



## ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ: Π.3.5

### «ΑΝΑΛΥΣΗ – ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ (ΕΚΘΕΣΗ)»

για το ΥΠΟΕΡΓΟ 1 της Πράξης:

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

του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση»

Επιστημονικός Υπεύθυνος Πράξης και Υπεύθυνος Υποέργου 1: Ανδρέακος Ευάγγελος

Επιμέλεια σύνταξης εγγράφου: ΟΜΑΔΑ ΥΠΟΕΡΓΟΥ 1

ΓΑΛΑΝΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ  
ΚΟΚΚΙΝΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ  
ΛΟΥΚΙΔΗΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ  
ΜΑΓΓΙΝΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ  
ΜΕΓΡΕΜΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ  
ΜΠΑΚΑΚΟΣ ΠΕΤΡΟΣ  
ΞΕΠΑΠΑΔΑΚΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ  
ΠΑΠΑΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ  
ΠΑΡΑΣΚΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ  
ΡΟΥΜΠΕΔΑΚΗ ΕΙΡΗΝΗ  
ΣΚΕΥΑΚΗ ΧΡΥΣΑΝΘΗ  
ΤΑΚΑ ΣΤΥΛΛΙΑΝΗ



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

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

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

Το παρόν παραδοτέο 3.5 αποτελεί μέρος της **Δράσης 3: «Μελέτη της ωρίμανσης της φυσικής ανοσίας του πνευμονικού επιθηλίου και συσχέτιση με την ανάπτυξη αλλεργίας και άσθματος»** και περιλαμβάνει όλες τις ενέργειες για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Συγκεκριμένα:

Σε κάθε ηλικιακή ομάδα εντάχθηκαν αλλεργικοί ασθενείς και μάρτυρες. Ο χαρακτηρισμός των δοτών πραγματοποιήθηκε με βάση το ατομικό αναμνηστικό, την αντικειμενική εξέταση και τη διενέργεια δερματικών δοκιμασιών δια νυγμού για την ανίχνευση ατοπικής ευαισθητοποίησης σε συνήθη αερο-αλλεργιογόνα.

Ο τελικός αριθμός δειγμάτων που συλλέχθηκαν είναι 78 και οι αριθμοί στις επιμέρους ομάδες αναφέρονται στο Πίνακα 1.

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ	ΑΛΛΕΡΓΙΚΟΙ	ΜΗ ΑΛΛΕΡΓΙΚΟΙ	Σύνολο
Παιδιά 0 - 3 ετών	4	9	13
Παιδιά >3 - 6 ετών	5	8	13
Παιδιά >6 - 10 ετών	4	4	8
Έφηβοι >10 - 18 ετών	5	8	13
Ενήλικες >18 ετών	8	8	16
Σύνολο	26	37	63

Πίνακας 1. Αριθμός ατόμων ανά ηλικιακή ομάδα και ανά κατηγορία

Για κάθε άτομο που έχει ενταχθεί στην μελέτη, έχει συμπληρωθεί λεπτομερές ερωτηματολόγιο που αφορά στο ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, στην αντικειμενική εξέταση αλλά και σε δημογραφικά στοιχεία.

Τα κύτταρα αυτά καλλιεργήθηκαν μέχρι τη τρίτη γεννεά ( $p=3$ ) σε ειδικά καλλιεργητικά μέσα. Ένα ποσοστό (23%) αυτών των κυττάρων δεν κατάφεραν να καλλιεργηθούν μέχρι τη τρίτη γεννεά, λόγω ανεπάρκειας ικανοποιητικού αριθμού κυττάρων κατά τη λήψη ή δευτερευόντως λόγω επιμολύνσεων. Ο συνολικός αριθμός των ατόμων που τα κύτταρα του

αναπνευστικού επιθηλίου κατάφεραν να καλλιεργηθούν είναι 63. Το ποσοστό επιτυχίας της καλλιέργειας φτάνει το 80,76%.

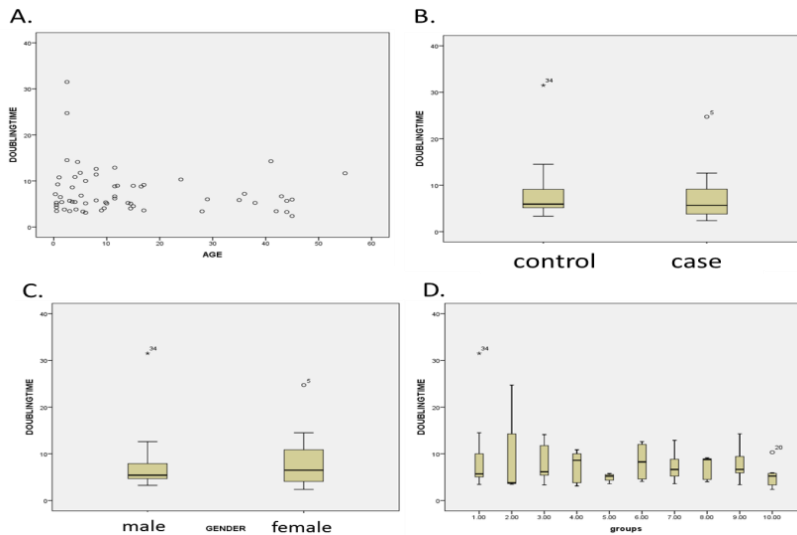
Έπειτα, αφού καλλιεργήθηκαν τα ρινικά επιθηλιακά κύτταρα έως τη τρίτη γενεά ( $p=3$ ) και εισήλθαν σε κατάσταση «εφησυχασμού» μετά από επώαση σε θρεπτικό υλικό χωρίς ορό και συμπληρώματα, ακολούθησε η μόλυνση με έναν ελάσσονα (HRVA1B) ορότυπο ρινοϊού και έναν μείζονα (HRVA16). Έγινε συλλογή νουκλεϊκών οξέων (RNA, DNA, πρωτεΐνες), καθώς και των υπερκειμένων των καλλιέργειών σε 0, 6, 8, 24, 48 και 72 ώρες μετά τη μόλυνση και επακόλουθη αποθήκευσή τους στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Επίσης όπου ήταν επαρκής ο αριθμός των κυττάρων, αυτά χρησιμοποιήθηκαν για μέτρηση ελευθέρων ριζών με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής 1, 3 και 24 ώρες μετά τη μόλυνση με τον HRVA1B.

