

# VARIABILITATEA EXPRESIEI UNOR GENE ASOCIATE CU PATOLOGIIILE CARDIOVASCULARE

Academician **Maria DUCA**<sup>1</sup>

Doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar **Ina PALII**<sup>2</sup>

**Daniela ABDUȘA**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea Academiei de Științe a Moldovei

<sup>2</sup>Clinica Pediatrie și Cardiologie, IMSP IM și C

## VARIABILITY OF GENE EXPRESSION ASSOCIATED WITH CARDIOVASCULAR DISEASES

**Summary.** The aim of the research was to evaluate the variability of expression level of 18 genes in healthy (children and adults) and with cardiovascular diseases (ischemic cardiopathy with/without atrial fibrillation, cardiomyopathy and congenital aortic stenosis) human subjects using the quantitative PCR technique. Based on the performed molecular study, a high level of gene expression was observed in the group of the subjects with disease and a significantly lower variation in the group of healthy subjects, which indicates that under normal conditions the expression of these genes is manifested within the limits of the reaction norm and the genetic potential enrolled in hereditary structures and highlights the cellular homeostasis of the body in relatively small variation ranges. These results are in line with literature data that supports patient detection and diagnosis programs based on gene expression profile.

**Keywords:** variability, gene expression, health and disease states.

**Rezumat.** Scopul cercetării a fost evaluarea variabilității nivelului de expresie a 18 gene la subiecți umani (copii și adulți) sănătoși și cu afecțiuni cardiovasculare (cardiopatie ischemică cu/ și fără fibrilație atrială, cardiomiopatii și stenoza aortică congenitală), utilizând tehnica PCR cantitativ. În baza studiului molecular efectuat s-a constatat o variabilitate înaltă a nivelului de expresie la lotul de subiecți bolnavi și o variație semnificativ scăzută în cadrul lotului de subiecți sănătoși, ceea ce denotă că în condiții normale expresia acestor gene se manifestă în limitele normei de reacție și a potențialului genetic înscris în structuri ereditare și pune în evidență homeostazia celulară a organismului în intervale de variație relativ mici. Aceste rezultate sunt în concordanță cu datele din literatură care vin în sprijinul programelor de detectare și diagnosticare a pacienților pe baza profilului de expresie a genelor.

**Cuvinte-cheie:** variabilitate, expresia genelor, stare de sănătate, stare de boală.

## INTRODUCERE

Variabilitatea *pattern*-ului de expresie a genelor umane constituie subiectul numeroaselor cercetări care au drept scop identificarea diferențelor dintre tipurile de celule și de țesuturi, procesele fiziologice și boli etc.

Transcripția, ca proces de bază prin care informația codificată în genom este convertită în caractere morfologice și fiziologice [31], relevă o expresie diferențiată a genelor atât la nivel intra- [19, 21, 24, 35], cât și inter- populațional [21, 32, 35] și reflectă variația fiziologică și cea intrinsecă interindividuală [39].

Se presupune că 85-95% dintre variațiile genetice umane se datorează diferențelor între indivizii unei populații, iar 5-15% pot fi atribuite celor constatate între populații [32, 35], date confirmate de variabilitatea transcriptomului placentar (33,2%, 58,9% și 7,8%) în cadrul indivizilor, în rândul indivizilor și între grupurile umane analizate (americani-africani, - europeni, din Asia de Sud și din Asia de Est) [17], de variabilitatea (4,3 – 362 de ori) expresiei genelor la clonele de pin [27] etc.

Pe de altă parte, studiul expresiei a cinci gene în celulele limfoblastoide umane relevă că cel mai mic nivel de variabilitate se manifestă la gemenii monoziagoți, o variabilitate intermediară – la frații din aceeași familie și cea mai mare variabilitate – la indivizii neînruđiți [10].

Experimentele *in vitro* la subiecții umani sănătoși au constatat modificarea activității de transcripție a genelor exprimate periodic în ciclul celular [38], în diverse căi de semnalizare [13] și în răspunsul celulelor la diferiți stimuli [5], inclusiv la stresul oxidativ – între 3-500 de ori în condiții normale și de la 85 la 1500 de ori în condiții de stres [22].

Prin studii *in vivo* s-a demonstrat că profilurile de expresie a genelor ajută la conturarea proceselor biologice complexe asociate cu starea de sănătate și boală. Astfel, utilizând analiza modelelor de expresie a genelor au fost definite unele subtipuri tumorale [1, 14], au fost identificați markeri moleculari [37] și au fost investigate noi terapii [9]. Mai mult ca atât, pe un eșantion de 45 de subiecți cu vârsta de 36,5±14,8 ani, s-a relevat că variația *pattern*-ului de expresie la subiecții

sănătoși este impresionant mai mică comparativ cu variația la subiecții cu cancer sau infecții bacteriene [39].

