



## Paper de *Chlamydia pneumoniae* en la generació de respostes immunes implicades en la malaltia cerebrovascular

Ana Luque Gómez

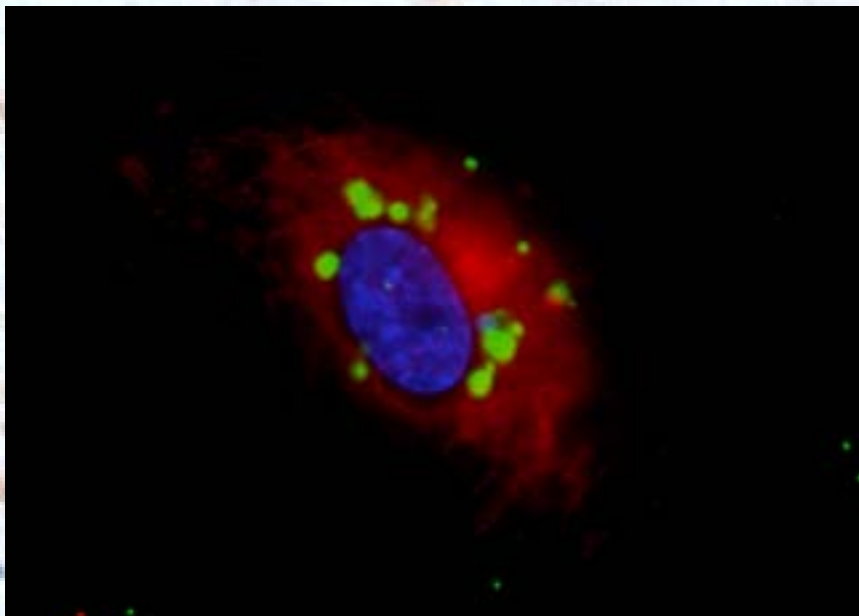
**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**TESI DOCTORAL**

**PAPER DE *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*  
EN LA GENERACIÓ DE RESPOSTES  
IMMUNES IMPLICADES EN LA  
MALALTIA CEREBROVASCULAR**



**Ana Luque Gómez**

**2011**



**PAPER DE *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* EN LA GENERACIÓ DE RESPOSTES  
IMMUNES IMPLICADES EN LA MALALTIA CEREBROVASCULAR**

Memòria presentada per  
**Ana Luque Gómez**  
Per a optar al grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Aquest treball ha estat realitzat sota la direcció del Dr. Jerzy Krupinski conjuntament a l'Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL) i l'Institut Català de Ciències Cardiovasculars (ICCC-CSIC).

Tesi adscrita al Departament de Biologia Cel·lular de la Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona. Programa de Biologia Cel·lular i Molecular (bienni 2006-2008).

El director,

El tutor,

Dr. Jerzy Krupinski

Dr. Jose Antonio del Ríó Fernández

L'autora,

Ana Luque Gómez  
Barcelona, 2011



En primer lugar agradecer enormemente a Jurek la oportunidad de poder realizar esta tesis, de ayudarme a aprender tanto dentro como fuera del laboratorio guiándome siempre, aunque la mayoría de las veces fuera casi de forma virtual. Gracias por dejarme asistir a congresos tanto nacionales como internacionales teniendo la suerte de poder viajar y conocer a mucha gente interesante.

A Mark, a quien agradezco sus enseñanzas pero sobretudo su amistad y su acogida en Manchester donde aun apalizándole a la Wii ha seguido estando ahí.

También agradecer a Marta su apoyo y enseñanzas desde el primer día, siempre ha estado ahí y parte de esta tesis es gracias a ti.

También debo agradecer al laboratorio 110 su acogida, empezando por Pepe, a quién le agradezco que me llamara para trabajar con Jurek. A Javi, Silvia, Mau, María, LLuis, Olivier, Crespo, Ricardo y Cristina muchas gracias por escucharme y ayudarme en todo. Un beso especial a Anna, quién ha estado a mi lado desde el primer día y con la que mantengo una conexión especial.

Por supuesto, una atención especial, al grupo de confección, corte y tinte al que pertenezco. Oriol, Mari Àngels, Norma, Anna y David. Sin vosotros no hubiera sido lo mismo. El laboratorio de Oriol ha sido mi refugio, mi casa, la zona de meriendas y de risas. Oriol has sido mi profesor y director en muchas ocasiones, te agradezco tu paciencia y amistad. Mari eres la mejor! Me llevo lo mejor de ti, tu amistad y cariño. Normi, Anna y David muchas gracias por tantos buenos momentos.

Maribel, que decirte?, aunque se te va la pinza de vez en cuando siempre has estado ahí, te agradezco tus consejos y apoyo desde el primer día.

A Sonia por esas largas conversaciones que hacían mucho más llevaderas las horas y horas que hemos pasado en cultivos. Conversaciones terapéuticas en las que nos psicoanalizábamos mutuamente y en las que me ponías al día de todo lo que pasaba en el centro.

A Lina por ofrecerme sus instalaciones desde el inicio hasta el final; A Sandra por su amabilidad y apoyo en todas mis dudas; A Quim, Chema, Pepi, la del gordo de Navidad, Jose, Rodri, Blanqui, Juli... a todo ICCC muchas gracias por todo.

A la Font y a Anna por la aportación de muestras, sangre... que tan importantes han sido para realizar este trabajo y por supuesto, a esas conversaciones en las que criticábamos al jefe.

También agradecer a Josep la oportunidad de tener un lugar donde acabar mis experimentos, de ayudarme en las últimas investigaciones y por supuesto de darme la oportunidad de seguir investigando. A Rut por acogerme y darme su amistad.

A mis amigos de siempre, a Raquel y a Anna por las fiestas, risas y por estar siempre ahí.

Finalmente agradecer a mis padres todo el esfuerzo que han hecho durante su vida para darnos a mí y a mis hermanos la oportunidad de aprender y hacer siempre lo que nos ha gustado. Sin vuestro apoyo no hubiera llegado hasta aquí. A mis hermanos, Ali y Alberto, por estar tan unidos. A Ale y Jordi por hacerles felices. A los peques por hacernos felices a todos. Y a Javi por estar a mi lado desde hace 10 años tanto en lo bueno como en lo malo. Os quiero!

Dedico esta tesis a mis abuelos y a mi tío Alberto. En especial al yayo, quien me enseñó a andar, a ir en bici, a conducir, quien me dio y me sigue dando, desde donde esté, toda su fuerza y cariño.

# ***ÍNDEX***





---

ABREVIATURES.....	1
INTRODUCCIÓ.....	5
1. Ictus isquèmic.....	7
2. Aterosclerosi.....	8
2.1 Estructura de la paret arterial.....	8
2.2 Classificació morfològica de les lesions arterioscleròtiques.....	10
2.3 Característiques anatomopatològiques de la placa de caròtida avançada.....	13
3. Factors de risc vascular.....	15
3.1 Factors de risc no modificables.....	15
3.2 Factors de risc modificables.....	15
3.3 Nous factors de risc.....	17
4. <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	18
4.1 Cicle cel·lular.....	18
4.2 Epidemiologia.....	20
4.2.1 Distribució segons edat i sexe.....	21
4.3 <i>Chlamydia pneumoniae</i> : relació amb aterosclerosi i ictus.....	21
4.3.1 Desenvolupament de la lesió arterioscleròtica.....	22
4.4 Mètodes per a la detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	25
4.4.1 Estudis seroepidemiològics.....	25
4.4.1.1 Problemes dels estudis seroepidemiològics.....	27
4.4.2 Detecció d'ADN de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en cèl·lules mononuclears circulants.....	29
4.4.2.1 Problemes dels estudis d'ADN.....	30
4.4.3 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en lesions arterioscleròtiques.....	31
5. Marcadors d'hipòxia, inflamació i angiogènesi.....	33
5.1 Hipòxia.....	33
5.2 Inflamació.....	35
5.3 Angiogènesi.....	36
5.3.1 Endoglina.....	37
6. Resposta immunitària.....	40
6.1 Immunitat innata: <i>Toll Like Receptors</i> .....	40
6.1.1 Estructura i funció dels Receptors Toll.....	41
6.1.2 TLRs i aterosclerosis.....	44
6.2 Immunitat adaptativa.....	44
6.2.1 Limfòcits T.....	45
6.2.1.1 Limfòcits T i aterosclerosi.....	46
6.2.2 Limfòcits B.....	47

OBJECTIUS .....	49
MATERIALS I MÈTODES .....	53
1. Mostreig.....	55
2. Fixació de mostres de teixit per incloure en parafina.....	56
3. Fixació de mostres de teixit congelat per incloure en OCT .....	57
4. Histologia .....	58
5. Immunohistoquímica.....	59
5.1 Immunohistoquímica doble .....	60
6. Extracció d'ADN de teixit.....	62
7. Anàlisi per PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	63
8. Mètodes electroforètics: Gels d'Agarosa .....	65
9. Test de Microimmunofluorescència ( <i>Chlamydia pneumoniae</i> IgG/IgM/IgA Micro-IF Test Kit, ANILabsystem).....	66
10. Extracció d'ARN de la microdissecció de seccions congelades .....	67
11. Extracció d'ARN total de cèl·lules animals.....	68
12. Estudi de la qualitat i quantitat de l'ARN obtingut .....	70
13. Retrotranscripció o Transcripció Reversa (RT).....	70
14. PCR semiquantitativa a temps real.....	71
15. Human Caotid Artery Endothelial cells (HCtAECs).....	71
16. <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	72
16.1 Infecció de HCtAECs per <i>C. Pneumoniae</i> .....	72
16.2 Titulació.....	72
16.3 Estudi de la diferència d'expressió gènica entre cèl·lules control i cèl·lules infectades a diferents temps.....	73
16.4 Immunocitoquímica.....	74
17. Anàlisi quantitatiu de neovasos .....	74
18. Microarrays.....	75
18.1 Disseny de l'experiment de microarrays .....	75
18.1.1 Extracció d'ARN total.....	76
18.1.2 Comprovació de la qualitat i quantitat de l'ARN.....	76
18.1.3 Amplificació, síntesi i marcatge del cADN.....	76
18.1.4 Anàlisi de les imatges, extracció, normalització i processat de les dades.....	78
18.2 Anàlisi i interpretació de les dades de microarrays .....	79
18.2.1 Time Course Microarray Data.....	79
18.2.2 Anotació funcional .....	81
18.2.3 Validació dels resultats .....	82
19. Anàlisi estadístic.....	84
RESULTATS .....	89

1. Caracterització immunològica i inflamatòria de la placa ateroscleròtica carotídia de baixa a moderada estenosi (<50%).	91
1.1 Marcadors d'hipòxia i inflamació	93
1.1.1 Immunohistoquímica en lesions tipus II/III	94
1.1.2 Immunohistoquímica en lesions tipus IV/Va	95
1.1.2.1 Immunohistoquímica de HIF-1 $\alpha$	95
1.1.2.2 Immunohistoquímica de CRP	96
1.1.2.3 Immunohistoquímica de la IL-6	97
1.2 Estudi del procés d'angiògenesis en diferents tipus d'artèries.	98
1.2.1 Vascularització de la neoíntima.	99
1.2.1.1 Expressió de CD105 en vasos de lesions carotídies amb estenosi < 50%	101
1.2.1.2 Expressió de CD105 en lesions coronàries obtingudes de transplantament o de mort sobtada	102
1.2.1.3 Expressió de CD105 en artèries cerebrals mitges	104
1.2.2 Vascularització de l'adventícia.	105
1.3 Estudi del paper del sistema immunitari en l'aterosclerosi carotídia.	106
1.3.1 Estudi de la presència de limfòcits T i B en les plaques ateroscleròtiques	106
1.3.1.1 Estudi de la presència de limfòcits T.	106
1.3.1.2 Estudi de la presència de limfòcits B.	109
1.3.1.3 Estudi de la presència de limfòcits actius.	111
1.3.2 Estudi de la presència de TLRs en les plaques ateroscleròtiques.	113
1.3.2.1 Estudi de la presència de TLR2.	113
1.3.2.2 Estudi de la presència de TLR3.	114
1.3.2.3 Estudi de la presència de TLR4.	116
2. Estudi de la relació entre infecció per <i>Chlamydia pneumoniae</i> i aterosclerosi....	119
2.1 Estudi de la presència de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en diferents tipus arterials	121
2.1.1 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> mitjançant immunohistoquímica.	122
2.1.2 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> per PCR	123
2.1.2.1 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en lesions carotídies amb estenosi < 50%	123
2.1.2.2 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en lesions carotídies amb estenosi > 70%	124
2.1.2.3 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en artèries cerebrals mitges ..	125
2.1.3 Detecció de <i>Chlamydia pneumoniae</i> en sèrum.	126
2.1.4 Relació entre la presència de limfòcits T i B i infecció per <i>Chlamydia pneumoniae</i> .	127

2.1.5 Relació entre la presència de TLRs i infecció per <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	128
2.1.6 Relació entre la presència de HIF-1 $\alpha$ i infecció per <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	129
2.2 Anàlisi de la regulació de l'expressió gènica transcripcional mitjançant microarrays .....	130
2.2.1 Anàlisi de les dades de Microarrays .....	133
2.2.1.1 Anàlisi de Time Course .....	133
2.2.1.2 <i>Ingenuity Pathways Analysis</i> .....	146
2.2.2 Validació i comparació dels resultats de microarrays per qRT-PCR .....	161
DISCUSSIÓ .....	167
CONCLUSIONS .....	187
BIBLIOGRAFIA .....	191
PUBLICACIONS .....	207
ANNEXOS .....	209
ANNEX 1. Característiques Fenotípiques de les artèries caròtides, coronàries i ACM	
ANNEX 2. Transcrits diferencialment expressats com a mínim en un dels tres temps d'infecció [  FC $\geq$ 1,2 , p-valor ajustat $\leq$ 0,05]	
ANNEX 3. <i>Clustering</i>	

# ***ABREVIATURES***



ACM	Artèries cerebrals mitges
AcxFA	Arrítmia cardíaca per fibrilació auricular
ADN	Àcid deoxiribonucleic
AHA	<i>American Heart Association</i>
AIT	Atac isquèmic transitori
APC	Cèl·lules presentadores d'antígens
ARN	Àcid ribonucleic
BAEC	<i>Bovine Aortic Endothelial cells</i>
BCR	Receptor dels limfòcits B
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
BSA	<i>Bovine serum albumina</i>
<i>C.pneumoniae</i> ó Cpn	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
CAD	<i>Coronary artery disease</i>
cADN	ADN complementari
CD105	Endoglina
CE	Cos elemental
CEA	Endarterectomia
CR	Cos reticular
CRP	Proteïna C-reactiva
Cy3	<i>Cyanine-3</i>
DAB	3,3'-Diaminobenzidine
DL	Dislipèmia
DLL4	<i>Delta-like-4</i>
DM	<i>Diabetis mellitus</i>
<i>E.Coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>
F	Fibroses
FBS	<i>Foetal bovine serum</i>
FITC	<i>Fluorescein isothiocyanate</i>
HBSS	<i>Hank's buffered salt solution</i>
HCtAEC	<i>Human Carotid Artery Endothelial cells</i>
HIF-1	Factor induïble per hipòxia-1
HRE	Element de resposta a hipòxia
HSP	<i>Heat shock proteins</i>
HTA	Hipertensió
HUVEC	<i>Human umbilical vein endothelial cells</i>
IAM	Infart agut de miocardi
IGF-2	Factor de creixement similar a la insulina-2
IL-1 $\beta$	Interleuquina-1 $\beta$
IL-6	Interleuquina-6
IMT	Índex íntima mitja
INF $\gamma$	Interferó gamma
INFGR	Receptor del interferó gamma
LDL	Lipoproteïnes de baixa densitat
LDLag	LDL agregades



LDLox	LDL oxidades
LPS	Lipopolisacàrid
mARN	ARN missatger
MCP-1	Proteïna quimioatracent de monòcits
mCRP	Proteïna C-reactiva monomèrica o modificada
M-CSF	Factor estimulant de colònies de macròfags
MHC	Complexe major d'histocompatibilitat
MIF	Microimmunofluorescència
MMP	Metal·loproteinasa
MyD88	<i>Myeloid differentiation factor 88</i>
nCRP	Proteïna C-reactiva nativa
NF- $\kappa$ B	Factor de transcripció nuclear
NO	Òxid nítric
NS	No significatiu
PAI-1	Molècula inhibidora de l'activació del plasminogen
PAMPs	Patrons moleculars associats a patògens
PBMCs	Cèl·lules mononuclears circulants
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
p-c-Jun	<i>Jun N-terminal Kinase</i> fosforilada activa
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PFA	Paraformaldehid
p-JNK	<i>Jun N-terminal Kinase</i> fosforilada
Rasb	<i>Renin angiotensin system blockets</i>
RIN	<i>RNA Integrity Number</i>
Tc	Limfòcits T citotòxics
TCID50	<i>50% Tissue Culture Infective Dose</i>
TCR	Receptor de limfòcits T
TGF- $\alpha$	Factor de creixement transformant- $\alpha$
Th	Limfòcits T col·laboradors
Tie-2	Receptor tirosina quinasa 2
TIRAP	<i>TIR domain-containing adaptor protein</i>
TLRs	<i>Toll Like Receptors</i>
TNFR	Receptors del factor de necrosi tumoral
TNF- $\alpha$	Factor de necrosi tumoral- $\alpha$
TRAM	<i>TRIF-related adaptor molecule</i>
Treg	Limfòcits T reguladors
TRIF	<i>TIR-related-adaptor protein inducing interferon</i>
Tris-Acetate-EDTA	TAE
UC	Ulcerades complicades
UNC	Ulcerades no complicades
VEGF	Factor de creixement d'endoteli vascular
VSMC	<i>Vascular smooth muscular cells</i>
WBC	<i>White blood cells</i>

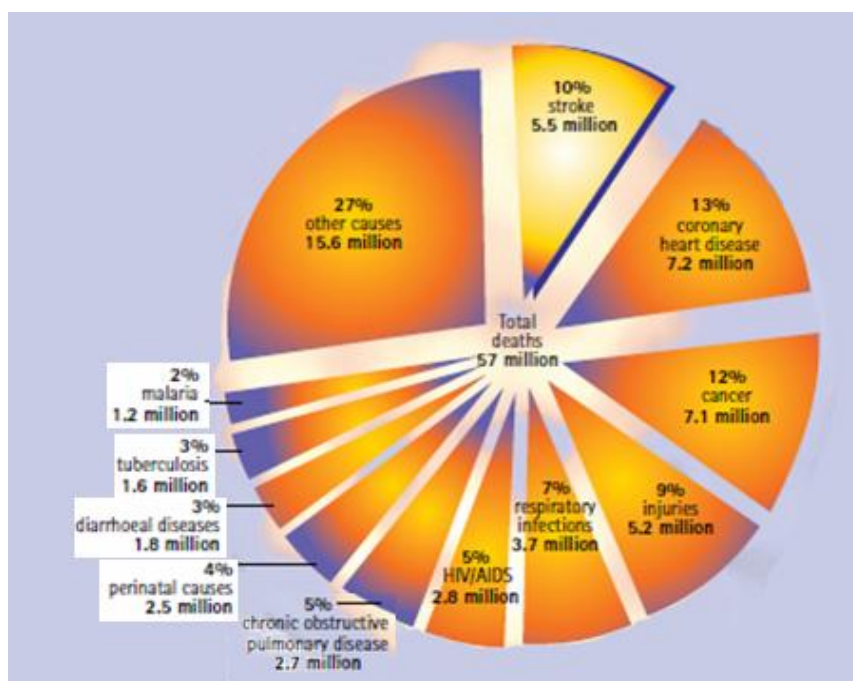
# ***INTRODUCCIÓ***



## 1. Ictus isquèmic

Es considera ictus a un episodi de disfunció neurològica focal del qual la simptomatologia es manté durant més de 24 hores i que està produït per una alteració de l'aportació sanguínia [Guia SEN].

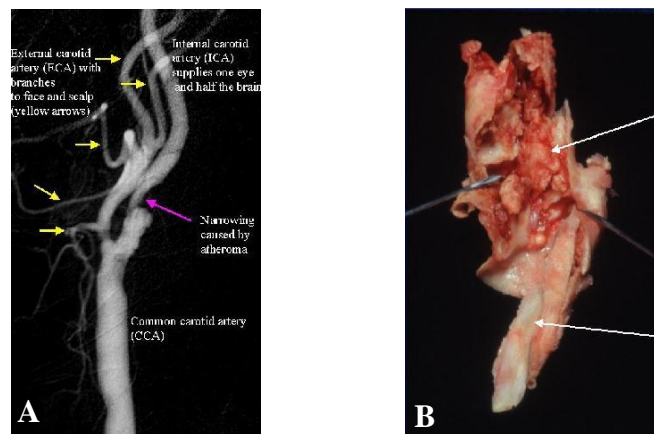
L'ictus constitueix la tercera causa de mort en els països desenvolupats, superat només per les malalties coronàries i el càncer. Anualment, 15 milions de persones pateixen un ictus a tot el món. D'aquestes, 3 milions de dones i 2,5 milions d'homes moren cada any i altres 5 milions de persones pateixen discapacitat de manera permanent en els països desenvolupats constituint un greu problema sociosanitari. Encara que la incidència d'ictus està disminuint en la majoria dels països desenvolupats, principalment per un millor control de la hipertensió i una disminució del consum de tabac, el nombre absolut d'ictus continua incrementant-se a causa de l'augment de l'envelliment de la població [Gil de castro 2000; <http://www.who.int>].



**Figura 1.** Comparació del nombre de morts al món per ictus amb altres causes de mort (OMS 2002)

## 2. Aterosclerosi

Un 20-30% dels pacients que pateixen un ictus mostren aterosclerosi carotídia, sent aquesta la primera causa d'ictus isquèmic. [Bamford, S 1991; Anderson CS 1994; Seeger JM 1995]. L'aterosclerosi és una malaltia multifocal de les artèries, ja sigui de gran, mitjà o petit calibre, caracteritzada pel dipòsit anormal de lípids i teixit fibrós en la paret arterial, que desorganitza l'arquitectura, la funció dels vasos i redueix en forma variable el flux sanguini [Suarez-Loaiza 2001]. La lesió arterioscleròtica s'inicia durant la infància i progressa de manera asimptomàtica al llarg dels anys. El material gras que es diposita a les artèries s'anomena ateroma. Amb el temps l'ateroma s'acumula, formant plaques i estrenyent l'artèria (estenosi) [Falk E 2006].



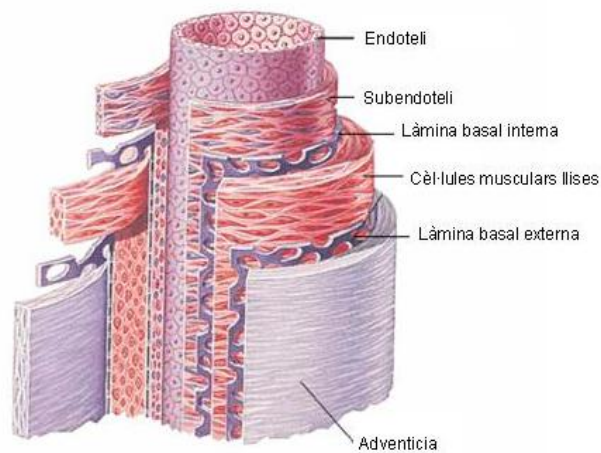
**Figura 2.** A) Anatomia de l'artèria caròtida comuna mostrant-se l'artèria caròtida interna estenosada (fletxa lila). B) Placa estreta mitjançant endarterectomia carotídia [[www.cirse.org/index.php?pid=254](http://www.cirse.org/index.php?pid=254)]

### 2.1 Estructura de la paret arterial

La paret arterial es disposa en 3 capes ben diferenciades anomenades íntima, mitjana i adventícia (Figura 3).

L'íntima està formada principalment per una monocapa de cèl·lules endotelials. La seva funció principal és actuar com a barrera de permeabilitat selectiva per macromolècules com les lipoproteïnes i per cèl·lules com els monòcits o els limfòcits circulants, regula també de forma activa la resposta viscoelàstica arterial mitjançant l'alliberament de substàncies relaxadores/constrictores que modifiquen el to muscular [Bia D 2007]. Aquesta capa de cèl·lules endotelials descansa sobre una membrana basal sota la qual es

troba l'espai subendotelial constituït a base de col·lagen, fibronectina, microfibrilles, proteoglicans i elastina [Suarez Loiza 2001].



**Figura 3.** Capes de la paret arterial [http://www.ebrisa.com]

La mitjana, separada de l'íntima per la làmina basal interna, està formada principalment per fibres d'elastina i col·lagen i cèl·lules musculars llises sent la principal determinant del comportament biomecànic arterial [Bia D 2007].

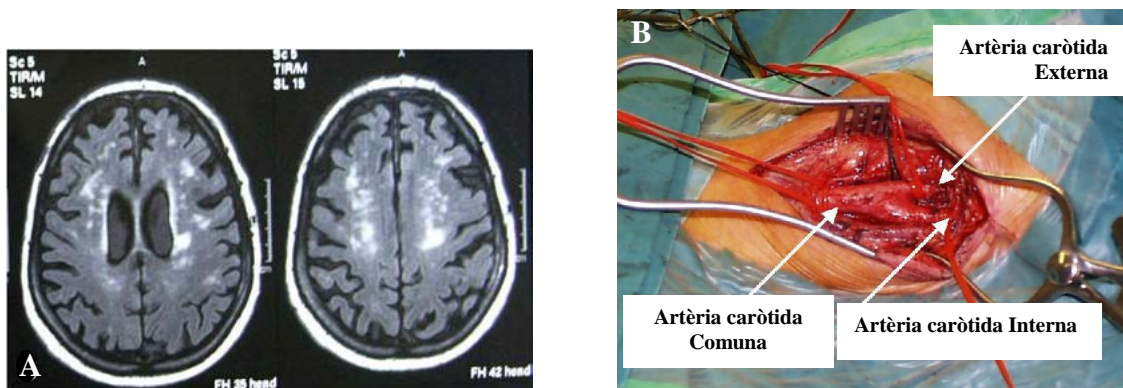
La adventícia, separada de la mitjana per la làmina basal externa, està constituïda principalment per teixit adipós, fibres d'elastina i col·lagen, fibroblasts i macròfags [Bia D 2007]. L'adventícia conté nervis i els anomenats *vasa vasorum* (Figura 4) que aporten nutrients i oxigen a les capes més profundes de la paret [Moreno PR 2004].



**Figura 4.** Red de petits vasos (*Vasa Vasorum*) que provenen de l'adventícia i penetren a la capa mitja de la placa ateroscleròtica [Moreno PR 2006; Barger AC 1984].

## 2.2 Classificació morfològica de les lesions arterioscleròtiques

El desenvolupament de la lesió arterioscleròtica comporta passar d'una placa estable a una placa inestable, amb l'aparició d'hemorràgies intraplaca, una fina capa fibrosa, infiltració de macròfags i limfòcits T, així com ulceració de la superfície, ruptura i trombosi [Krupinski J 2006; Slevin M 2006]. Està ben establert que els últims processos tenen lloc en els últims estadis junt amb l'aparició de les plaques carotídies amb una estenosis significativa, per exemple de més del 70%. No obstant, recents dades suggereixen que plaques de baixa a moderada estenosis (<50%) sofreixen canvis metabòlics i inflamatoris que provoquen inestabilitat [Tang T 2006]. El tractament quirúrgic de la malaltia carotídia s'anomena endarterectomia (Figura 5B) i existeix des dels anys 50. S'ha demostrat l'efecte beneficiós de l'endarterectomia carotídia ja que s'observa una reducció en el nombre d'ictus futurs així com en el nombre de microembòlies ipsolaterals registrades [Revisat a Krupinski J 2008].



**Figura 5.** A) Seqüència MRI-FLAIR mostrant un petit infart cerebral silent, els quals són freqüents en pacients amb estenosis carotídia. B) Artèria caròtida exposada durant una endarterectomia [www.cirse.org/index.php?pid=254]

Les lesions arterioscleròtiques es poden classificar histològicament segons l'*American Heart Association* (AHA) [Stary HC1995;Virmani R 2000; Martinez-González J 2001] en:

1. Lesió tipus I: S'observen dipòsits microscòpics de lípids, relacionats amb macròfags infiltrats en la íntima. L'acumulació de cèl·lules espumoses en la íntima està associada amb un augment de l'adherència dels monòcits a l'endoteli.
2. Lesió tipus II: aquest tipus de lesió també es coneix com a "estria grassa". La lesió tipus II augmenta el gruix de la paret arterial menys d'1mm pel que no

- afecta al corrent sanguini. Consisteix principalment en cèl·lules espumoses derivades de macròfags, estratificades en capes, situades a certa distància de l'endoteli. En aquestes lesions, el contingut de macròfags sense gotes lipídiques és superior que en la lesió tipus I, i també es detecten limfòcits T i mastòcits. La major part del lípid és intracel·lular, el contenen els macròfags, encara que també comença a acumular-se en les cèl·lules musculars llises.
3. Lesió tipus III: en aquest tipus de lesions, també conegudes com a “preateroma”, la íntima s'engreixa lleugerament sense arribar a afectar el corrent sanguini. Microscòpicament s'observen gotes de lípid extracel·lular entre capes de cèl·lules musculars llises, però sense arribar a formar un nucli gras definit. El lípid extracel·lular es troba sota els cúmuls de cèl·lules espumoses, on ha desplaçat a les cèl·lules musculars llises, els proteoglicans i a les fibres presents normalment.
  4. Lesió tipus IV: és el primer tipus de lesió considerada avançada degut a la desorganització que es produeix en l'estructura de la paret arterial causada per la gran acumulació de lípid extracel·lular. El nucli gras es forma bàsicament a partir de la fusió dels cúmuls lipídics presents en la lesió tipus III, que amb la continua infiltració de lipoproteïnes del plasma augmenten de mida. També poden observar-se petites acumulacions de minerals, especialment en el citoplasma de cèl·lules musculars llises mortes. La íntima que es troba entre el nucli gras i el lumen conté normalment macròfags i cèl·lules musculars llises, amb o sense gotes lipídiques, a més de limfòcits i mastòcits.
  5. Lesió tipus Va: a sobre del nucli gras de la lesió tipus IV es sobreposen capes de col·lagen formant-se el fibroateroma. Aquest tipus de lesió és susceptible a la ruptura i a la formació d'un trombe mural.
  6. Lesió tipus VI: són les lesions que més s'associen amb la morbi-mortalitat de la malaltia arterioscleròtica. Aquest tipus de lesió es produeix quan la superfície de l'ateroma sofreix alteracions que afavoreixen la formació de trombes. Les alteracions més freqüents que afecten la integritat de la placa són: fissures, erosions i ulceracions.
  7. Lesió tipus Vb i Vc: aquestes lesions avançades no contenen pràcticament acumulació lipídica. La íntima d'aquestes lesions consisteix principalment en capes de col·lagen, masses de minerals (calci) o una combinació dels dos components. En les lesions tipus Vb predomina la mineralització, i en les de



tipus Vc el col·lagen. El mineral reemplaça les restes de cèl·lules mortes i lípid extracel·lular dels nuclis lipídics.

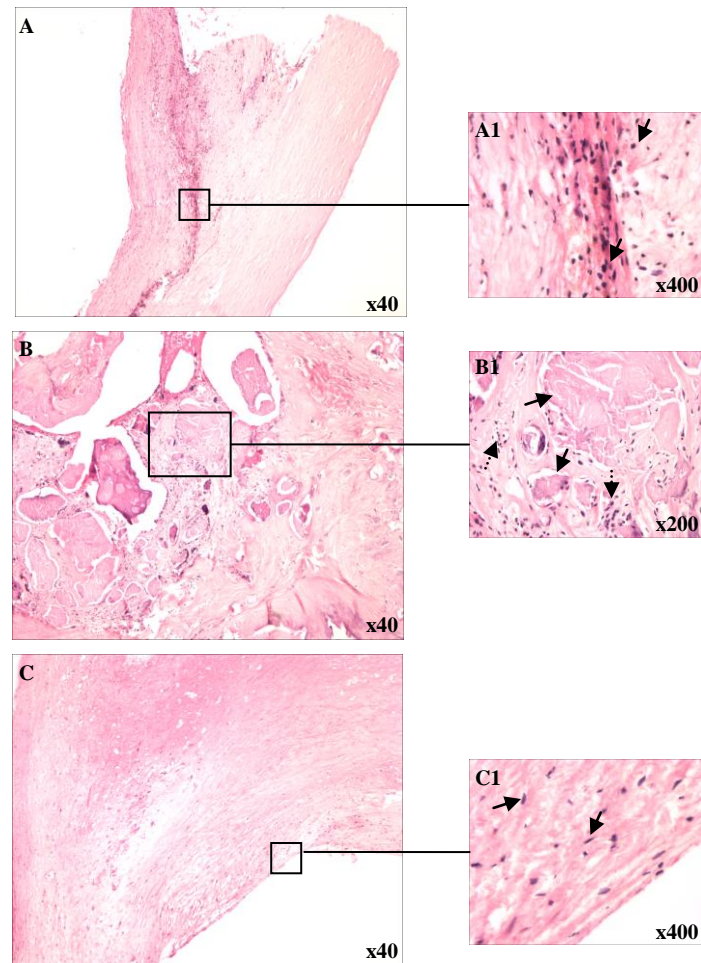
Tipus de lesió	Tinció (Tricròmic de Masson)	Evolució de les lesions	Mecanismes de creixement	Efecte sobre lumen	Desenvolupament temporal	Clinica
Paret sense lesió						
Tipus I Macròfags i cèl·lules espumoses aïllades		<p>I ↓ II ↓ III ↓ IV ↓ Va ↓ VI ↓ Vb ↓ Vc</p>	<p>Acumulació lipídica intracel·lular en macròfags i CML (cèl·lules espumoses)</p> <p>↑ Núcli lipídic extracel·lular</p> <p>↑ CML i síntesi de matriu</p> <p>↑ Trombosis</p>	<p>↑ Engrossiment de la paret sense modificació del lumen</p> <p>↑ Engrossiment Mínima lumen</p> <p>↑ Engrossiment Progressiu lumen</p> <p>↑ Engrossiment lumen cast oclut</p>	Desde 1 <sup>a</sup> dècada	Silent
Tipus II Acumulació lipídica intracel·lular en macròfags i CML.						
Tipus III (preateroma). Petits dipòsits de lípids extracel·lulars.					Desde 3 <sup>a</sup> dècada	
Tipus IV (ateroma). Nucli lipídic extracel·lular					Desde 4 <sup>a</sup> dècada	
Tipus Va (fibroateroma). Nucli lipídic, CML i col·lagen					Desde 4 <sup>a</sup> dècada	
Tipus VI (complicada). Com IV o Va amb trombe i fissures					Desde 5 <sup>a</sup> dècada	
Tipus Vb (calcificada). Mineralització					Desde 5 <sup>a</sup> dècada	
Tipus Vc (fibròtica). Col·lagen. Baix o nul contingut lipídic.		Desde 5 <sup>a</sup> dècada				

**Figura 6.** Esquema de la classificació i evolució de les lesions ateroscleròtiques. Adaptat de Badimón *et al* 2003 [Badimón L 2003]

### 2.3 Característiques anatomopatològiques de la placa de caròtida avançada

Les plaques avançades es classifiquen segons les característiques anatomo-patològiques i segons la seva textura i superfície en ulcerades no-complicades, ulcerades complicades i fibroses [Slevin M 2006; Krupinski J 2006]. Aquestes plaques son clínicament importants perquè morfològicament inclouen destrucció del teixit fins a un grau que les fa susceptibles a la formació d'un trombe i perquè mostren engrossiment de la paret arterial o estenosi, amb la possibilitat d'arribar a poder obstruir la llum del vas.

1. Ulcerades no-complicades (plaques actives): aquestes plaques poden presentar ruptura de la superfície i trombosis, però sobretot son plaques amb un elevat contingut cel·lular, tant de cèl·lules musculars llises com de cèl·lules espumoses, però majoritàriament cèl·lules inflamatòries (limfòcits, neutròfils i monòcits/macròfags). Aquests components de la resposta immunitària innata i adaptativa estan implicats en la modulació de l'expressió de citocinesi i factors de creixement que regulen la resposta de les cèl·lules espumoses i les cèl·lules musculars llises, conduint a la paret vascular a un estat d'inflamació crònic. Això desencadena un estat actiu de la lesió, on s'observa una íntima proliferativa i àrees amb elevada quantitat de neovasos [Slevin M 2006; Krupinski J 2006].
2. Ulcerades complicades (no actives): es tracta de plaques que es troben en estats finals de progressió i mostren un elevat nivell de destrucció tissular, contingut necròtic, baix contingut cel·lular i ruptura de la coberta fibrosa. Aquestes plaques mostren un important component d'hemorràgia intraplaca. Son plaques que contenen un elevat component de matriu extracel·lular degut a un augment dels nivells apoptòtics de les cèl·lules musculars llises, les quals formen unes vesícules unides a membrana que calcifiquen la matriu extracel·lular una vegada aquestes cèl·lules han mort [Virmani R 2006].
3. Fibroses: son aquelles que mostren elevat component en cèl·lules musculars llises, matriu extracel·lular i per tant, una morfologia homogènia i regular [Slevin M 2006; Krupinski J 2006].



**Figura 7.** Classificació anatomopatològica de plaques arterioscleròtiques avançades de caròtida. A) Placa no-complicada, A1) Fletxes: Cèl·lules inflamatòries; B) Placa complicada, B1) Fletxes llises: Calcificació, Fletxes tallades: Cèl·lules inflamatòries; C) Placa fibrosa, C1) Fletxes: Cèl·lules musculars llises. (Tinció hematoxilina-eosina de plaques obtingudes d'endarterectomia) [Luque A *et al* No publicat].

### 3. Factors de risc vascular

Les malalties vasculars cerebrals a més de la seva elevada incidència, són responsables d'una alta mortalitat i morbiditat, condicionant en molts dels supervivents seqüeles de per vida. Per això, un dels aspectes essencials en l'abordatge de la patologia vascular cerebral i objectiu sanitari de màxima importància es basa en la prevenció, el que exigeix la identificació i control dels factors de risc. Les tècniques d'estudi epidemiològic han permès identificar un gran nombre de factors de risc pel ictus, cosa que reflecteix l'heterogeneïtat d'aquesta síndrome [Martínez-Vila E 2000]. Els factors de risc clàssics es classifiquen com modificables i no modificables [Sacco RL 1997].

#### 3.1 Factors de risc no modificables

Entre els factors de risc no modificables trobem l'**edat**, el **sexe** i els **factors hereditaris**. L'edat és el factor de risc independent més important respecte al ictus. De fet, la incidència d'ictus augmenta més del doble a cada dècada a partir dels 55 anys [Brown RD 1996]. La incidència d'ictus és 1,25 vegades més gran entre els homes, però a causa d'una major esperança de vida de les dones, aquestes presenten un major nombre de morts per ictus a l'any respecte als homes, de fet el ictus és la primera causa de mort a Espanya entre les dones i la segona pels homes [Gil de Castro 2000]. El risc de patir ictus s'incrementa si els pares han patit un abans de l'edat de 55 anys, en el cas d'un home, o de 65 anys si es tracta d'una dona.

#### 3.2 Factors de risc modificables

Entre els principals factors de risc modificables es troben la hipertensió, el tabaquisme, dislipèmia, síndrome metabòlica, *diabetis mellitus* i senderisme.

La **hipertensió** (HTA) és el factor de risc més important tant per la isquèmia com l'hemorràgia cerebral, trobant-se en gairebé el 70% dels pacients amb ictus. El risc d'ictus s'incrementa de manera proporcional amb la pressió arterial, tant en homes com en dones, i en tots els grups d'edat. La HTA provoca disfunció endotelial i inducció de l'expressió de molècules d'adhesió vascular, afavorint l'adhesió de monòcits a la paret vascular, creant un estímul d'inflamació crònic i contribuint d'aquesta manera a la formació de la lesió arterioscleròtica [Mancini GB 1996]. De fet, el dipòsit de lípids en la

paret arterial pot estar afavorit pel increment en l'estrès mecànic i la permeabilitat endotelial que produeix la HTA [Escobar E 2002].

La intolerància hidrocarbonada i la **diabetis mellitus (DM)** s'associen amb un major risc d'ictus isquèmic, existint una relació directa entre el grau d'intolerància a la glucosa i el increment en el risc [Martínez-Vila E 2000]. El malalt diabètic desenvolupa arteriosclerosi de forma accelerada en comparació amb el no diabètic de manera que és un factor de risc de gran importància [Badimon L 2009]. El major risc d'ictus induït per la diabetis es relaciona amb múltiples factors com: increment de la aterogènesi i dels nivells de fibrinogen, factor VII i factor VIII, reducció de l'activitat fibrinolítica, increment de l'agregació i adhesivitat plaquetar, hiperviscositat, disfunció endotelial, etc. [Martínez-Vila E 2000].

Les **dislipèmies** es defineixen com alteracions en les concentracions plasmàtiques de lípids, tant per defecte (hipolipidèmies), com per excés (hiperlipidèmies) que es tradueixen en un augment de les lipoproteïnes circulants, les quals produeixen un augment del colesterol, dels triglicèrids o de tots dos. Diversos estudis han pogut demostrar com el control adequat de la dislipèmia com a factor de risc vascular ha repercutit en una incidència menor d'episodis cerebrovasculars.

El consum de **tabac** incrementa el risc cardiovascular constituint un factor de risc tant per la isquèmia com per l'hemorràgia cerebral, especialment en gent que comença el consum a edats primerenques, i en fumadors severos. Els fumadors passius també tenen un major risc d'ictus, donat que l'exposició passiva al fum de la cigarreta augmenta el risc de progressió de l'arteriosclerosi [Gorelick PB 1999] [www.who.com]. El tabac augmenta els nivells plasmàtics de fibrinogen i altres factors de la coagulació, augmenta l'agregació plaquetar i l'hematòcrit, disminueix els nivells d'HDL-colesterol, augmenta la pressió arterial i lesiona l'endoteli, contribuint a la progressió de l'arteriosclerosi [Martínez-Vila E 2000].

La **síndrome X** o síndrome metabòlica es caracteritza per l'associació d'hipertensió arterial, obesitat, diabetis i hiperglucèmia [Ferreira IJ 2005]. S'associa de forma independent amb una major prevalença d'ictus [Boden-Albala B 2008; Ninomiya JK 2004], un major risc de sofrir ictus isquèmic en el futur [Milionis HJ 2005; Kurl S 2006] i un major

risc de desenvolupar deteriorament cognitiu d'origen vascular [Kalmijn S 2000]. S'ha relacionat amb la presència i progressió de l'arteriosclerosi carotídia [Bonora E 2003], amb l'existència d'infarts lacunars silencis en població sana [Park K 2008] i amb el desenvolupament i complicació de l'arteriosclerosi intracranial simptomàtica [Ovbiagele B 2006].

El **sedentarisme** es comú en els països desenvolupats, més del 60% de la població no es suficientment activa [www.who.com]. Hi ha una significativa relació inversa entre activitat física i risc d'ictus (isquèmic i hemorràgic), tant en homes com en dones. L'exercici físic regular augmenta la sensibilitat a la insulina, redueix l'agregació plaquetar, redueix el pes i la pressió sanguínia, augmenta els nivells de HDL-colesterol [Sacco RL 1997; Gorelick PB 1999], retarda l'evolució de la placa [Hambrecht 1993], millora l'activitat endotelial i produeix un augment de la disponibilitat d'òxid nítric (NO) [Walter C 2004].

### 3.3 Nous factors de risc

Estudis epidemiològics han revelat que els factors de risc clàssics que hem comentat fins ara poden arribar a explicar fins al 90% dels casos, però, nous factors de risc, encara desconeguts, podrien ser importants en la iniciació, progressió o fase aguda d'arteriosclerosi. Durant molts anys, s'ha pensat que diferents agents infecciosos estaven relacionats amb la malaltia. Virus i bacteris, com *Helicobacter pylori*, *cytomegalovirus* o *herpes simplex virus*, han estat proposats, però el microorganisme més estudiat ha estat *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*), ja que és capaç de causar estats d'infecció crònics. Durant els últims 20 anys, diversos estudis han investigat una possible relació entre infecció per *C. pneumoniae* i arteriosclerosi [Watson C 2008, Villegas R 2008].

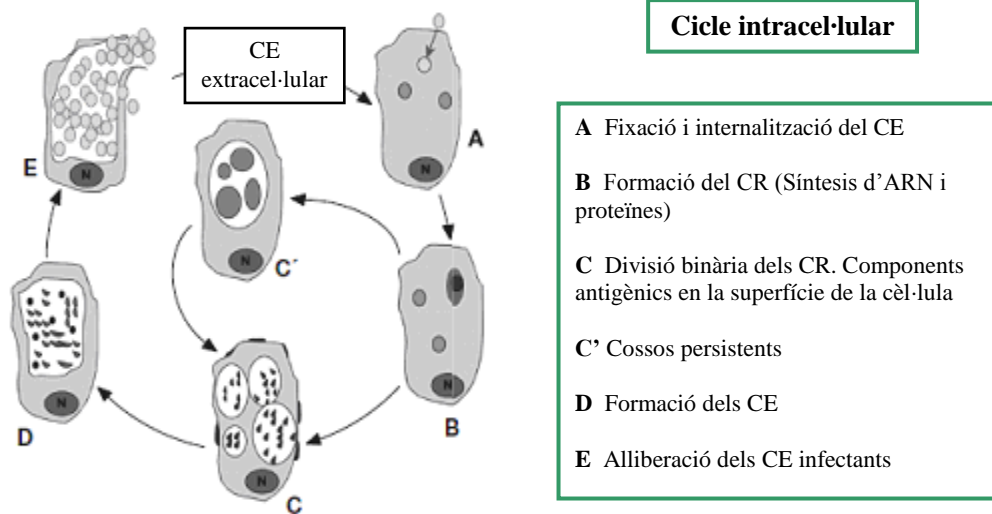
## 4. *Chlamydia pneumoniae*

Històricament, l'ordre *Chlamydiales* inclou la família *Chlamydiaceae*, amb un sol gènere, *Chlamydia*, i quatre espècies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* i *Chlamydia pecorum*. Més recentment, a partir de l'anàlisi de les seqüències dels gens de l'ARNr 16S i 23S, es va comprovar que hi havia diferències entre *C. trachomatis* i el grup *C. psittaci-C. pneumoniae*, el que va portar a dividir aquesta família en dos gèneres diferents: *Chlamydia* i *Chlamydophila*, respectivament [Villegas E 2008].

*Chlamydophila pneumoniae* és un coccobacil gram negatiu de vida intracel·lular obligada a causa de l'absència del sistema regulador d'ATP. És un agent productor de malaltia respiratòria aguda, incloent pneumònia, bronquitis, sinusitis i faringitis. Les últimes investigacions el relacionen amb l'arteriosclerosi, entre d'altres malalties. Aquest organisme va ser aïllat per primera vegada el 1965, de la conjuntiva d'un nen taiwanès durant la vacunació antitracoma [Kuo CC 1986].

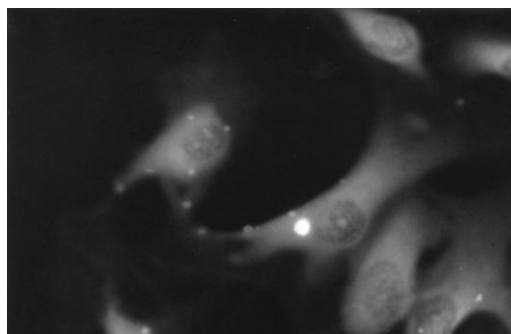
### 4.1 Cicle cel·lular

Durant el seu cicle cel·lular adopta dues morfologies diferents, una forma infecciosa extracel·lular, el cos elemental, i una forma replicativa intracel·lular, el cos reticular. El primer és petit i dens, té una mida entre 0,2 i 0,4µm, i una forma característica de pera. Morfològicament, és diferent dels cossos elementals arrodonits de *C. trachomatis* i *C. psittaci*. No obté nutrients de l'exterior i no té activitat metabòlica i de replicació. Té una paret cel·lular rígida, encara prou laxa com per permetre aquesta forma de pera, gràcies a proteïnes riques en aminoàcids rics en sofre, que formen un entramat dens, que el fa resistent als factors ambientals. El cos reticular és més gran, amb una mida entre 0,6 i 1,2µm. Procedeix de la transformació del cos elemental després d'entrar a la cèl·lula hoste. Aquest obté nutrients del citoplasma de la cèl·lula i es multiplica per divisió binària. Els cossos reticulars són làbils, osmòticament inestables i incapaços d'infectar a altres cèl·lules. El cicle cel·lular s'inicia quan un cos elemental, per la seva zona més aguda, s'uneix a una cèl·lula per un mecanisme del tipus adhesina-receptor (Figura 8A).



**Figura 8.** Cicle cel·lular de *C. pneumoniae*; CE: Cos Elemental, CR: Cos Reticular. Adaptació de Villegas E *et al* [Villegas E 2008].

Penetren en la cèl·lula per endocitosis i es forma un fagosoma, però no un fagolisosoma. És característic de l'ordre de les *Chlamydiales* la seva habilitat per inhibir la fusió lisosomal, per mecanismes no definits, permetent al cos elemental habitar en una vesícula, envoltada d'una membrana protectora, anomenada cos d'inclusió, visible al microscopi òptic (Figura 8B).



**Figura 9.** Cos d'inclusió en cèl·lules HUVEC infectades. Magnificació x400 [Coombes BK 1999].

Llavors, es modifica la membrana externa del cos elemental, desapareixen els aminoàcids rics en sofre i es conformen, funcionalment, les purines. El pas de cos elemental a cos reticular, i viceversa, requereix un cicle intracel·lular de 2-4 dies a *C. pneumoniae*. El cos elemental es transforma en reticular quan penetren metabòlits, com fosfats rics en energia, i aminoàcids, augmentant l'activitat metabòlica. Aquests processos inicials inclouen la síntesi de noves proteïnes, reducció dels enllaços disulfur i l'activació de l'adenosina trifosfatasa. Els cossos reticulars es divideixen de forma binària i incessant, agrupats en el fagosoma (Figura 8C). El cos d'inclusió i la cèl·lula

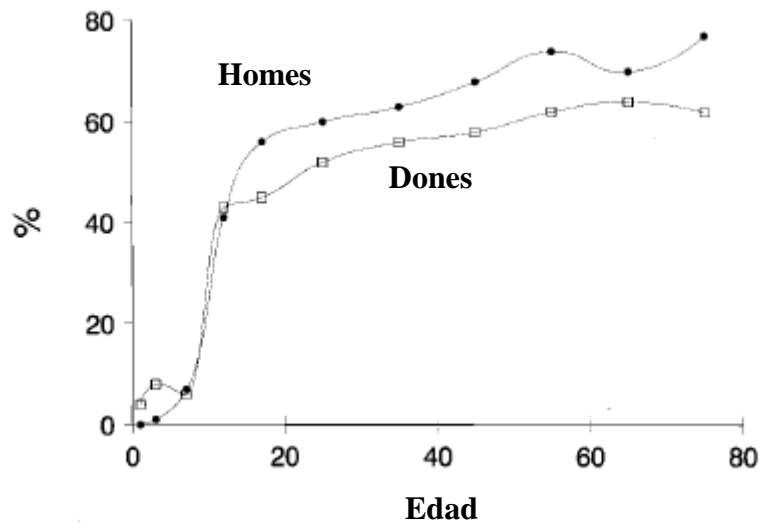


infectada mostren a la superfície antigens derivats del bacteri. Els cossos reticulars maduraran, reduint la seva mida i reorganitzant la seva paret cel·lular, a manera de cossos elementals. En aquest moment, els cossos d'inclusió contenen cossos reticulars madurs, futurs elementals (Figura 8D). L'alliberament dels cossos elementals de les cèl·lules infectades es pot realitzar per lisi cel·lular, extrusió o exocitosi, i es tanca el cicle de desenvolupament permetent la infecció de noves cèl·lules (Figura 8E). Per determinades condicions ambientals, o depenent de l'estat de l'agent infeccios o de la cèl·lula hoste, el cicle es pot aturar, permanent o temporalment, en la fase de cos reticular, que es denomina ara cos persistent (Figura 8C'). Aquests cossos persistents són cossos reticulars més grans, que pel menor nombre de purines, es divideixen lentament. Aquest estat comporta la reducció en l'expressió d'antigens, canvis de la morfologia i la pèrdua de la infectivitat. Es pensa que aquestes formes podrien tenir un paper important en la patogènesi de la infecció crònica, a causa, entre altres, a la presència en aquest estadi de proteïnes de xoc tèrmic (*heat shock proteins* (HSP)). Aquesta fase pot ser temporal i després continuar el cicle. Els cossos persistents podrien ser una adaptació del bacteri a l'hoste per evitar el sistema immunològic, reduir una virulència innecessària o mantenir-se viable en condicions adverses. La seva presència podria tenir, com en el cas de *C. trachomatis*, repercussions diagnòstiques, ja que determinarien falsos negatius en el immunodiagnòstic per l'escassa expressió d'antigens bacterians o en el cultiu cel·lular per la menor viabilitat del cos persistent, i terapèutiques, per una menor resposta al tractament a causa de la pèrdua de purines i la menor expressió de dianes [Villegas E 2008].

## **4.2 Epidemiologia**

La majoria de la informació epidemiològica sobre la infecció de *C. pneumoniae* deriva d'estudis serològics relacionats amb el test de microimmunofluorescència (MIF) específic per *C. pneumoniae*. Aquests estudis indiquen que *C. pneumoniae* és una causa comuna d'infecció a tot el món amb una seroprevalença de més del 50% entre els adults. A més, encara que *C. pneumoniae* va ser reconeguda per primera vegada com a patògen respiratori en 1983, analitzant un banc de sèrums es va revelar que no es tractava d'un nou patògen, sinó que era una causa freqüent d'infecció des d'almenys l'any 1963 [Wang SP 1986, Wang SP 1990, Kanamoto Y 1991, Marton A 1992, Montes M 1992].

#### 4.2.1 Distribució segons edat i sexe



**Figura 10.** Prevalença de *C. pneumoniae* a la població segons edat i sexe [Kuo CC 1995].

La figura 10 mostra la seroprevalença de *C. pneumoniae* respecte l'edat i el sexe en un estudi en sèrums de la població de Seattle. Un tant per cent molt petit de nens, amb edats inferiors a 5 anys tenien evidències d'una infecció passada. La seroprevalença augmenta de forma considerable entre els 5 i 14 anys, i als 20 anys aproximadament al 50% de la gent se li detectaven nivells d'anticossos de *C. pneumoniae*. La seroprevalença continua augmentant amb l'edat arribant a assolir el 75% en edats avançades. Aquests rangs de prevalença existeixen a causa del fet que la primera infecció indueix un temps límit de resposta de 3 a 5 anys, suggerint que la majoria de la gent és infectada i reinfectada al llarg de la seva vida. Pel que fa al sexe, la seroprevalença és aproximadament igual en ambdós casos per sota dels 15 anys però, en adults la seroprevalença en homes és considerablement major que en les dones. De moment no hi ha cap explicació per a això [Kuo CC 1995].

#### 4.3 *Chlamydia pneumoniae*: relació amb aterosclerosi i ictus

Durant els últims 20 anys, diversos estudis han investigat una possible relació entre aterosclerosi i ictus amb la infecció per *C. pneumoniae*. Hi ha evidències que suggereixen que aquest microorganisme podria jugar un paper en tots els estats arterioscleròtics, des de la lesió inflamatòria inicial fins a la ruptura de la placa. *C. pneumoniae* accedeix a la vasculatura durant la inflamació local del tracte respiratori inferior, quan l'organisme es distribueix per tot el cos en les cèl·lules mononuclears

sanguínies. En diferents estudis serològics s'ha relacionat la infecció crònica d'aquesta bactèria amb un increment del risc d'ictus i atacs isquèmics transitoris [Wimmer ML 1996; Cook PJ 1998; Elkind MS 2000; Fagerberg B 1999]. Però, estudis fets mitjançant la tècnica de la reacció en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction (PCR)*) en vasos cerebrals, tant de petit com gran calibre, han mostrat una baixa presència del patogen en el teixit ateromatós [Vink A 2001; Wohlschlaeger J 2005; Voorend M 2008].

#### 4.3.1 Desenvolupament de la lesió arterioscleròtica

Actualment es considera l'aterosclerosi com una malaltia multifactorial. Els factors de risc clàssics com hipertensió, *diabetis mellitus*, tabaquisme o alteracions genètiques, així com d'altres, com per exemple, nivells d'homocisteïna elevats, forces de cisallament o infecció per microorganismes com *C. pneumoniae*, poden portar a una disfunció endotelial estimulando la secreció de citocines proinflamatòries i l'expressió de molècules d'adhesió leucocitàries [Krüll M 1999], que resulten en l'adhesió i migració transendotelial de cèl·lules T i monòcits que es diferencien en macròfags [Molestina RE 1999]. Tot això porta a una resposta inflamatòria dins de la paret arterial (Figura 11).

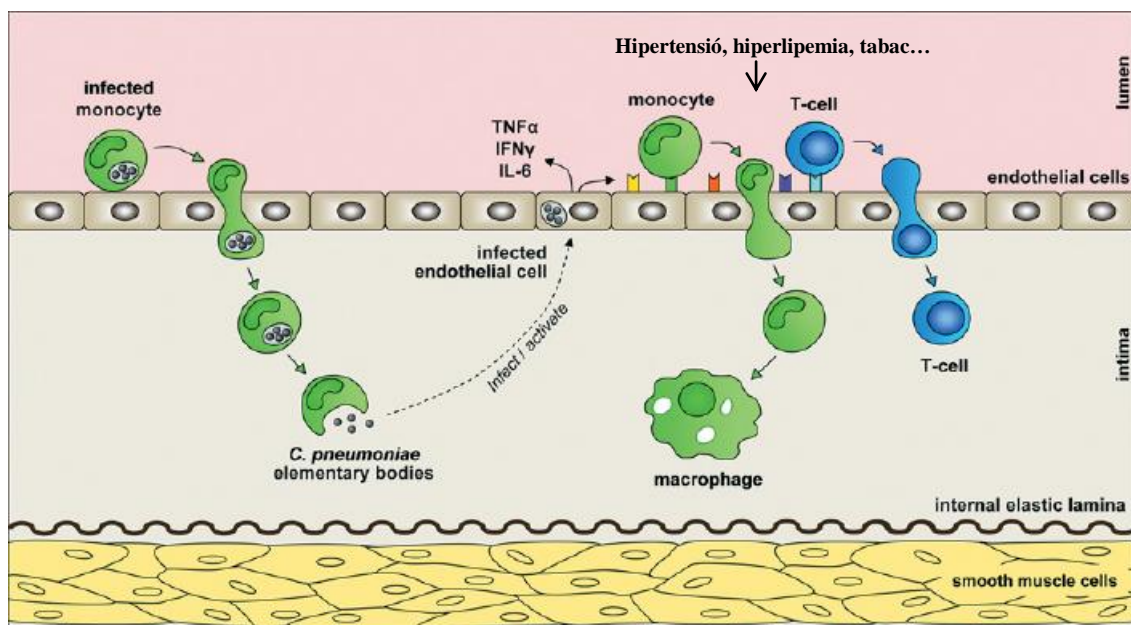
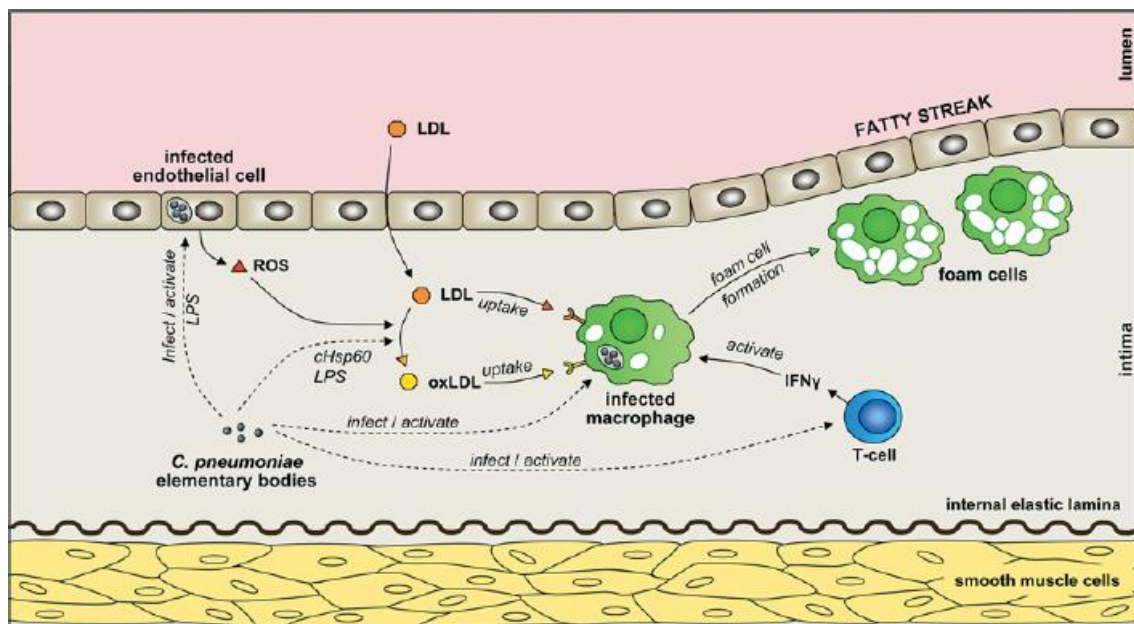


Figura 11. Inflamació com a resultat de dany vascular [Watson C 2008].

Els monòcits es diferencien en macròfags a causa de l'estimulació de lipoproteïnes modificades com LDL agregades (LDLag) o LDL oxidades (LDLox) i per la presència

del factor estimulant de colònies de macròfags (M-CSF), començant a expressar receptors *scavenger* els quals intervenen a la internalització de les LDL modificades. Els lipopolisacàrids (LPS) de *C. pneumoniae* i *Heat Shock Protein 60* (cHsp60) també poden induir l'oxidació de LDLs dins de la neointima [Kalayoglu MV 1999], portant a la formació de les cèl·lules escumoses. També intervenen mecanismes de resposta immunitària. Les cèl·lules T poden activar-se davant la presència d'antígens com LDLag o LDLox, així com ser activades per *C. pneumoniae* provocant la secreció de citocines, com el interferó  $INF\gamma$ , que activen macròfags resultant en una infecció persistent (Figura 12).



**Figura 12.** Formació de la estria grassa [Watson C 2008].

Cèl·lules endotelials infectades per *C. pneumoniae* poden secretar factors de creixement [Coombes 1999;Coombes 2001] els quals, juntament amb citocines i factors de creixement derivats de macròfags infectats i LDLox, estimulen la proliferació de cèl·lules musculars llises i la seva migració des de la mitjana a l'íntima. Les cèl·lules musculars llises secreten molècules de matriu extracel·lular, com fibrina, proteoglicans i col·lagen, que contribueixen a la formació de la coberta fibrosa que cobreix el nucli lipídic que s'està formant per la unió de la càrrega rica en colesterol i les restes cel·lulars procedents de la mort apoptòtica (Figura 13).

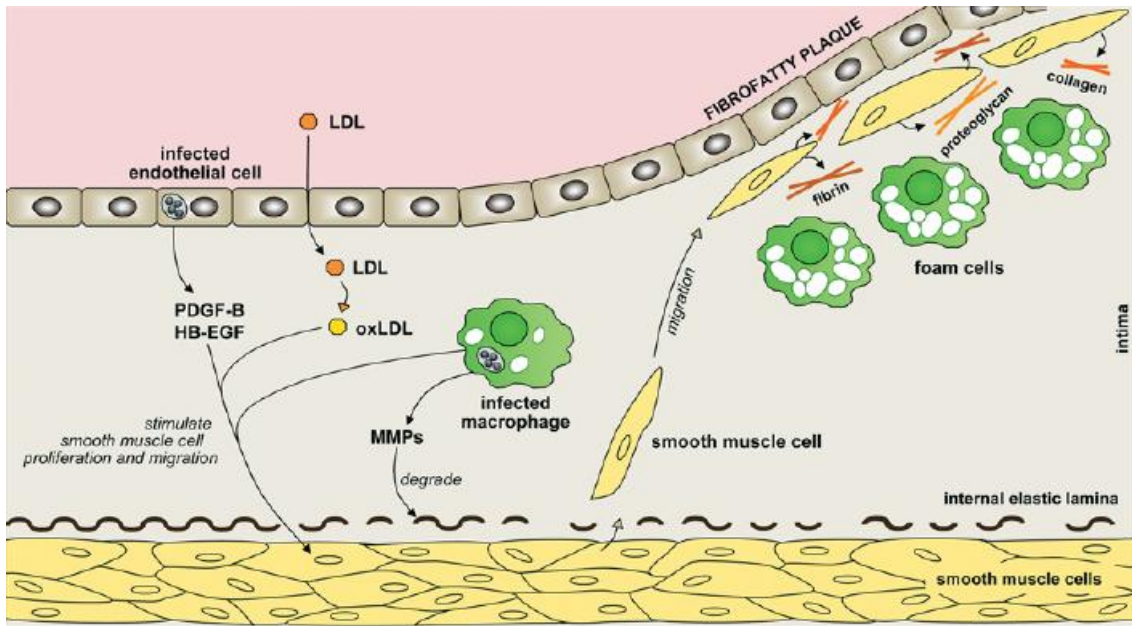


Figura 13. Formació del nucli lipídic [Watson C 2008].

En resposta a cHsp60, macròfags i cèl·lules musculars lisas es produeixen metal·loproteinases [Kol A 1998] les quals degraden la matriu extracel·lular i debiliten la placa [Galis Z 1994]. Cèl·lules endotelials i cèl·lules musculars lisas infectades produeixen factor tissular i molècula inhibidora de l'activació del plasminogen (PAI-1) que contribueixen a un estat procoagulant i poden incrementar la probabilitat de formació de trombe quan es produeix trencament de la coberta fibrosa [Watson C 2008] (Figura 14).

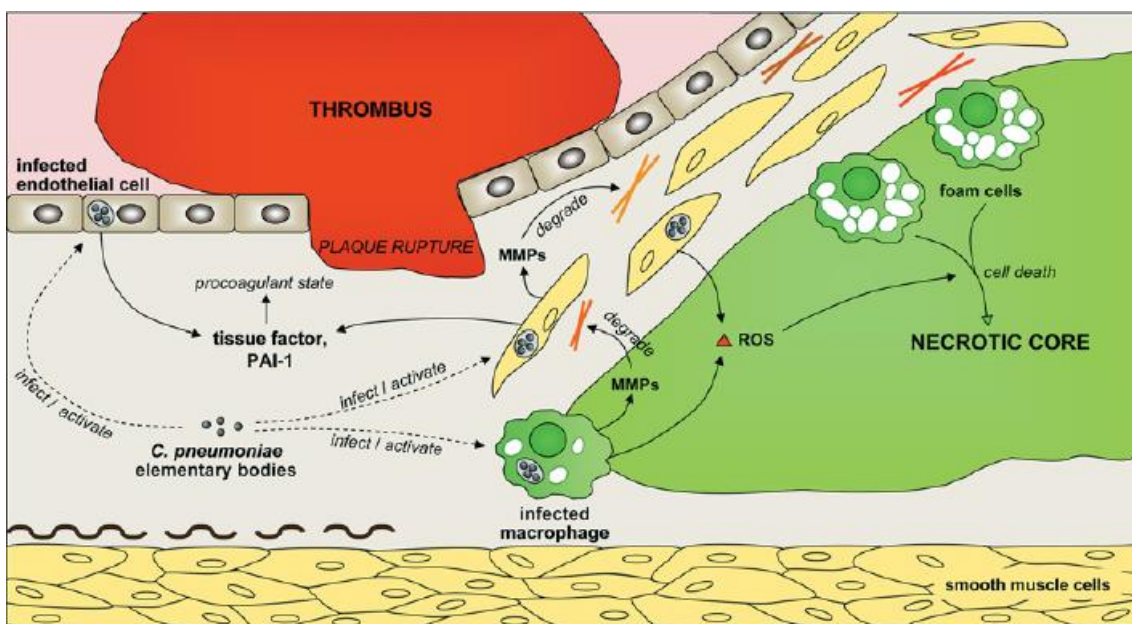


Figura 14. Desestabilització de la placa, ruptura i trombosi [Watson C 2008].

## 4.4 Mètodes per a la detecció de *Chlamydia pneumoniae*

### 4.4.1 Estudis seroepidemiològics

El primer estudi que mostrava una possible associació entre infecció per *C. pneumoniae* i aterosclerosi data de 1988, era un petit estudi de Saikku *et al* a Finlàndia, mostrant com a pacients amb malalties coronàries o infart agut de miocardi tenien nivells d'anticossos enfront *C. pneumoniae* molt més elevats que els controls. Des de llavors s'han fet molts estudis serològics per confirmar aquests resultats [Saikku et al 1988].

S'han fet nombrosos estudis serològics transversals per investigar l'associació entre la infecció per *C. pneumoniae* i diverses malalties cardiovasculars (Taula 1). Podem observar com en l'estudi de Saikku així com en alguns posteriors es troben odds ràtios bastant elevats, per sobre de 2,0, i per tant hi havia una forta correlació [Watson C 2008].

**Taula 1.** Estudis seroepidemiològics transversals.

Year	First author	Cases (n)	Controls (n)	Power	Population source	Age (years)	Follow-up	Case events	Test protocol	Antibody levels	Sample times points	Adj* OR
1988	Saikku	40	41	25 %	AMI admissions (controls healthy)	45	4 weeks	MI/death	MIF and EIA	IgA ≥ 32 and/or IgG ≥ 128	0 and 4 weeks	1 <b>10.1</b>
1995	Mendall	100	64	14 %	CAD clinic (controls healthy)	45-65	0 weeks	CAD	MIF	IgG ≥ 64	0 weeks	4 <b>7.4</b>
1988	Saikku	30	41	23 %	AP admissions (controls healthy)	45	4 weeks	CAD	MIF	IgA ≥ 32 and/or IgG ≥ 128	0 and 4 weeks	1 <b>4.9</b>
1999	Markus	983	—	?	Healthy	53	0 weeks	Early athero.	MIF	IgA ≥ 16	0 weeks	3 4.0
1997	Blazi	61	61	45 %	AMI admission (controls healthy)	53	4 weeks	MI/death	MIF	IgG ≥ 16	0 and 4 weeks	2 <b>3.2</b>
2006	Elkind	239	428	97 %	First stroke (controls healthy)	69	0 weeks	First stroke	MIF	IgA ≥ 16	0 weeks	4 <b>1.5</b>
2006	Elkind	239	428	94 %	First stroke (controls healthy)	69	0 weeks	First stroke	MIF	IgG ≥ 32	0 weeks	4 1.2

L'any 2003 es va fer una metanàlisi calculant el odds ràtio a partir de 29 estudis transversals (Taula 2). Una observació interessant que s'extreia era que els odds ràtios dels estudis transversals per a pacients amb esdeveniments aguts, com infart de miocardi o mort, eren més grans que els dels pacients amb condicions cròniques. Això suggeria que, encara que *C. pneumoniae* pugui jugar un paper en la aterosclerosi, una infecció activa recent de *C. pneumoniae* (assumida per alts nivells d'anticossos) podria ser un factor important a provocar un esdeveniment cardiovascular agut [Bloemenkamp DGM 2003].

**Taula 2.** Metanàlisi de 29 estudis seroepidemiològics transversals.

Year	First author	Events	Cases (n)	Controls (n)	ORs	
					Chronic events	Acute events
1999	Kaykov	MI/AP	130	98		<b>6.1</b>
1999	Kontula	MI/CAD	28	68		<b>5.7</b>
1997	Thomas	MI/CAD	83	93		<b>5.4</b>
1998	Cook	Stroke/TIA	176	1518		<b>3.8</b>
1999	Komer	Stenosis	275	65	<b>3.4</b>	
1997	Blasi	MI	61	61		<b>3.2</b>
2000	Elkind	Stroke	89	89		2.6
1999	Sessa	AP/MI	80	50		<b>2.5</b>
1998	Miyashita	MI	160	160		<b>2.4</b>
1999	Sessa	MI	98	50		<b>2.3</b>
1998	Gabriel	MI	146	102		<b>1.9</b>
1999	Shimada	Stenosis	123	29	2.3	
2000	Romeo	CAD	54	49	2.0	
2000	Ammann	CAD	21	42	2.0	
2000	Jantos	Stenosis	489	263	<b>1.8</b>	
1998	Boman	CAD	101	52	1.7	
1998	Anderson	MI	112	197		1.6
1998	Gabriel	AP	136	102	1.5	
1999	Altman	CAD/PAD	159	203	1.4	
2000	Romeo	CAD	56	49	1.3	
1999	Leowattana	CAD	243	115	1.2	
1999	Cellesi	Stenosis	150	56	1.2	
1998	Anderson	Stenosis	219	126	1.1	
2000	Hoffmeister	Stenosis	312	479	1.0	
1997	Kark	MI	302	488		0.9
1999	Cellesi	Stenosis	150	49	0.8	
1999	Abdelmouttaleb	Stenosis	142	74	0.8	
1999	Nobel	MI/AP	58	58		0.7
				Weighted average	1.6	2.7
				Difference:		<b>1.1 (P = 0.03)</b>

Els estudis transversals no són capaços de determinar una relació causal entre exposició a *C. pneumoniae* i conseqüències arterioscleròtiques, encara que els dos s'observin al mateix temps, ja que només es basen en una sola lectura. En canvi, els estudis prospectius sí són capaços de donar-nos aquesta relació causal examinant l'estat d'infecció durant diversos anys. A més, són considerats millors pel fet que es fan controls més estrictes i un ajust de les variables. En aquests estudis observem odds ràtios petits (Taula 3) [Watson 2008]. De fet, si observem el metanàlisi que s'ha fet d'estudis prospectius, es pot observar com hi ha una associació molt feble, i fins i tot nul·la entre un augment dels anticossos contra *C. pneumoniae* i esdeveniments cardiovasculars (Taula 4) [Danesh J 2000, 2002].

Taula 3. Estudis seroepidemiològics prospectius.

Year	First author	Cases (n)	Controls (n)	Power	Population source	Age (years)	Follow-up	Case events	Test protocol	Antibody levels	Sample times points	Adj* OR	
2000	Siscovick	212	404	53 %	General population	> 65	3.5 years	MI/death	MIF	IgG ≥ 1024	Baseline (< 2 years pre-)	3	4.2
1992	Saikkü	102	102	52 %	Dyslipidaemia	40-55	5 years	MI/death	MIF and IA	IgA ≥ 64 and IC present	Baseline & 3-6mths pre-	3	2.6
2002	Danesh	325	806	100 %	Healthy	52	16 years	MI/death	TRF	IgA (top third of controls)	Baseline	4	2.2
1992	Saikkü	102	102	52 %	Dyslipidaemia	40-55	5 years	MI/death	MIF and IA	IgG ≥ 128 and IC present	3-6mths pre-	3	2.2
2005	Arcari	161	161	73 %	AMI admissions (controls healthy)	40	10 years	MI/death	MIF	IgA ≥ 64	Baseline (< 5 years pre-)	3	2.1
2003	Huittinen	172	172	80 %	Dyslipidaemia	48	8.5 years	MI/death	MIF	IgA ≥ 40	Baseline & 3-6mths pre-	2	2.0
2002	Danesh	502	1005	100 %	General population	52	16 years	MI/death	TRF	IgA (top third of controls)	Baseline	4	1.8
2005	Arcari	300	300	73 %	AMI admissions (controls healthy)	40	10 years	MI/death	MIF	IgA ≥ 64	Baseline	3	1.7
2005	Arcari	161	161	73 %	AMI admissions (controls healthy)	40	10 years	MI/death	MIF	IgG ≥ 256	Baseline (< 5 years pre-)	3	1.8
2000	Danesh	496	1026	100 %	General population	40-59	16 years	MI/death	TRF	IgG (top third of controls)	Baseline	4	1.2
2000	Mayr	826	-	100 %	Healthy	40-79	5 years	Early athero.	ELISA	IgA (various)	Baseline	4	1.1
2007	Westerhout	295	295	96 %	ACS patients	71	4 weeks	MI/death	MIF	IgA ≥ 16	Baseline	3	1.4
2007	Westerhout	138	138	76 %	ACS patients	75	1 year	Death	MIF	IgA ≥ 16	Baseline	3	1.3
1999	Ridker	343	343	99 %	Healthy	57	12 years	MI/death	MIF	IgG (all titre bands)	Baseline	3	1.0
2007	Westerhout	295	295	96 %	ACS patients	71	4 weeks	MI/death	MIF	IgG ≥ 32	Baseline	3	0.7
2007	Westerhout	138	138	76 %	ACS patients	75	1 year	Death	MIF	IgG ≥ 32	Baseline	3	0.6

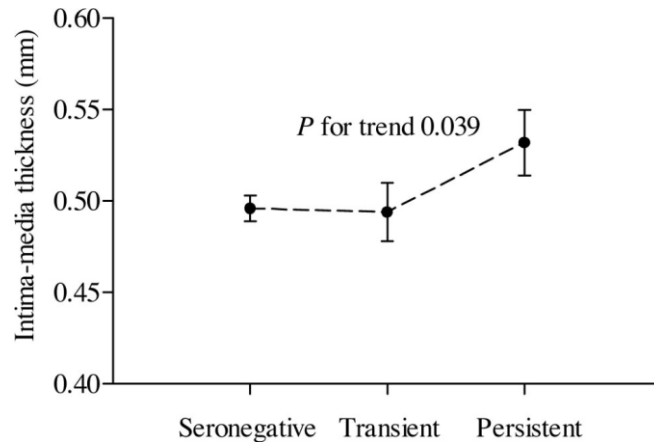
Taula 4. Metanàlisi d'estudis prospectius.

Year	First author	Cases (n)	Controls (n)	Power	Population source	Age (years)	Follow-up	Case events	Test protocol	Antibody levels	Sample times points	Adj* OR	
2002	Danesh	2283†	-	-	Varied	54	11 years‡	MI/death	Various	IgA various	Various	3	1.3
2003	Bloemenkamp	3070†	7204†	-	Varied	-	Varied	MI/death	Various	Various	Various	-	1.1
2000	Danesh	3169†	-	-	Varied	56	10 years‡	MI/death	Various	IgG various	Various	3	1.2

#### 4.4.1.1 Problemes dels estudis seroepidemiològics

La majoria d'estudis seroepidemiològics s'han realitzat en poblacions d'edats avançades, el que fa que la correlació entre nivells d'anticossos de *C. pneumoniae* amb estat d'infecció sigui problemàtic a causa de l'alta prevalença de casos seropositius per *C. pneumoniae* en aquest grup d'edat. A més, en les poblacions d'edats avançades, el paper de *C. pneumoniae* es pot investigar només a les últimes conseqüències clíniques d'aterosclerosi, més que el seu paper causal en el inici del procés arterioscleròtic. Per abordar aquesta qüestió, Volanen *et al* van realitzar un estudi prospectiu a 199 nens sans d'edats compreses entre 7 i 11 anys. Es va observar com els nens amb nivells persistents d'IgG i/o IgA seropositius per *C. pneumoniae* tenien un índex íntima mitja (IMT) (mesurada per ultrasons) de l'aorta significativament superior a l'edat de 11 anys comparat amb nens *C. pneumoniae*-seronegatiu i nens que havien tingut algun estat transitori positiu, donant evidències d'un possible paper de la infecció persistent de *C. pneumoniae* en el inici de l'aterosclerosi (Figura 15) [Volanen I 2006].





**Figura 15.** *Intima-media thickness* de l'aorta de nens sans vs els nivells d'anticossos front *C. pneumoniae*

Diversos estudis han demostrat com la relació entre infecció per *C. pneumoniae* i malalties cardiovasculars depèn del mètode escollit per mesurar els nivells d'anticossos enfront *C. pneumoniae*. La majoria d'estudis seroepidemiològics usen el test de microimmunofluorescència ja que està considerat l'únic test serològic acceptat. No obstant, ha estat criticat a causa de la subjectivitat per a la interpretació dels resultats. La reproductibilitat del MIF entre 14 laboratoris va ser examinada testant 22 sèrums idèntics, resultant en un 60-80% de concordança amb els resultats del laboratori de referència. A més, existeixen nombroses variacions interlaboratori, factors com el tipus, puresa i concentració de l'antigen, així com el procediment de l'assaig i el tècnic que el realitza porta al desacord entre els tests [Hoymans VY 2003, Schumacher A 2001, Maraha B 2004]. Una publicació de 2001 sobre les guies a seguir per estandarditzar els mètodes de diagnòstic, va deixar clar com la majoria dels estudis seroepidemiològics estaven limitats per l'ús d'un sol punt en el temps de la mesura d'anticossos IgG o IgA per definir infecció crònica. Altres estudis mostraven anàlisi a més d'un temps, però dels que ho feien a 2 temps tampoc es pot descartar que es tracti d'una reinfecció en lloc de definir-ho com a infecció crònica [Dowell SF 2001]. Només Volanen *et al* van fer múltiples lectures dels pacients, el que donava més pes al diagnòstic d'infecció crònica en subjectes que donaven positiu de manera persistent [Volanen I 2006]. A més, com hem vist en els metanàlisis realitzats, encara que els estudis inicials donaven positiu, els últims, amb dissenys prospectius i ajustant els factors de risc cardiovasculars, mostren una associació dèbil o negativa entre seropositius per *C. pneumoniae* i aterosclerosi.

#### 4.4.2 Detecció d'ADN de *Chlamydia pneumoniae* en cèl·lules mononuclears circulants

La detecció de *C.pneumoniae* en les cèl·lules mononuclears circulants es considera un indicador d'infecció aguda, de forma que al resoldre's la infecció ja no es detectaria. Però, hem de tenir en compte que la bactèria és capaç d'emmagatzemar-se i romandre dins dels monòcits en forma d'estat persistent.

Estudis recents han avaluat si hi ha una associació entre la presència d'ADN de *C. pneumoniae* en cèl·lules mononuclears circulants (PBMCs) i aterosclerosi. El 1988 Boman *et al* van trobar presència d'ADN de *C. pneumoniae* detectat per Nested PCR en PBMCs en un 59% dels pacients amb malaltia cardiovascular i en un 46% dels controls (de mitjana edat), el que portava a especular que l'anàlisi de PBMC podria ser una eina més poderosa que els anàlisis serològics per a la identificació d'infecció per *C. pneumoniae* [Boman J 1998].

Estudis posteriors van estudiar la seva presència en pacients amb malalties cardiovasculars i en controls. En aquests estudis, es van trobar rangs de prevalença del 4-87% en pacients i del 0-50% en els controls (Taula 5) [Watson 2008].

**Taula 5.** Estudis de la presència de ADN de *C.pneumoniae* en PBMCs

Year	First author	Type of cases	Cases (n)	Type of controls	Controls (n)	Power	Blood (ml)	Type of PCR	PCR target	DNA in PBMCs	
										Cases	Controls
1998	Boman	Coronary angiography	101	Blood donors	52	100%	4	nPCR	MOMP	59%	46%
1999	Wong	CAD	913	No CAD	292	90%	4-5	nPCR	MOMP	9%	7%
2000	Kaul	CAD	28	Blood donors	19	30%	20-30	t-nPCR	MOMP	46%	26%
2000	Berger	Vascular surgery	60	'Normal' check-up patients	51	34%	4	qPCR	16S rRNA	20%	14%
2001	Sessa	Unstable angina	36	Healthy controls	42	7%	5	hemi-nPCR	psstI	17%	5%
2001	Sessa	AMI	57	Healthy controls	42	7%	5	hemi-nPCR	psstI	32%	5%
2001	Maraha	Aortic Aneurysm	88	Healthy controls	88	33%	?	?	16S rRNA	20%	9%
2001	Smieja	Coronary angiography or angioplasty	187	Normal angiogram	21	6%	8	nPCR	MOMP	12%	10%
2003	Sessa	Carotid endarterectomy: symptomatic	18	Carotid endarterectomy: asymptomatic	33	43%	5	hemi-nPCR	psstI	72%	30%
2003	Tsirpanlis	Haemodialysis patients with athero.	57	Haemodialysis patients without athero.	73	7%	15	nPCR	RNA pol B	12%	3%
2004	Apfalter	Symptomatic cerebrovascular athero.	45	Asymptomatic cerebrovascular athero.	30	7%	6	RT-PCR	MOMP	4%	7%
2004	Aso	ACS (AMI/AP)	88	No CAD	88	100%	6	t-nPCR	MOMP	52%	50%
2004	Aso	Stable CAD	164	No CAD	88	100%	6	t-nPCR	MOMP	50%	50%
2005	Podsiadly	Atheroma	188	No atheroma	154	99%	4	t-nPCR	MOMP	15%	25%
2007	Wang	Multivessel CAD	149	No multivessel CAD	120	13%	?	RT-PCR	MOMP	9%	3%

Una revisió sistemàtica de 2002 va calcular un pool de prevalença del 14,3% en pacients amb malaltia cardiovascular comparat amb un 8,5% en els controls, amb un Odds ràtio de 2,03 [Smieja M 2002].

4.4.2.1 Problemes dels estudis d'ADN

Molt pocs d'aquests estudis realitzats van ajustar les variables respecte els factors de risc arterioscleròtic. A més, en els casos en que es van fer controls, a aquests no se'ls va realitzar cap *screening* d'infecció. Les diferències de rangs de prevalença que es donen entre els diferents estudis no se sap si són per les diferències que existeixen entre la població o per les diferències en els mètodes d'extracció d'ADN i de PCR. A més, no hi ha un mètode estandarditzat de PCR per *C. pneumoniae*, i existeix poca reproductibilitat interlaboratori.

La detecció de *C.pneumoniae* en les cèl·lules mononuclears circulants no necessàriament implica que hi hagi infecció vascular. Diversos estudis han intentat demostrar aquesta correlació. Es troben resultats diferents, encara que es troba una prevalença moderada a alta de *C. pneumoniae* en les plaques (> 30%), 94-100% d'aquests pacients amb resultats positius per a la presència de *C. pneumoniae* a les plaques se'ls detectava *C. pneumoniae* en les cèl·lules mononuclears circulants. També hi havia una prevalença moderada a alta (> 40%) d'ADN de *C. pneumoniae* en les cèl·lules mononuclears circulants. En aquells pacients que van donar positiu per *C. pneumoniae* en les cèl·lules circulants, d'un 71-93% d'ells se'ls hi detectava també presència de *C. pneumoniae* en les seves plaques. Però, fins que no s'estableixi un mètode estandarditzat per a l'extracció d'ADN i per l'anàlisi per PCR, la detecció d'ADN de *C. pneumoniae* en les cèl·lules mononuclears circulants no es podrà considerar un marcador d'infecció activa [Watson 2008].

**Taula 6.** Estudis de detecció de *C.pneumoniae* en ADN de PBMCs i plaques ateroscleròtiques.

Reference	Year	First author	Artery sampled	PBMC+	plaque+	plaque + (PBMC+)	PBMC + (plaque+)
[152]	1999	Blasi	Abdominal aorta	46 % (19/41)	41 % (17/41)	84 % (16/19)	94 % (16/17)
[34]	2000	Berger	Carotid/abdominal aorta/peripheral	20 % (12/60)	20 % (12/60)	42 % (5/12)	42 % (5/12)
[156]	2002	Prager	Carotid	87 % (40/46)	83 % (38/46)	93 % (37/40)	97 % (37/38)
[82]	2003	Sessa	Carotid	45 % (23/51)	35 % (18/51)	78 % (18/23)	100 % (18/18)
[149]	2004	Apfalter	Carotid	4 % (2/45)	0 % (0/45)	0 % (0/2)	0 % (0/0)
[154]	2005	Cochrane	Carotid	5 % (2/43)	33 % (18/54)	0 % (0/2)	0 % (0/18)
[155]	2007	Sessa	Carotid	70 % (21/30)	53 % (16/30)	76 % (16/21)	100 % (16/16)
[155]	2007	Sessa	Carotid	47 % (14/30)	33 % (10/30)	71 % (10/14)	100 % (10/10)

#### 4.4.3 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* en lesions arterioscleròtiques

Per determinar la presència d'infecció per *C. pneumoniae* en teixit arterioscleròtic s'han utilitzat nombroses tècniques al llarg dels anys. Entre elles la microscòpia electrònica, però la seva interpretació no era convincent. També s'han realitzat tècniques immunohistoquímiques però, diversos estudis han demostrat com donava lloc a falsos positius, per exemple s'atribuïa com a positiu al que realment eren microcalcificacions. La immunohistoquímica dóna reaccions creuades entre anticossos anti-*C. pneumoniae* i proteïnes no clamidials a la paret del vas produint senyals no específiques. La tècnica de PCR sembla ser la més segura i indicada per detectar presència de *C. pneumoniae*. Encara que en aquests anys també hi ha hagut molts falsos positius, a causa dels problemes de contaminació i la falta de controls positius. Estudis de les mateixes mostres van donar una baixa reproductibilitat de resultats entre laboratoris, i fins i tot en fer duplicats o triplicats en el mateix laboratori. Una segona etapa de PCR, Nested PCR, s'ha inclòs per augmentar la sensibilitat de la tècnica, però cal tenir en compte que també poden augmentar els problemes de contaminació. Entre tots els estudis realitzats aquests anys es poden trobar resultats des del 0 fins al 100% de positius en plaques arterioscleròtiques sent, igual que passava en els estudis serològics, molt baixa la seva presència en els estudis dels darrers anys en els quals les tècniques i els controls realitzats són molt més estrictes [Ieven, MM 2005, Boman J 2002].

En una revisió del 2002 sobre *C. pneumoniae* en teixit ateromatós es va fer una relació dels estudis que s'havien fet fins al moment en diferents mostres arterioscleròtiques i amb diferents mètodes, tenint en compte els estudis que havien realitzat l'anàlisi com a mínim amb dos mètodes diferents i veient quin grau de concordança hi havia entre ells en els resultats [Boman J 2002]. La prevalença de *C. pneumoniae* en teixit vascular ateromatós va sortir d'aproximadament un 15%. Aquest tant per cent podria ser una estimació a la baixa sobre la veritable prevalença, però també podria ser una sobreestimació com a resultat de la poca validació dels mètodes usats en la majoria dels estudis. A més, excepte, en alguns casos, els estudis que havien inclòs controls indicaven que la presència de *C. pneumoniae* en les lesions arterioscleròtiques era més freqüent que en el teixit normal, no arterioscleròtic, però l'elecció del control en aquests estudis també ha estat criticat.

Taula 7. Detecció de *C.pneumoniae* en mostres de teixit ateromatós

Study	Yr	No. of specimens	Type of tissue <sup>a</sup>	Results [no. positive/total no. (%)] for:						No. analyzed by two Cpn test <sup>c</sup>	No. positive by two Cpn test <sup>c</sup>
				ICC genus antibody	ICC species antibody	PCR	Culture	EM	ISH		
Shor et al. (128)	1992	7	Coronary	5/7 (71%)	5/7 (71%)	ND <sup>b</sup>	ND	7/7 (100%)	ND	0	0
Kuo et al. (71)	1993	36	Coronary	15/36 (42%)	15/36 (42%)	13/30 (43%)	0/36 (0%)	6/21 (29%)	ND	30	8
Kuo et al. (72)	1993	21	Aorta	7/21 (33%)	7/21 (33%)	ND	ND	ND	ND	0	0
Kuo et al. (73)	1995	18	Coronary	7/18 (39%)	5/18 (28%)	3/18 (17%)	ND	ND	ND	18	2
Campbell et al. (17)	1995	38	Coronary	17/38 (45%)	17/38 (45%)	12/38 (32%)	ND	2/2 (100%)	ND	38	9
Grayson et al. (43)	1995	61	Carotid	36/61 (59%)	10/10 (100%)	8/30 (27%)	0/4 (0%)	ND	ND	(10)	(6)
Cng et al. (102)	1996	43	Arteries	ND	3/12 (25%)	19/43 (44%)	ND	ND	ND	12	3
Weiss et al. (144)	1996	80	Coronary	ND	ND	1/56 (2%)	0/58 (0%)	0/22 (0%)	ND	56	0
Muhlestein et al. (94)	1996	90	Coronary	71/90 (79%)	ND	ND	ND	3/5 (60%)	ND	0	0
Blasi et al. (9)	1996	51	Aorta	ND	ND	26/51 (51%)	ND	ND	ND	0	0
Ramirez et al. (113)	1996	10	Coronary	5/10 (50%)	5/10 (50%)	5/10 (50%)	1/10 (10%)	3/10 (30%)	1/10 (10%)	10	5
Juvonen et al. (65)	1997	12	Aorta	12/12 (100%)	8/12 (67%)	6/6 (100%)	0/3 (0%)	3/4 (75%)	ND	6	6
Juvonen et al. (66)	1997	17	AVS	15/17 (88%)	9/17 (53%)	3/17 (18%)	ND	2/3 (67%)	ND	17	1
Jackson et al. (58)	1997	57	Coronary	11/57 (19%)	8/57 (14%)	9/57 (16%)	ND	ND	ND	57	1
Jackson et al. (59)	1997	25	Carotid	8/16 (50%)	ND	6/25 (24%)	1/25 (4%)	ND	ND	25	0
Kuo et al. (74)	1997	39	Periph	8/20 (40%)	ND	5/39 (13%)	0/26 (0%)	ND	ND	26	0
Maass et al. (82)	1997	61	Carotid	ND	ND	9/61 (15%)	ND	ND	ND	0	0
Chiu et al. (19)	1997	76	Carotid	30/76 (39%)	41/76 (54%)	ND	ND	ND	ND	0	0
Nyström-Rosander et al. (100)	1997	39	AVS	ND	ND	19/39 (49%)	ND	1/1 (100%)	ND	0	1
Maass et al. (83)	1998	70	Coronary	ND	ND	21/70 (30%)	11/70 (16%)	ND	ND	0	11
Yamashita et al. (151)	1998	20	Carotid	11/20 (55%)	11/20 (55%)	ND	ND	ND	ND	0	0
Petersen et al. (112)	1998	40	Aorta	ND	ND	14/40 (35%)	ND	ND	ND	0	0
Lindholt et al. (80)	1998	124	Aorta	ND	ND	0/124 (0%)	ND	ND	ND	0	0
Paterson et al. (107)	1998	49	Carotid/ coronary	ND	ND	0/49 (0%)	ND	ND	ND	0	0
Shor et al. (129)	1998	35	Various	3/7 (43%)	ND	15/35 (43%)	ND	11/22 (50%)	ND	0	0
Taylor-Robinson et al. (133)	1998	117	Various	ND	ND	17/117 (15%)	ND	ND	ND	0	0
Davidson et al. (25)	1998	60	Carotid	20/60 (33%)	2/3 (67%)	14/60 (23%)	ND	ND	ND	(3)	(2)
Andreasen et al. (3)	1998	23	AVS	ND	ND	0/23 (0%)	ND	ND	ND	0	0
Ouchi et al. (104)	1998	51	Coronary/ iliac	18/50 (36%)	18/50 (36%)	20/51 (39%)	0/24 (0%)	ND	ND	50	12
Maass et al. (84)	1998	158	Coronary	ND	ND	34/158 (22%)	ND	ND	ND	0	0
Maass et al. (85)	1998	238	Arteries	ND	ND	51/238 (21%)	ND	ND	ND	0	0
Wong et al. (147)	1999	68	Artery/vein	ND	ND	26/68 (38%)	ND	ND	ND	0	0
Bartels et al. (6)	1999	38	Vein	ND	ND	8/32 (25%)	5/32 (16%)	ND	ND	32	5
Nadrchal et al. (97)	1999	43	Carotid/aorta	ND	ND	11/43 (26%)	ND	ND	ND	0	0
Thomas et al. (138)	1999	187	Coronary	ND	ND	68/187 (36%)	ND	ND	ND	0	0
Blasi et al. (32)	1999	30	Carotid	ND	ND	18/30 (60%)	ND	ND	ND	0	0
Janus et al. (64)	1999	50	Coronary	ND	ND	4/50 (8%)	ND	ND	0/50 (0%)	0	0
Bartels et al. (7)	2000	125	Coronary/ vein grafts	ND	ND	23/125 (18%)	12/125 (10%)	ND	ND	125	12
Apfalder et al. (4)	2000	38	Various	ND	ND	ND	3/38 (8%)	ND	ND	0	0
Berger et al. (8)	2000	130	Various	ND	ND	33/130 (25%)	ND	ND	ND	0	0
Gibbs et al. (38)	2000	98	Carotid	ND	ND	25/98 (26%)	ND	ND	ND	0	0
Farsak et al. (33)	2000	46	Various	ND	ND	12/46 (26%)	ND	ND	ND	0	0
Ericson et al. (30)	2000	60	Coronary	37/60 (62%)	38/56 (68%)	ND	ND	ND	ND	0	0
No. analyzed		2,679		676	443	2,294	451	97	60	502	76
No. positive				336	202	558	33	38	1		15.14%
% positive				49.7%	45.6%	24.32%	7.32%	39.18%	1.67%		

<sup>a</sup> AVS, aortic valve sclerosis.

<sup>b</sup> ND, not done.

Parentheses indicate that the number of specimens analyzed was biased. The values in parentheses are numbers of samples that were prescreened and positive for an ICC genus antibody.

## 5. Marcadors d'hipòxia, inflamació i angiogènesi

### 5.1 Hipòxia

Quan es desenvolupa la lesió arterioscleròtica, augmenta la mida de la paret arterial debilitant-se la capacitat de difusió de l'oxigen. Al mateix temps, el consum d'oxigen augmenta podent tenir lloc un desequilibri energètic. Aquests canvis metabòlics locals resulten en la progressió de l'aterosclerosi, creixement de la placa i remodelament, amb la formació d'un nucli necròtic. S'ha demostrat l'aparició de dany produït per hipòxia en plaques arterioscleròtiques en models animals [Bjornheden, T.1999]. El factor de transcripció més implicat en la resposta adaptativa a hipòxia és el factor induïble per hipòxia-1 (HIF-1). Es tracta d'un heterodímer format per dos subunitats, HIF-1 $\alpha$  i HIF-1 $\beta$ .



**Figura 16.** Representació 3D de HIF-1

Les dues proteïnes s'expressen de forma constitutiva, però la subunitat  $\alpha$  és degradada ràpidament per el sistema proteosomal 28S sota condicions de normòxia [Huang LE 1998]. Sota condicions d'hipòxia s'inhibeix la degradació de HIF-1 $\alpha$ , permetent a la proteïna acumular-se a la cèl·lula, heterodimeritzar, translocar-se al nucli i activar la transcripció gènica [Schumacker P 2005]. S'ha demostrat com la hipòxia no és l'únic estímul que incrementa els nivells de HIF-1 $\alpha$ . En condicions de normòxia moltes citoquines i factors de creixement activadors de receptors tipus tirosina quinasa són també capaços d'induir HIF-1 $\alpha$ , repercutint sobre un increment en els nivells d'aquest factor de transcripció. Entre aquests s'inclouen el factor de creixement similar a la insulina-2 (IGF-2), el factor de creixement transformant- $\alpha$  (TGF $\alpha$ ), citoquines pro-inflamatòries com la interleuquina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) i el factor de necrosi tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [Hellwig-Burgel T 1999; Thornton RD 2000; Frantz S 2008].

La identificació de gens que s'activen per HIF-1 s'ha incrementat considerablement. Les proteïnes dels molts d'aquests gens participen en nombroses funcions cel·lulars

dirigides a afavorir l'oxigenació tissular, metabolisme energètic, eritropoiesis, proliferació i viabilitat cel·lular, remodelament vascular i apoptosi. HIF-1 és un factor de transcripció clau per a la inducció de factors angiogènics en condicions d'hipòxia [Sano M 2007], com per exemple l'activació del factor de creixement endotelial vascular (VEGF), que és un dels gens més importants relacionats amb el procés d'angiogènesi.