1. Υπολογίστηκε ο χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων με τη χρήση του αλγορίθμου Least Squares Fitting—Exponential (Weisstein, Eric W. "LeastSquaresFitting--Exponential." <http://mathworld.wolfram.com/LeastSquaresFittingExponential.html>).
2. Έγινε αξιολόγηση της κυτταροτοξικότητας των ρινοϊών HRVA1B και HRVA16 με τη χρήση της τεχνικής crystal violet στις 24, 48 και 72 ώρες μετά τη μόλυνση.
3. Έγινε εκτίμηση του ιικού πολλαπλασιασμού στα υπερκείμενα των κυτταροκαλλιέργειών με τη μέθοδο της τιτλοδότησης στις 8, 24, 48 και 72 ώρες μετά τη μόλυνση με τον ρινοϊό HRVA1B.
4. Σε 25 από τα παραπάνω δείγματα έγινε αξιολόγηση της απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών ύστερα από τη μόλυνση με τον HRVA1B 1, 3 και 24 ώρες μετά τη μόλυνση, με κυτταρομετρία ροής. Η CM-H2DCFDA είναι δείκτης για τις ενδοκυττάρειες ενεργές ρίζες οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS), συμπεριλαμβάνοντας τις μονήρες ρίζες οξυγόνου, το υπεροξειδίο, τη ρίζα υδροξειλίου και τα υπεροξειδία. Η CM-H2DCFDA παθητικά μπαίνει στο εσωτερικό του κυττάρου, όπου η ομάδα του οξικού κόβεται από τις ενδοκυττάρειες εστεράσες και η θειολική ομάδα του χλωρομεθυλίου αντιδρά με την ενδοκυττάρια γλουταθειόνη και άλλες θειόλες. Επακόλουθη οξειδωση αποδίδει ένα φθορίζον προϊόν προσθήκης που είναι παγιδευμένο μέσα στο κύτταρο.
5. Μέτρηση κυτταροκινών και χυμοκινών με τη χρήση των μεθόδων ELISA και LUMINEX σε υπερκείμενα κυτταροκαλλιέργειών 48 ώρες μετά τη μόλυνση των ρινοϊών HRVA1B και HRVA16. Η επιλογή των μορίων που μετρήθηκαν έγινε μετά από μελέτη της σχετικής βιβλιογραφίας αλλά και την ανάλυση αποτελεσμάτων προηγούμενων μελετών του εργαστηρίου μας.
6. Τέλος, το αποθηκευμένο RNA θα χρησιμοποιηθεί για τη περαιτέρω μελέτη της έκφρασης επιλεγμένων γονιδίων με Real-time PCR.
7. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση Linear regression analysis, Repeated Measure analysis για τη μελέτη της μεταβολής ύστερα από τη διέγερση με τους ρινοϊούς και ONEWAY - ANOVA για τη μελέτη των διαφορών μεταξύ των ομάδων (Πίνακας 2) με τη χρήση του προγράμματος IBM SPSS statistics 20.

ΑΛΛΕΡΓΙΚΟΙ	ομάδα	ΜΗ ΑΛΛΕΡΓΙΚΟΙ	ομάδα
0 - 3 ετών	2	0 - 3 ετών	1
>3 - 6 ετών	4	>3 - 6 ετών	3
>6 - 10 ετών	6	>6 - 10 ετών	5
>10 - 18 ετών	8	>10 - 18 ετών	7
>18 ετών	10	>18 ετών	9

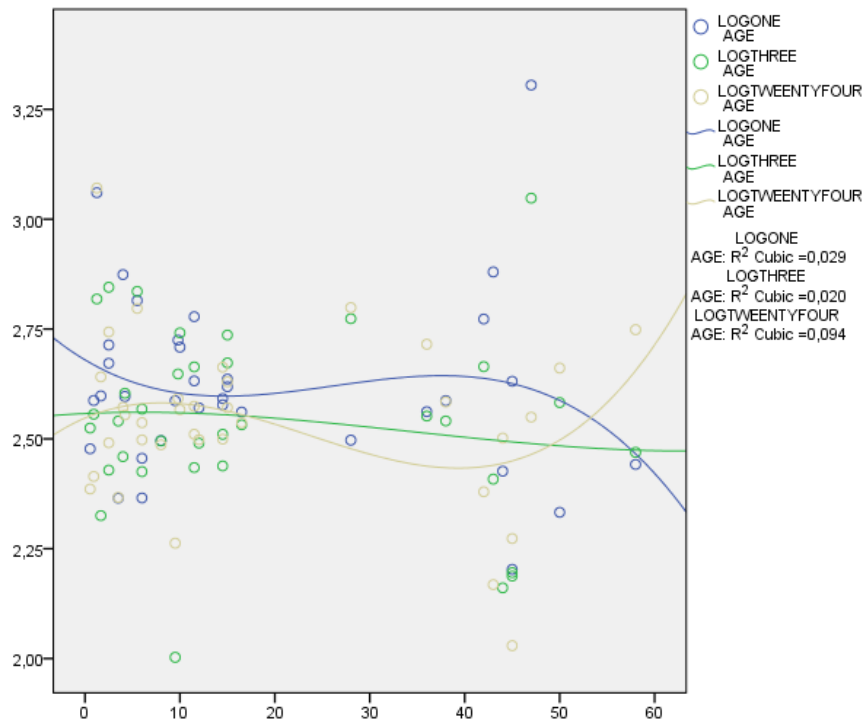
Πίνακας 2. Χαρακτηρισμός ομάδας ανά ηλικία και κατάσταση (αλλεργικοί-μη αλλεργικοί) όπως χρησιμοποιήθηκαν για τη στατιστική ανάλυση.

Ο *in vitro* χρόνος διπλασιασμού των ρινικών επιθηλιακών κυττάρων δε φαίνεται να διαφέρει τόσο ανά ηλικία όσο και με την παρουσία ατοπίας ή όχι όπως χαρακτηριστικά φαίνεται στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Α. Χρόνος διπλασιασμού ανά ηλικία Β. Χρόνος διπλασιασμού σε σχέση με τη παρουσία ή μη ατοπίας C. Χρόνος διπλασιασμού στο κάθε φύλο (αρσενικά και θηλικά άτομα) D. Χρόνος διπλασιασμού στη κάθε ομάδα

