πλαίσιο της Ιατρικής Συστημάτων, σκοπός του πειραματικού μέρους της παρούσας εργασίας είναι η ανακατασκευή δικτύων που ελέγχονται από το μόριο p73 και η αξιοποίησή τους για σκοπούς αντικαρκινικής θεραπευτικής στόχευσης.

Πιο αναλυτικά, η πλειονότητα των όγκων του ανθρώπου παρουσιάζει δυσλειτουργία του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53. Τα καρκινικά κύτταρα με μεταλλάξεις του γονιδίου p53 παρακάμπτουν ένα από τα πιο ισχυρά ογκοκατασταλτικά δίκτυα, ενώ ταυτόχρονα αποκτούν νέες κακοήθεις ιδιότητες. Η επαναφορά της φυσιολογικής λειτουργικότητας του γονιδίου p53 στους όγκους αποτελεί το «Ιερό Δισκοπότηρο» της αντικαρκινικής θεραπείας, που έχει πυροδοτήσει μια εκστρατεία ερευνητικής αναζήτησης πολλών δεκαετιών (Abraham and Espinosa, 2015). Ωστόσο, έγινε πρόσφατα αντιληπτό ότι οι μεταλλαγές του γονιδίου p53 παρουσιάζουν ετερογένεια τόσο εντός του ίδιου όγκου όσο και μεταξύ διαφορετικών όγκων. Η ύπαρξη διαφορετικών μεταλλαγών του γονιδίου p53 μεταξύ διαφορετικών ασθενών με καρκίνο (Olivier et al., 2010) δυσχεραίνει την ανάπτυξη ενός φαρμάκου το οποίο στοχεύει το p53, επειδή ένα φάρμακο κατά μιας συγκεκριμένης μεταλλαγής μπορεί να είναι αποτελεσματικό μόνο για το μικρό ποσοστό του πληθυσμού που φέρει τη συγκεκριμένη μεταλλαγή. Από την άλλη πλευρά, εφόσον διάφοροι τύποι μεταλλαγών του γονιδίου p53 ενδέχεται να συνυπάρχουν εντός του ίδιου όγκου (Giaretti et al., 2000) (Ren et al., 2007), οι πιθανότητες ανάπτυξης ανθεκτικότητας έναντι των φαρμάκων στόχευσης του γονιδίου p53 αυξάνονται: παρότι τα κύτταρα που φέρουν έναν συγκεκριμένο τύπο μεταλλαγής p53 περιορίζονται αποτελεσματικά από ένα ειδικό φάρμακο, η συγκεκριμένη θεραπεία ενδέχεται να δημιουργήσει πρόσφορο έδαφος για

εξελικτική επιλογή και επέκταση υποπληθυσμών κυττάρων που φέρουν άλλους τύπους μεταλλαγών p53 οι οποίες είναι ανθεκτικές στο φάρμακο. Συμπερασματικά, παρότι ασθενείς με καρκίνο έχουν ως κοινό γενετικό υπόβαθρο τη μεταλλαγή του γονιδίου p53, η αντιμετώπισή τους με βάση αυτό το γενετικό χαρακτηριστικό, κατά το δόγμα της εξατομικευμένης θεραπείας, αναμένεται να είναι ανεπαρκής και μη αποτελεσματική. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω εμπόδια, καθίσταται επιτακτική η ανάγκη υιοθέτησης και εφαρμογής συστημικών προσεγγίσεων. Για παράδειγμα, μόρια τα οποία είναι εξίσου δραστικά με το γονίδιο p53, αλλά ενδεχομένως περισσότερο ανθεκτικά στη δημιουργία μεταλλαγών, θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια ελκυστική εναλλακτική επιλογή.

Σε αυτή την εργασία, υποθέτω ότι το γονίδιο p73, ένα δομικό και λειτουργικό ομόλογο του γονιδίου p53, μπορεί να αποτελέσει έναν εναλλακτικό θεραπευτικό στόχο, μέσω κατάλληλης τροποποίησης των μοριακών δικτύων που ελέγχει. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στα μόρια-τελεστές που ανήκουν στην κατηγορία των μη κωδικών μορίων RNA, και συγκεκριμένα στην τάξη των miRNA. Σκοπός του πειραματικού μέρους της εργασίας είναι η ανακατασκευή δικτύων που ελέγχονται από το p73 με χρήση συστημικών προσεγγίσεων για σκοπούς μεταφραστικής έρευνας.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΧΡΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΗΓΩΝ

Για την αναζήτηση miRNA που αποτελούν πειραματικά επιβεβαιωμένους στόχους των γονιδίων p53 και p73, καθώς επίσης και miRNA που αναστέλλουν το p73 ή τις πρωτεΐνες μετα-μεταφραστικής τροποποίησής του πραγματοποιήθηκε εκτενής αναζήτηση στη βάση δεδομένων βιοϊατρικής βιβλιογραφίας PubMed.

ΜΕΤΑΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Για τη δημιουργία ροής εργασίας βιοπληροφορικής ανάλυσης με σκοπό την πρόβλεψη μεταγραφικών μορίων mRNA που στοχεύονται από τους πληθυσμούς miRNA (miRNome) οι οποίοι αποκρίνονται στις ισομορφές p73, αρχικά ανακτήθηκαν δεδομένα μικροσυστοιχιών miRNA που ρυθμίζονται θετικά ή αρνητικά σε κύτταρα Saos μετά από την επαγωγή της έκφρασης των ισομορφών TAp73α ή TAp73β, σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες διαμόλυνσης (mock transfected) (Galtsidis et al., 2017). Οι επαληθευμένοι και δυνητικοί mRNA-στόχοι αυτών των miRNA προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια της πλατφόρμας DIANA. Συγκεκριμένα, για τους επαληθευμένους στόχους χρησιμοποιήθηκε η επιλογή (TarBase v7.0 and v8.0), ενώ για τους δυνητικούς στόχους η επιλογή (micro T CDS database). Τα δεδομένα μικροσυστοιχιών mRNA που ρυθμίζονται θετικά ή αρνητικά σε κύτταρα Saos μετά την επαγωγή της έκφρασης των ισομορφών TAp73α ή TAp73β ανακτήθηκαν από το καταθετήριο Gene Expression Omnibus (GEO), τα οποία έχουν παραχθεί από τους Koepel et al (Koepel et al., 2011). Η ανάλυση συνεργιστικής δράσης των miRNA πραγματοποιήθηκε συλλέγοντας τους mRNA-στόχους όλων των συνδυασμών miRNA των πληθυσμών miRNA που είναι ειδικοί για κάθε ισομορφή (εφεξής καλούμενοι TAp73α-miRNome ή TAp73β-miRNome). Στη συνέχεια, με τη χρήση του ηλεκτρονικού εργαλείου διαγράμματος Venn (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) υπολογίστηκε η επικάλυψη μεταξύ των μορίων mRNA που προβλέπεται ότι να στοχεύονται συνεργιστικά με τα μόρια mRNA τα οποία παρουσιάζουν αρνητική ρύθμιση στις μικροσυστοιχίες των κλώνων Saos-TAp73α και Saos-TAp73β. Κατόπιν, το σύνολο των αλληλεπικαλυπτόμενων μορίων mRNA υποβλήθηκε σε in silico ανάλυση DAVID με χρήση των εργαλείων ανάλυσης μονοπατιών και

γονιδιακής οντολογίας (GO), τα οποία χρησιμοποιούνται για τη λειτουργική επισήμανση μικροσυστοιχιών (<https://david.ncifcrf.gov/>)

Για τη δημιουργία ροής εργασίας βιοπληροφορικής ανάλυσης για την πρόβλεψη γονιδίων miRNA-στόχων των ισομορφών p73, καθώς και των καθοδικών μορίων-τελεστών τους, εφαρμόστηκε η διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω με τη διαφορά ότι πραγματοποιήθηκε μόνο για εκείνα τα miRNA τα οποία αποτελούν δυνητικούς μεταγραφικούς στόχους των ισομορφών TAp73α ή TAp73β. Συγκεκριμένα, μετα-αναλύθηκαν δεδομένα μικροσυστοιχιών τα οποία έχουν παραχθεί από τους Galtsidis S et al σε κλώνους Saos με έκτοπη έκφραση των ισομορφών TAp73α ή TAp73β (Galtsidis et al., 2017). Ανακτήθηκαν τα miRNA τα οποία έχουν δυνητικά ρυθμιστικά στοιχεία p73 στις περιοχές των αντίστοιχων υποκινητών τους και παρουσιάζουν αύξηση έκφρασης κατά την επαγωγή των ισομορφών TAp73α ή TAp73β στους κλώνους Saos (Galtsidis et al., 2017). Ακολούθησε (α) προσδιορισμός των mRNA-στόχων αυτών των miRNA με τη βοήθεια της πλατφόρμας DIANA, (β) δημιουργία διαγράμματος Venn μεταξύ αυτών των mRNA με τα μόρια mRNA που παρουσιάζουν αρνητική ρύθμιση στις μικροσυστοιχίες των κλώνων Saos-TAp73α και Saos-TAp73β και (γ) λειτουργική ανάλυση DAVID.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ

Δίκτυα του p73: ένα ελκυστικό υποκατάστατο του «Ιερού Δισκοπότηρου» της αντικαρκινικής θεραπείας

Ο μεταγραφικός παράγοντας p73 είναι ένα μέλος της οικογένειας του p53, με υψηλή δομική και λειτουργική ομοιότητα με το πρωτότυπο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53. Το γονίδιο p73 συνθέτει έναν μεγάλο αριθμό ισομορφών με τους εξής τρόπους: (α) χρήση ενός εξωτερικού (P1) ή ενός εναλλακτικού εσωτερικού (P2) υποκινητή, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται οι τάξεις ισομορφών TA και ΔN, αντίστοιχα, (β) εναλλακτικό μάτισμα στο 5' άκρο, με αποτέλεσμα να παράγονται οι περικομμένες στο μεντελικό άκρο ισόμορφες ΔTA, από τις οποίες λείπει τμήμα ή ολόκληρη η περιοχή μεταγραφικής ενεργοποίησης και, μαζί με τις ισόμορφες ΔN, αποτελούν την τάξη ισομορφών DN και, (γ) εναλλακτικό μάτισμα στο 3' άκρο, το οποίο παράγει διάφορες παραλλαγές του καρβοξυτελικού άκρου (α, β, γ, δ, ε, ζ, η, η*, η1 και θ) (Logotheti et al., 2013). Οι ισομορφές TAp73 είναι αντι-ογκογόνες, ενώ οι ισομορφές DNp73 εμφανίζουν ογκογόνες ιδιότητες. Αντίθετα από τις ισομορφές TA και ΔN, οι οποίες ανιχνεύονται επίσης σε φυσιολογικούς ιστούς, η τάξη των ισομορφών ΔTA εκφράζεται αποκλειστικά σε καρκινικούς ιστούς (Engelmann et al., 2015). Οι μηχανισμοί δράσης των ισομορφών p73 εκτείνονται πέρα από εκείνους ενός τυπικού μεταγραφικού παράγοντα και είναι πολύ σημαντικοί. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι οι ισομορφές TAp73 δεσμεύονται στα αντίστοιχα ρυθμιστικά στοιχεία p73 και επάγουν μεταγραφική ενεργοποίηση των γονιδίων-στόχων τους. Αντίθετα, οι ισομορφές DNp73 ανταγωνίζονται αυτή τη δράση είτε αναπτύσσοντας ανταγωνισμό με τις ισομορφές TAp73 ως προς τη δέσμευση στις θέσεις πρόσδεσης του p73 είτε σχηματίζοντας ανενεργά ετερο-ολιγομερή (TAp73/DNp73) με αυτές (Stiewe et al., 2002). Εκτός από αυτόν τον τυπικό τρόπο άμεσης μεταγραφικής ρύθμισης, οι ισομορφές p73 παρουσιάζουν επίσης και έναν αναδυόμενο, αλλά ακόμα ανεπαρκώς μελετημένο τρόπο γονιδιακής ρύθμισης μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες πρωτεΐνες (Ming et al., 2008), (Engelmann et al., 2015).