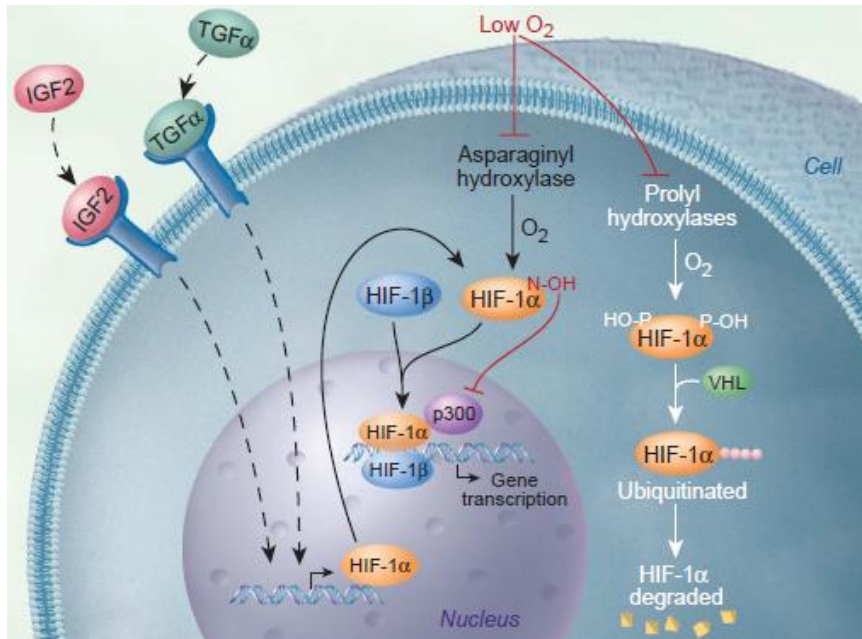


Figura 17. Control cel·lular de HIF-1 [Marx J 2004]

La hipòxia és un fet característic que es produeix en el microambient d'un teixit durant una infecció bacteriana. Reaccions inflamatòries front infeccions bacterianes normalment redueixen l'oxigenació del teixit i indueixen una resposta cel·lular front la hipòxia [L'Her E 2001; Kouri J 2004]. Estudis recents mostren com *C. pneumoniae* interfereix directament en la regulació de HIF-1α de les cèl·lules hoste durant la replicació intracel·lular en condicions d'hipòxia [Rupp J 2007]. Sembla que HIF-1α està implicat, directa o indirectament, en la regulació de molècules immunes efectores específiques, com pèptids antimicrobians i el TNF-α [Peyssonnaud C 2005; Cramer T 2003]. Un estudi recent mostra per primer cop com *C. pneumoniae* és capaç de replicar-se dins de les cèl·lules hoste i mantenir la seva capacitat infectant sota condicions d'hipòxia. Per manipular directament el metabolisme i funcions de la cèl·lula hoste en hipòxia, *C. pneumoniae* és capaç d'agafar el control del mecanisme central sensible a oxigen HIF-1α [Rupp J 2007].

## 5.2 Inflamació

Tradicionalment l'aterosclerosi es veia com una conseqüència de la deposició de lípids dins de la paret del vas de les artèries. Actualment aquest concepte ha canviat, avui dia s'assumeix que la disfunció endotelial induïda per un nombre elevat o la modificació de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), radicals lliures, infeccions per microorganismes, estrès mecànic, hipertensió, etc, porta a una resposta inflamatòria compensatòria. Nivells en sèrum de mediadors inflamatoris com la interleuquina-6 (IL6) i la proteïna C-reactiva (CRP) es mesuren per predir futurs esdeveniments vasculars [Jerard-Dunne 2004; Krupinski J 2007].

### 5.2.1 Proteïna C-reactiva

La proteïna C-reactiva és un marcador de fase aguda. Els seus valors d'expressió circulants i en teixit augmenten en pacients amb malalties inflamatòries [Blake GJ2003 Blake GJ2003; Danesh J2004; Di Napoli M 2001 ;Gabay C 1999 ; Hirschfield GM 2003 ]. CRP és una proteïna ben conservada evolutivament que és troba a valors  $< 1\text{mg/l}$  en persones sanes. Com a resposta a estímuls de fase aguda, la concentració dels valors circulants pot augmentar 100 vegades de forma ràpida i considerable [Pepys MB 2003]. En pacients amb risc de presentar malaltia arterioscleròtica, els valors de CRP augmenten per sobre de  $3\text{mg/l}$  i resten elevats durant mesos o anys [Ridker PM 2003]. Concentracions elevades en plasma de CRP en pacients amb estenosi carotídia simptomàtica o asimptomàtica, tractats amb cirurgia o no, estan associats a un increment de la mida del gruix carotídic (IMT), desenvolupament, progressió i ruptura de plaques arterioscleròtiques [Van der Meer IM 2002; Di Napoli M 2005]. A més, també prediu la progressió i recurrència d'aterosclerosi en artèries intracranials de gran mida simptomàtiques [Arenillas JF 2005]. Altes concentracions de CRP es relacionen amb la severitat del ictus o discapacitat neurològica [Smith CJ 2004].

CRP és una molècula efectora capaç d'induir i promoure aterotrombosi. La presència de CRP en les plaques arterioscleròtiques pot reflectir una producció local o una infiltració de la CRP circulant [Krupinski J 2006]. S'ha demostrat la presència de CRP en àrees riques en cèl·lules, cèl·lules musculars vasculars llises, neovasos i cèl·lules inflamatòries en plaques actives [Krupinski J 2006]. La citoquina proinflamatòria IL-6 és el principal



inductor de la seva alliberació per part del fetge i la única substància coneguda que indueix la síntesi de totes les proteïnes de fase aguda [Johnston SC 2005]. A més, la IL-6 actua localment augmentant el reclutament de monòcits i cèl·lules T i actua de forma sistèmica induint un estat proinflamatori i protrombòtic [Carter AM 2005].

CRP és un membre de la família de les pentraxines. Està composta per cinc protòmers idèntics de 23Kda, associats de forma no covalent i ordenats de forma simètrica al voltant d'un por central [Pepys MB 1999]. La forma pentamèrica es pot dissociar de forma irreversible formant subunitats lliures que denominem proteïna C-reactiva monomèrica o modificada (mCRP).

La mCRP té una solubilitat aquosa reduïda i té tendència a formar agregats a les parets dels vasos sanguinis. El procés de dissociació pot donar-se de forma espontània. Hi ha evidències que mostren com la forma pentamèrica (nCRP) i la monomèrica difereixen en els seus efectes biològics. A més, les dues conformacions interaccionen de manera diferent amb elements de la cascada del complement [Eisenhardt SU 2009].

### **5.3 Angiogènesi**

La inestabilitat de la placa arterioscleròtica es considera un factor de risc independent pel ictus isquèmic [McCarthy 1999; Dunmore BJ 2007; Mofidi R 2001; Mofidi R 2008]. En absència d'aterosclerosi, les parets dels vasos tenen una microvasculatura confinada entre l'adventícia i la mitja externa [O'Brien ER 1994]. Aquesta microvasculatura es denomina *vasa vasorum* [Heistad DD 1979]. En condicions normals, el *vasa vasorum* alimenta la part més externa de la paret vascular, mentre la capa íntima és irrigada d'oxigen des del lumen.

La neovascularització de la íntima a les artèries va ser nombrada i relacionada per primer cop amb l'aterosclerosi i l'engrossiment de la íntima per Koester al 1876 [Zhang Y 1993]. A mida que la malaltia progressa, la íntima s'engreixa i la difusió d'oxigen empitjora [Moreno PR 2006]. En aquest moment s'activa el procés d'angiogènesi, permetent la formació de nous vasos per mantenir la difusió d'oxigen i nutrients [Mofidi R 2008]. L'angiogènesi consisteix en la formació de nous vasos a partir dels ja existents del *vasa vasorum* per migració i proliferació de cèl·lules endotelials diferenciades

[Moulton KS 2002]. No obstant, existeix la possibilitat que alguns d'aquests nous vasos derivin de cèl·lules progenitores circulants [Teeper OM 2005].

En condicions patològiques, l'angiogènesi passa de ser una contribució transitòria al dany a una contribució permanent per a la regeneració del teixit [Moreno PR 2004]. Diferents estudis suggereixen com aquesta nova vascularització contribueix al creixement de la lesió arterioscleròtica, s'associa amb malaltia carotídia simptomàtica i pot ser un factor clau en la desestabilització de la placa portant a la seva ruptura [Khurana R 2005, Tureyen K 2006]. Alguns d'aquests nous vasos són irregulars i immadurs, similars als trobats en la vascularització de tumors, i per tant, podrien contribuir al desenvolupament d'hemorràgies intraplaca i la subseqüent inestabilitat [Mofidi R 2008; Zhang Y 1993; Moreno PR 2006; Moreno PR 2004; Ribatti D 2008]. Una forta correlació entre àrees amb un increment en la vascularització i hemorràgies intraplaca va ser demostrat per primer cop per Mofidi *et al* [Mofidi R 2001], usant immunohistoquímiques front CD34 en mostres obtingudes d'endarterectomies de pacients simptomàtics. El mateix autor ha demostrat recentment una associació directa entre angiogènesi a la placa i esdeveniments neurològics mitjançant tomografia [Mofidi R 2008].

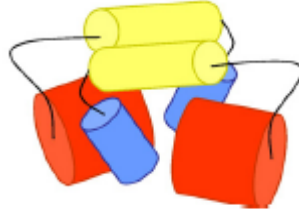
L'angiogènesi s'activa sota condicions d'hipòxia i isquèmia. Sota aquest ambient hipòxic s'estimula l'expressió de factors de transcripció induïbles per hipòxia (HIFs), com HIF-1 $\alpha$  que indueix l'expressió de VEGF i d'altres factors reguladors de l'angiogènesi [Pugh CW 2003].

La iniciació i el manteniment del procés d'angiogènesi és un procés complex que requereix la modulació d'un elevat nombre de molècules pro i anti-angiogèniques que operen a través de complexes vies de senyalització intracel·lular. Entre aquestes molècules trobem per exemple la endoglina, la proteïna quimioattractant de monòcits (MCP-1), el receptor tirosina quinasa 2 (Tie-2) i metal·loproteïnases com la MMP-2.

### 5.3.1 Endoglina

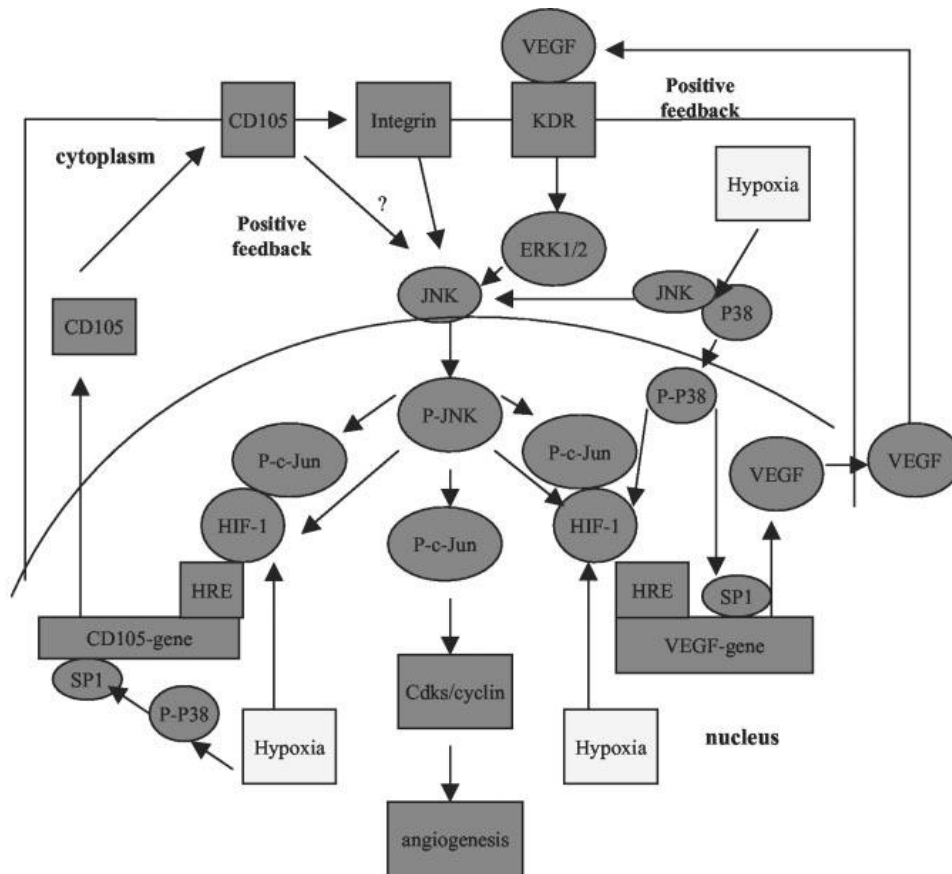
La molècula endoglina (CD105) és una glicoproteïna de membrana homodimèrica composta per dues subunitats de 90KDa unides per un pont disulfur [Barbara NP 1999].

Actua com a receptor auxiliar del factor de creixement transformant- $\beta$  (TGF $\beta$ ). CD105 s'expressa de forma abundant en les cèl·lules endotelials angiogèniques [Wang J 1993; Duff S 2003]. La seva expressió induïda per hipòxia va associada a HIF-1 $\alpha$ , el qual està directament unit a l'element de resposta a hipòxia del promotor de CD105 [Guo B 2004].



**Figura 18.** Model de l'organització per dominis de la molècula endoglina [Llorca O 2007]

La figura 19 mostra un model esquemàtic que il·lustra el possible paper de CD105 en l'angiogènesis induïda per hipòxia. La hipòxia incrementa l'expressió i activitat transcripcional de HIF-1 $\alpha$  el qual incrementa l'expressió de CD105 per la unió a l'element de resposta a hipòxia (HRE) del promotor de CD105. Després de translocar-se al nucli, *Jun N-terminal Kinase* fosforilada (p-JNK) fosforila i activa c-Jun (p-c-Jun), la qual promou la proliferació de cèl·lules endotelials (angiogènesi) per el increment en l'expressió de Cdks/ciclins. A més, c-Jun, per interacció amb HIF-1, promou l'activitat transcripcional d'aquest, comportant l'augment d'expressió de CD105. Sota condicions d'hipòxia, a través de p-JNK, CD105 forma un *loop* regulador positiu. La hipòxia augmenta l'expressió de VEGF a través de la unió del seu receptor, KDR, amb HIF-1 $\alpha$ , activant ERK1/2, el qual a través de JNK, c-Jun i Cdks/ciclins, en últim terme activa el procés d'angiogènesi. HIF-1 $\alpha$  activat via interacció amb c-Jun, incrementa l'expressió de VEGF. VEGF forma un altre *loop* de regulació positiu a través de JNK sota condicions d'hipòxia. Els dos *loops* s'ajunten en JNK maximitzant l'angiogènesi. L'activació de p38, induïda per hipòxia, incrementa l'expressió de CD105 a través del lloc SP1 del promotor de CD105 i, per altre banda, pot actuar a través de l'activació de HIF-1 $\alpha$ .



**Figura 19.** Model esquemàtic que il·lustra el possible paper de CD105 en l'angiogènesi induïda per hipòxia [Guo B 2004]

CD105 és un marcador molt sensible per a la identificació i creixement de neovascularització en tumors [Dhakal HP 2008; Marioni G 2008]. S'expressa casi de forma universal en els microvasos de l'ateroma i es considera millor marcador vascular que CD31 i TGFβ1 per estudiar la neovascularització en les plaques ateroscleròtiques [Li C 2006].

## **6. Resposta immunitària**

La progressió ateroscleròtica representa una reacció inflamatòria crònica en la que participa també el sistema immune innat i és modulada pel sistema immune adaptatiu [Getz GS 2005]. Macròfags i cèl·lules T es detecten en el teixit arterial inclús abans de que es desenvolupi la placa. Entre les cèl·lules del sistema immune i molècules que es detecten a les plaques arterioscleròtiques humanes trobem macròfags, cèl·lules dendrítiques, cèl·lules T CD4+, cèl·lules T CD8+, el complex major d'histocompatibilitat II (MHC II), CD40 i CD40L, citocines IL-1, IL-2, INF- $\gamma$ , IL-7, IL-10, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  i TGF $\beta$ . Les citocines tipus Th2 es troben a nivells inferiors [Getz GS 2005].

### **6.1 Immunitat innata: *Toll Like Receptors***

La immunitat innata filogenèticament és primitiva, per la qual cosa la comparteixen vegetals i animals (invertebrats i vertebrats, incloent mamífers). Intervenien monòcits, macròfags i cèl·lules dendrítiques. Es caracteritza per ser de resposta ràpida, actua directament sobre el patògen sense necessitat de selecció o maduració cel·lular i no té memòria.

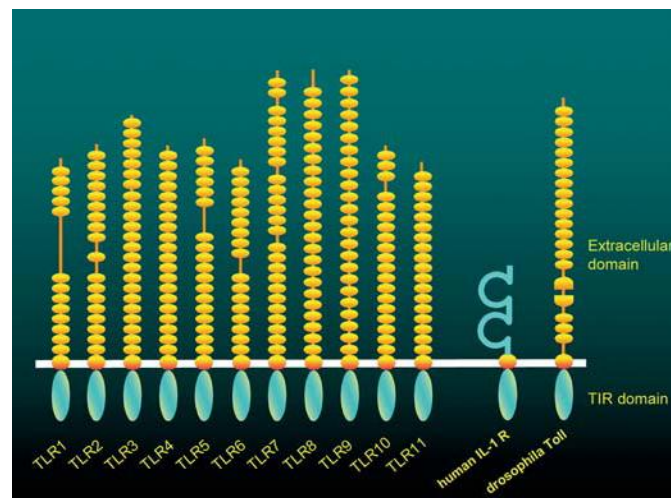
La funció de la immunitat innata és el reconeixement de constituents microbians, el que desencadena una resposta cel·lular i humoral caracteritzada per l'activació de neutròfils, cèl·lules endotelials, monòcits-macròfags i la síntesi de citocines proinflamatòries, tenint com a finalitat el control de la infecció.

Els productes microbians que activen aquesta resposta són: lipopolisacàrids, peptidoglicans, àcid lipoteicoic, lipoproteïnes, DNA, glicolípid, fragments de paret cel·lular, etc, que en conjunt reben el nom de patrons moleculars associats a patògens (PAMPs). Els receptors cel·lulars encarregats del reconeixement de patrons (PRR) s'han seleccionat en el transcurs de l'evolució per a reconèixer estructures o productes microbians, dels que formen part els receptors Toll [Carrillo-Esper 2003].

### 6.1.1 Estructura i funció dels Receptors Toll

Els receptors Toll es van descriure inicialment en la mosca de la fruita *Drosophila melanogaster* com a moduladors de la polarització dorsoventral durant el desenvolupament embrionari. Posteriorment es va establir que formaven part fonamental de la immunitat innata de la mosca per a la seva defensa front infeccions bacterianes i micòtiques [Parker LC 2007, Flier A 2007].

En els mamífers, incloent l'home, existeix un sistema de receptors de reconeixement de PAMPs que per la seva semblança i funció amb el sistema Toll de *Drosophila* es denominen receptors semblants a Toll (TLRs: *Toll Like Receptors*) [Parker LC 2007]. TLRs són proteïnes transmembrana amb un domini extracel·lular ric en repeticions de leucina (LRRs) (N-terminal), un domini transmembrana i un intracel·lular denominat TIR (C-terminal), el qual és similar al domini intracel·lular del receptor d'interleuquina-1.



**Figura 20.** Estructura bàsica dels TLRs, comparats amb el receptor de IL-1 i amb la proteïna Toll de *Drosophila* [Flier A 2007]

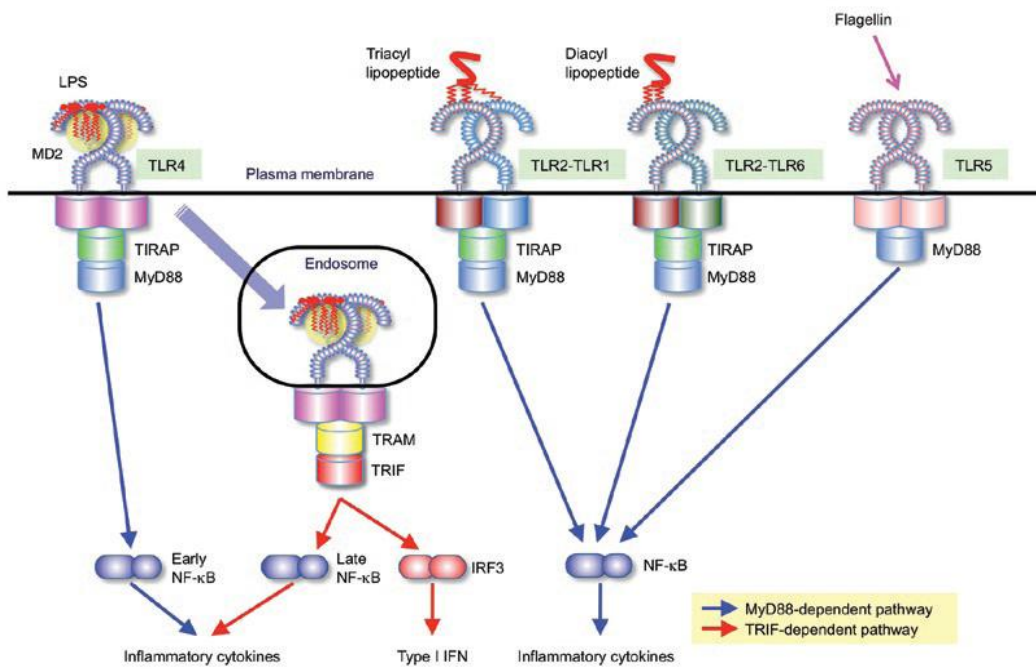
S'han descrit 11 TLRs en humans. La taula 8 Mostra una llista dels TLRs amb els lligands que s'han establert fins ara. Cada TLR és capaç de reconèixer més d'un lligand o PAMP.

**Taula 8.** Lligands per TLRs

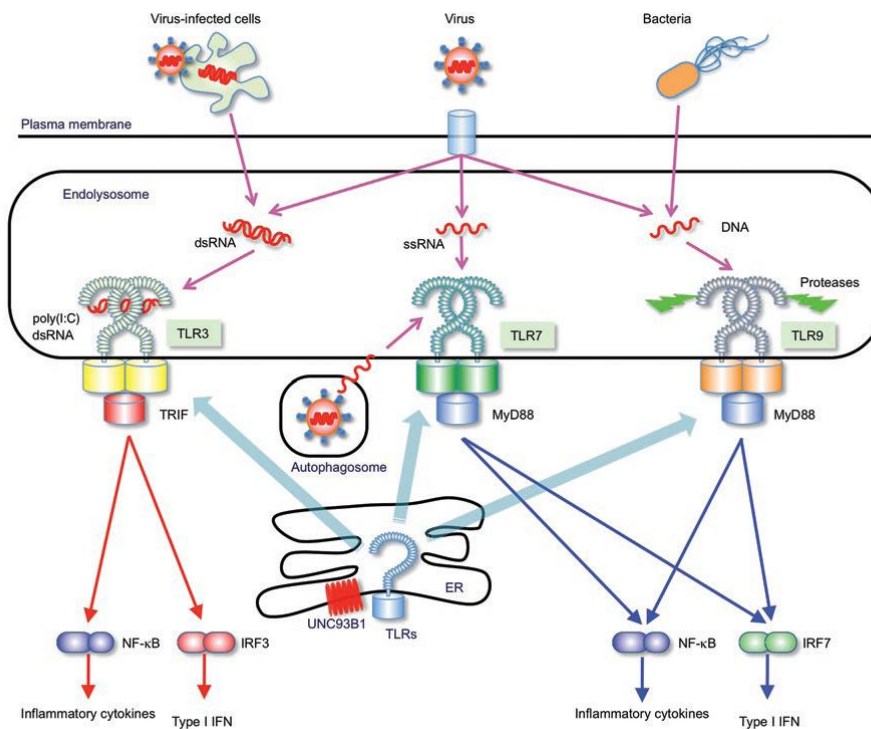
TLR	Lligand	Comentaris
TLR 1	mirar els lligands del TLR 2	Opera com a dímer amb TLR 2
TLR 2	peptidoglicans > amb TLR 6 acid lipoteicoic > amb TLR 6 lipoarabinomannan (micobacteria) lipopèptids diacil ( <i>Mycoplasma</i> ) > amb TLR 6 lipopèptids triacil > amb TLR 1 modulina ( <i>S. epidermidis</i> ) porina ( <i>Neisseria</i> ) zymosan (fong) > amb TLR 6 LPS atípic ( <i>Leptospira</i> , <i>Porphyromonas</i> ) HSP70 fimbriae bacterià	
TLR 3	RNA de doble cadena (virus)	
TLR 4	LPS (bacteries Gram-negatives) HSP60 ( <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>C. pneumoniae</i> ) proteïna F	
TLR 5	flagelina ( <i>Salmonella</i> )	
TLR 6	mirar TLR 2	Opera com a dímer amb TLR 2
TLR 7	RNA de cadena simple (virus)	
TLR 9	CpG DNA (bacteries i virus (HSV))	
TLR 11	probablement no funcional en humans; protegeix els ratolins d'infeccions del tracte urinari	

Adaptat de Fleer A *et al* [ Fleer A 2007]

El domini LRR defineix el lloc d'unió a lligand i de reconeixement del PAMP. La unió del lligand al TLR resulta en la dimerització dels TLRs, com a homodímer (ex. TLR 4) o heterodímer (ex. TLR 2 dimeritza amb TLR1 ó TLR6), o un canvi conformacional en un dímer ja existent, que s'ha proposat per TLR 3 [Fleer A 2007]. Aquesta dimerització i el conseqüent canvi conformacional induït per la unió al lligand és necessària per a l'activació de la cascada de senyalització intracel·lular. Hi ha 4 adaptadors implicats en les vies de senyalització dels TLRs. Aquestes són MyD88 (*myeloid differentiation factor 88*), TIRAP (*TIR domain-containing adaptor protein*; també coneguda com MAL), TRIF (*TIR-related-adaptor protein inducing interferon*) i TRAM (*TRIF-related adaptor molecule*). El primer pas s'inicia a través del domini TIR, seguint d'una de les vies esmentades, que porten a la alliberació del factor de transcripció nuclear NF- $\kappa$ B i la seva següent translocació des del citoplasma al nucli, induint la transcripció gènica [Fleer A 2007, Kawai T 2007, Kawai T 2010].



**Figura 21.** Reconeixement de PAMPs per part de TLRs de superfície cel·lular [Kawai T 2010]



**Figura 22.** Reconeixement de PAMPs per part de TLRs intracel·lulars [Kawai T 2010]



### **6.1.2 TLRs i aterosclerosis**

La majoria de les cèl·lules del sistema immune expressen TLRs. L'estimulació d'aquests receptors resulta en l'activació de distintes vies de senyalització que condueixen a la producció de citokines pro-inflamatòries, les quals en últim terme poden contribuir en el desenvolupament de la placa arterioscleròtica. Alguns experiments han demostrat com una curta durada de la presència de patògens, com *Cytomegalovirus*, és suficient per incrementar els nivells d'expressió dels TLRs en un teixit com el cor, inclús quan el virus ja no es detecta en el teixit [Stassen et al 2008]. Diferents estudis han mostrat la implicació de TLR 2 i TLR 4 com inici de l'activació del sistema immune innat per la presència de *C. pneumoniae* o dels seus components com cLPS o cHSP60 [Krüll et al 2005; Joyee AG 2008; Edfelt K 2002].

Aquestes dades suggereixen que per una banda, la infecció resulta en una inflamació directe, per exemple, de la paret vascular, però alternativament pot crear-se un ambient proinflamatori amb uns nivells d'expressió de TLRs augmentats, inclús en absència del patògen original. Aquest augment d'expressió pot deixar el teixit en un estat més vulnerable a estímuls addicionals com PAMPs circulants de patògens d'altres llocs, però també a lligands endògens com HSP60 o oxLDL. Aquests lligands exògens i endògens poden portar a un estat d'inflamació crònic que contribueixi en la progressió de la placa i acceleració de la malaltia [Stassen et al 2008].

### **6.2 Immunitat adaptativa**

La resposta immune adaptativa es caracteritza per la selecció clonal de limfòcits antigen específics, és tardana, té memòria, dona protecció prolongada i es presenta exclusivament en animals vertebrats [Carrillo-Esper 2003].

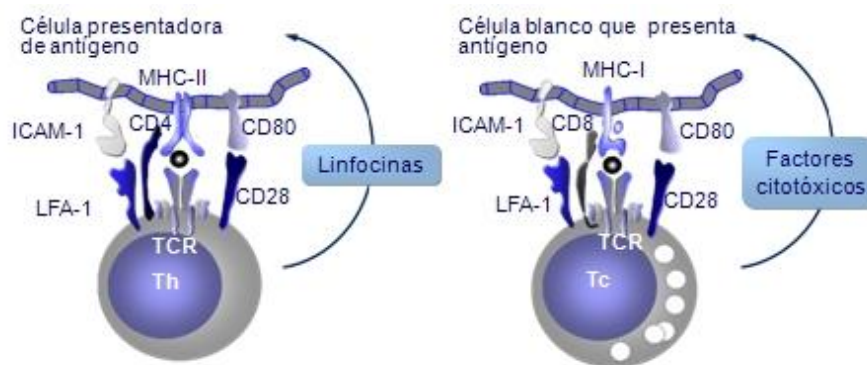
Els limfòcits que participen en aquest tipus de resposta són de dos tipus: limfòcits T i limfòcits B. Els limfòcits T poden ser col·laboradors (Th), citotòxics (Tc) o reguladors (Treg). La resposta immune específica pot ser de tipus humoral o cel·lular, depenent de si participen els limfòcits B o T respectivament. Per a que comenci la resposta tant humoral com cel·lular el primer pas és el reconeixement de l'antigen.

Els limfòcits B reconeixen l'antigen mitjançant immunoglobulines de membrana, mentre que els limfòcits T ho reconeixen mitjançant el receptor de limfòcits T (TCR). L'activació dels limfòcits B condueix a la síntesi d'immunoglobulines. Tant les immunoglobulines com el TCR tenen la capacitat de reconèixer i unir-se a l'antigen de manera específica.

### 6.2.1 Limfòcits T

Les cèl·lules presentadores d'antígens (APC) (inclou macròfags, cèl·lules B, cèl·lules dendrítiques, cèl·lules endotelials, etc.) exposen els seus determinants antigènics en la seva superfície. El TCR dels limfòcits T reconeix els pèptids antigènics que presenten en la superfície cel·lular les APCs en el context del complex major d'histocompatibilitat (MHC).

Encara que existeixen excepcions, la separació de les funcions dels limfòcits Th (CD4+) y Tc (CD8+) ve donada per l'origen dels antígens que reconeixen. Els limfòcits Tc reconeixen els antígens presentats en superfície per les molècules MHC de classe I, mentre que els limfòcits Th interaccionen amb l'antigen a través de les molècules MHC de classe II.



**Figura 23.** Activació Th i Tc. L'antigen és presentat per MHC II a les cèl·lules Th, mentre que les MHC I ho fan als limfòcits Tc

Associades a les dues cadenes polipeptídiques que constitueixen el TCR es troba un grup de molècules de membrana anomenat col·lectivament CD3. El TCR s'uneix de forma no covalent al complex CD3 que transdueix el senyal a l'interior de la cèl·lula després de la unió del TCR a l'antigen. Per a que es produeixi l'activació de la cèl·lula T, es requereix un segon senyal que es produeix per la interacció entre receptors

específics de la superfície de la cèl·lula T i els seus components lligands en les APCs. Entre aquestes molècules de la superfícies de la cèl·lula T s'inclouen el CD28, que té com a lligand B7 (B7.1 o B7.2, també anomenats CD80 i CD86 respectivament), el CD40L, que s'uneix a CD40, i el CD2, lligand del CD58. Els dos senyals coestimuladors principals són el sistema CD28-B7 i el sistema CD40-CD40L.

Quan les molècules de CD40 expressades constitutivament en les cèl·lules B o APCs, s'uneixen al CD40L de les cèl·lules T, té lloc la inducció de l'expressió a la seva superfície cel·lular de l'altre grup de molècules accessòries B7, que posteriorment s'unirien a CD28 de la cèl·lula T [Van Gool SW 1996].

Finalment és la cèl·lula T la que modularà la resposta immune efectora humoral o cel·lular, activant més cèl·lules T, cèl·lules B i altres cèl·lules, i originant poblacions de cèl·lules T memòria. Davant d'un senyal activador, les cèl·lules T CD4+ poden adquirir un fenotip Th1 o Th2, que es diferencia segons el tipus de citokines que produeixen en resposta a l'activació, i per tant en la seva funció. Les cèl·lules Th1 segreguen IL-2, IFN $\gamma$  i TNF $\alpha$ , mentre que les cèl·lules Th2 segreguen IL-4, 5, 6, 9, 10 i 13. Les característiques específiques de l'antigen i dels senyals coestimuladors determinaran si predominarà la immunitat Th1 o Th2.

#### *6.2.1.1 Limfòcits T i aterosclerosi*

Les cèl·lules T tenen la capacitat de modular el desenvolupament de l'aterosclerosi, ja que poden secretar tant citokines pro-inflamatòries com citokines anti-inflamatòries [Vanderlaan PA 2005].

La majoria de les cèl·lules T que es troben en lesions ateroscleròtiques humanes són cèl·lules T efectores o de memòria i la proporció de cèl·lules T activades s'incrementa amb el grau de severitat de la malaltia. En lesions humanes trobem tant la presència de cèl·lules T CD4+ com cèl·lules T CD8+, però normalment les cèl·lules T CD4+ dominen en número.

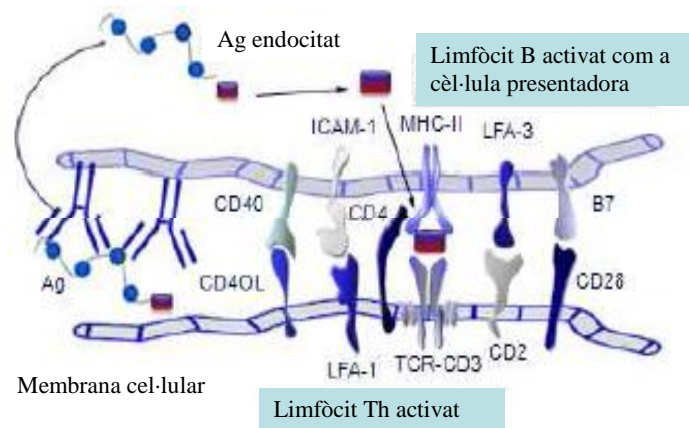
Hi ha molts antigens candidats per les cèl·lules T en aquesta malaltia. *Chlamydia pneumoniae*, *herpes simplex virus* i *cytomegalovirus* es detecten en les plaques

ateroscleròtiques, i pacients amb malalties cardiovasculars se'ls detecten alts nivells d'anticossos front aquests patògens, indicant la implicació del sistema immunitari adaptatiu. També es considera que les LDL modificades, com les LDL oxidades, poden provocar una resposta immunitària [Robertson AK 2006].

### **6.2.2 Limfòcits B**

Encara que normalment no es detecten limfòcits B en lesions arterioscleròtiques, la localització d'aquestes zones a la capa adventícia podria explicar en part la seva demostrada influència en el desenvolupament de la placa, ja que experimentalment s'ha demostrat el seu caràcter ateroprotector. Per altra banda, s'identifiquen en les plaques les immunoglobulines que produeixen durant el desenvolupament de la lesió. S'han trobat anticossos front LDLox en la circulació tant d'humans com de ratolins. Molts estudis suggereixen pels limfòcits B en general un paper antiaterogènic basant-se en els anticossos protectors que produeixen però, és important considerar altres papers que poden tenir durant l'aterogènesi com la presentació d'antígens i la secreció de citoquines [VanderLaan PA 2005].

Els limfòcits B són capaços de internalitzar de forma selectiva els antígens que reconeixen via el receptor dels limfòcits B (BCR) i presentar de forma extremadament eficient l'antigen a les cèl·lules T. Quan un limfòcit T interacciona a través del seu receptor BCR amb un antigen, aquest pot ser endocitat i processat en pèptids, que a la seva vegada poden ser presentats posteriorment units a les molècules MHC de membrana dels limfòcits T. Els limfòcits T, que prèviament han pogut interaccionar amb aquest mateix antigen present en les cèl·lules presentadores d'antígens, poden reconèixer al complex MHC-pèptid en la membrana de la cèl·lula B i transmetre senyals per a la seva activació i diferenciació. Per aquesta raó, també es poden considerar els limfòcits B com cèl·lules presentadores d'antígens durant el procés arterioscleròtic.



**Figura 24.** Les cèl·lules B reconeixen un epítip representat com a cercle, mentre que reconeixen pèptids d'altre epítip representat com un quadrat

A més de la seva habilitat per produir anticossos i presentar antígens a les cèl·lules T, poden regular la resposta immune a través de la secreció de citoquines. Sota certes condicions, les cèl·lules B són capaces de produir per exemple IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16,  $INF\gamma$ ,  $TGF\beta$  o  $TNF\alpha$ . La producció d'aquestes citoquines ve influenciada per la presència local de citoquines i per senyals estimuladors com CD40 [VanderLaan PA 2005].

***OBJECTIUS***



No es coneixen a fons els mecanismes responsables de la progressió de l'aterosclerosi. Hipòxia, angiogènesi i inflamació crònica juguen un paper important en la remodelació de la placa i contribueixen de forma significativa a la seva progressió i ruptura. Es pretén caracteritzar i estudiar possibles mecanismes implicats en les fases inicials de la malaltia ateroscleròtica.

1. Caracterització immuno-inflamatoria de plaques ateroscleròtiques carotídies amb estenosi lleu o moderada ( $\leq 50\%$ ). Estudi Pilot:
  - Determinació de marcadors d'hipòxia, inflamació i angiogènesi intraplaca (identificats en estudis previs del nostre grup en artèries ateroscleròtiques carotídies amb estenosi  $\geq 70\%$ ) en artèries caròtides amb estenosi lleu o moderada.
  - Estudi i quantificació del grau d'angiogènesi en diferents tipus de lesions ateroscleròtiques.
  - Estudi de la presència de subclasses de limfòcits en plaques ateroscleròtiques amb estenosi lleu o moderada ( $\leq 50\%$ )
2. Estudi de la relació entre presència d'infecció per *Chlamydia pneumoniae* i aterosclerosi.
  - Estudi de la presència d'infecció per *C.pneumoniae* en plaques ateroscleròtiques carotídies i sèrum.
  - Relació entre la presència de *C. pneumoniae* i TLRs, limfòcits i HIF-1 $\alpha$ .
3. Estudi de processos i vies metabòliques induïdes per la infecció amb *C. pneumonie* en cèl·lules endotelials de caròtida humana.
  - Anàlisi de la regulació de l'expressió gènica transcripcional mitjançant microarrays.
  - Validació dels resultats per qRT-PCR.





# ***MATERIALS I MÈTODES***



## 1. Mostreig

Es van incloure en els diferents estudis les següents mostres humanes:

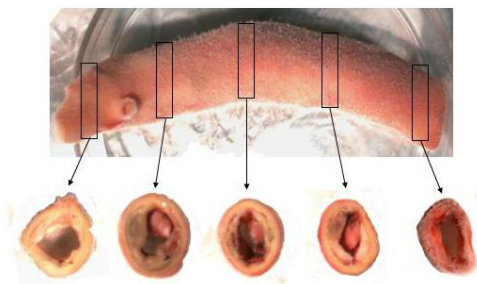
**Taula 9.** Mostres utilitzades en els diferents estudis realitzats.

Mostre	n	Origen
Caròtides amb estenosi < 50% *	38	Donants d'òrgans o autòpsies post-mortem
Plaques carotídies amb estenosi > 70% §	25	Endarterectomies
Artèries cerebrals mitges dretes (ACM)	20	Donants d'òrgans o autòpsies post-mortem
Artèries coronàries	32	De mort sobtada o obtingudes durant operacions de trasplantament

\* <50% per imatge EcoDoppler, angio-RM o angio-TAC

§ demostrada per ultrasonografia duplex

Les dades clíniques dels pacients, els factors de risc cardiovascular i la causa de mort es presenten al final d'aquest apartat en les Taules 12-15. En el quiròfan s'extreuen les mostres i immediatament es renten en solució salina estèril al 0,9%, es congelen en nitrogen líquid i es guarden a -80°C. Es van retallar 5 àrees diferents de cada artèria carotídia amb estenosi <50%, i 4 àrees de les artèries carotídies amb estenosi >70% i de les ACM, degut a la seva inferior mida. La Figura 30 mostra un exemple de les diferents àrees d'una artèria carotídia amb estenosi <50%. Aquests segments van ser utilitzats per estudiar la presència de *C. pneumoniae* per PCR. Es van tallar trossos addicionals de l'àrea de la placa d'aquestes mostres per fer els estudis histològics i immunohistoquímics. Es va obtenir un tros de cada artèria coronària per realitzar també estudis histològics i immunohistoquímics.



**Figura 25.** Exemple d'una artèria carotídia amb estenosi <50%

Es va obtenir el sèrum dels pacients sotmesos a endarterectomia per estudiar la presència d'anticossos front *C. pneumoniae* en aquests pacients. Els diferents estudis van ser aprovats pel comitè ètic local en acord amb les lleis institucionals i amb els consentiments familiars obtinguts.

## 2. Fixació de mostres de teixit per incloure en parafina

### 1. Fixació amb Paraformaldehid 4%

Col·locar la mostra en paraformaldehid al 4% en PB 0,4M fred i deixar a 4°C entre 18 i 24h, en funció de la mida de la mostra (penetració: 1mm/h).

[PB 0,4 M pH 7,4: 56g  $\text{HK}_2\text{PO}_4$ , 12g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  destil·lada fins 1000ml, ajustar pH]

### 2. Descalcificació (només d'aquelles mostres en que és necessari)

- Triar un vas de precipitats proporcional a la mida de la mostra
- Omplir la base amb resina d'intercanvi iònic (Amberlite, de Carlo Erba, ref. 457591)
- Posar-hi una gasa a sobre per evitar el contacte de la mostra amb la resina
- Afegir àcid fòrmic al 10% en aigua destil·lada fins cobrir la mostra
- Deixar-ho 24h

### 3. Inclusió en parafina

S'ha utilitzat l'aparell *Shandon Citadel 2000* (Thermo Electron Corporation) per parafinar les mostres. El procés té una durada de 8 hores i consisteix en:

- A) Deshidratació:
- Gliofix 30min
  - Gliofix 2, 30min
  - Alcohol 96° 30min
  - Alcohol 100° 30min
  - Alcohol 100° 30min
  - Alcohol 100° 30min
  - Alcohol 100° 30min
  - Alcohol 100° 30min
- B) Aclarament:
- Xilol 45min
  - Xilol 45min
  - Xilol 45min
- C) Inclusió:
- Parafina líquida 1h 15min
  - Parafina líquida 1h

Posteriorment es realitzen els blocs de parafina utilitzant el *Dispensador de Parafina* (Leica EG1150H). Els blocs es refreden a -20°C, i un cop tret el motlle es guarden a temperatura ambient.

### **3. Fixació de mostres de teixit congelat per incloure en OCT**

#### **1. Fixació amb Paraformaldehid 4%**

Col·locar la mostra en paraformaldehid al 4% en PB 0,4M fred i deixar a 4°C entre 18 i 24h, en funció de la mida de la mostra (penetració: 1mm/h).

#### **2. Descalcificació (només d'aquelles mostres en que és necessari)**

- Triar un vas de precipitats proporcional a la mida de la mostra
- Omplir la base amb resina d'intercanvi iònic (Amberlite, de Carlo Erba, ref. 457591)
- Posar-hi una gasa a sobre per evitar el contacte de la mostra amb la resina
- Afegir àcid fòrmic al 10% en aigua destil·lada fins cobrir la mostra
- Deixar-ho 24h

#### **3. Criopreservació en Sacarosa**

- Col·locar la mostra en Sacarosa al 30% i deixar-ho a 4°C durant 1h
- Canviar la solució i deixar-ho *overnight*
- Fer un altre canvi i deixar-ho *overnight*

(Màxim 72h)

[Sacarosa 30%: 1,8g NaCl, 60g Sacarosa, 50ml PB 0,4 M, H<sub>2</sub>O destil·lada fins 200ml]

#### **4. Inclusió en OCT**

- Omplir un motllo adequat a la mida de la mostra, a sobre d'una superfície freda, amb OCT i immediatament posar-hi la mostra orientada adequadament. En quant s'hagi fixat, acabar d'omplir el motllo amb OCT fins a cobrir la mostra i esperar que solidifiqui.
- Guardar el bloc a -80°C

#### **Inclusió de Mostres No Fixades en OCT**

Es poden incloure mostres en fresc, sense fixar, directament en OCT. Es solidifica submergint-ho en nitrogen líquid. Es guarden a -80°C.

## 4. Histologia

Es van realitzar seccions de 4-5µm utilitzant:

- Microtom (Leica JUNG RM2055) per als blocs de parafina.
- Criostat (Leica CM 3050 S) per als blocs d'OCT.

### Tinció Hematoxilina-Eosina

La morfologia de les plaques es va estudiar utilitzant la tinció d'hematoxilina-eosina.

- \* Mostres congelades: H<sub>2</sub>O destil·lada, 5min
- \* Mostres parafinades: Desparafinar amb Xilol, 10-15min  
Rehidratar: Alcohol 100° I, 3min  
Alcohol 100° II, 3min  
Alcohol 95° I, 3min  
Alcohol 95° II, 3min  
Alcohol 70° I, 3min  
Alcohol 70° II, 3min  
H<sub>2</sub>O destil·lada, 5min
- 1- Hematoxilina Mayer (Panreac), 5min
- 2- H<sub>2</sub>O aixeta, 5min
- 3- H<sub>2</sub>O destil·lada, 5min
- 4- Eosina (Eosina G OR y *Alcoholic Solution* 0,5% (DiaPath)), 20s
- 5- Deshidratar: Alcohol 95°, 2min  
Alcohol 100°, 2min
- 6- HistoClear I, 3min  
HistoClear II, 3min
- 7- Muntar amb el medi de muntatge Histomunt

Posteriorment es van classificar les lesions segons *l'American Heart Association* (AHA) [Stary HC1995;Virmani R 2000] amb algunes modificacions per a les plaques carotídies i les artèries cerebrals mitges. Les plaques carotídies obtingudes d'endarterectomies es van classificar en ulcerades no complicades (UNC), ulcerades complicades (UC) o fibroses (F) [Slevin M 2006]. La classificació es presenta en la Taula 13.

## 5. Immunohistoquímica

### Protocol general

- Mostres fixades i parafinades: Les seccions de parafina (4-5µm) es desparafinen en xilè i es rehidraten en solucions d'etanol de major a menor grau. Posteriorment es renten en aigua destil·lada.
- Mostres fixades incloses en OCT: S'assequen els portaobjectes amb les seccions d'OCT (4-5µm) durant 40min a 37°C. Rentar amb PBS.
- Mostres no fixades incloses en OCT: Incloure les seccions en Acetona a 4°C durant 5min i posteriorment rentar amb PBS.

[PBS: 9g NaCl, 250ml PB 0,4 M, H<sub>2</sub>O destil·lada fins 1000ml]

Després es tracten amb aigua oxigenada al 10% en metanol durant 30 minuts a temperatura ambient per eliminar l'activitat peroxidasa endògena. Les seccions es bloquegen amb els seus respectius antisèrums (30min, T° ambient) i s'incuben amb l'anticòs primari corresponent durant 1-2h a 4°C *overnight*. Després de rentar amb PBS-tween 0,1%, s'incuben amb l'apropiat anticòs secundari (1:200) durant 1h a T° ambient. Després de rentar amb PBS, s'aplica el kit estàndard *Vectastain (ABC) avidin-biotin peroxidase complex* (Vector Laboratories), incubant a T° ambient durant 30 minuts. Es fa el revelat utilitzant 3,3'-Diaminobenzidina (DAB) i es contratenyeix amb hematoxilina abans de la deshidratació i muntatge. S'utilitzen controls negatius, en els quals l'anticòs primari es reemplaça per PBS, per detectar les unions inespecífiques (dades no incloses). Totes les immunohistoquímiques van ser revisades per 2 investigadors simultàniament utilitzant un microscopi de doble capçal.

La Taula 10 mostra els anticossos utilitzats en els diferents estudis, incloent si es van utilitzar per mostres parafinades o incloses en OCT. En alguns casos es va haver de realitzar la tècnica d'*antigen retrieval*, abans de realitzar el bloqueig de peroxidasa, per obtenir millors resultats.

### Antigen retrieval:

- Posar els portaobjectes en un *coplin* amb Tris/HCl 10mM, pH 10. Durant 20min en un bany d'aigua a 95-99°C.
- Treure i refredar durant 30min a T° ambient.



## **5.1 Immunohistoquímica doble**

Es van realitzar immunohistoquímiques dobles entre diferents proteïnes i CD105. Es va realitzar el protocol general explicat anteriorment, seguit d'una immunofluorescència, utilitzant un anticòs secundari amb fluorescència (FITC) per estudiar la presència de CD105.

### *Protocol general*

Es va seguir el protocol general explicat en el pas anterior fins arribar a revelar utilitzant DAB. Posteriorment es van realitzar els següents passos:

- 1- PBS, 10min (x2)
- 2- Permeabilitzar: PBS-Tween 1%, 5min (x2)
- 3- Bloqueig: PBS-BSA 2%-Tween 0.1%, 30min
- 4- Anticòs 1°:    - Control negatiu: PBS-BSA 1%-Tween 0.1%  
                  - Positiu: CD105 (1:50) en PBS-BSA 1%-Tween 0.1%  
                  2 hores, T° ambient, amb agitació.
- 5- Rentats: PBS-Tween 0.1%, 5min (x4)
- 6- Anticòs 2°: Ab 2° (1:50) en PBS-BSA 1%-Tween 0.1% (control i positiu)  
*Fluorescein (FITC)-conjugated AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Donkey Anti-Goat IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc. Cat N°: 705-096-147).*
- 7- Rentats: PBS, 5min (x4)
- 8- Muntatge en Glycergel

**Taula 10.** Llistat d'anticossos primaris.

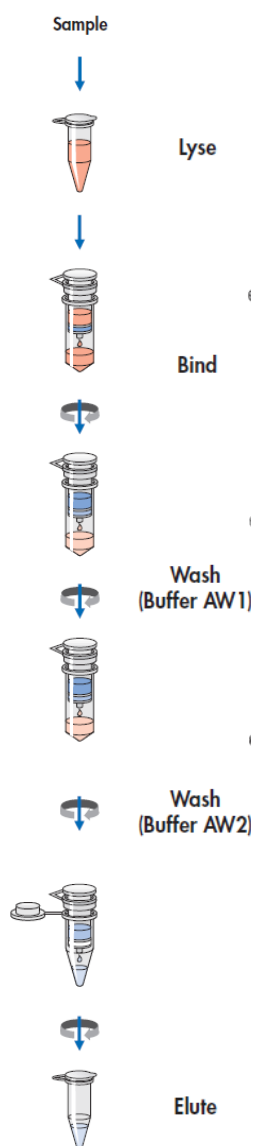
Anticòs	Dilució	Antigen Retrieval	Parafina/OCT	Casa comercial	Referència
HIF-1 $\alpha$	1:2000	Si	Parafina	Abcam	ab8366
CD105	1:50	No	Parafina/OCT	R & D	AF1097
CRP	1:40	No	Parafina	R & D	AF1707
CD30	1:20	Si	Parafina	DakoCytomation	M 0751
IL-6	1:400	No	Parafina	Abcam	ab6672
CD31	1:50	No	Parafina	DakoCytomation	M 0823
CD34	1:50	No	Parafina	NovoCastra	NCI-END
CD40	1:200	No	Parafina	Santa Cruz Biotechnology	C-20 (sc-975)
Apelin-36	1:200	No	Parafina	Phoenix pharmaceuticals	H-057-15
mCRP	1:50	Si	Parafina	*Professor Larry Potempa	M8C10
nCRP	1:50	Si	Parafina	*Professor Larry Potempa	N2C10
TLR4	1:50	Si	Parafina	Santa Cruz Biotechnology	H-80 (sc-10741)
TLR2	1:100	Si	Parafina	Santa Cruz Biotechnology	N-17 (sc-8689)
TLR3	1:100	Si	Parafina	Santa Cruz Biotechnology	N-14 (sc-8691)
CD3	1:100	Si	Parafina	DakoCytomation	A 0452
CD20	1:300	Si	Parafina	DakoCytomation	M 0755
NOTCH3	1:50	No	Parafina	Abcam	ab60087
MMP2	1:200	No	Parafina/OCT	Abcam	ab37150
DLL4	1:50	No	OCT	Abcam	Ab7280
MCP1	1:50	Si	OCT	Santa Cruz Biotechnology	C-17 (sc-1304)
Tie-2	1:50	No	OCT	Santa Cruz Biotechnology	H-176 (sc-9026)

\*Col·laboració amb el Professor Larry Potempa [Ji SR *et al* 2007; Slevin M *et al* 2009]

## 6. Extracció d'ADN de teixit

L'extracció d'ADN es va realitzar a partir de ~ 25mg de teixit utilitzant el *QIAamp DNA Mini Kit* (Quiagen).

### Protocol general:



1. Triturar aproximadament 25mg de teixit en un morter en nitrogen líquid. Transferir la pols derivada a un tub de microcentrifuga de 1,5ml, i afegir 180µl del tampó de lisi de teixits (*buffer ATL*).

2. Afegir 20µl de *Proteinasa K*, vortejar, i incubar a 56°C fins que el teixit estigui completament lisat. Deixar-ho *overnight* en un bany en moviment.

3. Afegir 200µl del tampó de lisi (*buffer AL*) a la mostra, vortejar 15s i incubar a 70°C 10min.

4. Afegir 200µl d'etanol (96°-100°) i vortejar 15s.

5. Afegir la mescla sobre la *QIAamp Spin Column* sense tocar les parets. Centrifugar a 6000g, 1min. Posar la columna en un nou tub de 2ml, i eliminar el filtrat.

6. Afegir 500µl del tampó de rentat (*buffer AW1*) sense tocar les parets. Centrifugar a 6000g, 1min. Posar la columna en un nou tub de 2ml, i eliminar el filtrat.

7. Afegir 500µl del tampó de rentat (*buffer AW2*) sense tocar les parets. Centrifugar a 20000g, 3min.

8. Posar la columna en un nou tub de 1,5ml, i eliminar el filtrat. Afegir 200µl d'aigua destil·lada. Incubar a T° ambient 1min i centrifugar a 6000g, 1min.

9. Repetir el pas n° 8.

10. Guardar a -20°C.

Posteriorment, es va mirar la quantitat i qualitat de l'ADN obtingut llegint l'absorbància a 260nm fent servir l'espectofotòmetre *Nanodrop ND-1000 spectrophotometer* (Thermo scientific).

## 7. Anàlisi per PCR (Polymerase Chain Reaction)

La presència de *Chlamydia pneumoniae* en l'ADN obtingut de les plaques de les diferents artèries es va confirmar per PCR. Es van utilitzar les precaucions necessàries per evitar possibles contaminacions com:

- Utilitzar laboratoris diferents per a l'extracció d'ADN i la realització de la reacció de PCR.
- Utilitzar pipetes diferents per les mostres i per el control positiu.
- No tenir més d'un *epENDORF* obert a la vegada.
- Tenir els *primers* alíquotats, utilitzant una alíquota diferent cada dia que es feia PCR.

Per detectar l'ADN de *C. pneumoniae* amb el grau de sensibilitat necessària es va realitzar una segona etapa de PCR, la *nested* PCR. Els dos sets de *primers* necessaris es van dissenyar amb el programa *Lasergene (DNASTAR)*. Es va estudiar l'especificitat de la seqüència de 474-pb del fragment *PstI* mitjançant BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), per comprovar que només els membres de la família de *C. pneumoniae* posseïen aquesta seqüència i evitar així inespecificitat.

### Fragment *PstI* de *Chlamydia pneumoniae* (format FASTA):

```
CCATTATT CACCGTCGTACAGCAGAAATC GTTGTTTCATGAAGGCCTACTCTTTGATCAAGAGACAATAGA
ACGGATAGAACAAGAAGATTTAGTGGATCTTTTAATGCCTAACTGTGAAATGTATGAAGTGTGAAAGGA
CTTCTATCAGATTACGAAACGGCATTACAACGGCTAGAAATCAAT TATAAGACTGAAGTTGAGCATATTC
GTGAGGGAGATGCAGATTTAGATCATGGTGTCAATTCGCCAAGGTTAAAGTCTACGTTGCCTCTAAGAGAA
AACTTCAAGTTGGAGATAAAATGGCTGGACGACACGGAAATAAAGGTGTTGTTTCCAAA ATCGTTCCCGA
AGCGGATATGCCATA TCTCTCTAACGGAGAAACTG TACAAATGATCCCTGAACCC CCGTTCGGTGCCTTC
AAGGATGAACCTTGGACAGGTATTAGAAACACACCGTAGGTTATGCAGCAAAAC
```

Els *primers* de la primera reacció de PCR (color verd) produeixen una seqüència de 398

- pb:
- Chp-1L (5'-CACCGTCGTACAGCAGAAATC-3')
  - Chp-2R (5'-GGGGTTCAGGGATCATTTGTA-3').

Els *primers* interns (*nested*) continguts dins de la seqüència de 398 pb (color groc) resulten en un producte de 214 pb [Nadareishvili Z. G. 2001]:

- CPN1-L (5'-TTACGAAACGGCATTACAACGGCTAGAAATCAAT-3')
- CPN1-R (5'-TATGGCATATCCGCTTCGGGAACGAT-3')

*Condicions de Reacció:*

Després de 9 minuts inicials a 95°C per activar l'enzim de la PCR, es van realitzar 40 cicles de: 95°C durant 30 segons per a la desnaturalització, 60°C durant 50 segons per l'alineament, i 72°C durant 30 segons per a la elongació. Es va utilitzar l'enzim Takara Ex Taq (5U/ $\mu$ l) (Takara Bio Inc.), i 2,5 $\mu$ l d'ADN de cada mostra per a un volum de reacció final de 25 $\mu$ l. Es van realitzar controls negatius, en els que l'ADN es substituïa per aigua *Braun* i, també es van realitzar controls positius a partir d'ADN de *C. pneumoniae* TW-183 (obtingut del Dr. Essig de l'Institut *für Med Mikrobiologie und Hygiene Universitätsklinikum Ulm Robert-Koch-Str.*, Germany) La *nested* PCR es va realitzar amb 30 cicles de: 94°C durant 15 segons per desnaturalitzar, 60°C durant 1 minut per l'alineament, i 72°C durant 15 segons per a la elongació. Es van utilitzar 2,5 $\mu$ l del producte de la primera reacció.

Totes les PCRs es van realitzar al *9700 Gene Amp PCR System* (Applied Biosystems). Els productes de la PCR es van analitzar mitjançant electroforesi en gel d'agarosa al 2% utilitzant bromur d'etidi i revelant sota llum UV.

## 8. Mètodes electroforètics: Gels d'Agarosa

L'electroforesi horitzontal en gels d'agarosa s'ha utilitzat com a mètode general d'anàlisi de preparacions d'ADN. Els gels d'agarosa separen eficientment fragments de 100-200pb fins 50 kb. La concentració d'agarosa varia normalment entre 0,8 y 2% segons el interval de mida dels fragments a separar.

S'ha utilitzat agarosa amb grau de biologia molecular (Diagnostics Roche, ref: 7000007) a una concentració del 2% per separar els fragments d'ADN de *C. pneumoniae* obtinguts després de realitzar tant la primera reacció de PCR com la *nested* PCR.

### Protocol general:

- Pesar la quantitat necessària d'agarosa, tenint en compte la capacitat del motlle utilitzat, en un erlenmeyer i afegir el volum corresponent de tampó TAE 1x.
- Dissoldre l'agarosa escalfant-la al microones. Anar agitant per a tenir una dissolució homogènia i transparent.
- Quan la dissolució estigui tibia, posar-ho al motlle, i afegir bromur d'etidi fins a una concentració final de 0,2µg/ml. Col·locar la "pinta" per a formar els pous i deixar solidificar durant 20-30 minuts.
- Quan el gel estigui sòlid, col·locar la placa dins la cubeta d'electroforesi i omplir amb el tampó fins cobrir 2-3mm per sobre del gel.
- Afegir el tampó d'aplicació a les mostres.
- Aplicar les mostres als pous.
- Connectar l'electroforesi a 70-90V.
- Els gels s'analitzen amb llum ultraviolada (302nm).

[TAE (Tris-Acetate-EDTA) 50x: 242g Trizma Base, 57,08ml Àcid acètic glacial, 100ml EDTA 0,5M, H<sub>2</sub>O milliQ fins 1000ml]

[EDTA 0,5M, pH 8,0: 46,53g EDTA, 4,8g NaOH, H<sub>2</sub>O milliQ fins 250ml]

[Tampó de mostres 6x: 0,25% blau de bromofenol, 0,25% xilen cianol, 30% glicerol]

## 9. Test de Microimmunofluorescència (*Chlamydia pneumoniae* IgG/IgM/IgA Micro-IF Test Kit, ANILabsystem)

El test de microimmunofluorescència (MIF) es basa en una mesura indirecta dels anticossos IgG, IgM i IgA front *Chlamydia pneumoniae* utilitzant *fluorescein isothiocyanate* (FITC) com a marcador. Quan en el sèrum dels pacients existeixen anticossos front *C. pneumoniae*, aquests combinen amb antígens de *C. pneumoniae* presents en la superfície dels portaobjectes del kit. Es fan rentats i s'afegeixen els anticossos *anti-human* conjugats amb fluoresceïna. Es fan rentats i la fluorescència de color verd es detecta amb el microscopi. Els cossos elementals (EBs) de *C. pneumoniae* s'utilitzen com a antígens en el test.

### Protocol general

✚ **Preparació de dilucions del sèrum:** Preparar dilució 1:8 de la mostra inicial de sèrum amb PBS. Fer un banc de dilucions.

#### ✚ Pas 1

- Afegir 10µl de cada dilució i una gota dels controls positius i negatius (proporcionats pel Kit) en els portaobjectes.
- Incubar en una cambra humida a 37°C: IgG, 30min; IgM, 3h; IgA, 30min.
- Rentar i deixar assecar completament

#### ✚ Pas 2

- Afegir 1 gota del conjugat (*anti-human IgX-FITC-Conjugate*)
- Incubar en una cambra humida a 37°C, 30min
- Rentar i deixar assecar completament

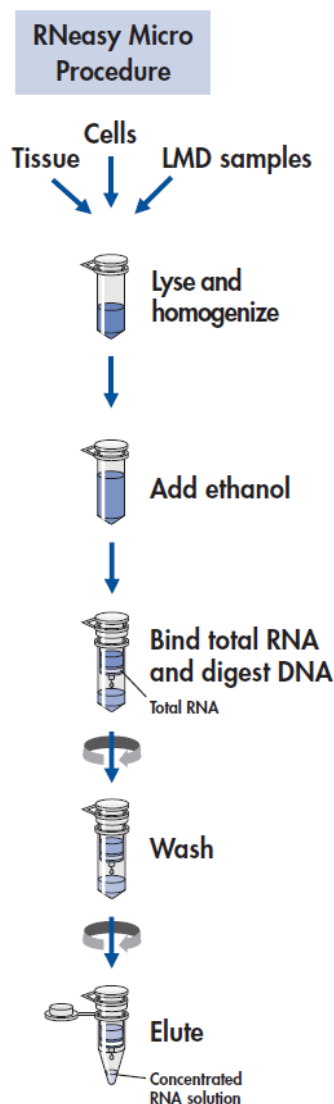
#### ✚ Pas 3

- Afegir el medi de muntatge i posar un cubreobjectes.
- Interpretar els resultats al microscopi (Olympus Vanox AHBT3), x1000 magnificació, positiu:
  - IgA  $\geq$  1:8
  - IgG  $\geq$  1:32
  - IgM  $\geq$  1:16

## 10. Extracció d'ARN de la microdissecció de seccions congelades

L'extracció d'ARN es va realitzar utilitzant el *RNeasy MicroKit* (Quiagen).

*Protocol general:*



1. Descongelar les mostres a 37°C.
2. Afegir el tampó de lisi (*Buffer RLT* +  $\beta$ -mercaptoetanol) fins a obtenir un volum final de 350 $\mu$ l. Vortejar 30s.
3. Afegir un volum d' etanol 70%.
4. Afegir els 700 $\mu$ l a les columnes del kit. Centrifugar 15s a > 10000rpm.
5. Afegir 80 $\mu$ l de *DNasa I* a sobre de la membrana de la columna. Deixar 15min a T° ambient.
6. Posar 350 $\mu$ l de tampó de rentat (*Buffer RW1*).
7. Centrifugar 15s a  $\geq$  8000g.
8. Transferir la columna a un nou tub de 2ml. Posar 500 $\mu$ l de tampó de rentat (*Buffer RPE*) a la columna. Centrifugar 15s a  $\geq$  8000g.
9. Afegir 500 $\mu$ l etanol 80%. Centrifugar 2min a  $\geq$  8000g per assecar la membrana.
10. Transferir la columna a un nou tub de 2ml. Obrir el tap de la columna i centrifugar 5min al màxim.
11. Transferir la columna a un *eppendorf* de 1,5ml. Posar 14 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O *RNasa Free* a la membrana. Centrifugar 1min al màxim.
12. Congelar a -80°C.



## 11. Extracció d'ARN total de cèl·lules animals

L'extracció d'ARN es va realitzar utilitzant el *Rneasy MiniKit* (Quiagen) o mirVana™ (*miRNA Isolation Kit*, Applied Biosystems).

### A) *Rneasy MiniKit* (Quiagen)

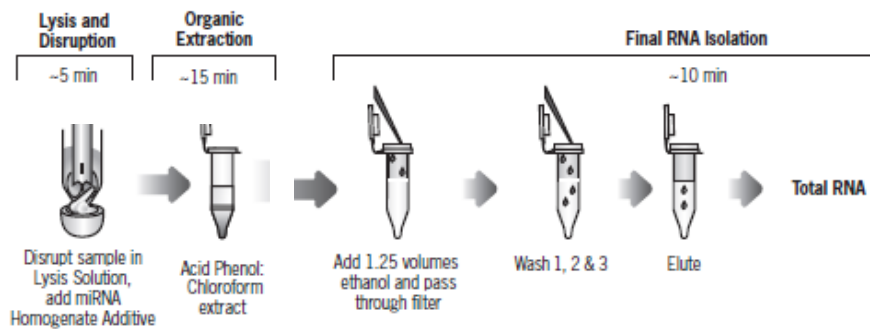
#### Protocol general:



1. Eliminar el medi dels pous de la placa de 6 pous. Rentar amb PBS 1x.
2. Afegir 350µl de tampó de lisi (*buffer RLT*) (per a  $<5 \times 10^6$  cells). Per  $5 \times 10^6$  -  $1 \times 10^7$  utilitzar 600µl.
3. Escrapejar. Recollir en un *eppendorf*.
4. Passar per una xeringa (0,9mm diàmetre) el volum 5 cops mínim.
5. Afegir un volum d'etanol 70% per a homogeneïtzar el lisat.
6. Afegir els 700µl a les columnes del kit.
7. Centrifugar 15s a  $\geq 8000g$ .
8. Afegir 700µl del tampó de rentat (*Buffer RW1*). Centrifugar 15s a  $\geq 8000g$ .
9. Afegir 500µl del tampó de rentat (*Buffer RPE*). Centrifugar 15' a  $\geq 8000g$ .
10. Afegir 500µl Buffer RPE. Centrifugar 2min a  $\geq 8000g$ .
11. Posar la columna en un tub de 1,5ml i afegir 30-50µl H<sub>2</sub>O *RNasa Free* a sobre de la membrana. Centrifugar 1min  $\geq 8000g$  per a eluir.
12. Congelar a -80°C.

B) mirVana™ (*miRNA Isolation Kit*, Applied Biosystems)

Es va utilitzar el kit mirVana per obtenir ARN total de cèl·lules animals incloent els ARN petits anomenats microARNs. Els microARNs són molècules d'ARN transcrits a partir de gens d'ADN, però no son traduïdes a proteïna. Tenen una longitud d'uns 20-25 nucleòtids i la seva funció està relacionada amb la regulació de l'expressió gènica.

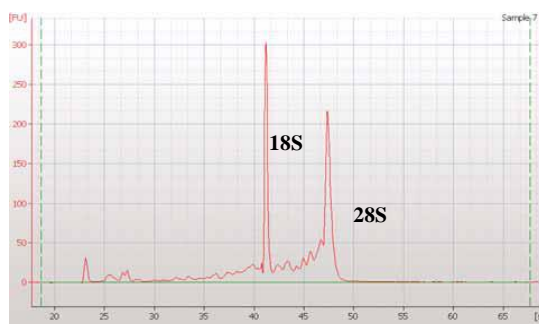
*Protocol general:*

1. Afegir 600µl solució de lisi per a milions de cèl·lules. Vortejar.
2. Afegir un volum 1/10 de *miRNA Homogenate Additive*. Vortejar i deixar 10min en gel.
3. Afegir un volum de *Acid-Phenol:Chloroform* igual al punt 1. Vortejar 30-60s.
4. Centrifugar 10000g, 5min T° ambient.
5. Transferir la fase aquosa a un nou tub. Anotar el volum.
6. Afegir 1,25 volum d'etanol 100% a la fase aquosa.
7. Pipetejar la mescla lisat/etanol a la *Filter Cartridge column*. Centrifugar 15s a 10000g.
8. Afegir 700µl de tampó de rentat (*Wash solution 1*). Centrifugar 10s.
9. Afegir 500µl de tampó de rentat (*Wash solution 2/3*). Centrifugar 10s. Repetir.
10. *Spin* 1min.
11. Afegir 100µl de H<sub>2</sub>O *RNasa Free* pre-calentada a 95°C. Centrifugar 30s al màxim.
12. Congelar l'ARN eluït a -80°C.

## 12. Estudi de la qualitat i quantitat de l'ARN obtingut

Es va mesurar la quantitat d'ARN obtingut llegint l'absorbància a 260nm fent servir l'espectrofotòmetre Nanodrop *ND-1000 spectrophotometer* (Thermo scientific).

Es va estudiar la qualitat de l'ARN mitjançant l'*Agilent 2100 Bioanalyzer* (Agilent Biotechnologies). Segons la quantitat d'ARN que s'esperava es van utilitzar *Pico Chips* (50-5000pg/ $\mu$ l) o *Nano Chips* (5-500ng/ $\mu$ l). S'utilitza només 1 $\mu$ l d'ARN. El 2100 *Bioanalyzer Expert software* genera un *RNA Integrity Number (RIN)* que s'utilitza com a mesura de la integritat i que és independent de la concentració.



**Figura 26.** Pics d'una mostra correguda correctament al Bioanalyzer

## 13. Retrotranscripció o Transcripció Reversa (RT)

La síntesi de la cadena d'ADN complementari (cDNA) a partir de l'ARN, es va realitzar amb l'enzim transcriptasa reversa MultiScribe™ (50U/ $\mu$ l), fent servir el sistema *High-Capacity cDNA Archive Kit* (Applied Biosystems). Seguint les instruccions del fabricant, 0,5-2 $\mu$ g d'ARN total van ser retrotranscrits a cDNA. Els productes de cDNA obtinguts van ser analitzats mitjançant PCR a temps real (*Real Time Polymerase Chain Reaction*).

### Condicions de reacció:

- 10min a 25°C
- 2h a 37°C
- 5min a 85°C
- Guardar a -20°C

## 14. PCR semiquantitativa a temps real

Per tal de quantificar l'expressió gènica es va utilitzar la tècnica de PCR quantitativa a temps real. Es tracta d'una tècnica molt sensible que permet quantificar nivells d'expressió gènica de manera ràpida i reproducible, monitoritzant l'expressió a temps real.

Per a cada gen que es va voler analitzar es va utilitzar *TaqMan Gene expression Assay* (Applied Biosystems) que conté la sonda i els primers (*forward and reverse*). Les dades es van normalitzar utilitzant un gen normalitzador, el qual manté la seva expressió igual independentment de la mostra.

El cDNA de cada mostra es va combinar amb *l'assay*, *H<sub>2</sub>O Rnase free* i *TaqMan Gene expression Master Mix* (Applied Biosystems). Les reaccions es van fer en plaques de 384 pous utilitzant el sistema *ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System* (Applied Biosystems).

### Condicions de reacció:

- 2min a 50°C
- 10min a 95°C
- 40 cicles de desnaturalització a 95°C per 15s, i alineament i extensió a 60°C durant 1min.

## 15. Human Caotid Artery Endothelial cells (HCtAECs)

El cultiu primari de cèl·lules endotelials de caròtida humana HCtAECs es va fer créixer en *MesoEndo Cell Growth medium* (Cell Applications, Inc.). Aquest medi està totalment suplementat amb FBS, factors de creixement, traces d'elements i antibiòtics. Es van fer créixer en una estufa d'atmosfera humida a 37°C i 5% CO<sub>2</sub>.

## 16. *Chlamydia pneumoniae*

Els cossos elementals de la bactèria *C. pneumoniae* venen en cèl·lules Hep-2 infectades amb *C. pneumoniae* (ATCC VR-1310™).

Títol:  $10^{5,75}$  TCID<sub>50</sub> / 0,2ml en 3 dies en Hep-2 a 37°C amb 5% CO<sub>2</sub>.

Es descongela el vial de cèl·lules Hep-2 infectades amb *C. pneumoniae* ràpidament al bany. Es descontamina abans d'obrir amb etanol 70% i s'afegeix a un falcon de 15ml on s'han dipositat prèviament *glass beads*. Es vorteja durant 15min i seguidament es centrifuga a 500g durant 5min a T° ambient per eliminar les restes cel·lulars. El sobrenedant es guarda a -80°C.

### 16.1 Infecció de HCtAECs per *C. Pneumoniae*

- Inocular els µl de sobrenedant necessaris segons la quantitat de cèl·lules que es vol infectar.
- Centrifugar durant 1h a 1000g i 25°C.
- Deixar la placa a l'incubador 1h a 37°C i 5% CO<sub>2</sub>.
- Canviar el medi vell per medi complet.
- Deixar la placa a l'incubador 72h.

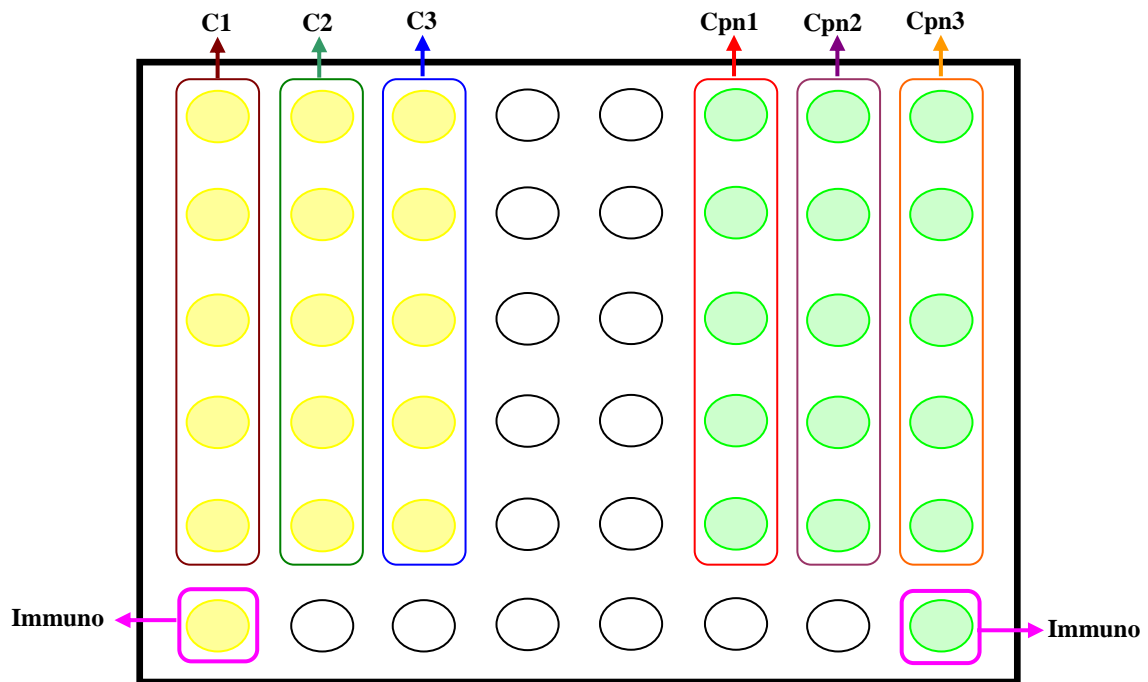
### 16.2 Titulació

Es va preparar una placa de 48 pous amb cobreobjectes. Es van sembrar diferents pous amb cèl·lules HCtAECs a una concentració de  $10^4$  cel/pou i es van deixar a l'incubador a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

A les 72h d'haver sembrat les cèl·lules es van infectar amb 10, 20 o 30µl de sobrenedant seguint el protocol. Es va deixar 72h a l'incubador a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, i posteriorment es van fer les immunocitoquímiques de totes per trobar quina era la quantitat necessària per infectar més del 75% de les cèl·lules.

### 16.3 Estudi de la diferència d'expressió gènica entre cèl·lules control i cèl·lules infectades a diferents temps

Es van preparar 3 plaques de 48 pous on es van sembrar 32 pous amb  $10^4$  cel/pou (a dos dels quals se'ls hi va posar inicialment un cobreobjecte per tal de fer la immunocitoquímica). Es van deixar créixer durant 72h.



**Figura 27.** Exemple diseny placa 48 pous. Rèpliques controls negatius: C1, C2, C3. Rèpliques positius: Cpn1, Cpn2, Cpn3.

S'infecten els pous positius inoculant  $20\mu\text{l}$  de sobredant. Es centrifuga el flascó durant 1h,  $1000g$  a  $25^{\circ}\text{C}$ . Posteriorment es deixa a l'incubador a  $37^{\circ}\text{C}$  i  $5\% \text{CO}_2$  durant 1 h.

- **Placa 2h:** es comença amb l'extracció d'ARN amb el kit de *mirVana*.
- **Placa 24h:** després de l'hora d'incubació, es canvia el medi vell per medi fresc. Es deixa 22h més d'incubació i posteriorment es realitza l'extracció d'ARN.
- **Placa 72h:** després de l'hora d'incubació, es canvia el medi vell per medi fresc. Es deixa 70h més d'incubació i posteriorment es realitza l'extracció d'ARN.

\* Es realitzen les immunocitoquímiques a l'acabar l'extracció d'ARN.

## 16.4 Immunocitoquímica

- Rentar amb HBSS fred (x2)
- Fixar amb PFA 4% fred 15 min
- Rentar amb HBSS fred (x2)
- EtOH 70% fred, 30 min, T° amb
- Rentar amb HBSS fred (x2)
- Bloqueig: 3% BSA en PBS, 1h, T° amb
- 0,1% Triton-X-100 en PBS, 2 min
- Rentar amb el tampó de bloqueig (x2)
- Anticòs: 1:50 en tampó de bloqueig (protegir de la llum)  
*Chlamydial Monoclonal (FITC Conjugated) with Evans Blue* (Fitzgerald)
- Rentar amb el tampó de bloqueig (x5)
- Muntatge.  
*Mounting fluid for fluorescence (with DAPI 1.5 µg/ml)* (Vector Laboratories).

## 17. Anàlisi quantitatiu de neovasos

Es va fer un comptatge manual dels microvasos marcats amb CD34 i CD105. Tots els neovasos de les àrees neoíntima i adventícia van ser comptats utilitzant camps d'una magnificació de X200 (1mm<sup>2</sup>) amb el microscopi Olympus Vanox AHBT3 en tots els tipus arterials. Es va definir cada microvas com al lumen rodejat d'una capa de cèl·lules endotelials marcats amb l'anticòs CD34. Els vasos actius angiogènicaament van ser definits com aquells marcats amb l'anticòs CD105.

El total de microvasos que es van comptar de la secció de cada mostra es va dividir per l'àrea total de la secció definint com a densitat de neovasos al nombre de microvasos per mm<sup>2</sup>. La densitat de neovasos de la capa adventícia de la zona de l'artèria on existia la placa va ser comparada amb la densitat que es trobava en una altra zona de la mateixa artèria on no hi havia engrossiment de la paret.

Es va realitzar un estudi morfomètric utilitzant la càmera Sony DXC-S500 junt amb el programa Visilog 4.1.5 (Noesis).

## 18. Microarrays

Per tal de realitzar la determinació de perfils d'expressió gènica s'ha utilitzat la tecnologia dels microarrays que permet la quantificació relativa de l'expressió gènica amb l'avantatge de que es poden analitzar milers de gens a la vegada.

Els microarrays consisteixen en un gran número de molècules d'ADN ordenades sobre un substrat sòlid de manera que formen una matriu de seqüències de dos dimensions. Aquests fragments de material genètic poden ser seqüències curtes denominades oligonucleòtids, o de grandària superior, cADN (sintetitzat a partir de mARN), o bé productes de PCR (replicació in vitro de seqüències d'ADN mitjançant la reacció en cadena de la polimerasa). A aquests fragments d'ADN immobilitzats en el suport se'ls denomina "sondes". Els àcids nucleics de les mostres a analitzar es marquen per diversos mètodes (enzimàtics, fluorescents, etc.) i s'incuben a sobre del panell de sondes, permetent la hibridació (reconeixement i unió entre molècules complementàries) de seqüències homologues. Durant la hibridació, les mostres de material genètic marcades, s'uniran a les complementàries immobilitzades en el suport del chip, permetent la identificació i quantificació de l'ADN present en la mostra. Posteriorment, l'escàner i les eines informàtiques ens permeten interpretar i analitzar les dades obtingudes.

Els experiments d'hibridació de microarrays presentats en aquest treball es van realitzar en el Laboratori de la Unitat de Microarrays del Centre de Regulació Genòmica (CRG) de Barcelona. En aquest experiment les cèl·lules HCtAECs van ser infectades amb *C. pneumoniae* durant 3 temps d'incubació: 2, 24 i 72h, procedint seguidament a l'extracció de l'ARN amb el mirVana *Kit*.

### 18.1 Disseny de l'experiment de microarrays

El disseny típic d'un experiment de microarrays consta de diverses etapes: l'aïllament de la mostra d'ARN, l'amplificació i el marcatge d'aquest ARN, la hibridació amb l'*array* i la detecció del senyal i posterior anàlisi de dades.

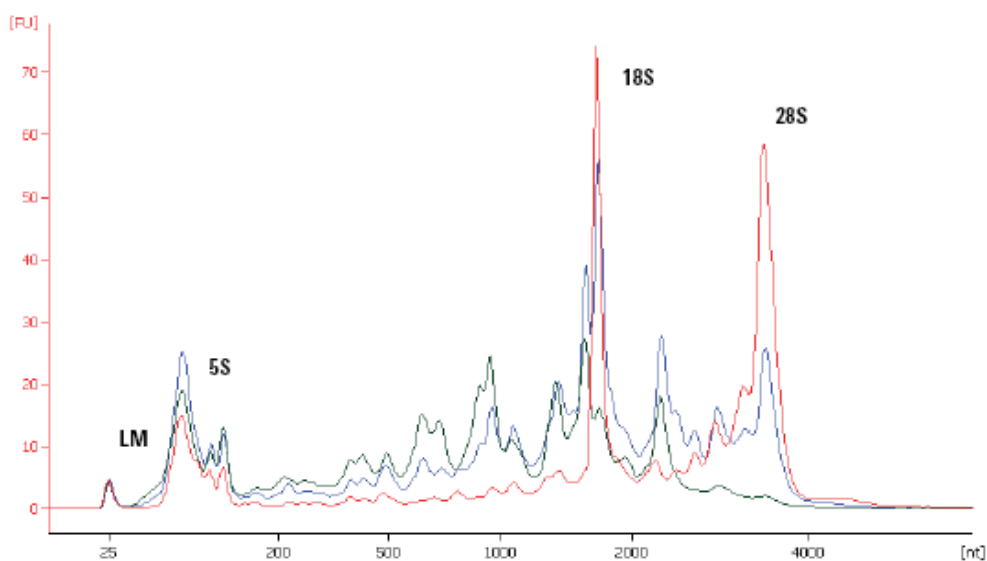


### 18.1.1 Extracció d'ARN total

Les mostres d'ARN total es van extreure fent servir el kit *miRNA Isolation Kit* mirVana (Applied Biosystems). Posteriorment es va realitzar la seva purificació tractant-les amb DNasa I (*Rneasy MicroKit*) per eliminar les restes d'ADN genòmic tal i com es descriu a l'apartat 10 de la secció de Materials i Mètodes.

### 18.1.2 Comprovació de la qualitat i quantitat de l'ARN

La puresa de l'ARN utilitzat és un factor crític en la hibridació de microarrays. La qualitat de l'ARN ha de ser d'un RIN  $\geq 8,0$  i una relació d'absorbàncies  $Abs_{260}/Abs_{280} = 1,8 - 2,0$  nm i  $Abs_{260}/Abs_{230} >2,0$  nm, indicant absència de contaminació per proteïna o compostos orgànics respectivament. La concentració de l'ARN va ser mesurada fent servir l'espectrofotòmetre Nanodrop i la seva qualitat va ser determinada per nanoelectroforesi amb el sistema Bioanalyzer 2100 (Agilent).

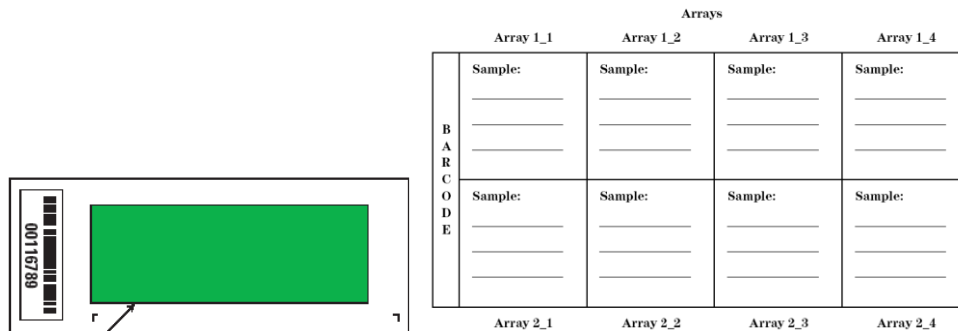


**Figura 28.** Anàlisi d'ARN total (humà) amb el “*Eukaryote total RNA Nano assay*” utilitzant tres mostres diferents amb un RIN decreixent: Vermell:, RIN 8,4; Blau, RIN 5,9; Verd, RIN 3,6. Es mostren els pics característics de l'ARN ribosomal i el *lower marker* (LM)

### 18.1.3 Amplificació, síntesi i marcatge del cADN

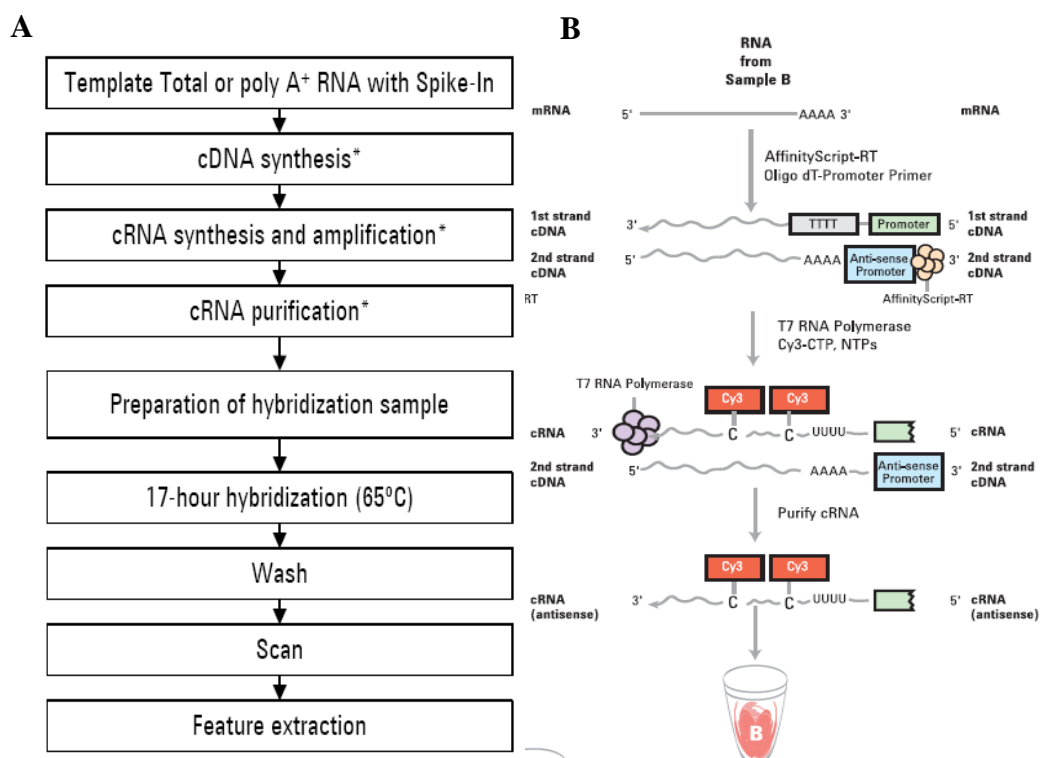
El material d'inici són 100ng d'ARN total en 1,5 $\mu$ l màxim (70ng/ $\mu$ l). Es van utilitzar els microarrays d'expressió gènica “SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K” de la plataforma Agilent. Consisteixen en un format d'un portaobjecte on hi ha 8 *arrays* per

portaobjecte (Figura 29). A cada *array* hi ha sondes per 27958 gens i 7419 *lincRNAs*. També s'utilitzen controls positius (96x10 controls i 32x10 E1A *spike-in control probes*).



**Figura 29.** Esquema d'organització dels 8 *arrays* per portaobjecte.

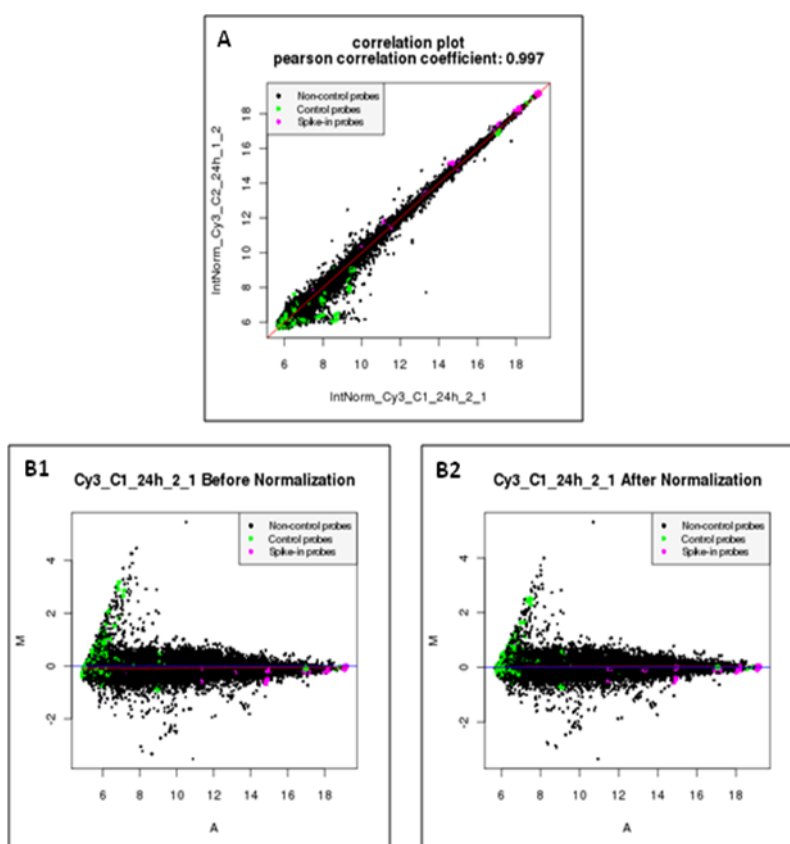
S'ha utilitzat el protocol d'1 color. Aquest tipus d'anàlisi utilitza sondes marcades amb *cyanine-3* (Cy3) per tal de mesurar l'expressió gènica tant dels controls com de les mostres. La figura 30 mostra el protocol de treball estàndard per a la preparació de la mostra, amplificació del cARN i la hibridació.



**Figura 30.** A) Protocol general de treball de la preparació de les mostres i el processament de l'array. \* Les mostres es poden guardar a  $-80^{\circ}\text{C}$  després d'aquesta etapa si és necessari. B) Esquema del procés d'amplificació del cARN

### 18.1.4 Anàlisi de les imatges, extracció, normalització i processat de les dades

Les imatges del canal de fluorescència Cy3 van ser captades amb l'escàner Agilent G2565BA. La qualitat de cada hibridació individual s'ha analitzat fent servir el software *Feature Extraction Software* (Agilent). La qualitat i comparació de les mostres abans i després de la normalització s'analitza mitjançant estudis estadístics i l'anàlisi de diferents figures com els *boxplots* d'intensitats (Figura 31A) o els MA plots (Figura 31B). Es corregeix el soroll de fons utilitzant el mètode *normexp* [Ritchie ME 2007]. Per assegurar la comparació entre mostres s'usa la normalització de quantils [Bolstad B 2001].



**Figura 31.** A) exemple d'un *boxplot* d'intensitats. B) Exemple de MA plots abans (B1) i després (B2) de la normalització

Tots els anàlisis estadístics es tracten a un servidor web local que implementa el paquet *Limma* desenvolupat dintre del projecte *Bioconductor* [<http://www.bioconductor.org/>] en l'entorn de programació estadística R [<http://cran.r-project.org/>] [Gentleman RC 2004]. L'anàlisi d'expressió diferencial es calcula mitjançant un estadístic empíric Bayesià de models lineals (*limma*) [Smyth GK 2004]. Els resultats es corregeixen a través de múltiples tests d'acord amb el mètode del *False Discovery Rate* (FDR) [Benjamini Y 1995]. Els gens

diferencialment expressats es van escollir fent servir com a criteri de tall (*cut off*) una taxa de canvi (FC, *Fold Change*) absoluta per damunt de 1,2 i un *p*-valor ajustat inferior a 0,05. Un valor de FC =1,2 significa un increment d'un 20% en l'expressió del grup 2 respecte el grup 1. Les taules de dades van ser visualitzades emprant *AFM 4.0 Array File Marker*, una aplicació d'*Excel* [Breitkreutz B-J 2001].

## 18.2 Anàlisi i interpretació de les dades de microarrays

### 18.2.1 Time Course Microarray Data

La tecnologia dels microarrays permet supervisar els nivells d'expressió de milers de gens simultàniament i per tant és molt important tenir la metodologia adequada per veure els canvis que es produeixen en l'expressió gènica al llarg del temps (*microarray time course*, MTC). El disseny d'un experiment típic de *time-course* sol incloure un nombre de tractaments experimentals que són supervisats per un relativament petit nombre de punts en el temps.

Els mètodes de *clustering*, habitualment utilitzats per trobar gens amb un mateix patró d'expressió, s'utilitzen també en els anàlisis de les dades de *time-course*. Els mètodes de *clustering* es basen en la definició d'una distància entre patrons per a trobar relacions entre gens. Estadísticament però, aquesta tècnica no ofereix el marc adequat per trobar diferències estadísticament significatives entre condicions. És més convenient utilitzar primer un mètode estadístic que identifiqui els gens amb canvis en l'expressió gènica i posteriorment dividir els gens seleccionats en *clusters* per visualitzar els resultats.

Els mètodes estadístics tradicionals (t-test, ANOVA, etc) s'han utilitzat per l'estudi de les dades de microarrays per identificar gens diferencialment expressats [Pan W 2002, Kerr MK 2000, Wolfinger RD 2001]. Avui dia existeixen mètodes molt més acurats com són el SAM (*Significance Analysis of Microarrays*, Tusher V 2001) i el LIMMA (*Linear Models for Microarray Data*, Smyth GK 2004). Aquests mètodes però, encara que són molt potents, es centren principalment en comparacions entre dos grups i la seva aplicació en els anàlisis de *time-course* pot ser inefectiva per capturar la dinàmica d'aquest tipus de dades [Conesa A 2006]. Per això s'ha utilitzat un mètode molt més potent, el mètode

maSigPro (*microarray Significant Profiles*). Aquest mètode permet no només trobar gens amb canvis en l'expressió en el temps sinó també analitzar la magnitud d'aquestes diferències.

El sistema maSigPro utilitza mètodes univariants de regressió amb variants binàries per a modelar l'expressió gènica en el temps i trobar diferències entre series diferents associades a condicions experimentals diverses. La primera regressió ajusta el model global i serveix per identificar els gens d'interès, mentre que, en la segona etapa s'aplica una estratègia de selecció de variables per detectar, gen a gen, els perfils amb evolució diferencialment significativa en el temps. Els coeficients obtinguts en aquesta segona regressió són útils per fer *clusters* de gens significatius amb un patró d'expressió similar i poder visualitzar els resultats [Conesa A 2009].

L'objectiu de l'anàlisi de les dades o de les anàlisis de *clustering*, és l'obtenció d'informació sobre característiques biològiques comunes en un grup de gens d'interès. Existeixen diversos programes que faciliten aquest anàlisi, la majoria dels quals utilitzen els termes de *Gene Ontology*.

*Gene Ontology* (GO) és un projecte col·laboratiu que té com a objectiu generar un vocabulari comú i dinàmic per a les descripcions dels productes gènics en les diferents bases de dades. Els tres principis organitzatius del terme GO són: el **component cel·lular**, les parts d'una cèl·lula o el seu entorn extracel·lular; la **funció molecular**, les activitats elementals d'un producte gènica a nivell molecular, com la unió o la catàlisi; i el **procés biològic**, operacions o esdeveniments moleculars amb un principi i final definits, pertinents al funcionament d'unitats de vida integrades: cèl·lules, teixits, òrgans i organismes. Un producte gènica pot tenir més d'una funció molecular, pot ser utilitzat en un o més processos biològics, i podria estar associat amb més d'un component cel·lular [<http://www.geneontology.org/>].

### 18.2.2 Anotació funcional

L'anotació és la pràctica de capturar les activitats i la localització d'un producte gènic en termes de GO, proporcionant referències i indicant quin tipus de proves estan disponibles per donar suport a les anotacions.

Per tal d'esbrinar si els gens significativament regulats o que coexpressaven en el nostre sistema de *clusters*, compartien entre ells una funció biològica similar, es va realitzar un estudi d'anotació funcional fent servir el programa **FatiGO** (*Fast transference of information using Gene Ontology*) a través del software Babelomics 4.2 [<http://babelomics.bioinfo.cipf.es/functional.html>]. Es va comparar la llista de gens de cada *cluster* diferencialment regulats amb un criteri de  $|FC| \geq 1,2$  i un p-valor ajustat  $\leq 0,05$  amb la resta de gens presents al xip, fent servir la base de dades de GO i KEGG *pathways*.

Per tal de fer un anàlisi complet i identificar tant mecanismes biològics, rutes metabòliques, funcions així com els gens més rellevants de l'estudi es va utilitzar el software **Ingenuity Pathways Analysis** (IPA) [<http://www.ingenuity.com>].