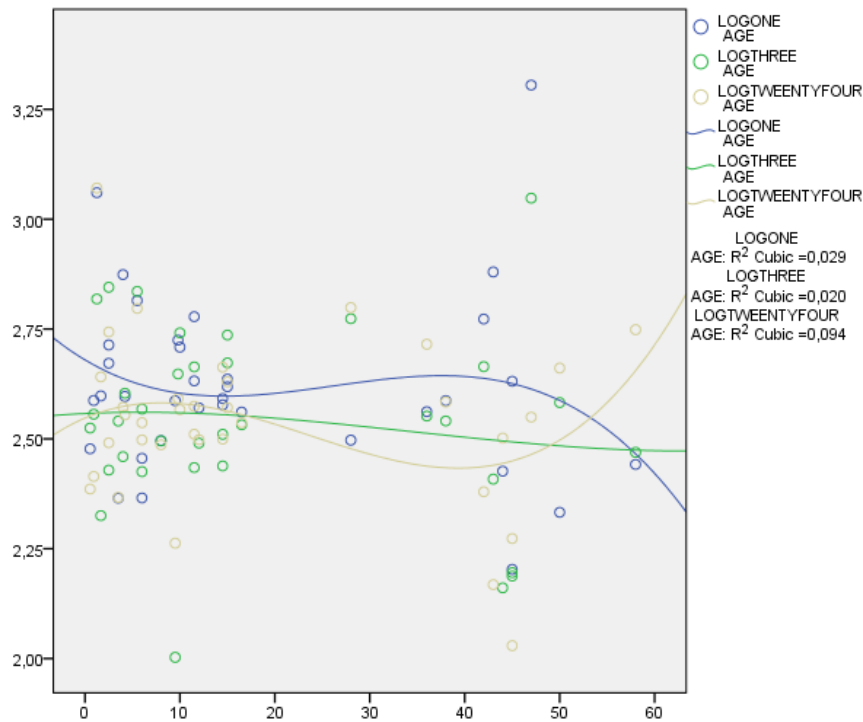
2. Επίσης τα βασικά επίπεδα των ελεύθερων ριζών στην *in vitro* καλλιέργεια δεν είχαν σημαντικές διαφορές είτε ως προς την ηλικία είτε ως προς τη παρουσία ατοπίας ή όχι. Κάνοντας επιπλέον ανάλυση ως προς τη μεταβολή των επιπέδων των ελευθέρων ριζών στα τρία χρονικά σημεία 1, 3 και 24 ώρες με Repeated measure ανάλυση φάνηκε ότι η παραμονή των ρινικών επιθηλιακών κυττάρων στη καλλιέργεια δεν επηρέασε την απελευθέρωση τους σημαντικά, Εικόνα 2.



Εικόνα 2. Στο γράφημα φαίνεται η διασπορά των τιμών των ελευθέρω ριζών ανά ηλικία στα τρία χρονικά σημεία, 1, 3 και 24 ώρες.

Εικόνα 1: Α. Χρόνος διπλασιασμού ανά ηλικία Β. Χρόνος διπλασιασμού σε σχέση με τη παρουσία ή μη ατοπίας C. Χρόνος διπλασιασμού στο κάθε φύλο (αρσενικά και θηλικά άτομα) D. Χρόνος διπλασιασμού στη κάθε ομάδα

2. Επίσης τα βασικά επίπεδα των ελευθέρων ριζών στην in vitro καλλιέργεια δεν είχαν σημαντικές διαφορές είτε ως προς την ηλικία είτε ως προς τη παρουσία ατοπίας ή όχι. Κάνοντας επιπλέον ανάλυση ως προς τη μεταβολή των επιπέδων των ελευθέρων ριζών στα τρία χρονικά σημεία 1, 3 και 24 ώρες με Repeated measure ανάλυση φάνηκε ότι η παραμονή των ρινικών επιθηλιακών κυττάρων στη καλλιέργεια δεν επηρέασε την απελευθέρωση τους σημαντικά, Εικόνα 2.

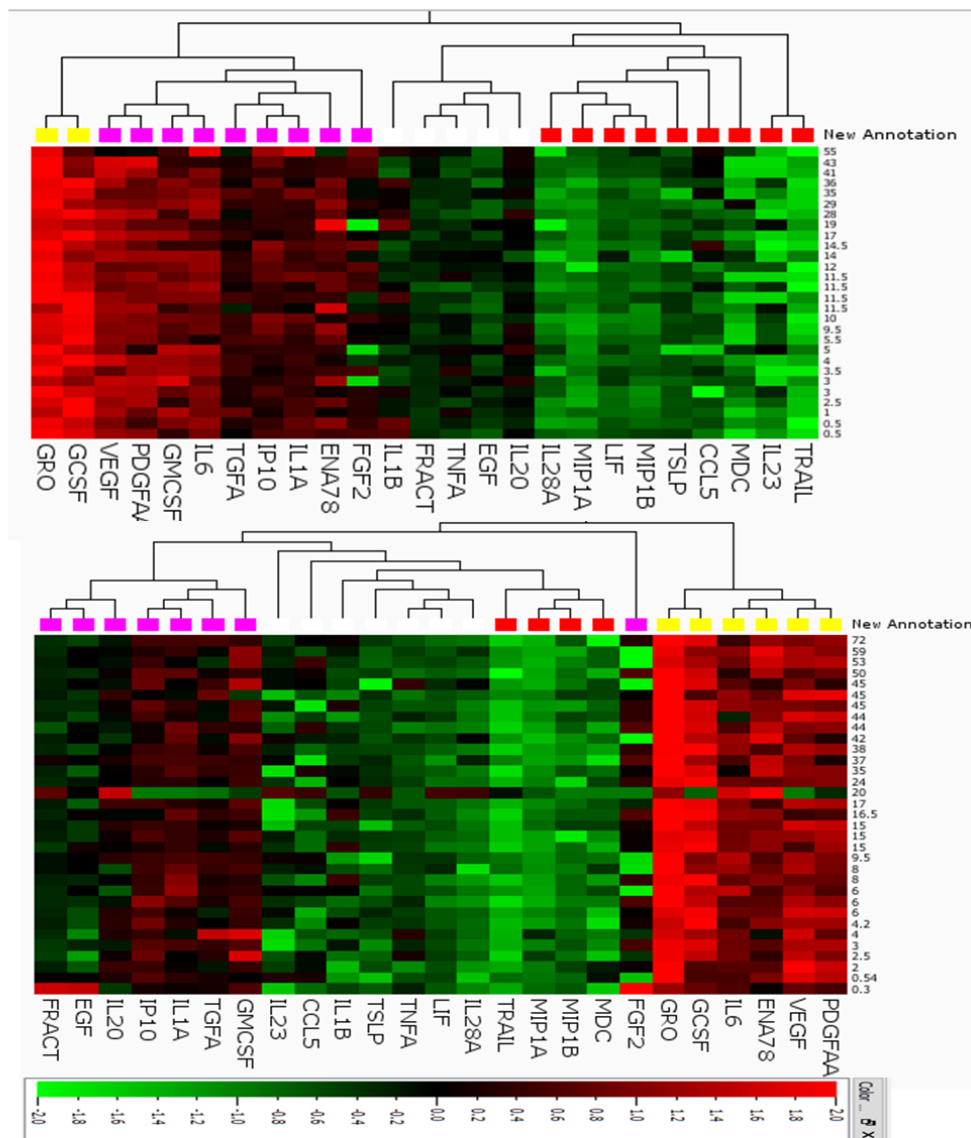


Εικόνα 3. Στο γράφημα φαίνεται η διασπορά των τιμών των ελευθέρω ριζών ανά ηλικία στα τρία χρονικά σημεία, 1, 3 και 24 ώρες.