S-a stabilit, de asemenea, un nivel de variabilitate al conținutului de transcripti mai mic în celulele stem embrionare comparativ cu cele exprimate în celulele nediferențiate [2], precum și *pattern*-uri specifice, asociate cu sexul, diferențele fiind atribuite cromozomilor sexuali [39].

Rolul primordial în variabilitatea expresiei genelor revine factorilor genetici (variațiilor numărului de copii ADN [18] și locilor caracterelor cantitative [18], polimorfismelor uninucleotidice [18, 35] etc.), modificărilor epigenetice [15, 33] și evenimentelor stocastice [4].

Unii dintre factorii menționați cauzează consecințe invizibile în expresia fenotipică [25], alții, în funcție de tipul și localizarea mutațiilor în structura genei, determină o expresie inadecvată în timp (*expresie heterocronică*) și loc (*expresie ectopică*) [25, 26, 30] care poate provoca modificări în structura proteinei, afecta căile metabolice și induce anumite procese patologice [6, 16, 20].

Investigațiile privind nivelurile medii și variabilitatea expresiei genelor [16, 18], asociate cu starea de boală și utilitatea lor în programele de detectare și diagnosticare, depinde de cunoașterea și înțelegerea variației normale la/ și între indivizi, în funcție de vârstă, sex, țesut, ciclul celular etc. [16].

În temeiul celor menționate, scopul acestei cercetări a fost evaluarea variabilității expresiei a 18 gene la subiecți umani sănătoși și cu afecțiuni cardiovasculare (cardiopatie ischemică cu/ și fără fibrilație atrială, cardiomiopatii primare și stenoza aortică congenitală).

## MATERIAL ȘI METODE

În studiu au fost incluse 69 de persoane, dintre care 35 de pacienți cu vârsta cuprinsă între 0-18 ani și 34 de pacienți cu vârsta mai mare de 40 de ani. Lotul de referință a fost reprezentat de 14 subiecți sănătoși, fără afecțiuni cardiovasculare, iar lotul de studiu – de 55 de pacienți cu boli cardiovasculare (BCV).

Expresia genelor a fost estimată prin PCR cantitativ în timp real (DNA technology, Rusia), folosind primeri specifici. Cuantificarea relativă a fost calculată folosind metoda  $\Delta\Delta CT$  [23], iar rezultatele au fost exprimate în unități convenționale [29].

Variabilitatea expresiei genelor a fost determinată prin coeficientul de variație (CV) definit prin raportul dintre abaterea medie pătratică și media aritmetică a valorilor de expresie a genelor [8]. Intervalul de variație a expresiei genelor în cadrul lotului cercetat a fost calculat prin raportarea valorii maxime la valoarea minimă a expresiei genei [11, 36]. Amplitudinea absolută

a variației ( $A_x$ ) a fost calculată pentru a defini câmpul maxim de împrăștiere a valorilor de expresie a genelor.

Analiza statistică a datelor a fost efectuată cu ajutorul programelor de calculator Excel (versiunea 2013) și InfoStat (versiunea 2016, *InfoStat Group, University Córdoba, Argentina*).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Natura, amploarea și sursa de variație a expresiei genelor în țesutul sănătos este esențială pentru recunoașterea și interpretarea modificărilor acestor gene asociate cu diferite maladii, întrucât expresia genelor reprezintă un indicator al stării fiziologice a celulei și un caracter cantitativ, cu înaltă ereditabilitate [12].

Evaluarea variabilității expresiei genelor la subiecții sănătoși, prin estimarea intervalului de variație, a pus în evidență limite relativ mici atât la adulți, cât și la copii.

La lotul de subiecți *adulți* sănătoși cantitatea medie de transcripti ai genelor a variat în limitele  $0,003 \pm 0,001$  (*HAS1*) și  $2,656 \pm 0,250$  (*ITGB1*) unități convenționale. Valoarea minimă a expresiei a manifestat gena *HAS1* (0,001 un.c.), iar valoarea maximă a fost înregistrată de către *TIMP1* (2,953 un.c.). S-a constatat că intervalul de variație a expresiei genelor este cuprins între 1,086 ori (*SCD*) și 4,000 ori (*HAS1*), însă de precizat că 17 gene din cele 18 analizate se încadrează în diapazonul 1-2 (tabelul 1).