IPA inclou relacions modelades entre productes químics, proteïnes, gens, mutacions, complexos, cèl·lules, components cel·lulars, teixits, medicines, processos cel·lulars, malalties i fenotips clínics, permetent integrar una àmplia varietat d'informació en un sol lloc. IPA inclou les relacions que han estat incloses a mà a la literatura (Ingenuity<sup>®</sup> Expert Findings) així com la informació que ha estat repassada i automàticament extreta de la literatura (Ingenuity<sup>®</sup> ExpertAssist Findings). IPA permet filtrar i triar quina informació es vol utilitzar. A més, IPA inclou el contingut a mà repassat de terceres fonts seleccionades (Ingenuity<sup>®</sup> Supported Third Party Information), incloent Entrez Gene, RefSeq, OMIM, GWAS Database, Gene Ontology, Human Metabolome Database (HMDB), KEGG metabolic pathway information, LIGAND enzyme/substrate reactions, Drugs@FDA, etc

Es va realitzar l'opció *IPA Core analysis* que lliura una avaluació ràpida de les rutes de senyalització i rutes metabòliques, xarxes moleculars, i els processos biològics que estàn més considerablement alterats en la base de dades d'interès. Es va pujar a la

aplicació una base de dades per a cada un del tres temps que incloïa els identificadors dels gens amb el seu FC corresponent, gens prèviament seleccionats amb un  $|FC| \geq 1,2$  i un p-valor ajustat  $\leq 0,05$ . El llindar per a una associació significativa va ser determinada per el valor  $-\log(0,05)$ , sent estadísticament significatiu qualsevol valor per sobre de 1,3. També es va utilitzar l'opció *IPA Comparison Analysis* per comparar els resultats entre els tres temps.

### **18.2.3 Validació dels resultats**

Es van validar els gens d'interès que es van seleccionar posteriorment a l'anàlisi realitzat amb el FatiGo i l'IPA mitjançant qRT-PCR a través del disseny d'una targeta *384-well micro fluidic card (TaqMan Low Density Array, Applied Biosystems)*. Es va dissenyar una targeta del format 48 (*47 assays +1 mandatory control*) utilitzant 4 mostres per placa (duplicats). Els 47 gens d'interès es presenten a la Taula 11.

- A cada pou s'han d'introduir 100µl de la següent reacció:
  - cADN (30 a 1000ng) + aigua *RNase-free* = 50µl
  - *TaqMan Universal PCR Master Mix (2X)* = 50µl
- Carregar els pous
- Centrifugar 1200rpm, 1min (x2)
- Segellar la placa
- Retallar el carregador de mostres
- Realitzar la lectura amb l'instrument 7900HT (*software SDS 2.4*)
- Analitzar les dades amb RQ Manager 1.2.1 i DataAssist v3.0

Taula 11. Gens validats per qRT-PCR.

GeneSymbol	Assay ID	GeneName
ACE	Hs00174179_m1	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1
APLN	Hs00175572_m1	apelin
B2M	Hs00984230_m1	beta-2-microglobulin
BIRC3	Hs00154109_m1	baculoviral IAP repeat containing 3
CCL20	Hs01011368_m1	chemokine (C-C motif) ligand 20
CD83	Hs00188486_m1	CD83 molecule
CSF2	Hs00929873_m1	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)
CSF3	Hs00357085_g1	colony stimulating factor 3 (granulocyte)
CXCL1	Hs00236937_m1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)
CXCL2	Hs00601975_m1	chemokine (C-X-C motif) ligand 2
FOSB	Hs00171851_m1	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B
HLA-B	Hs00818803_g1	major histocompatibility complex, class I, B
HLA-C	Hs00740298_g1	major histocompatibility complex, class I, C
HLA-G	Hs00365950_g1	major histocompatibility complex, class I, G
ICAM4	Hs00169941_m1	intercellular adhesion molecule 4 (Landsteiner-Wiener blood group)
IFI27	Hs00271467_m1	interferon, alpha-inducible protein 27
IFI44L	Hs00199115_m1	interferon-induced protein 44-like
IFI6	Hs00242571_m1	interferon, alpha-inducible protein 6
IFITM1	Hs00705137_s1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)
IFNGR1	Hs00988304_m1	interferon gamma receptor 1
IL1A	Hs00174092_m1	interleukin 1, alpha
IL8	Hs00174103_m1	interleukin 8
IRAK2	Hs00176394_m1	interleukin-1 receptor-associated kinase 2
IRF7	Hs00185375_m1	interferon regulatory factor 7
JUNB	Hs00197370_m1	jun B proto-oncogene
MAP2K3	Hs00177127_m1	mitogen-activated protein kinase kinase 3
MAP3K8	Hs00178297_m1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8
NFKB1	Hs00765730_m1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1
NFKBIA	Hs00153283_m1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha
NFKBIE	Hs00234431_m1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, epsilon
OAS1	Hs00973637_m1	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa
OAS2	Hs00942643_m1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa
PDGFA	Hs00964426_m1	platelet-derived growth factor alpha polypeptide
PPIA*	Hs99999904_m1	peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A)
PSMB9	Hs00160610_m1	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional peptidase 2)
PTGS2	Hs00153133_m1	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)
SELE	Hs00950401_m1	selectin E
SOCS3	Hs02330328_s1	suppressor of cytokine signaling 3
SOD2	Hs00167309_m1	superoxide dismutase 2, mitochondrial
TAP1	Hs00388675_m1	transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)
TBP*	Hs00920494_m1	TATA box binding protein
TLR3	Hs01551078_m1	toll-like receptor 3
TNF	Hs00174128_m1	tumor necrosis factor
TNFAIP3	Hs00234713_m1	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3
TRAF1	Hs01090170_m1	TNF receptor-associated factor 1
VEGFA	Hs00900055_m1	vascular endothelial growth factor A
VWF	Hs00169795_m1	von Willebrand factor

\* Gens normalitzadors



## **19. Anàlisi estadística**

Tots els anàlisis estadístics es van realitzar amb el programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) 15.0 per *Windows* (versió 15.0, SPSS Inc.).

- Anàlisi descriptiu (N, mitja, desviació estàndard) i de freqüències de les variables estudiades.
- Anàlisi de la variància (ANOVA) : estudi de les diferències entre les mitges de les variables quantitatives. Per la comparació de dos grups es va realitzar la t de Student.
- Test no paramètric Kruskal-Wallis: comparació de 3 o més mitges.
- Khi-quadrat ( $\chi^2$ ) : estudi de les diferències en les variables qualitatives
- Test no paramètric Wilcoxon: comparació de dos mitges per a dades aparellades.

Es va assumir com a diferències estadísticament significatives quan el *P-valor*  $\leq 0,05$ .

Taula 12 . Dades clíniques caròtides amb estenosi <50%

Pacients	Edat	Sexe	Factors de risc vascular	Causa de mort	Classificació AHA	WBC [3*9-10]	Glucosa (mmol/l) [4*1-6*9]	Colesterol (mmol/l) [<=5*2]	Fibrinogen (g/l) [2-4]	Rasb	Estatines	Antiplaquetaris
1	74	Home	DM II, alcoholisme	Insuficiència respiratòria subaguda	Va	6,2	8,2	2,61	2,86	no	no	si
2	69	Home	Fumador, alcoholisme	Neoplasia pulmonar	III	17,4	7,7	.	.	no	no	no
3	76	Home	cap	Neoplasia vesical	V	18,2	5,9	3,53	4,07	.	.	.
4	74	Home	HTA, DL, ictus	Fallida multiorgànica	V	4,6	5,2	.	9,23	no	si	no
5	76	Home	HTA, DM II, DL	Aturada cardíaca	IV	.	.	.	.	no	si	si
6	70	Home	Fumador, alcoholisme, HTA, obesitat	Ruptura aòrtica	Va	10,9	5,2	.	.	no	no	no
7	70	Home	DM II, fumador, alcoholisme	Aturada cardíaca	Va	10,6	3,8	3,15	.	.	.	.
8	82	Home	Fumador, HTA	Neoplàsia pulmonar	II/III	7,6	6,5	4,66	.	no	si	si
9	63	Dona	Stroke, CAD	Ictus	II	5,5	4,7	4,46	8,53	.	.	.
10	76	Dona	cap	IAM	I/II	6,4	6,1	4,14	.	.	.	.
11	55	Home	HTA, DL, fumador	Aturada cardíaca	I/II	23,9	4,4	.	.	no	si	no
12	36	Home	HTA	IAM	I/II	12,9	9,2	.	.	si	no	no
13	48	Dona	cap	Limfoma	I/II	0,8	5,2	.	0,99	.	.	.
14	72	Dona	cap	Neoplàsia endometrial	I/II	22,6	7,8	.	8,04	no	no	no
15	23	Home	Fumador	Miocardiopatia	I/II	10,8	7,7	.	.	.	.	.
16	49	Dona	Alcoholisme	Intoxicació etílica	IV	6,6	.	.	4,34	no	no	no
17	48	Home	Obesitat	TEP	II	16,9	13,6	.	5,05	.	.	.
18	69	Dona	HTA	IAM	III	0,8	3,5	.	7,38	no	no	no
19	55	Dona	HTA, obesitat	Insuficiència respiratòria severa	Va	1,6	9,3	2,92	.	si	no	no
20	83	Home	Alcoholisme, Exfumador	Insuficiència renal	Va	3,4	4	3,38	4,14	no	no	no
21	75	Home	HTA, DM II, DL, AcxFA	Shock sèptic	I	47,9	7,4	.	8,42	si	no	no
22	74	Dona	HTA, DM II, obesitat, DL	Neoplasia pulmonar	II	17	9,7	.	6,06	no	no	no
23	85	Dona	HTA	Shock sèptic	IV	16,2	12,9	.	.	si	no	no
24	43	Home	IAM	Muerte encefàlica	III	14,4	9,1	2,94	8,13	.	.	.
25	60	Home	Fumador, HTA, DL	IAM	Va	9	8	.	1,81	si	si	no
26	66	Home	cap	Hepatopatia enòlica	IV	19	8,2	.	2,56	no	no	no
27	73	Home	HTA, CAD	Edema agut pulmonar	Va	14,9	8,6	3,01	.	si	no	no
28	73	Dona	DM	IAM	IV	17,8	.	.	.	.	.	.
29	75	Home	cap	Sdre. Tòxic	III	6,5	6,1	2,32	.	.	.	.
30	86	Dona	IAM	Ictericia obstructiva extrahepàtica	II	8,7	6,8	4,25	5,53	si	no	si
31	94	Dona	HTA	Neumònia intersticial	II	5,1	5,1	2,2	.	si	no	no
32	74	Dona	cap	Insuficiència resp. subaguda	Va	11,5	6,7	5,5	.	no	no	no
33	79	Home	HTA, DM II, DL	Parada respiratòria. Accident cerebrovascular.	III	5,1	.	.	.	.	.	.
34	66	Home	DM, DL, AcxFa	Shock sèptic	III	39,5	6,3	3,85	.	si	no	no
35	50	Home	Alcoholisme	Post-transplantament hepàtic	III	4	.	.	3,73	.	.	.
36	55	Home	cap	Neoplasia pulmonar	III	10,3	5,5	.	10,12	.	.	.
37	77	Home	IAM, Fumador ocasional. HTA, DL	Cardiopatia isquèmica.	Va	5,7	4,6	0,93	4,49	.	.	.
38	68	Home	Aterosclerosis sistèmica, ex-fumador, ex-alcoholisme.HTA, DL	Sepsis	IV	8,8	7,8	.	8,18	no	no	no

HTA-hipertensió; DM-diabetes mellitus; DL-dislipèmia; IAM-infarct agut de miocardi; AcxFA-arrítmia cardíaca per fibrilació auricular. Rasb-Renin angiotensin system blockets.

Taula 13 . Dades clíniques pacients sotmesos a Endarterectomia

Pacients	Edat	Sexe	Factors de risc vascular	Classificació	WBC [3'9-10]	Glucosa (mmol/l) [4'1-6'9]	Colesterol (mmol/l) [<=5'2]	Rasb	Estatines	Antiplaquetaris
1	75	1	Fumador, HTA, DM, CAD	UC	4,59	10,5	3,69	No	No	Si
2	73	1	Fumador, HTA, DM	.	9,37	6,8	4,22	No	No	Si
3	65	1	Fumador, HTA	UNC	6,18	4,7	3,84	No	No	Si
4	73	1	Fumador, HTA, DM, CAD	F	11,72	11	4,49	No	No	Si
5	72	1	Fumador, HTA	UC	5,92	4,8	.	No	No	Si
6	74	1	HTA, DM, CAD	UNC	9,54	11	3,6	No	Si	Si
7	72	0	DM, CAD	UNC	10,02	4,4	3,25	No	Si	No
8	62	1	Fumador, HTA, DM, CAD	F	11,08	8,5	3,73	No	No	Si
9	76	1	Fumador, HTA, DM, CAD	UNC	5,91	11,9	4,98	No	Si	Si
10	78	1	HTA	F	7,11	5,4	3,89	No	No	Si
11	61	1	Fumador	UNC	8,13	7,1	4,07	No	No	Si
12	79	1	Fumador, HTA, DM	F	5,93	8,3	4,18	No	Si	Si
13	80	1	DM, CAD	UC	5,78	5,2	6,41	No	No	Si
14	64	1	Fumador, CAD	.	5,38	9,6	3,44	No	Si	Si
15	66	1	Fumador, DM	UNC	70,7	7,5	.	No	Si	Si
16	79	1	Fumador, HTA	UC	1,04	5,4	2,82	No	No	Si
17	77	1	Alcoholisme, fumador	F	5,93	5,3	5,14	No	No	Si
18	71	0	HTA, DM	UNC	6,35	4,8	.	Si	Si	Si
19	77	1	Fumador, HTA, CAD	UC	6,95	7,6	3,82	Si	Si	Si
20	59	0	HTA, CAD	UNC	5,83	5,8	4,2	No	Si	Si
21	62	1	Alcoholisme, fumador, HTA, DM	F	9,02	1,3	3,39	Si	Si	Si
22	77	0	HTA, CAD	UNC	7,64	5,6	4,96	Si	No	Si
23	60	1	Fumador, CAD	.	11,16	5,5	6,5	No	No	Si
24	76	1	HTA, DM, CAD	UNC	0,66	7	2,69	Si	Si	Si
25	52	0	Fumador	UNC	6,12	5,3	5,92	No	No	Si

HTA-hipertensió; DM-diabetes mellitus; DL-dislipèmia; CAD-coronary artery disease. Rasb-Renin angiotensin system blockets. UNC-ulcerada no-complicada; UC-ulcerada complicada; F-fibrosa

Taula 14. Dades clíniques coronaries

Pacients	Edat	Sexe	Factore de risc vascular	Classificació AHA	Colesterol (mmol/l) [ $\leq 5,2$ ]	HDL (mmol/l) [ $\geq 1,05$ ]	LDL (mmol/l) [ $\leq 3,4$ ]	VLDL (mmol/l) [0'26-0'65]	Triglicerids (mmol/l) [ $\leq 1,7$ ]	Rasb	Estatines	Antiplaquetaris
1	52	home	Fumador, alcoholisme leve	III	5,9	1,5	3,2	0,59	1,28			
2	57	home	Fumador, ex-alcoholisme, DL, Obesitat, IAM	Va	6	0,78	3,5		3,8	si	no	si
3	51	home	Ex fumador, Ex alcoholisme, DL	III	5,35	1,01	3,35	0,99	2,15	si	no	no
4	29	dona	cap	II	3,73				1,41	si	no	no
5	49	home	Ex-fumador, alcoholisme, DL	III	5,13	1,62	2,65	0,86	1,86	si	no	no
6	42	home	Fumador, DL	IV	4,4				3,99	no	si	no
7	66	home	DM II, HTA, ex-fumador, DL	Vb	5,31	0,74	3,86	0,71	5,75	si	si	no
8	59	dona	HTA, DL, Obesitat	Vc	4,04	1,39	1,65	1	2,18	si	si	no
9	39	dona	Sobrepes	I	2,77	0,53	1,87	0,37	0,8	no	no	no
10	41	home	Fumador, alcoholisme; DM II; DL	Vc						no	si	no
11	64	home	HTA	Vb	3,85	0,83	3,37	1,28	1,41	no	no	no
12	51	dona	cap	Va						no	no	no
13	64	home	Ex-fumador, ex-alcohol moderat, HTA, DL	I	4,1	1,3	2,32	0,48	1,04	si	si	no
14	47	home	Exfumador	II	5,46	1,55	3,39	0,52	1,13	si	no	no
15	52	home	Exfumador, DL, IAM	II	3,71	1,03	4,01	0,71	1,56	si	si	si
16	52	home	Exfumador, DL, IAM	Vc	3,71	1,03	4,01	0,71	1,56	si	si	si
17	58	home	HTA, DL, Obesitat	Va	4,48	0,96	2,97	0,74	1,59	si	si	no
18	61	home	Fumador, alcoholisme	Va	5,9	1,92	2,25	0,36	0,41	no	no	no
19	39	home	Fumador, DL, IAM	Va	5,72	0,52	2,42	0,75	1,06			
20	78	home	Fumador, alcoholisme	Va	2,41	0,39	1,45	0,21	1,06			
21	40	home	Fumador, alcoholisme	Vc	10,85	2,05	4,69	0,93	1,81	no	no	no
22	54	home	Fumador, alcoholisme	VI	10,9	0,67	3,01	1,19	2,19	no	no	
23	40	home	Fumador, IAM	VI	8,11	0,75	4,45	1,73	3,92	si	no	no
24	43	home	cap	IV	5,67	1,14	2,85	0,93	2,23	no	no	no
25	57	dona	cap	II	4,56	1,3	2,23	0,44	1,39	no	no	no
26	47	home	Fumador, alcoholisme	Va	6,11	2,12	2,03	0,414	0,87	no	no	no
27	70	home	Exfumador	IV	4,53	1,16	2,34	0,41	1,32	no	no	no
28	50	home	Exfumador, alcoholisme	III	4,09	0,39	2,23	0,91	2,09			
29	53	dona	Fumador, alcoholisme	III	8,65	2,38	4,59	0,46	1,83	no	no	no
30	68	home	Fumador, DM, DL, IAM	Va	4,09	1,06	2,13	0,33	1,03	no	si	si
31	49	home	Fumador, alcoholisme, IAM	Vc	5,62	0,93	3,32	0,54	1,58			

HTA-hipertensió; DM-diabetes mellitus; DL-dislipèmia; IAM-infart agu de miocardi; Rasb-Renin angiotensin system blockets

Taula 15. Dades clíniques ACM

Pacients	Edat	Sexe	Factors de risc vascular	Causa de mort	Classificació AHA	WBC [3'9-10]	Glucosa (mmol/l) [4'1-6'9]	Colesterol (mmol/l) [<=5'2]	Rasb	Estatines	Antiplaquetaris
1	75	Home	Fumador, HTA, Ex-alcoholisme sever	IAM	Va	9,97	7,8	4,7	Si	No	Si
2	84	Home	Exfumador, HTA, IAM	Aturada cardiorespiratoria	I	9,6	4,6	4,1	Si	No	Si
3	84	Dona	HTA, DM, DL	AVC embòlic de l'ACM	IV	9,2	10,4	.	No	No	Si
4	70	Home	IAM, AcxFA des del IAM	Sepsis per pseudomona	II	7,8	4,6	.	Si	No	No
5	24	Dona	Hipertensió pulmonar primària, fumador, disnea	Shock sèptic	I	19,97	3,2	.	No	No	No
6	79	Home	Exfumador, HTA crònic, IAM, AcxFA	Insuficiència respiratoria	I	8,75	9	5,3	Si	No	No
7	63	Home	Exfumador, alcoholisme crònic, DM, Dislipèmia	Aturada cardiorespiratoria	I	13,5	28,3	.	No	No	No
8	43	Home	HTA	Fallida multiorgànica	I	0,9	9,7	.	No	No	No
9	53	Home	Fumador, HTA, Dislipèmia	Fallida multiorgànica	IV	18,1	17,3	2,6	No	No	No
10	72	Home	Exfumador, Exalcoholisme, HTA, DM	Aturada cardiorespiratoria	IV	13,1	13,3	4,7	Si	No	No
11	65	Home	Fumador	Aturada cardiorespiratoria	IV	9,34	5,1	.	No	No	No
12	67	Home	HTA, fumador	Edema cerebral	I	5,64	6,2	.	No	No	No
13	83	Dona	HTA	Insuficiència respiratoria	II	22,3	5,6	3,5	No	No	Si
14	81	Dona	Cap	Sepsis	IV	1,37	9,8	5	No	No	No
15	74	Home	HTA, fumador, DL, IAM	Aturada cardiorespiratoria	Va	3,94	5,2	6,8	No	Si	No
16	77	Dona	HTA, DL, DM	Derrame pleural	III	20,77	7,7	4,4	No	No	No
17	65	Home	DM	IAM	III	12,1	4,1	1,2	No	Si	Si
18	85	Home	Fumador	Ictus	Va	9,99	5,6	7,8	No	No	Si
19	77	Dona	HTA	Ictus	I	6,35	6,3	5,7	Si	No	No
20	61	Home	HTA, fumador, DM, alcoholisme	Aturada cardiorespiratoria	I	15,26	17,9	4,1	No	No	No

HTA-hipertensió; DM-diabetes mellitus; DL-dislipèmia; IAM-infart agut de miocardi; AcxFA-arritmia cardíaca per fibrilació auricular. Rasb-Renin angiotensin system blockets.

# ***RESULTATS***



*1. Caracterització immunològica i inflamatòria de la  
placa ateroscleròtica carotídia de baixa a moderada  
estenosi (<50%)*





## 1.1 Marcadors d'hipòxia i inflamació

Es van utilitzar 15 mostres d'artèries carotídiades obtingudes d'autòpsies o post-mortem, amb una estenosi lleu o moderada (< 50% per imatge d'EcoDoppler, angio-RM o angio-TAC). Les seccions d'hematoxilina-eosina es van classificar segons l'AHA en lesions tipus I, lesió inicial; II, estria grassa; III, lesió intermitja; IV, ateroma y Va, fibroateroma (Taula 16).

**Taula 16.** Característiques clíniques i anatomo-patològiques dels pacients d'aquest estudi concret.

Pacients	Edat/Sexe	Factors de risc vascular	Causa de mort	Classificació AHA
1	74/home	DM II, alcoholisme	Insuficiència resp. subaguda	Va
2	69/home	Fumador, alcoholisme	Neoplàsia pulmonar	III
3	76/ home	Cap	Neoplàsia vesical	Va
4	74/ home	HTA, DLP, Ictus	Fallida multiorgànica	Va
5	76/ home	HTA, DM II, DLP,	Aturada cardíaca	IV
6	72/ home	Fumador, alcoholisme, HTA, Obesitat	Ruptura aòrtica	Va
7	70/ home	DM II, Fumador, alcoholisme	Parada cardiorespiratòria	Va
8	82/ home	Fumador, HTA,	Neoplàsia pulmonar	II/III
9	63/ dona	Ictus, CAD	Ictus	II
10	76/ dona	Cap	IAM	I/II
11	55/ home	HTA, DLP, fumador	Aturada cardíaca	I/II
12	36/ home	HTA	IAM	I/II
13	48/ dona	Cap	Limfoma	I/II
14	72/ dona	Cap	Neoplàsia endometrial	I/II
15	23/ home	Fumador	Miocardiopatia	I/II

Abreviacions: HTA-hipertensió, sistòlica BP $\geq$  135; DM- diabetis mellitus; DLP-hipercolesterolèmia (colesterol-total > 5,2 mmol/dl); CAD-*coronary artery disease*; IAM-infart agut de miocardi

Es va realitzar un estudi immunohistoquímic per veure la presència de HIF-1 $\alpha$ , IL6, CD105, CRP i limfòcits actius (CD30). El grau de tinció es va classificar segons la següent escala semi-quantitativa de 0 a +++: 0, no es detecta tinció; +, tinció dèbil; ++, tinció moderada; + + +, tinció forta. Els resultats es presenten en la taula 17. Els resultats corresponents als marcadors CD105 i CD30 es presenten en els apartats 2.1.1 i 3.1.3 respectivament.

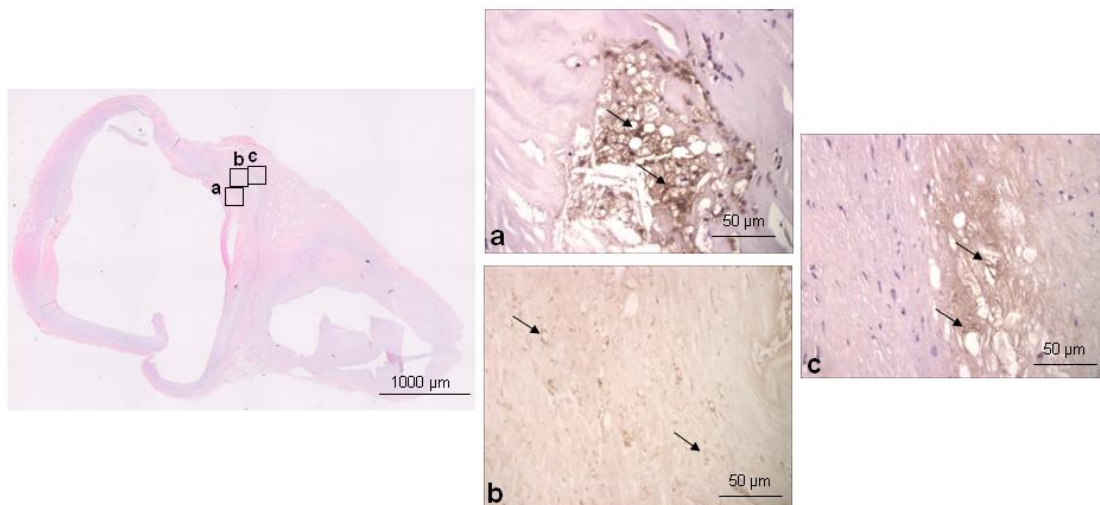
**Taula 17.** Immunohistoquímica dels marcadors estudiats en artèries carotídiades amb estenosi < 50%.

Pacient	HIF-1 $\alpha$	CRP	IL-6	Classificació AHA
1	+++	+++	+	Va
2	+++	+++	+	III
3	+++	+	+	Va
4	0	+++	+	Va
5	+	+++	+	IV
6	+++	+++	+	Va
7	++	++	+	Va
8	++	++	+	II/III
9	+	++	+	II
10	0	+	+	I/II
11	++	++	+	I/II
12	++	+	+	I/II
13	+	+	0	I/II
14	0	+	+	I/II
15	0	+	+	I/II

0: Sense tinció; +: tinció dèbil; ++: tinció moderada; tinció forta

### 1.1.1 Immunohistoquímica en lesions tipus II/III

En pacients amb lesions tipus II/III hi ha una tinció dèbil present per a HIF-1 $\alpha$  (Figura 32a), CRP (Figura 32b) i IL-6 (Figura 32c) en el limitat número d'àrees inflamatòries i angiogèniques que s'observen. La Figura 32 correspon al pacient n° 9 amb una lesió tipus II-III.



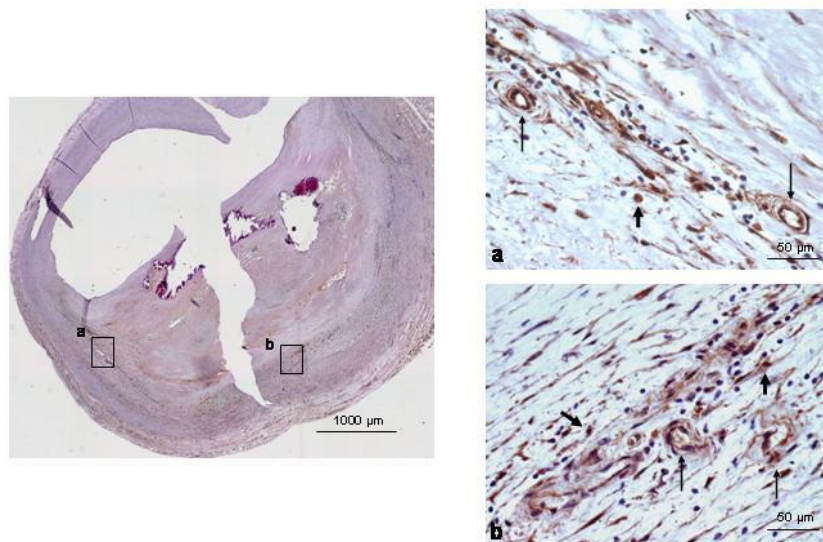
**Figura 32.** Lesió representativa de lesions tipus II/III, pacient n° 9. A, Immunohistoquímica de HIF-1 $\alpha$ . B, Immunohistoquímica de CRP. C, Immunohistoquímica d'IL-6

### 1.1.2 Immunohistoquímica en lesions tipus IV/Va

Les lesions classificades com tipus IV/Va van ser fortament tenyides de forma selectiva amb els anticossos front HIF-1 $\alpha$  i IL6 en les àrees d'inflamació. A més, per HIF-1 $\alpha$ , CRP i IL-6 es va observar tinció de les cèl·lules endotelials en la majoria dels neovasos observats. Es mostren com a imatges representatives les figures 33-35 que corresponen a les immunohistoquímiques realitzades en seccions seriades de la mostra del pacient n°6 que té una lesió de tipus Va.

#### 1.1.2.1 Immunohistoquímica de HIF-1 $\alpha$

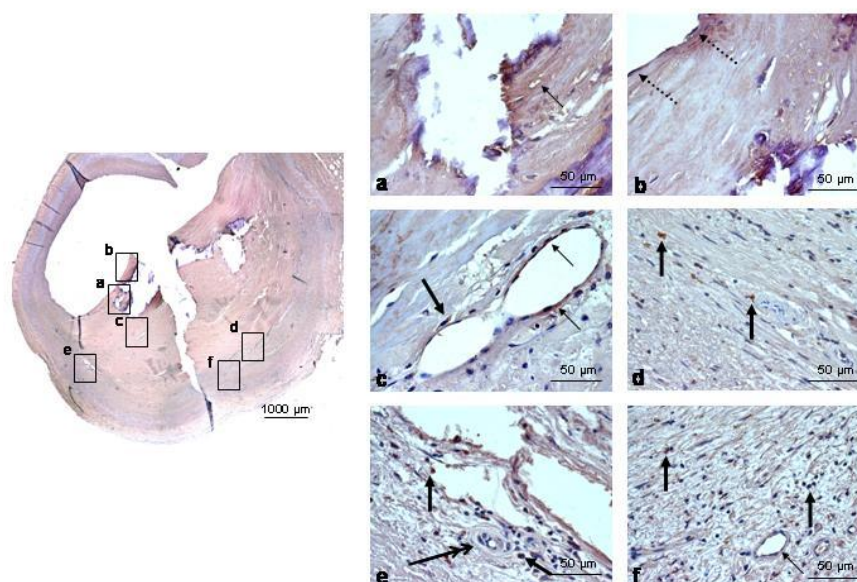
S'observa una forta tinció en els neovasos del voltant del nucli lipídic i en els neovasos de la neoíntima. A més, les cèl·lules inflamatòries també es van tenyir intensament. En la capa fibrosa la tinció és més dèbil o inclús absent (Figura 33). Neovasos d'aparença normal (Figura 33a) i neovasos col·lapsats i parcialment trombòtics (Figura 33b) es van tenyir fortament.



**Figura 33.** Immunohistoquímica de HIF-1 $\alpha$ . Tinció positiva corresponent a neovasos (fletxes fines) i cèl·lules inflamatòries (fletxes gruixudes). Neovasos d'aparença normal (a) i neovasos col·lapsats i parcialment trombòtics (b)

### 1.1.2.2 Immunohistoquímica de CRP

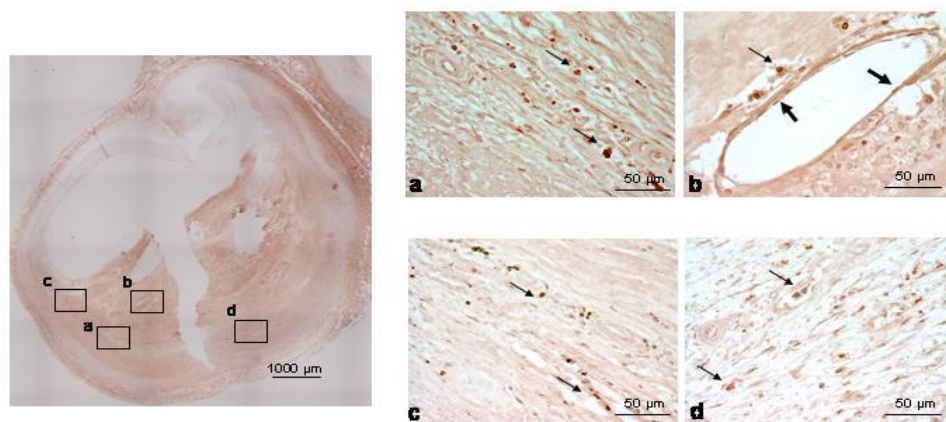
Respecte les lesions més avançades (tipus IV-Va) es va observar una forta tinció en les cèl·lules inflamatòries i en els nous vasos formats localitzats dins del nucli lipídic així com a prop del trombe (Figura 34 a-d). Les àrees positives per a CRP es troben principalment en la coberta fibrosa (Figura 34 a-c). A més, les cèl·lules endotelials intraluminals es troben intensament marcades (Figura 34b). És interessant observar que molts dels neovasos de les àrees d'inflamació són negatius per a la tinció (Figura 34e). Les àrees del voltant del nucli lipídic, riques en cèl·lules inflamatòries i en neovasos es troben fortament tenyides (Figura 34f).



**Figura 34.** Representativa tinció immunohistoquímica de CRP en lesió tipus Va. Tinció positiva corresponent a neovasos (fletxes primes), cèl·lules inflamatòries (fletxes gruixudes) i cèl·lules endotelials (fletxes trencades). Cèl·lules endotelials corresponents a neovasos de dins de la capa fibrosa (a) i del lumen (b) es troben fortament marcades. Hi ha tinció en els neovasos de dins del nucli lipídic (c). Nombroses cèl·lules inflamatòries es troben marcades (d-f). Tanmateix, alguns neovasos van ser negatius per a CRP (e). Àrees del voltant del nucli lipídic es troben fortament marcades (f)

### 1.1.2.3 Immunohistoquímica de la IL-6

Hi ha una forta tinció de cèl·lules inflamatòries i d'algunes cèl·lules endotelials en àrees d'inflamació i angiogènesis. Àrees amb cèl·lules inflamatòries al voltant de vasos altament irregulars i parcialment col·lapsats es trobaven tenyides (Figura 35a-d). S'observa tinció en les àrees del voltant del nucli lipídic (Figura 35a, c-d) i en les cèl·lules endotelials i inflamatòries dins del nucli lipídic (Figura 35b). Les àrees corresponents al *shoulder* es trobaven fortament marcades (Figura 35c).



**Figura 35.** Immunohistoquímica d'IL-6. Tinció positiva corresponent a cèl·lules inflamatòries (fletxes fines) i cèl·lules endotelials (fletxes gruixudes). S'observa tinció positiva en las àrees del voltant del nucli lipídic (a, c, d) i en les cèl·lules inflamatòries i endotelials dins del nucli lipídic (b). En la zona del *shoulder* s'observa una forta tinció (c)

## 1.2 Estudi del procés d'angioènesis en diferents tipus d'artèries

Per aquest estudi es van utilitzar plaques carotídiades de baixa a moderada estenosi (<50%) (n = 38), artèries cerebrals mitges (n = 20) i artèries coronàries obtingudes de transplants o de donants d'òrgans (n = 32). En la següent taula es presenta un resum de les dades clíniques dels pacients:

**Taula 18.** Dades clíniques dels pacients estudiats.

<i>Dades</i>	<i>Caròtides (n=38)</i>	<i>ACM (n=20)</i>	<i>Coronàries (n=32)</i>	<i>P-valor</i>
Edat (Mitja ± SD)	67 ± 15*	69 ± 15 <sup>†</sup>	52,3 ± 10,8* <sup>†</sup>	0,000
Sexe (♂/♀)	25/13	14/6	25/6	NS
WBC x10 <sup>9</sup> /L (Mitja ± SD)	12,3 ± 10,0	10,9 ± 6,1	7,6 ± 2,1	NS
Glucosa (Mitja ± SD) (mmol/l)	6,7 ± 2,0	9,1 ± 5,4 <sup>†</sup>	5,7 ± 0,9 <sup>†</sup>	0,026
Colesterol total (Mitja±SD) (mmol/l)	3,4 ± 1,0*	4,6 ± 1,7	5,3 ± 2,0*	0,003
HTA n, (%)	15 (39,5)	13 (65)	5 (16,1)	0,001
DM n, (%)	8 (21,1)	6 (30)	4 (12,9)	NS
DLP n, (%)	9 (23,7)	6 (30)	15 (48,4)	NS
Fumador n, (%)	9 (23,7)	11 (55)	23 (74,2)	0,000
Alcoholisme n, (%)	8 (21,1)	5 (25)	14 (45,2)	NS
CAD n, (%)	8 (22,2)	5 (25)	10 (32,3)	NS
Estatines n, (%)	5 (20,8)	2 (10)	9 (29)	NS
Antiplaquetaris n, (%)	4 (16,7)	6 (30)	4 (12,9)	NS
Rasb n, (%)	9 (37,5)	6 (30)	12 (38,7)	NS

ACM, artèria cerebral mitja; WBC, *white blood cells*; HTA, hipertensió DM, diabetis mellitus; DLP, dislipèmia; CAD, *coronary artery disease*; Rasb, *renin angiotensin system blockers*;

\*<sup>†</sup> Diferències significatives entre grups; NS, No significatiu

Totes les seccions es van tenir utilitzant la tècnica d'hematoxilina-eosina classificant les lesions segons la AHA (Taulas 12, 14 i 15). La classificació de les lesions, les característiques fenotípiques així com el grau d'inflamació i calcificació es presenten en les taules de l'annex 1.

Es va realitzar un estudi immunohistoquímic per observar l'expressió de CD105, utilitzant el marcador de cèl·lules endotelials CD34 per identificar tots els vasos.

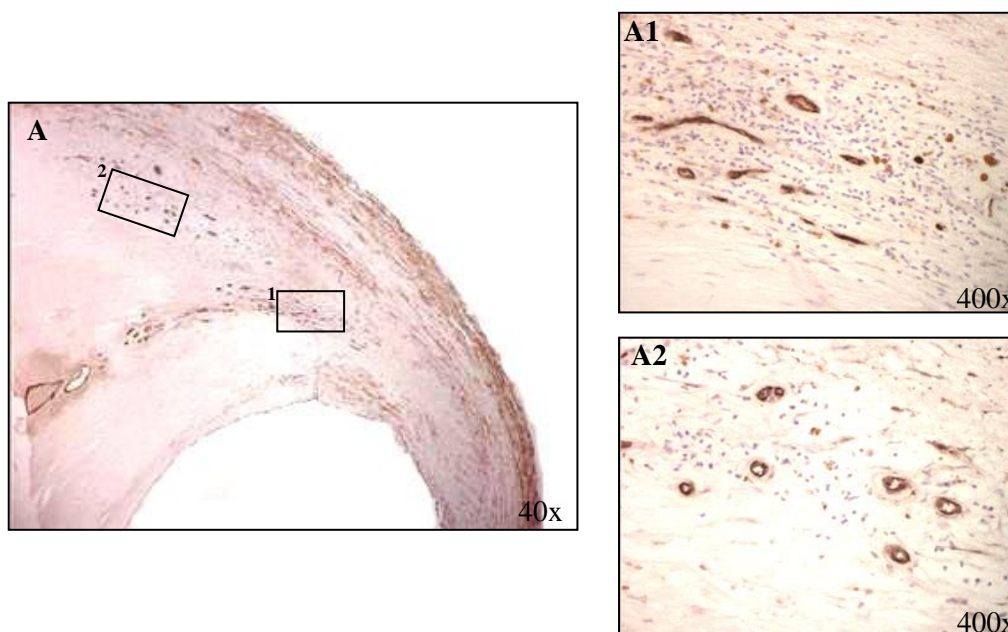
### 1.2.1 Vascularització de la neointima

De les 38 caròtides amb estenosi < 50% i les 32 artèries coronàries estudiades, es va comparar el número de neovasos per  $\text{mm}^2$  que donaven positiu per CD105 amb els que donaven positiu per CD34 en algunes mostres de caròtida ( $n = 4$ ) i coronària ( $n = 4$ ) seleccionades. El nombre de neovasos marcats amb anti-CD34 era superior als marcats amb anti-CD105 en els dos tipus arterials. Els resultats es presenten en la taula 19:

**Taula 19.** n° neovasos/ $\text{mm}^2$  marcats amb anti-CD105 comparats amb anti-CD34 en casos seleccionats.

	<i>CD34</i> N°neovasos/ $\text{mm}^2$	<i>CD105</i> N°neovasos/ $\text{mm}^2$
Caròtides ( $n=4$ )	$7,9 \pm 5,2$	$1,6 \pm 1,1$
Coronàries ( $n=4$ )	$8,8 \pm 6,6$	$2,1 \pm 1,6$

Valors expressats con la Mitja  $\pm$  SD



**Figura 36.** Immunohistoquímica representativa de CD34 en artèria caròtida amb estenosi < 50% en una lesió tipus Va

Tant en les 38 artèries caròtides com en les 32 coronàries i les 20 artèries cerebrals mitges analitzades per veure l'expressió de CD105, s'observa un increment de l'engruiximent de la neointima ( $\mu\text{m}$ ) en les lesions més avançades comparat amb les lesions intermèdies o inicials ( $p < 0,05$ ).



S'observa un increment de la densitat de neovasos amb el increment del grau de la lesió tant en les artèries carotídies com en les coronàries ( $p < 0,05$ ). Hi ha un augment estadísticament significatiu del nombre de neovasos per  $\text{mm}^2$  en les lesions intermèdies i avançades comparat amb les lesions primerenques. Els resultats es presenten en la taula 20. En la neoíntima de lesions intermèdies de les artèries cerebrals mitges es van observar pocs neovasos. Tanmateix, Les cèl·lules endotelials intraluminals es troben intensament marcades en tots els tipus de lesions, desde les de tipus I fins a les de tipus Va (Figura 37A).

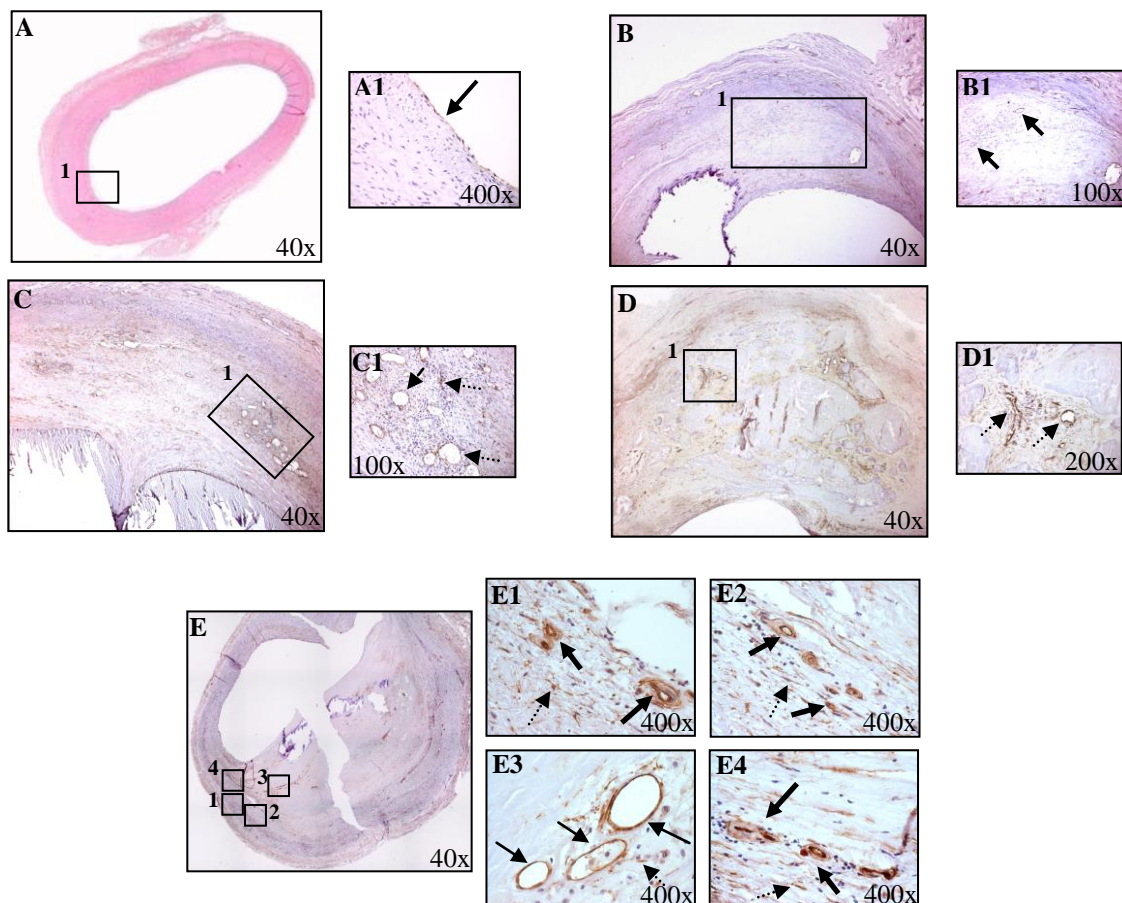
**Taula 20.** N° neovasos/ $\text{mm}^2$  en la neoíntima i Màxim engruiximent de la neoíntima ( $\mu\text{m}$ ) en diferents tipus arterials.

	<i>N° neovasos/<math>\text{mm}^2</math></i>	<i>Mida neoíntima (<math>\mu\text{m}</math>)</i>
<b><i>Caròtides-Classificació AHA</i></b>		
Inicials (I-III) n=21	0,04 ± 0,2	626,2 ± 876,5
Intermèdies (IV-Va) n=17	1,8 ± 2,4	1925,7 ± 882,5
<b><i>P-valor</i></b>	0,000	0,000
<b><i>Coronàries- Classificació AHA</i></b>		
Inicials (I-III) n=11	0,0	512,6 ± 327,6
Intermèdies (IV-Va) n=11	1,3 ± 1,9	1141,9 ± 458,8
Avançades (Vb-VI) n=10	5,9 ± 7,4	1561,7 ± 1433,6
<b><i>P-valor</i></b>	0,000	0,003
<b><i>ACM- Classificació AHA</i></b>		
Inicials (I-III) n=12	0,0	129,2 ± 176,7
Intermèdies (IV-Va) n=8	0,2 ± 0,4	841,67 ± 455,5
<b><i>P-valor</i></b>	NS	0,001

Valors expressats com a Mitja ± SD; ACM, artèries cerebrals mitges; NS, no significatiu

### 1.2.1.1 Expressió de CD105 en vasos de lesions carotídes amb estenosi < 50%

S'observa tinció positiva per a CD105 en els pocs neovasos que hi ha dins i al voltant del nucli lipídic en lesions tipus III/IV. La majoria d'aquests neovasos dins del nucli lipídic són regulars i circulars (Figura 37B). Tanmateix, són altament irregulars, multilobulars i parcialment col·lapsats els vasos del voltant del nucli lipídic.



**Figura 37.** Representativa tinció immunohistoquímica de CD105 en lesions de caròtida. A, cèl·lules endoteliales positives en lesions primerenques. B, Representatius neovasos dins del nucli lipídic en lesions tipus III/IV. C, Representativa àrea d'inflamació en lesions avançades. D, Representativa àrea calcificada en lesions avançades. E, Representativa lesió tipus Va: elevat marcatge en neovasos amb diferents fenotips: vasos perfectament circulars dins del nucli lipídic (fletxes primes) i vasos irregulars al voltant del nucli lipídic a prop de cèl·lules inflamatòries (fletxes gruixudes). Hi ha un elevat marcatge en les VSMC (fletxes trencades)

S'observa un major grau d'angiogènesis en les lesions de tipus Va. En les àrees d'inflamació observem tant vasos irregulars i col·lapsats com neovasos regulars i circulars (Figura 37C). La forma dels neovasos del voltant del nucli lipídic (Figura 37E1, E2, E4), dins de la zona del *shoulder* i dins d'àrees calcificades (Figura 37D) són

altament irregulars, multilobulars i parcialment col·lapsats. Tanmateix, vasos circulars i oberts s'observen dins del nucli lipídic (Figura 37E3).

Hi ha una forta expressió de CD105 per part de les cèl·lules musculars llises vasculars en tots els tipus de lesions. Hi ha tinció en la íntima i la mitja però és major en les VSMC de la neoíntima (Figura 37E, fletxes trencades).

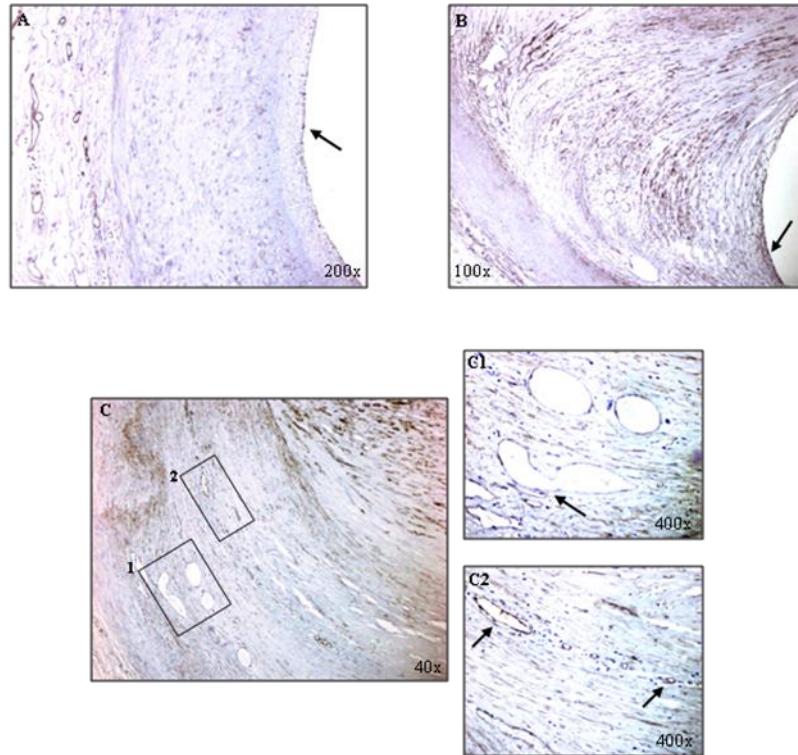
### *1.2.1.2 Expressió de CD105 en lesions coronàries obtingudes de transplantament o de mort sobtada*

Igual que en les lesions d'artèries carotídiades, les cèl·lules endotelials es troben fortament tenyides tant en les lesions primerenques (Figura 38A) com en les avançades (Figura 38B).

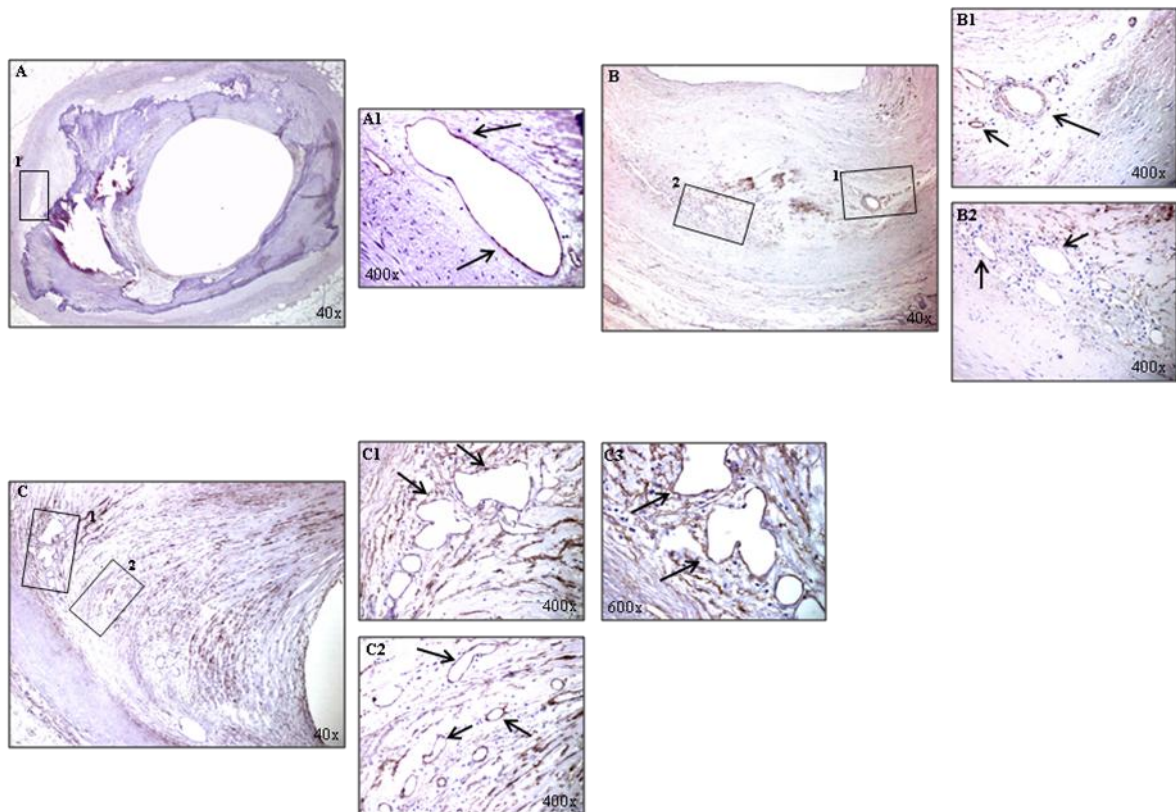
Hi ha un nombre menor de microvasos en lesions intermèdies i ateromes que en lesions avançades. L'expressió de CD105 en lesions avançades és fortament positiva. Els neovasos del voltant del nucli lipídic de lesions tipus III/IV són positius. La majoria dels neovasos són vasos allargats i oberts (Figura 38C).

Hi ha un increment de l'angiogènesi en les lesions de tipus fibroateroma així com una forta expressió de CD105. S'observen vasos irregulars i multilobulars al voltant del nucli lipídic (Figura 39C1). Tanmateix, vasos de tipus allargats i oberts s'observen dins del nucli lipídic (Figura 39C2). Dins del *shoulder* podem observar vasos de diferent formes, tant regulars com irregulars (Figura 39B1).

En les lesions coronàries complicades trobem poques àrees inflamatòries. En aquestes zones predominen els vasos oberts allargats (Figura 39B2). Els vasos del voltant de zones calcificades són clarament positius per a CD105. En general, també s'observen vasos de tipus regular allargats (Figura 39A).



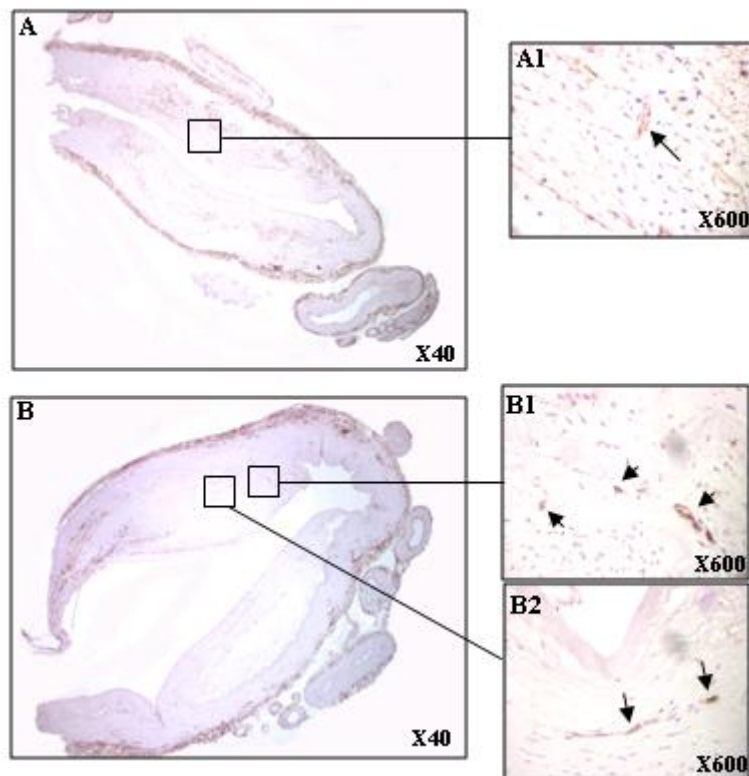
**Figura 38.** Representativa tinció immunohistoquímica de CD105 en lesions coronàries. A, cèl·lules endotelials positives en lesions primerenques. B, cèl·lules endotelials positives en lesions avançades. C, representació de neovasos del voltant del nucli lipídic en lesions primerenques



**Figura 39.** A, B i C, representació de lesions avançades. A, àrea calcificada. B1, àrea del *shoulder*. B2, àrea inflamatòria. C1, àrea al voltant del nucli lipídic. C2, àrea dins del nucli lipídic

### 1.2.1.3 Expressió de CD105 en artèries cerebrals mitges

Es van observar molts pocs neovasos marcats amb CD105 en la íntima de les lesions d'aquestes artèries. Només dos casos de lesions intermèdies mostraven angiogènesi. Aquest neovasos eren petits i allargats (Figura 40).



**Figura 40.** Tinció positiva per CD105 en ACM. A, Neovasos CD105 + en lesions de tipus ateroma. B, Neovasos CD105 + en lesió tipus fibroateroma

## 1.2.2 Vascularització de l'adventícia

*Comparació de la concentració de vasa vasorum a l'adventícia en regions que es troben junt la placa versus regions que es troben junt àrees sense placa.*

La mitja de microvasos per mm<sup>2</sup> a les zones de l'adventícia on s'observen plaques no difereix significativament de les àrees on no hi ha placa en lesions inicials o intermèdies d'artèries caròtides. Tanmateix, hi ha una correlació estadísticament significativa entre els vasa vasorum CD105 positius en regions de plaques avançades d'artèries coronàries ( $p = 0,003$ ). Els resultats es presenten en la taula 21.

**Taula 21.** n° neovasos/mm<sup>2</sup> en l'adventícia de diferents artèries

Classificació AHA	N° neovasos/mm <sup>2</sup>		p-valor
	Àrea placa	No àrea placa	
Caròtides			
Inicials (I-III) n=21	2,9 ± 3,2	2,4 ± 2,4	NS
Intermèdies(IV-Va) n=17	3,0 ± 2,1	2,1 ± 2,2	NS
Coronàries			
Inicials (I-III) n=11	3,7 ± 4,4	1,7 ± 2,5	NS
Intermèdies (IV-Va) n=11	2,3 ± 1,6	0,8 ± 1,3	0,003
Avançades (Vb-VI) n=10	3,0 ± 2,8	2,0 ± 1,9	NS

Valors expressats com Mitja ± SD; NS, no significatiu

### 1.3 Estudi del paper del sistema immunitari en l'aterosclerosi carotídia

#### 1.3.1 Estudi de la presència de limfòcits T i B en les plaques ateroscleròtiques

Es va realitzar un estudi immunohistoquímic en 38 mostres de caròtida amb estenosi  $\leq 50\%$ . Les dades clíniques dels pacients, les característiques fenotípiques de les plaques ateroscleròtiques així com la seva classificació segons l'AHA es troben en la taula 12 i l'annex 1.

##### 1.3.1.1 Estudi de la presència de limfòcits T

Es va fer la immunohistoquímica amb l'anticòs anti-CD3 per totes les mostres. Posteriorment es va fer un estudi quantitatiu mesurant el nombre de limfòcits T per  $\text{mm}^2$  tenint en compte tant la capa íntima com la neoíntima i excluint l'adventícia. Els resultats es mostren en la taula 22.

**Taula 22.** Nombre de limfòcits T / $\text{mm}^2$  en plaques carotídies amb estenosi  $< 50\%$ .

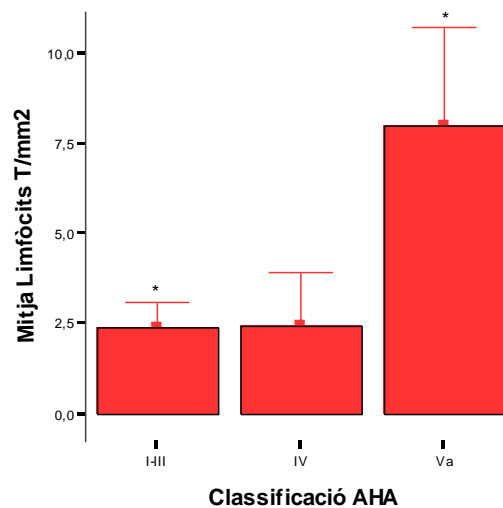
Pacient	Linf T/ $\text{mm}^2$	AHA	Pacient	Linf T/ $\text{mm}^2$	AHA
1	26,9	Va	20	8,2	Va
2	1,7	III	21	2,2	I
3	14,9	Va	22	0,7	II
4	0,9	Va	23	2,6	IV
5	0,0	IV	24	0,8	III
6	25,0	Va	25	8,9	Va
7	1,3	Va	26	2,0	IV
8	0,5	II/III	27	0,5	Va
9	1,7	II	28	0,5	IV
10	1,3	I/II	29	0,9	III
11	2,0	I/II	30	0,5	II
12	0,6	I/II	31	7,7	II
13	0,9	I/II	32	1,9	Va
14	0,1	I/II	33	0,1	III
15	12,2	I/II	34	8,4	III
16	8,2	IV	35	0,5	III
17	6,1	II	36	0,7	III
18	0,7	III	37	1,8	Va
19	3,1	Va	38	1,4	IV

Es va realitzar un estudi estadístic per veure si hi havia diferències estadísticament significatives entre els diferents tipus de lesions, trobant un augment significatiu del nombre de limfòcits T en les lesions més avançades (Va) respecte les lesions inicials (I-III) ( $p < 0,05$ ).

**Taula 23.** Relació del nombre de limfòcits T /mm<sup>2</sup> vs el grau de lesió.

AHA	N	Mitja (Linf T/mm2) ± SD
I-III	21	2,40 ± 3,30*
IV	6	2,45 ± 2,97
Va	11	7,86 ± 9,95*

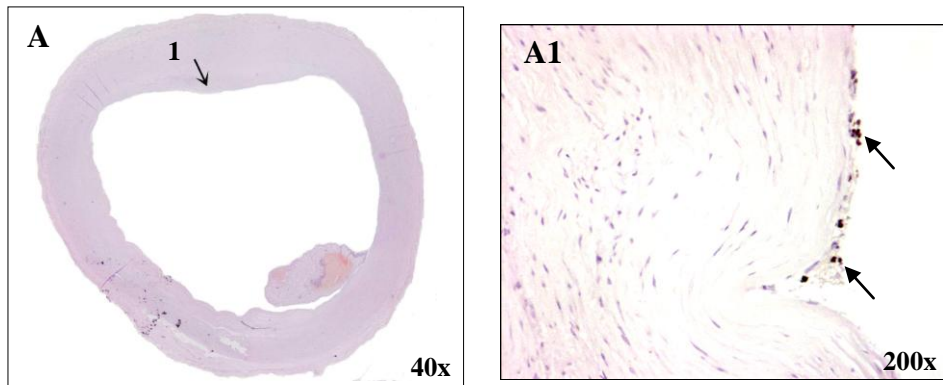
SD: desviació estàndard; \*: ANOVA  $p < 0,05$ .



**Figura 41.** Mitja limfòcits T/mm<sup>2</sup> vs Classificació AHA

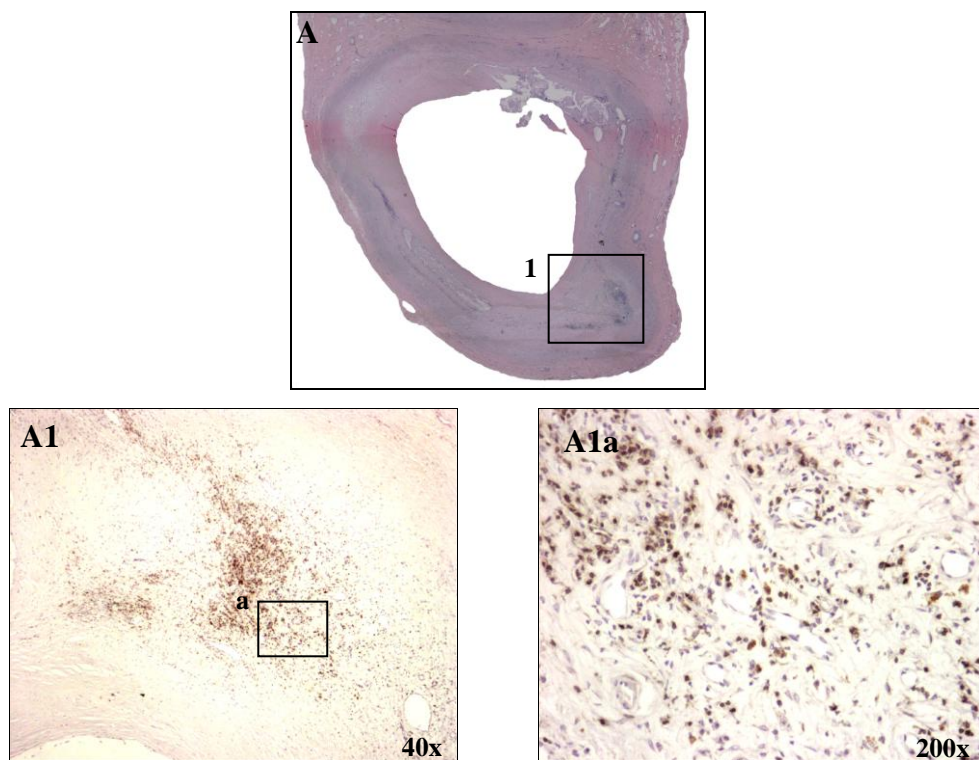
En les lesions de tipus I-III la presència de limfòcits T es troba principalment en la capa íntima, trobant també uns pocs en petites àrees d'inflamació o al voltant de petits nuclis lipídics que s'observen en algunes d'aquestes mostres. En la figura 42 es mostra la presència de limfòcits en la capa íntima d'una lesió primària.





**Figura 42.** Exemple d'immunohistoquímica anti-CD3 en lesió tipus I/II

En lesions més avançades, ateromes i fibroateromes, hi ha un augment significatiu del nombre de limfòcits T per  $\text{mm}^2$ . La seva presència s'observa tant en la capa íntima com a la neointima, on trobem una densitat molt elevada en les àrees d'inflamació i angiogènesis, així com en el *shoulder*, al voltant dels nuclis lipídics. En la figura 43 es mostra un exemple d'una zona altament inflamada i amb una alta densitat de neovasos en una lesió de tipus Va.



**Figura 43.** Exemple d'immunohistoquímica anti-CD3 en lesió tipus Va

### 1.3.1.2 Estudi de la presència de limfòcits B

Es va fer la immunohistoquímica amb l'anticòs anti-CD20 per totes les mostres. Posteriorment es va fer un estudi quantitatiu mesurant el nombre de limfòcits B per  $\text{mm}^2$  tenint en compte tant la capa íntima com la neointima i excluint l'adventícia. Els resultats es mostren en la taula 24.

**Taula 24.** Nombre de limfòcits B / $\text{mm}^2$  en plaques carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ .

Pacient	Linf B/ $\text{mm}^2$	AHA	Pacient	Linf B/ $\text{mm}^2$	AHA
1	0,3	Va	20	0,0	Va
2	0,0	III	21	0,0	I
3	0,1	Va	22	0,1	II
4	0,0	Va	23	0,4	IV
5	0,0	IV	24	0,0	III
6	0,8	Va	25	0,0	Va
7	0,0	Va	26	0,3	IV
8	0,0	II/III	27	0,2	Va
9	0,0	II	28	0,3	IV
10	0,0	I/II	29	0,0	III
11	0,0	I/II	30	0,0	II
12	0,0	I/II	31	0,6	II
13	0,0	I/II	32	0,0	Va
14	0,1	I/II	33	0,0	III
15	0,1	I/II	34	0,0	III
16	0,0	IV	35	0,0	III
17	0,0	II	36	0,0	III
18	0,0	III	37	0,0	Va
19	0,1	Va	38	0,0	IV

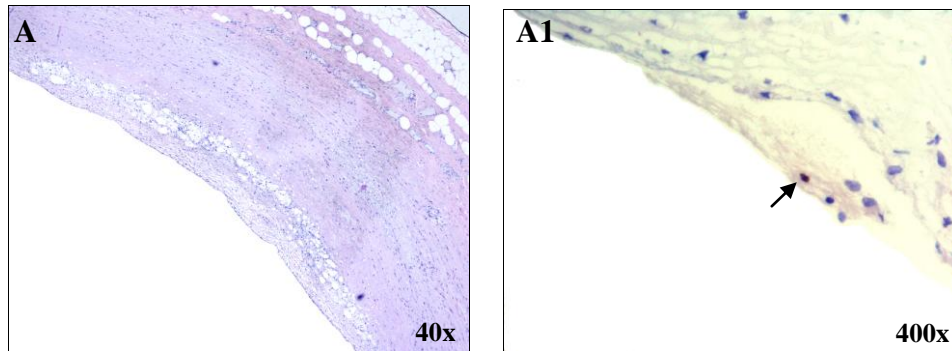
No es van trobar diferències estadísticament significatives entre la presència de limfòcits B i un major grau de lesió.

**Taula 25.** Relació del nombre de limfòcits B / $\text{mm}^2$  vs el grau de lesió.

AHA	N	Mitja (Linf B/ $\text{mm}^2$ ) $\pm$ SD
I-III	21	0,04 $\pm$ 0,13
IV	6	0,12 $\pm$ 0,18
Va	11	0,14 $\pm$ 0,24

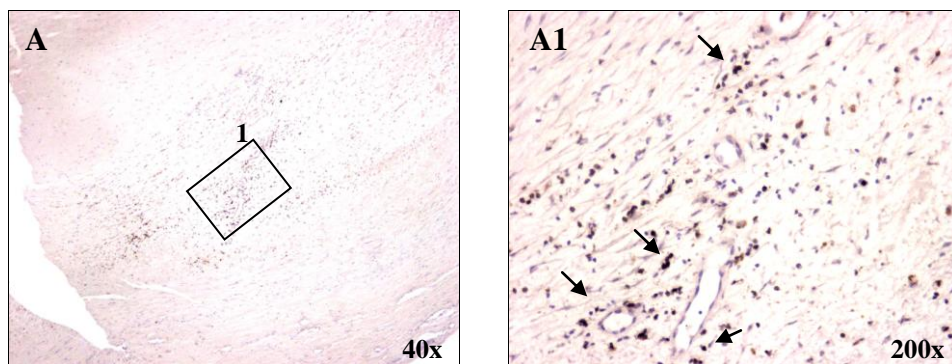
SD: desviació estàndard

La presència de limfòcits B tant en lesions inicials com avançades és molt inferior a la dels limfòcits T. En lesions primerenques la seva presència és gairebé ausent, trobant algun exemplar principalment a la capa íntima. La figura 44 mostra la presència de limfòcits B en la íntima d'una lesió de tipus I/II.



**Figura 44.** Exemple d'immunohistoquímica anti-CD20 en lesió tipus I/II

En lesions més avançades trobem limfòcits B en àrees d'inflamació i angiogènesis així com en la capa íntima. La Figura 45 mostra un exemple d'una àrea amb inflamació i neovasos en la neointíma d'una lesió tipus Va.



**Figura 45.** Exemple d'immunohistoquímica anti-CD20 en lesió tipus Va

### 1.3.1.3 Estudi de la presència de limfòcits actius

Es va fer la immunohistoquímica amb l'anticòs anti-CD30 per totes les mostres. Posteriorment es va fer un estudi quantitatiu mesurant el nombre de limfòcits T i B actius per  $\text{mm}^2$  tenint en compte tant la capa íntima com la neoíntima i exclouent l'adventícia. Els resultats es mostren en la taula 26.

**Taula 26.** Nombre de limfòcits actius / $\text{mm}^2$  en plaques carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ .

Pacient	Linf Actius/ $\text{mm}^2$	AHA	Pacient	Linf Actius/ $\text{mm}^2$	AHA
1	9,9	Va	20	0,0	Va
2	0,2	III	21	0,0	I
3	1,9	V	22	0,2	II
4	0,0	V	23	0,0	IV
5	0,0	IV	24	0,2	III
6	1,9	Va	25	0,0	Va
7	0,0	Va	26	0,5	IV
8	0,0	II/III	27	0,1	Va
9	0,0	II	28	0,1	IV
10	0,0	I/II	29	0,0	III
11	0,0	I/II	30	0,0	II
12	0,0	I/II	31	1,4	II
13	0,0	I/II	32	0,0	Va
14	0,0	I/II	33	0,0	III
15	0,0	I/II	34	0,0	III
16	0,1	IV	35	0,1	III
17	0,3	II	36	0,0	III
18	0,0	III	37	0,0	Va
19	0,3	Va	38	0,0	IV

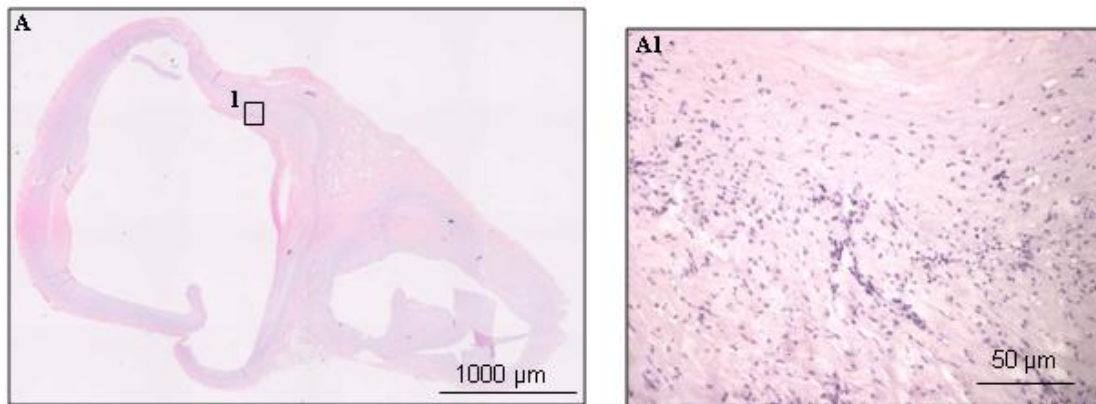
**Taula 27.** Relació del nombre de limfòcits actius / $\text{mm}^2$  vs el grau de lesió.

AHA	N	Mitja (Linf Actius/ $\text{mm}^2$ ) $\pm$ SD
I-III	21	0,11 $\pm$ 0,30
IV	6	0,13 $\pm$ 0,20
Va	11	1,17 $\pm$ 2,84

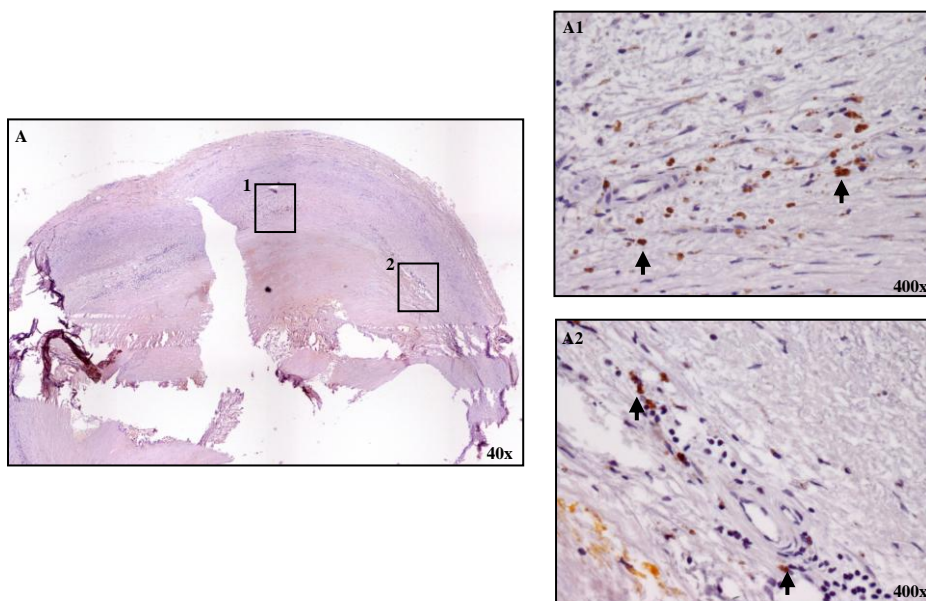
SD: desviació estàndard

No s'observa tinció per a CD30 en lesions primàries (Figura 46). En canvi, en les lesions més avançades (Va) (Figura 47) es van trobar limfòcits T i B activats fortament tenyits en les àrees del voltant del nucli lipídic i en les àrees propenses a la ruptura, el *shoulder*, a prop dels neovasos. Algunes de les cèl·lules positives per a CD30 es troben

al voltant del trombe suggerint la seva possible implicació en l'esdeveniment trombòtic. A més, es troben cèl·lules positives dins d'àrees no inflamatòries.



**Figura 46.** Exemple immunohistoquímica de CD30 en lesions tipus II/III. No s'observa tinció



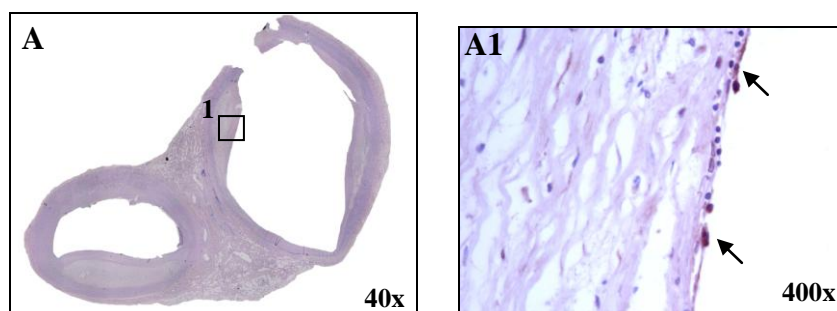
**Figura 47.** Exemple immunohistoquímica de CD30 en lesions tipus Va. Tinció positiva corresponent a limfòcits T i B activats. Es troben àrees riques en limfòcits activats al voltant del nucli lipídic (A1) i en la zona del *shoulder* (A2)

### 1.3.2 Estudi de la presència de TLRs en les plaques ateroscleròtiques

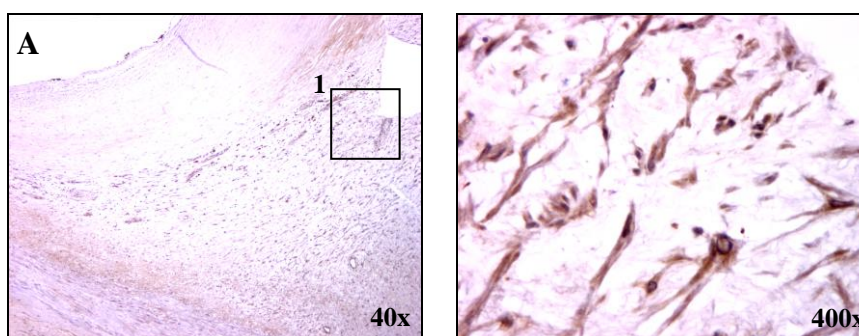
Es va realitzar l'estudi de la presència de l'expressió de Toll Like Receptors (TLR2, TLR3 i TLR4) per part de diferents tipus cel·lulars en artèries carotídiades amb estenosi  $\leq$  50%. Es va realitzar un estudi immunohistoquímic en 14 mostres amb diferents tipus de lesions.

#### 1.3.2.1 Estudi de la presència de TLR2

S'observa expressió de TLR2 per part de la monocapa de cèl·lules endotelials de la íntima, així com en cèl·lules musculars llises i d'alguna cèl·lula inflamatòria de la neoíntima. Tant en lesions inicials com en lesions més avançades l'expressió és poc abundant. En les mostres de tipus fibroateroma, amb angiogènesis, s'ha pogut observar també l'expressió de TLR2 en algunes cèl·lules endotelials del lumen del neovasos formats. Els resultats es mostren en la Taula 28.



**Figura 48.** Exemple de cèl·lules endotelials del lumen expressant TLR2 en lesió tipus I/II



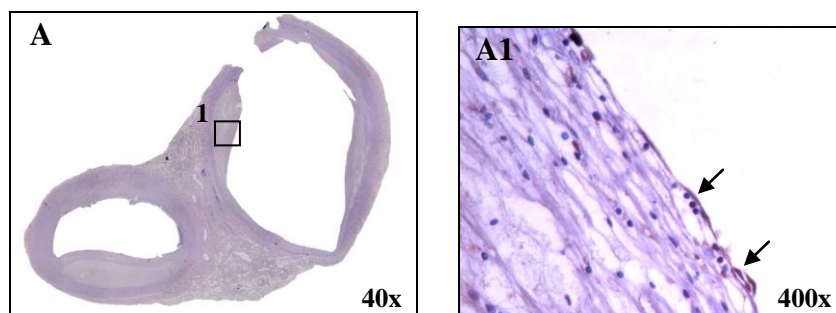
**Figura 49.** Exemple de cèl·lules musculars llises i cèl·lules endotelials als neovasos del lumen expressant TLR2 en lesió tipus Va

**Taula 28.** Expressió de TLR2 en diferents tipus cel·lulars en artèries carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$ .

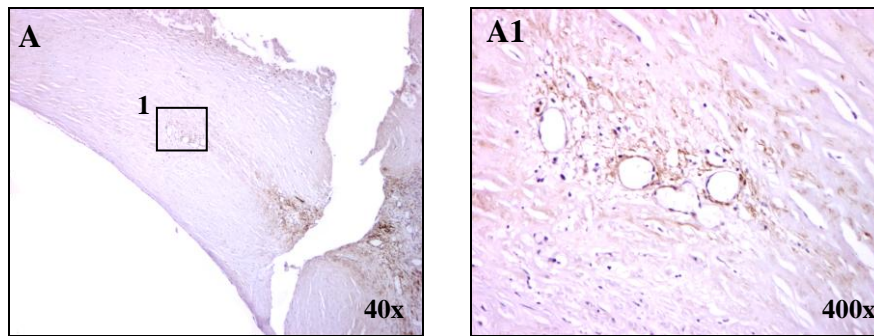
Pacient	AHA	Tipus cel·lulars	Grau marcatge
21	I	Cèl. inflamatòries	Molt poc
15	I/II	Cèl. endotelials lumen	Molt poc
		Cèl. Musculars llises Cèl. Inflamatòries	
14	I/II	Cèl. endotelials lumen	Molt poc
13	I/II	-	0
9	II	Cèl. endotelials lumen	Molt poc
		Cèl. Musculars llises	
30	II	Cèl. Musculars llises	Poc
		Cèl. Inflamatòries	
33	III	Cèl. Muscular llises	Molt
36	III	Cèl. endotelials lumen	Poc
		Cèl. Musculars llises	
34	III	Cèl. inflamatòries	Poc
28	IV	Cèl. endotelials lumen	Molt poc
		Cèl. Inflamatòries	
6	Va	Cèl. endotelials lumen	Poc
		Cèl. Endot. neovasos	Molt
		Cèl. Musculars llises	Molt
		Cèl. Inflamatòries	Molt poc
19	Va	Cèl. inflamatòries	Molt poc
1	Va	Cèl. endotelials lumen	Poc
27	Va	-	0

### 1.3.2.2 Estudi de la presència de TLR3

S'observa expressió de TLR3 tant en cèl·lules endotelials com en cèl·lules musculars llises o cèl·lules inflamatòries però és molt poc abundant. Els resultats es mostren en la Taula 29.



**Figura 50.** Exemple de cèl·lules endotelials del lumen expressant TLR3 en lesió tipus I/II



**Figura 51.** Exemple de cèl·lules musculars llises i cèl·lules endotelials als neovasos del lumen expressant TLR3 en lesió tipus Va

**Taula 29.** Expressió de TLR3 en diferents tipus cel·lulars en artèries carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$ .

Pacient	AHA	Tipus cel·lulars	Grau marcatge
21	I	Cèl. endotelials lumen	Poc
15	I/II	-	0
14	I/II	Cèl. endotelials lumen Cèl. Inflatòries	Molt poc
13	I/II	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt poc
9	II	Cèl. Muscular llises	Molt poc
30	II	Cèl. Muscular llises	Molt poc
33	III	-	0
36	III	-	0
34	III	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises Cèl. Inflatòries	Molt
28	IV	Cèl. endotelials lumen	Poc
6	Va	Cèl. endotelials lumen Cèl. Endot. neovasos Cèl. Musculars llises Cèl. Inflatòries	Molt poc Poc Poc Molt poc
19	Va	Cèl. Muscular llises	Poc
1	Va	-	0
27	Va	-	0

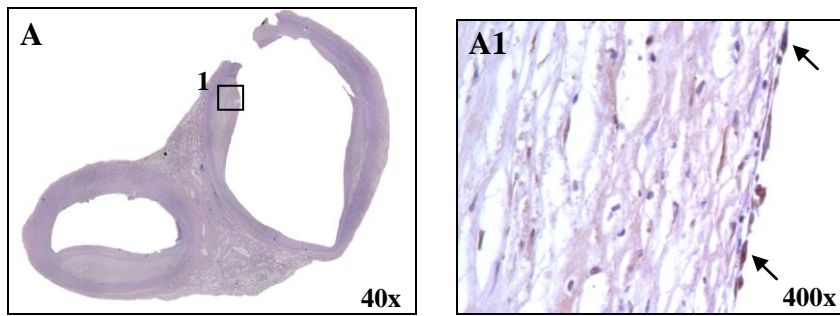


### 1.3.2.3 Estudi de la presència de TLR4

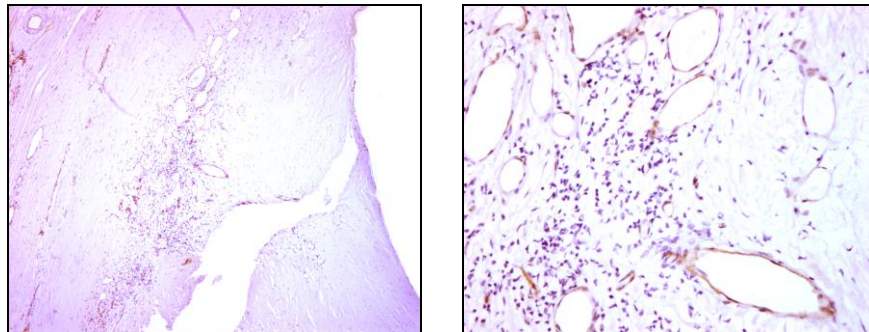
Hi ha una abundant expressió de TLR4 en cèl·lules endotelials tant del lumen de tots els tipus de lesions com en neovasos de lesions més avançades. També s'observa una forta expressió per part de cèl·lules musculars llises en lesions intermèdies. En les lesions més avançades també es pot observar la seva expressió per part de cèl·lules inflamatòries. Els resultats es presenten en la Taula 30.

**Taula 30.** Expressió de TLR4 en diferents tipus cel·lulars en artèries carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ .

Pacient	AHA	Tipus cel·lulars	Grau marcatge
21	I	Cèl. endotelials lumen	Molt
15	I/II	Cèl. endotelials lumen	Molt poc
14	I/II	Cèl. endotelials lumen Cèl. Inflamatòries	Poc
13	I/II	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt poc
9	II	-	0
30	II	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt
33	III	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt
36	III	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt Poc
34	III	Cèl. endotelials lumen Cèl. Musculars llises	Molt
28	IV	Cèl. endotelials lumen	Poc
6	Va	Cèl. endotelials lumen Cèl. Endot. neovasos Cèl. Musculars llises Cèl. Inflamatòries	Poc Molt Molt poc Molt poc
19	Va	Cèl. endotelials lumen Cèl. Inflamatòries	Molt Molt poc
1	Va	Cèl. endotelials lumen Cèl. Endot. neovasos Cèl. Inflamatòries	Molt Molt Molt poc
27	Va	-	0



**Figura 52.** Exemple de cèl·lules endotelials del lumen expressant TLR4 en lesió tipus I/II



**Figura 53.** Exemple de cèl·lules musculars llises i cèl·lules endotelials als neovasos del lumen expressant TLR4 en lesió tipus Va



*2. Estudi de la relació entre infecció per Chlamydia  
pneumoniae i aterosclerosi*



## 2.1 Estudi de la presència de *Chlamydia pneumoniae* en diferents tipus arterials

Per aquest estudi s'han utilitzat plaques carotídiades de baixa a moderada estenosis ( $\leq 50\%$ ) ( $n = 38$ ), plaques carotídiades avançades obtingudes de pacients sotmesos a endarterectomia ( $n = 25$ ) i artèries cerebrals mitges ( $n = 10$ ). De totes elles es va realitzar la tinció hematoxilina-eosina per classificar-les segons l'AHA en lesions de tipus I a VI. Les dades clíniques, factors de risc cardiovascular així com la causa de mort es presenten en la Taula 31,32 i en les taules 12,13 i 15.

**Taula 31.** Dades clíniques dels pacients.

Dades	Caròtides (n=38)	ACM (n=10)	CEA (n=25)	p-valor
Edat (Mitja $\pm$ SD)	67 $\pm$ 15	65 $\pm$ 19	70 $\pm$ 7	NS
Sexe ( $\sigma/\rho$ )	25/13	8/2	20/5	NS
WBC $\times 10^9/L$ (Mitja $\pm$ SD)	12,3 $\pm$ 10,0	11,1 $\pm$ 5,0	7,6 $\pm$ 2,2	NS
Glucosa (Mitja $\pm$ SD) (mmol/l)	6,7 $\pm$ 2,0*	10,8 $\pm$ 7* <sup>†</sup>	7,7 $\pm$ 2,6 <sup>†</sup>	0,009
Colesterol total (Mitja $\pm$ SD) (mmol/l)	3,4 $\pm$ 1,0*	4,2 $\pm$ 1,0	4,1 $\pm$ 0,8*	0,010
HTA n, (%)	15 (39,5)	7 (70)	17 (68)	NS
DM n, (%)	8 (21,1)*	3 (30)	13 (52)*	0,037
DLP n, (%)	9 (23,7)*	3 (30)	15 (60)*	0,022
Fumador n, (%)	9 (23,7)* <sup>†</sup>	7 (70)*	17 (68) <sup>†</sup>	0,000
Alcoholisme n, (%)	8 (21,1)	3 (30)	2 (8)	NS
CAD n, (%)	8 (22,2)*	3 (30)	12 (48)*	0,000
Estatines n, (%)	5 (20,8)	0 (0)*	11 (44)*	0,030
Antiplaquetaris n, (%)	4 (16,7) <sup>†</sup>	3 (30)*	24 (96)* <sup>†</sup>	0,000
Rasb n, (%)	9 (37,5)*	5 (50) <sup>†</sup>	5 (20)* <sup>†</sup>	NS
Symptomatic n, (%)	-	-	19 (79)	-

ACM, artèria cerebral mitja; CEA, endarterectomies; WBC, *white blood cells*; HTA, hipertensió; DM, *diabetes mellitus*; DLP, dislipèmia; CAD, *coronary artery disease*; Rasb, *renin angiotensin system blockers*; \*<sup>†</sup> Diferències estadísticament significatives entre aquests grups; NS, no significatiu.

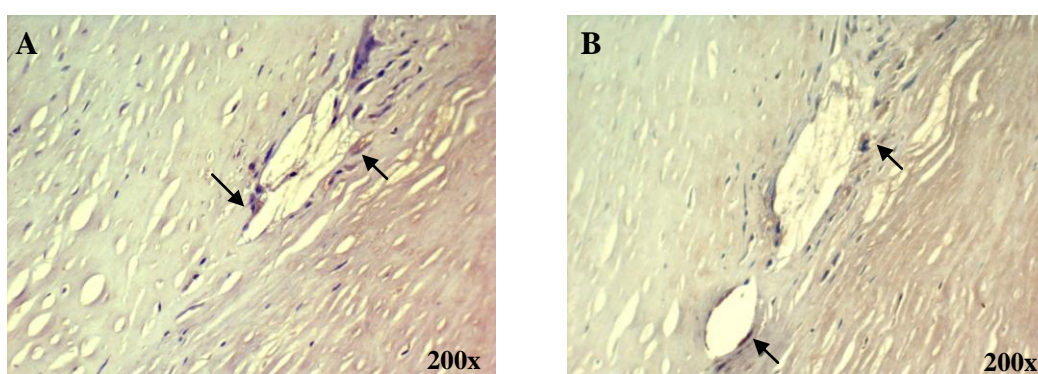
**Taula 32.** Classificació AHA i característiques anatomo-patològiques de les plaques.

	Caròtides		CEA (n=25)	
	(n=38)	ACM (n=10)		
<i>Classificació AHA</i>			<i>UNC</i>	50
Inicials (I-III)	55,3	60	<i>UC</i>	22,7
Intermitges (IV-Va)	44,7	40	<i>F</i>	27,3
<i>Nucli necròtic</i>	44,7	20,0		
<i>Calcificació</i>	44,7	0,0		
<i>Inflamació</i>	57,9	10,0		
<i>Hemorràgia intraplaca</i>	0,0	0,0		
<i>Cristalls de colesterol</i>	18,4	0,0		

Valors expressats com %; ACM, artèries cerebrals mitges; CEA, endarterectomies; UNC, ulcerades no-complicades; UC, ulcerades complicades; F, fibroses .

### 2.1.1 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* mitjançant immunohistoquímica

Es va fer un estudi pilot per veure la presència de *C. pneumoniae* en les plaques ateroscleròtiques. Els resultats obtinguts en els controls negatius de les mostres analitzades donaven lloc a confusió, per tant, es va decidir utilitzar una tècnica més precisa com la PCR. La Figura 54 mostra una imatge d'una immunohistoquímica de *C. pneumoniae* en una placa carotídia obtinguda d'endarterectomia on es pot observar com el control negatiu mostra reaccions creuades que donen lloc a una difícil interpretació dels resultats.

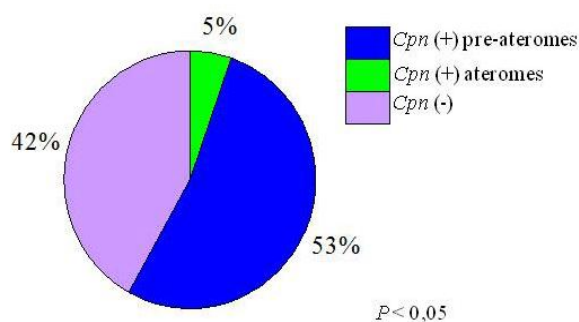


**Figura 54.** A, Control negatiu immunohistoquímica front *C. pneumoniae*. B, Immunohistoquímica front *C. pneumoniae*

## 2.1.2 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* per PCR

### 2.1.2.1 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* en lesions carotídies amb estenosi $\leq 50\%$

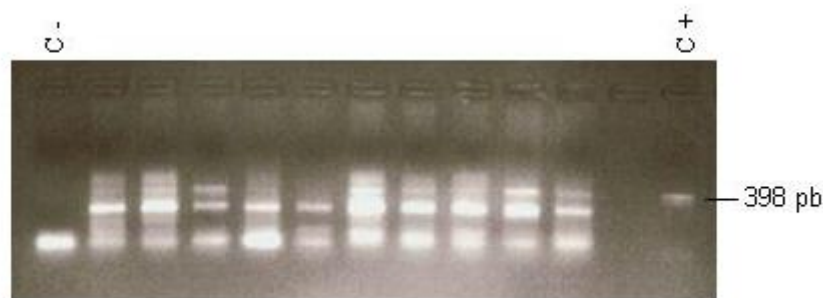
22 dels 38 casos estudiats (58%) d'artèries carotídies amb estenosi  $< 50\%$  van donar positiu per la presència de ADN de *C. pneumoniae*. No obstant, no totes les àrees estudiades de cada artèria eren positives. Només 2 dels 22 casos positius ( $p \leq 0,05$ ) eren de regions que contenien placa ateromatosa (lesió tipus IV-Va). 53% de les 38 artèries estudiades van donar positiu en regions de lesions pre-ateroma (lesions tipus I-III). Els resultats es presenten en la Figura 55. No hi ha relació estadísticament significativa entre la presència de *C. pneumoniae* i els diferents factors de risc cardiovascular, els tractaments o les característiques anatomo-patològiques de les plaques.



**Figura 55.** Representació dels resultats de presència de *C. pneumoniae* per PCR en mostres carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ .

En la figura 56 es mostra un exemple de la primera reacció de PCR per a 10 mostres carotídies. El primer carril correspon al control negatiu, mentre que l'últim correspon al control positiu, on s'observa la banda de 398pb. En la Figura 57 es mostren els productes de la *nested* PCR de les mostres en les que s'observava el fragment de 398pb de la primera reacció. El primer carril correspon al control negatiu, mentre que l'últim correspon al control positiu on s'observa el fragment de 214pb corresponent. Els carrils 2-6 y 8 corresponen a mostres positives.





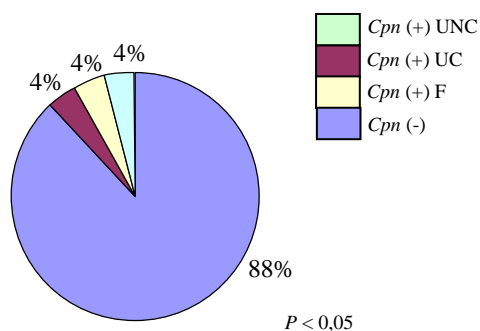
**Figura 56.** Gel agarosa 2% corresponent a la primera reacció de PCR de plaques carotídies amb estenosi <50%. Primer carril - control negatiu; Últim carril - control positiu



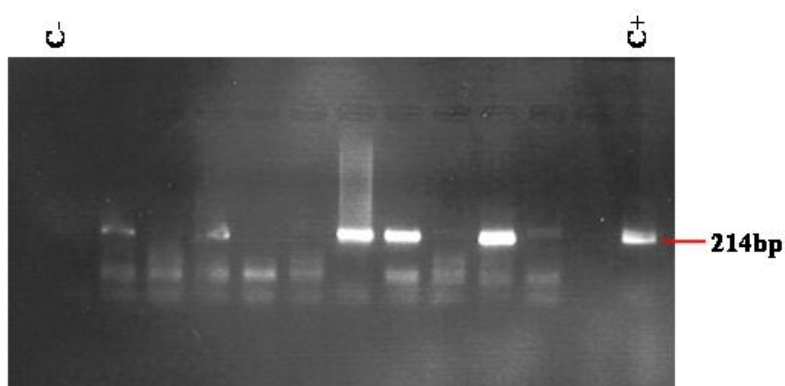
**Figura 57.** Gel agarosa 2% corresponent a la nested PCR de les mostres positives en la primera reacció. Primer carril - control negatiu; Últim carril - control positiu

### 2.1.2.2 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* en lesions carotídies amb estenosi > 70%

Només 3 de les 25 (12%) mostres d'endarterectomia analitzades per PCR van donar positiu per la presència de *C. pneumoniae*, mentre que el 88% restant van donar negatiu ( $p \leq 0,05$ ), considerant com a positiu aquelles mostres en que alguna zona de la mostra va donar positiu. Els resultats es presenten en la Figura 58. Les 3 mostres positives (Figura 59) eren de pacients simptomàtics. Els resultats negatius pertanyen a 16 pacients simptomàtics i 6 asimptomàtics. 50% de les mostres estudiades es van classificar com a ulcerades no-complicades, 22,7% ulcerades i 27,3 fibroses. No obstant, no es va trobar relació estadísticament significativa entre la presència de la bactèria i les característiques anatomo-patològiques de les plaques. Tampoc hi havia relació amb els factors de risc cardiovasculars o els tractaments dels pacients.