3. Στη συνέχεια έγινε ανάλυση των προ και αντι φλεγμονωδών κυτταροκινών και χημοκινών του βασικού προφίλ έκφρασης ανά ηλικία και παρουσία ατοπίας και μη. Για κάθε κυτταροκίνη ξεχωριστά έγινε ανάλυση παλινδρόμησης (Linear Regression analysis) τόσο για την κατανομή ανά ηλικία όσο και παρουσία ατοπίας ή όχι. Έπειτα έγινε κατηγοριοποίηση των τιμών βάσει των ομάδων των δοτών όπως φαίνονται στον Πίνακα 2. έγινε μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis test καθώς και ONEWAY ANOVA, post hoc Turkey στις λογαριθμημένες τιμές για να δούμε τις διαφορές ανάμεσα στις ομάδες.

Τέλος ακολούθησε ανάλυση βιοπληροφορικής με τη χρήση του πακέτου Qlucose Omics Explorer 3.1 για τη πραγματοποίηση των αναλύσεων Hierarchical clustering και Principal component analysis.

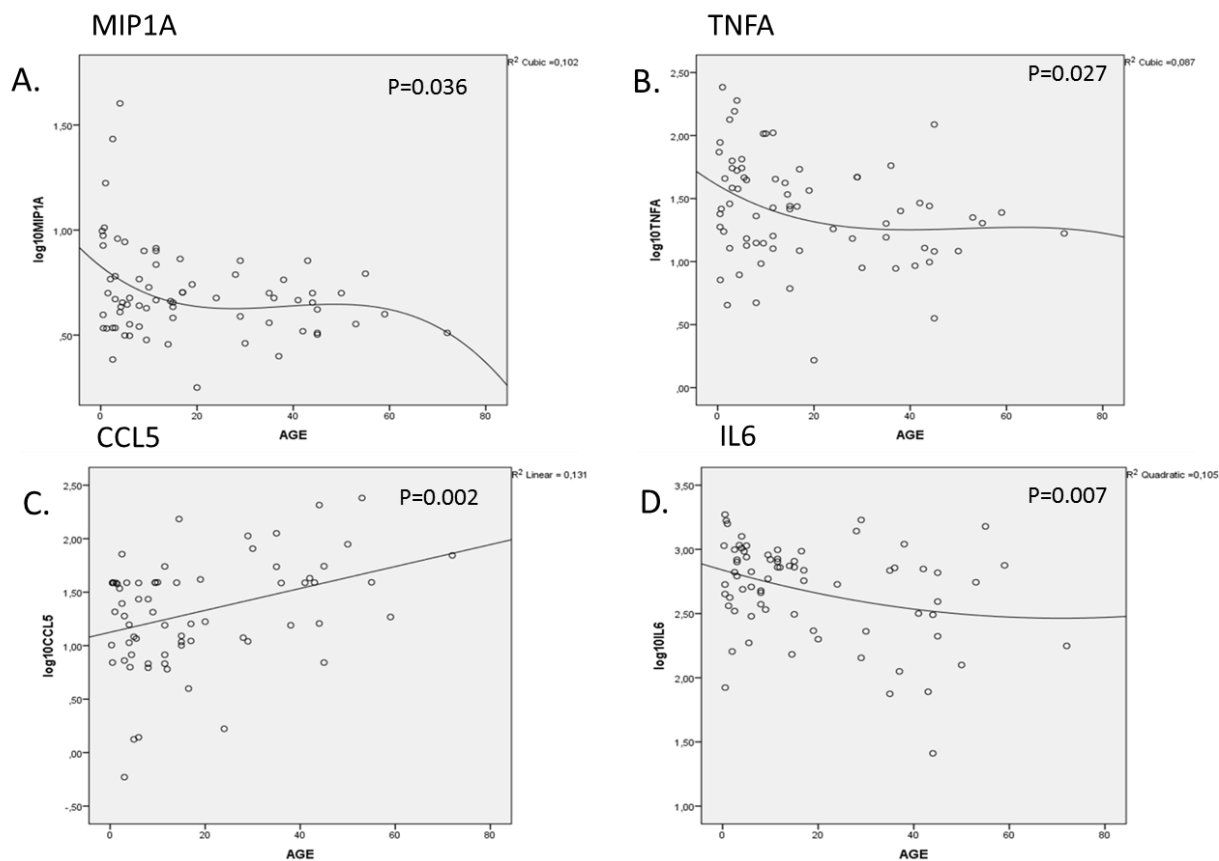
Control



Case

Εικόνα 4: Heat map βασικής έκφρασης για όλους του παράγοντες (κυτταροκίνες και χημοκίνες) που μετρήθηκαν, τόσο για τα υγιή άτομα όσο και για τους αλλεργικούς ξεχωριστά. Είναι διαχωρισμένα με τη μέθοδο Hierarchical clustering και έχουν επισημανθεί με διαφορετικό χρώμα ανάλογα με τα επίπεδα της έκφρασης τους.

Φαίνεται ότι οι αλλεργικοί έχουν μεγαλύτερο αριθμό υψηλώς εκφραζόμενων κυτταροκινών (13) σε σχέση με τους υγιείς (11). Για παράδειγμα η IL20 στους υγιείς ανήκει στην ομάδα των μετρίως προς χαμηλά εκφραζόμενων ενώ στους αλλεργικούς στις μετρίως προς υψηλά εκφραζόμενες κυτταροκίνες