Analiza rezultatelor obținute a arătat că la lotul de *copii sănătoși*, media conținutului de transcripti a variat între 0,001 un.c. (*HAS1*, *NPPB*, *CYP4B1*) și 1,621 un.c. (*ITGB1*). Gena *HAS1* s-a caracterizat prin cea mai mică valoare a expresiei între subiecți (0,0004 un.c.), la fel ca și în cazul adulților sănătoși, în timp ce gena *TIMP1* a înregistrat valoarea maximă (1,890 un.c.), ceea ce a pus în evidență un interval de variație a expresiei genelor cuprins între 1,000 ori (*NPPB*) și 3,500 ori (*ITGB1*, tabelul 1).

Studiul variabilității expresiei genelor la bolnavi, spre deosebire de subiecții sănătoși, a pus în evidență limite largi de variație atât la adulți, cât și la copii.

Estimarea expresiei relative a genelor de interes la lotul de *adulți bolnavi* a permis evidențierea genei *ITGB1* ( $2,249 \pm 0,659$  un.c.) și *TIMP1* ( $1,974 \pm 0,645$  un.c.), care au atestat cel mai mare conținut de transcripti, iar genele *HAS1*, *ITGB1*, *TNFRSF11B*, *KRT19*, *CYP4B1* (0,001 un.c.) s-au caracterizat prin cel mai scăzut nivel transcripțional. Valoarea minimă a expresiei a manifestat gena *TNFRSF11B* (0,0002 un.c.), iar valoarea maximă a fost înregistrată de către gena *ITGB1* (3,773 un.c.).

Tabelul 1

Variabilitatea expresiei genelor la subiecții sănătoși

Gene	ADULȚI			COPII		
	Expresia relativă (2 <sup>-ΔCt</sup> ), un. c.	Xmax / Xmin	A <sub>x</sub> (Xmax - Xmin)	Expresia relativă (2 <sup>-ΔCt</sup> ), un. c.	Xmax / Xmin	A <sub>x</sub> (Xmax - Xmin)
ABCA1	(0,472) 0,521±0,049 (0,598)	1,267	0,126	(0,154) 0,245±0,071 (0,332)	2,156	0,178
CYP2C8	(0,008) 0,013±0,003 (0,017)	2,125	0,009	(0,004) 0,004±0,001 (0,005)	1,250	0,001
CYP4B1	(0,005) 0,007±0,001 (0,009)	1,800	0,004	(0,001) 0,001±0,001 (0,002)	2,000	0,001
ELAVL1	(0,289) 0,353±0,057 (0,438)	1,516	0,149	(0,158) 0,199±0,033 (0,241)	1,525	0,083
HAS1	(0,001) 0,003±0,001 (0,004)	4,000	0,003	(0,0004) 0,001±0,000 (0,001)	2,500	0,001
IL8	(0,362) 0,46±0,0710 (0,526)	1,453	0,164	(1,073) 1,405±0,308 (1,831)	1,706	0,758
INHBA	(0,012) 0,015±0,002 (0,018)	1,500	0,006	(0,003) 0,003±0,001 (0,004)	1,333	0,001
ITGB1	(2,213) 2,656±0,250 (2,905)	1,313	0,692	(1,097) 1,621±0,264 (1,875)	1,709	0,778
ITGBL1	(0,035) 0,041±0,005 (0,048)	1,371	0,013	(0,002) 0,004±0,002 (0,007)	3,500	0,005
JAK2	(0,199) 0,225±0,028 (0,275)	1,382	0,076	(0,102) 0,136±0,029 (0,178)	1,745	0,076
KRT19	(0,020) 0,024±0,004 (0,030)	1,500	0,010	(0,002) 0,002±0,000 (0,003)	1,500	0,001
NPPB	(0,005) 0,005±0,001 (0,006)	1,200	0,001	(0,001) 0,001±0,000 (0,001)	1,000	0,000
RGS1	(0,201) 0,285±0,047 (0,335)	1,667	0,134	(0,046) 0,074±0,018 (0,093)	2,022	0,047
SCD	(0,058) 0,061±0,002 (0,063)	1,086	0,005	(0,016) 0,025±0,007 (0,033)	2,063	0,017
SSPN	(0,128) 0,136±0,009 (0,151)	1,180	0,023	(0,046) 0,057±0,010 (0,072)	1,565	0,026
THBS1	(0,537) 0,766±0,117 (0,872)	1,624	0,335	(0,205) 0,258±0,036 (0,291)	1,420	0,086
TIMP1	(2,068) 2,547±0,375 (2,953)	1,428	0,885	(1,138) 1,583±0,299 (1,890)	1,661	0,752
TNFRSF11B	(0,022) 0,026±0,002 (0,029)	1,318	0,007	(0,003) 0,003±0,001 (0,004)	1,333	0,001