**Figura 58.** Representació dels resultats de presència de *C. pneumoniae* per PCR en mostres carotídiades amb estenosi > 70%. UNC: ulcerades no-complicades; UC: ulcerades; F: fibroses



**Figura 59.** Gel agarosa 2% corresponent a la nested PCR. Primer carril - control negatiu; Últim carril - control positiu. Observació de les 3 mostres positives

### 2.1.2.3 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* en artèries cerebrals mitges

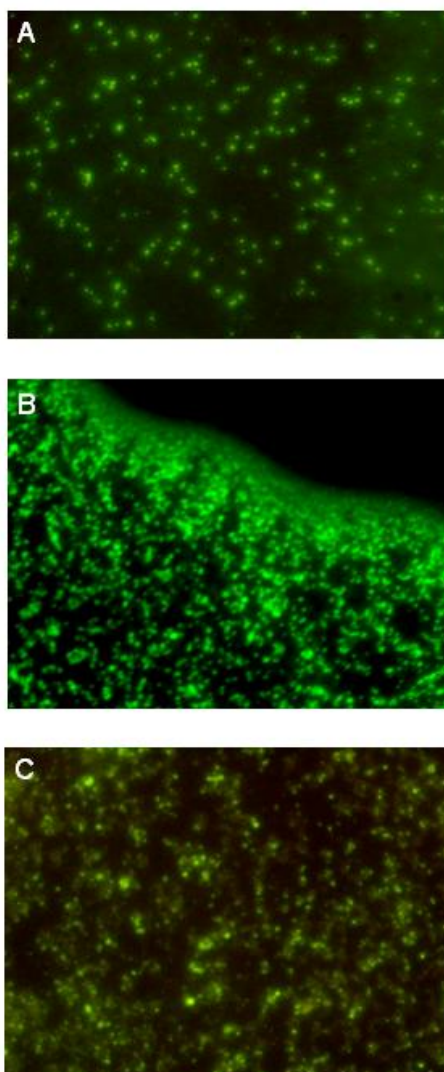
Es van classificar 6 de les artèries cerebrals mitges com a lesions tipus I-III i 4 com a lesions tipus IV-Va, d'acord amb l'AHA. Les 4 àrees analitzades de les 10 artèries van donar negatiu per la presència de ADN de *C. pneumoniae*. La Figura 60 mostra com cap de les mostres presenta la banda de 398pb.



**Figura 60.** Gel agarosa 2% corresponent a la primera reacció de PCR per a les artèries cerebrals mitges. Primer carril - control negatiu; Últim carril - control positiu

### 2.1.3 Detecció de *Chlamydia pneumoniae* en sèrum.

De les 22 mostres de sèrum estudiades de pacients sotmesos a endarterectomia van donar positiu el 91% (n = 20) mentre que un 9% (n = 2) van donar negatiu en el test. Es van trobar anticossos IgG front *C. pneumoniae* en 16 dels 22 casos. Es van trobar anticossos IgM en 5 i IgA en 12 de les 22 mostres. 2 dels pacients que van donar positiu en l'anàlisi per PCR van donar també positiu en el test serològic. Aquests estudis no revelen una associació entre les mostres que donen positiu i la presència de *C. pneumoniae* en les plaques analitzades per PCR. La Figura 61 mostra una imatge representativa d'una immunofluorescència positiva en el test serològic.



**Figura 61.** Estudi serològic. A, Immunofluorescència IgG positiva per *C. pneumoniae*. B, Immunofluorescència IgA positiva per *C. pneumoniae*. C, Immunofluorescència IgM positiva per *C. pneumoniae*. Totes les imatges tenen una magnificació x1000

### 2.1.4 Relació entre la presència de limfòcits T i B i infecció per *Chlamydia pneumoniae*

S'ha estudiat la relació entre la presència de *C. pneumoniae* en plaques d'artèries carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$  ( $n = 22$ ) i la presència de limfòcits T i B en les mateixes zones (resultats estudi 2.1.4).

Els resultats es presenten en les Taules 33, 34 i 35. No s'ha trobat una relació estadísticament significativa entre la presència d'infecció per *C. pneumoniae* i un major número de limfòcits T, B o limfòcits actius en l'àrea de la placa. Tampoc s'ha trobat relació respecte la presència de *C. pneumoniae* en alguna altra part de l'artèria.

**Taula33.** Limfòcits T/mm<sup>2</sup> vs presència de *C. pneumoniae* a la placa.

		Limf T/mm <sup>2</sup>		
		<5	5-10	>10
<i>C. pneumoniae</i>	Neg	10	2	1
	Pos	7	1	1
		<i>P-valor</i>		NS

\* Test Khi-quadrat; NS: no significatiu.

**Taula34.** Limfòcits B/mm<sup>2</sup> vs presència de *C. pneumoniae* a la placa.

		Limf B/mm <sup>2</sup>		
		0	<0,5	>0,5
<i>C. pneumoniae</i>	Neg	11	2	0
	Pos	8	0	1
		<i>P-valor</i>		NS

\* Test Khi-quadrat; NS: no significatiu.

**Taula35.** Limfòcits Actius/mm<sup>2</sup> vs presència de *C. pneumoniae* a la placa.

		Limf Actius/mm <sup>2</sup>			
		0	<0,5	0,5-1	>1
<i>C. pneumoniae</i>	Neg	9	3	0	1
	Pos	6	2	1	0
		<i>P-valor</i>		NS	

\* Test Khi-quadrat; NS: no significatiu.

### 2.1.5 Relació entre la presència de TLRs i infecció per *Chlamydia pneumoniae*

S'ha estudiat la relació entre la presència de *C. pneumoniae* en plaques d'artèries carotídiades amb estenosi < 50% (n = 14) i la presència de TLRs (resultats estudi 1.3.2).

S'ha trobat una relació estadísticament significativa entre una major presència de *C. pneumoniae* a l'àrea de la placa i una major expressió de TLR4. Els resultats es presenten a la Taula 36. En canvi, no s'ha trobat relació amb l'expressió de TLR2 o TLR3 (Taulas 37 i 38).

**Taula 36.** Relació entre presència de *C. pneumoniae* a l'àrea de la placa i l'expressió de TLR4.

		<i>C. pneumoniae</i>	
		Negatiu	Positiu
<b>TLR4</b>	0	2	0
	Poc	7	1
	Molt	0	4
		<i>P-valor*</i>	0,006

\* Test Khi-quadrat

**Taula 37.** Relació entre presència de *C. pneumoniae* a l'àrea de la placa i l'expressió de TLR2.

		<i>C. pneumoniae</i>	
		Negatiu	Positiu
<b>TLR2</b>	0	2	0
	Poc	7	3
	Molt	0	2
		<i>P-valor*</i>	NS

\* Test Khi-quadrat; NS: no significatiu.

**Taula 38.** Relació entre presència de *C. pneumoniae* a l'àrea de la placa i l'expressió de TLR3.

		<i>C. pneumoniae</i>	
		Negatiu	Positiu
<b>TLR3</b>	0	4	1
	Poc	5	3
	Molt	0	1
		<i>P-valor*</i>	NS

\* Test Khi-quadrat; NS: no significatiu.

### 2.1.6 Relació entre la presència de HIF-1 $\alpha$ i infecció per *Chlamydia pneumoniae*

S'ha estudiat la relació entre la presència de *C. pneumoniae* en artèries carotídiades amb estenosi < 50% (n = 15) i la presència de HIF-1 $\alpha$  en les plaques (resultats estudi 1.1). Es va trobar una relació estadísticament significativa entre un major grau d'expressió de HIF-1 $\alpha$  en aquelles plaques d'artèries que mostraven presència de *C. pneumoniae* en alguna zona de l'artèria ( $p < 0,05$ ). Els resultats es mostren en la Taula 39.

**Taula 39.** Relació entre detecció de HIF-1 $\alpha$  i presència de *C. pneumoniae* en lesions de caròtida amb estenosi  $\leq 50\%$ .

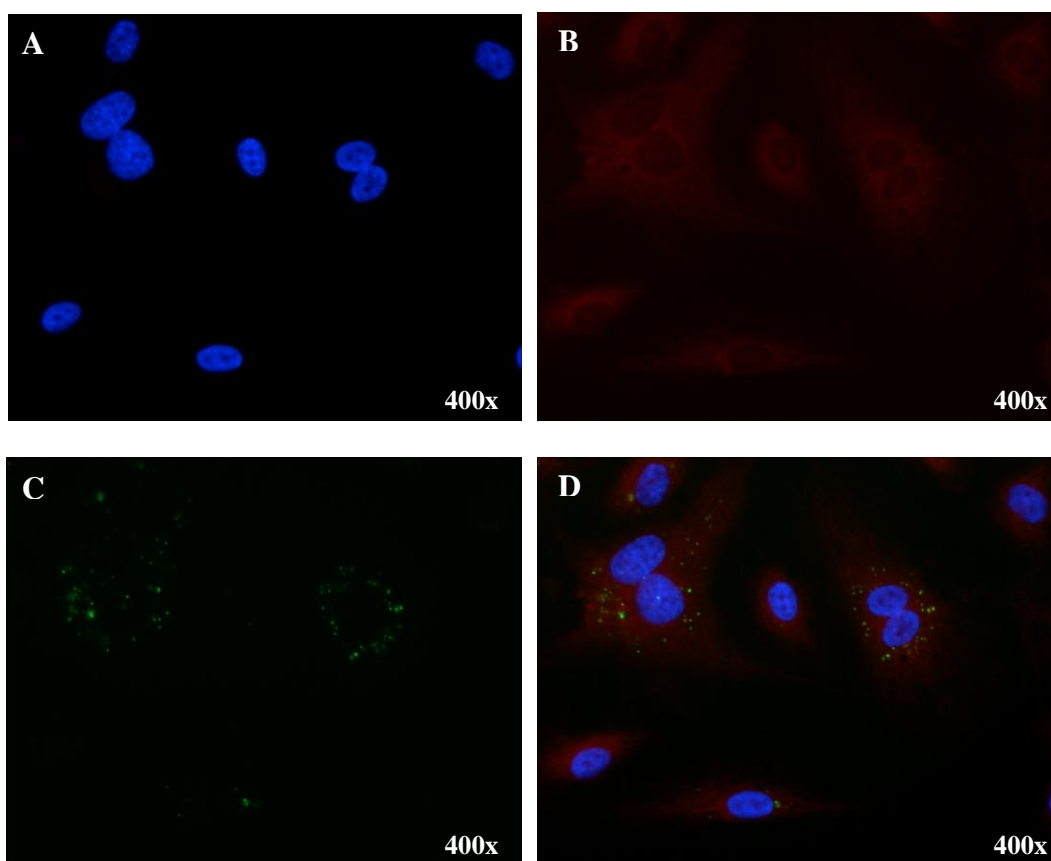
n = 15	<i>C. pneumoniae</i>		Total
	Neg	Pos	
0	4	0	4
+	3	0	3
++	0	4	4
+++	1	3	4
<b>Total</b>	8	7	15
			<b>p valor</b>
			0,007

0, no tinció; +, tinció dèbil; ++, tinció moderada; +++, tinció forta.

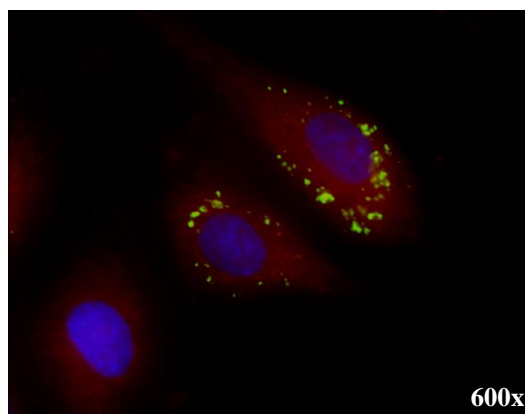
## 2.2 Anàlisi de la regulació de l'expressió gènica transcripcional mitjançant microarrays

Amb la finalitat d'establir el paper de la infecció per *C. pneumoniae* en l'activació de les cèl·lules endotelials i per tant, estudiar processos immunoinflamatoris implicats en la malaltia ateroscleròtica carotídia, es va utilitzar la tecnologia dels microarrays per determinar els perfils d'expressió gènica en cèl·lules endotelials de caròtida humana (HCtAECs).

Per a realitzar aquest estudi es va optimitzar el sistema d'infecció de HCtAECs amb *C.pneumoniae* aconseguint un 80-90% d'infecció a les 72h. Les cèl·lules HCtAECs van ser infectades i analitzades després de 2, 24 i 72h tal i com s'explica al punt 16 de l'apartat de materials i mètodes. Les següents figures mostren exemples de les immunocitoquímiques realitzades per tal de comprovar la infecció a 72h.



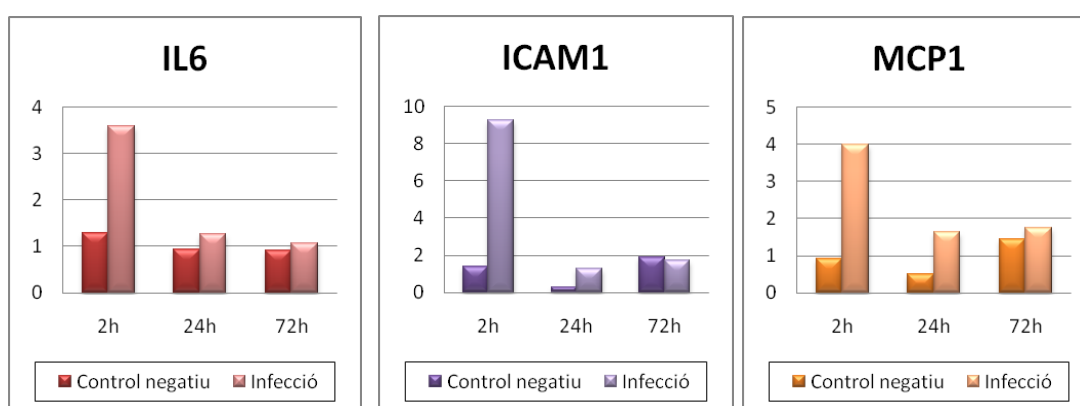
**Figura 62.** Immunocitoquímica de HCtAECs infectades amb *C.pneumoniae* a 72h (400x). A, marcatge de nuclis (DAPI). B, marcatge del citoplasma (*Evans blue*). C, marcatge dels cossos elementals de *C.pneumoniae* (FITC). D, superposició de les 3 imatges



**Figura 63.** Immunocitoquímica de HCTaECs infectades amb *C. pneumoniae* a 72h (600x). DAPI: marcatge de nuclis; Evans blue: marcatge del citoplasma; FITC: marcatge dels cossos elementals de *C.pneumoniae*

Posteriorment a l'estimulació, es van extreure els ARNs tant de les cèl·lules no infectades (controls negatius) com de les cèl·lules infectades (controls positius), obtenint 3 rèpliques biològiques negatives i 3 positives per cada temps (18 mostres en total).

Com a control de qualitat funcional del procés d'infecció, es va quantificar per qRT-PCR l'expressió de IL6, ICAM1 i MCP1 en cadascuna de les 18 mostres d'ARN a utilitzar en els experiments d'hibridació, utilitzant el gen TBP com a gen normalitzador. Com es pot observar a la figura 64 hi ha una clara sobreexpressió de tots tres gens comparat amb el control negatiu a 2h, mentre que a 24 i 72h la seva expressió baixa considerablement, arribant als nivells dels controls negatius a 72h.



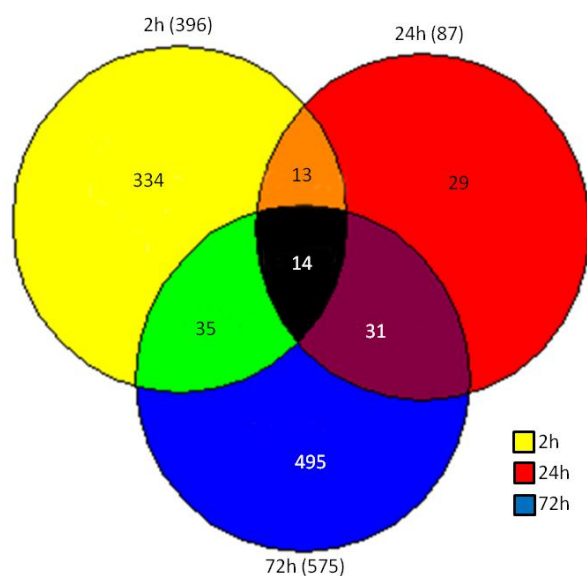
**Figura 64.** Anàlisi de l'expressió per qRT-PCR dels transcrits IL6, ICAM1 i MCP1 a 2, 24 i 72h d'infecció amb *C. pneumoniae*

Una vegada confirmada la diferència d'expressió d'aquests gens entre els controls negatius i les mostres infectades es va realitzar l'experiment de microarrays. Es van



utilitzar els microarrays d'expressió gènica “SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K” de la plataforma Agilent. Les característiques de l'*array* així com els protocols de marcatge, hibridació i normalització es detallen al punt 18 de l'apartat de materials i mètodes.

Els paràmetres utilitzats en l'anàlisi van ser la taxa de canvi (fold change, FC) i p-valor ajustat. De la totalitat de gens presents al xip es van identificar 951 transcrits, utilitzant com a punt de tall un valor de  $|FC \geq 1,2|$  i un p-valor ajustat  $\leq 0,05$ , diferencialment regulats almenys en algun dels tres temps d'estimulació (Annex 2). Aproximadament un 65% d'aquests transcrits estarien sobreexpressats, mentre que un 35% veurien disminuïda la seva expressió. Tal i com s'observa a la figura 65, la majoria de canvis en l'expressió gènica s'obtenien a 2 y 72h d'infecció. Només un 1,5% d'aquests transcrits (14) estarien regulats en els tres temps d'estimulació. Així doncs, els experiments de microarrays van permetre identificar un total de 951 transcrits dels 35312 analitzats, com a diferencialment regulats en cèl·lules endotelials activades per la infecció amb *C.pneumoniae*.



**Figura 65.** Diagrama de Venn mostrant la regulació gènica diferencial dels 951 transcrits amb un criteri de tall de  $|fold\ change| \geq 1,2$  i  $p\text{-value} \leq 0,05$  en els tres temps d'estimulació analitzats

## 2.2.1 Anàlisi de les dades de Microarrays

### 2.2.1.1 Anàlisi de Time Course

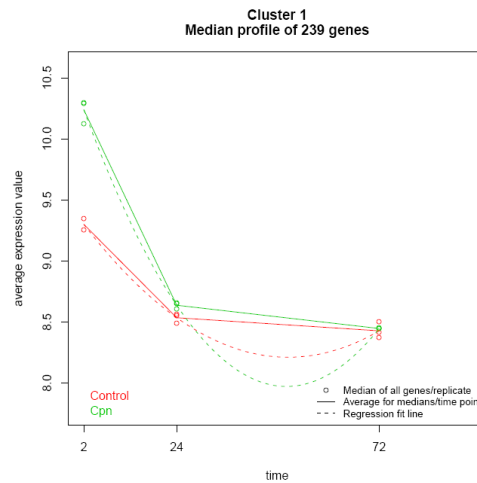
Per tal de visualitzar la dinàmica de les dades i obtenir una aproximació dels diferents nivells de regulació gènica existents en el conjunt de transcrits regulats significativament, es va utilitzar l'eina de *clustering*. El *clustering* és un mètode exploratori que es fa servir per identificar grups de gens amb un patró de regulació comú. S'espera que gens amb un patró d'expressió similar estiguin relacionats funcionalment o bé intervinguin en una mateixa ruta metabòlica.

Per tal d'identificar patrons d'expressió similars al llarg dels tres temps d'estimulació, s'ha utilitzat el sistema maSigPro, tal i com s'explica a l'apartat de materials i mètodes. Inicialment es fa una primera selecció de gens que varien en el temps utilitzant com a *threshold* un p-valor  $\leq 0,01$ , sent un p-valor ajustat, és a dir, corregit per FDR. Posteriorment, es busquen patrons de canvi utilitzant el valor *Rsquared* considerant estadísticament significatius aquells amb un  $R^2 \geq 0,7$ . El resultat és un grup de gens amb un patró d'expressió similar classificats en 9 *clusters*. El sistema analitza les dades fent servir com a hipòtesi nul·la els gens que no varien al llarg del temps.

Els resultats de cada *cluster*, amb la llista de gens, p-valor i  $R^2$ , junt amb el perfil d'expressió es troben a l'annex 3. A continuació es mostren els patrons d'expressió dels 9 *clusters* resultants i l'anàlisi d'anotació funcional realitzat amb el FatiGo per tal de determinar si comparteixen una mateixa funció biològica i identificar funcions predominants alterades en la situació experimental estudiada. Es va fer el mateix anàlisi de FatiGo comparant amb la base de dades de KEGG *pathways* (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*). Aquesta base de dades va ser desenvolupada per el *Human Genome Center of the University of Tokyo* amb l'objectiu de computeritzar el coneixement actual sobre interaccions moleculars i vies metabòliques. A partir de les dades d'expressió gènica i fent servir FatiGo, es va assignar informació de les rutes metabòliques sobrerrepresentades en el conjunt de gens analitzats.

Cluster 1:

El primer *cluster* correspon a un grup de 239 gens. Es tracta de gens de resposta primerenca, que principalment estarien sobreexpressats en resposta a la infecció per *C.pneumoniae* a 2 hores. La Figura 66 mostra el perfil d'expressió obtingut amb el programa maSigPro corresponent al *cluster* 1.



**Figura 66.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster* 1 obtingut amb el programa maSigPro.

L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 1 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 64,85% (155) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 62,34% (149) en la categoria de Funció Molecular i el 56,9% (136) en la categoria de Component Cel·lular.

Dins de la categoria de Procés Biològic trobem principalment termes relacionats amb la regulació de la transcripció, diferenciació cel·lular i expressió gènica. També trobem categories relacionades amb processos de fosforilació, diferenciació leucocitària o resposta cel·lular front estímuls externs. La taula 40 mostra exemples de categories trobades incloent el % d'anotació de gens del *cluster* 1 trobats dins de cada categoria, el p-valor ajustat i exemples de gens que s'inclouen a cada procés biològic.

La mateixa anàlisi utilitzant la base de dades de GO, en la categoria de Funció Molecular, va mostrar 2 categories relacionades amb l'activitat de la transcripció i la unió a ADN. La taula 41 mostra aquests resultats.

**Taula 40.** Exemple de Processos Biològics trobats inclosos en el *cluster* 1

Biological Process	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
transcription (GO:0006350)	27,62	4,71E-05	FOS, FOSB, JUN, JUNB, IL11, LIF, NFKBIZ, NR4A1, NR4A2, TNF, IRF1, ZNF295, ZNF654.
regulation of gene expression (GO:0010468)	29,29	1,12E-05	BMP2, CSF2, FOS, FOSB, IL11, IRF1, JUN, JUNB, NKBIZ, NR4A1, NR4A2, SMAD7, TNF, ZFP36, PLAUR, ZNF503.
regulation of cell differentiation (GO:0045595)	12,13	9,83E-06	BMP2, CAV1, CD24, CD83, CDK5R1, CSF2, CYP27B1, EDN1, IL7R, JAG1, JUN, JUNB, LIF, SMAD7, SOCS3, TNF, ZFP36.
phosphorylation (GO:0016310)	12,97	3,79E-02	BMP2, CAV1, CD24, CDK5R1, CSF2, DUSP2, EDN1, IL11, JUN, LIF, MAP3K8, PDGFA, SMAD7, SOCS1, SOCS3, TNF.
myeloid leukocyte differentiation (GO:0002573)	2,93	3,00E-02	CSF2, ID2, JUN, KLF10, LIF, TNF.
cellular response to extracellular stimulus (GO:0031668)	3,35	1,69E-02	CYP27B1, FADS1, FOS, HRK, JUN, NR4A2, VDR.

**Taula 41.** Funcions Moleculars trobades al *cluster* 1

Molecular Function	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Transcription factor activity (GO:0003700)	15,48	5,95E-4	ATF3, BHLHE40, E2F3, EGR4, FOS, FOSB, HES6, IRF1, JUN, JUNB, JUND, NR4A1, NR4A2, PLAUR, RUNX1, SMAD7, VDR.
Sequence-specific DNA binding (GO:0043565)	12,13	7,42E-6	ATF3, ELF4, FOS, FOSB, IRF1, JUN, JUNB, JUND, NR4A1, NR4A2, , SMAD7, VDR.

Dins de la categoria de Component Cel·lular nomès es va trobar una categoria estadísticament significativa i corresponia al nucli (GO:0005634) amb un 33,47% d'anotacions i un p-valor ajustat de 3,5E-02. Alguns dels gens que s'inclouen es mostren a la taula 42.

**Taula 42.** Components Cel·lulars trobats al *cluster* 1

Cellular Component	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Nucleus (GO:0005634)	33,47	3,57E-2	AMIGO2, CCNL1, CDK5R1, DUSP1, ELF4, FOS, FOSB, IRF1, JUN, JUNB, NFKBIZ, NR4A1, NR4A2, PLAUR, PTGS2, SMAD7, ZFP36, VDR, ZNF620.

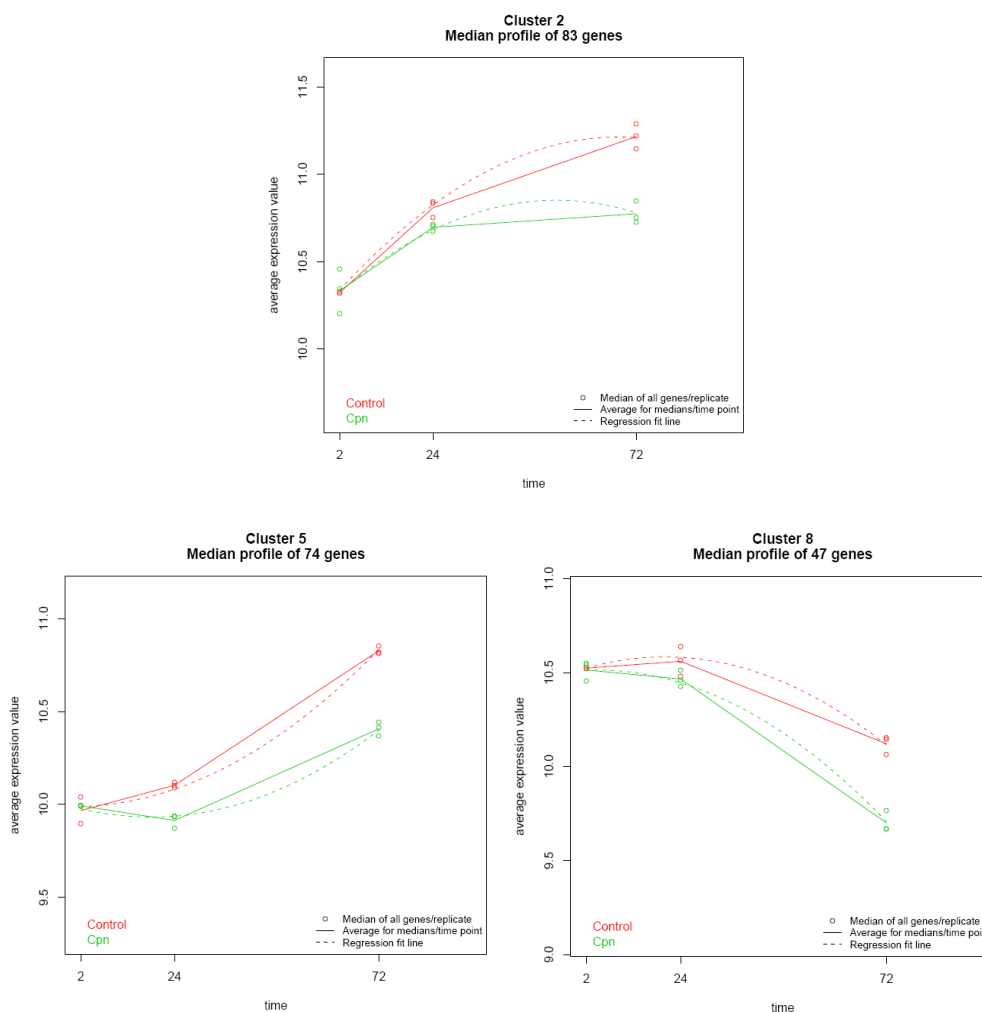
L'anàlisi realitzat comparant la base de dades KEGG *pathways* no va trobar cap via estadísticament significativa dins d'aquest grup de gens.

### Cluster 2, 5 i 8:

El *clusters* 2, 5 i 8 corresponen a grups de 83, 74 i 47 gens respectivament. Els tres *clusters* tenen perfils d'expressió similars ja que es tracta de gens inhibits en la condició d'infecció respecte el control a 24h i sobretot a 72h. La Figura 67 mostra el perfil d'expressió obtingut amb el programa maSigPro corresponent als tres *clusters*.

Al *cluster* 2 es pot observar com hi ha una inhibició d'expressió a 24 i sobretot 72h respecte el grup control però, si el que es compara són aquests temps amb el de 2h, es veu una pujada d'expressió al llarg del temps. L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 2 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 50,60% (42) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 54,22% (45) en la categoria de Funció Molecular i el 46,99% (39) en la categoria de Component Cel·lular. Tot i això no es va trobar cap relació estadísticament significativa. En l'anàlisi de KEGG *pathways* tampoc es va trobar cap via significativa.

Al *cluster* 5 també s'observa com hi ha una inhibició d'expressió a 24 i 72h respecte el grup control però, si el que es compara són aquests temps amb el de 2h, es veu una petita baixada a 24h i com puja considerablement l'expressió a les 72h. L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 5 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 64,86% (48) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 64,86% (48) en la categoria de Funció Molecular i el 51,35% (38) en la categoria de Component Cel·lular. Com passava al *cluster* 2, en aquest tampoc es va trobar cap relació estadísticament significativa de l'anàlisi de GO, ni en l'anàlisi de KEGG *pathways*.

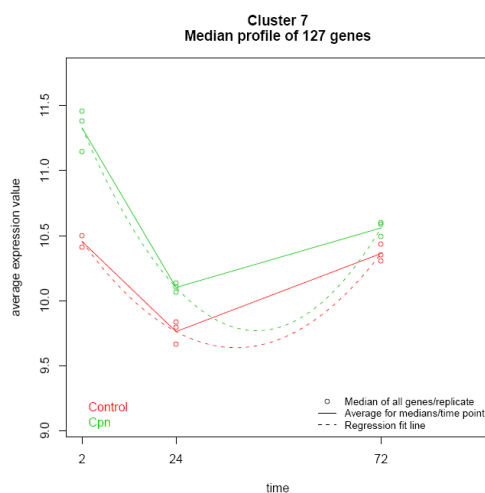


**Figura 67.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster 2*, *5* i *8* obtinguts amb el programa maSigPro

Al *cluster 8* també s'observa com hi ha una inhibició d'expressió a 24 i 72h respecte el grup control però, si el que es compara són aquests temps amb el de 2h, es veu una petita baixada a 24h i com continua baixant l'expressió a les 72h. L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster 8* amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 46,81% (22) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 48,94% (23) en la categoria de Funció Molecular i el 44,68% (21) en la categoria de Component Cel·lular. Com passava als *clusters 2* i *5*, en aquest tampoc es va trobar cap relació estadísticament significativa ni a l'anàlisi de GO ni a l'anàlisi de KEGG *pathways*.

Cluster 7:

Aquest *cluster* correspon a un grup de 127 gens. El perfil d'expressió d'aquest grup de gens es pot observar a la Figura 68, on es mostra una sobreexpressió respecte el grup control en els tres temps estudiats, sent superior la diferència d'expressió a temps més curts.



**Figura 68.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster 7* obtingut amb el programa maSigPro

L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster 7* amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 78,74% (100) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 68,5% (87) en la categoria de Funció Molecular i el 63,35% (83) en la categoria de Component Cel·lular.

Amb un p-valor ajustat inferior a 0,05 només es va trobar estadísticament significatiu un resultat. Aquest correspon a l'anàlisi de KEGG *pathways* on la via de senyalització del receptor NOD surt significativa amb un p-valor ajustat de 1,27E-3. Es van trobar un 7,09% d'anotacions que corresponien als gens de la taula 43.

Encara que no seria significatiu, aquest *cluster* agrupa un conjunt de gens relacionats amb processos biològics com la resposta immune innata, resposta a molècules d'origen bacterià, de la via NF- $\kappa$ B o apoptosi. La taula 44 mostra una llista de gens implicats en aquests processos biològics i que estan inclosos dins del *cluster 7*.

**Taula 43.** Gens de la via de senyalització del receptor NOD inclosos al *cluster 7*.

Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
CCL2	Chemokine (C-C motif) ligand 2	Red	Red	Dark Red
IL1B	Interleukin 1, beta	Dark Red	Black	Black
IL6	Interleukin 6 (interferon, beta 2)	Red	Dark Red	Dark Red
TNFAIP3	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	Red	Dark Red	Dark Red
BIRC3	Baculoviral IAP repeat-containing 3	Red	Dark Red	Dark Red
CXCL1	Chemokine (C-X-C motif) ligand 1	Red	Dark Red	Dark Red
CXCL2	Chemokine (C-X-C motif) ligand 2	Red	Dark Red	Dark Red
NFKB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	Dark Red	Black	Black
IL8	Interleukin 8	Red	Dark Red	Dark Red

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

**Taula 44.** Gens inclosos al *cluster 7* relacionats amb processos com la resposta immune innata i apoptosi.

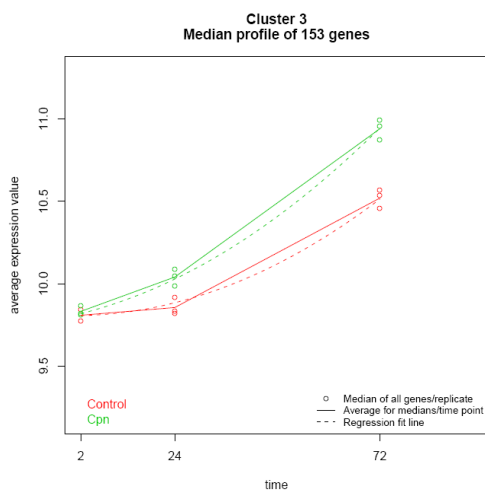
Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	Red	Dark Red	Black
CCL2	Chemokine (C-C motif) ligand 2	Red	Dark Red	Dark Red
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20	Red	Dark Red	Dark Red
IL1B	Interleukin 1, beta	Dark Red	Black	Black
IL6	Interleukin 6 (interferon, beta 2)	Red	Dark Red	Dark Red
NFKBIA	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	Red	Dark Red	Dark Red
SELE	Selectin E	Red	Dark Red	Green
TICAM1	Toll-like receptor adaptor molecule 1	Dark Red	Black	Black
TLR2	Toll-like receptor 2	Dark Red	Black	Black
IRAK2	Interleukin-1 receptor-associated kinase 2	Dark Red	Black	Dark Red
TNFAIP3	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	Red	Dark Red	Dark Red
BAG2	BCL2-associated athanogene 2	Dark Red	Black	Dark Red
BIRC3	Baculoviral IAP repeat-containing 3	Red	Dark Red	Dark Red
BTG2	BTG family, member 2	Dark Red	Black	Black
MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	Dark Red	Black	Black
NFKB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	Dark Red	Dark Red	Dark Red
SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	Dark Red	Dark Red	Dark Red
TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	Red	Black	Green

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h



Cluster 3:

Aquest *cluster* correspon a un grup de 153 gens. El perfil d'expressió d'aquest grup de gens es mostra a la Figura 69, on es pot observar una sobreexpressió respecte el grup control a 24 y 72h, sent superior la diferència a 72h.



**Figura 69.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster* 3 obtingut amb el programa maSigPro

L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 3 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 61,44% (94) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 68,63% (105) en la categoria de Funció Molecular i el 49,02% (75) en la categoria de Component Cel·lular.

Com a procés biològic estadísticament significatiu trobem el processament i presentació d'antigen via el complex d'histocompatibilitat de classe I (MHC I). La taula 45 mostra el gens d'aquesta categoria inclosos en aquest *cluster*.

**Taula 45.** Processos Biològics trobats al *cluster* 3.

Biological Process	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I (GO:0002474)	5.88	9,15E-5	B2M, ERAP1, ERAP2, HLA-A, HLA-B, HLA-G.

Dins la categoria de Funció Molecular no es va trobar cap resultat significatiu. En canvi, en la categoria de Component Cel·lular va mostrar el complex proteic MHC de classe I

com a únic resultat significatiu (p-valor ajustat de 2,31E+00). La taula 46 mostra els gens implicats inclosos en el *cluster* 3.

**Taula 46.** Gens inclosos en el component cel·lular MHC I al *cluster* 3.

Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
B2M	Beta-2-microglobulin			
HLA-A	Major histocompatibility complex, class I, A			
HLA-B	Major histocompatibility complex, class I, B			
HLA-E	Major histocompatibility complex, class I, E			
HLA-F	Major histocompatibility complex, class I, F			
HLA-G	Major histocompatibility complex, class I, G			

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

L'anàlisi de vies a través del KEGG pathways va donar 8 resultats estadísticament significatius, destacant com a més importants els presentats a la següent taula:

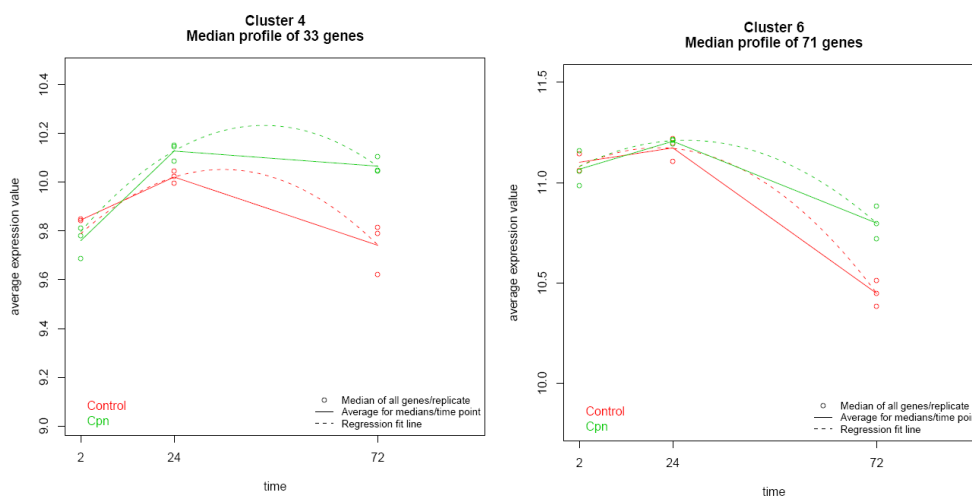
**Taula 47.** KEGG *patways* significatives al *cluster* 3.

Term	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Antigen processing and presentation (hsa04612)	5,88	1,46E-04	B2M, HLA-A, HLA-B, HLA-E, HLA-F, HLA-G, PSME2, TAP1.
Endocytosis (hsa04144)	3,92	1,35E-02	HLA-A, HLA-B, HLA-E, HLA-F, HLA-G.
Cell adhesion molecules (hsa04514)	4,58	4,68E-02	HLA-A, HLA-B, HLA-E, HLA-F, HLA-G, ICOSLG.
Natural Killer cell mediated cytotoxicity (hsa04650)	5,88	4,97E-03	HLA-A, HLA-B, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IFNGR1, PTK2B, TNFSF10.

### Cluster 4 i 6:

El *clusters* 4 i 6 corresponen a grups de 33 i 71 gens respectivament. Els dos *clusters* tenen perfils d'expressió similars ja que es tracta de gens sobreexpressats en la condició d'infecció respecte el control a 72h. La Figura 70 mostra el perfil d'expressió obtingut amb el programa maSigPro corresponent als dos *clusters*. Al *cluster* 4 es pot observar com hi ha una pujada d'expressió a 24h i com es manté fins les 72h. L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 4 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base

de dades de GO, va trobar un 51,52% (17) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 66,67% (22) en la categoria de Funció Molecular i el 42,42% (14) en la categoria de Component Cel·lular. Tot i això no es va trobar cap relació estadísticament significativa. En l'anàlisi de KEGG *pathways* tampoc es va trobar cap via significativa.



**Figura 70.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster* 4 i 6 obtingut amb el programa maSigPro

El perfil d'expressió del *cluster* 6 indica una sobreexpressió a 72h respecte el grup control però que es manté pràcticament igual als nivells d'expressió observats a 2h. L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 6 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 74,65% (53) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 64,79% (46) en la categoria de Funció Molecular i el 56,34% (40) en la categoria de Component Cel·lular.

Dins de la categoria de Procés Biològic trobem principalment termes relacionats amb processos metabòlics i cicle cel·lular. La taula 48 mostra exemples de categories trobades incloent el % d'anotació de gens del *cluster* 6 trobats dins de cada categoria, el p-valor ajustat i exemples de gens que s'inclouen a cada procés biològic.

Respecte la categoria de Funció Molecular es va trobar un resultat estadísticament significatiu corresponent a la unió a ATP (*ATP Binding* (GO:0005524), p-valor ajustat 7,59E-4). La taula 49 mostra els gens implicats en aquesta funció trobats en aquest *cluster*.

**Taula 48.** Exemple de Processos Biològics trobats inclosos en el *cluster* 6.

Biological Process	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Nucleotide metabolic process (GO:0009117)	8,45	4,05E-02	ADORA2B, ATIC, DHODH, GABBR2, MTHFD1, UPP1.
M phase of mitotic cell cycle (GO:0000087)	11,27	3,82E-02	BUB1, CCNB1, CCNB2, CDC20, CDC25C, KIF22, PLK1.
Positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity (GO:0051443)	5,63	4,05E-02	CCNB1, CDC20, PLK1, PSMA3.

**Taula 49.** Gens inclosos en la funció molecular d'unió a ATP al *cluster* 6.

Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
BLM	Bloom syndrome, RecQ helicase-like			
BUB1	budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (yeast)			
CSK	c-src tyrosine kinase			
DARS2	aspartyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial			
FARSB	phenylalanyl-tRNA synthetase, beta subunit			
ITPKA	inositol-trisphosphate 3-kinase A			
KIF22	kinesin family member 22			
MLKL	mixed lineage kinase domain-like			
MTHFD1	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1			
PLK1	polo-like kinase 1			
RFC2	replication factor C (activator 1) 2, 40kDa			
SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)			
STK39	serine threonine kinase 39			
TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II			
UBE2T	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)			

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

Dins de la categoria de Component Cel·lular s'han trobat 17 resultats estadísticament significatius, relacionats principalment amb el nucli i el citoplasma. Algunes de les categories més significatives i alguns dels gens inclosos es mostren a les taules 50 i 51.

**Taula 50.** Components Cel·lulars trobats al *cluster* 6.

Cel·lular Component	Term annotation %	adj_pvalue
nuclear part (GO:0044428)	23,94	1,12E-4
cytoskeleton (GO:0005856)	16,9	8,16E-3
chromosome (GO:0005694)	9,86	3,86E-3

**Taula 51.** Alguns gens implicats en les categories de components cel·lulars significatives pel *cluster* 6.

Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
BLM	Bloom syndrome, RecQ helicase-like			
BUB1	budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (yeast)			
CCNB1	cyclin B1			
CDC20	cell division cycle 20 homolog (S. cerevisiae)			
CDC25C	cell division cycle 25 homolog C (S. pombe)			
PDE4DIP	phosphodiesterase 4D interacting protein			
PLEK2	pleckstrin 2			
PSMA3	proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 3			
KIF22	kinesin family member 22			
CSK	c-src tyrosine kinase			
FERMT1	fermitin family member 1			
IL1RL1	Interleukine 1 receptor-like 1			
PLK1	polo-like kinase 1			
RFC2	replication factor C (activator 1) 2, 40kDa			
SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)			
STK39	serine threonine kinase 39			
TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II			

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

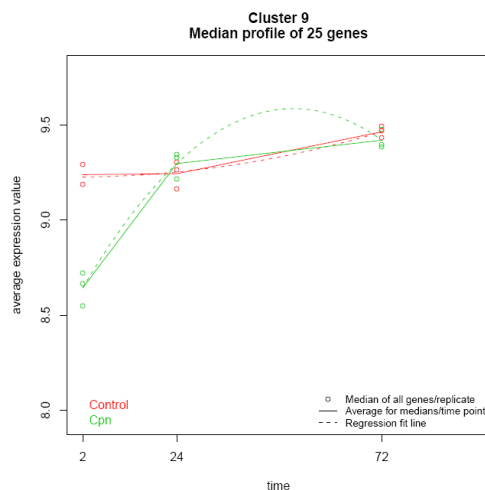
L'anàlisi de vies a través del KEGG *pathways* va donar 7 resultats estadísticament significatius relacionats també amb metabolisme i cicle cel·lular:

**Taula 52.** KEGG *pathways* significatives al *cluster* 6.

Term	Term annotation %	adj_pvalue	Genes
Metabolic pathways (hsa01100)	14,08	1,65E-2	ADK, ATIC, ITPKA, MTHFD1, UPP1.
Cell cycle (hsa04110)	8,45	1,65E-2	BUB1, CCNB1, CCNB2, CDC20, CDC25C, PLK1.

Cluster 9:

Aquest *cluster* correspon a un grup de 25 gens. El perfil d'expressió d'aquest grup de gens es mostra a la Figura 71, on es pot observar una inhibició pronunciada a 2h del grup infectat respecte el grup de cèl·lules control, igualant-se els nivells a partir de 24h.



**Figura 71.** Perfil d'expressió del grup de gens integrants del *cluster* 9 obtingut amb el programa maSigPro

L'anàlisi FatiGo, on es va comparar la llista del *cluster* 9 amb la resta de gens del xip i utilitzant la base de dades de GO, va trobar un 20% (5) de gens anotats en la categoria de Procés Biològic, un 28% (7) en la categoria de Funció Molecular i el 16% (4) en la categoria de Component Cel·lular. No es va trobar cap relació estadísticament significativa en aquests anàlisis ni en el de KEGG *pathways*. 13 dels 25 gens que componen aquest *cluster* no tenen anotació a la base de dades de GO. Dins dels anotats trobem alguns gens implicat en replicació cel·lular (MCM9), bloquejadors de la transcripció (CCNDBP1), reparació d'ADN (DCLRE1C) o apoptosi (DIDO1). Aquests gens, tal i com s'observa en el perfil d'expressió, serien gens inhibits a 2h respecte el grup control, excepte MCM9 que estaria una mica sobreexpressat. La taula 53 mostra el seu nom i perfil de colors.

**Taula 53.** Gens inclosos al *cluster* 9.

Gene Symbol	Gene Name	A*	B*	C*
CCNDBP1	Cyclin D-type binding-protein 1			
DCLRE1C	DNA cross-link repair 1C			
DIDO1	death inducer-obliterator 1			
MCM9	minichromosome maintenance complex component 9			

\* A: log<sub>2</sub>ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log<sub>2</sub>ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log<sub>2</sub>ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

## 2.2.1.2 Ingenuity Pathways Analysis

Per tal de realitzar una anàlisi més exhaustiva sobre funcions biològiques, vies i xarxes metabòliques implicades en el procés d'infecció de les cèl·lules endotelials per part de *C.pneumoniae* es va analitzar les dades amb el IPA. Es va pujar a la aplicació una base de dades per a cadascun del tres temps que incloïa els identificadors dels gens amb el seu FC corresponent, gens prèviament seleccionats amb un  $|FC \geq 1,2|$  i un p-valor ajustat  $\leq 0,05$ . El llindar per a una associació significativa va ser determinada per el valor  $-\log(0,05)$ , sent estadísticament significatiu qualsevol valor per sobre de 1,3.

L'anàlisi IPA, *Core analysis*, realitzat amb el conjunt de gens estadísticament significatius trobats a 2h d'infecció, destaca les 10 molècules més sobreexpressades i les 10 més reprimides a aquest temps, les quals juguen un paper important en les vies de senyalització i xarxes metabòliques més significatives. La llista amb les “*top molecules*” es mostra a la taula 54.

**Taula 54.** Llista de les 10 molècules amb un FC més elevat i més baix a 2h.

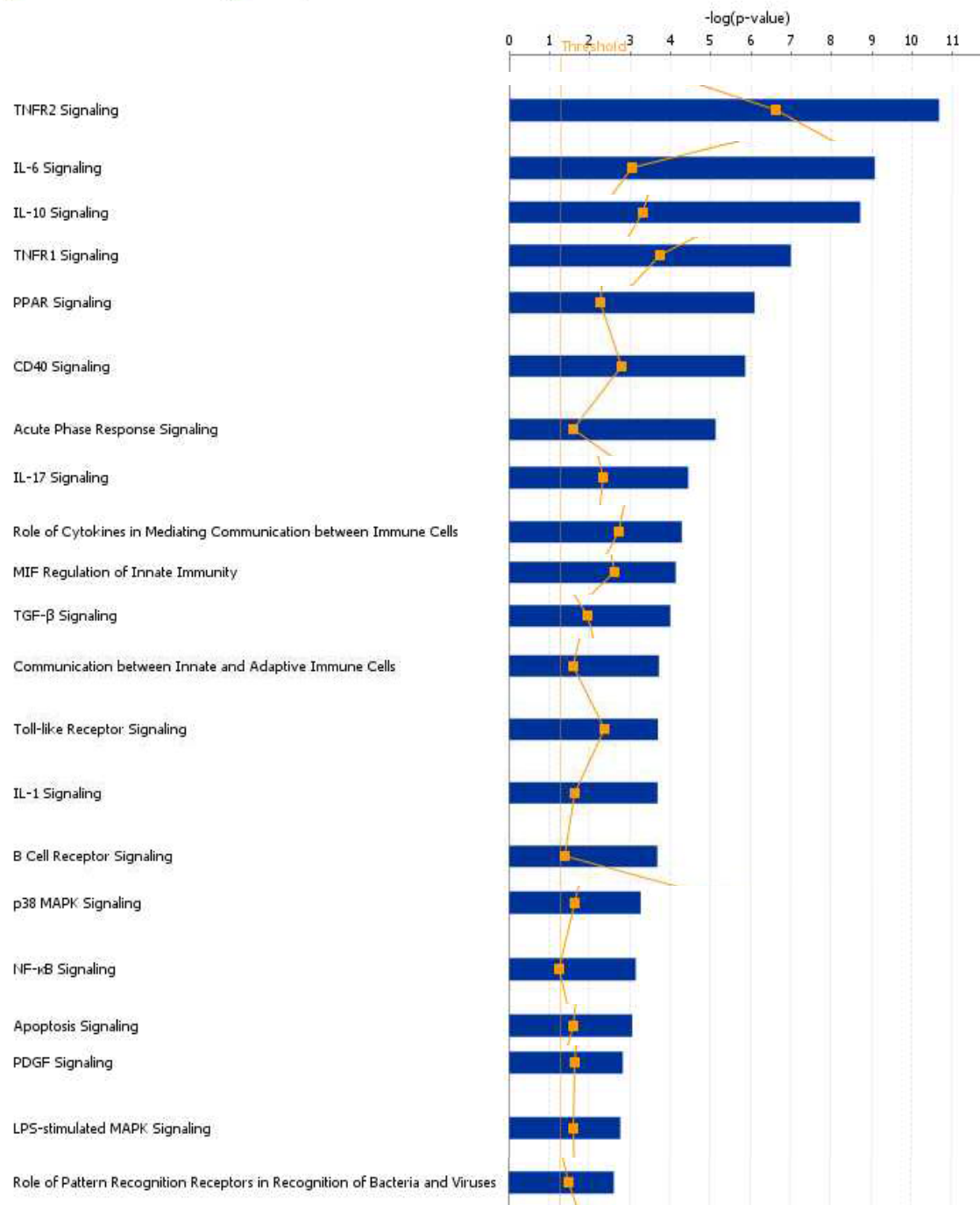
A*	B*	C*	Gene Symbol	Gene Name	FC
■	■	■	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	48,05
■	■	■	CSF2	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	24,56
■	■	■	SELE	selectin E	16,75
■	■	■	ZFP36	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)	15,86
■	■	■	FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	14,32
■	■	■	ICAM4	intercellular adhesion molecule 4	12,88
■	■	■	NR4A3	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3	11,96
■	■	■	NR4A1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	10,17
■	■	■	TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	10,12
■	■	■	CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	9,57
■	■	■	BAG1	BCL2-associated athanogene	-1,35
■	■	■	PRDM4	PR domain containing 4	-1,36
■	■	■	DIDO1	death inducer-obliterator 1	-1,37
■	■	■	UQCC	ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone	-1,40
■	■	■	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,43
■	■	■	KCNJ2	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	-1,47
■	■	■	PDE4DIP	phosphodiesterase 4D interacting protein	-1,49
■	■	■	FMO5	flavin containing monooxygenase 5	-1,54
■	■	■	ZMYND8	zinc finger, MYND-type containing 8	-1,58
■	■	■	GPAM	glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial	-1,58

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

L'anàlisi va donar lloc a un total de 241 vies de senyalització de les quals 75 tenien una associació significativa [ $-\log(Pvalue) > 1,3$ ]. Les més rellevants es mostren a la taula 55 on trobem rutes relacionades principalment amb citoquines (IL6, IL10, IL8, IL1, IL17), la via de NF- $\kappa\beta$ , p38MAPK, CD40, PPAR, TLRs i apoptosi.

**Taula 55.** Llista de les *Canonical Pathways* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 2h.

Analysis: 2h-IPA - 2011-04-04 02:29 PM



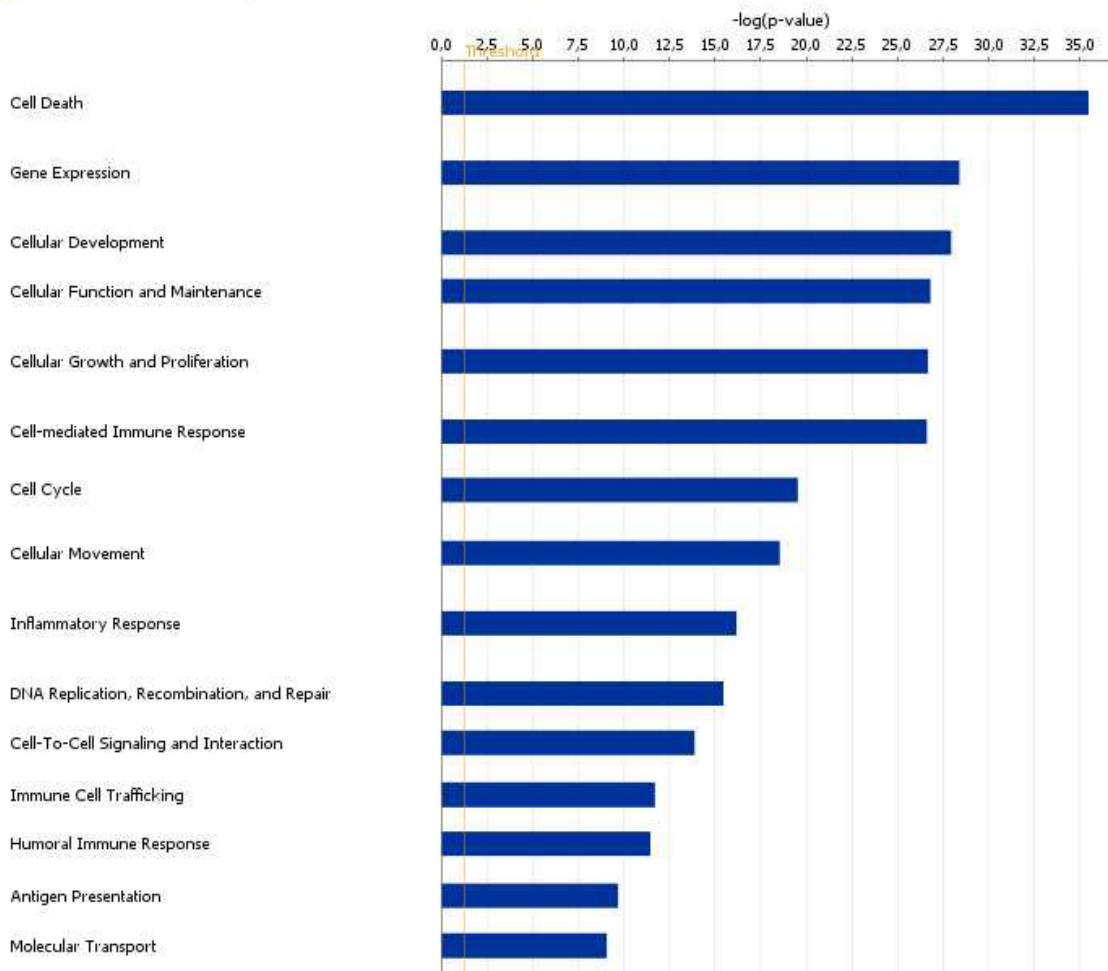


Respecte les funcions biològiques relacionades amb aquests gens, destaquen entre les més significatives les presentades a la següent taula:

**Taula 56.** Llista de les *BioFuncions* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 2h.

Analysis: 2h-IPA - 2011-04-04 02:29 PM

■ 2h-IPA - 2011-04-04 02:29 PM



Respecte les relacions que es donen entre els diferents gens diferencialment expressats presents a 2h d'infecció, l'anàlisi IPA va generar un total de 25 *networks*. 16 de les 25 xarxes trobades estan representades per més de 12 molècules implicades en les funcions biològiques descrites a la taula anterior, com són la senyalització intercel·lular, cicle cel·lular, transport molecular o resposta inflamatòria. La taula 57 mostra un llistat amb algunes de les *networks* més destacades a 2h, indicant les molècules implicades en la xarxa, destacant les incloses en la llista de gens trobats significativament diferenciats, i les funcions en que es relacionen.

**Taula 57.** Llista d'algunes *networks* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 2h.

Molecules in Network	Score	Focus Molecules	Top Functions
Adaptor protein 1, <b>ANGPTL4</b> , <b>AOC3</b> , <b>ARC</b> , <b>BCL2A1</b> , <b>BMF</b> , Calcineurin A, Caspase 3/7, <b>CCRN4L</b> , Csf, Fascin, Gata, <b>GATA2</b> , <b>GATA3</b> , <b>HRK</b> , Icam, <b>ICAM4</b> , <b>IER2</b> , <b>KDM6B</b> , <b>KLF4</b> , <b>KLF6</b> , <b>KYNU</b> , <b>LAMB3</b> , MEF2, <b>NNMT</b> , <b>OASL</b> , P-TEFb, <b>PMAIP1</b> , <b>RCAN1</b> , <b>RND1</b> , sPla2, <b>SPSB1</b> , TH1 Cytokine, <b>TNF</b> , <b>WISP2</b>	39	24	Cellular Development
C/ebp, Cbp, <b>DUSP2</b> , <b>DUSP5</b> , Ferritin, <b>FOXF1</b> , <b>GFPT2</b> , Glucocorticoid-GCR, IL-1R, IL1/IL6/TNF, <b>IL18R1</b> , <b>IL18RAP</b> , <b>IL7R</b> , IRAK, <b>IRAK2</b> , <b>KLF3</b> , <b>KRT17</b> , lymphotoxin-alpha1-beta2, <b>NCOA7</b> , NFkB (complex), Nfkb-RelA, <b>NFKBID</b> , <b>NFKBIZ</b> , <b>NUAK2</b> , peptidase, <b>PIM3</b> , <b>PLK3</b> , PPAR $\alpha$ -RXR $\alpha$ , REL/RELA/RELB, <b>S100P</b> , Stat3-Stat3, <b>TNFAIP2</b> , <b>TNFAIP6</b> , <b>TNFRSF9</b> , <b>ZC3H12A</b>	31	21	Gene Expression, Dermatological Diseases and Conditions, Organismal Injury and Abnormalities
26s Proteasome, Actin, <b>ARID5A</b> , <b>BIRC2</b> , <b>BIRC3</b> , Calmodulin, Caspase, <b>CSF2</b> , Cytochrome c, F Actin, Hemoglobin, HISTONE, Hsp27, Hsp70, Hsp90, <b>HSPA6</b> , <b>ICAM1</b> , IFN TYPE 1, IL1, <b>IL6</b> , <b>IL8</b> , <b>IL23</b> , <b>IL12</b> (family), <b>IL1B</b> , <b>IRF1</b> , <b>MAGEA3/MAGEA6</b> , <b>NFKB1</b> , Pro-inflammatory Cytokine, RNA polymerase II, <b>S100A3</b> , <b>SBNO2</b> , <b>SOX7</b> , <b>SQSTM1</b> , Tropomyosin, Ubiquitin	21	16	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Hematological System Development and Function, Immune Cell Trafficking
<b>ADAMTS4</b> , <b>ARID3B</b> , C8, <b>CCL2</b> , <b>CCL5</b> , <b>CCL20</b> , <b>CXCL1</b> , <b>CXCL2</b> , <b>CXCL3</b> , Gelatinase, I kappa b kinase, <b>IER3</b> , Ifn, Ifn gamma, Ikb, Ikk (family), IL-17f dimer, IL17a dimer, IL17R, IRF, Mir125b (mouse), NFkB (family), Nfkb1-RelA, <b>NFKBIE</b> , PI3K (complex), <b>RHEBL1</b> , sphingomyelinase, <b>TICAM1</b> , Tlr, Tnf, Tnf receptor, <b>TNFAIP3</b> , TRAF, <b>TRAF1</b> , Ube3	18	14	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Hematological System Development and Function, Immune Cell Trafficking
ABCG1, <b>BAMBI</b> , C11orf82, caffeic acid, CASP3, CASP14, CCNG2, <b>CHPT1</b> , cyclic AMP, DHCR24, <b>DIDO1</b> , dihydrotestosterone, <b>DOLPP1</b> , <b>FAM46B</b> , <b>FOXQ1</b> , <b>HIST1H2BJ/HIST1H2BK</b> , <b>HS3ST1</b> , INHBA, <b>KRT14</b> , LIN9, MT1A, <b>PDE11A</b> , PDE2A, PIGF, RB1, Rbbp6, SEC23A, SEC23B, <b>SEC24A</b> , SEPT4, <b>SLC19A2</b> , <b>SLC31A2</b> , TGFB1, TP53, XBP1	15	13	Cell Cycle, Cellular Development, Cellular Growth and Proliferation
<b>BHLHE40</b> , Calpain, collagen, Collagen type IV, Collagen(s), <b>CYR61</b> , <b>EFNA1</b> , Gm-csf, <b>HES4</b> , HLA-DR, Ifnar, <b>ISG20</b> , JAK, Laminin, Mapk, N-type Calcium Channel, <b>NR4A2</b> , Oas, p70 S6k, p85 (pik3r), Pdgf (complex), Pdgf Ab, PDGF-AA, <b>PDGFA</b> , PLA2, <b>PLAU</b> , <b>PMEPA1</b> , <b>RGS3</b> , SOCS, <b>SOCS1</b> , <b>SOCS3</b> , STAT1/3/5 dimer, STAT5a/b, Tgf beta, TSH	15	12	Inflammatory Response, Carbohydrate Metabolism, Lipid Metabolism

Gens en vermell: sobreexpressats; gens en verd: inhibits.

Es va realitzar el mateix anàlisi, IPA *Core analysis*, amb el conjunt de gens estadísticament significatius trobats a 24h d'infecció. Les 10 molècules més sobreexpressades i les 10 més inhibides a aquest temps es mostren a la taula 58.

**Taula 58.** Llista de les 10 molècules amb un FC més elevat i més baix a 24h.

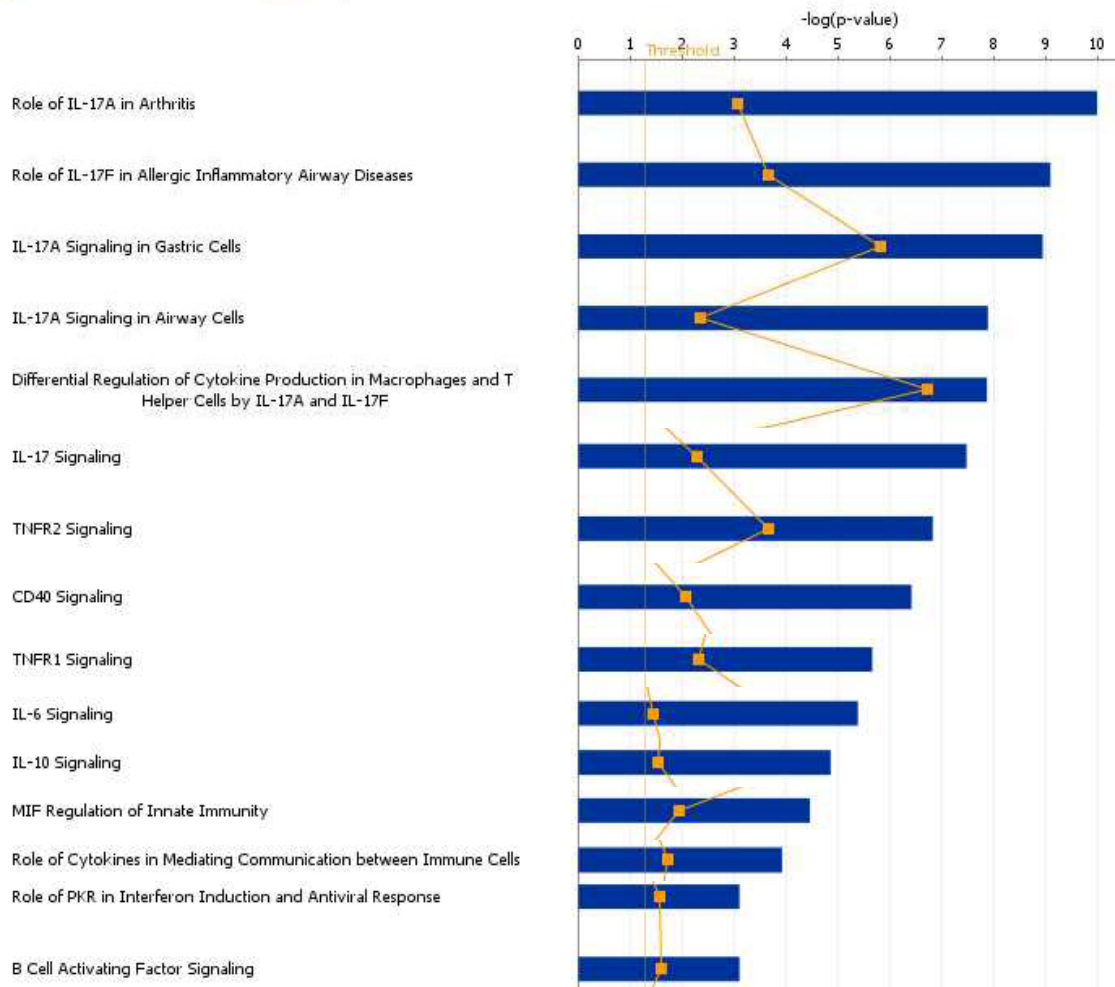
A*	B*	C*	Gene Symbol	Gene Name	FC
			CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	5,80
			CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	5,07
			OASL	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	4,84
			ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,23
			IFIT2	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	4,05
			CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,63
			UBD	ubiquitin D	3,23
			BIRC3	baculoviral IAP repeat containing 3	3,04
			IL8	interleukin 8	2,96
			CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5	2,95
			NOSTRIN	nitric oxide synthase trafficker	-1,34
			GJA5	gap junction protein, alpha 5, 40kDa	-1,34
			MAP2	microtubule-associated protein 2	-1,35
			SORBS2	sorbin and SH3 domain containing 2	-1,36
			LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,40
			PHGDH	phosphoglycerate dehydrogenase	-1,43
			ASS1	argininosuccinate synthase 1	-1,48
			CCL23	chemokine (C-C motif) ligand 23	-1,51
			CRIP1	cysteine-rich protein 1 (intestinal)	-1,54
			CRLF1	cytokine receptor-like factor 1	-1,59

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

L'anàlisi va donar lloc a un total de 182 vies de senyalització de les quals 47 tenien una associació significativa [-Log(Pvalue) > 1,3]. Les més rellevants es mostren a la taula 59 on trobem rutes relacionades principalment amb citoquines (IL6, IL10, IL17), la via de NF-κβ, CD40, PPAR, i apoptosi.

**Taula 59.** Llista de les *Canonical Pathways* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 24h.

Analysis: 24h-IPA - 2011-04-04 04:20 PM

■ 24h-IPA - 2011-04-04 04:20 PM
 ■ Ratio


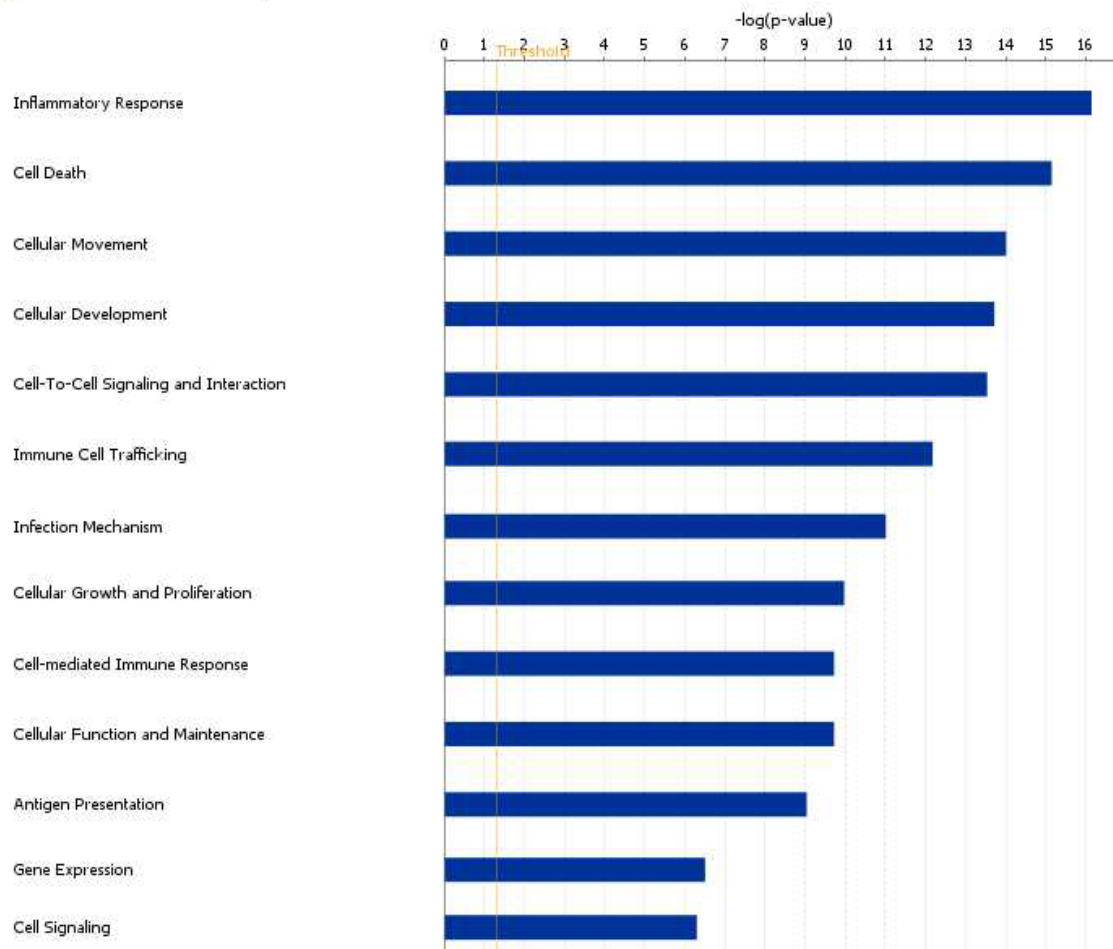
Respecte les funcions biològiques relacionades amb aquests gens, destaquen entre les més significatives les relacionades amb inflamació, apoptosi, infecció i presentació d'antigen. Aquestes i d'altres es presenten a la taula 60.

A 24h d'infecció, l'anàlisi IPA va generar 9 xarxes estadísticament significatives, entre les quals 5 estaven representades per 10 o més molècules implicades en les funcions biològiques descrites a la taula 60. La taula 61 mostra un llistat d'algunes de les *networks* destacades a 24h, indicant les molècules implicades en la xarxa, destacant les incloses en la llista de gens trobats significativament diferenciats, i les funcions en que es relacionen.

**Taula 60.** Llista de les *BioFuncions* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 24h.

Analysis: 24h-IPA - 2011-04-04 04:20 PM

■ 24h-IPA - 2011-04-04 04:20 PM



**Taula 61.** Llista d'algunes *networks* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 24h.

Molecules in Network	Score	Focus Molecules	Top Functions
CCL2, CCL5, CCL23, CXCL1, CXCL2, CXCL6, CXCL10, CXCL11, Elastase, ETS, Ferritin, HERC5, ICOSLG, Ifn gamma, Ifnar, IL17f dimer, IL17a dimer, IL17R, IL18R1, IL7R, LTB, lymphotoxin-alpha1-beta2, NFkB (complex), NFkB-ReIA, NFKBIE, STAP2, TFPI2, Tlr, Tnf, TNFRSF4, TNFRSF6B, TRAF, ZC3H12A	40	19	Cell-to-Cell signalling and Interaction, Infection Mechanism, Infectious Disease
BIRC3, CD3, CRLF1, CSF3, EB13, Eotaxin, ERK1/2, Fc gamma receptor, Fcer1, IFIT2, IFIT3, IFN alpha/beta, IFN Beta, IFN TYPE 1, Ikb, Ikk (family), IL6, IL32, IL12 (complex), IL1RL1, Interferon alpha, IRG, ISG20, JAK, JAK3, MHC Class I (complex), NFKB1, NFKBIA, SAA, SP110, STAT5a/b, SYK/ZAP, TNFAIP3, TNFSF10, VitaminD3-VDR-RXR	32	16	Cellular Development, Skeletal and Muscular System Development and Function, Cellular Movement
CCRN4L, CD276, CLEC4E, ELMOD1, EMCN, ethanol, FCGR1C, GPR68, Histone h4, Icam, IFIT3, IL4, IL20, IL1F8, IL1F9, IL1RN, KSR2, LAMP3, MAPK1, NFE2L2, NQO2, NTN1, OASL, P2RY6, PHGDH, PLA2G4C, RHBDF2, RHOB, RNA polymerase II, STAT, TNF, TNFRSF4, TNFRSF6B, TNFSF11, ZC3H12C	22	12	Organismal Injury and Abnormalities, Inflammatory Response, Cellular Development

Gens en vermell: sobreexpressats; gens en verd: inhibits.

L'IPA *Core analysis*, amb el conjunt de gens estadísticament significatius trobats a 72h d'infecció, va senyalar com a molècules més sobreexpressades algunes quimioquines i molècules relacionades amb la via del interferó. La següent taula mostra les 10 molècules més sobreexpressades junt amb les 10 molècules més inhibides respecte el grup control.

**Taula 62.** Llista de les 10 molècules amb un FC més elevat i més baix a 72h.

A*	B*	C*	Gene Symbol	Gene Name	FC
			IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	6,26
			IFI44L	interferon-induced protein 44-like	5,20
			IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	3,61
			CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	2,69
			IFI27	interferon, alpha-inducible protein 27	2,62
			IFI44	interferon-induced protein 44	2,62
			CDCP1	CUB domain containing protein 1	2,60
			CXCL6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6	2,51
			OAS1	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	2,45
			CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	2,44
			GPIHBP1	glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1	-1,74
			COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,80
			BMP4	bone morphogenetic protein 4	-1,82
			KLRG1	killer cell lectin-like receptor subfamily G, member 1	-1,84
			ALDH1A1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	-2,06
			CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	-2,18
			AQP1	aquaporin 1 (Colton blood group)	-2,20
			CCL14	chemokine (C-C motif) ligand 14	-2,23
			FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	-2,35
			SELE	selectin E	-3,88

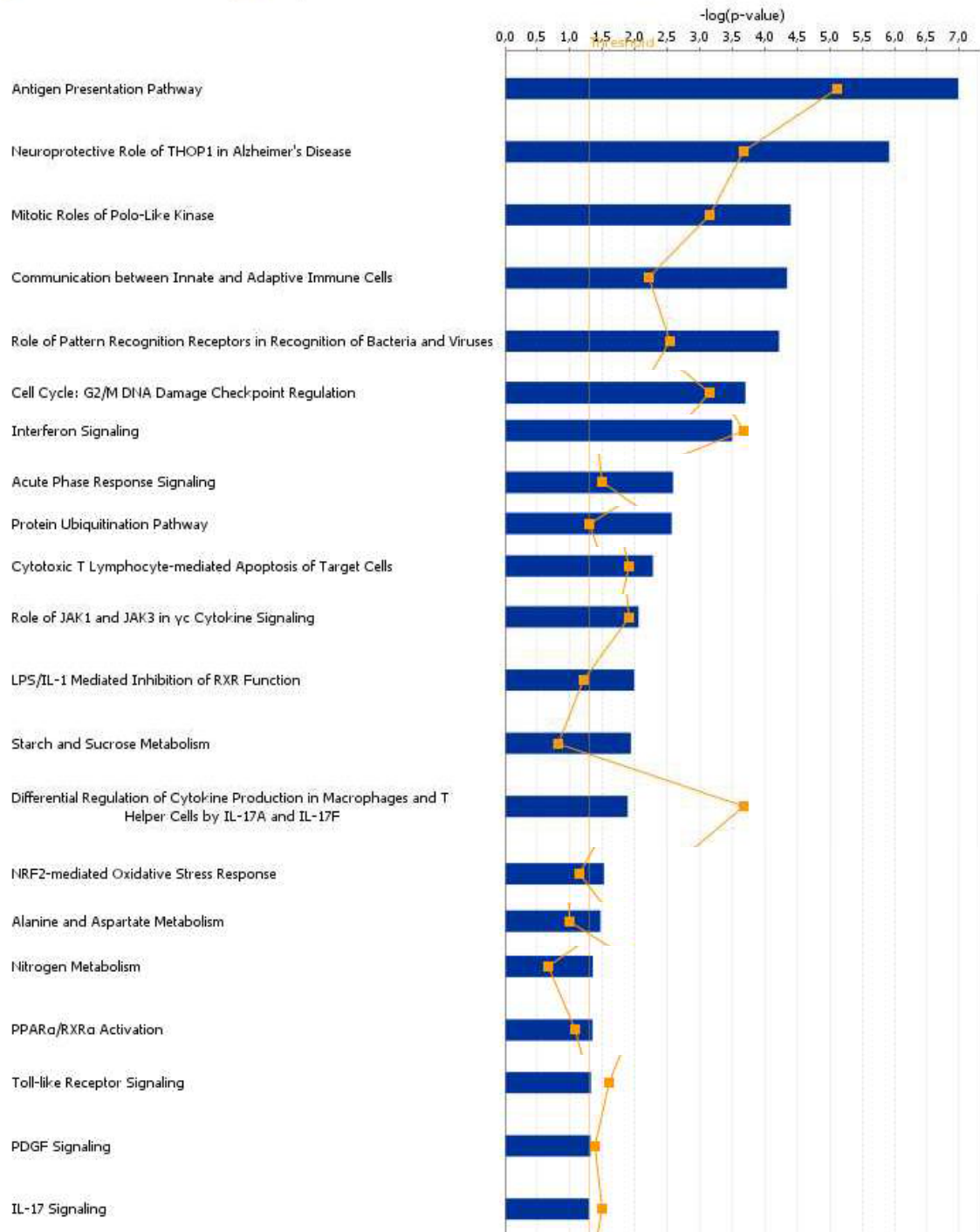
\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

L'anàlisi va donar lloc a un total de 270 vies de senyalització de les quals 52 tenien una associació significativa [-Log(Pvalue) > 1,3]. Les més rellevants es mostren a la taula 63 on trobem com a més destacat la presentació d'antigens, la via del interferó, regulació del cicle cel·lular, la via dels PPARs, IL17 i TLRs.

**Taula 63.** Llista de les *Canonical Pathways* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 72h.

Analysis: 72h-IPA - 2011-04-04 03:29 PM

■ 72h-IPA - 2011-04-04 03:29 PM    ■ Ratio

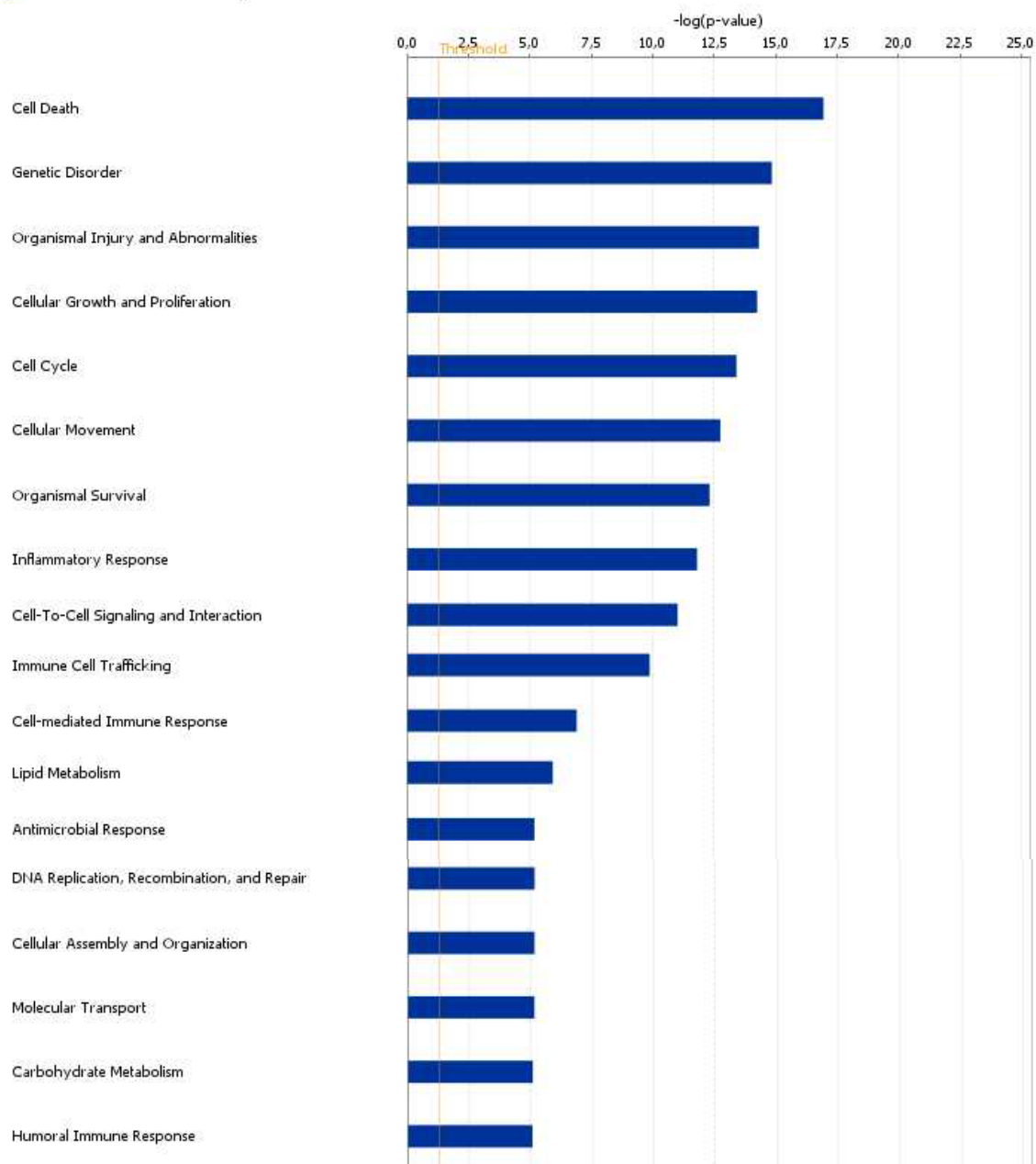


Respecte les funcions biològiques relacionades amb aquests gens, destaquen entre les més significatives les relacionades amb inflamació, resposta immune, cicle cel·lular i apoptosi. Les més representatives es mostren a la següent taula 64.

**Taula 64.** Llista de les *BioFunctions* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 72h.

Analysis: 72h-IPA - 2011-04-04 03:29 PM

■ 72h-IPA - 2011-04-04 03:29 PM



A 72h d'infecció, l'anàlisi IPA va generar 25 xarxes estadísticament significatives, entre les quals 10 estaven representades per 20 o més molècules implicades en les funcions biològiques descrites. La taula 65 mostra un llistat d'algunes de les *networks* destacades a 72h, indicant les molècules implicades en la xarxa, destacant les incloses en la llista de gens trobats significativament diferenciats, i les funcions en que es relacionen.



**Taula 65.** Llista d'algunes *networks* més significatives i rellevants trobades amb IPA a 72h.

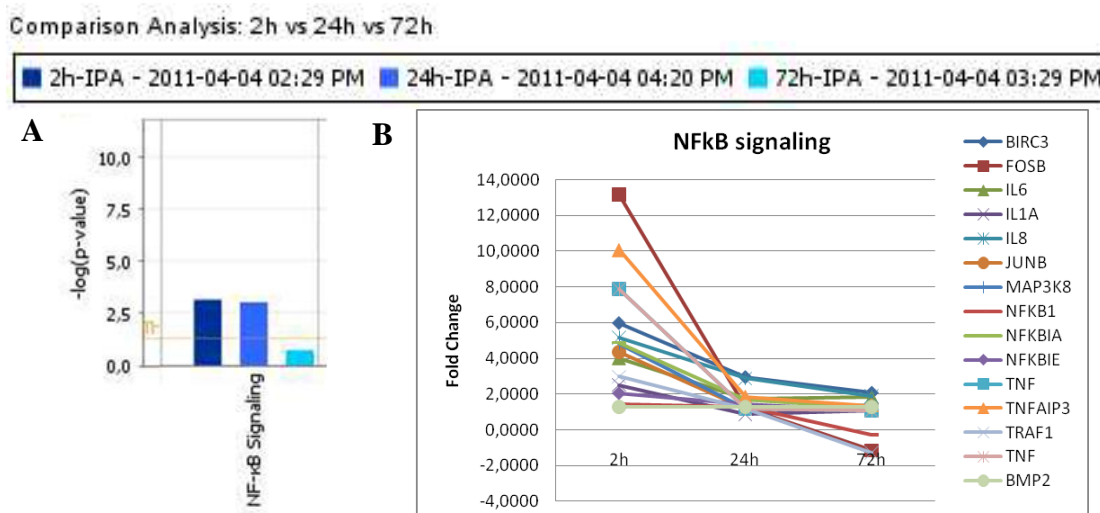
Molecules in Network	Score	Focus Molecules	Top Functions
ALDH1A1, Alp, Ap1, ASNS, BCL2A1, BMP, BMP2, BMP4, CA12, CASP1, CEBPB, FDFT1, GAL, GDF6, Growth hormone, GST, GSTA4, Hemoglobin, HGF, Hsp70, IL6, IL1RL1, LAMB3, LDL, NMU, NPC1, OSBPL1A, PXR ligand-PXR-Retinoic acid-RXR $\alpha$ , RNA polymerase II, SERPINB1, SLC19A2, SOD2, STK39, TRIM14, VitaminD3-VDR-RXR	33	24	Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry, Vitamin and Mineral Metabolism
CBR3, DHX58, G0S2, GFPT2, GK, HLA Class I, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HMGA2, ICOSLG, IFNGR1, IL7R, KIR, lymphotoxin-alpha1-beta2, MHC Class I (complex), MHC CLASS I (family), MHC I- $\alpha$ , NFkB (complex), NfkB-RelA, PPAR $\alpha$ -RXR $\alpha$ , STAP2, Stat1-Stat2, Stat3-Stat3, Tap, TAP1, TAP2, TNFRSF25, TNFRSF10D, TNFRSF6B, TNFSF18, ZC3H12A	30	22	Cellular Growth and Proliferation, Hematological System Development and Function, Cell Death
alcohol group acceptor phosphotransferase, APC, BUB1, CBS, CCNB1, CCNB2, Cdc2, CDC7, CDC20, Cdc25, CDC25B, Cdc25B/C, CDC25C, Cdk, CDK1, CENPH, CETN3, CKS1B, Cyclin A, Cyclin B, Cyclin E, DPP4, E2f, GDF15, Jnk, Mpf, MT1E, NDC80, PLK1, POLR1B, Rb, RNA polymerase I, TAF1C, TDP1, TGFBR2	24	21	Cell Cycle, DNA Replication, Recombination, and Repair, Cellular Assembly and Organization
CXCL1, CXCL6, GBP1, IFI6, IFI27, IFI35, IFI44, IFIH1, IFITM1, IFITM2, Ifn, IFN TYPE 1, Ifnar, IL-17f dimer, IL17a dimer, IL17R, Interferon- $\alpha$ Induced, IRF, IRF9, IRG, IRS, ISG15, ISGF3, JAK, JAK3, NMI, NUPR1, OAS1, OAS2, PI3K (complex), PSME2, SOCS, SP110, TLR3, Vegf Receptor	26	20	Immunological Disease, Inflammatory Disease

\* A: log2ratio\_1\_Cpn\_2h.Ctrl\_2h; B: log2ratio\_3\_Cpn\_24h.Ctrl\_24h; C: log2ratio\_4\_Cpn\_72h.Ctrl\_72h

Finalment, es va realitzar l'anàlisi de comparació entre els tres temps. Respecte a la comparació de les *canonical pathways* més significatives, destaquem les següents:

### 1. NF- $\kappa$ B signaling:

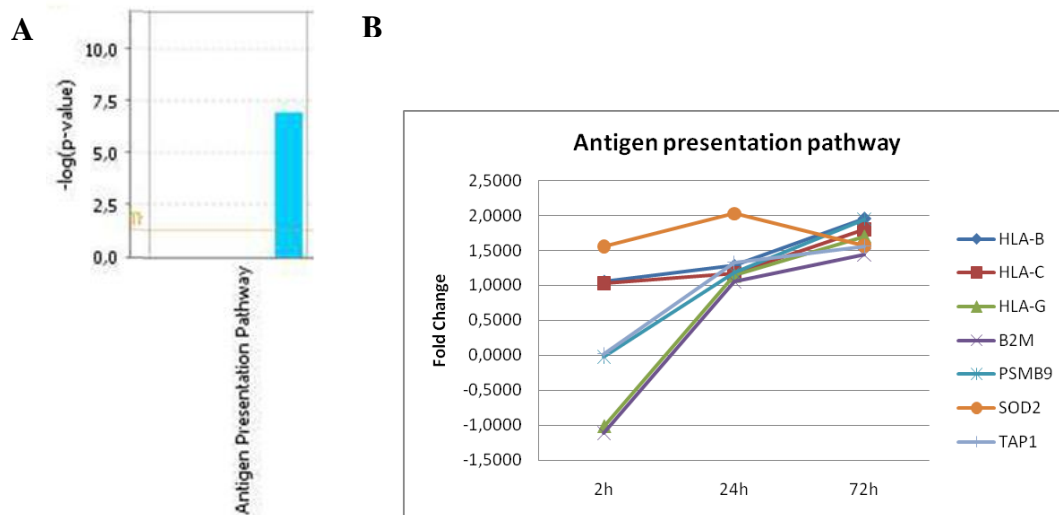
Com es pot observar en el perfil d'expressió (Figura 72), la via d' NF- $\kappa$ B es troba principalment activada al inici de la infecció, mantenint-se durant les primeres 24h. Posteriorment, a las 72h d'infecció ja es veu una disminució de l'activitat. Dins d'aquesta via trobem sobreexpressió de citoquines com IL1A, IL1B i TNF $\alpha$ , el factor de creixement BMP2, la quinasa MAP3K8, reguladors de la transcripció NFKB1, NFKBIE i d'altres molècules com RELB i TNFAIP3.



**Figura 72.** A, Representació de l'activitat de la via NF- $\kappa$ B a 2, 24 i 72h d'infecció analitzat amb IPA. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

### 2. Antigen Presentation Pathway:

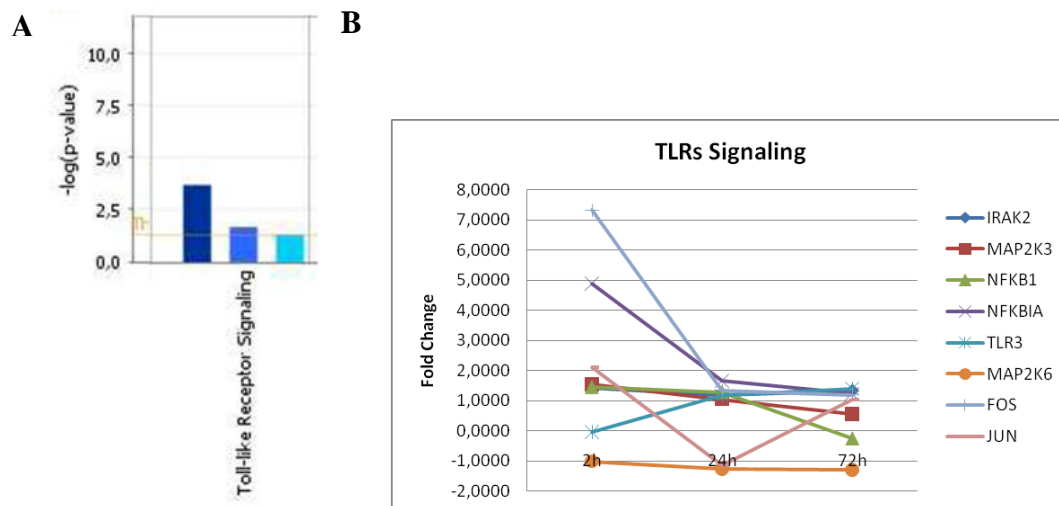
La presentació d'antigen s'observa només a 72h d'infecció. Hi ha una sobreexpressió (FC >1,2) de receptors transmembrana com B2M i molècules del complex major d'histocompatibilitat de classe I, la peptidasa PSMB9 i els transportadors TAP1 i TAP2.



**Figura 73.** Representació de la via relacionada amb la presentació d'antigens a 2, 24 i 72h d'infecció. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

### 3. TLRs Signaling:

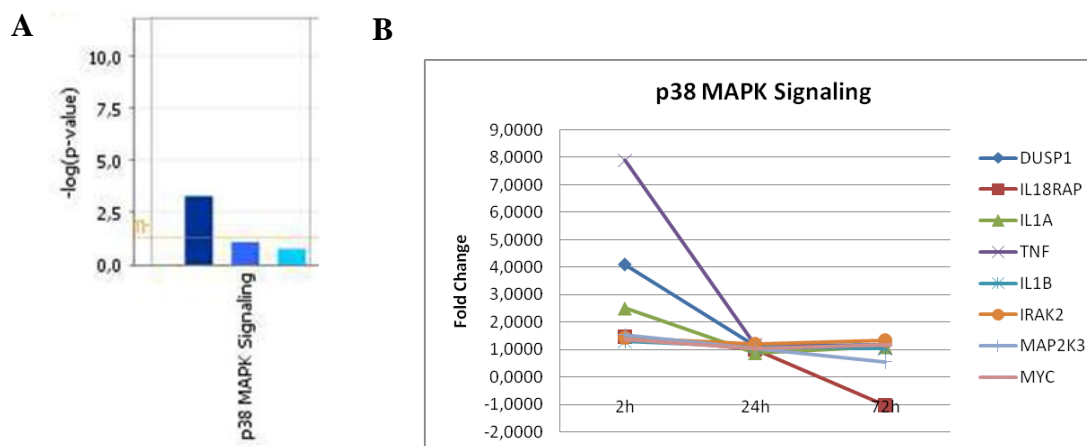
Hi ha una sobreexpressió de molècules implicades en aquesta via al inici de la infecció, a 2h, disminuint progressivament fins a les 72h d'infecció. Trobem sobreexpressades a 2h molècules com FOS, IRAK2, JUN, MAP2K3, NFKB1 i NFKBIA. A 72h trobem sobreexpressió de TLR3 i quinases com IRAK2, mentre que hi ha una inhibició de MAP2K6.



**Figura 74.** Representació de l'activitat de la via dels TLRs a 2, 24 i 72h d'infecció. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

#### 4. p38 MAPK Signaling:

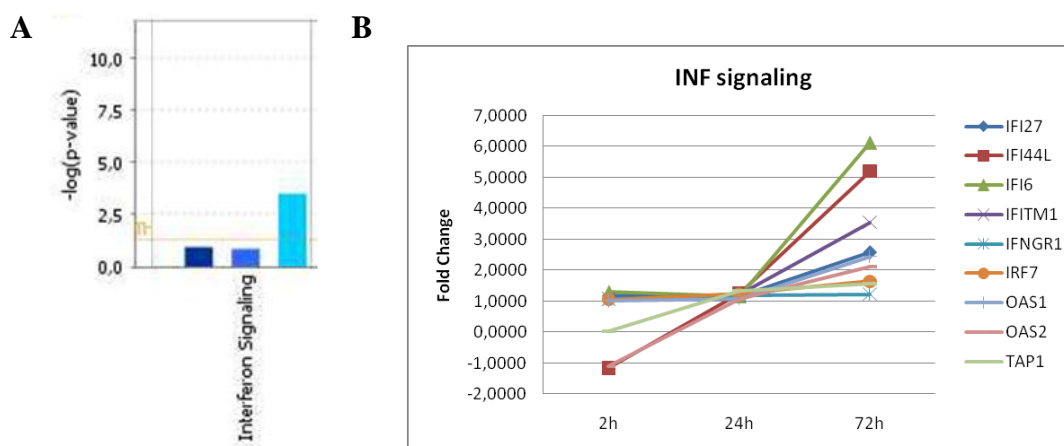
Respecte la via de les MAPK s'observa una activació al inici de la infecció, disminuint l'expressió a partir de les 24h. Trobem sobreexpressió de la fosfatasa DUSP1, el receptor transmembrana IL18RAP, citoquines com IL1A, IL1B o TNF, les quinases IRAK2 i MAP2K3 i el regulador de la transcripció MYC.



**Figura 75.** Representació de l'activitat de la via p38 MAPK a 2, 24 i 72h d'infecció. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

#### 5. INF Signaling:

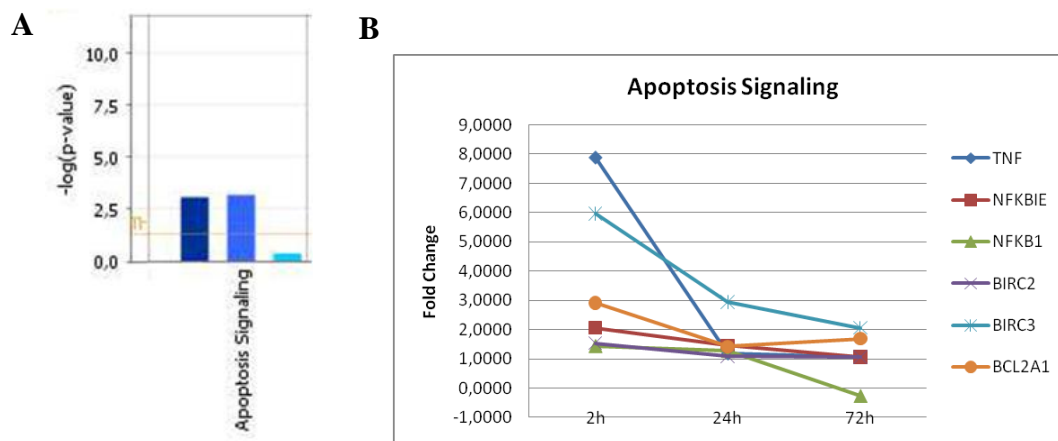
La via del interferó es veu activada a temps llargs, a les 72h, mentre que a temps més curts, 2 i 24h, la seva activació és baixa. Dins d'aquesta via trobem molècules sobreexpressades (FC >1,2) com IFI35, IFI44L, IFITM1, IFNGR1, IRF7, IRF9, l'enzim OAS1 i el transportador TAP1.



**Figura 76.** Representació de l'activitat de la via del interferó a 2, 24 i 72h d'infecció. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

## 6. Apoptosis Signaling:

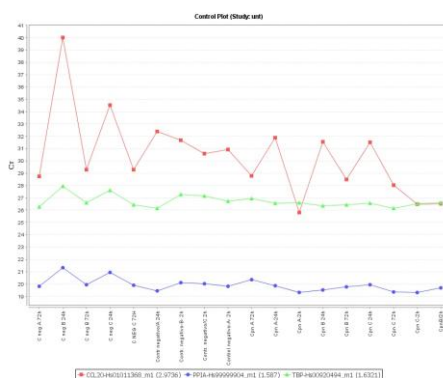
Es pot observar un augment de l'activitat de la via d'apoptosi a 2 i 24h d'infecció. Les molècules que es veuen implicades en aquesta representació són molècules anti-apoptòtiques com BCL2A1, BIRC2 i BIRC3, les quals tenen un FC de 3,1, 1,5 i 6,0 respectivament a 2h d'infecció. També trobem la citoquina TNF $\alpha$  i reguladors de la transcripció NFKB1 o NFKBIE.