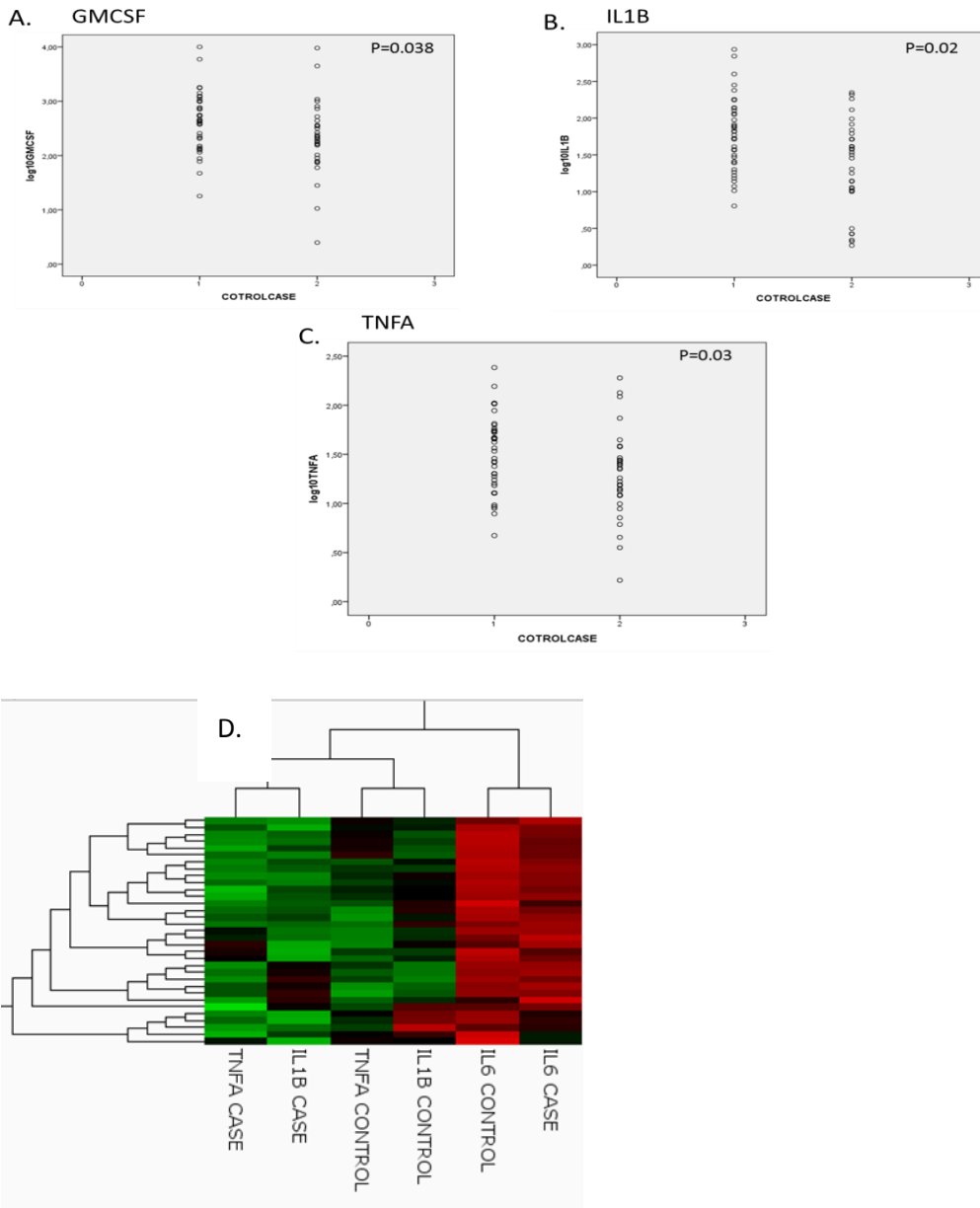


Εικόνα 5: Ανάλυση παλινδρόμησης (Linear regression analysis) σε σχέση με τη ηλικία για Α. MIP1A Β. TNFA Γ. CCL5 Δ. IL6

Φαίνεται ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανά ηλικία στα βασικά επίπεδα έκφρασης των παραπάνω κυτταροκινών, όπου άλλες αυξάνονται όπως η CCL5 ή μειώνονται όπως ο TNFA.



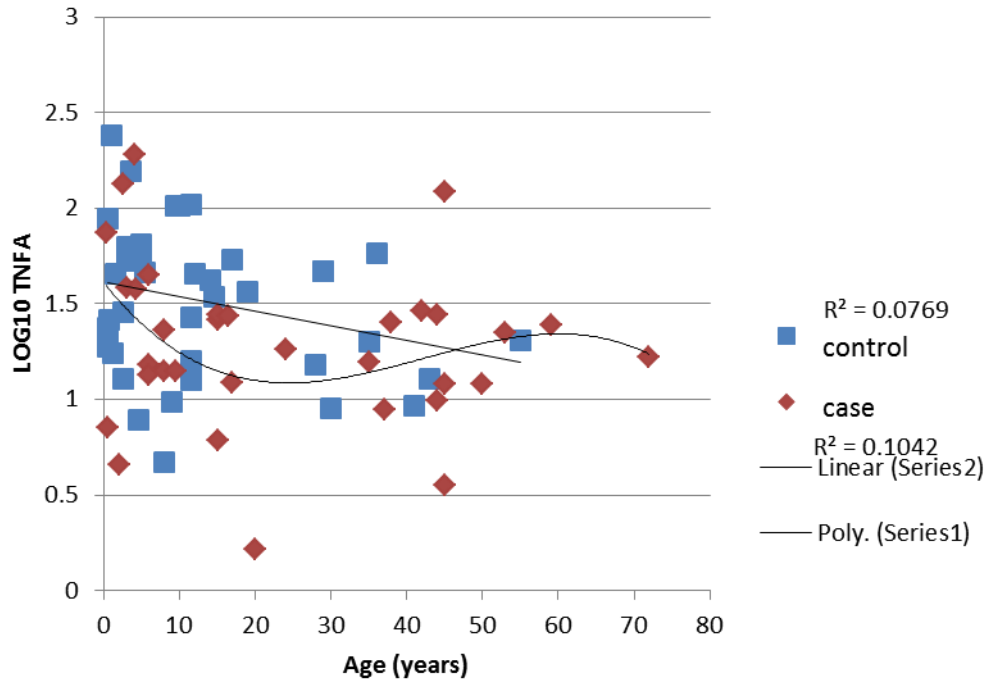
## Control - Case



Εικόνα 6: 1. Ανάλυση παλινδρόμησης (Linear regression analysis) σε σχέση με την κατάσταση αλλεργικοί και μη αλλεργικοί ασθενής για A. GMCSF B. IL1B C. TNFA

2. Heat Map με hierarchical clustering για τις συγκεκριμένες κυτταροκίνες

Φαίνεται ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των βασικών επιπέδων έκφρασης των παραπάνω κυτταροκινών μεταξύ υγείων και αλλεργικών ατόμων ανεξαρτήτως της ηλικίας. Και στις τρεις περιπτώσεις οι υγείς είχαν αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών σε σχέση με τους αλλεργικούς. Αυτό ίσως να προδίδει μία ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος.

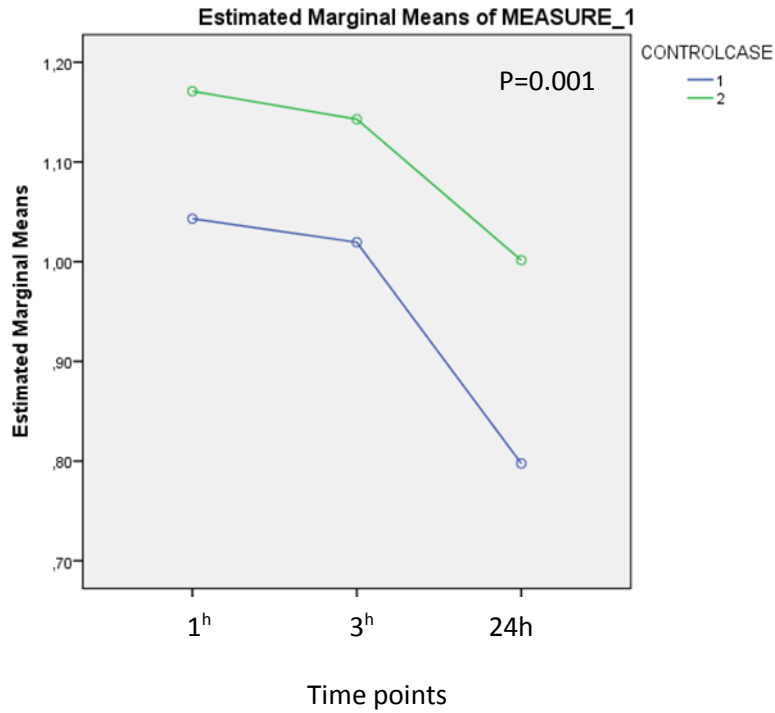


Εικόνα 7: Ανάλυση Παλινδρόμησης του TNFA ξεχωριστά για τους υγιής και τους αλλεργικούς.