Από θεραπευτικής άποψης, το γονίδιο p73 εμφανίζει πολλά ευνοϊκά χαρακτηριστικά. Καταρχήν, αντίθετα με το γονίδιο p53, το p73 σπάνια

ανευρίσκεται μεταλλαγμένο στον καρκίνο (Logotheti et al., 2013), γεγονός το οποίο καθιστά την στόχευσή του απλούστερη, εξαιτίας της έλλειψης ετερογένειας των μεταλλάξεων εντός του όγκου και μεταξύ όγκων. Δεύτερον, οι ισομορφές TAr73 αναστέλλουν όλα τα ορόσημα του καρκίνου και ενισχύουν την ανταπόκριση σε τυπικές χημειοθεραπείες και ακτινοθεραπείες (Logotheti et al., 2013). Ένα επιπρόσθετο χαρακτηριστικό του γονιδίου p73 είναι ότι ενεργοποιεί μονοπάτια τα οποία είναι είτε πλήρως είτε μερικώς επικαλυπτόμενα με εκείνα του γονιδίου p53, ώστε να επάγει την ίδια αντικαρκινική επίδραση. Το χαρακτηριστικό αυτό επιτρέπει ουσιαστικά στο γονίδιο p73 να εγκαθιστά ένα εφεδρικό δίκτυο του p53, με ανάλογο τρόπο με τον οποίο μια μονάδα αδιάλειπτης ενέργειας (UPS), που χρησιμοποιεί τόσο κοινή όσο και εναλλακτική δικτύωση σε σχέση με το κεντρικό κύκλωμα ισχύος, ώστε να διασφαλίσει διαρκή λειτουργία. Από τη μία πλευρά, το γονίδιο p73 αντικαθιστά πιστά τις λειτουργίες του p53 ενεργοποιώντας κοινούς μεταγραφικούς γονιδιακούς στόχους και επάγοντας τους ίδιους άξονες. Ρυθμίζοντας μονοπάτια απόκρισης στο στρες τα οποία παρουσιάζουν πλήρη αλληλεπικάλυψη με εκείνα του γονιδίου p53 (μονοπάτια που εξαρτώνται από p53/p73), το γονίδιο p73 τα διατηρεί ενεργά ακόμα και απουσία λειτουργικού γονιδίου p53 (Chakraborty et al., 2010). Από την άλλη πλευρά, χρησιμοποιεί μονοπάτια που είναι ανεξάρτητα από το p53 για να υποκαταστήσει τις αντιογκογόνες επιδράσεις του γονιδίου p53. (John et al., 2011). Με αυτό τον τρόπο, ενεργοποιώντας μονοπάτια με μερική επικάλυψη με εκείνα του p53 (μονοπάτια που εξαρτώνται από το p73, αλλά είναι ανεξάρτητα από το p53), το γονίδιο p73 μπορεί να παρακάμψει παρεμποδίσεις που προκαλούνται λόγω βλαβών μορίων-τελεστών καθοδικά του γονιδίου p53.

Τα μόρια miRNA και η συμπεριφορά τους στα δίκτυα

Τα miRNA αποτελούν μια τάξη μικρών, συντηρημένων μορίων RNA μήκους 19-27 νουκλεοτιδίων, τα οποία κωδικοποιούνται από γονίδια που εδράζονται είτε σε εσονία/εξόνια πρωτεϊνικών γονιδίων ή σε περιοχές μεταξύ γονιδίων. Τα ώριμα miRNA υβριδοποιούνται με συμπληρωματικές αλληλουχίες της 3'UTR (μη μεταφραζόμενη περιοχή) των μεταγραφικών μορίων mRNA-στόχων και επάγουν είτε την αποδόμηση των πλήρως συμπληρωματικών αλληλουχιών-στόχων είτε την αναστολή της μετάφρασης των μερικώς συμπληρωματικών

στόχων. Με αυτό τον τρόπο τροποποιούν την έκφραση δεκάδων πρωτεϊνικών γονιδίων σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο. Κάθε μόριο miRNA έχει εκατοντάδες στόχους mRNA και μπορεί δυνητικά να συμμετέχει σε πολλές διαφορετικές λειτουργίες. Τα μόρια miRNA συμμετέχουν σε δίκτυα και, κατά συνέπεια, ρυθμίζουν διάφορες βιολογικές λειτουργίες, ενώ η απορρύθμισή τους είναι συχνή τόσο στον καρκίνο όσο και σε άλλες νόσους. Για την πλειονότητα των μορίων miRNA, μια μεμονωμένη μεταλλαγή δεν προκαλεί σαφώς παθολογικούς φαινοτύπους, παρότι τα miRNA εμπλέκονται σε διάφορες διαδικασίες (Xiao et al., 2012). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η συμπεριφορά ενός miRNA μέσα σε ένα δίκτυο επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων του κυτταρικού μικροπεριβάλλοντος, των τοπολογικών χαρακτηριστικών του δικτύου, της θέσης τους στο γονιδίωμα και της εξελικτικής ηλικίας τους. Συγκεκριμένα:

(α) *Κυτταρικό μικροπεριβάλλον*: έχει καταστεί πλέον σαφές ότι ένα μόριο miRNA συνεργάζεται με άλλα μόρια miRNA και, επομένως, ο πληθυσμός των miRNA (miRNome) μέσα στον οποίο εκφράζεται ένα συγκεκριμένο miRNA αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της λειτουργίας του. Ένα μόριο mRNA μπορεί να στοχεύεται από διάφορα miRNA. Κατά συνέπεια, ζεύγη ή συνδυασμοί μορίων miRNA μπορούν να αναστείλουν τη μετάφρασή του, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα ή την εξειδίκευση της αναστολής του συγκεκριμένου στόχου. Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί ότι δύο συνεργαζόμενα miRNA μπορούν να δεσμευτούν σε γειτονικές θέσεις στο άκρο 3' UTR και να σχηματίσουν μια θερμοδυναμικά σταθερή τριπλέτα με το κοινό mRNA-στόχο, ώστε να αυξήσουν συνεργιστικά την αποτελεσματικότητα της αναστολής (Schmitz et al., 2014) (Lai et al., 2018). Αντιστρόφως, ένα μόριο miRNA μπορεί να αναστείλει ταυτόχρονα πολλούς mRNA-στόχους οι οποίοι συμμετέχουν στις ίδιες διαδικασίες, όπως, για παράδειγμα μέρη του ίδιου βιολογικού μονοπατιού. Με αυτό τον τρόπο, το miRNA αναπτύσσει μια συντονισμένη και συστημική ρυθμιστική δράση. Επιπλέον, εντός του κυτταρικού μικροπεριβάλλοντος διαδραματίζεται μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ των miRNA και των σχετιζόμενων με αυτά μορίων, κυρίως των ανοδικών μεταγραφικών παραγόντων και των καθοδικών mRNA-στόχων. Η αλληλεπίδραση αυτή καθορίζει την τελική λειτουργία στην οποία θα συμμετέχει τελικά ένα μόριο miRNA. Αυτά τα μέρη αλληλοσυνδέονται και

σχηματίζουν τμήματα λειτουργικών δικτύων (Nazarov et al., 2013), τα οποία μπορεί συχνά να έχουν το γενικό πρότυπο «μεταγραφικός παράγοντας/miRNA/γονίδια-στόχοι» (Sengupta and Bandyopadhyay, 2013). Για παράδειγμα, η επίδραση τόσο του γονιδίου p53 όσο και του γονιδίου p73 στους παράγοντες επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT) ακολουθεί, εν μέρει, αυτό το πρότυπο δικτύου (Hermeking, 2012) (Galtsidis et al., 2017).

(β) *Τοπολογία δικτύου*: Η διάταξη ενός μορίου miRNA σε ένα δίκτυο και ο βαθμός συνδεσιμότητάς του με άλλα μέρη του δικτύου έχει σημαντική επίδραση στη λειτουργία του. Οι κόμβοι των δικτύων μπορεί να καταλαμβάνονται είτε από miRNA είτε από mRNA και συνδέονται τυπικά με διάφορους άλλους κόμβους. Οι κόμβοι με μεγάλο αριθμό συνδέσεων ονομάζονται «ομφαλοί» και εμφανίζουν επικρατείς ρυθμιστικούς ρόλους στο δίκτυο, αντικατοπτρίζοντας θέσεις σύγκλισης σημάτων. Από τη μία πλευρά, μόρια mRNA που καταλαμβάνουν θέσεις ομφαλών τείνουν να έχουν μακρύτερα άκρα 3' UTR, με υψηλότερη πυκνότητα θέσεων στόχευσης σε σχέση με γονίδια συντήρησης (housekeeping) και ιστοειδικά γονίδια υψηλής έκφρασης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι τα μόρια αυτά έχουν καθοριστεί από τη φυσική επιλογή ως κύρια σημεία άμεσης αναστολής που διαμεσολαβείται από miRNA. Από την άλλη πλευρά, μόνο ένα μικρό ποσοστό μορίων miRNA καταλαμβάνει θέσεις ομφαλών δικτύων, ωστόσο τα μόρια αυτά διαδραματίζουν σημαντικούς ρόλους στη δημιουργία και τη διατήρηση των προτύπων γονιδιακής έκφρασης. Για παράδειγμα, μόνο 21 μόρια miRNA-ομφαλοί προβλέπεται ότι στοχεύουν ποσοστό 70% των γονιδίων που εκφράζονται διαφορετικά μεταξύ των γλοιωμάτων σταδίου II και σταδίου III-IV (Bracken et al., 2016).

(γ) *Θέση στο γονιδίωμα και οργάνωση του υποκινητή του γονιδίου*: Σε γενικές γραμμές, τα γονίδια miRNA που (i) παρουσιάζουν συνεντόπιση στο γονιδίωμα, (ii) ανήκουν σε μεγάλες πολυσιστρονικές συστάδες ή (iii) έχουν υποκινητές που αποκρίνονται στους ίδιους μεταγραφικούς παράγοντες είναι πιθανό να εμφανίζουν συλλειτουργία. Τα γονίδια miRNA που σχετίζονται λειτουργικά μεταξύ τους τείνουν να συμμεταγράφονται και να συλλειτουργούν στοχεύοντας είτε το ίδιο γονίδιο είτε διαφορετικά γονίδια τα οποία συμμετέχουν στο ίδιο μονοπάτι (Bracken et al., 2016). Τα συνεργαζόμενα γονίδια miRNA τείνουν να εδράζονται σε γειτονικές θέσεις ή να ανήκουν στις

ίδιες συστάδες miRNA. Επίσης, υπάρχουν γονίδια miRNA τα οποία, παρότι δεν εδράζονται σε παρακείμενες περιοχές, συμμεταγράφονται επειδή φέρουν ρυθμιστικά στοιχεία για τους ίδιους μεταγραφικούς παράγοντες (Xiao et al., 2012).