**Notă:** valorile sunt prezentate sub forma  $\bar{x} \pm S$  (media±deviația standard a eșantionului); 2<sup>-ΔCt</sup> – valoarea expresiei relative, în unități convenționale; în paranteze este indicată valoarea minimă (Xmin) și maximă (Xmax) a expresiei relative a genei în cadrul eșantionului; A<sub>x</sub> – amplitudinea absolută a variației.

S-a constatat că intervalul de variație a expresiei genelor este cuprins între 2,329 ori (*ITGB1*) și 28,000 ori (*INHBA*), însă majoritatea genelor se încadrează între 2 și 9 (tabelul 2).

Cantitatea medie de transcripti ai genelor de interes la lotul de copii bolnavi a variat în limitele 0,001±0,001 un.c. (*TNFRSF11B*) și 1,749±0,512 un.c. (*ITGB1*). Valoarea minimă a expresiei a înregistrat gena *TNFRSF11B* (0,0004 un.c.), iar valoarea maximă a fost evidențiată de către gena *TIMP1* (2,880 un.c.). Intervalul de variație a expresiei genelor este cuprins între 2,000 ori (*HAS1*) și 38,000 de ori (*CYP4B1*), majoritatea genelor fiind încadrate între 2 și 5 (tabelul 2).

Un alt indicator de apreciere a gradului de variabilitate a nivelului de expresie a genelor este coeficientul de variație (CV), care ia valori în intervalul 0-100%. Utilizarea practică a CV a stabilit ca prag de trecere de la omogenitate la eterogenitate procentul 30%-35% [8]. Valorile mari (aproape de limita superioară) ale indicatorului indică o serie eterogenă (neomogenă), iar un coeficient de variație mai mic atestă un grad bun de omogenitate a colectivității și respectiv de reprezentativitate a valorii medii.

Estimarea coeficientului de variație a expresiei genelor la subiecții sănătoși a relevat un nivel înalt de omogenitate a datelor pentru 17 gene la adulți

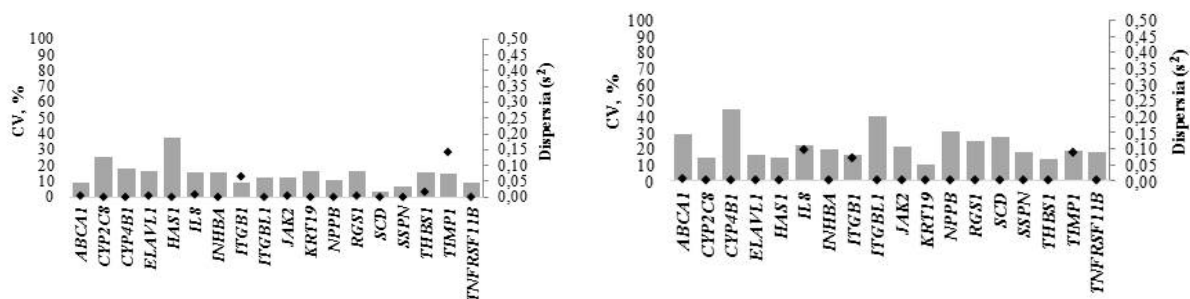


Figura 1. Coeficientul de variație (CV) și dispersia (s<sup>2</sup>) nivelului de expresie a genelor la adulți (stânga) și copii (dreapta), sănătoși