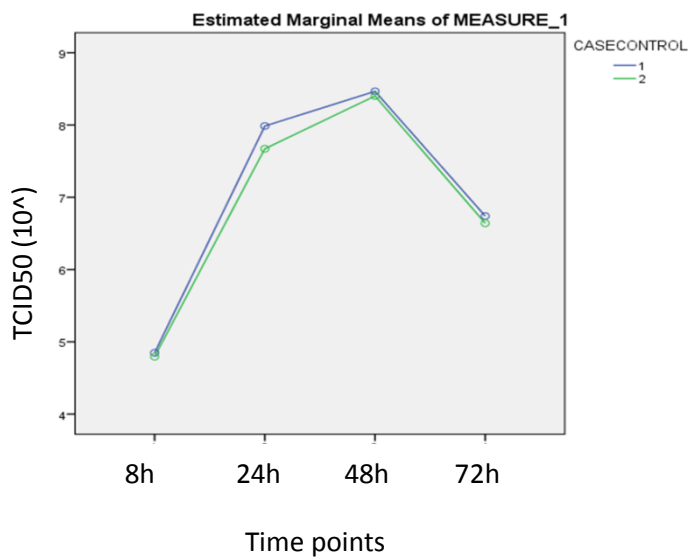
Φαίνεται ότι οι υγιής να έχουν μια ευθύγραμμη καθοδική πορεία στην παραγωγή TNFA παράγοντα, ενώ οι αλλεργικοί έχουν μία αύξηση μετά τα 30 έτη.

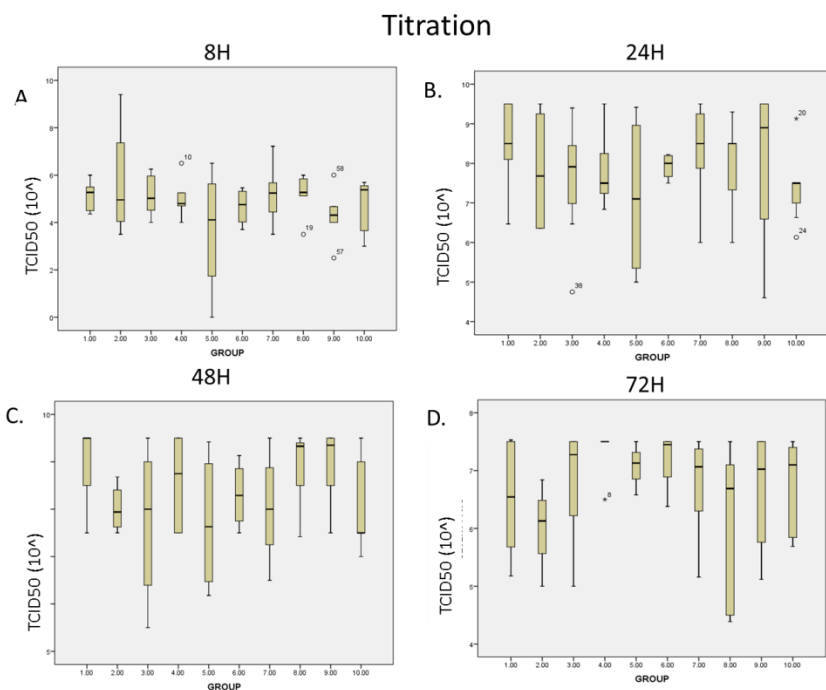
### Επίδραση της ιικής μόλυνσης (HRV1B & HRV16)

Από τη μέτρηση των ελευθέρων ριζών μετά τη μόλυνση με HRV1B φαίνεται ότι έχουμε επαγωγή των ελευθέρων ριζών. Αυτή η επαγωγή φαίνεται ότι διαφέρει σημαντικά μεταξύ αλλεργικών και υγιών ατόμων. Τόσο με ανάλυση παλινδρόμησης, στις 24 ώρες ( $p=0,008$ ), όσο και με repeated measures και συγκρίνοντας τη μεταβολή της διαφορές έκφρασης (HRV1B/uninfected) και στις τρεις χρονικές στιγμές. Οι αλλεργικοί φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη επαγωγή ελευθέρων ριζών μετά από την μόλυνση με των ρινοϊό σε σχέση με τους υγιής.



Εικόνα 8: Repeated measures ανάλυση για την επαγωγή των ελευθέρων ριζών (infected/uninfected) σε σχέση με την εξέλιξή τους στο χρόνο και αναλόγα με την ύπαρξη αλλεργίας ή όχι.