(δ) *Εξελικτική ηλικία*: Δεν έχουν όλα τα γονίδια miRNA την ίδια ηλικία, ούτε έχουν επιστρατευτεί σε ένα δίκτυο την ίδια χρονική στιγμή. Το χρονικό σημείο κατά το οποίο ένα συστατικό επιστρατεύτηκε στο δίκτυο και διασυνδέθηκε με τα άλλα συστατικά αναδύεται ως σημαντική παράμετρος που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για τον ενδελεχή χαρακτηρισμό των καρκινικών μοριακών δικτύων (Cheng et al., 2014). Η συμπεριφορά των μορίων miRNA εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την εξελικτική ηλικία τους (Zhu et al., 2012). Είναι πιθανό ότι γονίδια miRNA τα οποία εμφανίστηκαν σε πιο μακρινούς απογόνους είχαν στη διάθεσή τους επαρκή εξελικτικό χρόνο ώστε να αναπτύξουν ισχυρές διασυνδέσεις εντός του δικτύου, να περιορίσουν τις στοχαστικές επιδράσεις σε τυχαίους mRNA-στόχους, να συνεξελιχθούν αιτιοκρατικά με κρίσιμους στόχους και να καταλάβουν θέσεις ομφαλών. Μόνο ένα μικρό ποσοστό miRNA έχουν εμφανιστεί πριν από τη διακλάδωση των χορδωτών, ενώ έχει παρατηρηθεί αυξημένος «ρυθμός γέννησης» νέων γονιδίων miRNA εντός του κλάδου των θηλαστικών (Koufaris, 2016). Αυτή η επέκταση του ρεπερτορίου των γονιδίων miRNA συσχετίζεται με βασικές καινοτομίες του σχεδιασμού του σώματος, με ρυθμιστικές λειτουργίες στους νευρικούς ιστούς των θηλαστικών, καθώς και με παραλλαγές φαινοτύπων (Niwa and Slack, 2007) (Meunier et al., 2013). Αξίζει να σημειωθεί ότι 55% όλων των γονιδίων miRNA του ανθρώπου είναι ειδικά για τα πρωτεύοντα και έχουν εμφανιστεί μετά τον διαχωρισμό των πρωτευόντων από τα τρωκτικά (Zhu et al., 2012). Σε σύγκριση τα εξελικτικά «γηραιά» miRNA, τα εξελικτικά «νεαρά» miRNA είναι χαμηλής έκφρασης και ιστοειδικά, εμφανίζουν περισσότερο ήπιους φαινοτύπους κατά την αδρανοποίησή τους και υπόκεινται σε αυστηρή μεταγραφική ρύθμιση (Zhu et al., 2012). Γονίδια miRNA διαφορετικών ηλικιών τείνουν να στοχεύουν τις ίδιες ή επικαλυπτόμενες ομάδες γονιδίων (Zhu et al., 2012), γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι τα εξελικτικά νεαρά γονίδια miRNA μπορεί να έχουν επιστρατευτεί ώστε να υποβοηθήσουν λειτουργικά τα εξελικτικά γηραιά γονίδια miRNA (Galtsidis et al., 2017). Τα γονίδια miRNA που είναι ειδικά για

τον άνθρωπο ή τα πρωτεύοντα μπορούν να μειώσουν την ευαισθησία σε καρκίνο, είτε συνεργαζόμενα με προϋπάρχοντα γονίδια miRNA είτε επιτρέποντας το σχηματισμό νέων ρυθμιστικών κυκλωμάτων τα οποία τροποποιούν τη λειτουργία των καρκινικών γονιδίων. Αυτός ο επιπρόσθετος πλεονασμός ως προς τη ρύθμιση κοινών στόχων από εξελικτικά γηραιά και εξελικτικά νεαρά γονίδια miRNA καθιστά, επίσης, τα κύτταρα περισσότερο ανθεκτικά στην απώλεια ενός μεμονωμένου γονιδίου miRNA (Koufaris, 2016).

ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ p73 ΜΕ ΤΑ MIRNA ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Για την ανακατασκευή του δικτύου αλληλεπίδρασης, αναζητήθηκαν miRNA των οποίων η συσχέτιση με το γονίδιο p73 σε καρκινικά δίκτυα έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά. Συνολικά, τα αλληλεπιδρώντα miRNA μπορεί να είναι γονίδια που αναστέλλουν το p73, γονίδια τα οποία ενεργοποιούνται μεταγραφικά από το p73 ή γονίδια που στοχεύουν πρωτεΐνες οι οποίες σταθεροποιούν την πρωτεΐνη p73 (Σχήμα 5). Πιο αναλυτικά:

(α) *miRNA τα οποία στοχεύουν το p73*: μια βασική σχέση αναπτύσσεται μεταξύ του p73 και του γονιδίου MIR-193A, κατά την οποία η αναστολή του MIR-193A αποκαθιστά την ευαισθησία σε σισπλατίνη που διαμεσολαβείται από το p73, ιδιαίτερα σε χημειοανθεκτικούς τύπους καρκίνου, όπως τα καρκινώματα εκ πλακώδους επιθηλίου, το οστεοσάρκωμα και το σάρκωμα Ewing. Πιο αναλυτικά, το γονίδιο MIR-193A είναι ένας άμεσος μεταγραφικός στόχος του p73. Με τη σειρά του, το ώριμο προϊόν miR-193a-5p του γονιδίου MIR-193A προσδένεται στο άκρο 3' UTR και ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση των επιπέδων mRNA του p73, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια αρνητική καμπύλη ανάδρασης η οποία αυξάνει την ανθεκτικότητα στη σισπλατίνη. Η αναστολή του γονιδίου MIR193A μπορεί να διακόψει αυτή την καμπύλη ανάδρασης, με αποτέλεσμα να καταστέλλει τη βιωσιμότητα και να αυξάνει τη χημειοευαισθησία των καρκινικών κυττάρων (Ogy et al., 2011) (Jacques et al., 2016). Ένα άλλο miRNA-αναστολέας του p73 είναι το MIR323, το οποίο μπορεί να καταστείλει το p73 και να επάγει επιδείνωση του καρκίνου του προστάτη και ανθεκτικότητα των κυττάρων στη δοσεταξέλη (Gao and Zheng, 2018). Με παρόμοιο τρόπο, το γονίδιο MIR1180 στοχεύει το p73 ώστε να αναστείλει την απόπτωση σε όγκους Wilms (Jiang and Li, 2018).

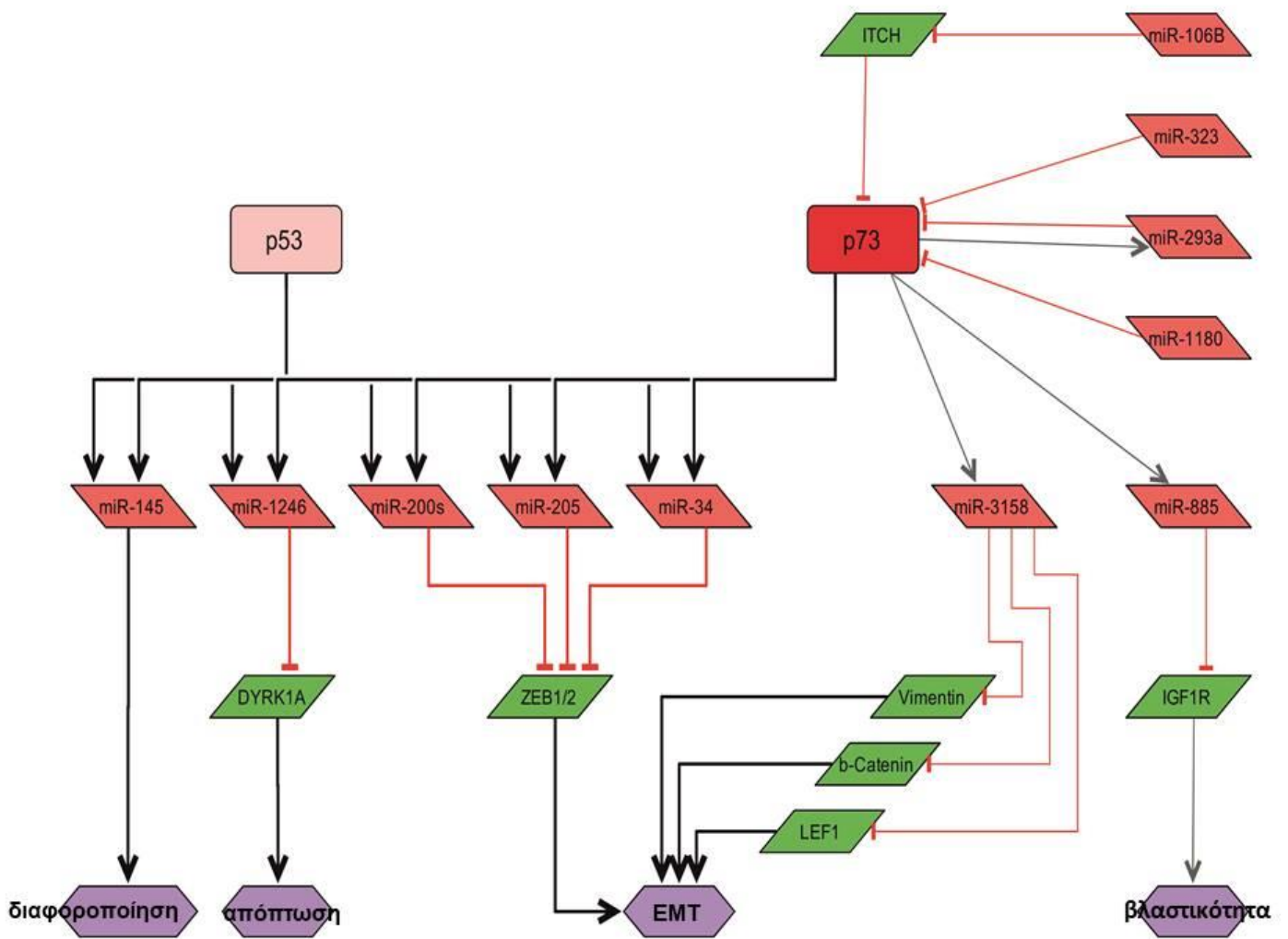
(b) *miRNA* που στοχεύονται από το p73: Το γονίδιο p73 επάγει τη μεταγραφική ενεργοποίηση μορίων miRNA με ογκοκατασταλτικό ρόλο. Πρώτα-πρώτα, τα γονίδια p73 και p53 παρουσιάζουν κοινούς στόχους οι οποίοι αποτελούν υψηλά συντηρημένα ογκοκατασταλτικά ρυθμιστικά μόρια. Πιο αναλυτικά, το γονίδιο p53 μπορεί να ενεργοποιήσει μεταγραφικά τα μέλη της οικογένειας miR-200 (Kim et al., 2011), καθώς και το γονίδιο MIR-205 (Piovan et al., 2012), τα οποία ρυθμίζουν συνεργιστικά την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάβαση μέσω στόχευσης των αναστολέων της E-καντχερίνης, ZEB1 και SIP1 (Gregory et al., 2008). Το γονίδιο p73 μπορεί να επάγει μεταγραφική ενεργοποίηση των miR-200 (Knouf et al., 2012) και MIR205 (Alla et al., 2012). Επίσης, το γονίδιο MIR205 ενεργοποιείται μεταγραφικά από το p53, αλλά πιθανότατα με τρόπο που εξαρτάται από το κυτταρικό περιεχόμενο, καθώς ενεργοποιείται σε κύτταρα τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού, αλλά όχι σε κύτταρα μελανώματος. Ωστόσο, σε κυτταρικές σειρές μελανώματος, το MIR-205 ενεργοποιείται μεταγραφικά από το p73, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι κάποια απόφραξη στον άξονα p53/MIR205 μπορεί να παρακαμφθεί από έναν αναπληρωματικό άξονα p73/MIR205 (Alla et al., 2012). Με παρόμοιο τρόπο, το p73 ενεργοποιεί μεταγραφικά το ογκοκατασταλτικό γονίδιο MIR34, άλλον έναν στόχο του γονιδίου p53, που είναι εξελικτικά γηραιό και εμφανίζει αποπτωτική και αντιμεταστατική συμπεριφορά αναστέλλοντας είτε άμεσα είτε έμμεσα διάφορα ογκογονίδια (Agostini and Knight, 2014). Το γονίδιο MIR3158, ένας στόχος που εξαρτάται από το p73 και είναι ανεξάρτητος από το p53 είναι ένα γονίδιο ειδικό για τα πρωτεύοντα το οποίο προτείνεται ότι συνεργάζεται λειτουργικά με το MIR34A ω προς την αναστολή της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετάβασης μέσω αρνητικής ρύθμισης της βιμεντίνης, του γονιδίου *lef1* και της β-κατενίνης (Galtsidis et al., 2017). Θεωρητικά, ακόμα και αν διαταραχθεί το κύκλωμα p53/MIR34A/ZEB1, ένα κύκλωμα p73/MIR3158/βιμεντίνη/*lef1*/β-κατενίνη θα μπορούσε, τουλάχιστον εν μέρει, να αναπληρώσει την αναστολή της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετάβασης και να συνεχίσει να αποτρέπει τον μεταστατικό μετασχηματισμό των κυττάρων. Ένα επιπρόσθετο γονίδιο miRNA που εξαρτάται από το p73, αλλά είναι ανεξάρτητο από το p53 είναι το MIR885. Ρυθμίζεται θετικά από τις ισομορφές TAp73 ώστε να αναστείλει την έκφραση

του υποδοχέα IGF1R, ενός μορίου που ενισχύει τους καταρράκτες βλαστικότητας των καρκινικών κυττάρων (Meier et al., 2016).