**Figura 77.** A, Representació de l'activitat de la via d'apoptosi a 2, 24 i 72h d'infecció. B, Representació del FC d'algunes molècules implicades en aquesta via

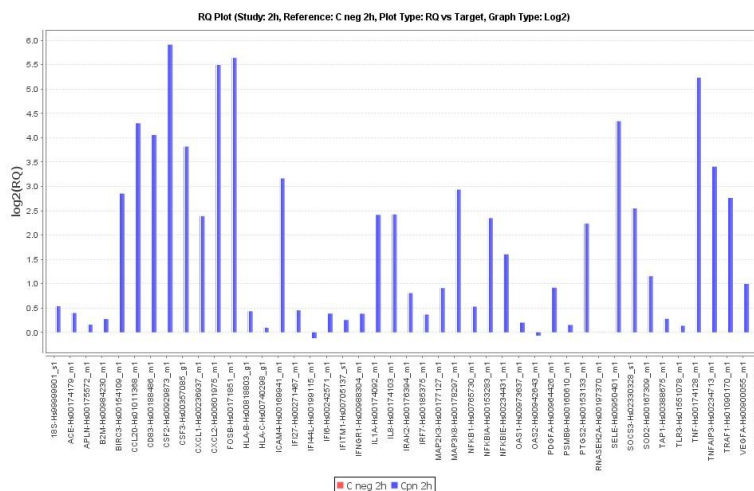
## 2.2.2 Validació i comparació dels resultats de microarrays per qRT-PCR

Per verificar els resultats dels microarrays i tenint en compte els resultats analitzats amb FatiGo i IPA, es va dissenyar una tarjeta *microfluidic card* a través de la qual es van validar per qRT-PCR 47 gens en les 18 mostres (controls negatius i mostres infectades amb *C. pneumoniae* a 2, 24 i 72h), fent duplicats de cada mostra. Amb l'anàlisi de microarrays es va confirmar que la TBP i la PPIA eren gens normalitzadors òptims donat que la seva expressió no es veia modificada en les condicions experimentals assajades (Figura 78).



**Figura 78.** Ct Plot representant l'expressió de CCL20, TBP i PPIA en les diferents condicions analitzades.

Els 47 gens seleccionats validats es mostren a la taula 11 de l'apartat 18 de materials i mètodes. El gen HLA-G no va amplificar per cap de les mostres analitzades, mentre que la resta de gens van amplificar correctament. A continuació es mostra el RQ Plot obtingut amb l'anàlisi realitzat amb el software DataAssist v3.0 als diferents temps d'infecció (Figures 79, 80 i 81).



**Figura 79.** RQ Plot a 2h d'infecció

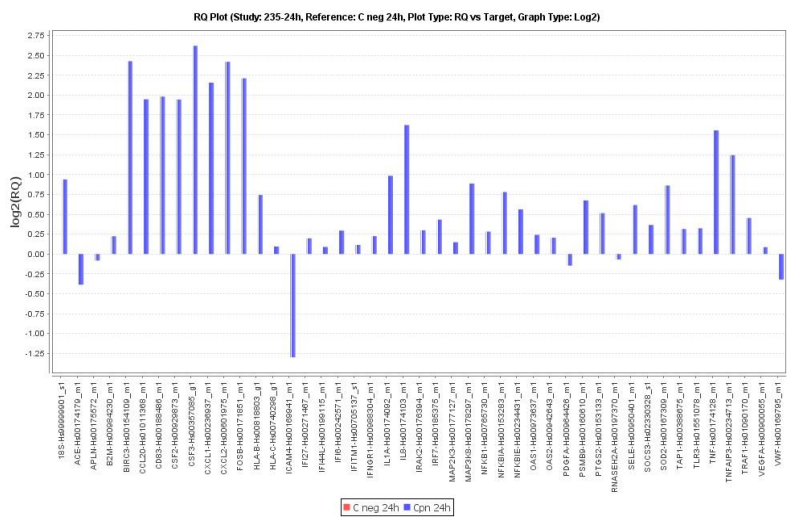


Figura 80. RQ Plot a 24h d'infecció

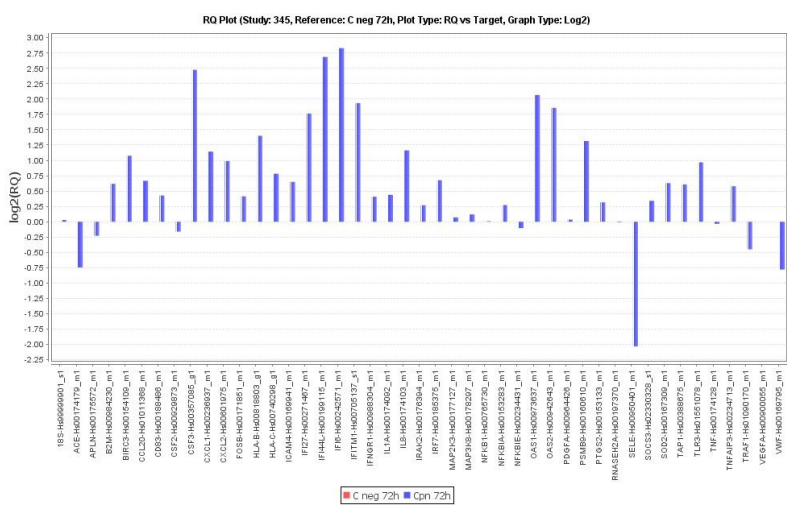
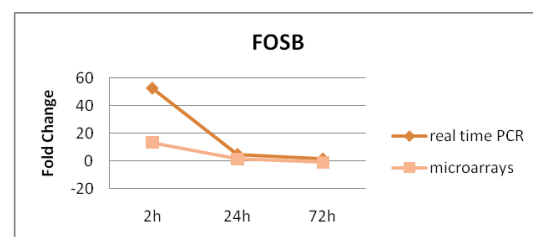
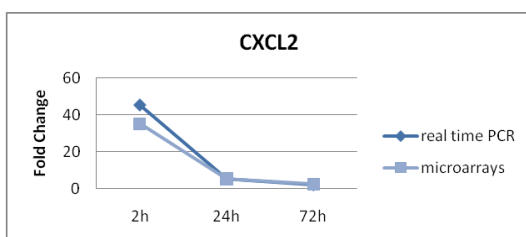
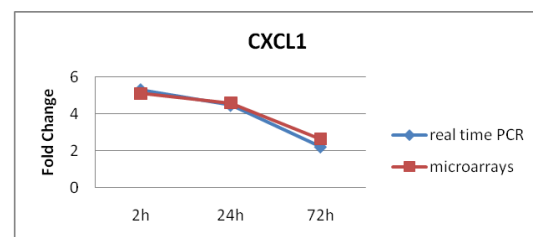
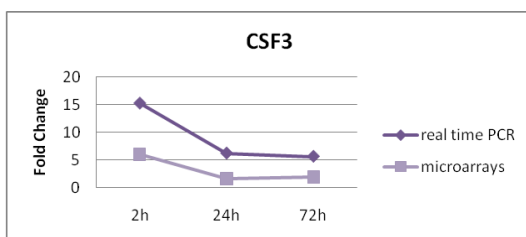
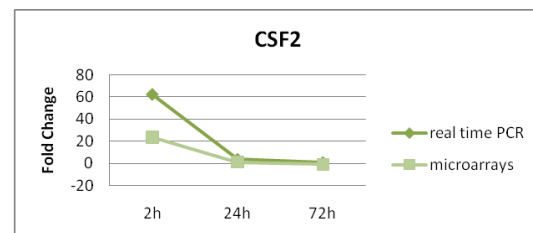
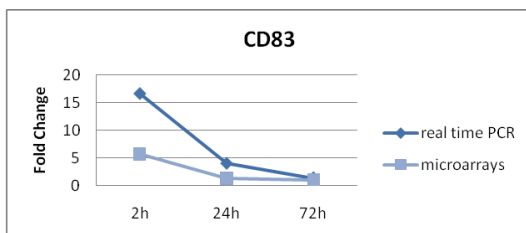
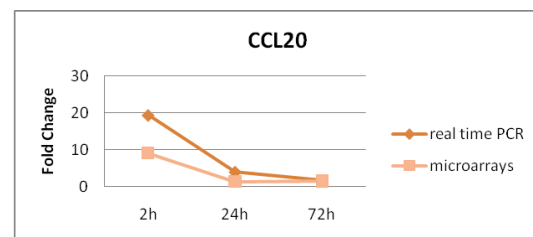
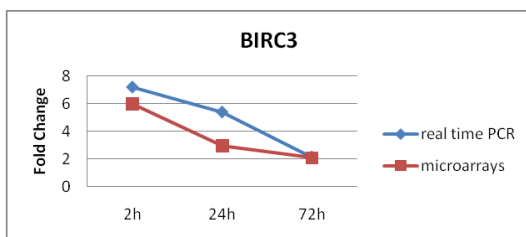
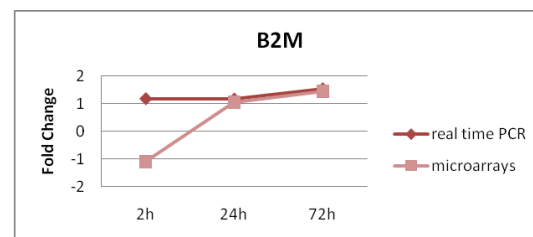
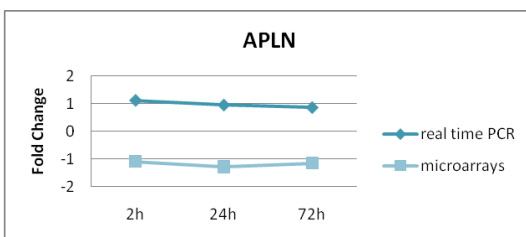
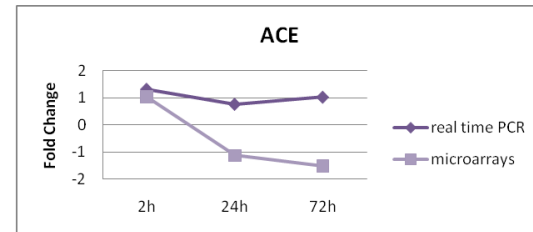
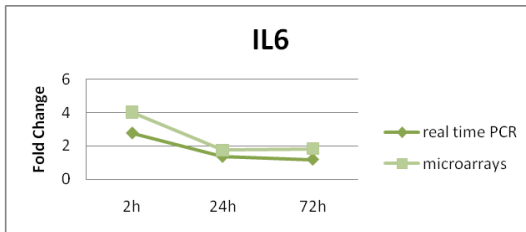
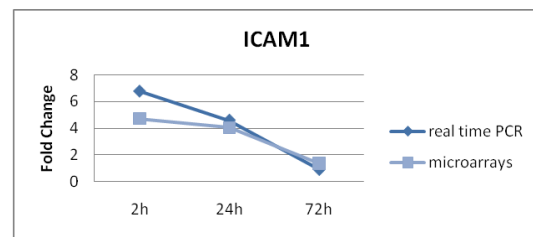
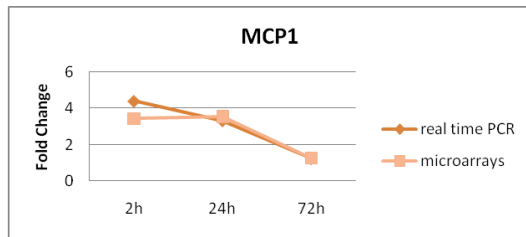
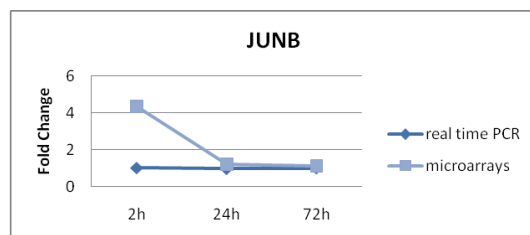
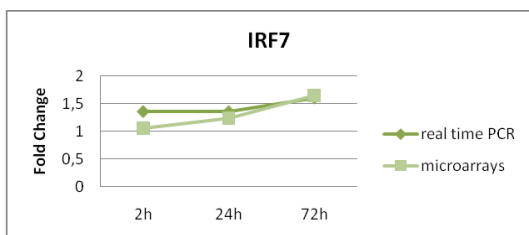
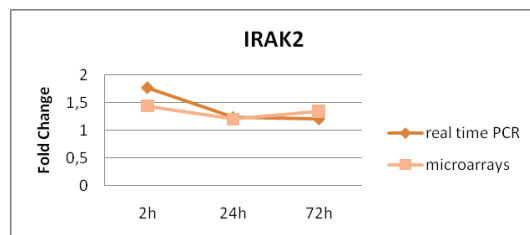
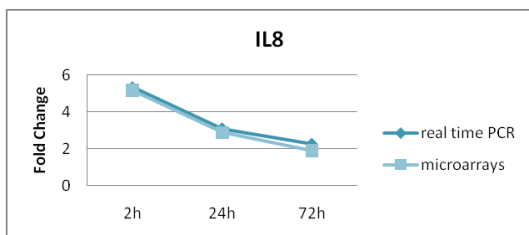
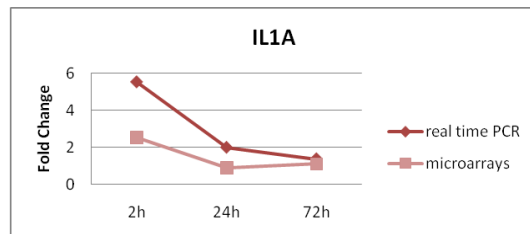
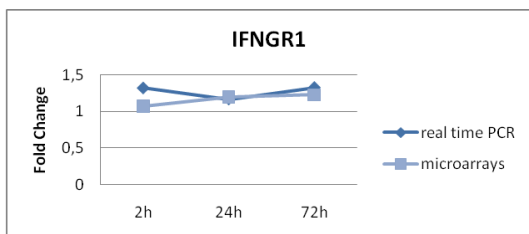
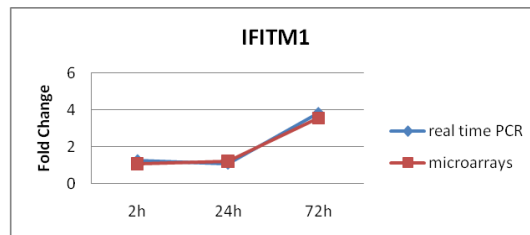
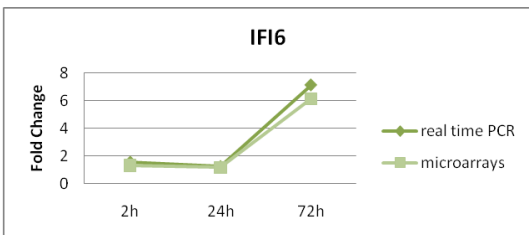
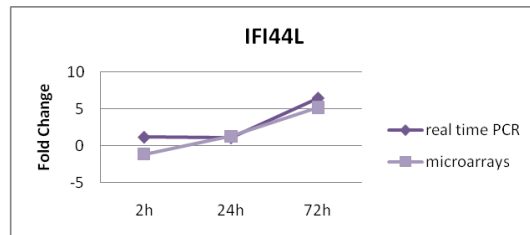
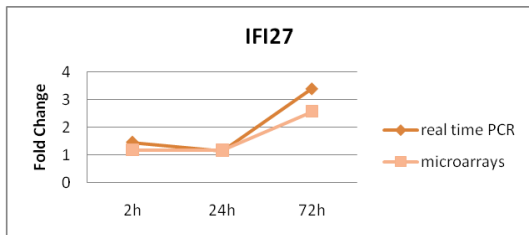
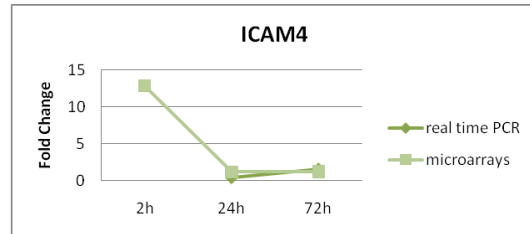
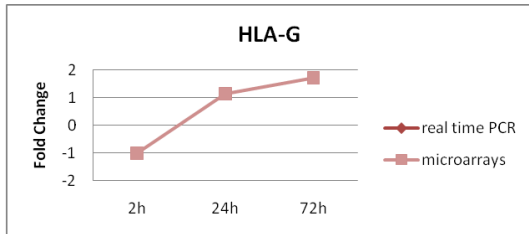
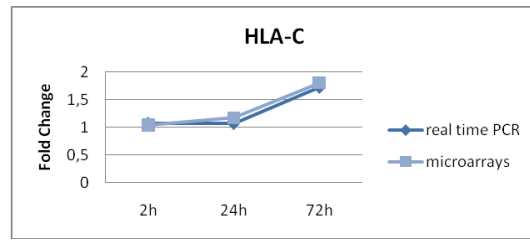
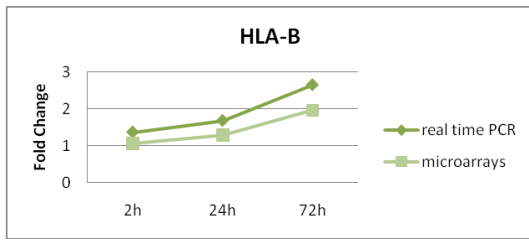


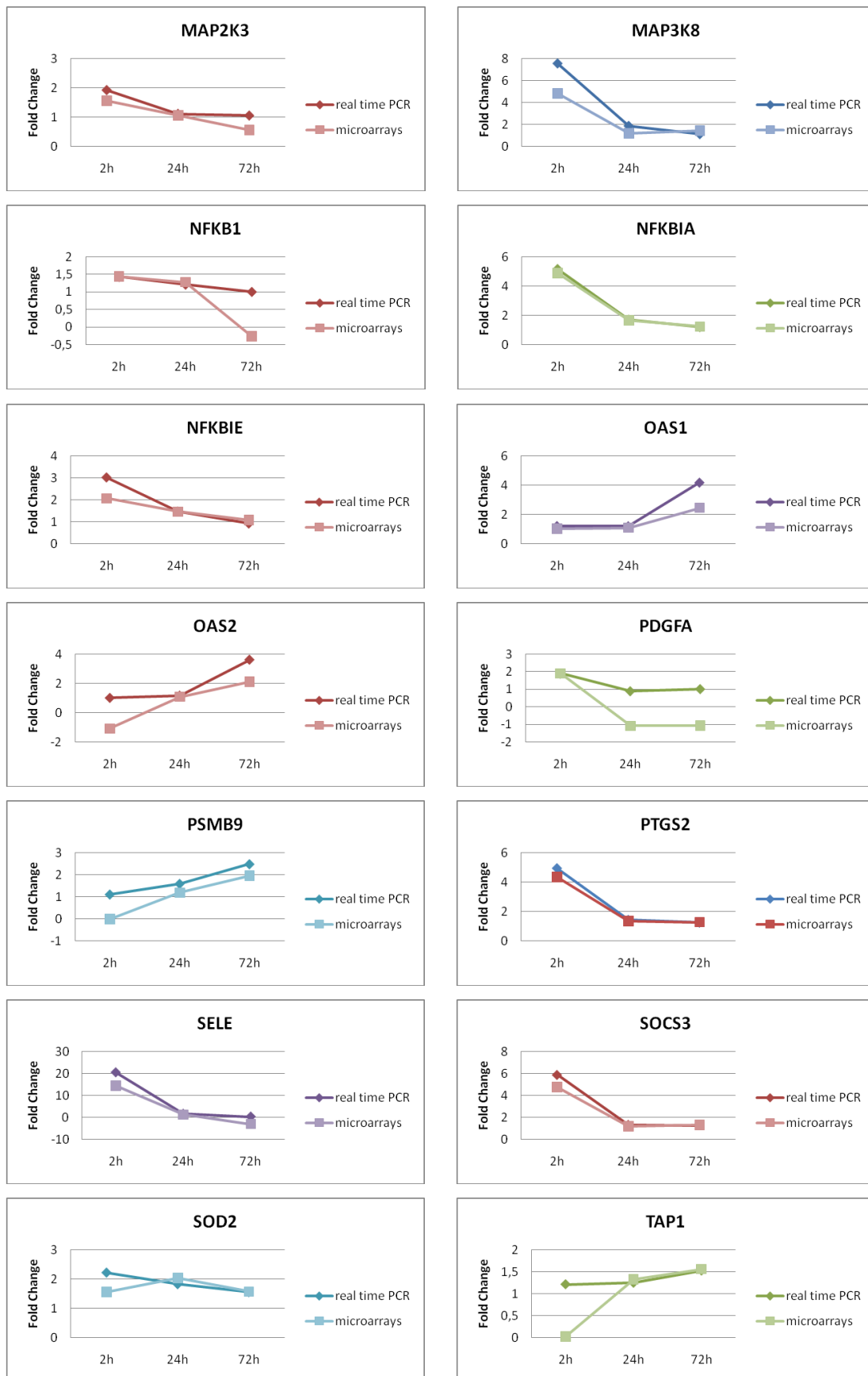
Figura 81. RQ Plot a 72h d'infecció

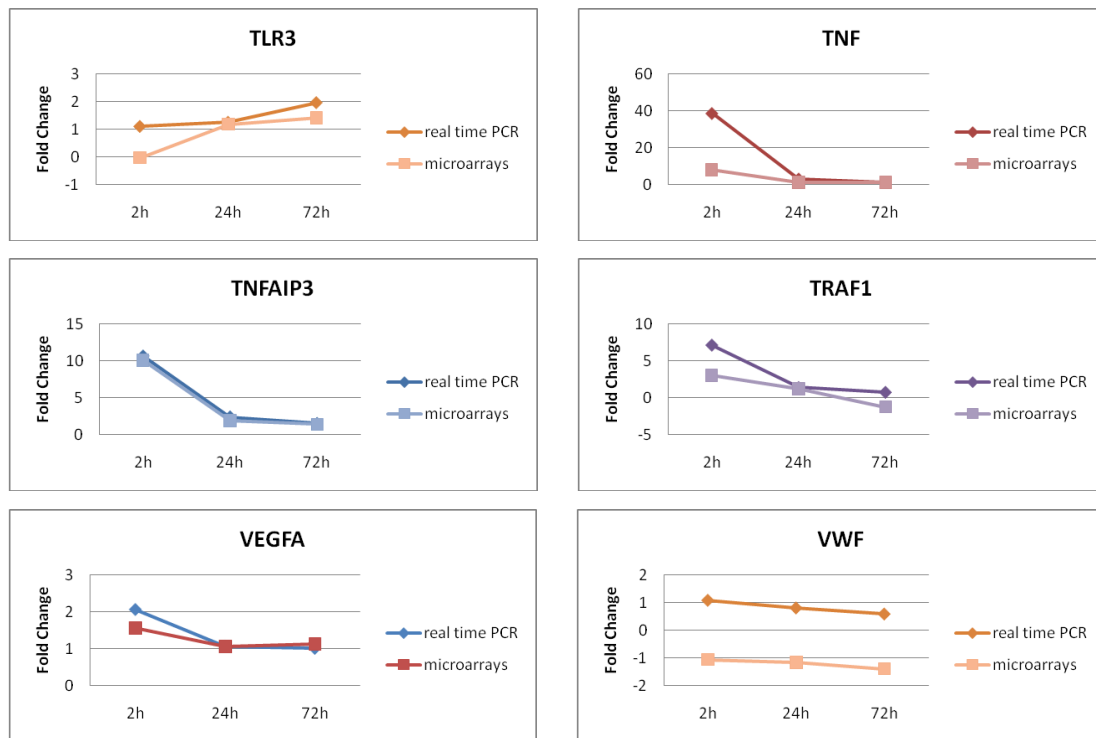
Després de la validació de les dades de microarrays per qRT-PCR, i per tal d'avaluar el grau de fiabilitat dels resultats, es van comparar amb les dades d'expressió dels microarrays. La validació de les dades confirma la tendència en el patró d'expressió per a gairebé tots els gens seleccionats. Les diferències observades es deuen a la diferent robustesa de les dues tècniques utilitzades. En general, els valors d'expressió obtinguts per qRT-PCR han estat superiors als determinats mitjançant l'anàlisi genòmica. A la següent figura es mostren els resultats comparant l'expressió obtinguda mitjançant microarrays o qRT-PCR per a cada gen individualment.





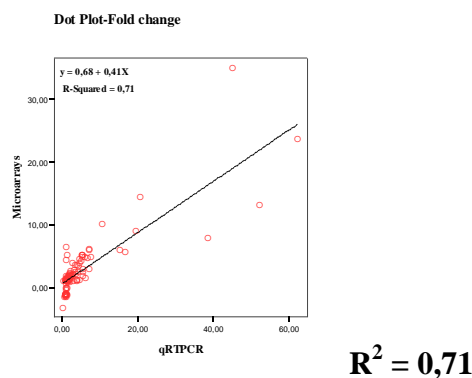






**Figura 82.** Comparació de l'expressió dels 47 transcrits seleccionats al llarg dels tres temps d'infecció mitjançant la tecnologia de microarrays i per qRT-PCR a temps real

Per tal d'establir el grau de correspondència entre les dues tècniques s'ha representat gràficament la correlació dels valors de *fold change* dels 47 gens validats als tres temps obtinguts amb la tècnica del microarrays respecte els obtinguts per qRT-PCR (Figura 83). Les dades dels microarrays concorden amb les dades d'expressió obtingudes per qRT-PCR, sent aquesta última una tècnica molt més sensible ja que permet detectar diferències d'expressió més petites. La validació realitzada utilitzant aquesta tècnica confirma els resultats de regulació de l'expressió gènica dels microarrays per a gairebé tots els gens seleccionats (excepte HLA-G) i garanteix la robustesa de les dades obtingudes.



**Figura 83.** Representació gràfica dels valors de FC obtinguts per als 47 gens als 3 temps analitzats fent servir microarrays i qRT-PCR

***DISCUSSIÓ***



## **Estudi de diferents processos implicats en l'aterosclerosi carotídia de grau baix-moderat**

### *Inflamació*

La inflamació juga un paper molt important en l'aterosclerosi, de fet es considera l'aterosclerosi una malaltia d'inflamació crònica. La proteïna C-reactiva (CRP) és un marcador de fase aguda. Els seus valors d'expressió circulants i en teixit augmenten en pacients amb malalties inflamatòries. A més, s'ha descrit que hi ha una associació entre els valors de CRP dipositats a la íntima i el desenvolupament de les lesions ateroscleròtiques. CRP té múltiples funcions, que inclouen l'atracció de monòcits, reducció de l'alliberament d'òxid nítric de cèl·lules endotelials, sobreexpressió de molècules d'adhesió, estimulació de la proliferació i migració de VSMC, increment de l'expressió de MMPs a les cèl·lules endotelials i macròfags, activació del sistema del complement, etc [Han KH 2004; Torzewski M., 2000; Zwaka TP 2001; Paseri V 2001; Verma S 2002; Nakakuki T 2005; Cirillo P 2005; Blaschke F 2004]. En estudis previs del grup, on el que s'estudiava eren plaques carotídies humanes avançades obtingudes d'endarterectomies (estenosi  $\geq 70\%$ ), es va observar com l'expressió gènica de CRP s'associava amb un increment de l'expressió d'altres gens proinflamatoris com IL-6, MCP-1 o COX-2, suportant la idea de que la inflamació i l'angiogènesi estan relacionades [Krupinski 2006]. En el nostre estudi en plaques carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ , hem observat una abundant expressió de CRP en lesions avançades (tipus IV/Va) però no en lesions inicials (I-III). En els ateromes estudiats hi ha un augment del nombre de neovasos i cèl·lules infiltrades, incloent macròfags i limfòcits T i B, predominantment en les àrees d'hipòxia, observant-ne una clara sobreexpressió de CRP en aquestes cèl·lules. Hem observat que CRP s'expressa principalment en les àrees de la fina capa fibrosa i al voltant del trombe intraplaca. Això suggereix que CRP pot estar implicada en la modulació de l'angiogènesi i potser en els esdeveniments aguts [Krupinski J 2006; Krupinski J 2007; Turu MM 2008].

### *Hipòxia*

A mesura que la mida de la capa íntima/mitja s'incrementa, la capacitat de difusió d'oxigen i nutrients des del lumen disminueix. La resposta angiogènica és estimulada per la hipòxia i la isquèmia [Carmeliet P 2003]. HIF-1 és un factor de transcripció clau en

la inducció de factors proangiogènics en condicions d'hipòxia, com el factor VEGF [Pugh CW 2003]. Hem pogut observar en el nostre estudi en plaques carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$ , una abundant expressió de HIF-1 $\alpha$  en àrees riques en macròfags en tots tipus de lesions, des de lesions tipus I fins a lesions tipus Va. Aquests resultats concorden amb un estudi previ sobre l'expressió de HIF-1 $\alpha$  en diferents fenotips de plaques [Vink A 2007]. També hem observat una abundant expressió de HIF-1 $\alpha$  en àrees d'hipòxia on hi ha una forta tinció en els neovasos. Això suggereix que HIF-1 $\alpha$  podria tenir un possible paper en la progressió de l'aterosclerosi en pacients amb estenosi lleu o moderada. Per el contrari, Vink *et al* [Vink A 2007] van observar més microvasos en plaques on l'expressió de HIF-1 $\alpha$  era gairebé ausent, mentre que en aquelles plaques que observaven abundant expressió de HIF-1 $\alpha$  el nombre de neovasos era inferior. Els autors conclouen que en un ambient hipòxic dins de plaques amb pocs o sense microvasos s'indueix l'expressió de HIF-1 $\alpha$ . En les nostres mostres, alguns pacients no mostraven factors de risc cardiovascular previs. Tanmateix, es podia observar mitjançant histologia la presència de lesió ateroscleròtica en aquests pacients. A més, aquestes lesions tenien una notable expressió de marcadors d'hipòxia i angiogènesi suggerint que hi ha altres mecanismes implicats en la formació de la lesió ateroscleròtica a part dels clàssics factors de risc.

La hipòxia és també un fet característic que es dona en el teixit durant una infecció bacteriana. Les respostes inflamatòries que provoquen les infeccions normalment redueixen l'oxigenació del teixit i indueixen respostes cel·lulars front la hipòxia [Koury J 2004]. La resposta adaptativa de les cèl·lules front l'estrès provocat per la disminució d'oxigen és coordinat pel factor induïble per hipòxia HIF-1. HIF-1 conté una subunitat  $\alpha$  dependent d'oxigen. En condicions de normòxia HIF-1 $\alpha$  és traslladada i ràpidament degradada per el proteosoma. En condicions d'hipòxia, es bloqueja la degradació de HIF-1 $\alpha$  amb el conseqüent augment dels seus nivells. Després d'estabilitzar-se, HIF-1 $\alpha$  es trasllada al nucli on heterodimeritza amb l'altre subunitat, HIF-1 $\beta$ , per activar la transcripció gènica [Peyssonnaud C 2005]. Alguns estudis han demostrat com HIF-1 $\alpha$  està implicat directa o indirectament en la regulació específica de molècules efectores immunes, com pèptids antimicrobians o el factor de necrosi tumoral- $\alpha$  [Peyssonnaud C 2005; Cramer T 2003]. Un estudi recent mostra per primera vegada com *C. pneumoniae* és capaç de replicar-se al interior de la cèl·lula hoste i de mantenir la capacitat infectant sota condicions d'hipòxia. Per manipular el metabolisme de la cèl·lula hoste i les

funcions en hipòxia, *C. pneumoniae* controla el sistema regulador d'oxigen HIF-1 $\alpha$  [Rupp J 2007]. Quan la lesió ateroscleròtica es desenvolupa, augmenta la mida de la paret vascular, disminuint a la vegada la capacitat de difusió d'oxigen. Al mateix temps, augmenta el consum d'oxigen, y té lloc un desequilibri energètic. Aquests desequilibris metabòlics resulten en la progressió de la lesió, el creixement de la placa i la remodelació, amb la formació del nucli necròtic. Els nostres resultats indiquen que hi ha una correlació entre el factor induïble per hipòxia-1 $\alpha$  i la presència de *C. pneumoniae* en les artèries amb lesions ateroscleròtiques. Hem observat una sobreexpressió de HIF-1 $\alpha$  en les àrees ateromatoses d'artèries infectades.

### Angiogènesi

L'angiogènesi juga un paper complex en el desenvolupament i progressió de l'aterotrombosi i pot ser associada amb síndromes clínics coronaris i cerebrovascular [Mofidi R 2001; Milei J 1998; O'Brien ER 1994]. Es coneix molt poc sobre les respostes angiogèniques en lesions inicials i moderades (grau I-IV segons l'AHA), les quals es troben freqüentment en pacients que han sofert ictus d'origen indeterminat. Per tal d'aprofundir en l'estudi de la presència i morfologia dels nous vasos que es formen durant el procés d'angiogènesi en estadis inicials de la placa ateroscleròtica es va realitzar un estudi en plaques carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$ . També es va realitzar l'estudi en artèries coronàries i artèries cerebrals mitges amb diferents graus de lesió.

Es va observar un increment de la densitat de microvasos al augmentar el grau de lesió en artèries carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$  i en artèries coronàries. En algunes mostres, escollides al atzar, es va comparar l'expressió del marcador CD105 amb CD34, un marcador de cèl·lules endotelials, observant-ne que el número de vasos marcats amb CD105 era inferior als marcats amb CD34, de forma que ens suggeria que CD105 era un marcador selectiu de vasos actius o nous concordant amb altres estudis anteriors que també suggerien com l'expressió de CD105 en aquestes lesions s'associava amb neovascularització activa des de un punt de vista angiogènic [Guo B 2004; Piao M 2006].

La endoglina actua com a receptor auxiliar del factor de creixement transformant- $\beta$  expressant-se principalment en la superfície de les cèl·lules endotelials. TGF $\beta$  té notables efectes en la proliferació cel·lular, la diferenciació, l'adhesió, migració, entre



altres activitats [Massaje J 1990]. La endoglina s'uneix a membres de la superfamília de TGF  $\beta$  i modula respostes cel·lulars de TGF- $\beta$ 1. El factor de creixement TGF- $\beta$ 1 està implicat en l'aterosclerosi a través dels seus múltiples efectes [Li CG 1999]. Alguns estudis mostren propietats antiaterogèniques [Grainger DJ 1995; Grainger DJ 1994], mentre altres mostren propietats aterogèniques [Nikol S 1992; Majesky MW 1991] per aquest factor. Piao *et al* van trobar un augment de l'expressió de TGF- $\beta$ 1 en lesions ateroscleròtiques, sobretot en les lesions més avançades, suggerint que participa en el inici de la lesió i en la progressió cap a lesions més avançades [Piao M 2006]. CD105 pot iniciar els seus efectes en estats inicials de la lesió per interacció amb TGF $\beta$ , però no sabem si l'expressió d'aquestes proteïnes és la causa o el resultat de l'aterogènesi.

Existeix un augment de la mida de la capa neointima al augmentar el grau de lesió tant en les artèries caròtides com en les coronàries i les ACM. Aquest increment correlaciona amb un augment de l'expressió de microvasos positius per CD105. Les artèries coronàries en estats inicials de lesió (grau I-III) generalment contenen plaques estables no-complicades amb poques àrees d'inflamació. Això contrasta amb les artèries caròtides, les quals són de major calibre i exhibeixen ja una estructura molt més complexa amb majors evidències d'inflamació i major densitat de neovasos CD105 positius en lesions inicials. Això suggereix patrons de desenvolupament diferents en les malalties d'artèries caròtides i coronàries, mostrant una major activitat angiogènica i inflamatòria a les artèries carotídiades que en últim terme desenvoluparien abans regions inestables propenses a hemorràgies i ruptures [Krupinski J 2008; Ribatti D 2008]. A més, sabem que pacients amb baixa o moderada estenosi carotídia sofreixen ictus o AIT, els quals moltes vegades es classifiquen com a un origen indeterminat [Caplan LR 1998; Wong KS 2002]. Probablement lesions carotídiades sense una oclusió important del lumen, però amb activitat important, poden ser responsables d'aquests fets. En plaques amb un grau de lesió més avançat (IV-Va) segueixen observant-se diferències entre el nombre de vasos CD105 positius en les artèries carotídiades i coronàries, associant-ho a la major mida de la capa íntima de les artèries caròtides.

L'aterosclerosi ha estat menys estudiada a les artèries cerebrals mitges, encara que l'estenosi de l'ACM sigui una causa comuna d'ictus en algunes poblacions [Chen XY 2008]. La freqüència i paper de les plaques intracranials en pacients que han superat un

ictus és encara desconegut en la població caucàsica [Mazighi M 2008]. En el nostre estudi es mostren evidències d'angiogènesi a la capa íntima.

També es va voler establir si hi ha havia alguna correlació entre una major densitat de vasos actius a la capa adventícia amb un augment de la neoíntima, de forma que es va fer un comptatge del nombre de neovasos marcats amb CD105 de la capa adventícia de la zona de l'artèria on hi havia placa i es va comparar amb una altra zona de la mateixa artèria on no hi havia placa o era de grau inferior. Sorprenentment no es va trobar aquesta relació en les artèries carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$  observant-ne una activació general del *vasa vasorum*.

Un aspecte important dels nous vasos formats a la neoíntima és la seva morfologia. Ja en lesions inicial s'observa vasos amb una morfologia irregular. Alguns tenen una aparença allargada però amb la llum del vas oberta i per tant, funcionals. Altres tenien formes irregulars, multilobulars i inclús alguns estaven col·lapsats i per tant, probablement no funcionals. Aquests vasos immadurs, similars als observats en tumors [Miyagami M 2005] són més propensos a l'hemorràgia i la ruptura. Dunmore *et al* [Dunmore BJ 2007] van mostrar com aquests vasos multilobulars irregulars es trobaven casi de forma exclusiva en plaques carotídies de pacients simptomàtics, que no observaven en pacients asimptomàtics. Segurament, aquests microvasos immadurs, amb un fenotip proangiogènic, siguin punts d'entrada per a la infiltració intraplaca de limfòcits i macròfags [Virmani R 2005]. Macròfags i limfòcits dins de la placa expressen factors de creixement i inflamatoris com metal·loproteïnases, les quals estan implicades en promoure la inestabilitat de la placa [Jander S 1998; Carr S 1996].

Des de un punt de vista terapèutic seria interessant poder distingir entre els vasos funcionals dels vasos irregulars, col·lapsats i inestables que poden donar lloc a una hemorràgia o ruptura de la placa inclús en artèries amb baixa estenosi. Potser controlant l'estabilitat d'aquests vasos immadurs es pugui controlar el desenvolupament de les lesions.

Un altre procés que sembla jugar un paper important en la progressió de la lesió ateroscleròtica és la infecció. Diversos patògens, com *Cytomegalovirus*, *Helicobacter pylori*, *Herpes simplex virus* o *Chlamydia pneumoniae* han estat relacionats al llarg del anys amb malalties cardiovasculars [Nicholson AC 1998; Fish KN 1998; Ameriso SF 2001]. *C. pneumoniae*, una bactèria gram negativa de vida intracel·lular obligada, va ser relacionada per primer cop amb l'aterosclerosi al 1992 [Saikku P 1992]. Va ser un estudi seroepidemiològic que mostrava nivells d'anticossos front *C. pneumoniae* molt més elevats en pacients amb malalties coronàries que en els casos control. Tanmateix, avui dia, existeixen molts estudis contradictoris sobre la importància d'aquest agent infecciós en el desenvolupament i progressió de l'aterosclerosi. S'han publicat estudis que van entre el 0% fins a més del 60% de resultats positius respecte la presència de *C. pneumoniae* en teixit ateroscleròtic [Ouchi K 2000; Apfalter P 2001; Apfalter P 2004]. Les revisions que s'han realitzat en els últims anys mostren la poca reproductibilitat dels resultats publicats dependent de quin laboratori analitza les mostres [Ieven MM 2005]. El tipus de tècnica utilitzada per detectar la presència de *C. pneumoniae* en mostres ateromatoses també ha estat criticat degut al gran nombre de falsos positius que semblen haver-se presentat [Cochrane M 2005]. Sembla que la tècnica de PCR és millor per detectar *C. pneumoniae* que altres tècniques com les immunohistoquímiques o la microscòpia electrònica [Dowell SF 2001; Apfalter P 2003]. Estudis tant *in vitro* com *in vivo* han demostrat com aquest patogen respiratori és capaç d'infectar cèl·lules endotelials [Coombes BK 1999], cèl·lules musculars llises [Yang X 2005] o monòcits [Gaydos CA 1996] podent induir processos proaterogènics com la formació de cèl·lules espumoses [Mei CL 2008] o l'expressió de quimioquines i molècules d'adhesió [Hogdahl M 2008]. Diferents estudis mostren que el bacteri inactiu, sense capacitat infectant, és capaç d'activar també una resposta inflamatòria i immune [Kol A 1999; Baer JT 2003]. Donat que l'aterosclerosi és considerada una malaltia inflamatòria crònica, la interacció de *C. pneumoniae* amb les cèl·lules hoste de la paret vascular podria provocar una important resposta front la infecció que pot tenir un paper important en el desenvolupament de l'ateroma independentment d'altres típics factors de risc cardiovasculars com la hipercolesterolèmia o la diabetis.

El nostre estudi en artèries caròtides suggereix que la infecció de *C. pneumoniae* és comuna en les lesions d'estadis més inicials. Un 58% de les mostres carotídiades amb estenosi  $\leq 50\%$  analitzades, mostren evidències de la presència del patogen per PCR. El 91% dels resultats positius provenen de lesions preateromatoses (grau < IV), mentre que només un 9% corresponen a lesions ateromatoses (IV-Va). A més, només el 12% de les plaques avançades obtingudes d'endarterectomia, artèries caròtides amb estenosi  $\geq 70\%$ , mostraven presència de *C. pneumoniae*. Estadísticament no s'ha pogut demostrar una relació entre la presència d'infecció i els factors de risc cardiovasculars.

La major part dels estudis publicats han treballat amb plaques carotídiades avançades obtingudes per endarterectomia. Alguns d'aquests estudis mostren resultats positius per a la presència de *C. pneumoniae* en més d'un 60% de les mostres analitzades [Ouchi K 2000; Apfalter 2001]. D'altres mostren una gran varietat de resultats en l'anàlisi de les mateixes mostres segons si han utilitzat immunohistoquímica, PCR o d'altres tècniques [Cochrane M 2005], conclouent que al llarg dels anys ha hagut un gran nombre de falsos positius [Meijer A 2000]. En general, quan s'utilitza la tècnica de PCR el nombre de positius disminueix considerablement. La Nested PCR incrementa la fiabilitat dels resultats però s'ha d'anar amb precaució ja que és possible que augmenti també el risc de contaminació [Dowell SF 2001; Apfalter P 2003; Carr S 1996]. Inicialment, vam tenir problemes de contaminació, fet que vam solucionar utilitzant laboratoris diferents per a la extracció de l'ADN, el processament de la PCR i la preparació dels gels d'agarosa. Sempre es va netejar a fons tot el material utilitzat, utilitzant jocs de pipetes diferents per a cada procés, i utilitzant sempre un control positiu i un de negatiu. Les últimes revisions i publicacions sobre el tema demostren, al igual que nosaltres, que pràcticament no hi ha presència de *C. pneumoniae* en plaques avançades obtingudes d'endarterectomia. Tanmateix, aquest és el primer cop que es demostra l'elevada presència de la bactèria en lesions inicials.

Diferents estudis seroepidemiològics han mostrat una alta prevalença d'anticossos front *C. pneumoniae* en la població, incrementant-se amb l'edat [Didion SP 2008; Kuo CC 1995]. Aquests estudis mostren com la majoria de la gent és infectada i reinfectada al llarg de la seva vida. Pacients amb malalties coronàries sembla que tenen major presència d'anticossos front *C. pneumoniae* que els controls. Tanmateix, no hi ha una correlació amb la presència de la bactèria en el teixit ateromatós [Apfalter P 2004]. Els nostres

resultats constaten aquests estudis. Hem observat un 91% de resultats positius per a la presència d'anticossos front *C. pneumoniae* en sèrum, sense trobar relació entre aquests resultats i la presència de la bactèria al teixit ateromatós. La presència de la bactèria en cèl·lules circulants pot induir una resposta immune i inflamatòria que contribuiria al desenvolupament del procés ateroscleròtic.

Com s'ha comentat l'aterosclerosi carotídia és la primera causa d'ictus isquèmic, el qual és una de les primeres causes de mort i morbiditat en els països desenvolupats. Estudis seroepidemiològics han mostrat una relació entre la infecció per *C. pneumoniae* i la malaltia cerebrovascular. Infeccions cròniques amb aquest bacteri s'han associat amb un augment del risc de patir ictus i AIT [Wimmer ML 1996; Fagerberg B 1999]. Tanmateix, estudis realitzats fins al moment, amb la tècnica de la PCR, en artèries cerebrals de mida petita i gran han mostrat una molt baixa presència d'aquest patogen en el teixit ateromatós [Vink A 2001; Voorend M 2008]. En estudis on s'ha trobat presència de *C. pneumoniae* en artèries cerebrals mitges [Virok D 2001], així com en estudis serològics [Wimmer ML 1996], es suggereix que la bactèria està implicada en malalties cerebrovasculars agudes i cròniques. Tanmateix, la presència de *C. pneumoniae* es detecta en un nombre molt petit d'ACM o de vegades no es detecta. En el nostre estudi, no hem pogut observar presència del patogen malgrat haver analitzat diferents àrees de l'artèria incloent les regions ateroscleròtiques. Els nostres resultats son consistents amb molts estudis que no han pogut demostrar la relació entre la presència de *C. pneumoniae* en artèries cerebrals i ictus [Wohlschlaeger J 2005].

### ***Respostes immunes***

Al igual que els processos inflamatoris, les respostes immunes tenen lloc a la placa aterotrombòtica, però les seves conseqüències patofisiològiques segueixen sent especulacions. El sistema immune innat és la primera línia de defensa front patògens microbians com bactèries gram negatives o gram positives, fongs i virus. Les cèl·lules del sistema immune innat com macròfags o cèl·lules dendrítiques poden matar directament al patogen amb mecanismes com la fagocitosi o induir la producció de citokines encaminades a la seva eliminació [Akira S 2006; Medzhitov R 2007; Beutler B 2004; Janeway Jr 2002]. Els estudis que s'han fet al llarg dels anys per tal d'identificar els mecanismes de reconeixement de patògens i les vies de senyalització que s'activen han

descobert receptors com els de la família dels Toll (TLRs) o els receptors NOD (NLRs) [Akira S 2006; Chen G 2008; Ye Z 2008; Dostert C 2008]. Diversos estudis han demostrat la presència de TLR2 i sobretot de TLR4 en lesions ateroscleròtiques. S'han proposat lligands endògens com proteïnes de xoc tèrmic o fibrinogen en l'activació dels TLRs que promouien inflamació i respostes immunes que poden contribuir a crear un estat proaterogènic. També s'han proposat lligands exògens. Diferents estudis mostren la implicació de TLR2 i TLR4 com inici de l'activació del sistema immune innat en presència de *C. pneumoniae* o dels seus components com cLPS o cHSP60 [Krüll et al 2005; Joyee AG 2008; Edfelt K 2002]. En el nostre estudi immunohistoquímic en mostres d'artèries carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$  hem pogut constatar la presència de TLR2, TLR3 i TLR4. S'ha observat molt poca expressió tant de TLR2 com de TLR3. Aquesta expressió es podia observar principalment a les cèl·lules endotelials del lumen i en algunes cèl·lules de la musculatura llisa. Tanmateix, s'ha observat una abundant expressió del receptor TLR4 tant en les lesions inicials com en les més avançades. Cèl·lules endotelials tant del lumen com dels neovasos de la neoíntima, així com cèl·lules musculars llises i cèl·lules inflamatòries mostraven expressió de TLR4. A més, s'ha pogut correlacionar una major presència d'aquest receptor en aquelles mostres en que es detectava per PCR *C. pneumoniae*.

Per altra banda, respostes immunes cel·lulars podrien iniciar reaccions inflamatòries, citotoxicitat mediada per cèl·lules i cicles regulatoris dependents de citoquines en la placa aterotrombòtica [Hansson Göran K 2005]. Hem observat la presència tant de limfòcits T com de limfòcits B en plaques carotídies amb estenosi  $\leq 50\%$ , encara que la presència de limfòcits T era molt superior a la presència de limfòcits B. També s'ha observat com al augmentar el grau de lesió la presència de limfòcits T s'incrementava. Això concorda amb les dades publicades fins al moment que mostren com la majoria de les cèl·lules T que es troben en lesions ateroscleròtiques humanes són cèl·lules T efectores o de memòria i la proporció de cèl·lules T activades s'incrementa amb el grau de severitat de la malaltia. Hem volgut relacionar la presència de limfòcits T i B en lesions inicials d'aterosclerosi carotídia amb la presència d'infecció per *C. pneumoniae*. Tanmateix, no s'ha trobat relació entre la presència de la bactèria a la placa i l'augment del nombre de limfòcits. Tampoc s'ha relacionat amb la presència del patogen en diferents àrees de l'artèria.

Per tant, podem concloure que respostes immunes tant innates com cel·lulars tenen lloc dins de les lesions ateroscleròtiques, ja sigui per l'acció de lligands endògens o exògens, i que per tant aquests processos també ajudarien a la progressió i desenvolupament de la lesió ateroscleròtica en estats inicials. Probablement, la infecció provoca una resposta immune per intentar eliminar el bacteri, migrant aquest cap a altres àrees de l'artèria, o sobrevivint en estat persistent. Encara que el bacteri sigui eliminat, les seves restes cel·lulars, com components de la membrana, poden ser capaços de mantenir diferents senyals activats, com TLRs i provocar un estat d'inflamació crònic tot i que el bacteri hagi mort. És possible que no haguem trobat presència de la bactèria en lesions avançades degut al fet que *C. pneumoniae* és una bactèria de vida intracel·lular obligada que necessita cèl·lules vives per replicar-se i, per tant, estaria més còmode en artèries sense lesió o amb lesions inicials que en les més avançades on bàsicament trobem calcificació, ulceració i que contenen petites quantitats de cèl·lules.

## **Anàlisi del perfil d'expressió gènica en HCtAECs activades per la infecció amb *C. pneumoniae* utilitzant microarrays**

La major part dels estudis realitzats fins al moment centrats en estudiar els mecanismes activats front la infecció cel·lular amb *C. pneumoniae* han mostrat petites parts de possibles rutes metabòliques implicades, utilitzant principalment tècniques com ELISA, *western blot* o qRT-PCR de possibles gens candidats. Hi ha molts pocs estudis basats en la tecnologia d'*arrays* en aquest tema. Al 2002 es va fer un primer estudi en cèl·lules endotelials microvasculars amb microarrays d'ADN on s'analitzaven 268 gens i on es va observar l'activació de les vies MEK/ERK i PI3K/AKT, així com la sobreexpressió de citoquines (IL-1), quimioquines (MCP-1 i IL-8) i factors de creixement (bFGF) a les primeres 2h d'infecció [Mahony JB 2002]. Al 2008 es va fer un estudi en cèl·lules epitelials humanes utilitzant microarrays d'Agilent capaços d'analitzar 22000 sondes, en 12, 24, 48 i 72h d'infecció. Utilitzant la classificació GO van detectar processos implicats en la infecció amb *C. pneumoniae* com l'homeòstasi del calci, canvis en la fosforilació o l'expressió de MHC classe I [Alvesalo J 2008]. Finalment, l'any 2010 es va publicar un estudi en el que s'intentava analitzar amb profunditat com la bactèria és capaç d'introduir-se en la cèl·lula hoste. Van realitzar l'estudi en cèl·lules endotelials coronàries humanes infectades amb *C. pneumoniae* en 5min, 25min i 2h utilitzant microarrays d'Affymetrix i analitzant els resultats amb diverses bases de dades com la de GO. Principalment, van trobar la implicació de processos com l'adhesió cel·lular, cicle cel·lular, transcripció, endocitosi, comunicació cel·lular i senyalització cel·lular suggerint que la bactèria s'uneix a la cèl·lula hoste via proteïnes d'adhesió cel·lular que interaccionen amb receptors i que finalment entra per endocitosi [Wang A 2010].

En el treball presentat en aquesta tesi s'ha utilitzat la tecnologia de microarrays per a estudiar el perfil global d'expressió gènica en cèl·lules endotelials de caròtida humana infectades amb *C. pneumoniae*. S'ha fet servir microarrays comercials d'Agilent, analitzant tres rèpliques biològiques tant de controls negatius com de cèl·lules infectades en tres temps d'estudi diferents (2, 24 i 72h). Aquest anàlisi a permès identificar un total de 951 transcrits, dels continguts en el microarray, com a regulats transcripcionalment almenys en un dels tres temps d'infecció. Aproximadament un 65% d'aquests gens



estarien induïts i un 35% inhibits. La major part dels gens estan regulats a 2 i 72h i estan implicats en processos inflamatoris, de respostes immunes i apoptosi.

## *Inflamació*

L'endoteli juga un paper central en la reacció inflamatòria, ja que forma una barrera entre el torrent sanguini que conté les cèl·lules immunes i el teixit on té lloc la inflamació. En resposta a estímuls proinflamatoris, les cèl·lules endotelials expressen gens que codifiquen per citoquines, factors de creixement i quimioquines, a més de molècules d'adhesió cel·lular que participen en les diferents etapes de l'atracció, adhesió i transmigració de les cèl·lules immunes al lloc d'inflamació. Per altra banda, també té lloc la regulació de l'expressió de gens associats amb supervivència/apoptosi, proliferació, migració, canvis metabòlics, etc.

Entre les molècules d'adhesió, l'estudi de microarrays ha mostrat com sota l'estímul de la infecció per *C. pneumoniae* les cèl·lules endotelials expressen E-selectina, ICAM-1 i ICAM-4 a les 2h disminuint els seus nivells considerablement ja a 24h post-infecció. Aquestes molècules ajudarien reclutament de cèl·lules immunes en el lloc d'inflamació.

Entre les citoquines i quimioquines regulades transcripcionalment després de la infecció es troben quimioquines proinflamatòries de la subfamília CC, com CCL2 (MCP-1), CCL5 i CCL20, implicades en el reclutament de monòcits i limfòcits; quimioquines de la família CXC, com CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL6 i CXCL8 (IL8), importants en l'atracció de neutròfils i CXCL10 i CXCL11, que promouen l'adhesió de limfòcits T i monòcits. En general observem la seva màxima expressió a les 2h d'infecció, disminuint progressivament en el temps, excepte CXCL6, CXCL10 i CXCL11 que no veiem expressió fins a les 24h. També hi ha inducció a les 2h de citoquines com IL6, IL1A i IL11, mentre que IL7 i IL32 es veuen a les 72 i 24h post-infecció respectivament. Receptors de citoquines com IL7R, IL1RL1, IL18R1, IL15RA, IL18RAP es troben en general activats a partir de les 24h post-infecció segons els estudis de microarrays. També trobem sobreexpressió a 2h post-infecció de les citoquines CSF2 (GM-CSF) i CSF3, les quals estimulen el creixement i proliferació de diversos precursors hemoatopoiètics com granulòcits o macròfags. Molts d'aquests

resultats s'han validat per qRT-PCR corroborant-ne els perfils d'expressió obtinguts per l'anàlisi de microarrays.

De tots els factors de transcripció coneguts, NF- $\kappa$ B (*nuclear factor-kappa B*) i AP-1 (*activator protein 1*) serien els més rellevants en la regulació dels gens implicats en la resposta inflamatòria. NF- $\kappa$ B està constituït per homodímers i heterodímers de la família de membres de Rel. La més comuna és la combinació de l'heterodímer de proteïnes p50 (NF $\kappa$ B1) i p65 (RelA). NF- $\kappa$ B es troba en el citoplasma de la cèl·lula predominantment en forma inactiva associada a proteïnes inhibidores I $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$  (NFKBIA), I $\kappa$ B $\beta$  (NFKBIB) o I $\kappa$ B $\epsilon$  (NFKBIE) [Thanos D 1995]. L'activació de NF- $\kappa$ B requereix la seva dissociació de I $\kappa$ B via fosforilació d'aquest inhibidor [Traenckner EB 1995] i la subsegüent degradació d'aquest mitjançant proteòlisi per part del proteosoma 26S [Traenckner EB 1994]. Un cop alliberada la subunitat inhibidora, la forma activa del heterodímer NF- $\kappa$ B es transloca a nucli [Henkel T 1993] induïnt la transcripció de gens front aquestes respostes. A part de citoquines proinflamatòries com E-selectina o ICAM-1, TNF $\alpha$ , el qual trobem sobreexpressat a 2h de la infecció, activa també la via NF- $\kappa$ B per la unió amb el seu receptor TNFR1. Mitjançant l'anàlisi d'arrays i validant-ne els resultats per qRT-PCR hem vist com els inhibidors NFKBIA i NFKBIE es troben sobreexpressats a 2h d'infecció, disminuint els seus nivells a partir de les 24h, demostrant com l'expressió de les citoquines proinflamatòries que veiem sobreexpressades a 2h són capaces d'activar aquesta via. Els resultats indiquen com també s'activa la via p38 MAPK, podent activar el factor AP-1, ja que observem la sobreexpressió de membres d'aquesta família com FosB, c-Fos, c-Jun, JunB al inici de la infecció.

PTGS2 (*prostaglandin-endoperoxide synthase*), també anomenada COX-2, és un enzim clau per a la biosíntesi de prostaglandina a partir de l'àcid araquidònic i juga un paper important com a mediadora de la resposta inflamatòria. Tot i que s'ha trobat la seva expressió en lesions ateroscleròtiques, el paper de COX-2 en el procés de formació de la placa no està encara clar ja que pot provocar tant una resposta anti com pro-inflamatòria segons el tipus de prostaglandina que indueixi [Cipollone F 2008; Santovito D 2009]. Segons els anàlisis de microarrays, validats per qRT-PCR, aquest enzim es troba sobreexpressat al inici de la infecció, suggerint la seva implicació en el procés inflamatori.

L'expressió dels receptors PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  ha estat demostrada en lesions ateroscleròtiques [Marx N 1998; Tontonoz P 1998; Ricote M 1998; Staels B 1998, Chinetti G 2000] suggerint que poden afectar al procés aterogènic. S'ha vist que afecten a la transcripció de gens en cèl·lules endotelials, VSMC, monòcits i macròfags. La seva activació pot interferir negativament altres vies de senyalització com la de NF- $\kappa$ B i Ap-1 suggerint el seu paper beneficiós ja que inhibiria l'expressió de gens proaterogènics [Neve BP 2000]. Segons l'anàlisi IPA la via dels PPAR estaria implicada al inici de la infecció. Però, si estudiem els gens implicats veiem que ni PPAR $\alpha$  ni PPAR $\gamma$  es troben sobreexpressats, de forma que no estarien activant ni inhibint altres vies que, com hem vist anteriorment, si estarien en plena activitat. Per altra banda, també hi ha estudis que suggereixen que l'activació d'aquesta via seria beneficiós per entrar en un estat d'infecció crònic o persistent, ja que augmentaria el metabolisme energètic i disminuiria la inflamació de la cèl·lula hoste [Chan MM 2010]. En el nostre estudi, no s'ha pogut trobar una relació ja que tampoc es veu expressió d'aquests receptors a 72h post-infecció.

L'anàlisi d'arrays també ha mostrat com les cèl·lules endotelials adquireixen un fenotip proangiogènic a l'inici de la infecció, expressant gens que afavoreixen el creixement i migració cel·lular com són VEGF i PDGFA, gens de la família de factors de creixement PDGF, que promouen la migració i formació de nous vasos així com la proliferació cel·lular.

### **Immunitat**

L'anàlisi IPA així com l'anàlisi de GO ha mostrat com els processos de processament i presentació d'antigen es donen a les 72h post-infecció. Algunes molècules rellevants involucrades en el processament d'antigen induïdes per la infecció amb *C. pneumoniae* són UBD, TAP1, TAP2, ERAP2, PSME2 i PSMB9. Ubiquinina D (UBD) és un membre de la família de *Ubiquitin-like proteins* (UBL). S'ha descrit que la seva expressió pot ser induïble per les citoquines proinflamatòries IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  en cultiu primari de cèl·lules endotelials [Raasi S 1999]. Sembla que participa en la presentació d'antígens o altres processos cel·lulars controlats per aquestes citoquines, entre ells el mecanisme d'apoptosi [Hipp MS 2005]. L'aminopeptidasa ERAP2, la subunitat catalítica del proteosoma PSMB9 (*Proteosome subunit, beta type 9*), que pot ser induïda per IFN- $\gamma$ , i la subunitat reguladora PSME2 (*proteosome activator subunit 2*) estan implicades en el

processament d'antígens generant pèptids de classe I. TAP1 (*Transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)*) i TAP2 són proteïnes associades a membrana de la superfamília de transportadors *ATP-binding cassette* (ABC). Pertanyen a la subfamília MDR/TAP i s'encarreguen del transport d'antígens des del citoplasma fins al reticle endoplasmàtic per associar-se a les molècules MHC I. S'ha pogut observar com la infecció cel·lular per part de virus com *Herpes simplex virus* o *Cytomegalovirus* inhibeixen la seva activitat afectant al transport de pèptids al reticle endoplasmàtic i per tant a l'associació amb molècules MHC I. És probable que al inici de la infecció, *C. pneumoniae* també inhibeixi la seva expressió i per això no estigui representat en els arrays fins a les 72h. Respecte la inducció de gens implicats en la presentació d'antígens estarien induïts a 72h de la infecció la B2M (*beta-2-microglobulin*) i les molècules del complex MHC classe I HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F i HLA-G (*major histocompatibility complex class I*).

L'anàlisi de GO i IPA identificaven l'activació de sistemes de la immunitat innata com la via dels receptors NLR (NOD-like receptors) i la dels TLR (Toll-like receptors). El reconeixement de lligands de *Chlamydiae* per part del receptor NOD-1 indueix una cascada de senyalització que porta a la producció de citokines proinflamatòries per l'activació de NF- $\kappa$ B i MAPKs [Park JH 2007; Opitz B 2005; Buchholz KR 2008; Welter-Stahl L 2006]. Encara que l'expressió de TLR2 i TLR4 està per sota del llindar dels microarrays, podem constatar com aquesta via està activada per la sobreexpressió que trobem de TLR3 a les 72h de la infecció. TLR3 està descrit com un receptor per dsARN viral. L'estimulació de la via de TLR3 per dsARN indueix l'activació del factor de transcripció NF- $\kappa$ B, donant lloc a la producció de citokines inflamatòries com IL-1 $\beta$ , IL6, IL8, IL12 o TNF $\alpha$ , entre d'altres. TLR3 també pot induir la producció de IFN de tipus I ( $\alpha/\beta$ ) a través de l'activació de factors reguladors de la transcripció del interferó (IRFs). Quan IFN- $\alpha/\beta$  s'uneixen als seus receptors, activant les vies JAK/STAT, s'indueix l'expressió de gens estimulats pel interferó, molt dels quals tenen activitats antivirals [Levy DE 2002]. Els resultats obtinguts mitjançant la tecnologia dels microarrays, i posterior validació per qRT-PCR, ha demostrat l'activació tant de la via NF- $\kappa$ B com de la via del IFN, creant un estat inflamatori que regula negativament la replicació de la bactèria.

## Apoptosi

La mort cel·lular per apoptosi és un mecanisme de defensa front la invasió de patògens. Mentre que en infeccions agudes el mecanisme d'apoptosi és crucial per a lliurar la cèl·lula hoste i que els cossos elementals de *C. pneumoniae* puguin continuar infectant les cèl·lules del voltant, en infeccions cròniques ha d'escapar de la mort cel·lular programada inhibint les cascades de senyalització apoptòtiques de la cèl·lula hoste. Hem pogut observar, segons els resultats obtinguts als microarrays, com les cèl·lules adquireixen un fenotip antiapoptòtic a les 2h d'infecció, expressant membres de la família d'inhibidors de l'apoptosi (IAPs). Els membres d'aquesta família es caracteritzen per la presència d'un motiu anomenat *Baculoviral Inhibitor of Apoptosis Repeat* (BIR) [Rothe M 1995]. Tant BIRC-3 (*Baculoviral IAP repeat containing 3*) com BIRC-2 es troben sobreexpressats a temps curts, sobretot a 2h de la infecció. Els productes d'aquests gens impedirien la mort cel·lular programada inhibint l'activitat caspasa via la unió als factors associats al receptor del factor de necrosi tumoral TRAF1 i TRAF2, probablement interferint en l'activació de *ICE-like* proteases. També hi ha una inducció significativa a 2h de la infecció de components de la família *Tumor necrosis factor, alpha-induced protein*: TNFAIP2, TNFAIP3 i TNFAIP6. TNFAIP2 i TNFAIP6 no estan tant caracteritzats com TNFAIP3, encara que també sembla que jugarien un paper important com a mediadors d'inflamació i angiogènesi. TNFAIP3 és un gen induït en resposta a estímuls proinflamatoris que protegeix les cèl·lules endotelials de la mort per apoptosi induïda per TNF, inhibint l'activació de caspases [Ferran C 1998]. Per altra banda també s'ha identificat la sobreexpressió a 2h de BCL2A1 (*BCL2-related protein A1*), membre de la família BCL2. BCL2A1 té propietats antiapoptòtiques bloquejant l'activitat de caspases, s'indueix via NF- $\kappa$ B en resposta a estímuls inflamatoris i augmenta la seva expressió per diferents senyals extracel·lulars com GM-CSF, CD40, o citoquines proinflamatories com TNF i IL1 suggerint una funció protectora de la cèl·lula. Finalment, hi ha una inhibició de DIDO1 (*death inducer-obliterator 1*), gen proapoptòtic. Per tant, sota aquestes condicions la bactèria seria capaç de sobreviure i replicar inhibint la mort cel·lular programada de la cèl·lula hoste.

A les 24 post-infecció s'observa com disminueixen els nivells de les molècules antiapoptòtiques que acabem de descriure i comença a augmentar l'expressió de

molècules proapoptòtiques com TNFSF10 (*Tumor necrosis factor ligand superfamily member 10*), també anomenat TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*). La unió d'aquesta proteïna amb el seu receptor desencadena l'activació de MAPK8/JNK, caspasa 8 i caspasa 3.

A les 72h de la infecció deixen d'expressar-se aquests gens antiapoptòtics i comencen a augmentar considerablement gens relacionats amb la via del interferó. Les respostes mediades per interferó tenen l'objectiu de protegir la cèl·lula front bacteries, virus, etc. Els factors cel·lulars que intervenen en aquesta defensa són els productes dels gens estimulats per interferó (ISGs). Tot i què s'han identificat centenars de ISGs desde el seu descobriment, fa més de 25 anys [Knight E Jr 1979; de Veer MJ 2001; Larner AC 1984], hi ha molt pocs caracteritzats respecte l'activitat antiviral i antimicrobiana i els seus mecanismes d'acció. Trobem sobreexpressió de ISGs de la família FAM14 com IFI27 (*interferon, alpha-inducible protein 27*) i IFI6, receptors com IFNGR1 (*interferon gamma receptor 1*), proteïnes transmembrana com IFITM1 (*interferon-inducible transmembrane protein 1*) i factors reguladors de la transcripció del interferó com IRF7 (*interferon regulatory factor 7*) i IRF9. Tenint en compte les característiques d'aquests gens [Huang IC 2011; Hallen LC 2007; cherivath V 2011] podem suggerir que a temps llargs, quan la bactèria ja s'ha replicat i necessita la lisi de la cèl·lula hoste per alliberar els cossos elementals, es crea un estat proapoptòtic i antiproliferatiu. S'ha pogut confirmar el perfil d'expressió obtingut per microarrays de diferents gens implicats en apoptosi per qRT-PCR.



# ***CONCLUSIONS***





1. L'estudi pilot en artèries caròtides amb estenosi lleu o moderada ( $\leq 50\%$ ) mostra l'activitat de la placa en estats inicials de la lesió per la presència de diferents tipus de marcadors d'hipòxia, inflamació, angiogènesi i respostes immunes.
2. En artèries caròtides amb estenosi  $\leq 50\%$  s'ha trobat presència d'infecció per *C. pneumoniae*, mitjançant una tècnica d'alta sensibilitat com és la PCR, en un % molt més elevat que en plaques carotídiades avançades (estenosi  $\geq 70\%$ ).
3. La detecció de *C. pneumoniae* en plaques en estats inicials suggereix que la infecció per *C. pneumoniae*, entre d'altres patògens, pot jugar un paper important en el inici i desenvolupament de la lesió ateroscleròtica carotídia.
4. En un model *in vitro* però, amb cèl·lules endotelials de caròtida humana, hem caracteritzat mecanismes d'acció de la infecció per *C. pneumoniae*.
5. *C. pneumoniae* és un patogen capaç d'induir vies metabòliques claus en la propagació d'inflamació, generació de respostes immunes i de mort cel·lular programada.
6. Utilitzant les noves tecnologies, com microarrays de genoma complet, hem pogut estudiar els mecanismes d'acció de la bactèria, així com la reacció de les cèl·lules endotelials, des del inici fins al final del seu cicle biològic, obrint noves vies d'investigació relacionades amb aterosclerosi.



# ***BIBLIOGRAFIA***



- Abadal LT, Puig T, Balaguer Vintrolé I: Incidence, mortality and risk factors for stroke in the Manresa Study. 28 years of follow-up. *Rev Esp Cardiol.* 2000; 53:15-20
- Akira, S, Uematsu, S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124,:83–801
- Allen G, Díaz MO. Nomenclature of the human interferon proteins. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16:181-4
- Alvesalo J, Greco D, Leinonen M, Raitila T, Vuorela P, Auvinen P. Microarray analysis of a Chlamydia pneumoniae-infected human epithelial cell line by use of gene ontology hierarchy. *J Infect Dis.* 2008; 197:156-62
- Ameriso SF, Fridman EA, Leiguarda RC, Sevlever GE. Detection of Helicobacter pylori in human carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2001; 32:385-391
- Anderson CS, Taylor BV, Hankey GJ, Stewart-Wynne EG, Jamrozik KD. Validation of a clinical classification for subtypes of acute cerebral infarction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1994; 57:1173-9
- Apfalter P, Barousch W, Nehr M, Willinger B, Rotter M, Hirschl AM. No evidence of involvement of Chlamydia pneumoniae in severe cerebrovascular atherosclerosis by means of quantitative real-time polymerase chain reaction. *Stroke* 2004; 35:2024-2028
- Apfalter P, Blasi F, Boman J, Gaydos CA, Kundi M, Maass M, Makristathis A, Meijer A, Nadrchal R, Persson K, Rotter ML, Tong CY, Stanek G, Hirschl AM. Multicenter comparison trial of DNA extraction methods and PCR assays for detection of Chlamydia pneumoniae in endarterectomy specimens. *J Clin Microbiol* 2001; 39:519-524
- Apfalter P, Hammerschlag MR, Boman J. Reliability of nested PCR for the detection of Chlamydia pneumoniae in carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 2003; 34:e73-75
- Arboix A, Díaz J, Pérez-Sempere Angel, Albarez Sabin J. Ictus, tipos etiológicos y criterios diagnósticos. Guía para el tratamiento y prevención del Ictus. Guías y protocolos de la SEN 2002
- Arenillas JF, Alvarez-Sabin J. Basic mechanisms in intracranial large-artery atherosclerosis: advances and challenges. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20:75-83
- Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A, Deng A, Eichhorn J, Mahajan R, Agrawal R, Greve J, Robbins R, Patterson AJ, Bernstein D, Quertermous T. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res.* 2005; 65:73-82
- Badimon L, Juan-Babot J.O, Vilahur G. Cambios anatomofuncionales del sistema cardiovascular del diabético. El factor Inflamatorio y la glucotoxicidad. *Vascular (Capítulo 4)*. En: Diabetes y síndrome metabólico: la hora del cardiólogo. Páginas, inicial: 65 final: 78 Fecha: 2009. Edit. JL Palma Gámiz. Sociedad Española de Cardiología
- Badimon, L, Martínez-González J. Bases moleculares y genéticas de las cardiopatías. *Cardiología clínica* 2003; 1ªEd, Masson S.A., capítulo 3, 30-44
- Baer JT, Du Laney TV, Wyrick PB, McCain AS, Fischer TA, Merricks EP, Baldwin AS, Nichols TC. Nuclear factor-kappaB activation in endothelium by Chlamydia pneumoniae without active infection. *J Infect Dis* 2003; 188:1094-1097
- Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral. Infarction. *Lancet.* 1991; 337:1521-6
- Barbara NP, Wrana JL, Letarte M: Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem* 1999; 274:584-594
- Barger AC, Beeuwkes R 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1984; 310:175-7
- Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B* 1995; 57:289-300.
- Beutler B. TNF, immunity and inflammatory disease: lessons of the past decade. *J Investig Med.* 1995; 43:227-235
- Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* 2004; 430:257–263
- Bia D, Zócalo Y, Armentano RL, Camus J, Forteza E, Fischer EC. La adventicia reduce la poscarga dinámica ventricular izquierda mediante mecanismos dependientes de la activación muscular lisa. *Investigación básica* 2007; 60:501-9

- Bjornheden T, Levin M, Evaldsson M, Wiklund O. Evidence of hypoxic areas within the arterial wall in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:870-6
- Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41:37S-42S
- Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein. A surrogate risk marker or mediator of atherothrombosis? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003; 285:R1250-2.
- Blaschke F, Bruemmer D, Yin F, Takata Y, Wang W, Fishbein MC, Okura T, Higaki J, Graf K, Fleck E, Hsueh WA, Law RE. C-reactive protein induces apoptosis in human coronary vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2004; 110:579-87
- Bloemenkamp DG, Mali M, Visseren WPTM, van der Graaf Y. Meta-analysis of sero-epidemiologic studies of the relation between Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: does study design influence results? *Am. Heart J*. 2003; 145:409-417
- Boden-Albala B, Sacco RL, Lee HS, Grahame-Clarke C, Rundek T, Elkind MV, Wright C, Giardina EG, DiTullio MR, Homma S, Paik MC. Metabolic Syndrome and Ischemic Stroke Risk. Northern Manhattan Study. *Stroke* 2008; 39:30-5.
- Bolstad B. Probe Level Quantile Normalization of High Density Oligonucleotide Array Data. Unpublished manuscript 2001; <http://bmbolstad.com/stuff/qnorm.pdf>
- Boman J, Hammerschlag MR. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15:1-20.
- Boman J, Söderberg S, Forsberg J, Birgander LS, Allard A, Persson K, Jidell E, Kumlin U, Juto P, Waldenström A, Wadell G. High prevalence of Chlamydia pneumoniae DNA in peripheral blood mononuclear cells in patients with cardiovascular disease and in middle-aged blood donors. *J. Infect. Dis*. 1998 ; 178 :274-277
- Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Bonadonna RC, Muggeo M; Bruneck study. Carotid atherosclerosis and coronary heart disease in the metabolic syndrome: prospective data from the Bruneck study. *Diabetes Care* 2003; 26:1251-7
- Borden EC, Sen GC, Uze G, Silverman RH, Ransohoff RM, Foster GR, Stark GR. Interferons at age 50: past, current and future impact on biomedicine. *Nat Rev Drug Discov*. 2007; 6:975-90
- Breitkreutz B-J, Jorgensen P, Breitkreutz A, Tyers M. AFM 4.0: a toolbox for DNA microarray analysis. *Genome Biology* 2001; 2:software0001.1-0001.3
- Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO. Stroke incidence, prevalence and survival. Secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989. *Stroke* 1996; 27:373-380
- Buchholz KR, Stephens RS. The cytosolic pattern recognition receptor NOD1 induces inflammatory interleukin-8 during Chlamydia trachomatis infection. *Infect Immun*. 2008; 76:3150-5
- Caplan LR, Hennerici M: Impaired clearance of emboli (washout) is an important link between hypoperfusion, embolism, and ischemic stroke. *Arch Neurol* 1998; 55:1475-1482
- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9:653-60
- Carr S, Farb A, Pearce WH, Virmani R, Yao JS. Atherosclerotic plaque rupture in symptomatic carotid artery stenosis. *J Vasc Surg* 1996; 23:755-765
- Carrillo-Esper R. Inmunidad innata, receptores Toll y sepsis. *Cir Ciruj*. 2003; 71:252-258
- Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72:3666-3670
- Carter AM. Inflammation, thrombosis and acute coronary syndromes. *Diab Vasc Dis Res* 2005; 2:113-21
- Chan MM, Evans KW, Moore AR, Fong D. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR): balance for survival in parasitic infections. *J Biomed Biotechnol*. 2010;

- Chen XY, Wong KS, Lam WW, Zhao HL, Ng HK. Middle cerebral artery atherosclerosis: histological comparison between plaques associated with and not associated with infarct in a postmortem study. *Cerebrovasc Dis* 2008; 25:74-80
- Chen G, Shaw MH, Kim YG, Nunez G. Nod-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu. Rev. Pathol.* 2008; 4:365-398
- Cheriyath V, Leaman DW, Borden EC. Emerging roles of FAM14 family members (G1P3/ISG 6-16 and ISG12/IFI27) in innate immunity and cancer. *J Interferon Cytokine Res.* 2011; 31:173-81
- Chinetti G, Gbaguidi FG, Griglio S, Mallat Z, Antonucci M, Poulain P, Chapman J, Fruchart JC, Tedgui A, Najib-Fruchart J, Staels B. CLA-1/SR-BI is expressed in atherosclerotic lesion macrophages and regulated by activators of peroxisome proliferator-activated receptors. *Circulation.* 2000; 101:2411-7
- Cipollone F, Cicolini G, Bucci M. Cyclooxygenase and prostaglandin synthases in atherosclerosis: recent insights and future perspectives. *Pharmacol Ther.* 2008; 118:161-80
- Cirillo, P., P. Golino, P. Calabro, G. Cali, M. Ragni, S. De Rosa, G. Cimmino, M. Pacileo, R. De Palma, L. Forte, A. Gargiulo, F. G. Corigliano, V. Angri, R. Spagnuolo, L. Nitsch, Chiariello M. C-reactive protein induces tissue factor expression and promotes smooth muscle and endothelial cell proliferation. *Cardiovasc Res* 2005; 68: 47-55
- Cochrane M, Pospischil A, Walker P, Gibbs H, Timms P. Discordant detection of Chlamydia pneumoniae in patients with carotid artery disease using polymerase chain reaction, immunofluorescence microscopy and serological methods. *Pathology* 2005; 37:69-75.
- Conesa A, Nueda MJ, Ferrer A, Talón M. maSigPro: a method to identify significantly differential expression profiles in time-course microarray experiments. *Bioinformatics.* 2006; 22:1096-102
- Conesa A, Nueda MJ. maSigPro User's Guide. October 2009
- Cook PJ, Honeybourne D, Lip GY, Beevers DG, Wise R, Davies P. Chlamydia pneumoniae antibody titers are significantly associated with acute stroke and transient cerebral ischemia: the West Birmingham Stroke Project. *Stroke* 1998; 29:404-410.
- Coombes B. K. & J. B. Mahony. cDNA array analysis of altered gene expression in human endothelial cells in response to Chlamydia pneumoniae infection. *Infect Immun.* 2001; 69: 1420-7
- Coombes BK, Mahony JB. Chlamydia pneumoniae infection of human endothelial cells induces proliferation of smooth muscle cells via an endothelial cell-derived soluble factor(s). *Infect Immun* 1999; 67:2909-2915
- Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, Förster I, Pawlinski R, Mackman N, Haase VH, Jaenisch R, Corr M, Nizet V, Firestein GS, Gerber HP, Ferrara N, Johnson RS. HIF-1alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* 2003; 112:645-57
- Croitoru-Lamoury J, Guillemin GJ, Boussin FD, Moggetti B, Gigout LI, Chéret A, Vaslin B, Le Grand R, Brew BJ, Dormont D. Expression of chemokines and their receptors in human and simian astrocytes: evidence for a central role of TNF alpha and IFN gamma in CXCR4 and CCR5 modulation. *Glia.* 2003; 41:354-70
- Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2004; 350:1387-97
- Danesh J, Whincup P, Lewington S, Walker M, Lennon L, Thomson A, Wong YK, Zhou X, Ward M. Chlamydia pneumoniae IgA titres and coronary heart disease. Prospective study and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2002; 23:371-5
- Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Wong Y, Bernardes-Silva M, Ward M. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: Prospective study and meta-analysis. *BMJ.* 2000; 321:208-13
- Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signalling proteins. *Science* 1994; 264:1415-21
- de Veer MJ, Holko M, Frevel M, Walker E, Der S, Paranjape JM, Silverman RH, Williams BR. Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays. *J Leukoc Biol.* 2001; 69:912-20
- Devic E, Paquereau L, Vernier P, Knibiehler B, Audigier Y. Expression of a new G protein-coupled receptor X-msr is associated with an endothelial lineage in *Xenopus laevis*. *Mech Dev.* 1996; 59:129-40



- Devic E, Rizzoti K, Bodin S, Knibiehler B, Audigier Y. Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of *Xenopus X-msr* and human APJ. *Mech Dev.* 1999; 84:199-203
- Dhakal HP, Naume B, Synnestvedt M, Borgen E, Kaaresen R, Schlichting E, Wiedswang G, Bassarova A, Giercksky KE, Nesland JM. Vascularization in primary breast carcinomas: its prognostic significance and relationship with tumor cell dissemination. *Clin Cancer Res* 2008; 14:2341-2350
- Di Napoli M, Papa F, Bocola V. C-reactive protein in ischemic stroke: an independent prognostic factor. *Stroke.* 2001; 32:917-24
- Di Napoli M, Schwaninger M, Cappelli R, Ceccarelli E, Di Gianfilippo G, Donati C, Emsley HC, Forconi S, Hopkins SJ, Masotti L, Muir KW, Paciucci A, Papa F, Roncacci S, Sander D, Sander K, Smith CJ, Stefanini A, Weber D. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke* 2005; 36:1316- 29
- Didion SP. Chlamydia pneumoniae and endothelial activation: the smoke that precedes the fire of atherosclerosis? *Circ Res* 2008; 102:861-863
- Donnelly RP, Kotenko SV. Interferon-lambda: a new addition to an old family. *J Interferon Cytokine Res.* 2010; 30:555-64
- Dostert C, Meylan E, Tschopp J. Intracellular pattern-recognition receptors. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60:830–840
- Dowell SF, Peeling RW, Boman J, Carlone GM, Fields BS, Guarner J, Hammerschlag MR, Jackson LA, Kuo CC, Maass M, Messmer TO, Talkington DF, Tondella ML. Standardizing Chlamydia pneumoniae assays: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). *Clin Infect Dis* 2001; 33:492-503
- Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S: CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *Faseb J* 2003; 17:984-92
- Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NP. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg* 2007; 45:155-159
- Martínez-Vila E, Irimia P. Risk factors of the stroke. *ANALES Sis San Navarra* 2000; 23:25-31
- Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, Yan ZQ. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. *Circulation.* 2002; 105:1158-61
- Edinger AL, Hoffman TL, Sharron M, Lee B, Yi Y, Choe W, Kolson DL, Mitrovic B, Zhou Y, Faulds D, Collman RG, Hesselgesser J, Horuk R, Doms RW. An orphan seven-transmembrane domain receptor expressed widely in the brain functions as a coreceptor for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus. *J Virol.* 1998; 72:7934-40
- Elkind MS, Lin IF, Grayston JT, Sacco RL: Chlamydia pneumoniae and the risk of first ischemic stroke: The Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 2000; 31:1521-1525
- Escobar E. Hypertension and coronary heart disease. *J Hum Hypertens.* 2002; 16 Suppl 1:S61-3
- Eyries M, Siegfried G, Ciumas M, Montagne K, Agrapart M, Lebrin F, Soubrier F. Hypoxia-induced apelin expression regulates endothelial cell proliferation and regenerative angiogenesis. *Circ Res.* 2008; 103:432-40
- Fagerberg B, Gnarpe J, Gnarpe H, Agewall S, Wikstrand J. Chlamydia pneumoniae but not cytomegalovirus antibodies are associated with future risk of stroke and cardiovascular disease: a prospective study in middle-aged to elderly men with treated hypertension. *Stroke* 1999; 30:299-305
- Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47:C7-12.
- Farrar MA, Fernandez-Luna, Schreiber RD. Identification of two regions within the cytoplasmic domain of the human interferon gamma receptor required for function. *J Biol Chem* 1991; 266:19626-35
- Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon g and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993; 11:571-611

- Ferran C, Stroka DM, Badrichani AZ, Cooper JT, Wrighton CJ, Soares M, Grey ST, Bach FH. A20 inhibits NF-kappaB activation in endothelial cells without sensitizing to tumor necrosis factor-mediated apoptosis. *Blood*. 1998; 91:2249-58.
- Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS Lett*. 1991; 285:199-212
- Fish KN, Soderberg-Naucler C, Mills LK, Stenglein S, Nelson JA. Human cytomegalovirus persistently infects aortic endothelial cells. *J Virol* 1998; 72:5661-5668
- Fleer A, Krediet TG. Innate immunity: toll-like receptors and some more. A brief history, basic organization and relevance for the human newborn. *Neonatology*. 2007; 92:145-57
- Frantz S, Vincent KA, Feron O, Kelly RA. Innate immunity and angiogenesis. *Circ Res*. 2005; 96:15-26
- Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999; 340:448-54
- Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94:2493-503
- Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, Ramirez JA, Quinn TC. Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infect Immun* 1996; 64:1614-1620
- Gentleman RC, Carey VJ, Bates DM, Bolstad B, Dettling M, Dudoit S, Ellis B, Gautier L, Ge Y, Gentry J, Hornik K, Hothorn T, Huber W, Iacus S, Irizarry R, Leisch F, Li C, Maechler M, Rossini AJ, Sawitzki G, Smith C, Smyth G, Tierney L, Yang JY, Zhang J. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biology* 2004; 5:R80
- Getz GS. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Bridging the innate and adaptive immune systems. *J Lipid Res*. 2005; 46:619-22.
- Gil de Castro R, Gil-Núñez AC. Factores de riesgo del ictus isquémico. *Rev Neurol* 2000; 31:314-323
- Gorelick PB, Sacco RL, Smith DB, Alberts M, Mustone-Alexander L, Rader D, Ross JL, Raps E, Ozer MN, Brass LM, Malone ME, Goldberg S, Booss J, Hanley DF, Toole JF, Greengold NL, Rhew DC. Prevention of a first stroke. A review of guidelines and a multidisciplinary consensus statement from the National Stroke Association. *JAMA* 1999; 281:1112-1120
- Grainger DJ, Kemp PR, Liu AC, Lawn RM, Metcalfe JC: Activation of transforming growth factor-beta is inhibited in transgenic apolipoprotein(a) mice. *Nature* 1994; 370: 460-462
- Grainger DJ, Kemp PR, Metcalfe JC, Liu AC, Lawn RM, Williams NR, Grace AA, Schofield PM, Chauhan A: The serum concentration of active transforming growth factor-beta is severely depressed in advanced atherosclerosis. *Nat Med* 1995; 1:74-79
- Guo B, Kumar S, Li C, Slevin M, Kumar P: CD105 (endoglin), apoptosis, and stroke. *Stroke* 2004; 35:e94-95
- Hallen LC, Burki Y, Ebeling M, Broger C, Siegrist F, Oroszlan-Szovik K, Bohrmann B, Certa U, Foser S. Antiproliferative activity of the human IFN-alpha-inducible protein IFI44. *J Interferon Cytokine Res*. 2007; 27:675-80
- Hambrecht R, Niebauer J, Marburger C, Grunze M, Kälberer B, Hauer K, Schlierf G, Kübler W, Schuler G. Various intensities of leisure time physical activity in patients with coronary artery disease: effects on cardiorespiratory fitness and progression of coronary atherosclerotic lesions. *J Am Coll Cardiol*. 1993; 22:468-77
- Han KH, Hong KH, Park JH, Ko J, Kang DH, Choi KJ, Hong MK, Park SW, Park SJ. C-reactive protein promotes monocyte chemoattractant protein-1-mediated chemotaxis through upregulating CC chemokine receptor 2 expression in human monocytes. *Circulation* 2004; 109: 2566-71
- Hansson Göran K, Libby P. The role of lymphocyte In: *Atherothrombosis and coronary artery disease*. 2nd Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005
- Heistad DD, Marcus ML. Role of vasa vasorum in nourishment of the aorta. *Blood Vessels*. 1979; 16:225-38
- Hellwig-Burgel T, Rutkowski K, Metzen E, Fandrey J, Jelkmann W. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha stimulate DNA binding of hypoxia-inducible factor-1. *Blood* 1999; 94:1561-7

- Henkel T, Machleidt T, Alkalay I, Krönke M, Ben-Neriah Y, Baeuerle PA. Rapid proteolysis of I kappa B-alpha is necessary for activation of transcription factor NF-kappa B. *Nature*. 1993; 365:182-5
- Hipp MS, Kalveram B, Raasi S, Groettrup M, Schmidtke G. FAT10, a ubiquitin-independent signal for proteasomal degradation. *Mol Cell Biol*. 2005; 25:3483-91
- Hirschfield GM, Pepys MB. C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *Qjm*. 2003; 96:793-807
- Hogdahl M, Soderlund G, Kihlstrom E. Expression of chemokines and adhesion molecules in human coronary artery endothelial cells infected with Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae. *Apmis* 2008; 116:1082-1088
- Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, Radoshitzky SR, Becker MM, Chiang JJ, Brass AL, Ahmed AA, Chi X, Dong L, Longobardi LE, Boltz D, Kuhn JH, Elledge SJ, Bavari S, Denison MR, Choe H, Farzan M. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathog*. 2011;7:e1001258
- Huang LE, Gu J, Schau M, Bunn HF. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 is mediated by an O2-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:7987-7992
- Ferreira ML, Casasnovas JA, Del Río A. Síndrome metabólico. Concepto. Su relación con la arteriosclerosis. *Manual de cardiología preventiva (SEC)*, 2005
- Ieven MM, Hoymans VY. Involvement of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis: more evidence for lack of evidence. *J Clin Microbiol*. 2005; 43:19-24
- Ikram MA, Seshadri S et al. Genomewide association studies of stroke. *N Engl J Med*. 2009; 360:1718-28
- Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, Sugaya T, Matsuzaki H, Yamamoto R, Shiota N, Okunishi H, Kihara M, Umemura S, Sugiyama F, Yagami K, Kasuya Y, Mochizuki N, Fukamizu A. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem*. 2004; 279:26274-9
- Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M, Steinmetz H, Stoll G. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke* 1998; 29:1625-30
- Janeway Jr, CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev. Immunol* 2002; 20: 197-216
- Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Risley P, Buehler A, von Kegler S, Markus HS. Inflammatory gene load is associated with enhanced inflammation and early carotid atherosclerosis in smokers. *Stroke* 2004; 35:2438-43
- Ji SR, Wu Y, Zhu L, Potempa LA, Sheng FL, Lu W, Zhao J. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein (CRP) to form a new, biologically active structural intermediate: mCRP(m). *FASEB J*. 2007; 21:284-94
- Johnston, SC, Zhang H, Messina LM, Lawton MT, Dean D: Chlamydia pneumoniae burden in carotid arteries is associated with upregulation of plaque interleukin-6 and elevated C-reactive protein in serum. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:2648-53
- Joyee AG, Yang X. Role of toll-like receptors in immune responses to chlamydial infections. *Curr Pharm Des*. 2008; 14:593-600
- Kalayoglu MV, Hoerneman B, LaVerda D, Morrison SG, Morrison SP, Byrne GY. Cellular oxidation of low-density lipoprotein by Chlamydia pneumoniae. *J Infect Dis* 1999; 180:780-90
- Kalmijn S, Foley D, White L, Burchfiel CM, Curb JD, Petrovitch H, Ross GW, Havlik RJ, Launer LJ. Metabolic cardiovascular syndrome and risk of dementia in japanese-american elderly men. The Honolulu-Asia Aging Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20:2255-60
- Kanamoto Y, Ouchi K, Mizui M, Ushio M, Usui T. Prevalence of antibody to Chlamydia pneumoniae TWAR in Japan. *J. Clin. Microbiol*. 1991; 29:816-818
- Kangasniemi K, Opas H. Suomalainen lääkärikeskus 1. Toinen painos. WSOY, Porvoo 1997
- Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol*. 2001; 132:1255-60

- Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010; 11:373-84
- Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol.* 2007; 19:24-32
- Kerr MK, Martin M, Churchill GA. Analysis of variance for gene expression microarray data. *J. Comput Biol* 2000; 7:819-837
- Khurana R, Simons M, Martin JF, Zachary IC. Role of angiogenesis in cardiovascular disease: a critical appraisal. *Circulation* 2005; 112:1813-1824
- Kidoya H, Naito H, Takakura N. Apelin induces enlarged and nonleaky blood vessels for functional recovery from ischemia. *Blood.* 2010; 115:3166-74
- Kleinbongard P, Heusch G, Schulz R. TNFalpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther.* 2010; 127:295-314
- Kleinz MJ, Davenport AP. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regul Pept.* 2004; 118:119-25
- Knight E Jr, Korant BD. Fibroblast interferon induces synthesis of four proteins in human fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979; 76:1824-7
- Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *J Clin Invest* 1999; 103:571-577
- Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998; 98:300-7
- Koury J, Deitch EA, Homma H, Abungu B, Gangurde P, Condon MR, Lu Q, Xu DZ, Feinman R: Persistent HIF-1alpha activation in gut ischemia/reperfusion injury. potential role of bacteria and lipopolysaccharide. *Shock* 2004; 22:270-277
- Krüll M, Maass M, Suttorp N, Rupp J. *Chlamydia pneumoniae*. Mechanisms of target cell infection and activation. *Thromb Haemost.* 2005; 94:319-26
- Krüll M, Klucken AC, Wuppermann FN, Fuhrmann O, Magerl C, Seybold J, Hippenstiel J, Hegemann JH, Jantos CA, Suttorp N. Signal transduction pathways activated in endothelial cells following infection with *Chlamydia pneumoniae*. *J Immunol.* 1999; 62:4834-41
- Krupinski J, Font A, Luque A, Turu M, Slevin M. Angiogenesis and inflammation in carotid atherosclerosis. *Front Biosci.* 2008; 13:6472-82
- Krupinski J, Turu MM, Martinez-Gonzalez J, Carvajal A, Juan-Babot JO, Iborra E, Slevin M, Rubio F, Badimon L. Endogenous expression of C-reactive protein is increased in active (ulcerated noncomplicated) human carotid artery plaques. *Stroke*, 2006; 37:1200-4
- Krupinski J, Turu MM, Slevin M, Martinez-Gonzalez J. Carotid Plaque, Stroke Pathogenesis, and CRP: Treatment of Ischemic Stroke. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2007; 9:229-235
- Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like Receptors and Innate Immunity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 388:621-5
- Kuo CC, Chen HH, Wang SP, Grayston JT. Identification of a new group of *Chlamydia psittaci* strains called TWAR. *J Clin Microbiol.* 1986; 24:1034-7
- Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8:451-61
- Kurl S, Laukkanen JA, Niskanen L, Laaksonen D, Sivenius J, Nyysönen K, Salonen JT. Metabolic syndrome and the risk of stroke in middle-aged men. *Stroke* 2006; 37: 806-11
- Larner AC, Jonak G, Cheng YS, Korant B, Knight E, Darnell JE Jr. Transcriptional induction of two genes in human cells by beta interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984; 81:6733-7
- Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, Osmond DH, George SR, O'Dowd BF. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem.* 2000; 74:34-41

- Levy DE, Darnell JE Jr. Stats. transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3:651-62
- L'Her E, Sebert P. A global approach to energy metabolism in an experimental model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1444-1447
- Li CG, Bethell H, Wilson PB, Bhatnagar D, Walker MG, Kumar S. The significance of CD105, TGF $\beta$  and CD105/TGF $\beta$  complexes in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1999; 152:249-256
- Li C, Mollahan P, Baguneid MS, McMahon RF, Kumar P, Walker MG, Freemont AJ, Kumar S. A comparative study of neovascularisation in atherosclerotic plaques using CD31, CD105 and TGF beta 1. *Pathobiology* 2006; 73:192-7
- Liu W, He P, Cheng B, Mei CL, Wang YF, Wan JJ. Chlamydia pneumoniae disturbs cholesterol homeostasis in human THP-1 macrophages via JNK-PPAR $\gamma$  dependent signal transduction pathways. *Microbes Infect.* 2010; 12:1226-35
- Llorca O, Trujillo A, Blanco FJ, Bernabeu C. Structural model of human endoglin, a transmembrane receptor responsible for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Mol Biol.* 2007; 365:694-705
- Lutgens E, Lievens D, Beckers L, Donners M, Daemen M. CD40 and its ligand in atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2007; 17:118-23
- Ma J, Wang Q, Fei T, Han JD, Chen YG. MCP-1 mediates TGF-beta-induced angiogenesis by stimulating vascular smooth muscle migration. *Blood* 2007; 109:987-994
- Mahony JB. Chlamydiae host cell interactions revealed using DNA microarrays. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 975:192-201
- Majesky MW, Linder V, Twardzik DR, Schwartz SM, Reidy MA. Production of transforming growth factor beta 1 during repair of arterial injury. *J Clin Invest* 1991; 88: 904-910
- Maliba R, Brkovic A, Neagoe PE, Villeneuve L, Sirois MG. Angiopoietin-mediated endothelial P-selectin translocation: cell signaling mechanisms. *J Leukoc Biol* 2008, 83: 352-360
- Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, Wargovich TJ, Mudra H, Lüscher TF, Klibaner MI, Haber HE, Uprichard AC, Pepine CJ, Pitt B. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. *Circulation.* 1996; 94:258-65
- Maraha B, den Heijer M, Kluytmans J, Peeters M. Impact of serological methodology on assessment of the link between Chlamydia pneumoniae and vascular diseases. *Clin. Diagn. Lab. Immunol* 2004; 11:789-791
- Marioni G, Giacomelli L, D'Alessandro E, Staffieri C, Guzzardo V, Staffieri A, Blandamura S. Laryngeal carcinoma recurrence rate and disease-free interval are related to CD105 expression but not to vascular endothelial growth factor 2 (Flk- 1/Kdr) expression. *Anticancer Res* 2008; 28:551-557
- Martinez-González M, Berrozpe M, Badimon L. Historia natural de la arteriosclerosis. Manifestaciones clínicas. Complicaciones agudas y crónicas. Valoración diagnóstica. *Medicine* 2001; 8:2230-2239
- Marton A, Ka'rolyi A, Szalka A. Prevalence of Chlamydia pneumoniae antibodies in Hungary. *Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis* 1992; 11:139-142
- Marx J. Cell biology. How cells endure low oxygen. *Science.* 2004; 303:1454-6
- Marx N, Sukhova G, Murphy C, Libby P, Plutzky J. Macrophages in human atheroma contain PPARgamma: differentiation-dependent peroxisomal proliferator-activated receptor gamma(PPARgamma) expression and reduction of MMP-9 activity through PPARgamma activation in mononuclear phagocytes in vitro. *Am J Pathol.* 1998; 153:17-23
- Masri B, van den Berghe L, Sorli C, Knibiehler B, Audigier Y. [Apelin signalisation and vascular physiopathology] *J Soc Biol.* 2009; 203:171-9
- Massaje J. The transforming growth factor- $\beta$  family. *Anni Rev Cell Biol* 1990, 6:597-641.
- Mazighi M, Labreuche J, Gongora-Rivera F, Duyckaerts C, Hauw JJ, Amarenco P. Autopsy prevalence of intracranial atherosclerosis in patients with fatal stroke. *Stroke* 2008, 39:1142-1147