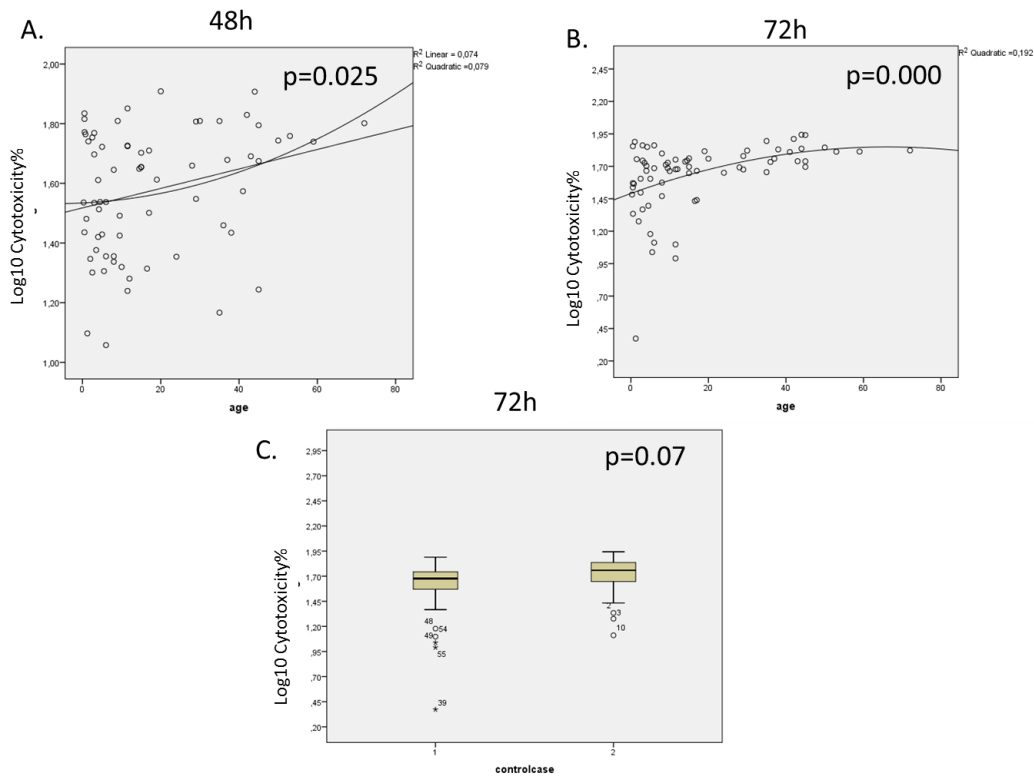


Εικόνα 9: Τιτλοδότηση υπερκειμένων ύστερα από τη μόλυνση με HRV1B 8, 24, 48 και 72 ώρες.

Δεν εντοπίστηκαν διαφορές στο πολλαπλασιασμό του ιού HRV1B ούτε σε σχέση με την ηλικία ούτε σε σχέση με τη παρουσία αλλεργίας ή όχι.

Είναι αναγκαία η περαιτέρω ανάλυση διαχωρίζοντας τα άτομα με άσθμα και μη.

## Cytotoxicity – (Crystal violet)

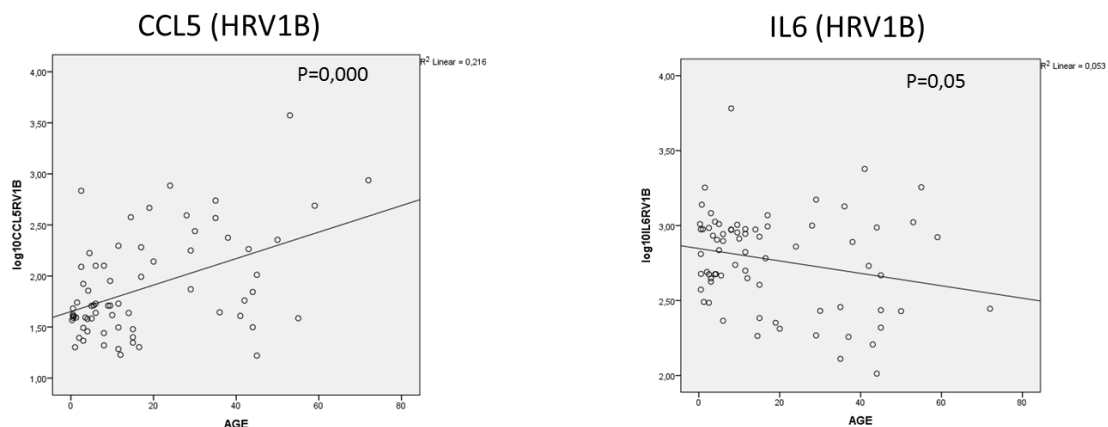


Εικόνα 10: Ανάλυση παλινδρομηση για τη κυτταροτοξικότητα του ιού HRV1B σε σχέση με την ηλικία και την παρουσία αλλεργίας.

Παρατηρούνται αυξανόμενα επίπεδα κυτταροτοξικότητας σε σχέση με την ηλικία τόσο στις 48 όσο και στις 72 ώρες μετά τη μόλυνση και μία τάση διαφοροποίησης και πιο συγκεκριμένα αυξημένης κυτταροτοξικότητας παρουσία αλλεργικού νοσήματος.

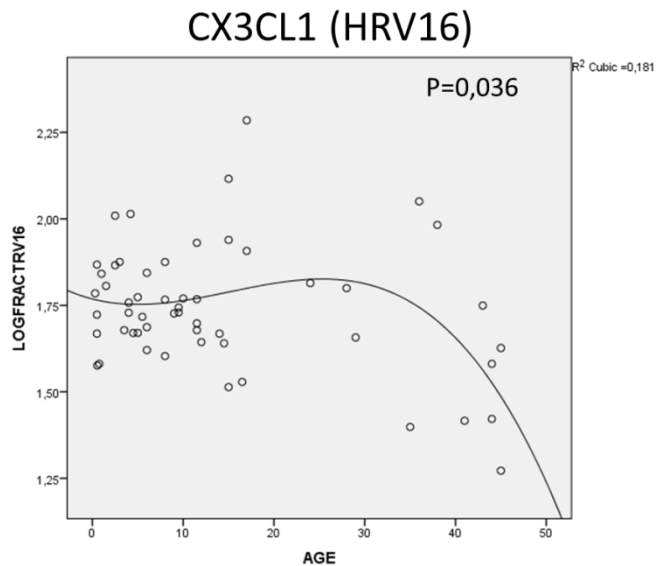
Έπειτα έγινε μελέτη των κυτταροκινών μετά από λοίμωξη και με τα δύο στελέχη ρινοϊών (HRV1B & HRV16)

Από την πρωταρχική ανάλυση φαίνεται ότι στα επίπεδα έκφρασης σε σχέση με την ηλικία υπάρχουν σημαντικές διαφορές ύστερα με τη μόλυνση με ρονοϊό στην CCL5 και IL6 ύστερα από τη μόλυνση με HRV1B όπως φαίνεται από την ανάλυση παλινδρόμησης (Εικόνα 11).



Εικόνα 11: Ανάλυση παλινδρόμησης των συγκεντρώσεων των κυτταροκινών μετά από μόλυνση με HRV1B.

Ενώ για τον HRV16 διαφοροποιούνται η CX3CL1. Όπου παρατηρείται μία πτώση τις απελευθέρωσης CX3CL1 μετά την ενηλικίωση.



Εικόνα 12: Ανάλυση παλινδρόμησης των συγκεντρώσεων της κυτταροκίνης CX3CL1 μετά από μόλυνση με HRV16.