Το γονίδιο p73 αναπαραγάγει πιστά άλλα μονοπάτια του p53 μέσω μεταγραφικής ενεργοποίησης των ίδιων στόχων miRNA. Τα γονίδια MIR1246 και MIR145 αποτελούν, επίσης, στόχους που εξαρτώνται τόσο από το p53 όσο και από το p73. Ως απόκριση σε βλάβες του DNA, το γονίδιο p53 επάγει μεταγραφική ενεργοποίηση του μορίου miR-1246, το οποίο με τη σειρά του μειώνει τα επίπεδα του μορίου DYRK1A, μιας πρωτεϊνικής κινάσης που σχετίζεται με το σύνδρομο Down. Αυτό οδηγεί σε κατακράτηση, εντός του κυτταρικού πυρήνα, του μορίου NFATc1, το οποίο αποτελεί ένα πρωτεϊνικό υπόστρωμα του DYRK1A που επάγει αποπτωτική απόκριση. Έχει καταδειχτεί ότι το γονίδιο p73 επάγει το ίδιο μονοπάτι μέσω ενεργοποίησης του γονιδίου MIR1246 (Zhang et al., 2011) (Liao et al., 2012). Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο MIR145, ένας άλλος στόχος του p53, ενεργοποιείται, επίσης, μεταγραφικά από τις ισομορφές p73, ενώ η αναστολή του έχει συσχετισθεί με μείωση της διαφοροποίησης σε κύτταρα οξείας προμυελοειδούς λευχαιμίας (Batliner et al., 2012).

(γ) *miRNA που στοχεύουν τροποποιητικά μόρια της σταθερότητας και της ενεργότητας του p73*: Η λειτουργία του γονιδίου p73 εξαρτάται, σε μεγάλο βαθμό, από μόρια μετα-μεταφραστικής τροποποίησης που καθορίζουν τη σταθερότητα της πρωτεΐνης και την αποτελεσματικότητά της ως προς την απόπτωση. Αυτοί οι παράγοντες αναπτύσσουν πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις με το καρβοξυτελικό άκρο των ισομορφών p73 και τροποποιούν την ικανότητα της πρωτεΐνης p73 να ενεργοποιεί γονίδια-στόχους και να επάγει απόπτωση (Logotheti et al., 2013). Συνεπώς, η αναστολή αυτών των παραγόντων από miRNA επηρεάζει άμεσα τη συμπεριφορά του p73 σε δίκτυα που σχετίζονται με την έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου. Για παράδειγμα η λιγάση της ουβικουΐτινης E3, Itch, δεσμεύεται στο καρβοξυτελικό άκρο κάποιων ισομορφών της πρωτεΐνης p73, με αποτέλεσμα να τις αποσταθεροποιεί και να επάγει την αποικοδόμησή τους (Rossi et al., 2005). Η ενεργοποίηση του μορίου miR-106b κατά την κατεργασία των κυττάρων με αναστολείς αποακετυλάσης ρυθμίζει αρνητικά την πρωτεΐνη Itch και οδηγεί σε συσσώρευση της πρωτεΐνης TAp73. Συνακόλουθα, η πρωτεΐνη p73 επάγει τη μεταγραφική ενεργοποίηση του γονιδίου PUMA και αποκαθιστά την

αποπτωτική απόκριση σε κύτταρα χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας (Sampath et al., 2009).



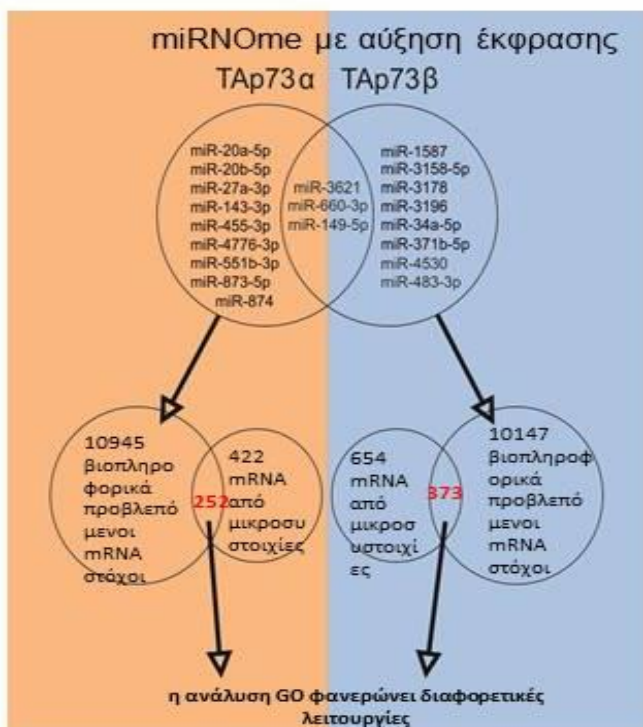
Σχήμα 5: Ανακατασκευή δικτύου miRNA/mRNA που ελέγχεται από το γονίδιο p73 και λειτουργικός πλεονασμός με τα μονοπάτια που ελέγχονται από το γονίδιο p53 στα καρκινικά κύτταρα

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ, ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΙΣΟΜΟΡΦΗ p73, ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΣΤΑ ΔΙΚΤΥΑ miRNA/mRNA

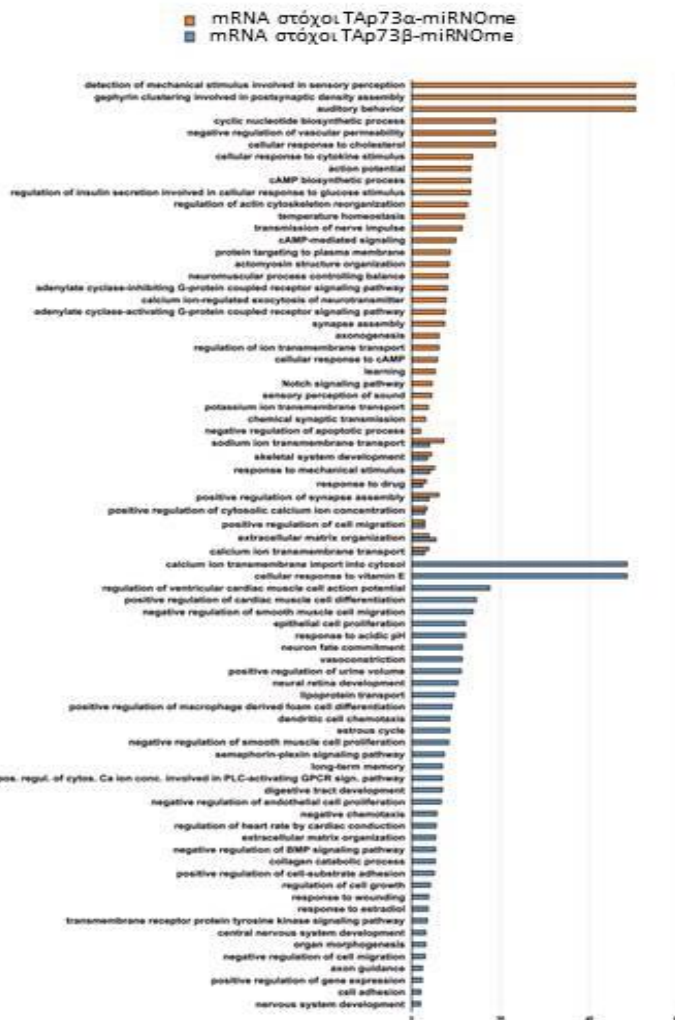
Οι ισομορφές TAp73 είναι παραδοσιακά αντι-ογκογόνες. Ωστόσο, λόγω διαφορών στο καρβοξυτελικό άκρο, το οποίο είναι μοναδικό για κάθε παραλλαγή, οι ισομορφές TAp73 δεν είναι ισοδύναμες λειτουργικά. Αντίθετα, διαφέρουν ως προς την αποτελεσματικότητα μεταγραφικής ενεργοποίησης, τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο και την απόκριση στο στρες. Αυτές οι διαφορές συνεπάγονται, τελικά, διαφοροποιήσεις ως προς τους κυτταρικούς φαινοτύπους (Logotheti et al., 2013). Δεδομένα σχετικά με τις πιο μελετημένες ισομορφές, TAp73α και TAp73β, επισημαίνουν με σαφήνεια ότι οι ισομορφές αυτές όχι μόνο ενεργοποιούν τους ίδιους στόχους σε διαφορετικό βαθμό, αλλά επίσης έχουν ξεχωριστούς γονιδιακούς στόχους (Koerppel et al., 2011). Λαμβάνοντας υπόψη αυτό το δεδομένο, χρησιμοποιήθηκαν βιοπληροφορικές προσεγγίσεις με μετα-ανάλυση και ενοποίηση δεδομένων μεταγραφωμικής τα οποία είναι δημόσια διαθέσιμα, προκειμένου να διερευνηθεί εάν η λειτουργική διαφοροποίησή τους διαμεσολαβείται από miRNA που αποκρίνονται ξεχωριστά σε κάθε ισομορφή. Πιο αναλυτικά, για τον χαρακτηρισμό δικτύων mRNA/miRNA τα οποία αποκρίνονται σε κάθε ισομορφή TAp73, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα μικροσυστοιχιών miRNA (Galtsidis et al., 2017) και mRNA (Koerppel et al., 2011) τα οποία έχουν παραχθεί σε ένα καλά τεκμηριωμένο κυτταρικό μοντέλο μελέτης *in vitro*. Το εν λόγω μοντέλο περιλαμβάνει κλώνους της καρκινικής κυτταρικής σειράς Saos2 σταθερά διαμολυσμένους με τις ισομορφές TAp73α ή TAp73β, οι οποίες εκφράζονται κατόπιν επαγωγής με δοξυκυκλίνη (Nakano et al., 2000). Οι πληθυσμοί miRNA (miRNome) των κλώνων Saos-TAp73α και Saos-TAp73β είναι αρκετά διαφορετικοί, καθώς τα κοινά miRNA με διπλάσια ή μεγαλύτερη αύξηση έκφρασης μεταξύ των δύο πληθυσμών είναι σημαντικά λιγότερα από τα μη κοινά. Συνολικά, καταδεικνύεται ότι οι λειτουργίες που είναι ειδικές για την κάθε ισομορφή p73 διαμεσολαβούνται με δύο τρόπους:

Συnergιστική δράση των πληθυσμών miRNA (miRNome) σε καθοδικούς στόχους mRNA

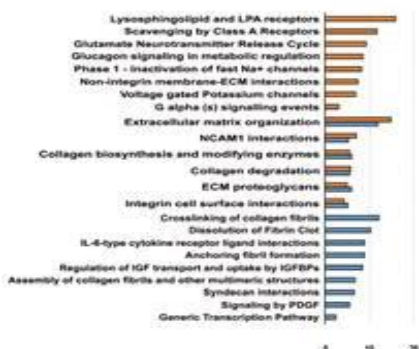
Οι ισομορφές TAp73α και TAp73β αυξάνουν την έκφραση διαφορετικών πληθυσμών miRNA (Galtsidis et al., 2017). Αυτοί οι πληθυσμοί miRNA που είναι ειδικοί για την ισομορφή TAp73α ή TAp73β αναλύθηκαν ως προς την πιθανή συνεργιστική δράση σε καθοδικούς στόχους. Αρχικά, οι πιθανοί στόχοι mRNA είτε του TAp73α-miRNome είτε του TAp73β-miRNome συλλέχθηκαν με χρήση της πλατφόρμας DIANA micro T CDCs. Από τους στόχους αυτούς, εκτιμήθηκαν ποιοι εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερη έκφραση στα αντίστοιχα δεδομένα μικροσυστοιχιών mRNA. Αξίζει να σημειωθεί ότι περισσότερα από τα μισά από αυτά τα mRNA (53% και 57%, αντίστοιχα) στοχεύονται και ρυθμίζονται αρνητικά από τα TAp73α-miRNome και TAp73β-miRNome, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι οι επιδράσεις του p73 σε καθοδικούς στόχους mRNA διαμεσολαβούνται κυρίως από miRNA. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συνεργιστικής δράσης συλλέγοντας τους mRNA-στόχους όλων των συνδυασμών των miRNA των TAp73α-miRNome και TAp73β-miRNome. Κατόπιν, υπολογίστηκε η αλληλεπικάλυψη των προβλεπόμενων mRNA που στοχεύονται συνεργιστικά από τα miRNA με εκείνα τα mRNA που παρουσιάζουν μείωση έκφρασης στις μικροσυστοιχιές των κλώνων που εκφράζουν την ισομορφή TAp73α ή TAp73β. Αυτή η ανάλυση κατέδειξε 252 προβλεπόμενους στόχους mRNA στους οποίους το TAp73α-miRNome μπορεί να δράσει συνεργιστικά και 373 στόχους mRNA στους οποίους το TAp73β-miRNome μπορεί να δράσει συνεργιστικά (Σχήμα 6). Μεταξύ αυτών των ομάδων στόχων των TAp73α-miRNome και TAp73β-miRNome υπήρξε ελάχιστη αλληλεπικάλυψη, γεγονός το οποίο υποδεικνύει ότι η λειτουργική διάκριση των ισομορφών p73 οφείλεται, πιθανόν, σε ξεχωριστούς καταρράκτες miRNA/mRNA, κατά τους οποίους οι πληθυσμοί miRNA που είναι ειδικοί για κάθε ισομορφή διασφαλίζουν σίγηση ξεχωριστών καθοδικών στόχων mRNA (Σχήμα 6). Περαιτέρω ανάλυση εμπλουτισμού γονιδιακής οντολογίας (GO enrichment analysis) των mRNA-στόχων των συνεργαζόμενων miRNA κατέδειξε ότι η ισομορφή TAp73α επάγει έναν εξειδικευμένο πληθυσμό miRNA που αναστέλλει, συνεργιστικά, γονίδια τα οποία εμπλέκονται σε μεταγωγή μηχανικού σήματος, συσσωμάτωση γεφυρίνης και ακουστική συμπεριφορά, ενώ η ισομορφή TAp73β επάγει έναν διαφορετικό πληθυσμό miRNA που αναστέλλει, συνεργιστικά, γονίδια τα οποία εμπλέκονται σε μεταφορά ιόντων ασβεστίου και κυτταρική απόκριση



Ανάλυση μονοπατιών DAVID GO



Ανάλυση μονοπατιών reactome



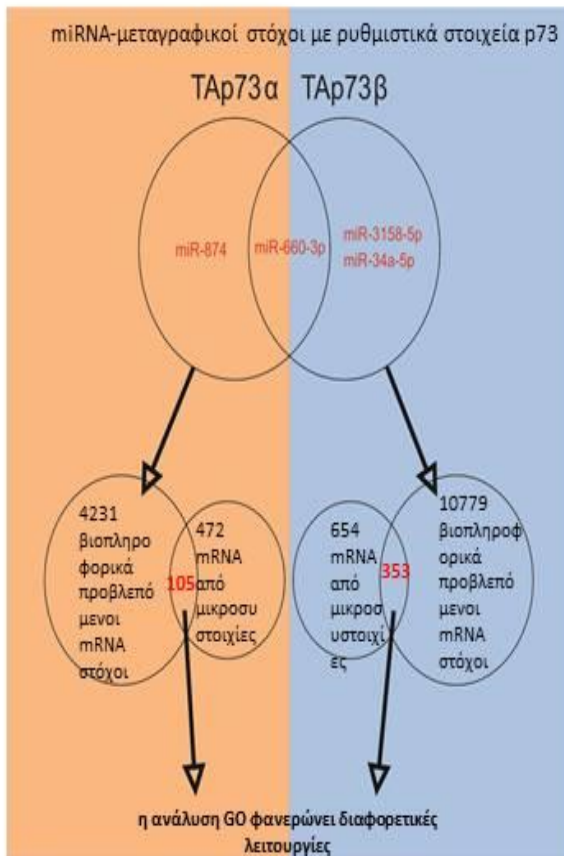
στη βιταμίνη E (Σχήμα 6). Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάλυση προέβλεψε συσχετίσεις των ισομορφών TAp73α και TAp73β με νέες λειτουργίες και μονοπάτια, οι οποίες δεν είχαν παρατηρηθεί στο παρελθόν. Οι συσχετίσεις αυτές χρήζουν περαιτέρω μελλοντικής διερεύνησης.

Σχήμα 6: Ροή εργασίας της βιοπληροφορικής ανάλυσης για την πρόβλεψη των mRNA που αναστέλλονται συστημικά από τους πληθυσμούς miRNA οι οποίοι επάγονται από την ισομορφή TAp73α ή TAp73β

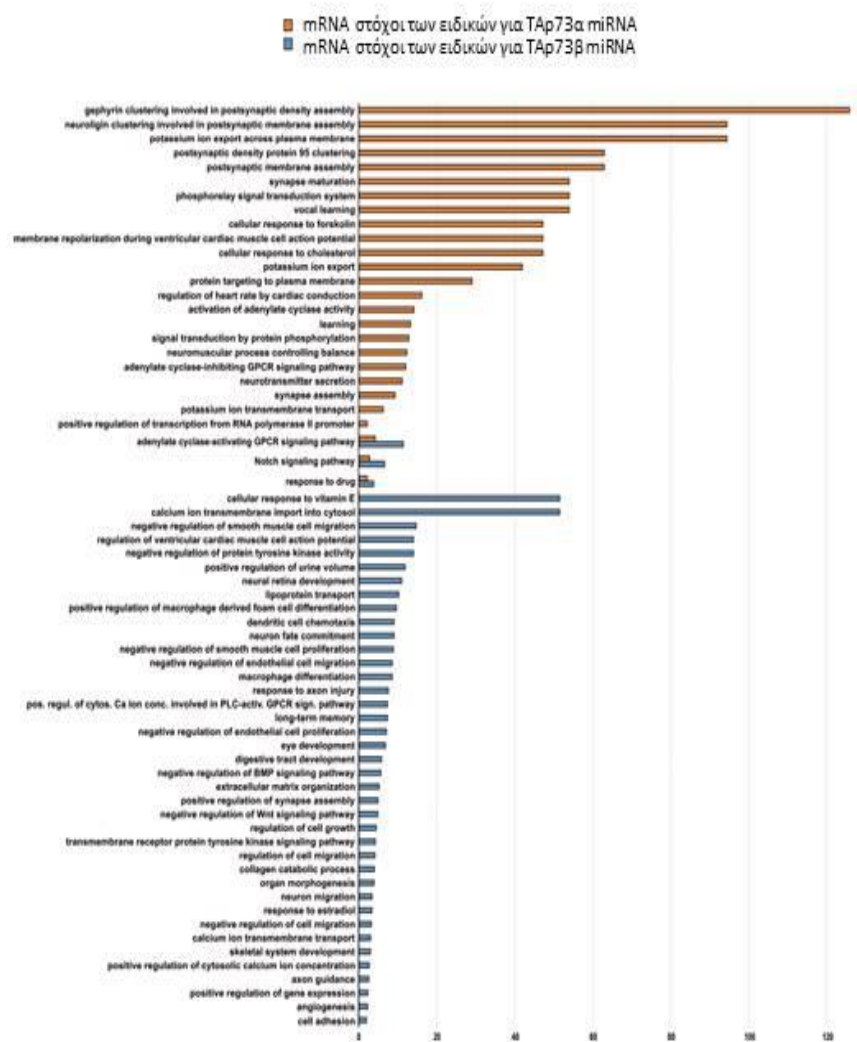
Άμεση μεταγραφική ενεργοποίηση miRNA-στόχων που είναι ειδικό για κάθε ισομορφή

Στη συνέχεια, εξετάστηκε εάν οι ισομορφές TAp73α και TAp73β μπορούν να επάγουν μεταγραφική ενεργοποίηση ξεχωριστών γονιδίων miRNA, τα οποία, με τη σειρά τους, αναστέλλουν διαφορετικές ομάδες mRNA-στόχων, γεγονός το οποίο οδηγεί σε διακριτούς φαινοτύπους. Τέσσερα (4) miRNA τα οποία εμπιρεύονται στα TAp73α-miRNome και TAp73β-miRNome προβλέπεται ότι φέρουν δυνητικά ρυθμιστικά στοιχεία p73 στους αντίστοιχους υποδοχείς τους (Galtsidis et al., 2017). Από αυτά, το γονίδιο MIR660, ένα αναγνωρισμένο ογκοκατασταλτικό γονίδιο, παρουσιάζει αυξημένη έκφραση τόσο στα TAp73α-miRNome όσο και στα TAp73β-miRNome και αποτελεί κοινό στόχο. Το γονίδιο MIR874 προβλέπεται ως στόχος ειδικός για την ισομορφή TAp73α, ενώ τα γονίδια MIR34A και MIR3158 είναι πειραματικά επαληθευμένοι στόχοι που είναι ειδικοί για την ισομορφή TAp73β (Galtsidis et al., 2017). Οι mRNA-στόχοι του MIR874 καθορίστηκαν με συγχώνευση των *in silico* προβλεπόμενων mRNA-στόχων με τα mRNA που, βάσει των δεδομένων μικροσυστοιχιών, παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση στον κλώνο Saos-TAp73α. Οι στόχοι αυτοί υποβλήθηκαν σε βιοπληροφορική ανάλυση μονοπατιών και ανάλυση εμπλουτισμού γονιδιακής οντολογίας. Με παρόμοιο τρόπο, οι mRNA-στόχοι των MIR34A και MIR3158 καθορίστηκαν με ενοποίηση των αντίστοιχων *in silico* προβλεπόμενων mRNA-στόχων με τα mRNA που, βάσει των δεδομένων μικροσυστοιχιών, παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση στον κλώνο Saos-TAp73β και υποβλήθηκαν σε βιοπληροφορική ανάλυση μονοπατιών και ανάλυση εμπλουτισμού γονιδιακής οντολογίας. Ενώ τα δίκτυα miRNA/mRNA που αποκρίνονται στην ισομορφή TAp73α συσχετίζονται με το μονοπάτι Hedgehog και τους διαύλους καλίου, τα δίκτυα miRNA/mRNA που αποκρίνονται στην ισομορφή TAp73β συσχετίζονται με την οργάνωση και τη διάταξη των συστατικών του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Συμπερασματικά, η διαφορετική λειτουργικότητα των ισομορφών p73 διαμεσολαβείται από μεταγραφικούς στόχους miRNA που είναι ειδικοί για κάθε ισομορφή (Σχήμα 7).

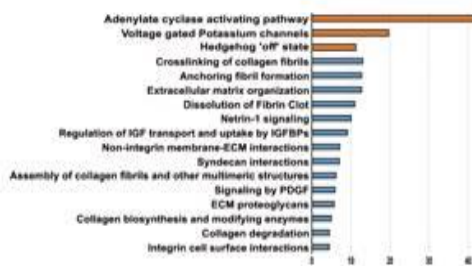
Σχήμα 7: Ροή εργασίας βιοπληροφορικής ανάλυσης για την πρόβλεψη γονιδίων miRNA-στόχων των ισομορφών TAp73 και TAp73β, καθώς και των καθοδικών μορίων-τελεστών τους.