Tabelul 2

Variabilitatea expresiei genelor la lotul de subiecți bolnavi

Gene	ADULȚI				COPII			
	Expresia relativă (2 <sup>-ΔCt</sup> ), un. c.		Xmax / Xmin	A <sub>x</sub> (Xmax - Xmin)	Expresia relativă (2 <sup>-ΔCt</sup> ), un. c.		Xmax / Xmin	A <sub>x</sub> (Xmax - Xmin)
ABCA1	(0,161)	0,288±0,105 (0,521)	3,236	0,360	(0,152)	0,372±0,187 (0,848)	5,579	0,696
CYP2C8	(0,001)	0,004±0,002 (0,009)	9,000	0,008	(0,003)	0,006±0,002 (0,009)	3,000	0,006
CYP4B1	(0,001)	0,001±0,001 (0,005)	5,000	0,004	(0,001)	0,014±0,013 (0,038)	38,000	0,037
ELAVL1	(0,101)	0,304±0,121 (0,512)	5,069	0,411	(0,154)	0,389±0,134 (0,588)	3,818	0,434
HAS1	(0,0003)	0,001±0,000 (0,001)	3,333	0,001	(0,001)	0,002±0,000 (0,002)	2,000	0,001
IL8	(0,318)	0,803±0,278 (1,245)	3,915	0,927	(0,321)	1,043±0,476 (1,927)	6,003	1,606
INHBA	(0,001)	0,011±0,007 (0,028)	28,000	0,027	(0,002)	0,005±0,002 (0,009)	4,500	0,007
ITGB1	(1,620)	2,499±0,659 (3,773)	2,329	2,153	(0,953)	1,749±0,512 (2,774)	2,911	1,821
ITGBL1	(0,0004)	0,001±0,000 (0,001)	2,500	0,0006	(0,001)	0,002±0,002 (0,007)	7,000	0,006
JAK2	(0,106)	0,317±0,157 (0,777)	7,330	0,671	(0,096)	0,178±0,064 (0,295)	3,073	0,199
KRT19	(0,001)	0,001±0,001 (0,004)	4,000	0,003	(0,001)	0,003±0,002 (0,005)	5,000	0,004
NPPB	(0,001)	0,003±0,001 (0,005)	5,000	0,004	(0,001)	0,002±0,001 (0,005)	5,000	0,004
RGS1	(0,018)	0,046±0,018 (0,084)	4,667	0,066	(0,027)	0,102±0,054 (0,193)	7,148	0,166
SCD	(0,009)	0,031±0,015 (0,066)	7,333	0,057	(0,022)	0,055±0,024 (0,093)	4,227	0,071
SSPN	(0,006)	0,027±0,010 (0,047)	7,833	0,041	(0,021)	0,059±0,027 (0,095)	4,524	0,074
THBS1	(0,248)	0,421±0,176 (0,864)	3,484	0,616	(0,112)	0,382±0,237 (0,937)	8,366	0,825
TIMP1	(1,062)	1,974±0,645 (2,914)	2,744	1,852	(0,821)	1,729±0,663 (2,880)	3,508	2,059
TNFRSF11B	(0,0002)	0,001±0,000 (0,001)	5,000	0,001	(0,0002)	0,001±0,001 (0,007)	35,000	0,007

**Notă:** valorile sunt prezentate sub forma  $\bar{x} \pm S$  (media ± deviația standard a eșantionului); 2<sup>-ΔCt</sup> – valoarea expresiei relative, în unități convenționale; în paranteze este indicată valoarea minimă (X<sub>min</sub>) și maximă (X<sub>max</sub>) a expresiei relative a genei în cadrul eșantionului; A<sub>x</sub> – amplitudinea absolută a variației.

(CV luând valori între 3,18-25,31%, ABCA1, CYP2C8, CYP4B1, HAS1, IL8, INHBA, ITGB1, ITGBL1, ELAVL1, JAK2, KRT19, NPPB, RGS1, SCD, SSPN, THBS1, TIMP1, TNFRSF11B) și 16 gene la copii (CV cu valori între 10,14-31,17%, ABCA1, CYP2C8, ELAVL1, HAS1, IL8, INHBA, ITGB1, JAK2, KRT19, NPPB, RGS1, SCD, SSPN, THBS1, TIMP1, TNFRSF11B). La adulți gena (HAS1), iar la copii CYP4B1 și ITGBL1 au înregistrat valori >35%, ceea ce indică eterogenitatea datelor de expresie (figura 1).

Evaluarea nivelului de variabilitate, pe baza expresiei genelor exprimată în unități convenționale, la subiecții cu patologie a relevat încadrarea coeficientu-

lui de variație la adulți în limitele 26,37% (ITGB1) – 89,07% (CYP4B1), iar la copii între 20,67% (HAS1) și 100,01% (TNFRSF11B). Valorile determinate ale CV se situează peste valoarea de 35% pentru 14 gene la copii (ABCA1, CYP4B1, IL8, INHBA, ITGBL1, JAK2, KRT19, NPPB, RGS1, SCD, SSPN, THBS1, TIMP1, TNFRSF11B) și 14 gene la adulți (ABCA1, CYP2C8, CYP4B1, HAS1, INHBA, ELAVL1, JAK2, KRT19, NPPB, RGS1, SCD, SSPN, THBS1, TNFRSF11B), ceea ce atestă o variație înaltă a expresiei în condiții de boală (figura 2).