- McCarthy MJ, Loftus IM, Thompson MM, Jones L, London NJ, Bell PR, Naylor AR, Brindle NP. Angiogenesis and the atherosclerotic carotid plaque: an association between symptomatology and plaque morphology. *J Vasc Surg* 1999; 30:261-268.
- Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449:819-826
- Mei CL, He P, Cheng B, Liu W, Wang YF, Wan JJ. Chlamydia pneumoniae induces macrophage-derived foam cell formation via PPAR alpha and PPAR gamma-dependent pathways. *Cell Biol Int* 2009; 33:301-8
- Meijer A, Roholl PJ, Gielis-Propert SK, Ossewaarde JM. Chlamydia pneumoniae antigens, rather than viable bacteria, persist in atherosclerotic lesions. *J Clin Pathol* 2000; 53:911-916
- Milei J, Parodi JC, Alonso GF, Barone A, Grana D, Matturri L. Carotid rupture and intraplaque hemorrhage: immunophenotype and role of cells involved. *Am Heart J* 1998; 136:1096-105
- Milionis HJ, Rizos E, Goudevenos J, Seferiadis K, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Components of the metabolic syndrome and risk for first-ever acute ischemic nonembolic stroke in elderly subjects. *Stroke* 2005; 36:1372-6
- Miyagami M, Katayama Y. Angiogenesis of glioma: evaluation of ultrastructural characteristics of microvessels and tubular bodies (Weibel-Palade) in endothelial cells and immunohistochemical findings with VEGF and p53 protein. *Med Mol Morphol* 2005; 38:36-42
- Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, Sheehan SJ, Mehigan D, Keaveny TV. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg* 2001; 88:945-950
- Mofidi R, Powell TI, Crotty T, Mehigan D, Macerlaine D, Keaveny TV. Angiogenesis in carotid atherosclerotic lesions is associated with timing of ischemic neurological events and presence of computed tomographic cerebral infarction in the ipsilateral cerebral hemisphere. *Ann Vasc Surg* 2008; 22:266-272
- Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, Sheehan SJ, Mehigan D, Keaveny TV. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg* 2001; 88:945-50
- Molestina RE, Miller RD, Ramirez JA, Summersgill JT. Infection of human endothelial cells with Chlamydia pneumoniae stimulates transendothelial migration of neutrophils and monocytes. *Infect Immun* 1999; 67:1323-30
- Montes M, Cilla G. High prevalence of Chlamydia pneumoniae infection in children and young adults in Spain. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1992; 11:972-973
- Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, Echeverri D, Trusczyńska H, Sharma SK, Badimon JJ, O'Connor WN. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation* 2004; 110: 2032-8
- Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, Levy AP, Fuster V. Neovascularization in human atherosclerosis. *Circulation* 2006; 113:2245-2252
- Moulton KS. Plaque angiogenesis: its functions and regulation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2002; 67:471-82
- Mountain DJ, Singh M, Singh K. Down regulation of VEGF-D expression by interleukin-1beta in cardiac microvascular endothelial cells is mediated by MAPKs and PKCalpha/beta1. *J Cell Physiol* 2008; 215: 337-343
- Nadareishvili ZG, Koziol DE, Szekely B, Ruetzler C, LaBiche R, McCarron R, DeGraba TJ. Increased CD8(+) T cells associated with Chlamydia pneumoniae in symptomatic carotid plaque. *Stroke* 2001; 32:1966-72
- Nakakuki T, Ito M, Iwasaki H, Kureishi Y, Okamoto R, Moriki N, Kongo M, Kato S, Yamada N, Isaka N, Nakano T. Rho/Rho-kinase pathway contributes to C-reactive protein-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:2088-93
- Neve BP, Fruchart JC, Staels B. Role of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in atherosclerosis. *Biochem Pharmacol.* 2000; 60:1245-50
- Nicholson AC, Hajjar DP. Herpesvirus in atherosclerosis and thrombosis: etiologic agents or ubiquitous bystanders? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:339-348
- Nikol S, Isner JM, Pickering JG, Kearney M, Leclerc G, Weir L. Expression of transforming growth factor-beta is increased in human vascular restenosis lesion. *J Clin Invest* 1992; 90: 1582-1592

- Ninomiya JK, L'Italien G, Criqui MH, Whyte JL, Gamst A, Chen RS. Association of the metabolic syndrome with history of myocardial infarction and stroke in the third national health and nutrition examination survey. *Circulation* 2004; 109:42-6
- Niu J, Azfer A, Zhelyabovska O, Fatma S, Kolattukudy PE. Monocyte chemotactic protein-1 promotes angiogenesis via a novel transcription factor MCP1P. *J Biol Chem* 2008, 283:14542-14551
- Noguera-Troise I, Daly C, Papadopoulos NJ, Coetzee S, Boland P, Gale NW, Lin HC, Yancopoulos GD, Thurston G. Blockade of DLL4 inhibits tumour growth by promoting non-productive angiogenesis. *Nature*. 2006 Dec 21; 444:1032-7
- O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, Schwartz SM. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1994; 145:883-894
- O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*. 1993; 136:355-60
- Opitz B, Förster S, Hocke AC, Maass M, Schmeck B, Hippenstiel S, Suttrop N, Krüßl M. Nod1-mediated endothelial cell activation by *Chlamydia pneumoniae*. *Circ Res*. 2005; 96:319-26
- Ouchi K, Fujii B, Kudo S, Shirai M, Yamashita K, Gondo T, Ishihara T, Ito H, Nakazawa T. *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic and nonatherosclerotic tissue. *J Infect Dis* 2000; 181 Suppl 3:S441-443
- Ovbiagele B, Saver JL, Lynn MJ, Chimowitz M. WAISD Study Group. Impact of metabolic syndrome on prognosis of symptomatic intracranial atherosclerosis. *Neurology* 2006; 66: 1344-9
- Pan W. A comparative review of statistical methods for discovering differentially expressed genes in replicated microarray experiments. *Bioinformatics* 2002; 18:546-554
- Park JH, Kim YG, Shaw M, Kanneganti TD, Fujimoto Y, Fukase K, Inohara N, Núñez G. Nod1/RICK and TLR signaling regulate chemokine and antimicrobial innate immune responses in mesothelial cells. *J Immunol*. 2007; 179:514-21
- Park K, Yasuda N, Toyonaga S, Tsubosaki E, Nakaabyashi H, Shimizu K. Significant associations of metabolic syndrome and its components with silent lacunar infarction in middle-aged subjects. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; p 12
- Park MJ, Kwak HJ, Lee HC, Yoo DH, Park IC, Kim MS, Lee SH, Rhee CH, Hong SI. Nerve growth factor induces endothelial cell invasion and cord formation by promoting matrix metalloproteinase-2 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway and AP-2 transcription factor. *J Biol Chem* 2007; 282:30485-30496
- Parker LC, Prince LR, Sabroe I. Translational mini-review series on Toll-like receptors: networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol*. 2007; 147:199-207
- Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001; 103:2531-4
- Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003; 111:1805-12
- Peyssonnaud C, Datta V, Cramer T, Doedens A, Theodorakis EA, Gallo RL, Hurtado-Ziola N, Nizet V, Johnson RS. HIF-1 $\alpha$  expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes. *J Clin Invest*. 2005; 115:1806-15.
- Piao M, Tokunaga O. Significant expression of endoglin (CD105), TGF $\beta$ 1 and TGF $\beta$  R-2 in the atherosclerotic aorta: an immunohistological study. *J Atheroscler Thromb* 2006; 13:82-89
- Plutzky J. The PPAR-RXR transcriptional complex in the vasculature: energy in the balance. *Circ Res*. 2011; 108:1002-16
- Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med*. 2003; 9:677-84
- Raasi S, Schmidtke G, de Giuli R, Groettrup M. A ubiquitin-like protein which is synergistically inducible by interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *Eur J Immunol*. 1999; 29:4030-6
- Ribatti D, Levi-Schaffer F, Kovanen PT. Inflammatory angiogenesis in atherogenesis--a double-edged sword. *Ann Med* 2008; 40:606-621

- Ricote M, Huang J, Fajas L, Li A, Welch J, Najib J, Witztum JL, Auwerx J, Palinski W, Glass CK. Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95:7614-9
- Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107:363-9
- Ritchie ME, Silver J, Oshlack A, Silver J, Holmes M, Diyagama D, Holloway A, Smyth GK. A comparison of background correction methods for two-colour microarrays. *Bioinformatics* 2007; 23:2700-2707
- Robertson AK, Hansson GK. T cells in atherogenesis: for better or for worse? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26:2421-32
- Rothe M, Pan MG, Henzel WJ, Ayres TM, Goeddel DV. The TNFR2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculoviral inhibitor of apoptosis proteins. *Cell*. 1995; 83:1243-52
- Rupp J, Gieffers J, Klinger M, van Zandbergen G, Wrase R, Maass M, Solbach W, Deiwick J, Hellwig-Burgel T. Chlamydia pneumoniae directly interferes with HIF-1alpha stabilization in human host cells. *Cell Microbiol*. 2007; 9:2181-2191
- Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM, Goldstein LB, Gorelick PB, Howard G, Kittner SJ, Manolio TA, Whisnant JP, Wolf PA. American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and Rehabilitation of Stroke. Risk factors. *Stroke*. 1997; 28:1507-17
- Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki E, Ekman MR, Manninen V, Mänttari M, Frick MH, Huttunen JK. Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 1992; 116:273-278
- Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, Huttunen JK, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* ii 1988; 983-986
- Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y, Komuro I. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature* 2007; 446:444-8
- Santovito D, Mezzetti A, Cipollone F. Cyclooxygenase and prostaglandin synthases: roles in plaque stability and instability in humans. *Curr Opin Lipidol*. 2009; 20:402-8
- Schumacher A, Lerkerød AB, Seljeflot I, Sommervoll L, Holme I, Otterstad JE, Arnesen H. Chlamydia pneumoniae serology: importance of methodology in patients with coronary heart disease and healthy individuals. *J. Clin. Microbiol*. 2001M ; 39:1859-1864
- Schumacker PT. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Crit Care Med*. 2005; 33:S423-5
- Seeger JM, Barratt E, Lawson GA, Klingman N. *J Surg Res*. The relationship between carotid plaque composition, plaque morphology, and neurologic symptoms. 1995; 58:330-6
- Slevin M, Baset Elasabi A, Miguel-Turu M, Krupinski J, Badimon L, Gaffney J. Identification of differential protein expression associated with development of unstable human carotid plaques. *Am J Pathol* 2006; 168:1004-21
- Slevin M, Matou-Nasri S, Turu M, Luque A, Rovira N, Badimon L, Boluda S, Potempa L, Sanfeliu C, de Vera N, Krupinski J. Modified C-reactive protein is expressed by stroke neovessels and is a potent activator of angiogenesis in vitro. *Brain Pathol*. 2010; 20:151-65
- Slevin M, Elsbali AB, Turu MM, Krupinski J, Badimon L, Gaffney J. Identification of differential protein expression associated with development of unstable human carotid plaques. *Am J Pathol* 2006; 168:1004-21
- Smieja M, Mahony J, Petrich A, Boman J, Chernesky M. Association of circulating Chlamydia pneumoniae DNA with cardiovascular disease: a systematic review. *BMC Infect. Dis*. 2002; 2:21
- Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, del Zoppo GJ, Hallenbeck JM, Rothwell NJ, Hopkins SJ, Tyrrell PJ. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol* 2004; 4:2



- Smyth GK. Linear models and empirical Bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology* 2004; 3:3
- Soskic SS, Dobutovic BD, Sudar EM, Obradovic MM, Nikolic DM, Zaric BL, Stojanovic SD, Stokic EJ, Mikhailidis DP, Isenovic ER. The Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Atherosclerosis. *Angiology* 2011
- Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators. *Nature*. 1998; 393:790-3
- Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92:1355-74
- Stassen FR, Vainas T, Bruggeman CA. Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis. *Pharmacol Rep*. 2008; 60:85-92
- Suarez Loiza, Jorge. Fisiopatología de la aterosclerosis, primera parte. *Rev. costarric. cardiol*, ago. 2001, vol.3, no.2, p.54-63. ISSN 1409-4142.
- Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen-Myllylä S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuhola J, Rysä J, Tóth M, Ruskoaho H. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*. 2002; 91:434-40
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors. *Curr Protoc Immunol*. 2007; Chapter 14:Unit 14.12
- Tamura T, Yanai H, Savitsky D, Taniguchi T. The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2008; 26:535-84
- Tang T, Howarth SP, Miller SR, Trivedi R, Graves MJ, King-Im JU, Li ZY, Brown AP, Kirkpatrick PJ, Gaunt ME, Gillard JH. Assessment of inflammatory burden contralateral to the symptomatic carotid stenosis using high-resolution ultrasmall, superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI. *Stroke* 2006; 37:2266-70
- Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001; 99:87-92
- Tepper OM, Capla JM, Galiano RD, Ceradini DJ, Callaghan MJ, Kleinman ME, Gurtner GC. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment, proliferation, and tubulization of circulating bone marrow-derived cells. *Blood* 2005; 105:1068-77
- Thanos D, Maniatis T. NF-kappa B: a lesson in family values. *Cell*. 1995; 80:529-32
- Thomas Gridley. *Vascular Biology: Vessel guidance*. *Nature* 2007; 445:722-723
- Thornton RD, Lane P, Borghaei RC, Pease EA, Caro J, Mochan E. Interleukin 1 induces hypoxia-inducible factor 1 in human gingival and synovial fibroblasts. *Biochem J* 2000; 350:307-12
- Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JG, Thomazy VA, Evans RM. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell*. 1998; 93:241-52
- Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Waltenberger J, Koenig W, Schmitz G, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2094-9
- Traenckner EB, Pahl HL, Henkel T, Schmidt KN, Wilk S, Baeuerle PA. Phosphorylation of human I kappa B-alpha on serines 32 and 36 controls I kappa B-alpha proteolysis and NF-kappa B activation in response to diverse stimuli. *EMBO J*. 1995; 14:2876-83
- Traenckner EB, Wilk S, Baeuerle PA. A proteasome inhibitor prevents activation of NF-kappa B and stabilizes a newly phosphorylated form of I kappa B-alpha that is still bound to NF-kappa B. *EMBO J*. 1994; 13:5433-41
- Tureyen K, Vemuganti R, Salamat MS, Dempsey RJ. Increased angiogenesis and angiogenic gene expression in carotid artery plaques from symptomatic stroke patients. *Neurosurgery* 2006; 58:971-977

- Turu MM, Slevin M, Matou S, West D, Rodríguez C, Luque A, Grau-Olivares M, Badimon L, Martínez-González J, Krupinski J. C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression. *BMC Cell Biol.* 2008;9:47
- Tusher VG, Tibshirani R, Chu G. Significance analysis of microarrays applied to transcriptional responses to ionizing radiation. *Proc. Natl Acad Sci* 2001; 98:5116–5121
- Ustrell-Roig X, Serena-Leal J. Ictus. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades cerebrovasculares. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60:753-69
- Hoymans VY, Bosmans JM, Van Renterghem L, Mak R, Ursi D, Wuyts F, Vrints CJ, Ieven M. Importance of methodology in determination of Chlamydia pneumoniae seropositivity in healthy subjects and in patients with coronary atherosclerosis. *J. Clin. Microbiol* 2003; 41:4049–4053
- Van Der Meer IM, De Maat MP, Hak AE, Kiliaan AJ, Del Sol AI, Van Der Kuip DA, Nijhuis RL, Hofman A, Witteman JC. C-reactive protein predicts progression of atherosclerosis measured at various sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. *Stroke* 2002; 33:2750-5
- Van Gool SW, Vandenberghe P, de Boer M, Ceuppens JL. CD80, CD86 and CD40 provide accessory signals in a multiple-step T-cell activation model. *Immunol Rev* 1996; 153:p. 47-83
- van Kooten C, Banchereau J. Immune regulation by CD40-CD40-L interactions. *Front Biosci.* 1997; 2:d1-11
- Vanderlaan PA, Reardon CA. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. The unusual suspects: an overview of the minor leukocyte populations in atherosclerosis. *J Lipid Res* 2005; 46:829-38
- Verma S, Szmitko PE, Ridker PM. C-reactive protein comes of age. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2005; 2:29-36
- Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, Dhillon B, Weisel RD, Li RK, Mickle DA, Stewart DJ. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002; 106:913-9
- Villegas E, Sorlózano A, Camacho A, Gutiérrez J. Chlamydia pneumoniae: from its proteomics to arteriosclerosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26:629-7
- Vink A, Poppen M, Schoneveld AH, Roholl PJ, de Kleijn DP, Borst C, Pasterkamp G. Distribution of Chlamydia pneumoniae in the human arterial system and its relation to the local amount of atherosclerosis within the individual. *Circulation* 2001; 103:1613-1617
- Vink A, Schoneveld AH, Lamers D, Houben AJ, van der Groep P, van Diest PJ, Pasterkamp G. HIF-1 alpha expression is associated with an atheromatous inflammatory plaque phenotype and upregulated in activated macrophages. *Atherosclerosis.* 2007; 195:e69-75
- Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47:C13-8
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1262-75
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, Wrenn SP, Narula J. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:2054-61
- Virok D, Kis Z, Karai L, Intzedy L, Burian K, Szabo A, Ivanyi B, Gonczol E. Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic middle cerebral artery. *Stroke* 2001; 32:1973-1976
- Volanen I, Jarvisalo MJ, Vainionpää R, Arffman M, Kallio K, Anglé S, Rönnemaa T, Viikari J, Marniemi J, Raitakari OT, Simell O. Increased aortic intima-media thickness in 11-year-old healthy children with persistent Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26:649–655
- Voorend M, van der Ven AJ, Kubat B, Lodder J, Bruggeman CA. Limited Role for C. pneumoniae, CMV and HSV-1 in Cerebral Large and Small Vessel Atherosclerosis. *Open Neurol J* 2008; 2:39-44.
- Walther C, Gielen S, Hambrecht R. The effect of exercise training on endothelial function in cardiovascular disease in humans. *Exerc Sport Sci Rev.* 2004; 32:129-34
- Wang A, Johnston SC, Chou J, Dean D. A systemic network for Chlamydia pneumoniae entry into human cells. *J Bacteriol.* 2010; 192:2809-15

- Wang JM, Kumar S, Pye D, van Agthoven AJ, Krupinski J, Hunter RD. A monoclonal antibody detects heterogeneity in vascular endothelium of tumours and normal tissues. *Int J Cancer* 1993; 54:363-70
- Wang SP, Grayston JT. Microimmunofluorescence serological studies with the TWAR organism. 1986; p.329–332. In D. Oriel, G. Ridgway, J. Schachter, D. Taylor-Robinson, and M. Ward (editors), *Chlamydial infections—1986*. Cambridge University Press, Cambridge
- Wang SP, Grayston JT. Population prevalence antibody to *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, p. 402–405. In W. R. Bowie, H. D. Caldwell, R. P. Jones, P.-A. Mårdh, G. L. Ridgway, J. Schachter, W. E. Stamm, and M. E. Ward (ed.), *Chlamydial infections—1990*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Watson C, Alp NJ. Role of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114:509-31
- Welter-Stahl L, Ojcius DM, Viala J, Girardin S, Liu W, Delarbre C, Philpott D, Kelly KA, Darville T. Stimulation of the cytosolic receptor for peptidoglycan, Nod1, by infection with *Chlamydia trachomatis* or *Chlamydia muridarum*. *Cell Microbiol.* 2006; 8:1047-57
- Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, Haberl RL. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27:2207-2210
- Wohlschlaeger J, Wimmer ML, Nagler DK, Haberl R, Weis S. Identification of *Chlamydia pneumoniae* in intracranial and extracranial arteries in patients with stroke and in controls: combined immunohistochemical and polymerase chain reaction analyses. *Hum Pathol* 2005; 36:395-402
- Wolfinger RD, Gibson G, Wolfinger ED, Bennett L, Hamadeh H, Bushel P, Afshari C, Paules RS. Assessing gene significance from cDNA microarray expression data via mixed models. *J. Comput Biol* 2001; 8:625–637
- Wong KS, Li H, Lam WW, Chan YL, Kay R. Progression of middle cerebral artery occlusive disease and its relationship with further vascular events after stroke. *Stroke* 2002, 33:532-536
- Yang DY, Pan HC, Chen CJ, Cheng FC, Wang YC. Effects of tissue plasminogen activator on cerebral microvessels of rats during focal cerebral ischemia and reperfusion. *Neurol Res* 2007; 29:274-282
- Yang X, Coriolan D, Schultz K, Golenbock DT, Beasley D. Toll-like receptor 2 mediates persistent chemokine release by *Chlamydia pneumoniae*-infected vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:2308-2314
- Ye Z, Ting JP. NLR, the nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing gene family. *Curr. Opin. Immunol.* 2008; 20:3–9
- Zhang Y, Cliff WJ, Schoefl GI, Higgins G. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 1993; 143:164-172
- Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001;103:1194-7

***Part dels resultats d'aquesta tesi estan publicats en els següents articles:***

LUQUE A, Turu MM, Juan-Babot O, Cardona P, Carvajal A, Slevin M, Iborra E, Rubio F, Badimon L, Krupinski J. Overexpression of HIF-1alpha in atherosclerotic carotid plaques with low to moderate stenosis. *Frontiers in Bioscience* 2008; 13:6483-90

LUQUE A, Slevin M, Turu M, Juan-Babot O, Badimon L, Krupinski J. CD105 positive neovessels are prevalent in early stage carotid lesions, and correlate with the grade in more advanced carotid and coronary plaques. *Journal of Angiogenesis Research* 2009; 1:6

***Altres publicacions:***

Krupinski J, Turu MM, Font MA, Ahmed N, Sullivan M, LUQUE A, Rubio F, Badimon L, Slevin M. Increased tissue factor, MMP-8, and D-dimer expression in diabetic patients with unstable advanced carotid atherosclerosis. *Vascular Health and Risk Management* 2007; 3:405-412

Slevin M, Krupinski J, Mitsios N, Perikleous C, Cuadrado E, Montaner J, Sanfeliu C, LUQUE A, Kumar S, Kumar P, Gaffney J. Leukaemia inhibitory factor is over-expressed by ischaemic brain tissue concomitant with reduced plasma expression following acute stroke. *European J Neurology* 2008; 15:29-37

Turu MM, Slevin M, Ethirajan P, LUQUE A, Elasbali AB, Font MA, Gaffney J, Cairols M, Kumar P, Krupinski J. The normal cellular prion protein and its possible role in angiogenesis. *Frontiers in Bioscience* 2008; 13:6491-500

Krupinski J, LUQUE A, Turu MM, Slevin M. Angiogenesis and inflammation in carotid atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience* 2008; 13:6472-82

Slevin M, Wang Q, Font MA, LUQUE A, Juan-Babot O, Gaffney J, Kumar P, Kumar S, Badimon L, Krupinski J. Atherothrombosis and plaque heterology: different location or a unique disease? *Pathobiology* 2008; 75:209-25

Pluvinet R, Olivar R, Krupinski J, Herrero-Fresneda I, LUQUE A, Torras J, Cruzado JM, Grinyo JM, Sumoy L, Aran JM. CD40, an upstream master switch for endothelial cell activation uncovered by RNAi-coupled transcriptional profiling. *Blood* 2008; 112:3624-37

Turu MM, Martínez-González J, LUQUE A, Carvajal A, Juan-Babot O, Font M, Angels, Iborra E, Slevin M, Rubio F, Badimon L, Krupinski J. Expresión de la proteína C reactiva en placas ateroscleróticas de la carótida. *Clin Invest Arterioscl.* 2008; 20:95-101

Turu MM, Slevin M, Matou S, West D, Rodríguez C, LUQUE A, Grau-Olivares M, Badimon L, Martínez-González, Krupinski J. C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression. *Clin BMC Cell Biol.* 2008; 9:47

Krupinski J, Turu MM, LUQUE A, Badimon L, Slevin M. Increased PrP(C) expression correlates with endoglin (CD105) positive microvessels in advanced carotid lesions. *Acta Neuropathol* 2008; 116:537-45

Slevin M, Matou-Nasri S, Turu M, LUQUE A, Rovira N, Badimon L, Boluda S, Potempa L, Sanfeliu C, de Vera N, Krupinski J. Modified C-Reactive Protein Is Expressed by Stroke Neovessels and Is a Potent Activator of Angiogenesis In Vitro. *Brain Pathol.* 2009; 20:151-165

Slevin M, Krupinski J, Rovira N, Turu M, LUQUE A, Baldellou M, Sanfeliu C, de Vera N, Badimon L. Identification of pro-angiogenic markers in blood vessels from stroke-affected brain tissue using laser-capture microdissection. *BMC Genomics.* 2009; 10:113

Slevin M, Turu MM, Rovira N, Luque A, Baldellou M, Krupinski J, Badimon L. Identification of a 'snapshot' of co-expressed angiogenic markers in laser-dissected vessels from unstable carotid plaques with targeted arrays. *J Vasc Res.* 2010; 47:323-35

Hurtado B, Muñoz X, Recarte-Pelz P, García N, LUQUE A, Krupinski J, Sala N, García de Frutos P. Expression of the vitamin K-dependent proteins GAS6 and protein S and the TAM receptor tyrosine kinases in human atherosclerotic carotid plaques. *Thromb Haemost.* 2011; 105:873-82.

***ANNEXOS***



*ANNEX 1. Característiques Fenotípiques de les artèries  
caròtides, coronàries i ACM*





Caròtides	Classificació AHA	Nucli Necròtic	Engruiximent de la neointima (um)	Calcificació	Inflamació	Hemorràgia intraplaca	Cristals de colesterol	n° neovasos/mm2 neointima CD105+	n° neovasos/mm2 adventícia CD105+ àrea junt la placa	n° neovessels/mm2 adventícia CD105+ No-àrea junt la placa
1	Va	Si	2690,2	Si	Si	No	Si	6	2,7	0,0
2	III	No	2318,1	No	Si	No	No	0	2,0	4,2
3	Va	Si	3201,3	Si	Si	No	Si	6,4	3,3	-
4	Va	Si	1472,6	Si	Si	No	No	0	1,5	4,0
5	IV	Si	1111,7	Si	No	No	No	1,3	6,3	8,0
6	Va	Si	3022,0	Si	Si	No	No	6,3	5,8	4,5
7	Va	Si	3774,0	Si	Si	No	Si	3,2	4,3	4,0
8	II/III	No	1423,0	Si	Si	No	No	0,8	10,0	10,0
9	II	No	951,6	Si	No	No	No	0	0,0	0,3
10	I/II	No	-	No	No	No	No	0	-	1,5
11	I/II	No	647,5	No	No	No	No	0	10,7	6,3
12	I/II	No	-	No	No	No	No	0	-	4,0
13	I/II	No	-	No	No	No	No	0	-	2,7
14	I/II	No	424,3	No	Si	No	No	0	1,3	2,7
15	I/II	No	521,9	No	Si	No	No	0	2,0	1,0
16	IV	Si	877,5	No	No	No	No	0	0,3	0,7
17	II	No	307,4	No	Si	No	No	0	2,0	2,0
18	III	No	470,6	No	No	No	No	0	2,0	1,7
19	Va	Si	1148,0	Si	Si	No	No	0	0,0	1,7
20	Va	Si	2300,4	Si	Si	No	Si	0	-	-
21	I	No	-	No	No	No	No	0	4,0	3,4
22	II	No	-	No	Si	No	No	0	5,0	4,6
23	IV	Si	2144,4	Si	Si	No	No	4,4	3,0	2,0
24	III	No	716,6	No	No	No	No	0	2,0	0,7
25	Va	Si	2688,2	Si	Si	No	Si	0	2,0	0,7
26	IV	Si	1300,4	Si	Si	No	No	0	2,0	0,0
27	Va	Si	1084,9	No	Si	No	No	0	4,3	0,7
28	IV	Si	1032,3	No	Si	No	No	0,6	7,3	1,3
29	III	No	637,0	No	No	No	No	0	1,0	1,3
30	II	No	-	No	No	No	No	0	-	1,0
31	II	No	1188,3	Si	Si	No	No	0	0,0	0,3
32	Va	Si	1831,0	Si	Si	No	No	1,5	2,0	2,5
33	III	No	856,7	No	No	No	No	0	1,3	0,3
34	III	No	1076,8	No	Si	No	No	0	1,7	0,7
35	III	No	1123,6	Si	No	No	No	0	5,3	0,7
36	III	No	487,7	No	No	No	No	0	0,7	0,0
37	Va	Si	1716,1	Si	Si	No	Si	0,7	1,0	2,0
38	IV	Si	1342,5	No	No	No	Si	0	2,0	0,3

Coronàries	Classificació AHA	Nucli Necròtic	Engruiximent de la neointima (um)	Calcificació	Inflamació	Hemorràgia intraplaca	Cristals de colesterol	n° neovasos/mm2 neointima CD105+	n° neovasos/mm2 adventícia CD105+ àrea junt la placa	n° neovessels/mm2 adventícia CD105+ No-àrea junt la placa
39	III	No	370,3	No	No	No	No	0	6,0	0,3
40	Va	Si	285,0	No	No	No	No	1,5	2,0	0,0
41	III	No	445,7	No	No	No	No	0	0,0	1,0
42	II	No	327,7	No	No	No	No	0	-	-
43	III	No	252,9	No	No	No	No	0	0,0	0,0
44	IV	Si	1360,7	No	Si	No	Si	2,5	3,7	4,0
45	Vb	Si	1126,0	No	No	No	No	2,2	5,0	1,3
46	Vc	Si	1021,3	No	Si	No	Si	0,7	2,3	1,7
47	I	No	337,0	No	No	No	No	0	3,7	0,7
48	Vc	Si	1188,3	Si	Si	No	No	3,5	1,3	5,0
49	Vb	Si	1069,0	Si	No	No	Si	0	3,5	3,3
50	Va	Si	951,6	No	Si	No	No	0	2,7	0,7
51	I	No	282,4	No	No	No	No	0	0,5	2,0
52	II	No	310,8	No	No	No	No	0	0,0	0,8
53	II	No	698,8	No	No	No	No	0	3,7	2,0
54	Vc	Si	687,1	No	No	No	No	16,2	3,5	
55	Va	Si	656,3	No	No	No	No	0,3	3,0	0,0
56	Va	Si	859,4	Si	No	No	No	1	1,0	0,8
57	Vc	Si	1348,4	Si	No	No	No	0,83	1,7	1,0
58	Va	Si	1905,8	Si	Si	No	No	6,7	2,2	0,0
59	Va	Si	1165,1	Si	No	No	Si	0,7	1,0	0,0
60	Vc	Si	1220,7	No	No	No	No	0	0,0	0,0
61	VI	Si	1190,0	Si	Si	No	Si	5,5	2,3	
62	VI	Si	1155,1	Si	Si	No	No	8,5	0,8	0,0
63	IV	Si	970,9	Si	No	No	No	0,2	1,0	0,2
64	II	No	368,8	No	No	No	No	0	7,0	8,6
65	Va	Si	1545,3	Si	No	No	No	0	6,0	2,7
66	IV	Si	1550,1	Si	No	No	No	2	2,0	1,0
67	III	No	1233,2	Si	No	No	No	0	14,3	0,0
68	III	No	1010,8	No	No	No	No	0	5,7	2,0
69	Va	Si	1311,2	No	No	No	No	0	0,3	0,0
70	VI	Si	5611,8	No	Si	No	No	21,5	10,0	4,3

Artèries cerebrals mitjanes	Classificació AHA	Nucli Necròtic	Engruiximent de la neointima (um)	Calcificació	Inflamació	Hemorràgia intraplaca	Cristals de colesterol	n° neovasos/mm2 neointima CD105+	n° neovasos/mm2 adventícia CD105+ àrea junt la placa	n° neovessels/mm2 adventícia CD105+ No-àrea junt la placa
71	Va	Si	732,9	No	No	No	No	0	-	-
72	I	No	121,4	No	No	No	No	0	-	-
73	IV	No	208,8	No	No	No	No	0	-	-
74	II	No	220,1	No	No	No	No	0	-	-
75	I	No	0,0	No	No	No	No	0	-	-
76	I	No	101,1	No	No	No	No	0	-	-
77	I	No	97,3	No	No	No	No	0	-	-
78	I	No	75,3	No	No	No	No	0	-	-
79	IV	Si	892,0	No	Si	No	No	0	-	-
80	IV	No	378,9	No	No	No	No	0	-	-
81	I	No	0,0	No	No	No	No	0	-	-
82	II	No	0,0	No	No	No	No	0	-	-
83	IV	Si	780,4	No	No	No	No	0	-	-
84	IV	Si	780,5	No	Si	No	No	0,2	-	-
85	Va	Si	1457,9	No	No	No	Si	1,3	-	-
86	III	No	0,0	No	No	No	No	0	-	-
87	III	Si	562,4	No	No	No	No	0	-	-
88	Va	Si	1502,1	No	No	No	Si	0	-	-
89	I	No	0,0	No	No	No	No	0	-	-
100	I	No	372,7	No	No	No	No	0	-	-



*ANNEX 2. Transcrits diferencialment expressats com a mínim en un dels tres temps d'infecció [ /FC  $\geq 1,2$  /, p-valor ajustat  $\leq 0,05$ ]*



log2ratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	log2ratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	log2ratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	ID	GeneSymbol	GeneName	FC_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	FC_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	FC_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	Mean Fold Change
			A_23_P315364	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	48,0480	5,5033	2,2072	18,59
			A_23_P315364	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	45,6856	5,7991	2,3148	17,93
			A_23_P133408	CSF2	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	24,5587	1,1023	-1,0575	8,20
			A_23_P133408	CSF2	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	22,4628	1,0803	-1,0077	7,51
			A_23_P39237	ZFP36	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)	15,8629	1,0745	1,1047	6,01
			A_23_P39237	ZFP36	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)	15,7528	1,0373	1,1610	5,98
			A_24_P257416	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	11,2484	3,9981	2,4422	5,90
			A_33_P3363355	ICAM4	intercellular adhesion molecule 4 (Landsteiner-Wiener blood group)	12,8789	1,1152	1,1747	5,06
			A_33_P3363355	ICAM4	intercellular adhesion molecule 4 (Landsteiner-Wiener blood group)	12,7656	1,1510	1,1303	5,02
			A_23_P429998	FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	14,3243	1,2089	-1,0824	4,82
			A_23_P97112	SELE	selectin E	16,7510	1,2260	-3,7669	4,74
			A_23_P398566	NR4A3	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3	11,9594	1,2205	1,0224	4,73
			A_23_P398566	NR4A3	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3	11,4043	1,3007	1,2022	4,64
			A_23_P97112	SELE	selectin E	16,4568	1,1983	-3,8768	4,59
			A_24_P157926	TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	10,1223	1,7927	1,3862	4,43
			A_24_P157926	TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	10,0211	1,8764	1,3220	4,41
			A_23_P7144	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	5,4152	5,0334	2,6920	4,38
			A_33_P3243230	ENST00000401931	Data not found	9,5000	1,8448	1,6293	4,32
			A_23_P7144	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	5,0890	5,0700	2,6374	4,27
			A_23_P17065	CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	9,5738	1,3864	1,3770	4,11
			A_23_P429998	FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	12,0382	1,2873	-1,2289	4,03
			A_24_P183150	CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	8,8515	1,7749	1,3411	3,99
			A_33_P3330264	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	4,9113	4,1762	2,5918	3,89
			A_33_P3243887	IL11	interleukin 11	9,5176	1,1049	1,0530	3,89
			A_33_P3330264	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	4,9490	4,0619	2,5835	3,86
			A_24_P183150	CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	8,5643	1,4992	1,3128	3,79
			A_23_P501754	CSF3	colony stimulating factor 3 (granulocyte)	7,3442	1,7621	2,1234	3,74
			A_23_P17065	CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	8,5143	1,2357	1,4495	3,73
			A_23_P98350	BIRC3	baculoviral IAP repeat containing 3	6,0037	3,0429	2,1154	3,72
			A_33_P3319791	NR4A1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	9,1108	1,0162	1,0213	3,72
			A_32_P74409	LOC387763	Data not found	8,1432	1,0193	1,9733	3,71
			A_23_P501754	CSF3	colony stimulating factor 3 (granulocyte)	7,2730	1,7420	2,0616	3,69
			A_33_P3243887	IL11	interleukin 11	8,9447	1,0064	1,1097	3,69
			A_23_P98350	BIRC3	baculoviral IAP repeat containing 3	5,9186	2,8291	2,0114	3,59
			A_23_P376488	TNF	tumor necrosis factor	8,5453	1,1147	1,0562	3,57
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,8681	4,0321	1,4090	3,44
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,8612	4,1260	1,3179	3,44
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,7751	4,1645	1,3549	3,43
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,4842	4,2325	1,5734	3,43
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,7779	4,1202	1,3358	3,41
			A_33_P3319791	NR4A1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	10,1728	-1,0281	1,0046	3,38
			A_32_P87013	IL8	interleukin 8	5,1591	2,9556	1,9176	3,34
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,7606	3,8600	1,3804	3,33
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,6372	3,9997	1,3281	3,32
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,6768	3,9446	1,3009	3,31
			A_33_P3214720	ZC3H12A	zinc finger CCCH-type containing 12A	6,8595	1,5658	1,4623	3,30
			A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,6261	3,8857	1,3453	3,29



A_23_P106194	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	7,3192	1,3432	1,1937	3,29		
A_23_P153320	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	4,6441	3,7828	1,3683	3,27		
A_32_P87013	IL8	interleukin 8	5,1501	2,7803	1,8347	3,26		
A_23_P106194	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	7,1842	1,2382	1,1267	3,18		
A_23_P376488	TNF	tumor necrosis factor	7,2302	1,2565	1,0622	3,18		
A_33_P3421053	SELE	selectin E	9,8533	1,2033	-1,7131	3,11		
A_23_P139786	OASL	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	2,6989	4,8351	1,7144	3,08	5,00	
A_23_P201459	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	1,3340	1,1339	6,2608	2,91	4,80	
A_32_P83845	HEY1	hairly/enhancer-of-split related with YRPW motif 1	8,2773	-1,0814	1,4020	2,87	4,60	
A_23_P139786	OASL	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	2,6296	4,0666	1,8025	2,83	4,40	
A_23_P201459	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	1,2536	1,1605	5,9935	2,80	4,20	
A_33_P3338166	NUAK2	NUAK family, SNF1-like kinase, 2	5,6515	1,4014	1,3402	2,80	4,00	
A_33_P3338166	NUAK2	NUAK family, SNF1-like kinase, 2	5,6990	1,3117	1,3724	2,79	3,80	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,5286	3,5911	1,2581	2,79	3,60	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,5497	3,5010	1,3083	2,79	3,40	
A_23_P70670	CD83	CD83 molecule	5,9765	1,2707	1,0531	2,77	3,20	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,3857	3,6282	1,2611	2,76	3,00	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,4838	3,5054	1,2814	2,76	2,80	
A_32_P83845	HEY1	hairly/enhancer-of-split related with YRPW motif 1	7,8019	-1,0477	1,4697	2,74	2,60	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,4451	3,5081	1,2647	2,74	2,40	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,3999	3,4876	1,2434	2,71	2,20	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,3393	3,5571	1,2154	2,70	2,00	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,3288	3,5023	1,2555	2,70	1,80	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,3817	3,4759	1,2249	2,69	1,60	
A_23_P89431	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	3,1982	3,6268	1,2316	2,69	1,40	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	5,0317	1,7125	1,2335	2,66	1,20	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,9919	1,6984	1,2507	2,65	-1,20	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	5,0644	1,6149	1,2562	2,65	-1,40	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,9581	1,2759	1,6322	2,62	-1,60	
A_23_P23947	MAP3K8	mitogen-activated protein kinase kinase 8	5,2042	1,2769	1,3728	2,62	-1,80	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4,2531	1,7174	1,8750	2,62	-2,00	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,8911	1,6459	1,2769	2,60	-2,20	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4,1900	1,7803	1,8324	2,60	-2,40	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,8725	1,6467	1,2126	2,58	-2,60	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,8753	1,6375	1,2150	2,58	-2,80	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4,0342	1,8192	1,8738	2,58	-3,00	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,8324	1,6719	1,1988	2,57	-3,20	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,8008	1,6854	1,1983	2,56	-3,40	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,7505	1,6445	1,2599	2,55	-3,60	
A_33_P3226832	F3	coagulation factor III (thromboplastin, tissue factor)	5,0774	1,0481	1,5270	2,55	-3,80	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4,1797	1,6675	1,7909	2,55	-4,00	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	3,9180	1,7763	1,8995	2,53	-4,20	
A_23_P70670	CD83	CD83 molecule	5,3295	1,2358	1,0279	2,53	-4,40	
A_23_P106002	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4,6939	1,6557	1,2061	2,52	-4,60	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	3,9898	1,7721	1,7606	2,51	-4,80	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4,0032	1,7060	1,8070	2,51	-5,00	
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	3,9517	1,7138	1,8388	2,50		
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,6124	1,2593	1,6176	2,50		
A_33_P3226832	F3	coagulation factor III (thromboplastin, tissue factor)	4,8458	1,0553	1,4731	2,46		
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	3,8205	1,7148	1,8380	2,46		
A_23_P207058	SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3	4,8688	1,1641	1,3173	2,45		
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,4587	1,3316	1,5479	2,45		
A_23_P71037	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	3,8026	1,7245	1,8079	2,44		
A_23_P53370	RND1	Rho family GTPase 1	4,9079	1,1949	1,1656	2,42		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,5732	1,3920	1,2554	2,41		
A_23_P207058	SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3	4,6667	1,2195	1,3063	2,40		
A_23_P53370	RND1	Rho family GTPase 1	4,8101	1,2284	1,1462	2,39		
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,5234	1,1821	1,4594	2,39		
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,3340	1,2728	1,5047	2,37		

A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,4205	1,3476	1,2891	2,35		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,4225	1,3066	1,2797	2,34		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,2950	1,3709	1,2872	2,32		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,3194	1,3730	1,2585	2,32		
A_23_P23947	MAP3K8	mitogen-activated protein kinase kinase 8	4,4452	1,0637	1,4318	2,31		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,2503	1,3358	1,3357	2,31		
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,3331	1,3139	1,2390	2,30	5,00	
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,3389	1,2673	1,2649	2,29	4,80	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	4,0477	1,2342	1,5608	2,28	4,60	
A_23_P212089	NFKBIZ	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, zeta	4,5065	1,2439	1,0729	2,27	4,40	
A_24_P241815	JUNB	jun B proto-oncogene	4,3900	1,2262	1,1708	2,26	4,20	
A_23_P24004	IFIT2	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	1,3351	4,0542	1,3779	2,26	4,00	
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,2369	1,2845	1,2352	2,25	3,80	
A_23_P212089	NFKBIZ	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, zeta	4,5160	1,1768	1,0396	2,24	3,60	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	3,9340	1,3664	1,4225	2,24	3,40	
A_24_P250922	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	4,1036	1,3643	1,2300	2,23	3,20	
A_23_P121011	CSRN1	cysteine-serine-rich nuclear protein 1	4,3439	1,1220	1,1483	2,20	3,00	
A_23_P41765	IRF1	interferon regulatory factor 1	4,4496	1,1063	1,0223	2,19	2,80	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	3,9722	1,1953	1,3964	2,19	2,60	
A_24_P241815	JUNB	jun B proto-oncogene	4,3094	1,1820	1,0687	2,19	2,40	
A_23_P24004	IFIT2	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	1,3499	3,8476	1,3215	2,17	2,20	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	3,8362	1,3068	1,3677	2,17	2,00	
A_23_P87879	CD69	CD69 molecule	3,8208	1,2123	1,4091	2,15	1,80	
A_23_P152838	CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5	2,1362	2,9504	1,3405	2,14	1,60	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,1075	1,1383	1,1798	2,14	1,40	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,1575	1,1075	1,1449	2,14	1,20	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,0773	1,1415	1,1506	2,12	-1,20	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,0566	1,1513	1,1600	2,12	-1,40	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,0750	1,1442	1,1469	2,12	-1,60	
A_23_P55706	RELB	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B	2,0807	2,9502	1,3334	2,12	-1,80	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,0133	1,1277	1,1840	2,11	-2,00	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	4,0091	1,1431	1,1418	2,10	-2,20	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	3,9492	1,0882	1,1409	2,06	-2,40	
A_23_P253350	C8orf4	chromosome 8 open reading frame 4	3,0797	1,5918	1,4729	2,05	-2,60	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	3,8584	1,1227	1,1604	2,05	-2,80	
A_23_P110712	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	3,8657	1,1181	1,1415	2,04	-3,00	
A_23_P55706	RELB	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B	2,1048	2,7395	1,2802	2,04	-3,20	
A_23_P253350	C8orf4	chromosome 8 open reading frame 4	3,0828	1,5506	1,4523	2,03	-3,40	
A_23_P81898	UBD	ubiquitin D	1,2254	3,2338	1,5888	2,02	-3,60	
A_23_P152002	BCL2A1	BCL2-related protein A1	2,9145	1,4192	1,6899	2,01	-3,80	
A_23_P152002	BCL2A1	BCL2-related protein A1	3,0917	1,3999	1,5299	2,01	-4,00	
A_33_P3718269	LOC285628	hypothetical protein LOC285628	2,1568	1,8770	1,8958	1,98	-4,20	
A_23_P152838	CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5	2,1126	2,6235	1,1770	1,97	-4,40	
A_23_P132121	SIK1	salt-inducible kinase 1	3,6904	1,0995	1,1085	1,97	-4,60	
A_23_P404494	IL7R	interleukin 7 receptor	1,9816	1,8589	2,0424	1,96	-4,80	
A_33_P3423941	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	1,0350	1,2067	3,6109	1,95	-5,00	
A_33_P3423941	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	1,0503	1,1914	3,6076	1,95		
A_23_P404494	IL7R	interleukin 7 receptor	1,9614	1,7634	2,0877	1,94		
A_23_P155755	CXCL6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)	1,0357	2,2704	2,5062	1,94		
A_23_P72737	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	1,0758	1,2280	3,5002	1,93		
A_23_P72737	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	1,1168	1,2227	3,4597	1,93		
A_33_P322424	CSF3	colony stimulating factor 3 (granulocyte)	3,2819	1,1190	1,3501	1,92		
A_23_P104073	S100A3	S100 calcium binding protein A3	1,7431	2,7972	1,1639	1,90		
A_23_P328740	NEURL3	neuralized homolog 3 (Drosophila) pseudogene	3,1005	1,2764	1,3166	1,90		
A_23_P214080	EGR1	early growth response 1	2,8793	1,3959	1,4117	1,90		
A_23_P104073	S100A3	S100 calcium binding protein A3	1,7662	2,7267	1,1531	1,88		
A_23_P393620	TFPI2	tissue factor pathway inhibitor 2	1,0601	2,1829	2,3843	1,88		
A_23_P131208	NR4A2	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	3,5681	1,0291	1,0131	1,87		
A_23_P81898	UBD	ubiquitin D	1,2445	2,8144	1,5189	1,86		

A_23_P214080	EGR1	early growth response 1	2,8060	1,4143	1,3505	1,86		
A_23_P168828	KLF10	Kruppel-like factor 10	3,4588	1,0997	1,0023	1,85		
A_23_P380318	EGR4	early growth response 4	3,3691	1,1008	1,0611	1,84		
A_23_P405707	A_23_P405707	Data not found	3,3015	1,1038	1,0825	1,83		
A_23_P320578	RGS16	regulator of G-protein signaling 16	3,2534	1,1156	1,0992	1,82		
A_23_P393620	TFPI2	tissue factor pathway inhibitor 2	1,0105	2,1126	2,2988	1,81		
A_24_P788878	C2CD4B	C2 calcium-dependent domain containing 4B	3,1697	1,1590	1,0468	1,79	5,00	
A_23_P257043	GEM	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle	3,1655	1,0544	1,1321	1,78	4,80	
A_23_P360754	ADAMTS4	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 4	2,7701	1,1586	1,3964	1,78	4,60	
A_23_P45871	IFI44L	interferon-induced protein 44-like	-1,1544	1,2509	5,1983	1,76	4,40	
A_24_P268676	BHLHE40	basic helix-loop-helix family, member e40	2,8842	1,0301	1,3679	1,76	4,20	
A_23_P155755	CXCL6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)	1,0554	2,0145	2,1876	1,75	4,00	
A_23_P131676	CXCR7	chemokine (C-X-C motif) receptor 7	2,5660	1,5134	1,1524	1,74	3,80	
A_24_P304071	IFIT2	Interferon-induced protein with tetra-tricopeptide repeats 2	1,2726	2,6794	1,2591	1,74	3,60	
A_23_P32404	ISG20	interferon stimulated exonuclease gene 20kDa	1,4970	1,6584	2,0341	1,73	3,40	
A_24_P262127	RRAD	Ras-related associated with diabetes	2,9134	1,0743	1,1951	1,73	3,20	
A_23_P134176	SOD2	superoxide dismutase 2, mitochondrial	1,5700	2,0223	1,5643	1,72	3,00	
A_23_P131676	CXCR7	chemokine (C-X-C motif) receptor 7	2,4451	1,5118	1,1969	1,72	2,80	
A_23_P134176	SOD2	superoxide dismutase 2, mitochondrial	1,5485	2,0312	1,5697	1,72	2,60	
A_23_P360754	ADAMTS4	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 4	2,6832	1,1279	1,3317	1,71	2,40	
A_33_P3283611	IFIT3	Interferon-induced protein with tetra-tricopeptide repeats 3	1,0438	2,4444	1,5891	1,69	2,20	
A_24_P252497	TRIB1	tribbles homolog 1 (Drosophila)	2,6924	1,1013	1,2794	1,69	2,00	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,7654	1,0912	1,2093	1,69	1,80	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,0926	2,8107	1,1571	1,69	1,60	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,1588	2,7079	1,1676	1,68	1,40	
A_33_P3241021	CD69	CD69 molecule	2,7821	1,1102	1,1419	1,68	1,20	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,7812	1,1868	1,0580	1,68	-1,20	
A_24_P262127	RRAD	Ras-related associated with diabetes	2,8316	1,0978	1,0876	1,67	-1,40	
A_33_P3316539	SLC7A2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	1,3901	1,8416	1,7697	1,67	-1,60	
A_24_P252497	TRIB1	tribbles homolog 1 (Drosophila)	2,6509	1,0835	1,2609	1,67	-1,80	
A_23_P32404	ISG20	interferon stimulated exonuclease gene 20kDa	1,4324	1,5964	1,9603	1,66	-2,00	
A_24_P270460	IFIT2	interferon, alpha-inducible protein 27	1,1742	1,1657	2,6233	1,65	-2,20	
A_33_P3316539	SLC7A2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	1,4090	1,7879	1,7542	1,65	-2,40	
A_23_P34915	ATF3	activating transcription factor 3	2,2399	1,5466	1,1475	1,64	-2,60	
A_33_P3306146	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,3341	1,0657	1,5244	1,64	-2,80	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,0079	2,7844	1,1311	1,64	-3,00	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,0483	2,6872	1,1379	1,62	-3,20	
A_23_P34915	ATF3	activating transcription factor 3	2,1879	1,4986	1,1687	1,62	-3,40	
A_24_P270460	IFIT2	interferon, alpha-inducible protein 27	1,1745	1,1621	2,5177	1,62	-3,60	
A_23_P124905	NPTX1	neuronal pentraxin I	2,5185	1,0337	1,2852	1,61	-3,80	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,1976	2,4936	1,1371	1,61	-4,00	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,1109	2,5340	1,1833	1,61	-4,20	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0075	1,3923	2,4257	1,61	-4,40	
A_23_P50508	PLA2G4C	phospholipase A2, group IVC (cytosolic, calcium-independent)	1,0919	2,2117	1,4801	1,59	-4,60	
A_23_P50508	PLA2G4C	phospholipase A2, group IVC (cytosolic, calcium-independent)	1,0496	2,2533	1,4788	1,59	-4,80	
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,1139	1,1472	1,5057	1,59	-5,00	
A_23_P46936	EGR2	early growth response 2	2,6146	1,0361	1,0997	1,58		
A_23_P68155	IFIH1	interferon induced with helicase C domain 1	1,1664	1,6101	1,9733	1,58		
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0890	1,2717	2,3819	1,58		
A_23_P4662	BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	2,3559	1,2073	1,1513	1,57		
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,5584	1,0815	1,0710	1,57		
A_33_P3241021	CD69	CD69 molecule	2,5356	1,0144	1,1604	1,57		
A_32_P36235	IER2	immediate early response 2	2,4891	1,0770	1,1277	1,56		
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,1497	1,2888	2,2528	1,56		
A_23_P68155	IFIH1	interferon induced with helicase C domain 1	1,0700	1,5757	2,0456	1,56		
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0562	1,1311	1,4926	1,56		
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0705	1,1244	1,4838	1,56		
A_33_P3338121	LAMB3	laminin, beta 3	1,4711	1,5368	1,6616	1,56		
A_33_P3220911	A_33_P3220911	Data not found	1,1585	1,1517	2,3561	1,56		

A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0426	1,1291	1,4913	1,55		
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0467	1,1120	1,5036	1,55		
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,0526	2,4314	1,1765	1,55		
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0852	1,1932	2,3758	1,55		
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0284	1,1286	1,4958	1,55		
A_23_P4662	BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	2,3081	1,1901	1,1542	1,55		
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,0436	2,4604	1,1463	1,55	5,00	
A_24_P59667	JAK3	Janus kinase 3	1,1866	1,8827	1,5801	1,55	4,80	
A_24_P33895	ATF3	activating transcription factor 3	2,3186	1,2235	1,1065	1,55	4,60	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0519	1,1798	2,4135	1,55	4,40	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0239	1,2731	2,3457	1,55	4,20	
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0237	1,1317	1,4859	1,55	4,00	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0159	1,2090	2,4159	1,55	3,80	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	1,2051	2,2983	1,1353	1,55	3,60	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,4939	1,0944	1,0473	1,55	3,40	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,4210	1,0252	1,1567	1,53	3,20	
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	1,9818	1,1328	1,4861	1,53	3,00	
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	2,0050	1,1358	1,4578	1,53	2,80	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0351	1,1749	2,3800	1,53	2,60	
A_23_P30655	NFKBIE	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, epsilon	2,0560	1,4569	1,0762	1,53	2,40	
A_23_P24104	PLAU	plasminogen activator, urokinase	1,9213	1,1624	1,5002	1,53	2,20	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,4688	1,0095	1,1012	1,53	2,00	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,4264	1,0867	1,0622	1,53	1,80	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,3162	1,1335	1,1236	1,52	1,60	
A_23_P30655	NFKBIE	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, epsilon	2,0619	1,4485	1,0621	1,52	1,40	
A_24_P37409	DUSP2	dual specificity phosphatase 2	2,3681	1,1991	1,0002	1,52	1,20	
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	1,0451	1,2326	2,2750	1,52	-1,20	
A_23_P64828	OAS1	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	1,0090	1,1008	2,4411	1,52	-1,40	
A_24_P33895	ATF3	activating transcription factor 3	2,2185	1,2007	1,1251	1,51	-1,60	
A_23_P92909	SPINK6	serine peptidase inhibitor, Kazal type 6	4,4168	1,1389	-1,0170	1,51	-1,80	
A_23_P64828	OAS1	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	1,0245	1,0620	2,4491	1,51	-2,00	
A_33_P3338121	LAMB3	laminin, beta 3	1,5426	1,3622	1,6232	1,51	-2,20	
A_23_P421423	TNFAIP2	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2	4,8304	1,0676	-1,3754	1,51	-2,40	
A_23_P39465	BST2	bone marrow stromal cell antigen 2	1,0020	1,2114	2,3027	1,51	-2,60	
A_23_P420942	ENST00000330439	Data not found	2,3748	1,0527	1,0504	1,49	-2,80	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,3675	1,0685	1,0224	1,49	-3,00	
A_23_P144337	CCR4L	CCR4 carbon catabolite repression 4-like ( <i>S. cerevisiae</i> )	2,3294	1,0930	1,0345	1,49	-3,20	
A_23_P166280	ICOSLG	inducible T-cell co-stimulator ligand	1,2969	1,7185	1,4233	1,48	-3,40	
A_33_P3379947	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	1,1141	1,2901	2,0175	1,47	-3,60	
A_24_P335305	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	1,0540	1,1418	2,2231	1,47	-3,80	
A_24_P59667	JAK3	Janus kinase 3	1,1489	1,6751	1,5850	1,47	-4,00	
A_24_P37409	DUSP2	dual specificity phosphatase 2	2,3571	1,0414	1,0034	1,47	-4,20	
A_23_P334870	TMEM217	transmembrane protein 217	1,8160	1,4389	1,1461	1,47	-4,40	
A_23_P166400	RASL10A	RAS-like, family 10, member A	4,3525	-1,0470	1,0651	1,46	-4,60	
A_23_P819	ISG15	ISG15 ubiquitin-like modifier	1,1836	1,1677	2,0091	1,45	-4,80	
A_33_P3379947	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	1,0507	1,2829	2,0139	1,45	-5,00	
A_23_P166280	ICOSLG	inducible T-cell co-stimulator ligand	1,2674	1,6479	1,4267	1,45		
A_19_P00315755	lincRNA:chr2:61157504-61158747_F	Data not found	1,9229	1,2714	1,1070	1,43		
A_23_P819	ISG15	ISG15 ubiquitin-like modifier	1,1602	1,1446	1,9909	1,43		
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	1,0185	1,2773	1,9965	1,43		
A_23_P32233	KLF4	Kruppel-like factor 4 (gut)	2,0832	1,1516	1,0515	1,43		
A_23_P32233	KLF4	Kruppel-like factor 4 (gut)	2,1568	1,0647	1,0564	1,43		
A_33_P3356462	C2CD4A	C2 calcium-dependent domain containing 4A	1,4335	1,1749	1,6661	1,42		
A_23_P51126	IL1RL1	Interleukin 1 receptor-like 1	1,0470	1,4082	1,8189	1,42		
A_23_P74609	GOS2	G0/G1switch 2	1,3767	1,1570	1,7393	1,42		
A_23_P109034	SDC4	syndecan 4	1,9226	1,3064	1,0387	1,42		
A_24_P208567	IL18R1	interleukin 18 receptor 1	1,5718	1,4790	1,2154	1,42		
A_23_P420196	SOC51	suppressor of cytokine signaling 1	1,7733	1,1377	1,3413	1,42		
A_23_P47614	PHLDA2	pleckstrin homology-like domain, family A, member 2	1,6500	1,1358	1,4623	1,42		

A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	1,0232	1,2363	1,9875	1,42		
A_33_P3246505	ENST00000375322	Data not found	2,0747	1,1209	1,0489	1,41		
A_23_P216225	EGR3	early growth response 3	2,1486	1,0116	1,0792	1,41		
A_23_P51126	IL1RL1	Interleukin 1 receptor-like 1	1,0507	1,3550	1,8335	1,41		
A_24_P140608	HBEFG	heparin-binding EGF-like growth factor	2,0584	1,0029	1,1769	1,41		
A_23_P166797	RTP4	receptor (chemosensory) transporter protein 4	1,0047	1,2882	1,9419	1,41		
A_33_P3379967	HLA-F	major histocompatibility complex, class I, F	1,1193	1,1861	1,9293	1,41		5,00
A_33_P3286157	TNFRSF4	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 4	1,1657	1,7883	1,2742	1,41		4,80
A_32_P452655	LGALS9C	lectin, galactoside-binding, soluble, 9C	1,1410	1,3142	1,7611	1,41		4,60
A_33_P3211666	IL18R1	interleukin 18 receptor 1	1,7098	1,3292	1,1762	1,41		4,40
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	1,0071	1,2515	1,9502	1,40		4,20
A_23_P15146	IL32	interleukin 32	1,1610	1,8045	1,2283	1,40		4,00
A_24_P12435	NCOA7	nuclear receptor coactivator 7	1,5740	1,2711	1,3417	1,40		3,80
A_33_P3224070	CSRNP1	cysteine-serine-rich nuclear protein 1	4,0812	-1,0045	1,1031	1,39		3,60
A_23_P111402	RSP03	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0281	1,4851	1,6584	1,39		3,40
A_23_P15146	IL32	interleukin 32	1,1292	1,8210	1,2197	1,39		3,20
A_33_P3346826	IL32	interleukin 32	1,1179	1,7595	1,2838	1,39		3,00
A_32_P452655	LGALS9C	lectin, galactoside-binding, soluble, 9C	1,1642	1,2548	1,7409	1,39		2,80
A_23_P34744	CTSK	cathepsin K	1,0548	1,7809	1,3177	1,38		2,60
A_33_P3619171	PMAIP1	phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	1,7114	1,1580	1,2811	1,38		2,40
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,8087	1,2055	1,1353	1,38		2,20
A_23_P93602	C6orf58	chromosome 6 open reading frame 58	1,0923	1,6178	1,4323	1,38		2,00
A_23_P102611	WISP2	WNT1 inducible signaling pathway protein 2	1,8142	1,1173	1,1950	1,38		1,80
A_33_P3424800	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	1,0045	1,2714	1,8385	1,37		1,60
A_23_P156687	CFB	complement factor B	1,0560	1,1459	1,9122	1,37		1,40
A_33_P3424803	A_33_P3424803	Data not found	1,0412	1,2398	1,8229	1,37		1,20
A_23_P144916	GFPT2	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2	1,3993	1,1968	1,5064	1,37		-1,20
A_23_P341223	KLHL21	kelch-like 21 (Drosophila)	1,9246	1,1076	1,0675	1,37		-1,40
A_33_P3215948	MPZL2	myelin protein zero-like 2	1,0432	1,4362	1,6191	1,37		-1,60
A_33_P3346826	IL32	interleukin 32	1,1775	1,7598	1,1593	1,37		-1,80
A_33_P3619171	PMAIP1	phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	1,6353	1,1843	1,2747	1,36		-2,00
A_23_P111000	PSMB9	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional peptidase 2)	1,0013	1,1622	1,9232	1,36		-2,20
A_23_P125278	CXCL11	chemokine (C-X-C motif) ligand 11	1,0550	1,6338	1,3963	1,36		-2,40
A_23_P34744	CTSK	cathepsin K	1,0102	1,7071	1,3631	1,36		-2,60
A_24_P122137	LIF	leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)	1,8950	1,0444	1,1393	1,36		-2,80
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,9568	1,0689	1,0527	1,36		-3,00
A_33_P3319502	A_33_P3319502	Data not found	1,0162	1,2511	1,8049	1,36		-3,20
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,7537	1,1727	1,1440	1,36		-3,40
A_24_P208567	IL18R1	interleukin 18 receptor 1	1,5258	1,3071	1,2314	1,35		-3,60
A_23_P420196	SOCS1	suppressor of cytokine signaling 1	1,7769	1,0246	1,2572	1,35		-3,80
A_33_P3335386	FAM83G	family with sequence similarity 83, member G	1,9050	1,0817	1,0686	1,35		-4,00
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,7298	1,1882	1,1355	1,35		-4,20
A_33_P3424803	A_33_P3424803	Data not found	1,0460	1,2099	1,7940	1,35		-4,40
A_23_P111402	RSP03	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0651	1,4552	1,5260	1,35		-4,60
A_23_P26024	C15orf48	chromosome 15 open reading frame 48	1,2390	1,3976	1,4077	1,35		-4,80
A_24_P12435	NCOA7	nuclear receptor coactivator 7	1,5154	1,3184	1,2010	1,34		-5,00
A_23_P47614	PHLDA2	pleckstrin homology-like domain, family A, member 2	1,6891	1,0922	1,2489	1,34		
A_33_P3695899	FLJ31104	hypothetical LOC441072	1,8203	1,1263	1,0783	1,34		
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,8421	1,1390	1,0359	1,34		
A_32_P88349	LOC730256	hypothetical protein LOC730256	1,3994	1,4396	1,1757	1,34		
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,6825	1,1530	1,1747	1,34		
A_23_P105794	EPST11	epithelial stromal interaction 1 (breast)	1,0026	1,1603	1,8462	1,34		
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,7064	1,1712	1,1312	1,34		
A_23_P56938	REL	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog (avian)	1,7412	1,2512	1,0136	1,34		
A_33_P3318796	FSTL3	follistatin-like 3 (secreted glycoprotein)	1,8438	1,0647	1,0967	1,34		
A_23_P160466	SLC19A2	solute carrier family 19 (thiamine transporter), member 2	1,5183	1,1735	1,3120	1,33		
A_33_P3342126	PRDM8	PR domain containing 8	1,3716	1,1950	1,4353	1,33		
A_33_P3330109	HLA-C	major histocompatibility complex, class I, C	1,0331	1,1690	1,7998	1,33		
A_24_P197964	TRIM14	tripartite motif containing 14	1,0697	1,1861	1,7396	1,33		

A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,6935	1,1584	1,1429	1,33		
A_19_P00803025	lincRNA:chr9:21506160-21506630_R	Data not found	1,7331	1,2491	1,0085	1,33		
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,7204	1,1722	1,0981	1,33		
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0950	1,4411	1,4488	1,33		
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,8273	1,0877	1,0693	1,33		
A_33_P3417695	ODF3B	Outer dense fiber of sperm tails 3B	1,1132	1,1002	1,7708	1,33		
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,7366	1,1705	1,0746	1,33	5,00	
A_24_P140608	HBEGF	heparin-binding EGF-like growth factor	1,7829	1,0139	1,1834	1,33	4,80	
A_23_P125278	CXCL11	chemokine (C-X-C motif) ligand 11	1,0283	1,6173	1,3338	1,33	4,60	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,5578	1,1797	1,2402	1,33	4,40	
A_33_P3352970	IRAK2	interleukin-1 receptor-associated kinase 2	1,4361	1,1984	1,3396	1,32	4,20	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,7083	1,2158	1,0427	1,32	4,00	
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,6696	1,1673	1,1296	1,32	3,80	
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7950	1,1461	1,0236	1,32	3,60	
A_23_P103110	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	1,6980	1,1513	1,1112	1,32	3,40	
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7670	1,1619	1,0300	1,32	3,20	
A_24_P378019	IRF7	interferon regulatory factor 7	1,0617	1,2473	1,6495	1,32	3,00	
A_23_P150018	DUSP5	dual specificity phosphatase 5	1,4879	1,1428	1,3260	1,32	2,80	
A_23_P150018	DUSP5	dual specificity phosphatase 5	1,4488	1,2062	1,3010	1,32	2,60	
A_33_P3405424	IL4I1	interleukin 4 induced 1	1,3653	1,5290	1,0575	1,32	2,40	
A_23_P19673	SGK1	serum/glucocorticoid regulated kinase 1	1,5465	1,2690	1,1310	1,32	2,20	
A_23_P59005	TAP1	transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)	1,0401	1,3517	1,5475	1,31	2,00	
A_23_P212800	FGF5	fibroblast growth factor 5	1,6098	1,0558	1,2648	1,31	1,80	
A_23_P156327	TGFB1	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	1,0688	1,1246	1,7332	1,31	1,60	
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7746	1,1217	1,0300	1,31	1,40	
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7728	1,1361	1,0153	1,31	1,20	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,5893	1,1487	1,1852	1,31	-1,20	
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,1296	1,3424	1,4496	1,31	-1,40	
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0327	1,4197	1,4681	1,31	-1,60	
A_23_P209320	PER2	period homolog 2 (Drosophila)	1,7415	1,0917	1,0860	1,31	-1,80	
A_24_P50972	GOLGA6L6	golgin A6 family-like 6	1,7019	1,1726	1,0396	1,30	-2,00	
A_23_P116557	LGALS9	lectin, galactoside-binding, soluble, 9	1,0860	1,1669	1,6612	1,30	-2,20	
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7496	1,1352	1,0267	1,30	-2,40	
A_23_P102611	WISP2	WNT1 inducible signaling pathway protein 2	1,7394	1,1537	1,0175	1,30	-2,60	
A_23_P156327	TGFB1	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	1,0593	1,0933	1,7570	1,30	-2,80	
A_23_P161624	FOSL1	FOS-like antigen 1	1,6806	1,0087	1,2194	1,30	-3,00	
A_24_P931443	GPR68	G protein-coupled receptor 68	1,2887	1,4004	1,2190	1,30	-3,20	
A_33_P3318796	FSTL3	follistatin-like 3 (secreted glycoprotein)	1,7595	1,0623	1,0806	1,30	-3,40	
A_23_P306987	SOX7	SRY (sex determining region Y)-box 7	1,6083	1,1427	1,1429	1,30	-3,60	
A_24_P378019	IRF7	interferon regulatory factor 7	1,0415	1,2190	1,6329	1,30	-3,80	
A_23_P212800	FGF5	fibroblast growth factor 5	1,5601	1,0970	1,2319	1,30	-4,00	
A_23_P2492	C1S	complement component 1, s subcomponent	1,1766	1,0748	1,6364	1,30	-4,20	
A_23_P429560	SSH1	slingshot homolog 1 (Drosophila)	1,6081	1,2093	1,0662	1,29	-4,40	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,5356	1,1570	1,1902	1,29	-4,60	
A_24_P917819	C21orf99	Data not found	1,4775	1,1501	1,2534	1,29	-4,80	
A_23_P58266	S100P	S100 calcium binding protein P	1,8635	1,0059	1,0043	1,29	-5,00	
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0475	1,4346	1,3822	1,29		
A_23_P210763	JAG1	Jagged 1	1,6178	1,1134	1,1262	1,29		
A_23_P210763	JAG1	Jagged 1	1,5479	1,1707	1,1372	1,29		
A_33_P3241984	PTPN22	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 (lymphoid)	1,0657	1,1518	1,6289	1,28		
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,5840	1,0904	1,1661	1,28		
A_33_P3237150	BMP2	bone morphogenetic protein 2	1,2720	1,2799	1,2878	1,28		
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,7386	1,0903	1,0061	1,28		
A_24_P12401	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	1,6481	1,0537	1,1322	1,28		
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	1,0038	1,1589	1,6708	1,28		
A_24_P261259	PFKFB3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3	1,6508	1,1186	1,0612	1,28		
A_23_P209320	PER2	period homolog 2 (Drosophila)	1,7158	1,0776	1,0371	1,28		
A_19_P00330643	lincRNA:chr3:194190336-194206820_R	Data not found	1,6922	1,1125	1,0191	1,27		
A_23_P19673	SGK1	serum/glucocorticoid regulated kinase 1	1,5190	1,2756	1,0280	1,27		

A_23_P81399	SQSTM1	sequestosome 1	1,2898	1,3038	1,2230	1,27		
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,5041	1,2794	1,0317	1,27		
A_23_P388993	ZC3H12C	zinc finger CCCH-type containing 12C	1,3434	1,3325	1,1390	1,27		
A_32_P98072	TCHH	trichohyalin	1,8011	1,0038	1,0100	1,27		
A_33_P3298587	SBNO2	strawberry notch homolog 2 (Drosophila)	1,4382	1,2460	1,1264	1,27		
A_23_P160466	SLC19A2	solute carrier family 19 (thiamine transporter), member 2	1,4943	1,0558	1,2446	1,26		
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	1,0198	1,1236	1,6474	1,26	5,00	
A_24_P261259	PFKFB3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3	1,6517	1,0530	1,0853	1,26	4,80	
A_23_P91512	CLDN14	claudin 14	1,2945	1,1699	1,3254	1,26	4,60	
A_23_P105794	EPSTI1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	1,0441	1,1422	1,6021	1,26	4,40	
A_33_P3241511	SERPIND1	serpin peptidase inhibitor, clade D (heparin cofactor), member 1	1,0361	1,1320	1,6133	1,26	4,20	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,6008	1,0398	1,1375	1,26	4,00	
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,6512	1,1102	1,0154	1,26	3,80	
A_33_P3251876	IL18R1	interleukin 18 receptor 1	1,4969	1,1176	1,1606	1,26	3,60	
A_23_P105794	EPSTI1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	1,0299	1,0952	1,6499	1,26	3,40	
A_23_P161624	FOSL1	FOS-like antigen 1	1,5152	1,0754	1,1829	1,26	3,20	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4230	1,3355	1,0024	1,25	3,00	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	1,0027	1,1151	1,6360	1,25	2,80	
A_23_P105794	EPSTI1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	1,0283	1,0940	1,6284	1,25	2,60	
A_23_P374844	GAL	Galanin prepropeptide	1,1184	1,0735	1,5570	1,25	2,40	
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0608	1,3334	1,3499	1,25	2,20	
A_33_P3370404	PANX1	pannexin 1	1,4949	1,1550	1,0899	1,25	2,00	
A_23_P57709	PCOLCE2	procollagen C-endopeptidase enhancer 2	1,0503	1,0730	1,6104	1,24	1,80	
A_23_P32938	DDX10	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 10	1,1651	1,1273	1,4391	1,24	1,60	
A_23_P5903	SLC04A1	solute carrier organic anion transporter family, member 4A1	1,1467	1,1905	1,3929	1,24	1,40	
A_23_P58009	C3orf52	chromosome 3 open reading frame 52	1,4040	1,1076	1,2128	1,24	1,20	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,4669	1,0896	1,1612	1,24	-1,20	
A_23_P90311	TICAM1	toll-like receptor adaptor molecule 1	1,5280	1,1722	1,0137	1,24	-1,40	
A_19_P00321272	lincRNA:chr21:44890313-44898009_R	Data not found	1,5184	1,1314	1,0636	1,24	-1,60	
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	1,0364	1,3010	1,3737	1,24	-1,80	
A_19_P00807023	lincRNA:chr3:194190336-194206786_R	Data not found	1,5287	1,1467	1,0342	1,24	-2,00	
A_33_P3386716	PPP1R15B	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15B	1,4921	1,0669	1,1500	1,24	-2,20	
A_24_P115774	BIRC2	baculoviral IAP repeat containing 2	1,5390	1,0977	1,0719	1,24	-2,40	
A_33_P3370094	MME	membrane metallo-endopeptidase	1,0285	1,1544	1,5237	1,24	-2,60	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4524	1,2379	1,0030	1,23	-2,80	
A_24_P202567	ITPKC	inositol-trisphosphate 3-kinase C	1,4932	1,0522	1,1460	1,23	-3,00	
A_33_P3237150	BMP2	bone morphogenetic protein 2	1,2824	1,2273	1,1812	1,23	-3,20	
A_23_P46429	CYR61	cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	1,4903	1,0232	1,1755	1,23	-3,40	
A_23_P201979	CREM	cAMP responsive element modulator	1,1700	1,2232	1,2929	1,23	-3,60	
A_33_P3211804	RUNX1	runt-related transcription factor 1	1,5042	1,1253	1,0532	1,23	-3,80	
A_33_P3407013	ENST00000406575	Data not found	1,4964	1,1347	1,0489	1,23	-4,00	
A_23_P127584	NNMT	nicotinamide N-methyltransferase	1,2903	1,2095	1,1792	1,23	-4,20	
A_23_P118254	FOXF1	forkhead box F1	1,4565	1,0223	1,1978	1,23	-4,40	
A_23_P114947	RGS2	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	1,2966	1,0819	1,2957	1,22	-4,60	
A_23_P57856	BCL6	B-cell CLL/lymphoma 6	1,4848	1,0449	1,1439	1,22	-4,80	
A_23_P118427	MAP2K3	mitogen-activated protein kinase kinase 3	1,4543	1,1010	1,1176	1,22	-5,00	
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0726	1,1624	1,4322	1,22		
A_23_P105794	EPSTI1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	1,0321	1,0659	1,5621	1,22		
A_23_P74278	PDE4B	phosphodiesterase 4B, cAMP-specific	1,5119	1,0205	1,1251	1,22		
A_33_P3371514	IPPK	inositol 1,3,4,5,6-pentakisphosphate 2-kinase	1,5033	1,0219	1,1265	1,22		
A_23_P32938	DDX10	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 10	1,1243	1,1273	1,3981	1,22		
A_33_P3396527	POLR3G	polymerase (RNA) III (DNA directed) polypeptide G (32kD)	1,0078	1,2010	1,4407	1,22		
A_19_P00329765	lincRNA:chr11:17378149-17406149_F	Data not found	1,0710	1,2023	1,3747	1,22		
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	1,0669	1,1326	1,4467	1,22		
A_23_P74278	PDE4B	phosphodiesterase 4B, cAMP-specific	1,5099	1,0394	1,0948	1,21		
A_33_P3251430	NRIP1	nuclear receptor interacting protein 1	1,2292	1,3308	1,0831	1,21		
A_23_P201979	CREM	cAMP responsive element modulator	1,1559	1,2036	1,2817	1,21		
A_33_P3245784	ZNF620	zinc finger protein 620	1,5175	1,0983	1,0203	1,21		
A_24_P12401	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	1,4671	1,0594	1,1061	1,21		

A_23_P63798	KLF6	Kruppel-like factor 6	1,5628	1,0450	1,0233	1,21		
A_23_P110196	HERC5	hect domain and RLD 5	1,0380	1,4176	1,1726	1,21		
A_32_P169179	MSX2P1	msh homeobox 2 pseudogene 1	1,4155	1,0613	1,1505	1,21		
A_24_P85200	C14orf43	chromosome 14 open reading frame 43	1,4265	1,0830	1,1154	1,21		
A_24_P335620	SLC7A5	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 5	1,0195	1,0855	1,5163	1,21		
A_33_P3345534	KRT14	keratin 14	1,5076	1,1036	1,0077	1,21		
A_23_P30069	DDX60L	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 60-like	1,0121	1,1471	1,4594	1,21		
A_23_P52727	NAV2	neuron navigator 2	1,0271	1,2956	1,2949	1,21	5,00	
A_23_P168556	STX1A	syntaxin 1A (brain)	1,4773	1,0785	1,0602	1,21	4,80	
A_23_P411296	CEBPB	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta	1,1519	1,1835	1,2779	1,20	4,60	
A_32_P101860	A_32_P101860	Data not found	1,0329	1,3830	1,1973	1,20	4,40	
A_24_P296698	MAP2K3	mitogen-activated protein kinase kinase 3	1,5179	1,0450	1,0486	1,20	4,20	
A_23_P114947	RGS2	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	1,2862	1,0710	1,2515	1,20	4,00	
A_23_P320578	RGS16	regulator of G-protein signaling 16	3,5280	-1,0471	1,1255	1,20	3,80	
A_23_P217845	RGS16	regulator of G-protein signaling 16	1,4901	1,0444	1,0700	1,20	3,60	
A_23_P36397	CYP27B1	cytochrome P450, family 27, subfamily B, polypeptide 1	1,5034	1,0189	1,0812	1,20	3,40	
A_24_P345209	DYRK3	dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3	1,3906	1,0724	1,1391	1,20	3,20	
A_23_P131935	FERMT1	fermitin family member 1	1,0198	1,0587	1,5210	1,20	3,00	
A_23_P114947	RGS2	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	1,3091	1,0569	1,2323	1,20	2,80	
A_23_P152782	IFI35	interferon-induced protein 35	1,0309	1,1535	1,4131	1,20	2,60	
A_33_P3222069	SPHK1	sphingosine kinase 1	1,4159	1,0187	1,1625	1,20	2,40	
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	1,0766	1,1508	1,3658	1,20	2,20	
A_23_P88580	ARID3B	AT rich interactive domain 3B (BRIGHT-like)	1,4959	1,0643	1,0327	1,20	2,00	
A_33_P3273719	ENST00000370913	Data not found	1,1529	1,0661	1,3728	1,20	1,80	
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	1,0115	1,1365	1,4393	1,20	1,60	
A_33_P3294509	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	1,0108	1,1688	1,4058	1,20	1,40	
A_33_P3222069	SPHK1	sphingosine kinase 1	1,3497	1,0584	1,1765	1,19	1,20	
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	1,0559	1,1200	1,4065	1,19	-1,20	
A_23_P433855	RGS4	regulator of G-protein signaling 4	1,0342	1,2123	1,3340	1,19	-1,40	
A_33_P3397658	SYNPO	synaptopodin	1,0966	1,1711	1,3118	1,19	-1,60	
A_23_P123727	ZCCHC6	zinc finger, CCHC domain containing 6	1,0681	1,1569	1,3507	1,19	-1,80	
A_23_P29922	TLR3	toll-like receptor 3	1,0026	1,1925	1,3785	1,19	-2,00	
A_23_P99540	ZFP3611	zinc finger protein 36, C3H type-like 1	1,4795	1,0109	1,0809	1,19	-2,20	
A_23_P359897	JHDM1D	jumonji C domain containing histone demethylase 1 homolog D (S. cerevisiae)	1,5261	1,0253	1,0173	1,19	-2,40	
A_33_P3368358	NEDD9	neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 9	1,4254	1,1298	1,0100	1,19	-2,60	
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0563	1,1656	1,3430	1,19	-2,80	
A_23_P215956	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	1,3591	1,0307	1,1722	1,19	-3,00	
A_19_P00803685	lincRNA:chrX:115401722-115413847_R	Data not found	1,3656	1,0776	1,1185	1,19	-3,20	
A_24_P296698	MAP2K3	mitogen-activated protein kinase kinase 3	1,4845	1,0242	1,0495	1,19	-3,40	
A_23_P50646	LOC390940	hypothetical protein LOC390940	1,5132	1,0396	1,0053	1,19	-3,60	
A_23_P381714	CA13	carbonic anhydrase XIII	1,3143	1,0900	1,1503	1,18	-3,80	
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0354	1,1284	1,3837	1,18	-4,00	
A_23_P123727	ZCCHC6	zinc finger, CCHC domain containing 6	1,0656	1,1240	1,3579	1,18	-4,20	
A_23_P211047	BACH1	BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper transcription factor 1	1,4386	1,0826	1,0244	1,18	-4,40	
A_33_P3251876	IL18R1	interleukin 18 receptor 1	1,3213	1,1005	1,1216	1,18	-4,60	
A_23_P8281	IFNGR1	interferon gamma receptor 1	1,0876	1,2207	1,2287	1,18	-4,80	
A_33_P3417865	ZFP3611	zinc finger protein 36, C3H type-like 1	1,4287	1,0218	1,0829	1,18	-5,00	
A_23_P215956	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	1,3047	1,0147	1,2084	1,18		
A_33_P3397655	SYNPO	synaptopodin	1,0680	1,1448	1,3144	1,18		
A_23_P136964	RPGR	retinitis pigmentosa GTPase regulator	1,0982	1,1291	1,2994	1,18		
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0209	1,1127	1,3928	1,18		
A_23_P138680	IL15RA	interleukin 15 receptor, alpha	1,0181	1,1341	1,3740	1,18		
A_23_P36397	CYP27B1	cytochrome P450, family 27, subfamily B, polypeptide 1	1,3968	1,0479	1,0781	1,17		
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0347	1,1472	1,3389	1,17		
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	1,0400	1,1144	1,3658	1,17		
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0222	1,1615	1,3329	1,17		
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0367	1,1314	1,3481	1,17		
A_23_P110196	HERC5	hect domain and RLD 5	1,0133	1,3675	1,1352	1,17		
A_32_P196142	LOC100130938	hypothetical LOC100130938	1,0365	1,1532	1,3262	1,17		



A_23_P123727	ZCCHC6	zinc finger, CCHC domain containing 6	1,0963	1,0785	1,3407	1,17		
A_23_P131935	FERMT1	fermitin family member 1	1,0271	1,0084	1,4795	1,17		
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0228	1,1408	1,3473	1,17		
A_33_P3241741	SNORA23	small nucleolar RNA, H/ACA box 23	1,4030	1,0542	1,0537	1,17		
A_23_P16469	PLAUR	plasminogen activator, urokinase receptor	1,0898	1,0685	1,3501	1,17		
A_23_P142750	EIF2AK2	eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 2	1,0794	1,0567	1,3711	1,17		
A_23_P126103	CTH	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)	1,0169	1,0168	1,4721	1,17		5,00
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0072	1,1155	1,3814	1,17		4,80
A_23_P131846	SNAI1	snail homolog 1 (Drosophila)	3,4668	1,0771	-1,0431	1,17		4,60
A_23_P202269	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	1,0546	1,0313	1,4139	1,17		4,40
A_23_P57856	BCL6	B-cell CLL/lymphoma 6	1,3950	1,0037	1,1009	1,17		4,20
A_33_P3339687	ZNF669	zinc finger protein 669	1,3654	1,0653	1,0688	1,17		4,00
A_32_P175739	HK2	hexokinase 2	1,0251	1,1404	1,3307	1,17		3,80
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0112	1,1382	1,3464	1,17		3,60
A_23_P159775	GABRE	gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, epsilon	1,3289	1,0365	1,1274	1,16		3,40
A_23_P200792	NOTCH2	notch 2	1,0673	1,1209	1,3023	1,16		3,20
A_23_P150693	FJX1	four jointed box 1 (Drosophila)	1,2526	1,1069	1,1298	1,16		3,00
A_33_P3417865	ZFP36L1	zinc finger protein 36, C3H type-like 1	1,4328	1,0236	1,0323	1,16		2,80
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0470	1,1272	1,3142	1,16		2,60
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0147	1,1609	1,3122	1,16		2,40
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0355	1,1185	1,3332	1,16		2,20
A_23_P99540	ZFP36L1	zinc finger protein 36, C3H type-like 1	1,4350	1,0307	1,0211	1,16		2,00
A_33_P3337182	LOC389024	hypothetical LOC389024	1,4612	1,0106	1,0146	1,16		1,80
A_33_P3613000	ZBTB10	zinc finger and BTB domain containing 10	1,3756	1,0075	1,1034	1,16		1,60
A_23_P19210	RPF2	ribosome production factor 2 homolog (S. cerevisiae)	1,0402	1,1474	1,2980	1,16		1,40
A_23_P206724	MT1E	metallothionein 1E	1,1267	1,0905	1,2682	1,16		1,20
A_23_P429082	SPTY2D1	SPT2, Suppressor of Ty, domain containing 1 (S. cerevisiae)	1,3457	1,0895	1,0495	1,16		-1,20
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0189	1,1000	1,3655	1,16		-1,40
A_24_P96403	RUNX1	runt-related transcription factor 1	1,4032	1,0699	1,0106	1,16		-1,60
A_23_P427703	MT1L	metallothionein 1L (gene/pseudogene)	1,1237	1,0449	1,3122	1,16		-1,80
A_33_P3272773	ZNF217	zinc finger protein 217	1,3909	1,0542	1,0348	1,16		-2,00
A_33_P3315779	HERC6	hect domain and RLD 6	1,0759	1,1162	1,2864	1,16		-2,20
A_24_P239606	GADD45B	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	5,6401	-1,0521	-1,1100	1,16		-2,40
A_33_P3350056	MT1X	metallothionein 1X	1,1115	1,1216	1,2441	1,16		-2,60
A_23_P131846	SNAI1	snail homolog 1 (Drosophila)	3,4512	1,0325	-1,0091	1,16		-2,80
A_19_P00315452	lincRNA:chr18:59273300-59274144_R	Data not found	1,0487	1,1111	1,3146	1,16		-3,00
A_23_P200792	NOTCH2	notch 2	1,0446	1,1113	1,3178	1,16		-3,20
A_23_P122775	RTN4IP1	reticulin 4 interacting protein 1	1,0433	1,1421	1,2836	1,16		-3,40
A_23_P121702	OCIAD2	OCIA domain containing 2	1,0017	1,0921	1,3751	1,16		-3,60
A_33_P3342862	FAM101A	family with sequence similarity 101, member A	1,0905	1,2834	1,0933	1,16		-3,80
A_23_P166248	RCAN1	regulator of calcineurin 1	1,3430	1,0767	1,0470	1,16		-4,00
A_24_P128163	ENST00000367995	Data not found	1,3823	1,0208	1,0622	1,16		-4,20
A_23_P134517	PURB	purine-rich element binding protein B	1,1254	1,0679	1,2714	1,15		-4,40
A_23_P79518	IL1B	interleukin 1, beta	1,3006	1,1181	1,0448	1,15		-4,60
A_23_P217109	SLC31A2	solute carrier family 31 (copper transporters), member 2	1,3914	1,0565	1,0127	1,15		-4,80
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,3842	1,0029	1,0723	1,15		-5,00
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0232	1,1125	1,3235	1,15		
A_23_P102320	NUP35	nucleoporin 35kDa	1,0446	1,1388	1,2754	1,15		
A_23_P16523	GDF15	growth differentiation factor 15	1,1243	1,0804	1,2517	1,15		
A_23_P118042	LRRC36	leucine rich repeat containing 36	1,0045	1,0735	1,3778	1,15		
A_23_P202269	ANK3	ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	1,0144	1,0453	1,3937	1,15		
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0027	1,1454	1,3014	1,15		
A_23_P69537	NMU	neuromedin U	1,0856	1,0352	1,3278	1,15		
A_23_P8281	IFNGR1	interferon gamma receptor 1	1,0569	1,1688	1,2225	1,15		
A_33_P3396607	UGDH	UDP-glucose 6-dehydrogenase	1,0490	1,1145	1,2775	1,15		
A_23_P371824	TUFT1	tuftelin 1	1,2777	1,1041	1,0485	1,14		
A_33_P3350056	MT1X	metallothionein 1X	1,1068	1,0836	1,2370	1,14		
A_23_P102320	NUP35	nucleoporin 35kDa	1,0208	1,1232	1,2800	1,14		
A_23_P102320	NUP35	nucleoporin 35kDa	1,0303	1,1461	1,2462	1,14		

A_33_P3224331	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	1,3176	1,0353	1,0638	1,14	
A_33_P3413840	GK	glycerol kinase	1,0130	1,0409	1,3575	1,14	
A_24_P318967	PDXK	pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	1,0072	1,1003	1,3009	1,14	
A_33_P3216292	TBC1D2	TBC1 domain family, member 2	1,0121	1,0760	1,3163	1,13	
A_19_P00803587	lincRNA:chr16:20864099-20869374_R	Data not found	1,2742	1,0420	1,0855	1,13	
A_33_P3296497	ENST00000368204	Data not found	3,2176	1,2181	-1,0374	1,13	
A_33_P3766959	TDP1	tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	1,0226	1,0769	1,2972	1,13	5,00
A_23_P31453	STEAP1	six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1	1,0245	1,0684	1,2998	1,13	4,80
A_23_P48936	SMAD3	SMAD family member 3	1,0431	1,0832	1,2650	1,13	4,60
A_33_P3407299	ANP32E	acidic (leucine-rich) nuclear phosphoprotein 32 family, member E	1,0045	1,0707	1,3123	1,13	4,40
A_23_P165840	ODC1	Ornithine decarboxylase 1	1,0439	1,1031	1,2391	1,13	4,20
A_23_P50108	NDC80	NDC80 homolog, kinetochore complex component (S. cerevisiae)	1,0156	1,0127	1,3574	1,13	4,00
A_33_P3287223	DPP4	dipeptidyl-peptidase 4	1,0885	1,0180	1,2761	1,13	3,80
A_23_P41327	LYAR	Ly1 antibody reactive homolog (mouse)	1,0157	1,0822	1,2762	1,12	3,60
A_23_P321354	TMEM71	transmembrane protein 71	1,0222	1,0092	1,3427	1,12	3,40
A_23_P168828	KLF10	Kruppel-like factor 10	3,3233	1,0898	-1,0399	1,12	3,20
A_23_P62081	SCG5	secretogranin V (7B2 protein)	1,0119	1,0291	1,3291	1,12	3,00
A_33_P3340404	SCLT1	sodium channel and clathrin linker 1	1,0057	1,0519	1,3092	1,12	2,80
A_33_P3272140	NUP35	nucleoporin 35kDa	1,0398	1,0755	1,2513	1,12	2,60
A_23_P25194	HRK	harakiri, BCL2 interacting protein (contains only BH3 domain)	1,2691	1,0176	1,0793	1,12	2,40
A_33_P3274034	WRAP53	WD repeat containing, antisense to TP53	1,3054	1,0363	1,0181	1,12	2,20
A_33_P3393796	TRMT5	TRM5 tRNA methyltransferase 5 homolog (S. cerevisiae)	1,0065	1,0816	1,2713	1,12	2,00
A_24_P120346	NIT2	nitrilase family, member 2	1,0117	1,0837	1,2597	1,12	1,80
A_23_P147805	ENST00000457596	Data not found	1,3188	1,0012	1,0351	1,12	1,60
A_33_P3335535	LOC100128682	hypothetical LOC100128682	1,0133	1,2768	1,0638	1,12	1,40
A_24_P368575	SLC4A7	solute carrier family 4, sodium bicarbonate cotransporter, member 7	1,0644	1,0539	1,2334	1,12	1,20
A_23_P61810	BAIAP2	BAI1-associated protein 2	1,3177	1,0214	1,0085	1,12	-1,20
A_23_P203900	SCARB1	scavenger receptor class B, member 1	1,0026	1,0315	1,3108	1,11	-1,40
A_23_P69738	RASL11B	RAS-like, family 11, member B	1,3220	1,0078	1,0110	1,11	-1,60
A_23_P94921	SLC20A2	solute carrier family 20 (phosphate transporter), member 2	1,0080	1,0934	1,2273	1,11	-1,80
A_23_P376096	TICAM1	toll-like receptor adaptor molecule 1	1,2710	1,0014	1,0557	1,11	-2,00
A_23_P353744	LARP1B	La ribonucleoprotein domain family, member 1B	1,0172	1,0358	1,2734	1,11	-2,20
A_23_P136964	RPGR	retinitis pigmentosa GTPase regulator	1,0323	1,0530	1,2387	1,11	-2,40
A_23_P25150	HOXC9	homeobox C9	1,2735	1,0052	1,0431	1,11	-2,60
A_23_P106844	MT2A	metallothionein 2A	1,0253	1,0432	1,2437	1,10	-2,80
A_33_P3276718	HGF	hepatocyte growth factor (hepatoietin A; scatter factor)	1,0538	1,0237	1,2276	1,10	-3,00
A_24_P268676	BHLHE40	basic helix-loop-helix family, member e40	2,9168	-1,0019	1,3847	1,10	-3,20
A_23_P94921	SLC20A2	solute carrier family 20 (phosphate transporter), member 2	1,0128	1,0423	1,2438	1,10	-3,40
A_23_P50108	NDC80	NDC80 homolog, kinetochore complex component (S. cerevisiae)	1,0373	1,0032	1,2566	1,10	-3,60
A_23_P120153	RNF149	ring finger protein 149	1,0058	1,0310	1,2558	1,10	-3,80
A_23_P15202	DHODH	dihydroorotate dehydrogenase	1,0096	1,0800	1,2012	1,10	-4,00
A_23_P208866	GMFG	glia maturation factor, gamma	1,0051	1,0066	1,2755	1,10	-4,20
A_33_P3264419	YTHDF3	YTH domain family, member 3	1,2399	1,0207	1,0266	1,10	-4,40
A_24_P11506	KYNU	kynureninase	1,2656	1,0027	1,0169	1,10	-4,60
A_33_P3421203	hCG_1990547	Data not found	1,0015	1,2363	1,0377	1,09	-4,80
A_23_P7732	CETN3	centrin, EF-hand protein, 3	1,0049	1,0109	1,2336	1,08	-5,00
A_23_P59528	ACN9	ACN9 homolog (S. cerevisiae)	1,0006	1,0185	1,2182	1,08	
A_24_P239606	GADD45B	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	5,3023	-1,0420	-1,0674	1,06	
A_33_P3295358	ANGPTL4	Angiopietin-like 4	3,2673	1,3578	-1,4774	1,05	
A_23_P257043	GEM	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle	3,1126	-1,0187	1,0519	1,05	
A_23_P6596	HES1	hairly and enhancer of split 1, (Drosophila)	3,0781	1,0580	-1,0010	1,05	
A_33_P3295358	ANGPTL4	Angiopietin-like 4	3,3484	1,2260	-1,4821	1,03	
A_33_P3423551	IER3	immediate early response 3	3,0166	1,1153	-1,0659	1,02	
A_33_P3399208	ENST00000359635	Data not found	-1,1162	1,4207	2,7064	1,00	
A_23_P42257	IER3	immediate early response 3	2,9036	1,1359	-1,0579	0,99	
A_24_P942630	KDM6B	lysine (K)-specific demethylase 6B	2,9392	-1,1034	1,0520	0,96	
A_24_P89891	TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	2,9421	1,1923	-1,2660	0,96	
A_23_P42257	IER3	immediate early response 3	2,8198	1,0960	-1,0610	0,95	
A_24_P89891	TRAF1	TNF receptor-associated factor 1	3,0130	1,1323	-1,2955	0,95	

A_19_P00812504	lincRNA:chr21:26934779-26952204_F	Data not found	2,6585	1,2047	-1,0294	0,94		
A_23_P113613	CDCP1	CUB domain containing protein 1	-1,0272	1,2259	2,5986	0,93		
A_23_P23074	IFI44	interferon-induced protein 44	-1,0090	1,1399	2,6192	0,92		
A_23_P130974	KIAA1683	KIAA1683	2,7433	-1,0583	1,0205	0,90		
A_23_P218646	TNFRSF6B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b, decoy	-1,0525	1,6255	2,1286	0,90		
A_23_P189781	C14orf34	In multiple Geneids	-1,0708	1,2028	2,4979	0,88		
A_23_P350689	ZDHHC23	zinc finger, DHHC-type containing 23	2,6346	1,0123	-1,0257	0,87	5,00	
A_19_P00316657	lincRNA:chr8:128240803-128241377_R	Data not found	2,5827	1,1156	-1,0785	0,87	4,80	
A_23_P41765	IRF1	interferon regulatory factor 1	4,6413	-1,0198	-1,0223	0,87	4,60	
A_23_P46936	EGR2	early growth response 2	2,5490	-1,0262	1,0358	0,85	4,40	
A_23_P39465	BST2	bone marrow stromal cell antigen 2	-1,0198	1,2055	2,3532	0,85	4,20	
A_23_P72096	IL1A	interleukin 1, alpha	2,4865	-1,0467	1,0845	0,84	4,00	
A_23_P159741	BCOR	BCL6 corepressor	2,3260	1,2131	-1,0562	0,83	3,80	
A_23_P119478	EBI3	Epstein-Barr virus induced 3	-1,1324	2,4437	1,1029	0,80	3,60	
A_33_P3214105	ATF3	activating transcription factor 3	2,3765	-1,0128	1,0182	0,79	3,40	
A_23_P28598	DLX2	distal-less homeobox 2	2,2503	-1,0165	1,1455	0,79	3,20	
A_23_P159741	BCOR	BCL6 corepressor	2,2803	1,1378	-1,0471	0,79	3,00	
A_23_P369899	TMEM158	transmembrane protein 158 (gene/pseudogene)	-1,0262	1,2439	2,0950	0,77	2,80	
A_33_P3305571	TNFRSF6B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b, decoy	-1,0139	1,3503	1,9724	0,77	2,60	
A_23_P204087	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,1670	1,2126	2,2387	0,76	2,40	
A_23_P86330	IER5	Immediate early response 5	2,2097	-1,0635	1,1285	0,76	2,20	
A_23_P348121	FOSL2	FOS-like antigen 2	2,1314	1,1593	-1,0630	0,74	2,00	
A_24_P303091	CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 10	-1,0233	2,0195	1,2259	0,74	1,80	
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	-1,0632	1,2543	2,0305	0,74	1,60	
A_33_P3338335	MIDN	Midnolin	2,2071	1,0395	-1,0358	0,74	1,40	
A_23_P218463	SERTAD1	SERTA domain containing 1	2,1463	1,0689	-1,0100	0,74	1,20	
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	-1,0023	1,2529	1,9467	0,73	-1,20	
A_23_P216225	EGR3	early growth response 3	2,1569	-1,0646	1,1014	0,73	-1,40	
A_23_P351215	SKIL	SKI-like oncogene	2,2351	1,0679	-1,1260	0,73	-1,60	
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	-1,0103	1,2626	1,9245	0,73	-1,80	
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	-1,0039	1,2251	1,9494	0,72	-2,00	
A_23_P351215	SKIL	SKI-like oncogene	2,1308	1,0890	-1,0601	0,72	-2,20	
A_24_P335305	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	-1,0052	1,1233	2,0399	0,72	-2,40	
A_24_P122137	LIF	leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)	2,0337	-1,0209	1,1449	0,72	-2,60	
A_24_P418044	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	-1,0149	1,2190	1,9500	0,72	-2,80	
A_23_P204087	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,0671	1,0172	2,1922	0,71	-3,00	
A_23_P109034	SDC4	syndecan 4	1,9329	1,2526	-1,0573	0,71	-3,20	
A_23_P111000	PSMB9	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional peptidase 2)	-1,0497	1,2031	1,9691	0,71	-3,40	
A_33_P3225512	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,1356	1,0439	2,2103	0,71	-3,60	
A_33_P3279515	LOC729451	hypothetical protein LOC729451	2,1478	1,1046	-1,1343	0,71	-3,80	
A_23_P34345	VCAM1	vascular cell adhesion molecule 1	1,3792	1,7638	-1,0261	0,71	-4,00	
A_33_P3379967	HLA-F	major histocompatibility complex, class I, F	-1,0189	1,1696	1,9348	0,70	-4,20	
A_23_P143016	ARID5A	AT rich interactive domain 5A (MRF1-like)	2,0470	1,0517	-1,0245	0,69	-4,40	
A_33_P3225522	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,0886	1,1309	2,0230	0,69	-4,60	
A_33_P3252394	GADD45G	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	2,0326	1,0373	-1,0061	0,69	-4,80	
A_33_P3225512	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,0219	1,0086	2,0649	0,68	-5,00	
A_33_P3387045	CYB5D1	cytochrome b5 domain containing 1	1,9780	1,0748	-1,0088	0,68		
A_23_P29773	LAMP3	lysosomal-associated membrane protein 3	-1,0356	1,3762	1,6974	0,68		
A_23_P156687	CFB	complement factor B	-1,0044	1,1440	1,8970	0,68		
A_33_P3252394	GADD45G	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	2,0656	1,0491	-1,0820	0,68		
A_23_P52207	BAMBI	BMP and activin membrane-bound inhibitor homolog (Xenopus laevis)	1,9475	-1,0058	1,0889	0,68		
A_33_P3323298	JUN	jun proto-oncogene	2,1162	-1,1373	1,0468	0,68		
A_23_P94800	S100A4	S100 calcium binding protein A4	2,1313	1,1350	-1,2734	0,66		
A_33_P3219090	INSIG1	insulin induced gene 1	1,6952	-1,2360	1,5171	0,66		
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	2,0619	-1,1114	1,0243	0,66		
A_33_P3225522	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	-1,0836	1,0663	1,9883	0,66		
A_23_P110430	MSX1	msh homeobox 1	1,8640	1,1330	-1,0299	0,66		
A_33_P3323298	JUN	jun proto-oncogene	2,0533	-1,1384	1,0494	0,65		
A_23_P94800	S100A4	S100 calcium binding protein A4	2,1178	1,1117	-1,2667	0,65		