Ανάλυση μονοπατιών DAVID GO



Ανάλυση μονοπατιών reactome



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η Ιατρική Συστημάτων βρίσκεται στην αρχή ενός δρόμου γεμάτου συγκινήσεις, αλλά και προκλήσεις. Τα παραδείγματα που βασίζονται στην Ιατρική Συστημάτων προέρχονται από το πεδίο των χρόνιων νόσων. Αυτές οι προσπάθειες βρίσκονται σε διάφορα επίπεδα προκλινικών ή κλινικών δοκιμών και αποσκοπούν στη βελτίωση των προγνωστικών μεθόδων ή των στοχευμένων θεραπευτικών παρεμβάσεων για την αντιμετώπιση σοβαρών χρόνιων νόσων. Για παράδειγμα, μέθοδοι αλληλούχισης ολόκληρου του γονιδιώματος ή όλων των εξονίων (whole-exome) έχουν χρησιμοποιηθεί στην κλινική για την έγκαιρη αντιμετώπιση των νευροαναπτυξιακών νόσων. Η μεταγραφωμική έχει συμπεριληφθεί επιτυχώς στην πρόγνωση, τη σταδιοποίηση και τη διαστρωμάτωση του καρκίνου του μαστού. Παρόμοια, το προφίλ γονιδιακής έκφρασης υψηλής απόδοσης έχει αξιοποιηθεί στην έγκαιρη πρόβλεψη και τη θεραπευτική στόχευση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, του ορθοκολικού καρκίνου και του γλοιώματος. Η μεταβολομική αξιοποιείται σε κλινικές μελέτες για την πρόγνωση και στόχευση της νόσου Alzheimer (Benson, 2016). Επιπρόσθετα, συστημικές προσεγγίσεις ακολουθούνται και στο πλαίσιο της Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ). Οι ασθενείς με ΧΑΠ εμφανίζουν διαφορετικούς φαινοτύπους ως αποτέλεσμα μιας πολύπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ διαφόρων γενετικών παραγόντων, περιβαλλοντικών παραγόντων και παραγόντων τρόπου ζωής. Αυτή η φαινοτυπική πολυπλοκότητα αναλύεται με μεγάλα σύνολα δεδομένων, σε σχέση με δοκιμασίες λειτουργικής γονιδιωματικής, με χρήση προσεγγίσεων υπολογιστικής βιολογίας. Η αντιμετώπιση της ΧΑΠ διέπεται πλέον από μια ολοκληρωμένη και συστημική προσέγγιση, με έμφαση στην πρωτεομική και τη μεταβολομική. Αυτή η στρατηγική αποσκοπεί στην ταυτοποίηση υποκατηγοριών νόσων προκειμένου να βελτιωθεί η ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών θεραπειών (Lococo et al., 2015). Μια άλλη επιπλεγμένη χρόνια νόσος που αντιμετωπίζεται πλέον με χρήση στρατηγικών που βασίζονται στην Ιατρική Συστημάτων είναι η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (<http://www.sysmedibd.eu/>).

Στη συγκεκριμένη εργασία παρουσιάζεται αναλυτικά το πλαίσιο αυτής της αναδυόμενης, αλλά ιδιαίτερα ελπιδοφόρου ιδέας, που θα μπορούσε να μετασχηματίσει δραστικά τον τομέα υγειονομικής περίθαλψης και αναφέρεται

ο ρόλος που αναμένεται να διαδραματίσει η ακαδημία μέσω παραγωγής δεδομένων υψηλής απόδοσης, καθώς επίσης και μέσω της ανάπτυξης νέων ροών εργασιών που βασίζονται σε συστημικές προσεγγίσεις και εργαλεία βιοπληροφορικής. Ως απόδειξη αρχής, εξετάστηκε η βελτίωση της θεραπευτικής στόχευσης ασθενών με καρκίνο στους οποίους η λειτουργία του γονιδίου p53 έχει αδρανοποιηθεί. Ενοποιώντας δημοσιευμένα πειραματικά δεδομένα, με δεδομένα εξόρυξης από πλατφόρμες βιοπληροφορικής και δεδομένα μικροσυστοιχιών υψηλής απόδοσης ανακατασκευάστηκε το δίκτυο αλληλεπίδρασης miRNA/mRNA που ελέγχεται από το γονίδιο p73. Καταδείχτηκε ότι τα δίκτυα που ελέγχονται από το p73 παρέχουν λειτουργικό πλεονασμό στα κυκλώματα p53 με διάφορους τρόπους. Κατ' επέκταση, θα μπορούσαν να ληφθούν υπόψη για την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών σε ασθενείς με καρκίνο. Η προσέγγιση αυτή αναδεικνύει την ύπαρξη ενός συνόλου miRNA ελεγχόμενων από το p73 το οποίο, σε συνδυασμό με τεχνολογίες αιχμής για τη χορήγηση των miRNA (Rupaimoole and Slack, 2017), θα μπορούσε να παρέχει θεραπευτικές λύσεις για την αντιμετώπιση ασθενών με μεταλλάξεις p53, παρακάμπτοντας τα εμπόδια της στόχευσης του γονιδίου p53. Επίσης καταδείχτηκε ότι ισομορφές με διαφορετικό καρβοξυτελικό άκρο εμφανίζουν διαφορετική λειτουργικότητα μέσω ελέγχου ξεχωριστών δικτύων miRNA/mRNA. Αυτό σημαίνει ότι αυτή η προσέγγιση είναι ευαίσθητη στις ισομορφές του p73, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι το προφίλ του εκάστοτε ασθενούς ως προς τις παραλλαγές p73 θα πρέπει, επίσης, να συνυπολογίζεται.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ, ΣΚΕΨΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ

Τα βιολογικά συστήματα είναι πολύπλοκα. Η Ιατρική Συστημάτων αποτελεί μια συντονισμένη προσπάθεια κατανόησης αυτής της πολυπλοκότητας με συστημικές, ολοκληρωμένες και διατμηματικές πλατφόρμες και μεθόδους. Οι ανεξάρτητοι ερευνητές και τα εργαστήριά τους θα διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην διαλεύκανση των πολύπλοκων λεπτομερειών της γενικής εικόνας που λαμβάνεται από τη συστημική βιολογία και την Ιατρική Συστημάτων. Οι αντικειμενικοί σκοποί είναι η βελτίωση της υγειονομικής περίθαλψης, η μείωση του κόστους υγειονομικής περίθαλψης και η προώθηση της καινοτομίας. Η ανάπτυξη της Ιατρικής Συστημάτων παρέχει τη δυνατότητα για αλλαγή

παραδείγματος στο σύστημα υγείας. Ωστόσο, αυτή η προσπάθεια παρουσιάζει περιορισμούς και προκλήσεις, σε διάφορα επίπεδα της υλοποίησής της, συμπεριλαμβανομένων του ακαδημαϊκού, του κλινικού, του κοινωνικο-οικονομικού και του νομικού επιπέδου.

Στις προκλήσεις στην ακαδημία συγκαταλέγονται σημαντικά προβλήματα μεθοδολογίας, όπως η ακριβής ανίχνευση των σημάτων κατά τη μέτρηση πολλών μεταβλητών, καθώς επίσης και η διάκριση των πληροφοριακών δεδομένων από τον θόρυβο υποβάθρου. Στα άλλα προβλήματα που σχετίζονται με το κλινικό περιβάλλον συγκαταλέγονται οι συνδυασμοί των δεδομένων ομικής από τα δείγματα ασθενών, που χρειάζονται για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, ειδικά δεδομένου του γεγονότος ότι αυτή η τεχνολογία είναι ακριβή. Θα πρέπει να ξεκινήσουν αναλύσεις της σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας των πλατφορμών ομικής για εξατομικευμένη ιατρική. Χρειάζεται νέο λογισμικό για διαγνωστική ταξινόμηση, με βάση την ενοποίηση των κλινικών πληροφοριών και του μοριακού προφίλ για έναν μεγάλο αριθμό ασθενών. Στο πλαίσιο της δικτύωσης μεταξύ των φορέων, απαιτούνται διατμηματικές συνεργασίες που περιλαμβάνουν κλινικούς ιατρούς, αντιπροσώπους οργανώσεων ασθενών, ειδικών γονιδιωματικής και βιοπληροφορικής, συμμετέχοντες από φαρμακευτικές και βιοτεχνολογικές εταιρίες και των επικεφαλής της υγειονομικής περίθαλψης και της ακαδημίας. Η αλληλεπίδραση μεταξύ αντιπροσώπων με διαφορετικά υπόβαθρα είναι μια δύσκολη εργασία και απαιτεί ανοικτά κανάλια επικοινωνίας ώστε να είναι αποτελεσματική (Benson, 2016).

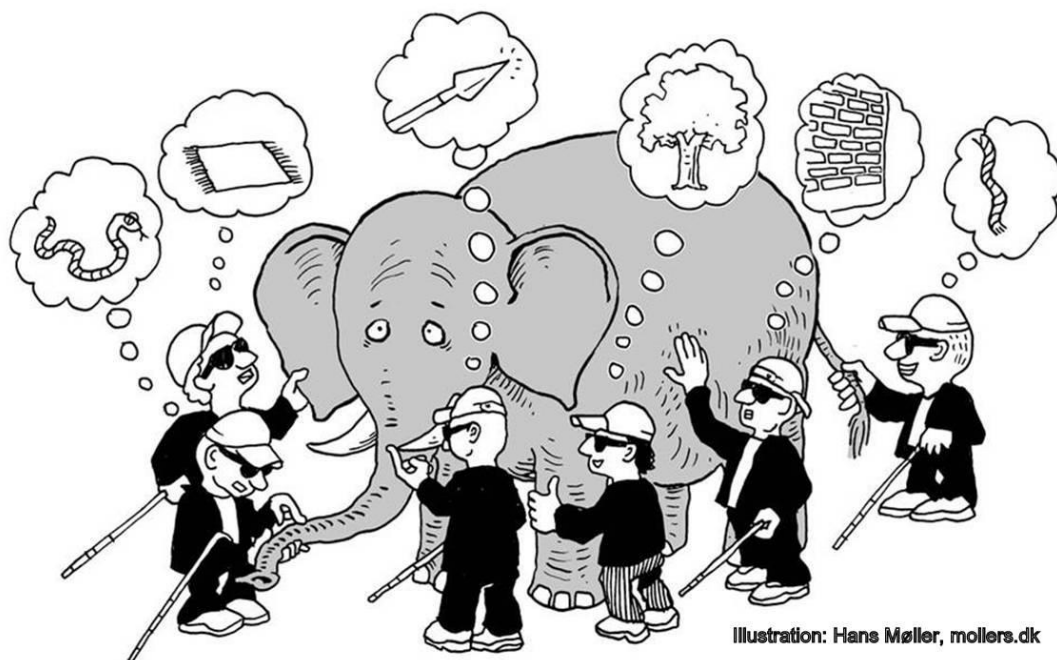
Στα ζητήματα δεοντολογίας συγκαταλέγονται η τελική λήψη αποφάσεων σχετικά με τη θεραπεία και τα μέτρα πρόληψης. Οι εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις χρειάζεται να είναι προσανατολισμένες στον ασθενή. Αυτό σημαίνει ότι στην καθημερινή κλινική πρακτική, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι σκοποί, οι προτιμήσεις και οι αξίες του ασθενούς, καθώς επίσης και οι διαθέσιμοι οικονομικοί πόροι (Sacristan, 2013). Ωστόσο, σε μια διαδικασία η οποία βασίζεται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ διάφορων φορέων, τα όρια δεν είναι ξεκάθαρα. Κατά συνέπεια, θα πρέπει να καθορίζεται με σαφήνεια ο βαθμός της ατομικής ευθύνης στη λήψη αποφάσεων σχετικά με τη θεραπεία. Στα ζητήματα δεοντολογίας για την υλοποίηση της Ιατρικής Συστημάτων συμπεριλαμβάνονται οι κίνδυνοι

«εξάλειψης» περιβαλλοντικών παραγόντων στο πλαίσιο της πρόγνωσης, η εφαρμογή ελέγχου αναπαραγωγής και ολίσθηση σε «πρακτικές ευγονικής» στο πλαίσιο της πρόβλεψης, η υποβάθμιση της ταυτότητας ασθενούς στα γονίδιά του και η καθιέρωση μιας άκαμπτης γενετικής κοινωνικής ιεραρχίας στο πλαίσιο της εξατομίκευσης, η κακή λήψη αποφάσεων, καθώς επίσης και η παρανόηση ότι «οι ασθενείς έχουν ηθική υποχρέωση να είναι καλά» (Juengst et al., 2012). Υπάρχει επίσης η ανησυχία σχετικά με την εμπιστευτικότητα των πληροφοριών. Ένα προαπαιτούμενο της Ιατρικής Συστημάτων είναι η συλλογή, η ηλεκτρονική καταγραφή και η χρησιμοποίηση ενός μεγάλου όγκου δεδομένων για κάθε άτομο σε ολόκληρο τον πληθυσμό. Χρειάζεται αυξημένη προσβασιμότητα και φορητότητα αυτών των δεδομένων μεταξύ των φορέων. Συνεπώς, οι αρχές που ισχύουν για την εξατομικευμένη θεραπεία θα πρέπει να τροποποιηθούν αναλόγως. Τα στοιχεία των ασθενών θα πρέπει να προστατεύονται έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η εμπιστοσύνη των ασθενών και η υποστήριξη της διαλειτουργικής ανταλλαγής πληροφοριών σχετικά με την υγεία (McGuire et al., 2008).