Generalizând datele obținute, s-a constatat că atât estimarea coeficientului de variație, a intervalului de

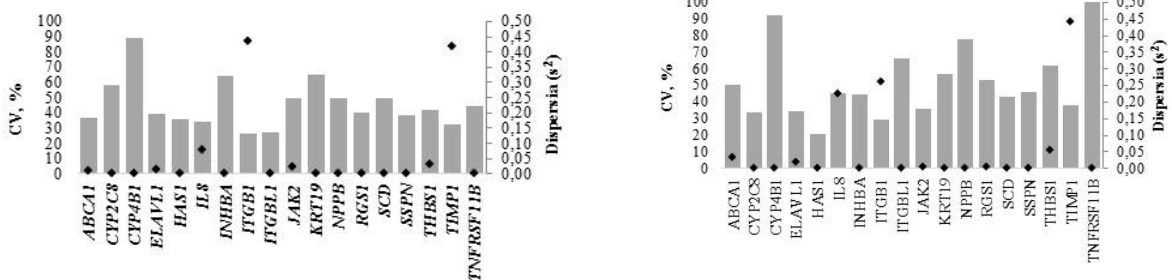
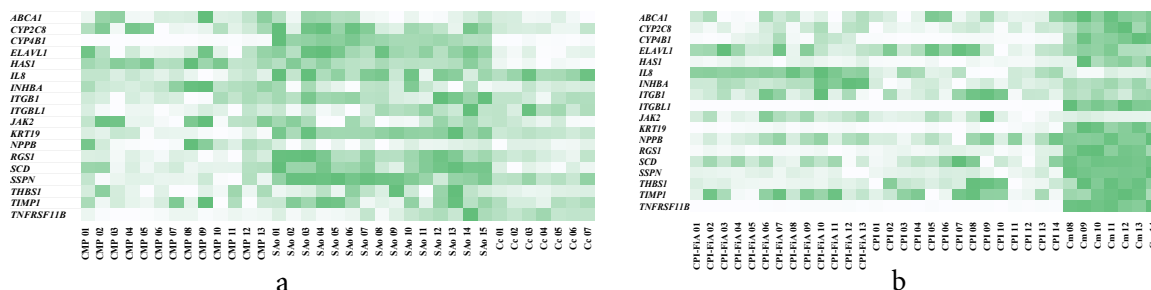


Figura 2. Coeficientul de variație (CV) și dispersia (s<sup>2</sup>) nivelului de expresie a genelor la adulți (dreapta) și copii (stânga), bolnavi



**Figura 3.** Pattern-ul individual de expresie a genelor la lotul de copii (*stanga*) și adulți (*dreapta*), bolnavi (a) vs sănătoși (b). **Notă:** CMP 01 – CMP 13, SAo 1 – SAo 15, CPI-FiA 01 – CPI-FiA 13, CPI 1 – CPI 14 – subiecți cu patologii; Cc 01 – Cc 07, Cm 08 – Cm 14 – subiecți sănătoși; intensitatea culorii indică nivelul de expresie.

variație, cât și  $A_x$  evidențiază o variabilitate mai mare a expresiei genelor în rândul bolnavilor față de subiecții sănătoși, copii și adulți.

Intervalul relativ mic al variației expresiei genelor la subiecții sănătoși relevă și un nivel mai înalt de omogenitate (figura 3), acesta fiind asigurat de variațiile fenotipice (ale morfologiei și fiziologiei organismului, ale comportamentului și personalității individului, ale răspunsului său la factorii externi) în limitele normei de reacție, determinate genetic, și reflectă mecanismele de autoreglare care mențin echilibrul homeostatic al parametrilor celulari.

Limitele largi de variație și heterogenitatea înaltă (figura 3), constatate la subiecții bolnavi, relevă că modificările patologice sunt de fapt expresia fenotipică, evidentă și extremă a variabilității genetice, rezultate ce vin în concordanță cu datele din literatură care au constatat modificarea sporită a conținutului de transcripți la pacienții cu infecții bacteriene [39], cancer [14, 39], leziuni traumatice grave [28] comparativ cu subiecții sănătoși.