A_33_P3364869	A_33_P3364869	Data not found	1,7790	1,2266	-1,0444	0,65		
A_24_P160401	CDCP1	CUB domain containing protein 1	-1,0890	1,2244	1,8219	0,65		
A_23_P167367	PITX2	paired-like homeodomain 2	1,9443	-1,0151	1,0202	0,65		
A_19_P00812106	lincRNA:chr3:88108419-88178191_F	Data not found	1,9954	1,1599	-1,2128	0,65		
A_19_P00319467	lincRNA:chr7:130589527-130590094_R	Data not found	1,8985	1,1723	-1,1358	0,64		
A_23_P52207	BAMBI	BMP and activin membrane-bound inhibitor homolog (Xenopus laevis)	1,8834	-1,0018	1,0435	0,64		
A_23_P429560	SSH1	slingshot homolog 1 (Drosophila)	1,7456	1,1759	-1,0028	0,64	5,00	
A_23_P2492	C1S	complement component 1, s subcomponent	-1,0006	1,0275	1,8905	0,64	4,80	
A_23_P348121	FOSL2	FOS-like antigen 2	1,8749	1,1423	-1,1034	0,64	4,60	
A_32_P703	LOC646626	hypothetical protein LOC646626	1,8275	1,1041	-1,0235	0,64	4,40	
A_23_P29773	LAMP3	lysosomal-associated membrane protein 3	-1,0726	1,3390	1,6254	0,63	4,20	
A_33_P3248265	LTB	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)	1,2836	2,1007	-1,5021	0,63	4,00	
A_33_P3342375	MAGEA6	melanoma antigen family A, 6	1,9528	1,0276	-1,1034	0,63	3,80	
A_33_P3364836	LOC100132469	hypothetical LOC100132469	1,8559	1,0947	-1,0746	0,63	3,60	
A_23_P59005	TAP1	transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)	-1,0016	1,3073	1,5685	0,62	3,40	
A_24_P311926	HLA-G	major histocompatibility complex, class I, G	-1,0237	1,1477	1,7453	0,62	3,20	
A_33_P3447441	DKFZp667E0512	Data not found	1,7710	1,0940	-1,0037	0,62	3,00	
A_33_P3248265	LTB	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)	1,2580	2,0275	-1,4251	0,62	2,80	
A_23_P90172	PPP1R15A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15A	1,7892	1,1064	-1,0472	0,62	2,60	
A_23_P69383	PARP9	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 9	-1,0782	1,1527	1,7735	0,62	2,40	
A_23_P90172	PPP1R15A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15A	1,7857	1,1118	-1,0547	0,61	2,20	
A_33_P3219090	INSIG1	insulin induced gene 1	1,6051	-1,2587	1,4911	0,61	2,00	
A_33_P3267865	ENST00000376793	Data not found	-1,1598	1,2101	1,7859	0,61	1,80	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9228	-1,1490	1,0587	0,61	1,60	
A_19_P00320798	lincRNA:chr1:86019964-86020757_R	Data not found	1,7313	1,1916	-1,0983	0,61	1,40	
A_23_P111888	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	-1,0150	1,4827	1,3537	0,61	1,20	
A_24_P160401	CDCP1	CUB domain containing protein 1	-1,1496	1,1817	1,7873	0,61	-1,20	
A_23_P38346	DHX58	DEXH (Asp-Glu-X-His) box polypeptide 58	-1,0077	1,1680	1,6574	0,61	-1,40	
A_24_P303091	CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 10	-1,1629	1,8364	1,1397	0,60	-1,60	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9228	-1,1272	1,0132	0,60	-1,80	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0065	1,1584	1,6520	0,60	-2,00	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0118	1,1328	1,6693	0,60	-2,20	
A_24_P311926	HLA-G	major histocompatibility complex, class I, G	-1,0112	1,1310	1,6613	0,59	-2,40	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0153	1,1374	1,6572	0,59	-2,60	
A_33_P3258824	NOTCH2	notch 2	-1,0497	1,2271	1,5959	0,59	-2,80	
A_33_P3314643	SPEF1	sperm flagellar 1	1,7299	1,0606	-1,0226	0,59	-3,00	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4533	1,3190	-1,0045	0,59	-3,20	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0221	1,1312	1,6563	0,59	-3,40	
A_33_P3234571	MAP2K3	mitogen-activated protein kinase kinase 3	1,7419	1,0282	-1,0056	0,59	-3,60	
A_33_P3282963	ENST00000377259	Data not found	1,7979	1,0918	-1,1265	0,59	-3,80	
A_23_P216655	TRIM14	tripartite motif containing 14	-1,0131	1,0691	1,7057	0,59	-4,00	
A_32_P69368	ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	1,6880	1,1080	-1,0370	0,59	-4,20	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0426	1,1466	1,6547	0,59	-4,40	
A_33_P3370094	MME	membrane metallo-endopeptidase	-1,0042	1,2065	1,5451	0,58	-4,60	
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0338	1,1117	1,6693	0,58	-4,80	
A_19_P00319518	lincRNA:chr17:62761200-62761742_R	Data not found	1,8989	1,0057	-1,1600	0,58	-5,00	
A_23_P56938	REL	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog (avian)	1,5761	1,1723	-1,0158	0,58		
A_23_P329870	RHBDF2	rhomboid 5 homolog 2 (Drosophila)	-1,0101	1,3476	1,3912	0,58		
A_23_P105794	EPSTI1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	-1,0194	1,1691	1,5786	0,58		
A_32_P69368	ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	1,7221	1,0871	-1,0824	0,58		
A_33_P3389286	SFN	stratifin	1,7212	1,0346	-1,0296	0,58		
A_23_P373598	MAFK	In multiple Geneids	1,6254	1,1145	-1,0167	0,57		
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4580	1,2712	-1,0065	0,57		
A_33_P3347928	CCNL1	Cyclin L1	1,7370	1,0772	-1,0957	0,57		
A_23_P217379	COL4A6	collagen, type IV, alpha 6	-1,0826	1,0044	1,7951	0,57		
A_23_P217379	COL4A6	collagen, type IV, alpha 6	-1,0102	1,0449	1,6755	0,57		
A_33_P3342628	HES4	hairy and enhancer of split 4 (Drosophila)	1,6029	-1,0127	1,1168	0,57		
A_23_P134854	CLDN23	claudin 23	1,7379	-1,0890	1,0543	0,57		
A_23_P111402	RSPO3	R-spondin 3 homolog (Xenopus laevis)	-1,0206	1,3289	1,3949	0,57		

A_23_P105794	EPST11	epithelial stromal interaction 1 (breast)	-1,0114	1,0849	1,6254	0,57		
A_23_P20494	NDRG1	N-myc downstream regulated 1	1,5477	-1,1020	1,2511	0,57		
A_23_P408353	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0391	1,1348	1,6011	0,57		
A_23_P65442	IRF9	interferon regulatory factor 9	-1,0458	1,1606	1,5819	0,57		
A_33_P3212645	NOTCH2NL	notch 2 N-terminal like	-1,0436	1,1743	1,5622	0,56		
A_23_P111888	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	-1,1201	1,4709	1,3415	0,56		
A_24_P260101	MME	membrane metallo-endopeptidase	-1,0268	1,1583	1,5562	0,56	5,00	
A_23_P74981	ZNF670	zinc finger protein 670	1,6607	1,1100	-1,0851	0,56	4,80	
A_23_P1682	TMEM45B	transmembrane protein 45B	-1,0126	1,0644	1,6315	0,56	4,60	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4379	1,2854	-1,0437	0,56	4,40	
A_23_P20494	NDRG1	N-myc downstream regulated 1	1,5427	-1,0808	1,2168	0,56	4,20	
A_24_P287043	IFITM2	interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D)	-1,0151	1,0843	1,5966	0,56	4,00	
A_23_P75786	SLC15A3	solute carrier family 15, member 3	-1,0520	1,2460	1,4717	0,56	3,80	
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	-1,0087	1,1827	1,4915	0,56	3,60	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,4671	1,2575	-1,0600	0,55	3,40	
A_33_P3379962	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0446	1,1559	1,5530	0,55	3,20	
A_23_P105794	EPST11	epithelial stromal interaction 1 (breast)	-1,0546	1,1646	1,5529	0,55	3,00	
A_24_P125469	LIPG	lipase, endothelial	1,0595	-1,0670	1,6682	0,55	2,80	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0927	1,0235	-1,4643	0,55	2,60	
A_23_P90311	TICAM1	toll-like receptor adaptor molecule 1	1,5256	1,1310	-1,0108	0,55	2,40	
A_24_P355267	SLC25A25	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 25	1,7394	1,0200	-1,1142	0,55	2,20	
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,6232	1,0712	-1,0498	0,55	2,00	
A_23_P374844	GAL	Galanin prepropeptide	-1,0059	1,1149	1,5308	0,55	1,80	
A_33_P3379939	HLA-F	major histocompatibility complex, class I, F	-1,0938	1,1701	1,5622	0,55	1,60	
A_23_P105794	EPST11	epithelial stromal interaction 1 (breast)	-1,0398	1,0879	1,5885	0,55	1,40	
A_23_P107587	NPC1	In multiple Geneids	-1,0189	1,0877	1,5628	0,54	1,20	
A_23_P340333	ITPRIP	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein	1,5147	1,1090	-1,0079	0,54	-1,20	
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	-1,0275	1,1906	1,4504	0,54	-1,40	
A_33_P3379962	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	-1,0538	1,1454	1,5200	0,54	-1,60	
A_23_P110196	HERC5	hect domain and RLD 5	-1,0038	1,4050	1,2100	0,54	-1,80	
A_23_P345118	PIM1	pim-1 oncogene	1,6104	-1,0701	1,0627	0,53	-2,00	
A_23_P383422	NFKBID	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, delta	1,4845	1,1434	-1,0255	0,53	-2,20	
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,8088	-1,0364	-1,1709	0,53	-2,40	
A_23_P151506	PLEK2	pleckstrin 2	1,0462	-1,0460	1,5968	0,53	-2,60	
A_23_P92230	TSC22D2	TSC22 domain family, member 2	1,5516	1,0720	-1,0310	0,53	-2,80	
A_23_P30024	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	1,3658	1,2343	-1,0079	0,53	-3,00	
A_23_P145957	TPK1	thiamin pyrophosphokinase 1	-1,0003	1,1309	1,4454	0,53	-3,20	
A_33_P3233150	ZSWIM4	zinc finger, SWIM-type containing 4	1,5402	1,1453	-1,1114	0,52	-3,40	
A_23_P113748	ZNF385D	zinc finger protein 385D	-1,0612	1,0935	1,5411	0,52	-3,60	
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,7236	-1,0208	-1,1322	0,52	-3,80	
A_23_P63798	KLF6	Kruppel-like factor 6	1,5870	1,0073	-1,0243	0,52	-4,00	
A_23_P62890	GBP1	guanylate binding protein 1, interferon-inducible	-1,1452	1,2482	1,4668	0,52	-4,20	
A_33_P3214650	TAP2	transporter 2, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)	-1,0474	1,1873	1,4270	0,52	-4,40	
A_33_P3376031	ENST00000382225	Data not found	1,6694	1,0293	-1,1321	0,52	-4,60	
A_24_P237175	CST2	cystatin SA	-1,0588	1,0887	1,5353	0,52	-4,80	
A_24_P48204	SECTM1	secreted and transmembrane 1	-1,0304	1,0502	1,5396	0,52	-5,00	
A_33_P3324909	JUND	jun D proto-oncogene	1,5618	1,0674	-1,0700	0,52		
A_23_P96158	KRT17	keratin 17	1,5437	1,0377	-1,0231	0,52		
A_23_P131208	NR4A2	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	3,5930	-1,0235	-1,0116	0,52		
A_23_P65442	IRF9	interferon regulatory factor 9	-1,1837	1,1664	1,5705	0,52		
A_23_P145957	TPK1	thiamin pyrophosphokinase 1	-1,0539	1,1110	1,4954	0,52		
A_32_P86739	C10orf114	In multiple Geneids	1,6891	1,0713	-1,2085	0,52		
A_33_P3284715	SCARNA7	small Cajal body-specific RNA 7	1,6629	1,0003	-1,1137	0,52		
A_24_P335620	SLC7A5	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 5	-1,0034	1,0841	1,4686	0,52		
A_33_P3370434	LOC100130128	hypothetical LOC100130128	1,5661	-1,0872	1,0700	0,52		
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,7973	-1,0552	-1,1941	0,52		
A_23_P65918	ITPKA	inositol-trisphosphate 3-kinase A	1,2234	-1,0263	1,3498	0,52		
A_24_P337058	CCNL1	Cyclin L1	1,6271	1,0255	-1,1077	0,51		
A_23_P126103	CTH	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)	-1,0213	1,0509	1,5149	0,51		

A_23_P433188	GZF1	GDNF-inducible zinc finger protein 1	1,6709	1,0192	-1,1457	0,51	
A_23_P320261	DMKN	dermokine	1,5252	-1,0128	1,0312	0,51	
A_23_P40453	CBR3	carbonyl reductase 3	-1,0952	1,2321	1,4050	0,51	
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,5876	-1,0878	1,0370	0,51	
A_24_P125469	LIPG	lipase, endothelial	1,0275	-1,0942	1,6034	0,51	
A_23_P121702	OCIA2	OCIA domain containing 2	-1,0136	1,1500	1,3983	0,51	
A_23_P107587	NPC1	In multiple Geneids	-1,0805	1,0492	1,5657	0,51	5,00
A_23_P361584	TMEM154	transmembrane protein 154	1,0992	-1,0206	1,4533	0,51	4,80
A_33_P3550894	GATA2	GATA binding protein 2	1,5421	1,0204	-1,0306	0,51	4,60
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,5173	1,0510	-1,0400	0,51	4,40
A_23_P382188	STAP2	signal transducing adaptor family member 2	-1,0246	1,3027	1,2448	0,51	4,20
A_33_P3418120	IPPK	inositol 1,3,4,5,6-pentakisphosphate 2-kinase	1,5247	1,0136	-1,0179	0,51	4,00
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,5388	1,0162	-1,0350	0,51	3,80
A_23_P29922	TLR3	toll-like receptor 3	-1,0769	1,1575	1,4365	0,51	3,60
A_23_P389250	C12orf70	chromosome 12 open reading frame 70	-1,0197	1,0379	1,4956	0,50	3,40
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,6925	-1,0384	-1,1425	0,50	3,20
A_33_P3220837	MAFB	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)	1,8243	1,0368	-1,3507	0,50	3,00
A_23_P138680	IL15RA	interleukin 15 receptor, alpha	-1,0122	1,1405	1,3812	0,50	2,80
A_32_P116556	ZNF469	zinc finger protein 469	1,3986	1,1127	-1,0027	0,50	2,60
A_24_P260101	MME	membrane metallo-endopeptidase	-1,1386	1,0776	1,5692	0,50	2,40
A_33_P3396607	UGDH	UDP-glucose 6-dehydrogenase	-1,0199	1,1820	1,3462	0,50	2,20
A_23_P382188	STAP2	signal transducing adaptor family member 2	-1,0354	1,3950	1,1478	0,50	2,00
A_24_P16124	IFITM4P	interferon induced transmembrane protein 4 pseudogene	-1,0530	1,1292	1,4293	0,50	1,80
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,5480	-1,0564	1,0132	0,50	1,60
A_23_P211047	BACH1	BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper transcription factor 1	1,4849	-1,0039	1,0208	0,50	1,40
A_24_P286465	PURB	purine-rich element binding protein B	1,4685	1,1127	-1,0821	0,50	1,20
A_23_P110196	HERC5	hect domain and RLD 5	-1,0057	1,3977	1,1059	0,50	-1,20
A_23_P75741	UBE2L6	ubiquitin-conjugating enzyme E2L 6	-1,0682	1,0741	1,4907	0,50	-1,40
A_23_P87150	LPXN	leupaxin	-1,0213	1,2988	1,2184	0,50	-1,60
A_23_P120002	SP110	SP110 nuclear body protein	-1,0560	1,2989	1,2523	0,50	-1,80
A_23_P368145	GORAB	golgin, RAB6-interacting	1,4754	1,0650	-1,0455	0,50	-2,00
A_23_P119857	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	-1,0255	1,1541	1,3649	0,50	-2,20
A_23_P426305	AOC3	amine oxidase, copper containing 3 (vascular adhesion protein 1)	1,3988	1,0988	-1,0054	0,50	-2,40
A_24_P15502	ENST00000399573	Data not found	-1,0646	1,1025	1,4523	0,50	-2,60
A_24_P882732	ENST00000300992	Data not found	1,5106	1,0382	-1,0601	0,50	-2,80
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,5550	1,0280	-1,0983	0,49	-3,00
A_23_P75741	UBE2L6	ubiquitin-conjugating enzyme E2L 6	-1,0313	1,0265	1,4872	0,49	-3,20
A_23_P65427	PSME2	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta)	-1,0614	1,2550	1,2869	0,49	-3,40
A_23_P40453	CBR3	carbonyl reductase 3	-1,0924	1,1487	1,4183	0,49	-3,60
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,4988	-1,0651	1,0406	0,49	-3,80
A_23_P259692	PSAT1	phosphoserine aminotransferase 1	-1,0900	1,0335	1,5286	0,49	-4,00
A_33_P3276475	CHMP1B	chromatin modifying protein 1B	1,4338	-1,0363	1,0716	0,49	-4,20
A_33_P3407606	A_33_P3407606	Data not found	1,4034	1,0744	-1,0086	0,49	-4,40
A_32_P175739	HK2	hexokinase 2	-1,0351	1,1677	1,3356	0,49	-4,60
A_23_P166248	RCAN1	regulator of calcineurin 1	1,4236	1,0499	-1,0089	0,49	-4,80
A_33_P3214650	TAP2	transporter 2, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)	-1,1281	1,2081	1,3794	0,49	-5,00
A_24_P117029	LDLR	low density lipoprotein receptor	1,2059	-1,0781	1,3315	0,49	
A_23_P28334	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	1,4722	1,0022	-1,0168	0,49	
A_24_P398810	EIF5	eukaryotic translation initiation factor 5	1,4855	1,0597	-1,0880	0,49	
A_23_P51936	TNFRSF9	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	1,3708	-1,0088	1,0939	0,49	
A_24_P329065	BTN3A1	butyrophilin, subfamily 3, member A1	-1,1132	1,1380	1,4309	0,49	
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,0755	1,0734	1,4560	0,48	
A_23_P415643	ZNF48	In multiple Geneids	1,5395	1,0215	-1,1092	0,48	
A_24_P117029	LDLR	low density lipoprotein receptor	1,2159	-1,0828	1,3173	0,48	
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,0636	1,1857	1,3200	0,48	
A_24_P156288	GZF1	GDNF-inducible zinc finger protein 1	1,4108	1,0536	-1,0226	0,48	
A_33_P3357658	HMGGA2	high mobility group AT-hook 2	-1,0048	1,1770	1,2671	0,48	
A_23_P65427	PSME2	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta)	-1,0335	1,2285	1,2437	0,48	
A_23_P418031	IFFO2	intermediate filament family orphan 2	1,4422	1,0092	-1,0131	0,48	

A_23_P422178	CUL4B	cullin 4B	-1,0809	1,0162	1,5029	0,48	
A_23_P46725	EPC1	enhancer of polycomb homolog 1 (Drosophila)	1,5775	1,0150	-1,1579	0,48	
A_24_P414376	KLF3	Kruppel-like factor 3 (basic)	1,4051	1,0564	-1,0272	0,48	
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,1128	1,0481	1,4945	0,48	
A_24_P252364	NRCAM	neuronal cell adhesion molecule	-1,0372	1,0732	1,3933	0,48	
A_23_P120062	C2orf3	chromosome 2 open reading frame 3	-1,0106	1,0972	1,3418	0,48	
A_23_P89460	AATF	apoptosis antagonizing transcription factor	-1,0075	1,1780	1,2551	0,48	5,00
A_32_P460973	HLA-E	major histocompatibility complex, class I, E	-1,0430	1,1136	1,3499	0,47	4,80
A_23_P36658	MGST1	microsomal glutathione S-transferase 1	-1,1101	1,0254	1,5012	0,47	4,60
A_33_P3267296	FKBP11	FK506 binding protein 11, 19 kDa	-1,0341	1,0647	1,3805	0,47	4,40
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,4737	-1,0890	1,0253	0,47	4,20
A_23_P202978	CASP1	caspace 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	-1,0504	1,1513	1,3056	0,47	4,00
A_23_P357985	RGPD6	RANBP2-like and GRIP domain containing 6	1,3472	1,0571	-1,0003	0,47	3,80
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,6169	-1,0350	-1,1794	0,47	3,60
A_23_P61050	MLKL	mixed lineage kinase domain-like	-1,0269	1,1415	1,2867	0,47	3,40
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,1240	1,0470	1,4743	0,47	3,20
A_23_P30243	ERAP2	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	-1,0422	1,2034	1,2353	0,47	3,00
A_23_P68087	ATIC	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	-1,0342	1,1328	1,2977	0,47	2,80
A_23_P35654	BAG2	BCL2-associated athanogene 2	-1,0930	1,1302	1,3585	0,47	2,60
A_23_P28334	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	1,3818	1,0757	-1,0620	0,47	2,40
A_23_P394605	SEC24A	SEC24 family, member A (S. cerevisiae)	1,3719	1,0482	-1,0249	0,47	2,20
A_23_P31453	STEAP1	six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1	-1,0078	1,0601	1,3416	0,46	2,00
A_23_P8961	IL7	interleukin 7	-1,0769	1,1116	1,3558	0,46	1,80
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,5790	-1,0296	-1,1607	0,46	1,60
A_19_P00808865	lincRNA:chr21:44751672-44819297_R	Data not found	1,3590	-1,0395	1,0687	0,46	1,40
A_23_P55544	CCBE1	collagen and calcium binding EGF domains 1	-1,0197	1,0199	1,3842	0,46	1,20
A_33_P3345534	KRT14	keratin 14	1,3808	1,0119	-1,0086	0,46	-1,20
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,0534	1,0710	1,3648	0,46	-1,40
A_23_P113748	ZNF385D	zinc finger protein 385D	-1,0984	1,1651	1,3143	0,46	-1,60
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,0913	1,0406	1,4311	0,46	-1,80
A_33_P3276475	CHMP1B	chromatin modifying protein 1B	1,3574	-1,0257	1,0464	0,46	-2,00
A_32_P155460	NCRNA00162	non-protein coding RNA 162	1,3484	-1,0177	1,0440	0,46	-2,20
A_23_P143958	RPL22L1	In multiple Geneids	-1,0248	1,1580	1,2410	0,46	-2,40
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,5634	-1,0113	-1,1793	0,46	-2,60
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,0009	1,0364	1,3356	0,46	-2,80
A_32_P213831	FAM40B	family with sequence similarity 40, member B	-1,0576	1,0924	1,3361	0,46	-3,00
A_24_P413126	PMEPA1	prostate transmembrane protein, androgen induced 1	1,4356	1,0380	-1,1039	0,46	-3,20
A_23_P102320	NUP35	nucleoporin 35kDa	-1,0193	1,0997	1,2892	0,46	-3,40
A_23_P371410	PRKACB	protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta	-1,0308	1,1059	1,2942	0,46	-3,60
A_23_P423926	SS18L1	synovial sarcoma translocation gene on chromosome 18-like 1	1,4014	1,0705	-1,1059	0,46	-3,80
A_33_P3783812	C8orf60	chromosome 8 open reading frame 60	1,4077	1,0296	-1,0728	0,45	-4,00
A_23_P397238	FKBP1A	FK506 binding protein 1A, 12kDa	-1,0708	1,0946	1,3395	0,45	-4,20
A_33_P3766959	TDP1	tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	-1,0049	1,1067	1,2613	0,45	-4,40
A_23_P132644	NCEH1	neutral cholesterol ester hydrolase 1	-1,0410	1,0874	1,3164	0,45	-4,60
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,0969	1,0322	1,4270	0,45	-4,80
A_33_P3377911	A_33_P3377911	Data not found	1,3729	1,0080	-1,0196	0,45	-5,00
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,0633	1,0952	1,3285	0,45	
A_33_P3240295	A_33_P3240295	Data not found	-1,0084	1,1510	1,2177	0,45	
A_33_P3281066	ZNF295	zinc finger protein 295	1,3667	1,0588	-1,0661	0,45	
A_33_P3351536	PTK2B	protein tyrosine kinase 2 beta	1,0318	-1,0078	1,3331	0,45	
A_23_P114903	HSPA6	heat shock 70kDa protein 6 (HSP70B')	1,3819	-1,0453	1,0194	0,45	
A_23_P26254	NDUFAF1	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, assembly factor 1	-1,0565	1,0902	1,3206	0,45	
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,0990	1,0413	1,4119	0,45	
A_24_P887857	A_24_P887857	Data not found	1,4114	1,0661	-1,1241	0,45	
A_23_P36658	MGST1	microsomal glutathione S-transferase 1	-1,1476	1,0398	1,4607	0,45	
A_23_P102320	NUP35	nucleoporin 35kDa	-1,0018	1,0700	1,2840	0,45	
A_33_P3215768	GALNT6	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6 (GalNAc-T6)	-1,0486	1,0064	1,3925	0,45	
A_23_P131227	TTC27	tetratricopeptide repeat domain 27	-1,0228	1,1716	1,2015	0,45	
A_32_P460973	HLA-E	major histocompatibility complex, class I, E	-1,0495	1,0621	1,3373	0,45	

A_23_P149200	CDC20	cell division cycle 20 homolog ( <i>S. cerevisiae</i> )	-1,1737	1,2754	1,2468	0,45	
A_23_P143047	ATP6V1E2	ATPase, H <sup>+</sup> transporting, lysosomal 31kDa, V1 subunit E2	-1,0186	1,0506	1,3160	0,45	
A_33_P3253807	CEBPγ	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), gamma	1,2221	-1,0151	1,1402	0,45	
A_33_P3531857	DARS	aspartyl-tRNA synthetase	-1,0318	1,1081	1,2706	0,45	
A_23_P142750	EIF2AK2	eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 2	-1,0029	1,0209	1,3222	0,45	
A_23_P418234	PHLPP2	PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase 2	1,3469	1,0196	-1,0268	0,45	
A_23_P203900	SCARB1	scavenger receptor class B, member 1	-1,0214	1,0280	1,3326	0,45	5,00
A_23_P75811	SLC3A2	solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2	-1,0280	1,0363	1,3308	0,45	4,80
A_33_P3531857	DARS	aspartyl-tRNA synthetase	-1,0666	1,0968	1,3086	0,45	4,60
A_33_P3226985	CDK5R1	cyclin-dependent kinase 5, regulatory subunit 1 (p35)	1,3628	-1,0321	1,0080	0,45	4,40
A_33_P3672756	LOC284561	hypothetical LOC284561	-1,0152	1,0595	1,2943	0,45	4,20
A_23_P143713	APOBEC3G	In multiple Geneids	-1,0529	1,0018	1,3868	0,45	4,00
A_32_P163089	C12orf75	chromosome 12 open reading frame 75	-1,0111	1,0003	1,3463	0,45	3,80
A_23_P122805	TMEM209	transmembrane protein 209	-1,0720	1,1374	1,2696	0,44	3,60
A_33_P3238052	C12orf24	chromosome 12 open reading frame 24	-1,0575	1,0836	1,3088	0,44	3,40
A_23_P119886	GCKR	glucokinase (hexokinase 4) regulator	-1,0363	1,0138	1,3569	0,44	3,20
A_23_P21033	GMPS	guanine monophosphate synthetase	-1,0255	1,0920	1,2645	0,44	3,00
A_24_P38081	FKBP5	FK506 binding protein 5	-1,0406	1,0295	1,3413	0,44	2,80
A_24_P365975	COL8A2	collagen, type VIII, alpha 2	1,0114	-1,1057	1,4235	0,44	2,60
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,0237	1,0780	1,2725	0,44	2,40
A_23_P371410	PRKACB	protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta	-1,0291	1,0360	1,3197	0,44	2,20
A_33_P3339212	TRIP13	thyroid hormone receptor interactor 13	-1,0274	1,0486	1,3041	0,44	2,00
A_32_P164246	FOXQ1	forkhead box Q1	1,4128	-1,0944	1,0049	0,44	1,80
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,1035	1,0420	1,3839	0,44	1,60
A_23_P128375	C12orf34	chromosome 12 open reading frame 34	1,3852	1,0220	-1,0864	0,44	1,40
A_23_P37441	B2M	beta-2-microglobulin	-1,1795	1,0979	1,4013	0,44	1,20
A_33_P3807062	HJURP	Holliday junction recognition protein	-1,0672	1,1065	1,2790	0,44	-1,20
A_23_P201939	PPM1J	protein phosphatase, Mg <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup> dependent, 1J	-1,0935	1,0933	1,3178	0,44	-1,40
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,0735	1,1569	1,2342	0,44	-1,60
A_23_P25121	FKBP11	FK506 binding protein 11, 19 kDa	-1,1106	1,0599	1,3675	0,44	-1,80
A_23_P121253	TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	-1,0461	1,3239	1,0346	0,44	-2,00
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,0376	1,0512	1,2986	0,44	-2,20
A_23_P149200	CDC20	cell division cycle 20 homolog ( <i>S. cerevisiae</i> )	-1,1279	1,1992	1,2398	0,44	-2,40
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,5691	-1,0683	-1,1910	0,44	-2,60
A_23_P121082	GBE1	glucan (1,4-alpha-), branching enzyme 1	-1,0117	1,0313	1,2877	0,44	-2,80
A_33_P3235217	CTPS	CTP synthase	-1,0864	1,1136	1,2784	0,44	-3,00
A_23_P62335	TMLHE	trimethyllysine hydroxylase, epsilon	-1,0205	1,0584	1,2677	0,44	-3,20
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,0994	1,1864	1,2173	0,43	-3,40
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,1003	1,1822	1,2211	0,43	-3,60
A_23_P68087	ATIC	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	-1,1264	1,1781	1,2504	0,43	-3,80
A_23_P255869	C9orf46	chromosome 9 open reading frame 46	-1,0837	1,0651	1,3184	0,43	-4,00
A_19_P00802654	lincRNA:chr3:160210781-160217931_R	Data not found	-1,0323	1,0710	1,2602	0,43	-4,20
A_24_P295010	SERPINB9	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	1,0093	-1,0110	1,2995	0,43	-4,40
A_33_P3256685	TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II	-1,0136	1,0541	1,2543	0,43	-4,60
A_23_P55477	ADORA2B	adenosine A2b receptor	-1,0747	1,0456	1,3226	0,43	-4,80
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,1009	1,1720	1,2219	0,43	-5,00
A_23_P165355	FARSB	phenylalanyl-tRNA synthetase, beta subunit	-1,1302	1,0454	1,3770	0,43	
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,0678	1,1329	1,2250	0,43	
A_24_P261929	IFI27L1	interferon, alpha-inducible protein 27-like 1	1,0832	-1,0566	1,2627	0,43	
A_33_P3255509	FCHO1	FCH domain only 1	-1,0049	1,0157	1,2761	0,43	
A_23_P120062	C2orf3	chromosome 2 open reading frame 3	-1,0638	1,0927	1,2575	0,43	
A_23_P148463	CUL4B	cullin 4B	-1,1676	1,0243	1,4286	0,43	
A_23_P35467	CISD1	CDGSH iron sulfur domain 1	-1,0184	1,0843	1,2142	0,43	
A_23_P122197	CCNB1	cyclin B1	-1,1030	1,1246	1,2570	0,43	
A_23_P120153	RNF149	ring finger protein 149	-1,0235	1,0207	1,2806	0,43	
A_24_P393571	GDA	guanine deaminase	1,3108	1,0253	-1,0588	0,43	
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,0264	1,0723	1,2299	0,43	
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	1,0051	-1,0165	1,2866	0,43	
A_23_P120153	RNF149	ring finger protein 149	-1,0342	1,0413	1,2678	0,42	



A_24_P55250	HDDC2	HD domain containing 2	-1,0818	1,0717	1,2847	0,42		
A_23_P149992	PDLM1	PDZ and LIM domain 1	-1,1090	1,0884	1,2944	0,42		
A_24_P330518	CA12	carbonic anhydrase XII	-1,0569	1,0674	1,2632	0,42		
A_23_P121253	TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	-1,0470	1,2507	1,0696	0,42		
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,0675	1,0426	1,2980	0,42		
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,4756	-1,0295	-1,1735	0,42		
A_33_P3414487	WBSCR22	Williams Beuren syndrome chromosome region 22	-1,0267	1,0870	1,2108	0,42	5,00	
A_33_P3256685	TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II	-1,0061	1,0496	1,2268	0,42	4,80	
A_23_P110661	SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	-1,0555	1,0643	1,2577	0,42	4,60	
A_23_P219197	RGS3	regulator of G-protein signaling 3	1,4222	1,0526	-1,2086	0,42	4,40	
A_23_P92642	ANKHD1	ankyrin repeat and KH domain containing 1	-1,0708	1,0846	1,2516	0,42	4,20	
A_33_P3366102	KLHL7	In multiple Geneids	-1,0443	1,0070	1,3020	0,42	4,00	
A_32_P206698	CKS1B	CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B	-1,0321	1,0272	1,2696	0,42	3,80	
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0240	1,0150	1,2709	0,42	3,60	
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,0813	1,0965	1,2431	0,42	3,40	
A_23_P70249	CDC25C	cell division cycle 25 homolog C (S. pombe)	-1,0301	1,0379	1,2502	0,42	3,20	
A_23_P154037	AOX1	aldehyde oxidase 1	-1,1527	1,0072	1,3984	0,42	3,00	
A_24_P63522	HMGCS1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (soluble)	1,0766	-1,1998	1,3755	0,42	2,80	
A_23_P120153	RMF149	ring finger protein 149	-1,0029	1,0316	1,2231	0,42	2,60	
A_23_P110661	SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	-1,0673	1,0618	1,2566	0,42	2,40	
A_24_P192994	FADS1	fatty acid desaturase 1	1,0155	-1,0111	1,2458	0,42	2,20	
A_24_P38081	FKBP5	FK506 binding protein 5	-1,0583	1,0132	1,2948	0,42	2,00	
A_23_P250404	RAD50	RAD50 homolog (S. cerevisiae)	-1,0012	1,0287	1,2208	0,42	1,80	
A_23_P113005	EFNA1	ephrin-A1	3,4271	-1,0319	-1,1570	0,41	1,60	
A_23_P6596	HES1	hairly and enhancer of split 1, (Drosophila)	3,2620	-1,0115	-1,0129	0,41	1,40	
A_33_P3212650	ENST00000389000	Data not found	-1,1013	1,1154	1,2232	0,41	1,20	
A_23_P88630	BLM	Bloom syndrome, RecQ helicase-like	-1,0399	-1,0090	1,2063	0,41	-1,20	
A_23_P110661	SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	-1,0418	1,0406	1,2370	0,41	-1,40	
A_24_P55148	HIST1H2BJ	histone cluster 1, H2bj	1,3765	-1,1426	1,0015	0,41	-1,60	
A_23_P118174	PLK1	polo-like kinase 1	-1,1633	1,1219	1,2728	0,41	-1,80	
A_33_P3219601	ABL2	v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 2	1,2640	1,0292	-1,0638	0,41	-2,00	
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,0752	1,0335	1,2701	0,41	-2,20	
A_23_P121082	GBE1	glucan (1,4-alpha-), branching enzyme 1	-1,0421	1,0229	1,2464	0,41	-2,40	
A_23_P46539	PSRC1	proline/serine-rich coiled-coil 1	-1,0347	1,0419	1,2185	0,41	-2,60	
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,1003	1,0701	1,2554	0,41	-2,80	
A_23_P212213	THUMP3	THUMP domain containing 3	-1,1307	1,0499	1,3021	0,41	-3,00	
A_23_P117494	MTHFD1	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1	-1,0678	1,0590	1,2295	0,41	-3,20	
A_23_P110661	SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	-1,0876	1,0873	1,2157	0,41	-3,40	
A_24_P360269	RNASET2	ribonuclease T2	-1,0690	1,0096	1,2741	0,40	-3,60	
A_23_P250404	RAD50	RAD50 homolog (S. cerevisiae)	-1,0160	1,0224	1,2081	0,40	-3,80	
A_23_P154235	NMI	N-myc (and STAT) interactor	-1,1062	1,0146	1,3059	0,40	-4,00	
A_23_P117494	MTHFD1	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1	-1,0395	1,0505	1,2023	0,40	-4,20	
A_23_P102770	NAT5	Data not found	-1,0587	1,0659	1,2060	0,40	-4,40	
A_23_P120316	MTHFD2	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 2	-1,0429	1,0123	1,2436	0,40	-4,60	
A_23_P27947	PDCD2L	programmed cell death 2-like	-1,1829	1,1046	1,2865	0,40	-4,80	
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,1215	1,0879	1,2402	0,40	-5,00	
A_19_P00326732	lincRNA:chr6:11118364-11146189_F	Data not found	1,2644	1,0093	-1,0673	0,40		
A_33_P3296205	TSC2D1	TSC22 domain family, member 1	1,2825	-1,1291	1,0515	0,40		
A_23_P209987	POLR1B	polymerase (RNA) I polypeptide B, 128kDa	-1,1077	1,1073	1,2040	0,40		
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,0881	1,0672	1,2239	0,40		
A_23_P251421	CDCA7	cell division cycle associated 7	-1,1269	1,0518	1,2703	0,40		
A_23_P101407	C3	complement component 3	-1,1247	1,0490	1,2705	0,40		
A_23_P140301	PSMA3	proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 3	-1,0953	1,0575	1,2312	0,40		
A_23_P12199	FAM46B	family with sequence similarity 46, member B	1,2480	-1,0648	1,0074	0,40		
A_23_P110661	SKIV2L2	superkiller viralicidic activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	-1,0685	1,0474	1,2118	0,40		
A_23_P148807	CDC7	cell division cycle 7 homolog (S. cerevisiae)	-1,0950	1,0723	1,2116	0,40		
A_23_P60248	TXN	thioredoxin	-1,0864	1,0485	1,2261	0,40		
A_24_P19544	STK39	serine threonine kinase 39	-1,0817	1,0150	1,2502	0,39		
A_23_P163143	ACYP1	acylphosphatase 1, erythrocyte (common) type	-1,0613	1,0264	1,2176	0,39		

A_23_P156852	PECI	Data not found	-1,0694	1,0147	1,2367	0,39		
A_23_P385034	E2F3	E2F transcription factor 3	1,3399	1,0595	-1,2189	0,39		
A_24_P406334	STEAP1	six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1	-1,1391	1,0327	1,2868	0,39		
A_23_P21324	TWIST2	twist homolog 2 (Drosophila)	-1,0929	1,0356	1,2363	0,39		
A_23_P124417	BUB1	budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (yeast)	-1,0328	1,0081	1,2012	0,39		
A_23_P106145	ERO1L	ERO1-like (S. cerevisiae)	-1,1083	1,0472	1,2302	0,39		
A_23_P165355	FAR5B	phenylalanyl-tRNA synthetase, beta subunit	-1,0893	1,0171	1,2402	0,39	5,00	
A_23_P121602	SAP30	Sin3A-associated protein, 30kDa	-1,1151	1,0241	1,2578	0,39	4,80	
A_23_P148047	PTGER4	prostaglandin E receptor 4 (subtype EP4)	-1,1736	1,0503	1,2870	0,39	4,60	
A_23_P148984	DARS2	aspartyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial	-1,1452	1,0080	1,2988	0,39	4,40	
A_23_P219197	RGS3	regulator of G-protein signaling 3	1,4834	1,0258	-1,3559	0,38	4,20	
A_23_P117494	MTHFD1	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1	-1,0852	1,0279	1,2033	0,38	4,00	
A_23_P54622	KIF22	kinesin family member 22	-1,1083	1,0112	1,2430	0,38	3,80	
A_33_P3217465	MID1P1	MID1 interacting protein 1 (gastrulation specific G12 homolog (zebrafish))	-1,1289	1,0238	1,2496	0,38	3,60	
A_23_P7679	NUP155	nucleoporin 155kDa	-1,1261	1,0313	1,2337	0,38	3,40	
A_23_P106145	ERO1L	ERO1-like (S. cerevisiae)	-1,1392	1,0047	1,2547	0,37	3,20	
A_23_P215517	ENST00000410047	Data not found	-1,1250	1,0177	1,2274	0,37	3,00	
A_19_P00316012	lincRNA:chr17:21435739-21477567_R	Data not found	-1,2107	1,0303	1,2965	0,37	2,80	
A_23_P65757	CCNB2	cyclin B2	-1,1206	1,0080	1,2114	0,37	2,60	
A_23_P85783	PHGDH	phosphoglycerate dehydrogenase	1,0046	-1,4300	1,4872	0,35	2,40	
A_23_P85783	PHGDH	phosphoglycerate dehydrogenase	1,0466	-1,3980	1,3930	0,35	2,20	
A_33_P3259393	HAPLN3	hyaluronan and proteoglycan link protein 3	1,1322	1,1171	-1,2560	0,33	2,00	
A_24_P68908	LOC344887	NmrA-like family domain containing 1 pseudogene	-1,4777	1,0987	1,3087	0,31	1,80	
A_19_P00802709	lincRNA:chr3:114031960-114042235_R	Data not found	1,1335	1,0273	-1,2337	0,31	1,60	
A_24_P103886	IDI1	isopentenyl-diphosphate delta isomerase 1	1,0501	-1,2497	1,1093	0,30	1,40	
A_19_P00325352	lincRNA:chr15:64753847-64771422_F	Data not found	1,1149	1,1755	-1,3861	0,30	1,20	
A_33_P3802146	AK131313	Data not found	1,0295	1,1169	-1,2427	0,30	-1,20	
A_23_P104734	STT3A	STT3, subunit of the oligosaccharyltransferase complex, homolog A (S. cerevisiae)	-1,2103	1,0380	1,0592	0,30	-1,40	
A_23_P200801	PDE4DIP	phosphodiesterase 4D interacting protein	-1,4889	1,1673	1,2028	0,29	-1,60	
A_23_P115331	AHDC1	AT hook, DNA binding motif, containing 1	1,0564	1,0466	-1,2378	0,29	-1,80	
A_23_P121806	ENOPH1	enolase-phosphatase 1	-1,2170	1,0363	1,0449	0,29	-2,00	
A_33_P3341722	ENST00000407622	Data not found	1,0401	1,0238	-1,2215	0,28	-2,20	
A_23_P303181	SPHK2	sphingosine kinase 2	1,0093	1,0243	-1,2035	0,28	-2,40	
A_23_P12896	FANCF	Fanconi anemia, complementation group F	-1,2232	1,0174	1,0260	0,27	-2,60	
A_33_P3330952	ATP8A1	ATPase, aminophospholipid transporter (APLT), class I, type 8A, member 1	1,0315	1,0651	-1,3086	0,26	-2,80	
A_33_P3264895	RHEBL1	Ras homolog enriched in brain like 1	-1,3223	1,0099	1,0951	0,26	-3,00	
A_23_P117146	PRDM4	PR domain containing 4	-1,3638	1,0377	1,0366	0,24	-3,20	
A_23_P77859	TMEM88	transmembrane protein 88	2,8977	-1,0177	-1,1756	0,23	-3,40	
A_23_P345928	CL2orf26	chromosome 12 open reading frame 26	1,0516	1,0230	-1,3708	0,23	-3,60	
A_23_P86632	DCLRE1C	DNA cross-link repair 1C	-1,3384	1,0223	1,0044	0,23	-3,80	
A_33_P3218980	ENTPD1	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1	1,0202	1,0250	-1,3596	0,23	-4,00	
A_23_P397347	MCM9	minichromosome maintenance complex component 9	-1,3407	1,0092	1,0167	0,23	-4,20	
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	1,0153	1,0075	-1,3385	0,23	-4,40	
A_24_P400324	THSD7A	thrombospondin, type I, domain containing 7A	1,0379	1,0379	-1,4068	0,22	-4,60	
A_33_P3503537	LOC285178	hypothetical protein LOC285178	1,0851	1,0152	-1,4447	0,22	-4,80	
A_23_P65262	NEDD4	NEDD4 binding protein 2-like 2	1,0591	1,0114	-1,4318	0,21	-5,00	
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	1,0072	1,0185	-1,3969	0,21		
A_23_P113111	AR	androgen receptor	1,1083	1,0317	-1,5136	0,21		
A_33_P3299781	ENST00000380201	Data not found	-1,5383	1,0782	1,0807	0,21		
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	1,0119	1,0234	-1,6334	0,13		
A_33_P3263217	LRRC4	Leucine rich repeat containing 4	2,8127	-1,2008	-1,2293	0,13		
A_23_P55518	SMAD7	SMAD family member 7	2,5508	-1,0043	-1,2238	0,11		
A_23_P58266	S100P	S100 calcium binding protein P	2,3069	-1,0140	-1,1000	0,06		
A_32_P234184	HESS	Hairy and enhancer of split 5 (Drosophila)	2,2973	-1,0752	-1,0649	0,05		
A_23_P55518	SMAD7	SMAD family member 7	2,4722	-1,0231	-1,3010	0,05		
A_23_P501080	ZNF92	Zinc finger protein 92	2,2562	-1,0286	-1,0911	0,05		
A_33_P3299066	NR4A2	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	2,1766	-1,0206	-1,0528	0,03		
A_19_P00320322	lincRNA:chr17:62761217-62762236_R	Data not found	2,4495	-1,0307	-1,3492	0,02		
A_23_P28598	DLX2	distal-less homeobox 2	2,1515	-1,0865	-1,0160	0,02		

A_24_P287473	SAV1	salvador homolog 1 (Drosophila)	2,1252	-1,0129	-1,0752	0,01		
A_33_P3263217	LRRC4	Leucine rich repeat containing 4	2,5040	-1,2494	-1,2449	0,00		
A_23_P167367	PITX2	paired-like homeodomain 2	2,1063	-1,1136	-1,0107	-0,01		
A_23_P365738	ARC	Activity-regulated cytoskeleton-associated protein	2,0298	-1,0468	-1,0186	-0,01		
A_33_P3337272	NRARP	NOTCH-regulated ankyrin repeat protein	2,3205	-1,1751	-1,1965	-0,02		
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	2,0157	-1,0612	-1,0375	-0,03		
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9834	-1,0798	-1,0196	-0,04	5,00	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	2,0069	-1,0730	-1,0543	-0,04	4,80	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	2,0191	-1,1266	-1,0132	-0,04	4,60	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9885	-1,1138	-1,0115	-0,05	4,40	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,9976	-1,0521	-1,0884	-0,05	4,20	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9694	-1,1512	-1,0087	-0,06	4,00	
A_33_P3299416	GRASP	GRP1 (general receptor for phosphoinositides 1)-associated scaffold protein	1,9252	-1,0031	-1,1223	-0,07	3,80	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,9183	-1,0909	-1,0369	-0,07	3,60	
A_33_P3342375	MAGEA6	melanoma antigen family A, 6	1,8657	-1,0957	-1,0339	-0,09	3,40	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,8944	-1,1202	-1,0402	-0,09	3,20	
A_33_P3389342	ARID5A	AT rich interactive domain 5A (MRF1-like)	1,7824	-1,0292	-1,0348	-0,09	3,00	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,9676	-1,1079	-1,1451	-0,10	2,80	
A_24_P317762	LY6E	lymphocyte antigen 6 complex, locus E	-1,0377	-1,0129	1,7631	-0,10	2,60	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,8379	-1,0317	-1,0966	-0,10	2,40	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,9348	-1,1771	-1,0619	-0,10	2,20	
A_33_P3728698	FLJ45248	FLJ45248 protein	1,8269	-1,0225	-1,1152	-0,10	2,00	
A_33_P3227904	SLC25A34	solute carrier family 25, member 34	1,7417	-1,0176	-1,0501	-0,11	1,80	
A_23_P118392	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	1,8514	-1,1627	-1,0247	-0,11	1,60	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,8432	-1,0622	-1,1226	-0,11	1,40	
A_33_P3333224	GLIS2	GLIS family zinc finger 2	1,7637	-1,0267	-1,0822	-0,12	1,20	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,1033	-1,0306	-1,4372	-0,12	-1,20	
A_33_P3252068	JHDM1D	jumonji C domain containing histone demethylase 1 homolog D (S. cerevisiae)	1,6812	-1,0048	-1,0497	-0,12	-1,40	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,8125	-1,1348	-1,0543	-0,13	-1,60	
A_24_P76018	C3orf71	chromosome 3 open reading frame 71	1,6800	-1,0117	-1,0507	-0,13	-1,80	
A_23_P129695	VASN	vasorin	1,7427	-1,0807	-1,0462	-0,13	-2,00	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,1383	-1,0590	-1,4663	-0,13	-2,20	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,8342	-1,1455	-1,0938	-0,14	-2,40	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0994	-1,0487	-1,4723	-0,14	-2,60	
A_33_P3389286	SFN	stratifin	1,6767	-1,0163	-1,0998	-0,15	-2,80	
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,6594	-1,0256	-1,0777	-0,15	-3,00	
A_33_P3258392	EDN1	endothelin 1	2,2215	-1,0825	-1,5833	-0,15	-3,20	
A_23_P113701	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1,8108	-1,1554	-1,1166	-0,15	-3,40	
A_24_P120934	GADD45G	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	1,6159	-1,0303	-1,0469	-0,15	-3,60	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0557	-1,0589	-1,4590	-0,15	-3,80	
A_33_P3268124	ZNF654	zinc finger protein 654	1,6042	-1,0254	-1,0436	-0,15	-4,00	
A_23_P217845	RGS16	regulator of G-protein signaling 16	1,5533	-1,0204	-1,0054	-0,16	-4,20	
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0950	-1,0664	-1,5158	-0,16	-4,40	
A_24_P317762	LY6E	lymphocyte antigen 6 complex, locus E	-1,1048	-1,0542	1,6710	-0,16	-4,60	
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,6099	-1,0626	-1,0426	-0,17	-4,80	
A_23_P216476	ZBTB5	zinc finger and BTB domain containing 5	1,5808	-1,0184	-1,0602	-0,17	-5,00	
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,5847	-1,0360	-1,0561	-0,17		
A_23_P376704	CIDEA	cell death-inducing DFFA-like effector a	-1,0210	-1,0133	1,5265	-0,17		
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0642	-1,0425	-1,5328	-0,17		
A_33_P3398862	RHOB	ras homolog gene family, member B	1,8407	-1,0035	-1,3507	-0,17		
A_33_P3258392	EDN1	endothelin 1	2,1763	-1,0764	-1,6208	-0,17		
A_33_P3220470	SMAD6	SMAD family member 6	1,9803	-1,3023	-1,2000	-0,17		
A_23_P125423	C1R	complement component 1, r subcomponent	-1,0131	-1,0905	1,5776	-0,18		
A_33_P3314176	FAM46C	family with sequence similarity 46, member C	1,5679	-1,0447	-1,0596	-0,18		
A_23_P61398	PIM3	pim-3 oncogene	1,6983	-1,0211	-1,2164	-0,18		
A_23_P51646	PLK3	polo-like kinase 3	1,5307	-1,0147	-1,0568	-0,18		
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0794	-1,0529	-1,5688	-0,18		
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	2,0482	-1,0402	-1,5548	-0,18		
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,5243	-1,0387	-1,0327	-0,18		

A_23_P376704	CIDEA	cell death-inducing DFFA-like effector a	-1,0219	-1,0714	1,5328	-0,19		
A_23_P422178	CUL4B	cullin 4B	-1,0786	-1,0349	1,5496	-0,19		
A_23_P51646	PLK3	polo-like kinase 3	1,4472	-1,0020	-1,0105	-0,19		
A_23_P156667	PPP1R10	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 10	1,4544	-1,0046	-1,0159	-0,19		
A_23_P156826	C6orf105	chromosome 6 open reading frame 105	-1,0088	-1,0604	1,5006	-0,19		
A_23_P214821	EDN1	endothelin 1	1,9928	-1,0528	-1,5138	-0,19		
A_23_P253958	LRRC17	leucine rich repeat containing 17	-1,0066	-1,0307	1,4625	-0,19	5,00	
A_23_P86386	ZNF669	zinc finger protein 669	1,4414	-1,0277	-1,0025	-0,20	4,80	
A_23_P96158	KRT17	keratin 17	1,5296	-1,1149	-1,0072	-0,20	4,60	
A_33_P3406493	GABBR2	gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor, 2	-1,0436	-1,0183	1,4656	-0,20	4,40	
A_23_P8452	LFNG	LFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase	1,8083	-1,1805	-1,2254	-0,20	4,20	
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,5374	-1,1016	-1,0472	-0,20	4,00	
A_33_P3387931	CENPP	centromere protein P	1,4774	-1,0150	-1,0772	-0,20	3,80	
A_23_P102731	SMOX	spermine oxidase	1,4734	-1,0632	-1,0400	-0,21	3,60	
A_33_P3403867	PMEPA1	prostate transmembrane protein, androgen induced 1	1,5823	-1,0711	-1,1459	-0,21	3,40	
A_24_P33982	C17orf60	chromosome 17 open reading frame 60	-1,0157	-1,0125	1,3868	-0,21	3,20	
A_33_P3317628	PKP3	plakophilin 3	1,4218	-1,0344	-1,0381	-0,22	3,00	
A_33_P3324909	JUND	jun D proto-oncogene	1,5136	-1,1097	-1,0603	-0,22	2,80	
A_23_P106389	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1,4040	-1,0260	-1,0360	-0,22	2,60	
A_23_P371039	NTSR1	neurotensin receptor 1 (high affinity)	-1,0122	-1,0183	1,3685	-0,22	2,40	
A_23_P156667	PPP1R10	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 10	1,3949	-1,0033	-1,0560	-0,22	2,20	
A_23_P145694	ASNS	asparagine synthetase (glutamine-hydrolyzing)	-1,0160	-1,1307	1,4821	-0,22	2,00	
A_23_P8452	LFNG	LFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase	1,6694	-1,1446	-1,2036	-0,23	1,80	
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0104	-1,0208	1,3487	-0,23	1,60	
A_23_P406071	C14orf181	chromosome 14 open reading frame 181	1,4775	-1,0909	-1,0717	-0,23	1,40	
A_33_P3391796	NOG	noggin	1,3709	-1,0023	-1,0546	-0,23	1,20	
A_23_P154962	RIMBP3	RIMS binding protein 3	1,7504	-1,1480	-1,2929	-0,23	-1,20	
A_19_P00812634	lincRNA:chr3:88177960-88183660_F	Data not found	1,4073	-1,0164	-1,0831	-0,23	-1,40	
A_33_P3403867	PMEPA1	prostate transmembrane protein, androgen induced 1	1,4851	-1,0366	-1,1437	-0,23	-1,60	
A_23_P145694	ASNS	asparagine synthetase (glutamine-hydrolyzing)	-1,0535	-1,1305	1,4886	-0,23	-1,80	
A_32_P231493	LOC100129122	hypothetical LOC100129122	1,5415	-1,0660	-1,1720	-0,23	-2,00	
A_24_P182929	KCNAB1	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1	-1,0556	-1,1027	1,4488	-0,24	-2,20	
A_24_P109214	APOC1	apolipoprotein C-I	-1,0382	-1,0193	1,3473	-0,24	-2,40	
A_33_P3220470	SMAD6	SMAD family member 6	1,8797	-1,2825	-1,3128	-0,24	-2,60	
A_23_P44724	CSRP2	cysteine and glycine-rich protein 2	1,4082	-1,0977	-1,0344	-0,24	-2,80	
A_24_P398810	EIF5	eukaryotic translation initiation factor 5	1,4335	-1,0183	-1,1407	-0,24	-3,00	
A_23_P29365	RYBP	RING1 and YY1 binding protein	1,4018	-1,0268	-1,1024	-0,24	-3,20	
A_24_P156490	KCNMA1	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, alpha member 1	-1,0649	-1,0420	1,3730	-0,24	-3,40	
A_23_P48676	PYGL	phosphorylase, glycogen, liver	-1,0577	-1,0806	1,3981	-0,25	-3,60	
A_23_P312150	EDN2	endothelin 2	1,2700	-1,0017	-1,0092	-0,25	-3,80	
A_23_P214330	SERPINB1	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 1	-1,0214	-1,1111	1,3904	-0,25	-4,00	
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0295	-1,0017	1,2887	-0,25	-4,20	
A_23_P166686	AMOTL2	Angiomotin like 2	1,5110	-1,0584	-1,1963	-0,25	-4,40	
A_24_P63522	HMGCS1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (soluble)	-1,0067	-1,1761	1,4335	-0,25	-4,60	
A_33_P3391796	NOG	noggin	1,3992	-1,0123	-1,1374	-0,25	-4,80	
A_33_P3360341	GATA3	GATA binding protein 3	1,4760	-1,0542	-1,1735	-0,25	-5,00	
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0375	-1,0090	1,2918	-0,25		
A_23_P62901	BTG2	BTG family, member 2	1,5425	-1,1738	-1,1237	-0,25		
A_24_P192994	FADS1	fatty acid desaturase 1	-1,0078	-1,0314	1,2823	-0,25		
A_23_P218637	RGPD5	RANBP2-like and GRIP domain containing 5	1,2969	-1,0223	-1,0318	-0,25		
A_23_P214330	SERPINB1	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 1	-1,0188	-1,0724	1,3334	-0,25		
A_24_P295010	SERPINB9	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	-1,0432	-1,0045	1,2897	-0,25		
A_23_P41066	RASSF1	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 1	1,3221	-1,0137	-1,0730	-0,25		
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0545	-1,0019	1,2905	-0,26		
A_23_P112596	ADK	adenosine kinase	-1,0531	-1,0186	1,2999	-0,26		
A_23_P310274	PRSS2	protease, serine, 2 (trypsin 2)	-1,0018	-1,0276	1,2567	-0,26		
A_23_P48676	PYGL	phosphorylase, glycogen, liver	-1,0683	-1,0698	1,3646	-0,26		
A_33_P3558740	LOC254100	hypothetical protein LOC254100	1,2460	-1,0023	-1,0197	-0,26		
A_33_P3289144	ENST00000398570	Data not found	-1,0793	-1,0283	1,3292	-0,26		

A_33_P3308446	RHOB	ras homolog gene family, member B	1,4429	-1,0325	-1,1971	-0,26	
A_24_P413126	PMENPA1	prostate transmembrane protein, androgen induced 1	1,4069	-1,0466	-1,1509	-0,26	
A_23_P78209	MAFG	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog G (avian)	1,2440	-1,0138	-1,0240	-0,26	
A_23_P110802	CENPH	centromere protein H	-1,0060	-1,0475	1,2569	-0,27	
A_33_P3270311	HECW2	HECT, C2 and WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2	1,3251	-1,0316	-1,0913	-0,27	
A_33_P3220837	MAFB	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)	1,7112	-1,0130	-1,4973	-0,27	
A_33_P3361417	C6orf57	chromosome 6 open reading frame 57	-1,0366	-1,0461	1,2833	-0,27	5,00
A_23_P154037	AOX1	aldehyde oxidase 1	-1,0743	-1,0129	1,2860	-0,27	4,80
A_23_P62901	BTG2	BTG family, member 2	1,5156	-1,1696	-1,1518	-0,27	4,60
A_24_P340066	ELF4	E74-like factor 4 (ets domain transcription factor)	1,3093	-1,0445	-1,0710	-0,27	4,40
A_33_P3276718	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	-1,0471	-1,0219	1,2607	-0,27	4,20
A_24_P302802	PCCB	propionyl CoA carboxylase, beta polypeptide	-1,2025	-1,0009	1,3951	-0,27	4,00
A_23_P302672	DDIT4L	DNA-damage-inducible transcript 4-like	-1,0918	-1,0070	1,2860	-0,27	3,80
A_23_P23765	ITGB3BP	integrin beta 3 binding protein (beta3-endonexin)	-1,0383	-1,0133	1,2372	-0,27	3,60
A_23_P17345	MAFB	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)	1,4226	-1,0636	-1,1753	-0,27	3,40
A_24_P130041	CYP51A1	cytochrome P450, family 51, subfamily A, polypeptide 1	-1,0308	-1,1219	1,3322	-0,27	3,20
A_23_P10442	OSBPL1A	oxysterol binding protein-like 1A	-1,0088	-1,0295	1,2156	-0,27	3,00
A_32_P110390	TMEM171	transmembrane protein 171	-1,0381	-1,0787	1,2918	-0,27	2,80
A_24_P96961	SPSB1	splA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 1	1,4482	-1,0697	-1,2112	-0,28	2,60
A_23_P135257	PRSS3	protease, serine, 3	-1,0701	-1,0570	1,2896	-0,28	2,40
A_23_P200096	SPSB1	splA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 1	1,3218	-1,0210	-1,1395	-0,28	2,20
A_23_P17345	MAFB	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)	1,5217	-1,0562	-1,3064	-0,28	2,00
A_23_P396858	FZD8	frizzled family receptor 8	1,3390	-1,0064	-1,1750	-0,28	1,80
A_23_P115482	UBE2T	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)	-1,0189	-1,0640	1,2336	-0,28	1,60
A_23_P318300	ZAK	sterile alpha motif and leucine zipper containing kinase AZK	-1,0168	-1,0562	1,2221	-0,28	1,40
A_23_P165624	TNFAIP6	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6	1,2459	-1,0024	-1,0952	-0,28	1,20
A_33_P3374643	PAAF1	proteasomal ATPase-associated factor 1	-1,0492	-1,0169	1,2105	-0,29	-1,20
A_33_P3308446	RHOB	ras homolog gene family, member B	1,4000	-1,0545	-1,2114	-0,29	-1,40
A_23_P66798	KRT19	keratin 19	-1,0857	-1,1368	1,3562	-0,29	-1,60
A_33_P3265359	HE56	hairy and enhancer of split 6 (Drosophila)	1,2914	-1,1483	-1,0151	-0,29	-1,80
A_23_P129221	FAH	fumarylacetoacetate hydrolase (fumarylacetoacetase)	-1,1090	-1,0723	1,2983	-0,29	-2,00
A_23_P379649	BMF	Bcl2 modifying factor	1,3246	-1,1258	-1,0845	-0,30	-2,20
A_23_P58102	EXOSC7	exosome component 7	-1,1153	-1,0035	1,2216	-0,30	-2,40
A_23_P11025	ZNF185	zinc finger protein 185 (LIM domain)	-1,0769	-1,1204	1,2940	-0,30	-2,60
A_33_P3265359	HE56	hairy and enhancer of split 6 (Drosophila)	1,2859	-1,1569	-1,0322	-0,30	-2,80
A_23_P115482	UBE2T	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)	-1,0560	-1,0716	1,2240	-0,30	-3,00
A_23_P45365	COL4A5	collagen, type IV, alpha 5	-1,0992	-1,0130	1,2060	-0,30	-3,20
A_23_P115482	UBE2T	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)	-1,0481	-1,0872	1,2154	-0,31	-3,40
A_23_P138507	CDC2	Data not found	-1,1404	-1,1323	1,3418	-0,31	-3,60
A_23_P210726	CDC25B	cell division cycle 25 homolog B (S. pombe)	-1,1274	-1,0190	1,2128	-0,31	-3,80
A_23_P348257	NUAK1	NUAK family, SNF1-like kinase, 1	1,3306	-1,0964	-1,1868	-0,32	-4,00
A_23_P71319	FDFT1	farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1	-1,0581	-1,1721	1,2774	-0,32	-4,20
A_23_P138507	CDC2	Data not found	-1,1009	-1,1068	1,2453	-0,32	-4,40
A_23_P250800	ST3GAL6	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 6	-1,1709	-1,0252	1,2179	-0,33	-4,60
A_23_P166306	CBS	cystathionine-beta-synthase	-1,1762	-1,0374	1,2198	-0,33	-4,80
A_33_P3369844	CD24	CD24 molecule	1,3954	-1,0894	-1,3243	-0,34	-5,00
A_24_P838448	FLJ22536	hypothetical locus LOC401237	1,2466	-1,0299	-1,2891	-0,36	
A_23_P85703	SOX13	SRY (sex determining region Y)-box 13	1,2051	-1,0522	-1,2527	-0,37	
A_23_P110941	GSTA4	glutathione S-transferase alpha 4	-1,2628	-1,0802	1,2215	-0,37	
A_32_P85999	CDH13	cadherin 13, H-cadherin (heart)	1,1355	-1,0632	-1,2168	-0,38	
A_33_P3410589	FAM43A	family with sequence similarity 43, member A	1,3198	-1,0581	-1,4151	-0,38	
A_33_P3300757	DOPEY1	dopey family member 1	1,1224	-1,0100	-1,2723	-0,39	
A_23_P120048	BAZ2B	bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2B	1,1112	-1,0218	-1,2570	-0,39	
A_23_P126844	TNFRSF25	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25	1,1482	-1,0855	-1,2336	-0,39	
A_23_P26124	RORA	RAR-related orphan receptor A	1,1630	-1,0986	-1,2358	-0,39	
A_23_P108501	EPHA4	EPH receptor A4	1,1714	-1,0291	-1,3140	-0,39	
A_23_P108501	EPHA4	EPH receptor A4	1,1825	-1,0487	-1,3087	-0,39	
A_23_P163546	TAF1C	TATA box binding protein (TBP)-associated factor, RNA polymerase I, C, 110kDa	-1,0014	1,0297	-1,2079	-0,39	
A_24_P401739	ARHGAP17	Rho GTPase activating protein 17	1,0621	-1,0346	-1,2113	-0,39	

A_23_P126844	TNFRSF25	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25	1,1782	-1,1108	-1,2527	-0,40		
A_33_P3446495	FRMD4B	FERM domain containing 4B	1,2708	-1,0632	-1,3956	-0,40		
A_24_P43144	PDE11A	phosphodiesterase 11A	-1,2007	1,0191	-1,0158	-0,40		
A_23_P93823	RFC2	replication factor C (activator 1) 2, 40kDa	-1,2252	-1,0498	1,0646	-0,40		
A_33_P3403913	XG9637	Data not found	1,0889	-1,0737	-1,2278	-0,40		
A_33_P3307894	A_33_P3307894	Data not found	-1,0031	1,0463	-1,2578	-0,40		
A_23_P112061	HGSNAT	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase	1,0394	-1,0427	-1,2150	-0,41	5,00	
A_33_P3223056	ADAMTS10	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 10	1,1593	-1,0698	-1,3143	-0,41	4,80	
A_24_P330303	FRMD6	FERM domain containing 6	-1,0270	1,0405	-1,2441	-0,41	4,60	
A_23_P111583	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	1,1264	-1,0543	-1,3040	-0,41	4,40	
A_33_P3252989	KIAA0913	KIAA0913	-1,0439	1,0264	-1,2182	-0,41	4,20	
A_23_P105571	CHPT1	choline phosphotransferase 1	-1,2313	-1,0987	1,0920	-0,41	4,00	
A_23_P113317	P4HTM	prolyl 4-hydroxylase, transmembrane (endoplasmic reticulum)	-1,2566	-1,0936	1,1119	-0,41	3,80	
A_23_P502350	RFX2	regulatory factor X, 2 (influences HLA class II expression)	1,1036	-1,0701	-1,2721	-0,41	3,60	
A_23_P152305	CDH11	cadherin 11, type 2, OB-cadherin (osteoblast)	-1,0084	1,0501	-1,2820	-0,41	3,40	
A_23_P136238	TMEM203	transmembrane protein 203	-1,2490	-1,0112	1,0192	-0,41	3,20	
A_33_P3215128	C1orf69	Data not found	1,1484	-1,1289	-1,2648	-0,42	3,00	
A_23_P108501	EPHA4	EPH receptor A4	1,1276	-1,1097	-1,2640	-0,42	2,80	
A_33_P3392977	CCNDBP1	Cyclin D-type binding-protein 1	-1,2514	1,0041	-1,0001	-0,42	2,60	
A_24_P239731	B4GALT5	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 5	1,0176	-1,0468	-1,2205	-0,42	2,40	
A_33_P3413463	BRF1	BRF1 homolog, subunit of RNA polymerase III transcription initiation factor IIB (S. cerevisiae)	1,0171	-1,0314	-1,2370	-0,42	2,20	
A_23_P120048	BAZ2B	bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2B	1,0312	-1,0188	-1,2639	-0,42	2,00	
A_23_P115064	CRABP2	cellular retinoic acid binding protein 2	1,1343	-1,1073	-1,2808	-0,42	1,80	
A_23_P214139	REV3L	REV3-like, catalytic subunit of DNA polymerase zeta (yeast)	-1,0565	1,0029	-1,2076	-0,42	1,60	
A_33_P3289810	ENST00000428676	Data not found	1,0349	-1,0160	-1,2811	-0,42	1,40	
A_24_P356601	HEXIM1	hexamethylene bis-acetamide inducible 1	1,1452	-1,1150	-1,2936	-0,42	1,20	
A_23_P39766	GLS	glutaminase	1,0998	-1,0167	-1,3500	-0,42	-1,20	
A_23_P111583	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	-1,0340	1,0517	-1,2951	-0,43	-1,40	
A_33_P3409027	ENST00000354853	Data not found	1,0820	-1,0219	-1,3377	-0,43	-1,60	
A_23_P154806	EPB4111	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 1	1,1056	-1,1060	-1,2777	-0,43	-1,80	
A_23_P112061	HGSNAT	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase	1,0027	-1,0543	-1,2287	-0,43	-2,00	
A_23_P25674	CKB	creatine kinase, brain	1,0906	-1,1115	-1,2601	-0,43	-2,20	
A_23_P419503	LRRC4B	leucine rich repeat containing 4B	-1,3129	-1,0703	1,1001	-0,43	-2,40	
A_24_P356601	HEXIM1	hexamethylene bis-acetamide inducible 1	1,0746	-1,1023	-1,2556	-0,43	-2,60	
A_33_P3309468	PTPRS	protein tyrosine phosphatase, receptor type, S	1,1118	-1,1574	-1,2385	-0,43	-2,80	
A_23_P108501	EPHA4	EPH receptor A4	1,1061	-1,1003	-1,2917	-0,43	-3,00	
A_23_P400716	SHE	Src homology 2 domain containing E	1,0846	-1,1397	-1,2366	-0,43	-3,20	
A_33_P3377005	C11orf35	chromosome 11 open reading frame 35	1,1333	-1,0945	-1,3319	-0,43	-3,40	
A_23_P52986	VWCE	von Willebrand factor C and EGF domains	1,0200	-1,0571	-1,2573	-0,43	-3,60	
A_23_P108501	EPHA4	EPH receptor A4	1,1452	-1,0845	-1,3564	-0,43	-3,80	
A_33_P3265564	LOC644334	band 4.1-like protein 5-like	1,0477	-1,0587	-1,2890	-0,43	-4,00	
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	-1,0288	1,0145	-1,2858	-0,43	-4,20	
A_23_P122052	GPX8	glutathione peroxidase 8 (putative)	-1,2662	-1,0375	1,0001	-0,43	-4,40	
A_33_P3521643	PPP1R12C	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 12C	-1,0922	1,0136	-1,2272	-0,44	-4,60	
A_33_P3379916	GLS	glutaminase	-1,0319	1,0158	-1,2910	-0,44	-4,80	
A_33_P3738458	TNS1	tensin 1	1,0506	-1,0975	-1,2678	-0,44	-5,00	
A_23_P169460	FRMPD1	FERM and PDZ domain containing 1	-1,2896	-1,0613	1,0249	-0,44		
A_24_P236235	FLRT2	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2	-1,0178	1,1311	-1,4443	-0,44		
A_23_P423197	RXRA	retinoid X receptor, alpha	1,0279	-1,0744	-1,2851	-0,44		
A_33_P3309054	ENST00000397554	Data not found	-1,3982	1,0682	-1,0027	-0,44		
A_23_P61149	INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa	1,0612	-1,1794	-1,2179	-0,45		
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	1,0230	-1,0293	-1,3366	-0,45		
A_24_P178444	A_24_P178444	Data not found	1,0911	-1,1474	-1,2871	-0,45		
A_33_P3215788	ANKRD36	ankyrin repeat domain 36	1,0878	-1,0707	-1,3610	-0,45		
A_24_P944144	DIDO1	death inducer-obliterator 1	-1,3664	1,0436	-1,0211	-0,45		
A_33_P3323718	UACA	uveal autoantigen with coiled-coil domains and ankyrin repeats	1,0916	-1,0545	-1,3848	-0,45		
A_33_P3390017	C15orf54	chromosome 15 open reading frame 54	1,1119	-1,1548	-1,3055	-0,45		
A_33_P3235004	MYH10	myosin, heavy chain 10, non-muscle	1,0635	-1,0768	-1,3354	-0,45		
A_23_P111583	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	1,0072	-1,0620	-1,2991	-0,45		

A_23_P86632	DCLRE1C	DNA cross-link repair 1C	-1,3359	1,0292	-1,0476	-0,45	
A_33_P3339070	LOC100216001	hypothetical LOC100216001	1,1485	-1,2603	-1,2446	-0,45	
A_32_P112623	LOC100293193	hypothetical LOC100293193	-1,3653	1,0334	-1,0249	-0,45	
A_23_P91414	C20orf160	chromosome 20 open reading frame 160	1,0604	-1,2259	-1,1933	-0,45	
A_23_P216307	RUNX1T1	runt-related transcription factor 1; translocated to, 1 (cyclin D-related)	1,0768	-1,0374	-1,3989	-0,45	
A_19_P00322616	lincRNA:chr3:195418384-195419180_F	Data not found	-1,1769	1,1186	-1,3019	-0,45	
A_24_P393958	DNAJB4	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 4	1,0699	-1,1251	-1,3060	-0,45	5,00
A_23_P111583	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	-1,0215	1,0046	-1,3455	-0,45	4,80
A_33_P3225046	CD34	CD34 molecule	1,1199	-1,0677	-1,4180	-0,46	4,60
A_33_P3392250	FAM178A	family with sequence similarity 178, member A	-1,3979	-1,0091	1,0411	-0,46	4,40
A_33_P3317761	DAD1L	Data not found	-1,4011	-1,0096	1,0432	-0,46	4,20
A_33_P3338740	DHH	desert hedgehog	1,0333	-1,1366	-1,2656	-0,46	4,00
A_19_P00809682	lincRNA:chr2:107313487-107315124_F	Data not found	-1,0557	1,0554	-1,3701	-0,46	3,80
A_23_P109171	BFPSP1	beaded filament structural protein 1, filensin	1,0137	-1,0659	-1,3202	-0,46	3,60
A_33_P3237135	MMP2	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	1,0204	-1,1035	-1,2895	-0,46	3,40
A_23_P23829	CD34	CD34 molecule	1,0517	-1,0209	-1,4054	-0,46	3,20
A_33_P3382105	A_33_P3382105	Data not found	-1,1740	1,0719	-1,2727	-0,46	3,00
A_23_P110699	ZNF300	Zinc finger protein 300	-1,3465	-1,0669	1,0375	-0,46	2,80
A_23_P19482	DDAH2	dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	1,0034	-1,0805	-1,3042	-0,46	2,60
A_24_P176079	WASF3	WAS protein family, member 3	1,0031	-1,1041	-1,2804	-0,46	2,40
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	-1,0302	1,0270	-1,3859	-0,46	2,20
A_33_P3338360	SCARNA13	small Cajal body-specific RNA 13	1,3152	-1,3462	-1,3635	-0,46	2,00
A_23_P115444	TNFSF18	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18	1,1558	-1,2152	-1,3356	-0,46	1,80
A_33_P3415820	THBS1	thrombospondin 1	1,0804	-1,0618	-1,4136	-0,47	1,60
A_33_P3248439	FAM125B	family with sequence similarity 125, member B	1,0779	-1,0807	-1,3929	-0,47	1,40
A_33_P3216232	ITGB1BP1	integrin beta 1 binding protein 1	-1,1296	1,0075	-1,2795	-0,47	1,20
A_23_P259741	SATB1	SATB homeobox 1	1,0291	-1,0472	-1,3888	-0,47	-1,20
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	1,0333	-1,0203	-1,4292	-0,47	-1,40
A_33_P3359713	CK825926	Data not found	-1,4064	1,0586	-1,0744	-0,47	-1,60
A_33_P3421418	ENST00000357042	Data not found	1,0186	-1,1244	-1,3175	-0,47	-1,80
A_23_P115444	TNFSF18	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18	1,1344	-1,1774	-1,3810	-0,47	-2,00
A_32_P140489	GDF6	Growth differentiation factor 6	-1,0128	1,0500	-1,4620	-0,47	-2,20
A_23_P207582	CCL16	chemokine (C-C motif) ligand 16	1,0636	-1,1213	-1,3704	-0,48	-2,40
A_23_P23829	CD34	CD34 molecule	1,0068	-1,0269	-1,4154	-0,48	-2,60
A_23_P143981	FBLN2	fibulin 2	1,0009	-1,0527	-1,3844	-0,48	-2,80
A_24_P176079	WASF3	WAS protein family, member 3	1,0074	-1,1366	-1,3096	-0,48	-3,00
A_33_P3861706	MTMR10	myotubularin related protein 10	1,1168	-1,0440	-1,5120	-0,48	-3,20
A_23_P9135	CNTNAP3	contactin associated protein-like 3	1,0075	-1,1979	-1,2543	-0,48	-3,40
A_33_P3223056	ADAMTS10	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 10	1,1290	-1,1716	-1,4029	-0,48	-3,60
A_33_P3321801	LOC100272216	hypothetical LOC100272216	-1,3702	1,0148	-1,0917	-0,48	-3,80
A_23_P137697	SELP	selectin P (granule membrane protein 140kDa, antigen CD62)	1,0280	-1,0321	-1,4477	-0,48	-4,00
A_33_P3334590	MTMR10	myotubularin related protein 10	1,0846	-1,0590	-1,4795	-0,48	-4,20
A_23_P115444	TNFSF18	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18	1,0881	-1,2087	-1,3335	-0,48	-4,40
A_19_P00321941	lincRNA:chr10:4692376-4720283_R	Data not found	1,0677	-1,2869	-1,2384	-0,49	-4,60
A_23_P143981	FBLN2	fibulin 2	1,0194	-1,0924	-1,3854	-0,49	-4,80
A_33_P3214665	MAP2	microtubule-associated protein 2	1,0091	-1,3401	-1,1390	-0,49	-5,00
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	1,0268	-1,1684	-1,3365	-0,49	
A_33_P3423121	RDX	radixin	1,0406	-1,1286	-1,3905	-0,49	
A_19_P00317529	lincRNA:chr19:28266143-28266711_R	Data not found	-1,4051	1,0170	-1,0979	-0,50	
A_19_P00319537	lincRNA:chr4:124573939-124851518_F	Data not found	1,1145	-1,1963	-1,4232	-0,50	
A_23_P422851	CABLES1	Cdk5 and Abl enzyme substrate 1	1,1291	-1,0506	-1,5846	-0,50	
A_23_P159027	ZNF521	zinc finger protein 521	1,0446	-1,1319	-1,4215	-0,50	
A_23_P113111	AR	androgen receptor	1,0184	-1,1010	-1,4314	-0,50	
A_24_P38276	FZD1	frizzled family receptor 1	1,1017	-1,1895	-1,4314	-0,51	
A_33_P3219939	CUBN	cubilin (intrinsic factor-cobalamin receptor)	1,0815	-1,0821	-1,5271	-0,51	
A_33_P3284919	SEMA6C	sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6C	1,0058	-1,2064	-1,3277	-0,51	
A_33_P3280003	HERC2	hect domain and RLD 2	1,0116	-1,0317	-1,5143	-0,51	
A_23_P142872	TCF7L1	Transcription factor 7-like 1 (T-cell specific, HMG-box)	1,0384	-1,1032	-1,4784	-0,51	
A_23_P318904	SERTAD4	SERTA domain containing 4	1,1429	-1,1593	-1,5300	-0,52	

A_19_P00809313	lincRNA:chr11:65190190-65214674_F	Data not found	1,1569	-1,0339	-1,6722	-0,52	
A_23_P113111	AR	androgen receptor	1,0675	-1,0992	-1,5253	-0,52	
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0060	1,0168	-1,5709	-0,52	
A_33_P3340639	ENST00000369425	Data not found	-1,5814	1,0430	-1,0254	-0,52	
A_19_P00322276	lincRNA:chr4:124571445-124851509_F	Data not found	1,0784	-1,1778	-1,4645	-0,52	
A_33_P3449097	TSPAN10	tetraspanin 10	-1,0186	1,0001	-1,5593	-0,53	
A_23_P121795	SORBS2	sorbin and SH3 domain containing 2	1,0193	-1,2910	-1,3062	-0,53	5,00
A_23_P401774	ELMOD1	ELMO/CED-12 domain containing 1	1,0181	-1,3049	-1,2913	-0,53	4,80
A_33_P3251703	CRIP1	cysteine-rich protein 1 (intestinal)	1,1768	-1,5391	-1,2200	-0,53	4,60
A_19_P00316946	lincRNA:chr19:28269547-28283939_R	Data not found	-1,5567	1,0478	-1,0803	-0,53	4,40
A_19_P00801585	lincRNA:chr19:28263076-28263382_R	Data not found	-1,6212	1,0739	-1,0510	-0,53	4,20
A_33_P3275255	LOC100132966	hypothetical LOC100132966	-1,5956	1,1519	-1,1600	-0,53	4,00
A_33_P3265030	SEPT5	Septin 5	1,0072	-1,2240	-1,3889	-0,54	3,80
A_33_P3255755	CROCC11	Data not found	-1,4749	1,0415	-1,1762	-0,54	3,60
A_33_P3229288	ACE	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1	1,0272	-1,1272	-1,5136	-0,54	3,40
A_23_P19020	SNCAIP	synuclein, alpha interacting protein	1,0288	-1,1868	-1,4596	-0,54	3,20
A_24_P270728	NUPR1	nuclear protein, transcriptional regulator, 1	1,0711	-1,0633	-1,6394	-0,54	3,00
A_23_P115444	TNFSF18	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18	1,1125	-1,2898	-1,4577	-0,54	2,80
A_23_P335452	ZCCHC24	zinc finger, CCHC domain containing 24	1,0558	-1,2681	-1,4231	-0,55	2,60
A_33_P3252286	CLRF1	cytokine receptor-like factor 1	1,0133	-1,5907	-1,0657	-0,55	2,40
A_23_P1083	GJA4	gap junction protein, alpha 4, 37kDa	1,0958	-1,2056	-1,5399	-0,55	2,20
A_24_P352116	SNHG7	small nucleolar RNA host gene 7 (non-protein coding)	-1,6130	1,1200	-1,1593	-0,55	2,00
A_23_P113111	AR	androgen receptor	1,0193	-1,1120	-1,5643	-0,55	1,80
A_23_P422851	CABLES1	Cdk5 and Abl enzyme substrate 1	1,0966	-1,0697	-1,6855	-0,55	1,60
A_24_P274831	GIMAP7	GTPase, IMAP family member 7	1,0477	-1,2000	-1,5176	-0,56	1,40
A_23_P1083	GJA4	gap junction protein, alpha 4, 37kDa	1,1136	-1,2560	-1,5308	-0,56	1,20
A_23_P113111	AR	androgen receptor	1,0309	-1,1192	-1,6010	-0,56	-1,20
A_32_P141238	ANO2	anoctamin 2	1,0722	-1,2002	-1,5627	-0,56	-1,40
A_33_P3313825	ENST00000383765	Data not found	-1,2510	1,1243	-1,5644	-0,56	-1,60
A_23_P218331	CYB561	cytochrome b-561	1,0101	-1,1332	-1,5733	-0,57	-1,80
A_24_P8371	SPNS2	spinster homolog 2 (Drosophila)	1,0585	-1,1534	-1,6195	-0,57	-2,00
A_23_P369666	ZMYND8	zinc finger, MYND-type containing 8	-1,5766	1,0640	-1,2129	-0,58	-2,20
A_33_P3234580	ASS1	argininosuccinate synthase 1	1,1735	-1,4828	-1,4229	-0,58	-2,40
A_19_P00804777	lincRNA:chr19:28268097-28296683_R	Data not found	-1,6715	1,0565	-1,1278	-0,58	-2,60
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	1,0934	-1,0366	-1,8008	-0,58	-2,80
A_23_P108932	RPL23AP32	ribosomal protein L23a pseudogene 32	-1,3475	1,0051	-1,4082	-0,58	-3,00
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0232	1,0121	-1,7569	-0,59	-3,20
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	1,0079	-1,0180	-1,7600	-0,59	-3,40
A_19_P00800555	lincRNA:chr19:28263076-28263382_R	Data not found	-1,8069	1,1237	-1,0963	-0,59	-3,60
A_23_P360964	DACT3	dapper, antagonist of beta-catenin, homolog 3 (Xenopus laevis)	1,0711	-1,2850	-1,5799	-0,60	-3,80
A_33_P3407049	A_33_P3407049	Data not found	-1,9162	1,1236	-1,0130	-0,60	-4,00
A_23_P408285	PRICKLE1	prickle homolog 1 (Drosophila)	1,0322	-1,1866	-1,6544	-0,60	-4,20
A_23_P54144	BMP4	bone morphogenetic protein 4	1,0628	-1,0872	-1,7893	-0,60	-4,40
A_33_P3366073	ENST00000378274	Data not found	-1,7235	1,0783	-1,1691	-0,60	-4,60
A_32_P117354	LIMCH1	LIM and calponin homology domains 1	1,0746	-1,1975	-1,6997	-0,61	-4,80
A_33_P3257714	RPS23	ribosomal protein S23	1,0117	-1,1519	-1,6839	-0,61	-5,00
A_23_P54144	BMP4	bone morphogenetic protein 4	1,0133	-1,0611	-1,8226	-0,62	
A_23_P108932	RPL23AP32	ribosomal protein L23a pseudogene 32	-1,5445	1,0222	-1,3628	-0,63	
A_33_P3269924	A_33_P3269924	Data not found	1,0527	-1,2364	-1,7172	-0,63	
A_23_P14083	AMIGO2	adhesion molecule with Ig-like domain 2	1,0189	-1,2694	-1,6688	-0,64	
A_24_P333571	ENST00000370217	Data not found	-1,7583	1,0467	-1,2314	-0,65	
A_33_P3214129	hCG_2003663	Data not found	-1,6097	1,0415	-1,3929	-0,65	
A_32_P207169	C1orf133	chromosome 1 open reading frame 133	1,0298	-1,3053	-1,6860	-0,65	
A_23_P372834	AQP1	aquaporin 1 (Colton blood group)	1,1702	-1,4309	-2,2031	-0,82	
A_23_P372834	AQP1	aquaporin 1 (Colton blood group)	1,1842	-1,5043	-2,1560	-0,83	
A_23_P152024	CSK	c-src tyrosine kinase	-1,2379	-1,0167	-1,0169	-1,09	
A_23_P201279	UBE4B	ubiquitination factor E4B	-1,0399	-1,0315	-1,2156	-1,10	
A_23_P118536	SLFN12	schlafen family member 12	-1,0154	-1,0647	-1,2105	-1,10	
A_33_P3265374	HOMER3	homer homolog 3 (Drosophila)	-1,0601	-1,0206	-1,2173	-1,10	



A_24_P710730	LOC100170939	glucuronidase, beta pseudogene	-1,0050	-1,0093	-1,2838	-1,10		
A_23_P122052	GPX8	glutathione peroxidase 8 (putative)	-1,2381	-1,0608	-1,0176	-1,11		
A_23_P386764	DOLPP1	dolichyl pyrophosphate phosphatase 1	-1,2096	-1,0426	-1,0660	-1,11		
A_24_P673063	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	-1,0761	-1,0393	-1,2105	-1,11		
A_23_P122052	GPX8	glutathione peroxidase 8 (putative)	-1,2503	-1,0734	-1,0027	-1,11		
A_23_P112061	HGSNAT	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase	-1,0072	-1,1168	-1,2084	-1,11		
A_23_P208674	C19orf63	chromosome 19 open reading frame 63	-1,0284	-1,0652	-1,2391	-1,11	5,00	
A_23_P404606	C5orf41	chromosome 5 open reading frame 41	-1,0054	-1,0715	-1,2756	-1,12	4,80	
A_23_P217228	TRO	trophinin	-1,0543	-1,0090	-1,2969	-1,12	4,60	
A_23_P103775	LRR8C8	leucine rich repeat containing 8 family, member C	-1,0731	-1,0467	-1,2405	-1,12	4,40	
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	-1,0341	-1,0136	-1,3149	-1,12	4,20	
A_33_P3575854	LOC642361	hypothetical LOC642361	-1,0310	-1,0624	-1,2699	-1,12	4,00	
A_33_P3268793	ADAT3	adenosine deaminase, tRNA-specific 3	-1,0110	-1,0109	-1,3448	-1,12	3,80	
A_23_P15375	ARMC7	armadillo repeat containing 7	-1,0135	-1,1046	-1,2496	-1,12	3,60	
A_24_P940006	EFNB3	ephrin-B3	-1,0812	-1,0444	-1,2467	-1,12	3,40	
A_23_P216448	NFIB	nuclear factor I/B	-1,0085	-1,0668	-1,2976	-1,12	3,20	
A_23_P111240	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	-1,0707	-1,0088	-1,2974	-1,13	3,00	
A_23_P128073	SMARCC2	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily c, member 2	-1,0585	-1,1223	-1,2019	-1,13	2,80	
A_23_P320242	KIAA1324L	KIAA1324-like	-1,0751	-1,0455	-1,2625	-1,13	2,60	
A_32_P524014	UTRN	utrophin	-1,0530	-1,0940	-1,2370	-1,13	2,40	
A_24_P658427	NFIB	nuclear factor I/B	-1,0260	-1,1062	-1,2524	-1,13	2,20	
A_24_P658427	NFIB	nuclear factor I/B	-1,0308	-1,1058	-1,2508	-1,13	2,00	
A_24_P59247	LOC390282	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit F pseudogene	-1,0809	-1,0956	-1,2185	-1,13	1,80	
A_33_P3738458	TNS1	tensin 1	-1,0212	-1,1090	-1,2675	-1,13	1,60	
A_23_P128073	SMARCC2	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily c, member 2	-1,0535	-1,0978	-1,2477	-1,13	1,40	
A_23_P55936	FCGR1	Fc fragment of IgG, receptor, transporter, alpha	-1,1277	-1,0645	-1,2069	-1,13	1,20	
A_33_P3294133	EIF4B	eukaryotic translation initiation factor 4B	-1,0310	-1,0257	-1,3450	-1,13	-1,20	
A_33_P3246007	APOA1BP	apolipoprotein A-I binding protein	-1,0191	-1,0775	-1,3068	-1,13	-1,40	
A_23_P11262	F8A1	coagulation factor VIII-associated 1	-1,1722	-1,0322	-1,2082	-1,14	-1,60	
A_23_P61149	INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa	-1,0188	-1,1686	-1,2267	-1,14	-1,80	
A_33_P3237135	MMP2	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	-1,0153	-1,0514	-1,3493	-1,14	-2,00	
A_23_P19482	DDAH2	dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	-1,0473	-1,0987	-1,2734	-1,14	-2,20	
A_24_P106112	PKD2	polycystic kidney disease 2 (autosomal dominant)	-1,0964	-1,0238	-1,2995	-1,14	-2,40	
A_24_P194881	SHANK3	SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3	-1,0222	-1,1323	-1,2688	-1,14	-2,60	
A_23_P398294	HIP1R	huntingtin interacting protein 1 related	-1,0559	-1,1198	-1,2510	-1,14	-2,80	
A_23_P24433	CTSF	cathepsin F	-1,0612	-1,1398	-1,2278	-1,14	-3,00	
A_23_P68505	C20orf177	chromosome 20 open reading frame 177	-1,3161	-1,0042	-1,1091	-1,14	-3,20	
A_19_P00331302	lincRNA:chr20:31438639-31447464_F	Data not found	-1,0020	-1,0791	-1,3496	-1,14	-3,40	
A_19_P00320597	lincRNA:chr11:104774117-104789800_R	Data not found	-1,1324	-1,0931	-1,2059	-1,14	-3,60	
A_23_P111583	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	-1,0341	-1,1189	-1,2825	-1,15	-3,80	
A_23_P93032	ZBED3	zinc finger, BED-type containing 3	-1,0710	-1,0200	-1,3446	-1,15	-4,00	
A_23_P211345	TBX1	T-box 1	-1,0816	-1,0789	-1,2780	-1,15	-4,20	
A_23_P55936	FCGR1	Fc fragment of IgG, receptor, transporter, alpha	-1,0639	-1,1010	-1,2760	-1,15	-4,40	
A_23_P211345	TBX1	T-box 1	-1,0874	-1,1177	-1,2388	-1,15	-4,60	
A_33_P3249837	EB387019	Data not found	-1,3512	-1,0116	-1,0819	-1,15	-4,80	
A_23_P141021	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	-1,0126	-1,1275	-1,3054	-1,15	-5,00	
A_33_P3266396	GLTPD1	glycolipid transfer protein domain containing 1	-1,1344	-1,0462	-1,2699	-1,15		
A_23_P60286	EIF4B	eukaryotic translation initiation factor 4B	-1,1159	-1,0687	-1,2760	-1,15		
A_23_P202520	ABLIM1	actin binding LIM protein 1	-1,0397	-1,0049	-1,4187	-1,15		
A_33_P3280845	THY1	Thy-1 cell surface antigen	-1,0005	-1,0388	-1,4261	-1,16		
A_23_P310	MARCKSL1	MARCKS-like 1	-1,1137	-1,0676	-1,2902	-1,16		
A_33_P3379916	GLS	glutaminase	-1,1230	-1,0385	-1,3118	-1,16		
A_33_P3282556	TMEM204	transmembrane protein 204	-1,0656	-1,0473	-1,3637	-1,16		
A_23_P41375	tcag7_907	Data not found	-1,1114	-1,0020	-1,3689	-1,16		
A_32_P101031	LYPD1	LY6/PLAUR domain containing 1	-1,0081	-1,0990	-1,3780	-1,16		
A_23_P253200	RPL15	ribosomal protein L15	-1,0998	-1,1415	-1,2485	-1,16		
A_24_P400355	C7orf20	Data not found	-1,1424	-1,0544	-1,2984	-1,17		
A_33_P3259203	A_33_P3259203	Data not found	-1,0520	-1,0901	-1,3543	-1,17		
A_23_P148297	SH3BGRL	SH3 domain binding glutamic acid-rich protein like	-1,1823	-1,0966	-1,2195	-1,17		

A_33_P3232011	RAB17	RAB17, member RAS oncogene family	-1,0120	-1,0898	-1,3999	-1,17		
A_23_P126486	CROCC1	Data not found	-1,4481	-1,0208	-1,0350	-1,17		
A_23_P103775	LRRC8C	leucine rich repeat containing 8 family, member C	-1,1585	-1,1378	-1,2076	-1,17		
A_23_P113393	APLN	apelin	-1,0295	-1,2924	-1,1829	-1,17		
A_23_P24433	CTSF	cathepsin F	-1,0844	-1,1374	-1,2869	-1,17		
A_32_P162250	ARHGAP18	Rho GTPase activating protein 18	-1,0420	-1,1550	-1,3141	-1,17		
A_23_P113283	ZMAT3	zinc finger, matrin-type 3	-1,1426	-1,0783	-1,2902	-1,17	5,00	
A_33_P3214665	MAP2	microtubule-associated protein 2	-1,0498	-1,3488	-1,1214	-1,17	4,80	
A_24_P331704	KRT80	keratin 80	-1,1057	-1,0858	-1,3307	-1,17	4,60	
A_24_P38276	FZD1	frizzled family receptor 1	-1,0032	-1,1477	-1,3731	-1,17	4,40	
A_24_P876408	C11orf95	chromosome 11 open reading frame 95	-1,0048	-1,1406	-1,3788	-1,17	4,20	
A_23_P151870	GLCE	glucuronic acid epimerase	-1,1386	-1,1122	-1,2741	-1,17	4,00	
A_23_P113393	APLN	apelin	-1,0901	-1,3077	-1,1280	-1,18	3,80	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0618	-1,1237	-1,3422	-1,18	3,60	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0459	-1,1283	-1,3543	-1,18	3,40	
A_23_P4353	WSB1	WD repeat and SOCS box containing 1	-1,0079	-1,0456	-1,4797	-1,18	3,20	
A_23_P113393	APLN	apelin	-1,0892	-1,2894	-1,1549	-1,18	3,00	
A_23_P98645	DCHS1	dachsous 1 (Drosophila)	-1,0433	-1,1364	-1,3635	-1,18	2,80	
A_23_P205164	POU4F1	POU class 4 homeobox 1	-1,1253	-1,0935	-1,3287	-1,18	2,60	
A_23_P113393	APLN	apelin	-1,1070	-1,2959	-1,1476	-1,18	2,40	
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0990	-1,1231	-1,3291	-1,18	2,20	
A_33_P3423121	RDX	radixin	-1,1050	-1,0673	-1,3796	-1,18	2,00	
A_23_P207445	MAP2K6	mitogen-activated protein kinase kinase 6	-1,0083	-1,2625	-1,2848	-1,19	1,80	
A_23_P14105	RCBTB2	regulator of chromosome condensation (RCC1) and BTB (POZ) domain containing protein 2	-1,0091	-1,1718	-1,3749	-1,19	1,60	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0624	-1,1337	-1,3628	-1,19	1,40	
A_23_P79360	NOSTRIN	nitric oxide synthase trafficker	-1,0730	-1,3422	-1,1450	-1,19	1,20	
A_33_P3265030	SEPT5	Septin 5	-1,0161	-1,2230	-1,3218	-1,19	-1,20	
A_23_P20532	LOC642406	similar to contactin associated protein-like 3B	-1,0093	-1,1456	-1,4085	-1,19	-1,40	
A_23_P111919	PURG	purine-rich element binding protein G	-1,1685	-1,0045	-1,3904	-1,19	-1,60	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0362	-1,1556	-1,3729	-1,19	-1,80	
A_19_P00317164	lincRNA:chr11:110066285-110066727_R	Data not found	-1,0071	-1,1518	-1,4079	-1,19	-2,00	
A_23_P64792	KCNMB4	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, beta member 4	-1,0541	-1,1442	-1,3686	-1,19	-2,20	
A_23_P113393	APLN	apelin	-1,0935	-1,2872	-1,1875	-1,19	-2,40	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0297	-1,1341	-1,4081	-1,19	-2,60	
A_23_P150609	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	-1,0483	-1,1049	-1,4208	-1,19	-2,80	
A_23_P4353	WSB1	WD repeat and SOCS box containing 1	-1,0074	-1,0470	-1,5216	-1,19	-3,00	
A_23_P64792	KCNMB4	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, beta member 4	-1,0701	-1,1314	-1,3759	-1,19	-3,20	
A_33_P3290919	BAG1	BCL2-associated athanogene	-1,2496	-1,0063	-1,3312	-1,20	-3,40	
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0617	-1,1443	-1,3811	-1,20	-3,60	
A_33_P3320082	NFIB	nuclear factor I/B	-1,0847	-1,1662	-1,3389	-1,20	-3,80	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0880	-1,1282	-1,3748	-1,20	-4,00	
A_24_P944640	EPB41L5	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 5	-1,0396	-1,1889	-1,3653	-1,20	-4,20	
A_33_P3299958	LOC100129036	hypothetical LOC100129036	-1,0459	-1,1896	-1,3644	-1,20	-4,40	
A_24_P382187	IGFBP4	insulin-like growth factor binding protein 4	-1,0510	-1,2124	-1,3407	-1,20	-4,60	
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0609	-1,1766	-1,3672	-1,20	-4,80	
A_33_P3502311	HERC2P7	hect domain and RLD 2 pseudogene 7	-1,4687	-1,0272	-1,1123	-1,20	-5,00	
A_23_P255884	GSN	gelsolin	-1,0519	-1,2103	-1,3464	-1,20		
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0576	-1,1531	-1,3988	-1,20		
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,2229	-1,1571	-1,2298	-1,20		
A_19_P00813192	lincRNA:chr11:104771490-104780740_R	Data not found	-1,1087	-1,1490	-1,3534	-1,20		
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,2788	-1,1153	-1,2179	-1,20		
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0563	-1,1511	-1,4065	-1,20		
A_33_P3321372	ENST00000377651	Data not found	-1,0492	-1,0817	-1,4843	-1,21		
A_23_P77000	VASH1	vasohibin 1	-1,0772	-1,1747	-1,3633	-1,21		
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0047	-1,2114	-1,4028	-1,21		
A_33_P3279959	PLXNA4	plexin A4	-1,0472	-1,1621	-1,4136	-1,21		
A_24_P902052	KIAA0114	KIAA0114	-1,1017	-1,0921	-1,4293	-1,21		
A_33_P3290924	BAG1	BCL2-associated athanogene	-1,3488	-1,0157	-1,2646	-1,21		
A_23_P105562	VWF	von Willebrand factor	-1,0708	-1,1609	-1,4020	-1,21		