Τέλος, τα οικονομικά και κοινωνικά οφέλη της Ιατρικής Συστημάτων χρειάζεται να ποσοτικοποιηθούν ώστε να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα αυτής της νέας ιδέας. Θα πρέπει να καθοριστούν δείκτες για τη μέτρηση του αντίκτυπου στην ποιότητα ζωής, η μείωση του φορτίου της νόσου και τα οικονομικά της υγείας. Ένα θετικό αντίκτυπο θα μπορούσε να ενθαρρύνει επιπρόσθετες επενδύσεις (Kirschner et al., 2015).

Μια παλιά ινδιάνικη ιστορία μιλάει για τρεις τυφλούς άνδρες οι οποίοι συναντούν έναν ελέφαντα. Καθένας από τους τυφλούς άνδρες άγγιξε ένα διαφορετικό μέρος του ελέφαντα και έδωσε μια περιγραφή σχετικά με το τι πιστεύει ότι είναι ένας ελέφαντας. Το άτομο που άγγιξε την προβοσκίδα του ελέφαντα ισχυρίστηκε ότι ο ελέφαντας ήταν φίδι. Το άτομο που άγγιξε το πόδι του ελέφαντα ισχυρίστηκε ότι ο ελέφαντας είναι κορμός δέντρου. Το άτομο που άγγιξε το αυτί του ελέφαντα ισχυρίστηκε ότι ο ελέφαντας είναι ιστίο. Από τη μια πλευρά, με βάση το περιορισμένο επίπεδο αλληλεπίδρασης των τυφλών ανδρών με τον ελέφαντα, οι παρατηρήσεις τους είχαν νόημα. Από την άλλη πλευρά, εάν οι άνδρες είχαν συνεργαστεί και είχαν μελετήσει συνολικά τον ελέφαντα, η πραγματική δομή του μπορεί να είχε αρχίσει να γίνεται προφανής. Ωστόσο, θα πρέπει να θυμόμαστε ότι σε αυτή την ιστορία όλοι οι

άνδρες ήταν τυφλοί και απλώς συζητούσαν σχετικά με τις παρατηρήσεις τους, γεγονός το οποίο δημιουργεί τον κίνδυνο να υπάρξει μεγαλύτερη σύγχυση παρά σαφήνεια. Η διορατική αλληλεπίδραση μεταξύ τους θα ήταν απαραίτητη για την ουσιαστική ενοποίηση των συμπερασμάτων τους προκειμένου να γίνει αντιληπτή η συνολική εικόνα του ελέφαντα. Η κατανόηση των πολύπλοκων συστημάτων, όπως είναι ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να ωφεληθεί από τη συνεργασία, αλλά οι κατάλληλες αλληλεπιδράσεις και η διατμηματική δικτύωση είναι μια απαραίτητη παράμετρος για την επιτυχή έκβαση αυτής της προσπάθειας (Hood, 2013).



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- ABRAHAM, C. G. & ESPINOSA, J. M. 2015. The Crusade against Mutant p53: Does the COMPASS Point to the Holy Grail? *Cancer Cell*, 28, 407-408.
- AGOSTINI, M. & KNIGHT, R. A. 2014. miR-34: from bench to bedside. *Oncotarget*, 5, 872-81.
- ALLA, V., KOWTHARAPU, B. S., ENGELMANN, D., EMMRICH, S., SCHMITZ, U., STEDER, M. & PÜTZER, B. M. 2012. E2F1 confers anticancer drug resistance by targeting ABC transporter family members and Bcl-2 via the p73/DNp73-miR-205 circuitry. *Cell Cycle*, 11, 3067-78.
- AUFFRAY, C., CAULFIELD, T., GRIFFIN, J. L., KHOURY, M. J., LUPSKI, J. R. & SCHWAB, M. 2016. From genomic medicine to precision medicine: highlights of 2015. *Genome Med*, 8, 12.
- BARABASI, A. L. & ALBERT, R. 1999. Emergence of scaling in random networks. *Science*, 286, 509-12.
- BATLINER, J., BUEHRER, E., FEY, M. F. & TSCHAN, M. P. 2012. Inhibition of the miR-143/145 cluster attenuated neutrophil differentiation of APL cells. *Leuk Res*, 36, 237-40.
- BENSON, M. 2016. Clinical implications of omics and systems medicine: focus on predictive and individualized treatment. *J Intern Med*, 279, 229-40.
- BOISSEL, J. P., AUFRAY, C., NOBLE, D., HOOD, L. & BOISSEL, F. H. 2015. Bridging Systems Medicine and Patient Needs. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 4, e00026.
- BOUSQUET, J., ANTO, J. M., AKDIS, M., AUFRAY, C., KEIL, T., MOMAS, I., POSTMA, D., VALENTA, R., WICKMAN, M., CAMBON-THOMSEN, A., HAAHTELA, T., LAMBRECHT, B. N., LODRUP-CARLSEN, K., KOPPELMAN, G. H., SUNYER, J., ZUBERBIER, T., ANNESI-MAESANO, I., ARNO, A., BINDSLEV-JENSEN, C., DE CARLO, G., FORASTIERE, F., HEINRICH, J., KOWALSKI, M. L., MAIER, D., MELEN, E., PALKONEN, S., SMIT, H. A., STANDL, M., WRIGHT, J., ARSANOJ, A., BENET, M., BALARDINI, N., GARCIA-AYMERICH, J., GEHRING, U., GUERRA, S., HOHMAN, C., KULL, I., LUPINEK, C., PINART, M., SKRINDO, I., WESTMAN, M., SMAGGHE, D., AKDIS, C., ALBANG, R., ANASTASOVA, V., ANDERSON, N., BACHERT, C., BALLEREAU, S., BALLESTER, F., BASAGANA, X., BEDBROOK, A., BERGSTROM, A., VON BERG, A., BRUNEKREEF, B., BURTE, E., CARLSEN, K. H., CHATZI, L., COQUET, J. M., CURIN, M., DEMOLY, P., ELLER, E., FANTINI, M. P., GERHARD, B., HAMMAD, H., VON HERTZEN, L., HOVLAND, V., JACQUEMIN, B., JUST, J., KELLER, T., KERKHOF, M., KISS, R., KOGEVINAS, M., KOLETZKO, S., LAU, S., LEHMANN, I., LEMONNIER, N., MCEACHAN, R., MAKELA, M., MESTRES, J., MININA, E., MOWINCKEL, P., NADIF, R., NAWIJN, M., ODDIE, S., PELLET, J., PIN, I., PORTA, D., RANCIERE, F., RIAL-SEBBAG, A., SAES, Y., SCHUIJS, M. J., SIROUX, V., TISCHER, C. G., TORRENT, M., VARRASO, R., DE VOCHT, J., WENGER, K., WIESER, S. & XU, C. 2016. Paving the way of systems biology and precision medicine in allergic diseases: The MeDALL success story. *Allergy*.
- BRACKEN, C. P., SCOTT, H. S. & GOODALL, G. J. 2016. A network-biology perspective of microRNA function and dysfunction in cancer. *Nat Rev Genet*, 17, 719-732.
- CASYM_CONSORTIUM 2014. The CASyM roadmap: Implementation of Systems Medicine across Europe. CASyM administrative Office on behalf of the CASyM consortium Project Management Jülich, Forschungszentrum Jülich GmbH, Germany.
- CHAKRABORTY, J., BANERJEE, S., RAY, P., HOSSAIN, D. M., BHATTACHARYYA, S., ADHIKARY, A., CHATTOPADHYAY, S., DAS, T. & SA, G. 2010. Gain of cellular adaptation due to prolonged p53 impairment leads to functional switchover from p53 to p73 during DNA damage in acute myeloid leukemia cells. *J Biol Chem*, 285, 33104-12.
- CHAN, I. S. & GINSBURG, G. S. 2011. Personalized medicine: progress and promise. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 12, 217-44.

- CHEN, R. & SNYDER, M. 2012. Systems biology: personalized medicine for the future? *Curr Opin Pharmacol*, 12, 623-8.
- CHENG, F., JIA, P., WANG, Q., LIN, C. C., LI, W. H. & ZHAO, Z. 2014. Studying tumorigenesis through network evolution and somatic mutational perturbations in the cancer interactome. *Mol Biol Evol*, 31, 2156-69.
- CHUANG, H. Y., HOFREE, M. & IDEKER, T. 2010. A decade of systems biology. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 26, 721-44.
- COLLINS, F. S. & VARMUS, H. 2015. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med*, 372, 793-5.
- ENGELMANN, D., MEIER, C., ALLA, V. & PÜTZER, B. M. 2015. A balancing act: orchestrating amino-truncated and full-length p73 variants as decisive factors in cancer progression. *Oncogene*, 34, 4287-99.
- FEDEROFF, H. J. & GOSTIN, L. O. 2009. Evolving from reductionism to holism: is there a future for systems medicine? *JAMA*, 302, 994-6.
- FLORES, M., GLUSMAN, G., BROGAARD, K., PRICE, N. D. & HOOD, L. 2013. P4 medicine: how systems medicine will transform the healthcare sector and society. *Per Med*, 10, 565-576.
- FOX, J. L. 2015. Obama catapults patient-empowered Precision Medicine. *Nat Biotechnol*, 33, 325.
- GALTSIDIS, S., LOGOTHETI, S., PAVLOPOULOU, A., ZAMPETIDIS, C. P., PAPACHRISTOPOULOU, G., SCORILAS, A., VOJTESEK, B., GORGOULIS, V. & ZOUMPOURLIS, V. 2017. Unravelling a p73-regulated network: The role of a novel p73-dependent target, MIR3158, in cancer cell migration and invasiveness. *Cancer Lett*, 388, 96-106.
- GAO, Q. & ZHENG, J. 2018. microRNA-323 upregulation promotes prostate cancer growth and docetaxel resistance by repressing p73. *Biomed Pharmacother*, 97, 528-534.
- GIARETTI, W., RAPALLO, A., SCIUTTO, A., MACCIOCUCU, B., GEIDO, E., HERMSEN, M. A., POSTMA, C., BAAK, J. P., WILLIAMS, R. A. & MEIJER, G. A. 2000. Intratumor heterogeneity of k-ras and p53 mutations among human colorectal adenomas containing early cancer. *Anal Cell Pathol*, 21, 49-57.
- GREGORY, P. A., BERT, A. G., PATERSON, E. L., BARRY, S. C., TSYKIN, A., FARSHID, G., VADAS, M. A., KHEW-GOODALL, Y. & GOODALL, G. J. 2008. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol*, 10, 593-601.
- GUSTAFSSON, M., NESTOR, C. E., ZHANG, H., BARABASI, A. L., BARANZINI, S., BRUNAK, S., CHUNG, K. F., FEDEROFF, H. J., GAVIN, A. C., MEEHAN, R. R., PICOTTI, P., PUJANA, M. A., RAJEWSKY, N., SMITH, K. G., STERK, P. J., VILLOSLADA, P. & BENSON, M. 2014. Modules, networks and systems medicine for understanding disease and aiding diagnosis. *Genome Med*, 6, 82.
- HERMEKING, H. 2012. MicroRNAs in the p53 network: micromanagement of tumour suppression. *Nat Rev Cancer*, 12, 613-26.
- HOOD, L. 2013. Systems biology and p4 medicine: past, present, and future. *Rambam Maimonides Med J*, 4, e0012.
- JACQUES, C., CALLEJA, L. R., BAUD'HUIN, M., QUILLARD, T., HEYMANN, D., LAMOUREUX, F. & ORY, B. 2016. miRNA-193a-5p repression of p73 controls Cisplatin chemoresistance in primary bone tumors. *Oncotarget*, 7, 54503-54514.
- JIANG, X. & LI, H. 2018. MiR-1180-5p regulates apoptosis of Wilms' tumor by targeting. *Onco Targets Ther*, 11, 823-831.
- JOHN, K., ALLA, V., MEIER, C. & PÜTZER, B. M. 2011. GRAMD4 mimics p53 and mediates the apoptotic function of p73 at mitochondria. *Cell Death Differ*, 18, 874-86.