Cercetările noastre au arătat o variabilitate mai mare a nivelului de expresie a genelor la copiii cu patologii cardiovasculare comparativ cu adulții. În literatura de specialitate sunt diferite rezultate și opinii privind variabilitatea expresiei genelor în funcție de vârstă. Unele studii au demonstrat că atât la om [34], cât și la șobolani [3, 34] expresia genelor devine mai eterogenă cu înaintarea în vârstă, însă un alt studiu a reliefat că la nivelul creierului 50 % dintre gene au arătat o variație a expresiei crescută la vârstnici (61-70 ani), iar alte 50% – la adulți (20-60 ani) [7]. În acest context, elucidarea variabilității expresiei genelor în funcție de vârstă necesită mari eforturi experimentale și analiză, deoarece cunoștințele privind variația expresiei genelor atât la subiecții sănătoși, cât și bolnavi sunt de o importanță fundamentală în cercetarea biomedicală [21, 35], având ca urmare optimizarea programelor de detectare și diagnosticare, dezvoltarea și eficientizarea unor algoritmi de evaluare a riscului bazat pe factori clinici și expresia genelor.

## CONCLUZII

Analiza variabilității expresiei relative a factorilor genetici, în baza estimării coeficientului de variație, a pus în evidență omogenitatea conținutului de transcripți ai genelor studiate (CV% adulți 3,18-25,31; copii 10,14-28,96) la subiecții sănătoși și heterogenitatea înaltă a expresiei genelor la subiecții cu patologii cardiovasculare (CV% adulți 36,32-89,07; copii 36,12-100,01).

S-a constatat un interval de variație relativ mic (1,086-4,000 ori la adulți; 1,000-3,500 ori la copii) la subiecții sănătoși, date care pun în evidență homeostazia celulară și relevă limitele normei de reacție a organismului și limite largi de variație a expresiei genelor în rândul bolnavilor (2,329-28,000 de ori la adulți; 2,000-38,000 de ori la copii).

## Mulțumiri

*Autorii sunt recunoscători IMSP Institutul de Cardiologie, Departamentul și Laboratorul Științific Insuficiență Cardiacă Cronică, condus de dr. hab. în științe medicale, prof. univ. Eleonora Vataman și IMSP Institutul Mamei și Copilului, Clinica Pediatrie și Cardiologie pentru materialul clinic oferit.*

## BIBLIOGRAFIE

1. Alizadeh A.A. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. In: Nature, 2000, vol. 403, p. 503-511.
2. Ando T., Kato R., Honda H. Differential variability and correlation of gene expression identifies key genes involved in neuronal differentiation. In: BMC Systems Biology, 2015, vol. 9:82.
3. Bahar R. et al. Increased cell-to-cell variation in gene expression in ageing mouse heart. In: Nature, 2006, vol. 441, p. 1011-1014.
4. Bajikar S.S. et al. Parameterizing cell-to-cell regulatory heterogeneities via stochastic transcriptional profiles. In: Proceedings of the Nat Acad of Scien of the USA, 2014, vol. 111(5), p. E626-35.