A_33_P3321432	FAM198B	family with sequence similarity 198, member B	-1,0926	-1,1260	-1,4166	-1,21		
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,2634	-1,1046	-1,2678	-1,21		
A_24_P382187	IGFBP4	insulin-like growth factor binding protein 4	-1,1003	-1,2164	-1,3223	-1,21		
A_23_P77000	VASH1	vasohibin 1	-1,0348	-1,2548	-1,3503	-1,21		
A_33_P3281273	S1PR4	sphingosine-1-phosphate receptor 4	-1,0148	-1,1060	-1,5194	-1,21		
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,3035	-1,1186	-1,2266	-1,22		
A_23_P105562	VWV	von Willebrand factor	-1,0772	-1,1625	-1,4120	-1,22		5,00
A_23_P233	FMO5	flavin containing monooxygenase 5	-1,5354	-1,0724	-1,0464	-1,22		4,80
A_33_P3390027	ENST00000405068	Data not found	-1,2077	-1,0047	-1,4443	-1,22		4,60
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,1144	-1,1543	-1,3895	-1,22		4,40
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,2673	-1,1483	-1,2454	-1,22		4,20
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,0866	-1,1516	-1,4232	-1,22		4,00
A_24_P12626	CAV1	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	-1,1184	-1,2192	-1,3282	-1,22		3,80
A_23_P134454	CAV1	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	-1,1268	-1,3194	-1,2240	-1,22		3,60
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,1640	-1,1286	-1,3784	-1,22		3,40
A_23_P113111	AR	androgen receptor	-1,0683	-1,1052	-1,4979	-1,22		3,20
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,1286	-1,0926	-1,4564	-1,23		3,00
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,1733	-1,1292	-1,3756	-1,23		2,80
A_23_P48596	RNASE1	ribonuclease, RNase A family, 1 (pancreatic)	-1,1393	-1,2275	-1,3137	-1,23		2,60
A_23_P108673	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	-1,0764	-1,1638	-1,4412	-1,23		2,40
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0034	-1,0489	-1,6294	-1,23		2,20
A_23_P113111	AR	androgen receptor	-1,0766	-1,1095	-1,4976	-1,23		2,00
A_23_P113111	AR	androgen receptor	-1,0426	-1,0846	-1,5592	-1,23		1,80
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,1221	-1,0922	-1,4724	-1,23		1,60
A_23_P145074	PNRC1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	-1,0686	-1,1681	-1,4514	-1,23		1,40
A_23_P218331	CYB561	cytochrome b-561	-1,0421	-1,1301	-1,5169	-1,23		1,20
A_23_P168229	TXNDC5	thioredoxin domain containing 5 (endoplasmic reticulum)	-1,0985	-1,0881	-1,5047	-1,23		1,00
A_33_P3259135	D4S234E	DNA segment on chromosome 4 (unique) 234 expressed sequence	-1,1044	-1,3068	-1,2814	-1,23		-1,40
A_23_P113111	AR	androgen receptor	-1,0222	-1,0957	-1,5756	-1,23		-1,60
A_33_P3268304	LIMS2	LIM and senescent cell antigen-like domains 2	-1,0489	-1,3257	-1,3203	-1,23		-1,80
A_23_P105562	VWV	von Willebrand factor	-1,1117	-1,1827	-1,4017	-1,23		-2,00
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,1654	-1,0854	-1,4456	-1,23		-2,20
A_23_P113111	AR	androgen receptor	-1,0282	-1,1141	-1,5573	-1,23		-2,40
A_23_P145074	PNRC1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	-1,1384	-1,1578	-1,4055	-1,23		-2,60
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,1557	-1,1327	-1,4146	-1,23		-2,80
A_23_P105562	VWV	von Willebrand factor	-1,0405	-1,2115	-1,4513	-1,23		-3,00
A_23_P368484	C17orf76	chromosome 17 open reading frame 76	-1,0370	-1,2568	-1,4099	-1,23		-3,20
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,2114	-1,0651	-1,4275	-1,23		-3,40
A_23_P121795	SORBS2	sorbin and SH3 domain containing 2	-1,0032	-1,3622	-1,3407	-1,24		-3,60
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,1372	-1,1719	-1,3973	-1,24		-3,80
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,3079	-1,1551	-1,2457	-1,24		-4,00
A_23_P207582	CCL16	chemokine (C-C motif) ligand 16	-1,0857	-1,1345	-1,4896	-1,24		-4,20
A_23_P168229	TXNDC5	thioredoxin domain containing 5 (endoplasmic reticulum)	-1,0873	-1,0775	-1,5517	-1,24		-4,40
A_23_P357207	MRAP2	melanocortin 2 receptor accessory protein 2	-1,0284	-1,1966	-1,4963	-1,24		-4,60
A_23_P329261	KCNJ2	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	-1,4687	-1,0773	-1,1790	-1,24		-4,80
A_23_P134454	CAV1	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	-1,2028	-1,2480	-1,2762	-1,24		-5,00
A_24_P81841	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	-1,3239	-1,1253	-1,2790	-1,24		
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,1887	-1,0978	-1,4442	-1,24		
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,2453	-1,0466	-1,4501	-1,25		
A_23_P102391	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	-1,2146	-1,1319	-1,4008	-1,25		
A_23_P255884	GSN	gelsolin	-1,0947	-1,2366	-1,4188	-1,25		
A_24_P160413	MTMR9L	Data not found	-1,0860	-1,1125	-1,5564	-1,25		
A_33_P3326588	TNFRSF10D	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10d, decoy with truncated death domain	-1,2802	-1,0430	-1,4323	-1,25		
A_24_P120251	TM4SF18	transmembrane 4 L six family member 18	-1,1056	-1,2444	-1,4221	-1,26		
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0474	-1,0716	-1,6573	-1,26		
A_23_P382065	EMCN	endomucin	-1,0651	-1,3047	-1,4100	-1,26		
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,0973	-1,3217	-1,3619	-1,26		
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1106	-1,2907	-1,3807	-1,26		
A_23_P27795	SPINT2	serine peptidase inhibitor, Kunitz type, 2	-1,0871	-1,3058	-1,3929	-1,26		

A_19_P00804546	lincRNA:chrX:133675909-133683184_R	Data not found	-1,3130	-1,1096	-1,3677	-1,26		
A_23_P34126	BGN	biglycan	-1,0245	-1,0944	-1,6719	-1,26		
A_24_P133905	CCL23	chemokine (C-C motif) ligand 23	-1,1647	-1,5086	-1,1203	-1,26		
A_23_P105138	CAT	catalase	-1,1306	-1,2529	-1,4157	-1,27		
A_23_P34126	BGN	biglycan	-1,0650	-1,0646	-1,6751	-1,27		
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0623	-1,0586	-1,6841	-1,27		
A_23_P371729	GJA5	gap junction protein, alpha 5, 40kDa	-1,0120	-1,3576	-1,4383	-1,27		5,00
A_23_P72697	GPIHBP1	glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1	-1,0348	-1,0336	-1,7439	-1,27		4,80
A_23_P408285	PRICKLE1	prickle homolog 1 (Drosophila)	-1,0062	-1,1862	-1,6205	-1,27		4,60
A_33_P3307267	ENST00000321023	Data not found	-1,0117	-1,0011	-1,8036	-1,27		4,40
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1146	-1,3193	-1,3838	-1,27		4,20
A_33_P3260053	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	-1,0249	-1,3132	-1,4805	-1,27		4,00
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1416	-1,3386	-1,3394	-1,27		3,80
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1065	-1,3175	-1,4026	-1,28		3,60
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1153	-1,3395	-1,3720	-1,28		3,40
A_23_P27795	SPINT2	serine peptidase inhibitor, Kunitz type, 2	-1,0732	-1,2850	-1,4716	-1,28		3,20
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,1172	-1,0945	-1,6195	-1,28		3,00
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,2999	-1,1162	-1,4184	-1,28		2,80
A_33_P3279831	PNRC1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	-1,0694	-1,1936	-1,5715	-1,28		2,60
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,3475	-1,1200	-1,3718	-1,28		2,40
A_23_P29124	SEPT5	Septin 5	-1,0916	-1,2645	-1,4834	-1,28		2,20
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,0493	-1,3975	-1,3943	-1,28		2,00
A_23_P215913	CLU	clusterin	-1,0360	-1,1755	-1,6307	-1,28		1,80
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,0907	-1,3247	-1,4273	-1,28		1,60
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,0929	-1,3451	-1,4058	-1,28		1,40
A_23_P215913	CLU	clusterin	-1,1247	-1,1927	-1,5304	-1,28		1,20
A_24_P277934	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	-1,0407	-1,0532	-1,7571	-1,28		-1,20
A_23_P382065	EMCN	endomucin	-1,0773	-1,2707	-1,5082	-1,29		-1,40
A_23_P19020	SNCAIP	synuclein, alpha interacting protein	-1,0496	-1,2186	-1,5884	-1,29		-1,60
A_23_P346048	HERC2P2	Data not found	-1,0854	-1,1319	-1,6394	-1,29		-1,80
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,2809	-1,1378	-1,4407	-1,29		-2,00
A_33_P3423365	GSN	gelsolin	-1,2094	-1,2617	-1,4126	-1,29		-2,20
A_23_P53126	LMO2	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	-1,1133	-1,3545	-1,4199	-1,30		-2,40
A_23_P371729	GJA5	gap junction protein, alpha 5, 40kDa	-1,0652	-1,3428	-1,4945	-1,30		-2,60
A_23_P204630	NTN4	netrin 4	-1,1273	-1,2440	-1,5440	-1,31		-2,80
A_24_P133905	CCL23	chemokine (C-C motif) ligand 23	-1,2149	-1,4510	-1,2586	-1,31		-3,00
A_23_P392384	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	-1,0455	-1,3398	-1,5444	-1,31		-3,20
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,2770	-1,2651	-1,3971	-1,31		-3,40
A_23_P64898	KLRG1	killer cell lectin-like receptor subfamily G, member 1	-1,0477	-1,0627	-1,8418	-1,32		-3,60
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,3195	-1,1467	-1,5029	-1,32		-3,80
A_23_P64898	KLRG1	killer cell lectin-like receptor subfamily G, member 1	-1,0426	-1,1181	-1,8449	-1,34		-4,00
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,4271	-1,1776	-1,4286	-1,34		-4,20
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,3749	-1,1916	-1,4752	-1,35		-4,40
A_24_P364807	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	-1,1332	-1,2426	-1,7082	-1,36		-4,60
A_23_P436369	FILIP1	filamin A interacting protein 1	-1,0459	-1,4151	-1,6336	-1,36		-4,80
A_23_P121657	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	-1,3552	-1,2455	-1,5453	-1,38		-5,00
A_24_P228130	CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	-1,0070	-1,2169	-2,0429	-1,42		
A_23_P83098	ALDH1A1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	-1,0755	-1,2879	-2,0374	-1,47		
A_23_P83098	ALDH1A1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	-1,0971	-1,2651	-2,0554	-1,47		
A_23_P8820	FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	-1,0094	-1,1046	-2,3462	-1,49		
A_24_P228130	CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	-1,0465	-1,2465	-2,1801	-1,49		
A_23_P8820	FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	-1,0302	-1,1247	-2,3498	-1,50		
A_23_P218369	CCL14	chemokine (C-C motif) ligand 14	-1,1102	-1,3487	-2,2017	-1,55		
A_23_P218369	CCL14	chemokine (C-C motif) ligand 14	-1,0519	-1,3980	-2,2284	-1,56		

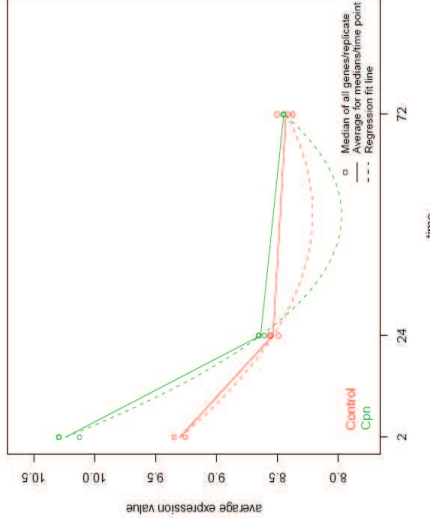


## ***ANNEX 3. Clustering***



logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			A_23_P405707	A_23_P405707	Data not found	1.88E-08	0.9752	1
			A_33_P3377911	A_33_P3377911	Data not found	1.44E-05	0.8466	1
			NM_001100108	ABL2	v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 2	7.52E-11	0.9909	1
			NM_181847	AMIGO2	adhesion molecule with Ig-like domain 2	1.71E-04	0.7103	1
			NM_016201	AMOTL2	Angiomotin like 2	1.69E-07	0.9458	1
			NM_139314	ANGPTL4	Angiopoietin-like 4	5.41E-10	0.9683	1
			NM_003734	AOC3	amine oxidase, copper containing 3 (vascular adhesion protein 1)	8.59E-06	0.8949	1
			NM_015193	ARC	Activity-regulated cytoskeleton-associated protein	2.79E-08	0.9600	1
			NM_212481	ARID5A	AT rich interactive domain 5A (MRF1-like)	4.30E-09	0.9811	1
			NM_001040619	ATF3	activating transcription factor 3	2.71E-11	0.9925	1
			NR_027655	BACH1	BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper transcription factor 1	4.59E-11	0.9917	1
			NM_012342	BAMBI	BMP and activin membrane-bound inhibitor homolog (Xenopus laevis)	5.14E-07	0.9545	1
			NM_004049	BCL2A1	BCL2-related protein A1	1.42E-10	0.9898	1
			NM_017745	BCOR	BCL6 corepressor	2.89E-06	0.9121	1
			NM_003670	BHLHE40	basic helix-loop-helix family, member e40	3.09E-09	0.9822	1
			NM_001200	BMP2	bone morphogenetic protein 2	1.16E-09	0.9643	1
			NM_032829	CL2orf34	chromosome 12 open reading frame 34	4.85E-09	0.9701	1
			NM_207442	C14orf181	chromosome 14 open reading frame 181	5.06E-04	0.7324	1
			NM_194278	C14orf43	chromosome 14 open reading frame 43	1.09E-07	0.9281	1
			NM_024616	C3orf52	chromosome 3 open reading frame 52	4.33E-10	0.9694	1
			NM_001123040	C3orf71	chromosome 3 open reading frame 71	8.03E-08	0.9314	1
			NM_198584	CA13	carbonic anhydrase XIII	1.04E-06	0.8981	1
			NM_001753	CAV1	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	2.20E-08	0.9439	1
			NM_020307	CCN1	Cyclin I1	2.56E-10	0.9887	1
			NM_012118	CCR4L	CCR4 carbon catabolite repression 4-like (S. cerevisiae)	1.88E-08	0.9752	1
			NM_013230	CD24	CD24 molecule	1.59E-04	0.8682	1
			NM_004233	CD83	CD83 molecule	4.41E-11	0.9785	1
			NM_003885	CDMSR1	cyclin-dependent kinase 5, regulatory subunit 1 (p35)	1.29E-06	0.9237	1
			NM_005194	CEBPB	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta	3.60E-08	0.9394	1
			ENST00000375587	CENPP	centromere protein P	1.31E-06	0.9236	1
			NM_194284	CLDN23	claudin 23	1.44E-05	0.8467	1
			NM_183013	CREM	cAMP responsive element modulator	1.58E-08	0.9467	1
			NM_000758	CSF2	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	5.38E-10	0.9683	1
			NM_033027	CSRNP1	cysteine-serine-rich nuclear protein 1	2.54E-09	0.9828	1
			NM_001321	CSRP2	cysteine and glycine-rich protein 2	7.81E-09	0.9676	1
			NM_002090	CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	1.04E-09	0.9854	1
			NM_144607	CYB5D1	cytochrome b5 domain containing 1	4.07E-11	0.9866	1
			NM_000785	CYP27B1	Data not found	4.54E-05	0.8166	1
			AL713660	DKFZp67E0512	Cytochrome P450, family 27, subfamily B, polypeptide 1	4.78E-07	0.9096	1
			NM_004405	DLX2	distal-less homeobox 2	5.49E-07	0.9077	1
			NM_001126056	DMKN	dermokine	7.63E-13	0.9961	1
			NM_004417	DUSP1	dual specificity phosphatase 1	3.77E-08	0.9390	1
			NM_004418	DUSP2	dual specificity phosphatase 2	1.21E-04	0.7863	1
			NM_00104023	DYRK3	dual-specific tyrosine (Y) phosphorylation regulated kinase 3	1.43E-05	0.7969	1
			NM_001949	EZFB	E2F transcription factor 3	3.37E-06	0.9357	1
			NM_001955	EDN1	endothelin 1	1.64E-04	0.7758	1
			NM_001956	EDN2	endothelin 2	1.87E-07	0.9218	1
			NM_001965	EGR4	early growth response 4	9.47E-08	0.9508	1
			NM_001969	EIF5	eukaryotic translation initiation factor 5	2.18E-05	0.8364	1
			NM_001421	EIF4	EF2-like factor 4 (e1s domain transcription factor)	8.73E-06	0.9582	1
			ENST00000300992		Data not found	9.47E-10	0.9856	1
			ENST00000300399		Data not found	2.77E-07	0.9036	1
			ENST00000330439		Data not found	8.46E-09	0.9786	1
			ENST00000368204	ENST00000368204	Data not found			
			ENST00000375522	ENST00000375522	Data not found			

Cluster 1  
Median profile of 239 genes





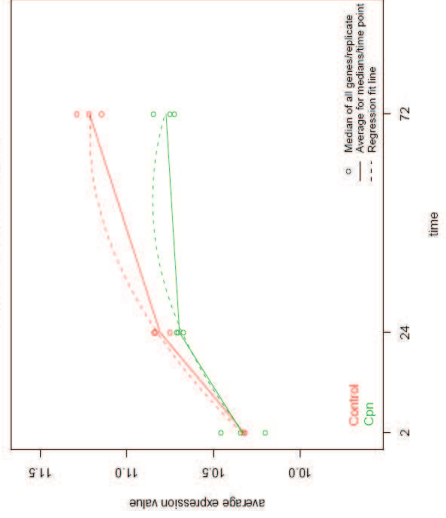
ENST0000037259	ENST0000037259	Data not found	9.30E-06	0.8935	1
ENST00000382225	ENST00000382225	Data not found	2.95E-06	0.8803	1
ENST00000406575	ENST00000406575	Data not found	1.11E-05	0.8039	1
ENST00000457596	ENST00000457596	Data not found	9.43E-05	0.7944	1
NM_025209	EPC1	enhancer of polycomb homolog 1 (Drosophila)	6.37E-06	0.9001	1
NM_001993	F3	coagulation factor III (thromboplastin, tissue factor)	1.78E-10	0.9894	1
NM_013402	FADS1	fatty acid desaturase 1	3.19E-06	0.8360	1
NM_052943	FAM46B	family with sequence similarity 46, member B	2.60E-04	0.7590	1
NM_017709	FAM46C	family with sequence similarity 46, member C	2.56E-08	0.9738	1
ENST00000388995	FAM83G	family with sequence similarity 83, member G	5.26E-08	0.9701	1
NM_014344	FXI	four jointed box 1 (Drosophila)	8.61E-10	0.9660	1
BC039324	FLJ31104	hypothetical LOC411072	4.90E-08	0.9705	1
NM_078393	FLJ45248	FLJ45248 protein	9.42E-11	0.9906	1
NM_005252	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	3.80E-13	0.9965	1
NM_006732	FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	6.67E-10	0.9865	1
NM_005438	FOSL1	FOS-like antigen 1	2.18E-08	0.9745	1
NM_005253	FOSL2	FOS-like antigen 2	5.80E-05	0.8546	1
NM_033260	FOXQ1	forkhead box Q1	7.83E-04	0.7133	1
NM_031866	FZD8	fizzled family receptor 8	3.10E-05	0.7731	1
NM_015675	GADD45B	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	2.12E-11	0.9928	1
NM_006705	GADD45G	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	8.54E-10	0.9859	1
NM_001145661	GATA2	GATA binding protein 2	1.33E-04	0.7830	1
NM_005261	GFM	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle	2.43E-13	0.9968	1
NM_001146039	GORAB	golgin, RAB6-interacting	2.18E-06	0.8857	1
NM_003485	GPR68	G protein-coupled receptor 68	4.71E-05	0.7591	1
NM_022482	GZF1	GNF-inducible zinc finger protein 1	4.94E-07	0.9351	1
NM_001945	HBEFG	heparin-binding EGF-like growth factor	3.74E-08	0.9719	1
NM_020760	HECW2	HECT, C2 and WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2	1.46E-10	0.9898	1
NM_005524	HES1	hairly and enhancer of split 1, (Drosophila)	9.06E-12	0.9938	1
NM_001010926	HES5	hairly and enhancer of split 5 (Drosophila)	2.76E-08	0.9418	1
NM_018645	HES6	hairly and enhancer of split 6 (Drosophila)	1.20E-08	0.9772	1
NM_006460	HEXIM1	hexamethylene bis-acetamide inducible 1	2.43E-05	0.8336	1
NM_000189	HK2	hexokinase 2	1.96E-08	0.9208	1
NM_000859	HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	4.21E-09	0.9565	1
NM_003806	HRK	harakiri, BCL2 interacting protein (contains only BH3 domain)	3.11E-04	0.7522	1
NM_005114	HS3ST1	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1	1.14E-05	0.8522	1
NM_022155	HSPA6	heat shock 70Da protein 6 (HSP70B)	4.61E-05	0.8102	1
NM_022377	ICAM4	intercellular adhesion molecule 4 (Landsteiner-Wiener blood group)	3.97E-11	0.9919	1
NM_002166	ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	6.88E-12	0.9900	1
NM_004508	ID11	isopenenyl-diphosphate delta isomerase 1	6.54E-07	0.9320	1
NM_004907	IER2	immediate early response 2	1.64E-10	0.9896	1
NM_016545	IER5	immediate early response 5	4.20E-09	0.9812	1
NM_000641	IL11	interleukin 11	4.60E-13	0.9964	1
NM_003853	IL18RAP	interleukin 18 receptor accessory protein	8.96E-08	0.9303	1
NM_000575	IL3A	interleukin 3, alpha	1.69E-08	0.9757	1
NM_002185	IL7R	interleukin 7 receptor	5.75E-09	0.9544	1
NM_002198	IRF1	interferon regulatory factor 1	2.08E-08	0.9443	1
NM_033397	ITPRIP	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein	6.40E-10	0.9787	1
NM_000214	JAG1	Jagged 1	2.03E-05	0.8383	1
NM_002228	JUN	jun proto-oncogene	2.66E-11	0.9925	1
NM_002229	JUNB	jun B proto-oncogene	1.04E-09	0.9854	1
NM_005354	JUND	jun D proto-oncogene	1.88E-08	0.9752	1
NM_000891	KCNJ2	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	8.11E-09	0.9787	1
NM_001080424	KDM6B	lysine (K)-specific demethylase 6B	3.40E-08	0.9399	1
NM_025249	KIAA1683	KIAA1683	1.34E-07	0.9645	1
NM_005655	KLF10	Kruppel-like factor 10	2.14E-10	0.9891	1
NM_001160124	KLF6	Kruppel-like factor 4 (gut)	2.92E-10	0.9884	1
NM_014851	KLH21	Kruppel-like factor 6	4.17E-09	0.9812	1
NM_000526	KRT14	keratin-like 21 (Drosophila)	1.32E-11	0.9994	1
NM_000422	KRT17	keratin 14	1.28E-06	0.8947	1
NM_001032998	KYNU	kyureninase	2.37E-05	0.8343	1
NM_000327	LDLR	low density lipoprotein receptor	6.94E-09	0.9530	1
NM_002309	LIF	leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)	1.92E-06	0.8879	1
lincRNA:chr11:17378149-17406149_F		Data not found	2.57E-07	0.9179	1
lincRNA:chr17:62761217-62762236_R		Data not found	3.35E-04	0.7492	1

lincRNA:chr18:59273300-59274144_R	lincRNA:chr18:59273300-59274144_R	Data not found	1.38E-08	0.9478	1
lincRNA:chr21:26934779-26935204_F	lincRNA:chr21:26934779-26935204_F	Data not found	1.38E-09	0.9846	1
lincRNA:chr21:44819197-44819297_R	lincRNA:chr21:44751672-44819297_R	Data not found	4.71E-07	0.9098	1
lincRNA:chr21:44890313-44898009_R	lincRNA:chr21:44890313-44898009_R	Data not found	8.79E-06	0.8580	1
lincRNA:chr3:194190336-194206786_R	lincRNA:chr3:194190336-194206786_R	Data not found	7.60E-07	0.9029	1
lincRNA:chr3:194190336-194206820_R	lincRNA:chr3:194190336-194206820_R	Data not found	1.88E-06	0.8882	1
lincRNA:chr3:88108419-88178191_F	lincRNA:chr3:88108419-88178191_F	Data not found	2.71E-06	0.8817	1
lincRNA:chr3:88179560-88183660_F	lincRNA:chr3:88179560-88183660_F	Data not found	1.58E-05	0.8445	1
lincRNA:chr7:1118364-11146189_F	lincRNA:chr6:1118364-11146189_F	Data not found	2.70E-05	0.8309	1
lincRNA:chr7:130589527-130590094_R	lincRNA:chr7:130589527-130590094_R	Data not found	1.12E-07	0.9495	1
lincRNA:chr8:128240803-128241377_R	lincRNA:chr8:128240803-128241377_R	Data not found	5.77E-10	0.9680	1
lincRNA:chr9:21506160-21506630_R	lincRNA:chr9:21506160-21506630_R	Data not found	2.28E-10	0.9821	1
XM_001714457	LOC100130128	hypothetical LOC100130128	9.65E-05	0.7937	1
XM_001720237	LOC100130938	hypothetical LOC100130938	1.58E-08	0.9467	1
XM_001727203	LOC100132469	hypothetical LOC100132469	1.41E-08	0.9476	1
AK057616	LOC254100	hypothetical protein LOC254100	2.10E-05	0.8374	1
XM_001145083	LOC387763	Data not found	5.24E-13	0.9963	1
XM_001716715	LOC389024	hypothetical LOC389024	1.16E-04	0.7877	1
XM_922822	LOC646626	hypothetical protein LOC646626	3.93E-05	0.8207	1
AK096898	LOC729451	hypothetical protein LOC729451	3.55E-08	0.9395	1
NM_0221143	LRRC4	Leucine rich repeat containing 4	2.45E-09	0.9733	1
NM_032270	LRR9C	leucine rich repeat containing 8 family, member C	2.19E-08	0.9439	1
NM_021323	MAFF	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)	6.52E-11	0.9912	1
NM_022359	MAFG	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog G (avian)	1.17E-05	0.8516	1
NM_175868	MAGEA6	melanoma antigen family A, 6	2.95E-10	0.9711	1
NM_005204	MAP3K8	mitogen-activated protein kinase kinase 8	3.97E-10	0.9877	1
NM_177401	MIDN	Midolin	4.50E-07	0.9105	1
NM_002448	MSX1	mesh homeobox 1	1.50E-06	0.8921	1
NR_002307	MSX2P1	mesh homeobox 2 pseudogene 1	2.04E-06	0.8668	1
NM_175617	MT1E	metallothionein 1E	1.15E-09	0.9471	1
NM_005950	MT1G	metallothionein 1G	7.88E-09	0.9521	1
NR_001447	MT1L	metallothionein 1L (gene/pseudogene)	2.36E-11	0.9877	1
NM_005952	MT1X	metallothionein 1X	4.03E-13	0.9958	1
NM_006636	MT1FD2	methylentetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 2	2.08E-07	0.8890	1
NR_024089	NCRNA00162	non-protein coding RNA 162	3.40E-07	0.9143	1
NR_026875	NEURL3	neurized homolog 3 (Drosophila) pseudogene	1.67E-07	0.9630	1
NM_031419	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, zeta	2.47E-11	0.9926	1
NM_005450	NOG	noggin	2.30E-10	0.9821	1
NM_002522	NR4A1	neural pentraxin 1	6.74E-06	0.8991	1
NM_002135	NR4A1	neural receptor subfamily 4, group A, member 1	1.09E-11	0.9826	1
NM_006186	NR4A2	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2	4.19E-11	0.9919	1
NM_173198	NR4A3	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3	1.54E-11	0.9952	1
NM_002539	ODC1	Ornithine decarboxylase 1	8.40E-10	0.9495	1
NM_015368	PANX1	pannexin 1	8.89E-07	0.8634	1
NM_001037341	PDE4B	phosphodiesterase 4B, cAMP-specific	5.04E-06	0.8698	1
NM_002607	PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	1.58E-05	0.8444	1
NM_003687	PDLIM4	PDZ and LIM domain 4	1.91E-10	0.9730	1
NM_022817	PER2	period homolog 2 (Drosophila)	1.14E-05	0.8521	1
NM_004566	PKFB3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3	1.77E-08	0.9755	1
NM_002648	PIM1	pim-3 oncogene	4.96E-07	0.9548	1
NM_001001852	PIM3	pim-3 oncogene	1.26E-04	0.8339	1
NM_153426	PITX2	paired-like homeodomain 2	1.29E-07	0.9262	1
NM_007183	PKP3	plakophilin 3	3.09E-06	0.8793	1
NM_001005377	PLAUR	plasminogen activator, urokinase receptor	9.39E-06	0.8087	1
NM_021127	PMAIP1	phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	3.30E-11	0.9922	1
NM_020182	PMEP1A1	prostate transmembrane protein, androgen induced 1	7.80E-11	0.9909	1
NM_032833	PP1R15B	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15B	2.92E-04	0.7545	1
NM_000963	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2	1.20E-12	0.9957	1
NM_033224	PURB	purine-rich element binding protein B	1.37E-07	0.9477	1
NM_023940	RASL11B	RAS-like, family 11, member B	3.83E-05	0.8214	1
NM_170713	RAS5F1	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 1	8.67E-06	0.8947	1
NM_001037866	RGPD6	RANBP2-like and GRIP domain containing 6	1.05E-04	0.7298	1
NM_002928	RG516	regulator of G-protein signaling 16	2.13E-09	0.9608	1
NM_002923	RG52	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	1.62E-13	0.9909	1
NM_017790	RG53	regulator of G-protein signaling 3	2.75E-05	0.8719	1
NM_015672	RIMBP3	RIMS binding protein 3	2.23E-06	0.9163	1

NM_134260	RORA	RAR-related orphan receptor A	3.78E-08	0.9390	1
NM_004165	RRAD	Ras-related associated with diabetes	6.98E-08	0.9329	1
NM_00101890	RUNX1	Runx-related transcription factor 1	1.06E-07	0.9284	1
NM_012234	RYBP	RING1 and YY1 binding protein	1.83E-07	0.9624	1
NM_002961	S100A4	S100 calcium binding protein A4	2.06E-06	0.8866	1
NM_005980	S100P	S100 calcium binding protein P	4.49E-06	0.8721	1
NM_021818	SAV1	salvador homolog 1 (Drosophila)	1.51E-08	0.9471	1
NM_003002	SCARNA13	small Cajal body-specific RNA 13	1.46E-04	0.7199	1
NR_003001	SCARNA7	small Cajal body-specific RNA 7	7.30E-05	0.8025	1
NM_001031848	SERPIN8	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 8	1.42E-08	0.9475	1
NM_000185	SERPIND1	serpin peptidase inhibitor, clade D (heparin cofactor), member 1	2.48E-09	0.9599	1
NM_019605	SERTAD4	SERTA domain containing 4	2.18E-05	0.7100	1
NM_006142	SFN	stratifin	7.34E-08	0.9324	1
NM_005627	SGK1	serum/glucocorticoid induced kinase 1	6.31E-11	0.9855	1
NM_173354	SK1	salt-inducible kinase 1	7.89E-09	0.9521	1
NM_005414	SKIL	SKI-like oncogene	2.08E-08	0.9619	1
NM_006996	SLC19A2	solute carrier family 19 (thiamine transporter), member 2	2.06E-07	0.9616	1
NM_001006641	SLC25A25	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 25	1.24E-06	0.9242	1
NM_207348	SLC25A34	solute carrier family 25, member 34	5.39E-07	0.9079	1
NM_001860	SLC31A2	solute carrier family 31 (copper transporters), member 2	5.85E-05	0.8092	1
NM_005904	SMAD7	SMAD family member 7	1.69E-09	0.9840	1
NM_005985	SNAIL	snail homolog 1 (Drosophila)	1.15E-12	0.9958	1
NM_003745	SOC1	suppressor of cytokine signaling 1	1.02E-06	0.9485	1
NM_003955	SOC3	suppressor of cytokine signaling 3	9.36E-13	0.9959	1
NM_005686	SOX13	SRY (sex determining region Y)-box 13	4.97E-05	0.8140	1
NM_015417	SPEF1	sperm flagellar 1	8.09E-08	0.9313	1
NM_205841	SPINK6	serine peptidase inhibitor, kazal type 6	1.19E-12	0.9876	1
NM_025106	SPSB1	spA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 1	4.71E-07	0.9098	1
NM_018984	SSH1	slingshot homolog 1 (Drosophila)	1.62E-06	0.8908	1
NM_004603	STX1A	syntaxin 1A (brain)	8.35E-08	0.9310	1
NM_007113	TCHH	trichohyalin	2.32E-06	0.8845	1
NM_152680	TMEM154	transmembrane protein 154	2.63E-09	0.9596	1
NM_015444	TMEM158	transmembrane protein 158 (gene/pseudogene)	2.99E-08	0.9411	1
NM_203411	TMEM88	transmembrane protein 88	2.14E-06	0.8860	1
NM_000594	TNF	tumor necrosis factor	2.22E-10	0.9724	1
NM_025195	TRIB1	tribbles homolog 1 (Drosophila)	3.73E-12	0.9948	1
NM_021158	TRIB3	tribbles homolog 3 (Drosophila)	3.36E-05	0.8249	1
NM_020127	TUFT1	tuftelin 1	1.90E-09	0.9745	1
NM_138440	VASN	vasorin	2.88E-08	0.9597	1
NM_001017535	VDR	vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D3) receptor	1.08E-05	0.8048	1
NM_003881	WIP2	WNT1 inducible signaling pathway protein 2	1.12E-06	0.9869	1
NM_018081	WRAP53	WD repeat containing, antisense to TP53	1.43E-04	0.7805	1
NM_001105539	ZBTB10	zinc finger and BTB domain containing 10	2.57E-05	0.8322	1
NM_025079	ZC3H12A	zinc finger, CCH-type containing 12A	2.16E-12	0.9953	1
NM_173570	ZDHHC23	zinc finger, DHHC-type containing 23	3.49E-12	0.9854	1
NM_003407	ZFP36	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)	2.41E-12	0.9952	1
NM_001098402	ZNF295	zinc finger protein 295	1.85E-07	0.9450	1
NM_032772	ZNF503	zinc finger protein 503	6.54E-11	0.9912	1
NM_175888	ZNF620	zinc finger protein 620	5.91E-08	0.9694	1
NM_018293	ZNF654	zinc finger protein 654	4.62E-06	0.8715	1
NM_024804	ZNF669	zinc finger protein 669	8.78E-06	0.8580	1
NM_033213	ZNF670	zinc finger protein 670	6.74E-07	0.9316	1
NM_007139	ZNF92	Zinc finger protein 92	1.19E-11	0.9935	1

logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			A_24_P178444	A_24_P178444	Data not found	4.52E-05	0.7605	2
			A_33_P3259203	A_33_P3259203	Data not found	3.68E-06	0.8760	2
			A_33_P3269924	A_33_P3269924	Data not found	1.91E-04	0.7057	2
			NM_031426	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	3.72E-07	0.8793	2
			NM_000689	ALDH1A1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	2.44E-06	0.8421	2
			NM_020373	ANO2	anoctamin 2	4.89E-08	0.9097	2
			NM_144772	APOA1BP	apolipoprotein A-1 binding protein	3.33E-06	0.8350	2
			NM_000044	AR	androgen receptor	2.13E-09	0.9609	2
			NM_000050	ASS1	argininosuccinate synthase 1	9.93E-05	0.7341	2
			NM_006095	ATP8A1	ATPase, aminophospholipid transporter (APLT), class I, type 8A, member 1	1.19E-07	0.8975	2
			NM_004776	B4GALT5	UDP-Gal4-epitideGalNAc-beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 5	5.72E-07	0.8717	2
			NM_013450	BAZ2B	bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2B	7.41E-05	0.7430	2
			NM_001202	BMP4	bone morphogenetic protein 4	9.21E-06	0.8570	2
			NM_001115567	C17orf76	chromosome 17 open reading frame 76	4.85E-08	0.9098	2
			NM_206538	CL9orf63	chromosome 19 open reading frame 63	2.76E-05	0.8303	2
			NM_080625	C20orf160	chromosome 20 open reading frame 160	8.04E-05	0.7995	2
			NM_004590	CCL16	chemokine (C-C motif) ligand 16	3.37E-07	0.8810	2
			NM_004064	CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	3.38E-08	0.9400	2
			NM_000089	COL1A2	collagen, type I, alpha 2	2.07E-08	0.9201	2
			NM_00107916	CYBS61	cytochrome b-561	1.57E-05	0.7941	2
			NM_014392	D45234E	DNA segment on chromosome 4 (unique) 234 expressed sequence	2.39E-05	0.8750	2
			NM_013974	DDAH2	dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	3.54E-05	0.7687	2
			NM_014421	DKK2	Dickkopf homolog 2 (Xenopus laevis)	5.54E-07	0.9075	2
			NM_007034	DNAH4	DnaI (Hsp40) homolog, subfamily B, member 4	6.03E-05	0.8083	2
			ENST00000321023	ENST00000321023	Data not found	3.23E-05	0.7717	2
			ENST00000354853	ENST00000354853	Data not found	2.37E-10	0.9721	2
			ENST00000357042	ENST00000357042	Data not found	1.83E-05	0.7895	2
			ENST00000405068	ENST00000405068	Data not found	5.67E-05	0.8551	2
			NM_032181	FAM176A	family with sequence similarity 176, member A	2.06E-05	0.7859	2
			NM_015410	FAM198B	family with sequence similarity 198, member B	8.55E-11	0.9848	2
			NR_015410	FUJ21536	hypothetical locus LOC401237	1.83E-05	0.8408	2
			NM_133236	GIMAP7	GTPase, IMAP family member 7	4.17E-09	0.9566	2
			NM_005266	GJA5	gap junction protein, alpha 5, 40kDa	4.21E-10	0.9695	2
			NM_014905	GLS	glutaminase	9.63E-07	0.8618	2
			NM_001029885	GLTPD1	glycolipid transfer protein domain containing 1	3.20E-04	0.7510	2
			NR_002824	HERC2P2	Data not found	1.12E-09	0.9473	2
			NM_152419	HGSNAT	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase	5.23E-09	0.9344	2
			NM_003959	HIP1R	huntingtin interacting protein 1 related	1.45E-06	0.8927	2
			NM_001145724	HOMER3	Homer homolog 3 (Drosophila)	1.62E-07	0.8928	2
			NM_001552	IGFBP4	insulin-like growth factor binding protein 4	7.28E-10	0.9505	2
			NM_001017915	INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa	1.58E-09	0.9447	2
			NM_014505	KCNMB4	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, beta member 4	3.32E-08	0.9146	2
			NM_015037	KIAA0913	KIAA0913	1.95E-04	0.7048	2
			lincRNA:chr15:64753847-64771422_F	lincRNA:chr15:64753847-64771422_F	Data not found	2.32E-05	0.8348	2
			lincRNA:chrX:133675909-133683184_R	lincRNA:chrX:133675909-133683184_R	Data not found	4.40E-08	0.9568	2
			NM_001716085	LOC100129036	hypothetical LOC100129036	1.62E-04	0.7127	2
			NR_024054	LOC100170939	glucuronidase, beta pseudogene	2.32E-09	0.9603	2
			AK057596	LOC150759	hypothetical LOC150759	1.24E-05	0.8008	2
			NM_004590	MMF2	matrix metalloproteinase 2	7.40E-06	0.8618	2
			NM_138409	MRAP2	melanocortin 2 receptor accessory protein 2	5.47E-09	0.9547	2
			NM_017762	MTMR10	myotubularin related protein 10	1.37E-04	0.7193	2
			NM_005964	MYH10	myosin, heavy chain 10, non-muscle	4.62E-08	0.9105	2
			NM_000297	PKD2	polycystic kidney disease 2 (autosomal dominant)	1.83E-05	0.7895	2

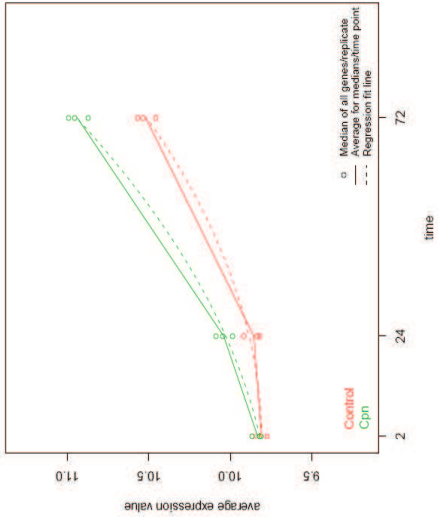
Cluster 2  
Median profile of 83 genes



NM_006237	POU4F1	POU class 4 homeobox 1	3.20E-05	0.7720	2
NM_013357	PURG	purine-rich element binding protein G	1.91E-04	0.7058	2
NM_198232	RNASE1	ribonuclease, RNase A family, 1 (pancreatic)	2.41E-05	0.8359	2
NR_002229	RPL23AP32	ribosomal protein L23a pseudogene 32	7.89E-07	0.9298	2
NM_004349	RUNX1T1	runx-related transcription factor 1, translocated to, 1 (cyclin D-related)	1.82E-04	0.7077	2
NM_002957	RXRA	retinoid X receptor, alpha	8.24E-06	0.8594	2
NM_003775	S1PR4	sphingosine-1-phosphate receptor 4	5.12E-05	0.8151	2
NM_030913	SEMA6C	sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6C	1.34E-05	0.8484	2
NM_001080420	SHANK3	SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3	7.89E-08	0.9033	2
NM_001010846	SHE	Src homology 2 domain containing E	2.69E-07	0.9173	2
NM_014585	SLC40A1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	1.43E-04	0.7177	2
NM_005585	SMAD6	SMAD family member 6	6.69E-07	0.9523	2
NM_139067	SMARCC2	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily c, member 2	8.06E-09	0.9519	2
NM_021069	SORBS2	sorbin and SH3 domain containing 2	8.73E-07	0.9286	2
NM_020126	SPHK2	sphingosine kinase 2	7.81E-06	0.8606	2
NM_005679	TAF1C	TATA box binding protein (TBP)-associated factor, RNA polymerase I, C, 110kDa	1.01E-08	0.9279	2
NM_080646	TBX1	T-box 1	5.22E-06	0.8691	2
NR_024568	tcag7.907	Data not found	4.52E-05	0.7605	2
NM_031283	TCF7L1	Transcription factor 7-like 1 (T-cell specific, HMG-box)	1.36E-05	0.7992	2
NM_015204	THSD7A	thrombospondin, type I, domain containing 7A	2.66E-07	0.8850	2
NM_138786	TM4SF18	transmembrane 4.L six family member 18	2.62E-04	0.7587	2
NM_003840	TNFRSF10D	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10d, decoy with truncated death domain	1.83E-07	0.9451	2
NM_148965	TNFRSF25	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25	1.40E-06	0.8933	2
NM_031945	TSPAN10	tetraspanin 10	1.31E-05	0.7994	2
NM_030810	TXNDC5	thioredoxin domain containing 5 (endoplasmic reticulum)	1.37E-06	0.8937	2
NM_006048	UBE4B	ubiquitination factor E4B	1.11E-04	0.7278	2
NM_152718	VWCE	von Willebrand factor C and EGF domains	8.71E-07	0.8638	2
X69637	X69637	Data not found	1.32E-06	0.8554	2
AI137703	ZMYND8	zinc finger, MYND-type containing 8	2.39E-06	0.9153	2
NM_015461	ZNF521	zinc finger protein 521	3.39E-06	0.8346	2

SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p-value	R-squared	Cluster
logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	A_32_P101860	Data not found	1.65E-04	0.7119	3
logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	A_33_P3220911	Data not found	5.84E-08	0.9074	3
logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	A_33_P3319502	Data not found	1.43E-12	0.9797	3
logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	A_33_P3364869	Data not found	1.57E-06	0.8913	3
	A_33_P3424803	Data not found	4.06E-10	0.9545	3
	NM_001645	apolipoprotein C-1	6.59E-07	0.9050	3
	NM_145637	apolipoprotein L 2	1.38E-08	0.9478	3
	NM_145641	apolipoprotein L 3	1.02E-08	0.9279	3
	NM_004048	beta-2-microglobulin	3.85E-08	0.9127	3
	NM_001003940	Bcl2 modifying factor	4.18E-08	0.9571	3
	NM_004335	BST2	5.14E-08	0.9091	3
	NM_001145009	Bone marrow stromal cell antigen 2	3.48E-08	0.9140	3
	NM_001145010	butyrophilin, subfamily 3, member A1	2.77E-08	0.9418	3
	NR_026796	chromosome 12 open reading frame 70	1.05E-09	0.9218	3
	NM_001085423	Data not found	7.42E-11	0.9643	3
	NM_001733	chromosome 17 open reading frame 60	2.08E-07	0.8889	3
	NM_201442	complement component 1, r subcomponent	5.35E-09	0.9342	3
	NM_207322	complement component 1, s subcomponent	2.56E-08	0.9605	3
	NM_003203	C2 calcium-dependent domain containing 4A	2.63E-06	0.8404	3
	NM_145267	chromosome 2 open reading frame 3	3.82E-09	0.9334	3
	NM_033292	chromosome 6 open reading frame 57	3.80E-11	0.9790	3
	NM_000071	caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	7.00E-09	0.9530	3
	NM_002981	cystathionine-beta-synthase	1.48E-04	0.7794	3
	NM_001710	chemokine (C-C motif) ligand 1	2.51E-11	0.9694	3
	NM_198289	complement factor B	6.60E-06	0.8642	3
	NM_033641	cell death-inducing DFFA-like effector a	5.66E-07	0.8203	3
	NM_005202	collagen, type IV, alpha 6	1.09E-09	0.9647	3
	NM_000396	collagen, type VIII, alpha 2	5.85E-10	0.9679	3
	NM_003588	cathepsin K	1.67E-06	0.7929	3
	NM_002996	culin 4B	1.14E-07	0.9493	3
	NM_005409	chemokine (C-X3-C motif) ligand 1	2.23E-05	0.7835	3
	NM_002993	chemokine (C-X-C motif) ligand 11	1.12E-06	0.8036	3
	NM_001349	chemokine (C-X-C motif) ligand 6 (granulocyte chemotactic protein 2)	5.06E-07	0.8739	3
	NM_024119	aspartyl-tRNA synthetase	1.89E-07	0.8905	3
	NM_001935	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 60-like	3.11E-10	0.9562	3
	NM_005755	DEH (Asp-Glu-X-His) box polypeptide 58	2.56E-09	0.9597	3
	NM_00135652	dipeptidyl-peptidase 4	5.35E-09	0.9549	3
	ENST00000359635	Epstein-Barr virus induced 3	1.04E-05	0.8058	3
	ENST00000370913	eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 2	2.82E-12	0.9776	3
	ENST00000376793	Data not found	7.56E-06	0.7475	3
	ENST00000399573	Data not found	5.27E-07	0.8732	3
	NM_033255	Data not found	2.66E-08	0.9172	3
	NM_022350	epithelial stromal interaction 1 (brest)	6.52E-06	0.7523	3
	NM_015004	endoplasmic reticulum aminopeptidase 2	2.05E-05	0.7124	3
	NM_181709	exosome component 7	7.26E-07	0.8673	3
	NM_001161357	family with sequence similarity 101, member A	9.36E-07	0.9277	3
	NM_004117	FCH domain only 1	6.06E-06	0.7547	3
	NM_000158	FK506 binding protein 5	1.86E-05	0.7161	3
	NM_001486	glucan (1,4-alpha), branching enzyme 1	3.69E-06	0.7701	3
	NM_004877	glucokinase (hexokinase 4) regulator	9.63E-06	0.7394	3
	NM_001512	glutathione S-transferase alpha 4	5.88E-06	0.7557	3
	NM_016323	glutathione S-transferase alpha 4	9.88E-07	0.8613	3
	NM_017912	hect domain and RLD 5	1.45E-05	0.8465	3
		hect domain and RLD 6	1.52E-05	0.7235	3

Cluster 3  
Median profile of 153 genes



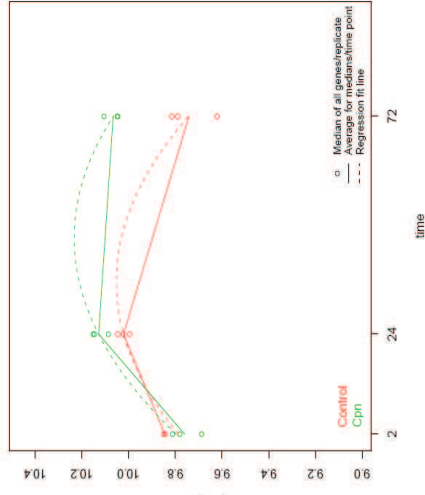
NM_021170	HES4	bary and enhancer of split 4 (Drosophila)	9.41E-13	0.9928	3
NM_001010931	HGF	hepatocyte growth factor (hepatoplatin A, scatter factor)	1.01E-07	0.8568	3
NM_002116	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A	6.16E-12	0.9750	3
NM_005514	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	5.07E-09	0.9347	3
NM_002117	HLA-C	major histocompatibility complex, class I, C	3.57E-11	0.9678	3
NM_005516	HLA-E	major histocompatibility complex, class I, E	3.40E-13	0.9834	3
NM_001098478	HLA-F	major histocompatibility complex, class I, F	1.77E-11	0.9709	3
NM_015259	HLA-G	major histocompatibility complex, class I, G	1.48E-12	0.9805	3
NM_015259	HLA-J	major histocompatibility complex, class I, J (pseudogene)	3.57E-09	0.9379	3
NM_005532	ICOSL6	inducible T-cell co-stimulator, ligand	1.46E-06	0.7965	3
NM_026949	IFI271.1	interferon, alpha-inducible protein 27-like 1	8.90E-10	0.9491	3
NM_005533	IFI35	interferon-induced protein 35	5.85E-06	0.7575	3
NM_006417	IFI44	interferon-induced protein 44	1.54E-05	0.7229	3
NM_006820	IFI44L	interferon-induced protein 44-like	2.01E-05	0.7132	3
NM_022873	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	3.92E-07	0.8288	3
NM_022168	IFIH1	interferon induced with helicase C domain 1	1.41E-06	0.8540	3
NM_003641	IFITM1	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27)	1.18E-08	0.9263	3
NM_001590	IFITM4P	interferon induced transmembrane protein 4, pseudogene	7.58E-08	0.9209	3
NM_000416	IFNGR1	interferon gamma receptor 1	8.00E-12	0.9898	3
NM_172200	IL15RA	interleukin 15 receptor, alpha	2.88E-08	0.9163	3
NM_001012633	IL32	interleukin 32	8.50E-10	0.9777	3
NM_172374	IL4I1	interleukin 4 induced 1	1.35E-04	0.7201	3
NM_006084	IRF9	interferon regulatory factor 9	2.09E-06	0.8456	3
NM_002201	ISG20	interferon stimulated exonuclease gene 20kDa	6.09E-10	0.9789	3
NM_025194	ITPKC	inositol-trisphosphate 3-kinase C	1.51E-06	0.9216	3
NM_000215	JAK3	Janus kinase 3	1.18E-09	0.9764	3
NM_019590	KIAA1217	KIAA1217	3.87E-07	0.9235	3
NM_014398	LAMP3	lysosomal-associated membrane protein 3	5.37E-09	0.9548	3
NM_002308	LGALS9	lectin, galactoside-binding, soluble, 9	1.48E-12	0.9796	3
NM_001040078	LGALS9C	lectin, galactoside-binding, soluble, 9C	3.01E-12	0.9774	3
lincRNA-chr16-20864099-20869374_R		Data not found	5.35E-08	0.9553	3
lincRNA-CHR11:5401722-115413847_R		Data not found	1.09E-10	0.9903	3
NM_001031692	LRRRC37	leucine rich repeat containing 17	1.77E-08	0.9457	3
NM_018296	LRRRC36	leucine rich repeat containing 36	3.74E-08	0.9131	3
NM_002341	LTB	lymphotoxin beta (TNF superfamily member 3)	3.01E-09	0.9724	3
NM_002346	LY6E	lymphocyte antigen 6 complex, locus E	2.27E-10	0.9581	3
NM_005797	MPZL2	myelin protein zero-like 2	1.26E-09	0.9762	3
NM_181782	NCOA7	nuclear receptor coactivator 7	1.01E-05	0.8067	3
NM_00107493	NFKB2	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)	2.39E-05	0.8341	3
NM_020202	NTZ	nitrlase family, member 2	9.39E-06	0.8565	3
NM_004688	NM1	N-myc (and STAT) interactor	2.07E-07	0.9439	3
NM_006169	NNMT	nicotinamide N-methyltransferase	5.86E-07	0.8713	3
NM_024408	NOTCH2	notch 2	1.39E-05	0.7266	3
NM_016817	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	1.91E-06	0.7882	3
NM_006187	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	2.22E-05	0.7093	3
NM_001014440	ODF3B	Outer dense fiber of sperm tails 3B	1.03E-14	0.9900	3
NM_001008211	OPTN	Optineurin	2.01E-04	0.8201	3
NM_080597	OSBP1A	oxysterol binding protein-like 1A	2.74E-05	0.7014	3
NM_177938	PAHTM	prolyl 4-hydroxylase, transmembrane (endoplasmic reticulum)	3.43E-10	0.9704	3
NM_025155	PAAR1	proteasomal ATPase-associated factor 1	2.94E-07	0.9162	3
NM_173462	PAPIN	papilin, proteoglycan-like sulfated glycoprotein	8.84E-07	0.8635	3
NM_032789	PARP10	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 10	4.74E-08	0.9101	3
NM_031458	PARP9	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 9	3.09E-05	0.7732	3
NM_013363	PCOLCE2	procollagen C-endopeptidase enhancer 2	5.64E-09	0.9545	3
NM_032346	PDCD2L	programmed cell death 2-like	1.38E-05	0.7270	3
NM_020992	PDLIM1	PDZ and LIM domain 1	1.35E-10	0.9744	3
NM_036681	PDXK	pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	5.97E-06	0.7552	3
NM_206836	PECI	Data not found	9.43E-07	0.8996	3
NM_003706	PLA2G4C	phospholipase A2, group IVC (cytosolic, calcium-independent)	1.77E-08	0.9629	3
NM_005167	PPM1J	protein phosphatase, Mg2+/Mn2+ dependent, 1J	2.57E-06	0.8410	3
NM_002800	PSMB9	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 9 (large multifunctional peptidase 2)	4.17E-09	0.9365	3
NM_002818	PSME2	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta)	5.58E-07	0.9338	3
NM_173174	PTK2B	protein tyrosine kinase 2 beta	1.14E-06	0.8583	3
NM_002863	PYGL	phosphorylase, glycogen, liver	6.95E-06	0.8631	3

NM_177403	RAB7B	RAB7B, member RAS oncogene family	1.28E-06	0.8560	3
NM_006509	RELB	v-rel reticuloheliosis viral oncogene homolog B	9.98E-08	0.9504	3
NM_024599	RHBD5	Rhomboid 5 homolog 2 (Drosophila)	3.17E-08	0.9406	3
NM_001034853	RPGR	retinitis pigmentosa GTPase regulator	5.78E-08	0.9075	3
NM_022147	RTPA	receptor (chemosensory) transporter protein 4	3.08E-08	0.9155	3
NM_003020	SCG5	secretogranin V (782 protein)	5.83E-08	0.9074	3
NM_003004	SECTM1	secreted and transmembrane 1	1.38E-05	0.7270	3
NM_030666	SERPINB1	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 1	1.20E-08	0.9652	3
NM_004155	SERPINB9	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	9.52E-08	0.9007	3
NM_016582	SIC15A3	solute carrier family 15, member 3	1.27E-09	0.9464	3
NM_003615	SLC4A7	solute carrier family 4, sodium bicarbonate cotransporter, member 7	1.65E-05	0.7204	3
NM_005902	SMAD3	SMAD family member 3	2.81E-09	0.9591	3
NM_006100	ST3GAL6	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 6	7.99E-11	0.9850	3
NM_001013841	STAP2	signal transducing adaptor family member 2	9.53E-11	0.9845	3
NM_003153	STAT6	signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced	2.18E-06	0.8857	3
NM_000593	TAP1	transporter 1, ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP)	1.23E-08	0.9259	3
ENST00000422616	TAPBP	TAP binding protein (tapasin)	2.27E-12	0.9783	3
NM_018421	TBC1D2	TBC1 domain family, member 2	4.64E-07	0.9100	3
NM_138788	TMEM45B	transmembrane protein 45B	5.29E-09	0.9343	3
NM_018196	TMLHE	trimethyllysine hydroxylase, epsilon	2.40E-06	0.7827	3
NM_003820	TNFRSF14	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 14 (herpesvirus entry mediator)	1.34E-08	0.9480	3
NM_032945	TNFRSF6B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b, decoy	3.04E-09	0.9586	3
NM_003810	TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	2.55E-14	0.9932	3
NM_006058	TNIP1	TNFAIP3 interacting protein 1	6.37E-07	0.8697	3
NM_033219	TRIM14	tripartite motif containing 14	6.60E-06	0.7520	3
NM_006074	TRIM22	tripartite motif containing 22	2.84E-10	0.9567	3
NM_001008237	TTC32	tetratricopeptide repeat domain 32	4.74E-08	0.8705	3
NM_006398	UBD	ubiquitin D	4.06E-11	0.9866	3
NM_198183	UBE2L6	ubiquitin-conjugating enzyme E2L6	6.89E-13	0.9817	3
NM_003359	UGDH	UDP-glucose 6-dehydrogenase	1.80E-08	0.9456	3
NM_017523	XAF1	XAP associated factor 1	1.68E-07	0.8923	3
NM_001127464	ZNF469	zinc finger protein 469	5.77E-07	0.9070	3
NM_003072	ZSWIM4	zinc finger, SWIM-type containing 4	4.82E-06	0.8707	3



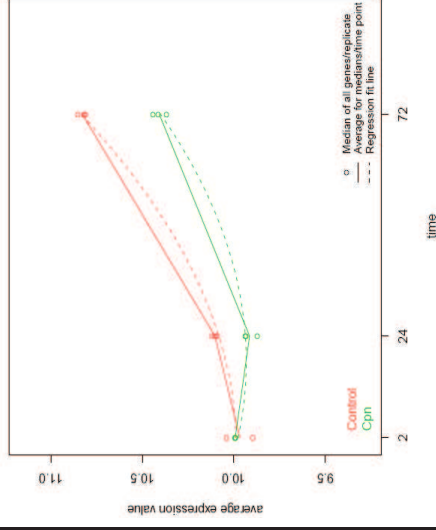
log2ratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	log2ratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	log2ratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			NM_012138	AATE	apoptosis antagonizing transcription factor	3.19E-05	0.8265	4
			NM_203488	ACY1P1	acylphosphatase 1, erythrocyte (common) type	3.29E-06	0.8781	4
			NM_032413	C15orf48	chromosome 15 open reading frame 48	7.98E-07	0.8120	4
			NM_001010905	C6orf58	chromosome 6 open reading frame 58	1.67E-05	0.7921	4
			NM_001236	CBR3	carbamoyl reductase 3	2.52E-05	0.8738	4
			NM_002985	CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5	6.30E-06	0.9003	4
			NM_021873	CDC25B	cell division cycle 25 homolog B (S. pombe)	5.46E-07	0.9340	4
			NM_003503	CDC7	cell division cycle 7 homolog (S. cerevisiae)	1.01E-07	0.9290	4
			NM_022909	CENPH	centromere protein H	4.76E-04	0.7349	4
			NM_004365	CETN3	centrin, EF-hand protein, 3	1.79E-05	0.8413	4
			NM_003956	CH25H	cholesterol 25-hydroxylase	8.37E-05	0.7982	4
			NM_138455	CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 1	1.43E-05	0.7967	4
			NM_001565	CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 10	1.28E-06	0.8560	4
			ENST00000398570		Data not found	9.88E-04	0.7026	4
			ENST00000410047		Data not found	9.09E-05	0.7956	4
			NM_016594	FKBP11	FK506 binding protein 11, 19 kDa	4.29E-07	0.9111	4
			NR_024361	hCG_1990547	Data not found	1.20E-04	0.7245	4
			NM_001547	IFT2	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	3.45E-07	0.8806	4
			NM_001549	IFT3	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	1.24E-04	0.7233	4
			NM_014288	ITGB3BP	Integrin beta 3 binding protein [beta3-endonexin]	1.49E-04	0.7792	4
			NM_145791	MGST1	microsomal glutathione S-transferase 1	8.00E-07	0.9021	4
			NM_153485	NUPI155	nucleoporin 155kDa	4.70E-05	0.8156	4
			NM_003733	OASL	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	3.01E-06	0.9798	4
			NM_006623	PHGDH	phosphoglycerate dehydrogenase	6.02E-05	0.8536	4
			NM_005732	RAD50	RAD50 homolog (S. cerevisiae)	1.02E-06	0.8983	4
			NM_032730	RTN4IP1	reticulon 4 interacting protein 1	5.21E-05	0.7556	4
			NM_002960	S100A3	S100 calcium binding protein A3	2.02E-06	0.8870	4
			NM_018319	TDP1	tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	3.69E-05	0.8224	4
			NM_006528	TFP12	tissue factor pathway inhibitor 2	1.68E-09	0.9750	4
			NM_000358	TGFB1	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	2.69E-14	0.9931	4
			NM_173490	TMEM171	transmembrane protein 171	1.18E-04	0.7870	4
			NM_032842	TMEM209	transmembrane protein 209	5.62E-05	0.8104	4
			BC040555	TPK1	thiamin pyrophosphokinase 1	2.57E-07	0.9179	4

Cluster 4  
Median profile of 33 genes



logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneName	GeneName	p-value	R_squared	Cluster	
			NM_001003468	ABL1M1	actin binding LIM protein 1	1.07E-12	0.9805	5	
			NM_000789	ACE	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1	1.03E-08	0.9277	5	
			NM_030957	ADAMTS10	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 10	1.01E-10	0.9844	5	
			NM_198098	AQP1	aquaporin 1 (Colton blood group)	3.70E-11	0.9868	5	
			NM_001195	BESP1	beaded filament structural protein 1, filensin	6.29E-07	0.8700	5	
			NM_001711	BGN	biglycan	9.10E-10	0.9489	5	
			NM_173573	CL1orf35	chromosome 11 open reading frame 35	9.26E-11	0.9631	5	
			NM_153607	C5orf41	chromosome 5 open reading frame 41	9.75E-09	0.9505	5	
			NM_014550	CARD10	cardiac recruitment domain family member 10	4.96E-09	0.9349	5	
			NM_032963	CLL14	chemokine (C-C motif) ligand 14	3.16E-11	0.9795	5	
			NM_001001437	CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	1.31E-08	0.9481	5	
			NM_001025109	CD34	CD34 molecule	4.58E-08	0.9106	5	
			NM_001001547	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	1.63E-08	0.9464	5	
			NM_001257	CDH13	cadherin 13, H-cadherin (heart)	8.45E-13	0.9930	5	
			NM_001823	CKB	creatine kinase, brain	5.97E-06	0.8207	5	
			NM_203339	CLU	clusterin	5.64E-11	0.9776	5	
			NM_033655	CNTNAP3	contactin associated protein-like 3	1.96E-06	0.8470	5	
			NM_001878	CRABP2	cellular retinoic acid binding protein 2	1.37E-07	0.9251	5	
			NM_003793	CTSF	cathepsin F	4.66E-15	0.9910	5	
			NM_003737	DCHS1	dachsous 1 (Drosophila)	5.31E-12	0.9755	5	
			NM_001406	EFNB3	ephrin-B3	1.20E-12	0.9802	5	
			NM_001417	EIF4B	eukaryotic translation initiation factor 4B	4.42E-06	0.8282	5	
			NM_016242	ENCN	endomucin	3.58E-08	0.9136	5	
			ENST00000428676	ENST00000428676	Data not found				
			NM_001776	ENTPD1	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1	5.93E-09	0.9332	5	
			NM_029099	EPB41L5	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 5	5.61E-08	0.9079	5	
			NM_001442	FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	1.45E-10	0.9607	5	
			NM_001444	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	6.87E-10	0.9509	5	
			NM_001004019	FBLN2	fibulin 2	6.71E-12	0.9747	5	
			NM_015687	FCGR1	Fc fragment of IgG, receptor, transporter, alpha	3.63E-11	0.9679	5	
			NM_004107	FCGR2	flamin A interacting protein 1	4.04E-08	0.9121	5	
			NM_001042481	FRMD6	FERM domain containing 6	3.52E-06	0.8337	5	
			NM_002060	GJA4	gap junction protein, alpha 4, 37kDa	1.93E-10	0.9590	5	
			NM_178172	GPHBP1	glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1	2.18E-10	0.9724	5	
			NM_198252	GSN	gelsolin	7.09E-11	0.9768	5	
			NM_178232	HARIN3	hyaluronan and proteoglycan link protein 3	1.17E-12	0.9877	5	
			NM_000612	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	3.11E-15	0.9951	5	
			NM_152748	KIAA1324L	KIAA1324-like	2.88E-06	0.8806	5	
			NM_014988	LIMCH1	LIM and calponin homology domains 1	5.33E-09	0.9342	5	
			NM_001161404	LIMS2	LIM and senescent cell antigen-like domains 2	7.55E-09	0.9678	5	
			lincRNA:chr11:104771490-104780740_R	lincRNA:chr11:104771490-104780740_R	Data not found	3.65E-13	0.9883	5	
			lincRNA:chr11:104774117-104789800_R	lincRNA:chr11:104774117-104789800_R	Data not found	1.41E-13	0.9854	5	
			lincRNA:chr11:110066285-110066727_R	lincRNA:chr11:110066285-110066727_R	Data not found	2.38E-09	0.9602	5	
			lincRNA:chr11:65190190-65214674_F	lincRNA:chr11:65190190-65214674_F	Data not found	2.15E-07	0.8884	5	
			lincRNA:chr14:95873047-95878997_F	lincRNA:chr14:95873047-95878997_F	Data not found	2.91E-06	0.8381	5	
			lincRNA:chr3:114041960-114042235_R	lincRNA:chr3:114041960-114042235_R	Data not found	1.33E-05	0.8486	5	
			ENST00000439470	ENST00000439470	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit F pseudogene	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)	2.04E-11	0.9809	5
			NM_002374	MAP2	microtubule-associated protein 2	4.29E-09	0.9477	5	
			NM_026850	MTMR9L	Data not found	8.60E-11	0.9635	5	
			NM_014751	MTSS1	metastasis suppressor 1	3.86E-10	0.9548	5	
			NM_015460	MYRIP	myosin VIIA and Rab interacting protein	5.39E-06	0.8684	5	
			NM_005596	NFIB	nuclear factor I/B	4.51E-09	0.9358	5	
			NM_021229	NTN4	netrin 4	1.11E-07	0.8986	5	

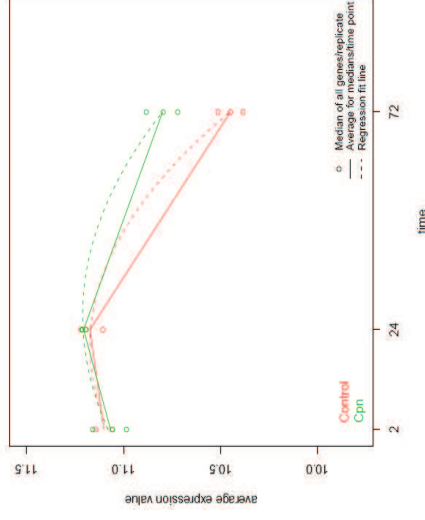
Cluster 5  
Median profile of 74 genes



NM_001042483	NUPR1	nuclear protein, transcriptional regulator, 1	1.32E-06	0.8942	5
NM_006813	PNRC1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	3.58E-06	0.8765	5
NM_022449	RAB17	RAB17, member RAS oncogene family	1.75E-10	0.9596	5
NM_002906	RDX	radixin	4.08E-08	0.9120	5
NM_002948	RPL15	ribosomal protein L15	1.46E-07	0.9248	5
NM_002971	SATB1	SATB homeobox 1	4.26E-12	0.9763	5
NM_003005	SELP	selectin P (granule membrane protein 140kDa, antigen CD62)	5.42E-09	0.9341	5
NM_002688	SEPT5	septin 5	4.44E-08	0.9110	5
NM_003022	SH3BGRL	SH3 domain binding glutamic acid-rich protein like	3.96E-07	0.8783	5
NM_005460	SNCAIP	synuclein, alpha interacting protein	2.06E-08	0.9202	5
NM_021102	SPINT2	serine peptidase inhibitor, kunitz type, 2	8.04E-08	0.9031	5
NM_006288	THY1	Thy-1 cell surface antigen	1.62E-12	0.9793	5
NM_016157	TRO	trophinin	3.91E-11	0.9674	5
NM_007124	UTRN	urorophin	4.57E-10	0.9537	5
NM_014909	VASH1	vasohibin 1	3.09E-12	0.9773	5
NM_000552	VWF	von Willebrand factor	5.66E-14	0.9872	5
NM_006646	WASF3	WAS protein family, member 3	7.89E-11	0.9640	5
NM_015626	W5B1	WD repeat and SOCS box containing 1	1.04E-13	0.9860	5
NM_153367	ZCCHC24	zinc finger, CCHC domain containing 24	3.68E-07	0.8795	5
NM_022470	ZMAT3	zinc finger, matrix-type 3	8.41E-06	0.8116	5

logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			NM_020186	ACN9	ACN9 homolog (S. cerevisiae)	5.27E-05	0.7552	6
			NM_001123	ADK	adenosine kinase	4.25E-11	0.9786	6
			NM_000676	ADORA2B	adenosine A2b receptor	1.29E-07	0.8963	6
			NM_030920	ANP32E	acidic (leucine-rich) nuclear phosphoprotein 32 family, member E	2.68E-08	0.9172	6
			NM_004044	ATIC	5-aminimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	5.88E-08	0.9546	6
			NM_000057	BLM	Bloom syndrome, RecD helicase-like	2.88E-12	0.9859	6
			NM_004336	BUB1	budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (yeast)	4.06E-11	0.9787	6
			NM_013300	C1Zorf24	chromosome 12 open reading frame 24	1.51E-05	0.7952	6
			NM_021106	C20orf177	chromosome 20 open reading frame 177	3.55E-08	0.9583	6
			NM_031966	CCNB1	cyclin B1	1.31E-11	0.9934	6
			NM_004701	CCNB2	cyclin B2	4.41E-10	0.9800	6
			NM_000610	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	4.36E-06	0.8285	6
			NM_001786	CDK2	Data not found	1.91E-10	0.9826	6
			NM_001255	CDK20	cell division cycle 20 homolog (S. cerevisiae)	2.52E-11	0.9876	6
			NM_001790	CDK25C	cell division cycle 25 homolog C (S. pombe)	5.89E-10	0.9679	6
			NM_031942	CDCA7	cell division cycle associated 7	7.58E-06	0.8144	6
			NM_001826	CHPT1	choleine phosphotransferase 1	3.25E-06	0.8784	6
			NM_004383	CSK	c-src tyrosine kinase	2.16E-04	0.8178	6
			NM_018122	DARS2	aspartyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial	8.76E-05	0.7368	6
			NM_001361	DHODH	dihydroorotate dehydratase	6.57E-07	0.8692	6
			NM_021204	ENOPH1	enolase-phosphatase 1	5.18E-06	0.9035	6
			ENST0000389000	Data not found	Data not found	9.34E-07	0.9277	6
			NM_020704	FAM40B	family with sequence similarity 40, member B	3.00E-05	0.7741	6
			NM_005687	FARSB	phenylalanyl-tRNA synthetase, beta subunit	2.87E-06	0.8385	6
			NM_017671	FERMT1	fermitin family member 1	3.07E-08	0.9155	6
			NM_005458	GABRR2	gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor, 2	3.03E-09	0.9393	6
			NM_015973	GAL	Galanin prepropeptide	2.98E-08	0.9412	6
			NM_016063	HDDC2	HD domain containing 2	1.16E-07	0.9274	6
			NM_018410	HJURP	Holliday junction recognition protein	1.12E-08	0.9494	6
			NM_016232	IL1RL1	Interleukin 1 receptor-like 1	2.73E-09	0.9402	6
			NM_002220	ITPKA	inositol-trisphosphate 3-kinase A	2.73E-05	0.7772	6
			NM_007317	KIF22	kinesin family member 22	5.12E-10	0.9795	6
			lincRNA:chr17:21435739-21477567_R	Data not found	Data not found	4.33E-06	0.8287	6
			NM_006033	LIPG	lipase, endothelial	1.15E-11	0.9825	6
			NM_004811	LIPXN	leupaxin	6.51E-11	0.9855	6
			NM_017816	LYAR	LY1 antibody reactive homolog (mouse)	3.05E-08	0.9156	6
			NM_152649	MLKL	mixed lineage kinase domain-like	5.28E-08	0.9087	6
			NM_005953	MTZA	metallothionein 2A	1.83E-09	0.9435	6
			NM_005956	MTHEF1	methylentetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+-dependent)1, methylenyltetrahydrofolat	4.56E-08	0.9106	6
			NM_006101	NDC80	NDC80 homolog, kinetochore complex component (S. cerevisiae)	1.69E-13	0.9909	6
			NM_138285	NUP35	nucleoporin 35kDa	2.00E-12	0.9787	6
			NM_0014446	OCDI2	OCA domain containing 2	1.33E-09	0.9461	6
			NM_016953	PDE11A	phosphodiesterase 11A	2.70E-03	0.7738	6
			NM_014644	PDE4DIP	phosphodiesterase 4D interacting protein	9.27E-05	0.8809	6
			NM_016445	PLEK2	pleckstrin 2	2.43E-06	0.8423	6
			NM_005030	PLK1	polo-like kinase 1	1.34E-09	0.9635	6
			EX647683	POLR1B	polymrase (RNA) I polypeptide B, 128kDa	1.96E-05	0.7874	6
			NM_006467	POLR3G	polymrase (RNA) III (DNA directed) polypeptide G (32kD)	3.54E-05	0.7687	6
			NM_002770	PRSS2	protease, serine, 2 (trypsin 2)	6.13E-07	0.8704	6
			NM_002771	PRSS3	protease, serine, 3	7.82E-06	0.8136	6
			NM_058179	PSAT1	phosphoserine aminotransferase 1	3.52E-09	0.9380	6
			NM_002788	PSMA3	proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 3	1.02E-04	0.7310	6
			NM_032636	PSRC1	proline/serine-rich coiled-coil 1	2.10E-10	0.9726	6

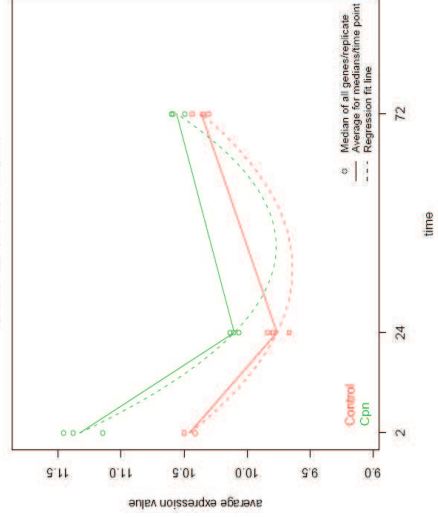
Cluster 6  
Median profile of 71 genes



NM_181471	REF2	replication factor C (activator 1) 2, 40kDa	5.20E-11	0.9860	6
NM_032194	RPF2	ribosome production factor 2 homolog (S. cerevisiae)	1.16E-07	0.8978	6
NM_003864	SAP30	Sn3A-associated protein, 30kDa	1.27E-09	0.9639	6
NM_015360	SKIV2L2	superkiller viralicidal activity 2-like 2 (S. cerevisiae)	2.17E-04	0.7004	6
NM_001012661	SIC3A2	solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2	2.65E-05	0.7781	6
NM_003486	SIC7A5	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y <sup>+</sup> system), member 5	1.28E-10	0.9614	6
NM_003113	SP100	SP100 nuclear antigen	1.02E-07	0.9289	6
NM_012449	STEAP1	six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1	1.27E-06	0.8563	6
NM_013233	STK39	serine threonine kinase 39	1.02E-04	0.7311	6
NM_001166260	TRIP13	thyroid hormone receptor interactor 13	1.00E-09	0.9482	6
NM_017735	TTC27	tetratricopeptide repeat domain 27	5.16E-06	0.8693	6
NM_003594	TTF2	transcription termination factor, RNA polymerase II	3.19E-10	0.9708	6
NM_003329	TXN	thioredoxin	1.59E-04	0.7134	6
NM_014176	UBE2T	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)	1.07E-07	0.9283	6
NM_181597	UPPA	uridine phosphorylase 1	2.12E-05	0.7851	6
NM_007150	ZNF185	zinc finger protein 185 (LIM domain)	2.83E-07	0.9167	6
NM_052860	ZNF300	Zinc finger protein 300	9.55E-04	0.7042	6

logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			NM_005099	ADAMTS4	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 4	8.94E-07	0.9283	7
			NM_001657	AREG	amphiregulin	2.48E-05	0.8352	7
			NM_004282	BAG2	BCL2-associated athanogene 2	1.03E-07	0.9287	7
			NM_005178	BCL3	B-cell CLL/lymphoma 3	1.73E-07	0.9456	7
			NM_001130845	BCL6	B-cell CLL/lymphoma 6	2.56E-09	0.9828	7
			NM_001165	BIRC3	baculoviral IAP repeat containing 3	4.16E-11	0.9865	7
			NM_006763	BTG2	BTG family, member 2	1.11E-08	0.9657	7
			NM_001145199	CL2orf75	chromosome 12 open reading frame 75	8.78E-08	0.9305	7
			NR_026916	C21orf59	Data not found	2.23E-05	0.8358	7
			NM_001007595	C2CD4B	C2 calcium-dependent domain containing 4B	7.81E-08	0.9678	7
			NM_032744	C6orf105	chromosome 6 open reading frame 105	1.90E-05	0.9399	7
			NM_020130	C8orf4	chromosome 8 open reading frame 4	8.30E-10	0.9860	7
			AK022255	C8orf60	chromosome 8 open reading frame 60	3.76E-05	0.8649	7
			NM_133459	CCBE1	collagen and calcium binding EGF domains 1	5.16E-08	0.9359	7
			NM_002982	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	2.45E-07	0.9423	7
			NM_004591	CCL20	chemokine (C-C motif) ligand 20	6.96E-10	0.9864	7
			NM_001781	CD69	CD69 molecule	1.13E-07	0.9277	7
			NM_022842	CDP1	CUB domain containing protein 1	1.47E-07	0.9247	7
			NM_001806	CEBPG	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), gamma	4.13E-06	0.8737	7
			NM_020412	CHMP1B	chromatin modifying protein 1B	1.05E-05	0.8913	7
			NM_018464	CISD1	CDGSH iron sulfur domain 1	7.52E-07	0.9031	7
			NM_144492	CLDN14	claudin 14	4.80E-06	0.8708	7
			NM_000759	CSF3	colony stimulating factor 3 (granulocyte)	4.61E-09	0.9559	7
			NM_001902	CTH	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)	2.30E-07	0.9193	7
			NM_001511	CXCL1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	5.83E-10	0.9790	7
			NM_002089	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	1.99E-12	0.9953	7
			NM_020311	CXCR7	chemokine (C-X-C motif) receptor 7	2.73E-05	0.8721	7
			NM_000786	CYP51A1	cytochrome P450, family 51, subfamily A, polypeptide 1	1.31E-05	0.8489	7
			NM_001554	CYR61	cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	7.11E-04	0.7176	7
			NM_145244	DDIT4L	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 10	1.15E-04	0.7881	7
			NM_004398	DDX10	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 10	6.05E-08	0.9544	7
			NM_004660	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	6.79E-04	0.7197	7
			NM_004419	DUSP5	dual specificity phosphatase 5	8.43E-11	0.9762	7
			NM_004428	EFNA1	ephrin-A1	1.04E-07	0.9501	7
			NM_004429	EFNB1	ephrin-B1	6.16E-04	0.7240	7
			NM_001964	EGR1	early growth response 1	5.98E-13	0.9962	7
			NM_000399	EGR2	early growth response 2	1.52E-07	0.9637	7
			NM_004430	EGR3	early growth response 3	4.38E-05	0.8176	7
			ENST00000367995		Data not found	1.33E-04	0.7829	7
			ENST00000401931		Data not found	1.14E-13	0.9972	7
			NM_004462	FDFT1	farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1	2.63E-05	0.8729	7
			NM_033143	FGF5	fibroblast growth factor 5	1.78E-05	0.8415	7
			NM_001451	FOXF1	forkhead box F1	6.03E-06	0.8661	7
			NM_005860	FSTL3	follicle-stimulating-like 3 (secreted glycoprotein)	7.82E-04	0.7134	7
			NM_015714	G0S2	G0/G1 switch 2	1.01E-07	0.9289	7
			NM_004961	GABRE	gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, epsilon	6.21E-09	0.9798	7
			NM_007210	GALNT6	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6 (GalN)	4.56E-08	0.9372	7
			NM_004864	GFIP5	growth differentiation factor 15	1.79E-05	0.8413	7
			NM_005110	GPPT2	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2	5.27E-04	0.7307	7
			NM_032575	GLIS2	GLIS family zinc finger 2	1.32E-06	0.9235	7
			NM_201525	GPR56	G protein-coupled receptor 56	2.89E-07	0.9591	7
			NM_181711	GRASP	GRP1 (general receptor for phosphoinositides 1)-associated scaffold protein	1.72E-04	0.8248	7
			NM_001040708	HEY1	hairly/enhancer-of-split related with YRPW motif 1	5.16E-10	0.9871	7
			NM_003484	HMG2A2	high mobility group AT-hook 2	7.86E-07	0.9024	7

Cluster 7  
Median profile of 127 genes



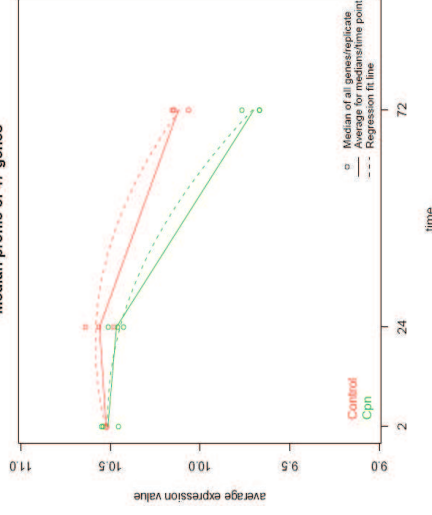
NM_002130	HMGC51	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (soluble)	1.30E-06	0.8945	7
NM_000201	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	1.69E-11	0.9884	7
NM_003897	IER3	immediate early response 3	2.47E-08	0.9607	7
NM_000576	IL1B	interleukin 1, beta	4.95E-04	0.7333	7
NM_000600	IL6	interleukin 6 (interferon, beta 2)	4.19E-08	0.9380	7
NM_000584	IL8	interleukin 8	3.97E-09	0.9711	7
NM_005542	INSIG1	insulin induced gene 1	1.88E-06	0.9423	7
NM_001570	IRAK2	interleukin-1 receptor-associated kinase 2	1.28E-07	0.9263	7
NM_030647	JHD1D	jumonji C domain containing histone demethylase 1 homolog D (S. cerevisiae)	4.76E-05	0.8594	7
NM_003471	KCNAB1	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1	1.39E-05	0.8475	7
NM_016531	KLF3	Kruppel-like factor 3 (basic)	5.68E-07	0.9336	7
NM_002276	KRT19	keratin 19	2.20E-05	0.8362	7
NM_00107402	LAMB3	laminin, beta 3	1.33E-12	0.9874	7
NM_032239	LARP1B	La ribonucleoprotein domain family, member 1B	1.98E-06	0.8874	7
lincRNA:chr2:61157504-61158747_F		Data not found	6.81E-05	0.9505	7
lincRNA:chr3:160210781-160217931_R		Data not found	4.33E-05	0.8179	7
NM_001714405	LOC100129122	hypothetical LOC100129122	4.28E-04	0.7951	7
AL389942	LOC285628	hypothetical protein LOC285628	3.77E-07	0.9129	7
NM_001134398	LOC730256	hypothetical protein LOC730256	1.96E-04	0.7695	7
NM_005461	MARF	v-maf myeloblastonectin fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)	1.46E-10	0.9898	7
NM_002467	MYC	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	1.00E-05	0.8921	7
NM_182964	NAV2	neuron navigator 2	6.24E-04	0.7234	7
NM_006096	NDRG1	N-myc downstream regulated 1	5.94E-06	0.8664	7
NM_003998	NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	2.34E-05	0.8754	7
NM_020529	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	1.47E-12	0.9956	7
NM_004556	NFKBIE	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, epsilon	2.40E-10	0.9819	7
NM_004148	NIN1	niplurin 1	1.62E-04	0.8266	7
NM_001004354	NRAAP	NOTCH-regulated ankyrin repeat protein	2.92E-08	0.9596	7
NM_003489	NRP1	nuclear receptor interacting protein 1	3.62E-06	0.8763	7
NM_002531	NTR1	neurotensin receptor 1 (high affinity)	8.43E-05	0.7980	7
NM_030952	NUAK2	NUAK family, SNF1-like kinase, 2	3.83E-10	0.9878	7
NM_003311	PHLDA2	pleckstrin homology-like domain, family A, member 2	6.58E-07	0.9524	7
NM_002658	PLAU	plasminogen activator, urokinase	1.43E-06	0.9452	7
NM_020226	PRDM8	PR domain containing 8	8.55E-07	0.9011	7
NM_012411	PTN12	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 (lymphoid)	1.89E-05	0.8400	7
NM_016084	RASD1	RAS, dexamethasone-induced 1	3.13E-07	0.9585	7
NM_001007279	RAS10A	RAS-like, family 10, member A	1.04E-09	0.9854	7
NM_002908	REL	v-rel reticulendotheliosis viral oncogene homolog (avian)	3.93E-05	0.8639	7
NM_005054	RGPD5	RANBP2-like and GRIP domain containing 5	9.10E-04	0.7064	7
NM_005613	RG54	regulator of G-protein signaling 4	4.25E-07	0.9113	7
NM_004040	RHOB	ras homolog gene family, member B	4.79E-07	0.9354	7
NM_014470	RND1	Rho family GTPase 1	1.95E-08	0.9750	7
NM_014963	SRNG2	strawberry notch homolog 2 (Drosophila)	1.02E-06	0.9267	7
NM_005505	SCARB1	scavenger receptor class B, member 1	4.37E-06	0.8726	7
NM_002999	SDCA	syndecan 4	1.46E-06	0.9221	7
NM_021982	SEC24A	SEC24 family, member A (S. cerevisiae)	1.41E-05	0.8856	7
NM_000450	SELE	selectin E	8.49E-11	0.9907	7
NM_003612	SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor (John Milton Hagen blood group)	1.86E-05	0.8801	7
NM_006598	SIC12A7	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 7	8.08E-04	0.7712	7
NM_006749	SIC20A2	solute carrier family 20 (phosphate transporter), member 2	1.01E-05	0.8548	7
NM_001008539	SIC7A2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	5.41E-08	0.9355	7
NM_016354	SILCOA1	solute carrier organic anion transporter family, member 4A1	3.40E-06	0.8775	7
NM_001024465	SOD2	superoxide dismutase 2, mitochondrial	2.25E-06	0.8439	7
NM_031439	SOX7	SRY (sex determining region Y)-box 7	1.09E-04	0.7886	7
NM_182965	SPHK1	sphingosine kinase 1	1.04E-05	0.8542	7
NM_003900	SQSTM1	sequestosome 1	2.21E-06	0.8855	7
NM_007286	SYNPO	synaptopodin	8.43E-06	0.8589	7
NM_182919	TICAM1	toll-like receptor adaptor molecule 1	3.35E-07	0.9580	7
NM_003264	TLR2	toll-like receptor 2	1.14E-05	0.8521	7
NM_145316	TMEM217	transmembrane protein 217	2.26E-08	0.9613	7
NM_145316	TNFAIP2	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2	3.23E-08	0.9590	7
NM_006290	TNFAIP3	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3	1.11E-11	0.9936	7
NM_005658	TNFA1F	TNF receptor-associated factor 1	6.30E-06	0.9003	7
NM_183422	TSC2D1	TSC22 domain family, member 1	1.69E-07	0.9629	7
NM_178012	TUBB2B	tubulin, beta 2B	1.33E-04	0.8323	7
NM_152758	YTHDF3	YTH domain family, member 3	1.11E-05	0.8902	7

NM_016653	ZAK	sterile alpha motif and leucine zipper containing kinase AZK	5.88E-05	0.8091	7
NM_014872	ZBTB5	zinc finger and BTB domain containing 5	9.27E-05	0.7950	7
NM_033390	ZC3H12C	zinc finger CCH-type containing 12C	2.07E-07	0.9206	7
NM_024617	ZCCHC6	zinc finger, CCHC domain containing 6	8.74E-05	0.7968	7
NM_004926	ZFP361L1	zinc finger protein 36, C3H type-like 1	2.95E-05	0.8704	7
NM_006526	ZNF217	zinc finger protein 217	5.73E-04	0.7844	7
NM_024697	ZNF385D	zinc finger protein 385D	5.38E-05	0.8117	7



logratio_1_Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3_Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4_Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p.value	R.squared	Cluster
			NM_138422	ADAT3	adenosine deaminase, tRNA-specific 3	8.62E-08	0.9021	8
			NM_017413	APLN	apelin	1.13E-06	0.8968	8
			NM_004323	BAG1	BCL2-associated athanogene	1.80E-10	0.9828	8
			NM_001519	BRF1	BRF1 homolog, subunit of RNA polymerase III transcription initiation factor IIIB (S. cerevisiae)	1.14E-07	0.8981	8
			NM_207445	C15orf54	chromosome 15 open reading frame 54	1.51E-07	0.9244	8
			NM_024337	C1orf133	chromosome 1 open reading frame 133	2.31E-08	0.8822	8
			NM_005064	CC123	chemokine (C-C motif) ligand 23	9.52E-12	0.9895	8
			NM_001311	CRP1	cysteine-rich protein 1 (intestinal)	7.49E-09	0.9679	8
			NM_004750	CRIF1	cytokine receptor-like factor 1	3.23E-08	0.9590	8
			NM_001081	CUBN	cubilin (intrinsic factor-cobalamin receptor)	2.74E-05	0.8305	8
			NM_021044	DHH	desert hedgehog	5.74E-08	0.9076	8
			NM_020438	DOLPP1	deloidyl pyrophosphate phosphatase 1	2.58E-07	0.9418	8
			NM_018712	ELMOD1	ELMO/CEP-12 domain containing 1	1.65E-09	0.9751	8
			ENST00000377651	FNST00000377651	Data not found	3.38E-08	0.8761	8
			NM_012151	FBA1	coagulation factor VIII-associated 1	2.52E-08	0.9606	8
			NM_153690	FAM43A	family with sequence similarity 43, member A	6.30E-07	0.9324	8
			NM_013231	FLRT2	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2	1.49E-06	0.8529	8
			NM_003505	FZD1	frizzled family receptor 1	4.81E-10	0.9689	8
			NM_001001557	GDF6	Growth differentiation factor 6	1.65E-09	0.9624	8
			NM_000629	IFNAR1	interferon (alpha, beta and omega) receptor 1	5.80E-08	0.9348	8
			NM_000596	IGFBP1	insulin-like growth factor binding protein 1	1.19E-10	0.9749	8
			NM_022334	ITGB1BP1	integrin beta 1 binding protein 1	3.07E-07	0.9156	8
			NR_024031	KIAA0114	KIAA0114	1.08E-07	0.9889	8
			NM_182507	KRT80	Keratin 80	7.72E-09	0.9306	8
			NM_001040168	LFNG	LFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase	2.76E-05	0.9051	8
			lincRNA:chr10:4692376-4720283_R	lincRNA:chr10:4692376-4720283_R	Data not found	6.96E-06	0.8986	8
			lincRNA:chr20:31438639-31447464_F	lincRNA:chr20:31438639-31447464_F	Data not found	3.65E-10	0.9552	8
			lincRNA:chr4:124571445-124851509_F	lincRNA:chr4:124571445-124851509_F	Data not found	4.39E-07	0.9108	8
			lincRNA:chr4:124573939-124851518_F	lincRNA:chr4:124573939-124851518_F	Data not found	4.67E-08	0.9369	8
			NR_024475	LOC100216001	hypothetical LOC100216001	2.89E-06	0.9375	8
			AK091571	LOC285178	hypothetical protein LOC285178	1.46E-08	0.9240	8
			NR_029407	LOC42361	hypothetical LOC42361	1.29E-06	0.7998	8
			ENST00000276974	LOC642406	similar to contactin associated protein-like 3B	2.02E-06	0.8870	8
			NM_017839	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	1.15E-07	0.9275	8
			NM_144586	LYPD1	LY6/PLAUR domain containing 1	1.67E-09	0.9443	8
			NM_002758	MAP2K6	mitogen-activated protein kinase kinase 6	4.98E-06	0.8252	8
			NM_052946	NDSTRIN	nitric oxide synthase trafficker	2.20E-08	0.9615	8
			NM_00100165	PHACTR2	phosphatase and actin regulator 2	4.92E-08	0.9096	8
			NM_031310	PLVAP	plasmalemma vesicle associated protein	8.99E-07	0.9282	8
			NM_181775	PLXNA4	plexin A4	2.55E-06	0.8829	8
			NM_017607	PPP1R12C	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 12C	1.70E-06	0.7924	8
			NM_000635	RPK2	regulatory factor X, 2 (influences HLA class II expression)	2.38E-05	0.8342	8
			NM_001025	RP523	ribosomal protein S23	8.99E-07	0.9282	8
			NM_000112	SLC26A2	solute carrier family 26 (sulfate transporter), member 2	5.72E-06	0.7566	8
			NM_018042	SFN12	schlafen family member 12	1.73E-07	0.8463	8
			NM_001124758	SPNS2	spinster homolog 2 (Drosophila)	3.62E-06	0.7707	8
			NM_022648	TNS1	tensin 1	3.50E-10	0.9554	8

Cluster 8  
Median profile of 47 genes



logratio_1 Cpn_2h.Ctrl_2h	logratio_3 Cpn_24h.Ctrl_24h	logratio_4 Cpn_72h.Ctrl_72h	SystematicName	GeneSymbol	GeneName	p-value	R-squared	Cluster
			NM_012142	CNDBP1	Cyclin D-type binding-protein 1	1.55E-05	0.8448	9
			CK825926	CK825926	Data not found	2.81E-05	0.8298	9
			AK123337	GROCL1	Data not found	9.92E-10	0.9771	9
			NM_001033858	DCLRE1C	DNA cross-link repair 1C	2.96E-04	0.8112	9
			NM_022105	DIDO1	death inducer-1/bilaterator 1	7.69E-08	0.9525	9
			EB387019	EB387019	Data not found	1.24E-04	0.8743	9
			ENST0000369425	ENST0000369425	Data not found	7.41E-07	0.9305	9
			ENST0000370217	ENST0000370217	Data not found	1.66E-06	0.9204	9
			ENST0000378274	ENST0000378274	Data not found	3.96E-04	0.7425	9
			ENST0000397554	ENST0000397554	Data not found	1.43E-07	0.9473	9
			NM_022725	FANCF	Fanconi anemia, complementation group F	6.80E-08	0.9535	9
			NM_001008397	GPX8	glutathione peroxidase 8 (putative)	1.80E-05	0.8808	9
			AK025151	hCG_2003663	Data not found	4.00E-07	0.9374	9
			AK125649	HERC2P7	hect domain and RLD 7 pseudogene 7	9.37E-05	0.7946	9
			lincRNA:chr19:28265143-28266711_R	lincRNA:chr19:28265143-28266711_R	Data not found	7.28E-05	0.8028	9
			lincRNA:chr19:28269547-28283939_R	lincRNA:chr19:28269547-28283939_R	Data not found	4.21E-04	0.7400	9
			XR_078228	LOC100132966	hypothetical LOC100132966	2.32E-05	0.9081	9
			NR_027439	LOC100272216	hypothetical LOC100272216	1.44E-04	0.8707	9
			XR_079078	LOC100293193	hypothetical LOC100293193	4.26E-06	0.9329	9
			XR_017497	LOC344887	NimA-like family domain containing 1 pseudogene	1.34E-04	0.7828	9
			NM_153255	MCM9	minichromosome maintenance complex component 9	4.06E-05	0.8198	9
			NM_144593	RHEB1	Ras homolog enriched in brain like 1	3.32E-04	0.7496	9
			NR_003672	SNHG7	small nucleolar RNA host gene 7 (non-protein coding)	1.23E-05	0.8505	9
			NM_152713	STT3A	STT3, subunit of the oligosaccharyltransferase complex, homolog A (S. cerevisiae)	5.55E-05	0.8557	9
			NM_053045	TMEM203	transmembrane protein 203	3.79E-05	0.8217	9