- JUENGST, E. T., SETTERSTEN, R. A., JR., FISHMAN, J. R. & MCGOWAN, M. L. 2012. After the revolution? Ethical and social challenges in 'personalized genomic medicine'. *Per Med*, 9, 429-439.
- KIM, T., VERONESE, A., PICHIORRI, F., LEE, T. J., JEON, Y. J., VOLINIA, S., PINEAU, P., MARCHIO, A., PALATINI, J., SUH, S. S., ALDER, H., LIU, C. G., DEJEAN, A. & CROCE, C. M. 2011. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2. *J Exp Med*, 208, 875-883.
- KIRSCHNER, M., BAUCH, A., AGUSTI, A., HILKE, S., MERK, S., PISON, C., ROLDAN, J., SEIDENATH, B., WILKEN, M., WOUTERS, E. F., MEWES, H. W., HEUMANN, K. & MAIER, D. 2015. Implementing systems medicine within healthcare. *Genome Med*, 7, 102.
- KNOUF, E. C., GARG, K., ARROYO, J. D., CORREA, Y., SARKAR, D., PARKIN, R. K., WURZ, K., O'BRIANT, K. C., GODWIN, A. K., URBAN, N. D., RUZZO, W. L., GENTLEMAN, R., DRESCHER, C. W., SWISHER, E. M. & TEWARI, M. 2012. An integrative genomic approach identifies p73 and p63 as activators of miR-200 microRNA family transcription. *Nucleic Acids Res*, 40, 499-510.
- KOEPPEL, M., VAN HEERINGEN, S. J., KRAMER, D., SMEENK, L., JANSSEN-MEGENS, E., HARTMANN, M., STUNNENBERG, H. G. & LOHRUM, M. 2011. Crosstalk between c-Jun and TAp73alpha/beta contributes to the apoptosis-survival balance. *Nucleic Acids Res*, 39, 6069-85.
- KOUFARIS, C. 2016. Human and primate-specific microRNAs in cancer: Evolution, and significance in comparison with more distantly-related research models: The great potential of evolutionary young microRNA in cancer research. *Bioessays*, 38, 286-94.
- LAI, X., GUPTA, S. K., SCHMITZ, U., MARQUARDT, S., KNOLL, S., SPITSCHAK, A., WOLKENHAUER, O., PÜTZER, B. M. & VERA, J. 2018. MiR-205-5p and miR-342-3p cooperate in the repression of the E2F1 transcription factor in the context of anticancer chemotherapy resistance. *Theranostics*, 8, 1106-1120.
- LIAO, J. M., ZHOU, X., ZHANG, Y. & LU, H. 2012. MiR-1246: a new link of the p53 family with cancer and Down syndrome. *Cell Cycle*, 11, 2624-30.
- LOCOCO, F., CESARIO, A., DEL BUFALO, A., CIARROCCHI, A., PRINZI, G., MINA, M., BONASSI, S. & RUSSO, P. 2015. Novel therapeutic strategy in the management of COPD: a systems medicine approach. *Curr Med Chem*, 22, 3655-75.
- LOGOTHETI, S., PAVLOPOULOU, A., GALTSIDIS, S., VOJTESEK, B. & ZOUMPOURLIS, V. 2013. Functions, divergence and clinical value of TAp73 isoforms in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 32, 511-34.
- MARDIS, E. R. 2006. Anticipating the 1,000 dollar genome. *Genome Biol*, 7, 112.
- MCGUIRE, A. L., FISHER, R., CUSENZA, P., HUDSON, K., ROTHSTEIN, M. A., MCGRAW, D., MATTESON, S., GLASER, J. & HENLEY, D. E. 2008. Confidentiality, privacy, and security of genetic and genomic test information in electronic health records: points to consider. *Genet Med*, 10, 495-9.
- MEIER, C., HARDTSTOCK, P., JOOST, S., ALLA, V. & PÜTZER, B. M. 2016. p73 and IGF1R Regulate Emergence of Aggressive Cancer Stem-like Features via miR-885-5p Control. *Cancer Res*, 76, 197-205.
- MEUNIER, J., LEMOINE, F., SOUMILLON, M., LIECHTI, A., WEIER, M., GUSCHANSKI, K., HU, H., KHAITOVICH, P. & KAESSMANN, H. 2013. Birth and expression evolution of mammalian microRNA genes. *Genome Res*, 23, 34-45.
- MING, L., SAKAIDA, T., YUE, W., JHA, A., ZHANG, L. & YU, J. 2008. Sp1 and p73 activate PUMA following serum starvation. *Carcinogenesis*, 29, 1878-84.
- MITRA, K., CARVUNIS, A. R., RAMESH, S. K. & IDEKER, T. 2013. Integrative approaches for finding modular structure in biological networks. *Nat Rev Genet*, 14, 719-32.

- NAKANO, K., BÁLINT, E., ASHCROFT, M. & VOUSDEN, K. H. 2000. A ribonucleotide reductase gene is a transcriptional target of p53 and p73. *Oncogene*, 19, 4283-9.
- NAZAROV, P. V., REINSBACH, S. E., MULLER, A., NICOT, N., PHILIPPIDOU, D., VALLAR, L. & KREIS, S. 2013. Interplay of microRNAs, transcription factors and target genes: linking dynamic expression changes to function. *Nucleic Acids Res*, 41, 2817-31.
- NIWA, R. & SLACK, F. J. 2007. The evolution of animal microRNA function. *Curr Opin Genet Dev*, 17, 145-50.
- OLIVIER, M., HOLLSTEIN, M. & HAINAUT, P. 2010. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2, a001008.
- ORY, B., RAMSEY, M. R., WILSON, C., VADYSIRISACK, D. D., FORSTER, N., ROCCO, J. W., ROTHENBERG, S. M. & ELLISEN, L. W. 2011. A microRNA-dependent program controls p53-independent survival and chemosensitivity in human and murine squamous cell carcinoma. *J Clin Invest*, 121, 809-20.
- PIOVAN, C., PALMIERI, D., DI LEVA, G., BRACCIOLI, L., CASALINI, P., NUOVO, G., TORTORETO, M., SASSO, M., PLANTAMURA, I., TRIULZI, T., TACCIOLI, C., TAGLIABUE, E., IORIO, M. V. & CROCE, C. M. 2012. Oncosuppressive role of p53-induced miR-205 in triple negative breast cancer. *Mol Oncol*, 6, 458-72.
- REN, Z. P., OLOFSSON, T., QU, M., HESSELAGER, G., SOUSSI, T., KALIMO, H., SMITS, A. & NISTÉR, M. 2007. Molecular genetic analysis of p53 intratumoral heterogeneity in human astrocytic brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol*, 66, 944-54.
- RITCHIE, M. D., DE ANDRADE, M. & KUIVANIEMI, H. 2015. The foundation of precision medicine: integration of electronic health records with genomics through basic, clinical, and translational research. *Front Genet*, 6, 104.
- ROSSI, M., DE LAURENZI, V., MUNARRIZ, E., GREEN, D. R., LIU, Y. C., VOUSDEN, K. H., CESARENI, G. & MELINO, G. 2005. The ubiquitin-protein ligase Itch regulates p73 stability. *EMBO J*, 24, 836-48.
- RUPAIMOOLE, R. & SLACK, F. J. 2017. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 16, 203-222.
- SACRISTAN, J. A. 2013. Patient-centered medicine and patient-oriented research: improving health outcomes for individual patients. *BMC Med Inform Decis Mak*, 13, 6.
- SAMPATH, D., CALIN, G. A., PUDUVALLI, V. K., GOPISETTY, G., TACCIOLI, C., LIU, C. G., EWALD, B., LIU, C., KEATING, M. J. & PLUNKETT, W. 2009. Specific activation of microRNA106b enables the p73 apoptotic response in chronic lymphocytic leukemia by targeting the ubiquitin ligase Itch for degradation. *Blood*, 113, 3744-53.
- SCHMITZ, U., LAI, X., WINTER, F., WOLKENHAUER, O., VERA, J. & GUPTA, S. K. 2014. Cooperative gene regulation by microRNA pairs and their identification using a computational workflow. *Nucleic Acids Res*, 42, 7539-52.
- SCHORK, N. J. 2015. Personalized medicine: Time for one-person trials. *Nature*, 520, 609-11.
- SENGUPTA, D. & BANDYOPADHYAY, S. 2013. Topological patterns in microRNA-gene regulatory network: studies in colorectal and breast cancer. *Mol Biosyst*, 9, 1360-71.
- SNYDER, M., WEISSMAN, S. & GERSTEIN, M. 2009. Personal phenotypes to go with personal genomes. *Mol Syst Biol*, 5, 273.
- STIEWE, T., ZIMMERMANN, S., FRILLING, A., ESCHE, H. & PÜTZER, B. M. 2002. Transactivation-deficient DeltaTA-p73 acts as an oncogene. *Cancer Res*, 62, 3598-602.
- VANDAMME, D., FITZMAURICE, W., KHOLODENKO, B. & KOLCH, W. 2013. Systems medicine: helping us understand the complexity of disease. *QJM*, 106, 891-5.
- VOGT, H., HOFMANN, B. & GETZ, L. 2016. The new holism: P4 systems medicine and the medicalization of health and life itself. *Med Health Care Philos*.
- VOIT, E. O., NEWSTETTER, W. C. & KEMP, M. L. 2012. A feel for systems. *Mol Syst Biol*, 8, 609.

- WHO 2011. Global Health and Aging. NIH Publication no. 11-7737.
- WMA 1964. WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *In*: ASSOCIATION, W. M. (ed.).
- WOLKENHAUER, O., AUFRAY, C., BRASS, O., CLAIRAMBAULT, J., DEUTSCH, A., DRASDO, D., GERVASIO, F., PREZIOSI, L., MAINI, P., MARCINIAK-CZOCRA, A., KOSSOW, C., KUEPFER, L., RATEITSCHAK, K., RAMIS-CONDE, I., RIBBA, B., SCHUPPERT, A., SMALLWOOD, R., STAMATAKOS, G., WINTER, F. & BYRNE, H. 2014. Enabling multiscale modeling in systems medicine. *Genome Med*, 6, 21.
- XIAO, Y., XU, C., GUAN, J., PING, Y., FAN, H., LI, Y., ZHAO, H. & LI, X. 2012. Discovering dysfunction of multiple microRNAs cooperation in disease by a conserved microRNA co-expression network. *PLoS One*, 7, e32201.
- ZHANG, Y., LIAO, J. M., ZENG, S. X. & LU, H. 2011. p53 downregulates Down syndrome-associated DYRK1A through miR-1246. *EMBO Rep*, 12, 811-7.
- ZHU, Y., SKOGERBØ, G., NING, Q., WANG, Z., LI, B., YANG, S., SUN, H. & LI, Y. 2012. Evolutionary relationships between miRNA genes and their activity. *BMC Genomics*, 13, 718.