5. Belcher C.E. et al. The transcriptional responses of respiratory epithelial cells to *Bordetella pertussis* reveal host defensive and pathogen counter-defensive strategies. In: PNAS of the USA, 2000, vol. 97, nr. 25, p. 13847-13852.
6. Braun J. and Hüttelmaier S. Pathogenic mechanisms of deregulated microRNA expression in thyroid carcinomas of follicular origin. In: *Thyroid Research.*, 2011, vol. 4 (Suppl 1):S1.
7. Brinkmeyer-Langford C.L. et al. Aging Shapes the Population-Mean and -Dispersion of Gene Expression in Human Brains. In: *Front. Aging Neurosci.*, 2016, vol. 8:183.
8. Carstensen B. Introduction, in *Comparing Clinical Measurement Methods: A Practical Guide*. Ch. 9, Repeatability, Reproducibility and Coefficient of Variation. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2010, p. 107-114.
9. Chang B-D. et al. Molecular determinants of terminal growth arrest induced in tumor cells by a chemotherapeutic agent. In: PNAS of the USA, 2002, vol. 99, nr.1, p. 389-394.
10. Cheung V.G. et al. Natural variation in human gene expression assessed in lymphoblastoid cells. In: *Nat Gen.*, 2003, vol. 33, p. 422-425.
11. de Vienne D. et al. Genetic variability of proteome expression and metabolic control. In: *Plant Physiol. Biochem.*, 2001, vol. 39, p. 271-283.
12. Dermitzakis E.T. From gene expression to disease risk. In: *Nat. Genet.*, 2008, vol. 40: 492-493.
13. Diehn M. et al. Genomic expression programs and the integration of the CD28 costimulatory signal in T cell activation. In: PNAS of the USA, 2002, vol. 99, nr. 18, p. 11796-11801.
14. Ecker S. et al. Higher gene expression variability in the more aggressive subtype of chronic lymphocytic leukemia. In: *Genome Med.*, 2015, vol. 7:8.
15. Handy D.E., Castro R., Loscalzo J. Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease. In: *Circulation*, 2011, vol. 123(19), p. 2145-2156.
16. Ho J.W.K. et al. Differential variability analysis of gene expression and its application to human diseases. In: *Bioinformatics*, 2008, vol. 24(13):i390-i398.
17. Hughes D.A. et al. Evaluating intra- and inter-individual variation in the human placental transcriptome. In: *Genome Biology*, 2015, vol. 16:54.
18. Hulse A.M., Cai J.J. Genetic variants contribute to gene expression variability in humans. In: *Genetics*, 2013, vol. 193, p. 95-108.
19. Idaghdour Y., Awadalla P. Exploiting Gene Expression Variation to Capture Gene-Environment Interactions for Disease. In: *Frontiers in Genetics*, 2012, vol. 3:228.
20. Knight J.C. Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. In: *J Mol Med.*, 2005, p. 83:97-109.
21. Li J. et al. Gene expression variability within and between human populations and implications toward disease susceptibility. In: *PLoS Comput Biol.*, 2010, vol. 6:e1000910.
22. Liu F et al. Gene expression profiles deciphering rice phenotypic variation between Nipponbare (Japonica) and 93-11 (Indica) during oxidative stress. In: *PLoS ONE*, 2010, vol. 5(1):e8632.
23. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. In: *Methods*, 2001, vol. 25(4), p. 402-408.
24. Lloyd S. Peck et al. Variability among individuals is generated at the gene expression level. In: *Ecology*, 2015, vol. 96(7), p. 2004-2014.
25. Loewe L, Hill W.G. The population genetics of mutations: good, bad and indifferent. In: *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 2010, vol. 365(1544), p. 1153-1167.
26. Martín-Navarro A. et al. Machine learning classifier for identification of damaging missense mutations exclusive to human mitochondrial DNA-encoded polypeptides. In: *BMC Bioinformatics*, 2017, vol. 18(1):158.
27. Palle S.R. et al. Natural variation in expression of genes involved in xylem development in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). In: *Tree Genetics & Genomes*, 2011, vol. 7, nr.1, p. 193-206.
28. Perren Cobb J., et al. Application of genome-wide expression analysis to human health and disease. In: PNAS, 2005, vol. 102 (13), p. 4801-4806.
29. Pfaffl Michael W. Quantification strategies in real-time PCR. Chapter 3. A-Z of Quantitative PCR. Bustin S.A (Ed.). In: IUL Press, CA, USA, 2004, p. 87-112.
30. Reeb J. et al. Predicted Molecular Effects of Sequence Variants Link to System Level of Disease. In: *PLoS Comput Biol.*, 2016, vol. 18;12(8):e1005047.
31. Rifkin S.A., Kim J., White K.P. Evolution of gene expression in the *Drosophila melanogaster* subgroup. In: *Nat Genet.*, 2003, vol. 33,, p. 138-144.
32. Rosenberg N.A. et al. Genetic structure of human populations. In: *Science*, 2002, vol. 298, p. 2381-2385.
33. Simone Ecker et al. Genome-wide analysis of differential transcriptional and epigenetic variability across human immune cell types. In: *Genome Biology*, 2017, vol. 18:18.
34. Somel M. et al. Gene expression becomes heterogeneous with age. In: *Current Biology*, 2006, vol. 16:R359-R360.
35. Storey J.D. et al. Gene-expression variation within and among human populations. In: *American journal of human genetics*, 2007, vol. 80(3), p. 502-509.
36. Wang K., Vijay V., Fuscoe J.C. Stably Expressed Genes Involved in Basic Cellular Functions. In: *PLoS ONE*, 2017, vol. 12(1): e0170813.
37. Welsh J.B. et al. Analysis of gene expression profiles in normal and neoplastic ovarian tissue samples identifies candidate molecular markers of epithelial ovarian cancer. In: PNAS of the USA, 2001, vol. 98, nr. 3, p. 1176-1181.
38. Whitfield M.L. et al. Identification of Genes Periodically Expressed in the Human Cell Cycle and Their Expression in Tumors. Solomon MJ, ed. *Molecular Biology of the Cell*, 2002, vol. 13, nr. 6, p. 1977-2000.
39. Whitney A.R. et al. Individuality and variation in gene expression patterns in human blood. In: PNAS of the USA, 2003, vol. 100(4), p. 1896-1901.