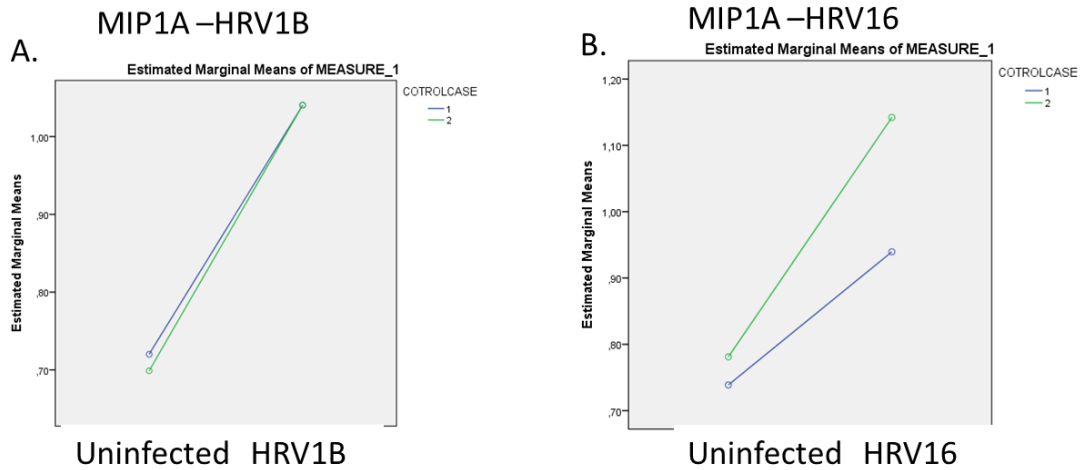
Ύστερα ακολούθησε ανάλυση της μεταβολής της συγκέντρωσης κάθε κυτταροκίνης ξεχωριστά και για τους δύο ρινοϊούς πριν και μετά τη λοίμωξη και πως διαφοροποιείται ανά ηλικία, παρουσία αλλεργίας και ο συνδυασμός τους. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους Πίνακες 3 και 4 αντίστοιχα για τους ρινοϊούς HRV1B και HRV16.

Repeated Measures	P values		
	Age	Control/Case	Age*control/case
HRV1B			
GMCSF	0,019	0,885	0,152
GRO	0,002	0,479	0,053
MIP1A	0,000	0,039	0,041
TGFA	0,001	0,384	0,024
TNFA	0,017	0,664	0,139
VEGF	0,000	0,774	0,577
IL28A	0,016	0,768	0,398

Πίνακας 3

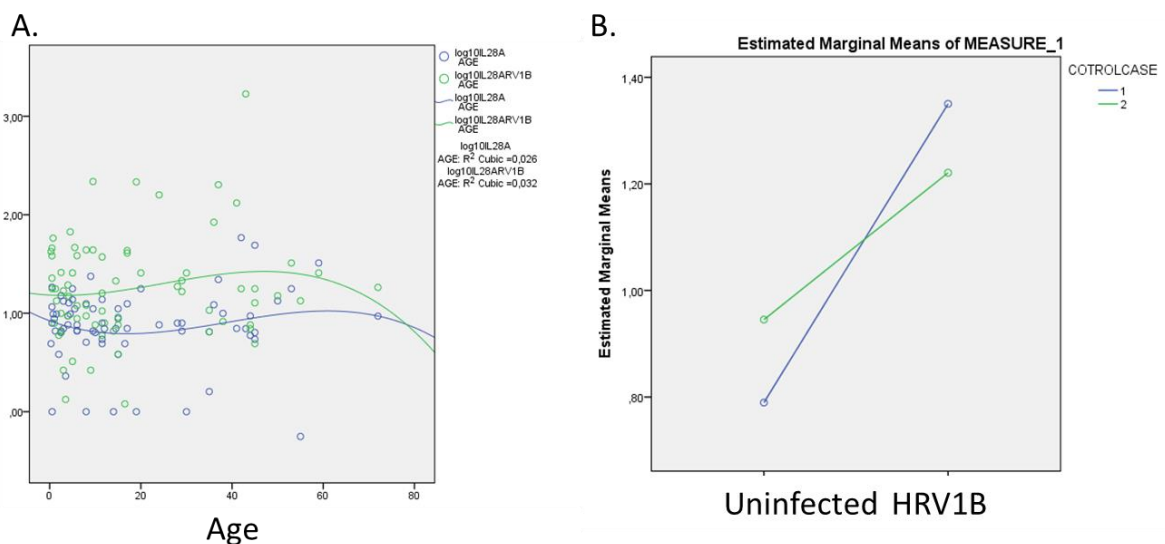
Repeated Measures	P values		
	Age	Control/Case	Age*control/case
HRV16			
IL1B	0,93	0,104	0,001
MDC	0,194	0,667	0,007
MIP1A	0,055	0,031	0,669

Πίνακας 4



Εικόνα 13: Repeated measures ανάλυση για την επαγωγή της κυτταροκίνης αναλόγα με την ύπαρξη αλλεργίας ή όχι.

### IL28A – HRV1B



Εικόνα 14: Repeated measures ανάλυση για την επαγωγή της κυτταροκίνης IL28A αναλόγα με την Α. ηλικία (πριν και μετά τη μόλυνση) και ανάλογα με την Β. ύπαρξη αλλεργίας ή όχι.

Παρατηρείται διαφοροποίηση κάποιων κυτταροκινών σε σχέση με την ηλικία και σε σχέση με τη παρουσία αλλεργίας. Το πάνελ των κυτταροκινών διαφοροποιείται σε σχέση με το στέλεχος ρινοϊού που χρησιμοποιείται.

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 13 η κυτταροκίνη MIP1A (CCL3), μία κυτταροκίνη οξείας φάσης στη φλεγμονώδη απόκριση που είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων διαφοροποιείται το πρότυπο έκφρασης της αναλόγως την ηλικία και για τα δύο στελέχη ρινοϊών αλλά παρουσία αλλεργίας φαίνεται να διαφοροποιείται μόνο με τη διέγερση με τον HRV16, όπου οι αλλεργικοί έχουν αυξημένα επίπεδα είτε πριν είτε μετά τη μόλυνση.

Όσον αφορά στην IL28A φαίνεται ότι τα επίπεδα έκφρασης αυξάνονται σε σχέση με την ηλικία, η κλήση της μεταβολής ύστερα από τη διέγερση με τον HRV1B είναι μικρότερη στους αλλεργικούς από ότι στους υγιείς. Άρα φαίνεται μία μειωμένη απόκριση στον ρινοϊό της ιντερφερόνης λ (IFNλ) κάτι που συγκλίνει με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για ανεπάρκεια τους μονοπατιού των ιντερφερονων στους αλλεργικούς ασθενείς.

Αναλόγως λοιπόν το στέλεχος του ρινοϊού που χρησιμοποιείται φαίνεται ότι μεταβάλλονται τα επίπεδα της κάθε κυτταροκίνης ξεχωριστά και τα επίπεδα στους αλλεργικούς να είναι είτε αυξημένα είτε μειωμένα κατά περίπτωση.

Το γενικότερο συμπέρασμα είναι ότι τα βασικά συστατικά της φυσικής ανοσίας, όπως είναι προ φλεγμονώδεις παράγοντες, η απελευθέρωση ελευθέρων ριζών και η κυτταροροξικότητα αλλάζουν στο ρινικό επιθήλιο αναλόγως την ηλικία.

Αυτό μπορεί να επηρεάζεται και με τη παρουσία αλλεργικού νοσήματος, όπου σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να δίνει διαφορετικά πρότυπα αποκρίσεων σε σχέση με την ηλικία.